

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.

A61K 31/454 (2006.01)*A61K 31/4523* (2006.01)

(11) 공개번호

10-2006-0109979

(43) 공개일자

2006년10월23일

(21) 출원번호 10-2006-7013289

(22) 출원일자 2006년06월30일

번역문 제출일자 2006년06월30일

(86) 국제출원번호 PCT/US2004/040226

(87) 국제공개번호

WO 2005/055929

국제출원일자 2004년12월02일

국제공개일자

2005년06월23일

(30) 우선권주장

60/526,910

2003년12월02일

미국(US)

(71) 출원인

셀진 코포레이션

미합중국 뉴저지주 07901 써미트 모리스 애비뉴 86

(72) 발명자

무뚜-드 파르세발, 로레

미국 92121 캘리포니아주 산 디에고 카미니토 델 펠리츠 9608

찬, 카일, 더블유., 에이치.

미국 92130 캘리포니아주 산 디에고 몬테프리오 코트 3922

브래디, 헬렌

미국 92128 캘리포니아주 산 디에고 웨이버리 다운스 레인 12146

(74) 대리인

장수길

김영

심사청구 : 없음

(54) 혈색소병증 및 빈혈의 치료 및 관리를 위한 방법 및 조성물

요약

본 발명은 면역조절 화합물, 특히 IMiD (상표명)로서 공지된 화합물 부류의 일원, 보다 구체적으로는 화합물 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온 및 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온을 사용하여, CD34⁺ 세포 내에서 태아 헤모글로빈 유전자, 적혈구생성에 필수적인 유전자, 및 알파 헤모글로빈 안정화 단백질을 코딩하는 유전자의 발현을 유도하는 것에 관한 것이다. 이들 화합물은 혈색소병증, 예컨대 겸상 적혈구성 빈혈 또는 β -지중해빈혈, 또는 질환, 수술, 사고, 또는 독소, 독물 또는 약물의 도입 또는 주사에 의해 야기된 빈혈을 치료 하는데에 사용된다.

색인어

면역조절 화합물, 혈색소병증, 태아 헤모글로빈, 적혈구생성, 겸상 적혈구성 빈혈

명세서

본 출원은 2003년 12월 2일자로 출원된 미국 가출원 일련번호 제60/526,910호의 이익을 청구하며, 상기 가출원은 그 전문이 본원에 참고로 혼입되어 있다.

기술분야

1. 기술분야

본 발명은 IMiD (상표명)로서 공지된 탈리도미드 유사체 부류의 일원, 특히 IMiD (상표명) 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온 (α -(3-아미노프탈이미도)클루타라이미드로서도 공지됨; 셀진 코퍼레이션 (Celgene Corporation)사 제조) 및 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온 (3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온으로서도 공지됨; 셀진 코퍼레이션사 제조), 및 상기 화합물을 포함하는 제약 조성물을 투여함으로써, 혈색소병증, 예컨대 겸상 적혈구성 빈혈, 및 기타 빈혈, 예컨대 질환- 또는 약물-유도된 빈혈을 치료, 예방 및/또는 관리하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

2. 배경기술

2.1. 겸상 적혈구성 빈혈 및 기타 혈색소병증

겸상 적혈구성 빈혈 ("SCA")은 헤모글로빈 S로 지칭된 비정상적인 헤모글로빈과 연관된 유전적 용혈성 빈혈이다. 상기 질환은 아미노산 치환에 기인한 헤모글로빈 S 내의 감소된 전하, 및 이에 의해 유발되는 치환된 헤모글로빈 S의 보다 낮은 용해도에 의해 야기되는 것으로 보고되어 있다 (문헌 [The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 17th Ed., Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, NJ, page 878 (1999)]). 덜 가용성인 헤모글로빈 S는 초승달을 연상시키는 겸상 모양의 적혈구를 야기하는 막대-유사 탁토이드의 반고체 겔을 형성한다. 이러한 뒤틀어지고 굳은 적혈구는 혈관 내피 및 전색 세동맥 및 모세혈관에 부착하여 폐색 및 경색증을 야기한다. 겸상 적혈구가 매우 약하여 혈액 순환의 물리적 압력을 견디지 못하기 때문에, 이들이 순환계에 진입할 때 용혈이 일어난다.

SCA는 일반적으로 특정 인종 군, 즉 아프리카-미국계 및 열대 사하라 사막 이남의 아프리카 개체군의 후예인 기타 사람들과 연관되어 있다. 환자들은 겸상 적혈구에 의해 야기되는 폐색에 의한 급성 동통을 겪는다. 정상 적혈구의 수명은 약 4개월인 반면, 겸상 적혈구의 수명은 대략 2주이다. 이렇게 짧아진 수명은 만성 빈혈을 야기한다.

SCA의 증상은 성장 및 발생의 손상; 감염에 대한 감수성 증가; 탐 모양의 두개골; 골 변화, 예컨대 피질 박화, 불규칙적 골 밀도 및 골수 공간 내 신생 골 형성; 자가비장절제로 인한 작은 비장; 류마티스성 또는 선천성 심장 질환의 확률 증가; 폐 및 신장 기능의 점진적 감소; 및 급성 흉부 증후군을 포함한다. 급성 흉부 증후군은 주로 사망을 야기하고, 열, 흉부 동통, 백혈구 증가증의 갑작스런 발병 및 흉부 X-선 상 폐 실질 침윤물을 특징으로 한다.

SCA의 치료에 대한 현재 접근법은 태아 헤모글로빈의 도입, 혈관 이완, 적혈구 유착 감소, 및 가르도스 (Gardos) 채널 길항제의 사용을 포함한다 (문헌 [Iyamu and Asakura, Expert Opin. Ther. Patents, 13(6):807-813 (2003)]). 가르도스 채널은 문헌 [Gardos Curr. Top. Membr. Transp. 10:217-277 (1978)] 및 [Nature London 279:248-250 (1979)]에 기술된 칼슘-활성화 칼륨 채널이다.

가장 많이 연구되고 사용되는 SCA 치료법은 히드록시우레아 (HU)의 경구 투여이다. HU는 태아 헤모글로빈 (HbF)의 생산을 유도함으로써 그 효과를 발휘하는 것으로 여겨진다. 그러나, HU가 모든 환자에 유효한 것은 아니며; 일부 환자는 HU에 전혀 반응하지 않는 반면, 다른 환자는 골수 억제제를 경험한다 (상기 문헌 [Iyamu and Asakura]). 또한, SCA는 HbS에 공유 결합함으로써 항-겸상화 효과를 발휘하는 것으로 나타난, 헤모신 (HEMOXIN: 상표명) (이전에 니프리스산 (NIPRISAN: 상표명)으로 지칭함)으로 공지된 천연 허브 추출물로 치료되어 왔다. 미국 특허 제5,800,819호를 참조한다. 상기 문헌 [Iyamu and Asakura] 참조. 헤모신 (상표명)은 아직 SCA의 치료에 사용하기 위한 FDA의 승인을 받지 못했다. 현재, 한 그룹은 클로트리마졸의 사용을 조사하고 있으며, 다른 그룹은 겸상화 적혈구의 탈수 특성을 줄이기 위한 노력으로 가르도스 채널 차단제의 사용을 조사하고 있다 (상기 문헌 [Iyamu and Asakura]). 그러나, 상기 화합물의 효능은 입증

되지 않았다. 기타 SCA 치료법은 글루코스 및 전해질의 정맥 내 용액제, 마약성 진통제, 및 빈혈의 중증 경우에 대한 수혈을 포함한다. 대부분의 SCA 요법의 초기 상태에 대해, 보다 안전하고 효과적인 요법이 SCA의 치료 및 관리를 위해 필요하다.

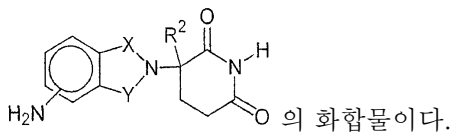
태아 헤모글로빈의 생산을 증가시키는 치료는 혈색소병증 또는 빈혈을 겪는 환자에게 유용한 헤모글로빈의 총량을 증가시키기 때문에 매력적이다. 성인에서, 헤모글로빈의 두 유형인 헤모글로빈 α 및 헤모글로빈 β 는 거의 다른 헤모글로빈 유형을 배제할 만큼 우세하다. 대조적으로, 2종의 부가적 헤모글로빈, 즉 헤모글로빈 ϵ 및 헤모글로빈 γ 는 태아 내에 존재한다. 헤모글로빈 ϵ 은 초기 발생에서 우세한 형태이나, 발생 약 8주 정도에 태아 내에서 소실된다. 대조적으로, 헤모글로빈 γ 는 발생 초기에 존재하여, 임신 대략 6-30주 정도에 총 헤모글로빈 중 최고 백분율인 약 45%에 이른다. 그 후, 출생 대략 6주 전부터 출생 후 약 40주까지 총 헤모글로빈 중 백분율이 감소한다. 출생 40주 후에 개체 내에 존재하기는 하나, 그 후에 혈류에 존재하는 총 헤모글로빈의 2% 미만을 구성한다.

2.2. IMiD (상표명)

IMiD (상표명) (셀진 코포레이션) 또는 면역조절 약물로서 언급된 부류의 화합물은 TNF α 의 강력한 억제 및 LPS 유도된 단핵구 IL-1 β 및 IL-12 생성의 현저한 억제를 보이는 것으로 확인되었다. 또한, LPS 유도된 IL-6도 부분적이기는 하나 면역조절 화합물에 의해 억제된다. 이들 화합물은 LPS 유도된 IL-10의 강력한 자극제이다. IMiD (상표명)는 골수 및 적혈구 경로를 따라 CD34⁺ 세포의 분화를 조절하는 것으로 입증되었다. 본원에 전문이 혼입된, 2003년 12월 25일에 공개된 미국 특허 제2003/0235909호를 참조한다. IMiD (상표명)의 구체적인 예는 미국 특허 제6,281,230호 및 제6,316,471호 (둘 다 G. W. Muller 등)에 기술된 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)프탈리미드 및 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌을 비제한적으로 포함한다. 이전에 IMiD (상표명)는 혈색소병증 또는 빈혈의 치료용 후보물로서, 또는 적혈구생성에 관련된 유전자의 조절제로서 이전에 확인되지 않았다.

3. 발명의 요약

본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 빈혈 또는 혈색소병증을 갖는 개체의 치료 방법에 관한 것이다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 빈혈 또는 혈색소병증을 갖는 개체에게 면역조절 화합물, 또는 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물 또는 전구약물을 투여하는 것을 포함하는, 빈혈 또는 혈색소병증을 갖는 개체의 치료 방법을 제공한다. 구체적인 실시양태에서, 상기 빈혈은 약물 또는 화학요법의 투여에 의해 유도되거나 또는 이와 관련된 빈혈이다. 다른 구체적인 실시양태에서, 상기 면역조절 화합물은 아미노-치환된 탈리도미드이다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 면역조절 화합물은 IMiD (상표명)이다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 IMiD (상표명)는 α -(3-아미노프탈리미도)글루타리미드 (4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온으로서도 공지됨); α -(3-아미노프탈리미도)글루타리미드의 유사체 또는 전구약물; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온의 유사체 또는 전구약물, 또는 화학식

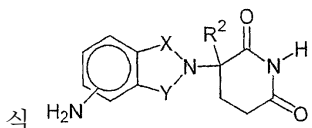


다른 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 IMiD (상표명)는 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린, 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린, 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-6-아미노이소인돌린, 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린, 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린, 또는 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린이다.

다른 구체적인 실시양태에서, 상기 치료 방법은 제2 화합물로 상기 개체를 치료하는 것을 추가로 포함하며, 여기서 제2 화합물은 태아 헤모글로빈을 유도하는 화합물, 혈관을 이완시키는 화합물, 헤모글로빈 S에 공유 결합하는 경우에 헤모글로빈 S의 자가-응집을 감소시키는 화합물, 가르도스 채널 길항제인 화합물, 또는 적혈구 유착을 감소시키는 화합물이다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 제2 화합물은 히드록시우레아, 구아니디노 유도체, 아산화질소, 부티레이트 또는 부티레이트 유도체, 알데히드 또는 알데히드 유도체, 항점상화 활성을 갖는 식물 추출물 (예를 들어, 니프리산 (상표명) (혜목신) (상표명)), 클로트리마졸, 트리아틸메탄의 유도체, 모노클로날 항체 또는 폴리에틸렌 글리콜 유도체이다.

다른 구체적인 실시양태에서, 상기 치료 방법은 1종 이상의 시토킨으로 상기 개체를 치료하는 것을 추가로 포함한다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 1종 이상의 시토킨은 에리트로포이에틴 (erythropoietin: Epo), SCF, GM-CSF, Flt-3L, TNF α , IL-3, 또는 이의 임의의 조합물이다. 상기 방법의 다른 구체적인 실시양태에서, 상기 개체는 포유동물이다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 개체는 인간이다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 CD34⁺ 줄기 또는 전구 세포를 적합한 조건하에 및 면역조절 화합물, 또는 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물 또는 전구약물의 존재하에 분화시키는 것을 포함하는, 상기 세포의 적혈구 계통으로의 분화의 조절 방법을 제공한다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 면역조절 화합물은 아미노-치환된 탈리도미드이다. 다른 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 면역조절 화합물은 IMiD이다. 보다 더욱 구체적인 실시양태에서, 상기 IMiD는 α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드 (4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온으로서도 공지됨); α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드의 유사체 또는 전구약물; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온의 유사체 또는 전구약물, 또는 화학



식 α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드 (4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온으로서도 공지됨)의 화합물이다. 다른 보다 더욱 구체적인 실시양태에서, 상기 IMiD는 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린, 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린, 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-6-아미노이소인돌린, 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린, 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린, 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린이다. 다른 구체적인 실시양태에서, 상기 CD34⁺ 줄기 또는 전구 세포는 시험관 내 세포이다. 다른 구체적인 실시양태에서, 상기 CD34⁺ 줄기 또는 전구 세포는 생체 내 세포이다.

다른 구체적인 실시양태에서, 상기 방법은 상기 세포를 1종 이상의 시토킨과 접촉시키는 것을 추가로 포함한다. 보다 구체적인 실시양태에서, 1종 이상의 시토킨은 에리트로포이에틴, SCF, GM-CSF, Flt-3L, TNF α , IL-3, 또는 이의 임의의 조합물이다.

본 발명은 또한 본 발명의 화합물 및 또 다른 화합물 또는 시토킨을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 따라서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체, IMiD (상표명) 및 제2 화합물을 포함하며, 여기서 제2 화합물은 태아 헤모글로빈을 유도하는 화합물, 혈관을 이완시키는 화합물, 헤모글로빈 S에 공유 결합하는 경우에 헤모글로빈 S의 자가-응집을 감소시키는 화합물, 가르도스 채널 길항제인 화합물, 또는 적혈구 유착을 감소시키는 화합물인 제약 조성물을 제공한다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 제2 화합물은 히드록시우레아, 구아니디노 유도체, 아산화질소, 부티레이트 또는 부티레이트 유도체, 알데히드 또는 알데히드 유도체, 항염산화 활성을 갖는 식물 추출물 (예를 들어, 헤묵신 (상표명)), 클로트리마졸, 트리아틸메탄의 유도체, 모노클로날 항체 또는 폴리에틸렌 글리콜 유도체이다.

또한, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 IMiD (상표명) 및 1종 이상의 시토킨을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 구체적인 실시양태에서, 상기 시토킨은 에리트로포이에틴 (Epo), SCF, GM-CSF, Flt-3L, TNF α , IL-3, 또는 이의 임의의 조합물이다.

본 발명은 추가로 혈색소병증 또는 빈혈을 갖는 개체에게 알파 헤모글로빈 안정화 단백질 (AHSP)의 수준에서 검출가능한 증가를 유도하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 혈색소병증 또는 빈혈을 갖는 개체의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법의 한 실시양태에서, 화합물은 IMiD (상표명)이다. 구체적인 실시양태에서, 상기 화합물은 α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드 (4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온으로서도 공지됨) 또는 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온이다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "혈색소병증"은 개체의 임의의 헤모글로빈의 구조 또는 기능에서의 임의의 결함을 의미하고, 임의의 돌연변이, 예컨대 임의의 헤모글로빈 유전자의 코딩 영역에서의 결실 돌연변이 또는 치환 돌연변이, 또는 정상 또는 표준 상태에 비해 생성된 헤모글로빈의 양의 감소를 야기하는 유전자의 프로모터 또는 인핸서에서의 돌연변이 또는 이의 결실에 의해 야기된 헤모글로빈의 1차, 2차, 3차 또는 4차 구조에서의 결함을 포함한다. 상기 용어는 외부 인자, 예컨대 질환, 화학요법, 독소, 독물 등에 의해 야기된, 정상적이든 비정상적이든 헤모글로빈의 양 또는 효능의 임의의 감소를 추가로 포함한다.

본원에 사용된 바와 같이, "빈혈"은 정상 상태에 비해 혈류 내 헤모글로빈 양의 임의의 감소를 의미한다. 상기 감소는 혈구의 손실, 철 결핍, 독소, 독물, 질환, 또는 임의의 다른 생리적 원인에 기인할 수 있다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "혈색소병증의 증상" 및 "빈혈의 증상"은, 비제한적으로 현기증, 숨참, 의식 상실, 피로, 허약, 용혈, 비정상적인 헤모글로빈과 연관된 동통, 적혈구 수 감소 (즉, 적혈구용적률 감소), 정상적인 혈액의 부피에 비해 산소를 운반하는 혈액의 부피 능력 감소, 현미경 하의 가시 적혈구 변형 등을 비롯한, 임의의 혈색소병증 또는 빈혈과 연관된 임의의 생리적 또는 생물학적 증상을 의미한다. 또한, 상기 용어는 부정적인 심리적 증상, 예컨대 우울증, 자존감 저하, 질병 지각, 제한된 물리적 능력 지각 등을 포함한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "IMiD"는 화합물 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 (α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드로서도 공지됨) 및 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온을 비롯한, 하기 섹션 5.2에 개시된 화합물의 부류를 의미한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "CC-5013" 및 "레비미드 (Revimid: 상표명)"은 화합물 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온 (또한, 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온으로서 공지됨)을 의미한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "CC-4047" 및 "악티미드 (Actimid: 상표명)"는 화합물 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 (또한, α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드로서 공지됨)을 의미한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "CD34⁺ 세포"는 CD34⁺ 줄기 세포, 선조 세포, 또는 전구 세포를 의미한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 해목신(상표명) 및 니프리산(상표명)은 냉수로 추출한, 피퍼 귀닌세 (*Piper guineense*) 종자 약 12 내지 약 17 중량부, 프테로카르푸스 오순 (*Pterocarpus osun*) 줄기 약 15 내지 약 19 중량부, 유지니아 카료필라타 (*Eugenia caryophyllata*) 열매 약 12 내지 약 18 중량부, 및 소르굼 비콜로르 (*Sorghum bicolor*) 잎 약 25 내지 약 32 중량부, 및 임의로 가성 칼륨 15-22 중량부의 혼합물인 것을 특징으로 하는, 미국 특허 제5,800,819호에 개시된 바와 같은 식물 추출물을 지칭한다. 이러한 식물 추출물은 항염상화 활성을 갖는다.

도면의 간단한 설명

4. 도면의 간단한 설명

도 1은 SCF, Flt3-L, DMSO (대조군) 또는 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 존재하에, GM-CSF 및 TNF α 의 존재하에서의 CD34⁺ 세포 분화의 시간선 (time line)을 도시한다.

도 2는 DMSO (대조군) 또는 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온에 대한 태아 헤모글로빈 유전자 헤모글로빈 ϵ_1 , 헤모글로빈 γ_A 및 헤모글로빈 γ_B 의 발현 유도를 도시한다. 또한, 헤모글로빈 ϵ_1 에 관한 EST의 유도에 대한 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 (CC-4047)의 효과가 도시되어 있다.

도 3은 배양 6일 후에 0, 0.01, 0.1, 1.0, 10 또는 100 μ M의 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 또는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 존재하에서의 CD34⁺ 세포 내 마커 글리코포린 A의 수준을 도시한다.

도 4는 배양 6일 후에 0, 0.01, 0.1, 1.0, 10 또는 100 μ M의 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 또는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 존재하에서의 CD34⁺ 세포 내 태아 헤모글로빈의 수준을 도시한다.

도 5는 SCF, Flt3-L, GM-CSF 및 TNF α 를 함유하는 배지에서의 배양 0, 3 및 6일째에 적혈구-특이적 유전자의 상대적 발현 수준을 나타내는 마이크로어레이 (microarray)의 일부를 도시한다. 발현 수준은 RNA-유도된 비오틴-표지된 cRNA를 아피메트릭스 (Affymetrix) U133A 마이크로어레이에 혼성화시켜 측정한다.

도 6은 DMSO (대조군) 또는 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 존재하에, SCF, Flt3-L 및 IL-3의 존재하에서의 CD34⁺ 세포 증식, 이어서 SCF 및 에리트로포이에틴의 존재하에서의 분화의 시간선을 도시한다.

도 7은 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 또는 DMSO (대조군)의 존재하에, Epo 및 SCF의 존재하에서의 분화 후 글리코포린 A 발현의 경미한 감소를 나타내는 FACS 분석의 결과를 도시한다. 각 사분면 내의 수치는 글리코포린 A 및(또는) CD71을 발현하는 세포의 백분율을 나타낸다.

도 8은 DMSO 대조군과 비교하여, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온, 및 SCF (50 ng/ml) + Epo (4 단위/ml)의 존재하에, 6일 동안 분화된 CD34⁺ 세포에서의 태아 헤모글로빈 발현 증가를 도시한다. 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 농도는 0.001 μ M 내지 10 μ M로 변화시켰다. 데이터 포인트는 태아 헤모글로빈을 발현하는 유동 세포측정으로 확인된 세포의 백분율을 나타낸다.

도 9는 태아 헤모글로빈 발현 (Y-축)의 증가가 성인 헤모글로빈 발현의 감소와 연관되어 있음을 제시하는 FACS 분석을 도시한다. 각 사분면 내의 수치는 태아 헤모글로빈 및(또는) 성인 헤모글로빈을 발현하는 세포의 백분율을 나타낸다. 세포는 Epo, SCF, 및 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 또는 DMSO의 존재하에 6일 동안 분화시켰다.

도 10은 히드록시우레아 또는 5-아자시티딘에 의해 유도된 것과 비교한 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온으로 인한 태아 헤모글로빈의 발현 증가를 도시한다. SCF (50 ng/ml) 및 Epo (2 U/ml), 및 DMSO (대조군), 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 (0.1, 1, 10 μ M), 5-아자시티딘 (0.1, 1 μ M; 10 μ M에서 독성) 또는 히드록시우레아 (0.1, 1, 10 μ M)의 존재하에, 세포를 6일 동안 배양하였다. 막대는 태아 헤모글로빈 발현을 보여주는 세포의 백분율을 나타낸다.

도 11은 태아 헤모글로빈 발현의 증가에 있어서, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 및 히드록시우레아의 상승효과를 보여주는 유동 세포측정 분석을 도시한다. CD34⁺ 세포는 상기와 같이 SCF 및 Epo, 및 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온 또는 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 존재하에 6일 동안 분화시켰다 (섹션 5.2 참조). 각 패널안의 수치는 태아 헤모글로빈을 발현하는 세포의 백분율을 나타낸다.

도 12는 Epo의 존재 또는 부재하에, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 또는 DMSO (대조군)의 존재하에 UT-7 유래 STAT5의 젤을 도시한다. 하부 패널: STAT5 단백질의 절대 수준. 상부 패널: 인산화 STAT5 단백질의 수준.

발명의 상세한 설명

5. 발명의 상세한 설명

5.1. CD34⁺ 세포의 적혈구 계통으로의 분화

본 발명은 CD34⁺ 줄기 세포, 선조 세포 또는 전구 세포의 우세한 적혈구 계통으로의 분화를 조절하는 방법을 제공한다. 발명자들은 IMiD (상표명)로서 공지된 면역조절 화합물의 부류를 적합한 조건하에 상기 세포와 접촉시킬 경우, 적혈구 계통으로의 분화에서 변형을 야기하는 것을 밝혀내었다. 분화에서의 변형은, 비제한적으로 글리코포린 A, 및 태아 헤모글로빈, 예컨대 헤모글로빈 γ 및 헤모글로빈 ϵ 를 코딩하는 유전자의 발현 증가를 비롯한, 유전자 발현에서의 특성 변화로 증명된다. 따라서, 본 발명의 방법은 개별의 헤모글로빈-생성 세포의 천연 발생 군을 대체할 수 있는 헤모글로빈-생성 세포군 생산을 증진시키는 방법을 제공한다는 점에서 매우 유용하다.

또한, IMiD (상표명)는 베타 헤모글로빈, 또는 헤모글로빈 A (Hb $\alpha_2\beta_2$)가 아니라 알파 헤모글로빈에 우선적으로 결합하는 단백질인 알파 헤모글로빈 안정화 단백질의 분화된 CD34⁺ 세포 발현을 증가시킨다. 이는, 베타 헤모글로빈을 초과한 알파 헤모글로빈은 적혈구를 손상시키는 침전물을 형성시키는 경향이 있기 때문에 유리하다. 이와 같이, AHSP, 및 AHSP 발

현에서의 IMiD 매개 증가는 베타 지중해빈혈을 비롯한, 과량의 알파 헤모글로빈의 병리상태를 조절하는 것으로 예측된다. 태아 헤모글로빈의 발현을 증가시키는 다른 약물과 비교하여, 태아 헤모글로빈 발현의 증진과 커플링된 AHSP 발현 상에서의 이러한 효과가 IMiD 치료의 이점이다.

따라서, 본 발명은 먼저 적합한 조건하에 및 면역조절 화합물, 예컨대 IMiD, 또는 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포집화합물 또는 전구약물의 존재하에 상기 세포를 분화시키는 것을 포함하는, CD34⁺ 세포의 적혈구 계통으로의 분화를 조절하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 사용될 수 있는 IMiD (상표명)의 예는 하기 섹션 5.2에 자세하게 기술되어 있다. 그러나, 특히 바람직한 IMiD (상표명)는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온 및 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온이다.

CD34⁺ 세포는 적혈구로 분화될 수 있는 임의의 줄기 세포, 선조 세포, 또는 수임 세포일 수 있다. 상기 세포는 전능성 또는 다능성일 수 있거나, 또는 조혈 계통으로 수임될 수 있다. CD34⁺ 세포는 임의의 근원으로부터 유도될 수 있는데; 태반으로부터 유도된 "배아-유사" 줄기세포가 특히 바람직하다. 상기 배아-유사 줄기 세포에 대한 기술 및 이들을 획득하는 방법에 대해서는, 전문이 참고문헌으로 혼입되어 있는, 2003년 9월 25일에 공개된 미국 출원 공개 번호 제US 2003/0180269 A1호를 참조한다. 본 발명의 방법에 유용한 기타 CD34⁺ 세포는 임의의 조직으로부터 수득한 줄기 세포 (예컨대, 조혈 줄기 세포 또는 배아 줄기 세포) 및 임의의 조직 유래의 비-수임 선조 세포를 포함한다. 상기 CD34⁺ 세포를 본 발명의 방법에 따라 분화를 조절하여 빈혈 또는 혈액소병증을 치료하는데 사용할 경우, 상기 세포는 예정된 수혜자를 참조하여 이종유래 또는 자기유래일 수 있다.

CD34⁺ 세포의 분화는 전형적으로 3-6일의 과정에 걸쳐 일어날 수 있다. CD34⁺ 세포가 IMiD의 존재하에 배양되는 시험관 내 분석 (실시예에서 기술됨)에서, 적혈구 경로를 따른 분화를 나타내는 유전자 발현의 변화는 배양 후 3일째에 분명해진다. 적혈구-특이적 유전자 발현이 상당히 증가하고, 적혈구의 표현형 특성은 배양 후 6일째에 CD34⁺ 세포에서 나타난다.

따라서, 본 발명에 따라, CD34⁺ 세포는 본 발명의 화합물, 예컨대 면역조절 화합물, 구체적으로 IMiD의 존재하에 적혈구-특이적 유전자 발현, 특히 태아 헤모글로빈 유전자 발현, 및(또는) 세포 특성이 나타나기에 충분한 기간 동안 시험관 내에서 배양될 수 있다. 다양한 실시양태에서, CD34⁺ 세포는 3, 6, 9 또는 12일 이상 동안 배양될 수 있다. 본 발명의 화합물은 분화가 실질적으로 완료될 때까지, 또는 3, 6, 9, 12일 이상 동안 배양 시작 때 한번, 및 지속된 배양 동안 계속해서 도입될 수 있다. 별법으로, 본 발명의 화합물은 배양 동안 여러 번 CD34⁺ 세포의 배양물에 투여될 수 있다. CD34⁺ 세포는 본 발명의 단일 화합물, 또는 본 발명의 상이한 다수의 화합물의 존재하에 배양되고 분화될 수 있다.

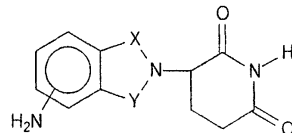
본 발명의 화합물은 0.01 μ M-10 mM의 임의의 농도에서 사용될 수 있다. 바람직하게는, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 농도는 0.01-10 μ M이고, 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 농도는 바람직하게는 0.01-100 μ M이다.

시험관 내 CD34⁺ 세포 분화에 추가로, 상기 세포는 개별의 생체 내에서 분화될 수 있다. 상기 개체는 바람직하게는 포유동물이고, 보다 바람직하게는 인간이다. CD34⁺ 세포의 시험관 내 분화와 같이, 개체 내의 CD34⁺ 세포는 본 발명의 1종 이상의 면역조절 화합물의 투여에 의해 분화될 수 있다. 상기 투여는 단일 투여의 형태일 수 있다. 별법으로, 본 발명의 1종 이상의 화합물을 상기 개체에게 여러 차례 투여할 수 있다. 상기 투여는, 예를 들어 3, 6, 9, 12일 이상에 걸쳐 수행될 수 있고, 하기 섹션 5.4에 기술된 투여 섭생(들) 및 형태를 따를 수 있다.

CD34⁺ 세포의 분화를 생체 내에서 수행할 경우, 분화는 면역조절 화합물 단독, 또는 면역조절 화합물과 1종 이상의 시토킨과의 조합물을 사용하여 수행할 수 있다. 예를 들어, SCF 및(또는) 에리트로포이에틴의 정상보다 높은 수준을 갖는, 혈액소병증, 예컨대 겸상 적혈구성 빈혈 또는 지중해빈혈을 갖는 개체에 대해, 생체 내 분화는 1종 이상의 면역조절 화합물 (예를 들어, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온)의 투여에 의해 달성할 수 있다. 역으로, 개체가 적혈구조혈 시토킨 (예를 들어, SCF 또는 에리트로포이에틴)의 정상보다 낮은 수준의 결과이거나 또는 이를 특징으로 하는 빈혈을 앓는 경우, 상기 시토킨은 면역조절 화합물의 투여와 함께, 또는 그에 앞서 투여될 수 있다. 예를 들어, 화학요법-유도된 빈혈을 겪는 개체에게 1종 이상의 시토킨 (예를 들어, SCF, Flt-3L 및 IL-3의 조합물)을, 예를 들어 3-6일 동안 투여하고, 이어서 본 발명의 1종 이상의 면역조절 화합물을 상기 개체의 CD34⁺ 세포 내 태아 헤모글로빈 발현의 검출가능한 증가를 유도하기에 충분한 양으로, 예를 들어 3-6일 동안, 특히 SCF 및 에리트로포이에틴과 함께 투여할 수 있

다. 별법으로, 상기 개체에게 1종 이상의 시토킨 (예를 들어, SCF, Flt-3L 및 IL-3의 조합물)과 접촉한 CD34⁺ 세포를, 예를 들어 3-6일 동안 투여하고, 이어서 상기 개체에게 상기 세포를 CD34⁺ 세포 내 태아 헤모글로빈 발현의 검출가능한 증가를 유도하기에 충분한 양으로, SCF 및 에리트로포이에틴과 함께, 투여할 수 있다. 상기 투여는 1회 또는 다수 회 수행될 수 있고, 임의의 1종 이상의 투여는 본 발명의 화합물 (섹션 5.3 참조), 제2 화합물 (하기 참조), 또는 모든 3개의 조합물 투여에 의해 수행될 수 있다.

적혈구생성 및(또는) 조혈과 연관되거나 또는 그에 필요한 세포에서 1종 이상의 유전자, 특히 태아 헤모글로빈을 코딩하는 1종 이상의 유전자를 유도하기 위해, 임의의 본 발명의 화합물 (예를 들어, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온 또는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온)을 CD34⁺ 줄기 세포, 선조 세포 또는 전구 세포와 접촉시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명은 조혈 줄기 세포, 선조 세포 또는 전구 세포를 에리트로포이에틴 및 줄기 세포 인자의 존재하에, 상기 조혈 줄기 세포, 선조 세포 또는 전구 세포가 태아 헤모글로빈을 코딩하는 1종 이상의 유전자의 발현을 유도하기에 충분한 양으로 존재하는 면역 조절제와 접촉시키는 것을 포함하는, 적혈구생성 또는 조혈과 연관되거나 또는 그에 필수적인 1종 이상의 유전자를 유도하는 방법을 제공한다. 구체적인 실시양태에서, 상기 조혈 줄기 세포, 선조 세포 또는 전구 세포는 CD34⁺ 세포이다. 다른 구체적인 실시양태에서, 적혈구생성 또는 조혈과 연관되거나 또는 그에 필수적인 1종 이상의 유전자는 크루펠 (Kruppel)-유사 인자 1 적혈구; 레서스 혈액형-연관 당단백질; 글리코포린 B; 인테그린 알파 2b; 적혈구-연관 인자; 글리코포린 A; 켈 (Kell) 혈액형 전구체; 헤모글로빈 α2; 용질 담체 4, 음이온 교환체; 탄소성 안히드라제 1 헤모글로빈 γA; 헤모글로빈 γG; 헤모글로빈 ε1; 또는 상기 임의의 조합물을 코딩하는 유전자이다. 다른 구체적인 실시양태에서, 상기 면역조절제는 IMiD (상표명)이다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 IMiD는 α-(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드; α-(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드의 유사체 또는 전구약물; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-



디온의 유사체 또는 전구약물; 또는 화학식 Nc1ccc2c(c1)nc(c2)N3CCCC(=O)N3C(=O)C4CCCC4의 화합물이다.

본 발명의 1종 이상의 화합물에 추가로, CD34⁺ 세포는 1종 이상의 시토킨의 존재하에 생체 내 또는 시험관 내에서 추가적으로 분화될 수 있다. 적혈구 분화 경로에 따라 CD34⁺ 세포를 지시하는데 유용한 시토킨은, 비제한적으로 에리트로포이에틴 (Epo), TNFα, 줄기 세포 인자 (SCF), Flt-3L, 및 과립구 대식세포-콜로니 자극 인자 (GM-CSF)를 포함한다. Epo 및 SCF는 적혈구조혈 시토킨으로 공지되어 있다. 따라서, 한 실시양태에서, CD34⁺ 세포는 Epo 또는 SCF의 존재하에 분화된다. 다른 바람직한 실시양태에서, CD34⁺ 세포는 Epo 및 SCF의 존재하에 분화된다. 다른 실시양태에서, CD34⁺ 세포는 TNFα, SCF, Flt-3L 및 GM-CSF의 조합물의 존재하에 분화된다. 다른 실시양태에서, 분화된 상기 세포는 세포 배양물 내의 1종 이상의 세포이다. 다른 실시양태에서, 분화된 상기 세포는 개체 내의 세포이다. 시험관 내 분화의 한 실시양태에서, 1종 이상의 Epo, TNFα, SCF, Flt-3L 및 GM-CSF는 1종 이상의 IMiD (상표명)와 접촉시킨다. 생체 내 분화의 한 실시양태에서, 1종 이상의 Epo, TNFα, SCF, Flt-3L 및 GM-CSF는 1종 이상의 IMiD (상표명)로서 동일한 치료 섭생으로 개체에게 투여한다.

본 발명의 방법에 사용되는 시토킨은 천연 발생 시토킨이거나, 또는 상기 시토킨의 인조 유도체 또는 유사체일 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물과 조합하여 사용될 수 있는 에리트로포이에틴의 유사체 또는 유도체는, 비제한적으로 아라네스프 (Aranesp)(상표명) 및 다르보포이에틴 (Darbopoietin)(상표명)을 포함한다.

사용되는 시토킨은 천연 자원으로부터 정제되거나 또는 재조합으로 제조될 수 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 재조합 시토킨의 예는 필그라스티 (filgrastim), 또는 상표명 뉴포젠 (Neupogen)(등록상표)(미국 캘리포니아주 싸우전드 오크 소재 암젠사)으로 미국에서 시판되고 있는 재조합 과립구-콜로니 자극 인자 (G-CSF); 사르그라마스티 (Sargramostim), 또는 상표명 루킨 (Leukine)(등록상표)(미국 위싱턴주 시애틀 소재 이뮤넥스사)으로 미국에서 시판되고 있는 재조합 GM-CSF; 상표명 에포젠 (Epogen)(등록상표)(미국 캘리포니아주 싸우전드 오크 소재 암젠사)으로 미국에서 시판되고 있는 재조합 Epo; 및 상표명 안세스티 (Ancestim)으로 미국에서 시판되고 있는 메티오닐 줄기 세포 인자 (SCF)이다. GM-CSF의 재조합 및 돌연변이 형태는 모두 전문이 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제5,391,485호; 동 제5,393,870호; 및 동 제5,229,496호에 기술된 바와 같이 제조할 수 있다. G-CSF의 재조합 및 돌연변이 형태는 모두 전문이 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제4,810,643호; 동 제4,999,291호; 동 제5,528,823호 및 동 제5,580,755호에 기술된 바와 같이 제조할 수 있다.

조혈 전구 세포 및 면역적으로 활성화된 잠재 세포의 시험관 내 또는 생체 내 생존 및(또는) 증식을 촉진시키거나, 또는 세포에서 시험관 내 또는 생체 내 수임 적혈구 전구 세포의 분열 및 분화를 자극하는데에 다른 시토킨이 사용될 수 있다. 상기 시토킨은, 비제한적으로 인터루킨, 예컨대 IL-2 (재조합 IL-II ("rIL2")) 및 카나리폭스 (canarypox) IL-2), IL-10, IL-12, 및 IL-18; 인터페론, 예컨대 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 알파-n1, 인터페론 알파-n3, 인터페론 베타-1a, 및 인터페론 감마-1b; 및 G-CSF를 포함한다.

본 발명의 화합물을 혈색소병증을 갖는 인간에게 투여할 경우, 이는 특히 Epo의 존재하에, 특히 TNF α , SCF, Flt-3L 및 GM-CSF의 조합물의 존재하에, 보다 특히 Epo 및 SCF의 존재하에 적혈구의 생산, 및 태아 헤모글로빈의 생산 및 AHSP의 생산을 유도한다. 상기에 나타난 바와 같이, 사용되는 시토킨은 정제 또는 재조합 형태, 또는 특정 시토킨의 유사체 또는 유도체를 포함할 수 있다.

또한, 본 발명의 화합물은 혈색소병증에 유익한 효과를 갖는 것으로 공지되거나 또는 갖는 것으로 기대되는 1종 이상의 제2 화합물과 조합하여 투여될 수 있다. 본 문맥에서, "유익한 효과"는 혈색소병증 또는 빈혈의 임의의 증상의 소정의 감소의 의미를 의미한다.

예를 들어, 구체적으로 혈색소병증 겸상 적혈구성 빈혈과 관련하여, 제2 화합물은 태아 헤모글로빈의 생산을 유도하는 것으로 공지되거나 또는 기대되는, 본 발명의 화합물 이외의 화합물일 수 있다. 상기 화합물은 히드록시우레아, 및 부티레이트 또는 부티레이트 유도체를 포함한다. 또한, 제2 화합물은 혈관을 이완시키는 화합물, 예컨대 아산화질소, 예를 들어 외인적으로 공급되거나 또는 투여된 아산화질소일 수 있다. 또한, 제2 화합물은 헤모글로빈 S에 직접 결합하여 겸상-유도 형태로 추정되는 것을 억제하는 화합물일 수 있다. 예를 들어, 피퍼 퀴닌세 종자 약 12 내지 약 17 중량부, 테로카르푸스 오순 줄기 약 15 내지 약 19 중량부, 유지니아 카로필라타 열매 약 12 내지 약 18 중량부, 소르굼 비콜로르 약 25 내지 약 32 중량부 잎, 및 임의로 가성 칼륨 15-22 중량부의 혼합 추출물인 해목신(상표명)(니프리산(상표명)); 참조 미국 특허 제 5,800,819호)으로서 공지된, 냉수로 추출한 식물 추출물은 항겸상화 활성을 갖는다. 제2 화합물은 또한 가르도스 채널 길항제일 수 있다. 가르도스 채널 길항제의 예는 클로트리마졸 및 트리아릴 메탄 유도체를 포함한다. 또한, 제2 화합물은 적혈구 유착을 감소시킴으로써 겸상 적혈구성 빈혈에서 퍼지는 응고의 양을 감소시키는 화합물일 수 있다.

기타 혈색소병증은 특정 상태에 효과적인 것으로 공지되거나 또는 기대되는 제2 화합물로 치료될 수 있다. 예를 들어, β -지중해빈혈은 추가적으로 제2 화합물인 데페록시아민, 혈액 내 철의 축적을 억제하는 것을 도와주는 철 킬레이터, 또는 폴레이트(비타민 B9)로 치료될 수 있다. 또한, 지중해빈혈 또는 겸상 적혈구성 빈혈은 제2 화합물로서 단백질 C(미국 특허 제 6,372,213호)로 치료될 수 있다. 식물성 치료법이 혈색소병증, 예를 들어, 지중해빈혈의 증상을 개선할 수 있다는 일부 증거가 있고; 본원에 함유된 상기 치료법, 및 임의의 특이 활성 화합물은 본 발명의 방법에 제2 화합물로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Wu Zhikui et al. "The Effect of Bushen Shengxue Fang on β -thalassemia at the Gene Level," Journal of Traditional Chinese Medicine 18(4): 300-303 (1998)]; [미국 특허 제 6,538,023호. "Therapeutic Uses of Green Tea Polyphenols for Sickle Cell Disease"]을 참조한다. 자가면역 용혈성 빈혈의 치료는 제2 화합물로서 코르티코스테로이드를 포함할 수 있다.

단백질인 제2 화합물은 또한 다른 단백질의 유도체 또는 유사체일 수 있다. 상기 유도체는, 비제한적으로 이들의 천연 발생 형태(예를 들어, 비글리코실화 형태)에 통상적으로 존재하는 탄수화물 잔기가 없는 단백질, 폐쇄화된 유도체 및 융합 단백질, 예컨대 IgG1 또는 IgG3을 상기 단백질 또는 관심있는 단백질의 활성부에 접합시켜 형성시킨 단백질을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Penichet, M. L. and Morrison, S. L., J. Immunol. Methods 248: 91-101 (2001)]을 참조한다.

시토킨 및(또는) 빈혈 또는 혈색소병증의 치료에 잠재적으로 유용한 기타 화합물은 동시에 본 발명에서 유용한 면역조절 화합물로서 투여될 수 있다. 이러한 면에서, 시토킨 또는 기타 화합물은 면역조절 화합물로부터 분리된 제제로서 투여될 수 있고, 가능할 경우, 단일 제약 조성물로서 투여하기 위한 면역조절 화합물과 함께 배합될 수 있다. 별법으로, 시토킨, 기타 화합물, 또는 이들 둘 다는 본 발명의 방법에 사용되는 면역조절 화합물과 별도로 투여될 수 있고, 동일하거나 상이한 투여 스케줄을 따를 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 빈혈 또는 혈색소병증을 치료하는데 유용한 면역조절 화합물, 예를 들어, IMiD(상표명), 시토킨, 및 임의의 다른 화합물은 동시에, 그러나 투여에서의 융통성을 위해 분리 제약 제제로 투여된다.

상기 요약한 치료 조합에 추가로, 치료된 개체는 수액을 받을 수 있다. 상기 수액은 혈액, 바람직하게는 배합된 혈액, 또는 혈액 대용물, 예컨대 헤모스판 (Hemospan) (상표명) 또는 헤모스판 (상표명) PS (산가르트 (Sangart))일 수 있다.

본원에 기술된 임의의 치료 조합에서, 치료된 개체는 진핵세포 생물이다. 바람직하게는, 치료된 개체는 포유동물, 및 보다 바람직하게는 인간이다.

본 발명의 방법은 혈색소병증으로부터 야기된 빈혈을 비롯한 임의의 빈혈을 치료하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 혈색소병증 및 빈혈, 예컨대 겸상 적혈구성 빈혈 또는 지중해빈혈은 원래 유전적일 수 있다. 혈색소병증은 비제한적으로 조혈 또는 림프계의 암을 비롯한 암과 같은 질환에 기인할 수 있다. 본 발명의 방법을 사용하여 치료할 수 있는 다른 상태는 비장기능항진증, 비장절제술, 장 절제술, 및 골수 침윤을 포함한다. 또한, 본 발명의 방법은 독물, 독소 또는 약물의 계획적이거나 또는 우발적인 도입으로 생성된 빈혈의 치료에 사용될 수 있다. 예를 들어, 암 화학요법으로 생성된 빈혈은 본 발명의 방법 및 화합물을 사용하여 치료될 수 있다. 이와 같이, 본 발명의 방법은, 빈혈 또는 혈색소병증이 치료될 주요 상태이거나, 또는 잠재적인 질환 또는 치료 섭생에 의해 야기되는 2차 상태일 경우 사용될 수 있다.

5.2. 본 발명의 화합물

본 발명의 화합물은 상업적으로 구할 수 있거나 본원에 개시된 특허 또는 특허 공보에 기술된 방법에 따라 제조할 수 있다. 또한, 광학적으로 순수한 조성물은 비대칭적으로 합성되거나, 또는 공지된 분할제 또는 키랄 컬럼 및 다른 표준 합성 유기 화학 기술을 사용하여 분할할 수 있다. 본 발명에 사용되는 화합물은 라세미체, 입체적으로 풍부하거나 또는 입체이성질체적으로 순수한 면역조절 화합물, 및 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 입체이성질체, 및 전구약물을 포함한다.

본 발명에 사용되는 바람직한 화합물은 약 1,000 g/mol 미만의 분자량을 갖는 소형 유기 분자이고, 단백질, 펩티드, 올리고뉴클레오타이드, 올리고당 또는 기타 거대분자가 아니다.

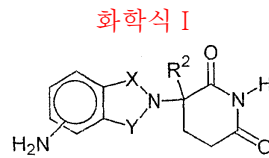
본원에 사용되고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "면역조절 화합물" 및 "IMiD (상표명)" (셀진 코퍼레이션)은 TNF- α , LPS 유도된 단핵구 IL1 β 및 IL12를 현저하게 억제하고, IL6 생산을 부분적으로 억제하는 소형 유기 분자를 포함한다. 구체적인 면역조절 화합물은 하기에 논의된다.

TNF- α 는 급성 염증 동안 대식세포 및 단핵구에 의해 제조되는 염증성 시토킨이다. TNF- α 는 세포 내에서 신호전달 사건의 다양한 범위를 담당한다. 이론에 얽매이지 않으면서, 본 발명의 면역조절 화합물에 의해 작용하는 생물학적 효과 중 하나는 TNF- α 의 합성 감소이다. 본 발명의 면역조절 화합물은 TNF- α mRNA의 분해를 증진시킨다.

추가로, 이론에 얽매이지 않으면서, 본 발명에 사용되는 면역조절 화합물은 또한 T 세포의 효능적 공동-자극제일 수 있고, 투여 의존성 방식으로 세포 증식을 극도로 증가시킨다. 본 발명의 면역조절 화합물은 또한 CD4+ T 세포의 부분집합보다 CD8+ T 세포의 부분집합에서 보다 큰 공동-자극 효과를 갖는다. 추가로, 상기 화합물은 바람직하게는 항염증성 특징을 가지며, 효율적으로 T 세포를 공동 자극한다. 또한, 특정 이론에 제한되지 않으면서, 본 발명에 사용되는 면역조절 화합물은 시토킨 활성화를 통해 간접적으로, 및 천연 킬러 ("NK: Natural Killer") 세포 상에서 직접적으로 작용할 수 있고, 유익한 시토킨 예컨대, 비제한적으로 IFN γ 를 생산하는 NK 세포의 능력을 증가시킨다.

면역조절 화합물의 구체적인 예는 비제한적으로 미국 특허 제5,929,117호에 개시된 것과 같은 치환된 스티렌의 시아노 및 카르복시 유도체; 미국 특허 제5,874,448호 및 동 제5,955,476호에 개시된 1-옥소-2-(2,6-디옥소-3-플루오로피페리딘-3-일)이소인돌린 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소-3-플루오로피페리딘-3-일)이소인돌린; 미국 특허 제5,798,368호에 개시된 테트라 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌린; 비제한적으로 미국 특허 제5,635,517호, 동 제6,476,052호, 동 제6,555,554호, 및 동 제6,403,613호에 개시된 것을 비롯한 1-옥소 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)이소인돌린 (예를 들어, 탈리도미드의 4-메틸 유도체); 미국 특허 제6,380,239호에 기술된 인돌린 고리의 4- 또는 5-위치에서 치환된 1-옥소 및 1,3-디옥소이소인돌린 (예를 들어, 4-(4-아미노-1,3-디옥소이소인돌린-2-일)-4-카르바모일부탄산); 미국 특허 제6,458,810호에 기술된 2-위치에서 2,6-디옥소-3-히드록시피페리딘-5-일로 치환된 이소인돌린-1-온 및 이소인돌린-1,3-디온 (예를 들어, 2-(2,6-디옥소-3-히드록시-5-플루오로피페리딘-5-일)-4-아미노이소인돌린-1-온); 미국 특허 제5,698,579호 및 동 제5,877,200호에 개시된 비-폴리펩티드 시클릭 아미드의 부류; 아미노탈리도미드, 및 아미노탈리도미드의 유사체, 가수분해 생성물, 대사산물, 유도체 및 전구체, 및 미국 특허 제6,281,230호 및 동 제6,316,471호에 기술된 바와 같은 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)프탈리미드 및 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌; 2001년 10월 5일에 출원된 미국 특허 출원 제09/972,487호, 2001년 12월 21일에 출원된 미국 특허 출원 제10/032,286호 및 국제 출원 제PCT/US01/50401호 (국제 공개 제WO 02/059106호)에 기술된 것과 같은 이소인돌-이미드 화합물을 포함한다. 본원에 확인된 각 특허 및 특허 출원의 전문이 참고문헌으로 혼입되어 있다. 면역조절 화합물은 탈리도미드를 포함하지 않는다.

본 발명의 다른 구체적인 면역조절 화합물은, 비제한적으로 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제5,635,517호에 기술된 바와 같은 벤조 고리에서 아미노로 치환된 1-옥소- 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)이소인돌린을 포함한다. 이들 화합물은 화학식 I의 구조를 갖는다:



상기 식에서, X 및 Y 중 하나는 C=O이고, X 및 Y 중 다른 하나는 C=O 또는 CH₂이고, R²는 수소 또는 저급 알킬, 특히 메틸이다. 구체적인 면역조절 화합물은 비제한적으로

1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린;

1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린;

1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-6-아미노이소인돌린;

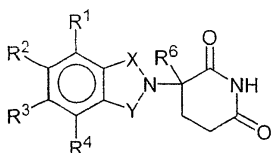
1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-7-아미노이소인돌린;

1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린; 및

1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린

을 포함한다.

본 발명의 다른 구체적인 면역조절 화합물은 각각이 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제6,281,230호; 동 제 6,316,471호; 동 제6,335,349호; 및 동 제6,476,052호, 및 국제특허 출원번호 제PCT/US97/13375호 (국제 공개 번호 제 WO 98/03502호)에 기술된 것과 같은 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)프탈리미드 및 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌린의 부류에 속한다. 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서, X 및 Y 중 하나는 C=O이고, X 및 Y 중 다른 하나는 C=O 또는 CH₂이고;

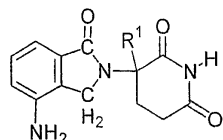
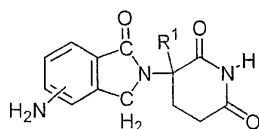
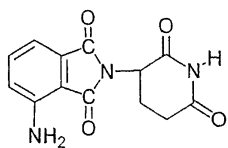
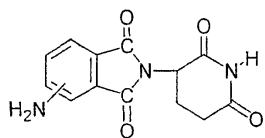
(i) 각각의 R¹, R², R³, 및 R⁴는 서로 독립적으로, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 또는 탄소수 1 내지 4의 알콕시이거나, 또는 (ii) R¹, R², R³, 및 R⁴ 중 하나는 -NHR⁵이고, 나머지 R¹, R², R³, 및 R⁴는 수소이고;

R⁵는 수소 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬이고;

R⁶은 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 벤질, 또는 할로이며;

단, X 및 Y가 C=O인 경우, R⁶은 수소 이외의 것이고, (i) 각각의 R¹, R², R³, 및 R⁴는 플루오로이거나, 또는 (ii) R¹, R², R³, 또는 R⁴ 중 하나는 아미노이다.

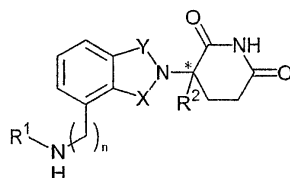
이 부류의 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서, R^1 은 수소 또는 메틸이다. 별개의 실시양태에서, 본 발명은 이들 화합물의 거울상이성질체적으로 순수한 형태 (예를 들어, 광학적으로 순수한 (R) 또는 (S) 거울상이성질체)의 사용을 포함한다.

본 발명의 또 다른 구체적인 면역조절 화합물은 각각이 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 출원 공개 번호 제 US 2003/0096841호, 및 제US 2003/0045552호, 및 국제 출원 번호 제PCT/US01/50401호 (국제 공개 제WO 02/059106호)에 개시된 이소인돌-이미드의 부류에 속한다. 대표적인 화합물은 하기 화학식 II의 화합물, 및 이의 제약상 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클라트레이트, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 라세미체, 및 입체이성질체의 혼합물이다:

화학식 II



상기 식에서,

X 및 Y 중 하나는 C=O이고, 다른 하나는 CH_2 또는 C=O이고;

R^1 은 H, (C_1-C_8) 알킬, (C_3-C_7) 시클로알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, 벤질, 아릴, (C_0-C_4) 알킬- (C_1-C_6) 헤테로시클로알킬, (C_0-C_4) 알킬- (C_2-C_5) 헤테로아릴, $C(O)R^3$, $C(S)R^3$, $C(O)OR^4$, (C_1-C_8) 알킬- $N(R^6)_2$, (C_1-C_8) 알킬- OR^5 , (C_1-C_8) 알킬- $C(O)OR^5$, $C(O)NHR^3$, $C(S)NHR^3$, $C(O)NR^3R^3$, $C(S)NR^3R^3$ 또는 (C_1-C_8) 알킬- $O(CO)R^5$ 이고;

R^2 는 H, F, 벤질, (C_1-C_8) 알킬, (C_2-C_8) 알케닐, 또는 (C_2-C_8) 알키닐이고;

R^3 및 R^3' 는 독립적으로 (C_1-C_8) 알킬, (C_3-C_7) 시클로알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, 벤질, 아릴, (C_0-C_4) 알킬- (C_1-C_6) 헤테로시클로알킬, (C_0-C_4) 알킬- (C_2-C_5) 헤테로아릴, (C_0-C_8) 알킬- $N(R^6)_2$, (C_1-C_8) 알킬- OR^5 , (C_1-C_8) 알킬- $C(O)OR^5$, (C_1-C_8) 알킬- $O(CO)R^5$, 또는 $C(O)OR^5$ 이고;

R^4 는 (C_1-C_8) 알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, (C_1-C_4) 알킬- OR^5 , 벤질, 아릴, (C_0-C_4) 알킬- (C_1-C_6) 헤테로시클로알킬, 또는 (C_0-C_4) 알킬- (C_2-C_8) 헤테로아릴이고;

R^5 는 (C_1-C_8) 알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, 벤질, 아릴, 또는 (C_2-C_8) 헤테로아릴이고;

각각의 R^6 은 독립적으로 H, (C_1-C_8) 알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, 벤질, 아릴, (C_2-C_5) 헤테로아릴, 또는 (C_0-C_8) 알킬- $C(O)O-R^5$ 이거나, 또는 R^6 기는 결합하여 헤테로시클로알킬기를 형성할 수 있고;

n 은 0 또는 1이고;

*은 키랄-탄소 중심을 나타낸다.

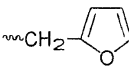
화학식 II의 구체적인 화합물에서, n 이 0인 경우, R^1 은 (C_3-C_7) 시클로알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, 벤질, 아릴, (C_0-C_4) 알킬- (C_1-C_6) 헤테로시클로알킬, (C_0-C_4) 알킬- (C_2-C_5) 헤테로아릴, $C(O)R^3$, $C(O)OR^4$, (C_1-C_8) 알킬- $N(R^6)_2$, (C_1-C_8) 알킬- OR^5 , (C_1-C_8) 알킬- $C(O)OR^5$, $C(S)NHR^3$, 또는 (C_1-C_8) 알킬- $O(CO)R^5$ 이고;

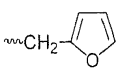
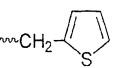
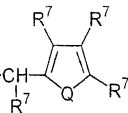
R^2 는 H 또는 (C_1-C_8) 알킬이고;

R^3 은 (C_1-C_8) 알킬, (C_3-C_7) 시클로알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, 벤질, 아릴, (C_0-C_4) 알킬- (C_1-C_6) 헤테로시클로알킬, (C_0-C_4) 알킬- (C_2-C_5) 헤테로아릴, (C_5-C_8) 알킬- $N(R^6)_2$; (C_0-C_8) 알킬- $NH-C(O)O-R^5$; (C_1-C_8) 알킬- OR^5 , (C_1-C_8) 알킬- $C(O)OR^5$, (C_1-C_8) 알킬- $O(CO)R^5$, 또는 $C(O)OR^5$ 이고; 다른 변수는 동일한 정의를 갖는다.

화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, R^2 는 H 또는 (C_1-C_4) 알킬이다.

화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, R^1 은 (C_1-C_8) 알킬 또는 벤질이다.

화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, R^1 은 H, (C_1-C_8) 알킬, 벤질, CH_2OCH_3 , $CH_2CH_2OCH_3$, 또는  이다.

화학식 II의 다른 구체적인 실시양태에서, R^1 은 ,  또는  이고,

여기서, Q는 O 또는 S이고, 각각의 R^7 은 독립적으로 H, (C_1-C_8) 알킬, (C_3-C_7) 시클로알킬, (C_2-C_8) 알케닐, (C_2-C_8) 알키닐, 벤질, 아릴, 할로젠, (C_0-C_4) 알킬- (C_1-C_6) 헤테로시클로알킬, (C_0-C_4) 알킬- (C_2-C_5) 헤테로아릴, (C_0-C_8) 알킬- $N(R^6)_2$, (C_1-C_8) 알킬- OR^5 , (C_1-C_8) 알킬- $C(O)OR^5$, (C_1-C_8) 알킬- $O(CO)R^5$, 또는 $C(O)OR^5$ 이거나, 또는 인접한 R^7 은 함께 결합하여 비시클릭 알킬 또는 아릴 고리를 형성할 수 있다.

화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, R^1 은 $C(O)R^3$ 이다.

화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, R^3 은 (C_0-C_4) 알킬- (C_2-C_5) 헤테로아릴, (C_1-C_8) 알킬, 아릴, 또는 (C_0-C_4) 알킬- OR^5 이다.

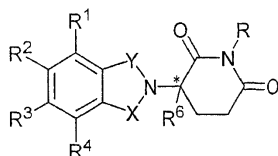
화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, 헤테로아릴은 피리딜, 푸릴, 또는 티에닐이다.

화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, R¹은 C(O)OR⁴이다.

화학식 II의 다른 구체적인 화합물에서, C(O)NHC(O)의 H는 (C₁-C₄)알킬, 아릴, 또는 벤질로 대체될 수 있다.

이 부류에서 상기 화합물의 추가 예는, 비제한적으로 [2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-1,3-디옥소-2,3-디히드로-1H-이소인돌-4-일메틸]-아미드; (2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-1,3-디옥소-2,3-디히드로-1H-이소인돌-4-일메틸)-카르복산 tert-부틸 에스테르; 4-(아미노메틸)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온; N-(2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-1,3-디옥소-2,3-디히드로-1H-이소인돌-4-일메틸)-아세트아미드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)시클로프로필-카르복사미드; 2-클로로-N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)아세트아미드; N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)-3-피리딜카르복사미드; 3-{1-옥소-4-(벤질아미노)이소인돌린-2-일}피페리딘-2,6-디온; 2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-4-(벤질아미노)이소인돌린-1,3-디온; N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸}프로판아미드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)-3-피리딜카르복사미드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)헵탄아미드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)-2-푸릴카르복사미드; {N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)카르바모일}메틸 아세테이트; N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)헵탄아미드; N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)-2-티에닐카르복사미드; N-([2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일]메틸)(부틸아미노)카르복사미드; N-([2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일]메틸)(옥틸아미노)카르복사미드; 및 N-([2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일]메틸)(벤질아미노)카르복사미드를 포함한다.

본 발명의 또 다른 구체적인 면역조절 화합물은 각각이 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 출원 공개 번호 제 US 2002/0045643호, 국제 공개 번호 제WO 98/54170호, 및 미국 특허 제6,395,754호에 개시된 이소인돌-이미드의 부류에 속한다. 대표적인 화합물은 화학식 III의 화합물, 및 이의 제약상 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 포접화합물, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 라세미체, 및 입체이성질체의 혼합물이고,



상기 식에서,

X 및 Y 중 하나는 C=O이고, 다른 하나는 CH₂ 또는 C=O이고;

R은 H 또는 CH₂OCOR'이고;

(i) 각각의 R¹, R², R³, 또는 R⁴는 서로 독립적으로, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 또는 탄소수 1 내지 4의 알콕시이거나, 또는 (ii) R¹, R², R³, 또는 R⁴ 중 하나는 니트로 또는 -NHR⁵이고, 나머지 R¹, R², R³, 또는 R⁴는 수소이고;

R⁵는 수소 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬이고,

R⁶은 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 벤조, 클로로, 또는 플루오로이고;

R'는 R⁷-CHR¹⁰-N(R⁸R⁹)이고;

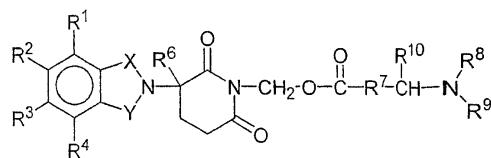
R⁷은 m-페닐렌 또는 p-페닐렌 또는 -(C_nH_{2n}) (여기서, n은 0 내지 4의 값을 가짐)이고;

각각의 R^8 및 R^9 는 서로 독립적으로, 수소 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬이거나, 또는 R^8 및 R^9 는 함께 테트라메틸렌, 펜타메틸렌, 헥사메틸렌, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}_1\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (여기서, X_1 은 $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, 또는 $-\text{NH}-$ 임)이고;

R^{10} 은 수소, 탄소수 8 이하의 알킬, 또는 페닐이고;

*은 키랄-탄소 중심을 나타낸다.

다른 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서,

X 및 Y 중 하나는 $\text{C}=\text{O}$ 이고, X 및 Y 중 다른 하나는 $\text{C}=\text{O}$ 또는 CH_2 이고;

(i) 각각의 R^1 , R^2 , R^3 , 또는 R^4 는 서로 독립적으로, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 또는 탄소수 1 내지 4의 알콕시이거나, 또는 (ii) R^1 , R^2 , R^3 , 또는 R^4 중 하나는 $-\text{NHR}^5$ 이고, 나머지 R^1 , R^2 , R^3 , 또는 R^4 는 수소이고;

R^5 는 수소 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬이고;

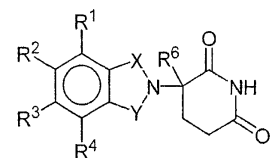
R^6 은 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 벤조, 클로로, 또는 플루오로이고;

R^7 은 m-페닐렌 또는 p-페닐렌 또는 $-(\text{C}_n\text{H}_{2n})-$ (여기서, n은 0 내지 4의 값을 가짐)이고;

각각의 R^8 및 R^9 는 서로 독립적으로, 수소 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬이거나, 또는 R^8 및 R^9 는 함께 테트라메틸렌, 펜타메틸렌, 헥사메틸렌, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}_1\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (여기서, X_1 은 $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, 또는 $-\text{NH}-$ 임)이고;

R^{10} 은 수소, 탄소수 8 이하의 알킬, 또는 페닐이다.

다른 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



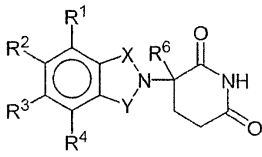
상기 식에서,

X 및 Y 중 하나는 $\text{C}=\text{O}$ 이고, X 및 Y 중 다른 하나는 $\text{C}=\text{O}$ 또는 CH_2 이고;

각각의 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는, 서로 독립적으로, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 또는 탄소수 1 내지 4의 알콕시이거나, 또는 (ii) R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 중 하나는 니트로 또는 보호된 아미노이고, 나머지 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 수소이고;

R^6 은 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 벤조, 클로로, 또는 플루오로이다.

다른 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서,

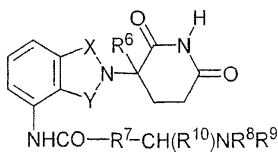
X 및 Y 중 하나는 C=O이고, X 및 Y 중 다른 하나는 C=O 또는 CH₂이고;

(i) 각각의 R¹, R², R³, 및 R⁴는 서로 독립적으로, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 또는 탄소수 1 내지 4의 알콕시이거나, 또는 (ii) R¹, R², R³, 및 R⁴ 중 하나는 -NHR⁵이고, 나머지 R¹, R², R³, 및 R⁴는 수소이고;

R⁵는 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 또는 CO-R⁷-CH(R¹⁰)NR⁸R⁹ (여기서, 각각의 R⁷, R⁸, R⁹, 및 R¹⁰은 본원에 정의된 바와 같음)이고;

R⁶은 탄소수 1 내지 8의 알킬, 벤조, 클로로, 또는 플루오로이다.

상기 화합물의 구체적인 예는 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서,

X 및 Y 중 하나는 C=O이고, X 및 Y 중 다른 하나는 C=O 또는 CH₂이고;

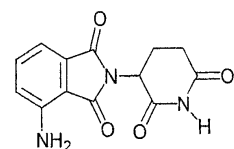
R⁶은 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 벤질, 클로로, 또는 플루오로이고;

R⁷은 m-페닐렌, p-페닐렌 또는 -(C_nH_{2n})- (여기서, n은 0 내지 4의 값을 가짐)이고;

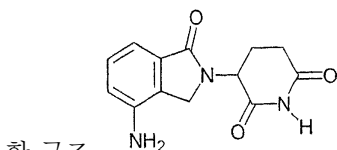
각각의 R⁸ 및 R⁹는 서로 독립적으로, 수소 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬이거나, 또는 R⁸ 및 R⁹는 함께 테트라메틸렌, 펜타메틸렌, 헥사메틸렌, 또는 -CH₂CH₂X¹CH₂CH₂- (여기서, X¹은 -O-, -S- 또는 -NH-임)이고; R¹⁰은 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 또는 페닐이다.

본 발명의 바람직한 면역조절 화합물은 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 및 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온이다. 상기 화합물은 표준 합성법 (예를 들어, 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제5,635,517호 참조)을 통해 수득할 수 있다. 상기 화합물은 뉴저지주 워렌 소재의

셀진 코포레이션으로부터 입수가 가능하다. 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온은 화학 구조



를 가지며, 화합물 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온은 화



학 구조 를 갖는다.

다른 실시양태에서, 본 발명의 구체적인 면역조절 화합물은 둘 다 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 2003년 9월 4일에 출원된 미국 가출원 번호 제60/499,723호, 및 이에 상응하는 2004년 9월 3일에 출원된 미국 비-가출원에 개시된 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 다형성 형태, 예컨대 형태 A, B, C, D, E, F, G 및 H를 포함한다. 예를 들어, 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 형태 A는 비-수성 용매계로부터 수득할 수 있는 비용매화된 결정질 물질이다. 형태 A는 대략 8, 14.5, 16, 17.5, 20.5, 24 및 26°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 약 270°C의 최대 시차 주사 열량계 용융 온도를 갖는다. 형태 A는 약하게 흡습성이거나 흡습성이 아니고, 지금까지 발견한, 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 가장 열역학적으로 안정한 무수 다형체인 것으로 나타난다.

3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 형태 B는, 비제한적으로 헥산, 톨루엔, 및 물을 포함하는 다양한 용매계로부터 수득할 수 있는 반수화된 결정질 물질이다. 형태 B는 대략 16, 18, 22 및 27°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 핫 스테이지 (hot stage) 현미경 실험에 의해 탈수 및 용융으로 확인된 약 146 및 268°C의 DSC 곡선으로부터의 흡열성을 갖는다. 상호전환 연구는 형태 B가 수성 용매계에서는 형태 E로 전환하고, 아세톤 및 다른 무수계 중에서는 다른 형태로 전환함을 제시한다.

3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 형태 C는, 비제한적으로 아세톤과 같은 용매로부터 수득할 수 있는 반수화된 결정질 물질이다. 형태 C는 대략 15.5 및 25°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 약 269°C의 최대 시차 주사 열량계 용융 온도를 갖는다. 형태 C는 약 85% RH 미만에서는 흡습성이 아니나, 보다 높은 상대 습도에서 형태 B로 전환할 수 있다.

3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 형태 D는 아세토니트릴 및 물의 혼합물로부터 제조된 결정질의 용매화된 다형체이다. 형태 D는 대략 27 및 28°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 약 270°C의 최대 시차 주사 열량계 용융 온도를 갖는다. 형태 D는 약하게 흡습성이거나 흡습성이 아니나, 전형적으로 보다 높은 상대 습도에서 가압할 경우, 형태 B으로 전환할 것이다.

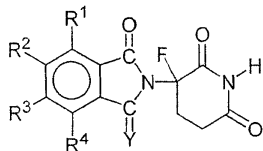
3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 형태 E는 물 중에서 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온을 슬러리화시키고, 약 9:1 아세톤:물의 비율을 갖는 용매계 중에서 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온을 천천히 증발시켜 수득할 수 있는 이수화된 결정질 물질이다. 형태 E는 대략 20, 24.5 및 29°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 약 269°C의 최대 시차 주사 열량계 용융 온도를 갖는다. 형태 E는 아세톤 용매계 중에서는 형태 C로, 및 THF 용매계 중에서는 형태 G로 전환할 수 있다. 수성 용매계 중에서 형태 E가 가장 안정한 형태인 것으로 나타난다. 형태 E 상에서 수행된 탈용매화 실험은 약 125°C에서 약 5분 동안 가열시, 형태 E는 형태 B로 전환할 수 있음을 제시한다. 175°C에서 약 5분 동안 가열시, 형태 B는 형태 F으로 전환할 수 있다.

3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 형태 F는 형태 E를 탈수시켜 수득할 수 있는 비용매화된 결정질 물질이다. 형태 F는 대략 19, 19.5 및 25°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 약 269°C의 최대 시차 주사 열량계 용융 온도를 갖는다.

3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 형태 G는, 비제한적으로 테트라히드로푸란 (THF)과 같은 용매 중에서 B 및 형태 E를 슬러리화시켜 수득할 수 있는 비용매화된 결정질 물질이다. 형태 G는 대략 21, 23 및 24.5°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 약 267°C의 최대 시차 주사 열량계 용융 온도를 갖는다.

3-(4-아미노-1-옥소-1,3 디히드로-이소인돌-2-일)-피페리덴-2,6-디온의 형태 H는 형태 E를 0% 상대 습도에 노출시켜 수득할 수 있는 부분적으로 수화된 (약 0.25몰) 결정질 물질이다. 형태 H는 대략 15, 26 및 31°2θ에서 유의한 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가지며, 약 269℃의 최대 시차 주사 열량계 용융 온도를 갖는다.

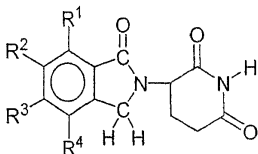
본 발명의 다른 구체적인 면역조절 화합물은, 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제5,874,448호, 및 제 5,955,476호에 기술되어 있는 것과 같은 1-옥소-2-(2,6-디옥소-3-플루오로피페리딘-3-일)이소인돌린 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소-3-플루오로피페리딘-3-일)이소인돌린을 비제한적으로 포함한다. 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서, Y는 산소 또는 H₂이고,

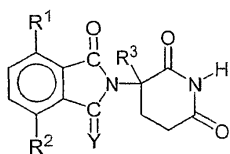
각각의 R¹, R², R³, 및 R⁴는 서로 독립적으로, 수소, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 1 내지 4의 알콕시, 또는 아미노이다.

본 발명의 다른 구체적인 면역조절 화합물은 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제5,798,368호에 기술된 테트라 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌린을 비제한적으로 포함한다. 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서, 각각의 R¹, R², R³, 및 R⁴는 서로 독립적으로, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 1 내지 4의 알콕시이다.

다른 본 발명의 구체적인 면역조절 화합물은 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제6,403,613호에 기술된 테트라 치환된 1-옥소 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)이소인돌린을 비제한적으로 포함한다. 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



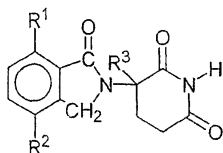
상기 식에서,

Y는 산소 또는 H₂이고,

R¹ 및 R² 중 하나는 할로, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 디알킬아미노, 시아노, 또는 카르바모일이고, R¹ 및 R² 중 나머지 하나는 처음 것과 독립적으로, 수소, 할로, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 디알킬아미노, 시아노, 또는 카르바모일이고,

R³은 수소, 알킬, 또는 벤질이다.

상기 화합물의 구체적인 예는 하기 화학식의 화합물이다:



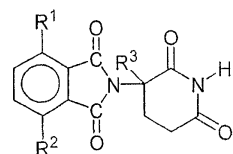
상기 식에서,

R^1 및 R^2 중 하나는 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 1 내지 4의 알콕시, 디알킬아미노 (여기서, 알킬은 탄소 원자수가 1 내지 4임), 시아노, 또는 카르바모일이고,

R^1 및 R^2 중 나머지 하나는, 처음 것과 독립적으로 수소, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 1 내지 4의 알콕시, 알킬아미노 (여기서, 알킬은 탄소 원자수가 1 내지 4임), 디알킬아미노 (여기서, 알킬은 탄소 원자수가 1 내지 4임), 시아노, 또는 카르바모일이고,

R^3 은 수소, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 또는 벤질이다. 구체적인 예는, 비제한적으로 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-메틸이소인돌린을 포함한다.

다른 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서,

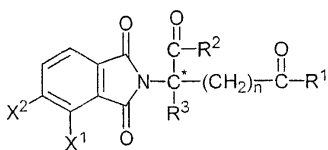
R^1 및 R^2 중 첫 번째는 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 1 내지 4의 알콕시, 디알킬아미노 (여기서, 각 알킬은 탄소 원자수가 1 내지 4임), 시아노, 또는 카르바모일이고,

R^1 및 R^2 중 두 번째는 첫 번째에 독립적으로, 수소, 할로, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 1 내지 4의 알콕시, 알킬아미노 (여기서, 알킬은 탄소 원자수가 1 내지 4임), 디알킬아미노 (여기서, 각 알킬은 탄소 원자수가 1 내지 4임), 시아노, 또는 카르바모일이고,

R^3 은 수소, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 또는 벤질이다.

구체적인 예는 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-메틸이소인돌린을 비제한적으로 포함한다.

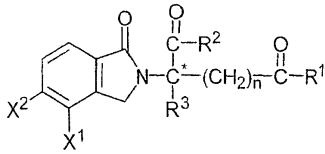
본 발명의 다른 구체적인 면역조절 화합물은 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제6,380,239호 및 2004년 7월 28일에 출원된 공-계류 미국 출원 제10/900,270호에 기술된 인돌린 고리의 4- 또는 5-위치에서 치환된 1-옥소 및 1,3-디옥소이소인돌린을 비제한적으로 포함한다. 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물 및 이의 염이다:



상기 식에서, C^* 로 나타낸 탄소 원자는 키랄 중심을 구성하고 (n 이 0이 아니고, R^1 은 R^2 와 동일하지 않을 경우); X^1 및 X^2 중 하나는 아미노, 니트로, 탄소가 1 내지 6인 알킬, 또는 $NH-Z$ 이고, X^1 및 X^2 중 다른 하나는 수소이고; 각각의 R^1 및 R^2

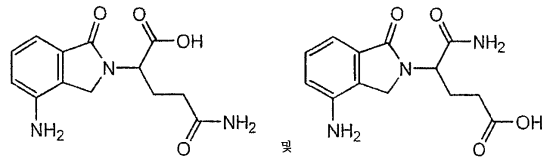
는 서로 독립적으로 히드록시 또는 NH-Z이고; R³은 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 할로, 또는 할로알킬이고; Z는 수소, 아릴, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 포르밀, 또는 탄소수 1 내지 6의 아실이고; n은 0, 1, 또는 2의 값을 가지며; 단, X¹이 아미노이고, n이 1 또는 2인 경우, R¹이 R²는 둘 다 히드록시가 아니다.

추가 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



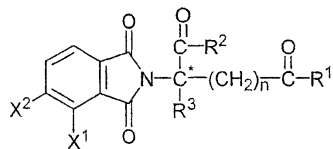
상기 식에서, n이 0이 아니고, R¹이 R²가 아닌 경우에 C*로 나타낸 탄소 원자는 키랄 중심을 구성하고; X¹ 및 X² 중 하나는 아미노, 니트로, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 또는 NH-Z이고, X¹ 및 X²의 다른 하나는 수소이고; 각각의 R¹이 R²는 서로 독립적으로 히드록시 또는 NH-Z이고; R³은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 할로, 또는 수소이고; Z는 수소, 아릴 또는 탄소수 1 내지 6의 알킬 또는 아실이고; n은 0, 1 또는 2의 값을 갖는다.

구체적인 예는, 비제한적으로 2-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-4-카르바모일-부티르산 및 4-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-4-카르바모일-부티르산, 및 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 전구약



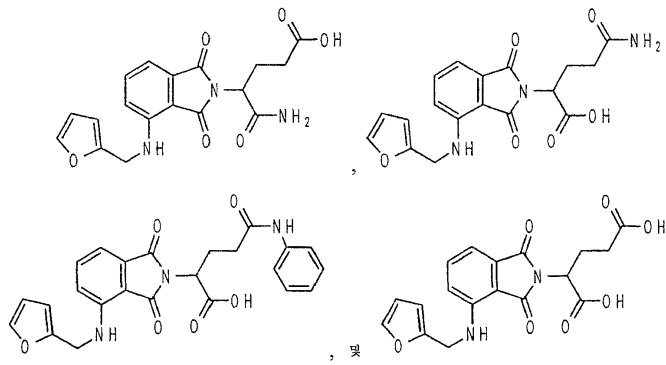
물, 및 입체이성질체를 포함하며, 이들은 각각 구조식

다른 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물 및 이의 염이다:

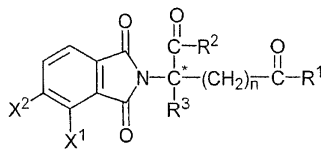


상기 식에서, n이 0이 아니고, R¹이 R²가 아닌 경우에 C*로 나타낸 탄소 원자는 키랄 중심을 구성하고; X¹ 및 X² 중 하나는 아미노, 니트로, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 또는 NH-Z이고, X¹ 및 X² 중 다른 하나는 수소이고; 각각의 R¹ 및 R²는 서로 독립적으로 히드록시 또는 NH-Z이고; R³은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 할로, 또는 수소이고; Z는 수소, 아릴, 또는 탄소수 1 내지 6의 알킬 또는 아실이고; n은 0, 1 또는 2의 값을 가진다.

구체적인 예는, 비제한적으로 4-카르바모일-4-{4-[(푸란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일}-부티르산, 4-카르바모일-2-{4-[(푸란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일}-부티르산, 2-{4-[(푸란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일}-4-페닐카르바모일-부티르산, 및 2-{4-[(푸란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일}-펜탄디오산, 및 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 전구약물, 및 입체이성질체를 포함하며, 이들은 각각 하기 구조를 갖는다:



상기 화합물의 다른 구체적인 예는 하기 화학식의 화합물을 갖는다:



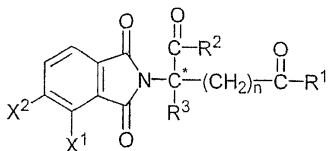
상기 식에서, X^1 및 X^2 중 하나는 니트로, 또는 NH-Z이고, X^1 및 X^2 중 다른 하나는 수소이고; 각각의 R^1 및 R^2 는 서로 독립적으로 히드록시 또는 NH-Z이고; R^3 은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 할로, 또는 수소이고;

Z는 수소, 페닐, 탄소수 1 내지 6의 아실, 또는 탄소수 1 내지 6의 알킬이고;

n은 0, 1, 또는 2의 값을 가지며;

단, X^1 및 X^2 중 하나가 니트로이고, n이 1 또는 2인 경우, R^1 및 R^2 는 히드록시가 아니고;

$-COR^2$ 및 $-(CH_2)_nCOR^1$ 이 상이한 경우, C^* 로 나타낸 탄소 원자는 키랄 중심을 구성한다. 다른 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서, X^1 및 X^2 중 하나는 탄소수 1 내지 6의 알킬이고;

각각의 R^1 및 R^2 는 서로 독립적으로 히드록시 또는 NH-Z이고;

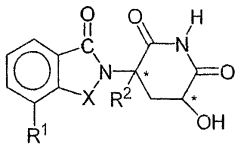
R^3 은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 할로, 또는 수소이고;

Z는 수소, 페닐, 탄소수 1 내지 6의 아실, 또는 탄소수 1 내지 6의 알킬이고;

n은 0, 1, 또는 2의 값을 가지고;

$-COR^2$ 및 $-(CH_2)_nCOR^1$ 이 상이한 경우, C^* 로 나타낸 탄소 원자는 키랄 중심을 구성한다.

본 발명의 또 다른 구체적인 면역조절 화합물은 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제6,458,810호에 기술된, 2-위치에서 2,6-디옥소-3-히드록시피페리딘-5-일로 치환된 이소인돌린-1-온 및 이소인돌린-1,3-디온을 비제한적으로 포함한다. 대표적인 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



상기 식에서,

C*로 나타낸 탄소 원자는 키랄 중심을 구성하고;

X는 -C(O)- 또는 -CH₂-이고;

R¹은 탄소수 1 내지 8의 알킬 또는 -NHR³이고;

R²는 수소, 탄소수 1 내지 8의 알킬, 또는 할로젠이고;

R³은 수소,

비치환되거나 또는 탄소수 1 내지 8의 알콕시, 할로, 아미노, 또는 탄소수 1 내지 4의 알킬아미노로 치환된 탄소수 1 내지 8의 알킬,

탄소수 3 내지 18의 시클로알킬,

비치환되거나 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬, 탄소수 1 내지 8의 알콕시, 할로, 아미노, 또는 탄소수 1 내지 4의 알킬아미노로 치환된 페닐,

비치환되거나 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬, 탄소수 1 내지 8의 알콕시, 할로, 아미노, 탄소수 1 내지 4의 알킬아미노, 또는 -COR⁴로 치환된 벤질이고,

여기서, R⁴는 수소,

비치환되거나 또는 탄소수 1 내지 8의 알콕시, 할로, 아미노, 또는 탄소수 1 내지 4의 알킬아미노로 치환된 탄소수 1 내지 8의 알킬,

탄소수 3 내지 18의 시클로알킬,

비치환되거나 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬, 탄소수 1 내지 8의 알콕시, 할로, 아미노, 또는 탄소수 1 내지 4의 알킬아미노로 치환된 페닐,

비치환되거나 또는 탄소수 1 내지 8의 알킬, 탄소수 1 내지 8의 알콕시, 할로, 아미노, 또는 탄소수 1 내지 4의 알킬아미노로 치환된 벤질이다.

본 발명의 화합물은 상업적으로 구입할 수 있거나 본원에 기술된 특허 또는 특허 공보에 기술된 방법에 따라 제조할 수 있다. 또한, 광학적으로 순수한 화합물은 비대칭적으로 합성하거나, 공지된 분할제 또는 키랄 컬럼 및 다른 표준 합성 유기 화학 기술을 사용하여 분할할 수 있다.

본원에 사용된 바와 같고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "제약상 허용되는 염"은 용어가 지칭하는 화합물의 비독성 산 및 염기 부가 염을 포함한다. 허용되는 비독성 산 부가 염은, 예를 들어 염산, 브롬산, 인산, 황산, 메탄술폰산, 아세트산, 타르타르산, 락트산, 숙신산, 시트르산, 말산, 말레산, 소르브산, 아코니틴산, 살리실산, 프탈산, 엠볼산, 에난트산 등을 포함하는, 당업계에서 공지된 유기 및 무기산으로부터 유도된 것들을 포함한다.

천연적으로 산성인 화합물은 다양한 제약상 허용되는 염기와 염을 형성할 수 있다. 상기 산성 화합물의 제약상 허용되는 염기 부가 염을 제조하는데 사용될 수 있는 염기는 비독성 염기 부가 염, 즉, 약리학적으로 허용되는 양이온을 함유하는 염, 예컨대 비제한적으로 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염 및 특히 칼슘, 마그네슘, 나트륨 또는 칼륨염을 형성하는 것이다. 적합한 유기 염기는, 비제한적으로 N,N-디벤질에틸렌디아민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루타민 (N-메틸글루카민), 리신, 및 프로카인 등을 포함한다.

본원에 사용된 바와 같고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "용매화물"은 비공유 분자간 힘에 의해 결합된 화학량론 또는 비-화학량론적 양의 용매를 포함하는 본 발명의 화합물 또는 이의 염을 의미한다. 용매가 물인 경우, 용매화물은 수화물이다.

본원에 사용된 바와 같고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "전구약물"은 생물학적 조건 (시험관내 또는 생체내) 하에서 가수분해, 산화 또는 달리 반응하여 화합물을 제공할 수 있는 화합물의 유도체를 의미한다. 전구약물의 예는, 비제한적으로 생가수분해성 잔기, 예컨대 생가수분해성 아미드, 생가수분해성 에스테르, 생가수분해성 카르바메이트, 생가수분해성 카르보네이트, 생가수분해성 우레이드, 및 생가수분해성 포스페이트 유사체를 포함하는 본 발명의 면역 조절 화합물의 유도체를 포함한다. 전구약물의 다른 예는, -NO, -NO₂, -ONO, 또는 -ONO₂ 잔기를 포함하는 본 발명의 면역 조절 화합물의 유도체를 포함한다. 전구약물은 전형적으로 익히 공지된 방법, 예컨대 문헌 [1 *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5th ed. 1995)], 및 [*Design of Precursors* (H. Bundgaard ed., Elsevier, New York 1985)]에 기술된 방법을 사용하여 제조할 수 있다.

본원에 사용된 바와 같고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "생가수분해성 아미드," "생가수분해성 에스테르," "생가수분해성 카르바메이트," "생가수분해성 카르보네이트," "생가수분해성 우레이드," "생가수분해성 포스페이트"는 1) 화합물의 생물학적 활성을 간섭하지 않으며, 생체 내에서 흡수, 효과의 지속, 또는 효과의 개시와 같은 유리한 특성을 부여할 수 있거나; 또는 2) 생물학적으로 불활성이나 생체 내에서 생물학적 활성 화합물로 전환되는 화합물의 각각의 아미드, 에스테르, 카르바메이트, 카르보네이트, 우레이드, 또는 포스페이트를 의미한다. 생가수분해성 에스테르의 예는, 비제한적으로 저급 알킬 에스테르, 저급 아실옥시알킬 에스테르 (예컨대, 아세톡시메틸, 아세톡시에틸, 아미노카르보닐옥시메틸, 피발로일옥시메틸, 및 피발로일옥시에틸 에스테르), 락토닐 에스테르 (예컨대, 프탈리딜 및 티오프탈리딜 에스테르), 저급 알콕시아실옥시알킬 에스테르 (예컨대, 메톡시카르보닐-옥시메틸, 에톡시카르보닐옥시메틸 및 이소프로폭시 카르보닐옥시메틸 에스테르), 알콕시아실 에스테르, 콜린 에스테르, 및 아실아미노 알킬 에스테르 (예컨대, 아세트아미도메틸 에스테르)를 포함한다. 생가수분해성 아미드의 예는, 비제한적으로 저급 알킬 아미드, α-아미노산 아미드, 알콕시아실 아미드, 및 알킬아미노 알킬카르보닐 아미드를 포함한다. 생가수분해성 카르바메이트의 예는, 비제한적으로 저급 알킬아민, 치환된 에틸렌디아민, 아미노산, 히드록시아민, 헤테로시클릭 및 헤테로방향족 아민, 및 폴리에테르 아민을 포함한다.

본원에 사용된 바와 같고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "입체이성질체"는 본 발명의 모든 거울상이성질체적으로/입체이성질체적으로 순수하고 거울상이성질체적으로/입체이성질체적으로 풍부한 화합물을 포함한다.

본원에 사용된 바와 같고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "입체이성질체적으로 순수한" 또는 "거울상이성질체적으로 순수한"은 화합물이 하나의 입체이성질체를 포함하고, 그 화합물의 상대 입체이성질체 또는 거울상이성질체를 실질적으로 포함하지 않는 조성물을 의미한다. 예를 들어, 화합물은, 상기 화합물이 하나의 입체이성질체를 80%, 90% 또는 95% 이상, 및 상대 입체이성질체를 20%, 10% 또는 5% 미만으로 함유할 경우, 입체이성질체적으로 또는 거울상이성질체적으로 순수하다. 특정한 경우에, 본 발명의 화합물이 약 80% ee (거울상이성질체 순도) 이상, 바람직하게는 특정 키랄 중심에 대하여 90% ee 이상, 또는 보다 바람직하게는 특정 키랄 중심에 대하여 95% ee인 경우에, 상기 화합물은 키랄 중심에 대하여 광학적으로 활성이거나 또는 입체이성질체적으로/거울상이성질체적으로 순수 (즉, 실질적으로 R-형태 또는 실질적으로 S-형태)하다.

본원에 사용된 바와 같고 달리 명시하지 않을 경우, 용어 "입체이성질체적으로 풍부한" 또는 "거울상이성질체적으로 풍부한"은 라세미 혼합물, 및 본 발명의 화합물의 입체이성질체의 다른 혼합물 (예를 들어, R/S = 30/70, 35/65, 40/60, 45/55, 55/45, 60/40, 65/35 및 70/30)을 포함한다. 본 발명의 다양한 면역조절 화합물은 1종 이상의 키랄 중심을 함유하고, 거울상이성질체의 라세미 혼합물 또는 부분입체이성질체의 혼합물로서 존재할 수 있다. 본 발명은 상기 화합물의 입체이성질

체적으로 순수한 형태의 용도, 및 이들 형태의 혼합물의 용도를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 특정한 면역조절 화합물의 거울상이성질체의 동량 또는 비동량을 포함하는 혼합물을 본 발명의 방법 및 조성물에서 사용할 수 있다. 이들 이성질체는 비대칭적으로 합성하거나, 키랄 컬럼 또는 키랄 분할제와 같은 표준 기술을 사용하여 분할할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Jacques, J., et al., Enantiomers, Racemates and Resolution (Wiley-Interscience, New York, 1981)]; [Wilens, S. H., et al., Tetrahedron 33: 2725 (1977)]; [Eliel, E. L., Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962)] 및 [Wilens, S. H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolution p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972)]을 참조한다.

도시된 구조와 그 구조에 주어진 명칭이 불일치하는 경우, 도시된 구조가 더 중시되어야 한다는 것을 유의해야 한다. 또한, 구조 또는 구조의 일부분의 입체화학이, 예를 들어 볼드체 또는 점선으로 지시되지 않은 경우에는, 구조 또는 구조의 일부는 그의 모든 입체이성질체를 포함하는 것으로 해석된다.

5.3. 제약 조성물 및 투여형

제약 조성물은 개별의 단일 단위 투여형의 제조에 사용될 수 있다. 본 발명의 제약 조성물 및 투여형은 본 발명의 면역조절 화합물, 또는 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물, 또는 전구약물을 포함한다. 본 발명의 제약 조성물 및 투여형은 1종 이상의 부형제를 추가로 포함할 수 있다.

또한, 본 발명의 제약 조성물 및 투여형은 1종 이상의 부가 활성 성분을 포함할 수 있다. 결과적으로, 본 발명의 제약 조성물 및 투여형은 본원에 개시된 활성 성분 (예를 들어, 면역조절 화합물 및 제2 활성제)을 포함한다. 임의의 제2, 또는 부가의 활성 성분의 예는 본원에 개시되어 있다 (예를 들어, 섹션 5.1 참조).

본 발명의 단일 단위 투여형은 환자에게 경구, 점막 (예를 들어, 비내, 설하, 질, 협측, 또는 직장), 비경구 (예를 들어, 피하내, 정맥 내, 볼루스 주사, 근육 내, 또는 동맥 내), 국소 (예를 들어, 점안제 또는 다른 안과용 제제), 피부통과 또는 경피 투여하기에 적합하다. 투여형의 예는, 비제한적으로 정제; 캡슐제; 캡슐제, 예컨대 연질 탄성 겔라틴 캡슐제; 카세제; 트로키제; 로젠지제; 분산액제; 좌제; 분말제; 에어로졸 (예를 들어, 비내 스프레이 또는 흡입제); 젤제; 현탁액제 (예를 들어, 수성 또는 비-수성 액체 현탁액제, 수중유 에멀전제, 또는 유중수 액체 에멀전제), 용액제, 및 엘릭시르를 비롯한, 환자에게 경구 또는 점막 투여하기에 적합한 액체 투여형; 환자에게 비경구 투여하기에 적합한 액체 투여형; 경구 투여하기에 적합한 점안제 또는 다른 안과용 제제; 및 재구성되어 환자에게 비경구 투여하기에 적합한 액체 투여형을 제공하는 멸균 고형제 (예를 들어, 결정질 또는 비결정질 고형제)를 포함한다.

본 발명의 투여형의 조성, 형태, 및 유형은 전형적으로 이들의 용도에 따라 다양할 것이다. 예를 들어, 질환의 급성 치료에 사용되는 투여형은 동일한 질환의 만성 치료에 사용되는 투여형보다 그것이 포함하는 1종 이상의 활성 성분들을 더 다양으로 함유할 수 있다. 유사하게, 비경구 투여형은 동일한 질환의 치료에 사용되는 경구 투여형보다 그것이 포함하는 1종 이상의 활성 성분들을 더 소량으로 함유할 수 있다. 본 발명에 포함되는 특정 투여형이 서로 다양할 수 있는 이러한 방식 및 기타 방식들은 당업자들에게는 쉽게 이해될 것이다. 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990)]을 참조한다.

전형적인 제약 조성물 및 투여형은 1종 이상의 부형제를 포함한다. 적합한 부형제는 제약학의 당업자에게 널리 공지되어 있고, 적합한 부형제의 비제한적인 예가 본원에 제공되어 있다. 특정 부형제가 제약 조성물 또는 투여형으로 혼입하기에 적합한지 여부는 비제한적으로 환자에게 투여될 투여형의 방식을 비롯한, 당업계에 널리 공지된 다양한 인자에 따라 좌우된다. 예를 들어, 경구 투여형, 예컨대 정제는 비경구 투여형으로 사용하기에 적합하지 않은 부형제를 함유할 수 있다. 또한, 특정 부형제의 적합성은 투여형의 구체적인 활성 성분에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 활성 성분의 분해는 일부 부형제, 예컨대 락토스에 의해, 또는 물에 노출될 경우에 가속화될 수 있다. 1차 또는 2차 아민을 포함하는 활성 성분은 상기 가속화된 분해에 특히 민감하다. 결과적으로, 본 발명은 함유하는 경우에도 락토스 기타 단당류- 또는 이당류를 거의 함유하지 않는 제약 조성물 및 투여형을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "락토스-비함유"는 존재하는 경우에도 존재하는 락토스의 양이 활성 성분의 분해 속도를 실질적으로 증가시키기에는 불충분한 양을 의미한다.

본 발명의 락토스-비함유 조성물은 당업계에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [U.S. Pharmacopeia (USP) 25-NF20 (2002)]에 나열되어 있다. 일반적으로, 락토스-비함유 조성물은 활성 성분, 결합제/충전제, 및 윤활제를 제약상 적합하고 제약상 허용되는 양으로 포함한다. 바람직한 락토스-비함유 투여형은 활성 성분, 미세결정질 셀룰로스, 예비-겔라틴화된 전분, 및 마그네슘 스테아레이트를 포함한다.

물은 일부 화합물의 분해를 촉진할 수 있기 때문에, 본 발명은 추가로 활성 성분을 포함하는 무수 제약 조성물 및 투여형을 포함한다. 예를 들어, 물의 첨가(예를 들어, 5%)는 저장-수명 또는 시간 경과에 따른 제제의 안정성과 같은 특성을 측정하기 위해 장기 보관을 모의실험하는 방법으로서 제약 업계에 널리 용인된다. 예를 들어, 문헌 [Jens T. Carstensen, Drug Stability: Principles & Practice, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80]을 참조한다. 사실상, 물 및 열은 일부 화합물의 분해를 가속화시킨다. 따라서, 수분 및(또는) 습도는 통상적으로 제제의 제조, 취급, 포장, 저장, 선적, 및 사용 동안 직면되기 때문에, 제제에 대한 물의 영향은 상당히 중요할 수 있다.

본 발명의 무수 제약 조성물 및 투여형은 무수 또는 저 수분 함유 성분 및 저 수분 또는 저 습도 조건을 이용하여 제조할 수 있다. 제조, 포장 및(또는) 저장 동안 수분 및(또는) 습기와의 실질적 접촉이 예상될 경우, 락토스, 및 1차 또는 2차 아민을 포함하는 1종 이상의 활성 성분을 포함하는 제약 조성물 및 투여형은 무수인 것이 바람직하다.

무수 제약 조성물은 무수 성질이 유지되도록 제조되고 저장되어야 한다. 따라서, 바람직하게는 무수 조성물이 물에 대한 노출을 예방하는 것으로 알려진 물질을 사용하여 포장함으로써, 이들을 적합한 공식적인 키트 내에 포함시킬 수 있다. 적합한 포장재의 예는, 비제한적으로 밀폐하여 밀봉되는 호일, 플라스틱, 단위 투여 용기(예를 들어, 바이알), 블리스터 팩, 및 스트립 팩을 포함한다.

본 발명은 추가로 활성 성분이 분해되는 속도를 감소시키는 1종 이상의 화합물을 포함하는 제약 조성물 및 투여형을 포함한다. 본원에 "안정화제"로서 언급되는 상기 화합물은 비제한적으로 항산화제, 예컨대 아스코르브산, pH 완충액, 또는 염 완충액을 포함한다.

부형제의 양 및 유형과 같이, 투여형에서 활성 성분의 양 및 특정 유형은, 예컨대 비제한적으로 환자에게 투여되는 방식과 같은 인자에 따라 다양해질 수 있다. 그러나, 본 발명의 전형적인 투여형은 본 발명의 면역조절 화합물 또는 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물, 또는 전구약물을 약 0.10 내지 약 150 mg의 양으로 포함한다. 전형적인 투여형은 본 발명의 면역조절 화합물 또는 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물, 또는 전구약물을 약 0.1, 1, 2, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 25, 50, 100, 150 또는 200 mg의 양으로 포함한다. 특정 실시양태에서, 바람직한 투여형은 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온(즉, α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드)를 약 1, 2, 5, 10, 25 또는 50 mg의 양으로 포함한다. 구체적인 실시양태에서, 바람직한 투여형은 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온을 약 5, 10, 25 또는 50 mg의 양으로 포함한다. 전형적인 투여형은 제2 활성 성분을 1 내지 약 1000 mg, 약 5 내지 약 500 mg, 약 10 내지 약 350 mg, 또는 약 50 내지 약 200 mg의 양으로 포함한다. 물론, 항암 약물의 구체적인 양은 사용되는 특정 작용제, 치료 또는 관리되는 암의 유형, 및 본 발명의 면역조절 화합물, 및 환자에게 동시에 투여되는 임의의 부가 활성제의 양에 따라 좌우된다.

본 발명의 1종 이상의 화합물이 시토킨과 함께 개체에게 투여될 경우, 시토킨은 본원에 기술된 바와 같이 임의의 제약상 허용되는 투여형, 또는 허용되는 농도로 사용될 수 있다. 전형적으로, 예를 들어, 뉴포젠은 중성구 수가 $10,000/\text{mm}^3$ 에 이를 때까지 약 4 내지 약 $8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{일}$ 의 투여량으로 주입가능한 볼루스로서 투여된다. 안세스팀(재조합 메티오닐 인간 줄기 세포 인자)은 전형적으로 9-12일 동안 $1-20 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{일}$ 의 투여량으로 피하 내 주입(정맥 내 주입이 아니라)을 통해 투여되며; 재조합 인간 줄기 세포 인자는 유사한 투여량으로 투여될 수 있다. 백혈구 수가 약 $50,000/\text{mm}^3$ 을 초과할 경우, 사르그라모스팀(PEGfilgrastim)(뉴라스타(Neulasta)(상표명))은 전형적으로 필요에 따라, 피하 내로 약 6 밀리그램의 투여량으로 투여된다. 혈액 내 백혈구의 수에 영향을 미치는 시토킨의 적합한 투여량은 특정 백혈구 군, 또는 총 백혈구의 수를 측정함으로써 환자당 기준으로 측정될 수 있다. 재조합 IL-3은, 예를 들어 알앤디 시스템즈, 인크. (R&D Systems, Inc.)(미네소타주 미네아폴리스 소재)로부터 입수할 수 있다. 재조합 IL-3은 시험관 내에서 약 0.1 내지 약 0.4 ng/ml의 ED_{50} 을 가지며, 생체 내 평형 농도에서 사용될 수 있다. 재조합 인간 줄기 세포 인자(SCF)는, 예를 들어 바이오소스 인터내셔널(BioSource International)(캘리포니아주 카마틸로 소재)로부터 입수할 수 있다. 재조합 SCF는 시험관 내에서 약 2 내지 약 5 ng/ml의 ED_{50} 을 가지며, 생체 내 평형 농도에서 사용될 수 있다. 재조합 인간 Fms-유사 티로신 키나제-3 리간드(Flt-3L)는, 예를 들어 프로스펙-타니 테크노젠 엘티디(ProSpec-Tany TechnoGene LTD)(이스라엘 레호보트 소재)사 또는 유.에스. 바이올로지칼(U.S. Biological)(매사추세츠주 스왓프스코트 소재)로부터 입수할 수 있다. 재조합 인간 Flt-3L은 시험관 내에서 약 1 내지 약 10 ng/ml의 ED_{50} 을 가지며, 생체 내 평형 농도에서 사용될 수 있다. 상기 임의의 실제 작용 농도는 당업계의 관습에 따라 개별로부터 수득한 배양 또는 혈액 샘플 내 백혈구 또는 적혈구 수의 변화를 시간이 경과함에 따라 측정

함으로써 개체 기준으로 측정할 수 있다. 적혈구 경로에 따른 CD34⁺ 세포의 분화, 및 태아 헤모글로빈 유전자의 발현은 공지된 기술(예를 들어, 태아 헤모글로빈 전사물 또는 태아 헤모글로빈의 PCR-매개 또는 항체-매개 검출)을 사용하여 평가될 수 있다.

에리트로포이에틴(예를 들어, 에포겐(Epogene)(등록상표))는 전형적으로 정맥 내 또는 피하 내로 약 12.5 U/kg 내지 525 U/kg, 빈번하게는 약 100 U/kg 미만으로 투여된다. 다양한 에리트로포이에틴인 아라네스프(상표명)는 전형적으로 유사한 투여량으로 투여된다. 에리트로포이에틴 및 에리트로포이에틴 유사체의 경우, 적합한 투여량은 약 10 g/dL 내지 약 12 g/dL의 적혈구 용적률을 유발하는 투여량이고, 임의의 2주 기간에 1.0 g/dL 이상 증가하는 것을 피한다.

5.3.1 경구 투여형

경구 투여에 적합한 본 발명의 제약 조성물은, 예컨대, 비제한적으로 정제(예를 들어, 씹는 정제), 카플렛제, 캡슐제 및 액제(예를 들어, 향미 시럽)인 이산된 투여형으로서 존재할 수 있다. 그러한 투여형은 소정량의 활성 성분을 함유하고, 당업자에게 공지된 조제 방법에 의해 제조할 수 있다. 일반적으로 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990)]을 참조한다.

본 발명의 전형적인 경구 투여형은 통상적인 제약 합성 기술에 따라 1종 이상의 부형제와의 잘 섞인 혼합물로 활성 성분을 배합하여 제조된다. 부형제는 투여를 위해 요구되는 제제 형태에 따라 매우 다양한 형태가 될 수 있다. 예를 들어, 경구 액상 또는 에어로졸 투여형에서 사용하기에 적합한 부형제는, 비제한적으로 물, 글리콜, 오일, 알코올, 방향제, 방부제 및 착색제를 포함한다. 고체상 경구 투여형(예를 들어, 분말제, 정제, 캡슐제 및 카플렛제)으로 사용하기에 적합한 부형제의 예는, 비제한적으로 전분, 당, 미세결정질 셀룰로스, 희석제, 과립화제, 윤활제, 결합제 및 봉해제를 포함한다.

정제 및 캡슐제는 이들의 투여 용이성 때문에, 고체상 부형제가 사용될 경우에 가장 유리한 경구 투여 단위형을 대표한다. 바람직할 경우, 정제는 표준 수성 또는 비수성 기술에 의해 코팅될 수 있다. 그러한 투여형은 임의의 조제 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 제약 조성물 및 투여형은 활성 성분과 액상 담체, 미세하게 분리된 고체상 담체 또는 이들 둘 다를 균일하게 잘 혼합한 다음, 필요할 경우, 바람직한 외양으로 제품을 형상화하여 제조된다.

예를 들어, 정제는 압축 또는 몰딩에 의해 제조될 수 있다. 압축 정제는 분말제 또는 과립제와 같은, 임의로 부형제와 혼합된 자유유동 형태로 활성 성분을 적합한 기계에서 압축하여 제조할 수 있다. 몰딩된 정제는 불활성 액상 희석제로 적신 분말화된 화합물의 혼합물을 적합한 기계에서 몰딩하여 제조할 수 있다.

본 발명의 경구 투여형에서 사용될 수 있는 부형제의 예는 결합제, 충전제, 봉해제 및 윤활제를 포함한다. 제약 조성물 및 투여형에서 사용하기에 적합한 결합제는, 비제한적으로 옥수수 전분, 감자 전분 또는 기타 전분, 젤라틴, 천연 및 합성 검, 예컨대 아카시아, 알긴산나트륨, 알긴산, 기타 알기네이트류, 분말화된 트라가칸쓰, 구아 검, 셀룰로스 및 이의 유도체(예를 들어, 에틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 카르복시메틸 셀룰로스 칼슘, 소듐 카르복시메틸 셀룰로스), 폴리비닐 피롤리돈, 메틸 셀룰로스, 예비-젤라틴화된 전분, 히드록시프로필 메틸 셀룰로스(예를 들어, 2208, 2906, 2910번), 미세결정질 셀룰로스 및 그의 혼합물을 포함한다.

미세결정질 셀룰로스의 적합한 형태는, 비제한적으로 AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103, AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105로서 시판되는 물질(FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA로부터 입수 가능) 및 이들의 혼합물을 포함한다. 한 특정 결합제는 AVICEL RC-581로서 시판되는 미세결정질 셀룰로스 및 소듐 카르복시메틸 셀룰로스의 혼합물이다. 적합한 무수 또는 저 수분 부형제 또는 첨가제는 AVICEL-PH-103(상표명) 및 전분 1500 LM을 포함한다.

본원에 개시된 제약 조성물 및 투여형에서 사용하기에 적합한 충전제의 예는, 비제한적으로 활석, 탄산칼슘(예를 들어, 과립제 또는 분말제), 미세결정질 셀룰로스, 분말 셀룰로스, 텍스트레이트, 카올린, 만니톨, 규산, 소르비톨, 전분, 예비-젤라틴화된 전분 및 이들의 혼합물을 포함한다. 본 발명의 제약 조성물 중의 결합제 또는 충전제는 전형적으로 제약 조성물 또는 투여형의 약 50 내지 약 99 중량%로 존재한다.

봉해제는 본 발명의 조성물에 사용되어, 수성 환경에 노출될 경우에 분해되는 정제를 제공한다. 과도한 봉해제를 함유하는 정제는 저장 중에 봉해될 수 있는 반면, 너무 소량을 함유하는 것은 원하는 조건하에 또는 원하는 속도로 봉해되지 않을 수

있다. 따라서, 활성 성분의 방출을 불리하게 변경시키는 너무 다량도 소량도 아닌 충분한 양의 붕해제가 본 발명의 고체상 경구 투여형을 형성하는데 사용되어야 한다. 사용된 붕해제의 양은 제형 종류에 따라 다양하며, 당업자는 쉽게 식별할 수 있다. 전형적인 제약 조성물은 약 0.5 내지 약 15 중량%, 바람직하게는 약 1 내지 약 5 중량%의 붕해제를 포함한다.

본 발명의 제약 조성물 및 투여형에 사용될 수 있는 붕해제는, 비제한적으로 아가-아가 (agar-agar), 알긴산, 탄산칼슘, 미세결정질 셀룰로스, 크로스카르멜로스 소듐, 크로스포비돈, 폴라크틸린 포타슘, 소듐 전분 글리콜레이트, 감자 또는 타피오카 전분, 기타 전분류, 예비-젤라틴화된 전분, 기타 전분류, 점토, 기타 알긴류, 기타 셀룰로스류, 검류 및 이들의 혼합물을 포함한다.

본 발명의 제약 조성물 및 투여형에 사용될 수 있는 윤활제는, 비제한적으로 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 광유, 경광유, 글리세린, 소르비톨, 만니톨, 폴리에틸렌 글리콜, 기타 글리콜류, 스테아르산, 소듐 라우릴 술페이트, 활석, 수소화 식물성 오일 (예를 들어, 낙화생유, 면실유, 해바라기유, 참깨유, 올리브유, 옥수수유 및 대두유), 스테아르산아연, 에틸 올레이트, 에틸 라우레이트, 아가 및 이들의 혼합물을 포함한다. 추가의 윤활제는, 예를 들어 실로이드 실리카겔 (AEROSIL200 (메릴랜드주 발티모어 소재 더블유.알. 그레이스 캄파니 (W.R. Grace Co.) 제조)), 합성 실리카의 응고된 에어로졸 (텍사스주 플라노 소재 데구사 캄파니 (Degussa Co.)에서 판매), CAB-O-SIL(메사추세츠주 보스턴 소재 캐보트 캄파니 (Cabot Co.)가 판매하는 발열성 이산화규소) 및 이들의 혼합물을 포함한다. 사용할 경우, 윤활제는 전형적으로 이들이 도입되는 제약 조성물 또는 투여형의 약 1 중량% 미만의 양으로 사용된다.

본 발명의 바람직한 고체상 경구 투여형은 본 발명의 면역조절 화합물, 무수 락토오스, 미세결정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 스테아르산, 콜로이드성 무수 실리카 및 젤라틴을 포함한다.

5.3.2 지연 방출 투여형

본 발명의 활성 성분은 당업자들에게 공지된 전달 장치에 의해, 또는 제어된 방출 수단에 의해 투여될 수 있다. 예로는, 비제한적으로 각각이 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제3,845,770호, 동 제3,916,899호, 동 제3,536,809호, 동 제3,598,123호, 및 동 제4,008,719호, 동 제5,674,533호, 동 제5,059,595호, 동 제5,591,767호, 동 제5,120,548호, 동 제5,073,543호, 동 제5,639,476호, 동 제5,354,556호 및 동 제5,733,566호에 기술된 것들을 포함한다. 상기 투여형은, 예를 들어 히드로프로필메틸 셀룰로스, 기타 중합체 매트릭스, 겔제, 투과성 막, 삼투성 시스템, 다층 코팅, 미립자, 리포솜, 미소구체, 또는 이들의 조합물을 사용하여 1종 이상의 활성 성분들의 지연되거나 제어된 방출을 제공함으로써 변화하는 비율로 목적하는 방출 프로파일을 제공하는데 사용될 수 있다. 본원에 기술된 것들을 비롯한, 당업자에게 공지된 적합한 제어-방출 제형은 본 발명의 활성 성분과 함께 사용하기 위해 용이하게 선택할 수 있다. 따라서, 본 발명은, 비제한적으로 제어-방출에 적합한 정제, 캡슐제, 겔캡제 및 카플렛제와 같은 경구 투여에 적합한 단일 단위 투여형을 포함한다.

모든 제어-방출 제약 제품들은 그들의 비조절 대응물에 의해 성취되는 것보다 약물 치료를 개선하는 공통의 목적을 가지고 있다. 이상적으로는, 의약 치료에 최적으로 고안된 제어-방출 제제의 사용은 최소의 시간에 상태의 치료 또는 제어에 사용되는 최소량의 약물로 특성화된다. 제어-방출 제형의 이점은 약물의 연장된 활성, 감소된 투여 빈도 및 증가된 환자 순응성을 포함한다. 또한, 제어-방출 제형은 작용의 개시 시간 또는 약물의 혈류 수준과 같은 기타 특성 영향을 주는데에 사용될 수 있고, 따라서 부작용 (예를 들어, 역효과)의 발생에 영향을 줄 수 있다.

대부분의 제어-방출 제형들은 목적하는 치료 효과를 즉시 생성하는 약물(활성 성분)의 양을 초기에 방출하고, 연장된 기간에 걸쳐 이러한 수준의 치료 또는 예방 효과를 유지하기 위하여 점차적으로 그리고 지속적으로 다른 양의 약물을 방출하도록 고안된다. 이러한 지속적 수준의 약물을 체내에 유지시키기 위하여, 체내로부터 대사되고 분비되는 약물의 양을 대체할 속도로 투여형으로부터 약물이 방출되어야 한다. 활성 성분의 제어-방출은, 비제한적으로 pH, 온도, 효소, 물, 또는 기타 생리 조건 또는 화합물을 포함하는 다양한 조건들에 의해 자극될 수 있다.

5.3.3 비경구 투여형

비경구 투여형은, 비제한적으로 피하, 정맥 내 (볼루스 주사 포함), 근육 내 및 동맥 내 투여를 포함하는 다양한 경로로 환자에게 투여될 수 있다. 이들 투여는 오염원에 대한 환자의 자연적 방어를 우회하기 때문에, 비경구 투여형은 바람직하게는 무균화되거나 환자에 투여하기 전에 무균화될 수 있다. 비경구 투여형의 예는, 비제한적으로 주사용 용액, 제약상 허용되는 주사용 비히클에 용해되거나 현탁될 수 있는 건조 제품, 주사용 현탁액 및 에멀전을 포함한다.

본 발명의 비경구 투여형을 제공하는데 사용될 수 있는 적합한 비히클은 당업자에게 공지되어 있다. 예로는 수성 비히클, 예컨대 비제한적으로 주사용수 USP, 염화나트륨 주사액, 링거 주사액, 텍스트로스 주사액, 텍스트로스 및 염화나트륨 주

사액 및 락트산염 링거 주사액; 수혼화성 비히클, 예컨대 비제한적으로 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜; 및 비수성 비히클, 예컨대 비제한적으로 옥수수유, 면실유, 낙화생유, 참깨유, 에틸 올레이트, 이소프로필 미리스테이트 및 벤질 벤조에이트를 포함한다.

또한, 본원에 개시된 1종 이상의 활성 성분의 용해도를 증가시키는 화합물은 본 발명의 비경구 투여형에 혼입할 수 있다. 예를 들어, 시클로덱스트린 및 그의 유도체를 본 발명의 면역 조절 화합물 및 그의 유도체의 용해도를 증가시키는데 사용할 수 있다. 예를 들어, 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있는 미국 특허 제5,134,127호를 참조한다.

5.3.4 국소 및 점막 투여형

본 발명의 국소 및 점막 투여형은, 비제한적으로 스프레이, 에어로졸, 용액제, 에멀전제, 현탁액제, 점안제 또는 기타 안과 제제, 또는 당업자에게 공지된 기타 형태를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16th and 18th eds., Mack Publishing, Easton PA(1980&1990)] 및 [*Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985)] 을 참조한다. 구강 공동 내의 점막 조직 처리에 적합한 투여형은 구강세척액 또는 경구 겔로서 제형화될 수 있다.

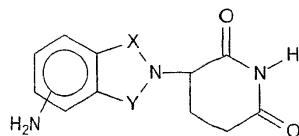
본 발명에 포함되는 국소 및 점막 투여형을 제공하는데 사용될 수 있는 적합한 부형제(예를 들어, 담체 또는 희석제) 및 기타 물질은 당업자들에게 공지되어 있고, 주어진 제약 조성물 또는 투여형이 적용될 특정 조직에 따라 달라진다. 이러한 사실을 고려하면, 국소 부형제는, 비제한적으로 무독성 및 제약상 허용되는 용액제, 에멀전제 또는 겔을 형성하는 물, 아세트론, 에탄올, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 부탄-1,3-디올, 이소프로필 미리스테이트, 이소프로필 팔미테이트, 광유 및 그의 혼합물을 포함한다. 또한, 가습제 또는 습윤제도 원할 경우, 제약 조성물 및 투여형에 첨가할 수 있다. 그러한 추가 성분들의 예는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16th and 18th eds., Mack Publishing, Easton PA(1980&1990)]을 참조한다.

또한, 제약 조성물 또는 투여형의 pH는 1종 이상의 성분의 전달을 개선하기 위해 조절될 수 있다. 유사하게, 용매 담체의 극성, 그의 이온 강도, 또는 등장성을 조절하여 전달을 개선할 수 있다. 또한, 스테아르산염과 같은 화합물도 전달을 개선하기 위해 1종 이상의 활성 성분의 친수성 또는 친유성을 유리하게 변화하도록 제약 조성물 또는 투여형에 첨가할 수 있다. 이와 관련하여, 스테아르산염은 제형을 위한 지질 비히클로서, 유화제 또는 계면활성제로서, 및 전달향상 또는 침투향상제로서 작용할 수 있다. 생성되는 조성물의 특성을 추가로 조절하기 위해 활성 성분들의 상이한 염, 수화물 또는 용매화물을 사용할 수 있다.

5.3.5. 키트

전형적으로, 본 발명의 활성 성분은 바람직하게는 환자에게 동시에 상이한 경로로 투여되거나, 동일한 투여 경로에 의해 상이한 시간에 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명은 의사에 의해 사용될 경우, 활성 성분의 환자에게 적합한 양을 환자에게 간단히 투여할 수 있는 키트를 포함한다.

본 발명의 전형적인 키트는 본 발명의 면역조절 화합물, 또는 이의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 전구약물, 또는 포집화합물의 투여형을 포함한다. 바람직하게는, 키트와 함께 제공되는 면역조절 화합물은 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 또는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리



딘-2,6-디온 또는 화학식 Nc1ccc2c(c1)nc3c2c(=O)nc(=O)c3를 갖는 화합물이다.

본 발명에 포함되는 키트는, 비제한적으로 빈혈 또는 혈색소병증에 유익한 영향을 미치는 것으로 공지되거나 기대되는 임의의 기타 화합물을 비롯한, 시토킨, 또는 시토킨 유도체, 예컨대 G-CSF, GM-CSF, epo, Flt-3L, SCF, IFN, IL2, IL8, IL18, 오블리머센 (제나센스(Genasense; 등록 상표)), 멜파란, 토포테칸, 데카르바진, 이리노테칸, 탁소테르, COX-2 억제제, 펜톡시필린, 시프로플록사신, 텍사메타손, Ara-C, 비노렐빈, 이소트레티노인, 13 cis-레틴산, 또는 이의 약리학적 활성 변이체 또는 유도체, 또는 이의 조합물을 추가로 포함할 수 있다. 키트 내에 포함될 수 있는 다른 화합물은 1종 이상의 태아 헤모글로빈을 유도하는 화합물, 혈관을 이완시키는 화합물, 헤모글로빈 S에 공유 결합하는 경우에 헤모글로빈 S의 자가-응집을 감소시키는 화합물, 가르도스 채널 길항제인 화합물, 또는 적혈구 유착을 감소시키는 화합물을 포함한다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 제2 화합물은 히드록시우레아, 구아니딘도 유도체, 아산화질소, 부티레이트 또는 부티레

이트 유도체, 알데히드 또는 알데히드 유도체, 항검상화 활성을 갖는 식물 추출물 (예를 들어, 헤묵신 (상표명)), 클로트리마졸, 트리아틸메탄의 유도체, 모노클로날 항체 또는 폴리에틸렌 글리콜 유도체이다. 부가 활성 성분의 예는, 비제한적으로 본원에 기술된 것을 포함한다 (섹션 5.1 참조).

혈색소병증의 치료 과정의 일부 성분 (예를 들어, 면역조절 화합물, 예를 들어, IMiD (상표명), 예를 들어, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온 또는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온; 추출물)을 경구로 복용하고, 다른 것을 다른 통상의 경로, 예를 들어, 정맥 내 또는 피하 내로 투여할 경우, 본 발명에 따른 키트는 본 발명의 면역조절 화합물(들) 이외에 면역조절 화합물에 대한 보조물로서 사용하기 위해 투여되는 화합물 또는 성분을 포함한다.

본 발명의 키트는 활성 성분을 투여하는 데에 사용되는 장치를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 장치의 예는, 비제한적으로 주사기, 드립백 (drip bag), 패치 및 흡입기를 포함한다.

본 발명의 키트는 1종 이상의 활성 성분을 투여하는 데에 사용될 수 있는 제약상 허용되는 비히클 뿐만 아니라 이식용 세포 또는 혈액을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 비경구 투여용으로 재구성되어야 하는 활성 성분이 고체 형태로 제공된 경우, 키트는 비경구 투여에 적합한 미립자 비함유 멸균 용액을 형성하도록 활성 성분이 용해될 수 있는 적합한 비히클의 밀봉 용기를 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 비히클의 예는, 비제한적으로 주사용수 USP; 수성 비히클, 예를 들면, 염화나트륨 주사액, 링거액의 주사액, 텍스트로오스 주사액, 텍스트로스 및 염화나트륨 주사액, 및 락트산염 링거 + 주사액 (이에 한정되지 않음); 수혼화성 비히클, 예를 들면 에틸 알콜, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리프로필렌 글리콜 (이에 한정되지 않음); 및 비수성 비히클, 예를 들면 옥수수유, 면실유, 낙화생유, 참깨유, 에틸 올레에이트, 이소프로필 미리스테이트, 및 벤질 벤조에이트를 포함한다.

6. 실시예

6.1. 실시예 1: 골수-유래 CD34⁺ 조혈 전조 세포의 상향조절된 적혈구-특이적 유전자를 나타내는 수지상 세포로의 분화

BM-CD34⁺ 세포를 캄브렉스 (Cambrex)(뉴저지주 이스트 루테르포드 소재)로부터 입수하고, 줄기 세포 인자 (SCF), Flt3-L, 과립구 대식세포-콜로니 자극 인자(GM-CSF) 및 TNFα의 존재하에 BIT 95000를 갖는 이스코브 (Iscove) MDM 내에서 (영국, 스템셀 테크놀로지스 (StemCell Technologies, UK)) 6일 동안 배양하였다. 수상돌기 세포의 생성에 대한, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온의 효과를 연구하기 위해 CD34⁺ 전조 세포를 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온의 존재 또는 부재하에 6일 동안 배양하였다. 배양 6일 후에, 유동 세포측정에 의해 적혈구 마커 (CD36, CD71, 글리코포린 A 및 태아 헤모글로빈)에 대한 세포의 표현형 특성을 확립시켰다. 마이크로어레이 분석으로 CD34⁺ 분화 후 1일, 3일 및 6일에서의 유전자 발현을 모니터링하였다 (도 1).

RNA 정제 및 마이크로어레이 분석. 전체 RNA를 알엔에이이지(RNAeasy) (키아젠 (Qiagen))를 사용하여 CD34⁺ 세포로부터 단리하였다. 유전자 발현 분석을 위해 아피메트릭스 (Affymetrix) 유전자 칩을 사용하였다. 요약하면, 이중나선의 cDNA를 전체 RNA 5 µg을 사용하여 합성하였다. 메시지암프 (MessageAmp) aRNA 키트 (암비온 (Ambion))를 사용하여 비오틴-표지된 cRNA를 합성하고, cRNA 15 µg을 단편화하고 각각의 어레이에 혼성화하였다. 상기 절차를 각각의 RNA 샘플에 대해 2회 실행하여 복제 비오틴-표지된 프로브를 수득하였다. 복제 칩으로부터의 결과를 배수 차의 계산치로 평균하였다.

결과. 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온 처리는 SCF, Flt3-L, GM-CSF 및 TNFα의 존재하에 CD34⁺ 분화 동안 적혈구-특이적 유전자의 유전자 발현 프로파일을 상향조절하였다. 중요하게는, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온은 CD34⁺ 세포 분화시, 6일째에 태아 헤모글로빈이 18배 특이적 증가하고, 6일째에 헤모글로빈이 7배 증가하며 (도 2), 태아 헤모글로빈 유전자 발현을 증가시켰다.

4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온 또는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 존재 또는 부재하에, 분화된 CD34⁺ 세포의 유동 세포측정에 의한 표현형 특성화는 적혈구 및 헤모글로빈 마커의 조절을 제시하였다. 글리코포린 A (도 3) 및 태아 헤모글로빈 (도 4)의 발현은 투여량-의존 방식으로 증가하였다. 또한, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온은 다른 적혈구-특이적 유전자를 유도하였다 (도 5). 또한, 통상의 적혈구생성에 절대적으로 필요한 각각의 글리코포린 B, 레서스 혈액형 연관 당단백질, 켈

혈액형 전구체, EDRF/AHSP (알파 헤모글로빈 안정화 단백질), 및 적혈구 크루펠-유사 전사 인자를 코딩하는 유전자의 발현은 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 존재하에 분화된 CD34⁺ 세포에서 상향조절하는 것으로 밝혀졌다.

4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온에 의해 증가된 다수의 적혈구-특이적 유전자는 빈혈을 개선시키는데 확실한 역할을 한다. 헤모글로빈 수준 및 알파-헤모글로빈 안정화 단백질 (AHSP)의 증가는 적혈구를 손상시킬 수 있는 과량의 알파-헤모글로빈 수준을 갖는 세포를 보호하면서 산소 운반 능력을 개선시킨다. 일반적으로, 적혈구 생성 증가, 및 특히 상기 언급한 유전자에 대한 IMiD의 영향은 낮은 적혈구 카운트가 증상 또는 치료 효과인 질환 상태 뿐만 아니라 화학요법으로 인한 빈혈 효과를 극복하는데에 유용할 것이다.

IMiD (상표명)의 효과는 에리트로포이에틴과 상승작용을 할 것으로 기대된다. IMiD (상표명)는 초기 적혈구 전구 세포 합성을 유도하는 것으로 보이는 반면, 에리트로포이에틴은 분화의 후기 단계에서 적혈구 전구 세포의 증식, 생존 및 분화에 결정적이다.

6.2. 실시예 2: CD34⁺ 세포의 적혈구 세포로의 분화

골수 (BM) CD34⁺ 조혈 전구 세포의 분화: BM-CD34⁺ 전구체는 캄브렉스로부터 입수하였고, 성장 인자의 존재하에 BIT 95000를 갖는 이스코브 (Iscove) MDM (세럼 대체물; 스템셀 테크놀로지스)에서 배양하였다. 처음 6일 동안, CD34⁺ 세포를 SCF (100 ng/ml), Flt3-L (100 ng/ml) 및 IL-3 (20 ng/ml)로 증식시킨 다음, SCF (50 ng/ml), 및 Epo (2U 또는 4U/ml)의 존재하에 6일 동안 배양하여 적혈구 계통으로 분화시켰다. IMiD (상표명)의 효과를 연구하기 위해, CD34⁺ 전구 세포를 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 또는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 존재 또는 부재하에, 6일 동안 분화시켰다 (도 6).

유동 세포측정: 배양 6일 후에, 표면 항원 발현을 유동 세포측정 (FACScan, Coulter)으로 분석하였다. FITC 및 PE 접합된 모노클로날 항체 (mAbs)를 사용하여, 6일째에 세포를 이중염색 (4℃에서 30분)시켰다. 사용된 항체는: CD34-PE, CD36-FITC, CD71-FITC 및 글리코포린 A-PE이고, 모두 BD 파밍겐 (Pharmingen) (캘리포니아주 산디에고 소재)으로부터 입수하였다. 배양 6일 후에, 세포를 인산염-완충된 염수 (PBS)로 세척하고, 2% 파라포름알데히드로 고정시키고, 시토퍼미어픽스 (cytopermeafix; BD Pharmingen)로 투과시키고, HbF-PE (BD Pharmingen, San Diego, CA), HbE-FITC (코르텍스 비오켄 (Cortex Biochem), 캘리포니아주 산 린드로 소재) mAbs 및 HbA-FITC (퍼킨 엘머 (Perkin Elmer))로 염색하고, 유동 세포측정 (FACScan, Coulter 또는 FCASaria, BD Pharmingen)으로 분석하였다.

결과: IMiD (상표명) 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 및 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온은 적혈구 전구 세포에서 헤모글로빈 F의 중요한 유도제이다. 먼저, CD34⁺ 전구 세포를 6일 동안 성장 인자 (SCF, Flt3-L 및 IL-3)의 조합물로 팽창시켰다. 팽창시킨 후에, CD34 세포를 IMiD (상표명)의 존재 또는 부재하에 6일 동안 SCF 및 Epo으로 적혈구 계통으로 분화시켰다 (도 6). SCF 및 Epo의 존재하에 특징적인 적혈구 표면 마커: 글리코포린 A (CD235) 및 트랜스페린 수용체 (CD71)를 발현시켜 CD34⁺ 전구 세포의 분화를 모니터링하였다 (도 7). CD34⁺ 세포가 IMiD (상표명)의 존재 또는 부재하에 분화될 경우, 적혈구 표현형이 존재한다. 흥미롭게도, 글리코포린 A의 발현은 IMiD (상표명)-처리 세포에서 낮은 반면, CD71의 발현은 양 쪽 조건에서 높은 수준을 유지하였다.

SCF 및 Epo로 6일 동안 배양한 후에, 유동 세포측정에 의해 태아 헤모글로빈을 발현하는 세포의 백분율을 모니터링하였다. 태아 헤모글로빈의 발현은 IMiD (상표명)에 의해 투여량-의존 방식으로 증가하였다 (도 8). 중요한 것은, 태아 헤모글로빈 (HbF)의 증가는 성인 헤모글로빈 (HbA)의 감소와 연관되어 있다는 점이다. HbF/HbA의 비율은 IMiD (상표명)의 존재하에 증가하였다 (도 9).

표현형 성숙도, 헤모글로빈 정량화에 추가로, 또한 세포의 증식 상태를 측정하였다. SCF 및 Epo로 배양한 지 6일 후에, 세포 카운트를 수행하였다. 총 세포 카운트는 IMiD (상표명)의 존재하에 증가하였고, 상기 군의 발생 단계 (즉, 덜 성숙)와 상호관련되었다.

6.3. 실시예 3: IMiD (상표명)는 현행 태아 헤모글로빈 승인된 요법과 상승적으로 작용함.

상기와 같이, 먼저, CD34⁺ 전구 세포를 6일 동안 성장 인자 (SCF, Flt3-L 및 IL-3)의 조합물로 증식시킨 다음, 6일 동안 SCF 및 Epo으로 적혈구 분화를 유도하였다. IMiD (상표명)의 효과를 태아 헤모글로빈 합성의 이들 2개의 공지된 유도체와 비교하기 위해, 적혈구 분화 기간 동안 IMiD (상표명)의 존재 또는 부재하에 CD34⁺ 세포를 단독으로 또는 히드록시우레아 및 5-아자시티딘과의 조합하여 배양하였다. 분화 6일째, 세포의 헤모글로빈 농도를 유동 세포측정으로 측정하였다. 보고된 바와 같이, 히드록시우레아 및 5-아자시티딘이 태아 헤모글로빈 발현을 증가시켰다 (도 10). 그러나, 태아 헤모글로빈 생산의 유도는 히드록시우레아 또는 5-아자시티딘과 비교하여 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 존재하에 10배 유도되어 IMiD를 사용할 경우에 보다 더 현저하였다. 흥미롭게도, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온은 히드록시우레아와 조합하여 현저한 상승작용을 나타내며, 이는 태아 헤모글로빈의 현저한 재활성화를 유발한다 (도 11).

6.4. 실시예 4: EPO+ IMiD는 STAT5 인산화에서의 증가를 유도함.

적혈구 세포 상의 Epo 및 IMiD (상표명)의 상승작용을 추가로 특성화하기 위해, 특히 Epo가 에리트로포이에틴 수용체 (EpoR)에 결합하여 활성화되는 것으로 공지된 STAT5의 발현 상의 IMiD (상표명)의 효과를 측정하기 위해, 본 발명자들은 UT-7 세포주에서 신호전달 실험을 수행하였다. UT-7은 증식에 대해 에리트로포이에틴에 절대적으로 의존하는 인간 백혈병 세포주이고, 급성 골수 백혈병 (AML M7)을 갖는 환자로부터 단리하였다. 이들 세포에서의 EpoR 발현 수준은 약 60%이다.

Epo 신호전달에서 IMiD (상표명)의 역할을 연구하기 위해, 본 발명자들은 다음과 같이, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온의 존재 또는 부재하에 Epo로 UT-7 세포를 자극하였다. 10% FBS 및 GM-CSF (5 ng/ml)를 갖는 RPMI 배지 중에 UT-7 세포를 증식시켰다. 상기 세포에서 밤새 혈청 및 성장 인자를 결핍시킨 다음, 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온 10 μ M, 또는 DMSO 대조군과 함께 45분 동안 예비-인큐베이션시키고, Epo (10 U/ml)로 10분 동안 자극하였다. 4-(아미노)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딜))-이소인돌린-1,3-디온은 Epo-유도된 STAT5 (Tyr694) 인산화를 2배로 증가시켰다 (도 12). 이 효과는 Epo로 자극한지 10분 내에 검출되었다.

6.5. 실시예 5: 독성학 연구

심혈관 및 호흡기 기능에 대한 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 효과를 마취된 개에서 연구하였다. 2군의 비글 개 (2마리/성별/군)를 사용하였다. 한 군에는 비히클 만을 3회 투여하였고, 다른 군에는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온 (2, 10, 및 20 mg/kg)을 3회 상승 투여량으로 투여하였다. 모든 경우에, 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온 또는 비히클의 투여량은 30분 이상의 간격으로 분리된 별개의 경정맥을 통한 주입에 의해 연속해서 투여하였다.

3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온에 의해 유도된 심혈관 및 호흡기 변화는 비히클 대조군과 비교하여 모든 투여량에서 최소였다. 비히클 및 처리군에서 유일한 통계적 유의차는 3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디히드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온의 저 투여량에 따른 동맥 혈압에서의 작은 증가 (94 mmHg에서 101 mmHg로)였다. 이러한 효과는 대략 15분 동안 지속되었고, 보다 높은 투여량에서는 나타나지 않았다. 대퇴 혈류, 호흡 파라미터, 및 Qtc 간격에서의 편차는 대조군 및 처리군 양쪽에서 공통적이고, 처리-관련된 것으로 고려되지 않는다.

상기 기술된 본 발명의 실시양태는 단순히 예시적인 것이고, 당업자는 다만 통상의 실험을 이용하여, 특정 화합물, 재료 및 절차의 다수 등가물을 인지하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 모든 상기 등가물은 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 고려되고 첨부된 청구의 범위에 의해 포괄된다.

7. 참고문헌

개별 문헌, 특허 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 모든 목적을 위해 전문이 참고문헌으로 혼입되어 있는 바와 같은 정도로, 모든 목적을 위해 본원에 공지된 모든 참고문헌은 전문이 본원에 참고문헌으로 혼입되어 있다. 모든 문헌의 언급은 본원 출원일 이전의 개시내용에 관한 것이지, 선행 발명이라는 이유로 인해 이러한 문헌보다 본원 발명이 더 이전에 수행되지 않은 것임을 인정한 것으로 해석되어서는 안된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

혈색소병증 또는 빈혈을 갖는 개체에게 면역조절 화합물을 혈색소병증의 1종 이상의 증상을 감소시키기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 혈색소병증 또는 빈혈을 갖는 개체의 치료 방법.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 혈색소병증이 겸상 적혈구성 빈혈 또는 지중해빈혈인 방법.

청구항 3.

제1항에 있어서, 상기 빈혈이 화학요법제 또는 약물의 투여로 유도되거나 또는 그와 관련된 빈혈인 방법.

청구항 4.

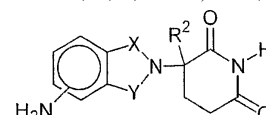
제1항에 있어서, 상기 개체에게 면역조절 화합물의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물 또는 전구약물을 투여하는 방법.

청구항 5.

제4항에 있어서, 상기 면역조절 화합물이 아미노-치환된 탈리도미드인 방법.

청구항 6.

제4항에 있어서, 상기 면역조절 화합물이 α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드; α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드의 유사체 또는 전구약물; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온의 유사체 또는 전구약물; 또는 화학식



의 화합물인 방법.

청구항 7.

제4항에 있어서, 상기 면역조절 화합물이 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린; 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린; 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-6-아미노이소인돌린; 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린; 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린; 또는 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린인 방법.

청구항 8.

제1항에 있어서, 상기 개체를 제2 화합물로 치료하는 것을 추가로 포함하며, 여기서 제2 화합물이 태아 헤모글로빈을 유도하는 화합물, 혈관을 이완시키는 화합물, 헤모글로빈 S에 공유 결합하는 경우에 헤모글로빈 S의 자가-응집을 감소시키는 화합물, 가르도스 채널 길항제인 화합물, 또는 적혈구 유착을 감소시키는 화합물인 방법.

청구항 9.

제8항에 있어서, 상기 제2 화합물이 히드록시우레아, 구아니디노 유도체, 아산화질소, 부티레이트 또는 부티레이트 유도체, 알데히드 또는 알데히드 유도체, 항검상화 활성을 갖는 식물 추출물, 클로트리마졸, 트리아틸메탄의 유도체, 모노클로날 항체 또는 폴리에틸렌 글리콜 유도체인 방법.

청구항 10.

제1항에 있어서, 상기 개체를 1종 이상의 시토킨으로 치료하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 11.

제10항에 있어서, 상기 1종 이상의 시토킨이 에리트로포이에틴 (Epo); SCF; GM-CSF; Flt-3L; TNF α ; IL-3; 또는 이의 임의의 조합물인 방법.

청구항 12.

제10항에 있어서, 상기 개체를 Epo 및 SCF로 치료하는 방법.

청구항 13.

제1항에 있어서, 상기 개체가 포유동물인 방법.

청구항 14.

제13항에 있어서, 상기 개체가 인간인 방법.

청구항 15.

제10항에 있어서, 상기 치료가 혈색소병증 또는 빈혈을 갖는 개체를 줄기 세포 인자 (SCF), Flt-3L 및 IL-3의 조합물로 치료하고, 이어서 상기 개체를 SCF 및 에리트로포이에틴으로 치료하는 것을 포함하는, 1종 이상의 태아 헤모글로빈 유전자의 발현을 검출가능한 증가를 유도하기에 충분한 것인 방법.

청구항 16.

적합한 조건하에 및 면역조절 화합물의 존재하에 상기 세포를 분화시키는 것을 포함하는, CD34⁺ 줄기 또는 전구 세포의 적혈구 계통으로의 분화를 조절하는 방법.

청구항 17.

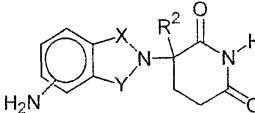
제16항에 있어서, 상기 분화가 면역조절 화합물의 제약상 허용되는 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물 또는 전구약물의 존재하에 수행되는 것인 방법.

청구항 18.

제17항에 있어서, 상기 면역조절 화합물이 아미노-치환된 탈리도미드인 방법.

청구항 19.

제17항에 있어서, 상기 면역조절 화합물이 α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드; α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드의 유사체 또는 전구약물; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온; 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-

-1-피페리딘-2,6-디온의 유사체 또는 전구약물 또는 화학식  의 화합물인 방법.

청구항 20.

제17항에 있어서, 상기 면역조절 화합물이 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린; 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린; 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-6-아미노이소인돌린; 1-옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린; 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-4-아미노이소인돌린; 또는 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-5-아미노이소인돌린인 방법.

청구항 21.

제16항에 있어서, 상기 CD34⁺ 줄기 또는 전구 세포가 시험관 내 세포인 방법.

청구항 22.

제16항에 있어서, 상기 CD34⁺ 줄기 또는 전구 세포가 생체 내 세포인 방법.

청구항 23.

제16항에 있어서, 세포를 1종 이상의 시토킨과 접촉시키는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 24.

제23항에 있어서, 상기 1종 이상의 시토킨이 에리트로포이에틴 (Epo); SCF; GM-CSF; Flt-3L; TNF- α ; IL-3; 또는 이의 임의의 조합물인 방법.

청구항 25.

제약상 허용되는 담체 내에 제1 면역조절 화합물 및 제2 화합물을 포함하며, 여기서 제2 화합물은 태아 헤모글로빈을 유도하는 화합물, 혈관을 이완시키는 화합물, 헤모글로빈 S에 공유 결합하는 경우에 헤모글로빈 S의 자가-응집을 감소시키는 화합물, 가르도스 채널 길항제인 화합물, 또는 적혈구 유착을 감소시키는 화합물인 제약 조성물.

청구항 26.

제25항에 있어서, 상기 제2 화합물이 히드록시우레아, 구아니디노 유도체, 아산화질소, 부티레이트 또는 부티레이트 유도체, 알데히드 또는 알데히드 유도체, 항검상화 활성을 갖는 식물 추출물, 클로트리마졸, 트리아틸메탄의 유도체, 모노클로날 항체 또는 폴리에틸렌 글리콜 유도체인 방법.

청구항 27.

제약상 허용되는 담체 내에 면역조절 화합물 및 1종 이상의 시토킨을 포함하며, 여기서 상기 1종 이상의 시토킨은 에리트로포이에틴 (Epo); SCF; GM-CSF; Flt-3L; TNF- α ; IL-3; 또는 이의 임의의 조합물인 제약 조성물.

청구항 28.

혈색소병증 또는 빈혈을 갖는 개체에게 화합물을 알파 헤모글로빈 안정화 단백질 (AHSP)의 수준에서 검출가능한 증가를 유도하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 혈색소병증 또는 빈혈을 갖는 개체의 치료 방법.

청구항 29.

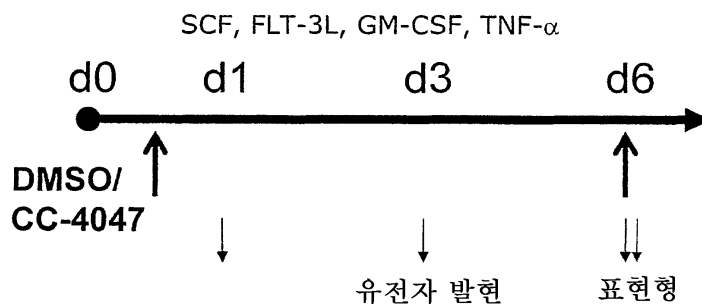
제28항에 있어서, 상기 화합물이 면역조절 화합물인 방법.

청구항 30.

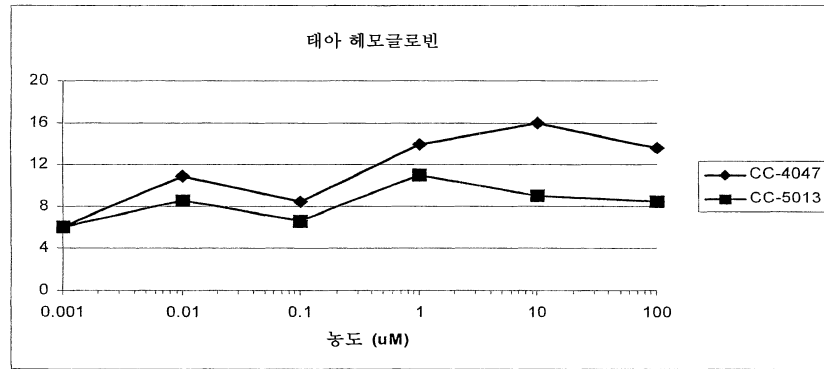
제29항에 있어서, 상기 면역조절 화합물이 α -(3-아미노프탈이미도)글루타르이미드 또는 3-(4'-아미노이소인돌린-1'-온)-1-피페리딘-2,6-디온인 방법.

도면

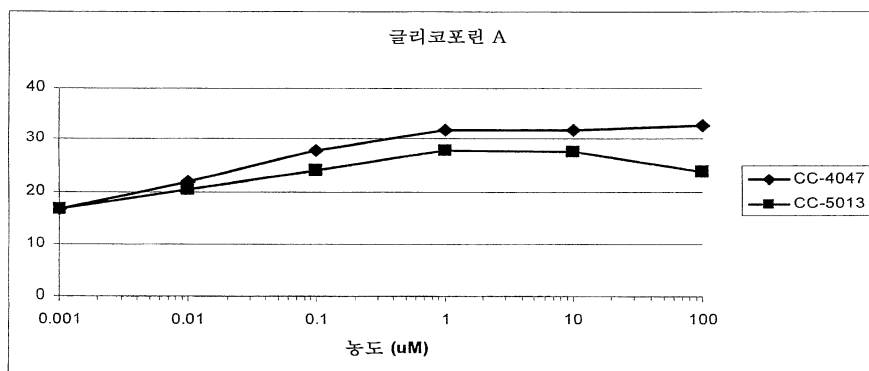
도면1



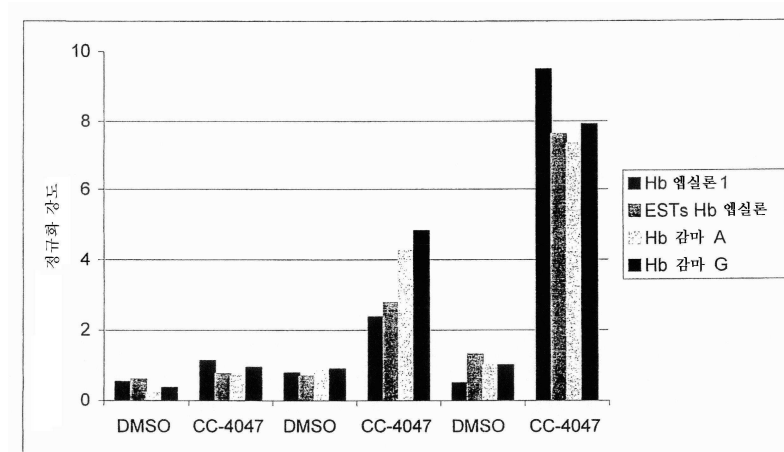
도면2



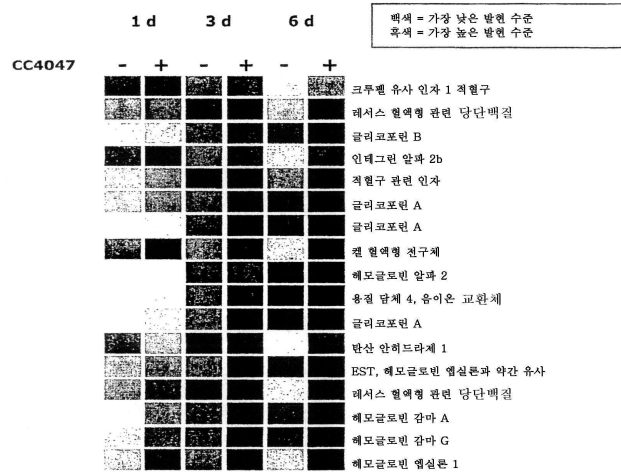
도면3



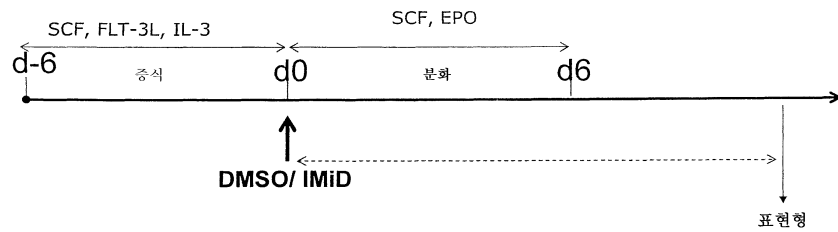
도면4



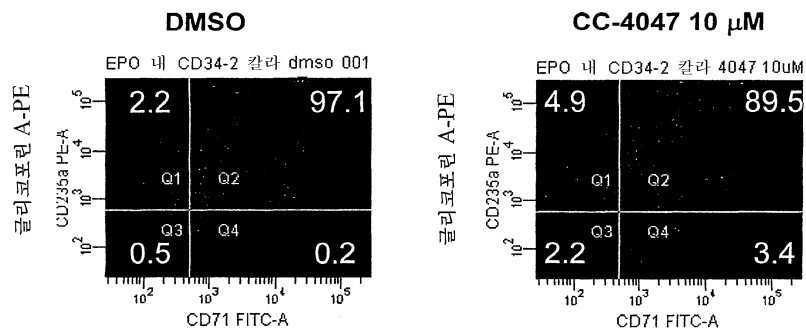
도면5



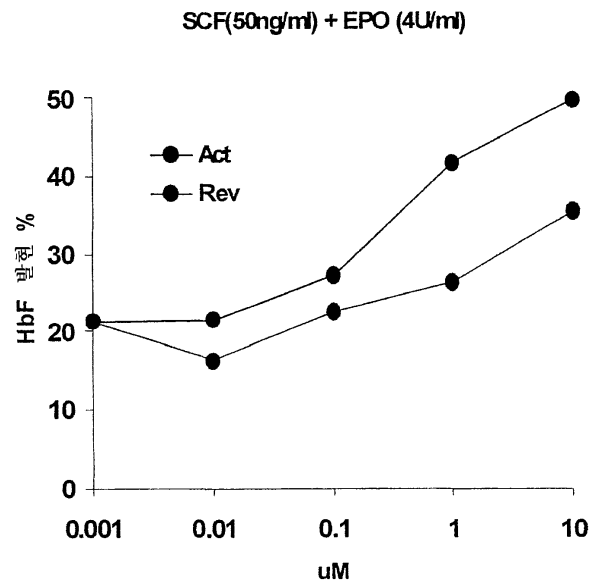
도면6



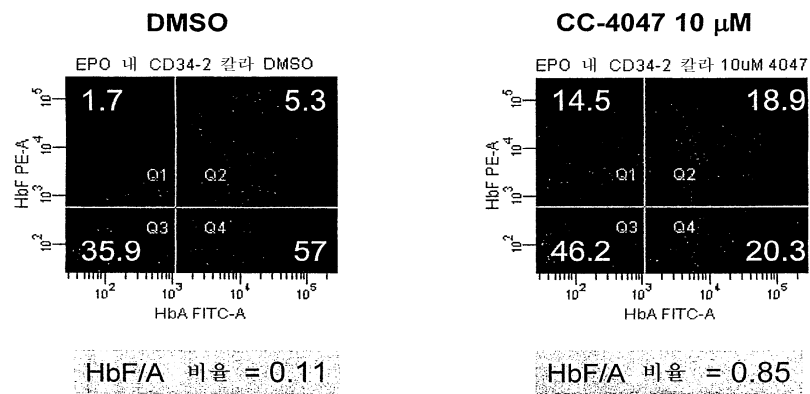
도면7



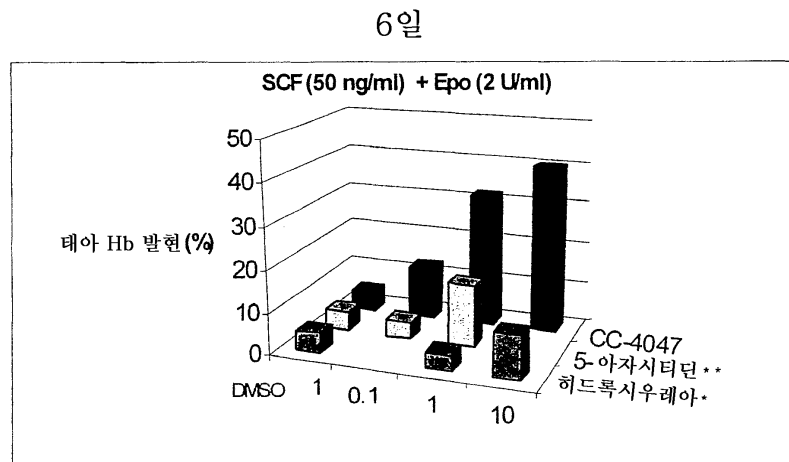
도면8



도면9

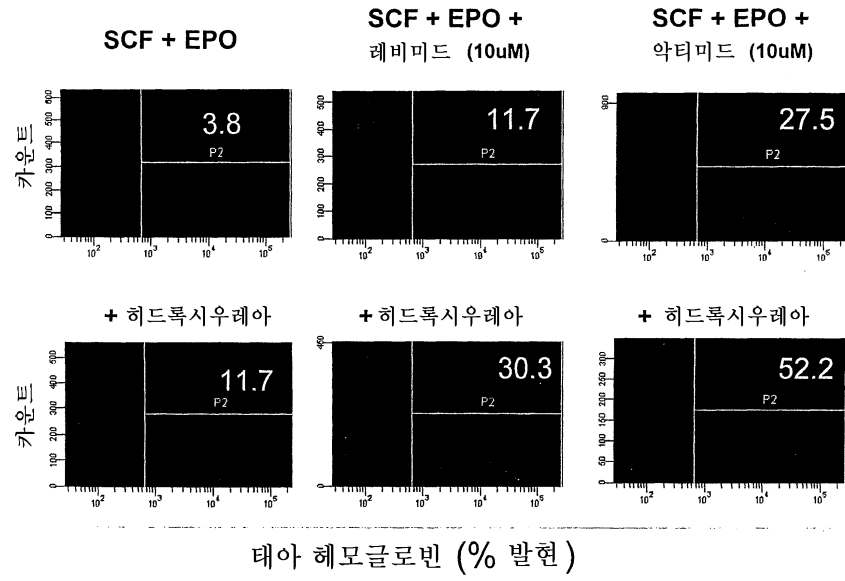


도면10



* 히드록시우레아 : 100 uM 에서 세포독성
** 5-아자시타딘 : 10 uM 에서 세포독성

도면11



도면12

