



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년10월08일
(11) 등록번호 10-1905050
(24) 등록일자 2018년09월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/70 (2006.01) A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01) A61K 33/24 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01) A61K 38/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/70 (2013.01)
A61K 31/4184 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7022797(분할)
(22) 출원일자(국제) 2010년06월04일
심사청구일자 2017년09월15일
(85) 번역문제출일자 2017년08월16일
(65) 공개번호 10-2017-0097237
(43) 공개일자 2017년08월25일
(62) 원출원 특허 10-2011-7031182
원출원일자(국제) 2010년06월04일
심사청구일자 2015년06월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/037437
(87) 국제공개번호 WO 2010/141842
국제공개일자 2010년12월09일
(30) 우선권주장
61/184,658 2009년06월05일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20060003020 A1*
US6251886 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
타우 셰라퓨틱스 엘엘씨
미국 버지니아 22902 샬롯스빌 스위트 이 600 이.
워터 스트리트
(72) 발명자
크라우스 앤드류 제이.
미국 버지니아 22911 샬롯스빌 턴베리 서클 2369
그레이 로이드 에스.
미국 버지니아 23093 루이자 브라켓스 팜 로드
1173
(74) 대리인
(뒷면에 계속)
박장원

전체 청구항 수 : 총 12 항

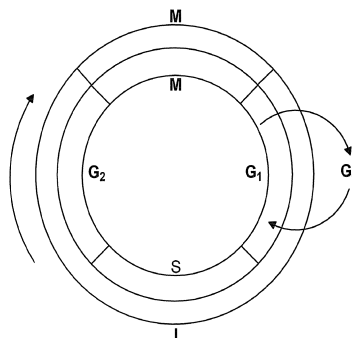
심사관 : 이민정

(54) 발명의 명칭 암 또는 전암성 질환을 치료하기 위한 인터레이스 방법

(57) 요약

본 발명은 진행세포의 세포주기의 S, G₂ 및 M기를 통한 진행을 둔화 또는 중단시키기에 유효한 량의 T형 칼슘 채널 차단제를 투여하여 G₁기의 진행세포의 비율을 증가시키는 단계, T형 칼슘 채널 억제제의 투여를 일정 기간 중단하는 단계, 및 1종 이상의 화학요법 치료제 투여, 방사선 조사 투여 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1



선택된 투여를 적용하여, T형 칼슘 채널 억제제 투여 중단 후 세포주기의 G₁기를 거친 진행세포를 사멸시키는 단계를 포함하여 이루어지는, 포유동물의 질병 또는 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

린든 조엘

A61K 31/66 (2013.01)

미국 버지니아 22901 샬럿스빌 블랙우드 로드 1670

A61K 33/24 (2013.01)

A61K 38/14 (2013.01)

A61K 38/16 (2013.01)

A61K 2121/00 (2013.01)

(72) 발명자

맥도널드 티모시

미국 버지니아 22902 샬럿스빌 아파트먼트 3비 더
글라스 애비뉴 200

명세서

청구범위

청구항 1

포유류의 암 또는 전암성 질환의 치료에서 테모졸로미드에 의한 증식성 세포의 사멸 효능을 증가시키기 위하여 G_1/S 기에서 세포의 증식을 축적시키기 위한, 미베프라딜을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 치료에서는:

- (a) G_1 기의 증식성 세포 비율을 증가시키기 위하여 미베프라딜의 치료적 유효량이 투여되고;
- (b) 상기 미베프라딜의 투여는 일정 기간 중단되며;
- (c) 이어서, 상기 미베프라딜의 투여 중단 후 세포 주기의 G_1 기를 지나 진행하는 증식성 세포를 사멸시키기 위하여, 상기 테모졸로미드가 투여되고,
- (d) 상기 테모졸로미드를 투여한 후, 상기 미베프라딜의 치료적 유효량이 투여되기도 하는 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, (d) 상기 테모졸로미드를 투여한 후, 상기 미베프라딜의 치료적 유효량이 투여되는 것인 약학적 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 치료에서는, 1회 이상 반복하여 단계 (a) - (c)에 기재된 대로 상기 미베프라딜 및 테모졸로미드가 투여되는 것인 약학적 조성물.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 미베프라딜 투여 중단과, 상기 테모졸로미드의 뒤이은 투여 사이의 상기 일정 기간은 0 시간 내지 336 시간인 것인 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 암을 치료하기 위한 것인 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 전암성 질환을 치료하기 위한 것인 약학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 암 또는 전암성 질환은 종양인 것인 약학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 교모세포종, 흑색종, 췌장암, 유방암 및 결장암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 암을 치료하기 위한 것인 약학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 암 또는 전암성 질환은 교모세포종인 것인 약학적 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 포유류는 인간인 것인 약학적 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 포유류는 인간이고, 상기 암 또는 전암성 질환은 교모세포종인 것인 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 통상적인 암 치료법은 잘 완치되지 않으며 심각한 부작용이 있을 수 있다. 부분적으로, 이것은 대부분의 화학치료제의 세포주기 특이적인 작용 메커니즘에 기인하는데, 이로 인해 세포주기의 모든 단계의 세포 집단에 대해 이들 화학치료제가 효과가 저감되기 때문이다.

배경 기술

[0002] 세포주기는 세포를 분열과 복제시키는, 세포에서 일어나는 일련의 현상이다. 진핵세포에서, 이러한 세포 주기는 2 가지 기간, 즉 간기(interphase)와 분열기로 나눌 수 있다. 세포주기의 이들 두 기간을 통과하는 것을 프로그레션 또는 증식이라고 한다. 간기 동안, 세포는 성장하여 세포분열에 필요한 영양분을 축적하며 그의 DNA 를 복제한다. 분열기 동안에는 세포들이 2개의 서로 다른 딸세포로 분열된다. 간기는 3개의 기, 즉 갭 1(Gap 1:G1)기, S기 그리고 갭 2(G2)를 포함하는 반면, 분열기는 두개의 프로세스를 포함한다. G1기는 세포의 크기, 생합성 활성의 증가와 후속 단계에서 DNA 복제에 필요한 효소 합성을 포함한다. S기는 DNA 합성 개시 및 모든 염색체의 복제를 포함한다. G2기는 세포가 분열기로 들어가기 전까지 지속되며 세포분열을 위한 방추미세관(microtubule)의 생산 과정을 비롯하여 단백질 합성을 포함한다. 세포분열은 세포의 염색체가 두 개의 딸세포로 나누는 프로세스와 원래의 친세포의 세포질이 분열하여 두 개의 서로 다른 딸 세포를 형성하는 사이토키네시스 프로세스를 포함한다. 세포주기는 또한 일반적으로 G0으로 칭해지는 휴지기도 포함한다. 여러 가지 세포주기 사이의 경계, 예를 들어 G1기와 S기 사이의 경계를 세포주기 체크포인트라고 칭한다.

[0003] 특정 세포주기의 진행을 억제하여, 다음 주기로 진행하기 전에, 특정 세포가 특정 시점, 세포의 체크포인트에서 세포주기를 중단하도록 할 수 있다. 세포주기 체크포인트는 세포주기의 여러 가지 주기들 사이에 위치하는데, 이들 두 개의 체크포인트는 G1기와 S기 (G1/S)사이의 인터페이스에, 다른 하나는 G2기와 M기 사이의 인터페이스에 존재한다. 세포주기 억제제는 세포가 다음 주기로 진행하는 것을 중지시킬 수 있는데, 예를 들어, G1/S 세포주기 체크포인트에서 세포를 억제하여, 세포로 하여금 억제제가 제거될 때까지, G1기에서 머무르도록 할 수 있다.

[0004] 개체의 특정한 암세포 집단 또는 종양세포에서, 세포주기의 길이는 다양하다. 이러한 다양성은, S기에서 시작하여 M기 말기까지 걸리는 기간은 비교적 일정한 반면, G1 또는 G0에서 소비되는 기간은 다양하기 때문이다.

[0005] 통상적인 화학치료요법은 세포주기의 S기 또는 M기만을 방해하여, 다른 세포주기의 세포들은 비교적 덜 공격한다. 예를 들어, 알킬화제는 S기에 작용하는 반면 방추미세관 안정화 약물 또는 붕괴 약물은 M기에 작용한다. 불행히도, 특정 시점에 세포주기의 S기나 M기에 해당할 확률이 낮은 세포들이 있다. 이를 상쇄하기 위하여는, 특정 세포주기에 있는 세포에 도달할 확률을 높이기 위해, 장기간에 걸쳐 반복적으로 화학치료제를 투여하여야 한다. 이러한 반복 투여는 대상자에게 해로울 수 있는 약물의 투여량과, 그에 따라 독성을 늘리는 결과를 초래한다.

[0006] 따라서 G1/S 세포주기 체크포인트에서 세포의 임상적으로 관련 있는 분획의 세포주기를 확보하여, 화학치료법의 효능을 증강시키는 치료법이 요망되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 발명의 개요

[0008] 본 발명은 진핵세포의 세포주기의 S, G₂ 및 M기를 통한 진행을 둔화 또는 중단시키기에 유효한 량의 T형

칼슘 채널 차단제를 투여하여 G_1 기의 진행세포의 비율을 증가시키는 단계, T형 칼슘 채널 억제제의 투여를 일정 기간 중단하는 단계, 및 1종 이상의 화학요법 치료제 투여, 방사선 조사 투여 및 이들의 조합으로 이루어진 군 으로부터 선택된 투여를 적용하여, T형 칼슘 채널 억제제 투여 중단 후 세포주기의 G_1 기를 거친 진행세포를 사멸 시키는 단계를 포함하여 이루어지는, 포유동물의 질병 또는 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

정의

[0013] 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여, 본 명세서에서 사용된 용어들을 다음과 같이 정의한다.

[0014] 본 발명에서 "치료(treating)"이라는 용어는 특정한 질병, 질환, 손상 또는 병태와 관련된 증상을 예방, 완치, 경감, 저하, 억제 또는 완화/예방하기 위해 치료제를 투여하는 것을 의미한다. 예를 들어, 암을 치료한다 함은, 종양의 억제 또는 완전한 성장 정지, 종양세포 수의 감소, 종양 크기의 감소, 말초장기/조직으로 종양 세포가 관입하는 것을 억제하는 것, 이 질환과 관련된 한 가지 이상의 증상의 어느 정도까지의 완화(relief) 및 전이 억제를 의미한다. 암을 치료한다 함은 종양 세포의 병인을 직접적으로 감소시키는 치료제를 투여하거나, 또는 종양 세포가 다른 치료제, 예컨대 방사선 조사 및/또는 화학요법에 의한 치료에 더욱 감수성이 있도록 만드는 것을 의미한다. 본 발명에서 "치료"라는 용어는 특정 질병이나 질환의 예방, 특정 질병이나 질환과 연관된 증상의 경감 및/또는 상기 증상을 예방하거나 제거하는 것을 모두 포괄한다.

[0015] 본 발명에서, "약학적으로 허용가능한 담체, 비히클 또는 희석제"라 함은 인산 완충 식염수, 물, 수중유 또는 유중수 에멀전, 여러 가지 유형의 습윤제와 같은 표준 약학 담체를 일컫는다. 이 용어는 또한 UV 연방정부의 규제당국이 승인한 제제 또는 US 약전에 인간을 비롯한 동물용으로 분류된 제제를 모두 포괄한다.

[0016] "치료적 유효량"이라 함은 특정 질병이나 질환을 경감, 완화 또는 감소 또는 제거하거나 특정 질병이나 질환의 개시를 예방하거나 지연시키는 본 발명의 화합물의 양을 의미한다.

[0017] "포유동물"이라 함은 예를 들어 인간과 원숭이와 같은 영장류를 비롯한 모든 포유동물을 의미한다. 본 발명에서 다른 포유동물의 예로는 토끼, 개, 고양이, 소, 염소, 양, 마우스, 래트 및 말을 들 수 있다. 종기로 는 포유동물은 여성 또는 남성 인간이다.

[0018] "전암성 상태(pre-cancerous condition)"라 함은 악성은 아니지만 치료하지 않을 경우 악성이 될 수 있는 증상을 의미한다. "전암성 상태"는 또한 본 발명이 속한 기술분야의 숙련자에게 "전악성 상태(pre-malignant condition)"라고도 알려져 있다.

[0019] "T형 칼슘 채널 차단제(T type calcium channel blockers)"는 당업자들에게 "T형 칼슘 채널 억제제"라고도 알려져 있다.

[0020] 본 발명에서, "세포주기 억제제(cell cycle inhibitor)"라는 용어는 세포주기의 한 단계에 있는 세포 또는 세포들이 세포주기의 다음 단계로 진행하는 것을 둔화시키거나 중단시킬 수 있는 화합물을 가리킨다.

[0021] 본 발명에서, "세포독소(cytotoxin)"이라는 용어는 화합물에 의해 영향을 받는 세포의 괴사 또는 세포자멸사를 일으킬 수 있는 화합물을 가리키는 것이다.

발명의 상세한 설명

[0022] 세포주기의 다양한 길이는 주로 G_1 기에서 소비되는 시간에 의해 결정된다. 이 때문에, 집단 중 어떤 특정 세포는 그 세포가 세포주기의 S기로 들어가기에 앞서서 일정기간 동안 G_1 기에 머무르게 된다. 세포가 세포주기의 체크포인트를 계속 통과하는 것을 중단시키기 위해, T형 칼슘 채널 억제제를 비롯한 세포주기 억제제를 투여할 수 있다.

[0023] 세포주기 억제제는 먼저, 포유동물에게 진행세포들이 S, G_2 및 M기를 통해 진행하는 것을 둔화 또는 중단시키는데 치료학적으로 효과적인 양으로 투여됨으로써, G_1 과 S기 (G_1 /S) 사이의 세포주기 체크포인트의 진행 세포의 비율을 증가시켜준다. 포유동물은 인간일 수 있다. 이 방법은 포유동물에 있어서 암 및 전암성 상태, 그리고 암성 및 전암성 종양을 치료하는데 이용될 수 있다.

[0024] 세포주기 억제제를 투여하면 암 세포 집단의 비동기적인(asynchronously) 진행 또는 증식이 일어나 이들

이 세포주기를 통과함에 따라 G_1/S 에서 축적되게 하는데, 이는, 세포주기 억제제에 의해, S기로 진행하려는 그의 능력이 봉쇄되기 때문이다. G_1 기로부터 세포주기 체크포인트를 거쳐 S기로 이동하려는 세포의 경우, 이 세포는 이러한 진행에 필요한 생화학적 캐스캐이드를 촉발하기 위해 세포외로부터 칼슘의 유입을 필요로 한다. 세포의 매질로부터의 칼슘을 제거하면 각각의 세포에서 세포주기 이행(transit)이 차단된다. 이러한 차단은 T형 칼슘 채널 억제제를 투여함으로써 달성할 수 있다. 적절한 T형 칼슘 채널 억제제의 예로는 특히 미베프라딜, 에포니 디핀, 에토숙사미드, 수티닙, TTL-1177 (특히 화합물, 참고문헌: Gray, L.S., Perez-Reyes, E., Gomora, J.C., Haverstick, D.M., Shattock, M., McLatchie, L., Harper, J., Brooks, G., Heady, T., and MacDonald, T.L. (2004) *Cell Calcium* **36**, 489-497에 설명되어 있음) 및 니켈을 들 수 있다. 이처럼, 각각의 세포는 세포의 칼슘 존재하에서는 가능한 한 오랫동안 G_1 기에서 유지되지만, 칼슘 없이 G_1/S 에 도달하면 정체되어, 세포들이 G_1/S 에서 동기화된다. 세포 사이클을 통한 진행 및 이행을 위해서는 세포 내로 칼슘 유입이 요구된다. 이것은 실시예 1에서 후술하기로 한다.

[0023] [0025] 세포주기 억제제를 투여하면 G_1/S 의 세포 백분율이 높아진다. 이 투여에 이어서, 적어도 1종의 화학치료제 투여, 방사선 조사 투여 또는 이들 두 가지를 모두 적용한다 (여기서 상기 투여의 양은 세포주기의 S기의 세포를 사멸시키기 위한 양이다). 화학치료제는 화학치료제, 세포독소 또는 이들의 조합이다. 세포독소는 알킬화제일 수 있다. 암의 화학치료제는 항대사산물이거나 또는 항세포분열제일 수 있으며 다음의 예, 즉: 테모졸라미드(Temo), 5-플루오로우라실, 6-머캅토피린, 블레오마이신, 카르보플라틴, 시스플라틴, 다카르바진, 독소루비신, 에피루비신, 에토포시드, 히드록시우레아, 이포스파미드, 이리노테칸, 토포테칸, 메토타렉세이트, 미토잔트론, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 도세탁셀, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈, 빈데신, 미토마이신 C 및 이들의 조합을 들 수 있다. 적어도 1종의 화학치료제의 투여량을 방사선 조사 전 또는 후 또는 도중에 투여할 수 있다. 방사선 조사 투여 선량을 적어도 1종의 화학치료제의 투여전, 투여후 또는 투여 도중에 쏘일 수 있다. 세포주기 억제제의 1차 투여와 세포독소 투여 사이의 기간은 세포주기의 G_1/S 에 있는 세포의 축적을 가능하게 한다. 이 방법은 S기 또는 M기에 있는 세포의 백분율을 증대시킴으로써, 적어도 1종의 화학요법 치료제, 방사능 조사 또는 이들 두 가지의 복합 적용의 유효성을 증대시키고, 이어서 소정량의 진행세포를 사멸시키는데 필요한 독소 부하를 저감한다.

[0024] [0026] 적어도 1종의 화학요법 치료제, 방사능 조사 또는 이들 두 가지를 복합 처리한 후, 세포주기 억제제를 2차로 투여함으로써, 표적 세포 또는 종양의 재성장을 둔화시켜, 원하는 만큼 추가의 치료를 제공할 수 있다. 이러한 세포주기 억제제의 2차 처치에 의해 G_1/S 에 있는 세포 집단의 백분율이 재동기화된다.

[0025] [0027] 세포주기 억제제는 비경구, 정맥, 근육내, 복강내, 경막내, 좌제, 피내, 국소 또는 경구를 비롯한 여러 가지 경로로 투여될 수 있다. 세포주기 억제제를 경구 투여하는 것이 가장 바람직하다. 경구 투여는 약학적으로 허용가능한 담체와 함께, 일반적으로는 알약 또는 캡슐제와 같은 투여 단위로서 투여될 수 있다.

[0026] [0028] T형 칼슘 채널 억제제는 세포의 칼슘을 세포내로 유입하는 것을 제한하는데 이러한 세포의 칼슘의 세포 내로의 유입은 몇 가지 바이탈 세포 프로세스에 있어서 필수적인 과정이다. 이러한 프로세스에 필요한 칼슘은 칼슘 채널을 통한 유입을 통해 세포외부 환경으로부터 유래하는 것이다. 칼슘 채널은 서열 분석, 생물물리적 특성 및 약리학적 감수성에 기초해서 몇 가지 패밀리로 나뉘어진다. 이들 칼슘 채널들은 혈압조절, 심장박동 및 세포증식의 조절에 영향을 미친다. 연구 결과 T형 칼슘 채널은 노인성 황반변성에 중요한 역할을 할 수 있는 것으로 시사되고 있다. 적어도 1종의 약리학적 제제인 미베프라딜은 T 채널기능을 억제하기 때문에 임상적으로 효과적인 것으로 입증된 바 있다. 칼슘 유입 억제제는 고혈압, 심장부정맥 및 임상적으로 유해한 세포 증식을 치료하는데 유용하다.

[0027] [0029] T형 칼슘 채널은 세포, 세포주 및 특히 암세포주에 존재한다. 특히, T형 칼슘 채널의 Cav3.2 이소형태는 문헌 [Asaga, S., Ueda, M., Jinno, H., Kikuchi, K., Itano, O., Ikeda, T., and Kitajima, M. (2006) *Anticancer Res* **26**, 35-42]에 설명된 바와 같이, 일본 여성의 정상 인접 유방 조직에 비해, 유방암 조직에서 비정상적으로 발현된 것으로 나타난 바 있다.

[0028] [0030] 세포주기 억제제는 G_1/S 를 비롯한 세포주기 체크포인트에서 진행세포의 진행을 중단시키거나 둔화시키며, 이에 관해서는 이하의 실시예 2에서 후술한다. 또한, 세포주기 억제제를 투여하면 후술하는 실시예 3에 설명된 바와 같이, 증식성 또는 성장성 질병 또는 질환을 효과적으로 둔화시킨다.

[0029] [0031] 세포주기 억제제의 투여에 더해서, 세포주기 억제제를 투여하지 않는 기간이 있다. 이 기간은 약 0시간

내지 약 336 시간에 달할 수 있다. 이 기간은 G_1/S 에 축적된 세포들로 하여금 세포주기의 S기로 들어갈 수 있게 해준다. 세포주기 억제제를 투여함으로써, 약 5% 내지 약 25%의 세포들이 G_1/S 에 축적된다. S기의 세포 수가 증가하면 1종 이상의 화학치료의 투여량, 조사 투여량 또는 두 가지 모두의 투여량이 보다 효과적이 되는데 이는 대부분의 세포들이 각각의 투여량에 의해 영향을 받을 것이기 때문이다. "영향을 받다(affected)"라 함은 사멸되거나 제거됨을 의미한다.

[0030] [0032] 세포주기 억제제를 투여하지 않는 기간에 이어서, 적어도 1종의 화학요법 치료제 투여량, 방사선 조사 투여량 또는 이들 두 가지 모두를 적용하여 S기의 세포들을 사멸시킨다. "사멸시키다(killed)"라 함은 세포가 세포자멸사 또는 세포괴사를 일으키는 것을 의미한다. 적어도 1종의 화학요법 치료제 투여량, 방사선 투여량 또는 이들 두 가지 모두의 투여량은 당업자의 임상적 경험에 의해 결정되며, 대상 질병에 따라 투여량과 치료제의 종류가 달라진다. 오직 예시 목적으로 예를 들자면, 다음 질환을 치료하는데 다음과 같은 화학요법 치료제 투여량이 이용될 수 있을 것이다. 교모세포종을 치료함에 있어서는, 세포독소 테모졸라미드를 사용할 수 있다. 흑색종을 치료하기 위해서는, 세포독소 멜팔란 또는 테모졸라미드를 이용할 수 있다. 췌장암을 치료함에 있어서는, 세포독소 겐시타빈을 사용할 수 있다. 유방암을 치료하기 위해서는, 세포독소 겐시타빈을 이용할 수 있다. 결장암을 치료하는데 있어서는, 세포독소 이리노테칸 또는 5-플루오로우라실을 이용할 수 있다.

[0031] [0033] 이러한 인터레이스 치료법, 즉, 세포주기 억제제를 투여한 다음 적어도 1종의 화학요법 치료제 투여량, 방사선 조사 투여량, 또는 이들 두 가지 모두를 적용함으로써, 후술하는 실시예 4 및 5에 상세히 설명된 바와 같이, 질병 또는 질환의 진행, 증식 또는 성장을 감소시킬 수 있다. 이러한 인터레이스 치료법을 이용함에 있어서, 동일 투여량의 1종 이상의 화학요법 치료제, 동일 투여량의 방사선 조사 또는 두 가지 모두를 투여 또는 조사하는 것이 화학요법 치료제나 방사선 조사를 단독으로 사용할 때에 비해, 더욱 효과적이다.

도면의 간단한 설명

[0032] [0008] 도 1은 세포주기를 도식적으로 나타낸 도면이다. 외곽의 링은 간기(I)와 분열기(M)를 나타내고 있는데, 분열기의 기간은 다른 기들에 비해 상대적으로 과장되게 늘려져서 도시되어 있다. 내부 링은 겹 1(G_1), 겹 2(G_2) 및 합성(S) 기를 나타낸다. 겹 0 (G_0) 또는 휴지기는 도시되어 있지 않다.

[0009] 도 2는 몇 가지 화학약물들의 칼슘 인플렉스 억제 능력을 세포 증식을 억제하는 이들 동일한 화학약물의 능력과 비교하여 도시한 도면이다.

[0010] 도 3은 세포주기와 몇 가지 칼슘 채널 차단제들이 세포주기 진행에 미치는 영향을 도시한 도면이다.

[0011] 도 4는 인터레이스 치료법 기간 동안 측정된 데이터를 그래프로 도시한 도면이다.

[0012] 도 5는 인터레이스 치료법 기간 동안 측정된 데이터를 그래프로 도시한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 실시예 1

[0034] 칼슘 유입 억제와 진전 또는 증식 간의 상관관계를 검사하기 위해, 몇 가지 화학 제제의 칼슘 유입을 억제하는 능력을, 동일한 화학 제제의 증식 억제 능력과 비교하여 도 2에 도시하였다. 이 제제들은 버지니아 대학에서 합성된 특허받은 화학물질들이었다. 기울기가 0.98이고 R^2 값이 0.92인 최소자승 상관선이 얻어졌다. 통상적으로, 상관(correlation)을 사용함으로써 인과관계를 추론할 수는 없지만, 이 경우, 베이즈(Bayesian) 접근법이 보장되는데 이는 칼슘 유입이 증식을 위해 필요선결 요건이므로 칼슘 유입의 차단은 증식을 막을 것이기 때문이다. 회귀직선의 기울기가 1에 가깝다는 것은 기본적으로, 변수들의 모든 변동이 다른 변수들의 변동에 의하여 설명되며, 이는 이들 제제들이, 칼슘 유입 억제 이외에 증식에 대한 다른 작용을 하지 않음을 의미하는 것이다.

[0035] 실시예 2

[0036] [0035] 세포유동분석법과 BUDR 염색법을 이용하여 세포주기 분석을 수행하였다. 도 3에서, "Con"은 미처리 대조군 세포를 나타낸다. 다른 모든 세포 배양체들은 방추미세관의 중합을 간섭하여 M기 동안 세포주기를 차단하는 노코다졸을 이용하여 처리하였다. 노코다졸만으로 A10 세포들을 처리하자 세포유동 분석법에 의해, M기를 통한 세포주기 이행이 차단된 것으로 나타났다. A10 세포들은 G_0 기와 G_1 기 사이의 세포주기 체크포인트에 주로 머무

르기 때문에 (도 3의 "Con" 참조), 약물이 이 세포주기로부터 벗어나서 이행하는 것을 억제할 가능성을 평가하는 것은 다른 세포주기 체크포인트에서의 차단을 측정하는 것만큼 직접적이지는 않다. 따라서, 노토다줄을 첨가하기에 앞서서, 세포 배양체들을 T 채널 칼슘 채널 차단제인 미베프라딜(mib), 니켈(Ni) 또는 TTI-1177(양수인인 타우 쉐라퓨틱스에 의해 소유된 특허화합물임)로 24시간 처리하였다. T 채널 차단제에 대한 영향 부재 하에, 세포들은 노코다줄만으로 처리된 세포에서 일어난 것처럼, G₂기와 M기 사이의 세포주기 체크포인트에서 갇히게 될 것이다. 그 대신, T형 칼슘 채널 차단제로 처리하면 G₀기와 G₁기 사이의 세포주기 체크포인트에서 포획되어, 그렇지 않으면 노코다줄에 의해 축적될 G₂기와 M기 사이의 세포 체크포인트에서의 축적이, 방지되게 된다. 이것은 T형 칼슘 채널 차단제가 G₁/S에서 이행하는 세포들을 포획함을 보여주는 것이다.

[0038] *실시예 3

[0036] 환자로부터 절제한 췌장암을 누드 마우스 옆구리에 즉시 이식하여 생체내 계대 배양하였다. 이식된 종양은 약 100 mm³ 크기 상태에서 이식되어 치료 개시 전 200 내지 300 mm³까지 증식하도록 하였다. PANC 219 종양이 있는 마우스들을 처리하지 않은 채 방치하거나 미베프라딜을 65 mg/kg p.o. b.i.d로 처리하였다 (각 그룹 당 n=10). 종양 성장을 처리 개시 무렵에 크기를 측정하여 정규화하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다. 처리군의 마우스 한 마리는 도 4의 화살표로부터 표시된 바와 같이 제9일(D9)에 죽었다. 통상적인 화학요법 치료약물과 뚜렷이 구별되는 바와 같이, T형 칼슘 억제제로 처리하자 종양 퇴행(tumor regression)이 일어나지 않았다. 그 대신, 이 처리에 의해 종양 성장은 G₁/S에 종양 세포를 붙잡아 둬으로써 종양 성장을 조절하였다.

[0040] 실시예 4

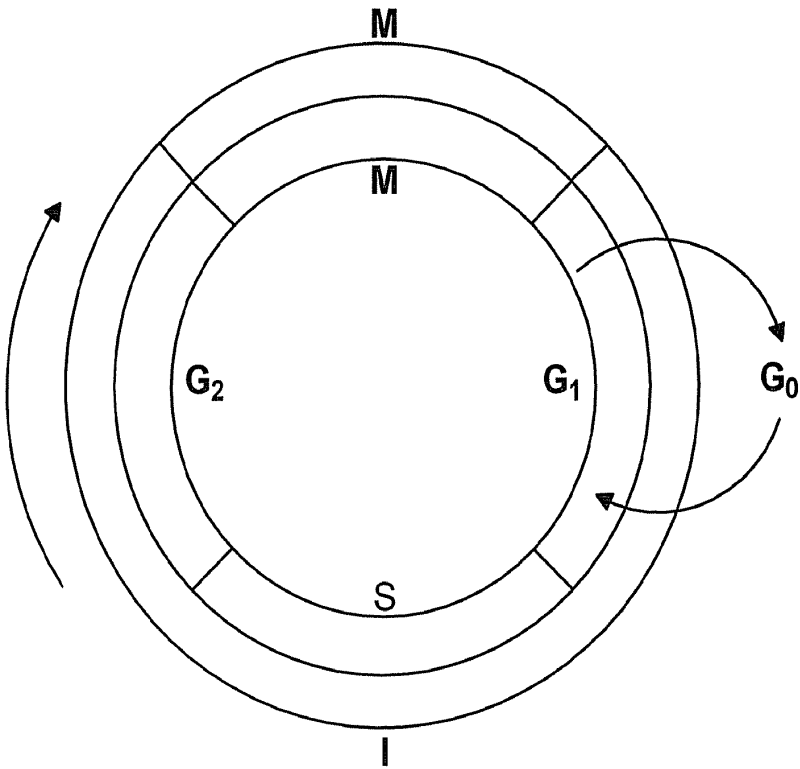
[0037] D54 세포주를 이용한 쥐의 이식편 모델에 있어서 인간의 교모세포종의 인터레이스 치료에 관하여 연구 조사하였다. D54 종양이 피하 이식된 마우스들을 (이 종양들은 약 100 mm³의 크기까지 자라도록 하였다) 미베프라딜로 7일간 40 mg/kg p.o. q.i.d로 처리하거나 또는 미처리 방치시켰다. 제7일에, 모든 동물에게 S상 세포독소 테모졸라미드를 5일에 걸쳐서 25%의 LD₁₀의 투여량으로 처리하였다. 아무런 처치 없이 2일 경과 후, 본래부터 미베프라딜로 처리된 마우스 그룹에게 미베프라딜을 35 mg/kg p.o. q.i.d로 다시 처리하기 시작하였다. 제 20일에, 테모졸라미드만으로 처리된 마우스 그룹의 평균 종양 크기는 173 mm³ 이었는데, 이는 테모졸라미드와 미베프라딜로 처리된 마우스 그룹에서 종양 크기가 102 mm³인 것과 대조되는 것이다(p=0.0485; n=10/그룹; Student's pooled, two tailed t-test). 7개의 모든 종양 크기 측정치에 대해 수집된, 두 테일드(two tailed) 스튜던트 t 테스트 결과 p=0.0329로 나타났다. 어느 그룹에서도 종양 크기로 인해 동물을 안락사시키지는 않았다. 다른 약물을 투여받지 않은 대조군에 있어서의 종양의 평균 크기는 1214 mm³이었으며 세마리는 종양 크기로 인해 안락사시켰다.

[0042] 실시예 5

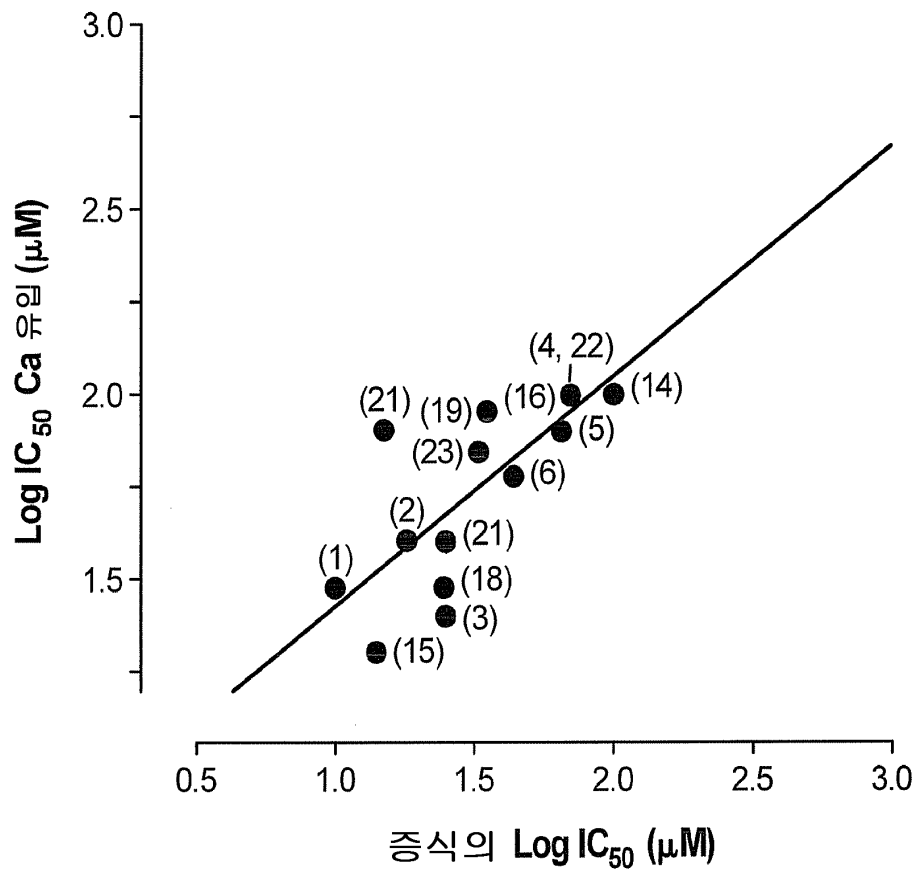
[0038] D54 세포주를 이용한 쥐의 이종이식편 모델에 있어서 인간 교모세포종에 대한 인터레이스 치료에 대해 추가로 연구 조사하였다. 피하에 D54 종양이 이식된 마우스들을 확립시켜, 미베프라딜로 7일간 40 mg/kg p.o. q.i.d로 처리하거나 또는 미처리 방치시켰다. 제7일에, 모든 동물에게 S기 세포독소 테모졸라미드를 5일에 걸쳐서 25%의 LD₁₀의 투여량으로 처리하였다. 아무런 처치 없이 2일 경과 후, 본래부터 미베프라딜로 처리된 마우스 그룹에게 미베프라딜을 35 mg/kg p.o. q.i.d로 다시 처리하기 시작하였다. 미베프라딜 처리 5일 후, 테모졸라미드를 5일간 다시 투여하기 시작하되, 10%의 LD₁₀의 투여량으로 투여하였는데, 이는 이 세포독소 1차 처리 후 이 세포독소로 인하여 20마리의 쥐 중 6마리에서 종양 크기를 측정하기에 종양 크기가 너무 작아졌기 때문이다. 이 결과를 도 5에 나타내었다. 테모졸라미드만으로 처리된 마우스들의 평균 종양 크기는 156 ± 65 mm³인 반면 미베프라딜과 테모졸라미드로 처리된 동물들의 종양 크기는 70 ± 19 mm³이었다. 이러한 종양 크기의 차이는 인터레이스 치료법으로 처리된 마우스에 있어서 종양 크기가 세포독소만을 30일간 처리된 마우스에 있어서의 종양 크기에 비해 약 55% 더 작음을 가리키는 것이다. 제 35일에는, 인터레이스 치료 그룹의 모든 마우스들에 있어서, 암은 촉진할 수 없었다. 제30일과 제35일에 있어서의 두 테일드 t 테스트 결과는 p< 0.0001이었다. 비변수형(non-parametric) 윌콕슨 사인 테스트 결과 제35일에 동일한 p 값 0.00010이 어어졌다. 이것은 부분적으로, 인터레이스 그룹의 모든 종양이 촉진할 수 없을 정도의 크기로 퇴행되었음을 반영하는 것이다.

도면

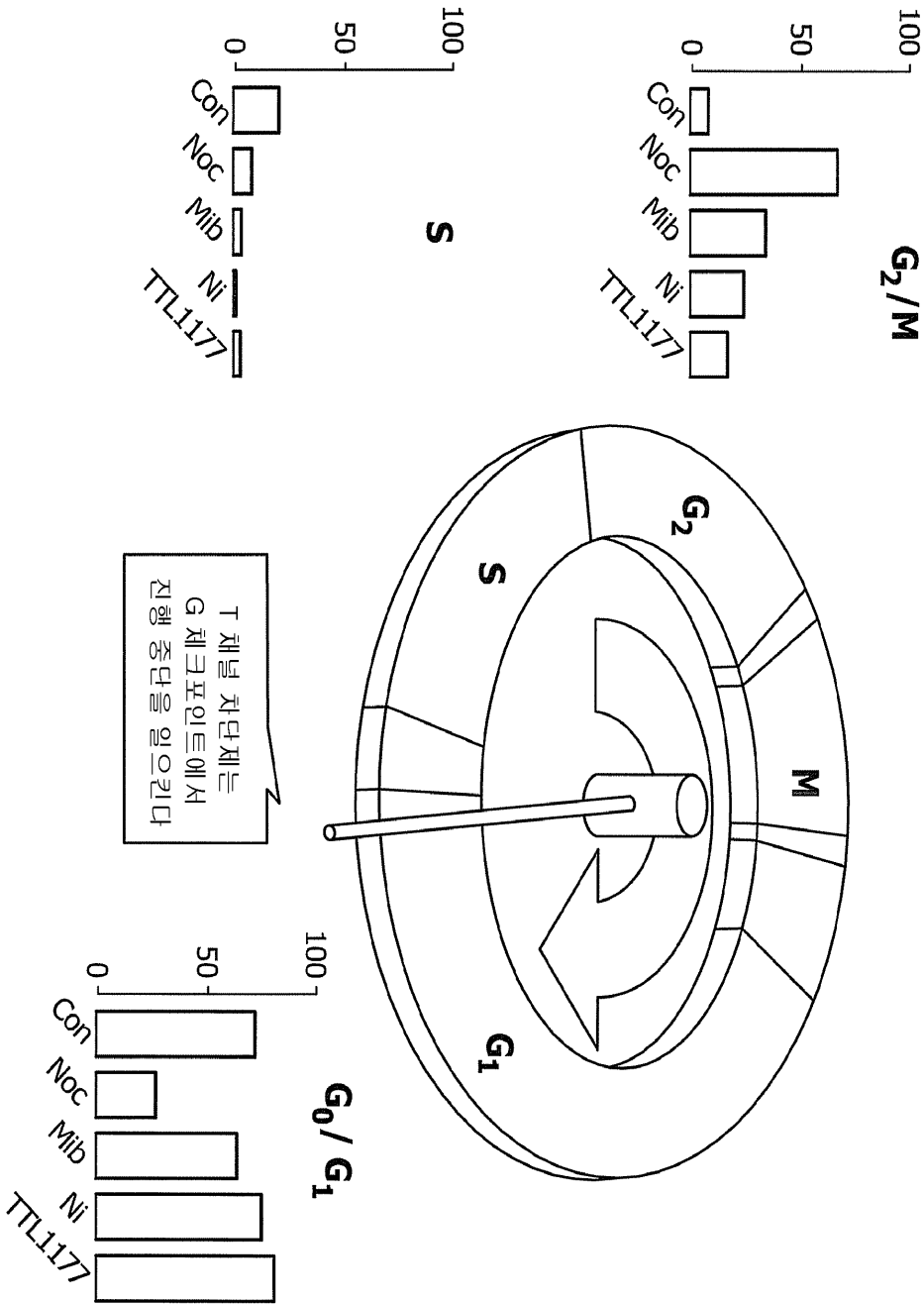
도면1



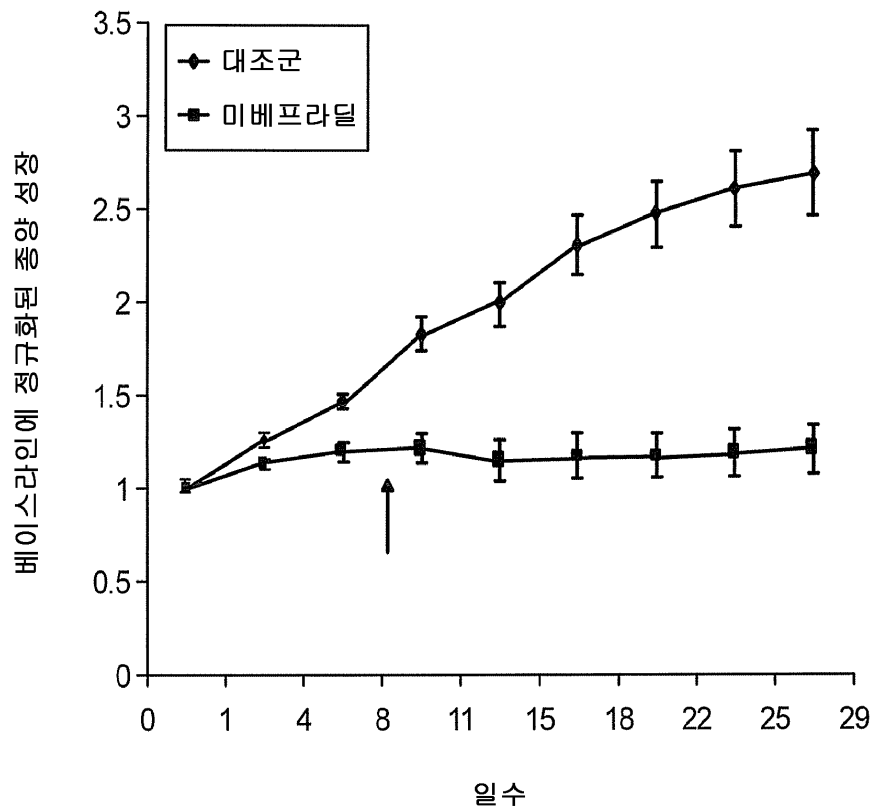
도면2



도면3



도면4



도면5

