

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0115925
(43) 공개일자 2024년07월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/454 (2006.01) **A61K 9/00** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) **A61P 35/04** (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/454 (2013.01)
A61K 9/0053 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7023937(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년07월28일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2019-7005783
원출원일자(국제) 2017년07월28일
심사청구일자 2020년07월27일
- (85) 번역문제출일자 2024년07월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/044413
(87) 국제공개번호 WO 2018/023017
국제공개일자 2018년02월01일
- (30) 우선권주장
62/368,466 2016년07월29일 미국(US)
62/369,239 2016년08월01일 미국(US)
- (71) 출원인
얀센 파마슈티카 엔브이
벨기에왕국 베-2340-비어세 투른호우트세베크 30
- (72) 발명자
고타디스 마르코
미국 뉴저지주 08540 프린스턴 해리스 로드 9
호킨스 레베카
미국 펜실베이니아주 19477 스프링 하우스 매킨
로드 1400
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장훈

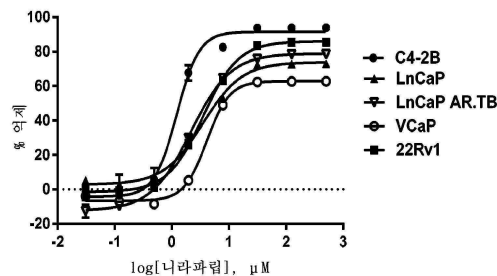
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 전립선암의 치료 방법

(57) 요약

전립선암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 니라파립을 투여함으로써 전립선암을 치료하는 방법이 개시된다.

대표도 - 도1



니라파립은 시험관내에서 인간 전립선 종양 세포주의 성장을 억제한다.

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 35/04 (2018.01)

(72) 발명자

스나이더 린다

미국 펜실베이니아주 19477 스프링 하우스 매킨 로드 1400

야마다 더글라스 에이치.

미국 펜실베이니아주 19477 스프링 하우스 매킨 로드 1400

명세서

청구범위

청구항 1

전립선암의 치료를 필요로 하는 인간에서 상기 전립선암을 치료하는 방법으로서, 상기 인간에게 안전하고 유효한 양의 니라파립(niraparib)을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 전립선암은 거세저항성 전립선암 또는 전이성 거세저항성 전립선암인, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 전립선암은 항안드로겐 저항성 전립선암인, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 인간은 BRCA-1, BRCA-2, FANCA, PALB2, CHEK2, BRIP1, HDAC2, 및 ATM으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 DNA 수복 이상을 보유하고 있는, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 DNA 수복 이상은 BRCA-1 또는 BRCA-2인, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 전립선암은 거세저항성 전립선암인, 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 전립선암은 전이성 거세저항성 전립선암인, 방법.

청구항 8

제6항에 있어서, 니라파립은 약 30 mg/일(day) 내지 약 400 mg/일의 양으로 투여되는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 투여되는 니라파립의 양은 약 300 mg/일인, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 니라파립은 3개의 100 mg 경구 투여 형태(dosage forms)로 일일(daily) 1회 경구 투여로서 투여되는, 방법.

청구항 11

인간에서 거세저항성 및 항안드로겐 저항성 전립선암을 치료하는 방법으로서,

상기 인간에게 3개의 100 mg 경구 투여 형태 니라파립을 일일 1회 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원의 상호 참조 : 해당 없음.

기술분야

[0001]

[0002]

[0003] 본 발명은 인간에서의 전이성 호르몬-미투여된(hormone-naïve) 전립선암의 치료에 관한 것으로, 이는, 그러한 인간에게 안전한 그리고/또는 유효한 양의 니라파립을 투여함으로써 이루어진다.

배경 기술

[0004] 전립선암은 남성에게서 가장 흔한 비피부 악성종양이며, 서구 사회에서 암으로 인한 남성의 사망의 두 번째로 높은 원인이다. 전립선암은 전립선에서의 비정상 세포의 비제어된 성장으로부터 발생된다. 일단 전립선암 종양이 발생되면, 안드로겐, 예컨대 테스토스테론이 전립선암 종양 성장을 촉진한다. 초기 단계에서, 국소화된 전립선암은, 예를 들어 전립선의 외과적 제거 및 방사선요법을 포함하는 국소 요법으로 종종 치료된다. 그러나, 국소 요법이 전립선암을 근치하는 데 실패하게 되는 경우(이는 남성의 1/3에 해당됨), 이 질병은 불치성 전이성 질병(즉, 암이 신체의 한 부분에서 다른 부분으로 퍼져 있는 질병)으로 진행된다.

[0005] 전이성 전립선암 안드로겐 결핍 요법("ADT") 또는 안드로겐 억제 요법의 치료는 테스토스테론의 고환 생성을 감소시키기 위해 수행된다. ADT는 외과적 거세(정소절제술) 또는 항체형성 호르몬-방출 호르몬("LHRH") 길항제 또는 효능제의 사용을 포함한다. LHRH 길항제의 예에는 데가렐릭스가 포함된다. LHRH 효능제의 예에는 고세렐린 아세테이트, 히스트렐린 아세테이트, 류프롤라이드 아세테이트, 및 트립토텐린 팔모에이트가 포함된다.

[0006] 아비라테론 아세테이트는 아비라테론의 전구약물이며, 안드로겐 생합성에서의 주요 효소인, 17 α 하이드록실라제/C17, 20-리아제(사이토크롬 P450c17[CYP17])를 억제한다. 프레드니손과 병용한 아비라테론 아세테이트는 도세탁셀을 포함하는 이전 화학요법을 제공받은 전이성 거세저항성 전립선암("mCRPC")을 가진 남성의 치료에 승인되어 왔다. mCRPC를 가진 환자에서의 아비라테론 아세테이트(1,000 mg의 일일 정제 용량) 및 프레드니손(일일 2회 5 mg) 요법의 효능 및 안전성은, 둘 모두 3상, 다국적, 무작위배정, 이중-맹검, 플라세보-대조 연구인 COU-AA-301 및 COU-AA-302의 결과에 의해 확립되어 있다. 연구 COU-AA-301은, 아비라테론 아세테이트에 의한 CYP17 억제를 사용하는 안드로겐 결핍 요법("ADT")에 의해 달성된 것보다 낮게 테스토스테론 농도를 추가로 낮춤으로써 mCRPC를 가진 환자에서 생존율을 개선한다는 것을 입증하기 위한 최초의 3상 연구였다. COU-AA-302는, 플라세보 + 프레드니손과 비교하여 아비라테론 아세테이트 + 프레드니손으로 치료된 mCRPC를 가진 화학요법-미실시 환자에서 유의하게 개선된 전체 생존율("OS") 및 방사선학적 무진행 생존율("rPFS")을 입증하였다.

[0007] 필요한 것은, 저용량 프레드니손 및 ADT와 병용한 아비라테론 아세테이트가 고위험 예후 인자를 갖는 mHNP를 가진 대상체에서 rPFS 및 OS를 개선함에 있어서 ADT 단독에 비해 월등한지의 여부를 결정할 데이터이다.

[0008] 따라서, DNA-수복 이상을 가진 환자를 포함한 mCRPC 환자에서 니라파립을 사용한 PARP 억제에 의한, 거세저항성 전립선암 및 전이성 거세저항성 전립선암을 포함한 전립선암의 치료. 이러한 치료는 화학요법 후에 행해질 수 있거나, 또는 화학요법-미실시 대상체일 수 있다. 이러한 치료는 AR-표적화된 작용제, 예를 들어 엔잘루타미드, 아팔루타미드, 및 비칼루타미드 후에 행해질 수 있다. 따라서, 니라파립은 다른 치료 선택지를 제공할 수 있다.

발명의 내용

[0009] 본 발명은 전립선암의 치료를 필요로 하는 인간에서 전립선암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 인간에게 치료적 유효량의 니라파립을 투여하는 단계를 포함하고/하거나, 이로 이루어지고/이루어지거나, 이로 본질적으로 이루어진다.

[0010] 일 실시 형태에서, 본 발명은 전립선암의 치료를 필요로 하는 인간에서 전립선암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 인간에게 치료적 유효량의 니라파립을 투여하는 단계를 포함하고/하거나, 이로 이루어지고/이루어지거나, 이로 본질적으로 이루어지며, 전립선암은 거세저항성 전립선암("CRPC"), 전이성 거세저항성 전립선암, 및/또는 항안드로겐-저항성 전립선암이다.

[0011] 다른 실시 형태에서, 본 발명은 전립선암의 치료를 필요로 하는 인간에서 전립선암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 인간에게 니라파립을 투여하는 단계를 포함하고/하거나, 이로 이루어지고/이루어지거나, 이로 본질적으로 이루어지며, 인간은 BRCA-1, BRCA-2, FANCA, PALB2, CHEK2, BRIP1, HDAC2, 및 ATM으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 DNA 수복 이상을 보유하고 있다.

[0012] 다른 실시 형태에서, 본 발명은 전립선암의 치료를 필요로 하는 인간에서 전립선암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 인간에게 니라파립을 투여하는 단계를 포함하고/하거나, 이로 이루어지고/이루어지거나, 이

로 본질적으로 이루어지며, 인간은 BRCA-1 또는 BRCA-2인 적어도 하나의 DNA 수복 이상을 보유하고 있다.

[0013] 다른 실시 형태에서, 본 발명은 전립선암의 치료를 필요로 하는 인간에서 전립선암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 인간에게 니라파립을, 바람직하게는 약 30 mg/일(day) 내지 약 400 mg/일, 더욱 바람직하게는 300 mg/일, 그리고 가장 바람직하게는 3개의 100 mg 경구 투여 형태(dosage forms)로 일일(daily) 1회 경구 투여의 양으로 투여하는 단계를 포함하고/하거나, 이로 이루어지고/이루어지거나, 이로 본질적으로 이루어진다.

[0014] 다른 실시 형태에서, 본 발명은 전립선암, 항안드로겐 저항성 전립선암, 거세저항성 전립선암, 및 전이성 거세 저항성 전립선암의 치료를 위한 니라파립을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1. 니라파립이 시험관내(*in vitro*)에서 인간 전립선 종양 세포주의 성장을 억제함을 예시한다.
- 도 2. 니라파립이 시험관내에서 2가지 인간 전립선 종양 세포주에서 PAR 형성을 억제함을 예시한다.
- 도 3. 니라파립 처리가, 유세포측정에 의해 측정되는 바와 같이, 용량-의존적 방식으로 22RV1 세포에서 증가된 γ -H2AX를 유도함을 예시한다.
- 도 4. 니라파립이 시험관내에서 22RV1, LNCaP AR-TB, 및 C4-2B 세포에서 γ -H2AX를 유도함을 예시한다.
- 도 5. 니라파립 처리가 NSG 수컷 마우스에서 C4-2B-luc 전립선 종양의 성장을 억제함을 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 용어 "대상체"는 치료, 관찰 또는 실험의 대상이었거나 대상인 포유동물, 가장 바람직하게는 인간을 지칭한다.
- [0017] 용어 "치료"는 병리학적 질환에 걸린 대상체의 치료를 지칭하고 암성 세포를 사멸시킴으로써 질환을 경감시키는 효과를 지칭하지만, 또한, 질환의 진행의 억제를 가져오고, 진행 속도의 감소, 진행 속도의 중지, 질환의 개선, 및 질환의 근치를 유도하는 효과를 지칭한다. 예방적 조치(즉, 예방)로서의 치료가 또한 포함된다.
- [0018] 용어 "치료적 유효량"은 치료되는 질병, 증후군, 질환, 또는 장애의 증상의 경감 또는 부분적인 경감을 포함하는, 연구자, 수의사, 의사, 또는 다른 임상가에 의해 모색되고 있는 조직 시스템에서의 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 니라파립의 양을 지칭한다.
- [0019] 용어 "안전하고 유효한 양"은 인간에서 질병 진행 및 허용 불가능한 독성의 예방 또는 개선을 유도하는 니라파립의 양을 지칭한다.
- [0020] 용어 "조성물"은 종종 치료적 유효량의 특정 성분을 포함하는 약제학적 생성물뿐만 아니라, 특정량의 특정 성분들의 조합으로부터 직접 또는 간접적으로 생성되는 임의의 생성물을 지칭한다.
- [0021] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용되는"은, 건전한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 효과/위험 비에 상응하는 과도한 독성, 자극, 알러지 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이, 인간의 조직과의 접촉 시에 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태와 관련된다. 각각의 담체, 부형제 등은 제형의 다른 성분들과 상용성이라는 의미에서 모두 "허용되어야" 한다.
- [0022] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "안드로겐 수용체"는 야생형 안드로겐 수용체, 및 안드로겐 저항성 AR 및/또는 거세저항성 전립선암과 관련된 AR 돌연변이체를 포함하는 것으로 의도된다.
- [0023] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "항안드로겐"은 체내의 정상 반응 조직에 대한 안드로겐의 생물학적 효과를 예방하거나 억제할 수 있는 호르몬 수용체 길항제 화합물의 군을 지칭한다. 일부 실시 형태에서, 항안드로겐은 소분자이다. 항안드로겐은 엔잘루타미드, 아팔루타미드, 및 아비라테론 아세테이트를 포함한다.
- [0024] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "제1 세대 항안드로겐"은 야생형 AR 폴리펩티드에 대하여 길항제 활성을 나타내는 작용제를 지칭한다. 그러나, 제1 세대 항안드로겐은, 제1 세대 항안드로겐이 CRPC에서 효능제로 작용할 수 있는 가능성이 있다는 점에서 제2 세대 항안드로겐과 상이하다.
- [0025] 예시적인 제1 세대 항안드로겐은 플루타미드, 닐루타미드 및 비칼루타미드를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0026] 본 명세서에 사용되는 용어 "제2 세대 항안드로겐"은 야생형 AR 폴리펩티드에 대하여 완전 길항제 활성을 나타내는 제제를 말한다. 제2 세대 항안드로겐은, 제2 세대 항안드로겐이 상승된 AR의 수준을 발현하는 세포, 예를 들어, CRPC에서 완전 길항제로 작용한다는 점에서 제1 세대 항안드로겐과 상이하다. 예시적인 제2 세대 항안드

로젠은 4-[7-(6-시아노-5-트라이플루오로메틸피리딘-3-일)-8-옥소-6-티옥소-5,7-다이하자스피로[3.4]옥트-5-일]-2-플루오로-N-메틸벤즈아미드(ARN-509로도 알려짐; CAS No. 956104-40-8); 4-(3-(4-시아노-3-(트라이플루오로메틸)페닐)-5,5-다이메틸-4-옥소-2-티옥소이미다졸리딘-1-일)-2-플루오로-N-메틸벤즈아미드(MDV3100 또는 엔잘루타미드로도 알려짐; CAS No: 915087-33-1) 및 RD162(CAS No. 915087-27-3)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 세대 항안드로젠은 AR 폴리펩티드의 리간드 결합 부위 또는 그 부근에서 AR 폴리펩티드에 결합한다.

[0027] 본 명세서에 사용되는 용어 "제3 세대 항안드로젠"은 야생형 AR 폴리펩티드에 대하여, 그리고 후술하는 AR 폴리펩티드의 리간드 결합 도메인(LBD)에서 발생하는 돌연변이와 함께, AR 폴리펩티드의 돌연변이형에 대하여 완전 길항제 활성을 나타내는 제제를 말한다. 제3 세대 항안드로젠은, 제3 세대 항안드로젠이 상승된 AR의 수준을 발현하는 세포, 예를 들어, CRPC에서 완전 길항제로 작용한다는 점에서 제1 세대 항안드로젠과 상이하다.

[0028] 본 명세서에 사용되는 용어 "돌연변이체"는 (기준과 비교하여) 변경된 핵산 또는 폴리펩티드, 또는 이러한 변경된 핵산 또는 폴리펩티드를 함유하거나 발현하는 세포 또는 유기체를 지칭한다.

[0029] 달리 나타내지 않으면, 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "영향을 주는" 또는 "영향을 받는"(AR의 길항작용에 의해 영향을 받는 질병, 증후군, 질환 또는 장애를 지칭하는 경우에)은 상기 질병, 증후군, 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상 또는 징후의 빈도 및/또는 중증도의 감소를 포함하고/하거나 상기 질병, 증후군, 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상 또는 징후의 발현 또는 상기 질병, 질환, 증후군 또는 장애의 발현의 예방을 포함할 것이다.

[0030] 본 발명의 실시 형태는 니라파립의 전구약물을 포함한다. 일반적으로, 그러한 전구약물은 필요한 화합물로 생체내(*in vivo*)에서 용이하게 전환가능한 화합물의 기능성 유도체일 것이다. 따라서, 본 발명의 치료 또는 예방 방법의 실시 형태에서, 용어 "투여하는"은 구체적으로 개시된 화합물을 사용하거나 구체적으로 개시되지 않을 수 있으나 환자에 투여한 후에 생체 내에서 특정 화합물로 전환되는 화합물을 사용한, 기재된 다양한 질환, 상태, 증후군 및 장애의 치료 또는 예방을 포함한다. 적절한 전구약물 유도체의 선택과 제조를 위한 통상적인 절차는 예를 들어, 문헌["Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985]에 기재되어 있다.

[0031] 안드로젠 수용체(AR)

[0032] 안드로젠은 표적 조직의 세포 내부에서 특정 수용체, 즉 안드로젠 수용체(AR)에 결합한다. AR은 신체의 다수의 조직에서 발현되는 수용체로서, 이를 통해 내인성 안드로젠 리간드, 예컨대 테스토스테론(T) 및 다이하이드로테스토스테론(DHT)의 생리학적 및 병태생리학적 효과가 발현된다. 구조적으로, AR은 하기 3개의 주요 기능성 도메인으로 구성된다: 리간드 결합 도메인(LBD), DNA-결합 도메인, 및 아미노-말단 도메인. AR에 결합하고 내인성 AR 리간드의 효과를 모방하는 화합물은 AR 효능제로 지칭되며, 한편 내인성 AR 리간드의 효과를 억제하는 화합물은 AR 길항제로 불린다. 수용체에 대한 안드로젠의 결합은 이를 활성화시키고, 표적 유전자에 인접한 DNA 결합 부위에 결합하게 한다. 그로부터, 이것은 공활성화 단백질 및 염기성 전사 인자와 상호작용하여 유전자의 발현을 조절한다. 따라서, 수용체를 통해, 안드로젠은 세포 내 유전자 발현의 변화를 야기한다. 이들 변화는 궁극적으로 표적 조직의 생리학적 특징에 나타나는 세포의 대사 산출물, 분화 또는 증식에 영향을 미친다. 전립선에서, 안드로젠은 안드로젠 민감성 조직의 세포질 내에 존재하는 AR에 결합함으로써 전립선 조직 및 전립선암 세포의 성장을 자극한다.

[0033] AR을 선택적으로 조절하는 화합물은 하기를 포함하지만 이로 한정되지 않는 다양한 질병, 질환, 및 암의 치료 또는 예방에 있어서 임상적으로 중요하다: 전립선암, 양성 전립선 과형성, 여성 조모증, 탈모증, 신경성 식욕부진, 유방암, 여드름, 근골격계 질환, 예컨대 골 질환, 조혈성 질환, 신경근 질환, 류마티스성 질환, 암, AIDS, 약액질, 남성 피임에 사용되는 호르몬 대체 요법(HRT)을 위함, 남성 기능 향상을 위함, 남성 생식 질환을 위함, 및 원발성 또는 속발성 남성 성선기능저하증.

[0034] 거세저항성 전립선암

[0035] 내인성 호르몬(예를 들어, 테스토스테론)의 작용을 차단하는 작용제(항안드로젠)는 전립선암의 치료(안드로젠 제거 요법)에 매우 효과적이고 일상적으로 사용된다. 종양 성장을 억제하는 데 초기에는 효과적이지만, 이들 안드로젠 제거 요법은 결국 거의 모든 경우에 실패하여, CRPC로 이어진다. 전부는 아니지만 대부분의 전립선암 세포는 초기에 안드로젠 제거 요법에 반응한다. 그러나, 시간이 지남에 따라, 전립선암 세포의 생존 집단이 출현하는데, 이는, 이들 집단이 안드로젠 제거 요법에 의해 생성되는 선택압에 반응해 왔고 이제 그것에 불응성이기 때문이다. 원발성 암은 이용가능한 요법에 불응성일 뿐만 아니라, 암 세포는 또한 원발성 종양으로부터 떨어

어저 나와 혈류로 이동하여, 원위 부위(특히, 뼈)로 이 질병을 퍼트릴 수 있다. 이는 전이성 거세저항성 전립선암("mCRPC")으로 알려져 있다. 다른 효과들 중에서, 이는 대상체에서 상당한 통증 및 추가의 골 취약성을 야기한다.

- [0036] 일부 실시 형태에서, 대상체의 전립선암은, 엔잘루타미드, 아팔루타미드 및 아비라테론 아세테이트를 포함하지만 이로 한정되지 않는 항안드로겐 치료제에 저항성이거나 무반응성이다("항안드로겐 저항성").
- [0037] 니라파립, 2-[4-[(3S)-피페리딘-3-일]페닐]인다졸-7-카르복사아미드의 제조는 2010년 2월 16일자로 출원된 미국 가특허 출원 제60/921,310호의 이익을 주장하는, 2011년 12월 6일자로 허여되고 발명의 명칭이 "Amide Substituted Indazoles as Poly(ADP-Ribose)Polymerase (PARP) Inhibitors"인 미국 특허 제8,071,623호뿐만 아니라, 2008년 1월 8일자로 출원된 미국 가특허 출원 제61/010,333호의 이익을 주장하는, 2013년 5월 7일자로 허여되고 발명의 명칭이 "Pharmaceutically Acceptable Salts of 2-[4-[(3S)-piperidin-3-yl]phenyl]-2H-indazole-7-carboxamide"인 미국 특허 제8,436,185호에서 찾아볼 수 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참고로 포함된다.
- [0038] 또한, 본 발명은 니라파립 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 활성 성분을 함유하는 약제학적 조성물은 경구 사용에 적합한 형태, 예를 들어 정제, 트로키, 로젠지, 수성 또는 유성 현탁액, 분산성 분말 또는 과립, 에멀전, 경질 또는 연질 캡슐, 또는 시럽 또는 엘릭서로서의 형태일 수 있다.
- [0039] 경구 사용으로 의도된 조성물은 약제학적 조성물의 제조를 위한 당업계에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있으며, 그러한 조성물은 약제학적으로 세련되고 맛있는 제제를 제공하기 위하여 감미제, 향미제, 착색제 및 방부제로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 작용제를 함유할 수 있다. 정제는 정제의 제조에 적합한 비독성의 약제학적으로 허용되는 부형제와의 혼합물 형태로 활성 성분을 함유한다. 이들 부형제는, 예를 들어 불활성 희석제, 예컨대 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제 및 봉해제, 예를 들어 미세결정질 셀룰로스, 소듐 크로스카르멜로스, 옥수수 전분, 또는 알긴산; 결합제, 예를 들어 전분, 젤라틴, 폴리비닐-피롤리돈 또는 아카시아, 및 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 활석일 수 있다. 정제는 코팅되지 않을 수 있거나, 또는 이들은 약물의 불쾌한 맛을 차폐하거나 위장관에서의 봉해 및 흡수를 지연시킴으로써 더 오랜 기간에 걸쳐 지속된 작용을 제공하기 위한 공지된 기법에 의해 코팅될 수 있다. 예를 들어, 하이드록시프로필-메틸셀룰로스 또는 하이드록시프로필셀룰로스와 같은 수용성 맛 차폐 재료, 또는 에틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트와 같은 시간 지연 재료가 사용될 수 있다.
- [0040] 경구 사용을 위한 제형은 또한, 활성 성분이 불활성 고체 희석제, 예를 들어 탄산칼슘, 인산칼슘 또는 카올린과 혼합된 경질 젤라틴 캡슐로서, 또는 활성 성분이 수용성 담체, 예컨대 폴리에틸렌글리콜 또는 오일 매체, 예를 들어 땅콩유, 액체 파라핀, 또는 올리브유와 혼합된 연질 젤라틴 캡슐로서 제공될 수 있다.
- [0041] 수성 현탁액은 수성 현탁액의 제조에 적합한 부형제와의 혼합물 형태로 활성 물질을 함유한다. 그러한 부형제는 현탁화제, 예를 들어 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로스, 소듐 알기네이트, 폴리비닐피롤리돈, 검 트래거캔스 및 검 아카시아이며; 분산제 또는 습윤제는 천연-발생 포스파타이드, 예를 들어 레시틴, 또는 알킬렌 옥사이드와 지방산의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 또는 에틸렌 옥사이드와 장쇄 지방족 알코올의 축합 생성물, 예를 들어 헵타데카에틸렌옥시세타날, 또는 에틸렌 옥사이드와, 지방산 및 헥시톨로부터 유도되는 부분 에스테르의 축합 생성물, 예컨대 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트, 또는 에틸렌 옥사이드와, 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도되는 부분 에스테르의 축합 생성물, 예를 들어 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트일 수 있다. 수성 현탁액은 또한 하나 이상의 방부제, 예를 들어 에틸, 또는 n-프로필 p-하이드록시벤조에이트, 하나 이상의 착색제, 하나 이상의 향미제, 및 하나 이상의 감미제, 예를 들어 수크로스, 사카린 또는 아스파탐을 함유할 수 있다.
- [0042] 유성 현탁액은 식물성 오일, 예를 들어 땅콩유, 올리브유, 참깨유 또는 코코넛유 중에, 또는 광유, 예컨대 액체 파라핀 중에 활성 성분을 현탁시킴으로써 제형화될 수 있다. 유성 현탁액은 증점제, 예를 들어 밀랍, 경질 파라핀 또는 세틸 알코올을 함유할 수 있다. 감미제, 예컨대 상기에 기재된 것들, 및 향미제가 첨가되어 맛있는 경구 제제를 제공할 수 있다. 이들 조성물은 산화방지제, 예컨대 부틸화 하이드록시아니솔 또는 알파-토코페롤의 첨가에 의해 보존될 수 있다.
- [0043] 물의 첨가에 의한 수성 현탁액의 제조에 적합한 분산성 분말 및 과립은 분산제 또는 습윤제, 현탁화제 및 하나 이상의 방부제와의 혼합물 형태로 활성 성분을 제공한다. 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제는 상기에 이미 언급된 것들에 의해 예시된다. 추가의 부형제, 예를 들어 감미제, 향미제 및 착색제가 또한 존재할 수

있다. 이들 조성물은 산화방지제, 예컨대 아스코르브산의 첨가에 의해 보존될 수 있다.

- [0044] 본 발명의 약제학적 조성물은 또한 수중유 에멀전의 형태일 수 있다. 유성 상은 식물성 오일, 예를 들어 올리브유 또는 땅콩유, 또는 광유, 예를 들어 액체 파라핀 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 유화제는 천연-발생 포스파타이드, 예를 들어 대두 레시틴, 및 지방산과 헥시톨 무수물로부터 유도되는 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들어 소르비탄 모노올레에이트, 및 상기 부분 에스테르와 에틸렌 옥사이드의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트일 수 있다. 에멀전은 또한 감미제, 향미제, 방부제 및 산화방지제를 함유할 수 있다.
- [0045] 시럽 및 엘릭서는 감미제, 예를 들어 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨 또는 수크로스과 함께 제형화될 수 있다. 그러한 제형은 또한 점화제, 방부제, 향미제 및 착색제 및 산화방지제를 함유할 수 있다. 약제학적 조성물은 멸균 주사용 수용액의 형태일 수 있다. 사용될 수 있는 허용되는 비히클 및 용매 중에는 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다.
- [0046] 멸균 주사용 제제는 또한, 활성 성분이 유성 상 중에 용해되어 있는 멸균 주사용 수중유 마이크로에멀전일 수 있다. 예를 들어, 활성 성분은 먼저 대두유와 레시틴의 혼합물 중에 용해될 수 있다. 이어서, 이 오일 용액이 물 및 글리세롤 혼합물 내로 도입되고 가공되어 미세에멀전을 형성한다.
- [0047] 주사용 용액 또는 마이크로에멀전은 국소 볼루스 주사에 의해 환자의 혈류 내로 도입될 수 있다. 대안적으로, 본 화합물의 일정한 순환 농도를 유지하는 방식으로 용액 또는 마이크로에멀전을 투여하는 것이 유리할 수 있다. 그러한 일정한 농도를 유지하기 위하여, 연속 정맥내 전달 장치가 이용될 수 있다. 그러한 장치의 예는 Deltec CADD-PLUS™ 모델 5400 정맥내 펌프이다.
- [0048] 약제학적 조성물은 근육내 및 피하 투여를 위한 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액의 형태일 수 있다. 이러한 현탁액은 상기에 언급된 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균 주사용 제제는 또한 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중 멸균 주사용 용액 또는 현탁액, 예를 들어, 1,3-부탄다이올 중 용액일 수 있다. 게다가, 멸균 고정유가 용매 또는 현탁 매체로서 통상적으로 사용된다. 이러한 목적으로, 합성 모노- 또는 다이글리세라이드를 포함하는 임의의 무자극성(bland) 고정유가 사용될 수 있다. 게다가, 지방산, 예컨대 올레산이 주사제의 제조에 사용된다.
- [0049] 니라파립은 또한 약물의 직장내 투여를 위하여 좌제 형태로 투여될 수 있다. 이들 조성물은, 상온에서는 고체이지만 직장 온도에서는 액체이며, 이에 따라 직장 내에서 용해되어 약물을 방출하게 될 적합한 무자극성 부형제와 약물을 혼합함으로써 제조될 수 있다. 그러한 물질은 코코아 버터, 글리세린화 젤라틴, 수소화 식물성 오일, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜의 혼합물 및 폴리에틸렌 글리콜의 지방산 에스테르를 포함한다.
- [0050] 국소 사용을 위하여, 본 화합물을 함유하는 크림, 연고, 젤리, 용액 또는 현탁액 등이 사용된다. (본 출원의 목적상, 국소 도포는 구강용 위시 및 가글을 포함할 것이다.)
- [0051] 니라파립은, 적합한 비강내 비히클 및 전달 장치의 국소 사용을 통해, 또는 당업자에게 잘 알려진 경피 피부 패치의 형태를 사용하여 경피 경로를 통해, 비강내 형태로 투여될 수 있다. 경피 전달 시스템의 형태로 투여하기 위하여, 투여량 투여는 물론 투여 계획 내내 간헐적이기보다는 연속적일 것이다. 니라파립은 또한 코코아 버터, 글리세린화 젤라틴, 수소화 식물성 오일, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜의 혼합물 및 폴리에틸렌 글리콜의 지방산 에스테르와 같은 기제를 사용하는 좌제로서 전달될 수 있다.
- [0052] 니라파립이 대상체에게 투여되는 경우, 선택된 투여량 수준은 특정 화합물의 활성, 개체의 증상의 중증도, 투여 경로, 투여 시간, 화합물의 배설률, 치료 지속기간, 병용하여 사용되는 다른 약물, 화합물, 및/또는 물질, 및 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강상태, 및 이전 병력을 포함하지만 이로 한정되지 않는 다양한 인자에 좌우될 것이다. 니라파립의 양 및 투여 경로는 궁극적으로 의사의 재량에 따르겠지만, 일반적으로 투여량은 상당한 유해한 또는 해로운 부작용을 야기하지 않고서, 원하는 효과를 달성하는 작용 부위에서의 국소 농도를 달성하는 것일 것이다.
- [0053] 생체내에서의 투여는 치료 과정 전체에 걸쳐 1회 용량으로, 연속적으로 또는 간헐적으로(예를 들어, 적절한 간격으로 분할 용량으로) 달성될 수 있다. 투여의 가장 효과적인 수단 및 투여량을 결정하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 요법에 사용되는 제형, 요법의 목적, 치료되는 표적 세포, 및 치료되는 대상체에 따라 달라질 것이다. 단회 또는 다회 투여는 치료담당 의사에 의해 선택되는 용량 수준 및 패턴으로 수행될 수 있다.
- [0054] 일반적으로, 니라파립의 적합한 용량은 하루당 대상체의 체중 kg당 약 100 μ g 내지 약 250 mg의 범위이다. 환

성 화합물이 염, 에스테르, 전구약물 등인 경우, 투여량은 모(parent) 화합물을 기준으로 계산되고, 따라서 사용될 실제 중량은 비례적으로 증가된다.

[0055] 전립선암의 치료를 위한 니라파립 또는 이의 약제학적 조성물의 치료적 유효량은 약 30 mg/일 내지 약 400 mg/일의 니라파립의 용량 범위, 또는 그 안의 임의의 특정 양 또는 범위, 특히 약 300 mg/일, 및 3개의 100 mg 경구 투여 형태로의 일일 1회 경구 투여를 포함한다.

[0056] 투여되는 니라파립의 최적 투여량은 용이하게 결정될 수 있으며, 사용되는 특정 화합물, 투여 방식, 제제의 강도, 및 질병, 증후군, 질환 또는 장애의 진행정도에 따라 달라질 것이다. 게다가, 대상체 성별, 연령, 체중, 식이 및 투여 시간을 비롯한 치료될 특정 대상체와 관련된 인자에 따라, 적절한 치료 수준 및 원하는 치료 효과를 달성하도록 용량을 조정해야 할 것이다. 따라서, 상기 투여량은 평균적인 경우의 예이다. 물론 더 많거나 더 적은 투여량 범위가 유익한 개별적인 경우가 있을 수 있으며, 그러한 경우도 본 발명의 범주 내에 있다.

[0057] 니라파립의 사용이 그를 필요로 하는 대상체에게 필요할 때에는 언제나, 니라파립은 임의의 상술한 조성물 및 투여 계획으로 투여될 수 있거나, 당업계에서 확립된 조성물 및 투여 계획에 의해 투여될 수 있다.

[0058] 실시예

[0059] 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위하여 기술되며, 본 발명은 이후에 나오는 청구범위에 기술된 본 발명을 어떤 식으로든 제한하는 것으로 의도되지 않으며 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0060] 실시예 1

[0061] 인간 전립선 종양주에서 니라파립의 시험관내 세포독성

[0062] 니라파립의 세포독성을 시험관내에서 몇몇 인간 전립선 종양주에서 시험하였다. 종양주들 중 어느 것도 BRCA-1 또는 BRCA-2 결핍인 것으로 알려져 있지 않다.

[0063] 방법:

[0064] 니라파립의 시험관내 세포독성을 하기 5가지의 인간 전립선암 세포주에서 평가하였다: C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB, VCaP, 및 22Rv1. C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB, 및 22Rv1 세포주를 10% 열-불활성화된 소태아 혈청(FBS)(Life Technologies #16140-071) 및 비필수 아미노산(NEAA)(Life Technologies # 11140-050)이 보충된 RPMI1640+GlutaMAX™-I 배지(Life Technologies #61870-036) 중에서 성장시키고; VCaP 세포를 10% FBS 및 NEAA를 함유하는 DMEM+GlutaMAX™-I 배지(Life Technologies ##10569-010) 중에서 성장시켰다. VCaP 세포는 매 7일마다 계대배양하였고; 다른 세포주들은 매 3 내지 4일마다 분할하였다.

[0065] 세포를 여러 밀도로 시딩(seeding)하고 최대 7일 간격으로 성장을 모니터링함으로써, 각각의 세포주의 세포 성장 속도론을 결정하였다. Promega Cell TiterGlo 시약(#G7571)을 사용하여 화학발광 루시페린-루시페라제 반응에 의해 세포 ATP를 측정함으로써 성장을 결정하였다. 플레이트를 Perkin-Elmer Envision 플레이트 판독기 상에서 판독하였으며, 발광 값을 도표로 나타내어, 대수기 성장을 가져온 시딩 밀도 및 원하는 시점에서 Cell TiterGlo 검정의 선형 범위 내에 있는 세포 밀도를 확인하였다.

[0066] 니라파립 세포독성 실험의 경우, 세포를 짧은 트립신 처리에 의해 수집하고, 각각의 세포주를 7일 처리에 적절한 밀도로 96웰 플레이트의 내부 60개의 웰에 100 μ L의 배지 중에 시딩하였다. 각각의 플레이트의 외부 웰을 둘베코 인산염 완충 식염수(DPBS; Life Technologies #14190-144)로 채워서 시험 웰로부터의 증발을 감소시켰다. 가습된 5% CO₂ 인큐베이터 내에서 37°C에서 플레이트에서 세포를 하룻밤 정치시켰다. 적절한 배지 중의 3X 니라파립(최종 농도 500, 125, 31.3, 7.8, 1.95, 0.49, 0.12, 0.03 μ M) 50 μ L를 3개의 반복시험 웰에 첨가함으로써 처리를 개시하였다. 최종 비히클 농도는 0.5% DMSO였다.

[0067] 세포를 7일 동안 배양하였다. 처리 후의 상대 세포 생존력을 상기에서와 같이 Cell TiterGlo 시약을 사용하여 결정하였다. 모든 발광 출력 값을 미처리 대조군 웰의 평균 발광에 기초하여 % 억제로 정규화하고, 비히클 대조군 웰의 평균 % 억제를 각각의 처리 값으로부터 차감하였다. GraphPad Prism 7.00에서 log μ M 농도에 대하여 % 억제를 도표로 나타내었다. 비선형 회귀 및 EC₅₀ 값의 계산을 log(효능제) vs. 반응 -- 가변 기울기(4개의 파라미터) 적합을 사용하여 수행하였다.

[0068] 결과:

[0069] 세포독성 검정의 결과가 도 1 및 표 1에 나타나 있다. 각각의 세포주의 성장은 니라파립의 농도를 증가시킴으

로써 용량-의존적 방식으로 감소되었다. C4-2B 세포가 약 1.2 μM 의 EC_{50} 값으로 가장 민감한 것으로 나타났다. VCaP 세포는 4.1 μM 의 EC_{50} 값으로 가장 덜 민감한 것으로 나타났다.

[표 1]

인간 전립선 종양 세포주의 7일 니라파립 처리에 대한 EC_{50} 값.

세포주	EC_{50} , μM
C4-2B	1.222
LNCaP	3.502
LNCaP AR.TB	2.140
VCaP	4.099
22Rv1	3.517

실시예 2

니라파립에 의한 PAR 형성의 억제

시험관내에서 2가지 인간 전립선 종양주에서 폴리(ADP)리보스(PAR)의 형성을 억제하는 니라파립의 능력을 시험하였다. 종양주들 중 어느 것도 BRCA-1 또는 BRCA-2 결핍인 것으로 알려져 있지 않다.

방법:

니라파립을 사용한 PAR 억제를 2가지 인간 전립선암 세포주, C4-2B 및 VCaP에서 평가하였다. C4-2B 세포주를 10% FBS 및 NEAA가 보충된 RPMI1640+GlutaMAXTM-I 배지 중에서 성장시키고, 매 3 내지 4일마다 분할하였다. VCaP 세포를 FBS 및 NEAA를 함유하는 DMEM+GlutaMAXTM-I 배지 중에서 성장시키고, 매 7일마다 계대배양하였다.

세포를 짧은 트립신 처리에 의해 수집하고, 각각의 세포주를 적절한 밀도로 6웰 플레이트 내로 1 mL의 배지 중에 시딩하였다. 웰당 총 부피 1.5 mL를 위해, 추가의 500 μL 의 완전 배지를 첨가하였다. 가습된 5% CO_2 인큐베이터 내에서 37°C에서 플레이트에서 세포를 하룻밤 정치시켰다. 다음날, 배지를 플레이트로부터 제거하고, 1 mL 무혈청 배지(각각 RPMI 또는 DMEM)를 사용하여 세포를 세척하였다. 적절한 배지 중의 니라파립(최종 농도: 0.1% DMSO 중 100, 10, 1, 0.1, 0.01 및 0 μM) 1 mL를 3개의 반복시험 웰에 첨가함으로써 처리를 개시하였다. 플레이트를 2시간 동안 인큐베이터에 되돌려 놓아두었다.

처리 후에, HT PARP 생체내 약력학적 검정 II(Trevigen #4520-096-K)에 제공된 시약 및 절차를 사용하여 추출물을 제조하였다. 배지를 각각의 웰로부터 취출하여 별개의 라벨링된 미세원심분리 튜브 내에 넣고, 플레이트를 얼음 상에 놓았다. 튜브를 1500 rpm으로 4분 동안 회전시켜, 약물 인큐베이션 동안 플레이트로부터 떼어진 임의의 세포를 펠릿화하였다. 24.5 mL의 세포 용해 시약을 250 μL 의 100 mM PMSF(에탄올 중; Sigma #93482) 및 250 μL 의 100X 프로테아제 억제제 각테일(Thermo Scientific #78429)과 함께 사용하여 용해 완충액을 제조하였다. 용해 완충액(300 μL)을 얼음 상의 플레이트의 각각의 웰에 첨가하였다. 부착성 세포를 용해 완충액 중으로 긁어내고, 얼음 상에서 적어도 15분 동안 유지하였다. 상층액을 미세원심분리 튜브로부터 제거하고, 6웰 플레이트로부터의 세포 용해물을 상응하는 튜브로부터의 각각의 튜브에 첨가하였다. 최종 SDS 농도가 1%가 되도록 SDS(20% w/v)를 첨가하였다. 세포 추출물을 5분 동안 95 내지 100°C로 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후에, 0.01 부피의 100X 마그네슘 양이온 및 3 μL 의 DNase를 각각의 튜브에 첨가하였다. 튜브를 짧게 와동시키고, 90분 동안 37°C 인큐베이터에 되돌려 놓아두었다. 인큐베이션 후에, 튜브를 실온에서 10분 동안 10,000 $\times$ g로 원심분리하였다. 펠릿이 존재하면, 그것을 피펫 팁을 사용하여 제거하고, 추출물을 96웰 희석 플레이트에 옮겼다. 세포 추출물을 단백질 정량화 및 PAR ELISA 검정에 사용될 때까지 -80°C에서 동결시켰다. ELISA 검정 프로토콜을 제조자의 사용설명서에 따라 수행하였다.

제조자의 96웰 플레이트 프로토콜에 따라 표면활성제(detergent)-상용성 Biorad DC 단백질 검정 키트 II(#500-0002)를 Biorad Quick Start 소혈청 알부민 표준 세트(#5000207)와 함께 사용하여 단백질 정량화를 수행하였다. ELISA 용해 완충액을 표준물에 스파이킹(spiking)하고, 동일한 부피의 PBS를 모든 샘플 웰에 첨가하여 단백질 관독치에 대한 용해 완충액의 임의의 효과를 보정하였다. 샘플은 2회 반복하여 검정하였다. 완충액 A'(25 μL)을 플레이트의 모든 웰에 첨가하고, 200 μL 의 완충액 B를 각각의 웰에 즉시 첨가하였다. 플레이트를 진탕기

상에서 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. SoftMax Pro 버전 6.3 소프트웨어에서 DC 단백질 검정 프로토콜을 사용하여, Molecular Devices M5 플레이트 판독기 상에서 750 nm에서 흡광도를 판독하였다. 표준 곡선의 선형 회귀, 샘플 단백질 값의 보간, 및 2회 반복시험의 평균화를 소프트웨어에서 수행하였다. 데이터를 엑셀(Excel)에 내보내기하고, 여기서 샘플 희석에 대한 임의의 보정을 수행하였다.

[0080] PAR ELISA 표준물 및 샘플의 발광 값을 GraphPad Prism 버전 7에서 분석하였는데, 여기서 표준 곡선의 선형 회귀 및 샘플 값의 보간을 계산하였다. 보간된 PAR 값(pg PAR/mL)을 샘플 희석에 대하여 보정하고, 상응하는 단백질 농도로 나누어서 pg PAR/mg 단백질을 산출하였다. GraphPad Prism v7에서 이들 값을 그래프로 나타내었다.

[0081] 결과:

[0082] PAR 검정으로부터의 결과가 도 2에 나타나 있다. PAR은 각각의 세포주에서 니라파립의 농도를 증가시킴으로써 용량-의존적 방식으로 감소되었다.

[0083] 실시예 3

[0084] 니라파립은 시험관내에서 인간 전립선 종양주에서 γ -H2AX를 유도한다

[0085] DNA에서 이중 가닥 절단을 유도하는 니라파립의 능력을 3가지의 인간 전립선암 세포주 22RV1, LNCaP AR.TB, 및 C4-2B에서 측정하였다. DNA 내의 이중 가닥 절단 후에 인접한 히스톤 γ -H2AX의 인산화가 이어지고, 이러한 인산화는 항체 염색 및 유세포측정에 의해 측정될 수 있다.

[0086] 방법:

[0087] 22RV1, LNCaP AR.TB, 및 C4-2B 세포주를 상기에 개략적으로 설명된 바와 같이 성장시켰다. 세포주를 매 3 내지 4일마다 계대하였다.

[0088] 각각의 세포주에 대해, 2×10^5 개의 세포를 12웰 플레이트(Falcon #353043)의 각각의 웰 내에 1 mL의 배지의 부피 중에 시딩하였다. 세포를 37°C 가습된 5% CO₂ 인큐베이터 내에서 하룻밤 정치시키고, 이어서 2배 농도로 연속 희석된 니라파립을 함유하는 배지 1 mL를 첨가하여 3개의 반복시험 웰 내에서 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.57, 0.78, 0.39, 0.2, 및 0.1 μ M의 최종 농도를 달성하였다. 최종 비히클 농도는 0.2% DMSO였으며, 비히클 및 배지 대조군의 3개의 반복시험 웰을 또한 각각의 세포주에 대해 얻었다. 플레이트를 추가 18시간 동안 인큐베이션하였다.

[0089] 약물과 함께 18시간 인큐베이션한 후에, 먼저 2 mL의 배지를 15 mL 원추형 튜브(Corning #430798) 내로 옮김으로써 세포의 각각의 웰을 수집하였다. 이어서, 500 μ L의 세포 해리 완충액(Gibco #13151-014)을 웰에 첨가하고, 5분 동안 정치되게 하였다. 1 mL 피펫을 사용하여, 1 mL의 배지를 웰에 첨가하고, 세포를 피펫팅에 의해 이탈시키고, 세포-함유 배지를 상응하는 15 mL 원추형 튜브에 옮겼다. 튜브를 1200 rpm으로 5분 동안 원심분리하고, 상층액을 버리고, 펠릿화된 세포를 재현탁시키고, 96웰 v-바닥 플레이트(Costar #3896)에 옮겼다. 플레이트를 1800 rpm으로 3분 동안 원심분리하고, 상층액을 버리고, 이어서 웰을 200 μ L의 DPBS로 세척하였다. 이러한 과정을 총 3회 세척에 대해 반복하였다. 이어서, Invitrogen Live/Dead 픽서블 아쿠아(fixable aqua)(인비트로젠 #L34957)의 1:800 희석물을 함유하는 100 μ L의 DPBS로 4°C에서 20분 동안 세포를 염색하였다. 이어서, 세포를 150 μ L의 BD Pharmingen 염색 완충액(염색 완충액; BD #554657)을 사용하여 세척하고, 1800 rpm으로 3분 동안 원심분리하였다. 세포를 200 μ L의 염색 완충액으로 다시 2회 세척하고, 이어서 DPBS로 1회 세척하였다.

[0090] 세포를 100 μ L의 -20°C 70% 에탄올/H₂O로 고정시키고, 플레이트를 -20°C에서 2시간 동안 저장하였다. 세포를 염색 완충액으로 3회 세척하였는데, 이때에는 매 세척 사이마다 2200 rpm으로 3분 동안 원심분리하였다. 이어서, 100 μ L의 1:1 희석 염색 완충액 및 AXELL 비오틴-무함유 Fc 수용체 차단제(Accurate Chemical & Scientific Corp #NB309)와 함께 4°C에서 20분 동안 세포를 인큐베이션하였다. 세포를 150 μ L의 염색 완충액으로 세척하고, 이어서 2200 rpm으로 3분 동안 원심분리하고, 상층액을 버리고, 이어서 γ -H2AX 항체(Biolegend #613408)의 1:100 희석물과 함께 암소에서 실온에서 2시간 동안 0.2% v/v Triton X-100(Acros Organics #21568-2500)을 함유하는 50 μ L의 염색 완충액과 함께 세포를 인큐베이션하였다.

[0091] 세포를 0.2% v/v Triton X-100을 함유하는 200 μ L의 염색 완충액으로 1회 세척하고, 이어서 200 μ L의 염색 완충액만으로 1회 세척하였다. 세포를 80 μ L의 염색 완충액 중에 재현탁시키고, 50 μ L를 BD Fortessa 유세포측

정기 상에서 분석하였다. TreeStar FlowJo v9.8.5를 사용하여 데이터를 분석하였다. 살아있는 세포 상에서 데이터를 게이팅하고, 이어서 이중선 식별 후, 전체 집단을 γ -H2AX 항체 신호에 대해 평가하였다. GraphPad Prism v7에서 결과를 그래프로 나타내었다.

결과:

22RV1 세포주에 대한 대표적인 히스토그램이 도 3에 나타나 있는데, 이는 상이한 농도의 니라파립의 효과를 보여준다. 약물-처리된 샘플을 비히클 및 배지 대조군과 대비하였으며, 이들은 도 4에 그래프로 나타나 있다. γ -H2AX 신호가 비히클 대조군에 비하여 유의하게 상승되는 최저 농도가 표 2에 나타나 있다. 결과는, 각각의 전립선 종양주에서, 니라파립이 용량-의존적 방식으로 γ -H2AX를 유도함을 보여준다.

[표 2]

γ -H2AX의 유의한 변화를 유도하는
니라파립의 최소 농도

세포주	첫 번째 유의한 농도(μ M)
22RV1	1.57
LnCaP, AR, TB	3.13
C4-2B	1.57

실시예 4

니라파립은 마우스에서 C4-2B 인간 전립선 종양의 성장을 억제한다.

비비만성 당뇨병(NOD) 중증 복합 면역결핍(scid) 감마(NOD.Cg-Prkdc I12rg/SzJ)(NSG) 마우스에서 사전-확립된 인간 전립선 피하 C4-2B 모델에서 니라파립의 활성을 시험하였다. 이 종양 모델은 BRCA-1 또는 BRCA-2 결핍인 것으로 여겨지지 않는다.

방법:

비히클로서 0.5% 메틸 셀룰로스(Methocel™ F4M)를 준비하고, 암소에서 4℃에서 유지하였다. 모든 체형을 10 ml/kg 체중의 부피로 투여되도록 하였다. NSG 수컷 마우스(Jackson Laboratories)를 사용하였다. 동물들을 임의의 실험 절차가 수행되기 전에 1주일 동안 길들여질 수 있게 하였다. 19 내지 22℃의 온도 및 35 내지 40% 습도에서 12시간 명/암 사이클 하에서 일회용 IVC-케이지(미국 캘리포니아주 샌디에고 소재의 Innovive) 내에 마우스를 집단 수용하였다(케이지당 5 마리). 마우스에 오토클레이브된 고지방(6%) 식이 실험실용 먹이 및 물을 자유식(ad libitum)으로 공급하였다.

마우스의 우측 옆구리에 LNCaP C4-2B-luc 태그된 세포(200 μ l 부피의 Cultrex®:RPMI 1640 배지(1:1 비) 중 1×10^6 개의 종양 세포)를 주사하였다. 마우스를 종양 부피(종양 부피 = 241 ± 14 mm³)에 따라 무작위 배정하였으며, 이때 처리군당 10 마리의 마우스였다. 마우스에 10 ml/kg 투여 부피로 하기에 나타낸 바와 같이 비히클, 또는 니라파립을 함유하는 비히클을 위관영양법(gavage)(p.o.)에 의해 매일 투여하였다. 처리 시작 = 일수 1. 연구 일수 24를 통해 마우스를 처리하였다.

그룹 1 0 mg/kg 비히클(0.5% Methocel F4M)이 QD p.o 투여됨.

그룹 2 0.5% Methocel F4M 중 25 mg/kg 니라파립이 QD p.o 투여됨.

그룹 3 0.5% Methocel F4M 중 50 mg/kg 니라파립이 QD p.o 투여됨.

각각의 개별 동물에 대하여, 체중 및 종양 부피[화환식: 종양 부피(mm³) = $(a \times b^2)/2$]를 사용함; 여기서, 'a'는 종양의 길이를 나타내고, 'b'는 종양의 폭을 나타내며, 이들은 캘리퍼 측정에 결정된 바와 같음]를 연구 과정 전체에 걸쳐 주 2회 모니터링하였다. 사전-확립된 종양에 대해, 종양 성장의 시간-경과는 평균 $\pm$ 평균의 표준 오차(SEM)로 표현된다.

결과:

- [0107] 비히클 처리 마우스는 대략 연구 일수 22부터 계속 종양 부피에 대한 윤리적 한계에 도달하기 시작하였다(개별 종양 부피에 대해서는 도 5 참조). 종양 부피 데이터는 연구 일수 24(이 시점에서는 10 마리의 비히클-처리 마우스 중 9 마리가 연구에 남아 있었음)까지 제시하였다. 18, 22, 및 24일의 치료 후에, 50 mg/kg 니라파립 p.o.를 매일 투여한 그룹 3은 종양 성장에 있어서 유의한 억제/지연을 나타내었는데, 이때 종양 성장 억제(TGI) 값은 이들 일수에서 약 40%였다. 종양 성장의 유의한 차이가 일수 18, 22 및 24에서 관찰되었다(*p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001). 25 mg/kg의 니라파립이 투여된 마우스는 유의한 종양 성장 억제를 나타내지 않았지만, 일수 22 및 24에서 약 12%의 약간의 TGI가 있었다.
- [0108] **실시예 5**
- [0109] 다시설, 오픈-라벨 연구(multicenter, open-label study)를 수행하여, 적어도 한 라인의 탄산계 화학요법 및 적어도 한 라인의 항안드로겐 요법(예를 들어, 아비라테론 아세테이트, 엔잘루타미드, 아팔루타미드)을 받았던 mCRPC 및 DNA-수복 이상을 가진 18세 초과 남성 대상체에서 300 mg의 니라파립의 일일 1회 투여의 효능 및 안전성을 평가한다. 본 연구에는 대략 100명의 대상체가 등록될 것이다. 대상체는 연구 기간 동안, 그리고 연구 약물의 마지막 투여 후 최대 30일까지 안전성에 대해 모니터링될 것이다. 치료는 질병 진행, 허용 불가능한 독성, 사망, 또는 후원자에 의해 연구가 종료될 때까지 계속될 것이다.
- [0110] 본 연구는 하기 4개의 단계로 이루어질 것이다: 바이오마커 평가만을 위한 사전스크리닝 단계, 스크리닝 단계, 치료 단계, 및 추적 단계. 효능 평가는 하기를 포함한다: 종양 측정: 흉부, 복부 및 골반 CT 또는 MRI 스캔 및 전신 뼈 스캔(^{99m}Tc), 혈청 PSA, 생존 상태, CTC, 및 유증상 골격 사건(SSE).
- [0111] 니라파립 300 mg은 일일 1회 경구 투여를 위한 캡슐(3 × 100 mg)로서 제공될 것이다. 캡슐은 전체를 삼켜야 한다. 대상체는 (음식과 함께 또는 음식 없이) 아침에 그들의 용량을 섭취해야 한다. 연구 의약으로 간주되지는 않지만, 외과적 거세를 받지 않은 대상체는 규칙적으로 처방된 GnRHa를 계속 제공받아야 한다. 모든 GnRHa 요법은 eCRF의 수반 약물 섹션에 기록되어야 한다.
- [0112] 치료 사이클은 28일로서 정의된다. 대상체는 사이클 1의 일수 1에 니라파립을 섭취하기 시작할 것이다. 각각의 치료 사이클에 대한 충분한 양의 니라파립이 각각의 사이클의 첫째날에 분배될 것이다. 대상체가 용량을 누락하는 경우, 대상체가 대략 12시간 창(window) 이내에 기억한다면 그 용량이 대체되어야 한다. 그렇지 않으면, 대상체는 누락된 용량에 대한 보상 없이 다음날 그 다음의 용량을 섭취해야 한다. 누락된 용량이 eCRF에 기록되어야 한다.
- [0113] 바이오마커 평가를 위한 사전스크리닝 단계
- [0114] 사전스크리닝 단계는, 잠재적인 대상체가 DNA-수복 이상에 대해 바이오마커-양성인 경우 평가될 것이다. 모든 대상체는 사전스크리닝 단계에 대한 특정 ICF에 서명할 필요가 있을 것이며, 기저선 인구통계학적 특성 및 질병-특이적 병력을 제공하게 될 것이다. 사전스크리닝 단계는 스크리닝 단계 전에 임의의 시점에서 일어날 수 있다.
- [0115] 바이오마커-양성을 결정하기 위한 과정은, 혈액-기반 검정이 이용가능하기 전에 사전스크리닝에 진입하는 대상체의 경우, 혈액-기반 검정이 이용가능한 후에 진입하는 대상체와 비교하여 상이할 것이다. 2가지 과정이 하기에 기재되어 있다.
- [0116] 혈액-기반 검정이 이용가능하기 전에 바이오마커-양성을 결정하기 위한 과정
- [0117] 대상체는 사전스크리닝 ICF에 서명한다. 대상체가 FoundationOne® 유전자 패널에 의해 미리 분석된 종양 조직을 가졌다면, 대상체가 공개를 승인한 후에, FoundationOne® 데이터를 검토하여 표 1에 정의된 기준에 기초하여 적격성을 결정할 수 있으며, 대상체가 바이오마커-양성인 경우, 이들은 스크리닝 단계에 진입하기에 적격이다. 대상체가 FoundationOne® 유전자 패널에 의해 미리 분석된 종양 조직을 갖지 않았다면, 이들은 후원자-승인 시험에 의해 바이오마커-양성에 대해 분석된, 문서보관된(archival) 또는 최근에 수집된(추천된) 종양 조직을 가져야 한다. 대상체가 바이오마커-양성인 경우, 이들은 스크리닝 단계에 진입하기에 적격이다.
- [0118] 혈액 샘플은 또한 사전스크리닝 단계 동안 모든 대상체로부터 수집되어 혈액-기반 검정이 이용가능하게 될 때까지 저장될 것이다. 혈액-기반 검정이 이용가능하게 되는 시점에서, 저장된 혈액 샘플은 종양 조직 샘플 결과와의 일치를 위하여 분석될 것이다. 이러한 분석은 혈액-기반 검정이 이용가능하게 된 후에 임의의 시점에서 일어날 수 있다.

- [0119] 혈액-기반 검정이 이용가능한 후에 바이오마커-양성을 결정하기 위한 과정
- [0120] 대상체는 사전스크리닝 ICF에 서명한다. 대상체는 혈액을 수집하고 바이오마커-양성의 분석을 위해 보냈다. 대상체가 FoundationOne® 유전자 패널에 의해 미리 분석된 종양 조직을 가졌다면, 대상체가 공개를 승인한 후에, FoundationOne® 데이터를 검토하여 표 1에 정의된 기준에 기초하여 적격성을 결정할 수 있다. 대상체가 바이오마커-양성인 경우, 이들은 스크리닝 단계에 진입하기에 적격이며, 혈액-기반 분석의 결과를 기다릴 필요가 없다. FoundationOne® 유전자 패널이 음성인 경우, 대상체는 이들이 혈액-기반 검정에 의해 바이오마커-양성인 것으로 결정된다면 여전히 적격한 것으로 간주될 수 있다. 대상체가 FoundationOne® 유전자 패널에 의해 미리 분석된 종양 조직을 갖지 않았고 문서보관된 조직이 입수가가능하다면, 문서보관된 종양 조직의 검색 및 분석에 대한 요청이 개시된다. 혈액-기반 검정 결과가 바이오마커-양성인 경우, 대상체는 스크리닝 단계에 진입하기에 적격이며, 문서보관된 종양 조직-기반 분석의 결과를 기다릴 필요가 없다. 입수가가능한 경우 문서보관된 종양 조직-기반 분석으로부터의 결과는 일치 및 가교 연구에 대한 혈액-기반 결과와 함께 사용될 수 있다.
- [0121] 연구 후원자의 재량으로, 혈액-기반 검정 결과가 음성이면, 문서기록된 종양 조직-기반 결과를 사용하여 적격성을 결정할 수 있다.
- [0122] 문서보관된 종양 조직이 입수가가능하지 않다면, 대상체는 종양 조직을 수집하는 것에 동의해야 한다.
- [0123] 혈액-기반 검정 결과가 바이오마커-양성인 경우, 최근의 종양 조직은 일치 및 가교 연구에서 나중의 사용을 위해 사이클 1 일수 1 전에 수집되어야 한다. 최근에 수집된 종양 조직의 분석은 연구 동안 임의의 시점에서 일어날 수 있으며, 결과는 대상체가 스크리닝 단계에 진입하기 이전에는 필요하지 않을 수 있다.
- [0124] 연구 후원자의 재량으로, 혈액-기반 검정 결과가 음성이면, 최근에 수집된 종양 조직을 사용하여 적격성을 결정할 수 있다.
- [0125] 일단 대상체가 사전스크리닝 단계 동안 바이오마커-양성인 것으로 확인되면, 스크리닝 단계는 30일 이내에 시작되어야 한다.
- [0126] 스크리닝 단계
- [0127] 모든 바이오마커-양성 대상체는 스크리닝 단계에서 임의의 연구 관련 절차를 수행하기 전에 주요 연구 ICF에 서명해야 한다. 이러한 단계 동안, 적격성 기준이 검토될 것이고, 완전한 임상 평가가 시간 및 이벤트 일정(Time and Events Schedule)에 명시된 바와 같이 수행될 것이다. 스크리닝 절차는 달리 명시되지 않는 한 사이클 1 일수 1 전에 최대 35일까지 수행될 것이다. 이미징은 사이클 1 일수 1 전에 최대 8주까지 허용될 것이다. 스크리닝 임상 안전성 실험실 평가가 사이클 1의 14일 이내에 수행되는 경우 사이클 1 일수 1 평가에 사용될 수 있다.
- [0128] 모든 선정 기준을 충족시키지는 않는 대상체, 또는 제외 기준을 충족시키는 대상체는 한번 재스크리닝될 수 있다. 재스크리닝은 조사자의 재량에 달려 있으며, 후원자 승인 및 합의를 필요로 한다. 재스크리닝된 대상체는 재스크리닝 전에 새로운 ICF에 서명해야 한다. 계획된 등록 35일 이내에 재스크리닝된 대상체는 초기 스크리닝 실험실 결과, 컴퓨터 단층촬영(CT)/자기 공명 영상(MRI) 및 골 스캔(여전히 사이클 1 일수 1의 8주 이내인 경우)을 사용하여, 재스크리닝에 대한 이유가 아니더라도 적격성을 결정할 수 있다.
- [0129] 치료 단계
- [0130] 치료 단계는 사이클 1 일수 1에 시작할 것이며 연구 약물이 중단될 때까지 계속될 것이다. 연구 약물의 투여 전 사이클 1의 일수 1에 또는 스크리닝에서 취해진 마지막 측정치(어느 값이든 마지막 값)가 기저선 값으로 정의될 것이다. 달리 명시되지 않는 한, 각각의 사이클에 대한 방문은 ± 3 일 창을 가질 것이다. 연구 방문은 사이클 1 일수 1로부터 계산될 것이다. 대상체는 이미징을 필요로 하는 방문의 ± 7 일 이내에 이미징이 수행되었을 수 있다. 치료 단계 동안 치료 방문 및 평가를 위한 시간 및 이벤트 일정을 참조한다.
- [0131] PK 및 약력학 샘플링 날의 경우, 대상체는 연구 방문의 아침에 집에서 연구 약물을 섭취하지 않아야 한다. 연구 약물은 현장에서 섭취되어야 한다. PK 및 약력학 샘플링 날짜 및 시간의 세부 사항은 시간 및 이벤트 일정에 제공되어 있다. PK 샘플링에 관한 추가의 세부 사항은 섹션 9.3에 제공되어 있다. PK 및 약력학에 대한 혈액 샘플 취급 및 저장 절차의 세부 사항은 실험실 매뉴얼에 제공되어 있다.
- [0132] 임상적으로 필요하다면, 임상 평가 및 실험실 연구가 더 빈번하게 반복될 수 있다. 연구 약물 치료는 질병 진행, 허용 불가능한 독성, 사망, 또는 후원자에 의해 연구가 종료될 때까지 계속될 것이다. 일단 대상체가 연구

약물을 중단하면, 대상체는 연구 약물의 마지막 투여 후 30일 이내에 치료 종료(EoT) 방문을 완료하고, 추적 단계에 진입하여야 한다.

[0133] 치료 종료 방문

[0134] 치료 종료 방문은 연구 약물의 마지막 투여 후 30일 이내에 또는 새로운 항-전립선암 요법의 투여 전에(어느 것이든 먼저 일어나는 것을 기준으로) 일정이 잡혀야 한다. 대상체가 EoT 방문을 위하여 현장으로 복귀할 수 없다면, 대상체는 연구 약물의 마지막 투여 후 30일 이내에 발생한 AE를 수집하기 위해 접촉되어야 한다.

[0135] 추적 단계

[0136] 일단 대상체가 치료 단계를 완료하였으면, 생존 추적 및 SSE가 클리닉 방문, 전화 인터뷰, 차트 검토, 또는 다른 편리한 방법을 통해 매 3개월마다 수행될 것이다. 연구 약물과 관련된 것으로 여겨지는 인과성 및 SAE와 관계없는 사망은 사건의 발견 또는 통지의 24시간 이내에 수집 및 보고될 것이다. 추적 정보가 전화 접촉을 통해 획득되면, 통신의 서면화된 문서는 소스 문서에서의 검토를 위해 이용가능해야 한다.

[0137] DNA-수복 이상에 대한 바이오마커-양성 샘플

[0138] 대상체가 바이오마커-양성인지를 평가하기 위하여, 혈액-기반 검정이 연구 동안 이용가능하게 될 수 있는데, 혈액-기반 검정은 조직-기반 분석보다 대상체에 대해 더 편리하면서, 바이오마커-양성 상태를 결정하기 위한 더 신속한 방법을 제공할 것이다. 혈액-기반 검정이 이용가능하게 되기 전에, (문서보관된 또는 최근에 수집된) 종양 조직은 분석을 필요로 할 것이다. 모든 대상체가, 그들이 연구에 진입할 때와 관계없이, 분석용으로 이용가능한 동일한 바이오마커 데이터를 갖는 것을 보장하기 위하여(즉, 일치 및 가교 연구를 위해), 종양 조직 및 혈액 샘플 둘 모두가 사전스크리닝 사전동의서 용지(ICF)에 서명하는 모든 대상체로부터 수집될 것이다. 바이오마커-양성을 결정하기 위한 과정은, 혈액-기반 검정이 이용가능하기 전에 사전스크리닝에 진입하는 대상체의 경우, 혈액-기반 검정이 이용가능한 후에 진입하는 대상체와 비교하여 상이할 것이다. 그러나, 종양 조직 및 혈액 둘 모두에서의 바이오마커-양성의 상태는 모든 대상체에 대해 평가될 것이다.

[0139] 본 연구에 적격하기 위해서, 대상체는 (문서보관된 또는 최근에 수집된) 종양 조직에 의해, 또는 이용가능한 경우 혈액 시험에 의해 바이오마커-양성인 것으로 확인되어야 한다. 본 연구에 대한 관심 바이오마커 및 바이오마커-양성 기준이 표 3에 열거되어 있다. 이중-대립유전자 손실에 대한 프록시(예를 들어, 카피수 손실에 의한 돌연변이 동시발현 빈도)를 규정하기 위해 분석이 수행될 것이며, 이들 프록시는 그러한 정보가 이용가능하게 됨에 따라 바이오마커-양성을 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0140] [표 3]

바이오마커 패널 및 양성에 대한 기준

유전자	정의	양성에 필요한 게놈 병변
BRCA-1	유방암 유전자 1(Breast Cancer gene 1)	- 동형접합성 결실 - 이형접합성 결실 + 유해 돌연변이 - 이형접합성의 카피 중성 손실 + 유해 돌연변이
BRCA-2	유방암 유전자 2(Breast Cancer gene 2)	
FANCA	판코니 빈혈 상보성 집단 A 유전자 (Fanconi Anemia Complementation Group A gene)	
PALB2	BRCA2 유전자의 파트너 및 로컬라이저 (Partner and Localizer of BRCA2 gene)	
CHEK2	관문 키나제 2 유전자(Checkpoint Kinase 2 gene)	
BRIP1	BRCA1 상호작용 단백질 C-말단 헬리카제 1 유전자(BRCA1 Interacting Protein C-terminal Helicase 1 gene)	
HDAC2	히스톤 데아세틸라제 2 유전자 (Histone Deacetylase 2 gene)	
ATM	모세혈관확장성 운동실조증 돌연변이된 유전자(Ataxia Telangiectasia Mutated gene)	키나제 촉매 도메인 내의 단일-대립유전자 유해 돌연변이
ATM	모세혈관확장성 운동실조증 돌연변이된 유전자(Ataxia Telangiectasia Mutated gene)	
대조군 유전자		
AR	안드로겐 수용체 유전자 (Androgen Receptor gene)	
TP53	종양 단백질 53 유전자 (Tumor Protein 53 gene)	

[0141]

[0142] 모든 유전자 내의 단일-대립유전자 손실은 이중-대립유전자 손실에 대한 기준 알고리즘이 검증될 때까지 본 연구 내로의 진입을 위해 허용될 것이다.

[0143]

순환 종양 세포

[0144]

시간 및 이벤트 일정에 명시된 시점들에서 혈액 샘플을 Cellsave 튜브 내에 수집할 것이다. CTC 계수를 중앙 실험실에서 산정하여 연구 약물에 대한 반응을 평가할 것이다.

[0145]

RNA를 위한 전혈

[0146]

전혈 샘플을 PAXgene 튜브 내에 수집할 것이다. 전립선 종양에서 발견되는 다수의 리보핵산(RNA) 전사체는 RNA에서 검출가능하며, 이들 샘플의 분석은 니라파립에 대해 출현될 수 있는 잠재적인 저항성 기전의 평가를 가능하게 할 것이다.

[0147]

순환 종양 DNA

[0148]

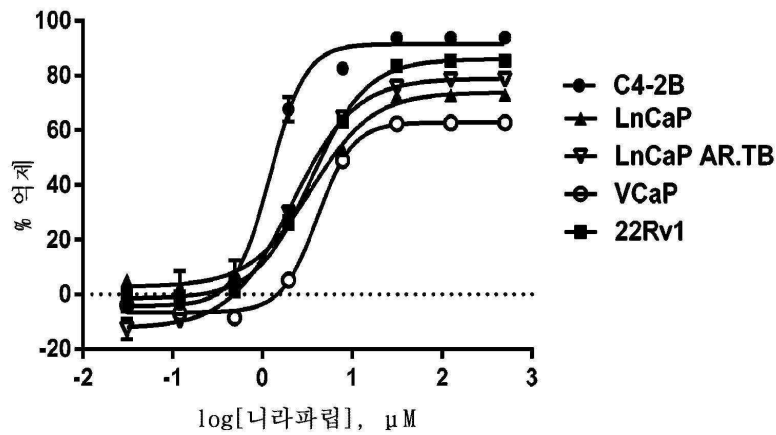
치료 과정 동안 수집된 혈장 샘플은 순환 종양 DNA(ctDNA)에 의해 시간 경과에 따라 관찰되는 DNA-수복 이상의 수준 또는 유형의 변화를 스크리닝하고, 니라파립에 대한 잠재적인 저항성 마커를 모니터링하기 위해 사용될 것이다.

[0149]

상술한 명세서는 예시를 목적으로 제공된 실시예와 함께, 본 발명의 원리를 교시하지만, 본 발명의 실시는 하기 청구범위 및 그 등가물의 범주 내에 속하는 모든 통상의 변형, 개조 및/또는 변경을 포함하는 것으로 이해될 것이다.

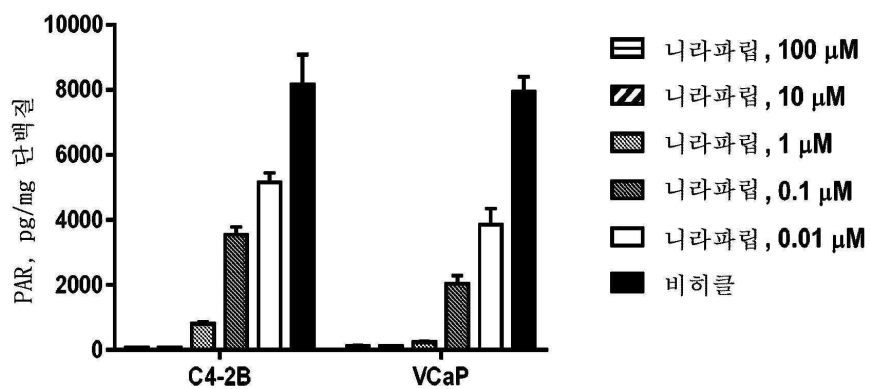
도면

도면1



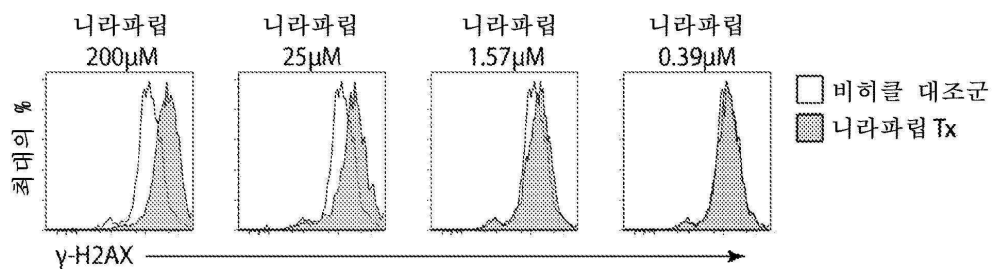
니라파립은 시험관내에서 인간 전립선 종양 세포주의 성장을 억제한다.

도면2



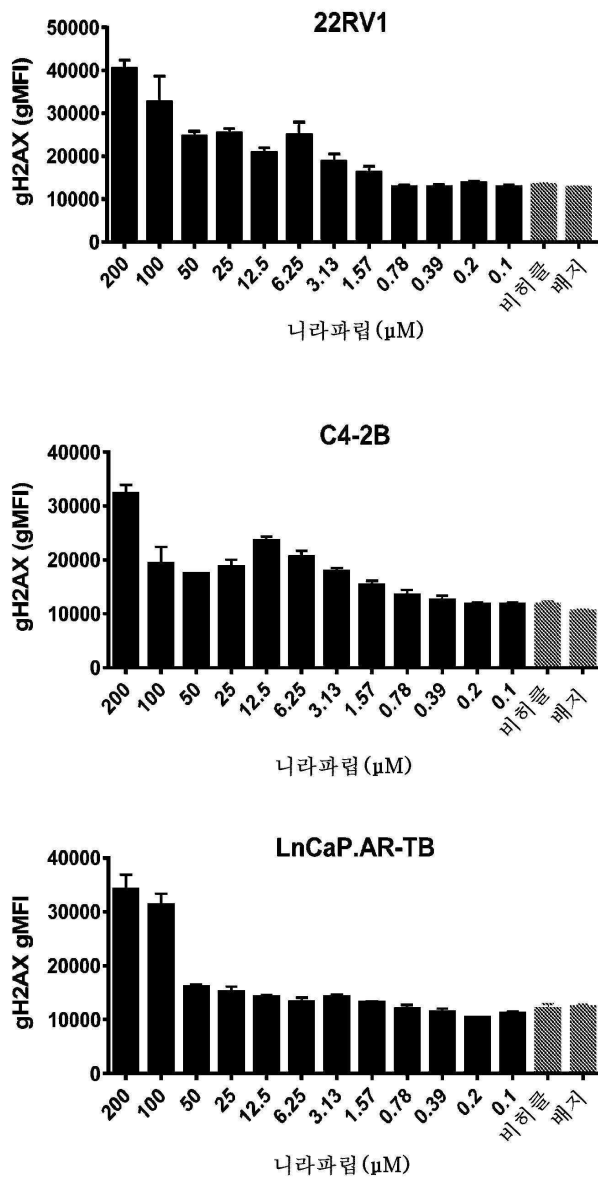
니라파립은 시험관내에서 2가지 인간 전립선 종양 세포주에서 PAR 형성을 억제한다.

도면3



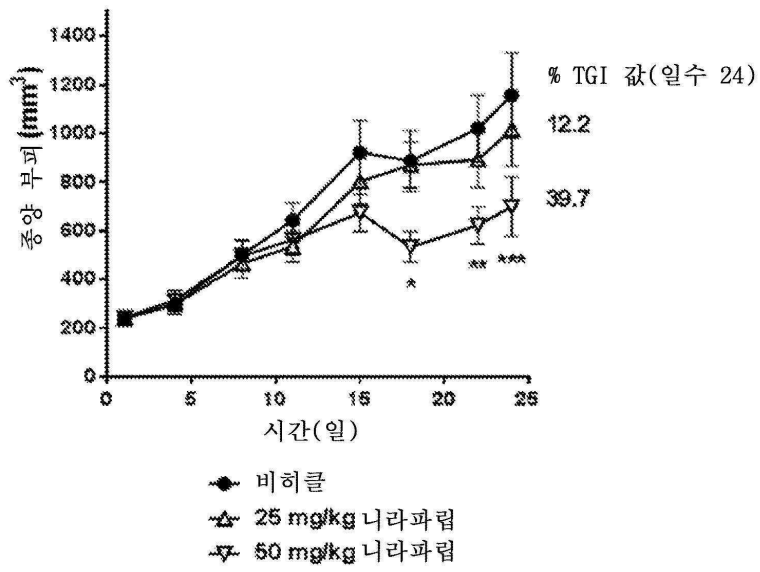
니라파립 처리는, 유세포측정에 의해 측정되는 바와 같이, 용량-의존적 방식으로 22RV1 세포에서 증가된 $\gamma\text{-H2AX}$ 를 유도한다.

도면4



니라파립은 시험관내에서 22RV1, LNCaP AR-TB, 및 C4-2B 세포에서 γ -H2AX를 유도한다.

도면5



니라파립 처리는 NSG 수컷 마우스에서 C4-2B-luc 전립선 종양의 성장을 억제한다.