



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2012-0050462  
(43) 공개일자 2012년05월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 33/574 (2006.01) G01N 33/60 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2012-7005358  
(22) 출원일자(국제) 2010년07월30일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2012년02월28일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/043992  
(87) 국제공개번호 WO 2011/014821  
국제공개일자 2011년02월03일  
(30) 우선권주장  
61/230,595 2009년07월31일 미국(US)  
(뒷면에 계속)

(71) 출원인  
엔도사이트, 인코포레이티드  
미국, 인디애나 47906, 웨스트 라파예트, 켄트 애비뉴 3000  
(72) 발명자  
리몬, 크리스토퍼, 폴  
미국, 아이엔 47906, 웨스트 라파이에트, 5830 팜릿지 로드  
메스만, 리차드  
미국, 아이엔 47906, 웨스트 라파이에트, 3000 켄트 애비뉴  
모겐스틴, 데이빗  
미국, 아이엔 47906, 웨스트 라파이에트, 3000 켄트 애비뉴  
(74) 대리인  
허용록

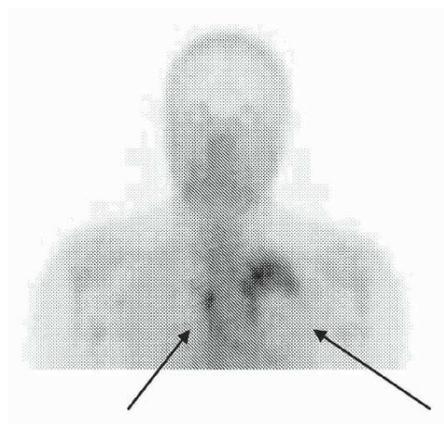
전체 청구항 수 : 총 68 항

(54) 발명의 명칭 **엽산-표적화된 진단법 및 처치법**

**(57) 요약**

종양들 상에서 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 검출하고 및 평가하는 방법들 및 그러한 종양들에 관한 처치법이 기재된다. 또한 기재되는 것은 상기 환자의 종양들 상에서 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 식별함으로써 엽산-빈카(vinca) 접합체로의 치료를 위하여 난소 및 폐 암 환자들을 선택하는 방법들이다. 또한 기재되는 것은 peg화된 리포솜의 독소루비신과 같은 독소루비신과 병용하여 엽산-빈카 접합체로 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양들을 처치하는 방법들 및 조성물들로, 상기 종양들은 백금-저항성 난소 종양들 및 백금 민감성 난소 종양들을 포함하는, 난소 종양, 자궁 내막 종양 또는 비-소형 세포 폐암 종양들을 포함한다. 또한 기재되는 것은 엽산-표적화된 약물을 사용하여, 상기 환자의 종양들 상에서 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 식별함으로써 상기 환자를 선택하는 것의 부재 또는 존재 하에, 백금-저항성 난소 암을 처치하는 방법들이다.

**대표도** - 도1



(30) 우선권주장

61/346,444 2010년05월19일 미국(US)

61/351,022 2010년06월03일 미국(US)

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 환자의 종양 상에 존재하는지를 결정하는 단계를 포함하되, 상기 EC145는 만약 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 종양 상에 존재한다면 상기 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출을 위하여 상기 환자에게 EC20을 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

### 청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 EC20의 투여 이전에 상기 환자에게 비표지화된 엽산(unlabeled folate)을 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

### 청구항 4

제 2 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 EC145는, 만약 상기 종양에 대한 결합에 따른 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 상기 종양을 보유하는 환자들의 처치를 위해 바람직한 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

### 청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 임상적 이점은 상기 환자의 진행-프리 생존(progression-free survival)인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

### 청구항 6

제 4 항에 있어서,

상기 임상적 이점은 종양 성장을 억제하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

### 청구항 7

제 4 항에 있어서,

상기 임상적 이점은 안정된 질병(stable disease), 부분적 반응(partial response), 및 완전한 반응(complete response)으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

### 청구항 8

제 4 항에 있어서,

상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 발현의 수준은 상기 배경 방사성 신호에 대한 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호의 종양 대 배경 비율을 기반으로 하여 정량화되는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 9**

제 8 항에 있어서,

상기 종양 대 배경 비율은 적어도 약 1.2인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 10**

제 8 항에 있어서,

상기 종양 대 배경 비율은 적어도 약 1.3인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 11**

제 8 항에 있어서,

상기 종양 대 배경 비율은 적어도 약 1.4인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 12**

제 4 항에 있어서,

상기 종양은 난소 종양인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 13**

제 12 항에 있어서,

상기 종양은 백금-저항성 난소 종양인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 14**

제 4 항에 있어서,

상기 종양은 폐 종양인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 15**

제 14 항에 있어서,

상기 종양은 상기 폐의 비-소형 세포 암종(non-small cell carcinoma of the lung)인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 16**

제 4 항에 있어서,

상기 EC145, 상기 EC20 또는 양자 중 어느 것은 비경구적 제형인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 17**

제 16 항에 있어서,

상기 제형은 피내(intradermal), 피하(subcutaneous), 근육 내(intramuscular), 복막 내(intraperitoneal), 정맥 내(intravenous) 및 경막 내(intrathecal)로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 18**

제 17 항에 있어서,

상기 EC145는 조성물 내에 있고, 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 19**

제 4 항에 있어서,

상기 EC20을 포함하는 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 20**

제 4 항에 있어서,

상기 EC145는 치료적 유효량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 21**

제 4 항에 있어서,

상기 EC20은 치료적 유효량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 22**

제 1 항에 있어서,

상기 환자에 대하여 독소루비신(doxorubicin)을 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 23**

제 22 항에 있어서,

상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신(pegylated liposomal doxorubicin) 형태인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 지를 결정하는 방법.

**청구항 24**

EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 상기 환자에 대하여 EC20을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 만약 상기 환자의 종양이 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하고 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 EC20으로 검출 가능한 것이라면, EC145는 상기 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법

**청구항 25**

제 24 항에 있어서,

상기 EC20의 투여 이전에 상기 환자에 대하여 비표지화된 엽산(unlabeled folate)을 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결

정하는 방법.

**청구항 26**

제 24 항 또는 제 25 항에 있어서,

상기 환자에 대하여 독소루비신(doxorubicin)을 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법.

**청구항 27**

제 26 항에 있어서,

상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신(pegylated liposomal doxorubicin) 형태인 것을 특징으로 하는 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법.

**청구항 28**

EC145로의 치료에 대한 환자의 난소 종양 또는 폐 종양의 반응을 예측하는 방법으로, 상기 방법은:

- a) 상기 환자에게 방사성 신호를 생성하는 EC20을 투여하는 단계;
- b) 상기 종양에 대한 상기 EC20의 결합에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호를 정량화하는 단계;
- c) 상기 EC20에 의해 생성된 배경 방사성 신호를 정량화하는 단계;
- d) 상기 배경 방사성 신호에 대하여 상기 종양에 대한 상기 EC20의 결합에 따라 생성된 방사성 신호를 비교하는 단계; 및
- e) 상기 비교를 기반으로 하여 상기 치료에 대한 상기 종양의 반응을 예측하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 EC145로의 치료에 대한 환자의 난소 종양 또는 폐 종양의 반응을 예측하는 방법.

**청구항 29**

제 1 항, 제 24 항 및 제 28 항 중 어느 한 항에서,

상기 EC145는 15 mg/개월로 투여되는 것을 특징으로 하는 EC145로의 치료에 대한 환자의 난소 종양 또는 폐 종양의 반응을 예측하는 방법.

**청구항 30**

치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 이러한 치료가 요구되는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치 방법.

**청구항 31**

환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치를 위한 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용되는 EC145의 사용.

**청구항 32**

환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용 처치를 위한 약제의 제조에 EC145의 사용.

**청구항 33**

치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 이러한 치료가 요구되는 환자에 있어서, 백금-저항성 난소 암에 대한 처치에서 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신으로 처치하는 것과 비교되는 임상적 이점을 얻는 방법.

**청구항 34**

제 33 항에 있어서,

상기 임상적 이점은 진행-프리 생존(progression-free survival)인 것을 특징으로 하는 백금-저항성 난소 암에

대한 처치에서 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신으로 치치하는 것과 비교되는 임상적 이점을 얻는 방법.

**청구항 35**

제 33 항에 있어서,

상기 임상적 이점은 전체적 생존(overall survival)인 것을 특징으로 하는 백금-저항성 난소 암에 대한 처치에서 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신으로 치치하는 것과 비교되는 임상적 이점을 얻는 방법.

**청구항 36**

제 30 항 내지 제 35 중 어느 한 항에 있어서,

EC145의 순도는 적어도 90%인 것을 특징으로 하는 사용 또는 방법.

**청구항 37**

제 30 항 내지 제 35 중 어느 한 항에 있어서,

상기 EC145는 수성 멸균 액상 제형으로 제공되고, 그것의 성분들은 일염기성 인산 나트륨 일수화물(monobasic sodium phosphate monohydrate), 이염기성 이인산 나트륨 이수화물(dibasic disodium phosphate dihydrate), 염화 나트륨, 염화 칼륨 및 주사용 물을 포함하는 것을 특징으로 하는 사용 또는 방법.

**청구항 38**

제 30 항 내지 제 35 중 어느 한 항에서,

상기 치치는 장 요양법(bowel regimen)을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 사용 또는 방법.

**청구항 39**

제 30 항 내지 제 35 중 어느 한 항에 있어서,

상기 EC145는 환약(bolus)으로서 약 10초 내지 20초에 걸쳐 투여되는 것을 특징으로 하는 사용 또는 방법.

**청구항 40**

제 30 항 내지 제 35 중 어느 한 항에 있어서,

상기 환자에 대하여 치치 이전에 EC20을 투여하고 상기 환자가 EC20++ 상태를 포함하는지 평가하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 사용 또는 방법.

**청구항 41**

상기 환자에 대하여 치치 이전에 EC20을 투여하고 상기 환자가 EC20++ 상태를 포함하는지 평가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제 30 항 내지 제 35 중 어느 한 항에 개시된 처치를 위하여 환자를 선택하는 방법.

**청구항 42**

수성의 멸균 액상 제형 내에 EC145를 포함하며, 그것의 성분들은 일염기성 인산 나트륨 일수화물, 이염기성 이인산 나트륨 이수화물, 염화 나트륨, 염화 칼륨 및 주사용 물을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

**청구항 43**

2.0mL의 수성 멸균 액상 제형, pH 7.4로서 정맥 내 투여용 EC145 약물 생성물을 포함하되, 1.4mg/mL의 EC145를 포함하는 것을 특징으로 하는 투약 유닛.

**청구항 44**

제 43 항에 있어서,

앰플, 밀봉된 바이알 또는 예비 충전된 주사기인 것을 특징으로 하는 투약 유닛.

**청구항 45**

제 44 항에 있어서,  
 밀봉된 바이알인 것을 특징으로 하는 투약 유닛.

**청구항 46**

종양을 보유하는 환자가 상기 환자의 종양 상에 존재하는 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출을 위하여 상기 환자에 대해 유효한 양의 EC20을 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 종양을 보유하는 환자가 상기 환자의 종양 상에 존재하는 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하는 방법.

**청구항 47**

제 46 항에 있어서,  
 상기 종양은 난소 종양 또는 폐 종양인 것을 특징으로 하는 종양을 보유하는 환자가 상기 환자의 종양 상에 존재하는 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하는 방법.

**청구항 48**

제 46 항에 있어서,  
 상기 종양은 초기 종양 또는 전이된 상태의 종양인 것을 특징으로 하는 종양을 보유하는 환자가 상기 환자의 종양 상에 존재하는 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하는 방법.

**청구항 49**

제 1 항 내지 제 3 항, 제 24 항, 제 25 항 또는 제 46 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 있어서,  
 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들은 시각적으로 검출되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 50**

제 49 항에 있어서,  
 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 시각적 검출은 상기 환자의 엽산 수용체 상태를 결정하기 위해 사용되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 51**

제 50 항에 있어서,  
 상기 환자의 엽산 수용체 상태는 EC20++, EC20+, 및 EC20-로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 52**

제 51 항에 있어서,  
 상기 엽산 수용체 상태는 EC20++인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 53**

제 52 항에 있어서,  
 EC145로의 처치가 바람직한 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 54**

제 52 항에 있어서,  
 EC20++ 상태는 상기 환자에 대한 임상적 이점과 관련되는 있는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 55**

제 54 항에 있어서,  
상기 임상적 이점은 질병 조절 비율인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 56**

제 54 항에 있어서,  
상기 임상적 이점은 전체적 질병 반응 비율인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 57**

제 54 항에 있어서,  
상기 임상적 이점은 전체적 생존인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 58**

치료적 양의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 이러한 치료가 요구되는 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양의 처치 방법.

**청구항 59**

환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양의 처치를 위한 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 EC145의 사용.

**청구항 60**

환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 처치를 위한 약제를 제조하기 위한 EC145의 사용.

**청구항 61**

치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 이러한 치료가 요구되는 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양에 대한 처치에서 임상적 이점에 도달하는 방법.

**청구항 62**

제 61 항에 있어서,  
상기 임상적 이점은 진행-프리 생존인 것을 특징으로 하는 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양에 대한 처치에서 임상적 이점에 도달하는 방법.

**청구항 63**

제 61 항에서,  
상기 임상적 이점은 전체적 생존인 것을 특징으로 하는 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양에 대한 처치에서 임상적 이점에 도달하는 방법.

**청구항 64**

제 58 항 내지 제 63 항 중 어느 한 항에서,  
상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신 형태인 것을 특징으로 하는 방법 또는 사용.

**청구항 65**

제 58 항 내지 제 63 항 중 어느 한 항에서,  
상기 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양, 자궁 내막 종양 또는 비-소형 세포 폐암(NSCLC) 종양인

것을 특징으로 하는 방법 또는 사용.

**청구항 66**

제 65 항에 있어서,

상기 염산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양인 것을 특징으로 하는 방법 또는 사용.

**청구항 67**

제 64 항에서,

상기 염산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양, 자궁 내막 종양 또는 비-소형 세포 폐암(NSCLC) 종양인 것을 특징으로 하는 방법 또는 사용.

**청구항 68**

제 67 항에서,

상기 염산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양인 것을 특징으로 하는 방법 또는 사용.

**명세서**

**기술분야**

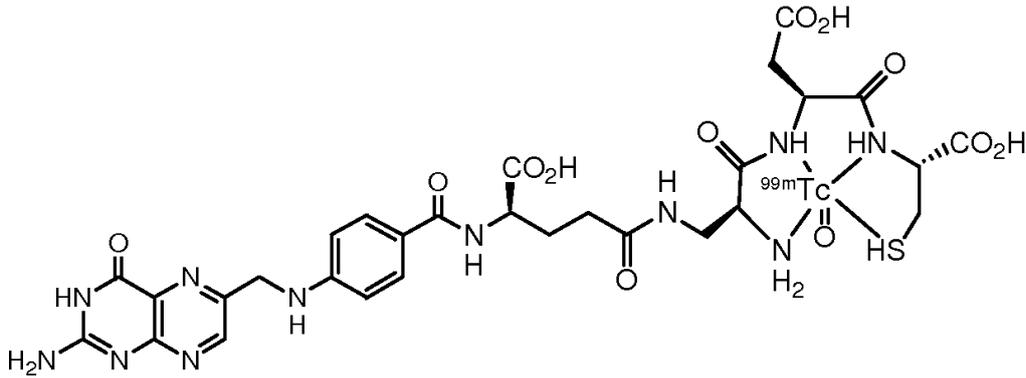
[0001] 본 출원은 미국 가출원들 2009년 7월 31일 출원된 61/230,595; 2010년 5월 19일 출원된 61/346,444; 및 2010년 6월 3일 출원된 61/351,022의 이익을 청구하며, 그들 각각은 그것의 전체에서 참조로 여기 포함된다.

[0002] 본 발명은 종양 상에서 기능적으로 활성인 염산 수용체들을 검출하고 분석하기 위한 방법들 및 조성물들 및 이들 종양들에 관련된 처치법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 환자들의 종양들 상에서 기능적으로 활성인 염산 수용체들을 식별함으로써 염산-빈카(folate-vinca) 접합체로의 치료를 위하여 난소 및 폐암 환자들을 선택하기 위한 방법들 및 조성물들에 관한 것이다. 본 발명은 또한 peg-화된 리포솜의 독소루비신(pegylated liposomal doxorubicin)과 같은 독소루비신과 병용하여 염산-빈카 접합체로 염산 수용체가 발현하는 상피성 종양들을 처치하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것으로, 여기서 상기 종양들은, 백금-저항성 난소 종양들 및 백금-민감성 난소 종양들을 포함하는, 난소 종양, 자궁 내막 종양 또는 비-소형 세포 폐암 종양들(non-small cell lung cancer tumors)을 포함한다. 본 발명은 또한 상기 환자의 종양들 상에서 기능적으로 활성인 염산 수용체를 식별함으로써 환자를 선택하는 것의 부재 또는 존재하에서, 염산-표적화된 약물을 사용하여 백금-저항성 난소 암을 처치하기 위한 방법들 및 조성물들에 관한 것이다.

**배경기술**

[0003] 표적화된 약물 치료법에 부속하여 중요한 점은 문제의 분자 표적의 부재 또는 존재에 대한 정보를 제공하는 진단적 테스트들의 공동 개발에 있다. 예로서, Herceptin<sup>®</sup>(trastuzumab)로의 치료를 위한 선택은, Herceptin<sup>®</sup>으로의 처치를 위한 환자의 선택에 도움을 주는 인간 상피의 성장 인자 수용체 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER 2) 발현을 측정하는, 그러한 진단적 테스트, HercepTest<sup>®</sup>, 세미-양적 면역 조직 화학 상의(immunohistochemical, IHC) 분석법에 의해 안내된다. 그러나, HercepTest<sup>®</sup>는, 상피의 성장 인자 수용체에 대한 항체가 상피의 성장 인자에 결합하는 그러한 수용체들의 능력이 아니라, 고정된 조직들 상에서의 상피의 성장 인자 수용체들의 존재를 검출하는데 사용되기 때문에, 기능적으로 활성인 상피의 성장 인자 수용체들(즉, 상피의 성장 인자에 결합하는 수용체들)을 검출하지 않는다.

[0004] <sup>111</sup>In-DTPA-염산으로의 연구에 후속하여, 난소 암 환자들의 종양 상에서의 염산 수용체를 검출하기 위하여, 테크네튬(technetium)-99m(<sup>99m</sup>Tc)-기반의 염산 관련 방사성 제약을 개발하는 연구들이 개시되었다. 테크네튬-기반의 제제의 장점들은 1) 몰리브데늄/테크네튬-99m 생산자의 용이한 입수 가능성, 2) 감마 카운터들 내에서의 검출을 위한 최적화된 에너지(140keV) 및 3) 짧은 반감기를 포함한다. 이러한 점에 있어서, 하기 식을 갖는 <sup>99m</sup>Tc-EC20(E20)

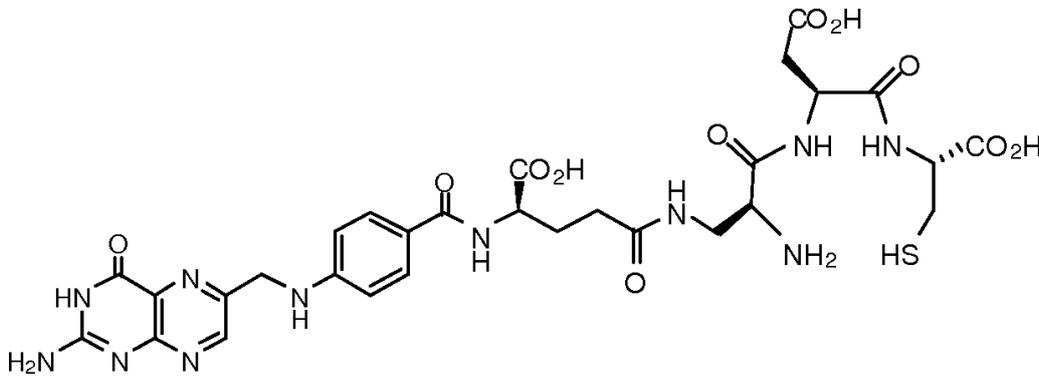


[0005]

[0006] <sup>99m</sup>Tc-EC20

[0007] 가 개발되었다. 테크네튬-99m-표지화된 EC20(<sup>99m</sup>Tc-EC20)은 염산에 결합할 수 있는 염산 수용체들을 발현하는 조직들의 실시간의, 비침습성의 검출을 제공한다.

[0008] 용어 EC20은 통상적으로 방사성 핵종이 결합된 비-방사성의 제제를 식별하는데에 사용된다:

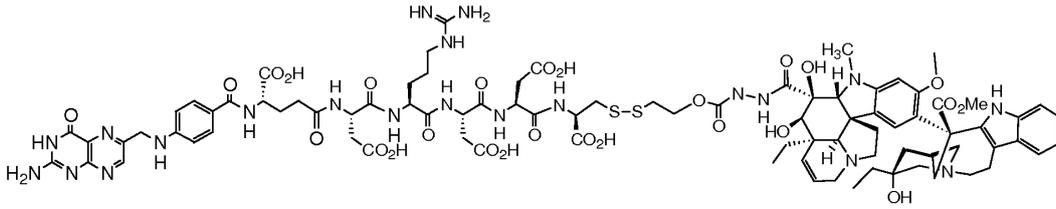


[0009]

[0010] EC20

[0011] 그러나, EC20은 또한 환자에 투여되는 물질인 방사성 약물 물질 <sup>99m</sup>Tc-EC20을 식별하기 위해서도 통상적으로 사용된다. 하기 실시예 2 및 3 참조. 염산에 결합할 수 있는 염산 수용체들을 발현하는 조직들을 검출하고 분석하기 위하여 환자에게 대한 투여의 상황에서, EC20은 여기서 방사성 약물 물질 <sup>99m</sup>Tc-EC20, 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염을 나타내기 위해 사용된다. 상기 물질은 탈프로톤화된 형태를 포함하는, 이온화된 형태로서 용액상 또는 현탁액 상으로 존재할 수 있다는 것이 인식될 것이다.

[0012] 염산-표적화된 약물들은 암 치료법으로서 임상적 실험들에서 개발되어 왔으며 또한 테스트되어 오고 있다. EC145는, 염산에 접합된 높은 잠재성의 빈카(vinca) 알칼로이드 세포 독성 화합물, 데스아세틸빈블라스틴 하이드라자이드(desacetylvinblastine hydrazide(DAVLBH))를 포함한다. 상기 EC145 분자는, 비-소형 세포 폐 암종(non-small cell lung carcinomas(NSCLC)), 난소, 상피의 및 신장의 암들, 및 난관(卵管)(fallopian tube) 및 복막 암종을 포함하는 기타의 것들을 포함하는, 상피성 종양들의 표면 상에서 높은 수준으로 발견되는 염산 수용체를 표적으로 한다. 이론에 의한 구속됨 없이, EC145는 정상적인 조직을 피하는 반면, 암 세포들에 직접적으로 빈카 조각을 전달하는 염산 수용체를 발현하는 종양들에 결합하는 것으로 믿어지고 있다. 결합에 따라, EC145는 엔도시토시스(endocytosis)를 통해 상기 암 세포 내로 들어가며, DAVLBH를 방출하고 및 세포 분화를 위해 요구되는 유사 분열의(mitotic) 어셈블리의 형성을 억제함으로써 세포 죽음을 유발한다. EC145는 화학 제품 개요 등록 번호(Chemical Abstracts Registry Number) 742092-03-1 및 하기 식을 갖는다:



[0013]

[0014] EC145

[0015] 여기서의 사용으로서, 처치의 상황에서, 상기 용어 EC145는 상기 언급된 바와 같이, 화합물, 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염이며; 상기 화합물은 프로톤화된 형태를 포함하는 이온화된 형태로서 용액상 또는 현탁액 상으로 존재할 수 있다.

[0016] 출원인들은 엽산 수용체들에 결합할 수 있는 엽산-방사성의 영상화제(imaging agent) 접합체들이, 난소 종양들 또는 폐 종양들을 포함하는 종양들에 대한 방사성 핵종을 표적화하는 데에 사용될 수 있고 및 나아가 상기 종양 내에 상기 방사성 핵종을 농축할 수 있는 것을 보여주었다. 놀랍게도, 출원인들은 임계값 수준(threshold level)의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 존재가 상기 환자들에 대한 임상적인 이점을 나타내는 것일 수 있다는 점을 발견하였다. 따라서, 본 발명에 의하면 환자들의 종양 상에서 활성인 엽산 수용체들의 존재를 결정하는 방법이 여기 기재된다. 이에 더하여, EC145로의 치료를 위하여 환자들을 선택하기 위한 방법이 기재되며, 여기서 환자는 그 환자들의 종양(들) 상에서 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출로부터 도출되는 환자에 대한 예상되는 임상적 이점을 기반으로 하여 치료를 위해 선택될 수 있다. 상기 환자에 대한 임상적 이점은 환자의 진행-프리 생존(progression-free survival), 4 또는 초과 사이클들의 EC145로의 치료를 수용할 수 있는 능력, 종양 성장의 억제, 안정된 질병, 치료에 대한 상기 종양의 부분적 반응, 및/또는 치료에 대한 상기 종양의 완전한 반응을 포함한다.

[0017] 따라서, 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출(이는, 이에 한정되는 것은 아니나, 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 발현을 결정하는 것을 포함할 수 있다)은 EC145가 난소 암 또는 폐암을 가진 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지(indicated)를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 비침습적인 방법은, 문제의(relevant) 기능적으로 활성인 엽산 수용체 분자 표적을 함유하는 난소 또는 폐 종양들을 보유하고 있는 엽산-약물 접합체로의 치료를 위한 환자들을 선택하는 데 있어서의 보조로서 의료 인력에 의해 사용될 수 있다.

[0018] 출원인들은 나아가 EC145 및 peg화된 리포솜의 독소루비신의 병용으로 환자들 내에서, 전이된 상태의(metastatic) 종양들을 포함하는 백금-저항성 난소 종양들의 처치법을 보여주었다. 출원인들은 이러한 병용 치료가 EC145 없이 peg화된 리포솜의 독소루비신을 사용하는 상기 환자들의 처치법에 비해 우수하다는 것을 보여주었다. EC20은 이러한 처치와의 결합에서 사용될 수도 또는 사용되지 않을 수도 있다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0019] 본 발명에 의하면 환자들의 종양 상에서 활성인 엽산 수용체들의 존재를 결정하는 방법이 여기 기재된다. 이에 더하여, EC145로의 치료를 위하여 환자들을 선택하기 위한 방법이 기재되며, 여기서 환자는 그 환자들의 종양(들) 상에서 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출로부터 도출되는 환자에 대한 예상되는 임상적 이점을 기반으로 하여 치료를 위해 선택될 수 있다.

**과제의 해결 수단**

[0020] 본 발명의 일 면에서는, 종양들을 보유하는 환자들에서 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 검출하기 위한 방법이 제공된다.

[0021] 본 발명의 또 다른 일 면에서는, EC20을 포함하는 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자의, 초기의 및 전이된 상태의 종양들을 포함하는, 난소 종양 또는 폐 종양과 같은 종양 상에서 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 존재를 결정하기 위한 방법이 제공된다.

[0022] 본 발명의 또 다른 일면에서는, EC145가 난소 종양 또는 폐 종양과 같은 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 환자의 종

양 상에 존재하는지를 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 EC145는, 만약 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 초기 및 전이된 상태의 종양들을 포함하는 상기 종양 상에 존재한다면, 상기 종양을 보유하는 환자들의 처치를 위해 바람직한 것이다.

[0023] 또 다른 면에서, EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치에 바람직한 것인지를 결정하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 환자에게 EC20을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 EC145는, 만약 상기 환자의 종양이 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 가지고, 이때 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 EC20으로의 검출이 가능한 것이라면, 상기 종양을 보유하는 환자들의 처치를 위해 바람직한 것이다.

[0024] 본 발명의 추가적인 일 면에서, EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치에 바람직한 것인지를 결정하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 환자에게 EC20을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 EC145는, 상기 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 종양에 대한 결합에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 상기 종양을 보유하는 환자들의 처치를 위해 바람직한 것이다.

[0025] 본 발명의 추가적인 일 면에서, EC145로의 치료에 대한 환자의 난소 종양 또는 폐 종양의 반응을 예측하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 하기 단계들을 포함한다:

- [0026] a) 상기 환자에게 EC20을 투여하는 것으로, 여기서 상기 EC20은 방사성 신호를 생성하고;
- [0027] b) 상기 종양에 대한 상기 EC20의 결합에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호를 정량하는 것;
- [0028] c) 상기 EC20에 의해 생성된 배경 방사성 신호를 정량하는 것;
- [0029] d) 상기 배경 방사성 신호에 대하여 상기 종양에 대한 상기 EC20의 결합에 의해 생성된 방사성 신호를 비교하는 것; 및
- [0030] e) 상기 비교를 기반으로 하여 상기 치료에 대한 상기 종양의 반응을 예측하는 것.

[0031] 본 발명의 부가적인 일 면에서는, 치료적 양의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자 내에서 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양들에 대한 처치 방법이 제공된다.

[0032] 본 발명의 부가적인 일 면에서는, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자 내에서 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양들에 대한 처치 방법이 제공된다.

[0033] 본 발명의 부가적인 일 면에서는, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자 내에서 백금-저항성 난소 암에 대한 처치 방법이 제공된다.

[0034] 본 발명의 부가적인 일 면에서는, 치료적 양의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자 내에서 백금-민감성 난소 암에 대한 처치 방법이 제공된다.

[0035] 본 발명의 추가적인 일 면에서는 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자내에서 백금-저항성 난소 암에 대한 처치에서, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신으로의 처치와 비교되는 임상적 이점을 얻는 방법이 제공된다.

[0036] 또 다른 일 면에서, 종양을 보유하는 환자가 상기 환자의 종양 상에 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출을 위하여 상기 환자에게 유효한 양의 EC20을 투여하는 단계를 포함한다. 나아가 또 다른 일 면에서, 상기 종양은 난소 종양 또는 폐 종양이다. 또 다른 예시적인 일 면에서, 상기 종양은 초기의 종양 또는 전이된 상태의 종양이다. 또 다른 실시 예에서, 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들은 시각적으로 검출된다. 나아가 또 다른 면에서, 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 시각적 검출은 상기 환자의 엽산 수용체 상태를 결정하는 데에 사용된다. 예시적으로, 상기 환자의 엽산 수용체 상태는 EC20++, EC20+ 및 EC20-로 구성되는 그룹으로부터 선택된다. 이러한 예시적인 일 면에서, 상기 엽산 수용체 상태는 EC20++가 될 수 있으며, 및 EC145로의 처치가 바람직하다. 또 다른 일 면에서, EC20++ 상태는 상기 환자에 대한 임상적 이점과 관련되며, 및 상기 임상적 이점은 질병 조절 비율 또는 전체적인 질병 반응 비율일 수 있다.

**발명의 효과**

[0037] 출원인들은 엽산 수용체들에 결합할 수 있는 엽산-방사성의 영상화제 접합체들이, 난소 종양들 또는 폐 종양들

을 포함하는 종양들에 대한 방사성 핵종을 표적화하는 데에 사용될 수 있고 및 나아가 상기 종양 내에 상기 방사성 핵종을 농축할 수 있는 것을 보여주었다. 놀랍게도, 출원인들은 임계값 수준(threshold level)의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 존재가 상기 환자들에 대한 임상적인 이점을 나타내는 것일 수 있다는 점을 발견하였다.

[0038] 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출(이는, 이에 한정되는 것은 아니나, 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 발현을 결정하는 것을 포함할 수 있다)은 EC145가 난소 암 또는 폐암을 가진 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지(indicated)를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 비침습적인 방법은, 문제의(relevant) 기능적으로 활성인 엽산 수용체 분자 표적을 함유하는 난소 또는 폐 종양들을 보유하고 있는 엽산-약물 접합체로의 치료를 위한 환자들을 선택하는 데 있어서의 보조로서 의료 인력에 의해 사용될 수 있다.

[0039] 출원인들은 나아가 EC145 및 peg화된 리포솜의 독소루비신의 병용으로 환자들 내에서, 전이된 상태의(metastatic) 종양들을 포함하는 백금-저항성 난소 종양들의 처치법을 보여주었다. 출원인들은 이러한 병용 치료가 EC145 없이 peg화된 리포솜의 독소루비신을 사용하는 상기 환자들의 처치법에 비해 우수하다는 것을 보여주었다. EC20은 이러한 처치와의 결합에서 사용될 수도 또는 사용되지 않을 수도 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0040] 도 1. <sup>99m</sup>Tc-EC20-엽산의 투여 후 환자의 평면 이미지(planar image). <sup>99m</sup>Tc-EC20 이미지 과정 이전에, 환자는 한번의 0.5mg의 엽산(folic acid) IV 주입을 받고, 이어서 1 내지 3 분 이내에, 20 내지 25 mCi의 테크네튬-99m으로 표지화된 0.1 mg의 EC20의 1 내지 2 mL 주입을 받는다. <sup>99m</sup>Tc-EC20 주입 후 대략적으로 1 내지 2 시간에, 대퇴부 중간(mid-thigh)에서 머리까지의 전방(anterior) 및 후방(posterior) 평면 이미지들이 얻어진다. 화살표들은 종양(병변(lesions))의 대략적인 위치를 나타낸다. 이러한 예에서, 엽산 수용체 양성 종양들을 포함하는 두 개의 영역들이 표시된다.

도 2. <sup>99m</sup>Tc-EC20-엽산의 투여 후 환자의 평면 이미지(planar image). <sup>99m</sup>Tc-EC20 이미지 과정 이전에, 환자는 한번의 0.5mg의 엽산(folic acid) IV 주입을 받고, 이어서 1 내지 3 분 이내에, 20 내지 25 mCi의 테크네튬-99m으로 표지화된 0.1 mg의 EC20의 1 내지 2 mL 주입을 받는다. <sup>99m</sup>Tc-EC20 주입 후 대략적으로 1 내지 2 시간에, 대퇴부 중간(mid-thigh)에서 머리까지의 전방(anterior) 및 후방(posterior) 평면 이미지들이 얻어진다. 화살표들은 종양(병변)의 대략적인 위치를 나타낸다. 이러한 예에서, 엽산 수용체 양성 종양들을 포함하는 두 개의 영역들이 표시된다.

도 3. <sup>99m</sup>Tc-EC20-엽산의 투여 후 환자의 평면 이미지(planar image). <sup>99m</sup>Tc-EC20 이미지 과정 이전에, 환자는 한번의 0.5mg의 엽산(folic acid) IV 주입을 받고, 이어서 1 내지 3 분 이내에, 20 내지 25 mCi의 테크네튬-99m으로 표지화된 0.1 mg의 EC20의 1 내지 2 mL 주입을 받는다. <sup>99m</sup>Tc-EC20 주입 후 대략적으로 1 내지 2 시간에, 대퇴부 중간(mid-thigh)에서 머리까지의 전방(anterior) 및 후방(posterior) 평면 이미지들이 얻어진다. 화살표들은 종양(병변)의 대략적인 위치를 나타낸다. 이러한 예에서, 엽산 수용체 양성 종양들을 포함하는 두 개의 영역들이 표시된다.

도 4. <sup>99m</sup>Tc-EC20-엽산의 투여 후 환자의 평면 이미지(planar image). <sup>99m</sup>Tc-EC20 이미지 과정 이전에, 환자는 한번의 0.5mg의 엽산(folic acid) IV 주입을 받고, 이어서 1 내지 3 분 이내에, 20 내지 25 mCi의 테크네튬-99m으로 표지화된 0.1 mg의 EC20의 1 내지 2 mL 주입을 받는다. <sup>99m</sup>Tc-EC20 주입 후 대략적으로 1 내지 2 시간에, 대퇴부 중간(mid-thigh)에서 머리까지의 전방(anterior) 및 후방(posterior) 평면 이미지들이 얻어진다. 화살표들은 종양(병변)의 대략적인 위치를 나타낸다. 이러한 예에서, 엽산 수용체 양성 종양을 포함하는 한 개의 영역이 표시된다.

도 5. <sup>99m</sup>Tc-EC20-엽산의 투여 후 환자의 평면 이미지(planar image). <sup>99m</sup>Tc-EC20 이미지 과정 이전에, 환자는 한번의 0.5mg의 엽산(folic acid) IV 주입을 받고, 이어서 1 내지 3 분 이내에, 20 내지 25 mCi의 테크네튬-99m으로 표지화된 0.1 mg의 EC20의 1 내지 2 mL 주입을 받는다. <sup>99m</sup>Tc-EC20 주입 후 대략적으로 1 내지 2 시간에, 대퇴부 중간(mid-thigh)에서 머리까지의 전방(anterior) 및 후방(posterior) 평면 이미지들이 얻어진다. 화살표들은 종양(병변)의 대략적인 위치를 나타낸다. 이러한 예에서, 여섯 개의 엽산 수용체 양성 병

변들이 표시된다.

도 6. 그에 대한 평면 이미지가 도 5에 보여진 동일 환자의 CT 스캔 이미지. 관심 영역들(종양 병변 내의 높은 강도의 이미지 영역)은 두 개의 타원형들로 표시된다. 이미지들은 EC145로의 처치의 개시 이전에 측정되었고, 하기의 사이즈들을 획득하였다: 종양 1 - 34 mm, 종양 2 - 25 mm.

도 7. 그에 대한 평면 이미지가 도 5에 보여진 동일 환자의 CT 스캔 이미지. 관심 영역들(종양 병변 내의 높은 강도의 이미지 영역)은 두 개의 타원형들로 표시된다. 이미지들은 EC145로의 처치의 8 주(2 사이클) 후에 측정되었고, 하기의 종양 사이즈들(퍼센트 사이즈 변화)을 획득하였다: 종양 1 - 15 mm (-56%), 종양 2 - 10 mm (-60%).

도 8. 예시적인 EC145로의 16 주 처치 요양법.

도 9. 처치에 대한 비-소형 세포 폐 암종 및 난소 암 종양들의 종양 반응. 종양들은 실시예 16에 기재된 방법에 따르는 <sup>99m</sup>Tc-EC20 투여 후 이미징 결과들을 기반으로, 염산-수용체 양성 및 염산-수용체 음성(도면에서는 수직의 점선에 의해 분리된)의 두 개의 그룹들로 나뉘어졌다. 실시예 18 또는 실시예 19의 방법에 따른 처치 후에 각 종양의 사이즈에서의 변화는 그래프에서 개별적인 바(bar)들로 표시된다. 실시예 21에 기재되는 바와 같이, 실시예 16에 기재된 방법을 기반으로 염산-수용체 양성이었던 모든 종양들에 대한 사이즈에서의 평균 증가는 염산-수용체 음성이었던 모든 종양들에 대한 사이즈에서의 평균 증가에 비해 현저하게 적었다, 각각 7% 대 33%.

도 10. 표적 병변들 내에서 EC20의 섭취를 보여주는 SPECT 및 평면 이미지들. <sup>99m</sup>Tc-EC20은 의사가 수용체 발현의 실시간 평가를 얻는 것을 허용한다. 패널들 A, B 및 C는 복부 집단(abdominal masses, 하얀색 화살표들)에서의 <sup>99m</sup>Tc-EC20 섭취를 보이는 난소 암 환자(환자 035, 연구 EC-FV-02)로부터의 CT, SPECT 및 평면 이미지들을 비교한다. 패널 A-CT 스캔; 패널 B-<sup>99m</sup>Tc-EC20 섭취를 보여주는 SPECT 이미지; 패널 C-<sup>99m</sup>Tc-EC20 섭취를 보여주는 평면 이미지.

도 11은 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 EC145(EC145+PLD)로 처치된 환자들과 및 peg화된 리포솜의 독소루비신 단독(PLD 단독)으로 처치된 환자들에 대한 연구 EC-FV-04에서의 중간 분석에서 진행 프리 생존(progression free survival(PFS))에 대한 카플란-마이어 커브들(Kaplan-Meier curves)을 보여준다.

도 12는 백금-저항성 난소 암을 보유하는 여성에서의 연구 EC-FV-04, 진행 중인 페이스 2 실험에서, 중간 분석의 시점에, 연구 치료 이전에 EC20으로 스캔되었으며 및 연구 치료(PLD와 병용된 EC145 대 PLD 단독) 이전에 EC20 양성(EC20++ 상태)으로 평가된 핵 이미징 능력을 갖는 사이트에서 등록된 피험자들에 대한, 진행 프리 생존(progression free survival(PFS)) 시간에 대한 카플란-마이어 커브들(Kaplan-Meier curves)을 보여준다.

도 13은 연구 치료 이전에 EC20으로 스캔되었으며 및 연구 치료 이전에 EC20+ 상태 또는 EC20- 상태로서 평가된 자들과 비교되는 EC20 양성(EC20++ 상태)으로 평가된, 진단된 난소 및 자궁 내막 암들을 보유하는 여성에서의 연구 EC-FV-02, 실험에서, 전체적 생존(overall survival(OS)) 시간에 대한 카플란-마이어 커브(Kaplan-Meier curves)를 보여준다. 이러한 커브는 매우 다루기 힘든 난소 암 환자들에서 상기 단일 제제 EC145로부터의 이점을 갖는 환자들을 선택하는 유용성을 보여준다.

도 14는 백금-저항성 난소 암을 보유하는 여성에서의 연구 EC-FV-04, 진행 중인 페이스 2 실험에서, 중간 분석의 시점에, peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 EC145(EC145+PLD)로 처치된 환자들에 대한 및 peg화된 리포솜의 독소루비신 단독(PLD 단독)으로 처치된 환자들에 대한, 전체적 생존(overall survival(OS)) 시간에 대한 카플란-마이어 커브(Kaplan-Meier curves)를 보여준다.

도 15는 실시예 7에 기재되는 바와 같이 체내에서의 KB 종양 세포들의 성장의 억제에서 EC145 및 독소루비신 사이의 상승 작용의 관계를 보여준다; 상승 작용을 나타내는 라인 아래로 떨어진 데이터 포인트들.

도 16은 하기 그룹들에 대한 실시예 8에 기재되는 M109 종양들을 함유하는 마우스에서의 연구로부터 종양 성장 및 반응들(PR=부분적 반응, CR=완전한 반응, 치유)에 대한 결과들을 보여준다: (a) M109 대조군; (b) EC145, 2 μmol/kg; (c) DOXIL, 7mg/kg; (d) EC145, 2 μmol/kg + DOXIL, 7mg/kg; (e) DOXIL, 4mg/kg; 및 (f) EC145, 2 μmol/kg + DOXIL, 4mg/kg.

도 17은 하기 그룹들에 대한 실시예 8에 기재되는 M109 종양들을 함유하는 마우스에서의 연구로부터 체중 변화에 대한 결과들을 보여준다: (a) M109 대조군; (b) EC145, 2 μmol/kg; (c) DOXIL, 7mg/kg; (d) EC145, 2 μ

mol/kg + DOXIL, 7mg/kg; (e) DOXIL, 4mg/kg; 및 (f) EC145, 2 μmol/kg + DOXIL, 4mg/kg.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0041] 본 발명에 따르면, "기능적으로 활성인 엽산 수용체들"은 적어도 약 1.2 또는 초과 of 종양 대 배경 비율로 난소 또는 폐 종양 상에서 발현된 엽산 수용체들을 의미한다. 상기 용어는 또는 시각적으로(예를들면, 하기 기재되는 바와 같이 EC20+ 환자를 식별하는 데에 사용되는) 검출 가능한 종양들로부터의 신호를 의미하는 데에도 사용될 수 있다. "기능적으로 활성인 엽산 수용체들"의 존재(즉, 적어도 약 1.2 또는 초과 of 종양 대 배경 비율 또는 시각적으로 검출되는 종양들로부터의 신호)는 EC145로의 치료를 위해 선택된 환자에 대한 임상적 이점과 연관되며, 상기 임상적 이점은 상기 환자의 진행-프리 생존, 상기 환자의 전체적 생존, 4 또는 초과 사이클들의 EC145로의 치료를 수용할 수 있는 능력, 종양 성장의 억제, 안정된 질병, 부분적 반응, 및/또는 완전한 반응을 포함한다.
- [0042] 본 발명에 따르면, "종양 대 배경 비율"은 상기 환자에서 엽산-방사성 영상화제에 의해 생성된 배경 방사성 신호와 비교하여 종양에 대한 결합에 따라 EC20에 의해 생성된 방사성 신호의 비율을 의미한다.
- [0043] 본 발명에 따르면, "임상적 이점"은 EC145로의 처치에 대한 환자의 반응으로, 상기 반응은 상기 환자의 진행-프리 생존, 상기 환자의 전체적 생존, 4 또는 초과 사이클들의 EC145로의 치료(예를들면, 4 주의 치료)를 수용할 수 있는 능력, 종양 성장의 억제, 안정된 질병, 부분적 반응, 및/또는 완전한 반응을 포함한다.
- [0044] 본 발명에 따르면, "종양 성장의 억제"는 EC145로의 치료의 과정에 걸쳐 종양 사이즈에서의 감소, 완전한 종양의 사라짐 또는 30% 미만의 환자 종양의 성장을 의미한다.
- [0045] 본 발명에 따르면, "안정된 질병"은 EC145로의 치료의 과정에 걸쳐 질병의 실질적인 진행 없음을 의미한다.
- [0046] 본 발명에 따르면, "부분적 반응"은 EC145로 처치된 환자에서 30% 또는 초과 of 종양 사이즈에서의 감소를 의미한다.
- [0047] 본 발명에 따르면, "완전한 반응"은 EC145로 처치된 환자에서 검출 가능한 질병의 사라짐을 의미한다.
- [0048] 상기 어떤 다양한 개시 내용들에서, 하기의 구성들은 적용 가능하고, 본 발명에 대한 추가적인 실시예들을 제공 하는 것으로 나타날 것이다.
- [0049] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 방법은 EC20의 투여 이전에 방사성 핵종을 포함하는 복합체의 형태로 서, 엽산(folic acid) 또는 그것의 염과 같은 비표지화된 엽산을 환자에게 투여하는 단계를 추가적으로 포함한다.
- [0050] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 EC145는, 만약 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 종양과의 결합에 따른 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 상기 종양을 보유하는 환자의 처치에 바람직하다.
- [0051] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 임상적 이점은 상기 환자의 진행-프리 생존이다.
- [0052] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 임상적 이점은 종양 성장의 억제이다.
- [0053] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 임상적 이점은 안정된 질병, 부분적 반응 및 완전한 반응으로 구성되는 그룹으로부터 선택된다.
- [0054] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 발현의 수준은 배경 방사성 신호에 대한 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호의 종양 대 배경 비율을 기반으로 하여 정량화된다.
- [0055] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 종양 대 배경 비율은 적어도 약 1.2이다.
- [0056] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 종양 대 배경 비율은 적어도 약 1.3이다.
- [0057] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 종양 대 배경 비율은 적어도 약 1.4이다.
- [0058] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 종양은 난소 종양이다.
- [0059] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 종양은 백금-저항성 난소 종양이다.

- [0060] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 종양은 폐 종양이다.
- [0061] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 종양은 폐의 비-소형 세포 암종(carcinoma)이다.
- [0062] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 EC145, EC20 또는 양자 모두의 어떤 것은 비경구적 제형이다.
- [0063] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 제형은 피내(intradermal), 피하(subcutaneous), 근육 내(intramuscular), 복막 내(intraperitoneal), 정맥 내(intravenous) 및 경막 내(intrathecal)로 구성되는 그룹으로부터 선택된다.
- [0064] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 EC145는 조성물로서 존재하며, 상기 조성물은 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다.
- [0065] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 EC20을 포함하는 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다.
- [0066] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 액상의 담체이다.
- [0067] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 담체는 식염수, 글루코스, 알콜, 글리콜, 에스테르, 아미드 및 그들의 조합으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0068] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 EC145는 치료적 유효량으로 투여된다.
- [0069] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 EC20은 치료적 유효량으로 투여된다. EC20에 대하여, 치료적 유효량은 진단적으로 유효한 양을 나타낸다.
- [0070] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 유효한 양은 체중의 킬로그램 당 약 1ng 부터 약 1mg 까지의 범위이다.
- [0071] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 유효한 양은 체중의 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 500 μg 까지의 범위이다.
- [0072] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 유효한 양은 체중의 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 50 μg 까지의 범위이다.
- [0073] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 종양은 초기의 종양이다.
- [0074] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 종양은 전이된 상태의(metastasized) 종양이다.
- [0075] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 EC20은 킬레이팅제 및 환원제를 사용하여 방사성 표지화된다.
- [0076] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 킬레이팅제는 소듐 α-D-글루코헵토네이트(sodium α-D-glucuheptonate)이다.
- [0077] 또 다른 실시예가 기재되며, 여기서 상기 환원제는 염화 주석(II) 이수화물(tin(II) chloride dihydrate)이다.
- [0078] 또 다른 실시예는 상기 환자에게 독소루비신을 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 것으로 기재된다. 일 실시예에서 상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신(PLD)의 형태이다.
- [0079] EC20에 대해 여기 기재되는 어떤 방법 또는 용도, 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염에 대한 대체적인 실시예는, 복합체화된 방사성 핵종으로서 갈륨(gallium), 인듐(indium), 구리(copper), 테크네튬(technetium) 및 레늄(rhenium)의 동위 원소들로 구성된 그룹으로부터 선택되는 방사성 핵종의 양이온을 포함하는 염산의-방사성 이미징 집합체이다.
- [0080] 모든 실시예들에 대하여, 실시예들의 어떤 적용 가능한 조합이 또한 고려된다. 상기 기재된 실시예들의 어떤 적용 가능한 조합은 본 발명에 따르는 것으로 간주된다.
- [0081] 본 발명에 따르면, EC20은 난소 종양들 또는 폐 종양들에 대한 방사성 핵종을 표적화하는 데에 및 나아가 상기 종양들 상에서 기능적으로 활성인 염산 수용체들을 검출하는 데에서의 용도를 위하여 상기 종양 내에 상기 방사성 핵종을 농축시키는 데에 사용될 수 있다. 놀랍게도, 출원인들은 상기 종양 상에서 임계값 수준의 기능적으로 활성인 염산 수용체의 발현(즉, 상기 종양 상에서의 기능적으로 활성인 염산 수용체들의 존재)이 EC145로의 치료를 위해 선택된 환자에 대한 임상적 이점과 관련되어 있다는 것을 발견하였다. 따라서, 본 발명에 따르면, 환자의 종양들 상에서 기능적으로 활성인 염산 수용체들의 존재를 결정하는 방법이 여기 기재된다. 이에 더하여, EC145로의 치료를 위해 환자를 선택하기 위한 방법들이 제공되며, 여기서 환자는, 상기 환자의 종양 상

에서 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출로부터 도출되는 예측된 임상적 이점을 기반으로 하여 치료를 위해 선택될 수 있다. 상기 환자에 대한 임상적 이점은 상기 환자의 진행-프리 생존, 상기 환자의 전체적 생존, 4 또는 초과 사이클들의 EC145로의 치료를 수용할 수 있는 능력, 종양 성장의 억제, 안정된 질병, 치료에 대한 상기 종양의 부분적 반응, 및/또는 치료에 대한 상기 종양의 완전한 반응을 포함한다. 상기 임계값 수준 이상의 엽산 수용체 발현은 예로서, 적어도 약 1.2, 적어도 약 1.3, 또는 적어도 약 1.4의 종양 대 배경 비율일 수 있거나 또는 시각적으로 검출될 수 있다(예를들면, 하기 기재되는 바와 같이 EC20++를 식별하기 위해 사용되는 시각적 검출). 따라서, 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출(즉, 예로서 종양 배경 비율로서 검출되거나 또는 시각적으로 검출되는 임계값 수준의 엽산 수용체 발현)은 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0082] 일 실시예에서, 상기 방법은 난소 종양들 또는 폐 종양들을 포함하여 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는 종양 타입들에 적용 가능하다. 또 다른 예시적인 실시예에서, 상기 방법은 백금-저항성의 난소 종양들에 적용 가능하다. 또한 또 다른 실시예에서, 상기 방법은 비-소형 세포 폐 암종에 적용 가능하다. 또 다른 예시적인 실시예에서, 상기 종양은 초기 종양일 수 있다. 또 다른 실시예에서, 상기 종양은 전이된 상태의 종양일 수 있다.

[0083] 일 실시예에서, 여기 기재되는 방법은 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 정량화하는 데에 사용된다.

[0084] 또 다른 실시예에서, 여기 기재되는 방법은 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한지를 결정하기 위해 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 정량화하는 데에 사용된다. 일 실시예에서, 상기 환자는, 선택적으로, 비표지화된 엽산으로 예비 주입될 수 있고, 및 그런 다음 종양 대 배경 비율을 결정하기 위하여 <sup>99m</sup>Tc-EC20으로 주입될 수 있다. 이러한 실시예에서, 종양 대 배경 비율은 환자에서 엽산의-방사성 영상 화제에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 종양과의 결합에 따라 <sup>99m</sup>Tc-EC20에 의해 생성되는 방사성 신호(예를들면 SPECT/CT 또는 SPECT 이미징)의 비율이다. 이러한 실시예에서, 종양 대 배경 비율은 예로서, 적어도 1.2일 수 있다. 대체적으로, 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 존재는, 예를들면 하기 기재되는 바와 같이 EC20++ 환자를 식별하기 위하여 시각적으로 결정될 수 있다.

[0085] 상기 임계적 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 발현은 상기 환자에 대한 임상적 이점과 연관되어 있을 수 있다. 상기 임상적 이점은 상기 환자의 진행-프리 생존, 상기 환자의 전체적 생존, 4 또는 초과 사이클들의 EC145로의 치료를 수용할 수 있는 능력, 종양 성장의 억제, 안정된 질병, 치료에 대한 상기 종양의 부분적 반응, 및/또는 치료에 대한 상기 종양의 완전한 반응을 포함한다. 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출(예를들면, 1.2의 종양 대 배경 비율로 반영되거나 또는 시각적으로 검출되는, 예를들면 하기 기재되는 바와 같이 EC20++ 환자를 식별하기 위해 사용되는 시각적 검출, 임계값 수준의 엽산 수용체 발현)은 EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0086] 상기 기재된 실시예에서, 종양 대 배경 비율은, 예로서 1.2, 1.3 또는 1.4일 수 있고, 또는 시각적으로 검출될 수 있다. 또 다른 예시적인 실시예에서, 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들은 예로서, SPECT/CT 또는 SPECT 이미지의 예비 결정된 영역에서의 시각적 검토, 및 <sup>99m</sup>Tc-EC20 섭취의 강도를, 예를들면 비섭취, 마일드한 섭취, 또는 두드러진 섭취로서 코드화 하는 것 및 치료를 위해 마일드한 섭취 또는 두드러진 섭취를 갖는 환자들을 선택하는 것에 의해 결정될 수 있다.

[0087] 나아가 또 다른 실시예에서, 빈카(vinca) 화합물과 연결된 엽산을 포함하는 접합체로의 치료를 위해 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자를 선택하는 방법이 기재된다. 상기 방법은 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 환자의 종양 상에 존재하는지를 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 환자는 만약 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 종양 상에서 검출된다면 엽산-빈카 화합물 접합체로의 치료를 위해 선택된다.

[0088] 또 다른 실시예에서, 빈카(vinca) 화합물과 연결된 엽산을 포함하는 접합체로의 치료를 위해 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자를 선택하는 방법이 기재된다. 상기 방법은 상기 환자에 대하여 방사성 영상화제와 연결된 엽산을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 환자는, 만약 상기 환자의 종양이 기능적으로 활성인 수용체들을 포함하고, 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 EC20으로 검출 가능한 것이라면, 상기 빈카 화합물과 연결된 엽산을 포함하는 접합체로의 치료를 위해 선택된다.

[0089] 또 다른 실시예에서, 빈카(vinca) 화합물과 연결된 엽산을 포함하는 접합체로의 치료를 위해 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자를 선택하는 방법이 기재된다. 상기 방법은 상기 환자에 대하여 방사성 영상화제와 연결된

엽산을 포함하는 접합체를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 환자는, 만약 상기 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 종양과의 결합에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 치료를 위하여 선택된다.

[0090] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 EC20은 비표지화된 엽산과 병용하여 환자에게 투여될 수 있다. "병용하여"는, 이미지 질을 향상시키기 위하여, 비표지화된 비타민이 상기 EC20과 함께 투여될 수 있거나 또는 상기 비표지화된 엽산이 상기 EC20의 투여 이전에 예비 주입될 수 있는 것을 의미한다. 예로서, 상기 EC20은, 약 70kg의 체중을 갖는 평균 환자에서, 약 0.5ng 비표지화된 엽산/kg 체중 내지 약 100mg 비표지화된 엽산/kg 체중, 또는 약 1 μg 비표지화된 엽산/kg 체중 내지 약 100mg 비표지화된 엽산/kg 체중, 또는 약 100 μg 비표지화된 엽산/kg 체중 내지 약 100mg 비표지화된 엽산/kg 체중, 또는 약 100 μg 비표지화된 엽산/kg 체중 내지 약 700 μg 비표지화된 엽산/kg 체중과 병용하여 투여될 수 있다.

[0091] 또 다른 실시예는 종양을 보유하는 환자가 그 환자의 종양 상에 존재하는 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하는 방법이다. 일 실시예에서, 상기 종양은 난소 종양 또는 폐 종양이다. 또 다른 실시예에서, 상기 종양은 초기의 종양 또는 전이된 상태의 종양이다. 추가적인 실시예에서, 상기 방법은, 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출을 위하여 환자에 대해 유효한 양의 Tc-EC20을 투여하는 것을 포함한다.

[0092] 여기 기재되는 방법들의 다른 실시예에서, 여기 기재되는 접합체들의 약학적으로 허용 가능한 염이 기재된다. 여기 기재되는 접합체들의 약학적으로 허용 가능한 염은 산성 부가물 및 그것의 염기성 염을 포함한다.

[0093] 적합한 산성 부가물 염들은 비-독성의 염들을 형성하는 산들로부터 형성된다. 예시적인 예들은 아세테이트(acetate), 아스파테이트(aspartate), 벤조에이트(benzoate), 베실레이트(besylate), 바이카보네이트(bicarbonate)/카보네이트(carbonate), 바이술페이트(bisulphate)/술페이트(sulphate), 보레이트(borate), 캄실레이트(camsylate), 시트레이트(citrate), 에디실레이트(edisylate), 에실레이트(esylate), 포메이트(formate), 푸마레이트(fumarate), 글루셉테이트(gluceptate), 글루코네이트(gluconate), 글루쿠로네이트(glucuronate), 헥사플루오로포스페이트(hexafluorophosphate), 히벤제이트(hibenzate), 하이드로클로라이드(hydrochloride)/클로라이드(chloride), 하이드로브로마이드(hydrobromide)/브로마이드(bromide), 하이드로요오드(hydroiodide)/요오드(iodide), 이세티오네이트(isethionate), 락테이트(lactate), 말레이트(malate), 말리에이트(maleate), 말로네이트(malonate), 메실레이트(mesylate), 메틸술페이트(methylsulphate), 나프틸레이트(naphthylate), 2-넵실레이트(2-napsylate), 니코티네이트(nicotinate), 니트레이트(nitrate), 오로테이트(orotate), 옥살레이트(oxalate), 팔미테이트(palmitate), 파모에이트(pamoate), 포스페이트(phosphate)/하이드로진 포스페이트(hydrogen phosphate)/디하이드로진 포스페이트(dihydrogen phosphate), 사카레이트(saccharate), 스테아레이트(stearate), 숙시네이트(succinate), 타르트레이트(tartrate), 토실레이트(tosylate) 및 트리플루오로아세테이트(trifluoroacetate) 염들을 포함한다.

[0094] 여기 기재되는 상기 접합체들의 적합한 염기성 염들은 비-독성 염들을 형성하는 염기들로부터 형성된다. 예시적인 예들은 아르기닌(arginine), 벤자틴(benzathine), 칼슘(calcium), 콜린(choline), 디에틸아민(diethylamine), 디올아민(diolamine), 글리신(glycine), 라이신(lysine), 마그네슘(magnesium), 메글루민(meglumine), 올아민(olamine), 포타슘(potassium), 소듐(sodium), 트로메타민(tromethamine) 및 아연(zinc) 염들을 포함한다. 또한 산들 및 염기들의 반염들(hemisalts), 예를 들어 헤미술페이트(hemisulphate) 및 헤미칼슘(hemicalcium) 염들이 형성될 수 있다.

[0095] 여기 기재되는 방법들의 다양한 실시예들에서, 상기 EC145는 단독으로 또는 하나 또는 초과와 다른 약물들(또는 그들의 어떤 조합)과 병용하여 투여될 수 있다. 하나의 예시적인 실시예에서, 상기 EC145는 독소루비신과 병용하여 투여될 수 있다. 하나의 예시적 실시예에서, 상기 EC145는 실시예 20에 기재되는 바와 같이 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 투여될 수 있다.

[0096] 일 실시예에서, 여기 기재되는 접합체들은 하나 또는 초과와 약학적으로 허용 가능한 담체들과 함께인 제형(formulation)으로서 투약될 수 있다. 상기 담체는 부형제(excipient)일 수 있다. 상기 담체의 선택은 투여의 특정한 모드, 용해도 및 안정성에 대한 상기 담체의 효과 및 투여 형태의 특성과 같은 요소들에 많은 정도로 의존될 수 있다. 여기 기재되는 접합체들의 전달에 적합한 약학 조성물 및 그들의 조제를 위한 방법은, 본 기술 분야에서 숙련된자들에게 용이하게 매우 명확할 것이다. 그러한 조성물 및 그들의 제조를 위한 방법들은, 여기 참조로서 포함된, 예로서, 레밍톤(Remington): 약학의 과학 및 실제(The Science & Practice of Pharmacy), 제 21판(Lippincott Williams & Wilkins, 2005)에서 발견될 수 있다.

- [0097] 하나의 예시적 면에서, 약학적으로 허용 가능한 담체는 생리학상으로 적합한, 용매들, 분산 매체, 코팅제들, 항 박테리아성 및 항진균성 제제들, 등장의(isotonic) 및 흡착 지연제들(absorption delaying agents) 등, 및 그들의 조합의 어떤 것 또는 모두를 포함한다. 어떤 실시예에서, 상기 담체는 비경구적 투여에 적합하다. 약학적으로 허용 가능한 담체들은 멸균의 수용액들 또는 분산액들 및 멸균의 주입 가능한 용액들 또는 분산액들의 즉흥적 조제(extemporaneous preparation)를 위한 멸균의 파우더들을 포함한다. 보충적인 활성의 화합물들 또한 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다.
- [0098] 다양한 실시예들에서, 액상 제형들은 현탁액들 및 용액들을 포함할 수 있다. 그러한 제형들은 담체, 예로서, 물, 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 메틸셀룰로오스 또는 적합한 오일 및 하나 또는 초과 유화제들(emulsifying agents) 및/또는 현탁제들(suspending agents)을 포함할 수 있다. 액상의 제형들은 또한 고체의 재구성(reconstitution)에 의해, 예로서 작은 봉지(sachet)로부터 제조될 수 있다.
- [0099] 하나의 실시예에서, 수성의 현탁액은 적합한 부형제들과의 혼합물 내에서 활성인 재료들을 포함할 수 있다. 그러한 부형제들은 현탁제들(suspending agents), 예로서, 소듐 카복시메틸셀룰로오스(sodium carboxymethylcellulose), 메틸셀룰로오스(methylcellulose), 하이드록시프로필메틸셀룰로오스(hydroxymethylcellulose), 소듐 알지네이트(sodium alginate), 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone), 검 트라가칸쓰(gum tragacanth) 및 검 아카시아(gum acacia); 분산제 또는 습윤제들(dispersing and wetting agents)로서 천연적으로-생성되는 포스파타이드(phosphatide), 예로서 레시틴(lecithin); 지방산(fatty acid)을 포함하는 알킬렌 옥사이드의 축중합 생성물, 예로서 폴리옥시에틸렌 스테아레이트(polyoxyethylene stearate); 장쇄 지방족 알콜을 포함하는 에틸렌 옥사이드의 축중합 생성물, 예로서 헵타데카에틸렌옥시세타놀(heptadecaethyleneoxycetanol); 지방산으로부터 유도된 부분적 에스테르(partial ester)를 포함하는 에틸렌 옥사이드와 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레아이트(polyoxyethylene sorbitol monooleate)와 같은 헥시톨(hexitol)의 축중합 생성물; 또는 지방산으로부터 유도된 부분적 에스테르(partial ester)를 포함하는 에틸렌 옥사이드와 무수 헥시톨(hexitol anhydrides)의 축중합 생성물, 예로서 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레아이트(polyoxyethylene sorbitan monooleate)이다. 수성의 현탁액은 또한 하나 또는 초과 보존제들(preservatives), 예로서 아스코브산(ascorbic acid), 에틸, n-프로필, 또는 p-하이드록시벤조에이트; 또는 하나 또는 초과 착색화제들(coloring agents)을 함유할 수 있다.
- [0100] 하나의 예시적인 실시예에서, 물의 첨가에 의한 수성의 현탁액의 제조를 위하여 적합한 분산 가능한 파우더들 및 과립들은 분산제 또는 습윤제, 현탁제 및 하나 또는 초과 보존제들과의 혼합물 내에서 활성인 성분을 제공한다. 부가적인 부형제들, 예를들어 착색화제가 또한 존재할 수 있다.
- [0101] 적합한 유화제들은 천연적으로-생성되는 검들, 예로서 검 아카시아(gum acacia) 또는 검 트라가칸쓰(gum tragacanth); 천연적으로-생성되는 포스파타이드(phosphatides), 예로서 소이빈 레시틴(soybean lecithin); 및 지방산으로부터 유도된 부분적 에스테르(partial ester) 및 무수 헥시톨(hexitol anhydrides)을 포함하는 에스테르, 예로서 소르비탄 모노올레아이트(sorbitan monooleate), 및 에틸렌 옥사이드를 함유하는 상기 부분적 에스테르들의 축중합 생성물들, 예로서 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레아이트(polyoxyethylene sorbitan monooleate)일 수 있다.
- [0102] 다른 실시예들에서, 등장제들(isotonic agents), 예로서 슈거(sugars), 만니톨(mannitol), 소르비톨(sorbitol)과 같은 폴리알콜(polyalcohols), 또는 염화 나트륨(sodium chloride)이 조성물 내에 포함될 수 있다. 주입 가능한 조성물들의 연장된 흡수는 상기 조성물 내에 흡수를 연장하는 시약, 예로서 모노스테아레이트(monostearate) 염들 및 젤라틴을 포함시킴으로써 도달될 수 있다.
- [0103] 일 면에서, 여기 기재되는 접합체들은 혈액의 흐름 내로, 근육 내로, 또는 내부 기관 내로 직접적으로 투여될 수 있다. 그러한 비경구적 투여의 적합한 경로들은 정맥 내(intravenous), 동맥 내(intraarterial), 복막 내(intraperitoneal), 경막 내(intrathecal), 경막 외(epidural), 대뇌실 내(intracerebroventricular), 요도 내(intraurethral), 흉골 내(intrasternal), 두 개골 내(intracranial), 종양 내(intratumoral), 근육 내(intramuscular) 및 피하(subcutaneous) 전달을 포함한다. 비경구적 투여의 적합한 수단들은 니들(마이크로 니들을 포함하는) 주사기들, 니들-프리 주사기들 및 융합 기술들(infusion techniques)을 포함한다.
- [0104] 하나의 예시적인 면에서, 비경구적 제형들은 담체들 또는 염들, 탄수화물들 및 버퍼링제들(buffering agents) (바람직하게 pH 3 내지 9의)과 같은 부형제들을 포함할 수 있는 전형적으로 수용액들이며, 그러나, 어떤 적용들에서는, 그들은 멸균의 비-수성 용액으로서 또는 멸균의, 발열원(pyrogen)-프리 물과 같은 적합한 운반체(vehicle)과의 결합에서 사용되기 위한 건조된 형태로서 더욱 적합하게 제형화될 수 있다. 다른 실시예들에서,

여기 기재되는 액상의 제형들의 어느 것은 여기 기재되는 접합체들의 비경구적 투여를 위해 개조될 수 있다. 멸균된 환경 하에서의 비경구적 제형들의 조제, 예로서, 멸균된 환경 하에서의 동결 건조(lyophilization)는 본 기술 분야에서 숙련된 자들에게 잘 알려진 표준화된 약제학적인 기술들을 사용하여 용이하게 달성될 수 있다. 일 실시예로서, 비경구적 제형의 제조에서 사용되는 접합체의 용해도는, 용해도-향상 제제들(solubility-enhancing agents)의 혼합과 같은 적당한 제형화 기술들의 사용에 의해 증가될 수 있다.

[0105] 다양한 실시예들에서, 비경구적 투여를 위한 제형들은 즉각적인 및/또는 변형된 방출을 위한 것으로 제형화될 수 있다. 하나의 예시적인 면에서, 본 발명의 활성 제제들은 시간 방출 제형(time release formulation)으로, 예로서 서방성 고분자를 포함하는 조성물로서 투여될 수 있다. 상기 활성 화합물들은, 이식 조직편들(implants) 및 미세 캡슐화된 전달 시스템을 포함하는 조절된 방출 제형과 같은, 속방(rapid release)에 대항하여 화합물을 보호하는 담체과 함께 준비될 수 있다. 에틸렌 비닐 아세테이트(ethylene vinyl acetate), 폴리언하이드라이드(polyanhydrides), 폴리글리콜산(polyglycolic acid), 콜라겐(collagen), 폴리오르소에스테르(polyorthoesters), 폴리 락트산(polylactic acid), 및 폴리 락틱(polylactic), 폴리 글리콜 코폴리머(polylactic, polyglycolic copolymers(PGLA))와 같은 생분해성, 생물 적합성 고분자들도 사용될 수 있다. 그러한 제형들의 제조를 위한 방법들이 본 기술 분야에서 숙련된 자들에게 일반적으로 알려져 있다. 또 다른 실시예에서, 여기 기재되는 접합체들 또는 상기 접합체들을 포함하는 조성물들은 적합하다면 연속적으로 투여될 수 있다.

[0106] 일 실시예에서, 키트가 제공된다. 만약 활성 화합물들의 조합이 투여된다면, 두 개 또는 초과 약학 조성물들은, 상기 조성물들의 연속적인 투여 또는 공동 투여에 적합한 키트의 형태로 결합될 수 있다. 그러한 키트는 두 개 또는 초과 분리된 약학 조성물들, 여기서 적어도 그들 중 하나는 여기 기재되는 접합체를 포함하며, 및 용기, 나뉘어진 병, 또는 나뉘어진 포일 팩트(packet)과 같은 상기 조성물들을 분리하여 보유하기 위한 수단들을 포함한다. 또 다른 실시예에서, 여기 기재되는 하나 또는 초과 접합체들을 포함하는 조성물들은, 환자 선택 및/또는 처치에 대한 상기 접합체들의 사용에 대한 설명서를 제공하는 라벨들을 포함하는 용기들 내로 제공된다.

[0107] 일 실시예에서, 멸균의 주입 가능한 용액들은 하나의 또는 조합의 상기 기재된 성분들을 포함하는 적당한 용매 내에서 요구되는 양으로 활성인 제제들을 혼합하고 이어서 여과된 멸균화에 의해 제조될 수 있다. 전형적으로, 분산액들은 상기 화합물을 분산 매개(dispersion medium) 및 상기 기재된 것들로부터의 어떤 부가적인 성분들을 포함하는 멸균된 운반체(vehicle) 내로 혼합함으로써 제조될 수 있다. 멸균의 주입 가능한 용액들의 제조를 위한 멸균의 파우더들의 경우에서, 조제의 바람직한 방법들은 진공 건조 및 동결 건조로서, 이들은 그것의 미리 멸균-여과된 용액으로부터 어떤 부가적인 바람직한 성분을 더하여 상기 활성 성분의 파우더를 수득하거나, 상기 성분들은 함께 멸균-여과될 수 있다.

[0108] 상기 조성물은 용액, 미세 현탁액, 리포솜 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 주문된 구조로서 제형화될 수 있다. 상기 담체는 예로서 물, 에탄올, 폴리올(예로서, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액상의 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그들의 적당한 혼합물들을 포함하는, 용매 또는 분산 매개일 수 있다. 일 실시예에서, 상기 적당한 흐름성(fluidity)은, 예로서 레시틴과 같은 코팅제의 사용에 의해, 분산의 경우에는 요구되는 파티클 사이즈의 관리에 의해, 및 계면활성제들의 사용에 의해 관리될 수 있다.

[0109] EC145를 투여하기 위한 효과적인 요양법(regimen)이 사용될 수 있다. 예로서, 상기 EC145는 단일 투여량으로서, 또는 나뉘어서 다중-투여량(multiple-dose)의 일일 요양법으로서 투여될 수 있다. 나아가, 어긋난 요양법(staggered regimen), 예로서 일주일에 1일 내지 5일이 일일 처치에 대한 대안으로서, 및 여기 기재되는 방법들의 목적을 위하여, 그러한 간헐적인(intermittent) 또는 어긋난 요양법이 일일 처치와 동일한 것으로 간주되고 또한 고려된다. 하나의 예시적인 실시예에서, 환자는 상기 종양을 제거하기 위하여 EC145의 다중의 주입들로 처치될 수 있다. 일 실시예에서, 상기 환자는 상기 EC145로 복수 회(바람직하게 약 2회 내지 약 50회까지), 예로서, 12-72 시간 간격으로 또는 48-72 시간 간격으로 주입될 수 있다. 상기 EC145의 부가적인 주입들은 최초 주입(들) 후 수 일 또는 수 개월의 간격에서 환자에게 주여될 수 있고, 상기 부가적인 주입들은 상기 암의 재발을 막을 수 있다.

[0110] 상기 EC145로의 처치에 대한 어떤 적합한 경로가 사용될 수 있다. 일 실시예에서, 개별적 투여량 및 투여량의 요양법들은 약 15mg의 한 달 동안 투여되는 총 투여량을 제공하도록 선택된다. 하나의 예시적인 예에서, 상기 EC145는 각 4 주 사이클의 주들 1, 2 및 3에는 일주일에 5일 투여되는 1회의 일일 투약으로, 및 주 4에는 투여되는 투약이 없는 것으로 투여된다. 대안적인 예로서, 상기 EC145는 각 4 주 사이클의 주 1, 및 주 3의, 일주일

에 3일 투여되는 1회의 일일 투약으로, 및 주 2 및 4에는 투여되는 투약이 없는 것으로 투여된다.

- [0111] 상기 EC145의 통합적(unitary) 일일 투여량은 환자 상태, 처치되는 질병의 상태, 상기 EC145의 분자량, 그것의 투여 경로 및 조직 분산, 및 방사성 치료 또는 병용 치료들 내의 부가적인 약물들과 같은 다른 치료적 처치법들의 공동-사용의 가능성에 의존하여 크게 달라질 수 있다. 환자에게 투여되는 유효한 양은 신체 표면 부위, 질량 및 환자 상태의 의사 평가를 기반으로 한다. 유효한 투여량은 예로서, 약 1ng/kg부터 약 1mg/kg까지, 약 1 $\mu$ g/kg부터 약 500 $\mu$ g/kg까지, 및 약 1 $\mu$ g/kg부터 약 100 $\mu$ g/kg까지의 범위일 수 있다. 이러한 투여량은 약 70kg의 평균 환자 몸무게를 기반으로 한다.
- [0112] 여기 기재되는 접합체들은 약 0.1ng/kg부터 약 1000 $\mu$ g/kg까지, 약 10ng/kg부터 약 1000 $\mu$ g/kg까지, 약 50ng/kg부터 약 1000 $\mu$ g/kg까지, 약 100ng/kg부터 약 1000 $\mu$ g/kg까지, 약 500ng/kg부터 약 1000 $\mu$ g/kg까지, 약 1ng/kg부터 약 500 $\mu$ g/kg까지, 약 1ng/kg부터 약 100 $\mu$ g/kg까지, 약 1 $\mu$ g/kg부터 약 50 $\mu$ g/kg까지, 약 1 $\mu$ g/kg부터 약 10 $\mu$ g/kg까지, 약 5 $\mu$ g/kg부터 약 500 $\mu$ g/kg까지, 약 10 $\mu$ g/kg부터 약 100 $\mu$ g/kg까지, 및 약 20 $\mu$ g/kg부터 약 200 $\mu$ g/kg까지, 약 10 $\mu$ g/kg부터 약 500 $\mu$ g/kg까지, 또는 약 50 $\mu$ g/kg부터 약 500 $\mu$ g/kg까지의 투여량으로 투여될 수 있다. 총 투여량은 단일의 또는 나뉘어진 투여량들로 투여될 수 있고, 및 의사의 지시에 따라 여기 주어진 전형적인 범위를 벗어날 수 있다. 이러한 투여량들은 약 70kg의 평균 환자 몸무게를 기반으로 한다. 의사는 유아들 및 노인들과 같이 그들의 체중이 이러한 범위를 벗어나는 피험자들에 대하여 투여량을 용이하게 결정할 수 있을 것이다.
- [0113] 여기 기재되는 접합체들은 하나 또는 초과인 키랄 센터(chiral center)들을 포함할 수 있거나, 또는 그렇지 않을 경우 다중의 입체 이성질체(stereoisomer)로서 존재할 수 있다. 따라서, 본 발명은 순수한 입체 이성질체들 및 거울상 이성질체(enantiomers), 편좌우 이성질체(diastereomers), 및 거울상 이성질체적으로 또는 편좌우 이성질체적으로 치우쳐진 혼합물들과 같은 입체 이성질체들의 혼합물을 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 여기 기재되는 접합체들은 기하학적 이성질체들로서 존재할 수 있다. 따라서, 본 발명은 순수한 기하학적 이성질체들 또는 기하학적 이성질체들의 혼합물들을 포함하는 것으로 이해된다.
- [0114] 여기 기재되는 접합체들은 용매화되지 않은 형태들 및 수화된 형태를 포함하는 용매화된 형태들로 존재할 수 있다. 일반적으로, 상기 용매화된 형태들은 용매화되지 않은 형태들과 동등하고 및 본 발명의 범위 내에 포함된다. 여기 기재되는 접합체들은 다중의 결정질 또는 비결정질로 존재할 수 있다. 일반적으로, 모든 물리적인 형태들은 본 발명에 의해 고려되는 용도들에 대해 동등하고 및 본 발명의 범위 내인 것으로 의도된다.
- [0115] 또 다른 실시예에서, EC145의 투여를 위한 조성물들 및/또는 투약의 형태들은 적어도 약 90%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%, 또는 약 99.5%의 순도를 갖는 EC145로부터 제조된다. 또 다른 실시예에서, EC145의 투여를 위한 조성물들 및/또는 투약의 형태들은 적어도 90%, 또는 95%, 또는 96%, 또는 97%, 또는 98%, 또는 99%, 또는 99.5%의 순도를 갖는 EC145로부터 제조된다.
- [0116] 또 다른 실시예에서, EC20의 투여를 위한 조성물들 및/또는 투약의 형태들은 적어도 약 90%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%, 또는 약 99.5%의 순도를 갖는 EC20으로부터 제조된다. 또 다른 실시예에서, EC20의 투여를 위한 조성물들 및/또는 투약의 형태들은 적어도 90%, 또는 95%, 또는 97%, 또는 98%, 또는 99%, 또는 99.5%의 순도를 갖는 EC20으로부터 제조된다.
- [0117] 또 다른 실시예에서, 방사성 표지화된 EC20의 투여를 위한 조성물들 및/또는 투약의 형태들은 적어도 약 90%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%, 또는 약 99.5%의 방사성 화학적(radiochemical) 순도를 갖는 EC20으로부터 제조된다. 또 다른 실시예에서, EC20의 투여를 위한 조성물들 및/또는 투약의 형태들은 적어도 90%, 또는 95%, 또는 96%, 또는 97%, 또는 98%, 또는 99%, 또는 99.5%의 순도를 갖는 EC20으로부터 제조된다.
- [0118] 여기 기재되는 바와 같이, 순도 결정은 중량 퍼센트, 몰 퍼센트 등을 기반으로 할 수 있다. 이에 더하여, 순도 결정은, 이에 한정되는 것은 아니나, 엽산(folic acid), 빈카 약물을 함유하지 않는 성분들을 포함하는 이황화물(disulfide), 산화 생성물들, 엽산을 함유하지 않는 이황화물 성분들 등과 같은 어떠한 예비 결정된 성분들의 부재 또는 실질적인 부재를 기반으로 할 수 있다. 또한 순도 결정은 여기 기재되는 방법들에 의해 정제된 화합물들 및 조성물들의 용액들에 적용 가능한 것으로 이해된다. 이러한 예들로서, 중량 퍼센트 및 몰 퍼센트 측정들을 포함하는 순도 측정은 용매를 배제한 용액의 성분들에 관계된다.
- [0119] 상기 EC145 및 상기 EC20의 순도는, 고압 또는 고성능 액상 크로마토그래피(high performance liquid chromatography(HPLC)), 핵자기 공명 분광기(nuclear magnetic resonance spectroscopy), TLC, UV 흡광도 분광기(UV absorbance spectroscopy), 형광 분광기(fluorescence spectroscopy) 등과 같은 다양한 크로마토그래피

또는 분광학적 기술들을 포함하는 어떤 통상의 기술을 사용하여 측정될 수 있다.

- [0120] 일 면에서, 처치에 대한 환자의 반응은 단단한 종양들에서의 반응 평가 기준(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors(RECIST)) 기준을 사용하여 특정화될 수 있다. 예시적으로, 상기 기준은 모든 표적 병변들에 대하여 가장 긴 직경의 측정을 고려하는, 오리지널 WHO 핸드북(3)으로부터 개조되어 온 것이다: 완전한 반응(complete response(CR))-모든 표적 병변들의 사라짐; 부분적 반응(partial response(PR))-가장 긴 직경의 기준선 합계를 참조로 하여, 표적 병변들의 가장 긴 직경의 합에서의 적어도 30%의 감소, 안정된 질병(stable disease(SD))-처치가 시작된 이후의 가장 긴 직경의 가장 작은 합계를 참조로 하여, 부분적 반응으로서 한정되기에 충분한 축소도, 진행 중인 질병으로서 한정되기에 충분한 증가도 아닌; 진행 중인 질병(progressive disease(PD))-처치가 시작된 이후에 또는 하나 또는 초과와 새로운 병변들의 나타남 이후에 가장 긴 직경의 가장 작은 합계를 참조로 하여, 표적 병변들의 가장 긴 직경의 합에서의 적어도 20%의 증가. 전체 질병 반응 비율(Overall disease response rate(ORR))은 가장 좋은 CR 또는 PR 반응에 도달한 환자들의 퍼센트로서 계산된다. 전체적인 질병 조절 비율(Overall disease control rate(DCR))은 가장 좋은 CR, PR 또는 SD 반응에 도달한 환자들의 퍼센트로서 계산된다.
- [0121] 또 다른 실시예에서, 상기 EC145는 멸균 용기 또는 패키지로 제공된다. 또 다른 실시예에서, EC20은 멸균 용기 또는 패키지로 제공된다.
- [0122] 일 실시예에서, EC145가 하나 또는 초과와 난소 종양들 또는 하나 또는 초과와 폐 종양들을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 난소 암을 가진 환자에서 엽산-수용체 상태를 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 EC145는 만약 상기 환자에서의 엽산-수용체 상태가 양성이라면 상기 환자의 처치를 위해 바람직한 것이다.
- [0123] 여기서 사용된 바와 같이, 환자들에서 사용될 때, 상기 용어 "EC20"은 EC20, 또는 프테로일- $\gamma$ -D-글루탐아미드- $\beta$ -L-2,3-디아미노프로피오닐-L-아스파틸-L-시스테인(pteroyl- $\gamma$ -D-glutamyl- $\beta$ -L-2,3-diaminopropionyl-L-aspartyl-L-cysteine) 또는  $^{99m}\text{Tc}$ 와 복합체와 되어 있는 프테로일- $\gamma$ -D-글루탐아미드- $\beta$ -L-2,3-디아미노프로피오닐-L-아스파틸-L-시스테인(pteroyl- $\gamma$ -D-glutamyl- $\beta$ -L-2,3-diaminopropionyl-L-aspartyl-L-cysteine)을 참조하며; 예로서, 상기 용어 " $^{99m}\text{Tc}$ -EC20"은 명시적으로 방사성  $^{99m}\text{Tc}$ 를 함유하는 복합체를 참조한다.
- [0124] 환자에서 엽산-수용체 상태는 만약 상기 환자에서의 하나 또는 초과와 종양들이 EC20과 결합할 수 있는 엽산 수용체들을 포함한다면 또는 상기 환자에서의 모든 종양들이 EC20과 결합할 수 있는 엽산 수용체들을 포함한다면 양성이다. 하나의 예시적인 예에서, 상기 엽산-방사성 영상화제 접합체는  $^{99m}\text{Tc}$ -EC20이다. 하기 실시예 25에 기재되는 바와 같은 중간 분석(interim analysis)의 시점에서, 완전히 EC20 "음성"이었던 8.7%의 환자들에 대하여 EC20으로 스캔되는 모든 난소 암 환자들의 91.3%가 "양성"이었다(EC20과 결합하는 적어도 하나의 종양 병변/영역을 함유하는 것에 의해 나타내어지는).
- [0125] 일 실시예에서, EC145가 하나 또는 초과와 난소 종양들 또는 하나 또는 초과와 폐 종양들을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 평가하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 환자 내에서 엽산 수용체 상태(예를들면, EC20++, EC20+, 또는 EC20-)를 시각적으로 결정하는 단계들을 포함하며, 여기서 엽산 수용체 상태는 상기 환자에서 엽산 수용체 양성인 것으로 평가된 종양들의 퍼센트의 측정을 기반으로 하고, 또한 여기서 상기 EC145는 상기 환자의 엽산 수용체 상태가 EC20++일 때 상기 환자의 처치를 위해 바람직하다. 예시적인 실시예에서, EC20++ 상태는 상기 환자에서 엽산 수용체 양성인 것으로 평가된 종양들의 퍼센트가 약 100%인 것을 의미한다. 다른 예시적인 면들에서, EC20++ 상태는 상기 환자에서 엽산 수용체 양성인 것으로 평가된 종양들의 퍼센트가 약 90%, 약 80%, 또는 약 70%인 것을 의미한다. 또 다른 면에서, EC20은 세미-양적의(semi-quantitative) 영상화제이다.
- [0126] 이러한 시각적 평가 실시예에서(시각적 검출), 병변들은 상기 환자가, 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는, 임계값 수준의 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하기 위해 시각적으로 평가된다. 일 면에서, 각 환자에서 분석을 위한 병변들(즉, 종양들)은 RECIST(v1.0) 기준을 따라 방사선 기사에 의해 선택된다. 후속적으로, 핵 의학 의사(즉, 판독자)는 각 평가 가능한 표적 병변에 대한 EC20의 섭취를 시각적으로 평가하고, "EC20 양성"(뚜드러진 섭취/마일드한 섭취)으로 또는 "EC20 음성"(비섭취)로 상기 섭취를 분류한다. 하나의 예시적인 예에서, 엽산-방사성 영상화제 접합체는  $^{99m}\text{Tc}$ -EC20이다. 상기 용어 "비섭취"는 근처의 조직과 비교하여 상기 표적 병변의 시각적 조사가 상기 표적 병변에서의 EC20의 섭취와 근처 조직에서의 EC20의 섭취가 구

분되지 않는 것으로 나타나는 것을 의미한다. 상기 용어 "마일드한 섭취"는 근처의 조직과 비교하여 상기 표적 병변의 시각적 조사가 상기 표적 병변에서의 EC20의 섭취와 근처 조직에서의 EC20의 섭취가 구분되는 것으로 나타나는 것을 의미한다. 상기 용어 "뚜드러진 섭취"는 근처의 조직과 비교하여 상기 표적 병변의 시각적 조사가 상기 표적 병변에서의 EC20의 섭취와 근처 조직에서의 EC20의 섭취가 뚜렷하게 구분되는 것으로 나타나는 것을 의미한다.

[0127] 이러한 실시예에서, 병변들은 평가 가능하거나 또는 비-평가 가능한 것일 수 있다. 일 실시예에서, 가장 긴 치수(LD)에서 1.5cm 미만의 병변은, 그러한 경우에 그들이 "양성"으로 특징화되는, 상기 핵 의학 감독자가, 그들을 EC20의 모호하지 않은 섭취를 갖는 것으로서 식별하지 않는 이상, "비-평가 가능한 것"으로 간주된다. 나아가, 어떤 기관들(예를들어, 간, 비장(spleen), 방광(bladder) 및 신장)은 고유의 높은 EC20 섭취를 갖는다. 그러한 기관들 내에 위치하는 표적 병변들은 "비-평가 가능한 것"으로 간주된다.

[0128] 또 다른 실시예에서, EC20 비-평가 가능한 병변들은 하기의 기준 중 하나에 부합된다: 1) 99mTc-EC20 SPECT 표적 병변 평가 상에서 "이미지되지 않음(not imaged)", 또는 "적용 가능하지 않음(not applicable)"로 2) EC20 섭취에 대해 음성이며 직경에 있어서 15mm 미만인 것으로 정의되거나 또는 3) 간, 신장/부신(adrenal gland), 비장(spleen), 또는 방광(bladder)에 위치하는 병변. EC20 평가 가능한 병변들은 하기 기준 중 하나에 부합된다: 1) EC20 섭취에 대해 양성인 것으로 정의되고, 2) EC20 섭취에 대해 음성인 것으로 및 직경에 있어서 15mm와 동일하거나 그보다 큰 것으로 정의되는 것.

[0129] 일 실시예에서, 환자들은 EC20 양성 병변들, EC20 음성 병변들의 관찰, 및/또는 상기 환자에서 비-평가 가능한 병변들을 기반으로 하여 그룹들로 지정된다(즉, 지정된 상태). 각 환자에 있어서 EC20 양성인 병변들의 퍼센트는 하기와 같이 계산된다: % EC20 양성 병변들=(EC20 양성 병변들의 수/EC20 음성 병변들의 수 + 비-평가 가능한 병변들의 수). 하나의 예시적인 예에서, 환자들은 EC20++, EC20+, EC20-로 표시되는 세 개의 그룹으로 지정되며- 여기서 EC20++ 그룹으로 지정되는 상기 환자들에서는 약 100%의 병변들이 EC20 양성이고; EC20+ 그룹으로 지정되는 상기 환자들에서는 약 1% 부터 약 99% 까지의 병변들이 EC20 양성이며; EC20- 그룹으로 지정되는 상기 환자들에서는 약 0%의 병변들이 EC20 양성이다. 또 다른 예시적인 예에서, 환자들은 EC20++, EC20+, EC20-로 표시되는 세 개의 그룹으로 지정되며- 여기서 EC20++ 그룹으로 지정되는 상기 환자들에서는 약 90%의 병변들이 EC20 양성이고; EC20+ 그룹으로 지정되는 상기 환자들에서는 약 11% 부터 약 89% 까지의 병변들이 EC20 양성이며; EC20- 그룹으로 지정되는 상기 환자들에서는 약 0% 부터 약 10% 까지의 병변들이 EC20 양성이다.

[0130] 상기 기재된 실시예에서, 만약 환자가 EC20++ 그룹에 있다면, EC145 처치에 대해 임상적 이점이 나타내어진다. 상기 환자에 있어서 임상적 이점은 상기 환자의 진행- 프리 생존, 상기 환자의 전체적 생존, 4 또는 초과 의 사이클들의 EC145로의 치료를 수용할 수 있는 능력, 종양 성장의 억제, 안정된 질병, 치료에 대한 상기 환자의 부분적 반응, 치료에 대한 상기 환자의 완전한 반응, 질병 조절(즉, 얻어지는 가장 좋은 결과는 완전한 반응, 부분적 반응, 또는 안정된 질병이다), 및/또는 전체적인 질병 반응(즉, 얻어지는 가장 좋은 결과는 완전한 반응 또는 부분적 반응이다)을 포함한다. 하나의 예시적인 예에서, 비-소형 세포 폐 암에 대해 처치되는 환자에 대하여 임상적 이점은 상기 처치의 개시 후 4 개월의 시점에서 결정된다. 또 다른 예시적인 예에서, 난소 암에 대해 처치되는 환자에 대하여 임상적 이점은 상기 처치의 개시 후 6 개월의 시점에서 결정된다.

[0131] 하나의 예시적인 예에서, 전체적 생존은 상기 환자가 프로토콜 처치를 받았던 첫째 날(C1D1)로부터 상기 환자의 죽은 날까지의 날짜의 수로서 정의되는 주어진 환자에 대한 죽음까지의 시간이다. 모든 사건의 죽음이 포함될 수 있으며, 상기 사건은 상기 환자가 아직 연구 약물을 섭취하고 있는 동안이라든지 상기 환자가 연구 약물을 지속하지 않은 이후라든지에 상관없다. 환자가 죽지 않았다면, 그러면 상기 데이터는, 어떤 것이든 최후인 최후의 연구 방문, 또는 최후의 연락 날짜, 또는 상기 환자가 생존하여 있는 것으로 알려진 최후의 날짜에서 삭제될 (censored) 수 있다.

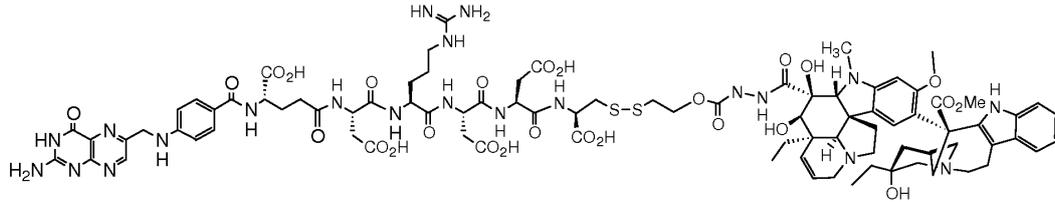
[0132] 하기 실시예 7에서 기재된 체외 연구에서, EC145 및 독소루비신은 상승 작용적으로 인간 암 KB 종양 세포들의 성장을 억제하는 것으로 보여져 왔다.

[0133] 메디슨(Madison) 109 폐 암종(M109), 하기 실시예 8에 기재되는 화학 치료 요법에 대해 상대적으로 저항성인 엽산 수용체(FR)가 (과)발현하는 상피적 종양을 함유하는 마우스에서의 연구에서는, 상품명 Doxil<sup>®</sup> 및 Caelyx<sup>®</sup> 의 peg화된 리포솜의 독소루비신(PLD)과 병용되는 EC145는 마일드한 체중의 감소와 함께 탁월한 항-종양 효과 및 치료 비율을 보이는 것으로 나타났다. 따라서, 일 실시예에서, 치료적 양의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양의 처치의 방법이 제공된다. 또 다른 실시예는 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양의 처치를 위한

여 독소루비신과 병용된 EC145의 용도이다. 추가적인 실시예는 환자에서 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양의, 독소루비신과 병용된 처치를 위한 약제의 제조를 위한 EC145의 용도이다.

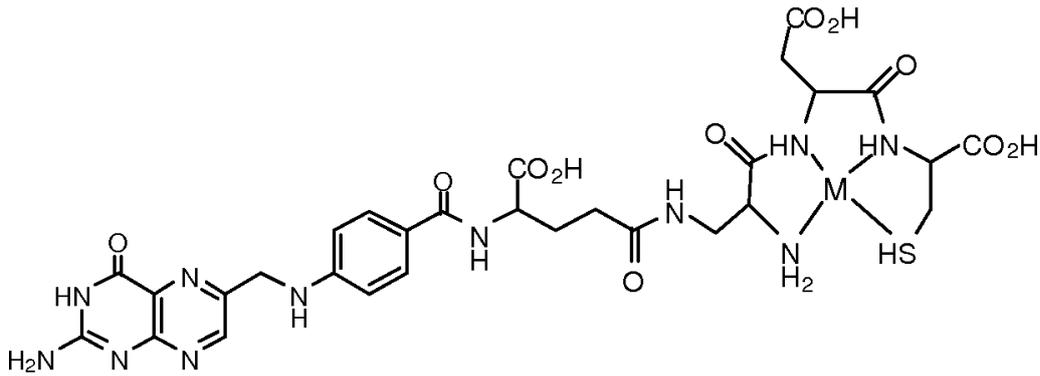
- [0134] 추가적인 실시예는 치료적 양의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양의 처치에서의 임상적 이점에 도달하는 방법이다. 일 실시예에서, 상기 임상적 이점은 진행-프리 생존이다. 또 다른 실시예에서, 상기 임상적 이점은 전체적 생존이다.
- [0135] 상기의 방법들 또는 용도들의 어느 것에 대하여, 일 실시예에서, 상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신의 형태이다.
- [0136] 상기의 방법들 또는 용도들의 어느 것에 대하여, 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양의 실시예는 난소 종양, 자궁 내막 종양 또는 비-소형 세포 폐 암(NSCLC) 종양이다. 상기의 방법들 또는 용도들의 어느 것에 대하여, 엽산 수용체가 발현하는 상피적 종양의 또 다른 실시예는 난소 종양이다.
- [0137] 초기의 백금-함유 시스템적 치료에 반응한다고 해도, 6 개월 미만의 처치-프리 간격 이후에 질병 진행을 경험하는 난소 암 환자들은 통상적으로, 백금-저항성(platinum-resistant) 질병으로 간주된다. 이러한 환자들은 초기의 백금 치료를 실패한 것으로 간주된다. 부가적인 환자들의 그룹은 초기의 백금-함유 시스템적 치료에 대해 반응하고 치료 후 6 개월보다 길게 진행할 수 있다. 이러한 환자들은 부가적인 백금-함유 치료를 받을 수 있다고 하더라도, 2차 백금 치료를 받는 중에 또는 받은 후 6 개월 이내에 진행할 수 있다. 또한 백금 저항성으로 간주되어, 이러한 환자들은 2차적 백금 치료를 실패한 것으로 간주된다.
- [0138] 백금-저항성 질병을 갖는 환자들은 제한된 수의 치료적 선택을 가지며, 또한 종종, 그들의 질병인 백금-기반의 화학적 치료 요법 이후에 진행되었거나 또는 재발한 난소 암을 갖는 환자들을 위한, 토폠테칸(topotecan), 겐시타빈(gemcitabin) 및 peg화된 리포솜의 독소루비신(PLD); 가장 마지막 것은 미국에서는 상품명 Doxil<sup>®</sup> 및 나머지 지역에서는 상품명 Caelyx<sup>®</sup>로 승인된, 과 같은 제재를 받는다. 실제로, PLD는 재발된 백금-저항성 난소 암을 가진 환자들을 위한 처치로서 자주 사용된다. PLD는, 광범위한 항 종양 활성을 갖는 것으로 알려진, 독소루비신의 폴리에틸렌 글리콜 리포솜의 캡슐화, 안트라사이클린(anthracycline) 위치 이성화 효소(topoisomerase) 억제제이다. 상기 리포솜의 캡슐화는 모 화합물(parent compound)에 대하여, 연장된 순환 반감기를 포함하는 변형된 약물 동태학(pharmacokinetics)을 제공한다(Doxil<sup>®</sup>Package Insert 참조).
- [0139] 일 실시예에서, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치의 방법이 제공된다. 또 다른 실시예는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치를 위하여 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 EC145의 용도이다. 추가적인 실시예는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 처치를 위한 약제의 제조를 위한 EC145의 용도이다.
- [0140] 추가적인 실시예에서, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치에서의 임상적 이점에 도달하는 방법이 제공된다. 일 실시예에서, 상기 임상적 이점은 진행-프리 생존이다. 또 다른 실시예에서, 상기 임상적 이점은 전체적 생존이다.
- [0141] 본 발명의 추가적인 실시예에서, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신 또는 peg화된 리포솜의 형태가 아닌 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 백금-민감성 난소 암의 처치의 방법이 제공된다. 추가적인 실시예는 환자에 있어서 백금-민감성 난소 암의 peg화된 리포솜의 독소루비신 또는 peg화된 리포솜의 형태가 아닌 독소루비신과 병용된 처치를 위한 약제의 제조를 위한 EC145의 용도이다.
- [0142] 추가적인 실시예는 분리된 용기들 내에 치료적 양의 EC145 및 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신을 포함하는 키트이다.

[0143] 어떤 방법, 용도 또는 키트를 위한 또 다른 실시예에서, 상기 EC145는 하기 식을 갖는 화합물

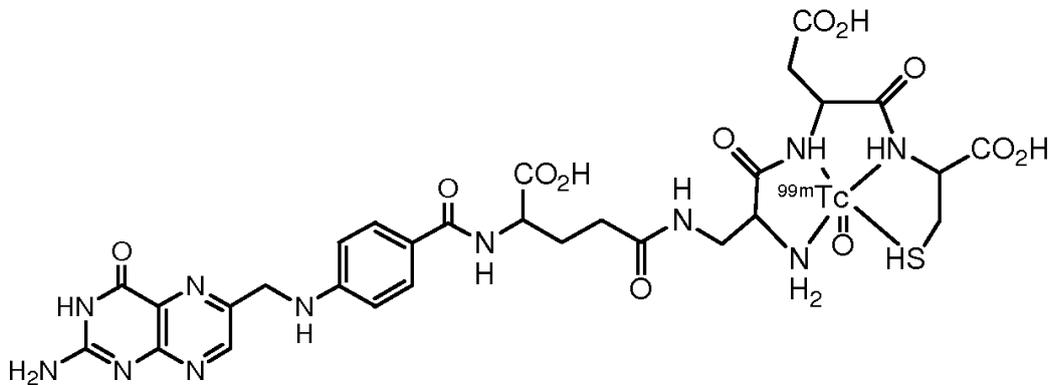


- [0144] 또는 그것의 약학적으로 허용되는 염이다.
- [0145] 여기 사용된 바와 같이, EC145는 프로톤화된 형태를 포함하는 이온화된 형태의 용액상 또는 현탁액 상으로 존재할 수 있다.
- [0147] 일 실시예에서, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치의 방법이 제공된다. 또 다른 실시예에서, 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치를 위하여 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 EC145의 용도가 제공된다. 추가적인 실시예에서, 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 처치를 위한 약제의 제조를 위한 EC145의 용도가 제공된다.
- [0148] 추가적인 실시예에서, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신으로의 처치와 비교하여, 그것이 요구되는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치에서의 임상적 이점에 도달하는 방법이 제공된다. 일 실시예에서, 상기 임상적 이점은 진행-프리 생존이다. 또 다른 실시예에서, 상기 임상적 이점은 전체적 생존이다.
- [0149] 백금-저항성 난소 암의 처치에서 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 EC145의 유용성은 하기 예들에서 제공되는 임상적 실험 결과들 및 도면들에서 보여진다.
- [0150] peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 EC145를 사용하여 백금-저항성 난소 암의 처치에 관하여 상기 기재된 어떤 방법 또는 용도에 대하여, 일 실시예는 EC145의 순도가 적어도 90%인 것이다. 또 다른 실시예는 상기 EC145가 수성의 멸균된 제형으로 제공되며, 그것의 성분들이 일염기성 인산 나트륨 일수화물(monobasic sodium phosphate monohydrate), 이염기성 이인산 나트륨 이수화물(dibasic disodium phosphate dihydrate), 염화 나트륨(sodium chloride), 염화 칼륨(potassium chloride) 및 주입을 위한 물을 포함하는 것이다.
- [0151] 추가적인 실시예는 상기 처치가 장 요양법(bowel regimen)을 포함하는 것이다. 제안되는 진보하는 장 요양법은 카니 MT, 마이어 DE.(Carney MT, Meier DE.)로부터 변형된 것일 수 있다. 말기 암 환자 케어(Palliative care) 및 최후의 문제들(end-of-life issues). 북미 마취학 강좌(Anaesthesiol Clin North America) 2000;18:183.
- [0152] 일 실시예에서, 상기 장 요양법은 도쿠세이트(Docusate) 100mg을 하루에 두 번(b.i.d) 및 세나(Senna) 1 타블렛을 하루에 한 번(q.d.) 또는 b.i.d. 투여하는 것을 포함한다.
- [0153] 일 실시예에서, 상기 장 요양법은 도쿠세이트(Docusate) 100mg b.i.d, 세나(Senna) 2 타블렛 b.i.d. 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories)을 아침 식사 후 1-2 투여하는 것을 포함한다.
- [0154] 일 실시예에서, 상기 장 요양법은 도쿠세이트(Docusate) 100mg b.i.d, 세나(Senna) 3 타블렛 b.i.d. 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories)을 아침 식사 후 3-4 투여하는 것을 포함한다.
- [0155] 일 실시예에서, 상기 장 요양법은 도쿠세이트(Docusate) 100mg b.i.d, 세나(Senna) 4 타블렛 b.i.d., 락툴로스(Lactulose) 또는 소르비톨(sorbitol) 15mL b.i.d. 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories)을 아침 식사 후 3-4 투여하는 것을 포함한다.
- [0156] 일 실시예에서, 상기 장 요양법은 도쿠세이트(Docusate) 100mg b.i.d, 세나(Senna) 4 타블렛 b.i.d., 락툴로스(Lactulose) 또는 소르비톨(sorbitol) 30mL b.i.d. 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories)을 아침 식사 후 3-4 투여하는 것을 포함한다.
- [0157] 일 실시예에서, 상기 장 요양법은 도쿠세이트(Docusate) 100mg b.i.d, 세나(Senna) 4 타블렛 b.i.d., 락툴로스(Lactulose) 또는 소르비톨(sorbitol) 30mL q.i.d. 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories)을 아침 식사 후 3-4 투여하는 것을 포함한다.

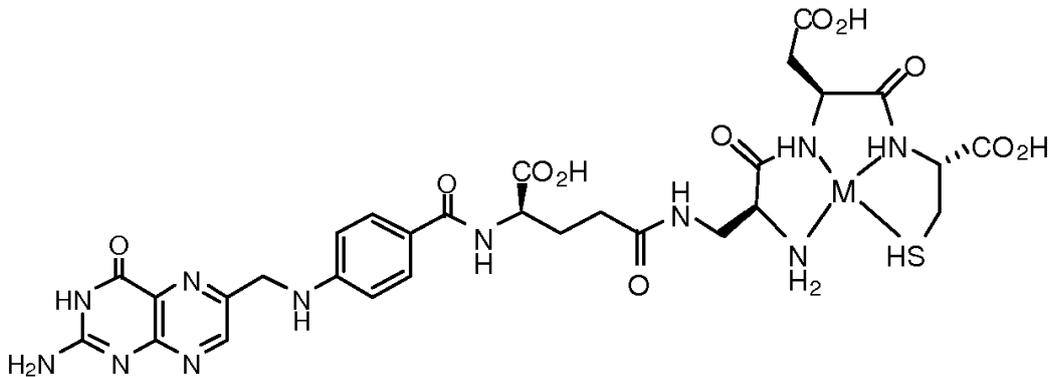
- [0158] peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 EC145를 사용하여 백금-저항성 난소 암의 처치에 관하여 상기 기재된 어떤 방법 또는 용도에 대하여, 부가적인 실시예는 처치 전에 환자에 대해 EC20을 투여하고 및 EC20++ 상태를 갖는 환자를 평가하는 것을 추가적으로 포함하는 것이다.
- [0159] 추가적인 실시예에서, peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 EC145를 사용하여 백금-저항성 난소 암의 처치에 관하여 상기 기재된 어떤 방법 또는 용도에서 기재된 바와 같이 처치를 위하여 환자를 선택하는, 처치 이전에 환자에 대해 EC20을 투여하는 것 및 EC20++ 상태를 갖는 환자를 평가하는 것을 포함하는 방법이 제공된다.
- [0160] 추가적인 실시예에서, 수성의 멸균된 액상 제형 내의 EC145를 포함하는 약학 조성물이 제공되며, 그것의 성분들은 일염기성 인산 나트륨 일수화물(monobasic sodium phosphate monohydrate), 이염기성 이인산 나트륨 이수화물(dibasic disodium phosphate dihydrate), 염화 나트륨(sodium chloride), 염화 칼륨(potassium chloride) 및 주입을 위한 물을 포함한다.
- [0161] 추가적인 실시예에서, 2.0mL의 수성의 멸균된 액상 제형, pH 7.4로서 정맥 내 투여를 위한 EC145 약물 생성물을 포함하는 투약 유닛이 제공되며, 투약 유닛은 1.4mg/mL의 EC145를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 투약 유닛은 앰플(ampoule), 밀봉된 바이알(vial) 또는 예비 충전된 주사기이다. 또 다른 실시예에서, 상기 투약 유닛은 밀봉된 바이알(vial)이다.
- [0162] 본 발명의 실시예들은 하기의 열거된 조항들에 의해 추가적으로 기재된다:
- [0163] 1. EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 기능적으로 활성인 염산 수용체들이 상기 환자의 종양 상에 존재하는지를 결정하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 EC145는 만약 기능적으로 활성인 염산 수용체들이 상기 종양 상에 존재한다면 상기 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인 방법. 2. 추가적으로 상기 기능적으로 활성인 염산 수용체들의 검출을 위해 상기 환자에게 EC20을 투여하는 단계를 포함하는 조항 1의 방법. 3. 상기 EC20의 투여 이전에 비표지화된 염산을 상기 환자에게 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 조항 2의 방법. 4. 상기 EC145는, 상기 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 종양에 대한 결합에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 상기 종양을 보유하는 환자들을 위하여 바람직한 것인 조항 2 또는 조항 3의 방법. 5. 상기 임상적 이점은 환자의 진행-프리-생존인 조항 4의 방법. 6. 상기 임상적 이점은 종양 성장의 억제인 조항 4의 방법. 7. 상기 임상적 이점은 안정된 질병, 부분적 반응, 및 완전한 반응으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 4의 방법. 8. 상기 기능적으로 활성인 염산 수용체들의 발현의 수준은 배경 방사성 신호에 대한 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호의 종양 대 배경 비율을 기반으로 하여 정량화되는 것인 조항 4의 방법. 9. 상기 종양 대 배경 비율이 적어도 약 1.2인 조항 8의 방법. 10. 상기 종양 대 배경 비율이 적어도 약 1.3인 조항 8의 방법. 11. 상기 종양 대 배경 비율이 적어도 약 1.4인 조항 8의 방법. 12. 상기 종양이 난소 종양인 조항들 1 내지 11 중 어느 것의 방법. 13. 상기 종양이 백금-저항성 난소 종양인 조항 12의 방법. 14. 상기 종양이 폐 종양인 조항들 1 내지 11 중 어느 것의 방법. 15. 상기 종양이 폐의 비-소형 세포 암종인 조항 14의 방법. 16. 상기 EC145, 상기 EC20 또는 양자 중 어느 것이 비경구적 제형인 것인 조항들 1 내지 15 중 어느 것의 방법. 17. 상기 제형이 피내(intradermal), 피하(subcutaneous), 근육 내(intramuscular), 복막 내(intraperitoneal), 정맥 내(intravenous) 및 경막 내(intrathecal)로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 16의 방법. 18. 상기 EC145가 조성물 내에 있고, 및 상기 조성물은 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것인 조항들 1 내지 17 중 어느 것의 방법. 19. 상기 EC20을 포함하는 조성물이 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것인 조항들 2 내지 18 중 어느 것의 방법. 19a. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체가 액상의 담체인 조항 18 또는 19의 방법. 19b. 상기 액상의 담체가 식염수, 글루코스, 알콜, 글리콜, 에스테르, 아미드 및 그들의 조합으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 19a의 방법. 20. 상기 EC145가 치료적 유효량으로 투여되는 것인 조항들 1 내지 19b 중 어느 것의 방법. 21. 상기 EC20이 치료적 유효량으로 투여되는 것인 조항들 2 내지 20 중 어느 것의 방법. 21a. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 1ng 부터 약 1mg 까지의 범위인 조항 20 또는 21의 방법. 21b. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 500 $\mu$ g 까지의 범위인 조항 21a의 방법. 21c. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 50 $\mu$ g 까지의 범위인 조항 21b의 방법. 21d. 상기 종양이 초기 종양인 조항들 1 내지 21c 중 어느 것의 방법. 21e. 상기 종양이 전이된 상태의 종양인 조항들 1 내지 21c 중 어느 것의 방법. 21f. 상기 염산-방사성 이미징 접합체로서의 EC20이 하기 식을 갖는 화합물



[0164] 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염에 의해 대체되고; 여기서 M은 방사성 핵종의 양이온인 것인 조항들 1 내지 21e 또는 조항들 24 내지 25y 중 어느 것의 방법. 21g. 상기 염산-방사성 이미징 접합체가 하기 식을 갖는 화합물



[0165] 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염인 조항 21f의 방법. 21h. 상기 염산-방사성 이미징 접합체가 하기 식을 갖는 화합물



[0166] 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염인 조항 21f의 방법. 21i. M이 갈륨(gallium), 인듐(indium), 구리(copper), 테크네튬(technetium) 및 레늄(rhenium)의 방사성 동위 원소들로 구성된 그룹으로부터 선택되는 조항 21f 또는 21h의 방법. 21j. M이 방사성 테크네튬(technetium)의 동위 원소인 조항 21i의 방법. 21k. 상기 염산-방사성 영상화제 접합체가 킬레이팅제 및 환원제를 사용하여 방사성 표지화되는 것인 조항 21g 또는 21h의 방법. 21l. 상기 킬레이팅제가 소듐 α-D-글루코헵토네이트(sodium α-D-glucoheptonate)인 조항 21k의 방법. 21m. 상기 환원제가 염화 주석(II) 이수화물(tin(II) chloride dihydrate)인 조항 21k 또는 21l의 방법. 21n. 상기 환주에게 peg화된 리포솜의 독소루비신을 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 조항들 1 내지 21m 또는 조항들 24 내지 25y 중 어느 것의 방법. 22. 상기 환주에게 독소루비신을 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 조항들 1 내지 21n 중 어느 것의 방법. 23. 상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신의 형태인 조항 22의 방법. 24. EC145가 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 상기 환주에게 EC20을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 EC145는 만약 상기 환자의

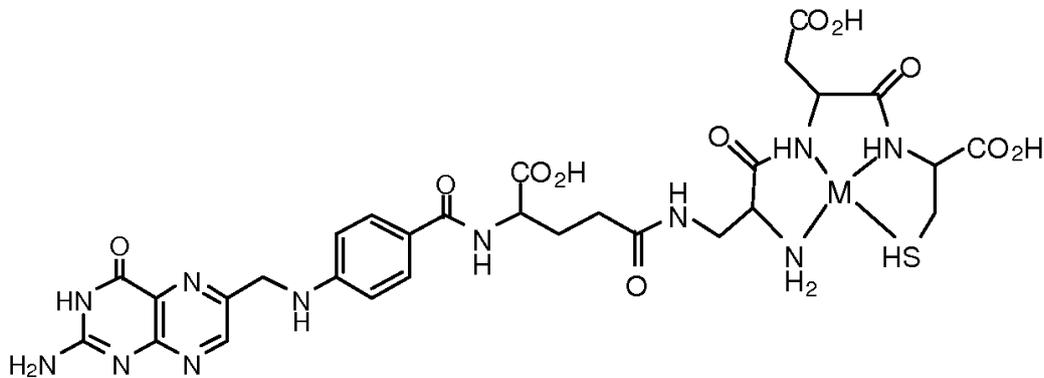
중양이 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하고 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 EC20으로 검출 가능한 것이라면 상기 중양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인 방법. 25. 상기 EC의 투여 이전에 환자에게 비표지화된 엽산을 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 조항 24의 방법. 25a. EC145는 만약 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 중양에 대한 결합에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 상기 중양을 보유하는 환자들에 대한 처치를 위해 바람직한 것인 조항 25의 방법. 25b. 상기 임상적 이점은 상기 환자의 진행-프리 생존인 조항 25a의 방법. 25c. 상기 임상적 이점은 중양 성장의 억제인 조항 25a의 방법. 25d. 상기 임상적 이점은 안정된 질병, 부분적 반응, 및 완전한 반응으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 25a의 방법. 25e. 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 발현의 수준은 배경 방사성 신호에 대한 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호의 중양 대 배경 비율을 기반으로 하여 정량화되는 것인 조항 25a의 방법. 25f. 상기 중양 대 배경 비율이 적어도 약 1.2인 조항 25e의 방법. 25g. 상기 중양 대 배경 비율이 적어도 약 1.3인 조항 25e의 방법. 25h. 상기 중양 대 배경 비율이 적어도 약 1.4인 조항 25e의 방법. 25i. 상기 중양이 난소 중양인 조항들 24 내지 25h 중 어느 것의 방법. 25j. 상기 중양이 백금-저항성 난소 중양인 조항 25i의 방법. 25k. 상기 중양이 폐 중양인 조항들 24 내지 25h 중 어느 것의 방법. 25l. 상기 중양이 폐의 비-소형 세포 암종인 조항들 24 내지 25i 중 어느 것의 방법. 25m. 상기 EC145, 상기 EC20 또는 양자 중 어느 것이 비경구적 제형인 것인 조항들 24 내지 25l 중 어느 것의 방법. 25n. 상기 제형이 피내(intradermal), 피하(subcutaneous), 근육 내(intramuscular), 복막 내(intraperitoneal), 정맥 내(intravenous) 및 경막 내(intrathecal)로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 25m의 방법. 25o. 상기 EC145가 조성물 내에 있고, 및 상기 조성물은 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것인 조항들 24 내지 25n 중 어느 것의 방법. 25p. 상기 EC20이 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것인 조항들 24 내지 25o 중 어느 것의 방법. 25q. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체가 액상의 담체인 조항 25o 또는 25p의 방법. 25r. 상기 액상의 담체가 식염수, 글루코스, 알콜, 글리콜, 에스테르, 아미드 및 그들의 조합으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 25q의 방법. 25s. 상기 EC145가 치료적 유효량으로 투여되는 것인 조항들 24 내지 25r 중 어느 것의 방법. 25t. 상기 EC20이 치료적 유효량으로 투여되는 것인 조항들 24 내지 25s 중 어느 것의 방법. 25u. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 1ng 부터 약 1mg 까지의 범위인 조항 25s 또는 25t의 방법. 25v. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 500 $\mu$ g 까지의 범위인 조항 25u의 방법. 25w. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 50 $\mu$ g 까지의 범위인 조항 25v의 방법. 25x. 상기 중양이 초기 중양인 조항들 24 내지 25w 중 어느 것의 방법. 25y. 상기 중양이 전이된 상태의 중양인 조항들 24 내지 25w 중 어느 것의 방법. 26. 상기 환자에게 독소루비신을 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 조항 24 또는 25의 방법. 27. 상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신의 형태인 조항 26의 방법. 28. EC145로의 치료에 대한 환자의 난소 중양 또는 폐 중양의 반응을 예측하는 방법으로, 상기 방법은 a) 상기 환자에게 EC20을 투여하는 것으로, 여기서 상기 EC20은 방사성 신호를 생성하고; b) 상기 중양에 대한 상기 EC20의 결합에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호를 정량하는 것; c) 상기 EC20에 의해 생성된 배경 방사성 신호를 정량하는 것; d) 상기 배경 방사성 신호에 대하여 상기 중양에 대한 상기 EC20의 결합에 의해 생성된 방사성 신호를 비교하는 것; 및

[0167]

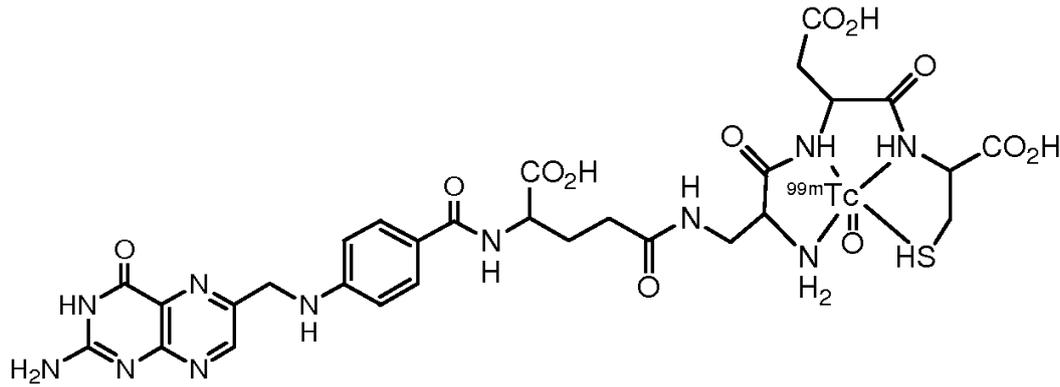
e) 상기 비교를 기반으로 하여 상기 치료에 대한 상기 중양의 반응을 예측하는 것의 단계들을 포함한다. 29. 15mg/개월의 EC145가 투여되는 것인 조항들 1 내지 28 중 어느 것의 방법. 30. 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치의 방법. 31. 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 처치를 위하여 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 EC145의 용도. 32. 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 처치를 위한 약제의 제조를 위한 EC145의 용도. 33. 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는, 그것이 요구되는 환자에 있어서 백금-저항성 난소 암에 대한 처치에서 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신으로의 처치와 비교되는 임상적 이점을 얻는 방법. 34. 임상적 이점은 진행-프리 생존인 조항 33의 방법. 35. 상기 임상적 이점은 전체적 생존인 조항 33의 방법. 36. EC145의 순도가 적어도 90%인 조항들 30 내지 35 중 어느 것의 방법 또는 용도. 37. 상기 EC145는 수성의 멸균된 액상 제형으로 제공되고, 그것의 성분들은 일염기성 인산 나트륨 이수화물(monobasic sodium phosphate monohydrate), 이염기성 이인산 나트륨 이수화물(dibasic disodium phosphate dihydrate), 염화 나트륨(sodium chloride), 염화 칼륨(potassium chloride) 및 주입을 위한 물을 포함하는 것인 조항들 30 내지 35 중 어느 것의 방법 또는 용도. 38. 상기 처치가 추가적으로 장 요양법을 포함하는 것인 조항 30 내지 35 중 어느 것의 방법 또는 용도. 39. 상기 EC145가 약 10 내지 20 초에 걸쳐 환약(bolus)으로 투여되는 것인 조항들 30 내지 38 중 어느 것의 방법 또는 용도. 40. 처치 이전에 환자에 대해 EC20을 투여하는 것 및 EC20++ 상태를 갖는 환자

를 평가하는 것을 추가적으로 포함하는 조항들 30 내지 39 중 어느 것의 방법 또는 용도. 41. 처치 이전에 환자에 대해 EC20을 투여하는 것 및 EC20++ 상태를 갖는 환자를 평가하는 것을 포함하는 조항들 30 내지 39 중 어느 것에 기재된 바와 같은 처치를 위한 환자를 선택하는 방법. 42. 수성의 멸균된 액상 제형 내의 EC145를 포함하는 약학 조성물로서, 그것의 성분들은 일염기성 인산 나트륨 일수화물(monobasic sodium phosphate monohydrate), 이염기성 이인산 나트륨 이수화물(dibasic disodium phosphate dihydrate), 염화 나트륨(sodium chloride), 염화 칼륨(potassium chloride) 및 주입을 위한 물을 포함하는 약학 조성물. 43. 2.0mL의 수성의 멸균된 액상 제형, pH 7.4로서 정맥 내 투여를 위한 EC145 약물 생성물을 포함하는 투약 유닛을 포함하며, 투약 유닛은 1.4mg/mL의 EC145를 포함하는 투약 유닛. 44. 앰플(ampoule), 밀봉된 바이알(vial) 또는 예비 충전된 주사기인 조항 43의 투약 유닛. 45. 밀봉된 바이알(vial)인 조항 44의 투약 유닛. 46. 종양을 보유하는 환자가 상기 환자의 종양 상에 존재하는 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 포함하는지를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 검출을 위하여 상기 환자에 대해 유효한 양의 EC20을 투여하는 단계를 포함하는 방법. 47. 상기 종양은 난소 종양 또는 폐 종양인 조항 46의 방법. 48. 상기 종양은 초기의 종양 또는 전이된 상태의 종양인 조항 46의 방법. 49. 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 시각적으로 검출되는 것인 조항들 1-3, 24-27, 또는 46-48 중 어느 것의 방법. 50. 기능적으로 활성인 엽산 수용체들의 시각적 검출이 상기 환자의 엽산 수용체 상태를 결정하는 데 사용되는 것인 조항 49의 방법. 51. 상기 환자의 엽산 수용체 상태는 EC20++, EC20+, 및 EC20-로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 50의 방법. 52. 상기 엽산 수용체 상태가 EC20++인 조항 51의 방법. 53. EC145로의 처치가 바람직한 것인 조항 52의 방법. 54. EC20++ 상태가 상기 환자에 대한 임상적 이점과 연관된 것인 조항 52의 방법. 55. 상기 임상적 이점은 질병 조절 비율인 조항 54의 방법. 56. 상기 임상적 이점은 전체적 질병 반응 비율인 조항 54의 방법. 57. 상기 임상적 이점은 전체적 생존인 조항 54의 방법. 58. 치료적 양의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는 그것이 요구되는 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양의 처치 방법. 59. 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양의 처치를 위한 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 EC145의 용도. 60. 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용된 처치를 위한 약제의 제조를 위한 EC145의 용도. 61. 치료적 양의 peg화된 리포솜의 독소루비신과 병용하여 치료적 양의 EC145를 투여하는 것을 포함하는 그것이 요구되는 환자에 있어서 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양에 대한 처치에서 임상적 이점에 도달하는 방법. 62. 임상적 이점은 진행-프리 생존인 조항 61의 방법. 63. 상기 임상적 이점은 전체적 생존인 조항 61의 방법. 64. 상기 독소루비신은 peg화된 리포솜의 독소루비신의 형태인 조항들 58 내지 63 중 어느 것의 방법 또는 용도. 65. 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양, 자궁 내막 종양 또는 비-소형 세포 폐암(NSCLC) 종양인 조항들 58 내지 64 중 어느 것의 방법 또는 용도. 66. 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양인 조항들 65의 방법 또는 용도. 67. 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양, 자궁 내막 종양 또는 비-소형 세포 폐암(NSCLC) 종양인 조항 64의 방법 또는 용도. 68. 엽산 수용체가 발현하는 상피성 종양은 난소 종양인 조항들 67의 방법 또는 용도. 80A. EC145, 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염이 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자의 처치를 위해 바람직한 것인지를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 상기 환자에게 EC20을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 EC145는 만약 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 종양에 대한 결함에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 상기 종양을 보유하는 환자들의 처치를 위해 바람직한 것인 방법. 80B. EC145로의 치료를 위하여 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자를 선택하는 방법으로, 상기 방법은 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 환자의 종양 상에 존재하는지를 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 환자는 만약 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 상기 종양 상에서 검출된다면 EC145로의 치료를 위해 선택되는 방법. 80C. EC145로의 치료를 위하여 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자를 선택하는 방법으로, 상기 방법은 상기 환자에게 EC20을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 환자는 만약 상기 환자의 종양이 기능적으로 활성인 엽산 수용체들을 가지고, 상기 기능적으로 활성인 엽산 수용체들이 EC20으로 검출 가능한 것이라면 EC145로의 치료를 위해 선택되는 방법. 80D. EC145로의 치료를 위하여 난소 종양 또는 폐 종양을 보유하는 환자를 선택하는 방법으로, 상기 방법은 상기 환자에게 EC20을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 환자는 만약 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교되는 상기 종양에 대한 결함에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면 EC145로의 치료를 위해 선택되는 방법. 81. 엽산-방사성 영상화제 접합체의 투여 이전에 비표지화된 엽산을 환자에 대해 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 조항 80A, 80B, 80C 또는 80D의 방법. 82. EC145는 만약 EC20에 의해 생성되는 배경 방사성 신호와 비교하여 상기 종양에 대한 결함에 따라 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호가 상기 환자에 대한 임상적 이점을 나타내는 것이라면, 상기 종양을 보유하는 환자들의 처치를 위해 바람직한 것인 조항 81의 방법. 83. 상기 임상적 이점이 환자의 진행-프리

생존인 조항 82의 방법. 84. 상기 임상적 이점이 종양 성장의 억제인 조항 82의 방법. 85. 상기 임상적 이점은 안정된 질병, 부분적 반응, 및 완전한 반응으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 82의 방법. 86. 상기 기능적으로 활성인 염산 수용체들의 발현의 수준은 배경 방사성 신호에 대한 상기 EC20에 의해 생성되는 방사성 신호의 종양 대 배경 비율을 기반으로 하여 정량화되는 것인 조항 82의 방법. 87. 상기 종양 대 배경 비율이 적어도 약 1.2인 조항 86의 방법. 88. 상기 종양 대 배경 비율이 적어도 약 1.3인 조항 86의 방법. 89. 상기 종양 대 배경 비율이 적어도 약 1.4인 조항 86의 방법. 90. 상기 종양이 탄소 종양인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 89 중 어느 것의 방법. 91. 상기 종양이 백금-저항성 탄소 종양인 조항 90의 방법. 92. 상기 종양이 폐 종양인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 89의 방법. 93. 상기 종양이 폐의 비-소형 세포 암종인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 89 중 어느 것의 방법. 94. 상기 EC145, 상기 EC20 또는 양자 중 어느 것이 비경구적 제형인 것인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 93 중 어느 것의 방법. 95. 상기 제형이 피내(intradermal), 피하(subcutaneous), 근육 내(intramuscular), 복막 내(intraperitoneal), 정맥 내(intravenous) 및 경막 내(intrathecal)로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 94의 방법. 96. 상기 EC145가 조성물 내에 있고, 및 상기 조성물은 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 95 중 어느 것의 방법. 97. 상기 EC20을 포함하는 조성물이 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 96 중 어느 것의 방법. 98. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체가 액상의 담체인 조항 96 또는 97의 방법. 99. 상기 액상의 담체가 식염수, 글루코스, 알콜, 글리콜, 에스테르, 아마이드 및 그들의 조합으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 조항 98의 방법. 100. 상기 EC145가 치료적 유효량으로 투여되는 것인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 99 중 어느 것의 방법. 101. 상기 EC20이 치료적 유효량으로 투여되는 것인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 100 중 어느 것의 방법. 102. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 1ng 부터 약 1mg 까지의 범위인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 101의 방법. 103. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 500 $\mu$ g 까지의 범위인 조항 102의 방법. 104. 상기 유효한 양은 체중 킬로그램 당 약 100ng 부터 약 50 $\mu$ g 까지의 범위인 조항 102의 방법. 105. 상기 종양이 초기 종양인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 104 중 어느 것의 방법. 106. 상기 종양이 전이된 상태의 종양인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 104 중 어느 것의 방법. 110. 상기 염산-방사성 이미징 접합체로서의 EC20이 하기 식을 갖는 화합물



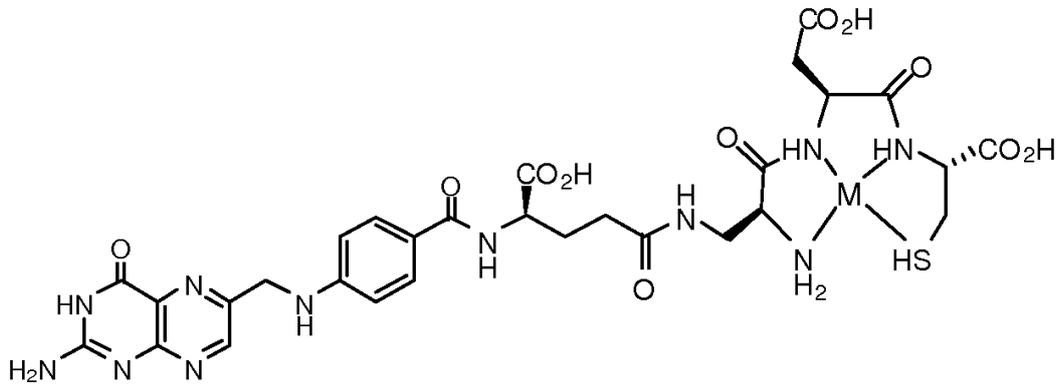
[0168] 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염에 의해 대체되고; 여기서 M은 방사성 핵종의 양이온인 것인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 109 중 어느 것의 방법. 111. 상기 염산-방사성 이미징 접합체가 하기 식을 갖는 화합물



[0169]

또는 그것의 약

학적으로 허용 가능한 염인 조항 110의 방법. 112. 상기 염산-방사성 이미징 접합체가 하기 식을 갖는 화합물



[0170]

또는 그것의 약

학적으로 허용 가능한 염인 조항 110의 방법. 113. M이 갈륨(gallium), 인듐(indium), 구리(copper), 테크네튬(technetium) 및 레늄(rhenium)의 방사성 동위 원소들로 구성된 그룹으로부터 선택되는 조항 110 또는 112의 방법. 114. M이 테크네튬(technetium)의 방사성 동위 원소인 조항 113의 방법. 115. 상기 염산-방사성 영상화제 접합체가 킬레이팅제 및 환원제를 사용하여 방사성 표지화되는 것인 조항 111 또는 112의 방법. 116. 상기 킬레이팅제가 소듐 α-D-글루코헵토네이트(sodium α-D-glucoheptonate)인 조항 115의 방법. 117. 상기 환원제가 염화 주석(II) 이수화물(tin(II) chloride dihydrate)인 조항 115 또는 116의 방법. 118. 상기 환원제에 peg화된 리포솜의 독소루비신을 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 117 중 어느 것의 방법. 119. 15mg/개월의 상기 염산-빈카(vinca) 접합체가 투여되는 것인 조항들 80A, 80B, 80C, 80D 내지 118 중 어느 것의 방법.

[0171]

또 다른 실시예에서, 여기 기재되는 방법들은 하기 예들을 포함한다. 상기 예들은 부가적인 구성들의 본 발명의 다양한 실시예들을 추가적으로 보여준다. 그러나, 상기 예들은 예시적인 것으로, 및 여기 기재되는 발명에 대한 다른 실시예들을 제한하는 것으로서 해석되는 것이 아닌 것으로 이해된다. 이에 더하여, 상기 실시예들의 다른 변형들은 여기 기재되는 발명의 다양한 실시예들 내에 포함되는 것으로 인식된다.

[0172]

실시예

[0173]

실시예 1

[0174]

재료들

[0175]

$N^{10}$ -트리플루오로아세틸프테로익 산( $N^{10}$ -trifluoroacetylpteroic acid)은 Eprova AG, Schaffhausen, 스위스로부터 구매되었다. 펩티드 합성 시약들은 NovaBiochem 및 Bachem에서 구매되었다.  $^{99m}Tc$  소듐 퍼테크네이트(Sodium Pertechnetate)는 Syncor에 의해 공급되었다.  $[ReO_2(en)_2]Cl$ 은 Rouschias(Rouschias, G., Chem. Rev., 74:531(1974))에 따라 제조되었다. 셀룰로오스 플레이트들 및 DEAE 이온 교환 플레이트들은 J.T.Baker로

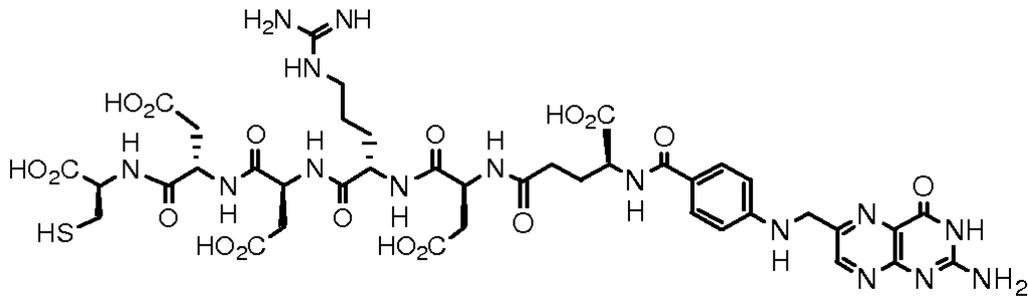
부터 구매되었다. DOXIL<sup>®</sup>은 Ortho Biotech Products, LP, Raritan, NJ로부터 얻어졌다.

- [0176] 실시예 2
- [0177] EC20의 제조
- [0178] EC20은 Fmoc-전략(Fmoc=9-플루오렌닐메틸옥시카르보닐(9-fluorenylmethylloxycarbonyl); Boc=tert.부틸옥시카르보닐(ter.butylloxylcarbonyl); Dap=디아미노프로피오닉 산(diaminopropionic acid); DMF=디메틸포름아미드(dimethylformamide); DIPEA=디이소프로필에틸아민(diisopropylethylamine))을 이용하는 고분자-지지의 연속 접근(polymer-supported sequential approach)에 의해 제조되었다. EC20은 Fmoc-Trt-Cys(Trt)-OH로 로딩된 산-민감성 왕 레진(Wang resin) 상에서 합성되었다. 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스-피롤리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트(Benzotriazole-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate(PyBOP))는 낮은 당량의 아미노산을 사용하여 효과적인 커플링을 보장하기 위한 활성화 시약으로서 적용되었다. Fmoc 보호 그룹들은 표준화된 조건들(DMF 내 20%의 피페리딘(piperidine)) 하에서의 매 커플링 단계 후에 제거되었다. 커플링 반응들 i) Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBop, DIPEA, DMF; ii) Boc-Dap(Fmoc)-OH, PyBop, DIPEA, DMF; iii) Fmoc-D-Glu-OtBu, PyBop, DIPEA, DMF; iv)  $N^{10}$ -TFA-Pte-OH, DIPEA, DMSO. 최후의 어셈블리 단계 후에 상기 펩티드는, 2.5%의 에탄디티올(ethanedithiol), 2.5%의 트리이소프로필실란(triisopropylsilane) 및 2.5%의 탈이온수(deionized water)를 포함하는 92.5%의 트리플루오로아세트산(trifluoroacetic acid)으로 처리함으로써 고분자의 지지로부터 분리되었다. 이러한 반응은 또한 상기 t-Bu, Boc 및 트리틸(trityl) 보호 그룹들의 동시적인 제거 결과를 가져온다. 마지막으로, 상기 트리플루오로아세틸(trifluoroacetyl) 조각(moiety)은 수성의 수산화 암모늄 내에서 제거되었다.
- [0179] 상기 EC20 생성물은 Xterra RP18 30 x 300mm, 7 $\mu$ m 컬럼(Waters); 이동층(mobilephase) 32mM HCl (A), MeOH (B); 99% A 및 1% B로 시작하고, 및 20mL/분의 흐름 속도에 의해 37분 후에 89% A 및 11% B에 도달하는 기울기 조건들을 사용하는 HPLC에 의해 정제되었다. 이러한 조건들 하에서, EC20 단분자는 전형적으로 14.38분에 용리되고, 반면 EC20 이황화 이분자체(disulfide dimer)는 16.38 분에 용리되었다. EC20은 전기 스프레이-질량 분석법(electrospray-mass spectrometry)에 의해 분석되었다. 주요 양이온 피크들(m/z, 상대적 강도): **746.1**, 100; **747.1**, 44; **556.8**, 32; **570.8**, 16.
- [0180] 실시예 3
- [0181] 비-방사성 시약 바이알 및 <sup>99m</sup>Tc-EC20의 제조
- [0182] EC20 키트들이 <sup>99m</sup>Tc-EC20 방사성 약물 물질의 제조를 위해 사용된다. 각 키트는 0.1 mg의 EC20, 80 mg의 소듐  $\alpha$ -D-글루코헵토네이트(sodium  $\alpha$ -D-glucoheptonate), 80 mg의 염화 주석(II) 이수화물(tin (II) chloride dihydrate), 및 동결 건조 이전에 pH를 6.8 $\pm$ 0.2로 조정하기에 충분한 수산화 나트륨(sodium hydroxide) 또는 염화 수소산(hydrochloric acid)의 멸균된, 비-발열성의 동결 건조된 혼합물을 포함했다. 상기 동결 건조된 파우더는 아르곤 분위기 하에 5mL의 병 내에 밀봉되었다. 상기 키트들은 다음으로 사용 또는 기간 만료(현재의 저장 수명은 > 2년이다) 때까지 -20°C에서 동결 보존되었다. 상기 염화 주석(II)(tin(II) chloride) 성분은 상기 첨가된 <sup>99m</sup>Tc-퍼테크네이트(<sup>99m</sup>Tc-pertechnetate)를 감소시키기 위해 존재하는 반면, 상기  $\alpha$ -D-글루코헵토네이트(sodium  $\alpha$ -D-glucoheptonate) 성분은 그것의 EC20 화합물로의 최종 킬레이션 이전에 상기 감소된 <sup>99m</sup>Tc를 안정화시키기 위해 존재한다.
- [0183] <sup>99m</sup>Tc-EC20은 하기와 같이 제조되었다(즉, <sup>99m</sup>Tc의 EC20으로의 킬레이션). 첫 번째 재료, 부분적으로 잠수된 리드 바이알 실드(shield)를 포함하는 끓는 워터 배스가 준비되었다. EC20 바이알의 상부는 그 표면을 위생 처리하기 위해 70% 에탄올로 소독되었고, 상기 바이알은 적당한 실링 용기 내에 놓여졌다. 27-게이지 니들이 구비된 실드된 주사기를 사용하여, 0.9%의 염화나트륨 내 멸균된 소듐 퍼테크네이트 <sup>99m</sup>Tc 인젝션(Sodium Pertechnetate <sup>99m</sup>Tc Injection)(15 내지 20 mCi) 1mL가 실드된 바이알 내로 주입되었다. 상기 바이알로부터 상기 주사기의 제거에 앞서, 상기 바이알 내부의 압력을 정상화하기 위하여 상기 바이알로부터 첨가된 퍼테크네이트의 부피와

동일한 부피의 가스가 뽑아졌다. 상기 동결 건조된 파우더의 완전한 용해를 보장하기 위하여 상기 바이알은 30 초 동안 완만하게 휘저어졌다. 그런 다음 상기 바이알은 상기 끓는 물 배쓰 내에 놓여져 있었던 리드 실드 내부로 놓여졌다. 상기 용액은 ~18분 동안 가열되었고, 다음으로 최소한 15분 동안 실온으로 냉각되었다. 이러한 용액은 빛으로부터 보호되어 실온(15~25°C)에 저장될 수 있으나, 그러나 그것은 제조의 6 시간 이내에 사용되어야 한다.

[0184] 실시예 4

[0185] EC0119의 제조

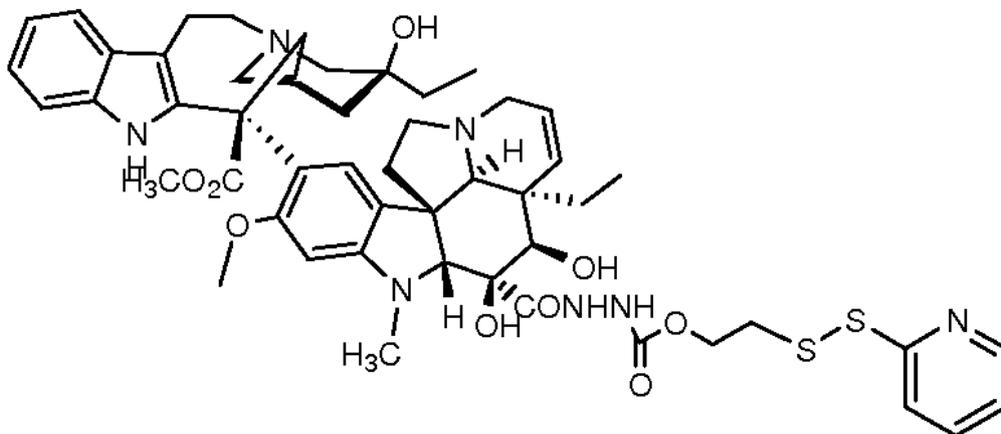


[0186]

[0187] 왕 레진(Wang resin) 결합된 4-메톡시트리틸(methoxytrityl(MTT))-보호된 Cys-NH<sub>2</sub>가 하기 순서에 따라 반응되었다: 1) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. 20% 피페리딘(Piperidine)/DMF; 2) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. 20% 피페리딘(Piperidine)/DMF; 3) a. Fmoc-Arg(Pbf)-OH, PyBOP, DIPEA; b. 20% 피페리딘(Piperidine)/DMF; 4) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. 20% 피페리딘(Piperidine)/DMF; 5) a. Fmoc-Glu-OtBu, PyBOP, DIPEA; b. 20% 피페리딘(Piperidine)/DMF; 6) N10-TFA-프테로익 산(pterioic acid), PyBOP, DIPEA.

[0188] 상기 MTT, tBu, 및 Pbf 보호 그룹들은 TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS/EDT (92.5:2.5:2.5:2.5)로 제거되었고, 또한 TFA 보호 그룹은 pH =9.3의 수성의 NH<sub>4</sub>OH로 제거되었다. 선택된 <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O) δ (ppm) 8.68 (s, 1H, FA H-7), 7.57 (d, 2H, J = 8.4 Hz, FA H- 12 & 16), 6.67 (d, 2H, J = 9 Hz, FA H-13 &15), 4.40-4.75 (m, 5H), 4.35 (m, 2H), 4.16 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 2.55-2.95 (m, 8H), 2.42 (m, 2H), 2.00-2.30 (m, 2H), 1.55-1.90 (m, 2H), 1.48 (m, 2H); MS (ESI, mH<sup>+</sup>) 1046.

[0189] 실시예 5



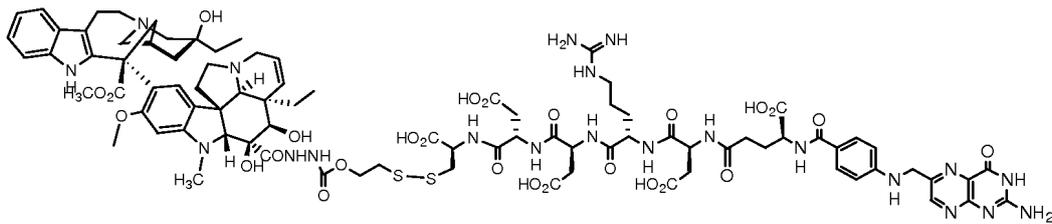
[0190]

[0191] 2-[(벤조트리아졸-1-일-(옥시카보닐옥시)-에틸디설파닐]-피리딘(2-[(Benzotriazole-1-yl-(oxycarbonyloxy)-ethyldisulfanyl]-pyridine) HCl (601 mg) 및 DIPEA 378 μL가 연속적으로 5 ml DCM 내의 데스아세틸 빈블라스

틴 하이드라자이드(desacetyl vinblastine hydrazide) (Barnett et al., *J. Med. Chem.* 21:88-96 (1978)에 따라 제조된 것으로, 상기의 개시는 그것의 전부로서 여기에 참조로 포함된다)(668 mg) 용액에 0°C에서 첨가되었다. 상기 반응물은 실온으로 데워졌고, 또한 3 시간 동안 휘저어졌다. TLC(DCM 내 15% MeOH)는 완전한 전환을 보여주었다. 상기 혼합물은 실리카 겔 크로마토그래피(1:9 MeOH/DCM)에 의해 정제되었다. 합쳐진 분획물들은 증발되었고, DCM 상에 재용해되었으며 또한 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>으로 세척되었고, 소금물 처리되었고(brine), 건조되었으며(MgSO<sub>4</sub>), 다음으로 550mg(80%)으로 증발되었다; HPLC-RT 12.651 분, 91% 순도, 지정된 구조와 일치하는 1H NMR 스펙트럼, 및 MS (ESI+): 984.3, 983.3, 982.4, 492.4, 491.9, 141.8.

[0192] 실시예 6

[0193] EC145의 제조



[0194]

[0195] THF 내의 펩티딜 조각(Peptidyl fragment) Pte-Glu-Asp-Arg-Asp-Asp-Cys-OH (실시예 4)이 티오술포네이트(thiosulfonate) 또는 피리디디티오-활성화된 빈블라스틴(pyridyldithio-activated vinblastine)으로(실시예 5) 아르곤 하에서의 pH > 6.5의 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> 내의 용해를 도출하는 노란색 용액으로서 처리되었다. 동결 건조 및 HPLC는 70%의 수율을 주었다. 선택된 <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O) δ 8.67 (s, 1H, FA H-7), 7.50 (br s, 1H, VLB H-11'), 7.30-7.40 (br s, 1H, VLB H-14'), 7.35 (d, 2H, J = 7.8 Hz, FA H- 12 &16), 7.25 (m, 1H, VLB H-13'), 7.05 (br s, 1H, VLB H-12'), 6.51 (d, 2H, J = 8.7 Hz, FA H-13 &15), 6.4 (s, 2H, VLB H-14 & 17), 5.7 (m, 1H, VLB 올레핀), 5.65 (m, 1H, VLB H-7), 5.5 (d, 1H, VLB 올레핀), 5.5 (m, 1H, VLB H-6), 4.15(m, 1H, VLB H-8'), 3.82 (s, 3H, VLB C<sub>18'</sub> -CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.69 (s, 3H, VLB C<sub>16</sub> -OCH<sub>3</sub>), 2.8 (s, 3H, VLB N-CH<sub>3</sub>), 1.35 (br s, 1H, VLB H-3'), 1.15 (m, 1H, VLB H-2'), 0.9 (t, 3H, J = 7 Hz, VLB H-21'), 0.55 (t, 3H, J = 6.9 Hz, VLB H-21); LCMS (ESI, m+H<sup>+</sup>) 1918.

[0196] 실시예 7

[0197] EC145 및 독소루비신의 체외 약물-약물 병용 분석법

[0198] 1일 째에, KB 종양 세포들이 트립신화되었고(trypsinized), 엽산 부족 RPMI (FDRPMI) + 5% 태아 소 혈청(fetal bovine serum) 내에 현탁되었으며, 혈색소계(hrmacytometer)를 사용하여 카운트되었다. 상기 세포 현탁액은 최종 농도 0.5 x 10<sup>5</sup> 세포수/mL로 희석되었으며, 상기 희석된 현탁액은 6개의 24-웰(well) 플레이트들을 플레이트당 1mL의 세포 현탁액으로 로딩하는데 사용되었다. 다음으로 상기 웰들은 샘플 당 4개의 리플리케이트들(replicates)을 갖는 테스트 그룹들로 나뉘어졌고 또한 하룻 밤 동안 37°C에서 상기 플레이트를 5%의 CO<sub>2</sub>에 접촉하게 하였다.

[0199] 2일 째에, EC145 및 독소루비신 농축물들이 0.731mM 및 2.9mM의 각각의 멸균된 저장 용액(stock solution)으로부터 2X의 최종 농도로 준비되었고, 다음으로 그들의 대응하는 웰들 내에서 FDRPMI 또는 대체의 약물과 함께 최종 부피 500 μL으로 혼합되었다. 상기 개별 웰 내에서의 EC145의 최종 농도는 0 nM, 2 nM, 4 nM, 8 nM, 16 nM, 또는 32 nM이었다. 상기 개별 웰 내에서의 독소루비신의 최종 농도는 0 nM, 12.5 nM, 25 nM, 50 nM, 100 nM, 또는 200 nM이었다. EC145 농축물과 독소루비신의 36개 조합들 각각에 대한 4개의 리플리케이트가 테스트되었다. EC145를 포함하는 샘플들은 2시간 동안 배양되었고, FDRPMI 또는 적합한 농도의 독소루비신 으로 대체되었으며, 그런다음 총 72 시간 배양되었다. 독소루비신의 샘플들은 개재없이(uninterruption) 72 시간 동안 단독 배양되었다. 그런 후, 각 웰 내에서 사용된 배양 매개는 FDRPMI 내의 1 μCi/mL <sup>3</sup>H-티미딘(thimidine) 500 μL로

대체되었다; 세포들은 4 시간 추가적으로 배양되었다. 상기 배양 후에, 상기 표지화 용액(labeling solution)이 흡인되었고(aspirated) 및 상기 세포들은 PBS로 두 번 세척되었다. 그런 다음 500  $\mu$ L의 10% 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid (TCA))이 각 웰에 첨가되었고, 및 상기 플레이트들은 그들이 처리될 때까지 4°C에 보관되었다.

[0200] 세포들은 TCA를 흡인하는 것 및 500  $\mu$ L의 0.25M NaOH를 첨가하는 것으로써 처리되었다. 다음으로 각 웰로부터의 450  $\mu$ L의 샘플은 개별적으로-표지화된 액상의 신틸레이션 바이알(scintillation vial)로 옮겨졌고, 3mL의 Ecolite 카테일로 와동되었으며(vortexed), 및 그런 다음 액상의 신틸레이션 카운터에서 카운트되었다. 다음으로 CPM 결과들이 표로 만들어졌고(tabulated) 퍼센트 조절 값들(percent control values)이 계산되었다.

[0201] 이소볼로그래프-약물 상승 작용 방법(Isobologram-Drug Synergy Method)

[0202] 약물 상승 작용(Drug synergy)은 이소볼로그래프 법(isobologram method)에 의해 결정되었다. 이러한 방법에서 IC<sub>60</sub> 값들은 상기 퍼센트 조절 값들로부터의 예측이다. 이러한 데이터는 nM 값들로서, 또는 각 단일 제제의 IC<sub>60</sub>을 1 및 모든 조합의 IC<sub>60</sub>들을 그들의 일 분획으로서 셋팅하는 것에 의한 당량들로서 그래프화될 수 있다. 상기 라인 상으로 떨어지는 조합 데이터 포인트들은 첨가적인 약물-약물 상호 작용을 나타내며, 반면 상기 라인 아래 또는 위로 떨어지는 데이터 포인트들은 상승 작용(synergism) 또는 길항 작용(antagonism)을 각각 나타낸다. 도 15에서의 그래프로 보여지는 바와 같이, EC145/독소루비신 병용들에 대한 IC<sub>60</sub> 값들은 상기 라인 한참 아래로 떨어졌고, 이는 EC145 및 독소루비신이 KB 세포들 내에서 강한 상승 작용적인 관계를 가짐을 제시한다.

[0203] 실시예 8

[0204] 피하의(Subcutaneous) M109 종양들을 함유하며 엽산이 부족한 식단(FolateDeficient Diet) 상에 유지되는 Balb/c-마우스 내에서의 EC145 및 DOXIL® (PDL) 단독 또는 병용의 연구

[0205] Harlan(인디애나폴리스, IN)로부터 구입된 Balb/c- 암컷 마우스는 사니-칩 베딩(sani-chips bedding)과 와이어 탑(wire top)을 구비하는 표준의 폴리카보네이트 구두 상자 케이지들 내(5 동물들/케이지)에 수용되었다(housed). 상기 케이지들은 2 주일마다 깨끗한 케이지들로 대체되었다. 상기 동물들은 상기 연구 기간 동안 환경적으로 조절된 방 안에 수용되었다. 상기 방 온도의 셋팅은 70° F 부터 74° F 까지의 범위였다. 상기 방의 상대 습도는 30% 부터 70% 까지의 범위였다. 빛 타이머(light timer)는 12 시간 낮(light)/12 시간 밤(dark) 및 주기를 제공하도록 맞추어졌다. 상기 동물들은 매일 건강에 대해 관찰되었다.

[0206] 상기 동물들은 초기에 Harlan Teklad(매디슨, WI)에 의해 제조된 Test Diet #00434로 사육되었다. 투약 후 시작되는 한 주에, 상기 동물들은 PMI Labdiet(리치몬드, IN)에 의해 제조된 표준 쥐 식단 PMI5000(Standard Rodent Diet PMI 5000)으로 전환되었다(switched). 상기 동물 사료 및 식수는 상기 연구 기간에 걸쳐 임의로(ad libitum) 제공되었다.

[0207] 종양 이식

[0208] M109(매디슨-102 폐암 중 세포들) 종양 세포들이 5% CO<sub>2</sub> 축축해진 공기 내에 37°C에서 5% FBS를 포함하는 엽산-부족 RPMI 1640 내에서 성장되었다. M109 종양 세포들(동물당 1 x 10<sup>6</sup> 세포들)이 상기 엽산 부족의 식단의 개시 후 9일 피하 내에(subcutaneously) 접종되었다. 마우스들은 상기 종양들이 70-100 mm<sup>3</sup> 사이에 도달한 후에 투약되었다.

[0209] 투약의 약물 용액의 및 투약의 준비

[0210] 투약의 용액들은 적당한 양의 각 화합물을 칭량하고, PBS(pH 7.4) 내에서 재구성하고/용해시키고, 0.22 $\mu$ m의 PVDF 주사기 필터를 통과하여 상기 약물 용액을 멸균 여과하고, 및 일일 투약을 위해 나뉘어진 양들(aliquots for each day of dosing)을 -20°C에서 동결하였다. 투약은 200  $\mu$ L의 부피로, i.v. 투여되었다.

- [0211] 평가
- [0212] 3회/일주일 종양 사이즈가 모니터되었고, 또한 체중이 측정되었다. 전체 동물 형태학(gross animal morphology) 및 행동에 대해 관심이 주어졌다. 상기 마우스가 >20%의 체중이 감소되었다면 또는 상기 종양들이 1500 mm<sup>3</sup>의 크기에 도달하였을 때에 안락사가 수행되었다. 안락사는 또한 마우스가 짧은 기간 동안 많은 체중이 감소되었다면 또는 마우스가 빈사 상태(moribund conditions)에 이르고 있을 때에 연구자의 자유 재량(discretion)으로 수행되었다.
- [0213] 결과 및 결론
- [0214] 하기 그룹들에 대하여 각각, 종양 성장 및 반응들(PR=부분적 반응, CR=완전한 반응, 치유(Cures))에 대한 결과가 도 16에 도시되며, 및 체중에 대한 결과가 도 17에 도시된다: (a) M109 대조군; (b) EC145, 2 μmol/kg; (c) DOXIL, 7 mg/kg; (d) EC145, 2 μmol/kg + DOXIL, 7 mg/kg; (e) DOXIL, 4 mg/kg; 및 (f) EC 145, 2 μmol/kg + DOXIL, 4 mg/kg. 각 그룹에 대한 결과들이 하기 추가적으로 기재된다:
- [0215] (b) 2 μmol/kg, TIW x 2 에서의 EC145 투약은 상기 5 마우스 중 3 치유된 시각적 종양이라는 우수한 항-종양 결과를 나타내었다. 이러한 그룹의 마우스는 투약 기간 동안에 어떠한 체중 감소도 없었다.
- [0216] (c) 7 mg/kg, q7d x 2 에서의 Doxil 투약은 5 중 4 치유라는 두드러진 항-종양 효과를 나타내었다. 이러한 그룹 내의 마우스는 투약 기간 동안 약간의 체중 감소(2-8%)를 경험했다.
- [0217] (d) 7 mg/kg, q7d x 2 에서의 Doxil과 병용된 2 μmol/kg, TIW x 2 에서의 EC145 투약은 또한 5 중 3 치유라는 우수한 항-종양 효과를 나타내었다. 이러한 그룹 내의 마우스는 투약 기간 동안 약간의 체중 감소(1-6%)를 경험했다. 한 마리의 동물이 투약 5 동안 알 수 없는 이유로 죽었다. 이 동물은 이 시점에서 부분적 반응을 가지고 있었다.
- [0218] (e) 4 mg/kg, q7d x 3 에서의 Doxil 투약은 1/5 완전한 반응 및 3/5 치유라는 두드러진 항-종양 효과를 나타내었다. 또한 이러한 그룹 내 세 마리의 마우스가 투약의 완료에 따라 연장된 체중 감소(2-10%)를 경험하였으나, 궁극적으로 그들의 체중을 다시 얻었다.
- [0219] (f) 4 mg/kg, q7d x 3 에서의 Doxil과 병용된 2 μmol/kg, TIW x 2 에서의 EC145 투약은 5 중 5 치유라는 탁월한 항-종양 효과를 나타내었다. 이러한 그룹 내의 마우스는 투약 기간 동안 및 그 후에 0 내지 5%의 마일드한 체중 감소를 가졌다.
- [0220] 실시예 14
- [0221] 진전된 난소 및 자궁 내막 암을 가진 환자들에서의 EC145의 연구
- [0222] 이러한 연구의 프로토콜(EC-FV-02)은 [여기](http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00507741?term=Endocyte&rank=3) 참조로 포함된 <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00507741?term=Endocyte&rank=3>에 요약되어 있다.
- [0223] 실시예 15
- [0224] 폐의 진행성 선암(adenocarcinoma)을 가진 환자에서의 EC145의 연구
- [0225] 이러한 연구의 프로토콜(EC-FV-03)은 [여기](http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00511485?term=Endocyte&rank=7) 참조로 포함된 <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00511485?term=Endocyte&rank=7>에 요약되어 있다.
- [0226] 실시예 16
- [0227] <sup>99m</sup>Tc-EC20을 사용하는 종양 이미징 프로토콜

- [0228]  $^{99m}\text{Tc-EC20}$  투약 및 이미징은 EC145 처치의 개시 이전의 21일 이내에 그러나 7일 이상에서 수행되었다.
- [0229]  $^{99m}\text{Tc-EC20}$ 의 투여
- [0230]  $^{99m}\text{Tc-EC20}$ 의 이미징 과정 이전에, 환자들은 0.5mg 엽산의 한 번의 IV 주입을 받았고, 1 내지 3분 이내에 20 내지 25 mCi의 테크네튬-99m으로 표지화된 0.1mg EC20의 1 내지 2mL의 주입에 의해 후속되었다. 가능하다면, 엽산 보충은  $^{99m}\text{Tc-EC20}$ 의 투여의 주(week) 내에는 중단되었다.
- [0231] 엽산은  $^{99m}\text{Tc-EC20}$ 의 투여 이전에 약 1 내지 3 분 IV 주입에 의해 투여되었다. 엽산은 느린 IV 푸쉬(push)로서 주입되었고, 상부 사지(upper extremity) 정맥(예들들어, 안테큐비탈 포사(antecubital fossa)) 내에서의 자유 유동성 유치(留置) IV 도뇨관(free-flowing indwelling IV catheter) 또는 적당한 유치 IV 접근법(indwelling IV access)을 통한 5 내지 10mL의 정상 식염수(normal saline)에 의해 후속되었다.
- [0232]  $^{99m}\text{Tc-EC20}$ 은 자유 유동성 유치(留置) IV 도뇨관을 통해 대략적으로 1 내지 2mL의 부피로 투여되었다.  $^{99m}\text{Tc-EC20}$ 은 상기 엽산과 동일한 라인으로 투여될 수 있다.  $^{99m}\text{Tc-EC20}$ 은 대략적으로 30초의 기간에 걸쳐 투여되었고, 5 내지 10mL의 정상 식염수의 주입에 의해 후속되었다. 상기 주입된 방사성 투여량은 20 및 25mCi 사이였다.
- [0233] 이미지 획득
- [0234]  $^{99m}\text{Tc-EC20}$  주입 후 대략적으로 1 내지 2 시간에, 중간-대퇴부(mid-thigh) 내지 머리, 전방 및 후방 평면의 이미지가 얻어졌다. 평면의 이미지들이 얻어진 후 바로, 환자의 통상적인 이미지에 의해 확인되는 바와 같이 종양을 포함하는 것으로 알려진 해부학적 영역의 SPECT(또는 SPECT/CT) 이미지들이 얻어졌다. 만약 상기 종양을 포함하는 해부학적 영역이 미리 확인되지 않았다면, 흉부(chest)/복부(abdomen) 및 복부(abdomen)/골반(pelvis)의 SPECT(또는 SPECT/CT) 이미지들이 얻어졌다.
- [0235] 평면의 이미징
- [0236] 중간-대퇴부 내지 머리, 전방 및 후방 평면의 이미지는 하기의 요구되는 파라미터들에 따라 얻어졌다: 1.) 이미징 영역: 중간-대퇴부 내지 머리 2.) 카메라: 듀얼 또는 트리플-헤드의 검출기 넓은 필드의 뷰(field of view)(FOV) LEHR 평행-홀 콜리메이터(parallel-hole collimators), 3.) 매트릭스: 최소 256 x 1024, 4.) 에너지 창(energy window): 15%-20%, 5.) 에너지 keV: 140, 및 6.) 스캔 속도: 8-10 cm/분.
- [0237] 대표적인 평면의 이미지들은 도 1, 2, 3, 4, 및 5에 보여진다. 종양 위치들은 상기 이미지들에 더해진 화살표들에 의해 표시된다.
- [0238] SPECT 이미징
- [0239] 상기 신체의 최적의 이미징을 위하여, 만약 환자에 의해 참아질 수 있다면 그 팔들은 머리 위로 올려졌다. 상기 머리 및 목의 최적의 이미징을 위하여, 그 팔들은 측면을 따라 위치되었다. 평면의 이미지들이 얻어진 후 바로, 상기 환자의 통상적인 이미지에 의해 확인되는 바와 같이 표적 병변(들)을 포함하는 것으로 알려진 영역의 이미지들이 얻어졌다.
- [0240] 만약 모든 표적 병변들이 첫번째 이미지 획득에서 FOV 내에 있지 않았다면, 모든 표적 병변들의 이미지를 얻기 위하여 추가적인 이미징이 수행되었다. SPECT/CT는 하기 목록화된 회색 보정 파라미터들(attenuation correction parameters)을 사용하여 플레인 SPECT 대신에 사용될 수 있다. 데이터는 반복적 재구조(iterative reconstruction)(최소 6 반복이 권장됨)를 사용하여 가장 높은 픽셀의 해상도에서 재구성되었다. SPECT는 세 개의 직교하는 평면들 내로 재구성되었다: 트랜스버스(transverse), 사지탈(sagittal), 및 코로날(coronal).
- [0241] 표적 병변(들)을 포함하는 것으로 알려진 영역의 이미지들은 하기의 요구되는 파라미터들에 따라 얻어졌다: 1.) 카메라: 듀얼 또는 트리플-헤드의 검출기 넓은 FOV LEHR 평행-홀 콜리메이터(parallel-hole collimators) 2.)

총 영사(Projections): 120-128 3.) 매트릭스: 128 x 128 4.) 오비트 타입(Orbit Type): 원형 또는 타원형  
 5.) 오비트: 듀얼 검출기 카메라로 헤드 당 180도 또는 트리플 검출기 카메라로 헤드 당 120도 6.) 멈춤 당 시간: 40초/멈춤 7.) 총 멈춤 수: 듀얼-헤드 카메라에 대하여 헤드 당 60 내지 64 영사 또는 트리플-헤드 카메라에 대하여 헤드 당 40 내지 43 영사 8.) 에너지 창(energy window): 15%-20%. 9) 에너지 keV: 140

- [0242] SPECT/CT 이미징
- [0243] SPECT/CT 장비를 사용하는 CT 이미지들의 획득은 SPECT/CT 이미징에 대한 핵의학 처리 안내 협회(Society of Nuclear Medicine Procedure Guideline)를 따랐다.
- [0244] CT 이미지들은 만약 상기 조합된 SPECT/CT 시스템의 CT 성분이 입수 가능한 전용의 진단적 CT 장비의 그것과 동일하거나 또는 그것을 뛰어넘는 이미지 질 및 해상도를 가진 진단적인 이미지들을 제공할 수 있는 것이 아니라면 단지 회석 보정/해부학적 국지화(attenuation correction/anatomic localization (AC/ AL))의 목적들을 위해 얻어졌다.
- [0245] CT 이미지들은 정상외(주기적인) 호흡 동안 140 kVp 및 80 mA에서, 256 x 256 최소 매트릭스, 최대 7.5 mm 슬라이스 두께, 나선형 획득(spiral acquisition)을 사용하여 얻어졌다. AC/AL CT 시노그램들(sinograms)은 전체 FOV에서 여과된 후영사(filtered backproject)에 의해 재구성되었다. 상기 여과된 후 영사는 나선형 CT 데이터의 적당한 부위들이 축(axial)으로 수집된 후의 2차원적인 것이거나, 비틀린 평면들(tilted planes)이거나 또는 완전히 차원적(fully dimensional)인 것이다. 표준화된 핵들(kernels)이 회석 보정을 위해 사용되었다. CT는 세 개의 직교하는 평면들 내로 재구성되었다: 트랜스버스(transverse), 사지탈(sagittal), 및 코로날(coronal). 도 6 및 7 참조.
- [0246] 실시예 17
- [0247] 종양 대 배경 측정
- [0248] EC20 3-코드화된 스케일
- [0249] 평면의 이미지들 및 SPECT/CT 또는 SPECT 이미지들 모두에 대하여, 핵 의학 의사는 각 표적 병변(예를들어, T1, T2, T3)에 대한 섭취의 강도를 코드화하였다. 만약 병변이 SPECT 영역 내에 없었다면, 그것은 이미지화되지 않는 것으로 코드화되었다.
- [0250] 1. 비섭취: 배경과 비교하여 섭취 없음.
- [0251] 2. 마일드 섭취: 배경과 비교하여 약간 증가된 섭취.
- [0252] 3. 두드러진 섭취: 배경과 비교하여 현저하게 증가된 섭취.
- [0253] 기관들을 포함하여, 방사 기록법적(radiographic) 비정상에 대응하지 않는 섭취를 보여주는 어떠한 부위에 대하여, 상기 핵 의학 의사는 상기 위치를 문서화하였고 및 상기 동일한 3-코드화된 스케일을 사용하여 섭취의 강도를 코드화 하였다.
- [0254] 종양 대 배경 비율
- [0255] SPECT 이미지들은 종양 대 배경(tumor-to- background (T/B)) 비율을 사용하여 세미-양적으로 분석되었다. 각 표적 병변(예를들어, T1, T2, T3)에 대하여, 관심 영역(region of interest(ROI))은 방사 기록법적 비정상에 대응하는 병변 내에서의 최대 활성의 부위들에 걸쳐 도출되었다. 상기 영역은 상기 종양 측정값을 제공하는데 사용되었다. 각 표적 병변에 대하여, 정상으로 보이는 반대측에 일어나는(contralateral) 부위 내에서 입수 가능한 대응하는 거울 이미지 위치의 ROI가 도출되었다. 만약 상기 영역이 섭취를 보여주는 부위라면, 상기 병변에 인접한 정상 조직의 ROI가 도출되었다. 이러한 영역은 상기 배경 측정값을 제공하는데 사용되었다.
- [0256] 기관을 포함하여, 방사 기록법적(radiographic) 비정상에 대응하지 않는 섭취를 보여주는 어떠한 부위에 대하여, 상기 위치는 문서화되었고 또한 섭취의 부위 내에서 최대 활성의 부위에 걸쳐 ROI가 도출되었다. 정상으로 보이는 반대측에 일어나는(contralateral) 구조(anatomy) 내에서 입수 가능한 대응하는 거울 이미지 위치

의 ROI가 도출되었다. 만약 상기 반대측에 일어나는 사이트가 섭취를 보여주는 부위라면, 상기 병변에 인접한 정상 조직의 ROI가 도출되었다.

[0257] 각 병변에 대한 종양 대 정상 조직 배경(T/B) 비율은 각 ROI 쌍으로부터 유도되는 측정값으로부터 계산되었다.

[0258] 실시예 18

[0259] 환자 선택 및 EC145로의 처치 요양법, 폐 종양

[0260] 환자 선택 기준

[0261] 환자들은 진전된(advanced), 진행성의(progressive), 폐의 선암(adenocarcinoma)을 보유하고, 이전에 두 번 또는 초과 화학 치료적 요양법을 포함하는 세포 독성(cytotoxic) 제재를 받았으며, 동부 협동 종양학 단체(Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)) 스케일 상 0 내지 2의 수행 상태를 가지고 있었고, 이전 치료로부터 적어도 4 주 되었으며 및 관련된 급성 독성으로부터 회복되었다(기준선으로). 또한 환자들은 측정 가능한 질병의 방사 기록법적 증거 및 "EC20 양성"(즉, 종양 대 배경 비율  $\geq 1.2$ )으로 또한 확인된 하나 이상의 종양 부위를 가지고 있었다.

[0262] 처치 요양법

[0263] EC145(1mg/주입)이 환약 주입으로서 정맥 내적으로 각 4-주 사이클에서의 주 1 내지 3 동안 월, 화, 수, 목 및 금에 투여되었다. 주 4에는 어떠한 처치도 투여되지 않았다(상기 환자에 투여된 총 투여량은 15mg/개월이었다). 이러한 사이클이 도입 페이스(induction phase)에서 두 번 반복되었다. 이러한 페이스는 각 4-주 사이클에서의 주 1 및 3의 월, 수, 금에 환약 주입으로서 정맥 내적으로 투여되는 2.5mg/주입의 주입들로 구성되는 유지 페이스(maintenance phase)에 의해 후속되었다. 주 2 및 4에는 어떠한 처치도 투여되지 않았다(상기 환자에 투여된 총 투여량은 15mg/개월이었다). 투약 스케줄의 그래프적 기재에 대해 도 8 참조.

[0264] 실시예 19

[0265] <sup>99m</sup>Tc-EC20 모니터링과 결합된 EC145로의 환자들의 처치

[0266] 환자들은 실시예 16의 방법을 사용하여 EC145의 투여의 개시 이전에 스크린되었다. EC145는 실시예 18에 기재된 요양법에 따라 환자들에 대하여 투여되었다.

**표 1**

[0267] 집단(population)	충분히 적격인 환자들(EC145 치료의 시작 28일 이내에 CT를 스크리닝 하는 모든 환자들)	모든 처치된 환자들(EC145를 받기 전 28일<(29-39일 범위) CT를 스크리닝하는 11 pts를 포함한다)
중점	n=29	n=42
임상적 이점	31%(9)	25%(11)
8주째에 질병 조절 비율	41%(12)	35.7%(15)
RECIST 반응	1PR	1PR

[0268] 표 1은 EC145로 처치된 환자들이 20% 초과 비율로 임상적 이점을 유도했고(4 또는 초과 사이클들의 치료에 대한 가능성으로 정의되는), 따라서 상기 연구의 초기의 중점이 도달되었음을 보여준다.

[0269] ● RECIST, 완전한 반응(CR): 모든 표적 병변들의 사라짐

[0270] ● RECIST, 부분적 반응(PR): 기준선 합 LD를 참조로 하여, 표적 병변들의 가장 긴 치수(LD)의 합에서의 적어도 30%의 감소

[0271] ● RECIST, 안정된 질병(SD): 상기 처치가 시작된 이후 가장 작은 합 LD를 참조로 하여, PR에 대하여 한정할 정

도로 충분한 수축도 PD에 대하여 한정할 정도로 충분한 증가도 아님

[0272] ● RECIST, 진행성 질병(PD): 상기 처치가 시작된 이후 기록된 가장 작은 합 LD를 참조로 하여, 표적 병변들의 LD의 합에서의 적어도 20% 증가 또는 하나 또는 초과외 새로운 병변들의 나타남.

표 2

[0273] 집단(population)	3 <sup>rd</sup> 또는 4 <sup>th</sup> 라인 IV 치료로서 EC145를 받는 모든 환자들	EC20 섭취를 보이는 100%의 종양들을 보유하는 3 <sup>rd</sup> /4 <sup>th</sup> 라인 환자들
총점	n=20	n=11
임상적 이점	40%(8)	45%(5)
8주째에 질병 조절 비율	50%(10)	63.6%(7)
RECIST 반응	1PR	1PR

[0274] 초기의 총점 기준은 ≥20%의 반응 비율을 요구한다.

[0275] 3<sup>rd</sup> 또는 4<sup>th</sup> 라인 치료로서 EC145를 받은 환자들의 부분 집단(subset) 분석은 40%의 임상적 이점 비율을 나타낸다.

[0276] 모든 종양들 내에서 EC20 섭취(FR 발현을 나타내는)를 갖는 환자들에서, 상기 임상적 이점 비율은 45%로 증가한다.

표 3

[0277] 집단(population)	EC20 섭취를 보이는 100%의 종양들을 보유하는 3 <sup>rd</sup> /4 <sup>th</sup> 라인 환자들	이종의(heterogenous) EC20 섭취 (즉, 적어도 하나의 EC20-음성 종양 집단을 갖는 3 <sup>rd</sup> /4 <sup>th</sup> 라인 환자들
총점	n=11	n=6
임상적 이점	45%(5)	33%(2)
8주째에 질병 조절 비율	63.6%(7)	33%(2)
RECIST 반응	1PR	

[0278] 초기의 총점 기준은 ≥20%의 반응 비율을 요구한다.

[0279] 실시예 20

[0280] EC145 및 DOXIL®(PDL)로의 처치 요양법, 난소 암

[0281] 처치 요양법(EC145 및PLD)

[0282] 피험자들이 EC145 및 peg화된 리포솜의 독소루비신(PLD)을 받은 날들에, EC145는 PLD의 투여 적어도 45분 전에 투여되었다. 상기 EC145가 투여된 후에, 상기 IV 허브가 플러쉬 되었고(flushed) 및 적어도 45분이 경과되었을 때, 상기 PLD가 EC145를 투여하기 위해 사용되었던 동일한 IV 허브를 통해 투여되었다.

[0283] EC145

[0284] EC145는 IV 라인(말초(peripheral) 또는 유치(留置) 도노관(indwelling catheters)이 적용 가능하다.)을 통해 환약 주입(bolus injection)으로서 대략적으로 10 내지 20 초에 걸쳐 투여되었다. EC145는 투여 동안 어떤 다른 약물 용액과도 혼합되지 않았고 또한 상기 IV 허브는 EC145의 투여 전 및 후 바로 모두에 대략적으로 10cc의 멸균된 정상 식염 용액(또는 규격화된 표준 케어 당(per) 플러쉬 양)으로 플러쉬되었다. EC145(2.5 mg)는 각 4 주 사이클의 주 1 및 3의 월요일, 수요일 및 금요일에 투여되었다. 어떠한 치료도 주 2 및 4 동안 투여되지 않

았다. 사이클 1 후에 각 후속적인 사이클의 스케줄은 상기 첫번째 사이클의 그것과 동일했다.

- [0285] PLD 투여량의 계산 및 전달
- [0286] PLD는 50mg/m<sup>2</sup>의 투여량으로 투여되었다. 측정된 체중이 그들의 이상적인 체중에 비해 큰 피험자들에 대하여, PLD의 투여량은 이상적인 체중(ideal body weight (IBW))을 기반으로 하여 계산되었다. 센티미터로서 피험자의 신장이 결정된 후, IBW는 하기와 같이 계산되었다:
- [0287] IBW= 45.5kg + 152cm를 넘는 각 센티미터에 대하여 0.9kg
- [0288] 다음으로 평방 미터로서의 신체 표면 부위(body surface area(BSA))가 하기와 같이 계산된다:
- [0289]  $BSA(m^2) = ([\text{신장}(cm) \times \text{IBW}(kg)]/3600)^{1/2}$ , 대략적으로,
- [0290]  $BSA(m^2) = ([\text{신장}(cm) \times \text{IBW}(kg)]/3600)$ 의 제곱근
- [0291] PLD는 용합 반응의 위험을 최소화 하기 위하여 1 mg/분의 속도로 투여되었다. 어떠한 용합-관련된 불리한 반응들이 관찰되지 않았다면, 상기 용합의 속도는 1 시간에 걸친 상기 약물의 투여를 완성하기 위해 증가되었다. 심장 독성(cardiotoxicity)의 위험이 독소루비신의 누적되는 투여량과 함께 증가했다. 통상적인 독소루비신의 권장되는 생애(lifetime) 최대 투여량은 하기와 같았다:
- [0292] 어른 < 550mg/m<sup>2</sup>
- [0293] 어른 > 70 세는 300mg/m<sup>2</sup>의 누적 투여량을 고려한다
- [0294] (Walters Kluwer Health © University of Utah에 의해 2006년 8월에 발표된 암 화학치료 매뉴얼(Cancer Chemotherapy Manual))
- [0295] 피험자는, 상기 피험자가 질병 진행을 보이지 않고, 심장 독성의 증거를 보이지 않으며, 및 계속하여 처치를 견디는 한, 550mg/m<sup>2</sup>의 최대 허용 가능한 누적 투여량이 달성될 때까지, 매 28일 마다 한 번 날짜(day) 1에 (권장되는 최소 4 코스에 대하여) PLD의 투여량을 받았다.
- [0296] 이러한 연구에서 사용된 peg화된 리포솜의 독소루비신은 독소루비신 또는 그것의 염을 함유하는 리포솜들을 포함하는 혼합물로서, 상기 리포솜들은 폴리에틸렌 글리콜 변형된 표면(polyethylene glycol modified surface)을 포함한다. 예시적인 예들에서, 상기 peg화된 리포솜의 독소루비신은 DOXIL<sup>®</sup>이었다. DOXIL<sup>®</sup>은 STEALTH<sup>®</sup> 리포솜 담체 내에 캡슐화된 독소루비신 HCl이다. STEALTH<sup>®</sup> 리포솜 담체는 N-(카보닐-메톡시폴리에틸렌 글리콜 2000)-1,2-디스테아로일-스-글리세로-3-포스포에탄올아민 소듐 염(N-(carbonyl- methoxypolyethylene glycol 2000)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine sodium salt) (MPEG-DSPE), 3.19 mg/mL; 완전히 수화된 소이 포스파티딜콜린(fully hydrogenated soy phosphatidylcholine) (HSPC), 9.58 mg/mL; 및 콜레스테롤(cholesterol), 3.19 mg/mL을 포함한다. 각 mL은 또한 황산 암모늄(ammonium sulfate), 대략적으로 2 mg; 버퍼로서 히스티딘(histidine); pH 조절을 위한 염화수소산(hydrochloric acid) 및/또는 수산화 나트륨(sodium hydroxide); 및 등장성(等張, isotonicity)을 유지하기 위한 수크로스(sucrose)를 포함했다. 90% 초과와 상기 약물은 STEALTH<sup>®</sup> 리포솜들 내에 캡슐화되었다.
- [0297] 실시예 21
- [0298] NSCLC 및 난소 암 평가 가능한 병변들 내에서의 종양 반응
- [0299] 실시예 16에 기재된 이미징 방법들을 사용하여, 실시예 18 또는 실시예 19에 기재된 처치 동안 종양들이 이미지화되었다. 각 이미지화된 종양에 대한 퍼센트 사이즈 변화가 도 9에 보여진다. 상기 데이터는 염산-수용체 양성 종양들(여기 기재된 <sup>90m</sup>Tc-E20 이미징 방법의 사용을 기반으로 선택된)은 상기 염산-수용체 음성 종양들(병변들)에 대해 보여진 33%의 사이즈에서의 평균 증가와 비교하여 단지 7%의 사이즈에서의 평균 증가를 갖는 것을

보여준다.

[0300] 본 발명의 어떠한 실시예들이 상기 기재되었고 및/또는 예시되었지만, 그것의 상당한 변화 및 변형이 가능한 것으로 고려된다. 따라서, 본 발명은 여기 기재되었고 및/또한 예시된 특정한 실시예들에 한정되지 않는다.

[0301] 실시예 22

**표 4**

[0302]

주입용 EC145(EC145 약물 제품) 세목(Specifications) 및 대표적인 결과(Results)		
보관/조작 설명: -20°C ± 5°C에 보관, 빛으로부터 차단		
테스트	세목	결과
외관	노란색 용액	노란색 용액
식별	959.4 ± 10에서 M+2H <sup>+</sup>	959.5
순도	≥ 90.0%	95.6%
최대의 개별 산화 생성물	< 7%	0.4%
최대의 개별 관련 성분	< 4%	1.0%
EC145 함량	90-110% 표지 함량	105%
총 관련 성분	≤ 10%	4.4%
pH	6.7-7.8	7.6
삼투압 농도	TBM <sup>1</sup>	282 mOsmol
멸균성	통과	통과
내독소	NMT 119 EU/바이알	< 11 EU/바이알
입자상 물질	≥ 10 마이크론 NMT 6000/바이알 ≥ 25 마이크론 NMT 600/바이알	108/바이알 5/바이알
잔여 용매	≤ 1%	< 1%
용기 내 부피	≥ 바이알 내 1.8mL	> 2.0mL/바이알

[0303] 1 TBM이 모니터됨

[0304] 실시예 23

[0305] 정맥 내(IV) 투여를 위한 EC145 약물 제품(drug product(DP))이 Flurotech<sup>TM</sup>-코팅된 고무 스타퍼를 구비하는 일회-사용의 깨끗한 유리 바이알들 내에 2.0mL 수성의 멸균된 액상 제형, pH 7.4으로서 제공되며, 또한 동결되어 아르곤 하에서 보존된다. 각 바이알은 1.4mg/mL의 EC145를 포함한다. 상기 약물 제품의 양적 조성은 하기 표에 보여진다. 단일 바이알들은 2.5mg의 환약(bolus) 투여량의 EC145를 제공하기 위해 사용된다.

**표 5**

[0306]

EC145 약물 제품 함량			
	기능 (Function)	등급 (Grade)	바이알 당 양 (Amount per vial) (mg)
EC145	활성	인-하우스(In-house)	2.8
인산 나트륨, 일염기성 일수화물	pH 조절 긴장성 (pH control tonicity)	USP	1.1
이인산 나트륨, 이염기성 이수화물	pH 조절 긴장성	USP	2.14
염화 나트륨	긴장성	USP	16.12
염화 칼륨	긴장성	USP	0.4
주입용 물)	용매	WFI	QA 내지 2.0mL

[0307]

- [0308] 실시예 24
- [0309] 변비증(Constipation)의 처치/예방용 대표적인 장 요양법
- [0310] 변비증(constipation)/장 폐색(ileus)은, 특히 부수하는 오피오이드 미마취(concomitant opioid analgesia)를 받았던 그러한 피험자들에게 있어서, EC145의 페이스 I 실험에서 잠재적인 심각한 불리한 사건(event)으로서 주목되었다.
- [0311] EC145로의 치료를 받은 환자들에 대하여 제안되는 진행성 장 요양법(카니 MT, 마이어 DE.(Carney MT, Meier DE.)로부터 변형됨. 말기 암 환자 케어(Palliative care) 및 최후의 문제들(end-of-life issues). 북미 마취학 강좌(Anaesthesiol Clin North America) 2000;183.)은, 효과적인 요양법이 발견될 때까지 임상 의사들이 더 높은 단계들을 통과하여 진행할 수 있는, 오피오이드(opioid) 치료를 받는 피험자들에게 대하여 사용되는 것과 일치하여야 한다:
- [0312] 단계 1: 도쿠세이트(Docusate), 100mg 매일 두 번(b.i.d) 및 세나(Senna), 1 타블렛 매일 한 번(q.d.) 또는 b.i.d.
- [0313] 단계 2: 도쿠세이트(Docusate), 100mg b.i.d., 세나(Senna), 2 타블렛 b.i.d., 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories), 아침 식사 후 1-2.
- [0314] 단계 3: 도쿠세이트(Docusate), 100mg b.i.d., 세나(Senna), 3 타블렛 b.i.d., 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories), 아침 식사 후 3-4.
- [0315] 단계 4: 도쿠세이트(Docusate), 100mg b.i.d., 세나(Senna), 4 타블렛 b.i.d., 락툴로스(Lactulose) 또는 소르비톨(sorbitol), 15mL b.i.d., 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories), 아침 식사 후 3-4.
- [0316] 단계 5: 도쿠세이트(Docusate), 100mg b.i.d., 세나(Senna), 4 타블렛 b.i.d., 락툴로스(Lactulose) 또는 소르비톨(sorbitol), 30mL b.i.d., 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories), 아침 식사 후 3-4.
- [0317] 단계 6: 도쿠세이트(Docusate), 100mg b.i.d., 세나(Senna), 4 타블렛 b.i.d., 락툴로스(Lactulose) 또는 소르비톨(sorbitol), 30mL q.i.d., 및 비사코딜 직장 좌약(Bisacodyl rectal suppositories), 아침 식사 후 3-4.
- [0318] 실시예 25
- [0319] 선례(PRECEDENT): EC145 및 peg화된 리포솜의 독소루비신 병용 대 PLD 단독을 비교하는, 백금-저항성 난소 암을 가진 피험자들 내에서의 랜덤화된 페이스 II 실험(EC-FV-04).
- [0320] 배경(Background): EC145, 엽산 및 데스아세틸 빈블라스틴 하이드라자이드(desacetyl vinblastine hydrzide)의 접합체는 높은 친화성으로 >90%의 상피적 난소 암들 상에서 발견되는 엽산 수용체(folate receptor(FR))와 결합한다. 이러한 예는 백금-저항성 난소 암을 보유한 여성 내에서, PLD 단독과 비교되는 EC145 + PLD의 국제적 랜덤화된, 페이스 2 연구에 관해 중간 데이터(interim data)를 보고한다. 비독립적 데이터 안전성 모니터링 협회(Data Safety Monitoring Board (DSMB))는 PFS 및 여기 보고된 결과들과 함께 안정성에 대한 예비-특정화된 중간 분석을 수행하였다.
- [0321] 방법: 0-2의 ECOG PS 및 <2 이전 시스템적 세포 독성의 요양법들을 갖는 여성 ≥18이, 진행 또는 죽음까지 EC145(2.5mg IV 주 1 및 3) + PLD(50mg/m<sup>2</sup> IBW IV q 28 일) 또는 PLD(50mg/m<sup>2</sup> IBW IV q 28 일) 단독을 받도록 랜덤화되었다.
- [0322] 결과: 중간 분석은 총 95의 진행들 또는 죽음들로 계획된 연구 중 46번째 사건 후에 수행되었다. 스크리닝 시에 연령, 암 타입, 치료 전, 디벌킹(debulking) 후 잔여 종양, 이전 치료법, CA-125 및 진단으로부터의 시간과 같은 인구 통계학적(demographic) 특성들이 암들(arms) 사이에서 비교 평가되었다. RECIST 평균 합계 종양 길이는 상기 조합 암(combination arm)에 대해서 더 길었다(122.7mm 대 81.3mm). 총 불리한 사건들, 심각한 불리한 사건들, 또는 중단으로 종결되는 적어도 한 번의 처치-나타나는(emergent) 약물-관련 심각한 불리한 사건을 보

고하는 피험자들의 수에 관하여, 연구 암들(study arms) 사이에서 어떠한 통계적 차이도 없었다. 하기 표는 PFS의 중간 분석의 결과를 보여주며, 및 상기 카플란 마이어 커브는 도 11에서 발견될수 있다.

표 6

[0323]

환자 집단	EC145 + PLD PFS(주)	PLD PFS(주)	위험 비율	P-값
EC-FV-04 연구	24.0	11.7	0.497	0.014

[0324]

상기 중간에서는, 또한 HR=0.425를 갖는 조합 암(combination arm)(0.064의 P-값)에 대해 전체적 생존에서의 이점으로 향하는 경향이 존재한다.

[0325]

결론: 결과들은 EC145 및 PLD를 받은 백금-저항성 난소 암을 보유하는 여성들에 대하여 PLD 단독을 받은 자들보다 중앙값 PFS(median PFS)에 있어서 더블링보다 큰 것을 나타낸다. 이러한 중간 데이터는 EC145 및 PLD가 백금-저항성의 난소 암을 보유하는 여성들에서의 표준화된 치료법에 비해 진행 프리 생존에서 통계적으로 현저한 증가를 보이는 첫번째 조합이라는 것을 제시한다.

[0326]

백금-저항성의 난소 암을 보유하는 여성들에서 진행중인 페이스 2 실험에서 진행 프리 생존 시간에 대한, 상기 중간 분석의 시점에서, 연구 치료 이전에 EC20으로 스캔되었으며 및 연구 치료(PLD와 병용된 EC145 대 PLD 단독) 이전에 EC20 양성(EC20++ 상태)으로 점수 매겨진, 핵 이미징 가능성을 갖는 사이트에서 등록된 피험자에 대한, 카플란-마이어 커브는 도 12에 보여진다.

[0327]

RECIST(버전 1.0)에 따르는 상기 중간에서의 반응 대 치료(Response to Therapy)는 하기 표에 보여진다. 스캔 주기 및 평가의 타이밍(24 주에 대해 6 주 마다, 다음으로 연구 참여의 밸런스에 대해 8 주 마다)은 각 암(arm)에 대해 동일하였다.

표 7

[0328]

RECIST v1.0 확인됨	EC145/PLD	PLD
처치에 대한 반응	n=54	n=17
완전한 반응(CR)	0(0.0%)	0(0.0%)
부분적 반응(PR)	9(16.7%)	4(14.8%)
안정된 질병(SD)	33(61.1%)	12(44.4%)
진행성 질병(PD)	12(22.2%)	11(40.7%)
전체적인 질병 조절 (SD+PR+CR)	42(77.8%)	16(59.3%)

[0329]

도 14는 PLD 단독을 받은 자들에 대하여 PLD와 병용된 EC145로 처치된 환자에 대한 전체적 생존(Overall Survival(OS))의 카플란-마이어 그래프를 보여준다. 예비-특정화된 중간 분석의 시점에서, 중앙값(median) 전체적 생존은 0.425의 위험 비를 갖는 통계적 의미를 향하는 경향이였다(차트 상에 상세함).

[0330]

이러한 실험에 대한 프로토콜은 여기 참조로 포함된 <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00722592?term=platinum+resistant+ovarian+cancer&rank=2>에 요약되어 있다.

[0331]

실시예 26

[0332]

연구 EC-FV-02, 연구 치료 이전에 EC20으로 스캔되었으며 및 연구 치료 이전에 EC20+ 상태 또는 EC20- 상태로서 평가된 자들과 비교하여 EC20 양성(EC20++ 상태)으로 평가된, 진단된 난소 및 자궁 내막 암들을 보유하는 여성

에서의 실험에서, 전체적 생존(overall survival(OS)) 시간에 대한 카플란-마이어 커브(Kaplan-Meier curves)는 도 13에 보여진다. 이러한 커브는 매우 다루기 힘든 난소 암 환자들에 있어서 단일 제제 EC145로부터 이익을 받는 환자들을 선택하는 유용성을 조사한다.

- [0333] 실시예 27
- [0334] EC20 환자 스캐닝 과정. 스크리닝 과정의 완료 및 적임성의 확인에 이어서, 모든 피험자들은 한 번의 0.5mg의 염산의 정맥 내 주입, 후속적으로 1-3분 내에 20-25mCi의 테크네튬-99m으로 표지화된 0.1mg의 EC20 1-2mL의 주입을 받았다. 다음으로 EC20의 주입 후 1-2 시간에 환자들은 SPECT 이미징(중간-대퇴부 내지 머리, 전방 및 후방 이미지들)을 수행하였다. 표적 병변들은 RECIST(v 1.0) 기준에 따라 방사선 기사에 의해 선택되었다. 후속적으로, 핵 의학 의사들은 각 표적 병변에 대하여 시각적으로 EC20 섭취를 평가하였고, 및 상기 섭취를 "양성"(두드러진/마일드한 섭취) 또는 "음성"(비섭취)으로 분류하였다.
- [0335] 실시예 28
- [0336] EC20 병변 스코어링 과정. 가장 긴 치수(largest dimension(LD))에서 1.5cm 미만의 병변은, 그러한 경우에 그들이 "양성"으로 특징화되는, 상기 핵 의학 판독자가, 그들을 EC20의 모호하지 않은 섭취를 갖는 것으로서 식별하지 않는 이상, "비-평가 가능한 것"으로 간주되었다. 어떤 기관들(예를들어, 간, 비장(spleen), 방광(bladder) 및 신장)은 고유의 높은 EC20 섭취를 갖기 때문에, 그러한 기관들 내에 위치하는 표적 병변들은 "비-평가 가능한 것"으로 간주되었다.
- [0337] 모든 평가 가능한 병변들은 두 개의 상호 배타적인 그룹들로 카테고리화되었다: 1) EC20+(EC20의 섭취) 및 2)EC20-(neg)(EC20의 비섭취. 병변 사이즈에서의 변화는 분산 분석(analysis of variance(ANOVA))을 이용하여 2 그룹들 사이에서 비교되었다. 각 병변에 대하여, 처치 반응이 결정되었다. 사이즈에서 적어도 20% 감소를 갖는 병변들은 반응자(responders(mPR))인 것으로 분류되었고, 및 사이즈에서 적어도 20% 증가를 갖는 것들은 진행성 질병(PD)으로서 분류되었다. mPR 또는 PD 기준 어느 것에도 부합하지 않는 병변들은 안정된 것(SD)으로 분류되었다. mPR, SD 및 PD 병변들의 퍼센트들이 피셔의 정확한 테스트(Fisher's exact test)를 이용하여 EC20+ 및 EC20-(neg) 그룹들 사이에서 비교되었다. 종양 사이즈에 있어서 양적 퍼센트 변화는 피어슨 상관 계수(Pearson correlation coefficient)를 사용하여 측정되었다.
- [0338] 실시예 29
- [0339] EC20 환자 스코어링 과정 피험자 스코어는 EC20+ 병변들의 총 수를 병변들의 총 수(평가 가능한 및 평가 가능하지 않은)로 나눔으로써 계산되었다. 환자들은 세 개의 상호 배타적인 그룹들로 카테고리화되었다:
- [0340] 그룹 1: EC20++(100% EC20-양성 표적 병변들)
- [0341] 그룹 2: EC20+(1-99% EC20-양성 표적 병변들)
- [0342] 그룹 3: EC20-(neg)(0% 또는 EC20 양성 표적 병변들 없음)
- [0343] 예로서, 하나의 EC20+ 병변 및 두 개의 EC20-(neg) 병변들을 갖는 피험자(총 세 개의 표적 병변들)에 대한 "피험자 스코어"는 33%(3 병변들 중 1 양성)일 것이고, 상기 피험자들을 EC20+ 그룹에 둔다. 모든 표적 병변들 EC20 양성을 갖는 피험자는 EC20++로서 카테고리화될 것이다(3 병변들 중 3이 양성이다).
- [0344] 가장 좋은 전체적 반응(overall response)은 RECIST v1.0(Therasse, 2000)을 사용하여 각 피험자에 대해 결정되었다. RECIST 전체적 반응 비율(overall response rate(ORR)) 및 질병 조절 비율들(CR/PR/SD)은 상기 3 집단들 각각에 대하여 계산되었다. 이러한 분석을 위해, 계산 이전에 연구를 이탈한 피험자들은 비-반응자(non-responders)들로 간주되었다. 전체적 생존은 카플란-마이어 기술들 및 콕스 비례하는 위험 모델(Cox proportional hazards models)(Kaplan, 1958; Mantel, 1966)을 사용하여 분석되었다. 샘플 사이즈의 고려로 인하여, 상기 EC20+ 및 ECC20-(neg)가 상기 생존 분석을 위하여 뽑아졌다.
- [0345] ORR 및 DCR을 위한 샘플 세트들은 모든 평가 가능한 피험자들(처치를 의도하는) 및 3과 동일 또는 미만의 이전

치료의 라인을 실패했던 피험자들의 부분 세트를 포함했다. 샘플 사이즈에서의 제한으로 인하여, 단지 처치를 의도하는(intent to treat(ITT)) 것이 상기 생존 분석을 위하여 포함되었다.

[0346] 실시예 30

[0347] 환자 실패적 인구 통계(Demographics). 45 난소 암 피험자들이 평가되었다. 중요한 인구 통계학적 및 질병 특성들이 하기 표에 보여진다. 전체적으로, 피험자들은 EC-FV-02 연구에 들어가기 전에, 4 종래 화학치료상 요양법들의 중앙의 수(1 내지 14 요양법들의 범위)로 강하게 예비 처치되었다. 피험자들의 80 퍼센트가 LD<sub>sum</sub>에서 >5cm의 중앙 부담을 가졌다.

표 8

[0348]

EC20으로 처치된 환자들의 실패적 인구 통계: EC-FV-02	
특성	N(%)
피험자의 수	45
중간 연령(세)	62
ECOG 수행 상태	
	0 17(37.8%)
	1 24(53.3%)
	2 4(8.9%)
암의 타입, n(%)	
	자궁 내막 암 4(8.9%)
	난소 암 34(75.6%)
	복막 암 7(15.6%)
질병 부담	
	>5cm 36(80%)
	≤5cm 9(20%)

[0349] 실시예 31

[0350] 병변 평가

[0351] 총 216 RECIST-한정된 표적 종양들(즉, 병변들)을 보유하는 사십-오 프로토콜-적임의 피험자들이 회고성 분석(retrospective analysis)에 포함되었다(하기 표). 일 백 및 사십 오(145/216; 67%)의 병변들이 EC20 "평가 가능한" 것으로 간주되었다. 이들 중 111(77%)이 EC20 "양성" 섭취를 가졌다. "비-평가 가능한" 것으로 간주되는 71 병변들 중 45 병변들이 높은 배경 섭취를 갖는 기관들에서 나타났다; 15 병변들은 해석을 위한 충분한 SPECT 데이터를 갖지 않았다; 및 사이즈에 있어서 1.5cm 보다 작았던 11 병변들은 "없음"의 섭취로 코드화되었다.

[0352] 하기 표에서 보여지는 바와 같이, 145 병변들은 모호하지 않게 "양성" 또는 "음성" EC20 섭취로서 분류되었다. 이러한 병변들은 병변 분석에 포함되었다. 일 백 및 일곱의 병변들이 EC20+이었고, 34 병변들이 EC20-(neg)였다.

표 9

[0353]

평가 가능한 및 비-평가 가능한 병변들	
병변 그룹화	N(%)
RECIST-정의된 병변들의 총 수	216(100%)
평가 불가능한 병변들	71 (33%)
SPECT 데이터 없음	15(21%)
사이즈가 <1.5cm인 음성 병변	11(15%)
높은 배경(background)을 갖는 기관들에서 발견된 병변들	45(63%)
	간 32/45
	비장 9/45
	신장 4/45

평가 가능한 병변들	145 (67%)
양성 (EC20+)	111(77%)
음성 (EC20-(neg))	34(23%)

[0354] 87 퍼센트의 피험자들이 적어도 1 표적 병변 내에서 시각적으로 관찰된 EC20 섭취를 가졌다. EC20-(neg) 병변들은 사이즈에 있어서 EC20+ 병변들보다 약간 컸다(2.8 cm 대 2.4 cm, 각각[p=0.01]).

[0355] 실시예 32

[0356] EC20 병변 스코어링 분석

[0357] 하기 표에서 보여지는 바와 같이, EC20-(neg) 집단 내에서의 27%의 SD 비율과 비교하여 EC20+ 병변들의 59%(n=65)가 안정된 질병(SD) 또는 변형된 부분적 반응(PR)을 나타냈다. 이러한 발견은, EC20 섭취가 EC145에 노출된 후 변형된 PR 또는 SD(p=.0022)를 나타내었던 병변들 대(versus) 최상으로서 SD를 나타내는 병변들 사이에서 분별되는 것을 의미한다. 변형된 PR 그룹 내의 병변들 모두가 EC20+이었다.

표 10

[0358]

병변 사이즈의 변화	EC20+ n(%)	EC20- n(%)
평가 가능한 병변들의 수	111(100%)	34(100%)
mPR	11(10%)	0(0%)
SD	54(49%)	9(27%)
PD	46(41%)	25(73%)
mPR+SD	65(59%)	9(27%)

[0359] 실시예 33

[0360] EC20 환자 스코어링 분석

[0361] 모든 평가 가능한 피험자들에 대한 DCR은 EC20 상태에 상관없이, 42.2%였다(하기 표). 상기 DCR은 EC20 양성에서 증가하였다. EC20++ 피험자들은 EC20+ 및 EC20-(neg) 피험자들에 의해 후속되는 가장 높은 DCR을 가졌다: 57%, 36% 및 33%, 각각. 모든 피험자들을 아울러 ORR은 5%였다. DCR 분석과 일치되게, 상기 EC20++ 서브 그룹 내 ORR은 14%에서 가장 높았고, 0%에서 다른 2 그룹들을 가졌다. ≤3 종전 치료들에서 실패했던 덜 심하게 처치된 피험자들의 서브 그룹 내에서, 상기 EC20++ 그룹에 대한 DCR은, EC20+ 및 EC20-(neg) 그룹들 내에서의 각각 50% 및 0%에 대하여, 86%였다.

표 11

[0362]

	모든 적임의 환자들 (ITT)	≤3 종래 치료들 실패했음					
		모든 적임의 환자들 (n=45)	EC20++ 100% 양성 (n=14)	EC20+ 1-99% 양성 (n=24)	EC20-(neg) 0% 양성 (n=7)	EC20++ 100% 양성 (n=7)	EC20+ 1-99% 양성 (n=8)
CR/PR	4%(2)	7%(1)	4%(1)	0%(0)	14%(1)	13%(1)	0%(0)
SD	38%(16)	50%(7)	33%(8)	29%(2)	71%(5)	37%(3)	0%(0)
PD	58%(26)	43%(6)	63%(15)	71%(5)	14%(1)	50%(4)	100%(2)
DCR	42%(19)	57%(8)	36%(9)	33%(2)	86%(6)	50%(4)	0%(0)

[0363] EC145로 처치된 피험자들의 이러한 실지 조사의 연구로부터의 결과들은 100% 양성 병변들을 갖는 그룹 내에서 더 큰 생존에 대한 경향을 보여주었다. 이러한 피험자들 내에서 중앙값의 전체적 생존은, 100% 미만의 양성 종

양들을 갖는 피험자들 내에서의 23.1 주에 비해, 63.4 주였다(위험 비율=0.46, p=0.071).

[0364] 실시예 34

[0365] EC20: 화학 제조 및 조절

[0366] 제조

[0367] EC20은 상기 및 하기 다이어그램 내에서 기재되는 바와 같이 표준화된 Fmoc-기반의 고체상 펩티드 합성 화학을 사용하여 합성된다. 레진 결합된 시스테인으로부터 시작하여, 보호 그룹 제거가 표준 시약들을 사용하는 아미노산 잔기의 커플링에 의해 후속 되었다. 최후의 커플링 단계 및 탈보호(deprotection) 후에, 상기 펩티드는 상기 레진으로부터 분리된다. 조질 생성물(crude product)는 침전되고 및 여과에 의해 분리되었다. 크루드(crude) EC20의 순도는 약 90%였다.

[0368] 크루드 EC20은 제조의 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제되었다. EC20은 침전되고 및 여과에 의해 분리되었다. 최종 약물 물질의 순도는 ≥97%이다.

표 12

[0369]

절차 흐름 다이어그램	
1 <sup>st</sup> 커플링	H-Cys(Trt)-2-클로로트리틸(chlorotriptyl) 레진 ↓ Fmoc-Asp-(OtBu)-OH 및 시약들을 첨가하여 커플링함 ↓ 카이저 테스트(Kaiser test)로 커플링 확인
2 <sup>nd</sup> , 3 <sup>rd</sup> 및 4 <sup>th</sup> 커플링 (세 번의 사이클들)	염기로 탈보호 ↓ 다음 아미노산 잔기 및 시약을 첨가하여 커플링함 ↓ 카이저 테스트(Kaiser test)로 커플링 확인
	다음 잔기로 반복
탈보호 레진으로부터 펩티드 절단	탈보호 및 절단 ↓ 여과, 세척 및 건조
EC20의 정제	조질 고체를(crude solid) 정제 ↓ EC20 용출, 분획물 뽑아냄 ↓ 침전, 여과 및 건조 ↓ -20°C에서 질소 하에서 보관

[0370] 특성 파악(Characterization)

[0371] EC20 약물 물질은 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR 분석에 의해, 전기 스프레이-질량 분석법(electrospray mass spectroscopy)에 의해, 아미노산 분석법 및 펩티드 함량에 의해 특성 파악이 되어왔다. 모든 방법들은 상기 보여진 구조를 확인 하였다.

[0372] 절차-관련 불순물들

[0373] EC20은, EC20의 제조에서 사용된 출발 물질들 또는 시약들 어떤 것도 EC20 약물 물질 내에 존재하지 않는다는 것을 보장하기 위하여 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제되었다. 잔여 용매 수준은 분리된 약물 물질의 GC 분석에 의해 평가되었다.

[0374] EC20 약물 물질에 대한 목록(specifications)은 하기 표에 보여진다.

표 13

[0375]	특성	테스트 방법	한계
	외관	시각적 조사	노란색/회색을 띤 백색(off-white) 파우더
	식별	ESI-MS	M+H <sup>+</sup> 746.2±0.5
	순도	RP-HPLC	≥95.0%
	개별적으로 특정화된 불순물들	RP-HPLC	A≤1.0% F≤1.0% H≤1.0% L≤1.0% P1≤1.5% T≤1.0%
	개별적으로 비특정화된 불순물들	RP-HPLC	≤1.0%
	총 불순물들	RP-HPLC	≤5.0%
	펩티드 함량	% 질소	≥88.0%
	수분	칼 피셔(Karl Fischer)	≤10.0%
	내독소	USP<85>	<2.0 EU/mg
	미생물 측정	USP<61>	<10 CFU/100mg
	메탄올	가스 크로마토그래피	≤0.5µg MeOH/mg API
	아세토니트릴	GC	≤1.0µg ACN/mg API
	하이드라진	HPLC	<1.5 마이크로그램/mg API

[0376] EC20 약물 물질은 -20℃에서 부틸 고무 스타퍼를 구비하는 호박색 유리병(amber glass bottles) 내에 보관된다. 안정성 데이터는 약물 물질이 이러한 조건들 하에서 24 시간 초과 동안 안정하다는 것을 보여준다.

[0377] 실시예 35

[0378] 조사적 의약의 약물 제품의 처방 및 조성

[0379] 의약의 제품은 <sup>99m</sup>Tc-EC20의 제조를 위한 키트이다. 상기 제품은 동결건조된, 멸균의, 연한 노란색 고체이다.

표 14

EC20 약물 제품의 바이알 당 양	
성분	바이알 당 양(mg)
EC20 약물 성분	0.100
소듐 α-D-글루코헵토네이트 이수화물 (글루코헵토네이트)	80
염화 주석(II) 이수화물 (SnCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O)	0.080

[0381] 주입을 위한 <sup>99m</sup>Tc-EC20, 최종 제형의 제조가, <sup>99m</sup>Tc-기반의 진단적 제재들을 위한 표준화된 관행에 따라 임상적 실험 장소에서 수행되었다.

[0382] EC20 약물 제품은, 멸균의 소듐 퍼테크네이트(sodium pertechnetate)의 첨가에 의해 효과적인 영상화제를 제조하기 위해 필요한 모든 성분들을 포함하는 단일 사용 바이알이다. 상기 약물 물질은 하기 표에 보여지는 바와 같은 양의 염화 주석(II)(Tin(II) chloride) 및 소듐 α-D-글루코헵토네이트(Sodium α-D-Glucoheptonate)로 제형화된다. 이러한 제형화는 방사성 소스로서 준안정의 테크네튬(technetium)을 사용하는 제재들에 대해 전형적이다. 상기 EC20 약물 제품은 테크네튬(technetium)을 킬레이트하고, 및 신선하게 준비된 준안정의 테크네튬(technetium) 수성 용액이 상기 EC20을 재구성하기 위해 사용될 때, 상기 테크네튬(technetium)은 킬레이트되고, 또한 상기 영상화제가 형성된다.

표 15

EC20 DP 성분들				
성분	질량 또는 활성	몰(Mol)	재구성 후 농도	몰 비
EC20	100 $\mu$ g	$1.3 \times 10^{-7}$	$1.3 \times 10^{-4}$ M	255
소듐 $\alpha$ -D-글루코헵토네이트	80mg	$2.8 \times 10^{-4}$	0.28 M	550,000
염화 주석(II)	80 $\mu$ g	$3.5 \times 10^{-7}$	$3.5 \times 10^{-4}$ M	686
$^{99m}\text{Tc}/^{99}\text{Tc}(1:4)$	30mCi	$5.1 \times 10^{-10}$	$5.1 \times 10^{-7}$ M	1

[0383]

[0384]

배치 처방(Batch Formular)

[0385]

EC20 약물 제품의 전형적인 2000 바이알 배치에 대한 배치 처방이 하기 표에 제공된다:

표 16

EC20 배치 처방	
성분	양
EC20 약물 성분	0.20 g
소듐 $\alpha$ -D-글루코헵토네이트 이수화물 (글루코헵토네이트)	160 g
염화 주석(II) 이수화물 ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.16 g
주입용 멸균수(SWFI)	5L
질소(불활성 대기)	필요한 만큼
염화수소 산	4.3 mL
수산화 나트륨	10 g

[0386]

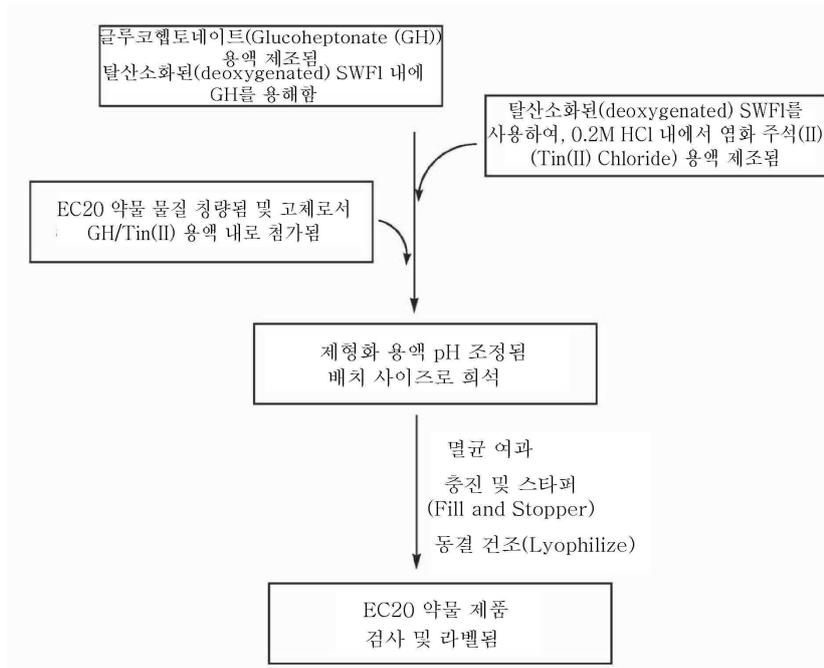
[0387]

EC20 DP 충전(Fill) 공정

[0388]

제조 공정은 질소 또는 아르곤 대기 하에서 수행된다.

[0389] EC20 약물 제품 제조 공정 및 조절



[0390]

[0391] 글루코헵토네이트(Glucoheptonate) 용액의 제조: 빈 제형 용기(vessel)가 적당한 스테어 바(stir bar)와 함께 칭량된다. 탈산소화된 SWFI가 예비-칭량된 제형 용기로 첨가된다. 글루코헵토네이트가 유리 깔대기를 사용하여 상기 제형 용기 내로 첨가된다. 상기 용기를 칭량하고, 깔대기는 탈산소화된(deoxygenated) SWFI로 헹구어지고 및 상기 헹굼액이 제형화 용액에 더해진다.

[0392]  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  용액의 제조:  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 은 적당한 사이즈의 플라스크 내로 칭량된다. 상기  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 은 탈산소화된 0.2M HCl 내에 용해된다.

[0393] EC20 용액의 제조: 상기  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  용액은 계속되는 스테어링과 함께, 천천히 제조된 글루코헵토네이트 용액으로 옮겨진다. 적당한 양의 EC20(알려진 펩티드 함량으로부터 계산된)이 글루코헵토네이트/ $\text{SnCl}_2$  용액으로 옮겨진다. 0.1M NaOH 및/또는 0.2M HCl이 pH가  $6.8 \pm 0.2$ 에 이르러 때까지 천천히 더해진다. 상기 용액은 바람직한 표적 중량  $\pm 0.25\%$ 로 탈산소화된 SWFI로 희석되며 또한 최소 5 분 동안 스테어링된다. 예비-여과 생물 부담(bioburden) 샘플이 무균의 기술을 이용하여 제형화 용기로부터 꺼내져 멸균 캡 단계(closure)를 구비하는 멸균 용기 내로 놓아진다. 여과 기구, 직렬의 두 개의 멸균 필터들, 및 수용 용기가 준비되고, 상기 EC20 제형화 용액이 페리스탈틱 펌프(peristaltic pump)를 사용하는 0.22 마이크론, 멸균 필터를 통과하여 적당한 수용 용기 내로 여과된다. 여과-후 여과 무결성 테스트(filter integrity test)가 수행된다. 만약 상기 기록된 압력이 실패하면, 상기 테스트는 한 번 반복된다. 만약 그것이 두 번 실패하면, 새로운 필터들이 장착될 것이고 또한 절차는 반복될 수 있다.

[0394] 충전 및 중단(Filling and Stopping): 충전 및 중단이 무균적으로 클래스 100 충전 지역(Class 100 filling area)에서 수행된다. 상기 제품 또는 상기 제품으로 되는 재료들에 접촉하는 모든 용기들, 그릇들(vessels), 혼합 장비들 및 용구들은 적합하게 세정되고 및 멸균되거나 또는 발열원 제거된다(depyrogenated). 셋업(set-up) 및 충전 확인(fill check)이 계산된 밀도를 기반으로 하여 중량 측정에 의해(gravimetrically) 수행된다. 상기 바이알들은 충전되며 또한 중단된다. 스타퍼들은 상기 바이알들이 워크 스테이션으로부터 제거되기 전에 동결 건조 위치(반 자리 잡아진(half seated))에 놓아진다. 동결 건조기 트레이들이 상기 챔버 내 선반 위로 탑재되고 그런 다음  $-45^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ 로 냉각된다. 일단 제품이 동결되면, 진공 펌프가 상기 챔버를 탈기한다. 상기 건조 사

이클은, ≥10 시간 동안 30℃-35℃의 선반 온도를 고정한 후에 상기 진공 펌프 밸브를 닫는 것으로써 손으로 종결된다. 상기 선반 중단 메카니즘은 상기 챔버를 여과된 질소로 7-10 mmHg로 퍼징한 후에 활성화된다. 모든 바이알들이 중단되었을 때 상기 챔버는 여과된 질소로 대기 압력으로까지 다시 충전되고 또한 상기 제품 트레이들은 상기 챔버로부터 제거되며 알루미늄 실(seal)로 캡핑된다. 캡핑 후에 바이알들은 라벨링되고, -20℃±5℃에 보관된다.

표 17

[0395]

EC20 약물 제품 부형제 목록			
성분	목록	한계	결과
주입용 멸균수	USP	적용 가능하지 않음	적용 가능하지 않음
염화 주석(II) 이수화물 (SnCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O)	USP	적용 가능하지 않음	적용 가능하지 않음
소듐 α-D-글루코헵토네이트 이수화물 (글루코헵토네이트)	분석, HPLC 용액	98-102% 10% 수성 용액은 깨끗하고 무색임	100% 통과
	pH	6.5-9.0	8.7
	LOD, TGA	≤12.8%	8.0%
	생물 부담(Bioburden) <sup>a</sup>	<200 CFU/gm	<10 CFU/gm
	내독소(Endotoxin) <sup>a</sup>	<1100 EU/gm	<1.2 EU/gm

[0396]

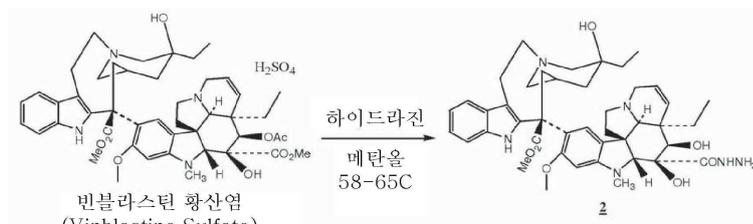
a 생물 부담 및 내독소는 글루코헵토네이트를 부형제로 사용하기 전에 결정되었다. 모든 다른 분석 결과들은 분석의 벤더(vendor)의 인증으로부터 얻어졌다.

[0397]

실시예 36

[0398]

빈블라스틴 황산염(Vinblastine Sulfate)의 데스아세틸 빈블라스틴 하이드라자이드(Desacetylvinblastine Hydrazide)로의 전형적인 전환



[0399]

[0400]

재료들

[0401]

빈블라스틴 황산염(Vinblastine Sulfate): USP; FW = 909.05g/mole; 메탄올: 무수의; 하이드라진(Hydrazine): 무수의; FW = 32g/mol; 탈이온수(De-ionized water); 에틸 아세테이트(Ethyl acetate): LC/GC 등급; 톨루엔: LC/GC 등급; 일염기성 인산 나트륨(Monobasic sodium phosphate): ≥99.0%; FW = 120 g/mole; 이염기성 인산 나트륨(Dibasic sodium phosphate): ≥99.0%; FW = 142 g/mole; 염화 나트륨(Sodium chloride): 시약 등급; FW = 58.4 g/mole; 황산 나트륨(Sodium sulfate): 무수의; 5-노보넨-2-카르복실산(5-norbornen-2-carboxylic acid).

[0402]

과정

[0403]

상기 반응, 추출의 워크-업 및 분리가 질소 또는 아르곤 대기 하에서 수행된다. 압력 필터들이 황산 나트륨을 제거하고 및 생성물을 캡처하기 위해 사용된다. 급랭(quench) 및 세척에서 사용된 염화 나트륨 용액은 질소 또

는 아르곤으로 상기 용해된 산소 수준이 0.9 ppm 이하가 될 때 분무된다.

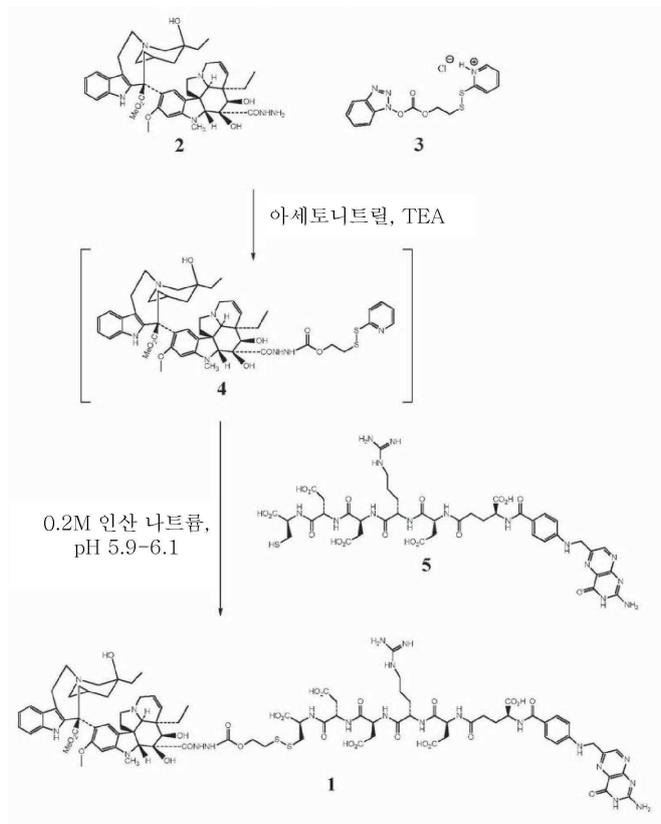
[0404] 빈블라스틴 황산염 및 무수의 메탄올은 아르곤 퍼지된 반응기로 채워진다. 5-노보넨-2-카르복실산(5-norbornen-2-carboxylic acid) 및 무수의 하이드라진이 상기 반응기에 더해진다. 상기 혼합물은 스테어링되고, 및 상기 고체가 용해된 후에 상기 혼합물을 약 60°C까지 가열한다. HPLC 분석에 의해, 상기 반응이 완료되면, 그것은 냉각되고, 급랭되며 및 에틸 아세테이트 내로 추출된다. 건조 후에, 상기 생성물은 에틸 아세테이트 및 톨루엔으로부터 결정화된다. 상기 고체들은 진공 하에서 하룻 밤동안 실온에서 건조된다.

[0405] 버퍼된 NaCl 함량: 10.0 g NaCl, 7.10 -7.30 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 4.40 - 4.60 g의 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 및 90 mL의 물. 상기 용액은 아르곤 또는 질소로 분무된다(용해된 산소 함량< 0.9 ppm).

[0406] 전형적인 분리된 것의 수득률은 이론적 최대값의 50-60%이다.

[0407] 실시예 36

[0408] EC145 공정의 단계 2 및 3



[0409]

[0410] 단계 2 및 단계 3 공정들

[0411] 재료들

[0412] 데스아세틸빈블라스틴 하이드라자이드(Desacetylvinblastine hydrazide): FW=768.9 g/mol; 20.5 g, 26.7 mmol; 혼합된 카보네이트(Mixed Carbonate) (3): FW=384.9 g/mol; 10.7 g, 27.8 mmol; 아세토니트릴(Acetonitrile): q.s.; 트리에틸아민(Triethylamine): FW=101.2 g/mol; 2.67 g, 26.4 mmol; Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O: 47.84 g; EC119: 29.9 g 28.6 mmole; 0.5 N HCl: q.s.; WFI: q.s.

[0413] 공정

- [0414] 이 공정에서 사용되는 모든 물은 WFI임에 주목한다.
- [0415] 적당한 용기를 아르곤으로 퍼지한다.  $20.5 \pm 0.3\text{g}$ 의 데스아세틸빈블라스틴 하이드라자이드(Desacetylvinblastine hydrazide)를 충전한다(charge); 이 충전은 효능(potency) 조절된다, 즉, 만약 상기 효능이 90.0%이면, 상기 충전은  $22.8\text{g}$ 이 될 것이다.  $10.7 \pm 0.2\text{g}$ 의 혼합된 카보네이트(Mixed Carbonate)(효능 조절된)를 충전한다.  $800 \pm 30\text{ mL}$ 의 아세토니트릴(acetonitrile) 및  $2.67 \pm 0.11\text{g}$ 의 트리에틸아민(triethylamine)을 충전한다. 아르곤 하에서  $10\text{-}14^\circ\text{C}$ 에서 20-28 시간 동안 혼합한다. HPLC (EC 145-CMC-AM-0001, 버전 2.3)을 위하여 샘플을 취한다. 상기 예상되는 결과는 CDSI 대 하이드라자이드(hydrazide)의 비(ratio)  $\geq 25:1$ 이다. 만약 그렇지 않다면, 아르곤 하에서  $10\text{-}14^\circ\text{C}$ 에서의 혼합을 2-4 시간 동안 계속하고 다시 샘플한다.
- [0416] 780-820 mL의 물을 아르곤으로 그 용해된 산소 수준이 0.9 ppm 미만일 때까지 분무한다; 용해된 산소 수준을 기록한다.  $47.8 \pm 0.5\text{g}$ 의 인산 나트륨 이염기성 7수화물(sodium phosphate dibasic heptahydrate)을 탈산소화된 물에 용해시킨다. 적당한 용기 내로,  $29.8 \pm 0.5\text{g}$ 의 EC119를 첨가한다; (충전은 효능 조절된 것이다). 상기 인산 나트륨 용액을 상기 EC119에 첨가하고 또한 아르곤 하에서 혼합한다. 상기 용액의 pH를 측정하고 상기 pH를 필요하다면 0.5N HCl로 5.8-6.2로 조정한다.
- [0417] 버퍼된 EC119 용액을 상기 반응 혼합물에 첨가한다. 아르곤 하에서  $20\text{-}25^\circ\text{C}$ 에서 60-75 분 동안 혼합한다. HPLC (EC 145-CMC-AM-0001, 버전 2.3)을 위하여 샘플을 취한다. 만약 EC145 대 CDSI의 비(ratio)  $\geq 25:1$ 이면, 진행한다. 만약 그렇지 않으면, 아르곤 하에서  $20\text{-}25^\circ\text{C}$ 에서 혼합을 계속하고 또한 다시 샘플한다. 만약 EC145 대 CDSI의 비(ratio)  $\geq 25:1$ 이면, 진행한다. 만약 그렇지 않으면, 부가적인 1g의 EC119를 첨가하고 및 아르곤 하에서  $20\text{-}25^\circ\text{C}$ 에서 30분 동안 혼합하고 또한 다시 샘플한다.
- [0418] 용해된 산소 수준이 0.9 ppm 미만일 때까지 아르곤으로 분무된 물로부터 만들어진 6.9L-7.1L의 25mM 인산염 버퍼(phosphate buffer), 185 - 195 mM NaCl, pH 7.2 - 7.5를 준비한다. 상기 반응 혼합물을 이 버퍼로 희석한다. 만약 상기 혼합물이 희미한 안개(faint haze) 이상으로 발전한다면, 그 생성물 용액은 여과되는 것이 필요하다(와트만 폴리캡(Whatman Polycap) TC75 또는 TC150, 0.45 또는 1.0 마이크론); 이 여과는 상기 생성물을 바이오타지(Biotage) 컬럼 상으로 탑재하는 동안 수행될 수 있다.
- [0419] 액상 크로마토그래피 여과
- [0420] 바이오타지(Biotage) 150M, C18 카트리지를 사용한다. 이 사이즈의 카트리는 현재 기재된 것의 사이즈의 두 배의 반응 혼합물에 부합될 수 있다.
- [0421] 컬럼 준비:
- [0422] a. 컬럼을 하기로 플러쉬(flush)한다:
- [0423] i. 12 - 13 L 의 아세토니트릴(acetonitrile)
- [0424] ii. 12 - 13 L 의 80% 아세토니트릴(acetonitrile) 및 20% 물 (v/v)
- [0425] iii. 12 - 13 L 의 50% 아세토니트릴(acetonitrile) 및 50% 물 (v/v)
- [0426] iv. 12 - 13 L 의 10% 아세토니트릴(acetonitrile) 및 90% 물 (v/v)
- [0427] 정제
- [0428] 25mM 인산염 버퍼(phosphate buffer), (185 - 195 mmol) NaCl, pH 7.3 - 7.5를 준비한다.

- [0429] 상기 버퍼를 용해된 산소 함량이  $\leq 0.9$  ppm 일 때까지 아르곤으로 분무한다.
- [0430] 준비: 버퍼된 식염수 내의 10% 아세토니트릴(acetonitrile) 41L(v/v); 버퍼된 식염수 내의 16% 아세토니트릴(acetonitrile) 13L(v/v), 버퍼된 식염수 내의 27% 아세토니트릴(acetonitrile) 52L(v/v).
- [0431] 이동 상(mobile phase) 용액들의 용해된 산소 함량을 체크한다. 만약 상기 용해된 산소 함량이 0.9 ppm보다 크면, 상기 이동 상을 상기 용해된 산소 수준이  $\leq 0.9$  ppm 일 때까지 아르곤 또는 질소로 분무한다.
- [0432] 상기 컬럼을 26-27 L의 10% 아세토니트릴(acetonitrile) 이동 상으로 플러쉬한다.
- [0433] 상기 생성물을 상기 컬럼 상에 탑재한다.
- [0434] 하기 순서의 이동 상을 사용하여 상기 생성물을 용출한다:
- [0435] i. 13 -14 L 의 상기 10% 아세토니트릴(acetonitrile) 이동 상,
- [0436] ii. 13 L 의 상기 16% 아세토니트릴(acetonitrile) 이동 상.
- [0437] iii. 51 -52 L 의 상기 27% 아세토니트릴(acetonitrile) 이동 상.
- [0438] 주의: 직렬의(inline) UV 디텍터가 유용하다; 생성물은 8-13L의 밴드위스(bandwidth)를 가지고 15-19L의 상기 27% 아세토니트릴(acetonitrile) 이동 상에서 시작되어 나와야 한다.
- [0439] 분획 평가
- [0440] i. HPLC 방법 EC145-CMC-IP-0001
- [0441] ii. 분획 통과 =  $\geq 97.0\%$  EC145 및 불순물 없음  $\geq 0.8\%$
- [0442] 컬럼 실행 후 처리:
- [0443] 상기 컬럼은 한 번 재사용될 수 있다. 만약 상기 컬럼이 잠시 동안의 수행을 위해 사용될 것이라면, ii - iv를 수행한다.
- [0444] i. 12 -13 L 의 1:1 아세토니트릴(acetonitrile)- 물로 컬럼을 플러쉬한다.
- [0445] ii. 20 -22 L 의 아세토니트릴(acetonitrile)로 컬럼을 플러쉬한다.
- [0446] iii. 컬럼 준비 단계들 ii - iv를 반복한다.
- [0447] 초-여과(Ultra-filtration)
- [0448] q.s.의 물을 아르곤 또는 질소로 그 용해된 산소 수준이 0.9 ppm 미만일 때까지 분무한다. 통과하는 크로마토그래피 분획물들은 합쳐지고(combined) 또한 상당하는(equivalent) 부피의 분무된 물로 희석된다. 초-여과 장치를 아주 적은(nominal) MW 차단(cutoff)의 1000(cat#CDUF0022LA)을 갖는 밀리포어 (Millipore) 재생된 셀룰로오스 멤브레인을 사용하여 조립하고 또한 그것을 9L의 탈산소화된 물로 행군다. 상기 생성물 용액의 초-여과를 시작한다. 30-50 psi의 배경 압력을 유지한다. 보존되는(retentate) 부피가 2 내지 3L일 때까지 초-여과를 계속한다. 11 내지 12L의 탈산소화된 물을 첨가한다. 보존되는(retentate) 부피가 2 내지 3L일 때까지 초-여과를 계속한다. 11 내지 12L의 탈산소화된 물을 첨가한다. 보존되는(retentate) 부피가 2 내지 3L일 때까지 초-여과를 계속한다. 8 내지 10L의 탈산소화된 물을 첨가한다. 보존되는 용액(retentate) 부피가 2L일 때까지 초-여과를 계속한다. 초-여과의 종점은 GC를 통한 상기 보존되는 용액의 샘플 및 농도를 분석함으로써 결정되어야 한다. 스펙(specification)은 EC145의 밀리그램 당  $\leq 50$  마이크로그램의 아세토니트릴(acetonitrile)이다. 만약 도달하지 못했다면, 또 다른 사이클의 초-여과를 수행한다.
- [0449] 상기 API 용액의 농도는 상기 패키징되는 물질이 6 내지 12mg/mL이 되도록 조절되어야 한다. 초-여과의 완료 시점에서, 상기 장치는 1 리터의 물로 행구어질 것이다. 따라서, 초-여과를 계속하거나 또는 필요하다면 물을 첨가한다. 일단 상기 생성물 용액이 초-여과 장치로부터 나오면, 상기 초-여과 장치를 1L의 탈산소화된 물로 행구

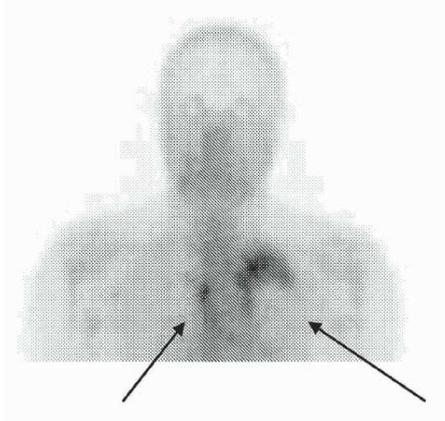
고 또한 상기 생성물 용액과 합한다.

[0450] 행굼액이 상기 생성물 용액과 합쳐진 후에, 이 용액은 0.2 마이크론의 절대 필터(absolute filter)를 통과하여 여과되어야 하고, 및 이 여과물은 패키징된다(불활성 대기 하에서 수행됨).

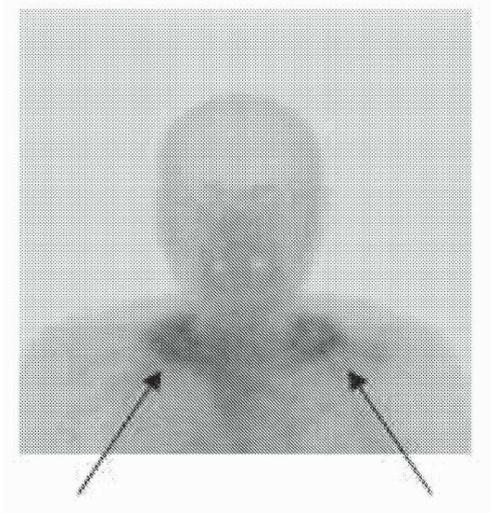
[0451] 분리된 생성물의 수득률은 이론적 최대의 50-60%이다.

**도면**

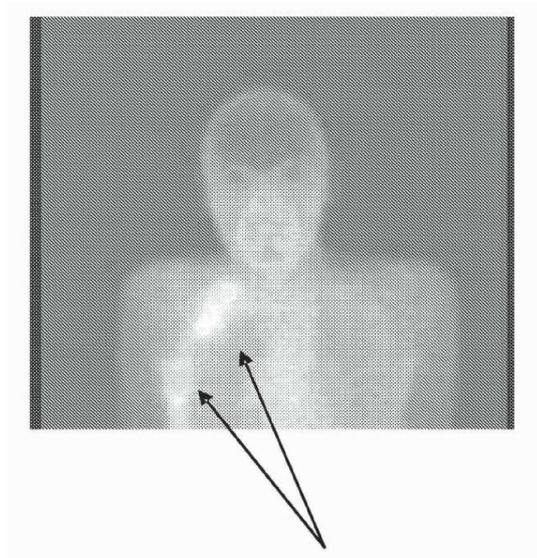
**도면1**



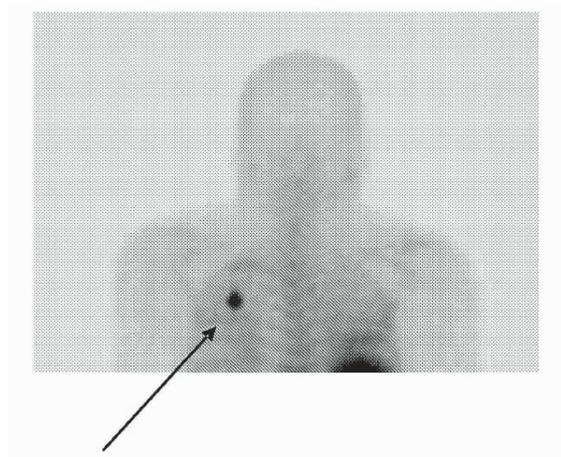
**도면2**



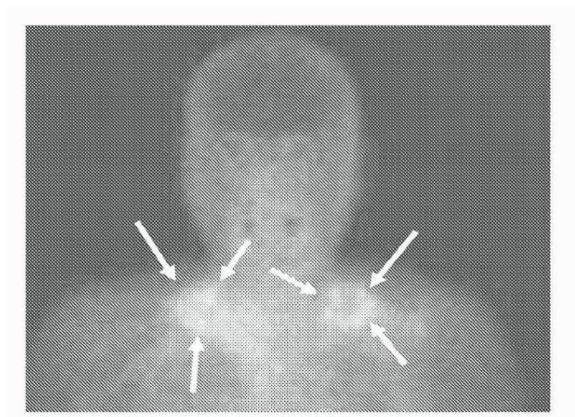
도면3



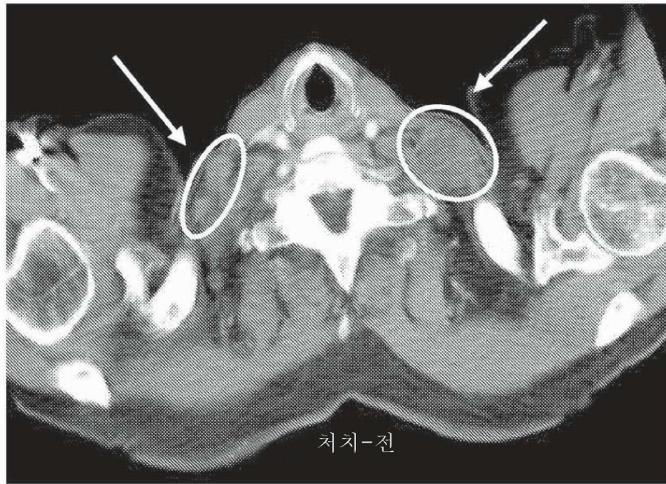
도면4



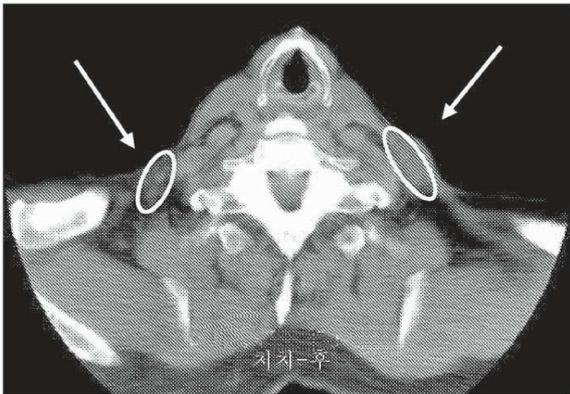
도면5



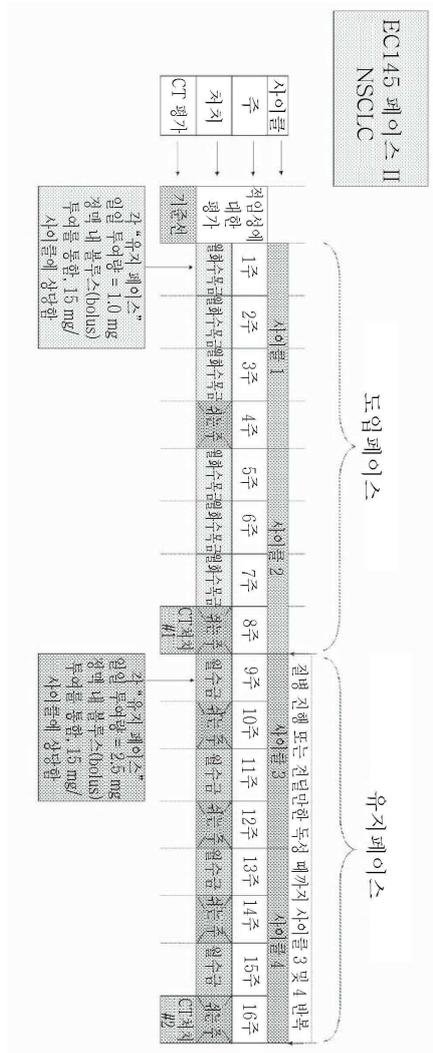
도면6



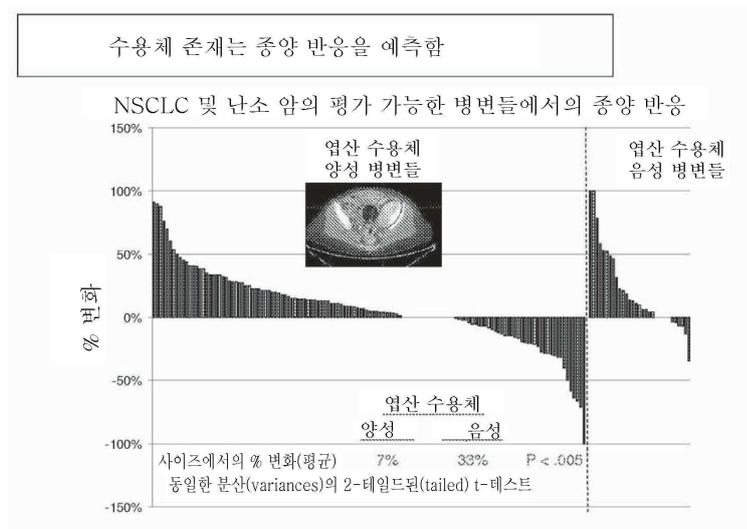
도면7



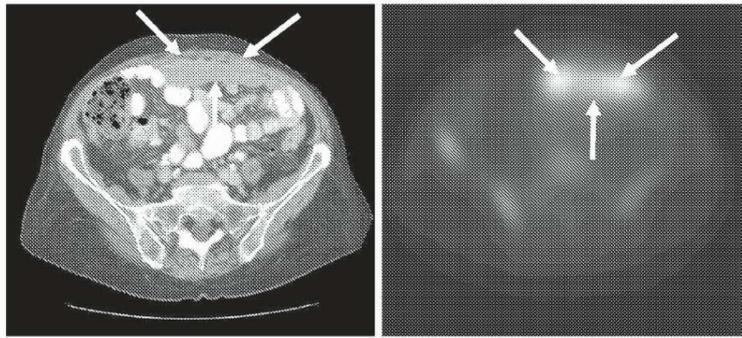
도면8



도면9

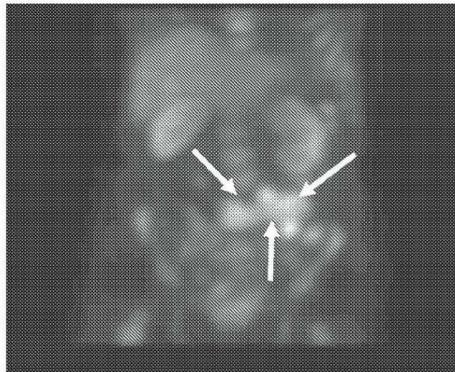


도면10



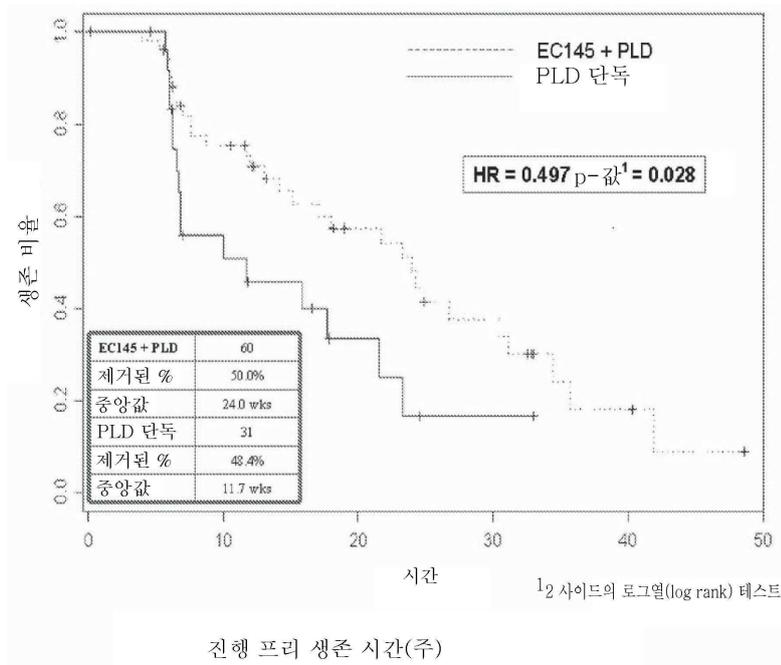
패널 A

패널 B

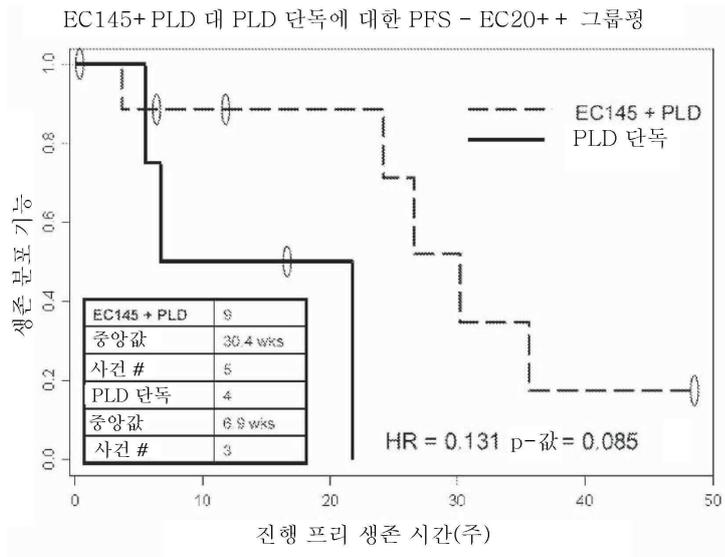


패널 C

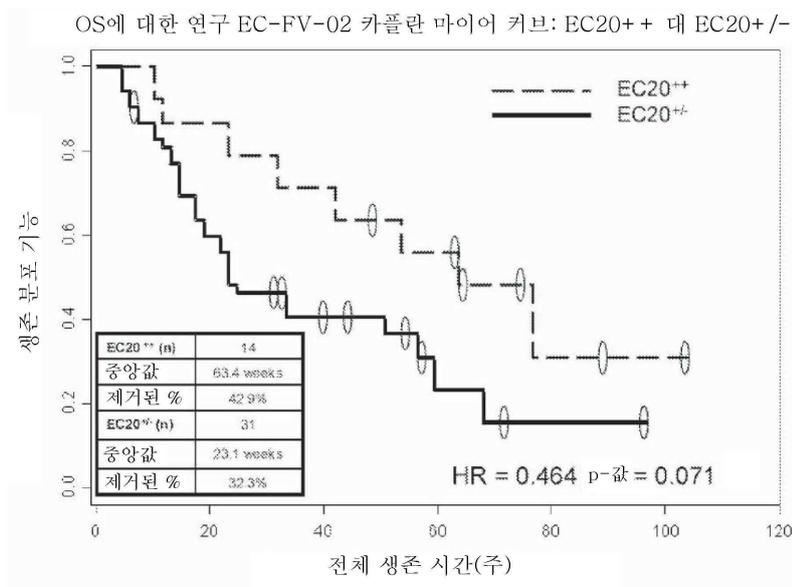
도면11



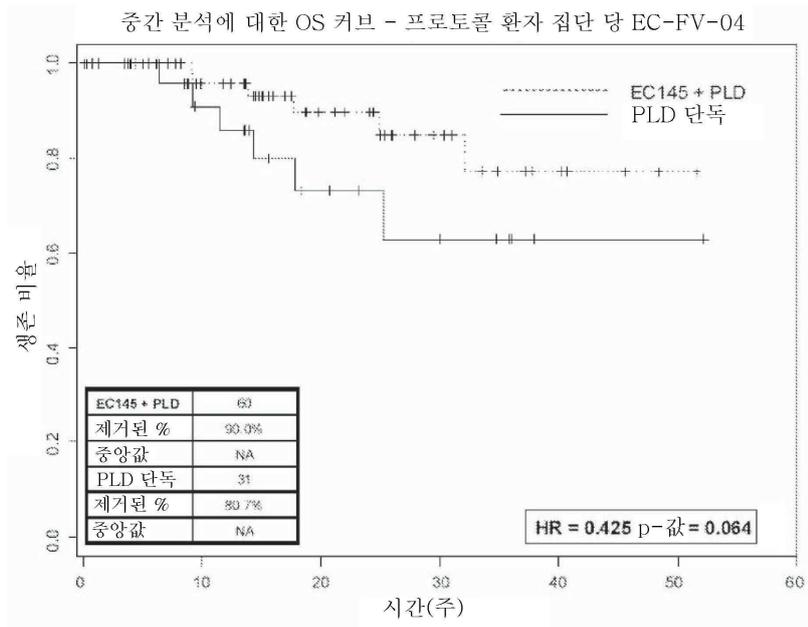
도면12



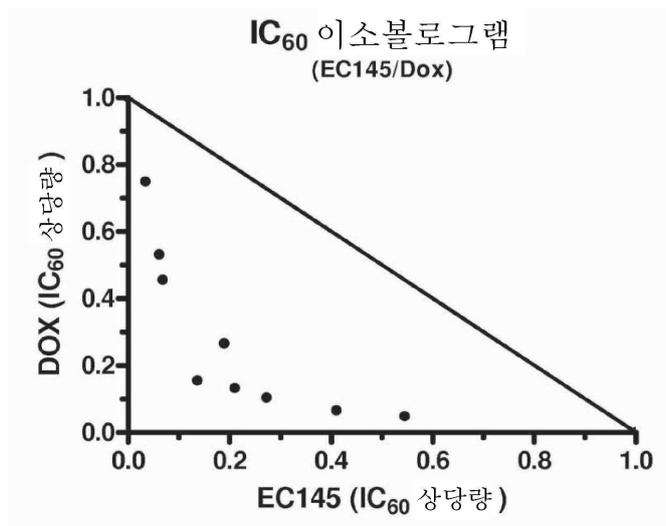
도면13



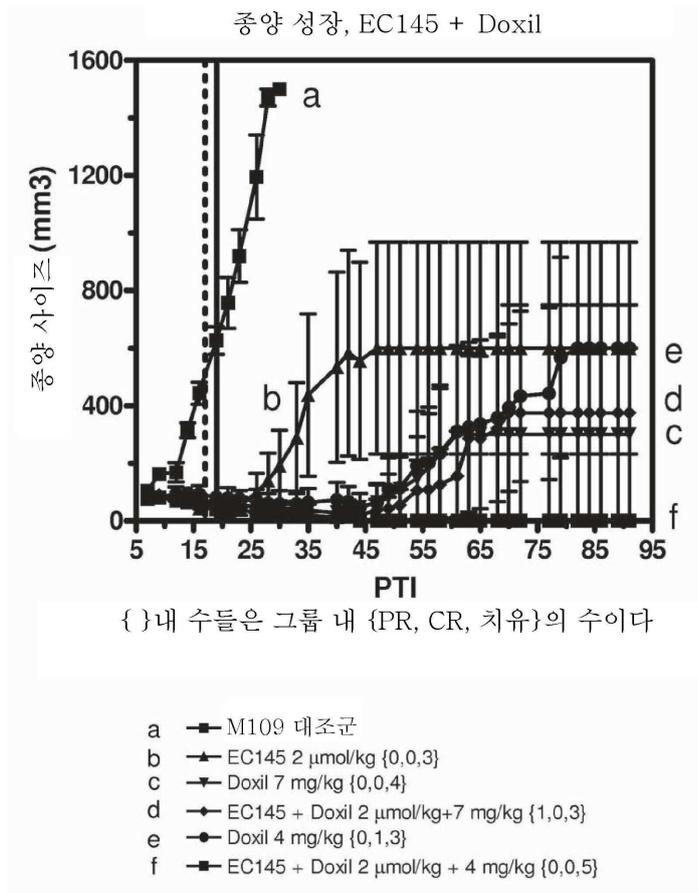
도면14



도면15



도면16



도면17

