(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0111752
(43) 공개일자 2020년09월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4709 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4709 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2020-7024248
(22) 출원일자(국제) 2019년01월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년08월21일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2019/071846
(87) 국제공개번호 WO 2019/141170
국제공개일자 2019년07월25일
(30) 우선권주장
201810058487.7 2018년01월22일 중국(CN)

(71) 출원인
치아타이 티안퀭 파마수티컬 그룹 주식회사
중국 지앙수 프로빈스 222062 렌윈강 시티 위저우 사우스 로드 넘버 369
(72) 발명자
화, 잉치
중국 200080 상하이, 홍코우 디스트릭트, 하이닝 로드, 넘버 100
왕, 강양
중국 200080 상하이, 홍코우 디스트릭트, 하이닝 로드, 넘버 100
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인리체

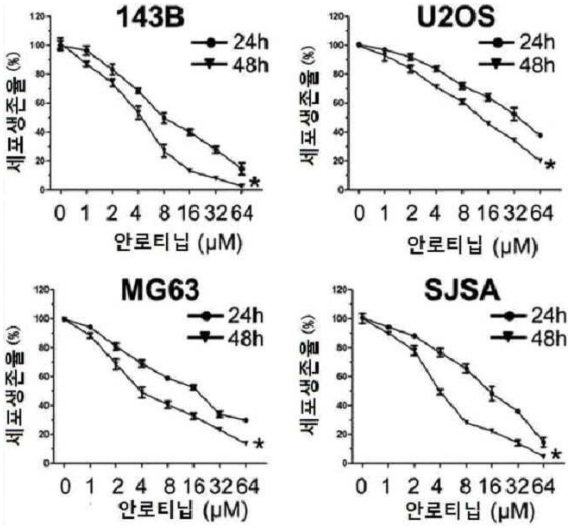
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **신규 티로신 키나아제 억제제인 안로티닙의 골육종 및 연골육종에 대한 사용**

(57) 요 약

본 발명은 의약 기술 분야에 속하며, 골육종 및 연골육종의 성장 및 전이를 억제하기 위한 안로티닙의 신규 용도에 관한 것이다. 본 발명은 안로티닙이 골육종 및/또는 연골육종의 성장 및 전이를 억제할 수 있다는 것을 처음으로 발견하였다. 안로티닙은 골육종 세포계 143B, U2OS, MG63 및 SJSA의 성장을 유의하게 억제하고 그들의 주기 정지를 유도할 수 있으며 골육종 세포계의 유주 및 침윤을 억제할 수 있다. 본 발명은 안로티닙이 골육종 세포에 대한 화학 요법 의약 시스플라틴의 살해 효과를 높일 수 있다는 것을 처음으로 발견하였다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/04 (2018.01)
(72) 발명자
카이, 쩡동
중국 200080 상하이, 홍코우 디스트릭트, 하이닝로드, 넘버 100
왕, 쭈오잉
중국 200080 상하이, 홍코우 디스트릭트, 하이닝로드, 넘버 100
장, 타오
중국 200080 상하이, 홍코우 디스트릭트, 하이닝로드, 넘버 100
왕, 홍셩
중국 200080 상하이, 홍코우 디스트릭트, 하이닝로드, 넘버 100
선, 맹시옹
중국 200080 상하이, 홍코우 디스트릭트, 하이닝로드, 넘버 100
왕, 쑨치앙
중국 지앙수 222062 렌윈강 위저우 사우스 로드 넘버 369
잔, 시아오르
중국 지앙수 222062 렌윈강 위저우 사우스 로드 넘버 369
양, 자오치앙
중국 지앙수 222062 렌윈강 위저우 사우스 로드 넘버 369
투, 리판
중국 지앙수 222062 렌윈강 위저우 사우스 로드 넘버 369
리, 푸
중국 지앙수 222062 렌윈강 위저우 사우스 로드 넘버 369

명 세 서

청구범위

청구항 1

골육종 및/또는 연골육종을 억제하기 위한 의약품 제조에 있어서, 안로티닙 및 그 약학적으로 허용되는 염의 사용.

청구항 2

골육종 및/또는 연골육종을 억제하기 위한 시스플라틴 상승제로서의 안로티닙 및 그 약학적으로 허용되는 염의 사용.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서,

상기 안로티닙의 약학적으로 허용되는 염은 염산 안로티닙인 것을 특징으로 하는 사용.

청구항 4

청구항 1 또는 2에 있어서,

상기 의약품은 골육종 및/또는 연골육종의 성장 및/또는 전이를 억제하는 것을 특징으로 하는 사용.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 골육종 및/또는 연골육종의 전이는 유주 및/또는 침윤인 것을 특징으로 하는 사용.

청구항 6

청구항 1 또는 2에 있어서,

상기 골육종은 원발성 골육종 및/또는 속발성 골육종인 것을 특징으로 하는 사용.

청구항 7

청구항 1 또는 2에 있어서,

상기 골육종은 골형성형 골육종 및/또는 골용해성 골육종인 것을 특징으로 하는 사용.

청구항 8

청구항 1 또는 2에 있어서,

상기 골육종은 골아세포형 골육종, 연골아세포형 골육종 및/또는 섬유아세포형 골육종인 것을 특징으로 하는 사

용.

청구항 9

청구항 1 또는 2에 있어서,

상기 연골육종은 탈분화형 연골육종 및/또는 고분화형 연골육종인 것을 특징으로 하는 사용.

청구항 10

청구항 1에 있어서,

상기 의약품은 치료상 유효한 양의 안로티닙 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는 사용.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 의약 기술 분야에 관한 것으로, 구체적으로는 골육종 및 연골육종에 대한 안로티닙의 사용에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 안로티닙(Anlotinib)은 중국에서 개발된, 독립적으로 지적재산권을 갖는 소분자 다표적 티로신 키나아제 억제제로 화합물 특허의 공개번호가 WO2008/112407이다. 2011년에 임상 승인을 취득하고 2013년에 제I상 임상 시험을 완료하였다. 비소세포 폐암, 연부 육종, 위암, 결장직장암, 갑상선 수질암, 분화형 갑상선암, 식도 편평 상피암 등 많은 암에 대한 안로티닙 임상 시험이 진행중이다.

[0003] 국제공개번호 WO2008/112407, 중국특허신청번호 ZL200880007358.X의 특허문헌에는 대장암, 비소세포 폐암, 간장암, 유방암에 대한 안로티닙의 억제 활성이 개시되어 있다. 그러나 골육종에 대해 안로티닙을 사용하는 것에 관한 보고는 없었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명은 종래기술의 단점에 대해 안로티닙의 신규 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0005] 전술한 목적을 달성하기 위해 본 발명에서는 이하의 구성을 채용한다.

[0006] 골육종 및/또는 연골육종을 억제하기 위한 의약품 제조에 있어서, 안로티닙 및 그 약학적으로 허용되는 염의 사용.

[0007] 골육종 및/또는 연골육종을 억제하기 위한 시스플라틴 상승제로서의 안로티닙 및 그 약학적으로 허용되는 염의 사용.

[0008] 또한 안로티닙의 약학적으로 허용되는 염은 염산 안로티닙이다.

[0009] 또한 상기 의약품은 골육종 및/또는 연골육종의 성장 및/또는 전이를 억제한다.

[0010] 또한 상기 의약품은 골육종 및/또는 연골육종의 폐 전이를 억제한다.

[0011] 또한 상기 의약품은 골육종 및/또는 연골육종의 재발을 억제한다.

[0012] 또한 상기 골육종 및/또는 연골육종의 전이는 유주(遊走;migration) 및/또는 침윤이다.

[0013] 또한 상기 골육종은 원발성 골육종 및/또는 속발성 골육종이다.

[0014] 또한 상기 골육종은 골형성형 골육종 및/또는 골용해형 골육종이다.

[0015] 또한 상기 골육종은 골아세포형 골육종, 연골아세포형 골육종 및/또는 섬유아세포형 골육종이다. 또한 상기 골육종은 연골아세포형 골육종이다.

[0016] 또한 상기 연골육종은 탈분화형 연골육종 및/또는 고분화형 연골육종이다.

[0017] 또한 상기 골육종은 진행기 및/또는 전이성 골육종이고, 상기 연골육종은 진행기 및/또는 전이성 연골육종이다.

[0018] 또한 상기 골육종 및/또는 연골육종의 본체는 화학 요법 및/또는 방사선 요법을 받은 것이다. 또한 상기 골육종 및/또는 연골육종의 본체가 받은 화학 요법의 화학 요법제는 메토트렉세이트, 이포스파미드, 시스플라틴 및 독소루비신(아드리아마이신)을 포함한다. 또한 상기 골육종 및/또는 연골육종의 본체는 화학 요법 및/또는 방사선 요법을 받은 후 질환이 진행되고 있다.

[0019] 또한 상기 의약품은 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염과, 약학적으로 허용되는 담체를 포함한다.

[0020] 다른 측면에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는 골육종 및/또는 연골육종의 치료 방법을 제공한다.

[0021] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 골육종 및/또는 연골육종의 성장 및/또는 전이를 억제하는 방법을 제공한다. 또한 본 발명은 골육종 및/또는 연골육종의 폐 전이를 억제하는 방법을 제공한다.

[0022] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 골육종 및/또는 연골육종의 유주 및/또는 침윤를 억제하는 방법을 제공한다.

[0023] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 원발성 골육종 및/또는 속발성 골육종의 치료 방법을 제공한다.

[0024] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 골형성형 골육종 및/또는 골용해형 골육종의 치료 방법을 제공한다.

[0025] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 골아세포형 골육종, 연골아세포형 골육종 및/또는 섬유아세포형 골육종의 치료 방법을 제공한다.

[0026] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 탈분화형 연골육종 및/또는 고분화형 연골육종의 치료 방법을 제공한다.

[0027] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 진행기 및/또는 전이성 골육종 및/또는 연골육종의 치료 방법을 제공한다.

[0028] 또한 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 치료상 유효한 양의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 골육종 및/또는 연골육종의 재발 예방 및/또는 재발 치료 방법을 제공한다.

[0029] 또한 본 발명은 본체가 화학 요법 및/또는 방사선 요법을 받은 골육종 및/또는 연골육종의 치료 방법을 제공한다. 또한 상기 골육종 및/또는 연골육종의 본체가 받은 화학 요법의 화학 요법제는 메토트렉세이트, 이포스파미드, 시스플라틴 및 독소루비신(아드리아마이신)을 포함한다. 또한 상기 골육종 및/또는 연골육종의 본체는 화학 요법 및/또는 방사선 요법을 받은 후 질환이 진행되고 있다.

[0030] 안로티닙은 유리 염기로 투여해도 되고, 염, 수화물, 체내에서 안로티닙의 유리 염기가 되는 프로드러그로 투여해도 된다. 예를 들면 안로티닙의 약학적으로 허용되는 염에 대해 본 발명의 범위 내에서 당업계에 알려진 방법으로 다양한 유기산이나 무기산으로 상기 염을 형성할 수 있다.

[0031] 본 발명의 일부 실시형태에서는 안로티닙의 염산염으로 투여한다. 일부 실시형태에서는 안로티닙의 일염산염 또는 이염산염으로 투여한다. 일부 실시형태에서는 안로티닙의 염산염의 결정으로 투여한다. 일부 실시형태에서는 안로티닙의 이염산염의 결정으로 투여한다.

[0032] 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염은 다양한 경로를 통해 투여할 수 있고, 투여 경로로는 경구 투여, 비

경구 투여, 복강 내 투여, 정맥 내 투여, 동맥 내 투여, 경피 투여, 설하 투여, 근육내 투여, 직장 투여, 구강 투여, 비강 내 투여, 흡입 투여, 질 투여, 눈 내 투여, 국소 투여, 피하 투여, 지방 내 투여, 관절 내 투여, 척수강 내 투여를 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시형태에서는 경구 투여하는데, 구체적인 제형으로는 정제, 캡슐, 분말, 과립제, 점적 환제(dropping pill), 페이스트, 산제 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 바람직하게는 정제와 캡슐이다. 정제는 통상적인 정제, 분산성 정제, 발포성 정제, 서방성 정제, 방출 제어 정제 또는 장용성 정제일 수 있다. 캡슐은 통상적인 캡슐, 서방성 캡슐, 방출 제어 캡슐, 장용성 캡슐일 수 있다. 상기 경구 제제는 당업계에서 주지인 약학적으로 허용되는 담체를 이용해서 통상적인 방법으로 제조할 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체로는 충전제, 흡수제, 습윤제, 결합제, 붕괴제, 윤활제 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 충전제로는 전분, 락토오스, 만니톨, 미결정성 셀룰로오스 등을 들 수 있다. 흡수제로는 황산칼슘, 인산수소칼슘, 탄산칼슘 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 습윤제로는 물, 에탄올 등을 들 수 있다. 결합제로는 하이프로멜로스, 포비돈, 미결정 셀룰로오스 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 붕괴제로는 크로스카멜로스나트륨, 크로스포비돈, 계면 활성제, 저치환도 히드록시프로필셀룰로오스 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 윤활제로는 스테아르산마그네슘, 탈크, 폴리에틸렌글리콜, 라우릴황산나트륨, 미분화 실리카겔, 탈크 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 약학적 첨가제로는 착색제, 감미료 등을 들 수 있다.

[0033] 본 발명의 일부 실시형태에서 환자의 1일 투여량은 2mg 내지 20mg이다. 일부 실시형태에서 환자의 1일 투여량은 5mg 내지 20mg이다. 일부 실시형태에서 환자의 1일 투여량은 10mg 내지 16mg이다. 본 발명의 일부 실시형태에서 환자의 1일 투여량은 10mg 내지 14mg이다. 일부 실시형태에서 환자의 1일 투여량은 8mg, 10mg, 12mg, 14mg 또는 16mg이다.

[0034] 상기 치료 방법에 있어서, 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염은 단회 투여 또는 복수회 투여로 1일 1회 이상 투여할 수 있다. 본 발명의 일부 실시형태에서 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 1일 1회 투여한다.

[0035] 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염의 투여량은 질환의 중증도, 질환의 반응, 모든 치료에 관련된 독성, 환자의 나이와 건강 상태에 따라 결정할 수 있다. 바람직하게는 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 간헐적 투여로 투여하며, 상기 간헐적 투여는 투여기간과 휴약기간을 포함하고, 투여기간에 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 1일 1회 이상 투여할 수 있다. 예를 들면 투여기간에 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염을 매일 투여하고 휴약기간에 투여를 중지한다. 그러고 나서 투여기간, 그리고 휴약기간을 같은 방식으로 여러 번 반복할 수 있다. 투여기간과 휴약기간의 비율은 일수 기준으로 2:0.5 내지 5이고, 바람직하게는 2:0.5 내지 3이고, 보다 바람직하게는 2:0.5 내지 2이고, 더욱 바람직하게는 2:0.5 내지 1이다.

[0036] 일부 실시형태에서는 2주 연속 투여하고 2주 휴약한다. 일부 실시형태에서는 1일 1회로 14일 연속 투여하고 14일 휴약한 다음 1일 1회로 14일 연속 투여하고 14일 휴약하는, 14일 연속 투여하고 14일 휴약하는 간헐적 투여를 여러 번 반복할 수 있다.

[0037] 일부 실시형태에서는 2주 연속 투여하고 1주 휴약한다. 일부 실시형태에서는 1일 1회로 14일 연속 투여하고 7일 휴약한 다음 1일 1회로 14일 연속 투여하고 7일 휴약하는, 14일 연속 투여하고 7일 휴약하는 간헐적 투여를 여러 번 반복할 수 있다.

[0038] 일부 실시형태에서는 5일 연속 투여하고 2일 휴약한다. 일부 실시형태에서는 1일 1회로 5일 연속 투여하고 2일 휴약한 다음 1일 1회로 5일 연속 투여하고 2일 휴약하는, 5일 연속 투여하고 2일 휴약하는 간헐적 투여를 여러 번 반복할 수 있다.

[0039] 일부 실시형태에서 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염은 유일한 활성 성분으로서 골육종 또는 연골육종 환자에게 단독으로 투여한다. 일부 실시형태에서 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염은 기타 항종양약과 동시 또는 순서대로 골육종 또는 연골육종 환자에게 투여한다. 일부 실시형태에서 기타 항종양약으로는 알킬화제, 백금 착체, 플루오로피리미딘 유도체, 캄프토테신 및 그 유사체, 안트라 퀴논계 항종양 항생물질, 탁산계 화합물을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시형태에서 기타 항종양약은 시스플라틴이다.

[0040] 다른 측면에서 본 발명은 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염과 적어도 1종의 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 골육종 및/또는 연골육종 치료용 의약 조성물을 제공한다.

[0041] 다른 측면에서 본 발명은 (a) 적어도 1단위 용량의 안로티닙 또는 그 약학적으로 허용되는 염의 의약 조성물과, (b) 골육종 및/또는 연골육종 치료를 위한 취급 설명서를 포함하는 키트를 제공한다.

발명의 효과

[0042] 본 발명의 장점은 다음과 같다.

[0043] (1) 본 발명은 안로티닙이 골육종 및/또는 연골육종의 성장 및 전이를 억제할 수 있다는 것을 처음으로 발견하였다. 안로티닙은 골육종 세포계 143B, U2OS, MG63 및 SJSA의 성장을 유의하게 억제하고 그 주기 정지를 유도할 수 있으며, 골육종 세포계의 유주 및 침윤을 억제할 수 있다.

[0044] (2) 본 발명은 안로티닙이 골육종 세포에 대한 화학 요법제 시스플라틴의 살해 효과를 높일 수 있다는 것을 처음으로 발견하였다.

[0045] (3) 본 발명은 안로티닙이 골육종 및/또는 연골육종의 치료에 사용 가능하다는 것을 처음으로 발견하였다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 골육종에 대한 안로티닙에 의한 세포 증식 억제를 나타낸 것이다.

도 2는 골육종에 대한 안로티닙에 의한 세포주기 정지 유도를 나타낸 것이다.

도 3은 골육종에 대한 안로티닙에 의한 세포주기 정지 유도를 나타낸 것이다.

도 4는 시스플라틴(DDP)에 의해 유도된 골육종 세포 아포토시스(apoptosis)에 대한 안로티닙의 보강 작용을 나타낸 것이다.

도 5는 시스플라틴(DDP)에 의해 유도된 골육종 세포 아포토시스에 대한 안로티닙의 보강 작용을 나타낸 것이다.

도 6은 골육종 세포의 유주 및 침윤에 대한 안로티닙의 억제 작용을 나타낸 것이다.

도 7은 골육종 세포의 유주 및 침윤에 대한 안로티닙의 억제 작용을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] 특별히 언급이 없는 한, 본원의 목적에 따라 본 명세서 및 특허청구범위에서 다음 용어는 하기 의미를 가진다.

[0048] "환자"란 포유류를 가리키며, 바람직하게는 인간이다.

[0049] "약학적으로 허용된다"란 물질이 의약 조성물의 제조에 사용 가능하다는 것을 의미한다. 상기 의약 조성물이란 통상적으로 안전하고, 독성이 없으며, 생물학상 또는 기타 관점에서 문제가 없으며, 인간 제약 용도로 허용되는 것을 말한다.

[0050] "약학적으로 허용되는 염"으로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산으로 형성된 산부가염, 또는 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프로피온산, 헥산산, 헵탄산, 시클로펜탄프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 사과산, 말레산, 푸마르산, 주석산, 구연산, 안식향산, 계피산, 만델산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 1,2-에탄디술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 벤젠술폰산, p-클로로벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산, 3-페닐프로피온산, 트리메틸아세트산, tert-부틸아세트산, 도데실술폰산, 글루콘산, 글루탐산, 히드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산 등의 유기산으로 형성된 산부가염을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0051] "치료상 유효한 양"이란 질환 치료를 위해 화합물을 인간에게 투여할 경우 해당 질환을 제어하기에 충분한 용량을 의미한다.

[0052] "치료"란 하기를 포함한, 치료상 유효한 양의 화합물의 어떠한 사용을 의미한다:

[0053] (1) 질환의 병상 또는 증상을 경험하거나 나타내고 있는 인체의 질환을 억제하는(즉, 그 병상 및/또는 증상의 추가 진행을 멈추는) 것, 또는

[0054] (2) 질환의 병상 또는 증상을 경험하거나 나타내고 있는 인체의 질환을 개선하는(즉, 그 병상 및/또는 증상을 역전시키는) 것.

[0055] "CR"이란 완전반응(complete response)을 말하며, 구체적으로는 종양의 표적 병변이 소실되고, 새로운 병변이 나타나지 않으며 종양 마커가 정상인 상태가 4주 이상 유지된 것을 의미한다.

[0056] "PR"이란 부분반응(partial response)을 말하며, 구체적으로는 종양의 표적 병변 직경 합계가 베이스라인 레벨보다 30% 이상 감소된 상태가 4주 이상 유지된 것을 의미한다.

[0057] "PD"란 질환의 진행(progressive disease)을 말하며, 구체적으로는 종양의 표적 병변 직경 합계가 베이스라인 레벨보다 20% 이상 증가한 것을 의미한다.

[0058] "SD"란 질환의 안정(stable disease)을 말하며, 구체적으로는 종양의 표적 병변(들)의 감소량이 PR 레벨까지 이르지 않고, 증가량이 PD 레벨까지 이르지 않은 상태를 의미하며, SD 레벨은 PR 레벨 및 PD 레벨 사이를 의미한다.

[0059] "qd"란 약을 1일 1회 복용하는 것을 의미한다.

[0060] "진행기"란 "국소 진행기"를 포함한다.

[0061] 이하, 실시예에 의해 본 발명에서 제공하는 실시형태에 대해 자세히 설명한다.

[0062] [실시예 1]

[0063] 1. 시료 및 방법

[0064] 1.1 시료: 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션(ATCC)에서 구입한 인간 골육종 세포주 143B, U2OS, MG63 및 SJSA.

[0065] CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.에서 유래한 안로티닙(신규 티로신 키나아제 억제제). 안로티닙을 디메틸술폭시드에 용해하여 16mmol/L의 농도인 working solution을 저장 용액(stock solution)으로 조제해서, 다음 사용을 위해 -20℃ 냉장고에 보존하고, 사용 전에 혈청을 함유하는 DMEM 배양 배지로 필요 농도로 조정하였다.

[0066] 실험 시약 및 기구: DMEM 고(高)글루코오스 배지, 소 태아 혈청(미국 Thermo사); cleaved-Caspase3, 항 p-PARP 항체, 항 GAPDH 항체, 서양고추냉이(horseradish) 퍼옥시다제 표식 이차 항체(Sixin Biotechnology Co., Ltd.); 디메틸술폭시드(미국 Sigma사); 0.02% EDTA + 0.25% 트립신(독일 Miltenyi Biotec사); 항온 인큐베이터(Shanghai Rongyan Instrument Co., Ltd.); 유세포 분석기(미국 Becton Dickinson사); 다기능 마이크로플레이트 리더(미국 Molecular Devices사).

[0067] 1.2 실험 방법

[0068] 1.2.1 세포 배양: 골육종 세포주 143B, U2OS, MG63 및 SJSA를 DMEM 완전 배양 배지(체적분율 10%의 소 태아 혈청, 스트렙토마이신 0.1g/L, 페니실린 100U/mL를 포함한 것)에서 배양하고, 37℃로 체적분율 5%의 CO_2를 포함하는 항온 인큐베이터 내에서 배양하였다. 약 85%의 세포 융합에 도달하면 0.02% EDTA+0.25% 트립신 혼합 세포 분리액으로 분리하고, 그 후 세포를 수집하여 1000r/min로 3분 동안 원심분리하여 계대 배양하였다.

[0069] 1.2.2 cck-8 의한 세포 증식의 검출: 대수 증식기의 143B 세포, U2OS 세포, MG63 세포 및 SJSA 세포를 수집하고, PBS로 헹구어 카운트하고, 분리 튜브에 분주하였다. 그 세포를 3000세포/웰로 96웰 플레이트에 파종하고 24h 배양하여 세포 접착시켰다. 안로티닙을 각각 다른 농도로(0 μM, 1 μM, 2 μM, 4 μM, 8 μM, 16 μM, 32 μM 및 64μM) 첨가하여, 그 혼합물을 24h 배양한 후 검출하였다. DMEM 배양 배지로 10배 희석한 cck-8 시약 100μL를 각 웰에 첨가하고 그 혼합 결과물을 37℃에서 45분 동안 인큐베이팅하였다. 마이크로플레이트 리더를 이용하여 450nm에서 각 웰의 결과물의 흡광도를 검출하였다.

[0070] 1.2.3 플레이트 클로닝 실험: 1μM의 안로티닙 으로 143B 세포, U2OS 세포, MG63 세포 및 SJSA 세포를 처리하고 상층 액체를 흡인하였다. 4% 파라포름알데히드로 15분 동안 고정하고 PBS로 3회 헹구고, 0.1% 크리스탈 바이올렛으로 10분 동안 염색하여, PBS로 2회 헹구고, 건조시킨 후 사진 찍었다.

[0071] 1.2.4 유세포 분석기(flow cytometer)에 의한 세포주기 검출: 143B 세포, U2OS 세포, MG63 세포 및 SJSA 세포를 각각 다른 농도의 안로티닙(0 μM, 1 μM, 2 μM 및 4 μM)을 포함하는 배양 배지액에 첨가하여 배양하였다. 상기 세포를 24h 후에 수집하고, 1000r/min로 1분 동안 원심분리하고, PBS로 헹구고, 70% 에탄올로 고정하였다. 세포주기 분석 키트의 PI 염색액을 첨가하여, 그 혼합액을 어두운 곳에서 실온으로 15분 동안 배양하고, 유세포 분석기를 사용하여 검출하였다. 화상은 소프트웨어 ModFit로 분석하였다. 상기 실험을 3회 반복하였다.

[0072] 1.2.5 유세포 분석기에 의한 아포토시스(apoptosis) 검출: 143B 세포, U2OS 세포, MG63 세포 및 SJSA 세포를 2 μM의 안로티닙(10μM 시스플라틴(DDP) 함유 또는 비함유)을 포함하는 배양 배지액에 첨가하여 배양하였다. 상기 세포를 24h 후에 수집하고, 1000r/min로 1분 동안 원심분리하고, PBS로 헹구었다. 그 후, Annexin-V-FITC/PI 세포 아포토시스 검출 키트를 이용해서, 그 세포의 아포토시스를 검출하였다. 그 세포를 100μL의 1× Binding 버퍼에 첨가하여 재현탁하고, 5μL의 AnnexinV-FITC 및 2.5μL의 PI 염색 시약을 첨가하여, 그 혼합물

을 어두운 곳에서 진탕 혼합하였다. 그 결과물을 실온에서 15분 동안 반응시킨 후, 300μL의 1× Binding 버퍼를 더 첨가하여, 그 혼합 결과물을 균일하게 혼합하고 유세포 분석기로 검출하였다. 상기 실험을 3회 반복하였다.

[0073] 1.2.6 세포의 유주 및 침윤에 관한 Transwell 검정: $5x10^4$세포/웰로 Transwell 챔버 상부에 파종하였다. 1μM의 안로티닙으로 143B 세포, U2OS 세포, MG63 세포 및 SJSA 세포를 처리하였다. Transwell 챔버 상부(침윤 실험에서는 10% matrigel로 4시간 예비 처리가 필요함)에 2% 혈청을 포함하는 배양 배지를 첨가하고, 하부에 10% 혈청을 포함하는 배양 배지를 첨가하였다. 24시간 후, 그 세포를 4% 파라포름알데히드로 고정하고, 크리스탈 바이올렛으로 염색하여, 현미경으로 사진 찍었다.

[0074] 1.3 주요 관찰사항: 안로티닙은 골육종 세포의 성장 및 전이에 대한 유의한 억제 효과를 가지는 동시에, 골육종에 대한 화학 요법제의 살해 작용을 높일 수 있다.

[0075] 2. 결과

[0076] 2.1 안로티닙에 의한 골육종 세포 증식 억제

[0077] 안로티닙에 의한 골육종 세포계 143B, U2OS, MG63 및 SJSA의 항-증식 작용을 평가하기 위해, 0 μM, 1 μM, 2 μM 또는 4 μM 농도의 안로티닙으로 상기 골육종 세포계를 24시간 또는 48시간 처리하였다. 그 결과 안로티닙 농도 증가에 따라 세포 증식률은 감소하였고, 또한 동일한 의약 작용 농도 및 다른 의약 작용 시간에서도 안로티닙은 골육종 세포계 증식에 대한 유의한 억제 효과를 가졌다. 이상의 결과를 통해 안로티닙은 골육종 세포계 증식에 대한 유의한 억제 작용을 가지며, 시간 의존성 및 농도 의존성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

표 1

[0078]

세포계	143B	U2OS	MG63	SJSA
IC50(24h)	20.81	41.28	30.11	25.66
IC50(48h)	7.95	25.92	14.84	10.22

[0079] 2.2 안로티닙에 의한 골육종 세포의 세포주기 정지 유도

[0080] 안로티닙에 의한 골육종 세포의 증식 억제 메커니즘을 연구하기 위해, 골육종 세포계 143B, U2OS, MG63 및 SJSA를 표적 세포로 해서 세포주기를 검출하였다. 그 결과, 안로티닙으로 처리한 후, 세포에서 G2/M 주기 정지가 발생하였고, 동시에 G1기인 세포의 감소가 동반되었다.

[0081] 2.3 시스플라틴(DDP)에 의해 유도된 골육종 세포 아포토시스에 대한 안로티닙의 보강 작용

[0082] 다음으로, 발명자들은 골육종 세포계에서의 안로티닙의 화학 요법에 의한 증감 효과를 연구하기 위해, 2μM의 안로티닙을 이용해서, 전형적인 Annexin-V-FITC/PI 세포 아포토시스 검출을 실시하였다. 그 결과 안로티닙은 시스플라틴에 의해 유도되는 골육종 세포계의 아포토시스를 유의하게 높일 수 있음을 알 수 있었다.

[0083] 2.4 안로티닙에 의한 골육종 세포의 유주 및 침윤에 대한 억제

[0084] 안로티닙에 의한 골육종 세포계의 유주 및 침윤에 대한 영향을 연구하기 위해, 발명자들은 Transwell 검정을 실시하였다. 그 결과 안로티닙으로 24시간 처리된 골육종 세포계에서는 유주 및 침윤이 대폭으로 억제되었다.

[0085] 3 결론

[0086] 안로티닙은 골육종 세포계 143B, U2OS, MG63 및 SJSA의 성장을 유의하게 억제하고 그 세포 주기 정지를 유도함과 아울러 골육종 세포계의 유주 및 침윤을 억제할 수 있다. 또한 안로티닙은 화학 요법제 시스플라틴에 의한 골육종 세포에 대한 살해 효과를 높일 수 있음을 알 수 있었다.

[0087] [실시예 2]

[0088] 1-[[[4-(4-플루오로-2-메틸-1H-인돌-5-일)옥시-6-메톡시퀴놀린-7-일]옥시]메틸]시클로프로필아민 이염산염(안로티닙의 이염산염)을 포함하는 캡슐

표 2

[0089]

원료 및 첨가제명	배합량(1000캡슐)
안로티닙의 이염산염	14.16g(안로티닙 12g에 상당)
만니톨	89g
미결정성 셀룰로오스	138.4g
히드록시프로필셀룰로오스	5.9g
스테아르산 마그네슘	0.99g

[0090] 안로티닙의 이염산염을 분쇄하여 80메쉬 체에 거른 후 만니톨, 히드록시프로필셀룰로오스와 균일하게 혼합하였다. 다음으로 소정량의 미결정성 셀룰로오스를 첨가하여 균일하게 혼합하고 0.8mm 체에 걸렀다. 마지막으로 소정량의 스테아르산 마그네슘을 첨가하여 균일하게 혼합한 후 캡슐에 충전하였다.

[0091] 안로티닙의 이염산염을 다른 배합량으로 함유하는 캡슐은 상기와 동일한 비율 및 레시피로 제조할 수 있다.

[0092] [실시예 3]

[0093] 환자는 22세 남성으로 진찰을 받고 수술 후 병리 검사에서 근위 좌상완 골육종을 나타냈고 흉부 CT에서 폐 전이를 나타냈다.

[0094] 환자는 명확한 원인 없이 좌측 어깨에 통증, 붓기가 나타났고 야간에 악화되어 진찰을 받은 후 좌상완골 MR은 좌상완골 중상부 악성 골종양을 나타냈다. 견갑대 이단술(shoulder girdle amputation)을 실시하고 수술 후 병리 검사에서 (좌)상완골 근위 골육종을 나타냈으며, 상완골체 및 주위 횡문근 조직에 침투 있음, 외과적 절단말단근 및 피부 조직에 병변 없음, 림프절 내 전이 없음으로 판명되었다. 흉부 CT에서 양쪽 폐에 결절 그림자가 인정되어 재검을 권유하였다. 환자는 진찰 후 첫 1개월은 메토트렉세이트 + 에피루비신을 1사이클 실시했지만, 간 기능 이상으로 인해 1개월 후에 에피루비신 + 시스플라틴 화학 요법으로 변경하여 1사이클 실시하였다. 그 후, 흉부 CT에서 폐에 결절 다발을 나타내 전이로 생각하고 에피루비신 + 시스플라틴 + 이포스파미드 화학 요법으로 변경하여 4사이클 실시하였다. 최고의 치료 효과는 SD였다.

[0095] 환자는 진찰 9개월 후 안로티닙 이염산염 12mg 캡슐을 1일 1회 경구 투여하는 치료를 시작하였다(2주 연속 투여 및 1주 정지를 1치료 사이클로 함).

[0096] 환자는 2 사이클 투여 후 흉부, 복부 및 골반 CT에서 RECIST1.1에 따라 SD(소)로 평가되었고 표적 병변 합계는 40mm가 되어 베이스라인(41mm)에서 특별히 변화는 없었다. 3 사이클 투여 후 흉부, 복부 및 골반 CT에서 표적 병변 합계가 37mm가 되어 전보다 조금 축소되었다. 5 사이클 투여 후 흉부, 복부 및 골반 CT에서 병변이 전보다 축소되어 표적 병변 합계는 34mm가 되었다. 8 사이클 투여 후 흉부, 복부 및 골반 CT에서 표적 병변 합계는 30mm가 되었다. 12 사이클 투여 후 흉부 및 복부 CT에서 표적 병변은 더 축소되어 RECIST1.1에 따라 PR로 평가되었고 표적 병변 합계는 27mm가 되었다. 15 사이클 투여 후 흉부 및 복부 CT에서 표적 병변 합계는 27mm, 치료 효과는 PR로 평가되었다. 18 사이클 투여 후 흉부 및 복부 CT에서 표적 병변이 더 축소되어 표적 병변 합계는 20mm가 되었다. 21 사이클 투여 후 흉부 및 복부 CT에서 표적 병변 합계는 24mm로 전보다 조금 증가하였고 치료 효과는 PR로 평가되었다.

[0097] [실시예 4]

[0098] 환자는 38세 여성으로 CT 유도 천자(puncture)를 실시하여 경부(neck) 흉추 연골육종이 인정되었고 PET-CT에서 양쪽 폐, 우측 부신 및 췌미에 전이 다발을 나타냈다.

[0099] 환자는 명확한 원인 없이 우측 등, 어깨 및 우측 팔에 통증이 나타났고 우측 팔에 저림 및 붓기가 있었으며, 진찰 후 경부 MRI에서 우상 종격(right upper mediastinum), 방척주부(傍脊柱部; paraspinal space)의 음영이 보여 CT 유도 천자를 실시하였고 병리 검사에서 탈분화형 연골육종이 인정되었다. 그 후 후방 T1-T2 주변 및 추간공 종양 적출술, C6, 7-T2 고정술, VATS에 의한 우측 흉부 및 겨드랑이 절개, 후방 종격 종양 적출술을 실시하였다. 수술 후 병리 검사에서 모두 연골육종이 인정되었다. 그 후 경추 및 흉추의 국소 방사선 요법을 50Gy/25f로 실시하였다. 16개월 후에 국소적인 통증이나 불쾌감이 나타났고 그 후 화학 요법으로서 젬시타빈 + 엔도스타(Endostar)를 3 사이클 실시하고 생물학적 요법을 2 사이클 실시하였다. 2개월 후, 경부 MRI 재검사에서 병변 재발을 보여 재발 병변에 대한 정위 방사선 치료를 실시하였다. 6개월 후 PET-CT 재검사에서 일부 척주관 및 추간공 내 종양이 재발 및 전이되어 일부 인접 뼈에 침윤하고, 양쪽 폐, 우측 흉막, 좌측 폐문, 우측 부신 및 췌

미에 전이가 다발했다고 인정되었으며 좌측 대요근 침윤 여부는 불분명했다. 그 후, 척추체 병변에 대한 정위 방사선 치료를 더 실시하였다. 치료 후 환자의 목이나 어깨 통증은 완화되지 않았고 MS콘틴 30mg을 1일 2회 경구 투여하였다.

[0100] 1개월 후 안로티닙 이염산염 캡슐 12mg을 1일 1회 경구 투여하는 치료를 시작하였다(2주 연속 투여 및 1주 정지를 1치료 사이클로 함).

[0101] 환자는 2 사이클 투여 후 CT에서 양쪽 폐 및 흉막에 산재한 다발성 결절 및 종양이 일부는 전보다 그다지 변화가 없고 일부는 전보다 약간 축소가 보였다. 우측아래 흉막 종양이 우측 횡격막 및 흉벽에 침윤하여 우측 부신과의 경계가 불명료하고 전보다 약간 축소가 있었다. 스캔 시야의 하부에 있는 좌측 허리근(psoas muscle)에 저밀도 종양이 보이며 전보다 축소되었다. 표적 병변 합계는 148mm가 되어 베이스라인(173mm)보다 25mm 축소되었고 치료 효과는 RECIST1.1에 따라 SD(소)로 평가되었다. 환자는 4 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 139mm가 되어 전보다 조금 축소되었다. 환자는 6 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 126mm가 되어 전보다 13mm 축소되었다. 환자는 7 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 131mm가 되어 전보다 조금 증가했다. 환자는 11 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 127mm가 되어 전보다 조금 축소되었다. 환자는 14 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 129mm가 되어 전보다 특별히 변화는 없었다. 환자는 17 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 131mm가 되어 전보다 특별히 변화는 없었다. 환자는 21 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 138mm가 되어 전보다 조금 증가했다. 환자는 25 사이클 투여 후 CT에서 표적 병변 합계가 129mm가 되어 전보다 조금 축소되었다.

[0102] [실시예 5]

[0103] 환자는 27세 여성으로 CT 및 수술 후 병리 검사에서 골반강 연골육종이 인정되어 몇 번의 치료 후 병변이 진행되었다.

[0104] 환자는 하복부 종괴(腫瘤; mass)를 발견하였다. 진찰 후 CT에서 골반강 내 자궁 및 방광의 하부 전면(前面)에 최대 단면 16cm*11cm*13cm의 불규칙하고 거대한 혼합 밀도의 덩어리형 그림자가 보였다. 그 후 적출 수술을 실시하였다. 수술 후 병리 검사에서 고분화형 연골육종이 인정되었다. 수술 후에는 방사선·화학 요법을 실시하지 않았다. 진찰 15개월 후 재검사에서 골반 종양 재발이 인정되었다. 6개월 후 수술 치료를 실시했지만 수술 중에 종양이 광범위하게 유착되어 있는 것이 발견되어 적출하지 못했다. 수술 후 병리 검사에서 고분화형 연골육종이 인정되었다. 그 후, 피라루비신 60mg, 시스플라틴 60mg, 인터루킨-2 200만U로 골반 종양에 대한 동맥 주입 화학 요법을 실시하였다. 1개월 후 피라루비신 60mg, 시스플라틴 60mg, 인터루킨-2 200만U로 골반 종양에 대한 동맥 주입 화학 요법을 계속 실시하였다. 환자는 요선부(腰仙部) 통증이 악화되어 좌측 대퇴부로 퍼졌고 통증으로 인해 앉거나 걷지 못했으며 CT에서 골반 종양이 진행되었다고 인정되었다.

[0105] 2개월 후 안로티닙 이염산염 캡슐 12mg을 1일 1회 경구 투여하는 치료를 시작하였다(2주 연속 투여 및 1주 정지를 1치료 사이클로 함).

[0106] 2 사이클 투여 후 CT 검사에서 표적 병변 합계가 210mm가 되어 베이스라인(210mm)에서 변화가 없었고 치료 효과는 SD로 평가되었다. 4 사이클 투여 후 CT 재검사에서 표적 병변 합계는 210mm가 되어 전보다 변화는 없었다. 6 사이클 투여 후 표적 병변 합계는 220mm가 되어 전보다 10mm 증가했다. 8 사이클 투여 후 CT 재검사에서 표적 병변 합계는 240mm가 되어 전보다 20mm 증가했다. 11 사이클 투여 후 CT 재검사에서 표적 병변 합계는 240mm가 되어 전보다 변화는 없었다. 14 사이클 투여 후 CT 재검사에서 표적 병변 합계는 240mm가 되어 전보다 변화는 없었다.

[0107] [실시예 6]

[0108] 환자는 25세 남성으로 2013년 4월 27일에 우측 상완골 근위 골육종 병변 절제술 및 상완골 인공 골두 치환술을 실시하고 수술 후 병리 검사에서 우측 상완골 근위 골육종(연골아세포형)이 인정되었으며, 골수강에 침입하고 골피질 및 연조직에 침윤되며 종양 내에 국소성 괴사 및 지방 괴사가 있고, 뼈끝 및 절단 아래가장자리에는 종양 조직 침윤 없음으로 판명되었다. 수술 후 독소루비신(아드리아마이신) 및 이포스파미드를 투여하는 화학 요법을 4 사이클 실시했지만, 치료 중에 중도(重度)의 골수 억제가 일어났기 때문에 2013년 8월 화학 요법 종료시까지 화학 요법 휴약기간에 골수 서포트 치료를 실시하였다. 화학 요법중인 2013년 6월에 PET/CT에 의한 전신 재검사에서 ① 우측 상완골 골육종 수술을 하고 화학 요법을 한 후 우측 상완의 인공뼈 주변에 약간의 대사 증가의 선 형상 그림자가 인정되었고, ② 우측 겨드랑이 밑 림프절이 확대되어 대사가 약간 증가되었음이 인정되었다. 화학 요법 종료 후, CIK 세포의 액체 주사 치료를 실시하였다. 2015년 말에 좌측 상완골 상부에 통증이

있었고 뚜렷한 종괴는 보이지 않고 통증이 반복되었다. 2016년 5월 MRI 검사에서는 좌측 뼈의 상부 중앙부분에 감염성 병변, 또는 붓기와 통증을 동반한 병변이 의심되는 비정상적인 변화가 인정되었다. 2016년 5월 12일 PET/CT 검사에서는 ① 우측 상완골 골육종 수술 후 및 포괄적인 치료 후 우측 상완골 종양 재발 징후 없음, 좌측 상완골 상부에 선 형상의 고(高)대사 병변 있음, ② 양쪽 겨드랑이 밑 림프절 전이 징후 없음, ③ 양쪽 겨드랑이 밑에 대사가 약간 증가된 림프절 있음으로 판명되었다. 그 후, 좌측 상완골 종양 생검을 실시하여 병리 검사에서 연골아세포형 골육종 가능성이 높은 원형 세포 종양 소견이었다. 2016년 6월 7일, 7월 1일에 독소루비신 및 이포스파미드를 투여하는 화학 요법을 2 사이클 순조롭게 실시하였다. 화학 요법 종료 후 MRI 재검사에서 종양이 전보다 조금 증가된 것으로 판명되었고, 2016년 7월 22일에 좌측 상완골 근위 종양의 마이크로파 살균처리 및 골이식의 내부고정(internal fixation)을 실시하였다. 수술 후 병리 검사에서 골육종 재발, 종양에 인접한 근육 조직의 병변이 인정되었다. 2016년 8월 17일, 9월 8일, 10월 8일, 10월 31일, 11월 28일 및 12월 21일에 고용량 메토트렉세이트를 투여하는 화학 요법을 6 사이클 순조롭게 실시하였다. 화학 요법 종료 후 골수 억제는 I도에서 II도가 되었다. 2017년 11월에 양쪽 폐에 전이가 있었고 질환이 진행된 것으로 판명되어 화학 요법은 계속하지 않았다. 2018년 10월 20일 CT 재검사에서는 양쪽 폐에 다양한 크기의 결절 그림자 다발이 인정되었고 지난번 검사시보다 많아지고 커져서 질환이 진행된 것으로 판명되었다.

[0109] 2018년 11월 10일부터 안로티닙 이염산염 캡슐 12mg을 1일 1회 경구 투여하는 치료를 시작하였다(2주 연속 투여 및 1주 정지를 1치료 사이클로 함). 2018년 12월 21일, 환자는 2 사이클 치료를 받은 후 통상 CT에서 양쪽 폐의 다발성 결절이나 덩어리, 우측 폐 중엽의 최대 병변 3.2cm가 인정되어 RECIST1.1에 따라 SD(소)로 평가 되었고 표적 병변의 합계는 53.5mm가 되어 베이스라인에서 5.5mm 축소되었다. 환자는 현재 계속 치료 중이다.

[0110] [실시예 7]

[0111] 환자는 18세 여성으로 2016년 11월 7일에 병변 절제술을 실시하였고, 2016년 11월 15일 병리 검사에서 우측 정강이뼈 골육종이 인정되었다. 2016년 11월 29일 전신 마취로 포트 매립술을 실시하였고 수술 후 보조 전신 정맥내 화학 요법을 실시하였다. 2016년 12월 1일에 독소루비신(아드리아마이신) 및 시스플라틴을 투여하는 화학 요법을 1 사이클 실시하였다. 2016년 12월 16일부터 2017년 1월 5일까지 메토트렉세이트를 투여하는 화학 요법을 2 사이클 실시하였다. 2017년 1월 19일 CT 재검사에서는 우측 정강이뼈의 병변이 전보다 약간 증가했다. 2017년 1월 19일에 이포스파미드를 투여하는 화학 요법을 1 사이클 실시하였다. 화학 요법은 뚜렷한 위장 반응이나 골수 억제 없이 순조롭게 진행되었다. 2017년 2월 7일에 전신 마취로 우측 정강이뼈 근위 종양 부분 절제, 관절 치환 및 장딴지근 피변(gastrocnemius muscle flap) 전위를 실시하였다. 수술 중에 우측 정강이뼈 근위 악성 골육종으로 진단하였다. 수술 후 병리 검사에서 (우측 정강이뼈 골수강 절단 가장자리부) 소량의 뼛조각 및 골수강 지방 조직, 종양의 병리학 보고는 (우측 정강이뼈 근위) 골육종을 인정하였고, 종양이 관절 연골에 침입하여 침투하고 피질골에 광범위하게 침투하여 주위 연조직에 침윤하고 혈관 내에 종양 혈전이 있다고 보고하였다. 2017년 2월 24일에 독소루비신(아드리아마이신) 및 시스플라틴을 투여하는 화학 요법을 1 사이클 실시하였다. 화학 요법 후에 III도의 백혈구 감소가 나타났고, 2017년 3월 10일에 이포스파미드를 투여하는 화학 요법을 1 사이클 실시하였다. 화학 요법 후에 II도의 백혈구 감소가 나타났지만 화학 요법 부작용은 특별히 없었다. 2017년 3월 31일에 메토트렉세이트를 투여하였고 환자에게 IV도의 간 장애가 나타나 대증 요법 후에 개선하였다. 2017년 4월 15일에 독소루비신(아드리아마이신) 및 시스플라틴을 투여하고 화학 요법을 1 사이클 실시하였다. 구토 예방 후 환자는 II도의 구토 반응이 나타났고 대증 요법 후에 개선하였다. 2017년 5월 3일에 이포스파미드를 투여하는 화학 요법을 실시하였고 화학 요법 후에 IV도의 백혈구 감소가 나타났다. 2017년 5월 20일에 메토트렉세이트에 의한 화학 요법을 실시하였고 화학 요법 후에 II도의 간 장애가 나타났다. 2017년 6월 4일에 독소루비신(아드리아마이신) 및 시스플라틴을 투여하는 화학 요법을 실시하였고, 2017년 6월 19일에 이포스파미드를 투여하는 화학 요법을 실시하였으며 IV도의 백혈구 감소가 나타났다. 2017년 7월 11일에 메토트렉세이트를 투여하는 화학 요법을 실시하였고 I도의 간 장애가 나타났다. 2017년 7월 29일에 독소루비신(아드리아마이신) 및 시스플라틴을 투여하는 화학 요법을 실시하였고 II도의 백혈구 감소가 나타났다. 2017년 8월 16일에 이포스파미드를 투여하는 화학 요법을 실시한 후, IV도의 백혈구 감소가 나타났다. 2017년 9월 6일에 메토트렉세이트를 투여하는 화학 요법을 실시하였고 II도의 골수 억제가 나타났다. 2018년 1월 3일 CT 재검사에서는 좌측 폐의 하엽(下葉)의 기저부에 지난번 검사시와 거의 동일한 소결절이 있었고, 좌측 폐의 하엽의 등측에 흐린 음영의 새로운 소결절이 있었다. 2018년 10월 CT 재검사에서는 폐 전이, 골반 전이 및 우측 대퇴골 후방의 종괴가 인정되어 재발했을 가능성이 있다고 진단되었다. 2018년 10월 30일에 우측 대퇴골 종괴의 천자 생검을 실시하여 병리 검사에서 (우측 대퇴골 하부의 연부 조직) 대량의 응고 괴사를 동반한 높은 악성도의 방추세포육종이 인정되었다.

[0112] 2018년 11월 16일부터 안로티닙 이염산염 캡슐 12mg을 1일 1회 경구 투여하는 치료를 시작하였다(2주 연속 투여

및 1주 정지를 1치료 사이클로 함). 2018년 12월 26일, 환자는 2 사이클 치료를 받은 후 CT에서 우측 폐의 하엽에 혼합 밀도의 결절이 있고, 좌측 폐의 하엽의 기저부에 지난번 검사시와 거의 동일한 소결절이 있고, 우측 골반벽에 골화와 괴사를 동반한 종괴 음영이 전보다 축소되어 있고, 우측 정강이뼈에 전보다 특별히 변화가 없는 것으로 판명되었다. RECIST1.1에 따라 SD(소)로 평가되었고 표적 병변의 합계는 218㎜가 되어 베이스라인에서 13㎜ 축소되었다. 환자는 현재 계속 치료 중이다.

[0113] [실시예 8]

[0114] 환자는 32세 여성으로 명확한 원인 없이 우측 장딴지 바깥쪽에 6개월간 지속적으로 통증을 느꼈고, 보행 등 움직임에는 관계가 없었고 휴식 후 완화되지도 않았으며 진단도 치료도 받지 않아 통증이 서서히 악화되었고 야간 통증이 있었으며 X선 검사에서 우측 종아리뼈 근위단(proximal end)에 골용해성 손상이 인정되었다. 2017년 12월 1일에 진찰을 받고 12월 5일에 종양 절개 생검술을 실시하였다. 12월 7일 병리 검사에서 우측 종아리뼈 근위의 간엽계 비소세포 악성종양으로 진단되었고 임상 화상을 참조하여 골육종 가능성이 있다고 판단하였다. 2018년 4월 19일 수술 후 병리 검사에서 화학 요법 후의 변화를 동반한 우측 종아리뼈 근위부 골육종이 인정되었고 종양 괴사율은 90% 미만이었다.

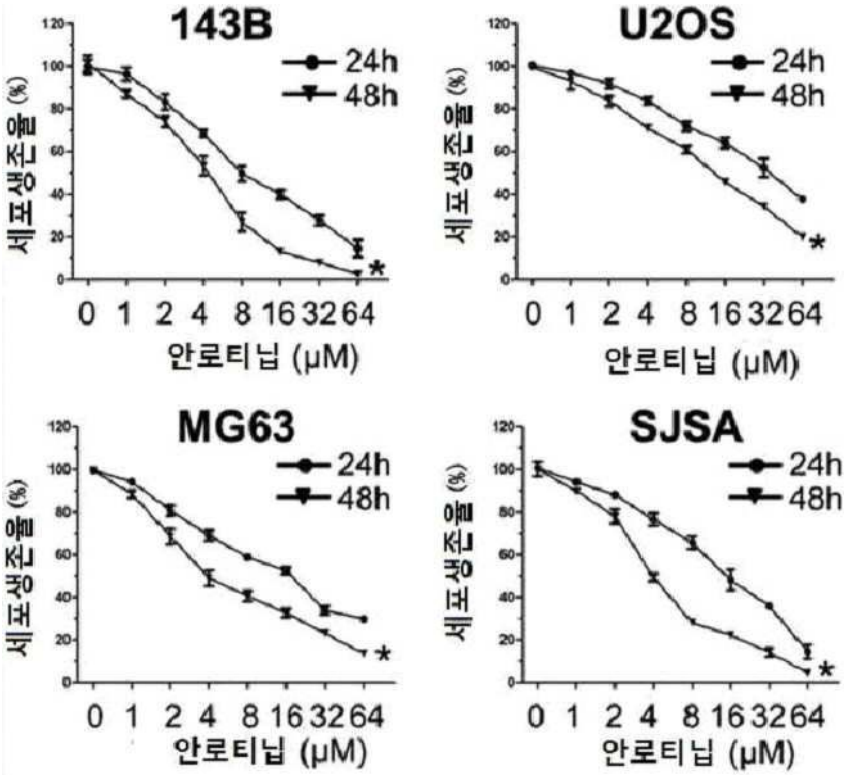
[0115] 2017년 12월 12일, 2018년 2월 7일, 2018년 5월 4일 및 2018년 7월 6일에 각각 메토트렉세이트를 투여하는 화학요법을 1일 실시하였고, 2017년 12월 16일에서 2018년 12월 30일, 2018년 3월 2일에서 2018년 3월 7일(효과 평가는 SD), 2018년 4월 18일에서 2018년 4월 22일(IV도의 혈소판 감소), 2018년 6월 14일에서 2018년 6월 18일(효과 평가는 SD), 2018년 8월 30일에서 2018년 9월 3일(효과 평가는 PD)에 IFO를 투여하는 화학 요법을 1 사이클 실시하였고, 2018년 1월 17일에서 2018년 1월 20일, 2018년 5월 24일에서 2018년 5월 27일, 2018년 7월 20일에서 2018년 7월 23일(효과 평가는 SD)에 시스플라틴 및 암루비신(amrubicin)을 투여하는 화학 요법을 각각 1 사이클 실시하였다. 종합 평가: 환자는 1차 화학 요법 후 초기(2017년 12월에서 2018년 3월)에는 인용성(忍容性; Tolerability)이 있었지만, 2차 화학 요법 후반(2018년 4월 이후)에는 화학 요법 인용성이 나쁘고 골수 억제가 명확해지며 환자의 질환이 진행되었다.

[0116] 환자의 병력은 안로티닙 염산염에 의한 골육종 치료의 적응증 임상시험에 적합하며, 2018년 10월 12일부터 안로티닙 이염산염 캡슐 12㎎을 1일 1회 경구 투여하는 치료를 시작하였다(2주 연속 투여 및 1주 정지를 1치료 사이클로 함). 2018년 11월 23일, 환자는 2 사이클 투여 후 처음 종양 평가에서 베이스라인 37㎜(우측 폐의 중엽 24㎜, 우측 폐의 하엽 13㎜)에서 총 20㎜(우측 폐의 중엽 10㎜, 우측 폐의 하엽 10㎜)까지 감소되었다는 결과가 나왔다. 2019년 1월 3일, 4 사이클 투여 후 종양 평가에서 표적 병변의 직경 합계가 16㎜(우측 폐의 중엽 10㎜, 우측 폐의 하엽 6㎜)가 되었다. 환자는 현재 계속 치료 중이다.

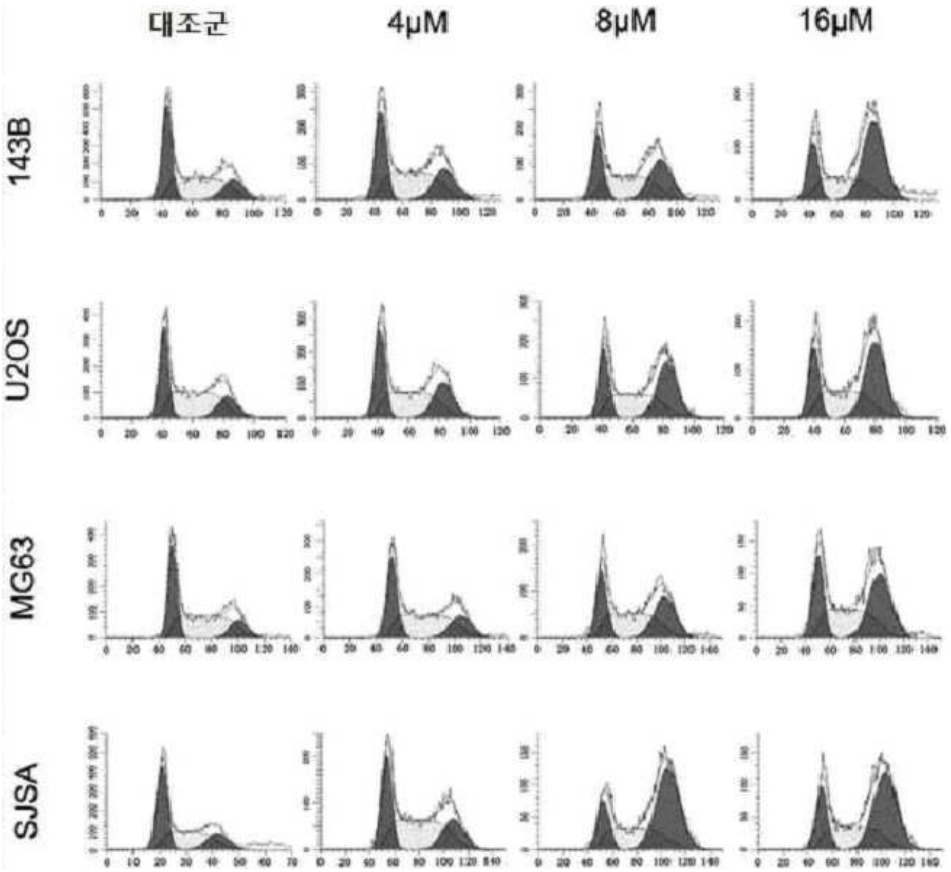
[0117] 이상의 내용은 본 발명의 바람직한 실시형태에 불과하며 당업자는 본 발명의 취지를 벗어나지 않는 한 약간의 개선이나 추가를 가해도 되고 이러한 개선이나 추가도 본 발명 범위 내이다.

도면

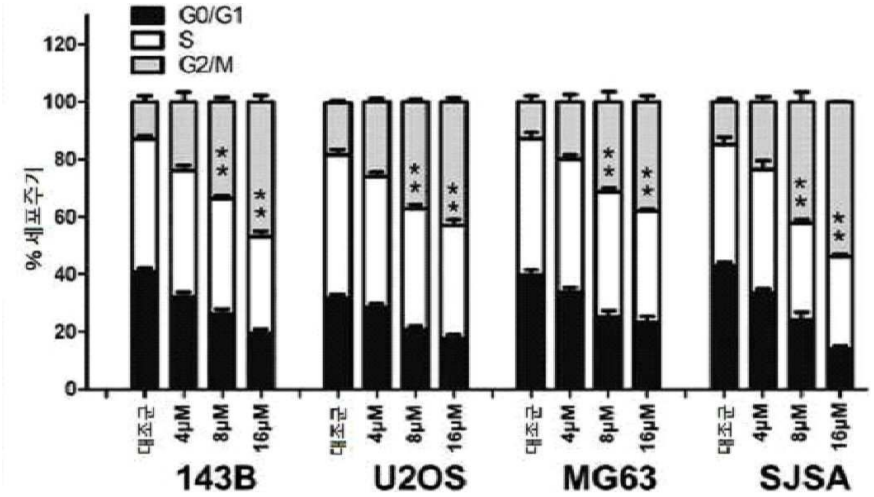
도면1



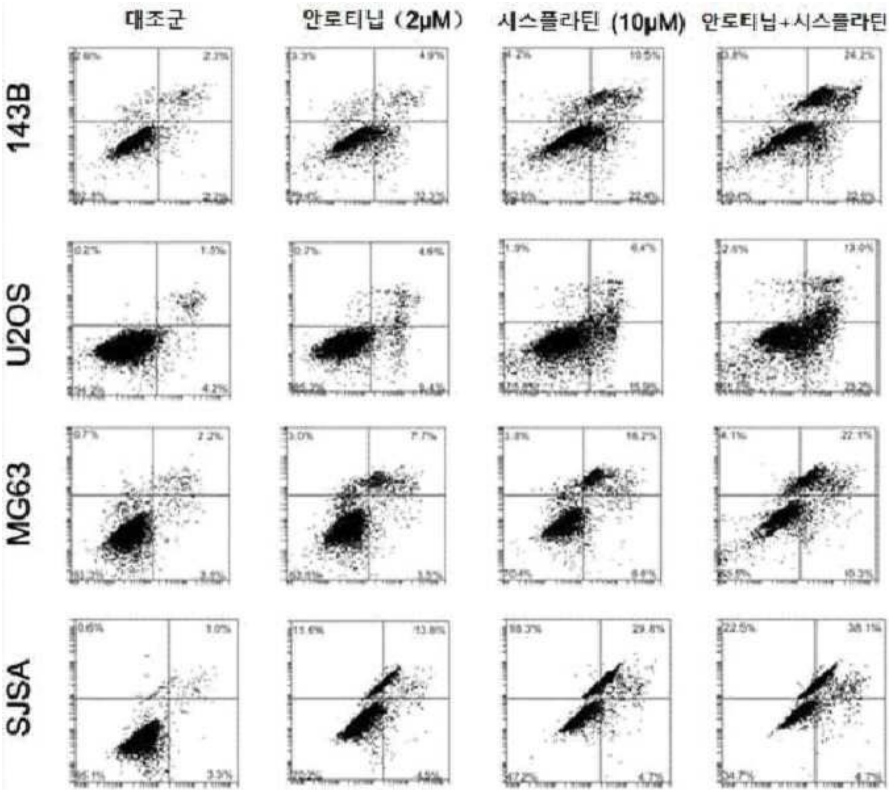
도면2


대조군
4μM
8μM
16μM
143B
U2OS
MG63
SJSA

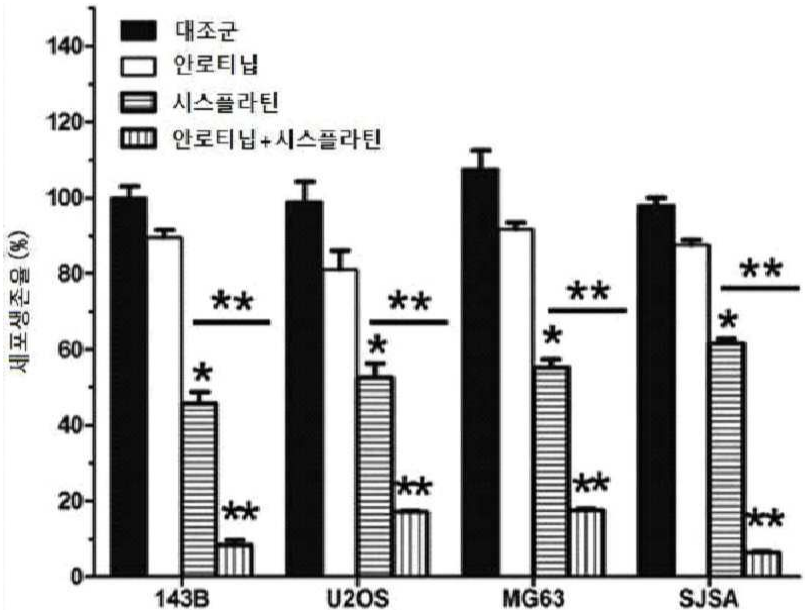
도면3


G0/G1
S
G2/M
% 세포주기
120
100
80
60
40
20
0
대조군
4μM
8μM
16μM
143B
U2OS
MG63
SJSA

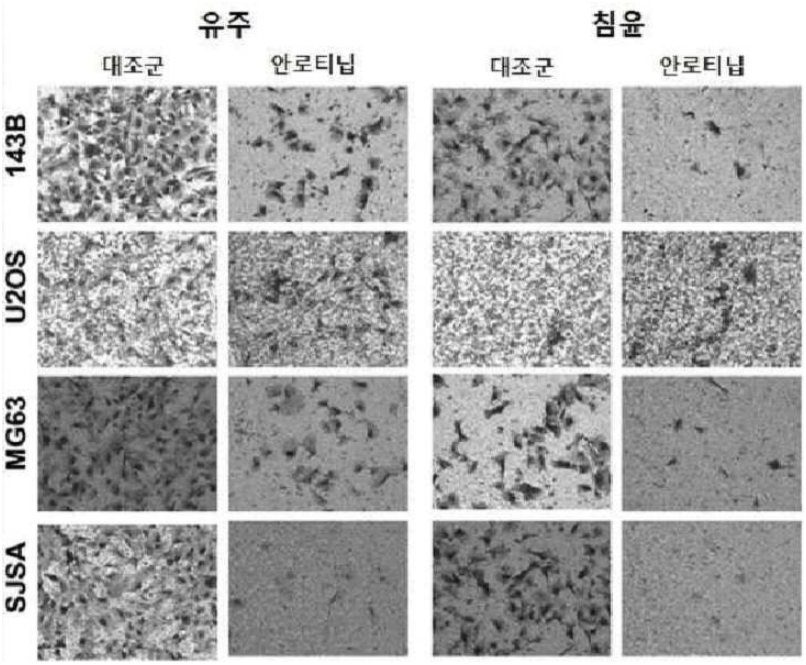
도면4


대조군
안로티닙 (2μM)
시스플라틴 (10μM)
안로티닙+시스플라틴
143B
U2OS
MG63
SJSA

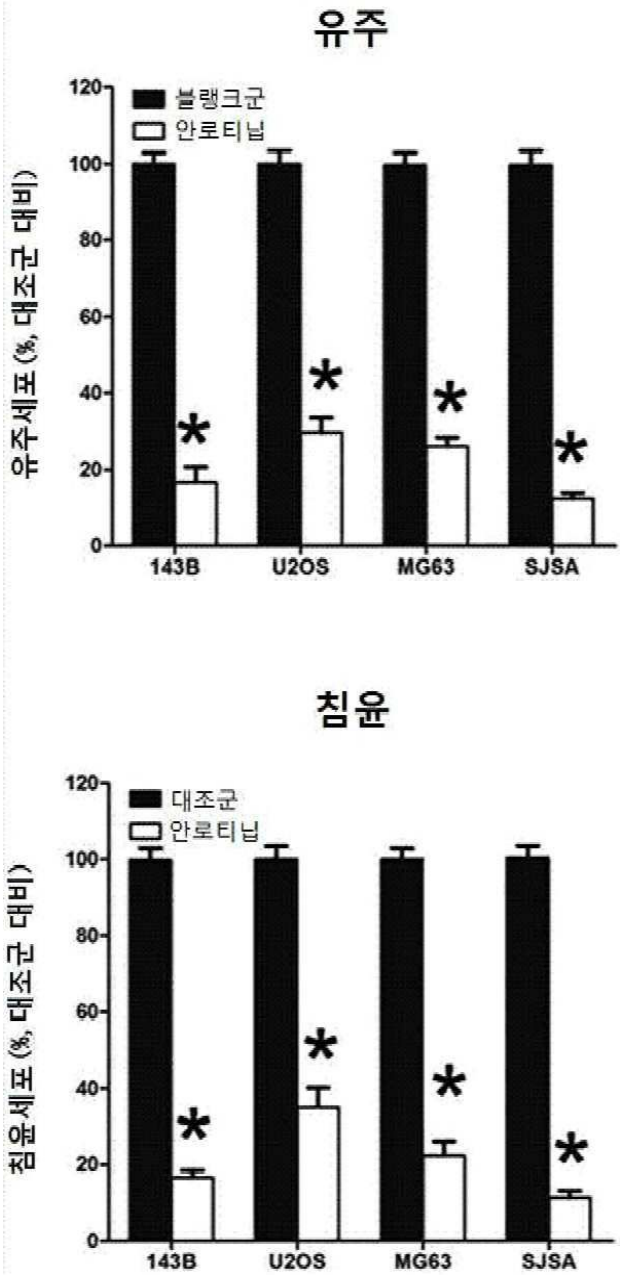
도면5


대조군
안로티닙
시스플라틴
안로티닙+시스플라틴
세포생존율 (%)
0
20
40
60
80
100
120
140
143B
U2OS
MG63
SJSA

도면6



도면7


유주
블랭크군
안로티닙
유주세포 (%, 대조군 대비)
120
100
80
60
40
20
0
143B
U2OS
MG63
SJSA
*
침윤
대조군
안로티닙
침윤세포 (%, 대조군 대비)
120
100
80
60
40
20
0
143B
U2OS
MG63
SJSA
*