(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0027054
(43) 공개일자 2023년02월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/16 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 14/47* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/16 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7044587
(22) 출원일자(국제) 2021년06월21일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년12월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/038264
(87) 국제공개번호 WO 2021/262604
국제공개일자 2021년12월30일
(30) 우선권주장
63/041,986 2020년06월21일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
사피엔스 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국, 뉴욕 10528, 해리슨, 스위트 320, 500 마마로넥 애비뉴
(72) 발명자
카펠 배리 제이
미국, 뉴욕 10528, 해리슨, 스위트 320, 500 마마로넥 애비뉴
메릇카 진
미국, 뉴욕 10528, 해리슨, 스위트 320, 500 마마로넥 애비뉴
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

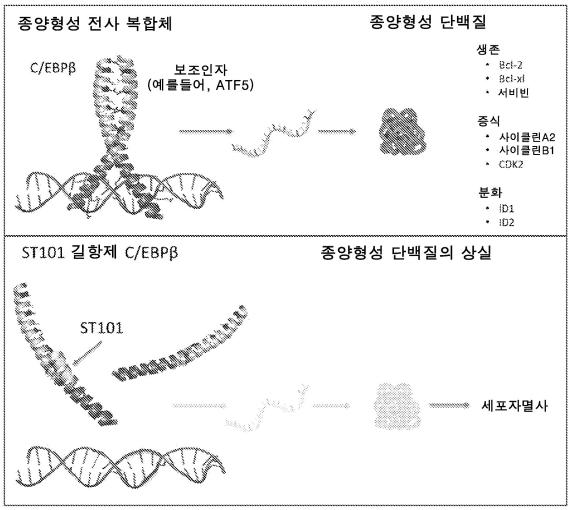
전체 청구항 수 : 총 38 항

(54) 발명의 명칭 **CEBP-베타 길항제의 투여 및 사용 방법**

(57) 요 약

CCAAT/인핸서-결합 단백질 베타(C/EBPβ)의 펩티드 길항제를 투여하는 방법 및 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 투여함으로써 고형 종양을 치료하는 방법이 제공된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/4703 (2013.01)
(72) 발명자
로톨로 지미 앤드류
미국, 뉴욕 10528, 해리슨, 스위트 320, 500 마마로넥 애비뉴
미셸 로버트 이.
미국, 뉴욕 10528, 해리슨, 스위트 320, 500 마마로넥 애비뉴
벡슨 앨리스 수잔나
미국, 뉴욕 10528, 해리슨, 스위트 320, 500 마마로넥 애비뉴

(30) 우선권주장
63/041,988 2020년06월21일 미국(US)
63/041,989 2020년06월21일 미국(US)
63/041,990 2020년06월21일 미국(US)
63/041,991 2020년06월21일 미국(US)
63/172,560 2021년04월08일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

유효량의 CCAAT-인핸서-결합 단백질 β(C/EBPβ)의 펩티드 길항제를 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 비경구로 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 고형 종양을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 고형 종양이 흑색종, 암종, 또는 육종인, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 환자가 국소 진행성 또는 전이성 유방암(LA/MBC), 흑색종, 교모세포종(GBM), 또는 거세저항성 전립선암(CRPC)으로 진단된 것인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 환자가 화학요법, 호르몬-기반 요법, 면역요법, 표적화 요법, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 이전 치료를 받은 것인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 펩티드 길항제가 D-아미노산 서열 VAEAREELERLEARLGQARGEL(서열번호: 4)을 포함하는 것인, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 펩티드 길항제가 아미노산 서열 LEGRAQGLRAELRELEERAEAV(서열번호: 3)를 포함하는 것인, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 펩티드 길항제가 세포-침투 펩티드인, 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 펩티드 길항제가 ST101인, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 펩티드 길항제가 약 0.5-16 mg/kg의 용량으로 환자에게 투여되는 것인, 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 정맥내로 투여되는 것인, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 주입을 통해 투여되는 것인, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 약 30 내지 약 360분의 총 주입 지속기간 동안 정맥내 주입에 의해 투여되는 것인, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 총 주입 지속기간이 약 60 내지 약 180분인, 방법 또는 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 매주 1회 투여되는 것인, 방법.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 2주마다 1회 투여되는 것인, 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 적어도 4주 동안 투여되는 것인, 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, 항히스타민, 류코트리엔 억제제, 비스테로이드성 항염증 약물, 아세트아미노펜, 코르티코스테로이드, 항메스꺼움제, 정맥내 식염수, 및 전해질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 2차 제제가 약제학적 조성물의 투여와 동시에, 전에, 또는 후에 투여되는 것인, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 항히스타민 및/또는 류코트리엔 억제제가 약제학적 조성물의 투여 전 약 48시간 이내에 대상체에게 투여되는 것인, 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 완충제 및 증량제를 포함하는 것인, 방법.

청구항 20

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 락트산 및 트레할로스를 포함하는 것인, 방법.

청구항 21

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 약 3.0-8.0의 pH를 갖는 것인, 방법.

청구항 22

유효량의 ST101을 포함하는 약제학적 조성물을 정맥내 주입을 통해 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 HR^{pos} LA/MBC를 치료하는 방법.

청구항 23

유효량의 ST101을 포함하는 약제학적 조성물을 정맥내 주입을 통해 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 흑색종을 치료하는 방법으로서, 상기 환자는 ST101의 투여 전에 적어도 하나의 차수의 요법을 받는 것인, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 환자가 면역 체크포인트 억제제로 치료 후 또는 치료 중에 진행된 흑색종을 갖고, 환자가 진행성/전이성 흑색종을 갖는 것인, 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 환자가 BRAF 돌연변이를 포함하는 흑색종을 갖고, 환자가 적어도 하나의 차수의 표적화 요법을 받는 것인, 방법.

청구항 26

유효량의 ST101을 포함하는 약제학적 조성물을 정맥내 주입을 통해 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간

환자에서 원발성 GBM을 치료하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 GBM이 최대 외과적 적출, 방사선요법, 및 방사선요법과 병용하는 테모졸로마이드 또는 테모졸로마이드를 사용한 애쥬번트 화학요법에 의한 이전 치료 후에 재발되거나 또는 진행되는 것인, 방법.

청구항 28

유효량의 ST101을 포함하는 약제학적 조성물을 정맥내 주입을 통해 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 CRPC를 치료하는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 환자가 탁산, 아비라테론, 다랄루타마이드, 및/또는 엔잘루타마이드/아팔루타마이드로의 이전 치료 후에 진행된 CRPC를 갖는 것인, 방법.

청구항 30

제22항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ST101이 약 0.5-16 mg/kg의 용량으로 환자에게 투여되는 것인, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 적어도 3주 동안 매주 1회 투여되는 것인, 방법.

청구항 32

제30항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 적어도 4주 동안 2주마다 1회 투여되는 것인, 방법.

청구항 33

제22항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 트레할로스 및 락트산을 포함하는 것인, 방법.

청구항 34

제22항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 약 60분 내지 약 360분의 총 주입 지속기간 동안 정맥내 주입에 의해 투여되는 것인, 방법.

청구항 35

제22항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ST101의 제거율이 시간당 0.75-3.5 리터인, 방법.

청구항 36

제22항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ST101의 반감기($t_{1/2}$)가 10-70시간인, 방법.

청구항 37

인간 환자에서 고형 종양을 치료하는 데 사용하기 위한 유효량의 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 포함하는 비경구 투여용 약제학적 조성물.

청구항 38

인간 환자에서 흑색종, HR^{pos} LA/MBC, 원발성 GBM, 또는 CRPC를 치료하는 데 사용하기 위한 유효량의 ST101을 포함하는 정맥내 주입용 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 6월 21일 출원된 미국 가출원 번호 63/041,986, 63/041,988, 63/041,989, 63/041,990, 및 63/041,991, 및 2021년 4월 8일 출원된 미국 가출원 번호 63/172,560의 이익을 주장하며, 모두 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] CCAAT-인핸서-결합 단백질 β(C/EBPβ)는 분화, 염증, 세포 생존, 및 대사와 같은 세포 과정에서 역할을 하는 전사 인자이다. C/EBPβ는 상향조절 또는 과활성화되어 종양 생존 및 증식을 촉진하고 유방, 교모세포종, 전립선, 및 다발성 골수종을 포함하는 많은 상이한 암에서 분화를 억제한다(Homma 2006, Kim 2008, Pal 2009, Zahnow 2009, Aguilar-Morante 2011). 게다가, C/EBPβ는 질환 예후 및 생존과 역으로 상관관계가 있는 것으로 제시되었다. 세포 증식 및 분화의 조절에서의 역할(Lekstrom-Himes 1998; Lamb 2003), 및 많은 유형의 암에서 증가된 발현 또는 활성화(Oya 2003; Homma 2006; Zahnow 2009)로 인해, C/EBPβ는 치료적 개입을 위한 잠재적 표적으로 간주된다. 그러나, 부분적으로 전사 인자 표적화의 어려움으로 인해, 효과적인 C/EBPβ 억제제는 본 발명 이전에 임상 개발에 들어가지 못하였다.

[0004] 서열 목록

[0005] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유하고, 그 전체가 본원에 참조로 포함된다. ASCII 사본은 2021년 6월 18일 생성되었고, 명칭은 Sapience_013_WO1_SL.txt이고, 크기는 2,047 바이트이다.

발명의 내용

[0006] 본 발명의 주요 측면 중 일부는 하기에 요약되어 있다. 추가의 측면은 본 개시내용에서 발명의 상세한 설명, 실시예, 도면, 및 청구범위 섹션에 기재되어 있다. 본 개시내용의 각각의 섹션에 대한 설명은 다른 섹션과 함께 읽도록 의도된다. 또한, 본 개시내용의 각각의 섹션에 기재된 다양한 구현예는 다양한 상이한 방식으로 조합될 수 있고, 모든 이러한 조합은 본 발명의 범위 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0007] 개시내용은 유효량의 CCAAT-인핸서-결합 단백질 β(C/EBPβ)의 펩티드 길항제를 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 비경구로 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 고형 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 또한 환자에서 고형 종양을 치료하는 데 사용하기 위한 유효량의 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 포함하는 비경구 투여용 약제학적 조성물이 제공된다. 펩티드 길항제는 바람직하게는 약 0.5-16 mg/kg의 용량으로 환자에게 투여된다.

[0008] 일 구현예에서, 고형 종양은 흑색종, 암종, 또는 육종이다. 특정 구현예에서, 환자는 국소 진행성 또는 전이성 유방암(LA/MBC), 흑색종, 교모세포종(GBM), 또는 거세저항성 전립선암(CRPC)으로 진단받았다.

[0009] 일부 경우에, 환자는 화학요법, 호르몬-기반 요법, 면역요법, 표적화 요법, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 이전 치료를 받았다. 일 구현예에서, 이전 치료는 환자의 진단을 위한 표준 치료(표준 치유 치료)이다.

[0010] 일 구현예에서, C/EBPβ의 펩티드 길항제는 D-아미노산 서열 VAEAREELERLEARLGQARGEL(서열번호: 4)을 포함한다. 일 구현예에서, 펩티드 길항제는 아미노산 서열 LEGRAQGLRAELRELEERAEAV(서열번호: 3)를 포함한다. 펩티드 길항제는 세포-침투 펩티드일 수 있다. 특정 구현예에서, 펩티드 길항제는 ST101이다.

[0011] 본 방법의 특정 방법은 유효량의 ST101을 포함하는 약제학적 조성물을 정맥내 주입을 통해 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 흑색종, HR^{pos} LA/MBC, 원발성 GBM, 또는 CRPC를 치료하는 방법을 포함한다. 또한 환자에서 흑색종, HR^{pos} LA/MBC, 원발성 GBM, 또는 CRPC를 치료하는 데 사용하기 위한 유효량의 ST101을 포함하는 정맥내 주입용 약제학적 조성물이 제공된다.

[0012] 바람직한 구현예에서, 환자는 인간 환자이다.

[0013] 특정 구현예에서, 환자는 ST101의 투여 전에 적어도 하나의 차수의 요법을 받았다.

[0014] 일 구현예에서, 환자는 면역 체크포인트 억제제를 사용한 치료 후에 또는 치료 중에 진행된 진행성/전이성 흑색종을 갖는다. 일 구현예에서 환자는 BRAF 돌연변이를 포함하는 흑색종을 가지며, 여기서 환자는 적어도 하나의 차수의 표적화 요법을 받았다.

[0015] 일 구현예에서, GBM는 최대 외과적 적출, 방사선요법, 및 방사선요법과 병용하는 테모졸로마이드 또는 테모졸로마이드를 사용한 애쥬번트(adjuvant) 화학요법에 의한 이전 치료 후에 재발 또는 진행되었다.

[0016] 일 구현예에서, 환자는 탁산, 아비라테론, 다랄루타마이드, 및/또는 엔잘루타마이드/아팔루타마이드를 사용한 이전 치료 후에 진행된 CRPC를 갖는다.

[0017] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 예를 들어, 주입을 통해 정맥내로 환자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 총 주입 지속기간은 약 30분 내지 약 360분, 또는 약 60분 내지 약 360분 또는 약 60분 내지 약 180분이다.

[0018] 일 측면에서, 약제학적 조성물은 매주 1회 투여된다. 또 다른 측면에서, 약제학적 조성물은 2주마다 1회 투여된다. 약제학적 조성물은 적어도 약 3주 또는 적어도 약 4주 동안 투여될 수 있다.

[0019] 본 발명의 일부 구현예는 하나 이상의 2차 제제의 투여를 포함한다. 예를 들어, 2차 제제는 항히스타민, 류코트리엔 억제제, 비스테로이드성 항염증 약물, 아세트아미노펜, 코르티코스테로이드, 항메스꺼움제, 정맥내 식염수, 전해질, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나 이상의 2차 제제는 약제학적 조성물의 투여와 동시에, 전에, 또는 후에 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 항히스타민 및/또는 류코트리엔 억제제는 약제학적 조성물의 투여 전 약 48시간 이내에 대상체에게 투여된다.

[0020] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 완충제 및 증량제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 락트산 및 트레할로스를 포함한다. 약제학적 조성물의 pH는 예를 들어, 약 3.0-8.0일 수 있다.

[0021] 본 발명의 일부 구현예에서, ST101의 제거율(clearance)은 시간당 0.75-3.5 리터이다. 일부 구현예에서, ST101의 반감기($t_{1/2}$)는 10-70 시간이다.

도면의 간단한 설명

[0022] **도 1**은 ST101의 작용 메커니즘을 도시한다. C/EBPβ는 종양 세포 증식 및 생존을 구동하고, 많은 세포 유형에서 분화를 억제한다. ST101은 C/EBPβ와 ATF5와 같은 보조인자의 상호작용을 방해하여, 종양 형성 신호의 세포를 박탈하고 선택적 종양 세포 사멸을 초래한다.

도 2는 C/EBPβ(하단)에 결합된 ST101(상단)의 모델링된 구조를 도시한다. 구조는 분자 작동 환경(MOE)에서 모델(PDB ID 1ci6)로서 C/EBPβ에 결합된 ATF4의 결정 구조를 사용하여 생성하였다.

도 3은 ST101이 C/EBPβ(패널 A)와 상호작용하지만 ATF5(패널 B)와는 상호작용하지 않음을 나타내는 원평광 이색성(CD) 분광법을 도시한다. ST101(상단 회색 선, 패널 A 및 B), C/EBPβ(연황색 선, 패널 A) 및 ATF5(연회색 선, 패널 B)에 대한 개별 스펙트럼이 제시된다. 검은색 선은 2개의 각각의 개별 스펙트럼의 평균을 나타내는 점선과 비교하여, 실제 ST101 + C/EBPβ(패널 A) 또는 ST101 + ATF5(패널 B) 관찰을 나타낸다.

도 4는 ST101이 U251 인간 교모세포종 세포에서 C/EBPβ와 회합함을 나타내는 세포 열 이동 검정을 도시한다. C/EBPβ/β-튜불린 발현의 웨스턴 블롯(패널 A) 및 농도 계측 정량화(패널 B)를 보여준다.

도 5는 파장 범위에 걸쳐 몰 잔류 타원율(MRE)로 표현된 바와 같이, C/EBPβ가 ATF5보다 ST101과 우선적으로 상호작용함을 도시한다. 패널 A의 220 nm에서 가장 낮은 선은 ST101+C/EBPβ의 스펙트럼을 보여주고; 패널 B에서 가장 높은 선은 ST101+ATF5의 스펙트럼을 보여준다. 연회색 선은 ATF5(패널 A의 220 nm에서 상단 선) 또는 C/EBPβ(패널 B의 220 nm에서 하단 선)의 개별 스펙트럼을 보여준다. 검은색 선은 ST101+C/EBPβ 및 ATF5 스펙트럼의 평균(패널 A) 또는 ST101+ATF5 및 C/EBPβ 스펙트럼의 평균(패널 B)을 나타내는 점선과 비교하여 ATF5와 함께 인큐베이션된 ST101+C/EBPβ의 실제 스펙트럼을 보여준다.

도 6은 ST101이 ATF5와의 C/EBPβ 상호작용을 방해함을 도시한다. C/EBPβ에 대한 ATF5 결합은 패널 A에 제시된다. C/EBPβ에 대한 ATF5 결합의 ST101 억제는 패널 B에 제시된다.

도 7은 ST101이 마우스에서 혈액-뇌 장벽을 가로지름을 도시한다. 대표적인 영상은 미세혈관 및 교질 세포(화살표, 패널 B)에서 DAB(3, 3 -디아미노벤지딘) 염색에 의해 식별된 ST101을 나타내며, 비히클-처리된 대조군(패널 A)에는 얼룩이 존재하지 않는다.

도 8은 실시예 6에 기재된 연구의 상태를 도시한다. PR = 부분 반응(적어도 30% 감소); SD = 안정 질환(30% 미만 감소 및 20% 증가).

도 9는 실시예 6에 기재된 바와 같이, 주기 1 및 2 동안 코호트 1-4의 환자에서 1일차 주입 후 ST101 혈장 농도

를 도시한다. ST101을 0.5 mg/kg(코호트 1), 1 mg/kg(코호트 2), 2 mg/kg(코호트 3), 또는 4 mg/kg(코호트 4)의 용량으로 투여하였다.

도 10은 실시예 6에 기재된 바와 같이, 코호트 1-4의 1일차 주입 후 개별 환자의 ST101의 C_{max}(패널 A) 및 AUC_{0-t}(패널 B)를 도시한다. ST101을 0.5 mg/kg(코호트 1), 1 mg/kg(코호트 2), 2 mg/kg(코호트 3), 또는 4 mg/kg(코호트 4)의 용량으로 투여하였다.

도 11은 실시예 6에 기재된 바와 같이, 코호트 1-4의 환자에서 주입후 4시간째에 ST101 혈장 농도를 도시한다. ST101을 0.5 mg/kg(코호트 1), 1 mg/kg(코호트 2), 2 mg/kg(코호트 3), 또는 4 mg/kg(코호트 4)의 용량으로 투여하였다.

도 12는 ST101 용량 증가에 따른 종양 생검에서의 ST101 흡수 증가를 도시한다(패널 A-C). 치료의 주기 2 동안 환자에서 수집된 생검 샘플을 처리하고 토끼 다클론 항-ST101 항체를 사용하여 ST101에 대해 면역검정하였다. ST101 염색을 나타내는 세포의 백분율은 위원회 인증 병리학자에 의해 결정되었다(패널 D). 점수는 ST101에 대해 양성인 샘플 염색에서 세포의 수에 기반하여 할당하였다: 0 = 음성; 1 = 1-10%; 2 = 11-25%; 3 = 26-50%; 4 = 51-75%; 5 = 76-100%.

도 13은 ST101로 치료 후 환자 생검에서 감소된 종양 세포 증식을 도시한다. 치료전(스크린) 및 치료의 주기 2 후 환자에서 수집한 생검 샘플을 처리하고 Ki67에 대해 면역검정하였다. 패널 A의 영상은 치료 전(상부 영상) 및 치료의 주기 2 후(하부 영상) 코호트 3의 환자로부터의 생검 샘플 염색을 보여준다. Ki67의 더 높은 발현은 종양 세포의 더 큰 증식을 나타낸다. 코호트 1-3 각각의 환자로부터 Ki67 염색을 나타내는 세포의 백분율은 위원회 인증 병리학자에 의해 결정되었다(패널 B). 점수는 Ki67 신호 강도에 기반하여 0-3의 척도로 할당하였다: 0 = 음성; 1 = 경미함; 2 = 보통; 3 = 강함.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 본 발명의 실시는 달리 나타내지 않는 한, 당업계의 기술 내에 있는 약제학, 제형 과학, 단백질 화학, 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 미생물학, 재조합 DNA, 면역학, 임상 약리학, 및 임상 실습의 통상적인 기술을 이용할 수 있다.

[0024] 본 발명을 보다 용이하게 이해할 수 있도록 하기 위해, 특정 용어가 먼저 정의된다. 추가의 정의는 개시내용 전반에 걸쳐 제시된다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 관련된 해당 분야 기술의 숙련자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0025] 본원에 제공된 임의의 제목은 전체로서 명세서를 참조하여 이루어질 수 있는 본 발명의 다양한 측면 또는 구현예를 제한하지 않는다. 따라서, 바로 아래에 정의된 용어는 명세서를 전체로 참조하여 보다 완전하게 정의된다.

[0026] 본 개시내용에 인용된 모든 참고문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 게다가, 본원에 인용되거나 언급된 임의의 제품에 대한 임의의 제조업체의 지침 또는 카탈로그는 참조로 포함된다. 이 텍스트에 참조로 포함된 문서, 또는 그 안의 임의의 교시는 본 발명의 실시에 사용될 수 있다. 이 텍스트에 참조로 포함된 문서는 선행 기술로 인정되지 않는다.

[0027] I. 정의

[0028] 본 개시내용의 어법 또는 전문용어는 설명의 목적을 위한 것이며 제한을 위한 것이 아니므로, 본 명세서의 전문용어 또는 어법이 교시 및 지침에 비추어 숙련자에 의해 해석되도록 해야 한다.

[0029] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 달리 문맥상 분명하게 나타내지 않는 한, 단수 형태는 복수 지시대상을 포함한다. 용어 "한"(또는 "하나") 뿐만 아니라 용어 "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 교환가능하게 사용될 수 있다.

[0030] 또한, "및/또는"은 2개의 명시된 특징 또는 구성요소 각각이 서로 있거나 없이 특이적 개시내용으로 간주되어야 한다. 따라서, "A 및/또는 B"와 같은 어구에 사용된 바와 같은 용어 "및/또는"은 A 및 B, A 또는 B, A(단독), 및 B(단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에 사용된 바와 같은 용어 "및/또는"은 A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 B; A 또는 C; B 또는 C; A 및 B; A 및 C; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독)를 포함하는 것으로 의도된다.

[0031] 구현예가 언어 "포함하는"으로 설명되는 경우에 달리 "로 이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진"과 관련

하여 설명된 유사한 구현예가 포함된다.

[0032] 단위, 접두사, 및 기호는 국제단위계(SI) 허용 형식으로 표시된다. 수치 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함하고, 본원에 제공되는 임의의 개별 값은 본원에 제공되는 다른 개별 값을 포함하는 범위에 대한 종료점으로서 역할을 할 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 8, 9, 및 10과 같은 일련의 값은 또한 1-10, 1-8, 3-9 등의 숫자 범위에 대한 개시이다. 마찬가지로, 개시된 범위는 정수 및 분율을 포함하는 범위에 포함된 각각의 개별 값(즉, 중간값)의 개시이다. 예를 들어, 5-10의 명시된 범위는 또한 개별적으로 5, 6, 7, 8, 9, 및 10, 및 5.2, 7.5, 8.7 등의 개시이다.

[0033] 달리 나타내지 않는 한, 일련의 요소에 선행하는 용어 "적어도" 또는 "약"은 일련의 모든 요소를 지칭하는 것으로 이해되어야 한다. 수치 값에 선행하는 용어 "약"은 명시된 값의 ± 10%를 포함한다. 예를 들어, 약 1 mg/mL의 농도는 0.9 mg/mL 내지 1.1 mg/mL를 포함한다. 마찬가지로, 약 1% 내지 10%(w/v)의 농도 범위는 0.9%(w/v) 내지 11%(w/v)를 포함한다.

[0034] 용어 "폴리펩티드," "펩티드," 및 "단백질은" 임의의 길이의 아미노산의 중합체, 및 그들의 염을 지칭하기 위해 상호교환가능하게 사용된다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 달리 나타낸 경우를 제외하고, 예를 들어, 본원에 제시된 흔하지 않거나 또는 비천연 아미노산에 대한 약어에 대해, 당업계에 사용된 바와 같은 3-글자 및 1-글자 약어는 아미노산 잔기를 나타내기 위해 본원에 사용된다. "D" 또는 소문자가 선행된 경우를 제외하고, 아미노산은 L-아미노산이다. 아미노산 약어의 그룹 또는 문자열은 펩티드를 나타내는 데 사용된다. 명시적으로 나타낸 경우를 제외하고, 펩티드는 왼쪽의 N-말단으로 표시되고 서열은 N-말단에서 C-말단으로 쓰여진다.

[0035] "레트로 인버소(retro inverso)" 펩티드는 참조 L-아미노산 서열에 비해 역전된 아미노산 서열을 가지며, 원래 L-아미노산 펩티드의 것과 유사한 측쇄 토폴로지를 유지하는 데 도움이 되도록 모든 D-아미노산(아미노산 하위단위의 α-중심 키랄성 역전)으로 구성된다.

[0036] "단리된" 분자는 정제된 것들을 포함하여 자연에서 발견되지 않은 형태인 것이다.

[0037] "결합 친화도"는 일반적으로 분자의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너(예를 들어, 수용체와 그의 리간드, 항체와 그의 항원, 이량체를 형성하는 2개의 단량체 등) 사이의 비-공유 상호작용의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유한 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(K_D)로 나타낼 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 것들을 포함하여 당업계에 알려진 통상의 방법으로 측정될 수 있다. 저친화도 결합 파트너는 일반적으로 느리게 결합하고 용이하게 해리되는 경향이 있는 반면, 고친화도 결합 파트너는 일반적으로 빠르게 결합하고 더 오래 결합된 채 유지되는 경향이 있다.

[0038] 분자의 그의 결합 파트너에 대한 친화도 또는 결합력은 당업계에 알려진 임의의 적합한 방법, 예를 들어, 유세포 분석, 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA), 또는 방사선면역검정(RIA), 또는 동역학(예를 들어, KINEXA® 또는 BIACORE™ 또는 OCTET® 분석)을 사용하여 실험적으로 결정될 수 있다. 직접 결합 검정 뿐만 아니라 경쟁적 결합 검정 형식이 용이하게 이용될 수 있다. (예를 들어, Berzofsky 등, "Antibody-Antigen Interactions," *in Fundamental Immunology,* Paul, W. E., ed., Raven Press: New York, N.Y. (1984); Kuby, *Immunology*, W. H. Freeman and Company: New York, N.Y. (1992) 참조). 특정 결합 쌍 상호작용의 측정된 친화도는 상이한 조건(예를 들어, 염 농도, pH, 온도) 하에 측정된 경우 달라질 수 있다. 따라서, 친화도 및 다른 결합 매개변수(예를 들어, K_D 또는 Kd, K_{on}, K_{off})의 측정은 당업계에 알려진 바와 같이, 결합 파트너의 표준화된 용액 및 표준화된 완충액으로 이루어진다.

[0039] "활성제"는 생물학적 활성을 제공하도록 의도된 성분이다. 활성제는 하나 이상의 다른 성분과 회합할 수 있다. 펩티드인 활성제는 또한 "활성 펩티드"로 지칭될 수 있다.

[0040] 활성제의 "유효량"은 구체적으로 언급된 목적을 수행하기에 충분한 양이다.

[0041] 용어 "약제학적 조성물"은 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 허용하는 이러한 형태이고 조성물이 투여될 수 있는 대상체에게 허용할 수 없을 정도로 독성인 추가의 구성요소를 함유하지 않는 제제를 지칭한다. 이러한 조성물은 멸균될 수 있고 생리 식염수와 같은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 적합한 약제학적 조성물은 완충제(예를 들어, 아세테이트, 포스페이트, 또는 시트레이트 완충제), 계면활성제(예를 들어, 폴리소르베이트), 안정화제(예를 들어, 폴리올 또는 아미노산), 보존제(예를 들어, 나트륨 벤조에이트), 및/또는

다른 통상적인 가용화제 또는 분산제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0042] "대상체" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유동물"은 진단, 예후, 또는 요법이 요구되는 임의의 대상체, 특히 포유류 대상체이다. 포유류 대상체는 예를 들어, 인간, 비-인간 영장류, 개, 고양이, 돼지, 소, 말, 래트 및 마우스를 포함한 설치류, 토끼 등을 포함하는 인간, 가축, 농장 동물, 스포츠 동물, 및 실험실 동물을 포함한다.

[0043] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하기 위한" 또는 "완화하는" 또는 "완화하기 위한"과 같은 용어는 진단된 병리학적 병태 또는 장애의 증상을 치료, 둔화, 완화하고/하거나, 이의 진행을 정지시키는 치료적 조치를 지칭한다. 특정 구현예에서, 환자가 질환 또는 장애와 연관된 적어도 하나의 증상 또는 측정가능한 물리적 매개변수의 전체, 부분적, 또는 일시적 완화 또는 제거를 나타내는 경우 대상체는 질환 또는 장애에 대해 성공적으로 "치료된다".

[0044] "대조군 환자"는 본 발명의 치료를 받지 않은 대상체이다. "대조군 집단" 또는 "대조군 환자 집단"은 본 발명의 치료를 받지 않은 대상체의 그룹이다. 대조군 환자 또는 대조군 집단의 대상체는 대조군 환자 또는 대조군 집단과 비교되는 대상체와 동일한 질환 또는 장애를 갖는다. 예를 들어, 본 발명의 약제학적 조성물 또는 방법을 받은 암 환자의 임상 결과는 본 발명의 약제학적 조성물 또는 방법을 받지 않은 동일한 유형의 암을 갖는 대상체의 평균(중앙값) 결과와 비교된다. 일부 구현예에서, 대조군 환자 또는 대조군 집단의 환자는 본 발명의 치료 이외의 치료, 예를 들어, 표준 치유 치료를 받았다.

[0045] "길항제"는 수용체 또는 리간드와 같은 또 다른 분자의 생물학적 활성 또는 효과를 방지, 차단, 억제, 중화, 또는 감소시키는 물질이다.

[0046] 용어 "억제하다," "차단하다," 및 "저해하다"는 상호교환가능하게 사용되고 발생 또는 활성의 완전한 차단을 포함하여 발생 또는 활성의 임의의 통계적으로 유의한 감소를 지칭한다. 예를 들어, "억제"는 활성 또는 발생의 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%의 감소를 지칭할 수 있다. "억제제"는 과정, 경로, 또는 분자의 발생 또는 활성에서 통계적으로 유의한 감소를 생성하는 분자, 인자, 또는 물질이다.

[0047] "신생물성 세포" 또는 "신생물"은 전형적으로 돌연변이/형질전환의 일부 형태를 거쳐, 동일한 유형의 정상 세포 또는 조직과 비교하여 비정상적인 성장을 초래한다. 신생물은 형태학적 불규칙성, 뿐만 아니라 병리학적 증식을 포함한다. 신생물성 세포는 양성 또는 악성일 수 있다. 악성 신생물, 즉, 암은 세포의 분화 및 배향 상실을 입증하고, 침습 및 전이의 특성을 갖는다는 점에서 양성과 구별된다.

[0048] "종양" 또는 "고형 종양"은 암 세포와 같은 신생물성 세포 덩어리이다. 용어 "진행성," "전이성," 및 "진행성/전이성"은 악성 세포가 원래 종양에서 또 다른 위치, 예를 들어, 환자 신체의 또 다른 기관으로 이동한 암을 설명하기 위해 상호교환가능하게 사용된다.

[0049] "약동학" 또는 "PK"는 투여된 물질이 대상체의 신체에 의해 처리되는 방법에 대한 연구를 지칭한다. PK 결정은 물질이 혈액 순환에 들어가고(흡수), 신체의 체액 및 조직을 통해 분산 또는 전파되고(분포), 신체에 의해 인식 및 형질전환되고(대사), 신체로부터 제거되는(배설) 방법을 포함한다. 물질은 약물, 예를 들어, ST101일 수 있다. 약동학은 다양한 측정법을 사용하여 평가될 수 있으며, 이 중 다수는 물질의 투여 후 다양한 시점에 신체에서(예를 들어, 혈장에서) 물질의 양에 기반하여 계산된다.

[0050] 투여 후 시간은 단일 용량 물질의 투여가 시작되는 시간인 T_0으로부터 측정된다. 약제학적 조성물의 투여가 일시 중지되고 총 주입 기간 동안 1회 이상 재개되는 경우, T_0은 총 주입 기간의 시작이다.

[0051] "총 주입 지속기간" 또는 "총 주입 기간"은 단일 용량의 약제학적 조성물의 시작부터 투여 종료까지의 시간이고, 주입 기간 및 중단 기간 둘 다를 포함한다.

[0052] "C_{max}"는 투여 후 물질의 피크 혈장 농도를 지칭하는 약동학적 측정법이다.

[0053] "T_{max}"는 C_{max}에 도달하는 물질의 투여 시작(T_0) 후 시간을 지칭하는 약동학적 측정법이다.

[0054] "T_{last}"는 물질의 마지막 정량가능한 농도의 시간을 지칭하는 약동학적 측정법이다.

[0055] "AUC" 또는 "곡선하 면적"은 시간의 함수로서 혈장 내 물질의 농도 변동을 설명하는 약동학적 측정법이다. AUC는 상이한 기간 동안, 예를 들어, 시간 0에서 명시된 시간 t(AUC_t 또는 AUC_{0-t})까지, 시간 0에서 무한대(AUC_∞

또는 $AUC_{0-\infty}$)까지 등 계산될 수 있다.

[0056] "제거 반감기" 또는 "반감기" 또는 "$t_{½}$"은 물질의 농도가 원래 값의 절반에 도달하는 데 필요한 시간을 지칭하는 약동학적 측정법이다.

[0057] "제거율(Clearance)"은 단위 시간당 물질의 정화된 혈장 부피를 지칭하는 약동학적 측정법이다.

[0058] "V_z"는 말기 단계 동안 분포 부피를 지칭하는 약동학적 측정법이다.

[0059] II. 펩티드 및 조성물

[0060] C/EBPβ

[0061] 전사 인자(TF)는 모든 알려진 종양유전자의 대략 20%를 차지하고 많은 인간 암에 수반된다(Lambert 2018). 그럼에도 불구하고, TF는 역사적으로 소분자가 그들의 활성에 영향을 미칠 수 없거나 또는 큰 분자가 세포 내로 도달할 수 없기 때문에 "약물투여할 수 없는" 표적으로 여겨졌다(Yan 2013; Bushweller 2019). TF는 전형적으로 알파-나선 염기성 류신 지퍼(bZIP) 도메인을 통해 이량체화되어, DNA 내에서 핵심 공통 서열과 효율적인 상호작용을 가능하게 하도록 DNA-결합 도메인과 함께 결합한다(Asada 2011; Potapov 2015). 이러한 TF 단백질-단백질 상호작용(PPI)의 방해는 이 애매한 표적 클래스에 약물투여할 수 있는 잠재적으로 강력한 접근법을 나타낸다. 최근에, 펩티드는 높은 친화도 및 특이성으로 TF 상호작용을 표적화 및 방해할 수 있는 치료적 클래스로서 등장하였으며, 개념 증명 길항작용은 이전에 "약물투여할 수 없는" 다중 표적에 대해 입증되었다(Takada 2012; Walensky 2014; Bruzzoni-Giovanelli 2018; Lathbridge 2018; Demma 2019; Lathbridge 2019).

[0062] C/EBPβ는 보조인자와의 염기성 류신 지퍼 상호작용에 의존하기 때문에, 펩티드 길항제의 개발을 위한 주요 표적을 나타낸다. DNA와 회합하고 유전자 발현을 전이활성화하기 위해, C/EBPβ는 bZIP 도메인 사이의 상호작용을 통해 결합 파트너와 함께 이량체화한다. 동종이량체화 이외에, C/EBPβ는 Jun/Fos, C/EBPɣ(Huggins 2013), 델타-상호작용 단백질 A(Bezy 2005), 및 CREB/ATF 패밀리(Zhao 2014)와 같은 bZIP-함유 전사 인자와 함께 이종이량체를 형성한다.

[0063] 활성화 전사 인자 5(ATF5)는 HEK293 및 HCT116 암 세포에서 C/EBPβ와 회합하고 이를 활성화하여, 생존 친화 표현형의 전이활성화를 초래하는 것으로 결정된 CREB/ATF 인자이다(Zhang 2015). ATF5는 교종을 포함하는 많은 암에서 고도로 발현되며, Bcl-2 패밀리 단백질 및 서비빈의 과발현을 구동함으로써 종양형성 표현형에 기여하지만, 분화된 세포 유형에서 주로 발견되지 않는다(Sheng 2010). 교종 및 다른 종양 세포에서 DNA-결합 도메인이 결여된 ATF5의 절두된 bZIP 도메인의 과발현은 암 세포 세포독성(Angelastro 2006); 유사한 결과가 생성된 절두된 bZIP 도메인을 함유하는 펩티드의 투여(Cates 2016; Karpel-Massler 2016)를 초래하였다.

[0064] C/EBPβ 길항제 펩티드

[0065] 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은 유효량의 C/EBPβ의 펩티드 길항제로 고형 종양을 갖는 환자를 치료하는 것을 포함한다. 일 구현예에서, C/EBPβ의 펩티드 길항제는 야생형 ATF5 bZIP 도메인의 레트로 인버소 변이체인 D-아미노산 서열 VAEAREELERLEARLGQARGEL(서열번호: 1)을 포함한다. C/EBPβ의 펩티드 길항제는 예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같이 설계될 수 있다.

[0066] C/EBPβ의 펩티드 길항제는 세포-침투 펩티드일 수 있다. 일 구현예에서, 펩티드는 세포-침투 도메인을 포함한다. 수많은 세포-침투 펩티드 서열은 문헌에 기재되고 특성화되어 있다(WO 2019/136125 참조). 일 구현예에서, 펩티드는 환형 펩티드이다. 예를 들어, 탄화수소 스테이플(Bernal 2007; Bird 2016) 또는 당업계에 알려진 다른 환형화 방법을 사용하는 환형화된 펩티드는 수동 확산, 세포내섭취/엔도조말 탈출, 또는 다른 메커니즘을 통해 세포에 들어갈 수 있다(Dougherty 2019). 펩티드는 또한 세포 수용체, 예를 들어, 인테그린-표적화, RGD-유사 서열을 이용하는 메커니즘을 통해 세포에 전달될 수 있다. 대안적으로, 펩티드는 엑소좀 또는 리포좀과 같은 소포에서, 또는 미셀(micelle)에서 캡슐화되고 세포에 전달될 수 있다.

[0067] C/EBPβ의 활성을 길항하는 천연 ATF5 bZIP 도메인에 기반한 펩티드의 능력은 본원, 예를 들면, 실시예 2에 기재된 방법에 의해 측정될 수 있다. C/EBPβ의 펩티드 길항제의 세포독성 활성은 알려진 검정에 의해 시험관내에서 및/또는 알려진 종양 모델을 사용하여 생체내에서 측정될 수 있으며; 예를 들어, WO 2019/136125는 이러한 검정 및 모델을 기재한다.

[0068] ST101은 시험관내 및 생체내에서 강력한 항-종양 활성 및 단백질분해적 분해에 대한 내성을 나타내는 모든 D-아미노산 펩티드이다. 특히, 본 발명자들은 이전에 HL60(전골수성 백혈병), AML14(급성 골수성 백혈병), SET2(거

대모구성 백혈병), A375(흑색종), MCF7(유방 암종), U87(교모세포종), U251(교모세포종), DU145(전립선암), A549(폐암), 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 및 골수 단핵 세포(BMMC)에서 ST101의 세포독성을 입증하였다(WO 2019/136125 참조). 게다가, A375, HL60, MCF7, 및 U251 세포를 사용하는 이종이식편 마우스 모델에서 ST101의 피하 투여는 종양 부피의 유의한 감소를 초래하였다(WO 2019/136125 참조).

[0069] ST101은 ATF5 bZIP 도메인 및 안테나페디아 침투 도메인에 기반한 변형된 도메인으로 구성되어, 세포 침투를 가능하게 한다. ST101의 D-아미노산 서열은 VAEAREELERLEARLGQARGEL*KKWKMRRNQFWLKLQR*(서열번호: 2)이며, 세포-침투 영역은 이탤릭체로 표시된다. 본원에서 입증된 바와 같이, ST101은 C/EBPβ와 항-세포자멸 전사 인자의 회합을 방해함으로써 종양 세포에서 세포독성 활성을 촉진한다(**도 1**; 실시예 2).

[0070] 조성물 및 투여

[0071] 특정 측면에서, 본 발명은 조성물, 예를 들어, ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일 구현예에서, ST101은 아세테이트 염과 같은 염 형태일 수 있다. 바람직하게는, 조성물은 하나 이상의 담체, 희석제, 부형제, 또는 다른 첨가제를 포함한다. 예를 들어, 조성물은 하나 이상의 증량제(예를 들어, 덱스트란 40, 글리신, 락토스, 만니톨, 트레할로스), 하나 이상의 완충제(예를 들어, 아세테이트, 시트레이트, 히스티딘, 락테이트, 포스페이트, Tris), 하나 이상의 pH 조절제(예를 들어, 염산, 아세트산, 질산, 수산화칼륨, 수산화나트륨), 및/또는 하나 이상의 희석제(예를 들어, 물, 생리 식염수)를 포함할 수 있다. 조성물의 pH는 바람직하게는 약 3.0 내지 8.0이다. 일 구현예에서, pH는 약 3.5 내지 6.5, 또는 약 5.0 내지 7.5이다.

[0072] 일부 구현예에서, 약제학적 조성물은 트레할로스와 같은 증량제를 포함하며, 여기서 증량제의 양은 중량 기준으로, 약 6:1 내지 약 2:1의 증량제:ST101의 비율과 같이, ST101의 양에 대한 측정 비율이다.

[0073] 본 발명의 측면은 대상체에게 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 투여하는 방법에 관한 것이다. C/EBPβ의 펩티드 길항제는 비경구로 투여된다. 비경구 투여 경로는 정맥내(IV), 근육내, 복강내, 경막내, 및 피하를 포함한다. 바람직한 구현예에서, ST101을 포함하는 약제학적 조성물은 IV 주입을 통해 투여된다. 약제학적 조성물은 예를 들어, 생리식염수(0.9%), 절반 생리식염수(0.45%), 물 중 5% 덱스트로스(D5W)를 포함하는 IV 유체로 제공될 수 있다.

[0074] C/EBPβ의 펩티드 길항제는 환자의 체중에 기반하여 투여된다. ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제는 약 0.5 mg/kg 내지 약 16 mg/kg의 용량으로 환자에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, ST101은 약 0.5 mg/kg, 약 0.75 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 7 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 12 mg/kg, 약 14 mg/kg, 또는 약 16 mg/kg의 용량으로 투여된다. 이러한 양은 또한 투여될 용량 범위, 예를 들어, 약 0.5 mg/kg 내지 약 8 mg/kg, 약 2 mg/kg 내지 약 4 mg/kg 등에 대한 종료점으로서 역할을 할 수 있다.

[0075] 본 발명의 구현예에서, 약제학적 조성물은 정맥내 주입에 의해 대상체에게 투여되며, 여기서 총 주입 지속기간은 약 360분 이하이다. 일부 구현예에서, 총 주입 지속기간은 약 30분 내지 약 240분이다. 예를 들어, 총 주입 지속기간은 30분, 60분, 90분, 120분, 150분, 또는 180분, 또는 45분, 100분 등과 같은 중간 지속기간일 수 있다. 특정 구현예에서, 총 주입 지속기간은 약 60분 내지 약 90분, 또는 약 60분 내지 약 120분, 또는 약 90분 내지 약 120분, 또는 약 60분 내지 약 180분이다.

[0076] 일부 구현예에서, 약제학적 조성물의 주입은 중단될 수 있으며, 즉, 일시적으로 중단된 다음 재개될 수 있다. 중단의 지속기간은 달라질 수 있으며, 예를 들어, 약 15분 이하, 또는 약 30분 이하, 또는 약 1시간 이하, 또는 약 2시간 이하, 또는 약 3시간 이하, 또는 약 4시간 이하일 수 있다.

[0077] 일부 구현예에서, 약제학적 조성물은 히스타민 방출을 차단하고/하거나, 주입-관련 반응(IRR)을 예방 또는 개선하고/하거나, 열 또는 염증을 감소시키고/감소시키거나, 가려움증 및/또는 두드러기를 완환시키기도록 의도된 하나 이상의 2차 제제와 함께 투여될 수 있다. 하나 이상의 2차 제제는 약제학적 조성물의 투여와 동시에, 전에, 및/또는 후에 투여될 수 있다. 하나 이상의 2차 제제는 약제학적 조성물과 별도의 조성물로 투여될 수 있거나, 또는 약제학적 조성물과 조합될 수 있다. 게다가, 하나 이상의 2차 제제는 약제학적 조성물과 동일한 경로로 투여될 수 있거나, 또는 상이한 경로(예를 들어, 경구)로 투여될 수 있다.

[0078] 약제학적 조성물과 함께 투여하기 위한 하나 이상의 2차 제제의 예는 H1 길항제, H2 길항제, 및 비만 세포 탈과립화 억제제를 포함하는 항히스타민(예를 들어, 아크리바스틴, 아스테미졸, 아자타딘, 아젤라스틴, 베포타스틴, 브로모페니라민, 부프롤린, 세티리진, 클로르족사존, 클로르페니라민, 크로몰린, 사이프로헵타딘,

데슬로라타딘, 덱스브롬페니르 아민, 디펜하이드라민, 독산트로졸, 에피나스틴, 에토드록시진, 파모티딘, 펙소페나딘, 포스콜린, 하이드록시진, 이소프로테레놀, 케토티펜, 레보세티리진, 로라타딘, 로독사미드, 메퀴타진, 메트딜라진, 미졸라스틴, 네도크로밀, 올로파타딘, 옥사토미드, 페미롤라스트, 피메크롤리무스, 피르부테롤, 피조티펜, 프록시크로밀, 라니티딘, 테르페나딘, 테르부탈린); 류코트리엔 억제제(예를 들어, 몬텔루카스트, 자피를루카스트, 질류톤); 비스테로이드성 항염증 약물(NSAID)(예를 들어, 이부프로펜, 나프록센, 아스피린); 아세트아미노펜/파라세타몰; 코르티코스테로이드(예를 들어, 하이드로코르티손, 덱사메타손, 프레드니손, 프레드니솔론); 항메스꺼움제(예를 들어, 프로클로르페나진, 온단세트론); 및 식염수 및/또는 전해질을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일 바람직한 구현예에서, 2차 제제는 클로르페니라민 또는 디펜하이드라민과 같은 항히스타민이다. 특정 구현예에서, 2차 제제는 아세트아미노펜/파라세타몰, H1 길항제, 및 H2 길항제, 몬텔루카스트, 구토방지제, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0079] 특정 구현예에서, 2차 제제는 약제학적 조성물의 투여 동안, 예컨대 주입 기간 동안 투여된다. 특정 구현예에서, 항히스타민과 같은 2차 제제는 약제학적 조성물의 투여 전에, 예컨대 투여 전 약 7일 이내에, 또는 투여 전 약 6일 이내에, 또는 투여 전 약 5일 이내에, 또는 투여 전 약 4일 이내에, 또는 투여 전 약 72시간 이내에, 또는 투여 전 약 48시간, 또는 투여 전 약 24시간, 또는 투여 전 약 8-12시간, 또는 투여 전 약 6-8시간, 또는 투여 전 약 4-6시간, 또는 투여 전 약 2-4시간, 또는 투여 전 약 1-2시간, 또는 투여 전 약 1시간 이내에, 또는 투여 직전에 대사에에게 투여된다. 일부 구현예에서, 2차 제제는 약제학적 조성물의 투여 후 24시간 이내에 투여된다. 예를 들어, 2차 제제는 약제학적 조성물의 투여 완료 직후에, 투여 완료 후 약 0.5-1시간, 투여 완료 후 약 1-2시간, 투여 완료 후 약 2-4시간, 투여 완료 후 약 4-6시간, 투여 완료 후 약 6-8시간, 투여 완료 후 약 8-12시간, 또는 투여 완료 후 약 24시간에 투여될 수 있다.

[0080] 2차 제제는 약제학적 조성물의 투여 전에, 도중에, 및/또는 후에 여러 번 투여될 수 있다. 2차 제제의 조합은 동시에 또는 상이한 시간에 투여될 수 있다. 예를 들어, 항히스타민은 약제학적 조성물의 투여 전에 투여될 수 있고, 코르티코스테로이드는 약제학적 조성물의 투여 후에 투여될 수 있다.

[0081] 일 구현예에서, C/EBPβ의 펩티드 길항제의 투여는 적어도 3주(즉, 3회 투여), 6주(즉, 6회 투여), 9주, 12주, 3개월, 6개월, 9개월, 또는 12개월의 지속기간 동안 매주 1회 발생할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 투여는 적어도 4주(즉, 2회 투여), 8주(즉, 4회 투여), 12주, 3개월, 6개월, 9개월, 또는 12개월의 지속기간 동안 2주마다 1회 발생할 수 있다. 일부 구현예에서, 환자는 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 적어도 3주, 6주, 9주, 12주, 3개월, 6개월, 9개월, 또는 12개월의 지속기간 동안 매주 1회 투여받을 수 있고, 이어서 적어도 4주, 8주, 12주, 3개월, 6개월, 9개월, 또는 12개월 동안 2주마다 1회 투여받을 수 있다.

[0082] C/EBPβ의 길항제의 약동학(PK)은 표준 방법에 의해 그리고 실시예에 기재된 바와 같이 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, C/EBPβ의 길항제는 ST101이다. ST101의 제거율은 약 0.75 L/hr 내지 약 3.5 L/hr 또는 약 1 L/hr 내지 약 3 L/hr 또는 약 1 L/hr 내지 약 2.5 L/hr일 수 있다. ST101의 반감기($t_{1/2}$)는 약 10시간 내지 약 70시간 또는 약 20시간 내지 약 60시간 또는 약 25시간 내지 약 45시간일 수 있다.

[0083] 일부 구현예에서, PK는 용량 비례적이다. 예를 들어, 0.5 mg/kg ST101을 투여받은 환자에서, C_{max}는 약 1,000 ng/mL 내지 약 2,000 ng/mL 또는 약 1,300 ng/mL 내지 약 1,800 ng/mL 또는 약 1,370 ng/mL 내지 약 1,770 ng/mL일 수 있다. 1.0 mg/kg ST101을 투여받은 환자에서, C_{max}는 약 2,500 ng/mL 내지 약 5,500 ng/mL 또는 약 2,670 ng/mL 내지 약 5,300 ng/mL 또는 약 2,840 ng/mL 내지 약 5,110 ng/mL일 수 있다. 2.0 mg/kg ST101을 투여받은 환자에서, C_{max}는 약 8,000 ng/mL 내지 약 13,000 ng/mL 또는 약 8,500 ng/mL 내지 약 12,500 ng/mL 또는 약 9,000 ng/mL 내지 약 11,900 ng/mL일 수 있다. 4.0 mg/kg ST101을 투여받은 환자에서, C_{max}는 약 7,000 ng/mL 내지 약 35,000 ng/mL 또는 약 7,650 ng/mL 내지 약 32,900 ng/mL 또는 약 9,150 ng/mL 내지 약 30,000 ng/mL, 또는 약 15,000 ng/mL 내지 약 28,000 ng/mL일 수 있다.

[0084] III. 치료 방법

[0085] 본 발명의 방법에 의한 치료를 필요로 하는 대상체는 고형 종양으로 진단된 환자이다. 예를 들어, 대상체는 국소 진행성 고형 종양 또는 전이성 수술 불가능한 종양을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 흑색종, 암종, 또는 육종을 갖는다. 일 구현예에서, 흑색종은 피부 흑색종 또는 점막 흑색종이다. 일 구현예에서, 암종은 방광 선암종, 결장직장 선암종, 췌장 선암종, 위/인환 선암종, 또는 소장 선암종과 같은 선암종이다. 일 구현예에서, 육종은 복부 육종 또는 근섬유모세포 육종이다. 본 발명의 특정 구현예에서, ST101의 투여는 종양 성장을

억제하거나, 종양 부피를 감소시키거나, 또는 이의 조합일 수 있다.

[0086] 일 구현예에서, 환자는 국소 진행성 또는 전이성 유방암(LA/MBC)을 갖는다. 일 구현예에서, LA/MBC는 호르몬 수용체-양성(HR^{pos})이다. 일 구현예에서, 환자는 1 또는 2개의 이전 호르몬-기반 요법을 받은 후 진행된 LA/MBC를 갖는다. 일 구현예에서, 환자는 사이클린-의존적 키나제 4/6(CDK4/6) 억제제 또는 라파마이신의 포유류 표적(mTOR) 억제제와 같은 표적화 요법, 또는 화학요법, 또는 이의 조합으로 이전 치료를 받았다.

[0087] 일 구현예에서, 환자는 흑색종으로 진단받았다. 일 구현예에서, 환자는 흑색종, 특히 진행성/전이성 흑색종에 대한 1 또는 2회 이전 차수의 요법을 받은 후 진행된 흑생종을 갖는다.

[0088] 일 구현예에서, 환자는 면역 체크포인트 억제제(CPI) 또는 CPI의 조합으로의 치료 후에/또는 치료 중에 진행된 흑색종을 갖는다. 면역 CPI는 예를 들어, 이필리무맙 및 트레멜리무맙과 같은 CTLA-4 억제제; 세미플리맙, 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, 및 스파르탈리주맙과 같은 PD-1 억제제; 아테졸리주맙, 아벨루맙, 및 두르발루맙과 같은 PD-L1 억제제; 렐라틸리맙과 같은 LAG-3 억제제; 티라골루맙과 같은 TIGIT 억제제; 및 TLR9 작용제와 같은 톨-유사 수용체 9(TLR9)를 표적하는 제제를 포함한다.

[0089] 일 구현예에서, 환자는 BRAF-돌연변이된 질환을 가지며 BRAF 억제제 및/또는 MEK 억제제, 예를 들어, 베무라페닙, 다브라페닙, 엔코라페닙, 트라메티닙, 코비메티닙, 비니메티닙, 또는 이의 조합과 같은 적어도 하나의 차수의 표적화 요법을 받았다.

[0090] 일 구현예에서, 환자는 교모세포종(GBM)으로 진단받았다. 일 구현예에서, GBM은 이전 차수의 요법을 받은 후에 재발 또는 진행되었다. 이전 차수 요법은 예를 들어, 수술, 방사선, 화학요법, 표적화 요법, 전기장 요법, 및 이의 조합을 포함한다. 화학요법 화합물은 예를 들어, 테모졸로마이드, 카르무스틴, 및 로무스틴을 포함한다. 표적화 요법은 예를 들어, 베바시주맙을 포함한다.

[0091] 일 구현예에서, GBM은 하나의 표준 치료 레지멘 후 (개질된 RANO 기준에 따라) 재발 또는 진행된 원발성(신생) GBM이다. "표준 치료 레지멘"은 최대 외과적 적출, 방사선요법, 및 방사선요법과 병용하는 테모졸로마이드 또는 테모졸로마이드를 사용한 애쥬번트 화학요법으로 정의된다. 일 구현예에서, 환자는 1차 요법에 대한 애쥬번트로서 종양 치료 분야를 거쳤다.

[0092] 일 구현예에서, 환자는 전립선암으로 진단받았다. 일 구현예에서, 전립선암은 거세저항성 전립선암(CRPC)이다. "거세저항성 전립선암"(CRPC)은 안드로겐 고갈 요법에도 불구하고, 예를 들어, 전립선암 임상 시험 작업 그룹 3(PCWG3) 기준(Scher 2016)에 따라 질환 진행으로 정의된다. 일부 구현예에서, 환자는 임의적으로 프레드니손 또는 프레드니솔론과 같은 코르티코스테로이드와 조합된 도세탁셀 및 카바지탁셀을 포함하는 탁산과 같은 화학요법; 시푸류셀-T를 포함하는 면역요법; 아비라테론, 엔잘루타마이드, 다랄루타마이드, 및 아팔루타마이드를 포함하는 호르몬-기반 요법; 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 치료 후에 진행된 CRPC를 갖는다. 일 구현예에서, 환자는 탁산, 아비라테론, 다랄루타마이드, 및/또는 엔잘루타마이드/아팔루타마이드로 이전 치료 후에 진행된 CRPC를 갖는다.

[0093] 치료 효능은 하나 이상의 알려진 척도에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법을 겪은 환자는 본 발명의 방법을 겪지 않은 환자, 즉, 대조군 환자에서의 동일한 결과(들)와 비교하여, 연장된 생존, 개선된 무진행 생존, 개선된 반응 지속기간, 더 긴 완화, 감소된 재발 위험, 및/또는 C/EBPβ의 펩티드 길항제로의 치료에 대한 개선된 종양 반응을 포함하는 결과를 경험할 수 있다. 본 발명의 방법에 의해 치료된 환자의 결과는 예를 들어, 대조군 환자 집단의 중간 결과와 비교될 수 있다. 대조군 환자 집단은 예를 들어, 위약, 수술, 방사선, 화학요법, 면역요법, 호르몬-기반 요법, 표적화 요법, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 레지멘을 투여받을 수 있다. 비교는 예를 들어, Wilcoxon 부호 순위 테스트 또는 Kaplan-Meier 방법을 사용하여 통계적으로 분석될 수 있다.

[0094] 일 구현예에서, ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 임의적으로 표준 치유 치료와 조합하여 받은 환자의 결과는 위약을 받은 대조군 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 받은 환자의 결과는 표준 치유 치료를 받은 대조군 환자의 중간 결과와 비교된다.

[0095] 일 구현예에서, 임의적으로 화학요법과 조합하여 ST101을 받은 LA/MBC 환자의 결과는 화학요법을 받은 LA/MBC 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, 임의적으로 호르몬-기반 요법과 조합하여 ST101을 받은 LA/MBC 환자의 결과는 호르몬-기반 요법을 받은 LA/MBC 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, ST101을 받은 LA/MBC 환자의 결과는 표적화 요법을 받은 LA/MBC 환자의 중간 결과와 비교된다.

[0096] 일 구현예에서, 임의적으로 화학요법과 조합하여 ST101을 받은 흑색종 환자의 결과는 화학요법을 받은 흑색종 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, 임의적으로 면역요법과 조합하여 ST101을 받은 흑색종 환자의 결과는 면역요법을 받은 흑색종 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, 임의적으로 표적화 요법과 조합하여 ST101을 받은 흑색종 환자의 결과는 표적화 요법을 받은 흑색종 환자의 중간 결과와 비교된다.

[0097] 일 구현예에서, 임의적으로 수술, 방사선, 화학요법, 및 표적화 요법 중 하나 이상과 조합하여 ST101을 받은 GBM 환자의 결과는 수술, 방사선, 화학요법, 표적화 요법 또는 이의 조합을 받은 GBM 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, 임의적으로 표준 치료 레지멘과 조합하여 ST101을 받은 GBM 환자의 결과는 표준 치료 레지멘을 받은 GBM 환자의 중간 결과와 비교된다.

[0098] 일 구현예에서, 임의적으로 화학요법과 조합하여 ST101을 받은 전립선암 환자의 결과는 화학요법을 받은 전립선암 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, 임의적으로 면역요법과 조합하여 ST101을 받은 전립선암 환자의 결과는 면역요법을 받은 전립선암 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, 임의적으로 호르몬-기반 요법과 조합하여 ST101을 받은 전립선암 환자의 결과는 호르몬-기반 요법을 받은 전립선암 환자의 중간 결과와 비교된다. 일 구현예에서, 임의적으로 탁산, 아비라테론, 다랄루타마이드, 및/또는 엔잘루타마이드/아팔루타마이드와 조합하여 ST101을 받은 전립선암 환자의 결과는 탁산, 아비라테론, 다랄루타마이드, 및/또는 엔잘루타마이드/아팔루타마이드를 받은 전립선암 환자의 중간 결과와 비교된다.

[0099] 치료에 대한 반응은 기준선, 예를 들어, ST101로 치료 전과 비교하여, 치료 레지멘 후 효능의 하나 이상의 척도를 비교한다. 기준선 평가는 바람직하게는 C/EBPβ의 펩티드 길항제로의 1차 치료 전 24, 48, 또는 72시간 이내, 또는 1, 2, 3, 또는 4주 이내에 수행된다. 일 바람직한 구현예에서, 기준선 평가는 첫번째 ST101 치료 전 24시간 이내에 수행된다.

[0100] 대상체가 전립선암 환자인 구현예에서, 기준선 및 치료에 대한 반응은 예를 들어, 테스토스테론과 같은 혈액-기반 바이오마커, 전립선-특이적 항원(PSA), 및 조영 증강 CT를 포함하는 컴퓨터 단층촬영(CT), 또는 단면 MRI를 포함하는 자기 공명 영상(MRI)에 의해서와 같이응 혈청 사이토카인 영상화의 평가; 생검/조직학적 분석; 및 통증, 진통제 사용, 신체 기능, 삶의 질 등과 같은 환자-보고 인자를 포함하는 인자에 의해 측정될 수 있다. 이러한 매개변수는 예를 들어, PCWG3 지침(Scher 2016)에 따라 결정될 수 있다.

[0101] PCWG3 패러다임은 치료 반응의 2가지 일반적인 범주를 정의한다: (1) 치료가 기준선에 존재했던 질환의 징후를 제어, 완화, 또는 제거하는 정도; 및 (2) 치료가 질환의 향후 징후를 예방 또는 지연시킬 수 있는 정도(Scher 2016; Scher 2011). 따라서, 일 측면에서, 본 발명은 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, CRPC 환자를 포함하는 환자에서 전립선암의 적어도 하나의 징후를 제어, 완화, 또는 제거하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, CRPC 환자를 포함하는 환자에서 전립선암의 적어도 하나의 징후를 예방 또는 지연시키는 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 전립선암의 징후는 적어도 4, 6, 8, 10, 또는 12주, 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 또는 24개월, 또는 적어도 3, 4, 또는 5년 동안 예방 또는 지연된다. 예방 또는 지연 지속기간은 대조군 집단에서 예방 또는 지연 지속기간의 중앙값에 비해 측정된다. 전립선암의 징후는 예를 들어, 종양 부담, 신규 전이성 병변, PSA 수준 상승, 골절 발병률을 포함하는 뼈 병리, 통증, 아편을 포함한 진통제의 사용, 및 삶의 질 감소를 포함한다(Scher 2016; Scher 2011).

[0102] "종양 부담"은 환자의 신체에서 암성 조직의 총 질량 또는 총 크기이다. 종양 반응은 객관적 반응률, 질환 제어율, 및 반응 지속기간을 포함하는 척도에 의해 평가될 수 있다. 이들 매개변수는 종양 유형에 따라, 예를 들어, 고형 종양의 개정된 반응 평가 기준(RECIST 1.1)(Eisenhauer 2009), 신경종양학의 개질된 반응 평가(mRANO)(Ellingson 2017), 또는 PCWG3 지침(Scher 2016)에 의해 결정될 수 있다.

[0103] 객관적 반응률은 종양 크기, 예를 들어, 종양 직경의 감소를 평가하며, 이는 임상 실험 및/또는 영상화에 의해 결정될 수 있다. 환자가 다중 종양을 갖는 경우, 종양 크기는 임의적으로 모든 종양의 평균 직경 또는 모든 종양의 직경의 합으로 표현될 수 있다. 표피상 종양은, 예를 들면, 캘리퍼를 사용하거나 또는 사진 및 눈금자 측정에 의해 임상적으로 측정될 수 있다. 영상화 방법은 전형적으로 대조 컴퓨터 단층촬영(CT); X-선; 자기 공명 영상(MRI); 및 양전자 방출 단층촬영(PET), 예컨대 (18)F-플루오로데옥시글루코스 PET를 포함한다. 일 바람직한 구현예에서, CT는 예를 들어, LA/MBC 환자 또는 흑색종 환자에서 종양 반응을 평가하는 데 활용된다. 또 다른 바람직한 구현예에서, 가돌리늄 강화 MRI와 같은 MRI는 예를 들어, GBM 환자에서 종양 반응을 평가하는 데 활용된다. 따라서, 일 측면에서, 본 발명은 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 종양 부담, 즉, 종양 질량 및/또는 종양 크기를 감소시키는 방법을 제공한다. 종양 부담 감소

는 기준선에 비해 측정된다.

[0104] 특정 구현예에서, 특히 RECIST 1.1에 의해 평가된 구현예에서, 질환 제어율은 종양 반응의 수준을 종양(들)의 소실인 완전 반응(CR); 종양(들) 크기의 적어도 30% 감소인 부분 반응(PR); 종양(들) 크기 변화가 없는 안정 질환; 또는 종양 크기 및/또는 신규 병변에서 적어도 20% 증가인 질환 진행으로 정의한다.

[0105] 일부 구현예에서, 질환 제어율은 종양 반응 수준을 완전 반응(CR), 부분 반응(PR), 진행성 질환(PD), 또는 안정 질환(SD)으로 정의한다. 표 I은 기준선에 비해 종양 측정의 변화에 기반하고, 적어도 4주 동안 지속되는 이러한 질환 상태에 대한 개질된 RANO 지침을 제시한다. 추가의 매개변수 및 세부사항은 Ellingson 2017에 제공된다.

[0106] 표 I

[0107]

질환 상태	수직 직경의 곱의 합 변화(이차원 곱)	종양 부피의 변화
완전 반응 (CR)	100% 감소	100% 감소
부분 반응 (PR)	≥50% 감소	≥65% 감소
진행성 질환 (PD)	≥25% 증가	≥40% 증가
안정 질환 (SD)	<50% 감소 내지 <25% 증가	<65% 감소 내지 <40% 증가

[0108] 반응 지속기간은 반응의 달성부터 질환 진행까지의 기간, 즉, 종양이 성장 또는 퍼지지 않거나, 또는 사망하는 기간이다. ST101 치료를 받은 환자에서 반응 지속기간은 예를 들어, 적어도 4, 6, 8, 10, 또는 12주, 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 또는 24개월, 또는 적어도 3, 4, 또는 5년일 수 있다. 따라서, 일 측면에서, 본 발명은 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 반응 지속기간을 증가시키는 방법을 제공한다. 반응 지속기간의 증가는 대조군 집단에서 반응 지속기간 중앙값에 비해 측정된다.

[0109] 생존은 전체 생존, 즉, 환자가 생존하는 기간, 또는 무진행 생존, 즉, 환자가 질환의 진행 또는 악화 없이 치료되는 기간으로 평가될 수 있다. 생존은 진단일부터 또는 치료 개시일부터 측정될 수 있다. 전체 생존, 전체 생존 중앙값, 무진행 생존, 및 무진행 생존 중앙값은 예를 들어, 치료에 대한 반응에 기반하여 Kaplan-Meier 분석에 의해 계산될 수 있다. 따라서, 일 측면에서, 본 발명은 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 전체 생존을 증가시키는 방법을 제공한다. 전체 생존의 증가는 대조군 집단에서 전체 생존 중앙값에 비해 측정된다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 무진행 생존을 증가시키는 방법을 제공한다. 무진행 생존의 증가는 대조군 집단에서 무진행 생존 중앙값에 비해 측정된다.

[0110] 환자가 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제의 투여 후에 하기 결과 중 적어도 하나를 경험하거나 또는 나타내는 경우 환자는 본 발명의 방법에 따라 성공적으로 치료된다:

[0111] - 종양(또는 다중 종양이 기준선에 존재하는 경우, 적어도 하나의 종양)의 검출불가능성;

[0112] - 기준선과 비교하여 종양 크기의 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90% 감소;

[0113] - 기준선과 비교하여 종양 크기의 유의한 증가 없음(예를 들어, 20% 미만);

[0114] - 임의적으로 대조군 환자 집단의 반응 지속기간 중앙값과 비교하여, 유의하게 증가된 반응 지속기간;

[0115] - 임의적으로 대조군 환자 집단의 무진행 생존 중앙값과 비교하여, 유의하게 증가된 무진행 생존;

[0116] - 임의적으로 대조군 환자 집단의 전체 생존 중앙값과 비교하여, 유의하게 증가된 전체 생존.

[0117] IV. 제조 방법

[0118] C/EBPβ의 펩티드 길항제는 예를 들어, 고체상 펩티드 합성 또는 용액상 펩티드 합성, 또는 둘 다의 조합을 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 합성은 화학적으로 또는 효소적으로 후속적으로 조합되는 펩티드의 단편으로서 임의적으로 발생할 수 있다.

[0119] 대안적으로, C/EBPβ의 펩티드 길항제는 재조합 방법을 사용하여 발현될 수 있다. 예를 들어, ST101을 암호화하는 핵산 분자는 올리고뉴클레오티드 합성기를 사용한 화학적 합성에 의해 구축될 수 있다. 핵산 분자는 ST101의 아미노산 및 재조합 ST101이 생산될 숙주 세포에서 선호되는 코돈의 선택에 기반하여 설계될 수 있다. 표준 방법은 ST101과 같은 C/EBPβ의 펩티드 길항제를 암호화하는 핵산 분자를 합성하는 데 적용될 수 있다.

[0120] 일단 제조되면, 펩티드를 암호화하는 핵산은 발현 벡터로 삽입되고 원하는 숙주에서 펩티드의 발현에 적절한 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 펩티드의 높은 발현 수준을 수득하기 위해, 핵산은 선택된 발현 숙주에서 기능적인 전사 및 번역 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결되거나 또는 이와 회합될 수 있다.

[0121] 매우 다양한 발현 숙주/벡터 조합은 당업계에 알려진 누구에게나 이용될 수 있다. 진핵생물 숙주에 유용한 발현 벡터는 예를 들어, SV40, 소 유두종 바이러스, 아데노바이러스, 및 사이토메갈로바이러스로부터의 발현 제어 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 박테리아 숙주에 유용한 발현 벡터는 pCR1, pBR322, pMB9 및 그들의 유도체를 포함하는 이. 콜라이(*E. coli*)로부터의 플라스미드와 같은 알려진 박테리아 플라스미드, M13과 같은 더 넓은 숙주 범위 플라스미드, 및 사상 단일 가닥 DNA 파지를 포함한다.

[0122] 적합한 숙주 세포는 적절한 프로모터의 제어 하에 원핵생물, 효모, 곤충, 또는 고등 진핵생물 세포를 포함한다. 원핵생물은 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어 이. 콜라이 또는 바실러스(bacilli)를 포함한다. 고등 진핵생물 세포는 확립될 수 있거나 또는 포유류 기원의 세포주일 수 있으며, 이의 예는 피키아 파스토리스(Pichia pastoris), 293 세포, COS-7 세포, L 세포, C127 세포, 3T3 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HeLa 세포, 및 BHK 세포를 포함한다. 무세포 번역 시스템이 또한 이용될 수 있다.

[0123] 펩티드는 예를 들어, 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC), 다중칼럼 역류형 용매 구배 정제(MCSGP), 및 이온-교환 크로마토그래피를 포함하는 방법을 사용하여 정제될 수 있다.

[0124] 실시예

[0125] 본 개시내용의 구현예는 하기 비제한적인 실시예를 참조하여 추가로 정의될 수 있다. 재료 및 방법 둘 다에 대한 많은 변형이 본 개시내용의 범위를 벗어나지 않고 실시될 수 있음이 당업자에게 자명할 것이다.

[0126] **실시예 1. C/EBPβ의 펩티드 길항제의 설계**

[0127] 천연 ATF5 bZIP 도메인의 22-아미노산 부분, LEGECQGLEARNRELKERAESV(서열번호: 3), 및 16-아미노산 페네트라틴 도메인을 함유하는 전구체 펩티드의 초기 설계는 17.4±0.5 μM의 EC_{50} 값으로 HL-60 전골수성 백혈병 세포의 용량 의존적 세포독성을 초래하였다. 본 발명자들은 펩티드와 C/EBPβ 사이의 정전기적 상호작용을 향상시키도록 설계된 변형이 효능을 증가시킬 것이라는 가설을 세웠다. C/EBPβ bZIP 도메인의 것과 함께 펩티드 길항제의 비-류신 아미노산의 분자 팩킹을 탐색하는 46개의 합리적으로 설계된 펩티드의 패널을 합성하고 세포독성 활성에 대해 스크리닝하였다. 가장 큰 세포독성을 나타내는 "위너(winner)" 펩티드는 5.5±0.5 μM의 EC_{50} 값, 또는 모 펩티드에 비해 효능의 3.2-배 증가를 초래하였으며, 이는 도입된 합리적인 변화가 시험관내 펩티드 항-종양 활성을 개선시켰음을 입증한다. "위너" 펩티드는 아미노산 서열 LEGRAQGLRAELRELEERAEAV(서열번호: 4)를 갖는 bZIP 도메인 서열 및 페네트라틴 도메인을 포함한다.

[0128] L-아미노산 펩티드은 전형적으로 생물학적 기질에서 안정성이 부족하여, 그들의 약동학 및 이에 따른 치료적 가능성이 제한함으로, 본 발명자들은 추가로 페네트라틴 도메인을 포함하는, 최적화된 ATF5 bZIP 도메인의 모든-D 아미노산 펩티드 버전, VAEAREELERLEARLGQARGEL(서열번호: 1)을 생성하였다. 이 펩티드 ST101은 펩신 및 트립신의 존재 하에 37℃에서 17시간 동안 인큐베이션될 때 단백질분해 내성을 나타낸 반면, L-거울상이성질체 펩티드는 5분 이내에 100% 분해되었다. 처리되지 않은 대조군에서 관찰된 ST101의 최소 상실은 이러한 조건 하에 발생하는 통상의 펩티드 화학적 분해에 기인하였다.

[0129] ST101의 세포독성 테스트는 HL-60 전골수성 백혈병 세포에서 4.9±0.2 μM의 EC_{50}을 보였고, 동일한 아미노산 서열의 L-거울상이성질체 펩티드에 대한 필적할만한 활성이며, 이는 D-아미노산 변이체가 유의하게 향상된 안정성을 나타낸 반면, 항-종양 활성을 상실하지 않았음을 입증한다.

[0130] ST101과 C/EBPβ bZIP 도메인 사이의 상호작용은 C/EBPβ 및 CREB/ATF 계열 보조인자 $ATF4^{40}$의 결정 구조에 기반하여 모델링하였다. ST101은 용액에서 나선형인 것으로 가정하였다. C/EBPβ에 결합된 ST101의 모델은 ST101 결합 서열을 알파 나선 구조로 제한함으로써 분자 작동 환경(MOE) 소프트웨어를 사용하여 생성하였고, 가장 높은 서열 유사성을 공유하는 ATF4의 부분과 중첩되고, 측쇄 상호작용이 유리하도록 최소화되었다. 이 모델은 ST101이 일부 전하-전하 간의 소수성 접촉(ST101 E12에서 C/EBPβ R279로 및 ST101 E21에서 C/EBPβ K267로) 및 양이온-pi 상호작용(ST101 R5에서 C/EBPβ F282로)을 통해 주로 상호작용할 가능성이 있음을 나타낸다(**도 2**).

[0131] **실시예 2. ST101은 C/EBPβ와 상호작용하지만 ATF5와는 그렇지 않다**

[0132] ST101은 원평광 이색성(CD) 분광법을 사용하여 가상 환경에서(in silico) C/EBPβ와 상호작용하는 것으로 나타났다. CD 분광법에서, 펩티드/단백질이 상호작용하는 경우, 조합된 샘플의 관찰된 스펙트럼은 각각의 구성요소의 개별 스펙트럼의 평균과 상이하다. CD는 1 mm 경로 길이의 CD 셀에서 200 μl 샘플을 사용하여 Applied Photophysics Chirascan CD 장치(영국 레더헤드)를 사용하여 수행하였다. 샘플은 이종이량체성 용액에 대한 등몰 농도에서 150 μM 총 펩티드 농도(즉, 펩티드당 75μM)를 함유하였고 분석 전에 pH 7.0에서 10 mM 인산칼륨 및 100mM 불화칼륨에 현탁하였다. 샘플의 CD 스펙트럼을 각각의 파장에서 평균 0.5초로 1 nm 단계에서 260 nm 내지 200 nm로 스캔하였다. 3회 스캔은 20℃에서 평균 내었다.

[0133] C/EBPβ의 bZIP 도메인에서 유래된 펩티드와 조합된 ST101은 개별 스펙트럼의 평균과 상당히 상이한 스펙트럼을 생성하였으며, 이는 2가지 구성요소 사이의 구조적 상호작용을 나타낸다(**도 3**, 패널 A). 대조적으로, ATF5의 bZIP 도메인에서 유래된 펩티드와 조합된 ST101의 관찰된 스펙트럼은 2가지 펩티드의 개별 스펙트럼의 평균으로부터 변하지 않았으며(**도 3**, 패널 B), 이는 이들 펩티드가 이러한 조건 하에 상호작용하지 않음을 나타낸다. 이들 데이터는 ST101이 C/EBPβ와 특이적으로 상호작용함을 입증한다.

[0134] ST101과 C/EBPβ의 상호작용은 세포 열 이동 검정(CETSA)을 사용하여 U251 인간 교모세포종 세포에서의 생물학적 설정에서 추가로 입증하였다. 세포를 비히클 또는 10 μM ST101에 1시간 동안 노출시켰다. 용해물을 세포로부터 제조하고, 후속적으로 52-60℃에 걸친 열 구배에 노출시켜 단백질을 변성시켰다. 그런 다음 용해물을 스핀 다운시켜 변성된 단백질 응집체를 제거하고, SDS-PAGE에 의해 분리하였다. 웨스턴 블롯 분석을 수행하여 가열 후 세포 용해물에 남아있는 C/EBPβ 및 β-튜불린을 검출하였다.

[0135] 미처리된 U251 세포로부터의 열 변성된 세포 용해물의 웨스턴 블롯 분석에서, 변성된 C/EBPβ는 웨스턴 블롯 상에서 C/EBPβ 단백질 밴드의 상실에 의해 나타낸 바와 같이, 58℃에서 용액에서 떨어졌다(**도 4**, 패널 A). 10 μM ST101로 처리된 세포는 C/EBPβ의 증가된 검출에 의해 나타낸 바와 같이, 58℃에서 C/EBPβ의 증가된 안정성을 나타내었으며, 이는 ST101과 C/EBPβ 사이의 상호작용을 나타낸다(**도 4**, 패널 A 및 B). 대조군 실험은 ST101이 CETSA 검정에서 ATF5에 대한 증가된 안정성을 부여하지 않았음을 나타내었으며, 이는 C/EBPβ와의 상호작용의 특이성 및 CD 데이터와의 일치를 입증한다.

[0136] 이량체 교환을 평가하기 위한 CD 분광법을 사용한 추가의 실험은 C/EBPβ가 ATF5에 대한 것보다 ST101에 대한 더 큰 친화도를 나타냄을 입증하였다. 이들 실험에서, ST101이 C/EBPβ의 bZIP 도메인을 함유하는 펩티드와 사전 혼합되었을 때, ATF5의 bZIP 도메인을 함유하는 펩티드의 첨가는 신호 획득 없음으로 입증된 바와 같이, ST101을 대체할 수 없었다(**도 5**, 패널 A). 대조적으로, ST101이 ATF5 bZIP 펩티드와 사전 혼합되었을 때, C/EBPβ bZIP 펩티드의 첨가는 신호 획득을 초래하여, C/EBPβ bZIP 펩티드와 상호작용하는 ST101의 것과 동일한 피크를 생성하였다(**도 5**, 패널 B). 이들 데이터는 ST101이 첨가되었을 때 C/EBPβ+ATF5 스펙트럼의 이동에 의해 나타낸 바와 같이, ATF5에 비해 ST101과의 C/EBPβ의 우선적인 상호작용을 입증한다.

[0137] ATF5와의 C/EBPβ 상호작용의 ST101 억제를 정량화하기 위해, 경쟁적 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA) 형식을 사용하였다. C/EBPβ(3.6 ng/웰)를 4℃에서 밤새 인큐베이션하여 384-웰 플레이트(Nunc MaxiSorp, ThermoSci)에 고정화하였다. 결합되지 않은 단백질을 tris-완충 식염수(TBS) + 0.1% Tween(TBST)으로 3회 세척하여 제거한 다음, 웰을 TBS 중 5% 소 혈청 알부민으로 4℃에서 1시간 동안 차단하였다. 차단 완충액을 제거한 후, ST101을 TBS에 희석하고 4℃에서 1시간 동안 적절한 웰에 첨가하고, 웰을 TBST로 3회 세척하였다.

[0138] 다음으로, 1 ng 재조합 ATF5를 4℃에서 18-시간 인큐베이션 전에 각각의 웰에 첨가하고, 결합되지 않은 단백질을 TBST로 3회 세척한 후 제거하였다. 플레이트-결합된 ATF5를 4℃에서 1:1000 희석 토끼-항-ATF5 항체(ab60126, Abcam) 이어서 1:1000 염소-항-토끼 IgG-HRP 항체(ab6721, Abcam)와 1-시간 인큐베이션하고, 각각의 항체 인큐베이션 후 TBST로 3회 세척하고, 50 μL TMB 기질에 의해 검출하였다. 반응을 25 μL 2.5M 황산을 첨가하여 중지시키고, 흡광도를 SpectraMax M3 플레이트 판독기(Molecular Devices)를 사용하여 450 nm에서 검출하였다. ST101 IC_{50}을 GraphPad Prism 8.3.0 소프트웨어를 사용하여 4가지 매개변수 및 가변 기울기에 따라 비선형 회귀에 의해 계산하였다.

[0139] 초기 실험은 3.6 ng C/EBPβ가 플레이트-결합된 조건 하에, ATF5 회합이 1.0 nM의 K_d를 초래하였음을 결정하였다(**도 6**, 패널 A). 후속 실험에서, 증가하는 농도의 ST101을 일정한 농도의 1 nM ATF5에 첨가하여, ATF5의 검출에서 용량 의존적 감소를 초래하였다(**도 6**, 패널 B). 비선형 4개 매개변수 분석은 C/EBPβ와의 ATF5 회합의 ST101 억제에 대한 IC_{50}이 24.6±0.9 nM인 것으로 결정하였다. 이들 데이터는 CD 이량체 교환 실험을 뒷받침한다.

[0140] **실시예 3. ST101은 나이브(Naïve) C57BL/6 마우스에서 혈액-뇌 장벽을 침투한다**

[0141] ST101의 전신 투여가 온전한 혈액-뇌 장벽을 갖는 동물의 뇌에 들어갈 수 있는지 여부를 결정하기 위해, 단일 전신 투여 후 나이브 C57BL/6 뇌 절편에서 ST101의 면역조직화학(IHC) 분석을 수행하였다. ST101(25 mg/kg) 또는 비히클을 측면 꼬리 정맥에 정맥내 주사로 투여하였다(n=3/그룹). 주사 2시간 후, 마우스를 안락사시켰다. 뇌를 수집하고 4% 파라포름알데하이드에 저장하였다. 조직을 DAB 접합된 항-토끼 2차 시약으로 검출된 토끼 다클론 항-ST101 항체를 사용하여, 2 μM 절편 상에서 IHC 염색을 위해 처리하였다.

[0142] ST101을 투여받은 마우스의 뇌 절편은 ST101에 대한 세포 및 미세혈관 염색의 증거를 나타낸 반면(**도 7**, 패널 B), 비히클을 투여받은 마우스의 뇌 절편에서는 ST101 염색의 증거가 없었다(**도 7**, 패널 A). 이들 데이터는 ST101이 전신 펩티드 투여 후 나이브 C57BL/6 에서 혈액-뇌 장벽을 가로지름을 나타낸다.

[0143] **실시예 4. ST101은 안전하다**

[0144] 안전성 약리학

[0145] 중추 신경계, 심혈관계, 및 호흡기계에 대한 ST101의 잠재적인 약리학적 효과를 시노몰구스 원숭이에서 우수 실험실 규범(GLP) 하에 28-일 세포독성, 독성역학(TK) 및 안전성 약리학 연구로 조사하였다. 아래에 보다 상세하게 기재된 바와 같이, 이들 시스템 중 임의의 것에 대한 ST101의 효과는 관찰되지 않았다.

[0146] 심전도(ECG) 검사를 투여전 및 마지막 용량 투여 무렵에 수행하였다. 취급-관련 스트레스를 최소화하려는 노력으로, 원숭이를 대략 10 mg/kg의 용량으로 100 mg/mL 케타민 하이드로클로라이드를 근육내 주사하여 진정시켰다. ECG를 위원회 인증 수의학 심장전문의에 의해 정성적으로 및 정량적으로 평가하였다(예를 들어, QT 및 HR; QTc). ECG를 리드 I, II, III, VR, VL, 및 VF를 사용하여 기록하였다. 심전도 평가는 ST101-관련 변화 없음을 입증하였다.

[0147] 부수적 ECG 및 호흡기 평가를 위해, ECG 파형 및 환기 동안 흉부 및 복부 팽창의 파형을 사용하여 IV 볼루스를 통해 대조군(0 mg/kg) 또는 30 mg/kg의 ST101을 투여받은 동물에서 유도된 정성적 심전도 및 환기 변화를 비교하였다. 전반적으로, 총 16마리(수컷 8마리 및 암컷 8마리; n=4/그룹/성별) 원숭이의 ECG 추적을 평가하였다. 정성적 평가를 위해, 각각의 동물의 추적을 ECG의 리듬 및/또는 형태 이상, 및 흉부 및 복부 호흡기 리드에 대해 육안으로 검사하였다. 정성적 분석은 다른 인자 중에서, 추적의 해석적 품질, 근육 떨림 또는 60 Hz 인공물의 존재 또는 부재, 시간 경과에 따른 전압의 일반적인 변경, ST-T의 구성, 및 리듬을 평가하였다. 데이터는 대조군 동물과 고용량 동물, 뿐만 아니라 대조군과 고용량 그룹에 대한 투여후와 기준선 사이를 비교하였다.

[0148] 모든 원숭이는 (일반적으로) ECG 및 폐용량곡선이 개별적으로 분석될 수 있는 짧은 기록 기간을 가졌다. ST101에 기인할 수 있는 심전도 또는 폐용량곡선에서 주관적인 변화는 없는 것으로 보였다.

[0149] 간접 검안경 검사를 의원회 인정 수의학 안과의사에 의해 연구 배정 전 및 치료 기간의 종료 무렵에 진정된 원숭이에서 수행하였다. 그룹 평균 안과학의 평가는 ST101-관련 변화가 없음을 보였다.

[0150] 순응 기간 동안(치료 전 기준선) 및 치료 및 회복 기간의 종료 무렵에 직원 수의사 또는 훈련된 피지명자에 의해 원숭이로부터의 호흡을 기록하였다. 호흡 수를 30초 간격으로 기록한 다음 호흡/분에 도달하도록 2를 곱하였다. 그룹 평균 호흡 평가는 ST101-관련 변화가 없음을 입증하였다.

[0151] 혈압(수축기, 확장기 및 평균 동맥압)은 연구 배정 전 및 치료 및 회복 기간의 종료 무렵에 원숭이에서 수집하였다. 혈압은 호흡 검사와 동시에 수집하였다. 취급-관련 스트레스를 최소화하려는 노력으로 원숭이를 진정시켰다. 그룹 평균 혈압 평가는 ST101-관련 변화가 없음을 입증하였다.

[0152] 유사알레르기 반응 평가

[0153] 유사알레르기 반응의 임상 징후는 체온 감소, 활동 감소, 및 털세움을 포함할 수 있다. 유사알레르기 반응의 임상 징후가 2-3분에 걸친 10 mg/kg ST101의 정맥내(IV) 볼루스 투여 후 시노몰구스 원숭이에서 관찰되지 않은 반면, 30 mg/kg의 투여는 동물이 24시간 이내에 회복되는 중등도 저활동을 초래하였다. 주입 속도를 2-3분에서 1-2시간으로 확장시켜 내약성이 좋은 30 mg/kg ST101의 용량을 초래하였다.

[0154] 1시간에 걸친 50 mg/kg 또는 30분에 걸친 30 mg/kg의 IV 주입은 저활동 및 안면홍조를 초래하였으며, 동물은 몇 시간내에 회복되었다. 후속 연구는 11-일 기간에 걸쳐 4회 1시간 주입으로 투여된 7.5, 15 및 30 mg/kg의 용량 수준에서 원숭이의 유사알레르기 징후가 없음을 입증하였다(n=2/성별/그룹).

[0155] 원숭이의 28-일 GLP 독성 연구에서(실시예 5 참조), 6마리 암컷 중 1마리에서 30 mg/kg 그룹의 처음 ST101에 노출 후 유사알레르기 반응 징후가 나타났고 수컷에서는 나타나지 않았다. 이 동물은 몇 시간 후에 먹고 활동하기 시작하였고, 개입이 적용되지 않았으므로, 회복중인 것으로 보였다. ST101 노출로부터 대략 48시간 후, 동물의 상태는 무활동 및 느린 심박동을 특징으로 하여 악화되었고, 동물은 이후에 곧 사망하였다. 이 연구에서 유사알레르기 반응의 다른 징후는 없었다(총 36마리의 ST101 처리된 동물의 경우, n=4 핵심 + 2 회복 원숭이/성별/그룹). 이들 연구에서 허용되는 ST101 노출 수준은 클리닉에서 테스트되는 것보다 상당히 더 크다. 따라서, 유사알레르기는 인간 대상체에서 발생하는 것으로 예상되지 않는다.

[0156] **실시예 5. ST101은 내약성이 좋다**

[0157] 연구 1

[0158] 7.5 mg/kg, 15 mg/kg, 및 30 mg/kg의 용량으로 반복된 1시간 IV 주입 후 ST101의 내약성을 12-일 연구의 시노몰구스 원숭이에서 평가하였다. **표 1**에 제공된 연구 설계는 4개 그룹(ST101의 각각의 용량에 대한 그룹, 및 비히클 대조군) 각각이 4마리 원숭이(각각의 성별당 2마리 원숭이)로 구성되고, 11일에 걸쳐 ST101 또는 비히클 대조군을 4회 투여받았음을 나타낸다.

[0159] **표 1. 시노몰구스 원숭이에서 12-일 연구 설계 (1-시간 IV 주입으로 주 2회 투약)**

[0160]

그룹	ST101 용량 [mg/kg/일]	투여 일정 [연구 일]	대상체 [n]	
			수컷	암컷
1	0 (비히클 대조군)	1, 4, 8, 11	2	2
2	7.5	1, 4, 8, 11	2	2
3	15	1, 4, 8, 11	2	2
4	30	1, 4, 8, 11	2	2

[0161] 용량 투여 전 및 후에 다양한 시점에서 1일 및 11일째에 혈액 표본을 수집하였다. 조직을 뇌, 방광, 심장, 장, 신장, 간, 및 폐를 포함한 다양한 기관에서 수집하고, 평가를 위해 사정하고 처리하였다.

[0162] 결과는 임상 관찰, 체중, 임상 화학, 또는 혈액학에서 유의한 변화가 없음을 나타내었다. 7.5 mg/kg-용량을 받은 2마리 수컷, 15 mg/kg-용량을 받은 1마리 수컷, 30 mg/kg-용량을 받은 1마리 수컷, 및 모든 처리된 암컷에 대해 하나 이상의 주사 부위에서 투명한 유체가 관찰되었다. ST101 투여와 관련한 다른 거시적 발견은 관찰되지 않았다.

[0163] ST101의 7.5 mg/kg-용량을 받은 1마리 수컷, 15 mg/kg-용량을 받은 1마리 수컷, 및 30 mg/kg-용량을 받은 2마리 수컷, 및 모든 처리된 암컷에 대해 마지막 주사 부위에서 경미하거나 또는 현저한 혈전증이 언급되었다. 다른 거시적 ST101-관련 발견은 관찰되지 않았다.

[0164] 시노몰구스 원숭이에서 7.5 mg/kg, 15 mg/kg, 및 30 mg/kg 용량의 투여는 주사 부위에서 혈전증, 급성 염증, 적혈구 축적, 섬유증, 및 부종을 야기하였다. 이러한 발견은 ST101의 투여에 의해 야기된 국소 자극과 일치하였다. 다른 ST101-관련 거시적 또는 현미경적 발견은 없었다.

[0165] 이 연구 결과에 기반하여, 30 mg/kg의 용량은 ST101에 대한 최대비중증독성용량(HNSTD) 및 무영향관찰용량(NOAEL)인 것으로 간주되었다.

[0166] 연구 2

[0167] 이 연구에서, 수컷 및 암컷 시노몰구스 원숭이에게 총 8회 용량 동안 매주 2회 1-시간 정맥내(IV) 주입으로 각각 그룹 2, 3, 및 4에 상응하는 7.5, 15, 및 30 mg/kg 용량의 테스트 물품 ST101, 또는 비히클 대조군(그룹 1)을 투여0하였다. 마지막 용량은 암컷의 경우 24일째 및 수컷의 경우 25일째에 투여하였다. **표 2**에 제공된 연구 설계는 4개 그룹(ST101의 각각의 용량에 대한 그룹, 및 비히클 대조군) 각각이 핵심 연구에서 8마리 원숭이(각각의 성별에 대해 4마리), + 회복 그룹에서 4마리 원숭이(각각의 성별에 대해 2마리)로 이루어졌음을 보여준다. 회복 그룹은 ST101에 최종 노출 후 2주 무치료 기간을 거쳤다.

[0168] **표 2. 시노몰구스 원숭이에서 28-일 GLP 연구 후 14-일 회복을 위한 설계**

[0169]

그룹	ST101 용량 (mg/kg/일) 1시간 IV 주입	투여 일정	핵심 대상체	
			수컷	암컷
1	0 대조군	매주 2회 x 4주 연구 일: 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25	4 + 2	4 + 2
2	7.5		4 + 2	4 + 2
3	15		4 + 2	4 + 2
4	30		4 + 2	4 + 2

[0170] 혈액 샘플을 20.0 내지 2000 ng/mL의 정량 범위로 검증된 LC-MS/MS 분석 방법을 사용하여 ST101의 혈장 농도 분석을 위해 1일째 및 24/25일째에 수집하였다. ST101에 대한 독성역학(TK) 매개변수를 그룹 2(7.5 mg/kg), 3(15 mg/kg), 및 4(30 mg/kg)에 대해 1일째 및 24/25일째에 결정하였다. 모든 동물에 대해 육안 검사 및 장기 중량과 함께 부검을 수행하였고, 모든 30 mg/kg-용량 및 대조군 핵심 연구 동물에 대해 조직병리학을 수행하였다.

[0171] 치료-관련 관찰에는 주사 부위의 부기/부종, 딱지, 벗겨진 피부, 및 상처/궤양이 포함되었다. 이들 관찰의 심각도 및 발병률은 용량 수준에 비례하여 증가하였다. 그룹 평균 체중 및 체중 증가의 평가는 ST101-관련 변화가 없음을 입증하였다.

[0172] ST101과 관련된 임상 화학 변화는 30 mg/kg-용량 그룹에서만 발생하였고 7.5 mg/kg-용량 또는 15 mg/kg-용량 그룹에서는 관찰되지 않았다. 유사하게, 혈소판 증가 및 피브로겐 증가와 같은 혈액학적 변화는 30 mg/kg-용량 그룹으로 제한되었다. 혈소판 및 피브로겐 수준 증가 뿐만 아니라 크레아티닌 포스포키나제 증가는 주사 부위의 혈관 자극과 상관관계가 있다.

[0173] 가슴 밴드가 있는 DSI Jacketed(비침습적) 외부 원격측정 시스템을 활용하여 수집된 통상적인 ECG 및 호흡기 데이터의 평가는 치료-관련 변화가 없음을 입증하였다.

[0174] 기관 중량 매개변수의 ST101-관련 변화에는 30 mg/kg-용량 수컷의 말기 부검에서 증가된 간 및 신장(뇌 및 체중에 대해 절대 및 상대) 중량 및 30 mg/kg-용량 암컷의 말기 부검에서 증가된 간 및 신장(체중에 대해 절대 및 상대) 중량이 포함되었다. 15 mg/kg-용량 암컷의 경우 절대 부신 및 신장 중량이 증가하였다. 증가된 간 및 신장(뇌 및 체중에 대해 절대 및 상대) 중량 및 감소된 흉선(뇌 및 체중에 대해 절대 및 상대) 중량은 회복 부검 시 30 mg/kg-용량 동물에서 여전히 분명하였다.

[0175] 현미경 검사 시, 30 mg/kg ST101이 주어진 2마리 수컷 및 3마리 암컷에 대해 신장의 최소 내지 중간 요세관 괴사가 언급되었고, 30 mg/kg ST101이 주어진 1마리 암컷에 대해 요세관의 경미한 단백질성 특색이 언급되었다. 15 mg/kg이 주어진 2마리 수컷 및 1마리 암컷에 대해 신장의 최소 내지 현저한 요세관 괴사가 언급되었다. 회복 동물의 경우, 최소 내지 경미한 요세관 괴사가 1마리 7.5 mg/kg-용량 수컷, 2마리 15 mg/kg-용량 수컷, 1마리 30 mg/kg-용량 수컷 및 1마리 15 mg/kg-용량 암컷의 신장에서 언급되었다. 요세관 변화는 이 연구 동안 할당된 기간에서 부분적으로 가역적이었다. 신장 병변의 빈도 및 중증도는 투여된 용량과의 명백한 관계를 입증하지 않았으며, 핵심 및 회복 동물에서 낮은 중증도로 산발적으로 발생하였다.

[0176] 말기 부검 시, 육안 병변에는 30 mg/kg이 주어진 4마리 수컷 중 2마리 및 4마리 암컷 중 2마리에 대해 하나 이상의 주사 부위에서 언급된 투명한 유체가 포함되었다. 하나 이상의 주사 부위에서 딱지/병변/적색 착색은 7.5 mg/kg이 주어진 4마리 수컷 중 1마리 및 4마리 암컷 중 1마리, 15 mg/kg이 주어진 4마리 수컷 중 3마리 및 4마리 암컷 중 1마리 및 30 mg/kg이 주어진 4마리 수컷 중 3마리 및 모든 암컷에 대해 언급되었다. 마지막 주사 부위에서 경미한 내지 현저한 혈전증이 또한 각각의 용량 그룹의 일부 동물에 대해 언급되었으며, 30 mg/kg-용량 그룹에서 더 큰 빈도로 발생하였다. 회복 부검 시, 하나 이상의 주사 부위에서 딱지/병변/적색 착색은 15 mg/kg이 주어진 2마리 암컷 중 1마리 및 30 mg/kg이 주어진 2마리 수컷에 대해 언급되었다.

[0177] 이러한 결과에 비추어, HNSTD는 15 mg/kg 용량인 것으로 간주되었고, NOAEL은 7.5 mg/kg 용량인 것으로 간주되었다.

[0178] **실시예 6: 고형 종양이 있는 환자에게 ST101의 투여**

[0179] 진행성 절제불가능 및 전이성 고형 종양이 있는 환자에서 정맥내로 투여된 ST101의 안전성, 내약성, PK, 약력학(PD), 및 개념 증명 효능을 결정하기 위해 공개 라벨 1-2상 용량 발견 연구를 수행하였다. 연구는 다음 2 단계로 이루어진다: (1) 용량 증량 단계, 및 (2) 확장 단계.

[0180] 용량 증량 단계

[0181] *연구 설계*

[0182] 용량 증량 단계는 생존에 영향을 미칠 수 있는 모든 이용가능한 요법에 대해 불응성 또는 불내약성인 임의의 종양 유형의 국소 진행성 또는 전이성 흑색종, 암종, 또는 육종으로 진단된 환자에게 ST101의 정맥내 투여를 수반한다. 용량 코호트는 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 및 16 mg/kg이며, 모든 코호트에서 매주 1회(QW) 투여하고; 가장 높은 용량 수준은 격주(Q2W)로 투여될 수 있다. 투여는 적어도 90분의 총 주입 지속기간 동안 IV 주입을 통해 이루어진다. ST101은 0.9% 식염수에 희석된 트레할로스 및 락트산을 포함하는 약제학적 조성물로 제공된다.

[0183] 주입-관련 반응(IRR)은 ST101의 투여 동안 및/또는 후에 발생할 수 있다. 이러한 반응은 발열, 오한/경직, 빈맥, 빈호흡, 저혈압, 기관지 경련, 및 다른 인식된 증상을 포함할 수 있다. IRR은 관련 증상이 2일 초과로 지속되지 않는 한 DLT로서 간주되지 않을 것이다. IRR은 DRC에 의해 투여 경로 및 지속기간의 타당성을 평가하는 데 사용될 것이다.

[0184] 표준 의료 관리를 통해 환자의 편안함을 유지하기 위해 지지 요법 조치가 수행될 수 있다. 이러한 조치는 주입 중지 또는 늦춤, 디펜하이드라민, 아세트아미노펜, 및 NSAID, 결정질 수액, 산소, 기관지 확장제, 및, 예를 들어, 다음과 같이 임상적으로 필요한 다른 약제를 포함한다:

[0185] a. IV 또는 경구(PO) 투여에 의한 아세트아미노펜/파라세타몰, 650-1000 mg;

[0186] b. IV 또는 PO 투여에 의한 디펜하이드라민, 25-50 mg;

[0187] c. IV 또는 PO 투여에 의한 클로르페나민, 5-10 mg;

[0188] d. IV 또는 PO 투여에 의한 라니티딘, 50 mg;

[0189] e. PO 투여에 의한 이부프로펜, 200-400 mg;

[0190] f. PO 투여에 의한 나프록센, 500 mg;

[0191] g. IV(가온) 투여에 의한 생리식염수 0.9%, 1L 또는 PRN;

[0192] h. IV 또는 PO 투여에 의한 프로클로르페나진, 5-10 mg;

[0193] i. IV 또는 PO 투여에 의한 온단세트론, 4-16 mg;

[0194] j. IV 투여에 의한 덱사메타손, 5-10 mg;

[0195] k. IV 투여에 의한 하이드로코르티손, 100 mg 1회;

[0196] l. IV 투여에 의한 하이드로코르티손, 50 mg q6h.

[0197] 첫번째 주입에서 관련 IRR을 경험한 환자는 최소한의 디펜하이드라민 및 아세트아미노펜의 모든 후속 주입에서 예방조치를 받으며, 이는 주입 동안 발생하는 IRR을 예상하여 ST101 투여 전에 투여되어야 한다.

[0198] *결과*

[0199] 용량 증량 단계가 진행 중이다. 코호트 1-4의 모든 환자(용량 수준 각각 0.5, 1, 2, 및 4 mg/kg; 코호트 1-3 각각에 대해 n=3; 코호트 4에 대해 n=6)는, 코호트 4의 1명의 환자가 질환 진행으로 인해 모든 용량을 받지 못했던 것을 제외하고, 21-일 DLT 기간을 완료하였다. 코호트 5(6 mg/kg)에서, 1명의 환자는 DLT 기간을 완료하였고 2명의 환자는 DLT 기간에 있다. 코호트 5의 환자에게 투약 2일 전 및 당일에 10 mg 몬텔루카스트 PO, 투약 당일에 20 mg 파모티딘 PO 또는 IV, 및 투약 당일에 10 mg 클로르페나민 PO 또는 50 mg 디펜하이드라민 IV를 투여하였다. 알레르기와 같은 다른 병태가 있는 환자에게 몬텔루카스트와 같은 2차 제제를 매일 투여할 수 있다.

[0200] 코호트 1의 1명의 환자 및 코호트 3의 2명의 환자는 적어도 18주 동안 종양의 방사선학적 평가(크기의 30% 감소 및 20% 증가)에 의해 결정된 바와 같이, 안정 질환을 나타내었다. 특히, 코호트 1의 환자는 46주 동안 안정 질환을 나타내었다. 환자의 질환 상태는 **도 8**에 제시되어 있다.

[0201] 모든 이용가능한 요법에 불응성인 전이성 피부 흑색종이 있는 62세 여성은 4 mg/kg ST101로 치료한 지 9주 후에 부분 반응에 도달하였다. 환자는 이전에 4가지 국소 재발을 경험하였으며, 이를 절제하고 멜팔란의 격리 림브 관류로 치료하였다. 폐로의 전이는 이필리무맙-니볼루맙 조합 요법 이어서 니볼루맙 단일요법으로 치료하였으며, 뇌하수체염으로 중단하였다. 후속 전두엽 뇌 전이를 진행성 질환 PD까지 완전 절제, 방사선요법,

및 니볼루맙으로 치료하였다. 후속 속립성 폐 전이를 큰 복부 종괴 절제 후 PD까지 대략 16개월 동안 테모졸로마이드로 치료하였다. 환자는 본 연구를 시작하기 직전에 이상근 전이로 진단받았다. 대조 CT에 의해 측정된 ST101 요법에 대한 환자 반응 평가는 **표 3**에 제시되어 있다.

[0202] **표 3. 흑색종 환자의 종양 반응**

표적 병변*	기준선	9주	15주
폐 LUL	12	15	12
폐 LLL	11	6	6
골반 연조직 L 이상근	36	19	18
복부 L 직근	15	12	10
표적 병변의 합	74	52	46
기준선 대비 % 변화	-	**30%**	**38%**
비-표적 병변			
양쪽 폐에 다발성 산재성 결절	있음	**감소**	**감소+**
신규 병변	-	없음	없음
전반적인 반응	-	**PR**	**PR**

*가장 긴 직경(mm); +9주가 아니라 기준선과 비교; PR = 부분 반응

[0203]

[0204] 환자의 병변 중 하나를 제외한 모든 병변이 수축되었으며, 가장 큰 병변은 상당한 수축을 보였다. 게다가, 비표적 다발성 폐 병변은 크기가 감소하였고 신규 병변은 검출되지 않았다.

[0205] 환자가 경험한 대부분의 AE는 처음 6시간에 발생하고 항히스타민/항염증제로 제어되는 IRR였다. IRR을 관리하기 위해, 환자에서 다음 조치를 사용하였다: 항히스타민(12명의 환자 중 58%), NSAID(17%, 코호트 1, 3, 또는 4의 환자 없음), 아세트아미노펜/파라세타몰(50%), 코르티코스테로이드(42%, 코호트 1 또는 2의 환자 없음), 파모티딘(8%, 코호트 1, 2 또는 4의 환자 없음), 주입 중단(42%, 코호트 1 또는 2의 환자 없음), 및 느린 주입(42%, 코호트 1 또는 2의 환자 없음).

[0206] 혈액 샘플은 투약 전 및 첫번째 주기 동안 총 주입 기간 후 다양한 시점 및 이후 덜 빈번하게 채취하였다. QW 투약 코호트에 있고 이에 따라 21-일 치료 주기를 따르는 환자의 경우, **표 4**에 제시된 시점 후에 혈액 샘플을 채취하였다.

[0207] **표 4. QW 코호트의 혈액 채취 시점**

주기	일	시점
1	1	▪ 총 주입 기간 종료 ▪ 1 일째 주입 후 4 시간 ▪ 1 일째 주입 후 8 시간
	2	▪ 1 일째 주입 후 24 시간
	3	▪ 1 일째 주입 후 48 시간
	4	▪ 1 일째 주입 후 72 시간
	8	▪ 8 일째 주입 후 4 시간
	15	▪ 15 일째 주입 후 4 시간
2	1	▪ 주입 전 ▪ 총 주입 기간 종료 ▪ 1 일째 주입 후 4 시간 ▪ 1 일째 주입 후 8 시간
	2	▪ 환자가 밤새 입원한 경우, 1 일째 주입 후 24 시간
	8	▪ 주입 전 ▪ 8 일째 주입 후 4 시간
3+	1	▪ 주입 전 ▪ 1 일째 주입 후 4 시간

[0208]

[0209] Q2W 투약 코호트에 있고 이에 따라 28-일 치료 주기를 따르는 환자의 경우, **표 5**에 제시된 시점 후에 혈액 샘플을 채취하였다.

[0210] **표 5. Q2W 코호트의 혈액 채취 시점**

주기	일	시점
1	1	▪ 총 주입 기간 중료 ▪ 1 일째 주입 후 4 시간 ▪ 1 일째 주입 후 8 시간
	2	▪ 1 일째 주입 후 24 시간
	15	▪ 15 일째 주입 후 4 시간
2	1	▪ 총 주입 기간 종료 ▪ 1 일째 주입 후 4 시간 ▪ 1 일째 주입 후 8 시간
	2	▪ 환자가 밤새 입원한 경우, 1 일째 주입 후 24 시간
3+	1	▪ 1 일째 주입 후 4 시간

[0211]

[0212] 탠덤 질량 분광법(LC-MS)에 커플링된 액체 크로마토그래피를 통해 혈장 내 ST101 약동학(PK)을 평가하였다. 코호트 1-4에 대한 PK 결과는 C_{max} 및 AUC_t가 용량 비례적이었음을 나타내었고(**도 9**; **도 10**, 패널 A 및 B), 각각의 코호트는 주입 후 4시간에 ST101의 최소 축적을 나타내었다(**도 11**). 게다가, 각각의 코호트에 대한 T_{max}는 평균 제거 반감기가 코호트 사이에 상이하지만, 주입 종료시 또는 무렵이었다. PK 결과는 **표 6**에 요약되어 있다.

[0213] **표 6. 주기 1의 약동학 매개변수 요약**

매개변수	코호트 1 (n=3)		코호트 2 (n=3)		코호트 3 (n=3)		코호트 4 (n=3)	
	평균	SD	평균	SD	평균	SD	평균	SD
C_{max} (ng/mL)	1560	201	3890	1100	10500	1450	17700	10300
T_{max} (h)	1.66	0.207	1.63	0.136	2.78	1.33	1.22	1.81
AUC_{0-t} (h*ng/mL)	10400	5850	42000	7610	143000	64400	206000	129000
T_{last} (h)	28.2	20	72.9	0.5	135	55.5	117	59
AUC_{0-8} (h*ng/mL)	5710	1610	16300	3790	46300	11500	68500	33600
AUC_{0-inf} (h*ng/mL)	17100*	3940*	48400	8560	154000	64400	227000	139000
$t_{½}$ (h)	18*	9.56*	28.7	1.79	41.2	11.7	37.8	15.8
제거율 (L/h)	2.5*	1.23*	1.68	0.512	1.21	0.38	1.73	0.70
V_z (L)	56.5*	2.6*	70.5	26.2	69.9	20.6	95.6	57.2

[0214] * n=2를 기준으로 계산됨

[0215] ST101의 종양 흡수는 면역조직화학 분석에 의해 결정하였다. 스크리닝 동안, 즉 ST101로 치료 전, 치료의 주기 2 동안 환자에서 수집된 생검 샘플을 처리하고 토끼 다클론 항-ST101 항체를 사용하여 ST101에 대해 면역검정하였다. 절편은 위원회 인증 병리학자가 분석하였고 ST101 흡수를 나타내는 세포의 유병률에 기반하여 점수 매겼다. 데이터는 ST101 용량이 증가함에 따라 종양으로의 ST101 흡수가 증가함을 나타낸다(**도 12**). ST101 노출 전 스크리닝 동안 환자에서 수집된 모든 생검은 ST101 면역염색에 대해 음성이었다.

[0216] 종양 세포 증식에 대한 ST101의 영향을 면역조직화학 분석으로 결정하였다. 스크리닝 및 치료의 주기 2 동안 환자에서 수집된 생검 샘플을 처리하고 Ki67의 존재에 대해 면역검정하였다. 절편은 위원회 인증 병리학자가 분석하였고 Ki67 신호 강도에 기반하여 점수 매겼다. 데이터는 감소된 Ki67 염색에 의해 입증된 바와 같이, Ki67 신호가 ST101 노출 후 감소하였음을 나타낸다(**도 13**).

[0217] 약력학 평가는 기계적으로 연관된 유전자 이상 및 시간 경과에 따른 변화에 대한 순환 무세포 데옥시리보핵산(DNA) 분석, 및 기준선에서 및 정량적 역전사효소(qRT)-폴리머라제 연쇄 반응(PCR), 나노스트링(Nanostring), 및 면역조직화학(IHC)을 사용하여 처리 시 종양 분석을 포함한다.

[0218] 확장 단계

[0219] 연구는 가장 높은 증대 코호트에 도달하거나 또는 주어진 용량 수준에서 주목할 만한 효능이 관찰되고, 권장 2상 용량(RP2D)이 선택되면, 확장 단계로 진행한다. RP2D의 선택은 안전성, PK, PD, 및 효능 데이터에 기반한다. RP2D는 최대 허용 용량(MTD), "활성 용량"(전임상, 안전성, PK, PD, 및 효능 데이터에 기반하여 선택된 항-종양 활성을 갖는 것으로 간주되는 ST101의 용량), 또는 MTD와 활성 용량 사이의 대체 용량일 수 있다. 확장 단계는 하기 기재된 4가지 특이적 종양-유형 코호트로 이루어진다.

[0220] 확장 단계 코호트에서 적어도 10명의 환자는 등록 전 28일 이내에 스크리닝 시 필수 핵심 또는 절제 생검을 갖는다. 동일한 병변의 치료 후 생검은 실현가능한 경우, 및 종양이 스크리닝 생검을 받은 환자에서 지속되는 경

우 수행된다. 임의의 다른 병변의 추가의 임의적 생검이 수행될 수 있다.

[0221] *유방암 환자에게 ST101의 투여*

[0222] 이전 1-2 호르몬 기반 요법 후 진행된 호르몬 수용체-양성(HR^{pos}), 국소 진행성 또는 전이성 유방암(LA/MBC)으로 진단받은 환자에게 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 또는 16 mg/kg 용량의 ST101을 매주 1회, 또는 16 mg/kg ST101을 격주마다 투여하였다. 사이클린-의존적 키나제 4/6(CDK4/6) 억제제, 라파마이신의 포유류 표적(mTOR) 억제제, 또는 화학요법을 사용한 이전 치료는 단일 요법으로 또는 병용 용법으로 허용된다.

[0223] RECIST 1.1(Eisenhauer 2009)을 사용하여 종양 반응, 질환 제어율(DCR), 반응 지속기간(DOR), 및/또는 무진행 생존(PFS)을 평가하였다. 컴퓨터 CT 또는 MRI를 활용하여 종양 반응을 평가하였으며, CT는 바람직한 영상화 기술이다. CR 또는 PR의 방사선학적 평가는 반응의 초기 평가가 관찰되고 적어도 4주 후에 확인 영상이 필요하다. SD의 방사선학적 평가는 반응의 초기 평가가 관찰되고 적어도 6주 후에 확인 영상이 필요하다. PFS는 처음 치료 투여 시간부터 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지를 결정한다. DOR은 처음 관찰된 반응 시간부터 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지를 결정한다.

[0224] *흑색종 환자에게 ST101의 투여*

[0225] 면역 체크포인트 억제제(CPI)로 치료 후 또는 치료 중에 진행되고 1-2 이전 차수의 용법을 받은 진행성/전이성 흑색종으로 진단받은 환자에게 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 또는 16 mg/kg 용량의 ST101을 매주 1회, 또는 16 mg/kg ST101을 격주마다 투여하였다. BRAF 돌연변이된 질환이 있는 환자는 또한 하나의 차수의 적절한 표적화 요법을 받아야 한다.

[0226] RECIST 1.1(Eisenhauer 2009)을 사용하여 종양 반응, 질환 제어율(DCR), 반응 지속기간(DOR), 및/또는 무진행 생존(PFS)을 평가하였다. 컴퓨터 CT 또는 MRI를 활용하여 종양 반응을 평가하였으며, CT는 바람직한 영상 기술이다. CR 또는 PR의 방사선학적 평가는 반응의 초기 평가가 관찰되고 적어도 4주 후 확인 영상이 필요하다. SD의 방사선학적 평가는 반응의 개시 평가가 관찰되고 적어도 6주 후 확인 영상이 필요하다. PFS는 처음 치료 투여 시간부터 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지를 결정한다. DOR은 처음 관찰된 반응 시간부터 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지를 결정한다.

[0227] *교모세포종 환자에게 ST101의 투여*

[0228] 하나의 표준 치료 레지멘 후 (개질된 RANO 기준에 따라) 재발되거나 또는 진행된 원발성 (신생) GBM으로 진단받은 환자에게 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 또는 16 mg/kg 용량의 ST101을 매주 1회, 또는 16 mg/kg ST101을 격주마다 투여하였다. 표준 요법은 최대 외과적 적출, 방사선요법, 및 방사선요법과 병용하는 테모졸로마이드 또는 테모졸로마이드를 사용한 애쥬번트 화학요법으로서 정의된다. 1차 요법에 대한 애쥬번트로서 종양 치료 분야를 겪은 환자가 적격하다.

[0229] 개질된 RANO(Ellingson 2017)를 사용하여 종양 반응, 질환 제어율(DCR), 반응 지속기간(DOR), 및/또는 무진행 생존(PFS)을 평가한다. 가돌리늄 강화 MRI를 활용하여 종양 반응을 평가한다. CR 또는 PR의 방사선학적 평가는 반응의 초기 평가가 관찰되고 적어도 4주 후에 확인 영상이 필요하다. SD의 방사선학적 평가는 반응의 초기 평가가 관찰되고 적어도 6주 후에 확인 영상이 필요하다. PFS는 처음 치료 투여 시간부터 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지를 결정한다. DOR은 처음 관찰된 반응 시간부터 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지를 결정한다.

[0230] *전립선암 환자에게 ST101의 투여*

[0231] 탁산, 아비라테론 및 엔잘루타마이드/아팔루타마이드를 사용한 이전 치료 후(금지되지 않거나 또는 환자가 이들 제제에 내성이 없는 한) 진행된 거세저항성 전립선암(CRPC)으로 진단받은 환자에게 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 또는 16 mg/kg 용량의 ST101을 매주 1회, 또는 16 mg/kg ST101을 격주마다 투여하였다.

[0232] 반응은 PCWG3 지침을 사용하여 등급 매겼다(Scher 2016). CT 또는 MRI를 활용하여 종양 반응을 평가한다. 진행성 질환(PD)까지 영상 평가를 수행한다. CR 또는 PR의 방사선학적 평가는 반응의 초기 평가가 관찰되고 적어도 4주 후에 확인 영상이 필요하다. 안정 질환(SD)의 방사선학적 평가는 반응의 초기 평가가 관찰되고 적어도 6주 후에 확인 영상이 필요하다. DCR, DOR 및 PFS에 대한 평가는 PCWG3 측정에 기반한다. 처음 연구 치료 투여 내지 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지의 시간은 PFS를 결정할 것이다. 처음 관찰된 반응 내지 처음 문서화된 질환 진행 또는 사망까지의 시간은 DOR을 결정할 것이다.

[0233] 참고문헌

Aguilar-Morante D, *et al.* Decreased CCAAT/enhancer binding protein beta expression inhibits the growth of glioblastoma cells. *Neuroscience* 176:110-119 (2011).

Angelastro JM, *et al.* Selective destruction of glioblastoma cells by interference with the activity or expression of ATF5. Oncogene 2006; 25: 907-916.

Asada R, *et al.* The signalling from endoplasmic reticulum-resident bZIP transcription factors involved in diverse cellular physiology. J Biochem 2011; 149: 507-518.

Bernal F, *et al.* Reactivation of the p53 Tumor Suppressor Pathway by a Stapled p53 Peptide. J. Am. Chem. Soc. 2007; 129:2456-2457.

Bezy O, *et al.* Delta-interacting protein A, a new inhibitory partner of CCAAT/enhancer-binding protein beta, implicated in adipocyte differentiation. J Biol Chem 2005; 280: 11432-11438.

Bird GH, *et al.* Biophysical Determinants for Cellular Uptake of Hydrocarbon-Stapled Peptide Helices. Nat. Chem. Biol. 2017; 12:845-852.

Bruzzoni-Giovanelli H, *et al.* Interfering peptides targeting protein-protein interactions: the next generation of drugs? Drug Discov Today 2018; 23: 272-285.

Bushweller JH. Targeting transcription factors in cancer - from undruggable to reality. Nat Rev Cancer 2019; 19: 611-624.

Cates CC, *et al.* Regression/eradication of gliomas in mice by a systemically-deliverable ATF5 dominant-negative peptide. Oncotarget 2016; 7: 12718-12730.

Demma MJ, *et al.* Omomyc Reveals New Mechanisms To Inhibit the MYC Oncogene. Mol Cell Biol 2019; 39.

[0234]

Dougherty PG, *et al.* Understanding Cell Penetration of Cyclic Peptides. Chem. Rev. 2019; 119(17):10241-10287.

Eisenhauer EA, *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer 2009; 45(2):228-247.

Ellingson B, *et al.* Modified Criteria for Radiographic Response Assessment in Glioblastoma Clinical Trials. Neurotherapeutics. 2017; 14:307-320.

Homma J, *et al.* Increased expression of CCAAT/enhancer binding protein beta correlates with prognosis in glioma patients. Oncol Rep 2006; 15: 595-601.

Huggins CJ, *et al.* C/EBPgamma suppresses senescence and inflammatory gene expression by heterodimerizing with C/EBPbeta. Mol Cell Biol 2013; 33: 3242-3258.

Karpel-Massler G, *et al.* A Synthetic Cell-Penetrating Dominant-Negative ATF5 Peptide Exerts Anticancer Activity against a Broad Spectrum of Treatment-Resistant Cancers. Clin Cancer Res 2016; 22: 4698-4711.

Kim MH, *et al.* Translationally regulated C/EBP beta isoform expression upregulates metastatic genes in hormone-independent prostate cancer cells. *Prostate* 68:1362-1371 (2008).

Lamb J, *et al.* A mechanism of cyclin D1 action encoded in the patterns of gene expression in human cancer. Cell 2003; 114: 323-334.

Lambert M, *et al.* Targeting Transcription Factors for Cancer Treatment. Molecules 2018; 23.

Lathbridge A, *et al.* Computational Competitive and Negative Design To Derive a Specific cJun Antagonist. Biochemistry 2018; 57: 6108-6118.

Lathbridge A, *et al.* Coupling Computational and Intracellular Screening and Selection Toward Co-compatible cJun and cFos Antagonists. Biochemistry 2019.

Lekstrom-Himes J, *et al.* Biological role of the CCAAT/enhancer-binding protein family of transcription factors. J Biol Chem 1998; 273: 28545-28548.

Oya M, *et al.* Increased activation of CCAAT/enhancer binding protein-beta correlates with the invasiveness of renal cell carcinoma. Clin Cancer Res 2003; 9: 1021-1027.

Pal R, *et al.* C/EBPbeta regulates transcription factors critical for proliferation and survival of multiple myeloma cells. *Blood* 114:3890-3898 (2009).

Potapov V, *et al.* Data-driven prediction and design of bZIP coiled-coil interactions. PLoS Comput Biol 2015; 11: e1004046.

[0235]

Scher HI, *et al.* End Points and Outcomes in Castration-Resistant Prostate Cancer: From Clinical Trials to Clinical Practice. J. Clin. Oncology. 2011:29(27):3695-3704.

Scher HI, *et al.* Trial Design and Objectives for Castration-Resistant Prostate Cancer: Updated Recommendations from the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group 3. J Clin Oncology. 2016:34(12):1402-1418.

Sheng Z, *et al.* An activating transcription factor 5-mediated survival pathway as a target for cancer therapy? Oncotarget 2010; 1: 457-460.

Takada K, *et al.* Targeted disruption of the BCL9/beta-catenin complex inhibits oncogenic Wnt signaling. Sci Transl Med 2012; 4: 148ra117.

Walensky LD, *et al.* Hydrocarbon-stapled peptides: principles, practice, and progress. J Med Chem 2014; 57: 6275-6288.

Yan C, *et al.* Drugging the undruggable: transcription therapy for cancer. Biochim Biophys Acta 2013; 1835: 76-85.

Zahnow CA. CCAAT/enhancer-binding protein beta: its role in breast cancer and associations with receptor tyrosine kinases. Expert Rev Mol Med 2009; 11: e12.

Zhang ZY, *et al.* Stabilization of ATF5 by TAK1-Nemo-like kinase critically regulates the interleukin-1beta-stimulated C/EBP signaling pathway. Mol Cell Biol 2015; 35: 778-788.

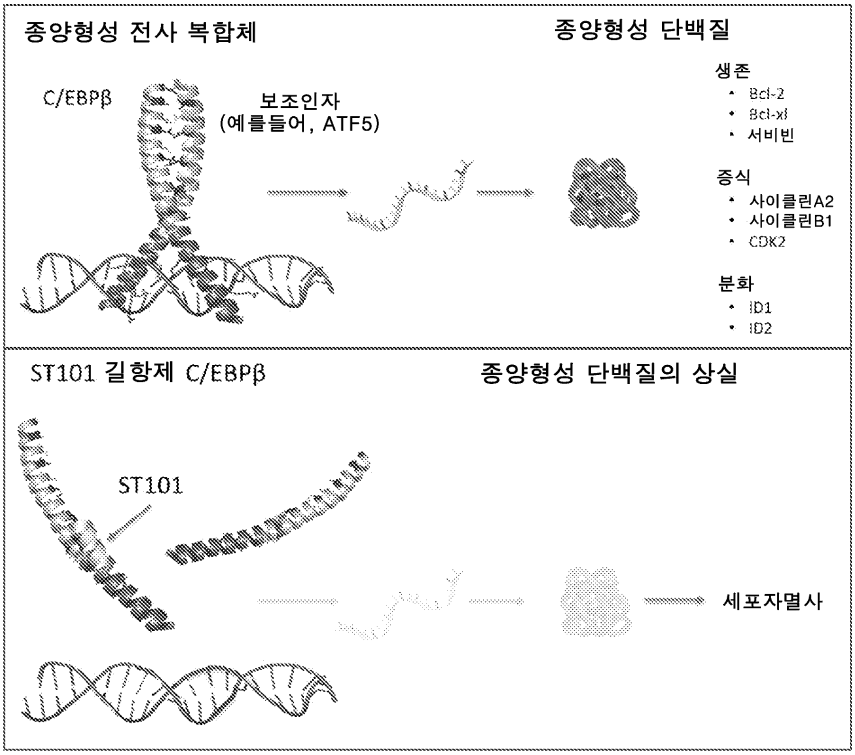
Zhao Y, *et al.* p300-dependent acetylation of activating transcription factor 5 enhances C/EBPbeta transactivation of C/EBPalpha during 3T3-L1 differentiation. Mol Cell Biol 2014; 34: 315-324.

[0236]

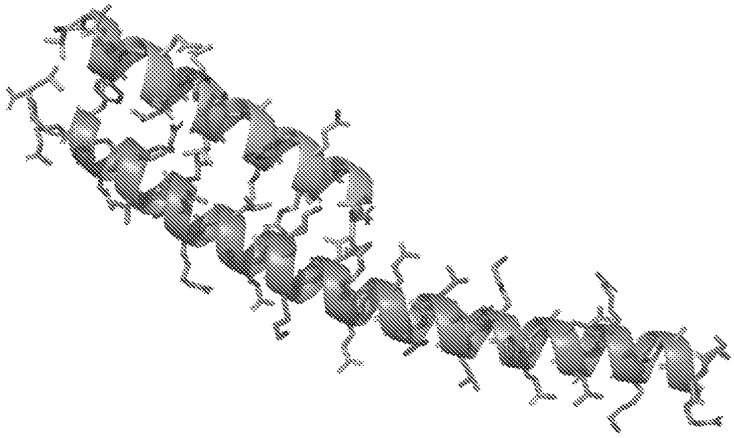
[0237] 본 발명은 하기 청구범위에 의해 추가로 기재된다.

도면

도면1

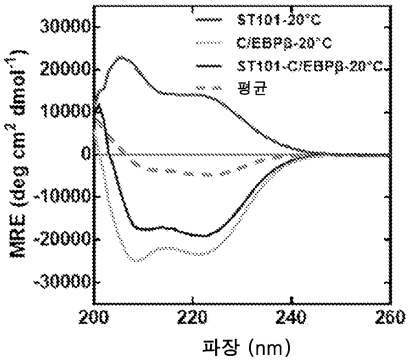


도면2

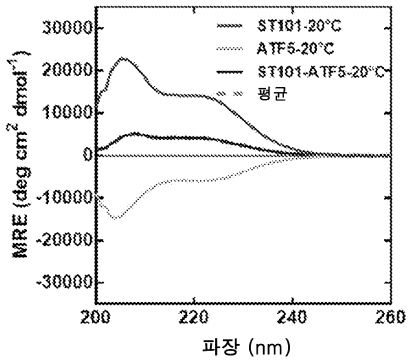


도면3

A

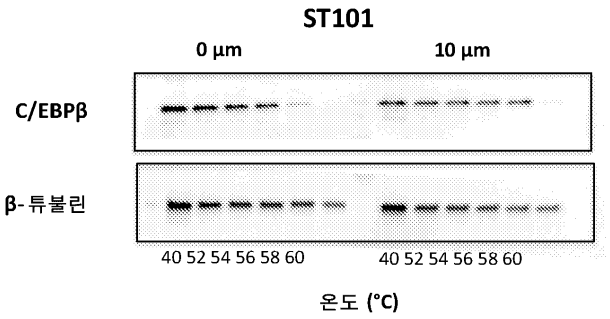

ST101-20°C
C/EBPβ-20°C
ST101-C/EBPβ-20°C
평균
MRE (deg cm^2 dmol^{-1})
30000
20000
10000
0
-10000
-20000
-30000
200
220
240
260
파장 (nm)

B

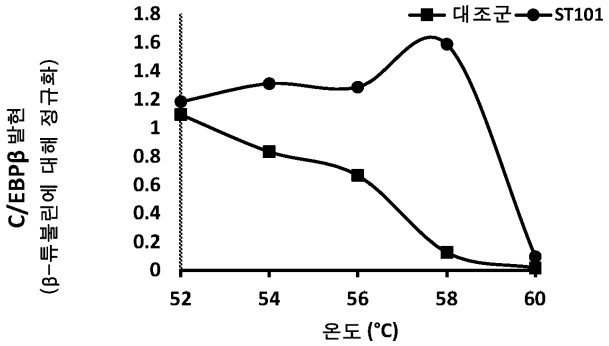

ST101-20°C
ATF5-20°C
ST101-ATF5-20°C
평균
MRE (deg cm^2 dmol^{-1})
30000
20000
10000
0
-10000
-20000
-30000
200
220
240
260
파장 (nm)

도면4

A

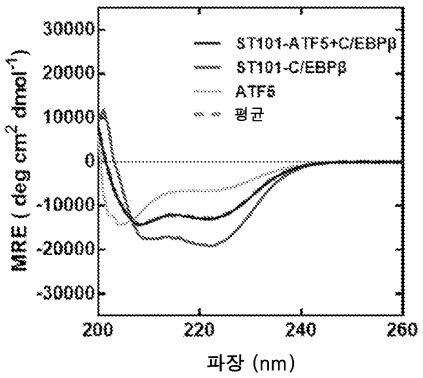

ST101
0 μm
10 μm
C/EBPβ
β-튜불린
40 52 54 56 58 60
40 52 54 56 58 60
온도 (°C)

B

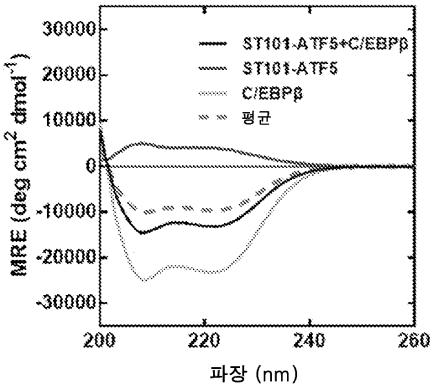

대조군
ST101
C/EBPβ 발현
(β-튜불린에 대해 정규화)
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
52
54
56
58
60
온도 (°C)

도면5

A

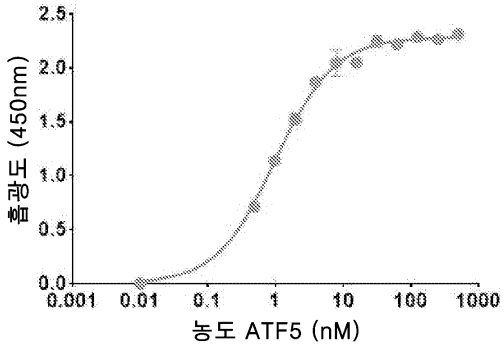

ST101-ATF5+C/EBPβ
ST101-C/EBPβ
ATF5
평균
MRE (deg cm2 dmol-1)
30000
20000
10000
0
-10000
-20000
-30000
200
220
240
260
파장 (nm)

B

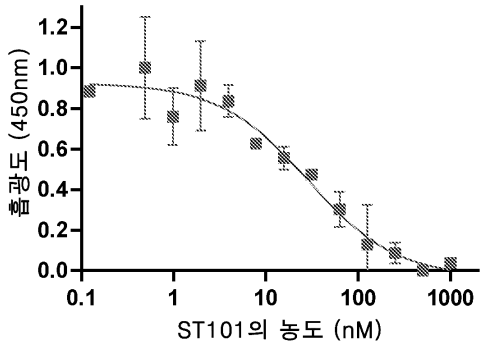

ST101-ATF5+C/EBPβ
ST101-ATF5
C/EBPβ
평균
MRE (deg cm2 dmol-1)
30000
20000
10000
0
-10000
-20000
-30000
200
220
240
260
파장 (nm)

도면6

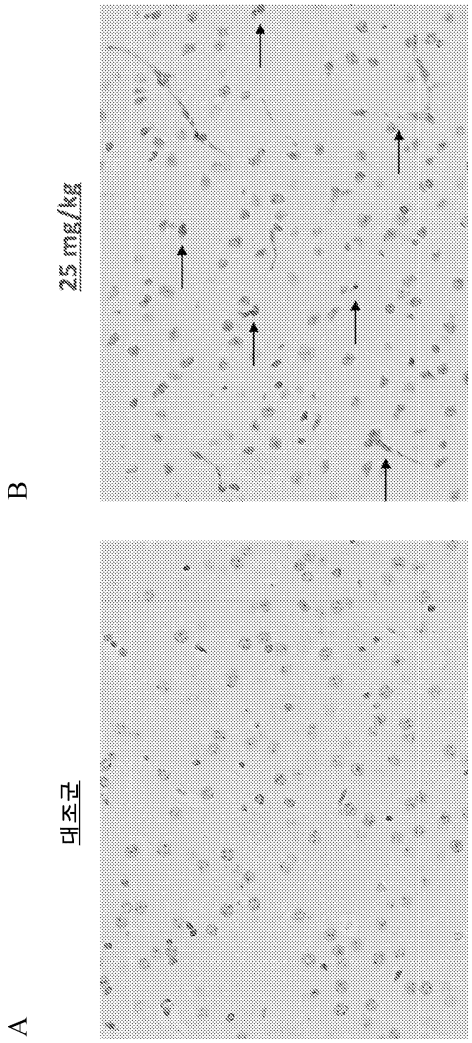
A


흡광도 (450nm)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
농도 ATF5 (nM)

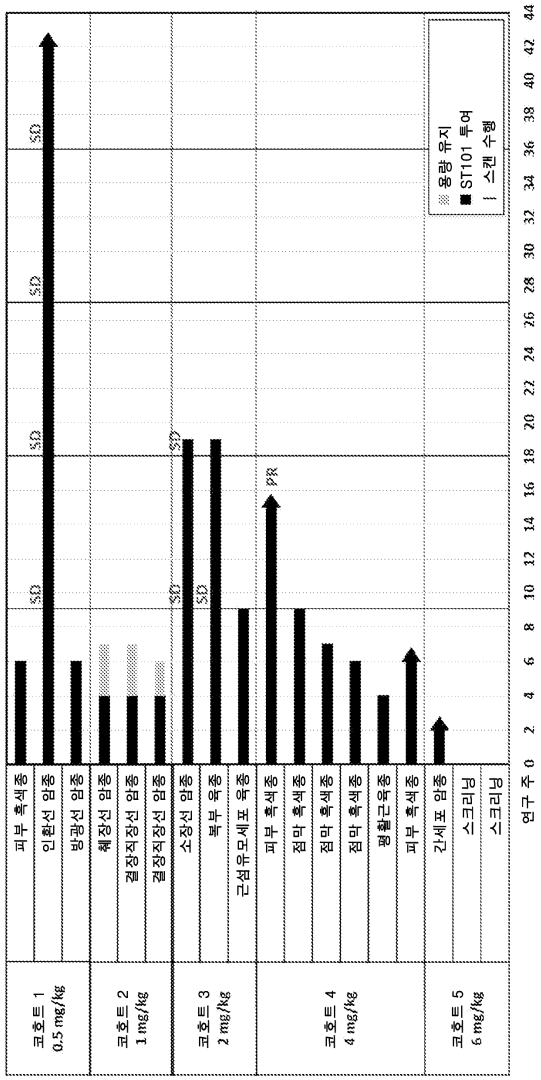
B


흡광도 (450nm)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.1
1
10
100
1000
ST101의 농도 (nM)

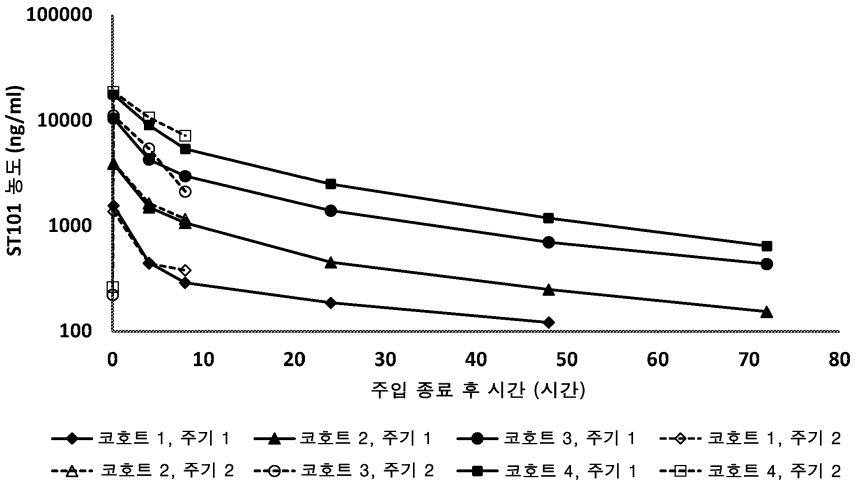
도면7



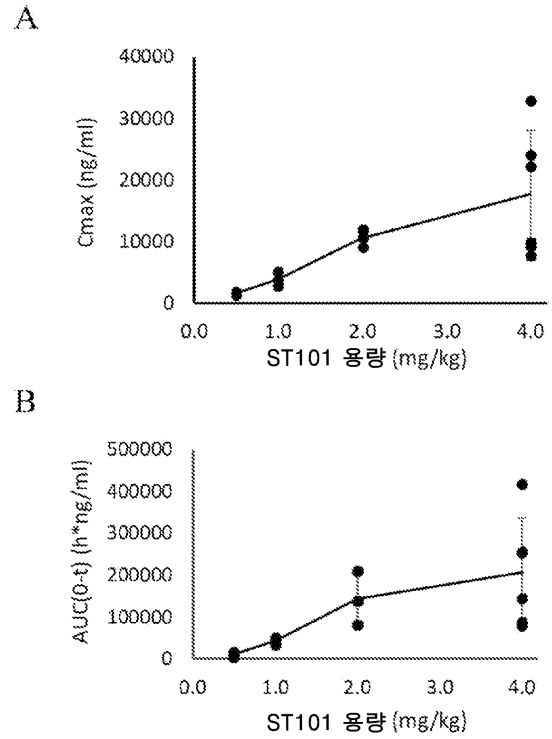
도면8


연구 주 0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44
용량 유지
ST101 투여
스캔 수행
코호트 1 0.5 mg/kg
피부 흑색종
인환선 암종
방광선 암종
코호트 2 1 mg/kg
췌장선 암종
결장직장선 암종
결장직장선 암종
코호트 3 2 mg/kg
소장선 암종
복부 육종
근섬유모세포 육종
코호트 4 4 mg/kg
피부 흑색종
점막 흑색종
점막 흑색종
점막 흑색종
평활근육종
피부 흑색종
코호트 5 6 mg/kg
간세포 암종
스크리닝
스크리닝

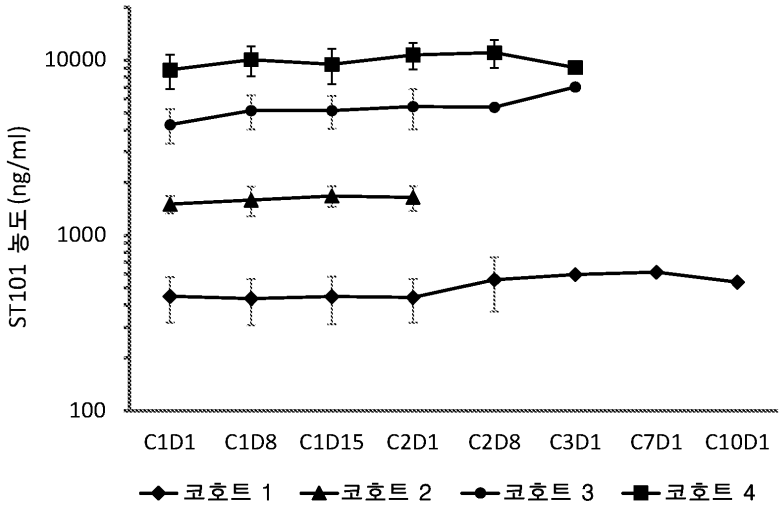
도면9


ST101 농도 (ng/ml)
100000
10000
1000
100
0
10
20
30
40
50
60
70
80
주입 종료 후 시간 (시간)
코호트 1, 주기 1
코호트 2, 주기 1
코호트 3, 주기 1
코호트 1, 주기 2
코호트 2, 주기 2
코호트 3, 주기 2
코호트 4, 주기 1
코호트 4, 주기 2

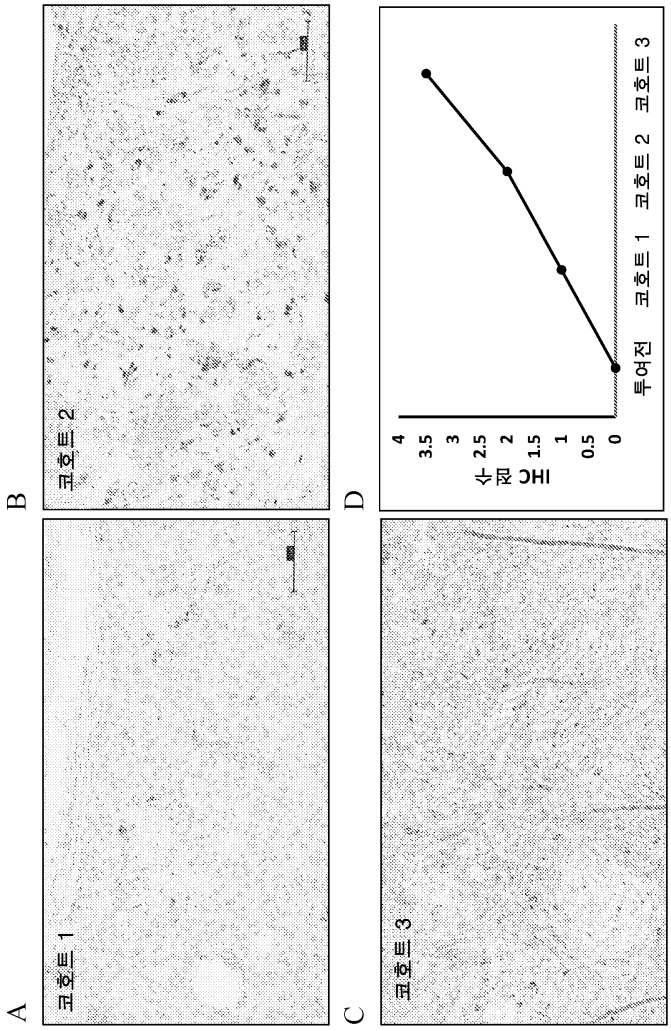
도면10


A
40000
30000
20000
10000
0
Cmax (ng/ml)
0.0
1.0
2.0
3.0
4.0
ST101 용량 (mg/kg)
B
500000
400000
300000
200000
100000
0
AUC(0-t) (h*ng/ml)
0.0
1.0
2.0
3.0
4.0
ST101 용량 (mg/kg)

도면11

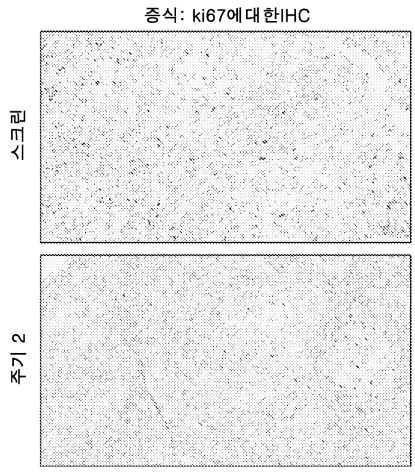

10000
1000
100
ST101 농도 (ng/ml)
C1D1
C1D8
C1D15
C2D1
C2D8
C3D1
C7D1
C10D1
코호트 1
코호트 2
코호트 3
코호트 4

도면12

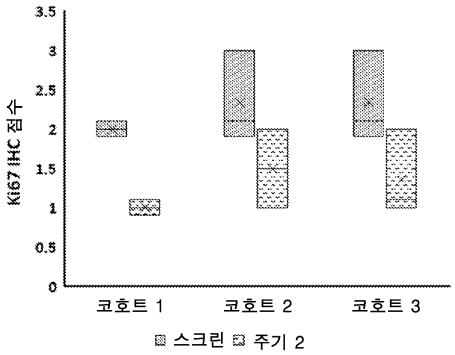


도면13

A



B



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> SAPIENCE THERAPEUTICS, INC.

<120> ADMINISTRATION OF CEBP-BETA ANTAGONIST AND METHODS OF USE

<130> SAPIENCE.013.WO1

<140><141><150> 63/172,560

<151> 2021-04-08

<150> 63/041,991

<151> 2020-06-21

<150> 63/041,990

<151> 2020-06-21

<150> 63/041,989

<151> 2020-06-21

<150> 63/041,988

<151> 2020-06-21

<150> 63/041,986

<151> 2020-06-21

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(22)

<223> D-amino acid

<400> 1

Val Ala Glu Ala Arg Glu Glu Leu Glu Arg Leu Glu Ala Arg Leu Gly

1 5 10 15

Gln Ala Arg Gly Glu Leu

20

<210> 2

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(38)

<223> D-amino acid

<400> 2

Val Ala Glu Ala Arg Glu Glu Leu Glu Arg Leu Glu Ala Arg Leu Gly

1 5 10 15

Gln Ala Arg Gly Glu Leu Lys Lys Trp Lys Met Arg Arg Asn Gln Phe

20 25 30

Trp Leu Lys Leu Gln Arg

35

<210> 3

<211> 22

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

ATF5 bZIP domain peptide

<400> 3

Leu Glu Gly Glu Cys Gln Gly Leu Glu Ala Arg Asn Arg Glu Leu Lys

1 5 10 15

Glu Arg Ala Glu Ser Val

20

<210> 4

<211> 22

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

bZIP domain peptide

<400> 4

Leu Glu Gly Arg Ala Gln Gly Leu Arg Ala Glu Leu Arg Glu Leu Glu

1 5 10 15

Glu Arg Ala Glu Ala Val

20