(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0067907
(43) 공개일자 2024년05월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/675 (2006.01) *A61K 31/18* (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01) *A61K 31/472* (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01) *A61K 31/496* (2024.01)
A61K 31/5375 (2006.01) *A61K 31/551* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/675 (2013.01)
A61K 31/18 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7011060
(22) 출원일자(국제) 2022년09월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월02일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/120817
(87) 국제공개번호 WO 2023/046060
국제공개일자 2023년03월30일
(30) 우선권주장
202111130589.3 2021년09월26일 중국(CN)

(71) 출원인
아센타위츠 파마슈티컬즈 리미티드
중국 광둥 518118 웬젠 핑샨 디스트릭트 켕지 스트리트 진샤 커뮤니티 진후이 로드 넘버 14 바이오메디컬 이노베이션 인더스트리얼 파크 빌딩 10 10쓰 플로어 룸 1003
(72) 발명자
두안, 지안신
중국 광둥 518118 웬젠 핑샨 디스트릭트 켕지 스트리트 진샤 커뮤니티 진후이 로드 넘버 14 바이오메디컬 이노베이션 인더스트리얼 파크 빌딩 10 10쓰 플로어 룸 1003
리, 안룽
중국 광둥 518118 웬젠 핑샨 디스트릭트 켕지 스트리트 진샤 커뮤니티 진후이 로드 넘버 14 바이오메디컬 이노베이션 인더스트리얼 파크 빌딩 10 10쓰 플로어 룸 1003
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인에이아이피

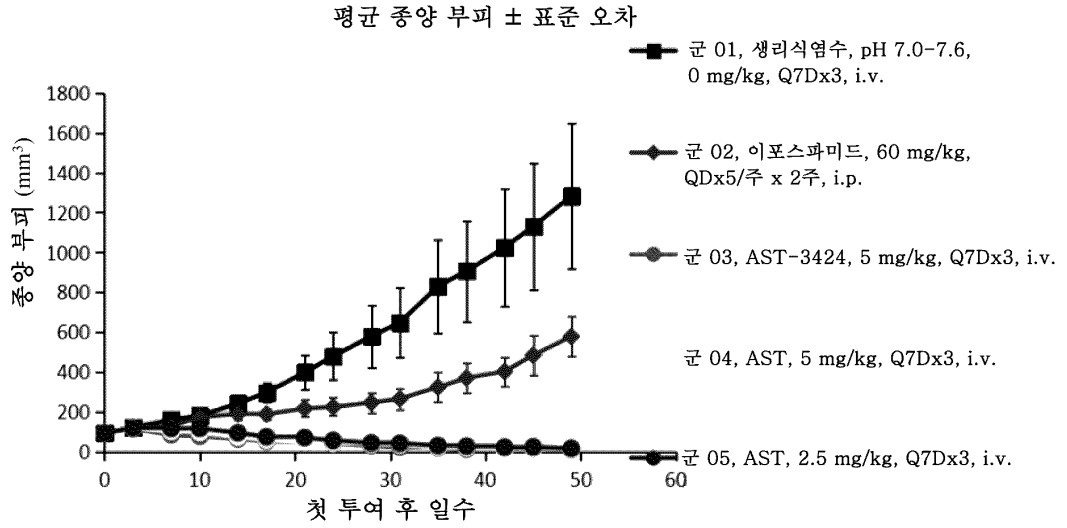
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **KRAS 돌연변이가 있는 암 환자의 치료**

(57) 요 약

KRAS 돌연변이를 갖는 암 및 종양환자의 치료방법 및 약학적 용도.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/4375 (2013.01)
A61K 31/472 (2013.01)
A61K 31/495 (2013.01)
A61K 31/496 (2024.01)
A61K 31/5375 (2013.01)
A61K 31/551 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2023.05)
(72) 발명자
맹, 판잉
미국 94121 캘리포니아 샌프란시스코 47 애비뉴 830
치, 티안양
중국 광둥 518118 쉔젠 핑산 디스트릭트 켕지 스트리트 진샤 커뮤니티 진후이 로드 넘버 14 바이오메디컬 이노베이션 인더스트리얼 파크 빌딩 10 10쓰 플로어 룸 1003

명 세 서

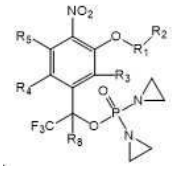
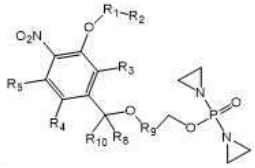
청구범위

청구항 1

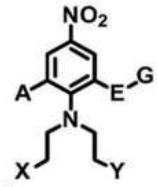
AKR1C3 활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물을 함유하는 약물 단독요법을 사용하거나 다른 치료적 약물과 조합하여 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위한 치료 방법.

청구항 2

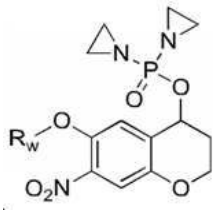
제1항에 있어서, 화합물은 구조식 1/2/3/4/5/6 및 이의 염, 에스테르, 용매화물, 동위원소 이성질체로부터 선택되는, 치료 방법:


(1)

(2),

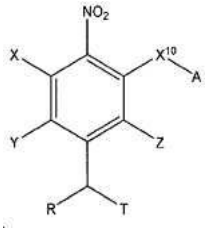
여기서 R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_8, R_9, 및 R_{10}의 정의는 공개 번호 WO2020228685A1의 특허 출원 PCT/CN2020/089692의 청구범위에 기술되어 있으며;


(3),

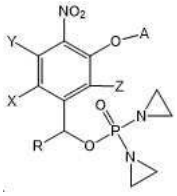
여기서 A, E, G, X 및 Y의 정의는 공개 번호 WO2019190331A1의 특허 출원 PCT/NZ2019/050030(공개 번호 CN111918864A의 중국 특허 출원 번호 2019800234236에 상응함)의 청구범위에 기술되어 있으며;


(4),

여기서 R_w의 정의는 공개 번호 WO2021068952A1의 특허 출원 PCT/CN2020/120281의 청구범위에 기술되어 있으며;


(5),

여기서 X, Y, Z, R, T, A 및 X^{10}의 정의는 공개 번호 WO2017087428A1의 특허 출원 PCT/US2016/062114(공개 번호 CN108136214A의 중국 특허 출원 번호 2016800200132에 상응함)의 청구범위에 기술되어 있으며;



(6),

여기서:

A는 치환된 또는 비치환된 C_6-C_{10} 아릴, 바이아릴 또는 치환된 바이아릴, 5-15원 헤테로아릴, 또는 -N=CR^{1}R^{2}이며,

여기서 치환기는 할로게노, -CN, -NO_2, -O-(CH_2)-O-, -CO_2H 및 이의 염, -OR^{100}, -CO_2R^{100}, -CONR^{101}R^{102}, -NR^{101}R^{102}, -NR^{100}SO_2R^{100}, -SO_2R^{100}, -SO_2NR^{101}R^{102}, C_1-C_6 알킬, 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

여기서 R^{100}, R^{101} 및 R^{102}는 각각 독립적으로 수소, C_1-C_8 알킬, 또는 C_6-C_{12} 아릴이거나; R^{101} 및 R^{102}는 이들이 부착되는 질소 원자와 함께 5-7원 헤테로사이클을 형성하고;

여기서 알킬기 및 아릴기는 각각 1-3 할로게노기 또는 1-3 C_1-C_6 알킬기에 의해 치환되고;

R^1 및 R^{2}는 각각 독립적으로 페닐 또는 메틸이고;

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 수소 또는 할로게노이고;

R은 수소 또는 C_1-C_6 알킬 또는 할로겐 치환된 알킬임.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 암은 난소암, 유방암, 췌장암, 나팔관암, 원발성 복막암, 위암, 전립선암, 간암, 대장암, 직장암, 폐암, 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택된, 치료 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 KRAS 돌연변이는 KRAS-G12D 돌연변이, KRAS-G12V 돌연변이 및 KRAS-G12C 돌연변이로 이루어진 군으로부터 선택되고;

바람직하게는, 상기 KRAS 돌연변이는 KRAS-G12D 돌연변이로부터 선택된, 치료 방법.

청구항 5

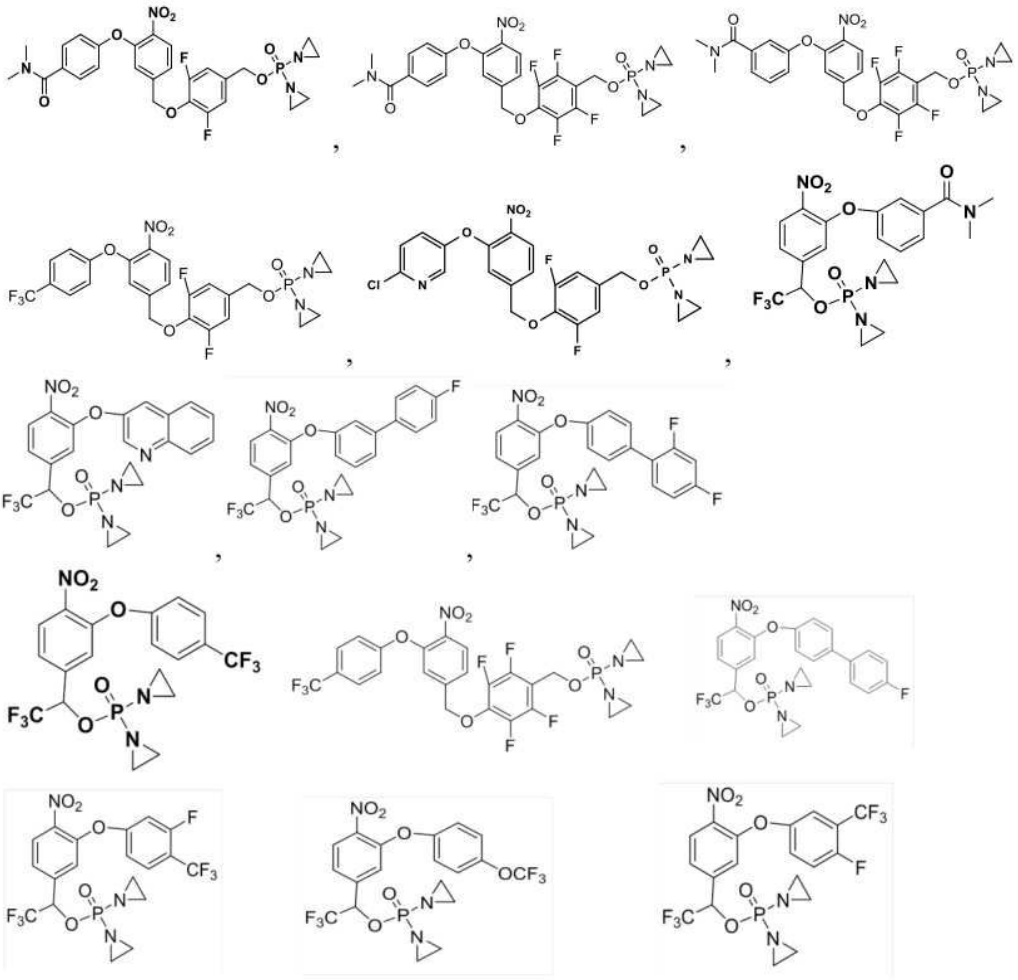
제4항에 있어서, 상기 돌연변이의 TMB(종양 돌연변이 부하(부담)) 수준은 중간인, 치료 방법.

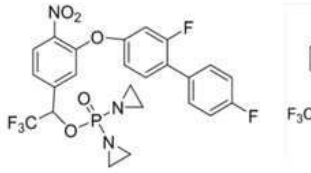
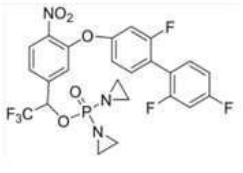
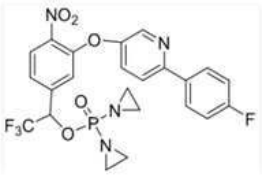
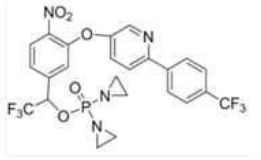
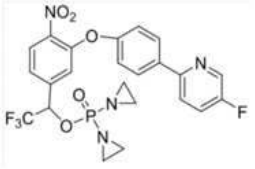
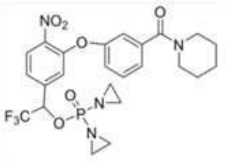
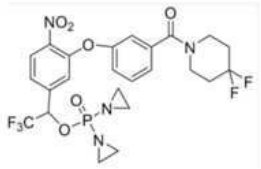
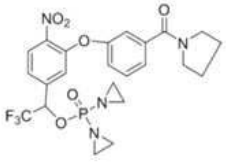
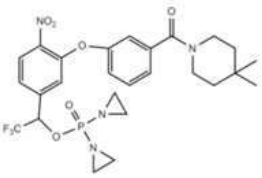
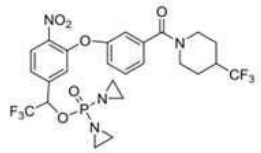
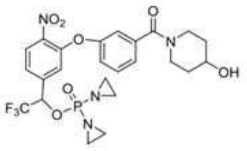
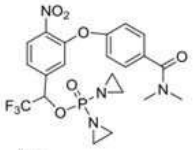
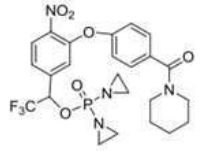
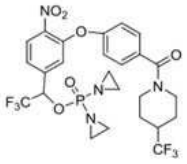
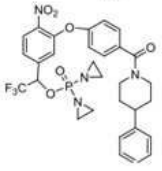
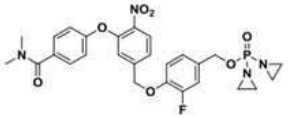
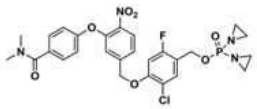
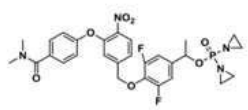
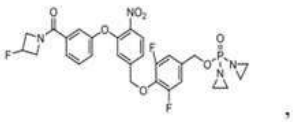
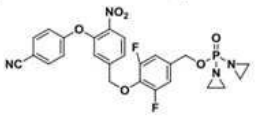
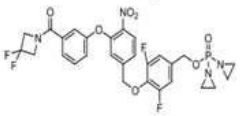
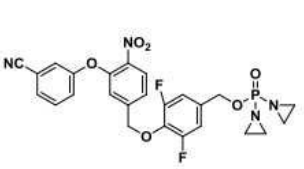
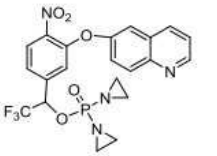
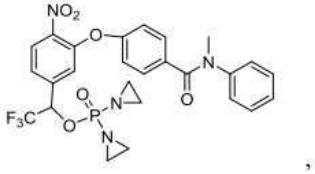
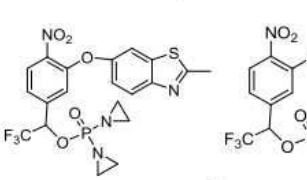
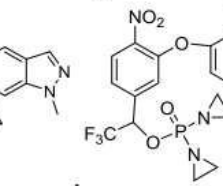
청구항 6

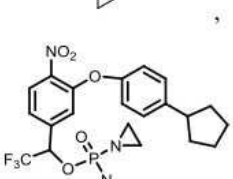
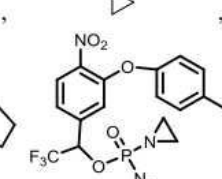
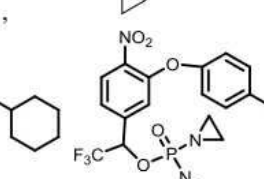
제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 다른 치료적 약물은 KRAS 억제제 및 면역요법 약물로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 KRAS 억제제는 소토라십(AMG510), 아다그라십(MRTX849), GDC6036, LY3499446, JNJ74699157(ARS3248) 및 D-1553으로 이루어진 군에서 선택되고, 상기 면역요법 약물은 PD-1 단클론 항체 및 PD-L1 단클론 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는, 치료 방법.

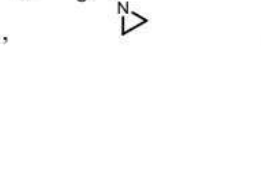
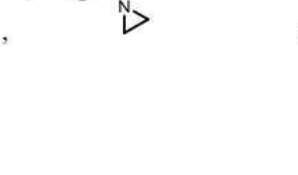
청구항 7

제2항에 있어서, 식 (1) 및 (2)의 화합물은 하기로 이루어진 군으로부터 선택되고:

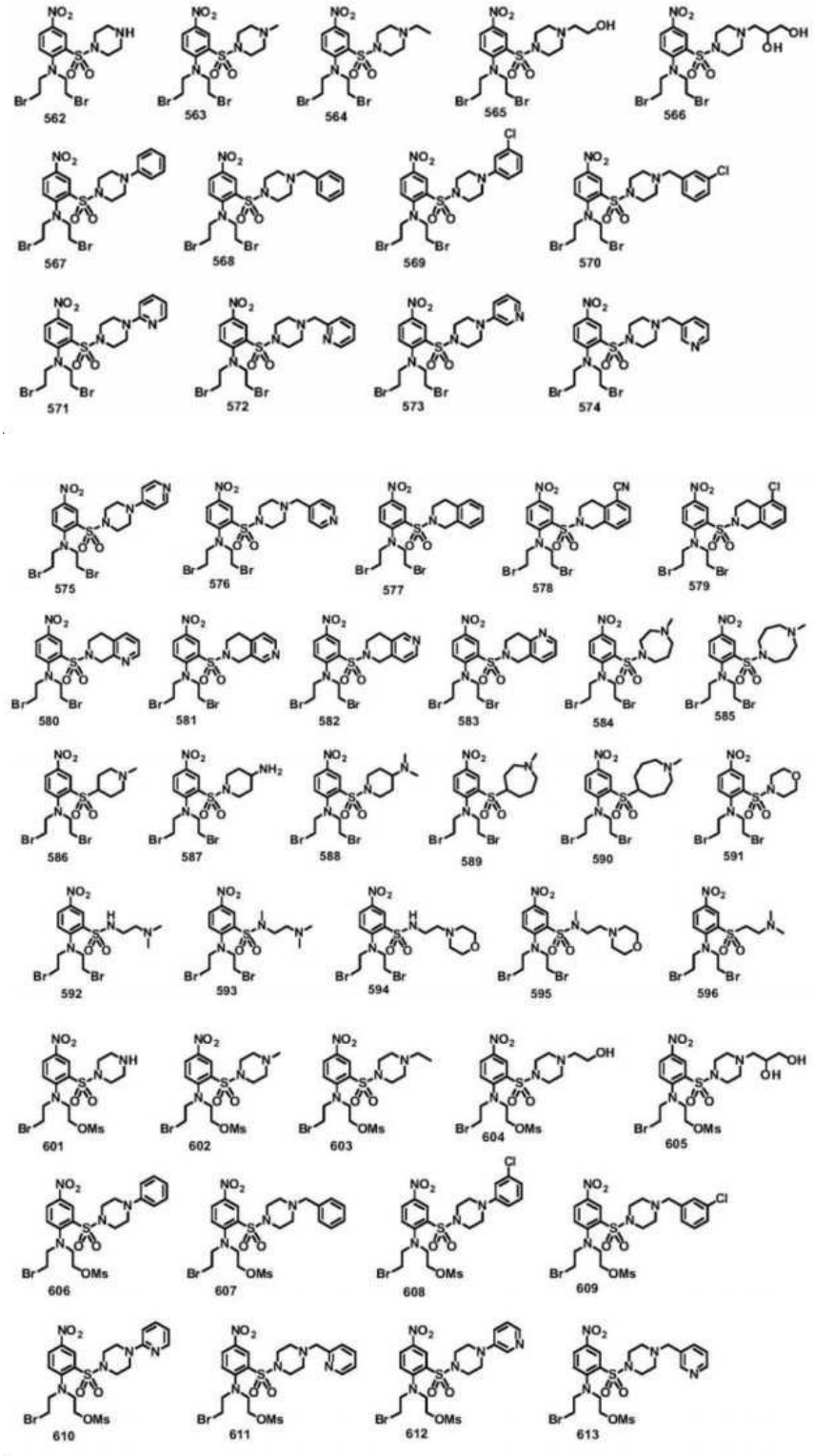


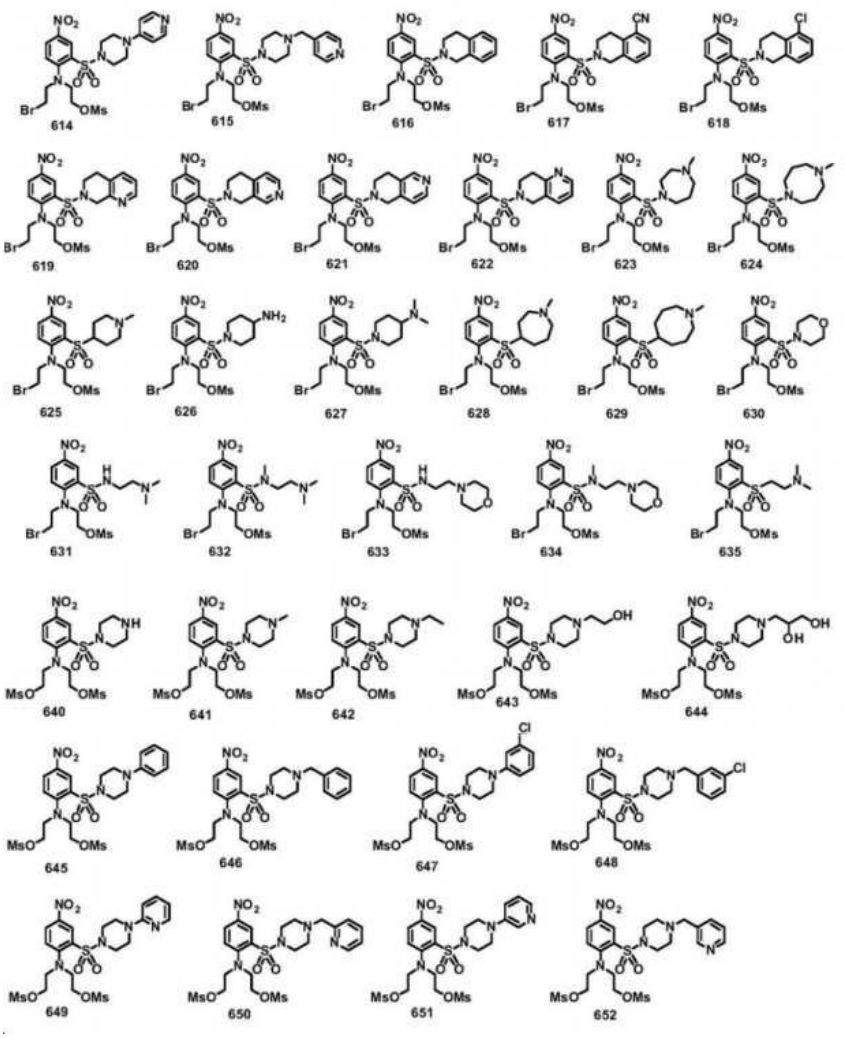



























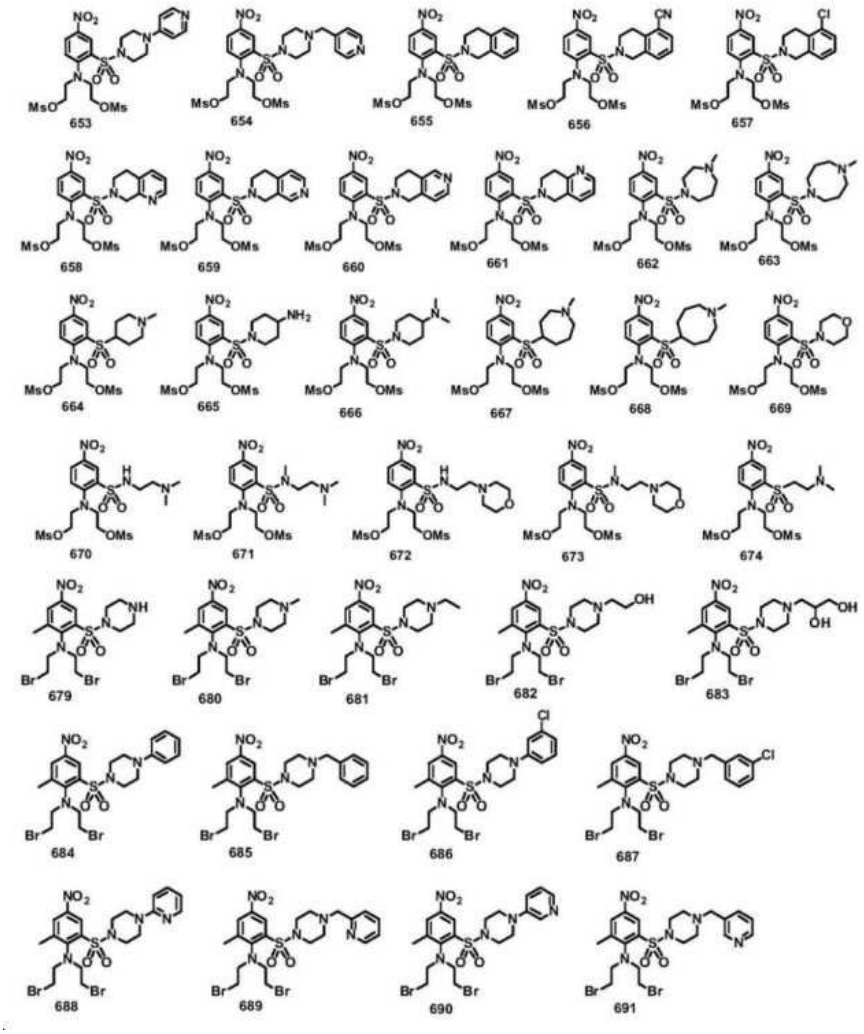




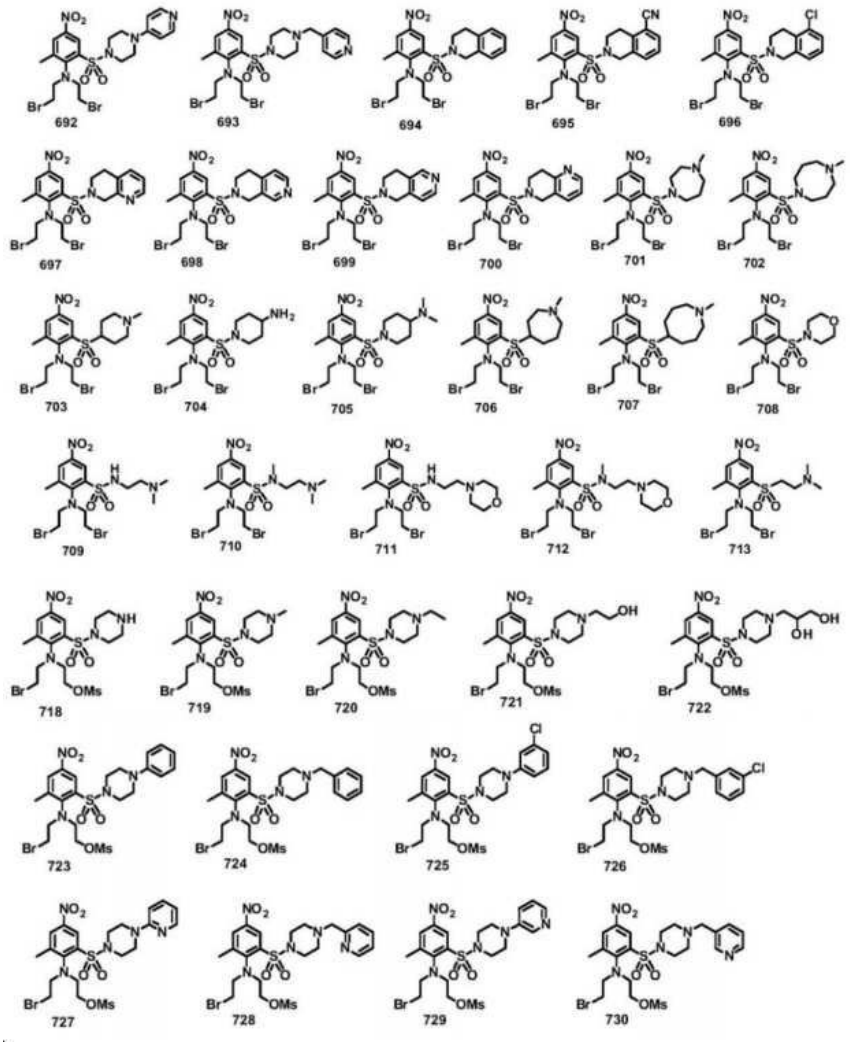



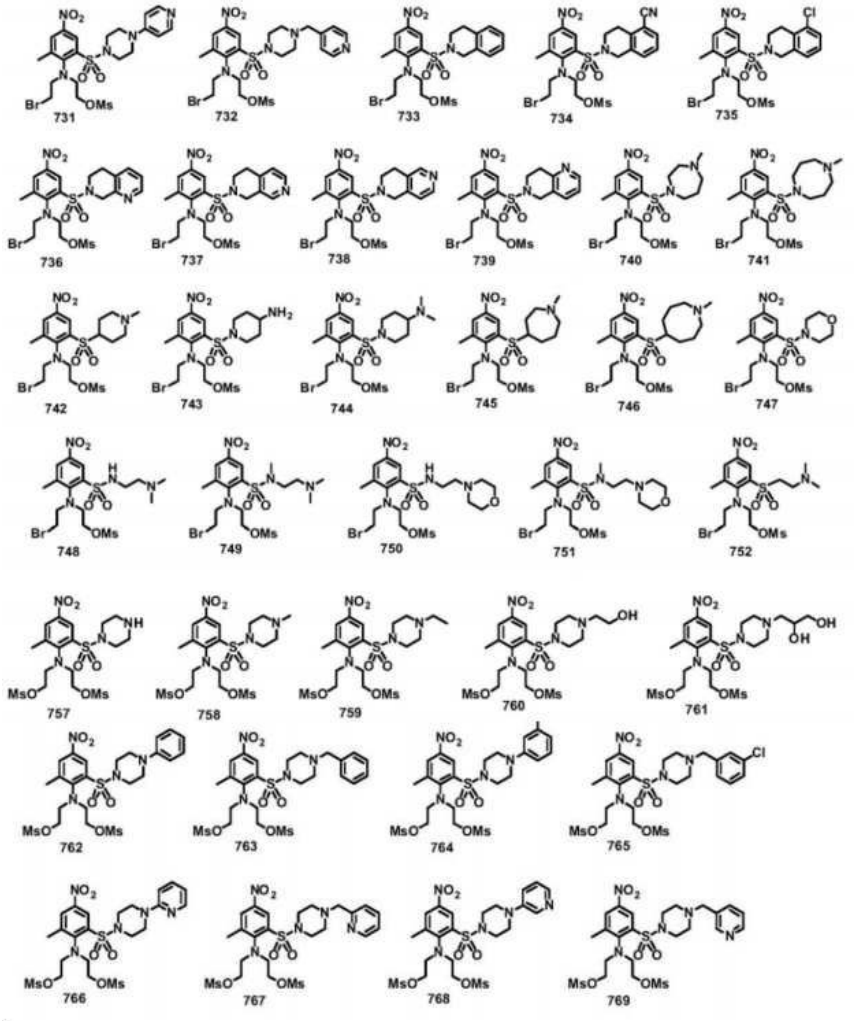
식 (3)의 화합물은 하기로 이루어진 군으로부터 선택되고:

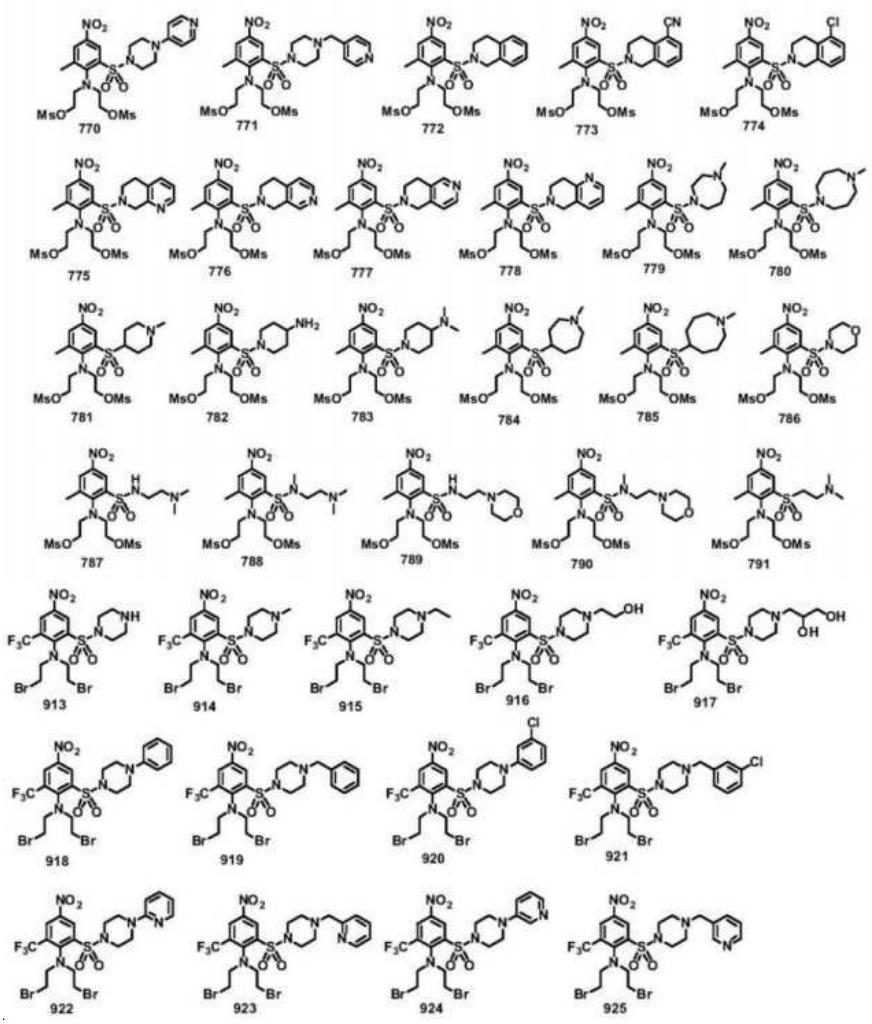


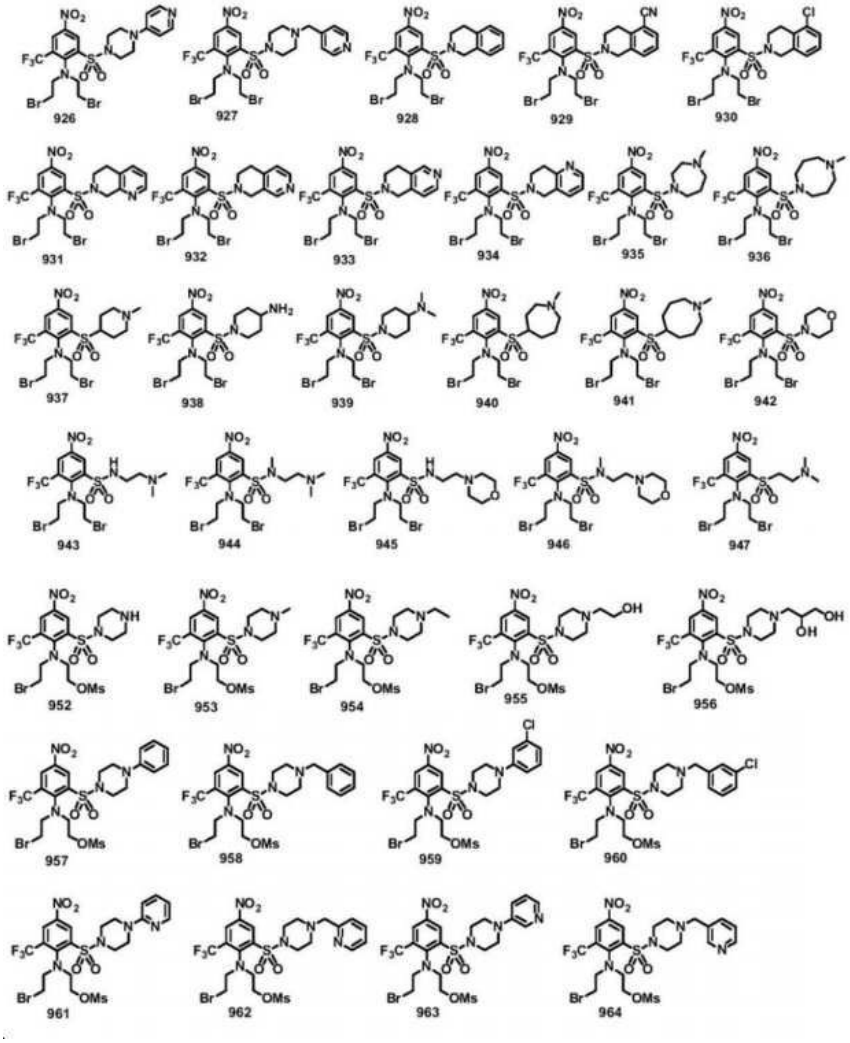

614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652

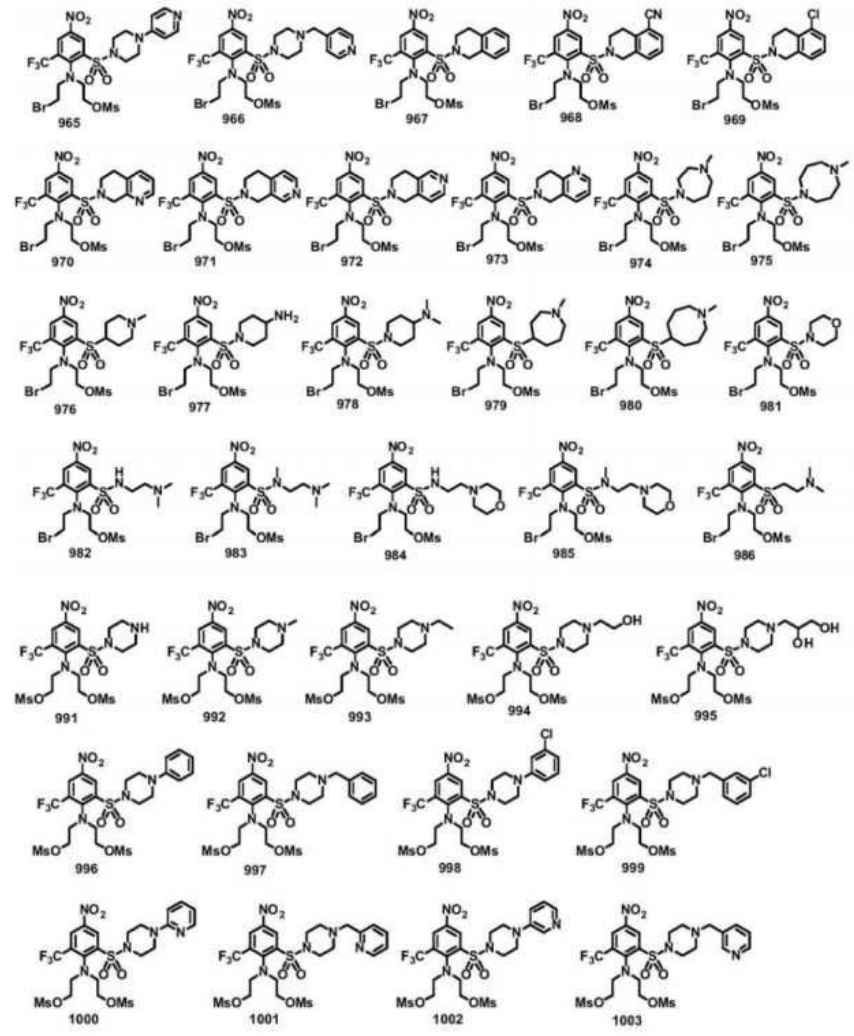

653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691

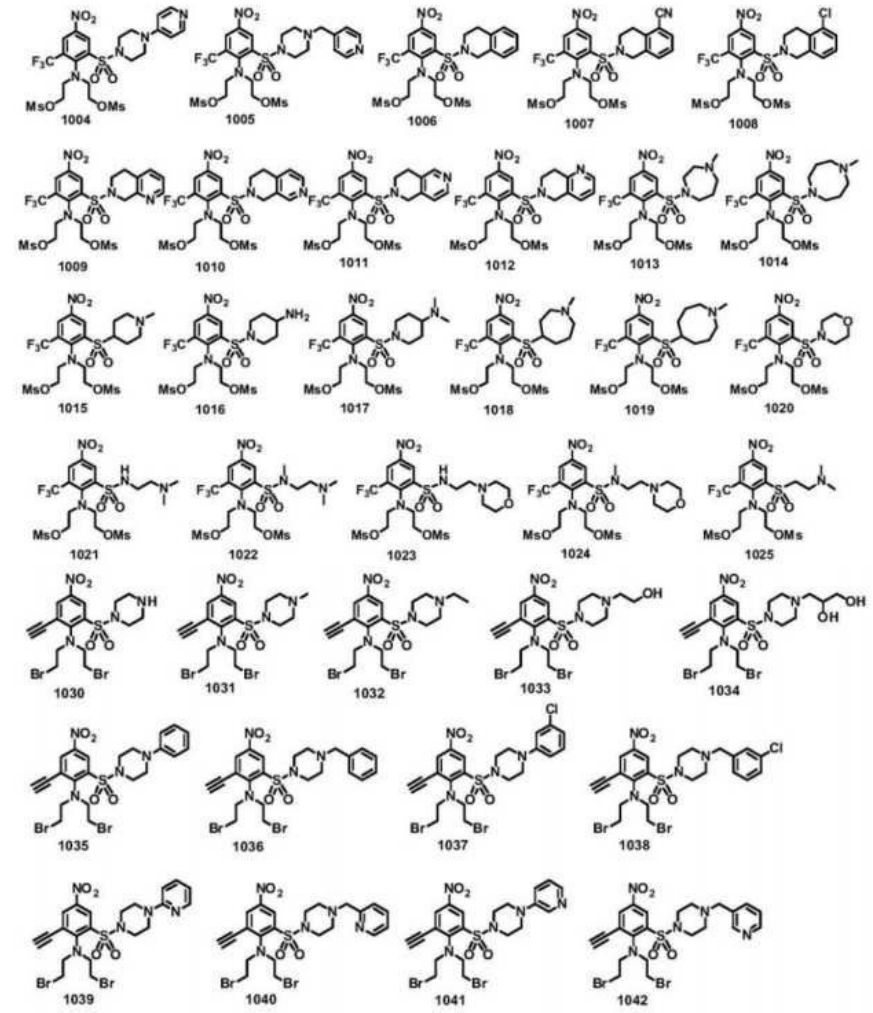

692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730

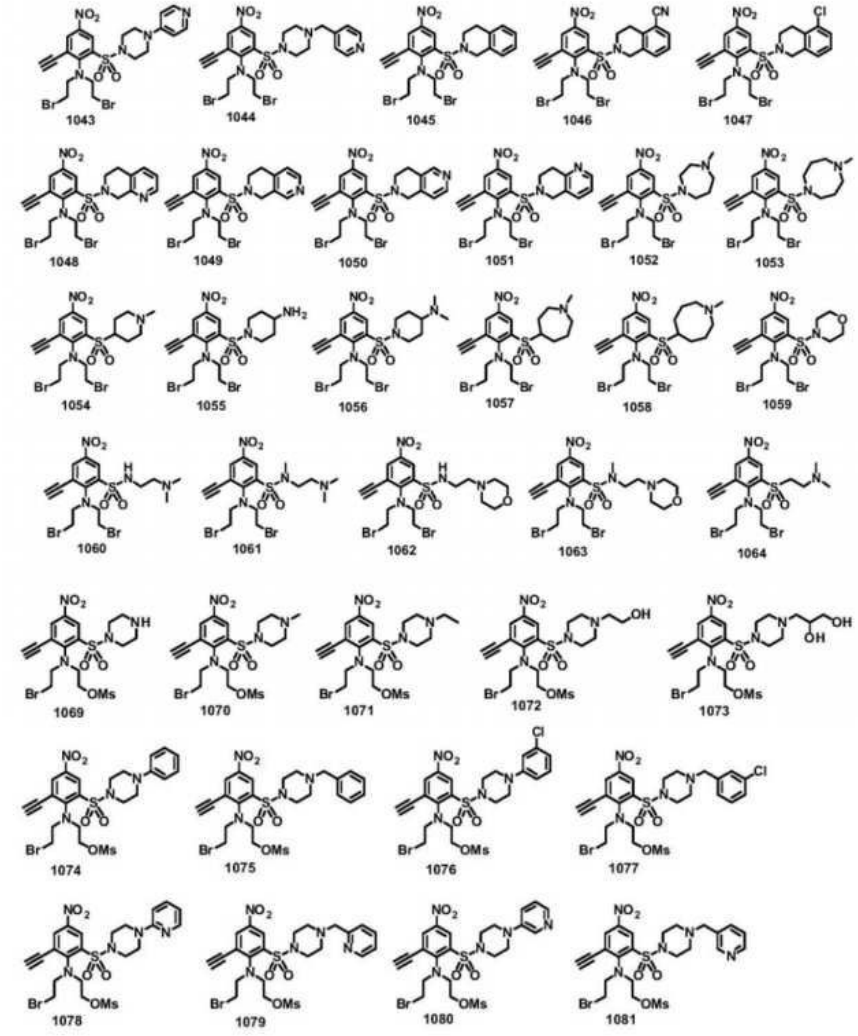

731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769

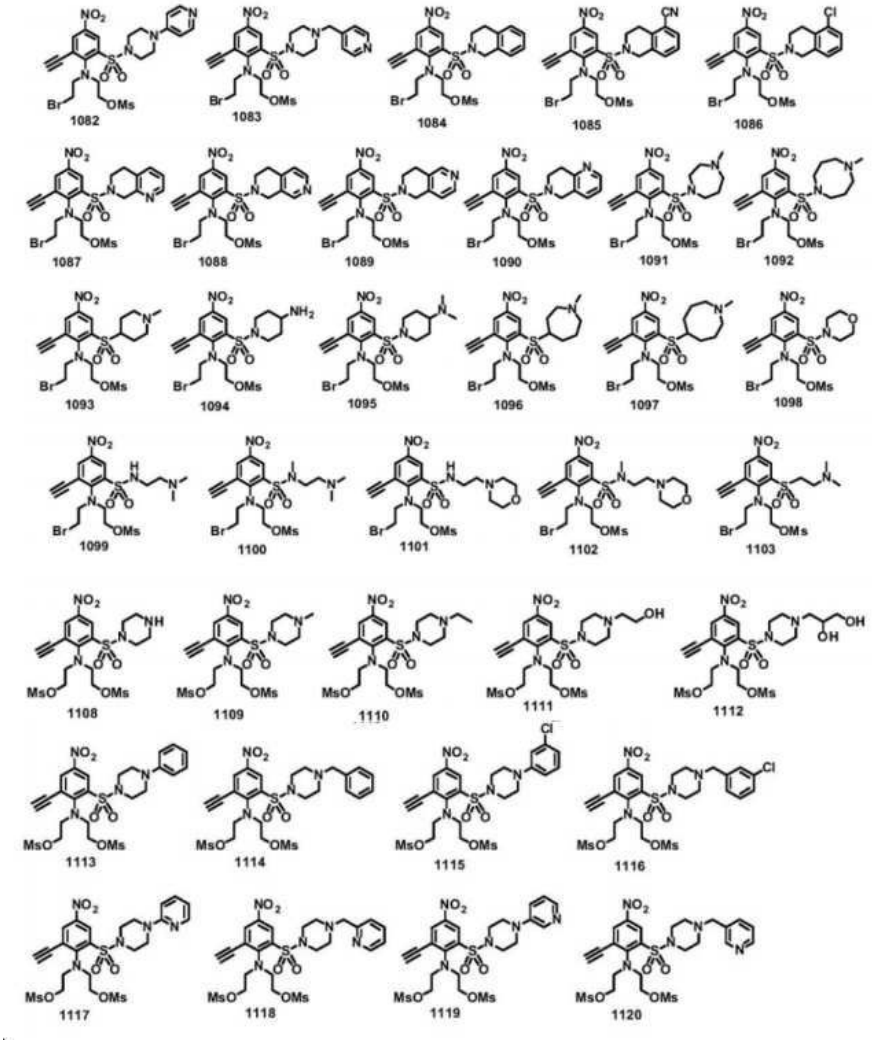

770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925

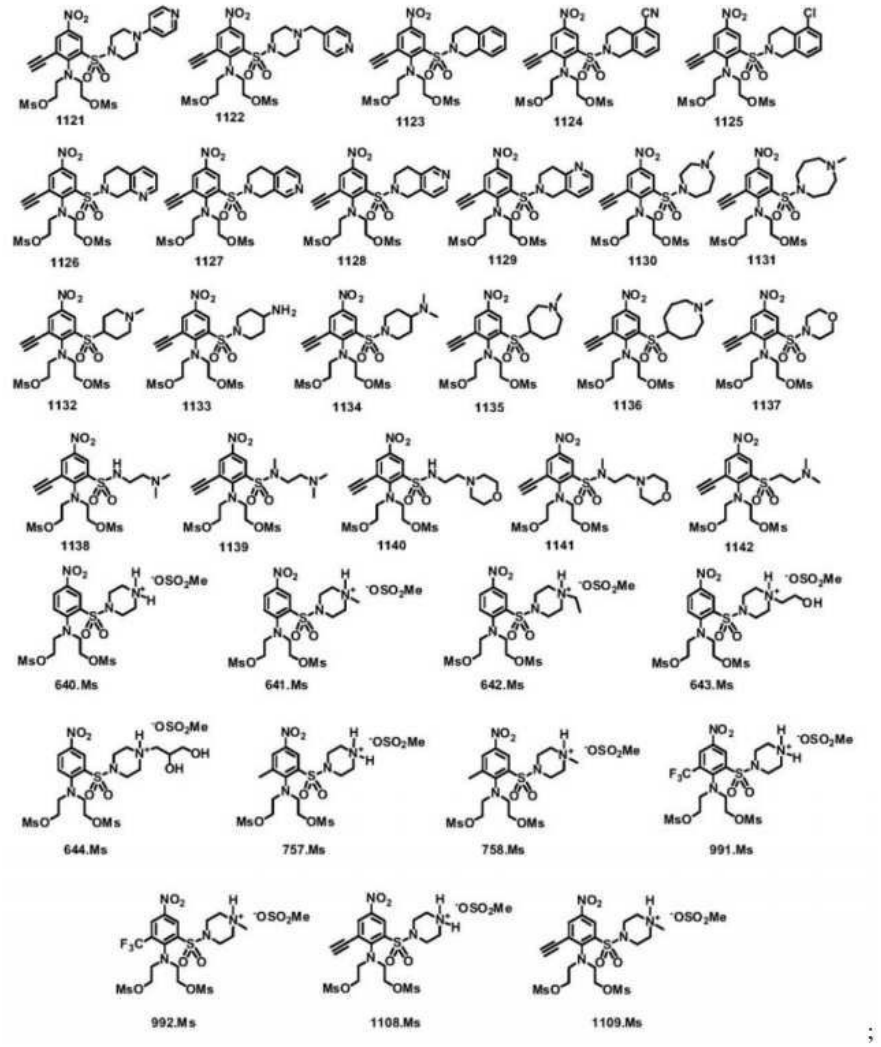

926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964


965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000
1001
1002
1003


1004
1005
1006
1007
1008
1009
1010
1011
1012
1013
1014
1015
1016
1017
1018
1019
1020
1021
1022
1023
1024
1025
1030
1031
1032
1033
1034
1035
1036
1037
1038
1039
1040
1041
1042

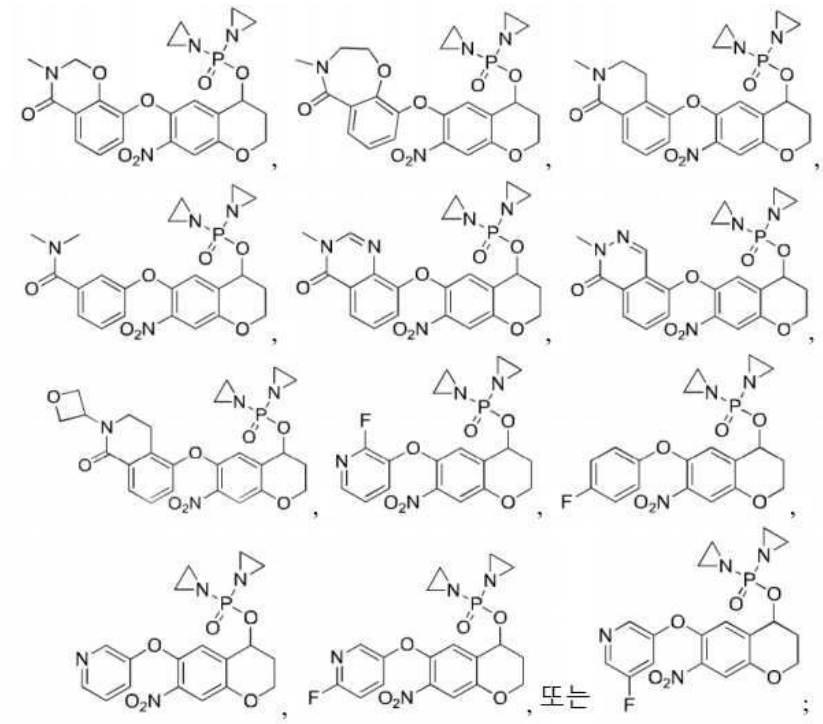

1043
1044
1045
1046
1047
1048
1049
1050
1051
1052
1053
1054
1055
1056
1057
1058
1059
1060
1061
1062
1063
1064
1069
1070
1071
1072
1073
1074
1075
1076
1077
1078
1079
1080
1081


1082
1083
1084
1085
1086
1087
1088
1089
1090
1091
1092
1093
1094
1095
1096
1097
1098
1099
1100
1101
1102
1103
1108
1109
1110
1111
1112
1113
1114
1115
1116
1117
1118
1119
1120



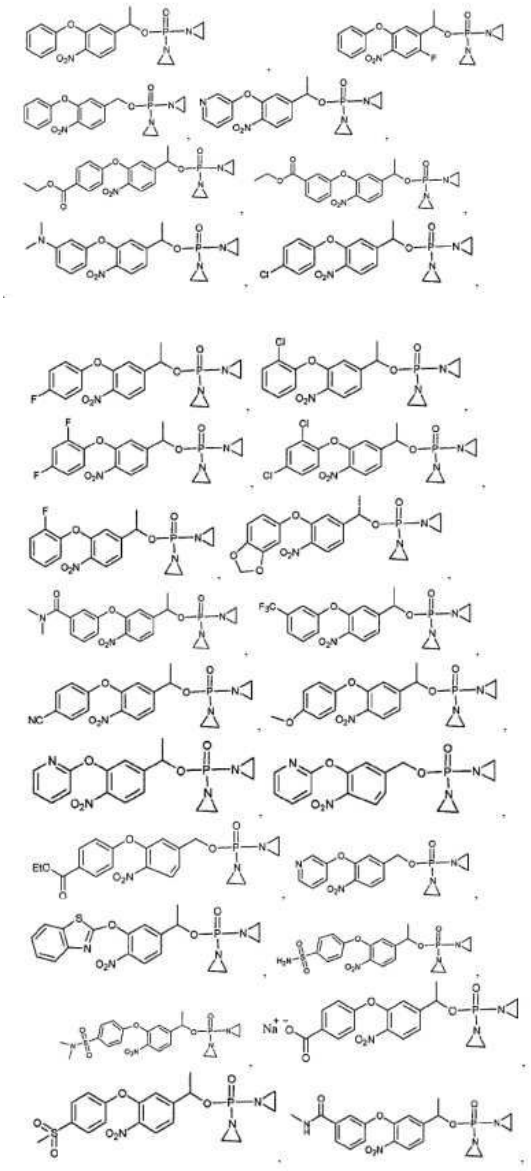
;

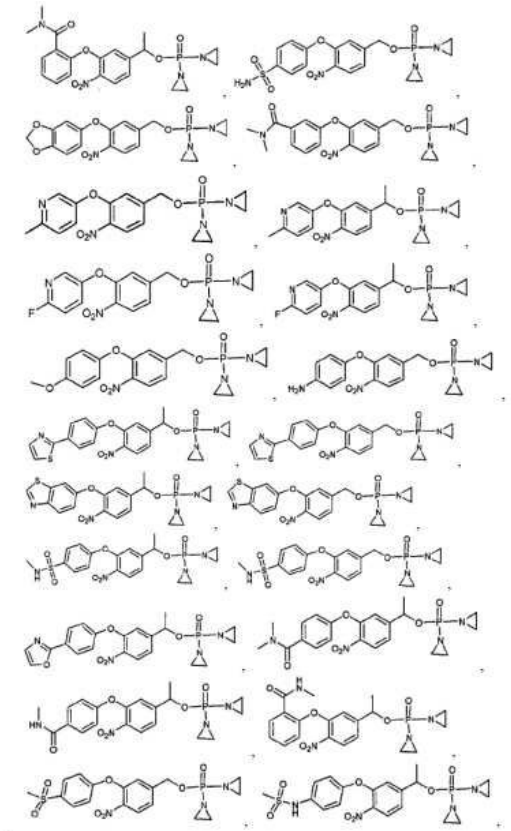
식 (4)의 화합물은 하기로 이루어진 군으로부터 선택되고:

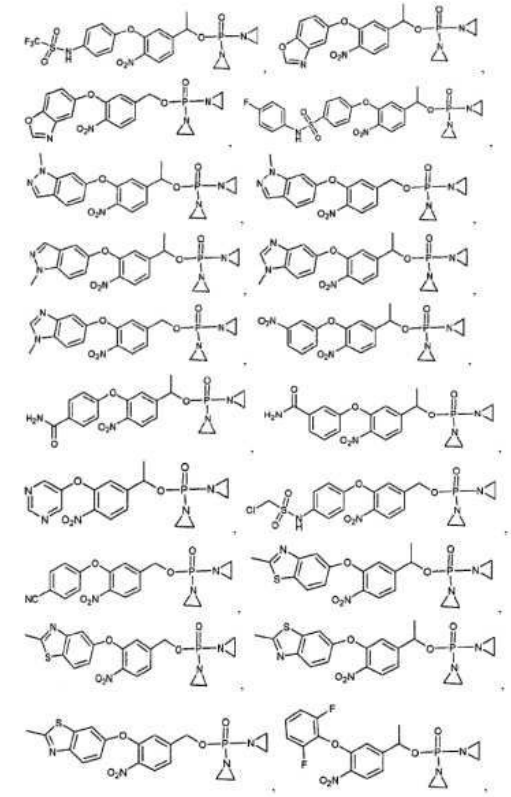


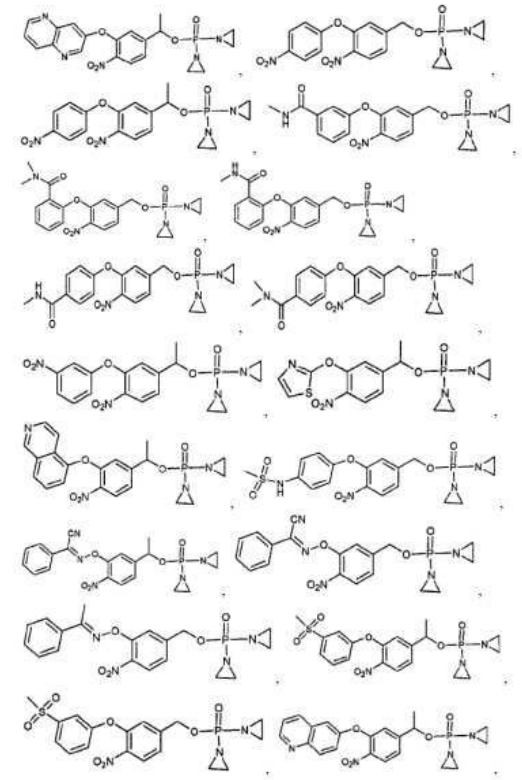
또는 ;

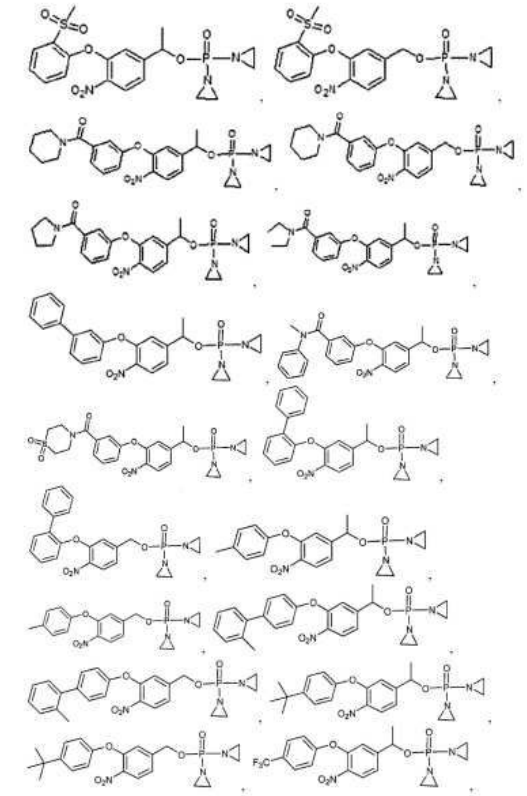
식 (5)의 화합물은 하기로 이루어진 군으로부터 선택되고:

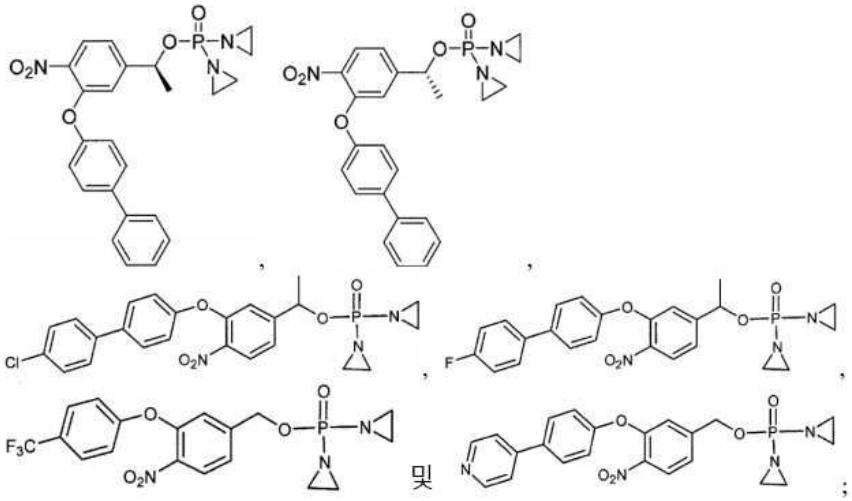




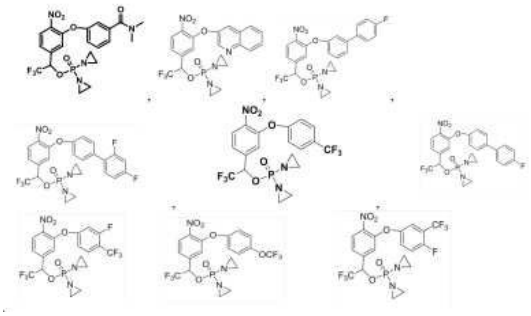


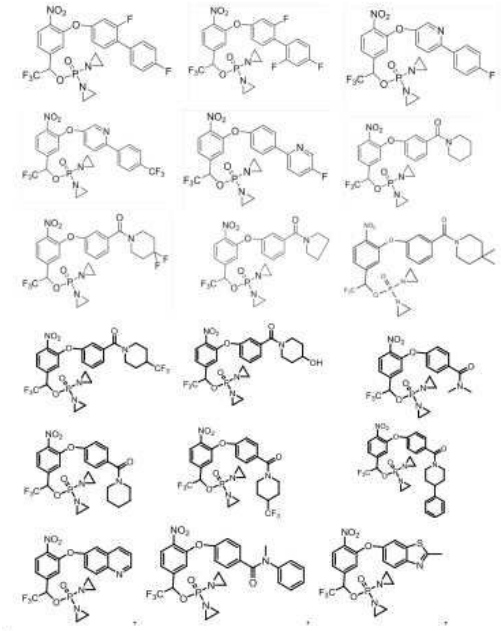


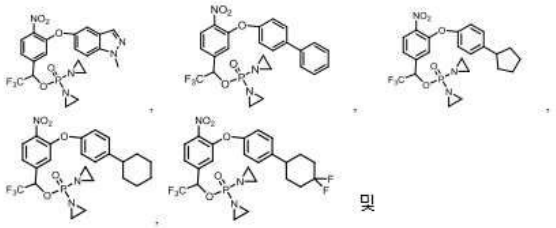




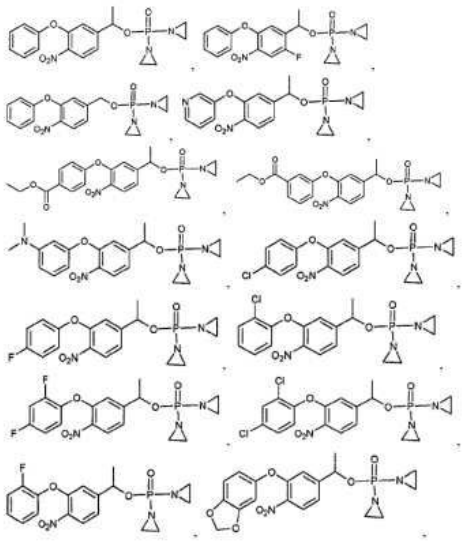
식 (6)의 화합물은 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는, 치료 방법:

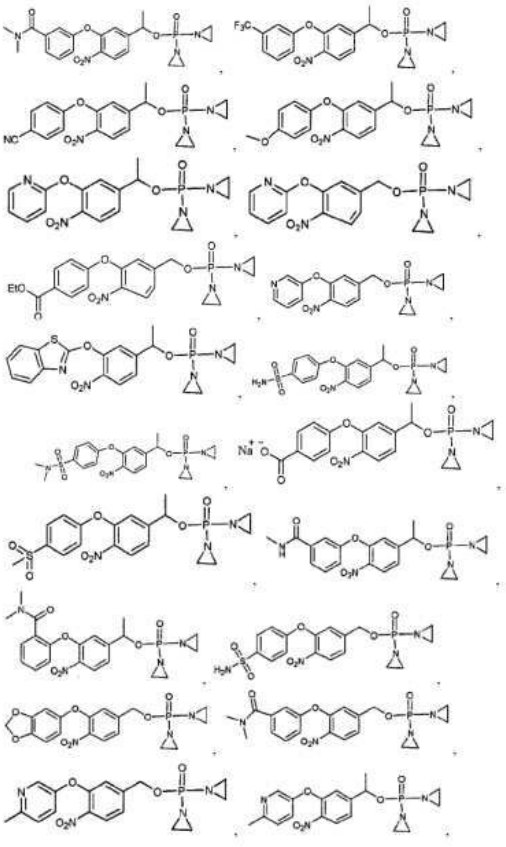


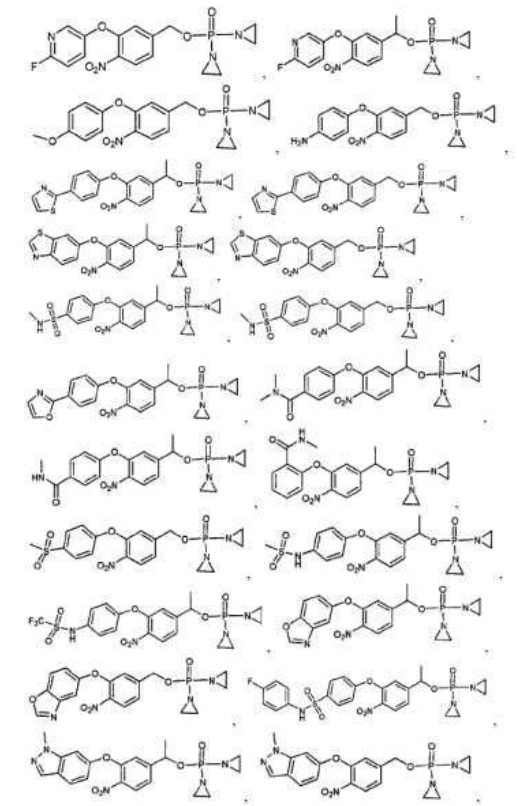


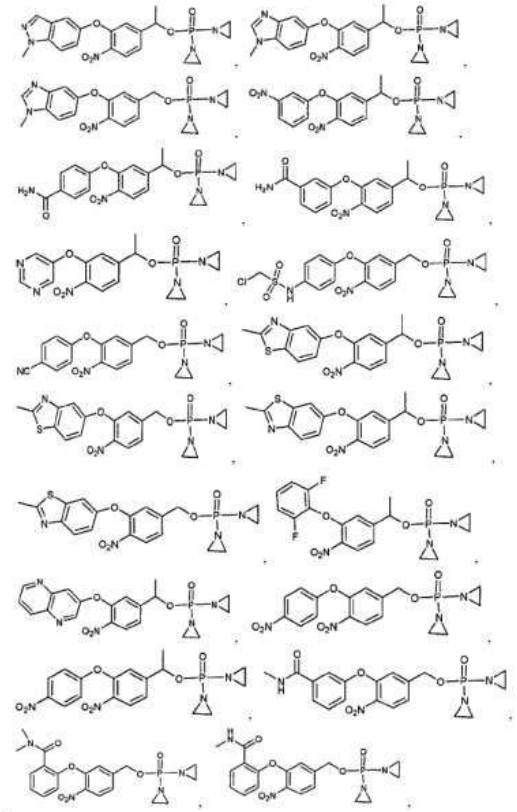


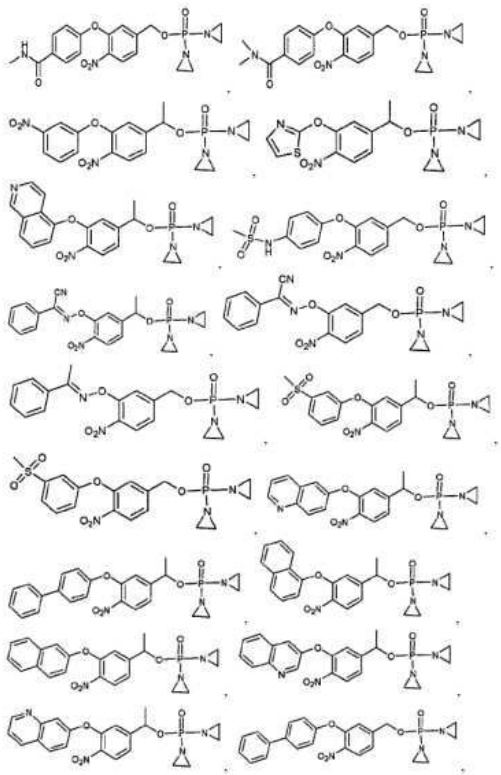
및

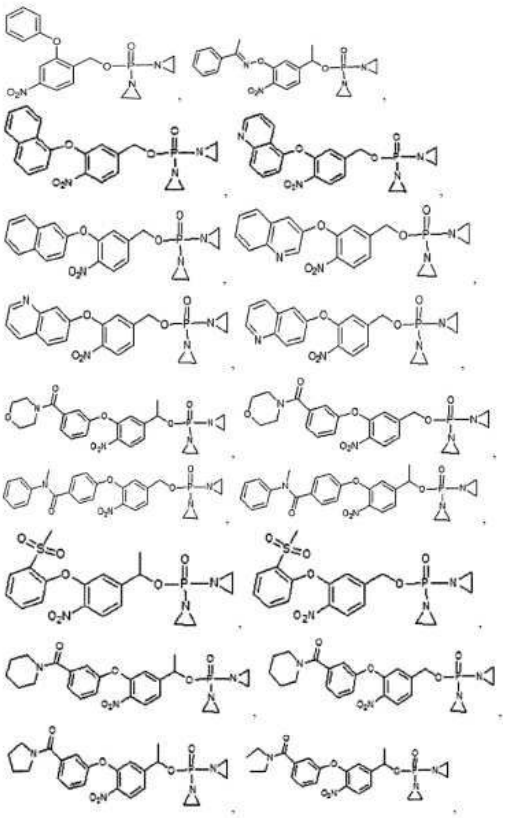


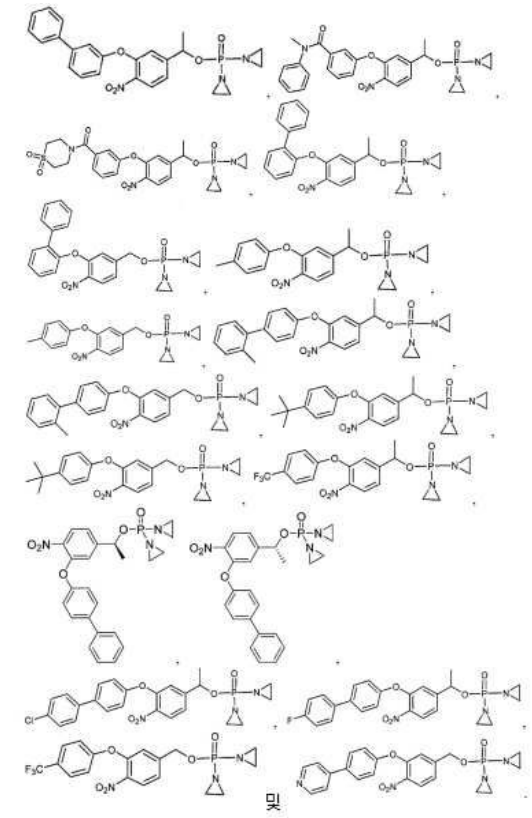












및

청구항 8

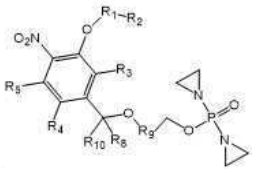
AKR1C3 활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물의 약학적 용도로서, 여기서 상기 화합물은 약물 단독요법의 제작에 사용되거나 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위한 다른 치료적 약물과 조합하여 사용되는, 약학적 용도.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 화합물은 구조식 1/2/3/4/5/6 및 이의 염, 에스테르, 용매화물, 동위원소 이성질체로부터 선택되는, 약학적 용도:

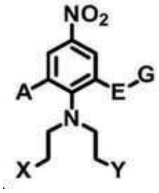


(1)



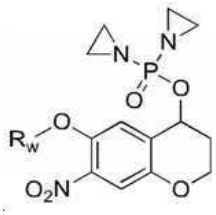
(2),

여기서 R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_8, R_9, 및 R_{10}의 정의는 공개 번호 WO2020228685A1의 특허 출원 PCT/CN2020/089692의 청구범위에 기술되어 있으며;

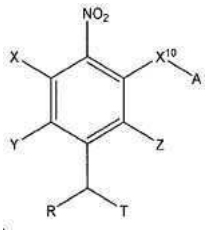


(3),

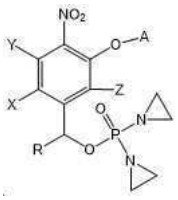
여기서 A, E, G, X 및 Y의 정의는 공개 번호 WO2019190331A1의 특허 출원 PCT/NZ2019/050030(공개 번호 CN111918864A의 중국 특허 출원 번호 2019800234236에 상응함)의 청구범위에 기술되어 있으며;


(4),

여기서 R_w의 정의는 공개 번호 WO2021068952A1의 특허 출원 PCT/CN2020/120281의 청구범위에 기술되어 있으며;


(5),

여기서 X, Y, Z, R, T, A 및 X^{10}의 정의는 공개 번호 WO2017087428A1의 특허 출원 PCT/US2016/062114(공개 번호 CN108136214A의 중국 특허 출원 번호 2016800200132에 상응함)의 청구범위에 기술되어 있으며;


(6),

여기서:

A는 치환된 또는 비치환된 C_6-C_{10} 아릴, 바이아릴 또는 치환된 바이아릴, 5-15원 헤테로아릴, 또는 $-N=CR^1R^2$이며,

여기서 치환기는 할로게노, -CN, $-NO_2$, $-O-(CH_2)-O-$, $-CO_2H$ 및 이의 염, $-OR^{100}$, $-CO_2R^{100}$, $-CONR^{101}R^{102}$, $-NR^{101}R^{102}$, $-NR^{100}SO_2R^{100}$, $-SO_2R^{100}$, $-SO_2NR^{101}R^{102}$, C_1-C_6 알킬, 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

여기서 R^{100}, R^{101} 및 R^{102}는 각각 독립적으로 수소, C_1-C_8 알킬, 또는 C_6-C_{12} 아릴이거나; R^{101} 및 R^{102}는 이들이 부착되는 질소 원자와 함께 5-7원 헤테로사이클을 형성하고;

여기서 알킬기 및 아릴기는 각각 1-3 할로게노기 또는 1-3 C_1-C_6 알킬기에 의해 치환되고;

R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 페닐 또는 메틸이고;

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 수소 또는 할로게노이고;

R은 수소 또는 C_1-C_6 알킬 또는 할로겐 치환된 알킬임.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 암은 난소암, 유방암, 췌장암, 나팔관암, 원발성 복막암, 위암, 전립선암, 간암, 대장암, 직장암, 폐암, 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 약학적 용도.

청구항 11

제8항 또는 제9항에 있어서, 상기 KRAS 돌연변이는 KRAS-G12D 돌연변이, KRAS-G12V 돌연변이 및 KRAS-G12C 돌연변이로 이루어진 군으로부터 선택되고;

바람직하게는, 상기 KRAS 돌연변이는 KRAS-G12D 돌연변이로부터 선택되는, 약학적 용도.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 돌연변이의 TMB(종양 돌연변이 부하(부담)) 수준은 중간인, 약학적 용도.

청구항 13

제8항 또는 제9항에 있어서, 상기 다른 치료적 약물은 KRAS 억제제 및 면역요법 약물로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 KRAS 억제제는 소토라십(AMG510), 아다그라십(MRTX849), GDC6036, LY3499446, JNJ74699157(ARS3248) 및 D-1553으로 이루어진 군에서 선택되고, 상기 면역요법 약물은 PD-1 단클론 항체 및 PD-L1 단클론 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는, 약학적 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 암의 치료 방법에 관한 것으로, 특히 KRAS 돌연변이가 있는 암 환자의 치료 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] KRAS 유전자의 전체 명칭은 커스틴 랫트육종 바이러스성 종양유전자 상동체이다. KRAS 유전자에 의해 인코딩된 단백질은 RAS 단백질 슈퍼패밀리에 속하는 작은 GTPase이다. RAS 유전자에는 KRAS, NRAS 및 HRAS인 3가지 유형의 유전자가 포함된다. 이들 유전자에 의해 인코딩된 단백질은 세포 증식과 생존을 조절하는 경로에서 분자 스위치로 작용하는 GTPase이다. 현재 COSMIC 데이터에 기반하여, KRAS는 세 유전자 중 가장 흔히 돌연변이되는 유전자이고(22%), NRAS(8%), 마지막으로 HRAS(3%)가 그 뒤를 따른다. KRAS 유전자는 췌장암의 90%, 대장암의 50%, 및 폐암의 25%를 포함하는 모든 암 환자의 대략적으로 30%에 KRAS 돌연변이를 갖는, 인간 암에 상당한 영향을 미친다. 비소세포폐암의 경우 KRAS 유전자 돌연변이가 전체 사례의 20-30%를 차지하며 대부분 폐 선암에서 존재하고 폐 편평상피 암종에서는 드물다. KRAS 유전자 돌연변이는 주로 코돈 위치 12, 13, 및 61에 집중되어 있는데, 여기서 코돈 위치 12에서 돌연변이가 G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, 및 G12V를 포함한 모든 돌연변이의 80% 초과를 차지한다. KRAS 유전자가 활성화되는 가장 일반적인 방식은 점 돌연변이이며, KRAS 돌연변이의 95%는 주로 엑손 2의 코돈 12(>80%)와 코돈 13에서 발생한다. 돌연변이의 일반적인 형태 중에는 KRAS-G12C 돌연변이(모든 KRAS 돌연변이의 13%를 차지함), KRAS-G12V(20%) 및 KRAS-G12D(29%) 돌연변이가 있다(Loong HHF, Du N, Cheng C, Lin H,Guo J, Lin G, Li M, Jiang T, Shi Z, Cui Y, Jin X, Yao J, Xing Y, Yao M, Wang K, Mok TSK, Liu L. KRAS G12C mutations in Asia: A landscape analysis of 11,951 Chinese tumor samples. Transl Lung Cancer Res 2020. doi: 10.21037/tlcr-20-455).

[0003] 돌연변이가 시스테인 잔기를 갖는 KRAS 유전자에서의 G12C 돌연변이(위치 12에서 글리신이 시스테인으로 변화됨)는 전임상 활성을 갖는 공유결합 억제제를 설계하는데 사용되었다. 예를 들어, AMG-510(임상 개발 중인 최초의 KRAS-G12C 억제제)과 MRTX849는 강력한 항종양 활성을 나타냈다.

[0004] 2021년 5월 29일, 업계에서 "혁명적인 항암 약물"로 알려지고 KRAS 돌연변이에 대해 효과적인 소토라십(AMG-510, Lumakras)이 이전에 적어도 한 번의 전신 요법을 받은 KRAS-G12C 돌연변이가 있는 비소세포폐암 환자의 치료용으로 FDA에 의해 승인을 받았다. AMG510은 돌연변이체 아형 KRAS-G12C를 위해 특별히 설계되었고 높은 선택성을 가지고 있다. AMG510은 6000개를 넘는 단백질에서 KRAS-G12C에 특이적으로 결합하여, 이를 고정하고 비활성화할 수 있다.

[0005] 2021년 6월 24일, 미국 식품의약국(FDA)은 이전에 전신 요법을 받은 KRAS-G12C 돌연변이를 보유한 비소세포폐암(NSCLC)이 있는 환자의 치료를 위해 아다그라십(MRTX849)에 대해 혁신적인 요법 지정을 승인했다. 약물은 KRAS-G12C 돌연변이체에 특별히 최적화된 경구 억제제이다. MRTX849는 그 비활성 상태의 KRAS-G12C에 비가역적이고 선택적으로 결합하여 세포 성장 신호를 보내는 것을 방지하고 암세포 사멸을 유발함에 의해, 예비 인간 임상 시험에서 입증된 바와 같이, KRAS-G12C 돌연변이를 보유한 비소세포폐암(NSCLC) 및 결장직장암(CRC), 뿐만 아니라 기타 고형 종양의 치료에서 유망한 안전성과 항암 활성을 보여주었다.

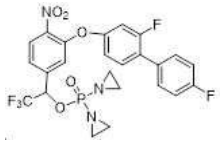
발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 그러나, KRAS 돌연변이의 더 광범위한 G12D 아형에 대한 약물은 시판되지 않았다.

과제의 해결 수단

[0007] AST-3424(OBI-3424)는 알도-케토 환원효소 1C3(AKR1C3)의 과발현을 표적화하는 혁신 신약 DNA 알킬화 암 치료 약물로, 이는 AKR1C3을 과발현하는 암을 선택적으로 표적화하고 AKR1C3 효소의 존재에서 강력한 DNA 알킬화제를 선택적으로 방출한다. 이 선택적 활성화 방식은 AST-3424를 통상의 알킬화제(예컨대 사이클로포스파미드 및 이포스파미드)와 구별한다. AKR1C3 과발현은 HCC, 거세-저항성 전립선암(CRPC), 및 T-세포 급성 림프구성 백혈병(T-ALL)을 포함한 광범위한 치료-저항성 및 난치성 암에 존재한다. AKR1C3은 최대 15개의 고형 및 혈액 종양에서 고도로 발현된다. 현재, 약물은 중국과 미국에서 II상 임상 시험을 진행 중이다(US OBI-3424-NCT03592264-II상, 거세 전립선암 및 간암; US OBI-3424-NCT04315324-II상, T-림프구성 급성 백혈병(T-ALL); 중국 AST-3424-CTR20191399-II상, 고형 종양; 중국 AST-3424-CTR20201915-II상, T-림프구성 급성 백혈병(T-ALL) 및 B-림프구성 급성 백혈병(B-ALL)).

[0008] AST-3424 및 화합물  (이후 AST로 지칭됨)은 이 약물 및 유사한 약물의 동물 *생체내* 모델 연구에서 AKR1C3의 높은 발현을 갖는 KRAS 돌연변이체 G12D 아형 종양 모델에 대해 우수한 치료적 효능을 갖는 것으로 발견되었다.

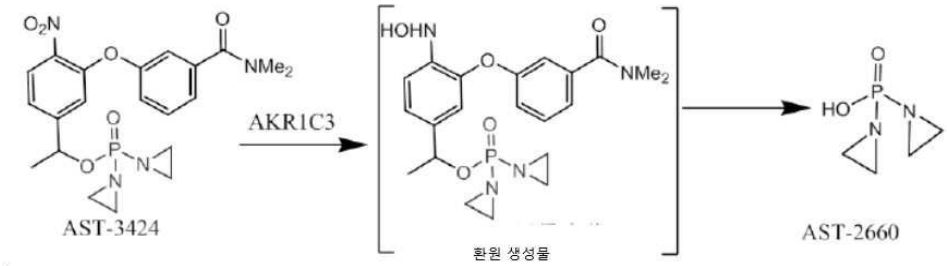
[0009] 실험 결과에 기반하여, 본 출원은 다음의 암을 치료하는 방법 및 화합물의 약학적 용도를 제공한다.

[0010] KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위해 AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물을 함유하는 약물 단독요법 또는 다른 치료 약물과 조합하여 사용하는 치료 방법.

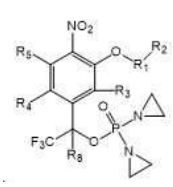
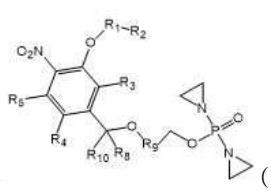
[0011] AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물의 **약학적 용도**로서, 여기서 화합물은 약물 단독요법의 제작에 사용되거나 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위한 다른 치료 약물과 조합하여 사용된다.

[0012] AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물은 화합물이 전구약물이고 전구약물 분자가 AKR1C3 효소와 반응하여 반응 시 세포독성 DNA 알킬화제를 방출한다는 것을 의미한다.

[0013] 구체적으로, AST-3424를 예로 들면, 이들 화합물은 알도-케토 환원효소 AKR1C3 특정 기질로서 AKR1C3의 발현이 높은 암 세포에서만 신속하고 효과적으로 환원될 수 있으며, 이에 의해 세포독성-DNA 알킬화제 AST-2660을 방출할 수 있고, AST-2660은 DNA와 가교되어 후속적으로 암세포 사멸을 야기한다:

[0014] 

[0015] KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위해 AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물을 함유하는 약물 단독요법을 사용하거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용하는 치료 방법으로서, 여기서 화합물은 식 (1) 또는 (2) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:

[0016]  (1)  (2),

[0017] AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물의 **약학적 용도**로서, 여기서 화합물은 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위한 약물 단독요법의 제작에 사용되거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용되며, 여기

서 화합물은 구조식 (1) 또는 (2) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다.

[0018] 여기서 R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_8, R_9, 및 R_{10}의 정의는 공개 번호 WO2020228685A1의 특허 출원 PCT/CN2020/089692의 청구범위에 기술되어 있다.

[0019] 구체적으로, 기는 다음과 같이 정의된다:

[0020] 여기서,

[0021] R_1은 C_6-C_{10} 아릴 또는 Z-치환된 아릴, 4-15원 헤테로사이클 또는 Z-치환된 헤테로사이클, 5-15원 헤테로아릴 또는 Z-치환된 헤테로아릴, 7-15원 융합된 고리 또는 Z-치환된 융합된 고리이고;

[0022] R_2는 수소, 할로겐 원자, 시아노 또는 이소시아노, 하이드록시, 설프히드릴, 아미노, OTs, OMS, C_1-C_6 알킬 또는 Z-치환된 알킬, C_2-C_6 알케닐 또는 Z-치환된 알케닐, C_2-C_6 알키닐 또는 Z-치환된 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬 또는 Z-치환된 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴 또는 Z-치환된 아릴, 4-15원 헤테로사이클 또는 Z-치환된 헤테로사이클, 5-15원 헤테로아릴 또는 Z-치환된 헤테로아릴, 1 내지 6 탄소 원자를 갖는 에테르 또는 1 내지 6 탄소 원자를 갖는 Z-치환된 알콕시, $-CONR^6R^7$, $-SO_2NR^6R^7$, $-SO_2R^6$, $-OCOO-R^6$, $-COOR^6$, $-NR^6COR^7$, $-OCOR^6$, $-NR^6SO_2R^7$ 또는 $-NR^6SO_2NR^6R^7$이거나 R^2는 그것이 결합된 R^1 기에서의 원자와 함께 7-15원 융합된 고리 또는 Z-치환된 융합된 고리를 형성하고;

[0023] R_3은 수소, 할로겐, 시아노 또는 이소시아노, 하이드록시, 설프히드릴, 아미노, OTs, OLCMS, C_1-C_6 알킬 또는 Z-치환된 알킬, C_2-C_6 알케닐 또는 Z-치환된 알케닐, C_2-C_6 알키닐 또는 Z-치환된 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬 또는 Z-치환된 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴 또는 Z-치환된 아릴, 4-15원 헤테로사이클 또는 Z-치환된 헤테로사이클, 5-15원 헤테로아릴 또는 Z-치환된 헤테로아릴, C_1-C_6 알콕시 또는 Z-치환된 C_1-C_6 알콕시, $-CONR^6R^7$, $-SO_2NR^6R^7$, $-SO_2R^6$, $-OCO-R^6$, $-OCOO-R^6$, $-COOR^6$, $-NR^6COR^7$, $-OCOR^6$, 또는 $-NR^6SO_2R^7$이고;

[0024] R_4 및 R_5는 각각 독립적으로 수소, 할로겐 원자, 시아노 또는 이소시아노, 하이드록시, 설프히드릴, 아미노, OTs, OLCMS, C_1-C_6 알킬 또는 Z-치환된 알킬, C_2-C_6 알케닐 또는 Z-치환된 알케닐, C_2-C_6 알키닐 또는 Z-치환된 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬 또는 Z-치환된 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴 또는 Z-치환된 아릴, 4-15원 헤테로사이클 또는 Z-치환된 헤테로사이클, 5-15원 헤테로아릴 또는 Z-치환된 헤테로아릴, C_1-C_6 알콕시 또는 Z-치환된 C_1-C_6 알콕시, $-CONR^6R^7$, $-SO_2NR^6R^7$, $-SO_2R^6$, $-OCOO-R^6$, $-COOR^6$, $-NR^6COR^6$, $-OCOR^6$ 또는 $-NR^6SO_2R^7$이거나, 또는 R^4 및 R^5는 이들이 결합된 벤젠 고리에서의 원자와 함께 7-15원 융합된 고리 또는 Z-치환된 융합된 고리를 형성하고;

[0025] R_6 및 R_7은 각각 독립적으로 수소, 시아노 또는 이소시아노, C_1-C_6 알킬 또는 Z-치환된 알킬, C_2-C_6 알케닐 또는 Z-치환된 알케닐, C_2-C_6 알키닐 또는 Z-치환된 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬 또는 Z-치환된 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴 또는 Z-치환된 아릴, 4-15원 헤테로사이클 또는 Z-치환된 헤테로사이클, 5-15원 헤테로아릴 또는 Z-치환된 헤테로아릴, C_1-C_6 알콕시 또는 Z-치환된 C_1-C_6 알콕시이거나, 또는 R^6 및 R^7은 이들이 결합된 원자와 함께 5-7원 헤테로사이클릴 또는 Z-치환된 5-7원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0026] R_8 및 R_{10}은 각각 독립적으로 수소, 중수소, 아릴 또는 Z-치환된 아릴, C_1-C_6 알킬 또는 Z-치환된 알킬, C_2-C_6 알케닐 또는 Z-치환된 알케닐, C_2-C_6 알키닐 또는 Z-치환된 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬 또는 Z-치환된 사이클로알킬이고, R^8 및 R^{10} 중 적어도 하나는 수소 또는 중수소여야 하고;

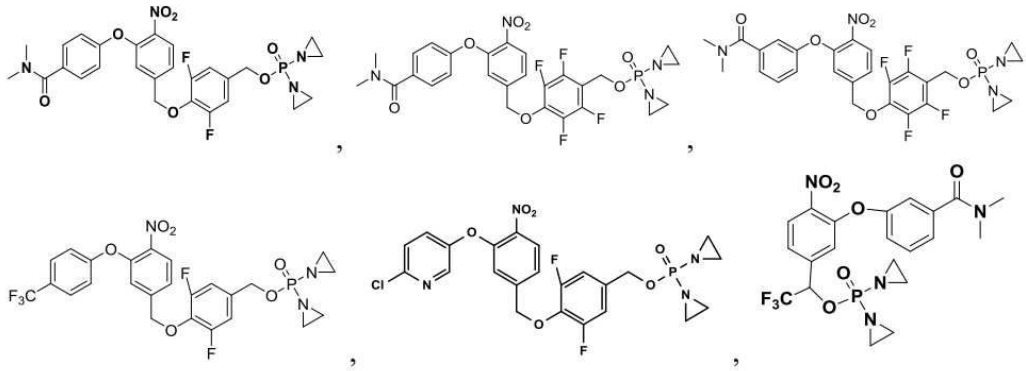
[0027] R_9는 적어도 하나의 불소 원자 또는 니트로기로 치환된, 치환 C_6-C_{10} 아릴, 적어도 하나의 불소 원자 또는 니트로기로 치환된, 치환 4-15원 헤테로사이클, 또는 적어도 하나의 불소 원자 또는 니트로기로 치환된, 치환 5-15원 헤테로아릴이고;

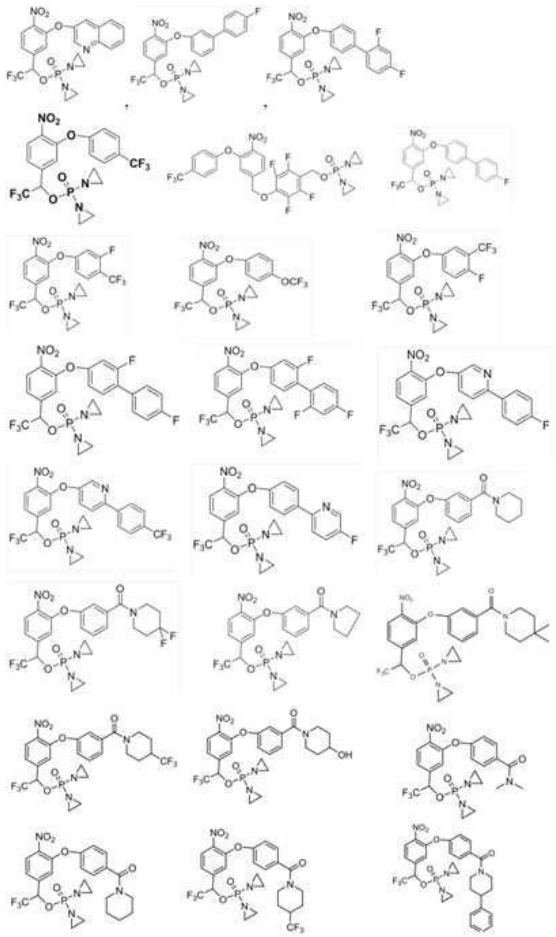
[0028] 치환기 Z는 할로겐 원자, 시아노 또는 이소시아노, 하이드록시, 설프히드릴, 아미노, OTs, OMS, C_1-C_3 알킬 또는

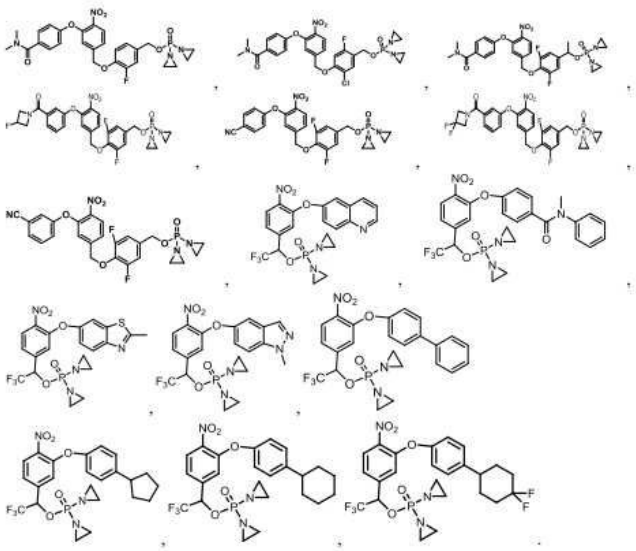
치환된 알킬, C_1-C_3 알콕시 또는 치환된 알콕시, C_2-C_3 알케닐 또는 치환된 알케닐, C_2-C_3 알키닐 또는 치환된 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬, 방향족 고리, 헤테로사이클, 헤테로방향족 고리 및 융합된 고리 또는 치환된 방향족 고리, 헤테로사이클, 헤테로방향족 고리 및 융합된 고리이고, 치환의 패턴은 단일- 또는 이중-치환이고;

[0029] R_9에서 치환된 C_6-C_{10} 아릴, 치환된 4-15원 헤테로사이클 또는 치환된 5-15원 헤테로아릴에서의 치환은 할로겐 원자, 니트로, 시아노 또는 이소시아노, 하이드록시, 아미노, C_1-C_3 알킬 또는 알콕시, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬 또는 벤젠 고리, 치환된 벤젠 고리, C_1-C_3 알콕시 또는 할로겐 원자-치환된 알콕시이다.

[0030] 구체적으로, 식 (1) 및 (2)의 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0031] 

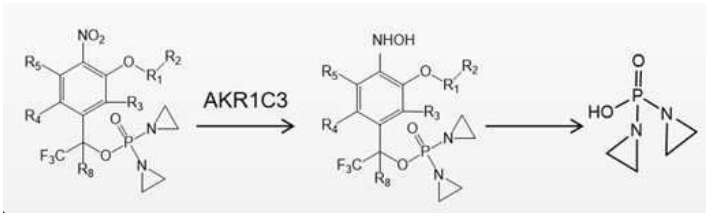
[0032] 



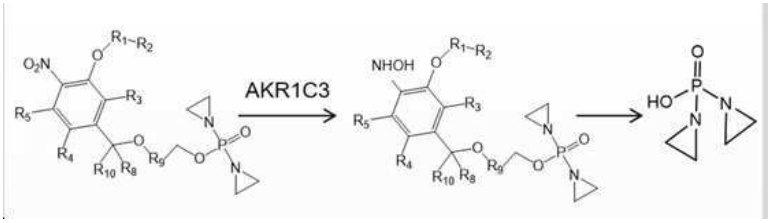
[0033]

[0034] 기의 구체적인 정의 및 의미, 그리고 화합물의 제조 방법 및 스펙트럼 데이터는 공개 번호 WO2020228685A1의 특허 출원 PCT/CN2020/089692에 기재되어 있으며, 이는 그 전체가 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0035] 분명히, AST-342 또는 AST와 유사한 구조식 (1) 또는 (2)의 화합물은 AST-2660의 전구약물이고, AKR1C3 효소에 의해 활성화되어 그 항암 효능을 나타내는 AST-2660(알킬화제)을 형성할 수 있다:

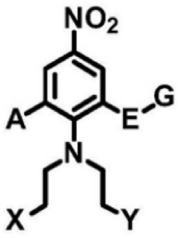


[0036]



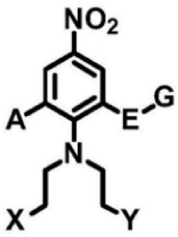
[0037]

[0038] KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위해 AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물을 함유하는 약물 단독요법을 사용하거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용하는 치료 방법으로서, 여기서 화합물은 구조식 (3) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:



[0039] (3)

[0040] AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물의 **약학적 용도**로서, 여기서 화합물은 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위해 약물 단독요법의 제작에 사용되거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용되며, 여기서 화합물은 구조식 (3) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:



[0041] (3)

[0042] 여기서 A, E, G, X 및 Y의 정의는 공개 번호 WO2019190331A1의 특허 출원 PCT/NZ2019/050030(공개 번호 CN111918864A의 중국 특허 출원 번호 2019800234236에 상응함)의 청구범위에 기술되어 있다.

[0043] 구체적으로 기는 다음과 같이 정의된다:

[0044] 여기서,

[0045] A는 H, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알케닐, C_1-C_6 알키닐, CFH_2, CF_2H, CF_3, F, Cl, Br, I, OCF_3, COR 또는 $CON(R)_2$이고;

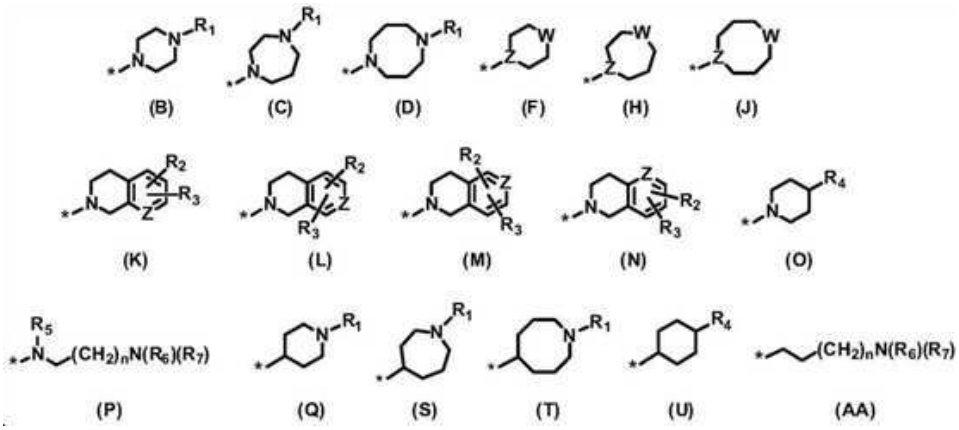
[0046] E는 SO 또는 SO_2이고;

[0047] X는 Cl, Br, I 또는 OSO_2R이고;

[0048] Y는 Cl, Br, I 또는 OSO_2R이고;

[0049] 각 R은 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고;

[0050] G는 식 (B)-(AA)로 이루어진 군으로부터 선택된 라디칼기이다:



[0051]

[0052] 여기서

[0053] R_1은 H, C_1-C_6 알킬, $CH_2(CH_2)_nOH$, $CH_2CH(OH)CH_2OH$, 페닐, 피리딜, 벤질, 또는 피리딜메틸이고, 단, R_1이 페닐, 피리딜, 벤질 또는 피리딜메틸일 때, R_1은 임의로 임의의 이용가능한 위치에서 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알케닐, C_1-C_6 알키닐, OR_6, $N(R_6)(R_7)$, CFH_2, CF_2H, CF_3, F, Cl, Br, I, OCF_3, COR_6, $CON(R_6)(R_7)$, SOR_6, $SON(R_6)(R_7)$, SO_2R_6, $SO_2N(R_6)(R_7)$, CN, 또는 NO_2로 치환되고;

[0054] R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알케닐, C_1-C_6 알키닐, OR_6, $N(R_6)(R_7)$, CFH_2, CF_2H, CF_3, F, Cl, Br, I, OCF_3, COR_6, $CON(R_6)(R_7)$, SOR_6, $SON(R_6)(R_7)$, SO_2R_6, $SO_2N(R_6)(R_7)$, CN 또는 NO_2이고;

[0055] R_4는 $N(R_6)(R_7)$, OH, $OCH_2(CH_2)_nN(R_6)(R_7)$ 또는 $CH_2(CH_2)_nN(R_6)(R_7)$이고;

[0056] R_5는 H 또는 C_1-C_6 알킬기이고;

[0057] R_6 및 R_7은 각각 독립적으로 H 또는 C_1-$_6$ 알킬이거나, 또는 R_6 및 R_7은 함께 치환된 또는 비치환된 5-원 또는 6-원 헤테로사이클을 형성하고;

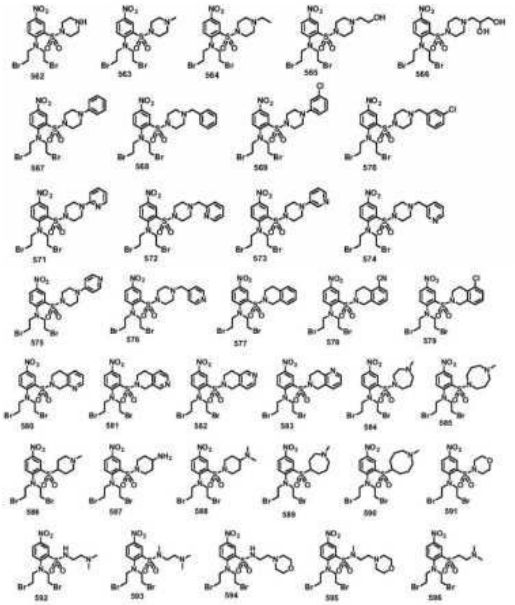
[0058] Z는 CH 또는 N이고;

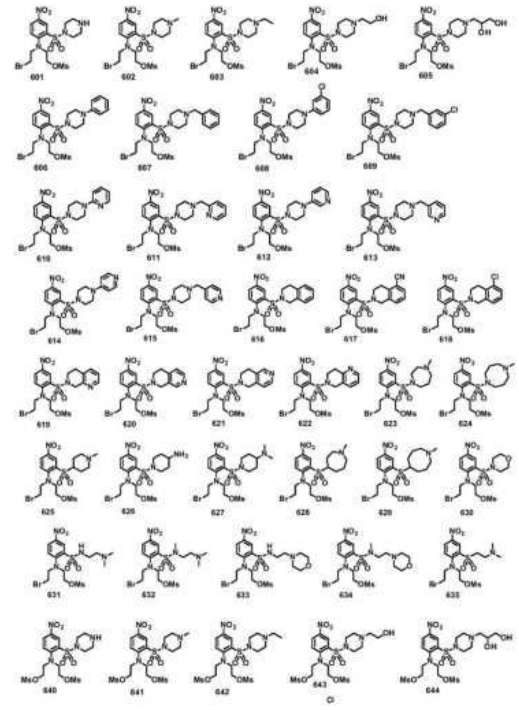
[0059] W는 CH_2, O, S, SO 또는 SO_2이고;

[0060] n은 0 내지 6이고;

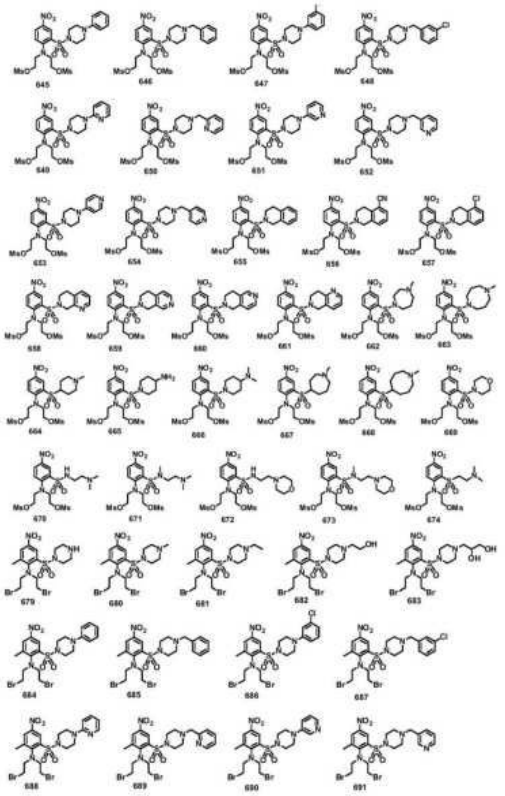
[0061] *는 식(I)에 대한 부착점을 나타낸다.

[0062] 구체적으로, 식 (3)의 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:

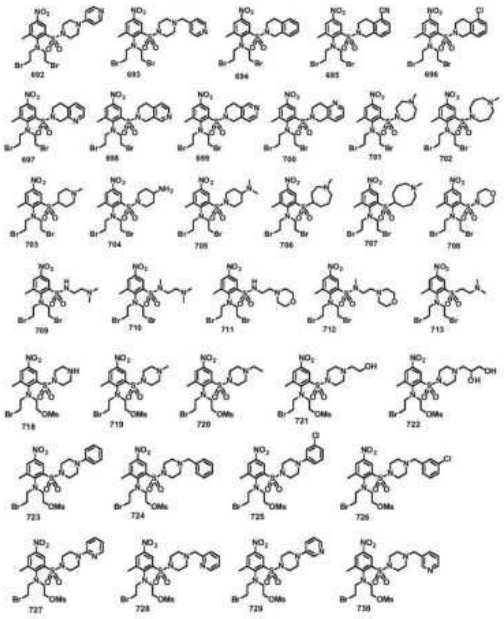
[0063] 

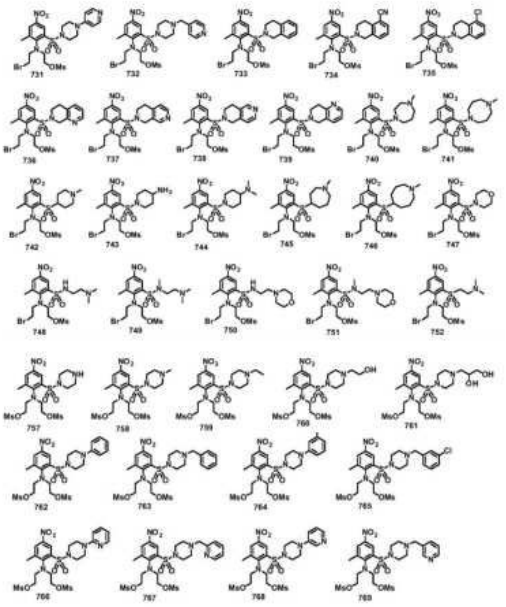
[0064] 

[0065]

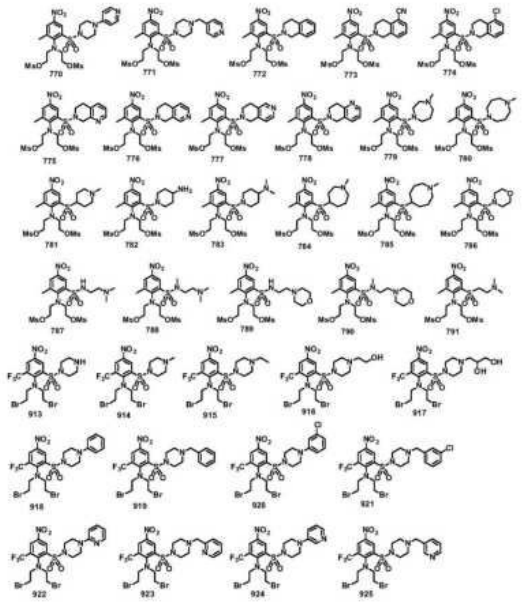


[0066]

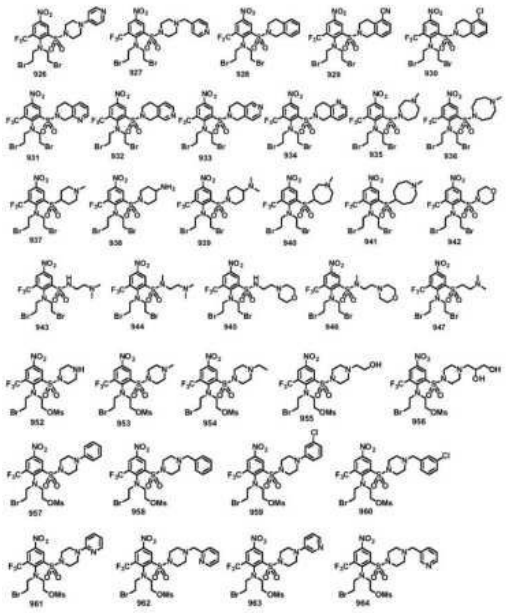




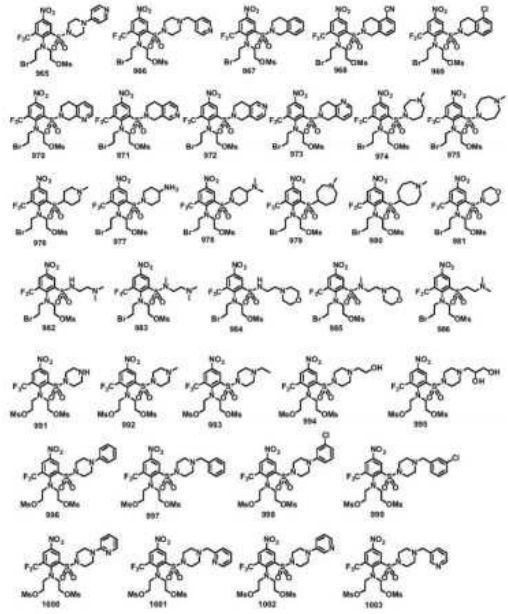
[0067]



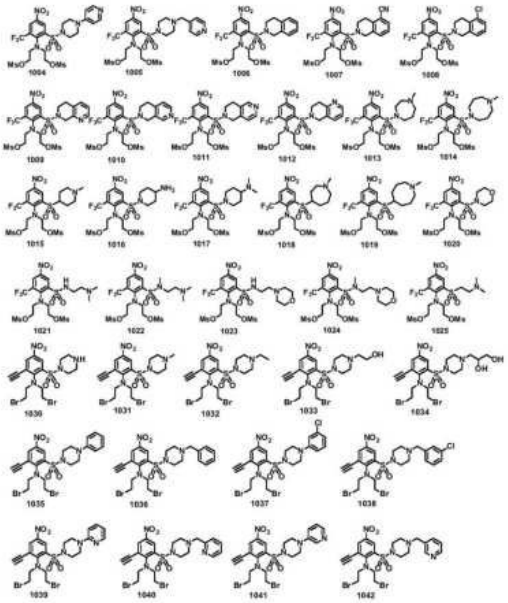
[0068]



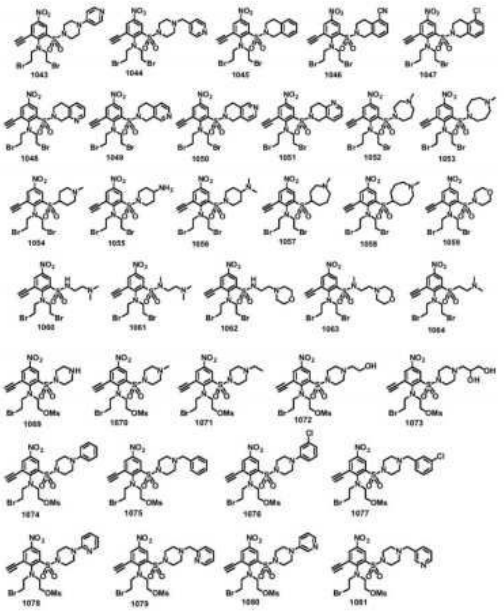
[0069]



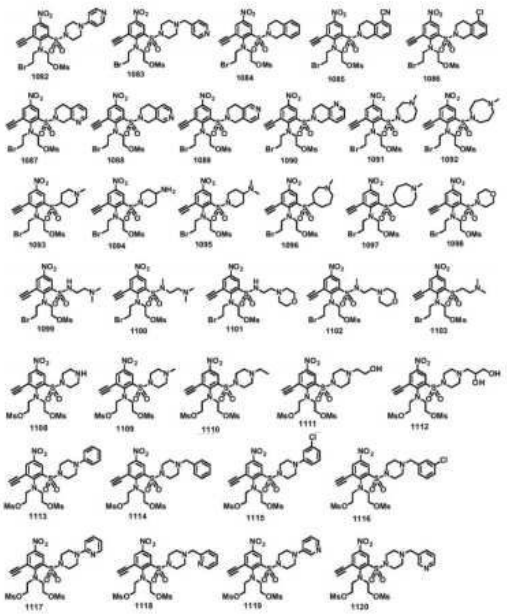
[0070]



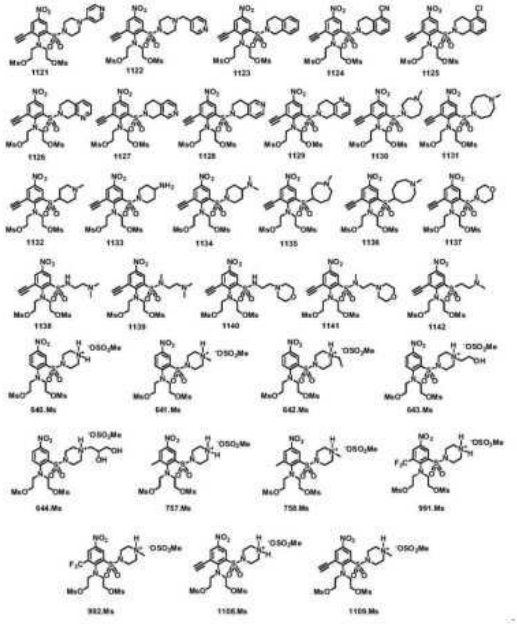
[0071]



[0072]

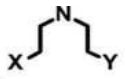
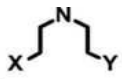


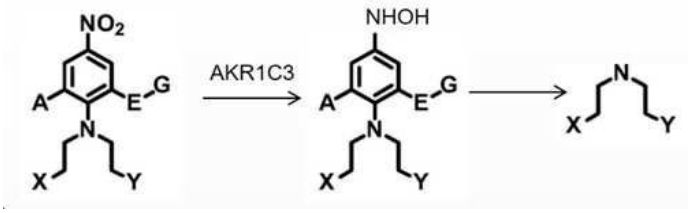
[0073]



[0074]

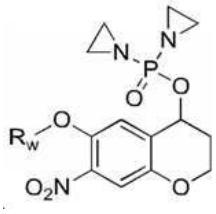
[0075] 기의 구체적인 정의 및 의미, 화합물의 제조 방법 및 스펙트럼 데이터는 공개 번호 WO2019190331A1의 특허 출원 PCT/NZ2019/050030(공개 번호 CN111918864A의 중국 특허 출원 번호 2019800234236에 상응함)에 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 참고로 본 명세서에 포함된다.

[0076] AST-3424 또는 AST와 유사한 구조식 (3)의 화합물은 질소 머스타드 유사체  의 전구약물이고, AKR1C3 효소에 의해 활성화되어 질소 머스타드 유사체  (DNA 알킬화제)를 형성하여 그 항암 효능을 나타낼 수 있다:

[0077] 

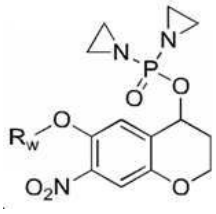
.

[0078] KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위해 AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물을 함유하는 약물 단독요법을 사용하거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용하는 치료 방법으로서, 여기서 화합물은 구조식 (4) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:

[0079] 

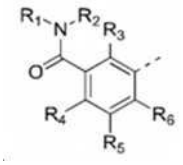
(4).

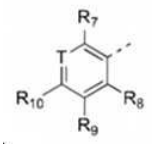
[0080] AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물의 **약학적 용도**로서, 여기서 화합물은 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위한 약물 단독요법의 제작에 사용되거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용되며, 여기서 화합물은 구조식 (4) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:

[0081] 

(4),

[0082] 여기서 Rw의 정의는 공개 번호 WO2021068952A1의 특허 출원 PCT/CN2020/120281의 청구범위에 기술되어 있다. 구체적으로 기는 다음과 같이 정의된다:

[0083] Rw는 

또는 

이고

[0084] R_1은 H, C_{1-6} 알킬, C_{3-6} 사이클로알킬, 4-6원 헤테로사이클로알킬, 5-6원 헤테로아릴 또는 페닐이고, 여기서 C_{1-6} 알킬, C_{3-6} 사이클로알킬, 4-6원 헤테로사이클로알킬, 5-6원 헤테로아릴 및 페닐은 선택적으로 1, 2 또는 3 R^a로 치환되고;

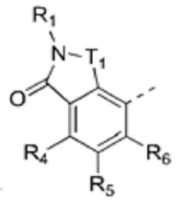
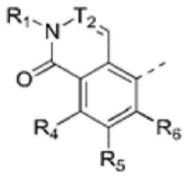
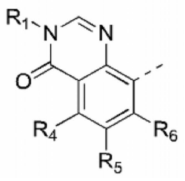
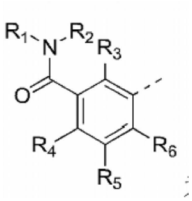
[0085] 각 R^a는 독립적으로 H, F, Cl, Br, I, -CN, -OH, C_{1-3} 알콕시 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0086] R_2는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나;

[0087] 또는 R_1 및 R_2는 이들이 부착된 N 원자와 함께 4-6원 헤테로사이클로알킬을 형성하며, 여기서 4-6원 헤테로사이클로알킬은 선택적으로 1, 2 또는 3 R^b로 치환되고;

[0088] 각 R^b는 독립적으로 H, F, Cl, Br, I, -CN, -OH, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_3$이고;

[0089] R_3은 H, F, Cl, Br, I, -OH, $-NH_2$, C_{1-3} 알콕시 또는 C_{1-3} 알킬이거나;

[0090] 또는 R_2 및 R_3은 함께 부착되어 ,  또는  로 되는 구조 단위 를 만든다.

[0091] T_1은 $-(CR^cR^d)_m-$ 또는 $-(CR^cR^d)_n-O-$이고;

[0092] m은 1, 2 또는 3이고;

[0093] n은 1 또는 2이고;

[0094] T_2는 N 또는 CH이고;

[0095] R^c 및 R^d는 각각 독립적으로 H, F, C_{1-3} 알킬 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

[0096] R_4, R_5 및 R_6은 각각 독립적으로 H, F, Cl, Br, I, C_{1-3} 알킬 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

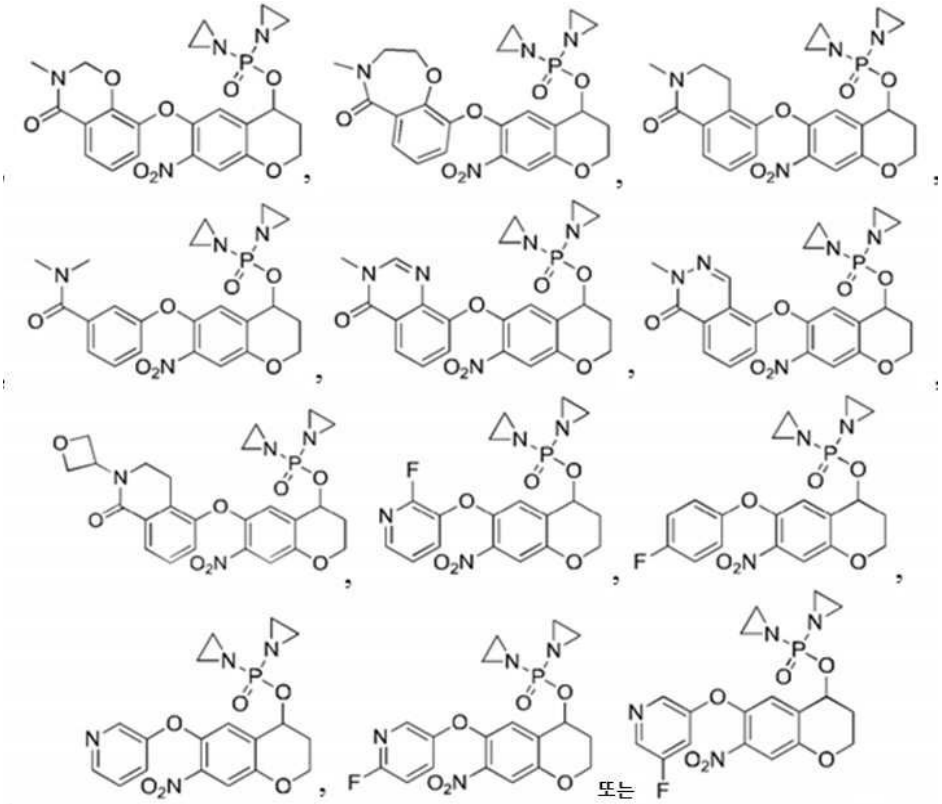
[0097] T는 N 또는 CH이고;

[0098] R_7 및 R_8는 각각 독립적으로 H, F, Cl, Br 또는 I이고;

[0099] R_9 및 R_{10}은 각각 독립적으로 H, F, Cl, Br, I, -CN이거나

[0100] 4-6원 헤테로사이클로알킬 및 5-6원 헤테로아릴은 각각 N, -O- 및 -S-로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3 또는 4개 헤테로원자를 함유한다.

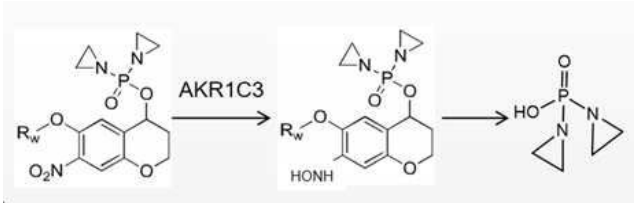
[0101] 구체적으로, 식 (4)의 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



[0102] 또는

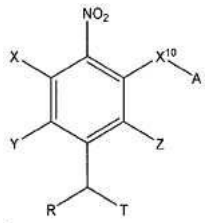
[0103] 기의 정의 및 의미, 화합물의 제조 방법 및 스펙트럼 데이터는 공개 번호 WO2021068952A1의 특허 출원 PCT/CN2020/120281에 기재되어 있으며, 이는 그 전체가 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0104] 분명히, AST-3424 또는 AST와 유사한 구조식 (3)의 화합물은 AST-2660의 전구약물이고, AKR1C3 효소에 의해 활성화되어 그 항암 효능을 나타내는 AST-2660(DNA 알킬화제)을 형성할 수 있다:



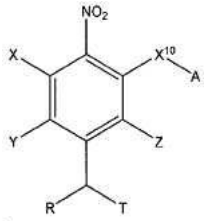
[0105] .

[0106] KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위해 AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물을 함유하는 약물 단독요법을 사용하거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용하는 치료 방법으로서, 여기서 화합물은 구조식 (5) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:



[0107] (5).

[0108] AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물의 **약학적 용도**로서, 여기서 화합물은 암 및 종양 환자를 치료하기 위한 약물 단독요법의 제작에 사용되거나 KRAS 돌연변이가 있는 다른 치료 약물과 조합하여 사용되며, 여기서 화합물은 구조식 (5) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:

[0109]  (5),

[0110] 여기서 X, Y, Z, R, T, A 및 X^{10}의 정의는 공개 번호 WO2017087428A1의 특허 출원 PCT/US2016/062114(공개 번호 CN108136214A의 중국 특허 출원 번호 2016800200132에 상응함)의 청구범위에 기술되어 있다.

[0111] 구체적으로, 기는 다음과 같이 정의된다.

[0112] X^{10}은 O, S, SO 또는 SO_2이고;

[0113] A는 C_6-C_{10} 아릴, 5-15원 헤테로아릴, 또는 $-N=CR^1R^2$이고;

[0114] 각 R^1 및 R^2는 독립적으로 수소, C_1-C_6 알킬, C_3-C_8 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴, 4-15원 헤테로사이클, 에테르, $-CONR^{13}R^{14}$, 또는 $-NR^{13}COR^{14}$이고;

[0115] 각 X, Y, 및 Z는 독립적으로 수소, CN, 할로게노, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴, 4-15원 헤테로사이클, 에테르, $-CONR^{13}R^{14}$, 또는 $-NR^{13}COR^{14}$이고;

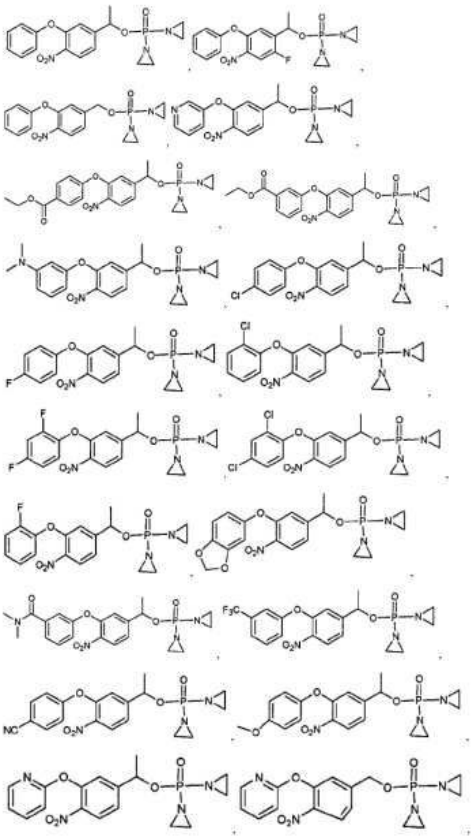
[0116] R은 수소, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, C_3-C_8 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴, 4-15원 헤테로사이클, 에테르, $-CONR^{13}R^{14}$, 또는 $-NR^{13}COR^{14}$이고;

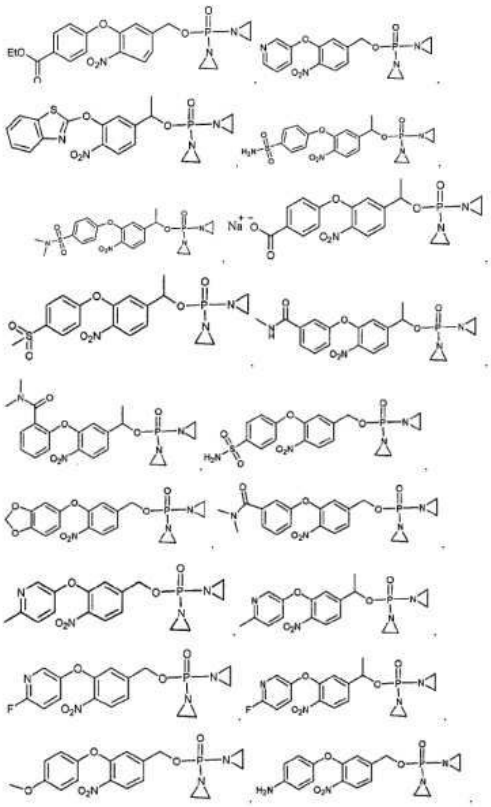
[0117] 각 R^{13} 및 R^{14}는 독립적으로 수소, C_1-C_6 알킬, C_3-C_8 사이클로알킬, C_6-C_{10} 아릴, 4-15원 헤테로사이클, 또는 에테르이고;

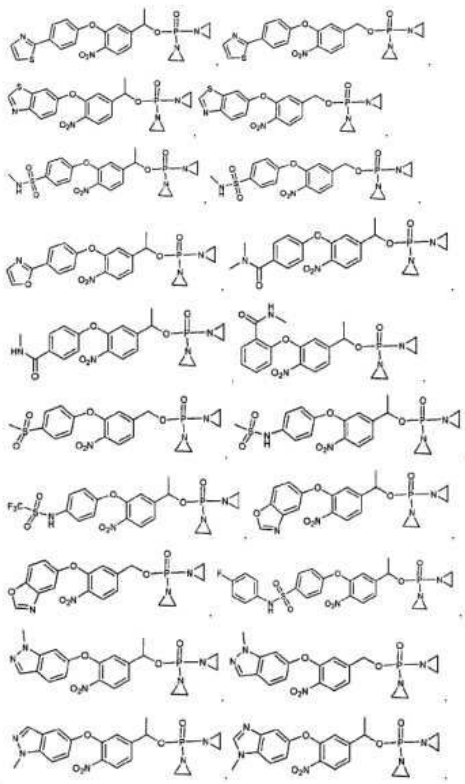
[0118] T는 $-O-P(Z^1)$ 모이어티에 결합된 하나 이상의 Z^5-X^5-Y^5 모이어티를 포함하는 포스포라미데이트 알킬화제를 포함하며, 여기서 Z^5는 질소, 황 또는 산소와 같은 헤테로원자이거나, X^5는 치환된 또는 비치환된 에틸렌이거나, Y^5는 할로게노 또는 또 다른 이탈기이거나 또는 Z^5-X^5-Y^5는 함께 아지리디닐(NCH_2CH_2) 모이어티를 형성하고, Z^1은 O 또는 S이고;

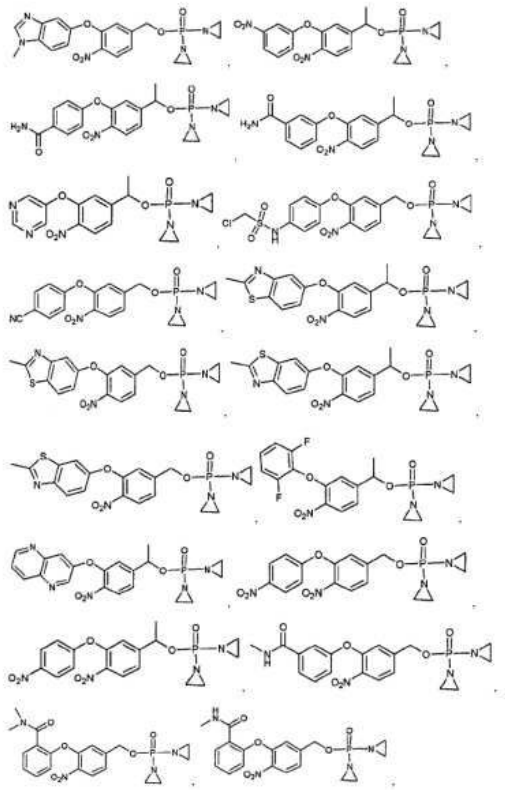
[0119] 여기서, 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로사이클, 헤테로아릴 및 에테르기는 치환되거나 비치환된다.

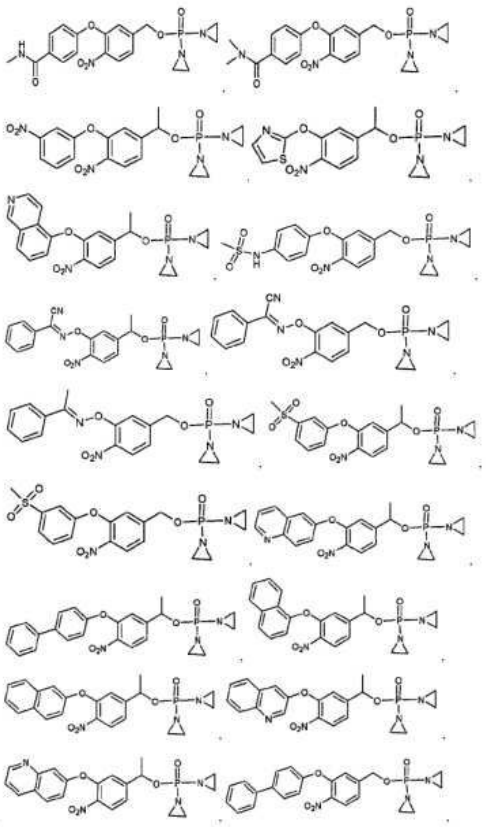
[0120] 구체적으로, 식 (5)의 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:

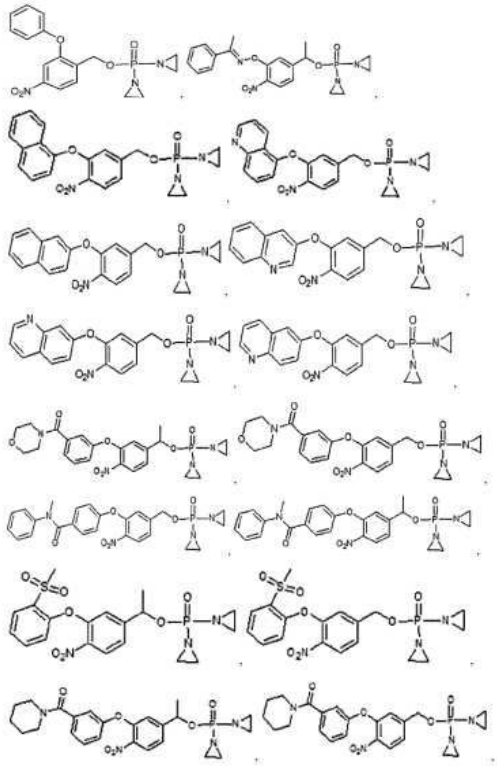
[0121] 

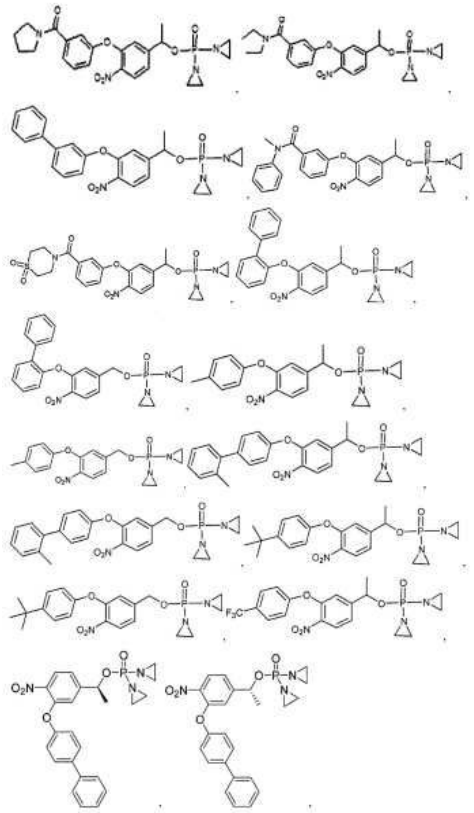
[0122] 

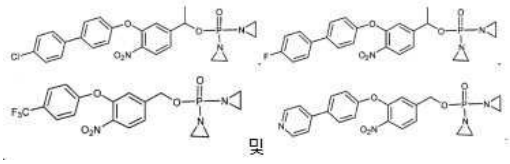
[0123] 

[0124] 

[0125] 

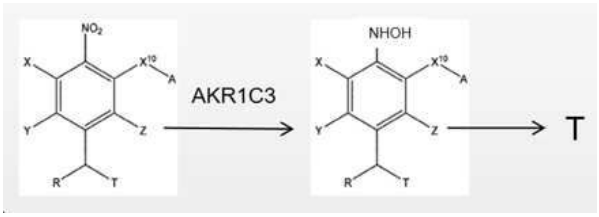
[0126] 

[0127] 

[0128] 
및

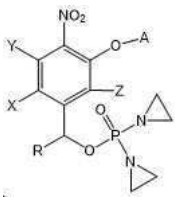
[0129] 기의 구체적인 정의 및 의미, 그리고 화합물의 제조 방법 및 스펙트럼 데이터는 공개 번호 WO2017087428A1의 특허 출원 PCT/US2016/062114(공개 번호 CN108136214A의 중국 특허 출원 번호 2016800200132에 상응함)에 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 참고로 본 명세서에 포함된다.

[0130] 분명히, AST-3424 또는 AST와 유사한 구조식 (5)의 화합물은 포스포라미데이트 알킬화제의 전구약물이고, AKR1C3 효소에 의해 활성화되어 그의 항암 효능을 발휘하는 T(포스포라미데이트 알킬화제, AST-2660은 포스포라미데이트 알킬화제임)를 형성할 수 있다:

[0131] 

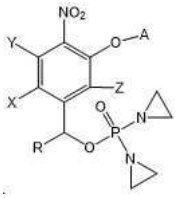
.

[0132] KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위해 AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물을 함유하는 약물 단독요법을 사용하거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용하는 치료 방법으로서, 여기서 화합물은 구조식 (6) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:

[0133] 

(6).

[0134] AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 화합물의 **약학적 용도**로서, 여기서 화합물은 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자를 치료하기 위한 약물 단독요법의 제작에 사용되거나 다른 치료 약물과 조합하여 사용되며, 여기서 화합물은 구조식 (6) 및 이의 염, 에스테르, 용매화물 및 동위원소 이성질체로부터 선택된다:



[0135] (6)

[0136] 여기서,

[0137] A는 치환된 또는 비치환된 C_6-C_{10} 아릴, 바이아릴 또는 치환된 바이아릴, 5-15원 헤테로아릴, 또는 $-N=CR^1R^2$이며; 여기서 치환기는 할로게노, -CN, $-NO_2$, $-O-(CH_2)-O-$, $-CO_2H$ 및 이의 염, $-OR^{100}$, $-CO_2R^{100}$, $-CONR^{101}R^{102}$, $-NR^{101}R^{102}$, $-NR^{100}SO_2R^{100}$, $-SO_2R^{100}$, $-SO_2NR^{101}R^{102}$, C_1-C_6 알킬, 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0138] 여기서 R^{100}, R^{101} 및 R^{102}는 각각 독립적으로 수소, C_1-C_8 알킬, 또는 C_6-C_{12} 아릴이거나; R^{101} 및 R^{102}는 이들이 부착되는 질소 원자와 함께 5-7원 헤테로사이클을 형성하고;

[0139] 여기서 알킬기 및 아릴기는 각각 1-3 할로게노기 또는 1-3 C_1-C_6 알킬기에 의해 치환되고;

[0140] R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 페닐 또는 메틸이고;

[0141] X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 수소 또는 할로게노이고;

[0142] R은 수소 또는 C_1-C_6 알킬 또는 할로겐 치환된 알킬이다.

[0143] 분명히, "화합물"에는 또한 화합물 자체뿐만 아니라 이의 용매화물, 염, 에스테르 또는 동위원소 이성질체도 포함된다.

[0144] 기 앞의 "Cx-Cy" 또는 "Cx-y"는 해당 기에 존재하는 탄소 원자 수의 범위를 기칭한다. 예를 들어, C_1-C_6 알킬은 적어도 1개에서 최대 6개의 탄소 원자를 갖는 알킬기를 지칭한다.

[0145] "알킬"은 1 내지 10개의 탄소 원자, 일부 실시형태에서는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 1가 포화된 지방족 하이드로카르빌기를 지칭한다. "Cx-y 알킬"은 x 내지 y 탄소 원자를 갖는 알킬기를 지칭한다. 이 용어에는 (예로서) 선형 및 분지형 하이드로카빌기 예컨대 메틸(CH_3-), 에틸(CH_3CH_2-), n-프로필($CH_3CH_2CH_2$-), 이소프로필($(CH_3)_2CH$-), n-부틸($CH_3CH_2CH_2CH_2$-), 이소부틸($(CH_3)_2CHCH_2$-), sec-부틸($(CH_3)(CH_3CH_2)CH$-), t-부틸($(CH_3)_3C$-), n-펜틸($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2$-), 및 네오펜틸($(CH_3)_3CCH_2$-)이 포함된다.

[0146] "아릴"은 6 내지 14개의 탄소 원자를 갖고 고리 헤테로원자를 갖지 않으며 단일 고리(예를 들어, 페닐) 또는 다중 축합(융합) 고리(예를 들어, 나프틸 또는 안트릴)를 갖는 방향족 기를 지칭한다. 고리 헤테로원자를 갖지 않는 방향족 및 비-방향족 고리를 갖는 융합된, 가교된 및 스피로 고리 시스템을 포함한 다중 고리 시스템의 경우, 부착 지점이 방향족 탄소 원자에 있을 때 용어 "아릴" 또는 "Ar"이 적용된다(예를 들어, 5,6,7,8 테트라하이드로나프탈렌-2-일은 그 부착 지점이 방향족 페닐 고리의 2-위치에 있으므로 아릴기이다). "아릴렌"은 적절한 수소 함량을 갖는 2가 아릴 라디칼을 지칭한다.

[0147] "사이클로알킬"은 3 내지 14개의 탄소 원자를 갖고 고리 헤테로원자를 갖지 않고 단일 고리 또는 융합된, 가교된 및 스피로 고리 시스템을 포함하는 다중 고리를 갖는 포화된 또는 부분적으로 포화된 사이클릭기를 지칭한다. 고리 헤테로원자를 갖지 않는 방향족 및 비-방향족 고리를 갖는 다중 고리 시스템의 경우, 부착 지점이 비-방향족 탄소 원자에 있을 때 용어 "사이클로알킬"이 적용된다(예를 들어, 5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-5-일). 용어 "사이클로알킬"은 사이클로알케닐기는 포함한다. 사이클로알킬기의 예는 예로서 아다만틸, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 및 사이클로헥세닐을 포함한다. "사이클로알킬렌"은 적절한 수소 함량을 갖는 2가 사이클로알킬 라디칼을 지칭한다.

[0148] "할로게노"는 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도 중 하나 이상을 지칭한다.

[0149] "헤테로아릴"은 산소, 질소 및 황으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 14개의 탄소 원자 및 1 내지 6개의 헤테로원자를 갖는 방향족 기를 지칭하고 단일 고리(예를 들어 이미다졸릴-2-일 및 이미다졸-5-일) 및 다중 고리 시스템(예를 들어 이미다조피리딜, 벤조트리아졸릴, 벤즈이미다졸-2-일 및 벤즈이미다졸-6-일)을 포함한다. 방향족 및 비-방향족 고리를 갖는 융합된, 가교된 및 스피로 고리 시스템을 포함한 다중 고리 시스템의 경우, 적어도 하나의 고리 헤테로원자가 있고 부착 지점이 방향족 고리의 원자에 있는 경우 용어 "헤테로아릴"이 적용된다(예를 들어, 1,2,3,4-테트라하이드로퀴놀린-6-일 및 5,6,7,8-테트라하이드로퀴놀린-3-일). 일부 실시형태에서, 헤테로아릴 기의 질소 및/또는 황 고리 원자(들)는 선택적으로 산화되어 N-옥사이드(N→O), 설피닐 또는 설포닐 모이어티를 제공한다. 용어 헤테로아릴에는 아크리디닐, 아조시닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 벤조티오푸라닐, 벤조티오페닐, 벤족사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤조테트라졸릴, 벤즈이속사졸릴, 벤즈이소티아졸릴, 벤조티에닐, 벤즈이미다졸릴, 카르바졸릴, NH-카르바졸릴, 카르볼리닐, 크로마닐, 크로메닐 , 신놀리닐, 디티아지닐, 푸라닐, 푸라자닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 이미다조피리딜, 이미다졸릴, 인다졸릴, 인돌레닐, 인돌리닐, 인돌리지닐, 인돌릴, 이소벤조푸라닐, 이소크로마닐, 이소인다졸릴, 이소인돌리닐, 이소인돌릴, 이소퀴놀리닐, 이소퀴놀릴, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 나프티리디닐, 옥타하이드로이소퀴놀리닐, 옥사디아졸릴 , 옥사졸리디닐, 옥사졸릴, 피리미디닐, 페난트리디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사티이닐, 페녹사진지닐, 프탈라지닐, 피페라지닐, 프테리디닐, 퓨리닐, 피라닐, 피라지닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피라졸릴, 피리다지닐, 피리독사졸릴, 피리도이미다졸릴, 피리도티아졸, 피리디닐, 피리딜, 피리미디닐, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 퀴녹살리닐, 퀴누클리디닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라졸릴, 티아디아지닐, 티아디아졸릴, 티안트레닐, 티아졸릴, 티에닐, 티에노티아졸릴, 티에누옥사졸릴, 티에노이미다졸릴, 티오페닐, 트리아지닐 및 잔텐일이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다. "헤테로아릴렌"은 적절한 수소 함량을 갖는 2가 헤테로아릴 라디칼을 지칭한다.

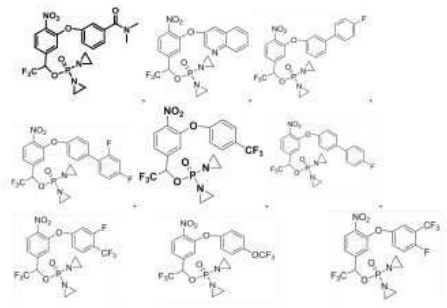
[0150] "헤테로사이클릭" 또는 "헤테로사이클" 또는 "헤테로사이클로알킬" 또는 "헤테로사이클릴"은 1 내지 14개의 탄소 원자 및 질소, 황 또는 산소로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 6개의 헤테로원자를 갖는 포화된 또는 부분 포화된 사이클릭 기를 지칭하고, 단일 고리 및 융합된, 가교된, 스피로 고리 시스템을 포함한 다중 고리 시스템을 포함한다. 방향족 및/또는 비-방향족 고리를 갖는 다중 고리 시스템의 경우, 적어도 하나의 고리 헤테로원자가 있고 부착 지점이 비-방향족 고리의 원자에 있는 경우, 용어 "헤테로사이클", "헤테로사이클", "헤테로사이클로알킬" 또는 "헤테로사이클릴"이 적용된다(예를 들어, 1,2,3,4-테트라하이드로퀴놀린-3-일, 5,6,7,8-테트라하이드로퀴놀린-6-일 및 데카하이드로퀴놀린-6-일). 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 헤테로사이클릭 기는 3-15원, 4-14원, 5-13원, 7-12, 또는 5-7원 헤테로사이클이다. 일부 다른 실시형태에서, 헤테로사이클은 4개의 헤테로원자를 함유한다. 일부 다른 실시형태에서, 헤테로사이클은 3개의 헤테로원자를 함유한다. 또 다른 실시형태에서, 헤테로사이클은 최대 2개의 헤테로원자를 함유한다. 일부 실시형태에서, 헤테로사이클릭 기의 질소 및/또는 황 원자(들)는 선택적으로 산화되어 N-옥사이드, 설피닐, 설포닐 모이어티를 제공한다. 헤테로사이클릴에는 테트라하이드로피라닐, 피페리디닐, N-메틸피페리딘-3-일, 피페라지닐, N-메틸피롤리딘-3-일, 3-피롤리디닐, 2-피롤리돈-1-일, 모르폴리닐 및 피롤리디닐이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다. 탄소 원자의 수를 나타내는 접두사(예를 들어, C_{3-10})는 헤테로원자의 수를 제외한 헤테로사이클릴 기의 부분에서 탄소 원자의 총 수를 지칭한다. 2가 헤테로사이클릭 라디칼은 적절하게 조정된 수소 함량을 가질 것이다.

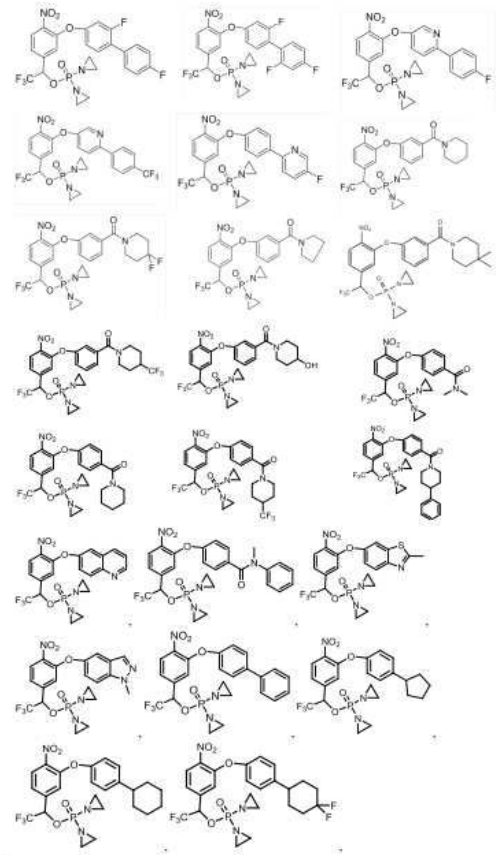
[0151] "바이아릴"은 비페닐, 비피리딘 등과 같은 2개의 방향족 고리가 C-C 단일 결합에 의해 연결된 구조를 지칭한다.

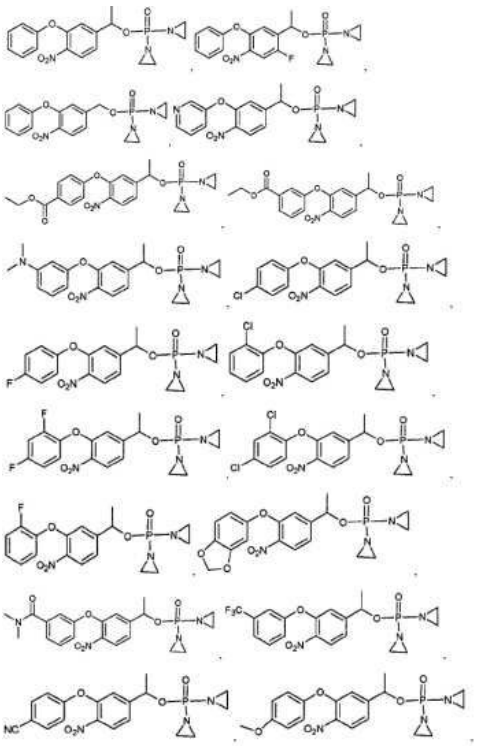
[0152] 용어 "선택적으로 치환된"은 치환된 또는 비치환된 기를 지칭한다. 기는 하나 이상의 치환기, 예를 들어 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환기로 치환될 수 있다. 바람직하게는, 치환기는 옥소, 할로게노, -CN, NO_2, $-N_2+$, $-CO_2R^{100}$, $-OR^{100}$, $-SR^{100}$, $-SOR^{100}$, $-SO_2R^{100}$, $-NR^{100}SO_2R^{100}$, $-NR^{101}R^{102}$, $-CONR^{101}R^{102}$, $-SO_2NR^{101}R^{102}$, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, $-CR^{100} = C(R^{100})_2$, $-CCR^{100}$, C_3-C_{10} 사이클로알킬, C_3-C_{10} 헤테로사이클릴, C_6-C_{12} 아릴 및 C_2-C_{12} 헤테로아릴, 또는 2가 치환기 예컨대 $-O-(CH_2)-O-$, $-O-(CH_2)_2-O-$, 및, 이의 1-4 메틸 치환된 버젼으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 각 R^{100}, R^{101}, 및 R^{102}는 독립적으로 수소 또는 C_1-C_8 알킬; C_3-C_{12} 사이클로알킬; C_3-C_{10} 헤테로사이클릴; C_6-C_{12} 아릴; 또는 C_2-C_{12} 헤테로아릴이거나; 또는 R^{100} 및 R^{102}는 이들이 부착되는 질소 원자와 함께 5-7원 헤테로사이클을 형성하며; 여기서 각 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 아릴, 또는 헤테로아릴은 선택적으로

1-3 할로게노, 1-3 C_1-C_6 알킬, 1-3 C_1-C_6 할로알킬 또는 1-3 C_1-C_6 알콕시기로 치환된다. 바람직하게는, 치환기는 클로로, 플루오로, $-OCH_3$, 메틸, 에틸, 이소-프로필, 사이클로프로필, $-CO_2H$ 및 이의 염 및 C_1-C_6 알킬 에스테르, $CONMe_2$, CONHMe, $CONH_2$, $-SO_2Me$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NMe_2$, $-SO_2NHMe$, $-NHSO_2Me$, $-NHSO_2CF_3$, $-NHSO_2CH_2Cl$, $-NH_2$, $-OCF_3$, $-CF_3$ 및 $-OCHF_2$로 이루어진 군으로부터 선택된다.

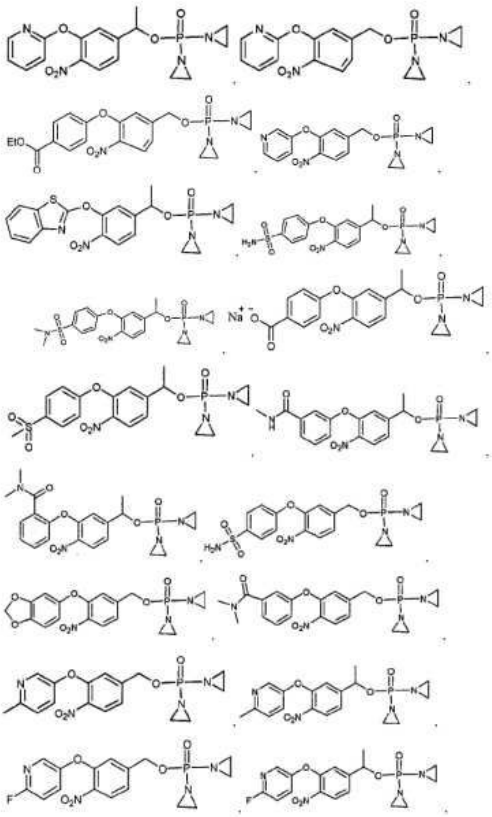
[0153] 구체적으로, 식 (6)의 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0154] 

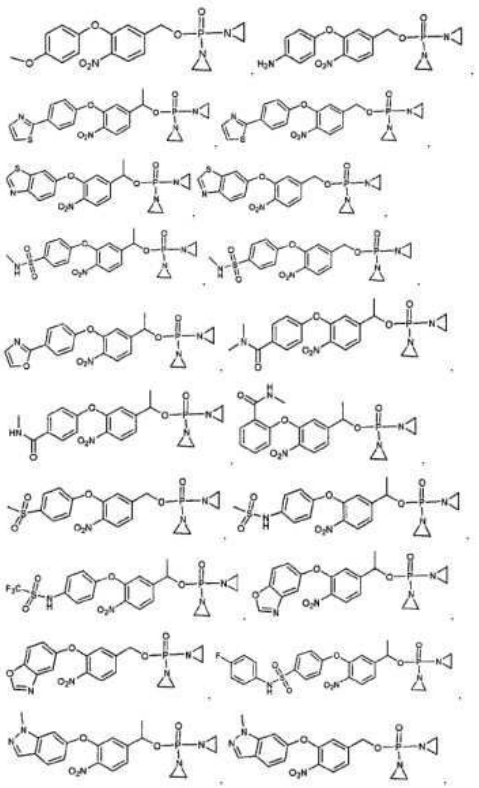
[0155] 

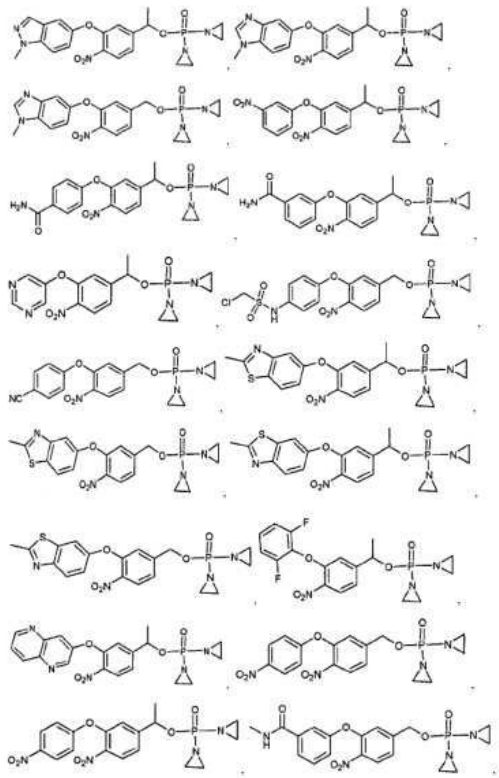


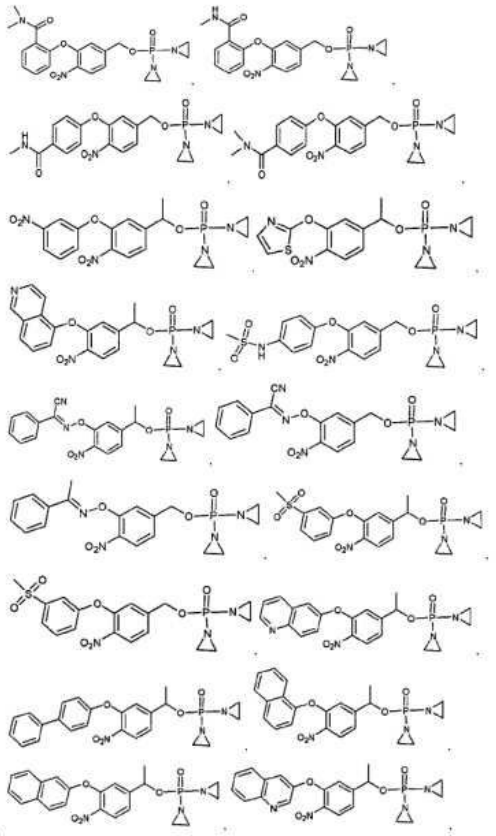
[0156]

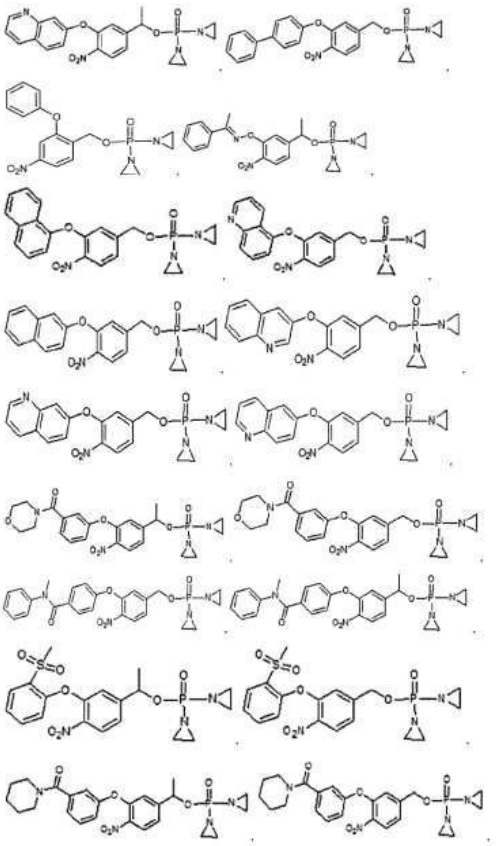


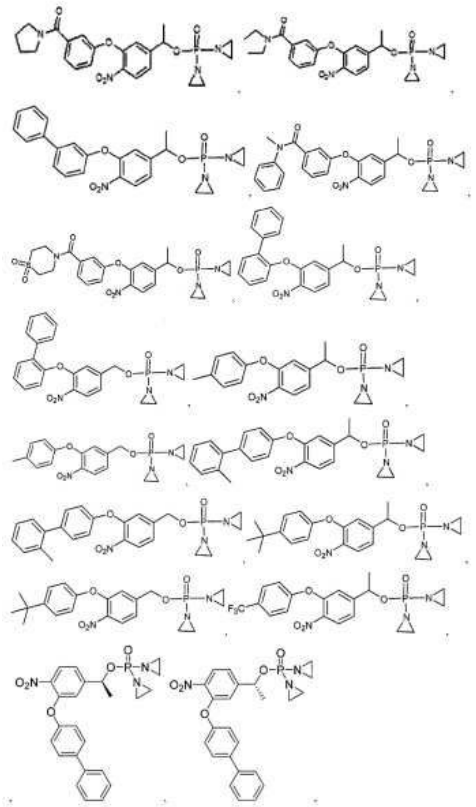
[0157]

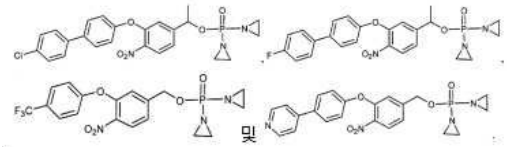
[0158] 

[0159] 

[0160] 

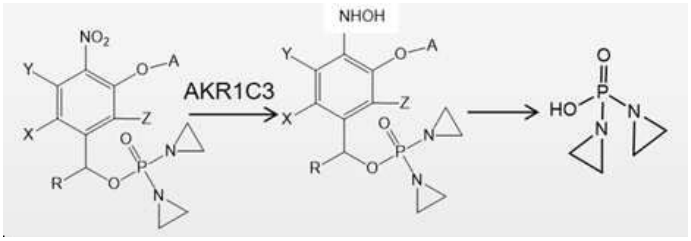
[0161] 

[0162] 

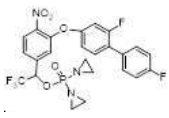
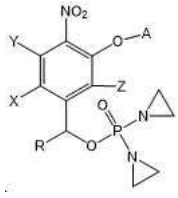
[0163] 
및

[0164] 기의 구체적인 정의 및 의미, 화합물의 제조 방법 및 스펙트럼 데이터는 공개 번호 WO2016145092A1의 PCT/US2016/021581(공개 번호 CN107530556A의 중국 특허 출원 번호 2016800150788에 상응함); 공개 번호 WO2017087428A1의 PCT/US2016/062114(공개 번호 CN108290911A의 중국 특허 출원 번호 2016800446081에 상응함); 및 공개 번호 WO2020228685A1의 PCT/CN2020/089692에 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0165] 분명히, AST-3424 또는 AST와 유사한 식 (6)의 화합물은 AST-2660의 전구약물이고, AKR1C3 효소에 의해 활성화되어 그 항암 효능을 발휘하는 AST-2660을 형성할 수 있다:

[0166] 

.

[0167] AST-3424(OBI-3424),  (이후 AST로 지칭함) 및  의 제조 방법 및 스펙트럼 데이터는 다음 특허 출원: 공개 번호 WO2016145092A1의 PCT/US2016/021581(공개 번호 CN107530556A의 중국 특허 출원 번호 2016800150788에 상응함); 공개 번호 WO2017087428A1의 PCT/US2016/062114(공개 번호 CN108290911A의 중

국 특허 출원 번호 2016800446081에 상응함); 및 공개 번호 WO2020228685A1의 PCT/CN2020/089692에 개시되어 있으며; 관련 제제 농축 주사제 및 관련 처방, 제제 방법 및 임상적 적합성 및 투여 방법은 관련 특허: WO2021008520A1, WO2021043275A1에 자세히 기술되고 개시되어 있으며, 이는 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0168] 단일요법은 단일 약물 요법을 지칭한다. 조합은 조합된 약물 요법을 지칭한다. 단일 약물 요법은 치료의 과정에서 하나의 항암 약물만을 사용하는 것을 지칭한다. 조합 요법은 치료의 과정에서 2가지 이상의 항암 약물을 동시에 또는 순차적으로 사용하는 것을 지칭한다.

[0169] 일반적으로 말하면, 조합 요법은 질환의 특징과 조합에 사용되는 약물의 유형에 따라 다양한 투여 투여량과 투여 주기를 모색해야 하고, 상기의 상황에 따라서만 탐색을 통해 얻은 조합 요법 계획이 단일 약물 요법에 비해 더 나은 치료 효과를 달성할 수 있다.

[0170] 단일요법과 조합 요법 둘 모두의 약물의 투여 투여량 및 투여 주기는 AST-3424 및 이의 유사체와 상기 기술된 다른 약물의 투여량 및 투여 섭생을 참조하여 임상 시험을 통해 탐구될 필요가 있다.

[0171] 단독요법의 투여 투여량은 WO2019062919A1뿐만 아니라 WO2016145092A1 및 WO2017087428A1의 동물 실험 투여량을 참조하여 결정될 수 있다.

[0172] 더욱이, KRAS 돌연변이는 KRAS-G12D 돌연변이, KRAS-G12V 돌연변이 및 KRAS-G12C 돌연변이로 이루어진 군에서 선택된다.

[0173] KRAS에 상응하는 유전자 중 어느 하나 또는 둘 모두에서 돌연변이는 중국에서 승인된 것과 같은 상업적으로 이용가능한(동반) 진단 키트를 사용하여 검출하고 진단할 수 있다:

[0174] Amoy Dx, 국가 기기 등록 20153401126, Human KRAS 유전자 돌연변이 검출 키트(형광 PCR 방법)

[0175] Tellgen, 국가 기기 등록 20163401341, Human K-RAS 유전자 7 돌연변이 검출 키트(PCR 형광 방법).

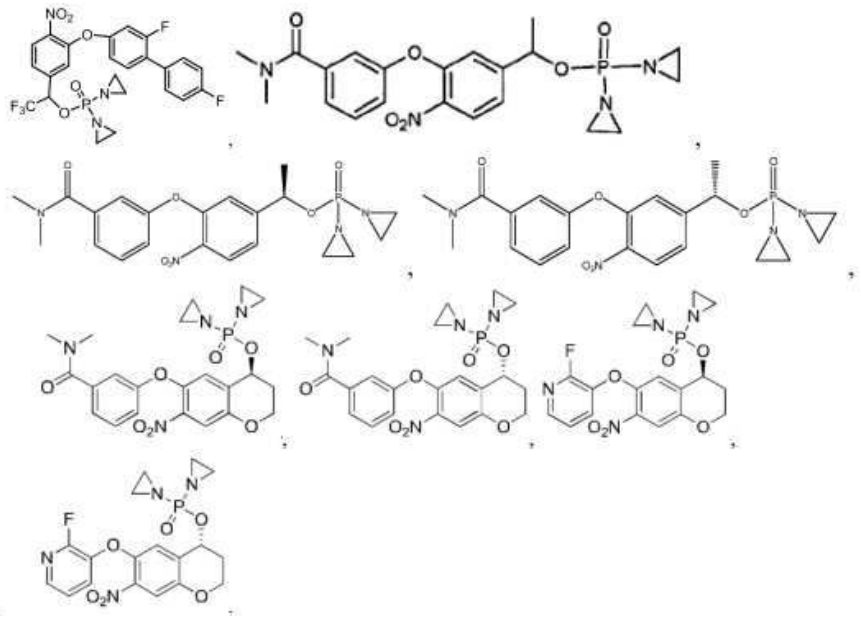
[0176] 분명히, NGS 서열분석(YS 450 유전자 NGS 대형 패널)을 사용하여 특정 KRAS 돌연변이 하형을 결정할 수도 있다.

[0177] 더욱 바람직하게는, KRAS 돌연변이는 KRAS-G12D 돌연변이로부터 선택된다.

[0178] 기술된 유전자 돌연변이의 TMB(종양 돌연변이 부하(부담)) 수준은 중간이다.

[0179] TMB(종양 돌연변이 부하(부담))는 상이한 종양 유형 간에 상이하게 높거나 낮기 때문에: 일반적으로 다음과 같이 간주된다: 20개 초과의 돌연변이/Mb(Mb는 백만 개당 염기를 나타냄)의 TMB는 높고; 10개 미만의 돌연변이/Mb의 TMB는 낮고, 중간에 있는 TMB는 중간이다. 2017년 세계폐암학회에서 Squibb Inc.는 CheckMate-032라는 임상적 시험의 결과를 발표했다. 이는 1차-라인 요법에 실패하고 PD-1 억제제 단독 또는 이필리무맙과 조합하여 치료를 받은 진행성 폐암을 갖는 환자 401명을 등록한 II상 임상 시험이었다. 환자들은 그 TMB 수준에 따라 고 TMB, 중 TMB, 저 TMB를 갖는 3가지 범주의 환자로 분류되었고, 그 다음 조합 요법을 받은 환자 중 세 그룹의 효율성은 각각, 62%, 20%, 23%였고, 고 TMB를 갖는 그룹의 효율성은 나머지 두 그룹보다 3배 더 높았고; 세 그룹의 전체 생존 중앙값은 각각 22.0개월, 3.6개월, 3.4개월로 22.0개월 대 3.4개월로 6배의 차이가 났다! 이 시험은 다양한 암 치료 약물의 경우 다양한 TMB 수준이 약물의 효능에 유의한 영향을 미친다는 것을 입증하였다.

[0180] 더욱이, 전구약물 화합물은 바람직하게는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



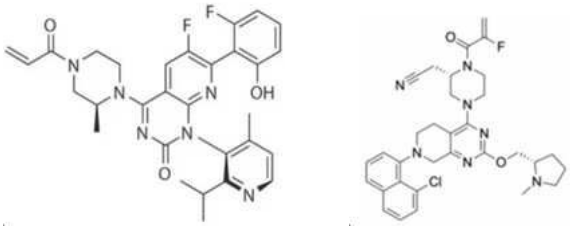
[0181]

[0182] 상기 언급된 암은 난소암, 유방암, 췌장암, 나팔관암, 원발성 복막암, 위암, 전립선암, 간암, 대장암, 직장암, 폐암 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0183] 다른 치료적 약물은 KRAS 억제제 및 면역요법 약물(면역 체크포인트 억제제)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0184] KRAS 억제제는 KRAS 효소 활성을 억제하는 물질이다. 자세한 내용은 리뷰 문헌 Goebel, Lisa & Müller, Matthias & Goody, Roger & Rauh, Daniel.(2020). KRasG12C inhibitors in clinical trials: A short historical perspective. RSC Medicinal Chemistry. 11. 10.1039/D0MD00096E를 참조한다.

[0185] 임상 개발에 진입했거나 이미 시판 중인 KRAS 억제제는 미국 Amgen이 개발한 소토라십(AMG510), Mirati Therapeutics가 개발한 아다그라십(MRTX849), Roche가 개발한 GDC6036, Lilly가 개발한 LY3499446, Araxes와 Janssen이 공동 개발한 JNJ74699157(ARS3248), InventisBio Co., Ltd가 개발한 D-1553, Jacobio Pharma가 개발한 JAB-3312, Jacobio Pharma가 개발한 JAB-3068, Gen House가 개발한 GH35, 및 Betta Pharma가 개발한 BPI-421286, Boehringer-Ingelheim이 개발한 BI17016963, Moderna가 개발한 mRNA-5671, 및 AstraZeneca 및 Ionis가 협력하여 개발한 AZD-4785를 포함한다.



[0186]

[0187] 소토라십(AMG510) 아다그라십(MRTX849)

[0188] 여기서, KRAS 억제제는 소토라십(AMG510), 아다그라십(MRTX849), GDC6036, LY3499446, JNJ74699157(ARS3248), D-1553으로 이루어진 군으로부터 선택된다;

[0189] 면역 체크포인트 분자는 억제 역할을 하는 면역 체계에서의 조절 분자이고 자기관용을 유지하고 자가면역 반응을 예방하고 면역 반응의 시기와 강도를 조절하여 조직 손상을 최소화하는데 필수적이다. 면역 체크포인트 분자는 면역 세포에 발현되고, 면역 세포의 기능을 억제하여 신체가 효과적인 항종양 면역 반응을 생성하는 것을 방해하고 종양의 면역 탈출을 유발한다. 종양-관련된 면역 체크포인트 분자에는 PD1, PD-L1, CTLA4, Tim3 및 LAG3 등이 포함된다. 현재, PD1, PD-L1 및 CTLA4가 더 자주 연구된다. 면역 체크포인트 억제제는 상응하는 면역 체크포인트를 위해 개발된 일부 단클론 항체 약물이다. 이의 주요 기능은 면역 체크포인트를 발현하는 종양 세포와 면역 세포 사이의 상호작용을 차단함으로써 종양 세포가 면역 세포에 대한 억제 효과를 차단하는 것이다. 면역

요법 약물은 PD-1 단클론 항체와 PD-L1 단클론 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0190] 암 및 종양은 바람직하게는 위암, 췌장암 및 폐암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0191] 상응하는 전구약물 화합물을 함유하는 것 외에도, 상기 언급한 약물에는 약물, 약제 또는 제형의 특정한 특징을 기반으로 약학적으로 허용가능한 보조제 또는 부형제가 보충되어야 한다. 약제는 정제, 좌제, 분산성 정제, 장용-코팅 정제, 씹어먹는 정제, 구강 붕해 정제, 캡슐, 당 코팅제, 과립, 건조 분말, 경구 용액, 소형 주사용 바늘, 동결건조된 주사용 분말 또는 주입 용액과 같은 임상 투여를 위한 임의의 투여량 형태일 수 있다. 특정 투여량 형태 및 투여의 방식에 따라, 약제 중 약학적으로 허용가능한 보조제 또는 부형제는 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 희석제, 가용화제, 붕해제, 현탁제, 윤활제, 접착제, 충전제, 향미제, 감미제, 항산화제, 계면활성제, 방부제, 포장재 및 색소 등.

도면의 간단한 설명

[0192] 도 1은 HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 2는 HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 각 마우스의 군에서의 상대적인 종양 성장 억제율 곡선이다;

도 3은 HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중 곡선이다;

도 4는 HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 5는 HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 6은 HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 각 마우스의 군에서의 상대적인 종양 성장 억제율 곡선이다;

도 7은 HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중 곡선이다;

도 8은 HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 9는 HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 10은 HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 각 마우스의 군에서의 상대적인 종양 성장 억제율 곡선이다;

도 11은 HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중 곡선이다;

도 12는 HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 13은 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 이종이식 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 14는 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 이종이식 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 15는 HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 16은 HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 17은 HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 18은 HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 19는 HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 20은 HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 21은 HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 22는 HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 23은 HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 종양 부피의 성장 곡선이다;

도 24는 HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중의 백분율 변화 곡선이다;

도 25는 GA6201, LU11693, PA1222 모델과 대조군의 IHC 염색 결과의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0193] 본 발명은 구체적인 실시형태를 참조하여 아래에서 기술될 것이다. 당업자는 이들 실시예가 단지 본 발명을 예시하기 위해 사용되고 어떠한 방식으로든 본 발명의 범주를 제한하지 않는다는 것을 이해할 것이다.

[0194] 환자에게 약물을 "투여하는 것" 또는 "투여"(및 이 문구의 문법적 동등어)는 의료 전문가에 의해 환자에게 투여될 수 있거나 자가-투여될 수 있는 직접 투여 및/또는 약을 처방하는 행위일 수 있는 간접 투여를 지칭한다. 예를 들어, 환자에게 약물을 자가-투여하도록 지시하고/하거나 환자에게 약물에 대한 처방을 제공하는 의사는 환자에게 약물을 투여하는 것이다.

[0195] "암"은 침습에 의해 국소적으로, 전이에 의해 전신으로 확장할 수 있는 잠재적으로 억제되지 않은 성장을 갖는 백혈병, 림프종, 암종 및 기타 악성 종양(고형 종양 포함)을 지칭한다. 암의 예에는 부신암, 뼈암, 뇌암, 유방암, 기관지암, 결장암 및/또는 직장암, 담낭암, 두경부암, 신장암, 후두암, 간암, 폐암, 신경조직암, 췌장암, 전립선암, 부갑상선암, 피부암, 위암 및 갑상선암이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 암의 특정 다른 예에는 급성 및 만성 림프구성 및 과립구 신생물, 선암종, 선종, 기저 세포 암종, 자궁경부 이형성 암종 및 제자리 암종, 유잉 육종, 표피양 암종, 거대 세포 암종, 다형성 교모세포종, 모세포 종양, 장 신경절 신경종, 과형성 각막 신경 종양, 섬 세포 암종, 카포시 육종, 평활근종, 백혈병, 림프종, 악성 유암종, 악성 흑색종, 악성 고칼슘혈증, 마파노이드 습관성 종양, 수질 상피 암종, 전이성 피부암, 점막 신경종, 골수종, 균상 식육종, 신경모세포종, 골육종, 골형성 및 기타 육종, 난소 종양, 크롬친화세포종, 진성적혈구증가증, 원발성 뇌종양, 소세포폐암, 궤양성 및 유두형 둘 모두의 편평 세포 암종, 과형성, 정상피종, 연조직 육종, 망막모세포종, 횡문근육종, 신장 세포 종양, 국소 피부 병변, 세망 세포 육종 및 윌름 종양이 포함된다.

[0196] "환자" 및 "개체"는 상호교환적으로 사용되고 암에 대한 치료가 필요한 포유동물을 지칭한다. 전형적으로, 환자는 인간이다. 전형적으로, 환자는 암 진단을 받은 인간이다. 특정 실시형태에서, "환자" 또는 "개체"는 약물과 요법을 스크리닝, 특징화 및 평가에 사용되는 비-인간 포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 개, 고양이, 토끼, 돼지, 마우스 또는 랫트를 지칭할 수 있다.

[0197] "고형 종양"은 뼈, 뇌, 간, 폐, 림프절, 췌장, 전립선, 피부 및 연조직(육종)에서의 전이성 종양을 포함하지만 이에 제한되지 않는 고형 종양을 지칭한다.

[0198] 약물의 "치료적으로 유효한 양"은 암이 있는 환자에게 투여될 때 의도된 치료적 효과(예를 들어, 환자에서 암의 하나 이상의 임상적 증상의 완화, 호전, 경감 또는 제거)를 갖게 되는 약물의 양을 지칭한다. 치료적 효과는 반드시 1회 용량의 투여로 나타나는 것은 아니고, 일련의 용량을 투여한 후에만 나타날 수도 있다. 따라서, 치료적으로 유효한 양은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다.

[0199] 병태 또는 환자의 "치료하는", "치료" 또는 "요법"은 유익하거나 원하는 결과(임상 결과 포함)를 얻기 위한 단계를 취하는 것을 지칭한다. 본 발명의 목적을 위해, 유익하거나 원하는 임상 결과에는 암의 하나 이상의 증상의 완화 또는 호전; 질환 정도의 감소; 질환 진행의 지연 또는 둔화; 질환 상태의 개선, 관해 또는 안정화; 또는 기타 유익한 결과가 포함되지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 경우에, 암의 치료로 인해 부분 반응이 나타나거나 질환이 안정될 수 있다.

[0200] "종양 세포"는 임의의 적절한 종, 예를 들어 뮤어라인, 개, 고양이, 말 또는 인간과 같은 포유동물의 종양 세포를 지칭한다.

[0201] "환자" 및 "개체"는 상호교환적으로 사용되고 암에 대한 치료가 필요한 포유동물을 지칭한다. 전형적으로, 환자는 인간이다. 전형적으로, 환자는 암 진단을 받은 인간이다. 특정 실시형태에서, "환자" 또는 "개체"는 약물과 요법을 스크리닝, 특징화 및 평가에 사용되는 비-인간 포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 개, 고양이, 토끼, 돼지, 마우스 또는 랫트를 지칭할 수 있다.

[0202] "치료" 또는 "환자의 치료"는 본 발명과 관련하여 환자에게 치료적 유효량의 약물을 투여, 사용 또는 투여하는 것이다.

[0203] 환자에게 약물을 "투여하는 것" 또는 "투여" 또는 "사용"은 의료 전문가에 의해 환자에게 투여될 수 있거나 자가-투여될 수 있는 직접 투여 및/또는 약을 처방하는 행위일 수 있는 간접 투여를 지칭한다. 예를 들어, 환자에게 약물을 자가-투여하도록 지시하고/하거나 환자에게 약물에 대한 처방을 제공하는 의사는 환자에게 약물을 투여하는 것이다.

[0204] 병태 또는 환자의 "치료하는", "치료" 또는 "요법"은 유익하거나 원하는 결과(임상 결과 포함)를 얻기 위한 단계를 취하는 것을 지칭한다. 본 발명의 목적을 위해, 유익하거나 원하는 임상 결과에는 암의 하나 이상의 증상의 완화 또는 호전; 질환 정도의 감소; 질환 진행의 지연 또는 둔화; 질환 상태의 개선, 관해 또는 안정화; 또는 기타 유익한 결과가 포함되지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 경우에, 암의 치료로 인해 부분 반응이 나타나거나 질환이 안정될 수 있다.

[0205] 다음 실시예에서 실험 방법은 달리 명시하지 않는 한 통상적인 방법이다. 다음 실시예에 사용된 의약 원료, 시약 재료 등은 별도로 명시하지 않는 한 모두 상업적으로 이용가능한 제품이다.

[0206] 본 발명의 실시형태에 대한 상기 설명은 본 발명을 제한하지 않는다. 당업자는 본 발명에 따라 다양한 변형 및 변경을 할 수 있고, 본 발명의 사상 범위 내에서 임의의 변형 및 변경은 본 발명에 첨부된 청구범위의 범주에 속한다.

[0207] 본 발명의 구체적인 실험이 하기에 제공된다.

[0208] **1. HuPrime® 위암 GA6201 피하 이종이식 모델에서 시험 물질 AST, AST-3424 및 이포스파미드의 약력학적 평가**

[0209] HuPrime® 위암 GA6201 PDX 모델은 G12D 아미노산 돌연변이(KRAS-G12D)를 갖는 KRAS 병원성 돌연변이의 모델이다. 인간 위암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 BALB/c 누드 마우스에 HuPrime® 모델 GA6201 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 총 5개의 군으로 각 군에는 5마리의 마우스로, 시험 약물 이포스파미드 60mg/kg 군, 시험 약물 AST-3424 5mg/kg 군, AST 2.5mg/kg 및 5mg/kg 군, 및 생리식염수(pH 7.0-7.6) 비히클 대조군으로 나누었다. 이들 중 생리식염수(pH 7.0-7.6) 비히클 대조군, 시험 약물 AST-3424 5mg/kg 군, AST 2.5mg/kg 군 및 5mg/kg 군을 주 1회 꼬리 정맥 주사로 총 3주간 투여하고 4주 동안 관찰했다. 이포스파미드 60mg/kg 군은 총 2주 동안 주 5일 연속 복강내 주사를 통해 투여하고, 2일 투여를 중단하여 투여하고 5주 동안 관찰하였다. 치료적 효과는 상대적인 종양 성장 억제율(TGI(%))을 기준으로 평가하였고, 안전성은 동물의 체중 변화 및 사망 상황을 기준으로 평가하였다.

[0210] 각 군에 대한 구체적인 투여 섭생은 아래 표 1에 나타내었다.

[0211] 표 1: HuPrime® 위암 GA6201 종양 모델에서 상이한 용량에서 시험 약물의 항종양 효과의 실험 설계

[0212]

군 번호	동물의 수	투여 군	복용량 (mg/kg)	투여 방법	계획된 투여 기간	실제 투여 기간
1	5	생리식염수, pH 7.0-7.6	0	꼬리 정맥	Q7D×3	Q7D×3
2	5	이포스파미드	60	복강내	QD×5/주×2 wks	QD×5/주×2 wks
3	5	AST-3424	5	꼬리 정맥	Q7D×3	Q7D×3
4	5	AST	5	꼬리 정맥	Q7D×3	Q7D×3
5	5	AST	2.5	꼬리 정맥	Q7D×3	Q7D×3

[0213] 서로 다른 군에서의 마우스의 종양 부피를 서로 다른 날에 측정하고 평균값을 얻었다. 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0214] 표 2: HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서의 종양 부피에서 변화

시간	종양 부피(mm³) ($\bar{x}$±S)				
	군 1 생리식염수, pH 7.0-7.6	군 2 이포스파미드 60 mg/kg	군 3 AST-3424 5 mg/kg	군 4 AST 5 mg/kg	군 5 AST 2.5 mg/kg
초기 투여 후 0 일	94.22±8.5	94.15±6.68	94.19±12.46	94.36±14.61	94.61±11.1
초기 투여 후 3 일	123.26±13.74	122.22±12.32	114.98±21.76	118.42±20.83	120.19±15.57
초기 투여 후 7 일	161.08±22.55	129.39±13.47	84.33±17.54	101.91±19.72	118.33±27.54
초기 투여 후 10 일	182.31±28.05	175±22.09	77.04±15.37	97.17±25.14	118.65±31.45
초기 투여 후 14 일	242.26±40.75	190.74±29.81	63.59±10.46	74.2±16.99	96.08±26.3
초기 투여 후 17 일	297.28±47.21	189.23±29.28	52.08±9.25	59.77±15.76	76.14±18.07
초기 투여 후 21 일	398.37±87.32	217.96±41.06	45.81±13.3	46.21±13.48	71.72±9.08
초기 투여 후 24 일	479.52±119.81	225.66±44.63	40.55±10.4	44.03±11.57	57.94±10.4
초기 투여 후 28 일	579.9±154.47	247.04±50.8	30.28±3.78	38.5±11	45.51±1.64
초기 투여 후 31 일	648.12±177.44	265.76±52.69	23.24±7.23	35.92±10.45	43.44±4.51
초기 투여 후 35 일	831.15±234.39	324.51±73.75	18.55±5.77	22.7±11.73	32.04±4.52
초기 투여 후 38 일	905.75±252.4	371.02±75.96	12.65±7.91	19.97±10.18	28.69±8.2
초기 투여 후 42 일	1026.01±294.05	403.47±72.29	13.42±8.22	5.05±5.05	23.49±6.18
초기 투여 후 45 일	1130.43±319.13	484.83±98.33	10.82±7.05	11.14±7.04	25±6.37
초기 투여 후 49 일	1283.11±366.66	578.6±99.79	8.15±5.03	9.96±7.12	17.72±4.6

[0215]

[0216] 각 치료군과 대조군의 종양 성장을 보여주는 도 2는 표 2에서의 데이터에 따라 작성되었다.

[0217] 약물 효능 평가 및 분석 데이터는 표 2에서의 데이터에 따라 작성하였다. 구체적인 자료는 표 3에 나타내었다.

[0218] 표 3. HuPrime® 위암 GA6201 모델에서의 각 군의 약물 효능 분석표

실험 군	투여 종료 후 3 일차 (즉, 38 일차, 2/27/2020)				
	종양 부피 ($\bar{x}$±S)	상대적인 종양부피($\bar{x}$±S)	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교함)
군 1 생리식염수, pH 7.0-7.6	905.75±252.4	9.34±2.42	-	-	-
군 2 이포스파미드 60 mg/kg	371.02±75.96	3.85±0.63	58.83	41.17	0.857
군 3 AST-3424 5 mg/kg	12.65±7.91	0.11±0.07	98.79	1.21	0.00000265
군 4 AST 5 mg/kg	19.97±10.18	0.19±0.08	97.96	2.04	0.0000182
군 5 AST 2.5 mg/kg	28.69±8.2	0.29±0.08	96.85	3.15	0.000135

[0219]

[0220] 표 3에서의 상대적인 종양 증식률(T/C%)은 특정 시점에서 치료군과 대조군 간의 상대적인 종양 부피 또는 종양 무게의 백분율이다. 계산식은 다음과 같았다:

[0221] T/C%=TRTV/CRTV×100%(TRTV: 치료군의 평균 RTV; CRTV: 비히클 대조군의 평균 RTV; RTV=Vt/V0, V0는 군으로 되었을 때 동물의 종양 부피였으며, Vt는 치료 후 동물의 종양 부피임);

[0222] 상대적인 종양 성장 억제율(TGI(%))은 다음과 같이 계산되었다: TGI% = (1-T/C) × 100%. (T와 C는 각각 특정 시점에서 치료군과 대조군의 평균 상대적인 종양 부피(RTV)였다).

[0223] 표 4: HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 각 종양 군의 상대적인 종양 성장 억제율

[0224]

군	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35	38
군 01												
군 02	0.08%	0.85%	19.67%	4.01%	21.27%	36.35%	45.29%	52.94%	57.40%	59.00%	60.96%	59.04%
군 03	0.04%	6.72%	47.65%	57.74%	73.75%	82.48%	88.50%	91.54%	94.78%	96.41%	97.77%	98.60%
군 04	-0.15%	3.93%	36.73%	46.70%	69.37%	79.89%	88.40%	90.82%	93.36%	94.46%	97.27%	97.80%
군 05	-0.42%	2.50%	26.54%	34.92%	60.34%	74.39%	82.00%	87.92%	92.15%	93.30%	96.15%	96.83%
군 06	-0.02%	1.19%	23.52%	15.82%	21.09%	26.03%	38.10%	43.33%	51.57%	58.24%	63.99%	69.40%

[0225] 상기 표 4를 곡선 그래프로 만들어 도 2를 얻었다.

[0226] 서로 다른 군에서 마우스의 체중을 서로 다른 날에 측정하여 평균값을 얻었다. 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

[0227] 표 5: HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 서로 다른 접종일에서 마우스의 체중

[0228]

군	0	1	2	3	4	7	8	9	10	11	14	15	16	17	18	21	24	28	31	35	38
군 01	25.3			25.4		25.3			24.4		25.4			24.6		23.8	24.3	23.7	24.0	24.4	25.1
군 02	25.8	25.5	25.0	25.5	24.4	24.4	24.5	24.1	24.4	24.4	24.3			25.1		26.3	26.1	25.5	25.2	26.0	26.2
군 03	24.8			25.1		25.1			24.5		25.4			25.0		25.5	25.6	25.3	25.4	25.7	26.0
군 04	25.0			24.4		24.8			24.5		25.2			24.9		25.4	25.1	24.6	25.2	25.6	25.7
군 05	25.3			25.1		25.0			25.0		25.2			24.9		25.4	25.8	25.0	25.4	25.6	25.4

[0229] 상기 표를 곡선 그래프로 만들어 도 3을 얻었으며, 이는 HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 각 마우스의 군에서의 체중 곡선이다.

[0230] 유사하게, 표 5에서의 데이터를 처리하여 다음 표 6을 얻었다.

[0231] 표 6: HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 서로 다른 접종일에 마우스의 체중에서 백분율 변화(% 군 평균 변화 = 평균((T-T0)/T0)*100, T는 현재 값을 나타내고, T0은 초기 값을 나타냄)

[0232]

군	0	1	2	3	4	7	8	9	10	11	14	15	16	17	18	21	24	28	31	35	38
군 01	0.00%			0.72%		-0.09%			-3.34%		0.31%			-2.58%		-4.69%	-2.40%	-4.98%	-3.68%	-2.33%	0.69%
군 02	0.00%	-1.02%	-2.93%	-1.20%	-5.32%	-5.50%	-5.07%	-6.48%	-5.33%	-5.32%	-5.80%			-2.46%		1.96%	1.12%	-0.90%	-2.41%	0.86%	1.53%
군 03	0.00%			1.21%		1.46%			-1.11%		2.52%			0.87%		3.03%	3.31%	2.27%	2.52%	3.58%	4.87%
군 04	0.00%			-2.44%		-0.77%			-2.14%		0.65%			-0.46%		1.57%	0.53%	-1.72%	0.85%	2.51%	2.73%
군 05	0.00%			-0.70%		-1.21%			-1.22%		-0.28%			-1.77%		0.50%	1.97%	-1.37%	0.38%	1.23%	0.43%

[0233] 상기 표 4/5/6에서 군01, 군02, 군03, 군04, 및 군05는 상기 언급된 군 1, 군 2, 군 3, 군 4, 군 5, 및 군 6이었다. 0/1/2/3 /4/7/8/9/10/11/14/15/16/17/18/21/24/28/31/35/38은 접종 후 일수였다.

[0234] 상기 표를 곡선 그래프로 만들어 도 4를 얻었다.

[0235] 실험 데이터 분석을 통해 치료적 효과와 관련하여 다음과 같은 사실을 알 수 있다:

[0236] 5mg/kg의 용량에서 시험 약물 AST-3424, 및 2.5mg/kg 및 5mg/kg의 용량에서 시험 약물 AST는 HuPrime® 위암 GA6201의 종양 성장에 대한 유의한 억제 효과를 가졌으며, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

[0237] 시험 약물 이포스파미드 60mg/kg 용량은 HuPrime® 위암 GA6201의 종양 성장에 대해 어느 정도 억제 효과를 가졌으나 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

[0238] 실험 데이터의 분석에 따르면 이포스파미드, AST-3424 및 AST는 시험된 용량에서 종양-보유 마우스에 의해 잘 견딘 것으로 나타났다.

[0239] **2. HuPrime® 췌장암 PA1222 피하 이종이식 모델에서 시험 물질 AST 및 젬시타빈의 약력학 및 안전성 평가**

[0240] HuPrime® 췌장암 PA1222 PDX 모델은 G12D 아미노산 돌연변이(KRAS-G12D)를 갖는 KRAS 병원성 돌연변이 모델이다. 인간 췌장암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 BALB/c 누드 마우스에 HuPrime® 모델 PA1222 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 총 3개의 군으로 각 군에는 5마리의 마우스로, 시험 약물 젬시타빈 120mg/kg 군, 시험 약물 AST 10mg/kg 군 및 7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W(pH 7.4) 비히클 대조군으로 나누었다. 이들 중 7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W(pH 7.4) 비히클 대조군과 시험 약물 AST 10mg/kg 군은 3주 연속으로 주 1회 꼬리 정맥 주사로 투여하였다. 시험 약물 젬시타빈 120mg/kg 군은 3주 연속으로 주 1회 복강내 주사를 통해 투여하였다. 치료

적 효능은 상대적인 종양 성장 억제율(TGI(%))을 기준으로 평가하였고, 안전성은 동물의 체중 변화 및 사망 상황을 기준으로 평가하였다.

[0241] 각 군에 대한 구체적인 투여 섭생은 아래 표 7에 나타내었다.

[0242] 표 7: HuPrime® 췌장암 PA1222 PDX 종양 모델에서 서로 다른 용량의 시험 약물의 항종양 효과의 실험 설계

[0243]

군 번호	동물의 수	투여 군	복용량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	5	7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W (pH 7.4)	-	i.v.	QW×3
2	5	젬시타빈	120	i.p.	QW×3
3	5	AST	10	i.v.	QW×3

[0244] 참고: 1. 투약 부피는 10μl/g이었다.

[0245] 2. QW×3; 일주일에 1회 3주간 투여됨

[0246] 서로 다른 군에서 마우스의 종양 부피를 서로 다른 날에 측정하고 평균값을 얻었다. 결과를 하기 표 8에 나타내었다.

[0247] 표 8: HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서의 종양 부피에서 변화

[0248]

	종양 부피(mm^3) ($\bar{X}$±S)		
시간	군 1 7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W (pH 7.4), 0 mg/kg, QW×3, i.v.	군 2 젬시타빈, 120 mg/kg, QW×3, i.p.	군 3 AST, 10 mg/kg, QW×3, i.v.
초기 투여 후 0 일	112.01±7.53	111.91±7.78	111.50±8.63
초기 투여 후 3 일	139.75±12.85	136.17±12.64	117.62±6.91
초기 투여 후 7 일	177.43±24.82	153.75±10.18	113.91±10.61
초기 투여 후 10 일	199.20±31.63	157.55±9.68	107.17±11.77
초기 투여 후 14 일	249.21±43.56	147.44±16.31	66.08±4.54
초기 투여 후 17 일	306.79±53.54	136.71±13.80	42.94±2.17
초기 투여 후 21 일	339.57±63.97	138.01±14.81	23.22±2.75
초기 투여 후 24 일	362.58±69.17	153.69±22.96	21.20±2.38
초기 투여 후 28 일	395.45±76.89	166.11±24.40	12.51±5.25

[0249] 각 치료군과 대조군의 종양 성장을 표 8 및 도 5에 나타내었고, 약물 효능 평가를 표 9에 나타내었다.

[0250] 표 9. HuPrime® 위암 GA6201 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

[0251]

실험 군	첫 투여 후 28 일차 (즉, 28 일차, 12/29/2020)				
	종양 부피 ($\bar{X}$±S)	상대적인 종양 부피 ($\bar{X}$±S)	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교됨)
군 1 7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W (pH7.4), 0mg/kg, QW×3, i.v.	395.45±76.89	3.49±0.62	-	-	-
군 2 젬시타빈, 120 mg/kg, QW×3, i.p.	166.11±24.40	1.49±0.19	57.17%	42.83%	0.000778
군 3 AST, 10 mg/kg, QW×3, i.v.	12.51±5.25	0.10±0.04	97.14%	2.86%	0.000000914

[0252] 표 9에서 상대적인 종양 증식률(T/C%)은 특정 시점에서 치료군과 대조군 사이의 상대적인 종양 부피 또는 종양 무게의 백분율이다. 계산식은 다음과 같았다:

[0253] T/C%=TRTV/CRTV×100%(TRTV: 치료군의 평균 RTV; CRTV: 비히클 대조군의 평균 RTV; RTV=Vt/V0, V0는 군으로 되

었을 때 동물의 종양 부피였으며, Vt는 치료 후 동물의 종양 부피임);

[0254] 상대적인 종양 성장 억제율(TGI(%))은 다음과 같이 계산되었다: TGI% = (1-T/C) × 100%. (T와 C는 각각 특정 시점에서 치료군과 대조군의 평균 상대적인 종양 부피(RTV)였다).

[0255] 표 10: HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 각 종양 군의 상대적인 종양 성장 억제율

[0256]

	일수/연구일								
군	12/1/2020	12/4/2020	12/8/2020	12/11/2020	12/15/2020	12/18/2020	12/22/2020	12/25/2020	12/29/2020
	0	3	7	10	14	17	21	24	28
군 01									
군 02	0.09%	2.56%	13.35%	20.91%	40.84%	55.44%	59.36%	57.61%	57.99%
군 03	0.45%	15.84%	35.80%	46.20%	73.48%	86.00%	93.16%	94.15%	96.84%

[0257] 상기 표를 곡선 그래프로 만들어 도 6을 얻었다.

[0258] 서로 다른 군에서 마우스의 체중을 서로 다른 날에 측정하여 평균값을 얻었다. 결과를 하기 표 11에 나타내었다.

[0259] 표 11: HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 서로 다른 접종일에서 마우스의 체중

[0260]

군	0	3	7	10	14	17	21	24	28
군 01	24.0	24.1	24.6	24.6	24.4	24.3	25.1	24.8	25.0
군 02	24.1	23.9	24.4	24.3	24.6	24.2	25.1	25.1	25.4
군 03	24.0	23.5	24.0	23.6	23.6	23.6	24.0	24.0	24.1

[0261] 상기 표를 곡선 그래프로 작성하여 HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서의 각 마우스 군에서 체중 곡선인 도 7을 얻었다.

[0262] 유사하게, 표 11에서의 데이터를 가공하여 다음 표 12를 얻었다.

[0263] 표 12: HuPrime® 췌장암 PA1222 모델에서 서로 다른 접종일에 대한 마우스의 체중에서 백분율 변화(% 군 평균 변화 = 평균((T-T0)/T0)*100, T는 현재 값을 나타내고, T0은 초기 값을 나타냄)

[0264]

군	0	3	7	10	14	17	21	24	28
군 01	0.00%	0.67%	2.49%	2.75%	1.91%	1.52%	4.70%	3.60%	4.52%
군 02	0.00%	-0.63%	1.18%	0.82%	2.12%	0.38%	4.19%	4.36%	5.38%
군 03	0.00%	-1.99%	0.18%	-1.50%	-1.50%	-1.51%	0.24%	0.09%	0.66%

[0265] 상기 표를 곡선 그래프로 만들어 도 8을 얻었다.

[0266] 실험 데이터 분석을 통해 치료적 효과와 관련하여 다음과 같은 사실을 알 수 있다:

[0267] 120mg/kg의 용량에서 시험 약물 젬시타빈(군 2)은 HuPrime® 췌장암 PA1222의 종양 성장에 대해 특정 억제 효과를 가졌으며, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 갖는다. 10mg/kg의 용량에서 시험 약물 AST(군 3)은 HuPrime® 췌장암 PA1222의 종양 성장에 대해 유의한 억제 효과를 가졌으며, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 갖으며, 이 군의 2마리의 마우스에서는 종양이 치유되었으며, 여기서 치유율은 둘 모두 40%였다. 시험 약물 AST 10mg/kg(군 3)의 종양 억제 효과는 시험 약물 젬시타빈(120mg/kg, 군 2)의 종양 억제 효과에 비해 유의하게 우수하였다(p=0.000778).

[0268] 실험 데이터의 분석은 시험 약물 젬시타빈(120mg/kg, 군 2) 치료군, AST 10mg/kg(군 3) 치료군 및 대조군(군 1)에서의 마우스는 임의의 뚜렷한 체중 감소를 갖지 않고 치료 기간 동안 잘 견뎠다는 것을 나타냈다.

[0269] **3. HuPrime® 폐암 LU11693 피하 이종이식 모델에서 시험 물질 AST 및 시스플라틴의 약력학 및 안전성 평가**

[0270] HuPrime® 폐암 LU11693 PDX 모델은 G12C 아미노산 돌연변이를 갖는 KRAS 병원성 돌연변이 모델이었다. 인간 폐암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 BALB/c 누드 마우스에 HuPrime® 모델 LU11693 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 총 3개의 군으로 각 군에는 6마리의 마우스로, 시험 약물 시스플라틴 4mg/kg 군, 시험 약물 AST 10mg/kg 군 및 7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W(pH 7.4) 비히클 대조군으로 나누었다. 각 군에서 마우스에 연속 3주 동안 주 1회 꼬리 정맥 주사를 투여하였다. 치료적 효능은 상대적인 종양 성장 억제율(TGI(%))을 기준으로 평가하였고, 안전성은 동물의 체중 변화 및 사망 상황을

기준으로 평가하였다.

[0271] 각 군에 대한 구체적인 투여 섭생은 아래 표 13에 나타내었다.

[0272] 표 13: HuPrime® 폐암 LU11693 PDX 종양 모델에서 서로 다른 용량에서 시험 약물의 항종양 효과의 실험 설계

[0273]

군 번호.	동물의 수	투여 군	복용량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	6	7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W (pH 7.4)	0	꼬리 정맥	QW×3
2	6	시스플라틴	4	꼬리 정맥	QW×3
3	6	AST	10	꼬리 정맥	QW×3

[0274] 참고: 1. 투약 부피는 10μl/g이었다.

[0275] 2. QW×3; 일주일에 1회 3주간 투여됨

[0276] 서로 다른 군에서 마우스의 종양 부피를 서로 다른 날에 측정하고 평균값을 얻었다. 결과를 하기 표 14에 나타내었다.

[0277] 표 14: HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서의 종양 부피 변화

[0278]

시간	종양 부피(mm^3) ($\bar{x}$±S)		
	군 1 7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W (pH 7.4)	군 2 시스플라틴 4 mg/kg	군 3 AST 10 mg/kg
초기 투여 후 0 일	100.73±6.73	100.12±6.13	100.52±7.48
초기 투여 후 4 일	148.49±20.70	134.73±12.15	136.39±17.11
초기 투여 후 7 일	176.25±19.10	156.35±14.10	150.25±21.20
초기 투여 후 11 일	220.66±33.68	176.12±15.18	164.92±23.46
초기 투여 후 14 일	259.63±48.15	196.54±20.83	175.66±24.12
초기 투여 후 18 일	298.53±50.33	244.94±21.34	216.17±27.04
초기 투여 후 21 일	364.53±61.94	267.58±22.10	221.04±25.74
초기 투여 후 25 일	432.25±71.05	309.77±23.28	220.53±26.00
초기 투여 후 28 일	485.88±78.14	365.88±29.58	221.93±25.52

[0279] 각 치료군과 대조군의 종양 성장을 표 14 및 도 9에 나타내었고, 약물 효능 평가를 표 15에 나타내었다.

[0280] 표 15: HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

[0281]

실험 군	첫 투여 후 28 일차 (즉, 28 일차, 1/28/2021)				
	종양 부피 ($\bar{x}$±S)	상대적인 종양부피($\bar{x}$±S)	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교됨)
군 1 7.5% 무수에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W (pH 7.4)	485.88±78.14	4.79±0.58	-	-	-
군 2 시스플라틴 4 mg/kg	365.88±29.58	3.64±0.14	23.98	76.02	0.0152
군 3 AST 10 mg/kg	221.93±25.52	2.17±0.11	54.64	45.36	0.00000337

[0282] 표 15에서의 상대적인 종양 증식률(T/C%)은 특정 시점에서 치료군과 대조군 사이의 상대적인 종양 부피 또는 종양 무게의 백분율이었다. 계산식은 다음과 같았다:

[0283] T/C%=TRTV/CRTV×100%(TRTV: 치료군의 평균 RTV; CRTV: 비히클 대조군의 평균 RTV; RTV=Vt/V0, V0는 군으로 되었을 때 동물의 종양 부피였으며, Vt는 치료 후 동물의 종양 부피임);

[0284] 상대적인 종양 성장 억제율(TGI(%))은 다음과 같이 계산되었다: TGI% = (1-T/C) × 100%. (T와 C는 각각 특정

시점에서 치료군과 대조군의 평균 상대적인 종양 부피(RTV)임).

[0285] 표 16: HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 각 종양 군의 상대적인 종양 성장 억제율

[0286]

	일수/연구일								
군	12/31/2020	1/4/2021	1/7/2021	1/11/2021	1/14/2021	1/18/2021	1/21/2021	1/25/2021	1/28/2021
	0	4	7	11	14	18	21	25	28
군 01									
군 02	0.61%	9.27%	11.29%	20.19%	24.30%	17.95%	26.60%	28.34%	24.70%
군 03	0.21%	8.15%	14.75%	25.26%	32.34%	27.59%	39.36%	48.98%	54.32%

[0287] 상기 표를 곡선 그래프로 만들어 도 10을 얻었다.

[0288] 서로 다른 군에서의 마우스의 체중을 서로 다른 날에 측정하여 평균값을 얻었다. 결과를 하기 표 17에 나타내었다.

[0289] 표 17: HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 서로 다른 접종일에서 마우스의 체중

[0290]

군	0	4	7	11	14	18	21	25	28
군 01	24.5	24.6	24.5	24.5	24.9	24.9	24.6	24.3	24.4
군 02	24.3	23.6	23.9	22.8	24.0	22.4	23.0	23.4	23.6
군 03	24.3	24.3	23.9	23.3	23.6	23.3	23.0	22.4	22.8

[0291] 상기 표를 곡선 그래프로 작성하여 도 11을 얻었으며, 이는 HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서의 각 마우스 군에서 체중 곡선이다.

[0292] 유사하게, 표 17에서의 데이터를 처리하여 다음 표 18을 얻었다.

[0293] 표 18: HuPrime® 폐암 LU11693 모델에서 다양한 접종일에서의 마우스 체중의 백분율 변화(% 군 평균 변화 = 평균((T-T0)/T0)*100, T는 현재 값을 나타내고, T0은 초기 값을 나타냄)

[0294]

군	0	4	7	11	14	18	21	25	28
군 01	0.00%	0.53%	0.07%	0.20%	1.54%	1.81%	0.63%	-0.54%	-0.18%
군 02	0.00%	-2.95%	-1.68%	-6.23%	-1.32%	-8.04%	-5.33%	-3.86%	-2.74%
군 03	0.00%	0.15%	-1.86%	-4.24%	-3.09%	-4.15%	-5.47%	-7.78%	-6.38%

[0295] 상기 표를 곡선 그래프로 만들어 도 12를 얻었다.

[0296] 실험 데이터의 분석을 통해 치료적 효과와 관련하여 다음과 같은 사실을 알 수 있다:

[0297] 시험 약물 시스플라틴(4mg/kg) 치료군은 첫 투여 후 28일차에 일정한 종양 억제 효과를 보였으며, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고(p=0.0152), 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 23.98%였다.

[0298] 시험 약물 AST(10mg/kg) 치료군은 첫 투여 후 28일차에 일정한 종양 억제 효과를 보였으며, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고(p<0.001), 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 54.64%인 반면, TGI는 60% 미만으로 뚜렷한 종양 억제 효과가 없었다.

[0299] 실험 데이터의 분석은 시험 약물 AST(10mg/kg)와 시스플라틴(4mg/kg) 치료군에서 일부 마우스가 심각한 체중 감소를 나타냈으며, 이는 고용량 약물의 잠재적인 독성과 관련이 있을 수 있음을 나타냈다.

[0300] 상기 3가지 실험 데이터 세트로부터 본 발명자들은 다음과 같은 결론을 도출할 수 있다:

[0301] 1. AST-3424와 AST 둘 모두는 G12D 아미노산 돌연변이가 있는 KRAS 병원성 돌연변이 모델: 위암 GA6021 및 췌장암 PA1222 PDX 모델에서, TGI%가 90% 초과로 유의한 약물 효능을 가졌다;

[0302] 2. G12C 아미노산 돌연변이가 있는 KRAS 병원성 돌연변이 모델: 폐암 LU11693에서 AST의 종양 억제 효과는 TGI%가 60% 미만으로 명확하지 않았다;

[0303] 3. AST-3424와 AST 둘 모두는 각 모델에서 상대적으로 좋은 내성을 가졌다.

[0304] 발명자는 더욱이 연구를 통해 G12D 아미노산 돌연변이를 갖는 KRAS 병원성 돌연변이 모델에서 AST-3424 및 AST가 다양한 암 적응증에 대해 일반적으로 유의한 치료적 효과를 갖는다는 것을 발견하였다. G12C 아미노산 돌연변이를 갖는 KRAS 병원성 돌연변이 모델에서 AST의 치료적 효과는 암 유형뿐만 아니라 다른 요인들과도 관련이 있었다.

[0305] **4. 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 이종이식 모델에서 시험 물질 AST, AST-3424 및 이포스파미드의 항종양 효**

과 및 안전성 평가

[0306] 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 이종이식 모델은 KRAS G12D 병원성 돌연변이를 보유한 CDX 모델이었다.

[0307] 인간 유래된 췌장암의 피하 이식 모델을 확립하기 위해 Balb/c 누드 암컷 마우스에 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 세포를 피하로 접종하였다. 시험은 다음 군으로 나누었다: 시험 약물 치료군 이포스파미드 60mg/kg 단독요법군(군 2)을 1일 1회 5일 연속 복강내로 투여하고, 2일 동안 휴약 후 다시 5일 연속 1일 1회 투여하였다; AST 4mg/kg 단독요법군(군 3)은 꼬리 정맥을 통해 5일 연속 1일 1회 투여하고, 2일 휴약 후 2주 휴약한 다음 다시 5일 연속 1일 1회 투여하였다; AST 8mg/kg 단독요법군(군 4)은 총 3주 동안 매주 1회 꼬리 정맥을 통해 투여하였다; AST-3424 1mg/kg 단독요법군(군 5)은 5일 연속 1일 1회 꼬리 정맥을 통해 투여하고, 2일 휴약 후 2주 휴약한 다음 다시 5일 연속 1일 1회 투여하였다; 그리고 글루코스 주사(pH 7.7-8.0) 비히클 대조군(군 1)은 5일 연속 1일 1회 꼬리 정맥을 통해 투여하고, 2일 휴약 후 2주 휴약한 다음 다시 5일 연속 1일 1회 투여하였다. 본 연구에는 총 5개의 군이 있었고 각 군에는 6마리의 마우스가 있었다. 실험 설계의 투여 경로, 투여량 및 섭생을 표 19에 나타내었다.

[0308] 표 19: 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 동물 모델에서의 투여 경로, 투여량 및 섭생

[0309]

군 번호	동물의 수	투여 군	투여량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	6	글루코스 주사 (pH 7.7-8.0)	-	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
2	6	이포스파미드	60	*i.p.*	QD×5/주×2 주
3	6	AST	4	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
4	6	AST	8	*i.v.*	QW×3
5	6	AST-3424	1	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5

[0310] 본 출원에서, 투여 경로와 관련된 약어와 관련하여, *i.v.*는 꼬리 정맥 주사를 나타내고, *i.p.*는 복강내 주사를 나타내고; 투약 주기와 관련된 약어와 관련하여 QW는 주 1회를 나타내고, QD는 1일 1회를 나타내고, "QD*5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD*5"는 1일 1회 연속 5일 투여, 2일 휴약 후 2주 휴약한 다음 다시 5일 연속 1일 1회 투여를 나타낸다.

[0311] 각 치료군과 대조군의 종양 성장은 표 20에 나타난 바와 같이 시험의 서로 다른 날에 기록되었다. 각 마우스 군에서의 종양 부피의 상응하는 성장 곡선은 도 13에 나타났다. 치료적 효과는 상대적인 종양 증식률과 상대적인 종양 성장 억제율을 기준으로 평가되었다. 각 군의 약물 효능 분석을 표 21에 나타내었다. 투여 후 치료군과 대조군의 체중 변화를 기록하였고, 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 이종이식 모델에서 각 군의 안전성을 연구하였다. 마우스의 체중 변화의 결과를 표 22에 나타내었다. 시간에 걸친 각 치료군에서 체중의 백분율 변화의 곡선 그래프를 도 14에 나타내었다.

[0312] 표 20: 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서 종양 부피 변화(㎣)

[0313]

군 번호	접종 후 일수									
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31
군 1	148.71	298.82	427.94	521.32	669.76	844.44	1064.44	1321.14	1787.35	2212.64
군 2	148.64	313.53	436.26	588.61	801.41	1041.60	1347.90	1617.30	1959.58	2678.00
군 3	148.81	286.38	287.09	223.40	199.45	189.54	274.92	373.75	422.27	457.66
군 4	148.63	320.80	364.88	306.82	262.16	241.53	200.54	188.10	163.95	170.65
군 5	149.44	344.77	382.62	285.47	243.00	263.64	344.86	457.08	596.76	685.85

[0314] 표 21: 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

실험 군	군화된 후 31 일차				
	종양 부피 ($\bar{x}$±S)	상대적인 종양 부피 ($\bar{x}$±S)	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교함)
군 1 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μL/g, i.v., QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	2212.64±232.88	15.17±1.64	-	-	-
군 2 이포스파미드, 60 mg/kg,10 μL/g, i.p., QD×5/주×2 주	2678.00±517.46	17.38±2.69	-14.56	114.56	>0.05
군 3 AST, 4 mg/kg,10 μL/g, i.v., QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	457.66±69.87	3.10±0.40	79.55	20.45	<0.001***
군 4 AST, 8 mg/kg,10 μL/g, i.v., QW×3	170.65±56.64	1.12±0.32	92.64	7.36	<0.001***
군 5 AST-3424, 1 mg/kg,10 μL/g, i.v., QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	685.85±130.78	4.63±0.79	69.46	30.54	<0.001***

[0315]

[0316] 표 22: 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 모델에서 마우스의 체중 변화

군 번호	0	1	2	3	4	7	8	9	10	11	14	17	21	22	23	24	25	28	31
군 1	23.9	23.6	23.7	24.0	23.8	24.2	-	-	25.4	-	25.1	25.4	26.3	26.4	26.3	26.2	-	26.3	26.8
군 2	23.3	23.1	23.2	23.5	23.2	23.3	23.2	23.8	23.1	23.6	23.6	24.8	25.9	-	-	25.6	-	25.4	25.9
군 3	23.4	23.7	23.6	23.8	23.4	23.9	-	-	24.8	-	24.5	24.7	25.0	25.1	25.3	25.2	25.6	25.3	25.8
군 4	23.5	-	-	24.0	-	24.2	-	-	24.5	-	24.2	25.0	25.1	-	-	25.3	-	25.6	25.5
군 5	22.8	22.7	22.8	23.1	22.9	23.3	-	-	24.2	-	23.9	24.1	24.5	24.6	24.8	24.6	24.9	24.9	25.6

[0317]

[0318] 비히클 대조군에서 마우스의 평균 종양 부피는 초기 투여 후 31일차에 2212.64㎣였다. 31일차에 60mg/kg의 용량에서 시험 약물 이포스파미드 치료군(군 2)의 평균 종양 부피는 2678.00㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 -14.65%로 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p>0.05).

[0319] 31일차에 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5) 및 8mg/kg의 용량(QW×3)에서 시험 약물 AST 치료군(군 3 및 4) 및 1mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 AST-3424군(군 5)의 평균 종양 부피는 각각 457.66, 170.65 및 685.85㎣로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고(p<0.05), 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 각각 79.55%, 92.64% 및 69.46%였다.

[0320] 상기 실험 결과는 KRAS G12D 병원성 돌연변이가 있는 모델에서 AST-3424와 AST는, 8mg/kg의 용량(QW×3), 4mg/kg의 용량((QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 AST 및 1mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 AST-3424가 인간 유래된 췌장암 HPAF-II 피하 모델에 대한 유의한 항종양 효과를 가졌음을 나타냈다. 더욱이, 각 시험 약물 치료군에서의 마우스는 치료 기간 동안 체중이 감소하지 않았고 내약성이 양호하였다.

[0321] **5. HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에서 시험 물질 AST, AST-3424 및 이포스파미드 단독요법의 항종양 효과 및 안전성 평가**

[0322] HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델은 KRAS G12D 병원성 돌연변이를 보유한 PDX 모델이었다.

[0323] 인간 폐암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 Balb/누드 암컷 마우스에 HuPrime® 폐암 LU5161 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 다음 군으로 나누었다: 시험 약물 이포스파미드 60mg/kg 단독요법군(군 2)은 1일 1회 5일간 연속 투여하고, 2일간 휴약한 후 다시 1일 1회 5일 연속 투여하였다; AST 4mg/kg 단독요법군(군 3)과 AST 8mg/kg 단독요법군(군 4)은 총 3주 동안 주 1회 투여하였다; AST 4mg/kg 단독요법군(군 5)과 AST-3424 1mg/kg 단독요법군(군 6)은 1일 1회 5일 연속 투여하고, 2일간 휴약 후 2주간 휴약한 다음 다시 5일 연속 1일 1회 투여

하였다; 그리고 글루코스 주사(pH 7.7-8.0) 비히클 대조군(군 1)은 1일 1회 5일 연속 투여하고, 2일 휴약 후 2주 휴약한 다음 다시 5일 연속 1일 1회 투여하였다. 본 연구에는 총 6개의 군이 있었고 각 군에는 6마리의 마우스가 있었다. 이들 중 시험 약물 이포스파미드는 복강내로 투여하였고, 비히클 대조군, AST, 및 AST-3424는 모두 꼬리 정맥 주사로 투여하였다. 실험 설계의 투여 경로, 투여량 및 섭생을 표 23에 나타내었다.

[0324] 표 23: HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에서의 투여 경로, 투여량 및 섭생

군 번호	동물의 수	투여 군	투여량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	6	글루코스 주사 (pH 7.7-8.0)	-	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
2	6	이포스파미드	60	*i.p.*	QD×5/주×2 주
3	6	AST	4	*i.v.*	QW×3
4	6	AST	8	*i.v.*	QW×3
5	6	AST	4	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
6	6	AST-3424	1	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5

[0325]

[0326] 각 치료군과 대조군의 종양 성장은 표 24에 나타낸 바와 같이 시험의 서로 다른 날에 기록되었다. 각 마우스 군에서 종양 부피의 상응하는 성장 곡선은 도 15에 나타내었다. 치료적 효과는 상대적인 종양 증식률과 상대적인 종양 성장 억제율을 기준으로 평가되었다. 각 군의 약물 효능 분석은 표 25에 나타내었다. 투여 후 치료군과 대조군의 체중 변화를 기록하고, HuPrime® 폐암 LU5161 피하 이종 이식 모델에서 각 군의 안전성을 연구하였다. 마우스의 체중 변화의 결과를 표 26에 나타내었다. 시간에 걸친 각 치료군에서 체중의 백분율 변화의 곡선 그래프를 도 16에 나타내었다.

[0327] 표 24: HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서 종양 부피에서 변화(㎣)

군 번호.	접종 후 일수									
	0	4	7	11	14	18	21	25	28	31
1	132.27	185.36	393.39	678.36	839.01	1106.30	1423.45	1777.59	2238.97	2045.61
2	132.21	182.89	322.31	462.34	577.36	696.39	957.80	1284.49	1636.39	1887.60
3	132.11	144.28	209.41	206.30	161.45	136.83	103.27	88.21	71.72	58.51
4	133.19	124.17	179.20	165.66	122.07	95.27	86.00	75.80	68.18	49.88
5	133.15	111.35	110.86	86.51	66.85	62.20	53.86	47.74	37.14	27.78
6	133.17	145.58	155.12	199.04	171.71	134.63	134.55	103.78	94.42	85.23

[0328]

[0329] 표 25: HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

실험 군	28 일차					
	종양 부피 ($\bar{x}$±S)	상대적인 종양 부피 ($\bar{x}$±S)	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교됨)	종양 제거율 31 일차
군 1 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μL/g, *i.v.*, QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	2238.97±391.43	17.05±3.10	-	-	-	0/6
군 2 이포스파미드, 60 mg/kg, 10 μL/g, *i.p.*, QD×5/주×2 주	1636.39±234.40	12.38±1.21	27.39	72.61	>0.05	0/6
군 3 AST, 4 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QW×3	71.72±21.03	0.53±0.16	96.92	3.08	<0.001***	1/6
군 4 AST, 8 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QW×3	68.18±18.97	0.50±0.11	97.05	2.95	<0.001***	1/6
군 5 AST, 4 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	37.14±6.33	0.28±0.04	98.38	1.62	<0.001***	1/6
군 6 AST-3424, 1 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	94.42±23.39	0.75±0.21	95.62	4.38	<0.001***	1/6

[0330]

[0331] 표 26: HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에서 마우스의 체중에서 백분율 변화

군 번호	투여 후 일수															
	0	1	2	3	4	7	11	14	18	21	22	23	24	25	28	31
1	0.00%	0.24%	-0.03%	-0.88%	-2.09%	0.11%	7.31%	-3.03%	8.10%	-1.66%	10.74%	3.54%	0.09%	4.36%	2.14%	-3.04%
2	0.00%	4.81%	0.76%	-1.96%	-3.53%	-3.86%	-1.15%	-7.43%	3.92%	-1.71%	-	-	-	1.76%	1.34%	-5.07%
3	0.00%	-	-	-	-3.51%	-2.32%	4.33%	-4.89%	8.46%	2.57%	-	-	-	5.72%	5.99%	4.57%
4	0.00%	-	-	-	-3.88%	-1.58%	2.80%	-3.82%	3.09%	2.73%	-	-	-	4.54%	5.95%	3.58%
5	0.00%	1.92%	1.12%	-1.35%	-1.45%	2.90%	3.96%	3.59%	10.22%	4.17%	9.52%	5.89%	5.29%	7.03%	7.88%	4.83%
6	0.00%	0.49%	-3.79%	-3.57%	-3.51%	-0.88%	-1.37%	1.02%	12.01%	3.21%	13.16%	4.38%	1.05%	1.17%	7.51%	3.83%

[0332]

[0333] 비히클 대조군에서 마우스의 평균 종양 부피는 초기 투여 후 28일차에 2238.97㎣였다. 28일차에 60mg/kg의 용량에서 시험 약물 이포스파미드 치료군(군 2)의 평균 종양 부피는 1636.39㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 27.39%로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p>0.05$).

[0334] 28일차에 4mg/kg의 용량(QW×3, 군 3), 8mg/kg의 용량(QW×3, 군 4), 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 5)에서 시험 약물 AST 치료군 및 1mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 AST-3424 군(군 6)의 평균 종양 부피는 각각 71.72㎣, 68.18㎣, 37.14㎣ 및 94.42㎣였으며, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고($p<0.001$), 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 각각 96.92%, 97.05%, 98.38%, 95.62%였다. 시험 약물 AST 및 AST-3424의 모든 치료군에서 각 마우스는 16.7%의 제거율로 종양이 제거되었다.

[0335] 상기 실험 결과는 KRAS G12D 병원성 돌연변이가 있는 모델에서 AST-3424와 AST는, 4mg/kg의 용량(QW×3), 8mg/kg의 용량(QW×3), 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 AST 치료군(군 3, 군 4 및 군 5), 및 1mg/kg의 용량(QD × 5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD × 5)에서 AST-3424 군(군 6)이 본 연구의 시험된 투여량 및 투약 빈도 하에서 HuPrime® 폐암 LU5161 피하 모델에 대해 유의한 항종양 효과를 가졌다는 것을 나타냈다. 이포스파미드 투여군에서는 종양 억제 효과가 없었다. 각 시험 약물 치료군에서의 마우스는 치료 기간 동안 잘 견뎠다.

[0336] **6. HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에서 시험 물질 AST 및 이포스파미드 단독요법의 항종양 효과 및 안전성 평가**

[0337] HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델은 KRAS G12D 병원성 돌연변이를 보유한 PDX 모델이었다.

[0338] 인간 장암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 NOD.SCID 암컷 마우스에 HuPrime® 장암 CR3820 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 다음 군으로 나누었다: 시험 약물 이포스파미드 60mg/kg 단독요법군(QD×5/주×2주, 군 2)을 5일 연속 1일 1회 복강내로 투여하고 2일간 휴약한 후 다시 연속 5일 동안 1일 1회 투여하였다; AST 8mg/kg 단독요법군(QW×3, 군 3)은 총 3주 동안 매주 1회 꼬리 정맥을 통해 투여하였다; AST 4mg/kg 단독요법군(QD × 5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD × 5, 군 4)과 비히클 대조군 글루코스 주사(pH 7.7-8.0, 군 1) 둘 모두는 꼬리 정맥을 통해 투여하고, 둘 다 1일 1회 5일 연속 투여하고, 2일 휴약 후 2주간 휴약한 다음, 다시 1일 1회 5일 연속 투여하는 동일한 투여 주기를 가졌다. 본 실험에는 총 4개의 군이 있으며 각 군에는 6마리의 마우스가 있다. 실험 설계의 투여 경로, 투여량 및 섭생을 표 27에 나타내었다.

[0339] 표 27: HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에서의 투여 경로, 투여량 및 섭생

[0340]

군 번호	동물의 수	투여 군	투여량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	6	글루코스 주사 (pH 7.7-8.0)	-	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
2	6	이포스파미드	60	*i.p.*	QD×5/주×2 주
3	6	AST	8	*i.v.*	QW×3
4	6	AST	4	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5

[0341] 각 치료군과 대조군의 종양 성장은 표 28에 나타난 바와 같이 시험의 서로 다른 날에 기록되었다. 각 마우스 군에서 종양 부피의 상응하는 성장 곡선은 도 17에 나타내었다. 치료적 효과는 상대적인 종양 증식률과 상대적인 종양 성장 억제율을 기준으로 평가되었다. 각 군의 약물 효능 분석은 표 29에 나타내었다. 투여 후 치료군과 대조군의 체중 변화를 기록하고, HuPrime® 장암 CR3820 피하 이종 이식 모델에서 각 군의 안전성을 연구하였다. 마우스의 체중 변화의 결과를 표 30에 나타내었다. 이에 대응하여 시간에 걸친 각 치료군에서 체중의 백분율 변화의 곡선 그래프를 도 18에 나타내었다.

[0342] 표 28: HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서의 종양 부피에서 변화(㎣)

[0343]

군	초기 투여 후 일									
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31
01	137.43	171.88	387.71	591.57	923.47	1171.58	1624.45	1792.37	1865.61	2203.47
02	137.64	183.78	362.76	495.03	640.83	758.49	1099.76	1199.09	1596.60	1753.12
03	137.23	172.55	209.91	197.67	176.74	148.74	121.71	110.59	85.22	88.44
04	137.49	148.90	177.26	147.06	137.48	117.53	152.25	146.58	73.81	75.21

[0344] 표 29: HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

실험 군	24 일자				
	종양 부피 - ($\bar{x}$±S)	상대적인 종양 부피 - ($\bar{x}$±S)	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교됨)
군 1 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μL/g, *i.v.*, QD×5; 2 일 휴약; 2 주 휴약; QD×5	1792.37±347.13	13.58±7.27	-	-	-
군 2 이포스파미드, 60 mg/kg, 10 μL/g, *i.p.*, QD×5/주×2 주	1199.09±228.15	8.46±2.85	37.73	62.27	>0.05
군 3 AST, 8 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QW×3	110.59±13.60	0.80±0.24	94.08	5.92	<0.001***
군 4 AST, 4 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QD×5; 2 일 휴약; 2 주 휴약; QD×5	146.58±44.99	1.03±0.71	92.44	7.56	<0.001***

[0345]

[0346] 표 30: HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에서 마우스의 체중에서 변화

군	초기 투여 후 일															
	0	1	2	3	4	7	10	14	17	21	22	23	24	25	28	31
01	24.5	23.8	24.5	24.0	23.6	24.3	24.1	24.4	24.6	25.0	24.1	24.0	23.4	23.1	22.2	22.5
02	25.0	24.5	25.1	25.2	24.1	24.1	23.7	24.1	24.7	25.5	-	-	25.2	-	25.1	25.4
03	25.5	-	-	25.2	-	25.9	25.5	25.7	26.4	26.5	-	-	26.4	-	26.0	26.4
04	24.8	25.1	25.3	25.3	24.9	25.3	25.6	24.9	25.5	26.3	25.8	25.1	25.8	25.9	25.2	25.9

[0347]

[0348] 비히클 대조군에서 마우스의 평균 종양 부피는 초기 투여 후 24일차에 1792.37㎣였다. 24일차에 60mg/kg의 용량에서 시험 약물 이포스파미드 치료군(QD×5/주×2주, 군 2)의 평균 종양 부피는 1199.09㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 37.73%로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이는 없었다(p>0.05).

[0349] 24일차에 8mg/kg의 용량(QW × 3, 군 3), 4mg/kg의 용량(QD × 5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD × 5, 군 4)에서 시험 약물 AST 치료군의 평균 종양 부피는 110.59㎣ 및 146.58㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 각각 94.08%, 92.44%로, 이는 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p<0.05).

[0350] 상기 실험 결과는 KRAS G12D 병원성 돌연변이가 있는 모델에서 AST는, 시험 약물 AST 8mg/kg(QW×3, 군 3), 4mg/kg(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 4)이 본 실험의 시험된 투여량 및 투약 빈도에서 HuPrime® 장암 CR3820 피하 모델에 대해 통계적으로 유의한 항종양 효과를 가졌다는 것을 나타냈다. 시험 약물 이포스파미드와 AST는 본 연구에서 시험된 용량에서 잘 견뎠다.

[0351] **7. HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델에서 시험 물질 AST, AST-3424 및 이포스파미드 단독요법의 항종양 효과 및 안전성 평가**

[0352] HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델은 KRAS G12D 병원성 돌연변이를 보유한 PDX 모델이었다.

[0353] 인간 췌장암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 NOD.SCID 암컷 마우스에 HuPrime® 췌장암 PA2637 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 다음 군으로 나누었다: 시험 약물 이포스파미드 60mg/kg 단독요법 치료군(QD×5/주×2주, 군 2)을 5일 연속 1일 1회 복강내로 투여하고 2일간 휴약한 다음, 다시 연속 5일 동안 1일 1회 투여하였다; AST 8mg/kg 단독요법군(QW×3, 군 3)은 총 3주 동안 매주 1회 꼬리 정맥을 통해 투여하였다; AST 4mg/kg 단독요법군(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 4), AST-3424 1mg/kg 단독요법군(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 5) 및 비히클 대조군 글루코스 주사(pH 7.7-8.0, 군 1)는 모두 꼬리 정맥을 통해 투여하였고, 둘 모두 연속 5일 동안 1일 1회 투여, 2일간 휴약 후, 2주간 휴약한 다음 다시 1일 1회, 5일간 연속 투여하는 동일한 투약 주기를 가졌다. 본 실험에는 총 5개의 군이 있었고, 각 군에는 6마리의 마우스가 있었다. 실험 설계의 투여 경로, 투여량 및 섭생을 표 31에 나타내었다.

[0354] 표 31: HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델의 투여 경로, 투여량 및 섭생

군 번호	동물의 수	투여 군	투여량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	6	글루코스 주사 (pH 7.7-8.0)	-	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
2	6	이포스파미드	60	*i.p.*	QD×5/주×2 주
3	6	AST	8	*i.v.*	QW×3
4	6	AST	4	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
5	6	AST-3424	1	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5

[0355]

[0356] 각 치료군과 대조군의 종양 성장은 표 32에 나타난 바와 같이 시험의 서로 다른 날에 기록되었다. 각 마우스 군에서 종양 부피의 상응하는 성장 곡선은 도 19에 도시되었다. 치료적 효과는 상대적인 종양 증식률과 상대적인 종양 성장 억제율을 기준으로 평가되었다. 각 군의 약물 효능 분석은 표 33에 나타내었다. 투여 후 치료군과 대조군의 체중 변화를 기록하고, HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 이종이식 모델에서 각 군의 안전성을 연구하였다. 마우스의 체중 변화의 결과를 표 34에 나타내었다. 이에 대응하여, 시간에 걸친 각 치료군에서 체중의 백분율 변화의 곡선 그래프를 도 20에 나타내었다.

[0357] 표 32: HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서 종양 부피에서 변화(㎣)

군	초기 투여 후 일										
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35
군 01	130.37	186.35	246.28	308.00	402.92	472.45	531.56	606.41	700.31	820.04	977.46
군 02	130.24	211.69	295.87	307.84	377.51	437.58	491.24	582.72	684.36	771.40	938.33
군 03	130.35	206.38	221.16	235.81	190.59	178.00	138.24	125.43	115.08	103.87	123.47
군 04	130.55	184.14	235.94	210.81	223.54	204.85	175.78	170.26	160.17	125.16	141.48
군 05	130.32	184.00	204.51	190.00	167.36	185.97	188.97	201.89	230.64	169.27	186.08

[0358]

[0359] 표 33: HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

실험 군	35 일차				
	종양 부피 - ($\bar{x}$±S)	상대적인 종양 부피 - ($\bar{x}$±S)	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교됨)
군 1 글루코스 주사 ((pH 7.7-8.0), 10 μL/g, *i.v.*, QD×5; 2 일 휴약; 2 주 휴약; QD×5	977.46±113.44	7.45±0.73	-	-	-
군 2 이포스파미드, 60 mg/kg, 10 μL/g, *i.p.*, QD×5/주×2 주	938.33±143.94	7.25±1.18	2.74	97.26	>0.05
군 3 AST, 8 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QW×3	123.47±21.61	0.95±0.16	87.28	12.72	<0.001***
군 4 AST, 4 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QD×5; 2 일 휴약; 2 주 휴약; QD×5	141.48±13.32	1.08±0.10	85.46	14.54	<0.001***
군 5 AST-3424, 1 mg/kg, 10 μL/g, *i.v.*, QD×5; 2 일 휴약; 2 주 휴약; QD×5	186.08±29.94	1.43±0.23	80.78	19.22	<0.001***

[0360]

[0361] 표 34: HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델에서 마우스의 체중에서 백분율 변화

군	초기 투여 후 일															
	0	1	2	3	4	7	10	14	17	21	22	23	24	28	31	35
01	0.00%	0.35%	-0.87%	-1.42%	-1.42%	-0.76%	-1.90%	-0.63%	-0.55%	-0.96%	-2.41%	-2.65%	-3.61%	-2.23%	-1.71%	-2.96%
02	0.00%	-0.20%	-0.74%	-1.17%	-2.24%	-1.92%	-4.05%	-1.42%	-3.36%	-0.68%	-	-	-4.03%	-2.16%	-1.99%	-1.15%
03	0.00%	-	-	0.09%	-	0.45%	-1.49%	-0.09%	-0.89%	-0.12%	-	-	-0.33%	0.19%	-1.29%	2.76%
04	0.00%	0.00%	-0.97%	-1.51%	-4.99%	-2.61%	-3.22%	-0.81%	-1.66%	-0.85%	-3.32%	-2.91%	-3.63%	-1.82%	-1.36%	0.78%
05	0.00%	-1.47%	-2.58%	-1.85%	-2.73%	-1.48%	-3.80%	-2.90%	-1.58%	-1.29%	-3.42%	-3.61%	-3.68%	-3.46%	-3.20%	-1.43%

[0362]

[0363] 비히클 대조군에서 마우스의 평균 종양 부피는 초기 투여 후 35일차에 977.46㎣였다. 35일차에 60mg/kg의 용량에서 시험 약물 이포스파미드 치료군(군 2)의 평균 종양 부피는 938.33㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 2.74%로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p>0.05$).

[0364] 35일차에 8mg/kg의 용량(QW×3, 군 3), 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 4)에서 시험 약물 AST 치료군, 및 1mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 5)에서 시험 약물 AST-3424의 평균 종양 부피는 123.47㎣, 141.48㎣ 및 186.08㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 각각 87.28%, 85.46% 및 80.78%로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p<0.001$).

[0365] 상기 실험 결과는 KRAS G12D 병원성 돌연변이가 있는 모델에서 AST와 AST-3424는, 시험 약물 AST 8mg/kg(QW×3, 군 3), 4mg/kg(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 4) 및 시험 약물 AST-3424 1mg/kg(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5, 군 5)은 이 실험의 시험된 투여량과 투약 빈도에서 HuPrime® 췌장암 PA2637 피하 모델에 대해 통계적으로 유의한 항종양 효과를 가졌다는 것을 나타냈다. 실험 동안, 각 시험 약물 치료군에서 마우스는 치료 기간 동안 잘 견디는 것으로 나타났다.

[0366] **8. HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에서 시험 물질 AST 및 이포스파미드 단독요법의 항종양 효과 및 안전성 평가**

[0367] HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델은 KRAS G12C 병원성 돌연변이를 보유한 PDX 모델이었다.

[0368] 인간 폐암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 NOD.SCID 암컷 마우스에 HuPrime® 폐암 LU11873 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 다음 군으로 나누었다: 시험 약물 이포스파미드 60mg/kg 단독요법군(군 2)을 1일 1회 5일간 연속 투여하고, 2일 동안 휴약한 후 다시 1일 1회 5일 연속 투여하였다; AST 4mg/kg 단독요법군(군 5)은 연속 5일 동안 1일 1회 투여하고, 2일 동안 휴약한 후, 2주 동안 휴약한 다음, 다시 5일 연속으로 1일 1회 투여하였다; 글루코스 주입(pH 7.7-8.0) 비히클 대조군(군 1)은 1일 1회 5일 연속 투여하고, 2일 동안 휴약 후 2주 동안 휴약한 다음 다시 5일 연속으로 1일 1회 투여하였다. 본 실험에는 총 3개의 군이 있었고, 각 군에는 6마리의 마우스가 있었다. 시험 약물 이포스파미드를 복강내로 투여하였다. 비히클 대조군과 각 AST 군에는 꼬리 정맥 주사에 의해 투여하였다. 실험 설계의 투여 경로, 투여량 및 섭생을 표 35에 나타내었다.

[0369] 표 35: HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에서의 투여 경로, 투여량 및 섭생

군 번호	동물의 수	투여 군	투여량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	6	글루코스 주사 (pH 7.7-8.0)	-	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5
2	6	이포스파미드	60	*i.p.*	QD×5/주×2 주
5	6	AST	4	*i.v.*	QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5

[0370]

[0371] 각 치료군과 대조군의 종양 성장은 표 36에 나타난 바와 같이 시험의 서로 다른 날에 기록되었다. 각 마우스 군에서 종양 부피의 상응하는 성장 곡선은 도 21에 나타내었다. 치료적 효과는 상대적인 종양 증식률과 상대적인 종양 성장 억제율을 기준으로 평가되었다. 각 군의 약물 효능 분석을 표 37에 나타내었다. 투여 후 치료군과 대조군의 체중 변화를 기록하고, HuPrime® 폐암 LU11873 피하 이종이식 모델에서 각 군의 안전성을 연구하였다. 마우스의 체중 변화의 결과를 표 38에 나타내었다. 이에 대응하여, 시간에 걸친 각 치료군에서 체중의 백분율 변화의 곡선 그래프를 도 22에 나타내었다.

[0372] 표 36: HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서 종양 부피에서 변화(㎣)

[0373]

군	초기 투여 후 일									
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31
군 01	121.41	194.85	296.16	396.17	509.62	678.47	790.84	1125.75	1415.78	1677.89
군 02	121.82	183.55	305.91	406.78	619.15	768.80	870.60	1183.70	1354.36	1866.37
군 05	121.48	135.18	188.07	197.93	214.44	240.28	286.32	344.68	371.66	406.40

[0374] 표 37: HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

[0375]

실험 군	초기 투여 후 31 일차				
	종양 부피 $\bar{x}$±S	상대적인 종양 부피 $\bar{x}$±S	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교됨)
군 1 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μL/g, i.v., QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	1677.89±262.51	13.77±1.89	-	-	-
군 2 이포스파미드,60 mg/kg,10 μL/g, i.p., QD×5/주×2 주	1866.37±203.06	15.16±1.26	-10.08	110.08	>0.05
군 5 AST, 4 mg/kg, 10 μL/g, i.v., QD×5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD×5	406.40±43.43	3.42±0.44	75.16	24.84	<0.001***

[0376] 표 38: HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에서 마우스의 체중에서 백분율 변화

[0377]

군	0	1	2	3	4	7	10	14	17	21	22	23	24	25	28	31
01	0.00%	-0.82%	-0.37%	2.00%	0.51%	0.24%	0.43%	-1.45%	-4.10%	-1.68%	4.47%	-2.36%	-3.01%	0.05%	1.13%	3.37%
02	0.00%	-0.95%	-1.01%	-0.90%	-1.74%	-0.52%	0.39%	0.34%	0.38%	2.33%	-	-	3.36%	-	5.36%	10.46%
05	0.00%	-2.18%	-3.41%	-4.15%	-5.47%	-3.20%	-0.29%	-4.42%	-5.73%	-3.45%	-0.11%	-5.76%	-6.17%	-2.27%	-4.48%	1.21%

[0378] 비히클 대조군에서 마우스의 평균 종양 부피는 초기 투여 후 31일차에 1677.89㎣였다. 31일차에 60mg/kg의 용량에서 시험 약물 이포스파미드 치료군(군 2)의 평균 종양 부피는 1866.37㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제 TGI(%)는 -10.08%로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p>0.05$). 31일차에 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 시험 약물 AST 치료군(군 5)의 평균 종양 부피는 406.40㎣로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고($p<0.05$), 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 75.16%였다.

[0379] 상기 실험 결과는 KRAS G12C 병원성 돌연변이가 있는 모델에서 AST는, 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 시험 약물 AST 치료군(군 5)이 본 연구에서 시험된 투여량 및 투약 빈도에서 HuPrime® 폐암 LU11873 피하 모델에 대해 유의한 항종양 효과를 갖는다는 것을 나타냈다. 이포스파미드 투여군은 종양 억제 효과를 갖지 않았다. 실험 동안, 각 시험 약물 치료군에서의 마우스는 임의의 체중 감소가 없었고, 치료 기간 동안 내약성이 양호하였다.

[0380] 구체적으로, 출원인은 실시예 3에서 G12C 아미노산 돌연변이를 갖는 KRAS 병원성 돌연변이 모델 폐암 LU11693에서 AST가 10mg/kg의 용량에서 54.64%의 TGI%로 유의한 항종양 효과를 갖지 않는 반면; 본 실시예에서, G12C 아미노산 돌연변이를 갖는 KRAS 병원성 돌연변이 모델 폐암 LU11873에서 AST는 4mg/kg의 용량에서 75.16%의 TGI%로 유의한 항종양 효과를 가짐을 발견하였다. 두 모델 간의 차이는 유의했으며, 이는 이들 두 PDX 모델 간에 일종의 차이가 있을 수 있음을 나타낸다. 그것은 모델의 공급원에 대한 데이터에서 알 수 있다:

[0381] LU11693은 임상적으로 악액질과 경미한 궤양을 보인 58세 여성 환자에게서 유래되었다.

[0382] LU11873은 임상적으로 약간의 체중 감소와 경미한 궤양을 보인 51세 남성 환자에게서 유래되었다.

[0383] **9. HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에서 시험 물질 AST 및 이포스파미드 단독요법의 항종양 효과 및 안전성 평가**

[0384] HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델은 KRAS G12C 병원성 돌연변이를 보유한 PDX 모델이었다.

[0385] 인간 췌장암의 피하 이식 종양 모델을 확립하기 위해 Balb/누드 암컷 마우스에 HuPrime® 췌장암 PA1383 종양 블록을 피하로 접종했다. 시험은 다음 군으로 나누었다: 시험 약물 이포스파미드 60mg/kg 단독요법군(군 2)을 1일 1회 5일간 연속 투여하고, 2일간 휴약한 후 다시 1일 1회 5일 연속 투여하였다; AST 8mg/kg 단독요법군(군 4)은 총 3주 동안 주 1회 투여하였다; AST 4mg/kg 단독요법군(군 5)은 5일 연속 1일 1회 투여하고, 2일 동안 휴약 후, 2주 동안 휴약한 다음, 다시 5일 연속 1일 1회 투여하였다; 그리고 글루코스 주사(pH 7.7-8.0) 비히클 대조군(군 1)은 1일 1회 5일 연속 투여하고, 2일간 휴약 후 2주간 휴약한 다음 다시 5일 연속 1일 1회 투여하였다. 본 연구에는 총 4개의 군이 있었고 각 군에는 6마리의 마우스가 있었다. 이들 중 시험 약물 이포스파미드는 복강내로 투여됐다. 비히클 대조군과 각 AST 군에는 꼬리 정맥 주사에 의해 투여하였다. 실험 설계의 투여 경로, 투여량 및 섭생을 표 39에 나타내었다.

[0386] 표 39: HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에서의 투여 경로, 투여량 및 섭생

[0387]

군 번호	동물의 수	투여 군	투여량 (mg/kg)	투여 방법	투여 기간
1	6	글루코스 주사 (pH 7.7-8.0)	-	*i.v.*	QD × 5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD × 5
2	6	이포스파미드	60	*i.p.*	QD × 5/주 × 2 주
4	6	AST	8	*i.v.*	QW × 3
5	6	AST	4	*i.v.*	QD × 5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD × 5

[0388] 표 40에 나타낸 바와 같이, 각 치료군과 대조군의 종양 성장을 시험의 서로 다른 날에 기록하였다. 각 마우스 군에서 종양 부피의 상응하는 성장 곡선을 도 23에 나타내었다. 치료적 효과는 상대적인 종양 증식률과 상대적인 종양 성장 억제율을 기준으로 평가하였다. 각 군의 약물 효능 분석은 표 41에 나타내었다. 투여 후 치료군과 대조군의 체중 변화를 기록하고, HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 이종 이식 모델에서 각 군의 안전성을 연구하였다. 마우스의 체중 변화의 결과를 표 42에 나타내었다. 이에 대응하여, 시간에 걸친 각 치료군에서 체중의 백분율 변화의 곡선 그래프를 도 24에 나타내었다.

[0389] 표 40: HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에서 치료 시간에 걸친 각 마우스 군에서 종양 부피에서 변화(㎣)

[0390]

군	초기 투여 후 일									
	0	4	7	11	14	18	21	25	28	31
01	131.14	220.07	402.23	630.24	726.31	847.35	1077.74	1291.64	1417.06	1536.48
02	131.04	215.30	391.66	570.57	643.25	727.85	859.10	986.71	1064.57	1202.01
04	131.08	152.43	195.20	156.69	84.43	45.14	31.21	25.71	23.93	18.57
05	131.05	134.98	147.15	82.79	57.51	82.53	87.39	100.47	58.54	39.94

[0391] 표 41: HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에서 각 군의 약물 효능 분석표

[0392]

실험 군	초기 투여 후 31 일차				
	종양 부피 $\bar{x}$±S	상대적인 종양 부피 $\bar{x}$±S	TGI (%)	T/C (%)	P 값 (대조군과 비교됨)
군 1 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μL/g, i.v., QD × 5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD × 5	1536.48 ± 165.08	11.74 ± 1.31	-	-	-
군 2 이포스파미드, 60 mg/kg, 10 μL/g, i.p., QD × 5/주 × 2 주	1202.01 ± 85.63	9.18 ± 0.54	21.84	78.16	> 0.05
군 4 AST, 8 mg/kg, 10 μL/g, i.v., QW × 3	18.57 ± 7.43	0.15 ± 0.06	98.72	1.28	< 0.001***
군 5 AST, 4 mg/kg, 10 μL/g, i.v., QD × 5, 2 일 휴약, 2 주 휴약, QD × 5	39.94 ± 20.41	0.30 ± 0.15	97.46	2.54	< 0.001***

[0393] 표 42: HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에서 마우스의 체중에서 백분율 변화

[0394]

군	초기 투여 후 일수															
	0	1	2	3	4	7	11	14	18	21	22	23	24	25	28	31
1	0.00%	0.76%	0.16%	0.19%	-0.99%	2.88%	5.00%	2.54%	5.77%	4.49%	10.28%	8.94%	8.20%	5.41%	4.37%	3.46%
2	0.00%	1.45%	0.57%	-1.33%	-2.25%	-1.43%	-0.70%	2.01%	3.59%	9.06%	-	-	-	9.12%	4.90%	4.44%
4	0.00%	-	-	-	0.68%	5.22%	5.83%	7.37%	5.55%	4.97%	-	-	-	6.77%	6.91%	7.13%
5	0.00%	2.03%	2.53%	0.44%	0.61%	2.91%	5.66%	6.39%	7.35%	6.31%	9.09%	6.44%	5.39%	5.27%	8.10%	8.93%

[0395] 비히클 대조군에서 마우스의 평균 종양 부피는 초기 투여 후 31일차에 1536.48㎣였다. 31일차에 60mg/kg의 용량에서 시험 약물 이포스파미드 투여군(군 2)의 평균 종양 부피는 1202.01㎣였고, 상대적인 종양 성장 억제 TGI(%)는 21.84%로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p>0.05$).

[0396] 31일차에 8mg/kg의 용량(QD×3)과 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 시험 약물 AST 치료군(군 4 및 군 5)의 평균 종양 부피는 각각 18.57㎣ 및 39.94㎣로, 이는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고($p<0.05$), 상대적인 종양 성장 억제율 TGI(%)는 각각 98.72% 및 97.46%이었다. 각 군에서 2마리의 마우스는 종양이 완전히 제거되었으며, 제거율은 33.3%였다.

[0397] 상기 실험 결과는 KRAS G12C 병원성 돌연변이가 있는 모델에서 AST는, 8mg/kg의 용량(QD×3)과 4mg/kg의 용량(QD×5, 2일 휴약, 2주 휴약, QD×5)에서 AST 치료군(군 4 및 군 5)이 본 연구의 시험된 투여량 및 투약 빈도에서 HuPrime® 췌장암 PA1383 피하 모델에 대해 유의한 항종양 효과를 가졌다는 것을 보여주었다. 이포스파미드 투여군은 종양 억제 효과를 갖지 않았다. 각 시험 약물 치료군에서의 마우스는 임의의 체중 감소가 없었고, 치료 기간 동안 내약성이 양호하였다.

[0398] **10. 조직에서 AKR1C3 RNA 발현 수준 및 효소 함량의 검출**

[0399] A. AKR1C3 RNA 발현 수준의 FPKM 검출

[0400] 문헌(Meng, F., Li, W. F., Jung, D., Wang, C. C., Qi, T., Shia, C. S., Hsu, R. Y., Hsieh, Y. C., & Duan, J. (2021). A novel selective AKR1C3-activated prodrug AST-3424/OBI-3424 exhibits broad anti-tumor activity. American journal of cancer research, 11(7), 3645-3659)에 기술된 방법에 따르면, 상기에 기술된 비와 같이 위암 GA6021, 췌장암 PA1222 및 폐암 LU11693의 조직에서 AKR1C3 RNA 발현 수준을 RNA-Seq로 분석하고 Log2 FPKM으로 정량화했다. 결과는 다음과 같다:

[0401] AKR1C3 LOG2(FPKM)는 GA6201의 경우 6.78, LU11693의 경우 11.14, PA1222의 경우 7.39, HPAF-II의 경우 8.31, LU5161의 경우 11.56, CR3820의 경우 8.34, PA2637의 경우 9.12, LU11873의 경우 10.26, 그리고 PA1383의 경우 9.57로 검출되었다(표 43 참조).

[0402] 상기 문헌에 따르면, 9개 종양 조직 모두에서 AKR1C3 RNA가 높게 발현되었다.

[0403] B. AKR1C3 단백질 함량의 IHC 방법 검출 및 H-SCORE

[0404] 3개 조직의 AKR1C3 단백질 함량은 관례적인 IHC(면역조직화학) 염색(상업용 IHC 시약을 사용했으며, 첫 번째 항체는 Abcam의 Rabbit IgG mAb였고, 두 번째 항체는 Leica의 Bond Polymer Refine Detection이었음; 염색 조건: 항원 회수 100℃, pH 9.0 EDTA 완충액 20분, 희석 비율: 1:800)에 따라 결정되었고, 염색 결과는 H-SCORE에 대해 수행되었다:

[0405] 면역조직화학적 염색 강도는 0(음성), 1+(약한 염색), 2+(중간 염색), 및 3+(강한 염색)으로 구분하였다. 약한 염색, 중간 염색 및 강한 염색에 대한 임계값을 채점 장비에서 수동으로 설정한 다음 이미지 처리 소프트웨어를 사용하여 염색 샘플 사진에 대해 색상 인식을 수행했다. 모든 샘플의 염색 사진에 대해, 특정 세포의 상응하는 염색은 채점 소프트웨어에 의한 통합 표준에 따라 채점되었다: 0/1/2/3. 그런 다음 슬라이스에서의 전체 세포에 대한 염색 강도가 다른 양성 세포의 백분율을 계산했다. H-점수는 다음 식을 사용하여 각 샘플에 대한 IHC 결과의 점수로 계산되었다. H-점수는 0에서 300 사이이며, 점수가 높을수록 샘플에서 항체(AKR1C3 효소 단백질)의 상응하는 표적의 발현 수준이 높다. 계산식은 다음과 같다:

[0406] H-점수 = (0에서 %) × 0 + (1에서 %) × 1 + (2에서 %) × 2 + (3에서 %) × 3

[0407] GA6201, LU11693, PA1222 및 2개의 대조군의 염색 결과를 도 25에 나타내었고, 채점 결과를 아래 표 43에 나타내었다.

[0408] 표 43: 9개 모델 및 대조군의 IHC 및 RNA 분석 결과

모델 ID	암 유형	AKR1C3 H-점수	AKR1C3 LOG2 (FPKM)
GA6201	위암	248.75	6.78
LU11693	폐암	269.10	11.14
PA1222	췌장암	204.28	7.39
HPAF-II	췌장암	높은 발현	8.31
LU5161	폐암	272.78	11.56
CR3820	장암	274.88	8.34
PA2637	췌장암	238.23	9.12
LU11873	폐암	236.69	10.26
PA1383	췌장암	252.92	9.57
BL9214 (양성 대조군)	방광암	265.86	10.86
LI5129 (음성 대조군)	간암	0.00	-2.00

[0409]

[0410] 모델 GA6201, LU11693, PA1222 및 대조군의 구체적인 염색 통계 결과를 아래 표 44에 나타내었다:

[0411] 표 44: 모델 GA6201, LU11693, PA1222 및 대조군의 IHC 결과 및 H-SCORE

모델 ID	암 유형	AKR1C3				
		0	1	2	3	H-점수
GA6201	위암	1.07	8.75	30.54	59.63	248.75
LU11693	폐암	1.70	5.51	14.79	78.00	269.10
PA1222	췌장암	6.82	24.13	27.01	42.04	204.28
BL9214 (양성 대조군)	방광암	1.47	7.23	15.26	76.04	265.86
LI5129 (음성 대조군)	간암	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00

[0412]

[0413] 상기 염색 결과에서, 대조군 범위 내의 양성 및 음성 대조군 결과는 이 IHC 염색의 H-SCORE 결과가 신뢰할 수 있음을 나타냈다.

[0414] 상기 결과에 따르면, 9개 조직 모두에서 상응하는 AKR1C3 단백질이 높게 발현되었다.

[0415] 9개 모델에 사용된 조직이 모두 인간 AKR1C3의 발현이 높은 종양 조직이라는 사실과 함께 상기 9개 모델의 포괄적인 약력학 실험 결과로부터: AST-3424 및 AST는 일반적으로 AKR1C3의 발현이 높고 G12D 아미노산 돌연변이의 KRAS 병원성 돌연변이를 갖는 암에 대해 유의한 치료적 효과를 가지고; AST는 AKR1C3의 발현이 높고 G12C 아미노산 돌연변이의 KRAS 병원성 돌연변이를 갖는 암에 대해 유의한 치료적 효과를 가질 수 있음을 알 수 있다. 이는 특정 종양에서 AKR1C3의 높은 발현이 KRAS(병원성) 돌연변이 아형과 연관될 수 있으며, 즉, AKR1C3의 높은 발현 또는 과발현은 종종 특정 종양에서 KRAS(병원성) 돌연변이의 특정 아형과 공존하여, AST-3424 또는 AST에 대해 이들 특성을 가진 종양 모델의 더 높은 민감성을 초래한다는 것을 의미한다.

[0416] 문헌(Meng, F., Li, W. F., Jung, D., Wang, C. C., Qi, T., Shia, C. S., Hsu, R. Y., Hsieh, Y. C., & Duan, J. (2021). A novel selective AKR1C3-activated prodrug AST-3424/OBI-3424 exhibits broad anti-tumor activity. American journal of cancer research, 11(7), 3645-3659; Evans, K., Duan, J., Pritchard, T., Jones, C. D., McDermott, L., Gu, Z., Toscan, C. E., El-Zein, N., Mayoh, C., Erickson, S. W., Guo, Y., Meng, F., Jung, D., Rathi, K. S., Roberts, K. G., Mullighan, C. G., Shia, C. S., Pearce, T., Teicher, B. A., Smith, M. A., ... Lock, R. B. (2019). OBI-3424, a Novel AKR1C3-Activated Prodrug, Exhibits Potent Efficacy against Preclinical Models of T-ALL. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research, 25(14), 4493-4503; Yanlan Wang, Yue Liu, Changhua Zhou, Chunnian Wang, Ning Zhang, Donglin Cao, Qing Li & Zhong Wang (2020) An AKR1C3-specific prodrug with potent anti-tumor activities against T-ALL, Leukemia & Lymphoma, 61(7), 1660-1668) 및 다음 상응하는 특허 출원:

[0417] 공개 번호 WO2016145092A1의 PCT/US2016/021581(공개 번호 CN107530556A의 중국 특허 출원 번호 2016800150788에 상응함),

[0418] 공개 번호 WO2017087428A1의 PCT/US2016/062114(공개 번호 CN108136214A의 중국 특허 출원 번호 2016800200132에 상응함),

[0419] 공개번호 WO2020228685A1의 PCT/CN2020/089692;

[0420] 공개 번호 WO2019190331A1의 PCT/NZ2019/050030(공개 번호 CN111918864A의 중국 특허 출원 번호 2019800234236에 상응함);

[0421] 공개 번호 WO2021068952A1의 PCT/CN2020/120281에 따르면,

[0422] 화합물 AST-3424 및 AST와 유사한, 이들 특허 출원에서의 이들 화합물은 AKR1C3 활성화 후 DNA 알킬화제

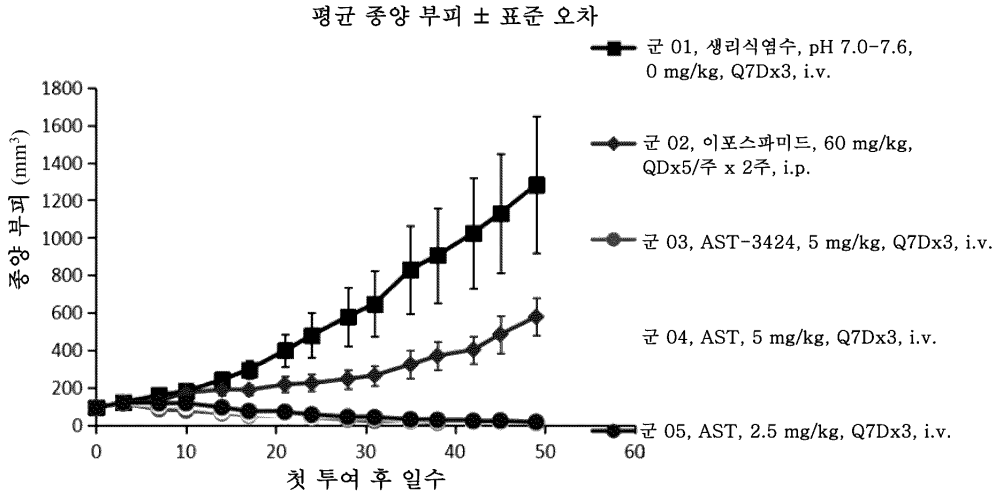


또는 질소 머스타드 구조로 절단되는 AKR1C3-활성화된 항암 전구약물이다.

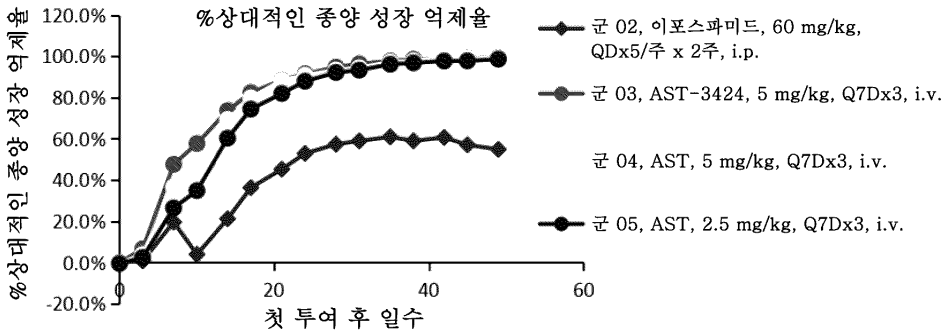
[0423] 따라서, AST-3424 및 AST의 상기 실험 결과와 조합하여, AKR1C3-활성화된 DNA 알킬화제 전구약물 단독요법 또는 다른 치료적 약물과의 조합요법이 KRAS 돌연변이가 있는 암 및 종양 환자, 특히, KRAS-G12D 아형 돌연변이가 있는 이들에 대해 유의한 치료적 효과를 갖는다는 것이 추론될 수 있다.

도면

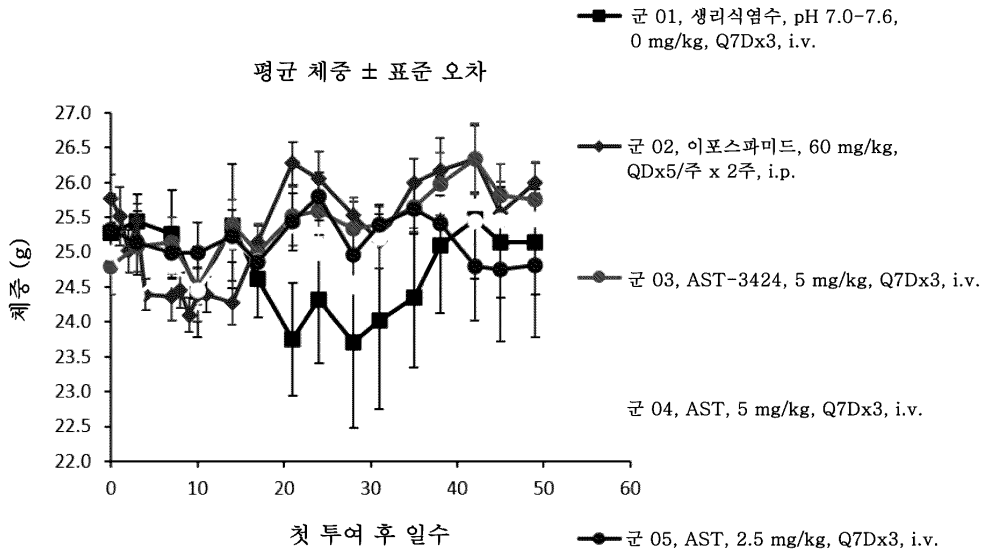
도면1



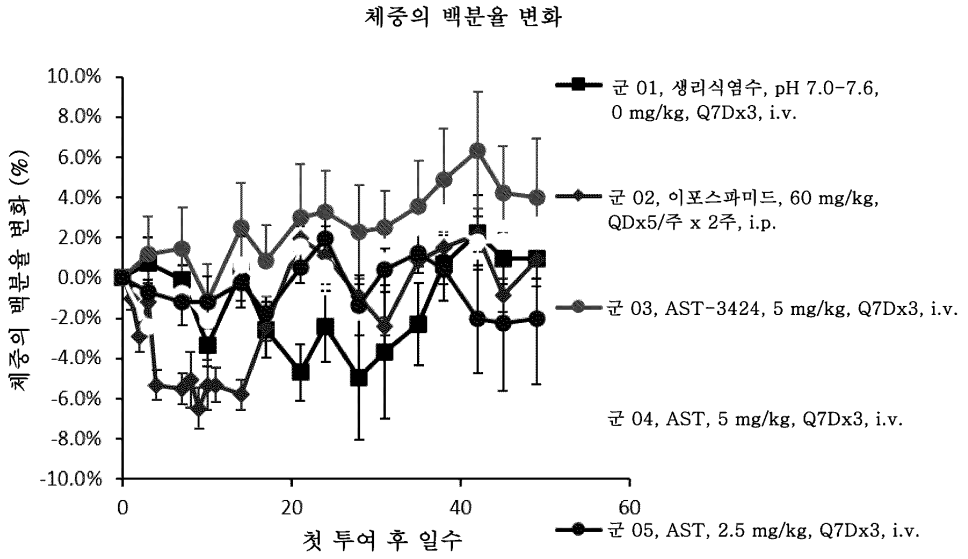
도면2



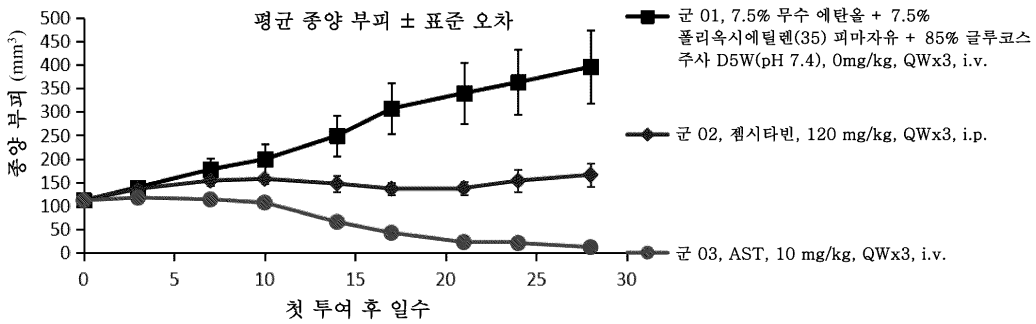
도면3


평균 체중 ± 표준 오차
체중 (g)
첫 투여 후 일수
27.0
26.5
26.0
25.5
25.0
24.5
24.0
23.5
23.0
22.5
22.0
0
10
20
30
40
50
60
군 01, 생리식염수, pH 7.0-7.6, 0 mg/kg, Q7Dx3, i.v.
군 02, 이포스파미드, 60 mg/kg, QDx5/주 x 2주, i.p.
군 03, AST-3424, 5 mg/kg, Q7Dx3, i.v.
군 04, AST, 5 mg/kg, Q7Dx3, i.v.
군 05, AST, 2.5 mg/kg, Q7Dx3, i.v.

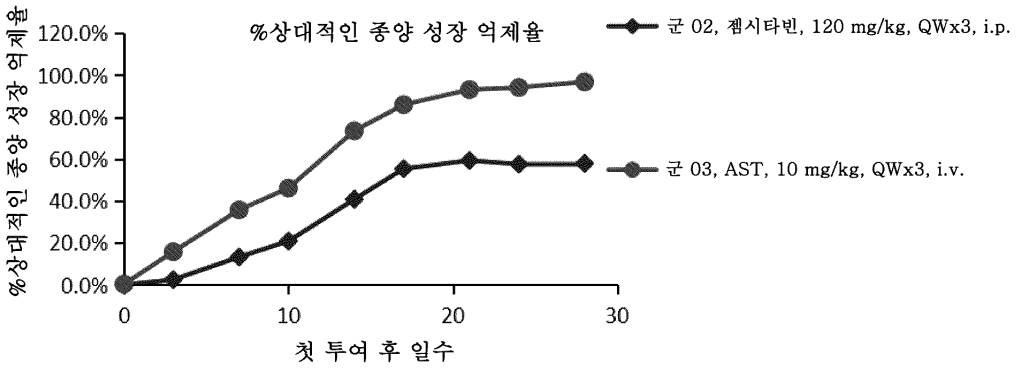
도면4


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
첫 투여 후 일수
10.0%
8.0%
6.0%
4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
0
20
40
60
군 01, 생리식염수, pH 7.0-7.6, 0 mg/kg, Q7Dx3, i.v.
군 02, 이포스파미드, 60 mg/kg, QDx5/주 x 2주, i.p.
군 03, AST-3424, 5 mg/kg, Q7Dx3, i.v.
군 04, AST, 5 mg/kg, Q7Dx3, i.v.
군 05, AST, 2.5 mg/kg, Q7Dx3, i.v.

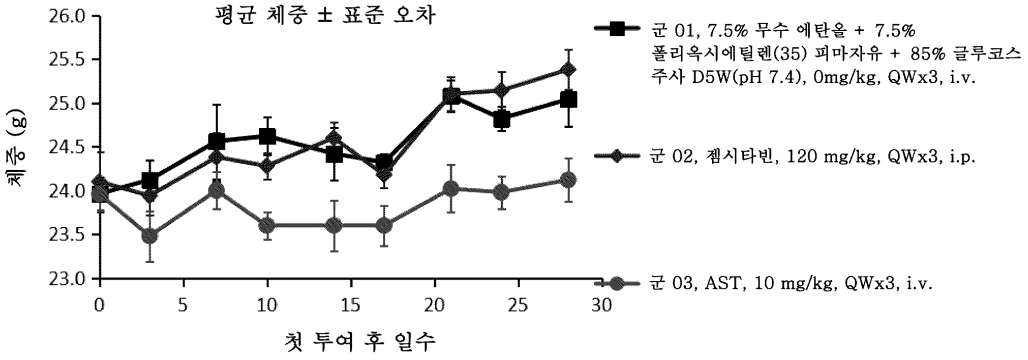
도면5


평균 종양 부피 ± 표준 오차
종양 부피 (mm³)
첫 투여 후 일수
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
5
10
15
20
25
30
군 01, 7.5% 무수 에탄올 + 7.5% 폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사 D5W(pH 7.4), 0mg/kg, QWx3, i.v.
군 02, 젬시타빈, 120 mg/kg, QWx3, i.p.
군 03, AST, 10 mg/kg, QWx3, i.v.

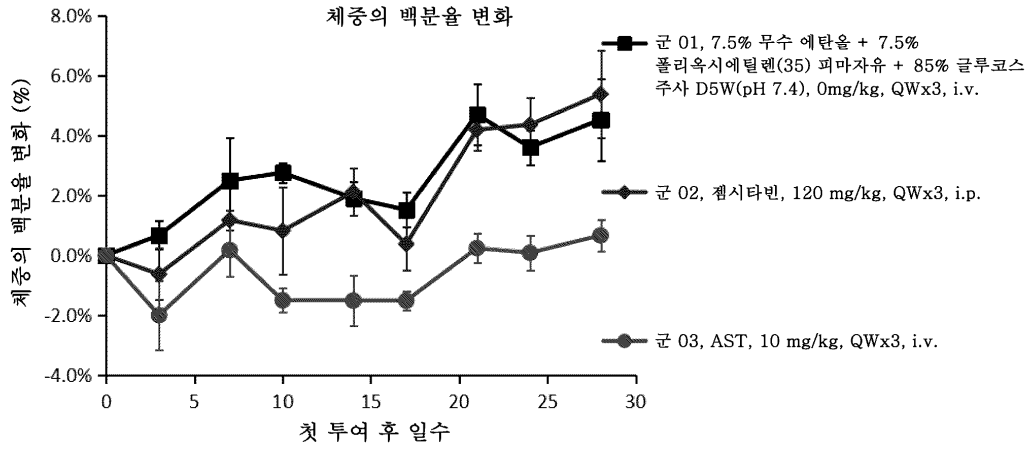
도면6


%상대적인 종양 성장 억제율
%상대적인 종양 성장 억제율
120.0%
100.0%
80.0%
60.0%
40.0%
20.0%
0.0%
0
10
20
30
첫 투여 후 일수
군 02, 젬시타빈, 120 mg/kg, QWx3, i.p.
군 03, AST, 10 mg/kg, QWx3, i.v.

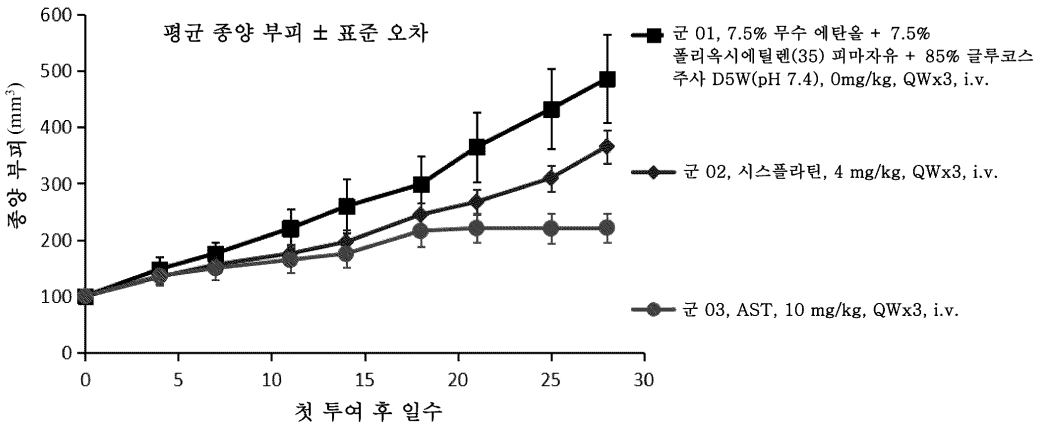
도면7


평균 체중 ± 표준 오차
체중 (g)
26.0
25.5
25.0
24.5
24.0
23.5
23.0
0
5
10
15
20
25
30
첫 투여 후 일수
군 01, 7.5% 무수 에탄올 + 7.5%
폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스
주사 D5W(pH 7.4), 0mg/kg, QWx3, i.v.
군 02, 젬시타빈, 120 mg/kg, QWx3, i.p.
군 03, AST, 10 mg/kg, QWx3, i.v.

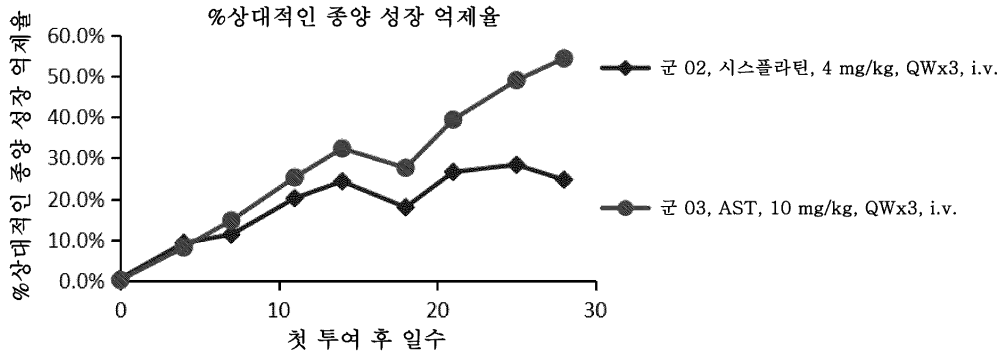
도면8


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
8.0%
6.0%
4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
0
5
10
15
20
25
30
첫 투여 후 일수
군 01, 7.5% 무수 에탄올 + 7.5%
폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스
주사 D5W(pH 7.4), 0mg/kg, QWx3, i.v.
군 02, 젬시타빈, 120 mg/kg, QWx3, i.p.
군 03, AST, 10 mg/kg, QWx3, i.v.

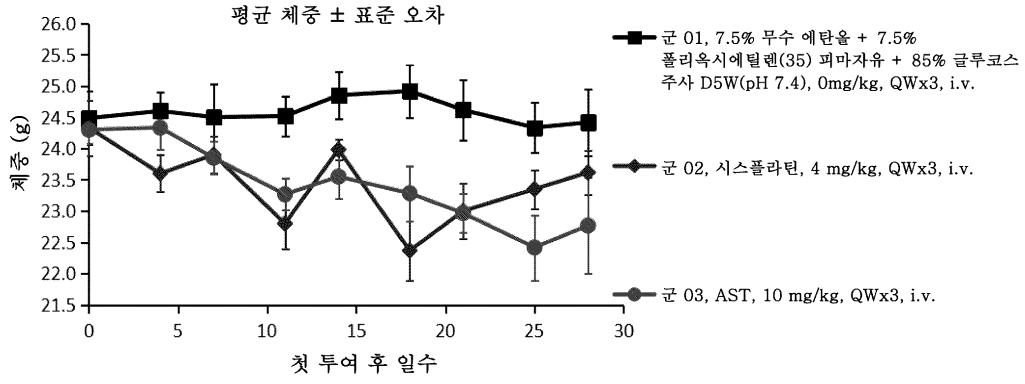
도면9



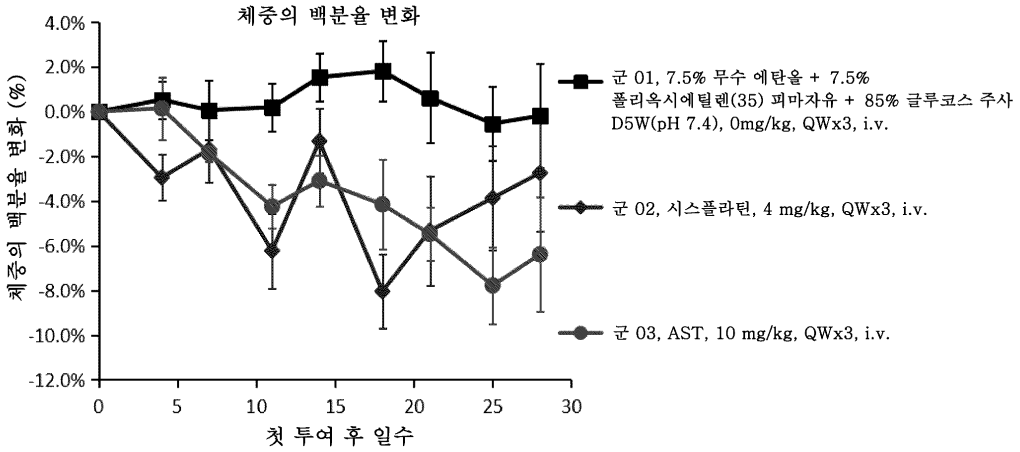
도면10



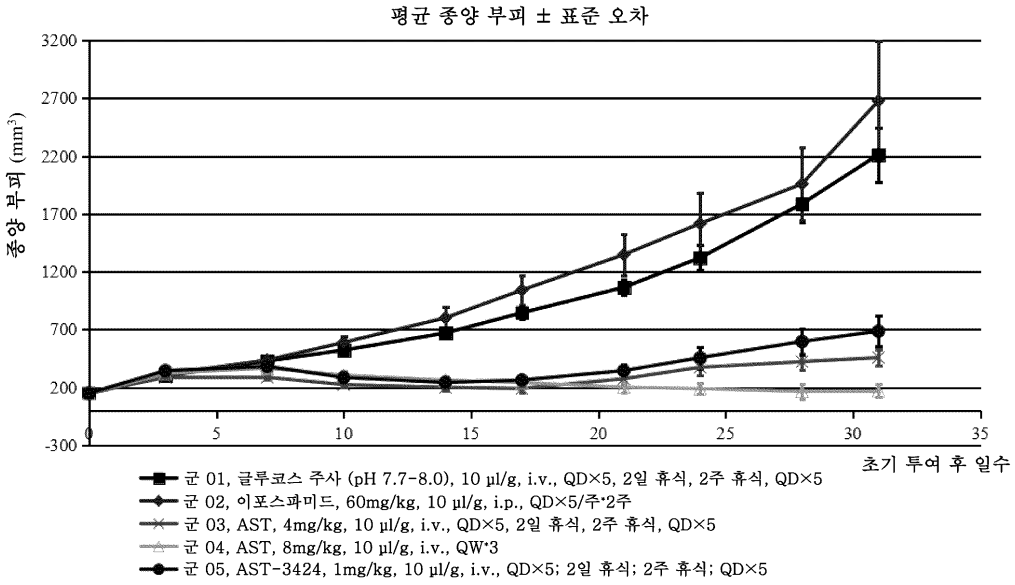
도면11



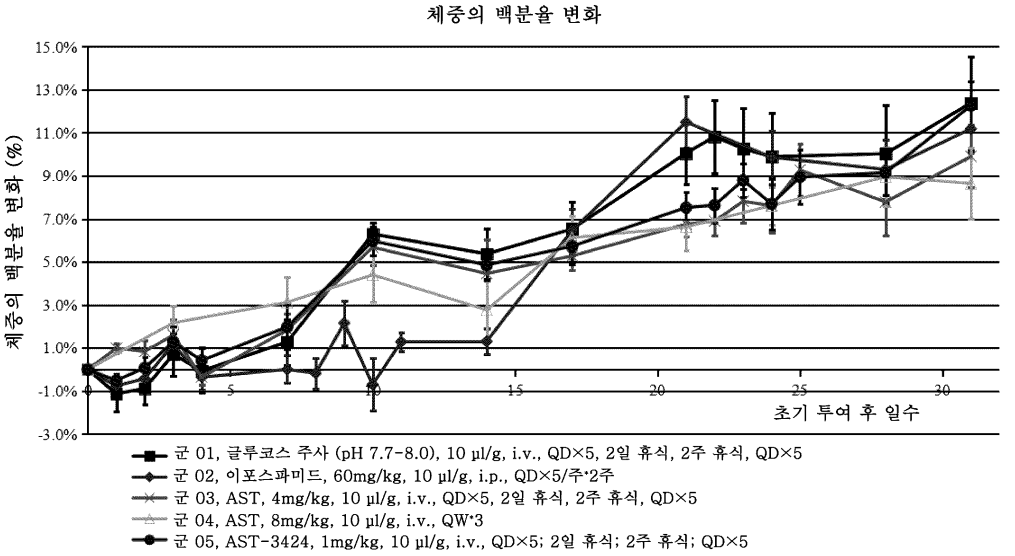
도면12


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
-12.0%
0
5
10
15
20
25
30
첫 투여 후 일수
군 01, 7.5% 무수 에탄올 + 7.5%
폴리옥시에틸렌(35) 피마자유 + 85% 글루코스 주사
D5W(pH 7.4), 0mg/kg, QWx3, i.v.
군 02, 시스플라틴, 4 mg/kg, QWx3, i.v.
군 03, AST, 10 mg/kg, QWx3, i.v.

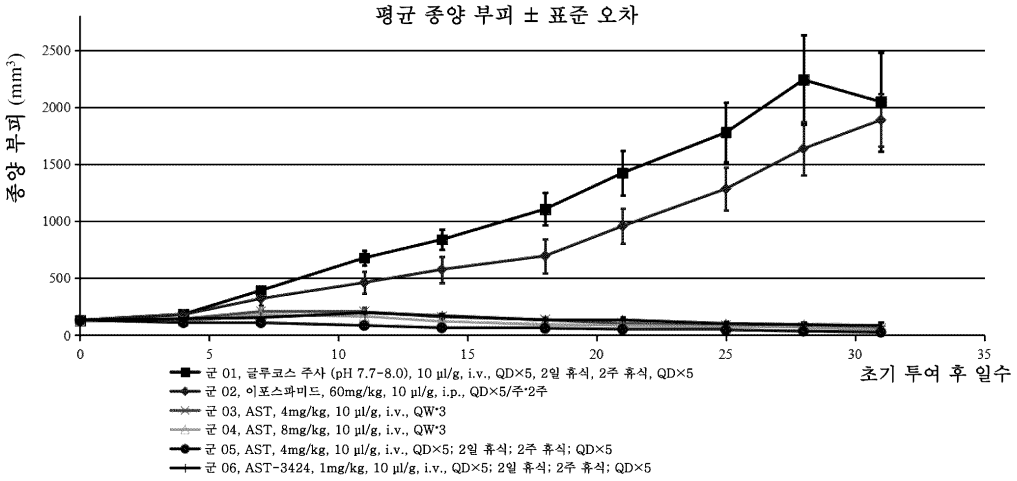
도면13


평균 종양 부피 ± 표준 오차
종양 부피 (mm³)
3200
2700
2200
1700
1200
700
200
-300
0
5
10
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주·2주
군 03, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 04, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW·3
군 05, AST-3424, 1mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

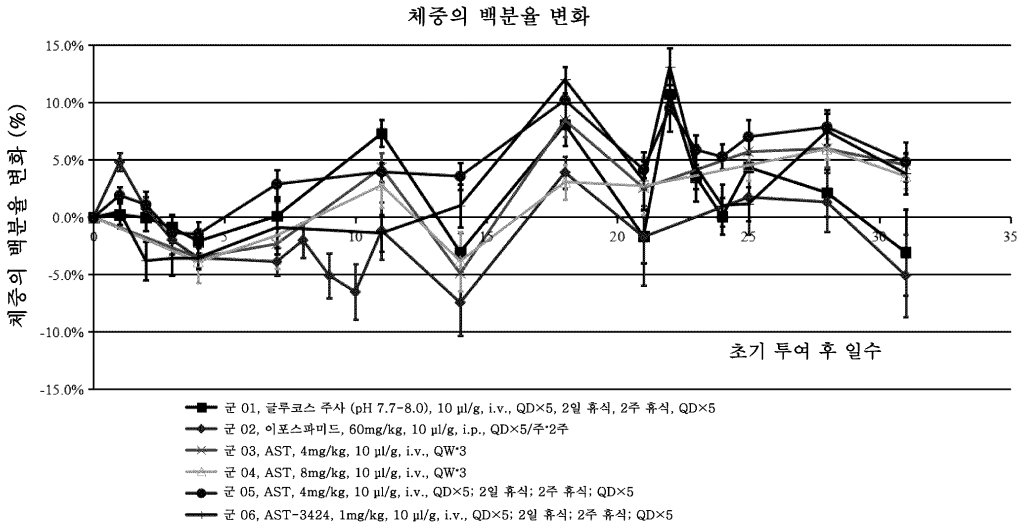
도면14


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
15.0%
13.0%
11.0%
9.0%
7.0%
5.0%
3.0%
1.0%
-1.0%
-3.0%
0
5
10
15
20
25
30
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 03, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 04, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 05, AST-3424, 1mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

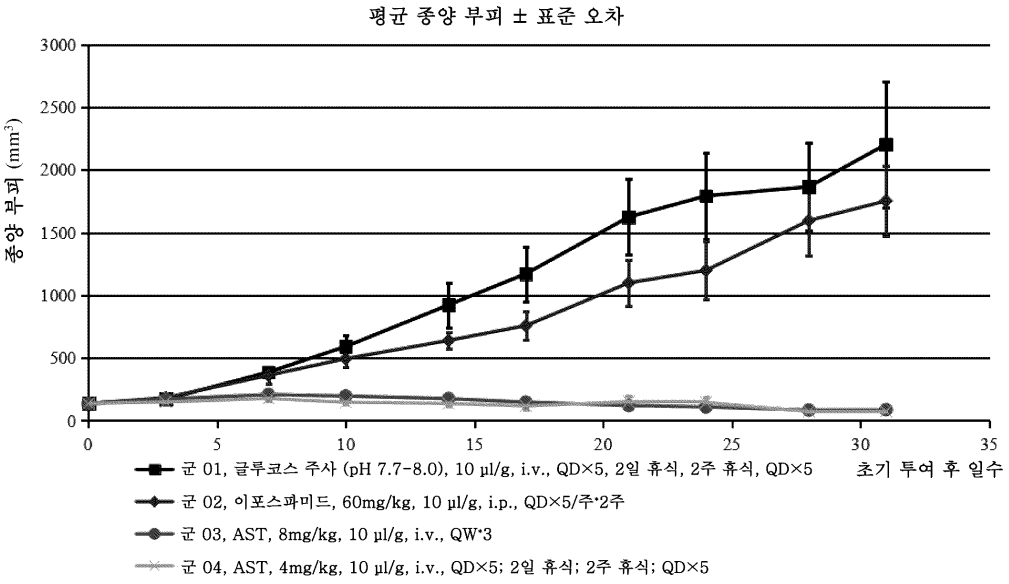
도면15


평균 종양 부피 ± 표준 오차
종양 부피 (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 03, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 04, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 05, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5
군 06, AST-3424, 1mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

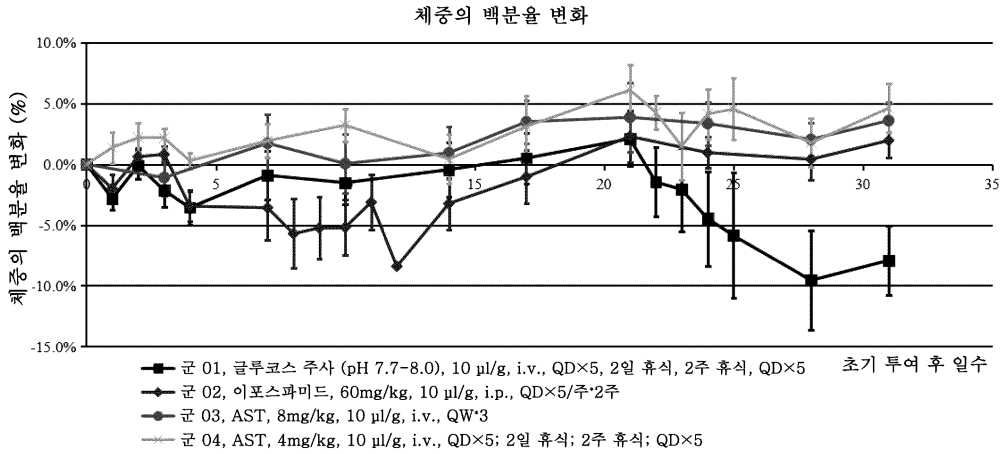
도면16


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
0
5
10
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 03, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 04, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 05, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5
군 06, AST-3424, 1mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

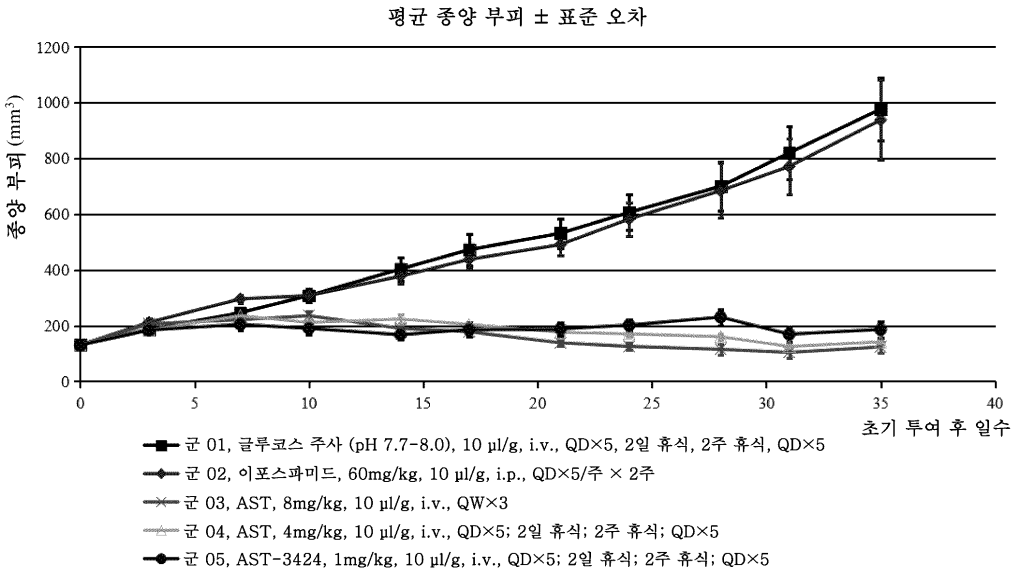
도면17


평균 종양 부피 ± 표준 오차
종양 부피 (mm³)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 03, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 04, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

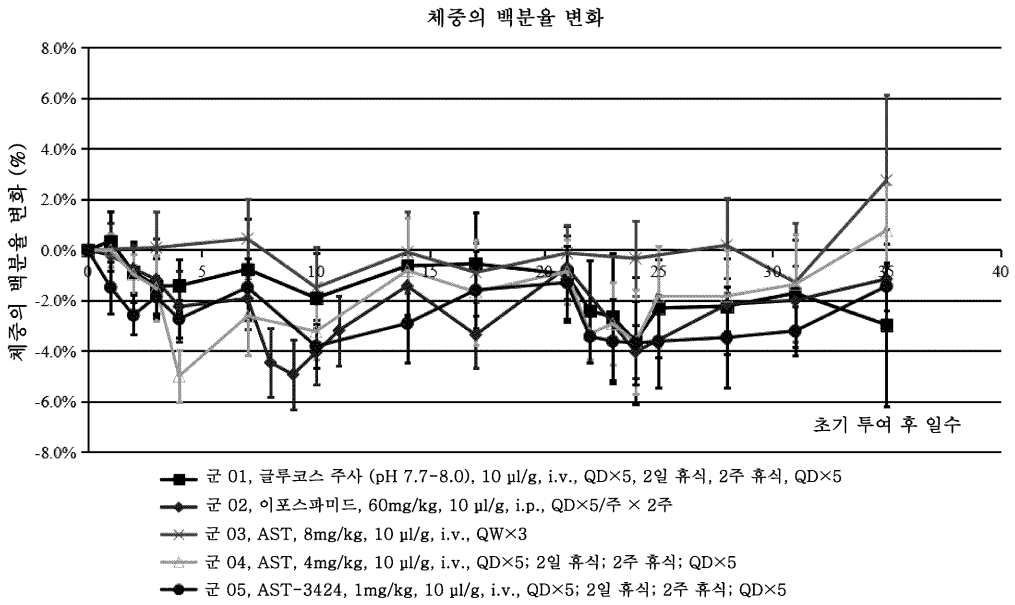
도면18


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
0
5
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 03, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 04, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

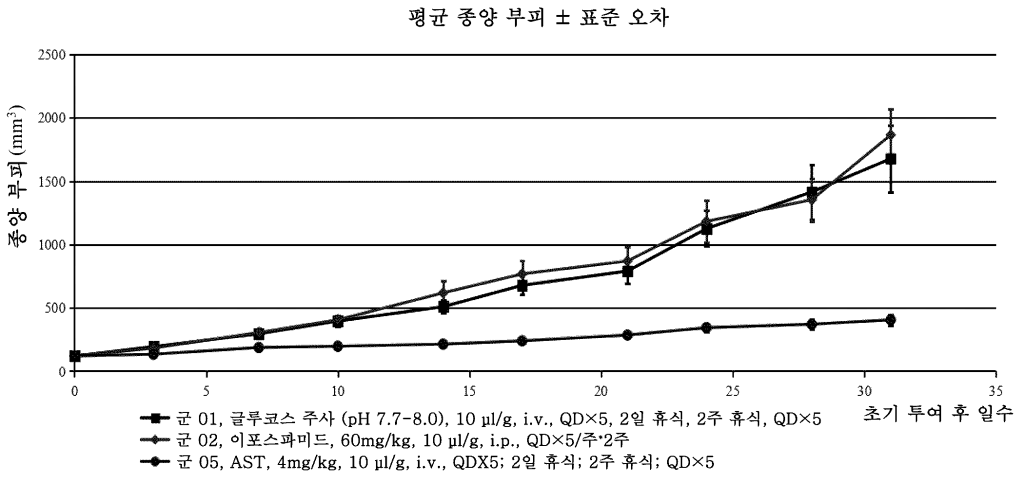
도면19


평균 종양 부피 ± 표준 오차
종양 부피 (mm3)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주 × 2주
군 03, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW×3
군 04, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5
군 05, AST-3424, 1mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

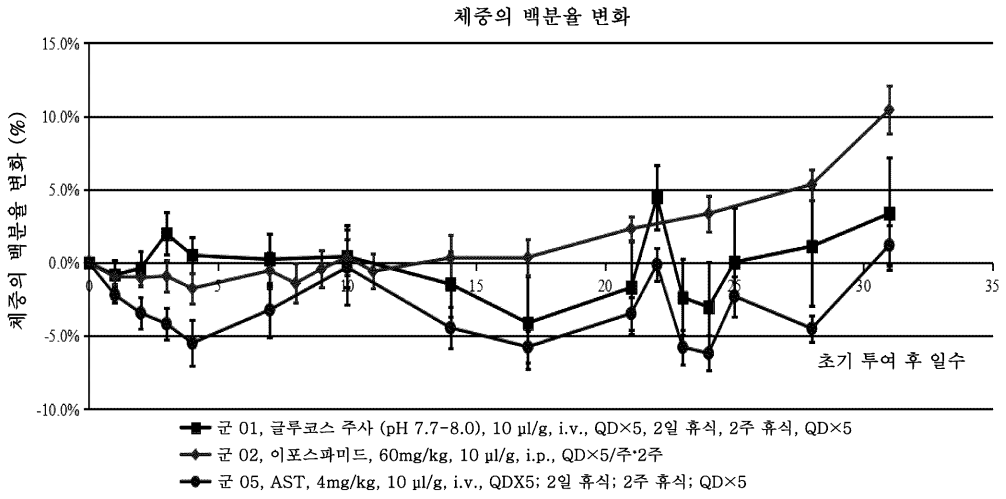
도면20


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
8.0%
6.0%
4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
0
5
10
15
20
25
30
35
40
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주 × 2주
군 03, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW×3
군 04, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5
군 05, AST-3424, 1mg/kg, 10 μl/g, i.v., QD×5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

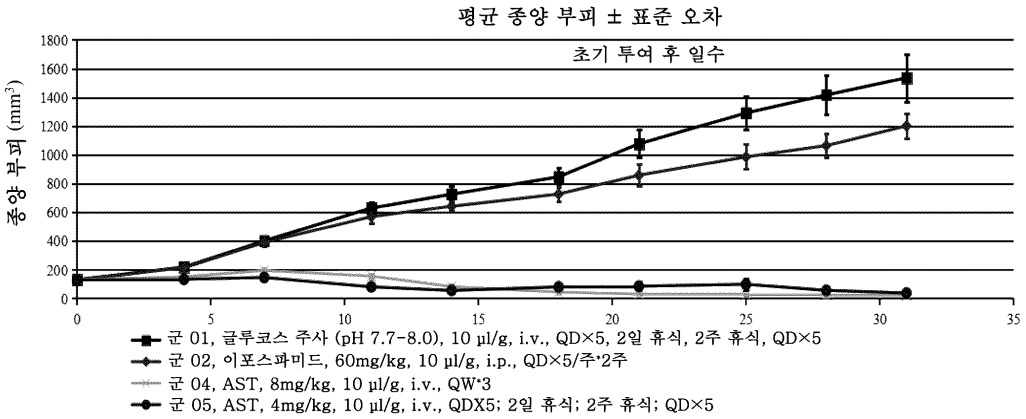
도면21


평균 종양 부피 ± 표준 오차
종양 부피 (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 05, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QDX5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

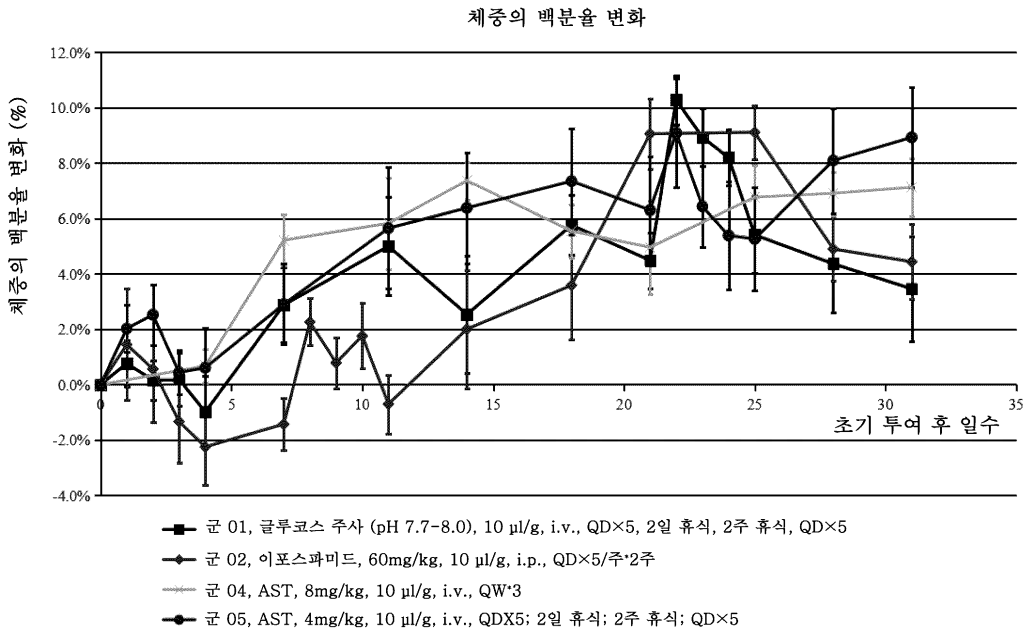
도면22


체중의 백분율 변화
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
체중의 백분율 변화 (%)
0
5
10
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 05, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QDX5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

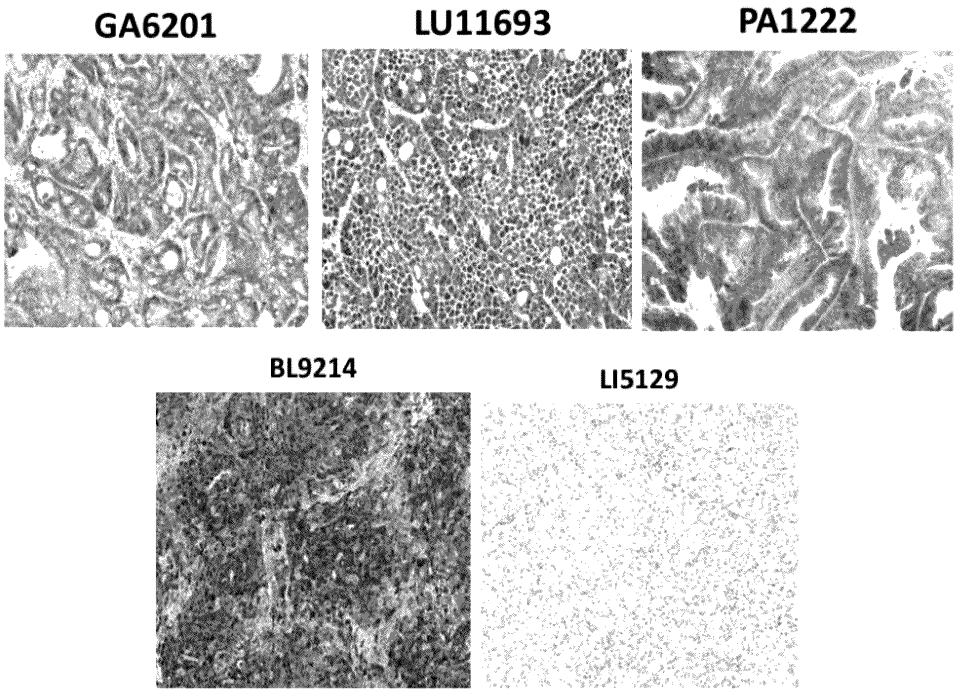
도면23


평균 종양 부피 ± 표준 오차
초기 투여 후 일수
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
종양 부피 (mm3)
0
5
10
15
20
25
30
35
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 04, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 05, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QDX5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

도면24


체중의 백분율 변화
체중의 백분율 변화 (%)
12.0%
10.0%
8.0%
6.0%
4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
0
5
10
15
20
25
30
35
초기 투여 후 일수
군 01, 글루코스 주사 (pH 7.7-8.0), 10 μl/g, i.v., QD×5, 2일 휴식, 2주 휴식, QD×5
군 02, 이포스파미드, 60mg/kg, 10 μl/g, i.p., QD×5/주*2주
군 04, AST, 8mg/kg, 10 μl/g, i.v., QW*3
군 05, AST, 4mg/kg, 10 μl/g, i.v., QDX5; 2일 휴식; 2주 휴식; QD×5

도면25


GA6201
LU11693
PA1222
BL9214
LI5129