(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년06월16일
(11) 등록번호 10-2266510
(24) 등록일자 2021년06월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/5377 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01) *G01N 33/50* (2017.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/5377 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7023283(분할)
(22) 출원일자(국제) 2013년08월08일
심사청구일자 2020년09월10일
(85) 번역문제출일자 2020년08월12일
(65) 공개번호 10-2020-0098730
(43) 공개일자 2020년08월20일
(62) 원출원 특허 10-2015-7006019
원출원일자(국제) 2013년08월08일
심사청구일자 2018년08월02일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/054055
(87) 국제공개번호 WO 2014/025960
국제공개일자 2014년02월13일
(30) 우선권주장
61/681,447 2012년08월09일 미국(US)
61/722,727 2012년11월05일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2011112933 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
셀진 코포레이션
미합중국 뉴저지주 07901 써미트 모리스 애비뉴 86
(72) 발명자
샤퍼, 피터, 에이취.
미국 뉴저지주 08873, 서머셋, 존 이. 부쉬 애비뉴 126
간디, 아니타
미국 뉴저지주 07924 버나즈빌, 스터링 로드 37
(74) 대리인
안소영

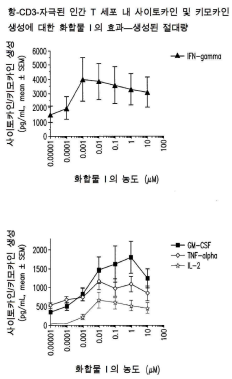
전체 청구항 수 : 총 27 항 심사관 : 김희승

(54) 발명의 명칭 **3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온을 이용한 암의 치료방법**

(57) 요 약

3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는 암의 치료, 예방 및/또는 관리 방법이 본원에서 제공된다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
C07D 413/14 (2013.01)
G01N 33/50 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서의 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법:

(ⅰ) 환자 유래 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 단계; 및

(ii) 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 비-활성화된 B-세포 림프종 서브타입의 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨과 비교하는 단계;

여기에서, 비-활성화된 B-세포 서브타입 림프종 세포에 비해 증가된 레벨의 NF-κB 활성은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물인 화합물을 이용한 치료에 대한 유효한 환자 종양 반응의 가능성을 나타낸다.

청구항 2

하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서의 치료에 대한 종양 반응을 모니터링하는 방법:

(ⅰ) 환자 유래 1차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 단계;

(ii) 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물인 화합물의 치료적 유효량을 투여받은 이후 환자로부터의 2차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 단계; 및

(iii) 상기 1차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 상기 2차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨과 비교하는 단계;

여기에서, 상기 1차 생물학적 샘플에 비해 상기 2차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 감소된 레벨은 유효한 환자 종양 반응의 가능성을 나타낸다.

청구항 3

하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서의 약물 치료 프로토콜에 대한 환자 순응도(compliance)를 모니터링하는 방법:

(ⅰ) 환자 유래 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 단계; 및

(ii) 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 대조군 비처리된 샘플과 비교하는 단계;

여기에서, 상기 대조군에 비해 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 감소된 레벨은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물인 화합물을 이용한 치료를 위한 약물 치료 프로토콜에 대한 환자 순응도를 나타낸다.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 비-호지킨 림프종이 미만성 대형 B-세포 림프종인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, NF-κB 활성의 레벨이 효소-결합 면역흡착 분석법에 의해 측정되는 방법.

청구항 6

하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서의 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법:

(ⅰ) 환자 유래 생물학적 샘플로부터 단백질 또는 RNA를 정제하는 단계; 및

(ii) 대조군 비-호지킨 림프종의 비-활성화된 B-세포 표현형에 비해 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 증가된 발현을 식별하는 단계;

여기에서, 상기 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 증가된 발현은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물인 화합물을 이용한 치료에 대한 유효한 환자 종양 반응의 가능성을 나타낸다.

청구항 7

제6항에 있어서, 생물학적 샘플이 종양 조직인 방법.

청구항 8

제6항에 있어서, 증가된 발현이 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상의 증가인 방법.

청구항 9

제6항에 있어서, 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자가 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 10

제6항에 있어서, 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 발현의 식별이 정량적 실시간 PCR에 의해 수행되는 방법.

청구항 11

(ⅰ) 고체 지지체; 및

(ii) 생물학적 샘플 내 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형의 바이오마커의 발현을 검출하기 위한 수단을 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물인 화합물을 이용한 치료에 대한 종양 반응 예측용 키트.

청구항 12

제11항에 있어서, 바이오마커가 NF-κB인 키트.

청구항 13

제11항에 있어서, 바이오마커가 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이고, IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택되는 키트.

청구항 14

3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물인 화합물의 투여에 대한 임상적 반응의 예측, 임상적 반응의 모니터링, 또는 환자 순응도의 모니터링을 위해, 암 내에서의 CRBN 발현의 레벨, 또는 DDB1, DDB2, IRF4 또는 NF-κB 발현의 레벨에 기초하여 암 환자들의 그룹을 선택하는 방법으로, 상기 암 환자들은 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종, 흑색종 및 고형 종양 환자들 중에서 선택되는 것인, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 암 환자들이 다발성 골수종 환자들인 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 암 환자들이 비-호지킨 림프종 환자들인 방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 암 환자들의 그룹을 선택하는 것은 암 내에서의 CRBN 발현의 레벨에 기초하는 것인 방법.

청구항 18

제14항에 있어서, 암 환자들의 그룹을 선택하는 것은 암 내에서의 DDB1 발현의 레벨에 기초하는 것인 방법.

청구항 19

제14항에 있어서, 암 환자들의 그룹을 선택하는 것은 암 내에서의 DDB2 발현의 레벨에 기초하는 것인 방법.

청구항 20

제14항에 있어서, 암 환자들의 그룹을 선택하는 것은 암 내에서의 IRF4 발현의 레벨에 기초하는 것인 방법.

청구항 21

제14항에 있어서, 암 환자들의 그룹을 선택하는 것은 암 내에서의 NF-κB 발현의 레벨에 기초하는 것인 방법.

청구항 22

3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물의 투여에 대한 임상적 반응의 예측, 임상적 반응의 모니터링, 또는 환자 순응도의 모니터링을 위해, 환자의 T 세포, B 세포, 또는 형질 세포 내에서의 CRBN 발현의 레벨, 또는 DDB1, DDB2, IRF4 또는 NF-κB 발현의 레벨에 기초하여, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물인 화합물을 이용한 치료에 반응하는 암 환자들의 그룹을 선택하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 암 환자들은 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종, 흑색종 및 고형 종양 환자들로부터 선택되는 방법.

청구항 24

제1항 내지 제3항, 제6항 내지 제10항 및 제14항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이 (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온인 방법.

청구항 25

제1항 내지 제3항, 제6항 내지 제10항 및 제14항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이 (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 하이드로클로라이드인 방법.

청구항 26

제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이 (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온인 키트.

청구항 27

제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이 (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 하이드로클로라이드인 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2012년 8월 9일 출원된 미국 가출원 번호 제61/681,491호 및 2012년 11월 5일 출원된 미국 가출원 번호 제61/722,727호에 대한 우선권을 주장하며, 상기 각 가출원은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0002] 1. 분야

[0003] 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체(clathrate), 또는 다형체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 예방 및/또는 관리 방법을 본원에서 제공한다.

배 경 기 술

[0004] **1. 암의 병리생물학(Pathobiology of Cancer)**

[0005] 암은 주로 주어진 정상 세포로부터 유래된 비정상적 세포 수의 증가, 이러한 비정상 세포에 의한 주변 조직의 침범, 또는 국소임파절 및 먼 위치(전이)에 악성 세포의 림프 또는 혈액 매개 확산에 의해 특징지어진다. 임상 자료 및 분자 생물학 연구는 암이 특정 조건 하에서 종양으로 발전할 수 있는 작은 종양의 전이 변화로 시작하는 다단계 과정임을 나타낸다. 종양 병변은 특히 종양 세포가 숙주의 면역 감시를 벗어난 조건하에서 침범, 성장, 전이 및 이질성에 대한 증가한 능력을 개발하고 클론에 의해 진화한다(Roitt, I., Brostoff, J 및 Kale, D., *Immunology*, 17.1-17.12 (3rd ed., Mosby, St. Louis, Mo., 1993)).

[0006] 암의 수많은 다양성에 대해서는 의학 문헌에 자세히 기술되어 있다. 예를 들면, 폐암, 결장암, 직장암, 전립선암, 유방암, 뇌암, 백혈병, 대장암이 있다. 암의 발병률은 전반적인 인구 노령화, 새로운 암의 발생 및 취약 집단(예: AIDS에 감염되거나 햇빛에 과도하게 노출된 사람) 성장 때문에 상승을 지속하고 있다. 엄청난 수요가 암을 가진 환자의 치료에 사용될 수 있는 새로운 방법 및 조성물에 대해 존재한다.

[0007] 다양한 타입의 암들은 신생혈관형성(angiogenesis)으로 알려진 과정인 새로운 혈관 형성과 관련된다. 종양-유도 신생혈관형성에 연관된 다양한 메커니즘은 밝혀져 있다. 이러한 메커니즘의 가장 직접적인 것은 혈관 형성 특성을 가지는 사이토카인의 종양 세포에 의한 분비이다. 이러한 사이토카인의 예들은 산성 및 염기성 섬유소 성장인자(a,b-FGF), 안지오제닌(angiogenin), 혈관 내피 성장인자(vascular endothelial growth factor) 및 TNF-α가 있다. 대체적으로, 종양 세포는 프로테아제의 생산과 일부 사이토카인(예: b-FGF)이 저장된 세포외 기질의 차후 분해를 통해 혈관 생성 펩타이드를 방출할 수 있다. 신생혈관형성은 염증성 세포(예: 특히 대식세포)의 모집과 혈관 형성 사이토카인(예 TNF-α, bFGF)의 차후 방출을 통해 비간접적으로도 유도될 수 있다.

[0008] 림프종은 림프 시스템에서 발생된 암을 언급한다. 림프종은 림프구- B 림프구 및 T 림프구(즉, B 세포 및 T 세포)의 악성종양에 의해 특징지어진다. 림프종은 일반적으로 이에 국한되지 않지만 위 또는 장을 포함하는 기관내 림프 조직의 모음 또는 림프절로부터 시작한다. 림프종은 몇몇 경우에 혈액 및 골수를 포함할 수 있다. 림프종은 몸의 한 부위에서 다른 부위로 퍼질 수 있다.

[0009] 다양한 형태의 림프종의 치료는 예를 들어, 본 명세서에 그 전체가 참조로 포함된 미국 특허 제7,468,363호에 기술되어 있다. 이러한 림프종은 호지킨 림프종(Hodgkin's lymphoma), 비-호지킨 림프종, 피부 B 세포 림프종, 활성화된 B 세포 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL), 외투 세포 림프종(mantle cell lymphoma, MCL), 여포성 센터 림프종(follicular center lymphoma), 변환 림프종, 중간 분화 림프구성 림프종, 중간 림프구성 림프종(ILL), 미분화 림프구성 림프 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 미만성 소분할세포 림프종(DSCCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 피부 T 세포 핌프종와 외투 세포 림프종 및 낮은 등급의 여포성 림프종을 포함하며, 이에 제한되지 않는다.

[0010] 비-호지킨 림프종(NHL)은 2007년에 대략 63,190개의 새로운 케이스 및 18,660 명의 죽음을 가져온 미국에서 여성 및 남성 모두에게 5번째로 가장 흔한 암이다(Jemal A, 등., *CA Cancer J Clin* 2007; 57(1):43-66). 비-호지킨 림프종 발생의 가능성은 연령과 함께 증가하며 미국 인구의 고령화 추세와 관련된 원인 때문에 노령층 내 비-호지킨 림프종 발생은 지난 10년간 꾸준히 증가하였다(Clarke C A, 등., *Cancer* 2002; 94(7):2015-2023).

[0011] 미만성 대형 B 세포 림프종(DLBCL)은 비-호지킨 림프종의 대략 1/3을 차지한다. 일부의 미만성 대형 B 세포 림프종(DLBCL) 환자들은 전통적인 화학 요법에 의해 치료되지만, 나머지는 질환에 의해 죽는다. 항암제는 가능한 대로 성숙한 T 세포 및 B 세포에서 직접적 세포사멸 유도에 의해 림프구의 지속적이고 빠른 소모의 원인이 된다. (K. Stahnke. 등., *Blood* 2001, 98:3066-3073 참조). 절대 림프구 수(Absolute lymphocyte count ; ALC)는 여포성 비-호지킨 림프종에서 예후 인자로써 보여지고 있으며 최근 결과들은 진단에서 절대 림프구 수(ALC)는 미만성 대형 B 세포 림프종에서 중요한 예후 인자임을 제시하고 있다, D. Kim 등., *Journal of*

Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. 25권, No. 18S (6월 20 Supplement), 2007: 8082 참조.

[0012] 백혈병(Leukemia)은 혈핵 형성 조직의 악성신생물을 언급한다. 백혈병의 다양한 형태는 예를 들어, 본 명세서에 그 전체가 참조로 포함된 미국 특허 제7,393,862호 및 2002년 5월 17일 출원된 미국 가출원 제60/380,842호에 기술되어 있다. 비록 전해지는 바에 따르면 바이러스는 동물에서 백혈병의 다양한 형태의 원인이지만, 인간에서 백혈병의 원인은 많은 범위가 알려져 있지 않다. (*The Merck Manual*, 944-952 (17 판. 1999)). 악성 종양의 전이는 전형적으로 클론 확산 및 지속적인 증식으로 2개 또는 그 이상의 단계를 통해 단일 세포에서 발생된다. 일부 백혈병들에 있어, 특정 염색체 전좌는 특별한 임상적 특징 및 일치하는 백혈병 세포의 형태로 확인된다(예: 만성적 골수 백혈병에서 9 및 22의 전좌, 및 급성 전골수성 백혈병에서 15 및 17의 전좌). 급성 백혈병들은 미분화된 세포 집단에서 우세하며 만성적 백혈병들은 성숙한 세포 형태에서 더 우세하다.

[0013] 급성 백혈병은 림프구성(ALL)과 비림프구성(ANLL) 유형으로 나뉜다. (*The Merck Manual*, 946-949 (17 판. 1999)). 이들은 French-American-British (FAB) 분류에 따르거나 이들의 유형 및 분화 정도에 따라 이들의 형태학 및 세포화학적 모습에 의해 더 하부로 나뉠 수 있다. 특이적 B 및 T 세포의 용도와 골수-항원 단일클론 항체는 분류에 가장 큰 도움이 된다. 급성 림프구성 백혈병(ALL)은 골수 시험 및 검사 결과에 의해 확립된 주된 소아기 질병이다. 급성 골수성 백혈병(acute myelogenous leukemia) 또는 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia; AML)으로도 알려진 급성 비림프구성 백혈병(ANLL)은 모든 연령에서 발생하며 어른들에서 급성 백혈병이 더 일반적이다; 이는 병인으로 방사성과 일반적으로 연관된 형태이다.

[0014] 만성 백혈병들은 림프구성(CLL) 또는 골수구성(CML)으로 기술된다. (*The Merck Manual*, 949-952 (17 판. 1999)). 만성 림프구성 백혈병(CLL)은 혈액, 골수 및 림프조직에서 성숙한 림프구의 형태에 의해 특징지어진다. 만성 림프구성 백혈병(CLL)의 특징은 지속적이며, 절대적 림프구 증가증(>5,000/uL) 및 골수에서 림프구의 증가이다. 대부분의 만성 림프구성 백혈병(CLL) 환자들은 또한 B 세포 특성을 가진 림프구의 클론 확장을 가진다. 만성 림프구성 백혈병(CLL)은 중년 또는 고령층의 질환이다. 만성 골수구성 백혈병(CML)에서, 특징은 혈액, 골수, 간, 비장 및 다른 기관에서 분화의 모든 시기의 과립구 세포의 우세이다. 진단을 통해 증상을 보이는 환자에서, 전체 백혈구 수는 대개 약 200,000/uL이나, 1,000,000/uL에 다를 수 있다. 만성 골수구성 백혈병(CML)은 필라델피아 염색체의 존재때문에 진단이 상대적으로 쉽다.

[0015] 급성 및 만성 카테고리에 더하여, 신생세포(neoplasm)는 또한 전구체 또는 말초에 그러한 장애를 초래하는 세포에 기초하여 분류된다. (예를 들어, 본 명세서에 그 전체가 참조로 포함된 미국 공개 특허 제2008/0051379 참조.) 전구체 신생세포는 급성 림프구성 백혈병(ALL) 및 림프아구성 림프구를 포함하고 이들이 T 또는 B 세포 모두로 분화되기 전에 림프구에서 발생한다. 말초 신생세포는 T 세포 또는 B 세포 모두로 분화된 림프구에서 발생되는 것들이다. 이러한 말초 신생 세포는 B-세포 만성 림프구성 백혈병(CLL), B-세포 전임파구성 백혈병, 림프형질세포 림프종(lymphoplasmacytic lymphoma), 외투 세포 림프종(mantle cell lymphoma), 여포성 림프종(follicular lymphoma), 점막-연관 림프 조직의 결절외 변연부 B-세포 림프종(extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue), 노드 변연부 림프종(nodal marginal zone lymphoma), 비장 변연부 림프종(splenic marginal zone lymphoma), 모발구성 백혈병(hairy cell leukemia), 형질세포종(plasmacytoma), 미만성 대형 B 세포 림프종(diffuse large B-cell lymphoma) 및 버킷 림프종(Burkitt lymphoma)을 포함하며, 이에 제한되지 않는다. 만성 림프구성 백혈병(CLL) 케이스의 95% 이상에서, 클론 확산은 B 세포 계통이다. (Cancer: Principles & Practice of Oncology (3 판) (1989) (페이지. 1843-1847) 참조). 5% 미만의 만성 림프구성 백혈병(CLL) 케이스에서, 종양 세포는 T 세포 표현형을 가진다. 그러나 이러한 분류에도 불구하고, 일반적인 조혈 작용의 병리학적 장애는 모든 백혈병들의 특징이다.

[0016] 다발성 골수종(MM)은 골수에서 형질 세포의 암이다. 일반적으로, 형질 세포는 항체들을 생산하고 면역 작용의 중요한 역할을 한다. 그러나, 이러한 세포들의 조절되지 않는 성장은 골통 및 골절, 빈혈증, 감염, 및 다른 복합증을 이끈다. 비록 다발성 골수종의 나머지 원인들이 알려져 있지 않더라도, 다발성 골수종은 두번째로 가장 흔한 혈액학 상의 악성 종양이다. 다발성 골수종은 M-단백질 및 다른 면역글로블린(항체), 알부민, 및 베타-2-마이크로글로블린에 제한되지 않으나 이를 포함하여, 혈액, 소변, 및 조직에서 단백질의 높은 수준을 초래한다. M-단백질은 단일클론 단백질의 약자로 또한 파라단백질로 알려진 것으로 골수종 형질 세포에 의해 생산된 특별히 비정상적 단백질이고 다발성 골수종을 가지는 거의 모든 환자의 혈액과 오줌에서 발견될 수 있다.

[0017] 골 통증을 포함하는 근골격계 증상은 다발성 골수종의 대부분의 중요한 의학적 증상 중 하나이다. 악성 형질 세포는 용해소 장애 유발 뼈로부터 침출되는 칼슘을 초래하는 파골 세포 자극 인자(IL-1, IL-6 및 TNF 포함)를 방

출한다; 고칼슘혈(hypercalcemia)은 또다른 증상이다. 또한 사이토카인으로 언급되는 파골 세포 자극 인자는 세포사멸 또는 골수종 세포의 죽음을 억제할 수 있다. 50 퍼센트의 환자는 진단에서 방사능적으로 관찰되는 골수종-관련 골격 장애를 가진다. 다발성 골수종에 대한 다른 일반적인 임상적 증상은 말초신경병증(polyneuropathy), 빈혈증(anemia), 과점조성(hyperviscosity), 감염 및 신부전증을 포함한다.

[0018] 고형 종양은 대개 낭포 또는 액상 부분을 함유하지 않을 수 있는 조직의 비정상적 덩어리이다. 고형 종양은 양성(암이 아님) 또는 악성(암)이 될 수 있다. 고형 종양의 다른 타입은 이들의 형태인 세포의 타입에 의해 불린다. 고형 종양의 타입의 예는 악성 흑색종, 부신 종양, 유방암, 신장 세포 암, 췌장암, 비소세포성 폐암(NSCLC) 및 알려지지 않은 일차 암을 포함하며, 이에 한정지어지지 않는다. 고형 종양의 다양한 단계 또는 타입을 가지는 환자에 일반적으로 투여되는 약물은 쎄레브렉스(celebrex), 에토포시드(etoposide), 시클로포스파미드(cyclophosphamide), 도세탁셀(docetaxel), 카페시타빈(capecitabine), 인터페론, 타목시펜(tamoxifen), 인터루킨-2, GM-SCF 또는 이들의 조합을 포함하며, 이에 한정되지는 않는다.

[0019] 초기 치료 후에 완전한 차도를 보인 환자는 치료에 대하여 좋은 기회를 가지지만, 반응하지 않거나 재발하는 환자들의 10% 미만만이 3년보다 더 길게 되는 치료 또는 반응을 성취한다. (Cerny T, 등., *Ann Oncol* 2002; 13 Suppl 4:211-216 참조).

[0020] 리툭시맙(Rituximab)은 정상적인 숙주 B 세포를 고갈시키는 것으로 알려져 있다. (M. Aklilu 등., Annals of Oncology 15:1109-1114, 2004 참조). 이 치료의 광범위한 사용에도 불구하고, 리툭시맙에 의한 B 세포 고갈의 장기간 면역적 효과와 림프종 환자에서 재구성되는 B 세포 풀의 특징은 잘 정의되어 있지 않다. (Jennifer H. Anolik 등., *Clinical Immunology*, 122권, 2호, 2월 2007, 페이지 9-145 참조).

[0021] 재발 또는 난치성 질환을 가진 환자에 대한 접근 방식은 노년 또는 성능 저하 상태를 가지는 환자에게 부적절할 수 있는 줄기세포 이식에 이어 실험적 치료에 크게 의존한다. 그러므로, 엄청난 수요가 NHL 환자를 치료하는데 사용될 수 있는 새로운 방법에 대해 존재한다.

[0022] 암과 변경된 세포 대사 사이의 관계는 잘 정립되어 있다. (Cairns, R.A.,등. *Nature Rev.*, 2011, 11:85-95 참조). 종양 세포 대사와 이들의 연관된 유전적 변형의 이해는 종양 치료의 증진된 방법의 확인을 이끌 수 있다. 예를 들어, 증가된 글루코스 대사에 대한 종양 세포의 생존과 증식은 PTEN과 같은 종양 억제 유전자의 변이가 종양 세포 대사를 활성화하는 PIK3 경로에 연결되어 있다. AKT1(PKB로도 알려짐)는 PFKFB3, ENTPD5, mTOR 및 TSC2(튜베린으로도 알려짐)와 다양한 상호작용에 의해 종양 세포 증식과 연관된 글루코스 대사를 자극한다.

[0023] 전사인자 HIF1 및 HIF2는 종양과 종종 연관되는 저산소 조건에 대한 세포성 반응을 주로 담당한다. 한번 활성화되면, HIF1은 해당작용을 수행하도록 종양 세포 능력을 증진시킨다. 그러므로, HIF1의 억제는 암세포 대사를 늦추거나 뒤집을 수 있다. IF1의 활성화는 VHL, 숙신산탈수소효소(succinate dehydrogenase; SDH) 및 푸마레이트 수화효소(fumarate hydratase)와 같은 종양 억제 단백질들인 PI3K에 연결되어 있다. 종양형성 전사인자 MYC는 또한 종양 세포 대사, 특히 해당작용에 연결되어 있다. MYC는 또한 글루타민 대사 경로에 의한 세포 증식을 증진시킨다.

[0024] AMP-활성화 단백질 카이네이즈(AMP-activated protein kinase ; AMPK)는 종양 세포가 증식을 위해 극복해야만 하는 대사 검사점으로 기능한다. 다양한 변이는 종양세포에서 AMPK 시그널링을 억제하는 것으로 확인된다. (Shackelford, D.B. & Shaw, R.J., *Nature Rev. Cancer*, 2009, 9: 563-575 참조). STK11은 AMPK의 역할과 연관된 종양 억제 유전자로 확인된다. (Cairns, R.A., 등. *Nature Rev.*, 2011, 11:85-95 참조).

[0025] 종양 억제제인 p53 전사인자는 또한 세포 대사의 조절에 중요한 역할을 한다. 종양세포에서 p53의 손실은 해당경로에 대한 종양 세포 대사 내 변화를 위한 중요한 기여자일 수 있다. 화학적 치료를 위한 또다른 잠재적 타겟인 OCT1 전사 인자는 종양 세포 대사 조절에서 P53과 협력할 수 있다.

[0026] 피루브산 키나아제 M2(Pyruvate kinase M2; PKM2)는 세포 증식 지지에 의한 종양 세포에 대사 이점을 수여하는 세포 대사 내 변화를 촉진한다. 예를 들어, PKM1 이상으로 PKM2를 발현하는 폐 종양 세포가 이러한 이점을 가지는 것이 발견되었다. 임상적으로, PKM2는 수많은 종양 타입에서 과발현되고 있는 것으로 확인되었다. 그러므로 PMK2는 종양의 초기 진단의 바이오마커로 유용할 수 있다.

[0027] 이소시트르산 탈수소화효소 IDH1 및 IDH2의 변이는 종양 생성, 특히 급성 골수성 백혈병 및 교아종과 연결되어 있다. (Mardis, E.R. 등., *N. Engl. J. Med.*, 2009, 361: 1058-1066; Parsons, D.W. 등., *Science*, 2008, 321: 1807-1812 참조).

[0028] 암의 발생은 전반적인 인구 노령화, 새로운 암의 발생, 및 취약 집단의 성장(예를 들어, 에이즈에 감염된 사람, 고령층 또는 과도하게 햇빛에 노출된 사람)으로 인해 계속해서 상승한다. 그러므로 수많은 요구가 림프종, NHL, 다발성 골수종, AML, 백혈병 및 고형 종양에 제한되지 않지만 이를 포함하는 암을 가진 환자의 치료에 사용될 수 있는 새로운 방법, 치료 및 조성물에 대해 존재한다.

[0029] 따라서, 원하지 않는 혈관형성을 억제 및/또는 조절할 수 있거나 TNF-α를 포함하여 특정 사이토카인의 생산을 억제할 수 있는 화합물은 다양한 질환과 상태의 예방 및 치료에 유용할 수 있다.

[0030] **2. 암의 치료방법**

[0031] 현재의 암 치료는 환자의 종양 세포를 뿌리 뽑기 위한 수술, 화학 요법, 호르몬 요법 및/또는 방사선 치료를 포함할 수 있다(예를 들어, Stockdale, 1998, *Medicine*, 3 권, Rubenstein 및 Federman, eds., 챕터 12, 섹션 IV 참조). 최근, 암 치료는 생물학적 요법이나 면역 요법을 또한 포함할 수 있었다. 이 모든 접근 방법은 환자에 대해 중요한 문제점을 초래할 수 있다. 예를 들어, 수술은 환자의 건강으로 인해 사용 금지될 수 있거나 환자에게 적합하지 않을 수 있다. 또한, 수술은 종양 조직을 완전히 제거할 수 없을 지도 모른다. 방사선 요법은 종양 조직이 정상 조직보다 방사선에 높은 감수성을 나타내는 경우에만 효과적이다. 또한, 방사선 요법은 자주 심각한 부작용을 이끌어낼 수 있다. 호르몬 요법은 거의 단일 약품으로 주어지지 않는다. 호르몬 요법이 효과적일 수는 있지만, 다른 치료에 의해 대부분의 암 세포가 제거된 후에 암의 재발을 방지하거나 지연시키기 위해 자주 사용된다. 특정 생물학적 및 다른 요법은 수에 제한이 있으며, 발진이나 부기, 발열, 오한 및 피로를 포함하여 독감 같은 증상, 소화 기관 문제 또는 알레르기 반응과 같은 부작용을 생성할 수 있다.

[0032] 화학 요법에 관하여, 암 치료에 사용할 수 있는 다양한 화학 치료제가 있다. 다수의 암 화학 치료제는 DNA 복제 및 수반되는 세포 분열을 방지하기 위해, 디옥시리보뉴클레오티드 3인삼염 전구체의 생합성을 직접 또는 간접적으로 억제하여 DNA 합성을 억제하는 것에 의해 작용한다[Gilman 등., *Goodman 및 Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10 판. (McGraw Hill, New York)].

[0033] 다양한 화학 치료제의 유용성에도 불구하고, 화학 요법은 많은 단점을 갖는다. (Stockdale, *Medicine*, 3 권, Rubenstein and Federman, eds., 챕터. 12, 섹션. 10, 1998.). 거의 모든 화학 치료제는 독성이며, 화학 요법은 심한 메스꺼움, 골수 쇠약, 및 면역 억제 등을 포함하여 중요하고 자주 위험한 부작용을 야기한다. 또한, 많은 종양 세포는 화학 치료제의 조합을 투여할 때 조차, 화학 치료제에 내성이 있거나 내성이 생긴다. 사실, 특정 치료에 사용되는 약물의 메커니즘과는 다른 메커니즘에 의해 작용하는 약물에서 조차, 치료 프로토콜에 사용되는 특정 화학 치료제에 내성이 있는 이들 세포는 자주 다른 약물에 내성이 있음을 입증한다. 이 현상을 다중 약물 내성이라고 한다. 약물 내성 때문에, 많은 암은 표준 화학 치료 프로토콜에 대해 난치로 판명된다.

[0034] 종래의 치료법과 관련된 독성 및/또는 부작용을 감소시키거나 방지하면서, 암, 특히 수술, 방사선 치료, 화학 요법 및 호르몬 요법과 같은 표준 치료에 난치성인 암을 치료, 예방 및 관리하는 안전하고 효과적인 방법에 대한 상당한 필요성이 존재한다.

[0035] **3. 세레블론**

[0036] 단백질 세레블론(CRBN)은 식물에서부터 인간까지 간직하고 있는 442개의 아미노산 단백질이다. 인간에게서, 세레블론 유전자는 상염색체 열성 비-증후군성 정신 지체(ARNSMR)의 후보 유전자로 확인되었다(Higgins, J.J. 등., *Neurology*, 2004, 63:1927-1931 참조). 세레블론은 처음에는 쥐의 뇌에서 칼슘 활성화된 칼륨 채널 단백질(SLO1)과 상호 작용하는 RGS 함유 신규 단백질로 특징 지어졌으며, 나중에는 AMPK7과 DDB1를 갖는 망막에서 전압 개폐 염화물 채널(CIC-2)과 상호 작용하는 것으로 나타났다(Jo, S. 등., *J. Neurochem*, 2005, 94:1212-1224; Hohberger B. *et al.*, *FEBS Lett*, 2009, 583:633-637; Angers S. 등., *Nature*, 2006, 443:590-593 참조). DDB1은 본래 손상된 DNA결합 단백질 2(DDB2)와 관련된 뉴클레오티드 제거 복구 단백질로서 확인되었다. 그 결함 활성은 색소성 건피증 상보군 E(XPE)를 갖는 환자에게서 복구 결함을 야기한다. 또한, DDB1은 유비퀴틴화 및 이후의 표적 단백질의 프로테아좀 분해를 매개하는 다수의 구별되는 DCX(DDB1-CUL4-X-box) E3 유비퀴틴-단백질 리가아제 착물의 구성 요소로서 작용한다. 세레블론은 또한 대뇌 피질의 질병에 대한 치료제 개발을 위한 표적으로 확인되었다(WO 2010/137547 A1 참조).

[0037] 최근에, 세레블론이 선천적 결손증을 야기하는 탈리도미드에 결합하는 핵심 분자 표적임이 확인되었다(Ito, T. 등., *Science*, 2010, 327:1345-1350 참조). DDB1이 CRB과 상호 작용함으로써, 간접적으로 탈리도미드와 관련됨이 밝혀졌다. 또한, 탈리도미드는 in vitro에서 세레블론의 자가-유비퀴틴화를 억제할 수 있었는데, 이는 탈리도미드가 E3 유비퀴틴-리가아제 억제제임을 제시한다. 중요하게, 이 활성은 야생형 세포에서는 탈리도미드에

의해 억제되었지만, 탈리도미드 결합을 막는 돌연변이 세레블론 결합 부위를 갖는 세포에서는 억제되지 않았다. 탈리도미드 결합 부위는 세레블론에 고보존된 C-터미널 104 아미노산 영역에 매핑되었다. 세레블론, Y384A 및 W386A에서 각각의 점 돌연변이체는 가장 낮은 탈리도미드-결합 활성을 갖는 이중점 돌연변이체와 함께, 모두 탈리도미드 결합에 대해 결함이 있었다. 세레블론과 탈리도미드의 기형 발생 효과의 관련성은 제브라-피쉬 및 닭 배아의 동물 모델에서 확인되었다.

[0038] 탈리도미드 및 다른 약물 표적과 이들의 상호 작용을 이해하는 것은 효능 및/또는 독성의 분자 메커니즘의 정의를 허용할 것이며, 향상된 효능 및 독성 프로파일을 갖는 약물로 이어질 수 있다.

[0039] 인간 형질세포(PCs) 및 이들의 전구체는 체액성 면역 반응에서 필수 역할을 하지만, 마찬가지로 다발성 림프종을 포함하는 다양한 악성 B-세포 질환을 야기한다. B 세포의 항체-분비 형질 세포로의 분화는 면역 반응의 결정적인 요소이다. (Jacob *et al.*, *Autoimmunity* 2010, 43(1), 84-97 참조). 형질 세포 분화에 이르게 하는 발달 프로그램을 가이드하는 적은 수의 전사 인자가 동정되었다. PAX5 및 BCL6는 활성화된 B 세포에서 발현되고 대개 분화를 억압함으로써 작용한다. PAX5는 PRDM1(BLIMP-1 단백질을 코딩하는 유전자), XBP1, 및 IgJ (J 쇄)를 포함하는, 다수의 유전자에 관련된 유전자들을 억압한다. BCL6는 PRDM1을 억압함으로써 형질 세포 발달을 부분적으로 억제한다. (Jourdan *et al.*, *Blood* 2009, 114 (10), 5173-5181; Kallies *et al.*, *Immunity* 2007, 26(5), 555-566; Lenz *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 2010, 362, 1417-1429 참조). 분화 및 고 면역글로불린(Ig) 분비는 또한 IRF-4, XBP-1, 및 BLIMP-1을 필요로 한다. IRF-4 발현은 분화시 현저하게 증가하며, 이는 형질 세포 형성 및 Ig 분비에 필수적이다. XBP-1은 분비 경로의 측면을 직접적으로 조절하며, PAX5-매개된 유전자 억압의 손실 및 전사후 조절의 조합에 의해 형질 세포 내에서 강하게 유도된다. BLIMP-1은 형질 세포 내에서 발현되나, B 세포 개체발생의 초기 단계에서부터 존재하지 않는다. (Jourdan *et al.*, *Blood* 2009, 114 (10), 5173-5181; Kallies *et al.*, *Immunity* 2007, 26(5), 555-566; Lenz *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 2010, 362, 1417-1429 참고). 면역조절 화합물인 레날리도미드는 다발성 골수종 및 ABC 림프종의 치료에서 효과적인 것으로 알려져 있다. 면역조절 화합물의 정상 B 세포에 대한 잠재적인 활성은 나이브 CD19+ B 세포의 활성화 또는 저해를 포함한다(자극에 의존). B 종양 세포에서, 면역조절 화합물은 다발성 골수종 및 림프종 증식, 종양 억제제 유전자 유도(사이클린 의존성 키나제 저해제 p21, p27, 등), F-액틴 중합, 및 MCL 및 CLL에서 CD20 클러스터링을 저해하고, 또한 MM에서 C/EBPβ IRF4, BLIMP-1, 및 XBP-1 발현을 억제하고, ABC 림프종 세포에서 NF-κB 활성을 저해한다.

[0040] CD44 (Pgp-1; H-CAM; Hermes; ECMR III; HUTCH-1)는 백혈구(leucocytes), 적혈구 및 상피 세포에서 발현된다. 세포외성 매트릭스의 주요 성분인 히알루로난의 수용체이고, 백혈구의 접착을 매개하고, 림프구 활성화(또한 활성화된 B 세포의 마커로서 간주됨), 재순환 및 귀소성, 조혈 및 종양 전이를 포함하는 광범위한 세포적 기능에 참여한다. (Cichy *et al.*, *Journal of Cell Biology* 2003, 161(5), 839-843 참조). CD83 (BL11; HB15; B-세포 활성화 단백질)은 세포 활성화 후 B 세포 및 T-세포, 수상돌기세포, 랑거한스 세포 및 림프구에서 발현된다. 이는 활성화에 의해 B 세포에 의해서도 발현되며, B 세포 기능의 조절에 기여하고, 미성숙 B 세포에 의해 발현되어 이들의 추가 성숙 및 주변부에서의 생존을 음성적으로 조절한다. (Breloer *et al.*, *Trends in Immunology* 2008, 29(4), 186-194 참조). IgJ 쇄 (면역글로불린 연결쇄) 유전자는 Ag 및/또는 사이토카인 자극에 의한 B 세포의 형질 세포로의 말단 분화 후에만 발현된다. 발현된 IgJ 쇄는 IgM 펜타머 또는 IgA 다이머로 통합되며, 항체의 세포성 및 점막성 분비 양자 모두에 필요한다. 류마티스성 관절염(RA) 환자들에서 J 쇄의 고 발현은 리툭시맙에 대한 반응의 결핍을 예측한다. IgJ의 증간된 기저 mRNA 레벨(항체-분비 형질모세포에 대한 마커)은 리툭시맙에 대한 감소된 임상적 반응율을 나타내었다. (Owczarczyk *et al.*, *Science Translational Medicine* 2011, 3(101), 92 참조).

[0041] 세레블론과 상호작용하고 이어서 형질모세포/형질 세포 혈통으로의 B 세포 분화를 저해하는 강력한 화합물에 대한 필요성이 또한 존재한다. 그러한 화합물은 형질모세포 및 형질 세포의 발달 및/또는 생존을 저해하고, 병원성 자가항체 생성을 감소시킴으로써, 자가항체 과생성이 병리생리학에 내재하는 질병들에서 종합적 증상의 감소를 가져올 수 있다.

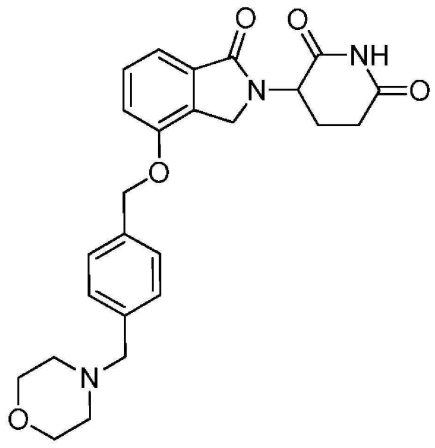
발명의 내용

해결하려는 과제

[0042] **3. 개요**

[0043] 초기 암 및 전이성 암뿐만 아니라 종래의 화학요법에 난치성이거나 내성인 암을 포함하는, 암의 치료 또는 예방

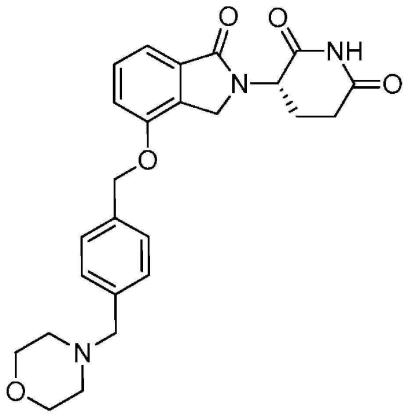
방법을 본원에서 제공하며, 상기 방법은 하기 화학식 I의 구조를 갖는 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체(clathrate), 또는 다형체의 치료적 또는 예방적 유효량을 단일제로서 또는 병용 요법의 일부로서 상기 치료 또는 예방을 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다:



(I)

[0044]

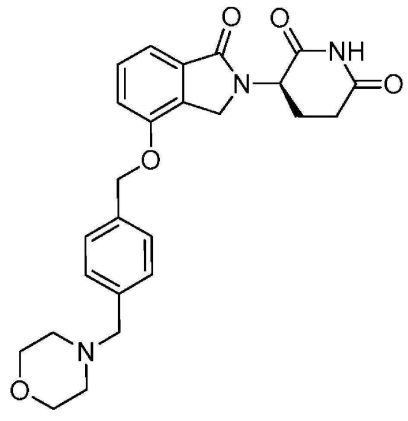
[0045] 일 실시태양에서, 화합물은 하기 화학식 I-S의 구조를 갖는 *(S)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온이다:



(I-S)

[0046]

[0047] 일 실시태양에서, 화합물은 하기 화학식 I-R의 구조를 갖는 *(R)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온이다:



(I-R)

[0048]

[0049] 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체

의 치료적 또는 예방적 유효량을 암의 관리를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 관리 방법(예를 들어, 암의 재발을 예방하고, 또는 차도의 시간을 늘리는)이 또한 본원에서 제공된다.

[0050] 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 치료적 또는 예방적 유효량을, 암의 치료, 예방, 또는 관리를 위해 종래에 사용되는 치료법과 병용하여, 암의 치료, 예방, 또는 관리를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 예방, 또는 관리 방법이 또한 본원에서 제공된다. 이러한 종래 치료법의 예로는 수술, 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법, 및 면역용법을 포함하나 이에 국한되는 것은 아니다.

[0051] 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를, 정상 상태에서 상기 화합물의 혈장 농도를 제공하기에 충분한 양인 약 0.001 내지 약 100 μM의 양으로 암의 치료, 예방, 또는 관리를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 예방, 또는 관리 방법이 또한 본원에서 제공된다. 다른 실시태양에서, 상기 양은 정상 상태에서 상기 화합물의 피크 혈장 농도를 제공하기에 충분한 양으로, 약 0.001 내지 약 100 μM이다. 다른 실시태양에서, 상기 양은 정상 상태에서 상기 화합물의 저점(trough) 혈장 농도를 제공하기에 충분한 양으로, 약 0.01 내지 약 100 μM이다. 다른 실시태양에서, 상기 양은 상기 화합물의 곡선하면적(area under the curve, AUC)을 제공하기에 충분한 양으로, 약 100 내지 약 100,000 ng*hr/mL 범위이다.

[0052] 특정 실시태양에서, 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 및 고형 종양의 치료 또는 관리 방법이 본원에서 제공된다.

[0053] 일부 실시태양에서, 림프종은 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, AIDS-관련 림프종, 역형성 대세포 림프종, 혈관면역모구 림프종(angioimmunoblastic lymphoma), 출아형 NK-세포 림프종, 버킷 림프종(Burkitt's lymphoma), 버킷성 림프종, 소형 비-절단 세포 림프종, 소형 림프구성 림프종, 피부 T-세포 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종, 장병증형 T-세포 림프종(enteropathy-type T-cell lymphoma), 림프모구 림프종(lymphoblastic lymphoma), 외투 세포 림프종(mantle cell lymphoma), 변역부 림프종(marginal zone lymphoma), 비강 T-세포 림프종, 소아 림프종, 말초 T-세포 림프종, 원발성 중추신경계 림프종, 변형된 림프종, 치료-관련 T-세포 림프종 및 발덴스트롬 마크로글로불린 혈증으로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0054] 일부 실시태양에서, 백혈병은 급성 골수성 백혈병(AML), T-세포 백혈병, 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 림프성 백혈병(CLL) 및 급성 림프구성 백혈병(ALL)으로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0055] 일부 실시태양에서, 고형 종양은 흑색종, 머리 및 목 종양, 유방암종, 비소세포성 폐암종(non-small cell lung carcinoma), 난소암종, 췌장암종, 전립성암종, 대장암종, 및 간세포암종으로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0056] 일부 실시태양에서, 예후 인자를 사용한, 미만성 대형 B-세포 림프종(DLBCL)을 포함하나 이에 국한되지는 않는 비-호지킨 림프종의 치료 또는 관리 방법이 본원에서 제공된다.

[0057] 일부 실시태양에서, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML, 및/또는 고형 종양에 대한 임상적 감수성, 및 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 환자 반응의 예측인자(predictor)로서의 유전자 및 단백질 바이오마커의 사용 방법이 본원에서 제공된다.

[0058] 본원에서 제공된 방법은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료를 위해, 암 환자, 예를 들어, 림프종, 비호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML, 및 고형 종양 환자를 스크리닝하거나 식별하는 방법을 포함한다. 특히, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 높은 반응율을 갖는 환자를 선별하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0059] 일 실시태양에서, 림프종, 비호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML, 또는 고형 종양 환자에서 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은 상기 환자로부터 종양 조직을 수득하는 단계, 상기 종양으로부터 단백질 또는 RNA를 정제하는 단계, 및 예를 들어, 단백질 또는 유전자 발현 분석에 의해 바

이오마커의 존재 또는 부존재를 측정하는 단계를 포함한다. 모니터되는 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다.

[0060] 일 실시태양에서, 바이오마커는 DLBCL의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이다. 상기 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다. 일 실시태양에서, 바이오마커는 NF-κB이다.

[0061] 일 실시태양에서, mRNA 또는 단백질이 종양으로부터 정제되고 바이오마커의 존재 또는 부존재가 유전자 또는 단백질 발현 분석에 의해 측정된다. 특정 실시태양에서, 바이오마커의 존재 또는 부존재가 정량적 실시간 PCR(QRT-PCR), 마이크로어레이, 유세포분석기(flow cytometry) 또는 면역형광분석법에 의해 측정된다. 다른 실시태양에서, 바이오마커의 존재 또는 부존재는 효소-결합 면역흡착 분석법에 기초한 방법론(ELISA) 또는 당업계에 알려진 다른 유사한 방법들에 의해 측정된다.

[0062] 다른 실시태양에서, 비-호지킨 림프종 환자에서 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은 상기 환자로부터 종양 세포를 수득하는 단계; 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 존재 또는 부존재하에서 상기 세포를 배양하는 단계; 상기 배양된 세포로부터 단백질 또는 RNA를 정제하는 단계; 및 예를 들어, 단백질 또는 유전자 발현 분석에 의해 바이오마커의 존재 또는 부존재를 측정하는 단계를 포함한다. 모니터되는 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다.

[0063] 다른 실시태양에서, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML, 또는 고형 종양 환자에서 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 종양 반응을 모니터링하는 방법이 본원에서 제공된다. 상기 방법은, 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계; 생물학적 샘플 내 바이오마커의 발현을 측정하는 단계; 환자에게 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 투여하는 단계; 그 후에 상기 환자로부터 2차 생물학적 샘플을 수득하는 단계; 2차 생물학적 샘플 내 바이오마커의 발현을 측정하는 단계; 및 발현의 레벨을 비교하는 단계를 포함하며, 이때 처리 후 바이오마커 발현의 증가된 레벨은 유효한 종양 반응의 가능성을 나타낸다. 일 실시태양에서, 처리 후 바이오마커 발현의 감소된 레벨은 유효한 종양 반응의 가능성을 나타낸다. 모니터되는 바이오마커 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 처리된 샘플 내 발현은, 예를 들어, 약 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상 증가될 수 있다.

[0064] 다른 실시태양에서, 약물 치료 프로토콜에 대한 환자 순응도를 모니터링하는 방법이 제공된다. 상기 방법은, 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계; 샘플 내 적어도 하나의 바이오마커의 발현 레벨을 측정하는 단계; 및 대조군 비처리된 샘플 내 발현 레벨과 비교하여 환자 샘플 내에서 발현 레벨이 증가 또는 감소되었는지는 결정하는 단계를 포함하며, 이때 증가 또는 감소된 발현은 약물 치료 프로토콜에 대한 환자 순응도를 나타낸다. 일 실시태양에서, 하나 이상의 바이오마커의 발현이 증가한다. 모니터되는 바이오마커 발현은 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 처리된 샘플 내 발현은, 예를 들어, 약 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상 증가될 수 있다.

[0065] 다른 실시태양에서, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML, 또는 고형 종양 환자에서 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 감수성을 예측하는 방법이 본원에서 제공된다. 일 실시태양에서, 상기 환자는 비-호지킨 림프종 환자, 특히, DLBCL 환자이다. 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계, 선택적으로 상기 생물학적 샘플로부터 mRNA를 분리하거나 정제하는 단계, 예를 들어 RT-PCR에 의해 mRNA 전사체를 증폭하는 단계를 포함하며, 이때 특정 바이오마커의 더 높은 기저(baseline) 레벨은 암이 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성일 것이라는 더 높은 가능성을 나타낸다. 특정 실시태양에서, 바이오마커는 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이다. 상기 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로

구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0066] 예측 인자 또는 예후 인자로서 CRBN을 사용하는, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 암의 치료 또는 관리방법이 또한 본원에서 제공된다. 특정 실시태양에서, 예측 인자 또는 예후 인자로서 CRBN 레벨을 사용하는, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 암 환자를 스크리닝 또는 식별하는 방법이 본원에서 제공된다. 일부 실시태양에서, 예측 인자 또는 예후 인자로서 CRBN 레벨을 사용하는, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료법에 대해 더 높은 반응율을 갖는 환자를 선별하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0067] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 암의 치료에 대한 환자 반응을 예측하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계 및 CRBN의 존재 또는 부존재를 측정하는 단계를 포함한다. 일 실시태양에서, 상기 방법은 환자로부터 암 세포를 수득하는 단계; 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 존재 또는 부존재하에서 상기 세포를 배양하는 단계; 상기 배양된 세포로부터 단백질 또는 RNA를 정제하는 단계; 및 예를 들어, 단백질 또는 유전자 발현 분석에 의해 바이오마커의 존재 또는 부존재를 측정하는 단계를 포함한다. 모니터되는 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 일 실시태양에서, 암은 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 고형 종양, 비-호지킨 림프종 또는 흑색종이다.

[0068] 다른 실시태양에서, 암 환자에서 약물 치료에 대한 종양 반응을 모니터링하는 방법이 본원에서 제공된다. 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계, 상기 생물학적 샘플 내 바이오마커의 발현을 측정하는 단계, 상기 환자에게 하나 이상의 약물을 투여하는 단계, 이후에 상기 환자로부터 2차 생물학적 샘플을 수득하는 단계, 및 발현의 레벨을 비교하는 단계를 포함하며, 이때 처리 후 바이오마커 발현의 증가된 레벨은 유효한 종양 반응의 가능성을 나타낸다. 일 실시태양에서 암 환자는 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 고형 종양, 비-호지킨 림프종 또는 흑색종 환자이다.

[0069] 일 실시태양에서, 처리 후 바미오마커 발현의 감소된 레벨은 유효한 종양 반응의 가능성을 나타낸다. 모니터되는 바이오마커 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 처리된 샘플 내 발현은, 예를 들어, 약 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상 증가될 수 있다. 일 실시태양에서, 종양은 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 고형 종양, 비-호지킨 림프종 또는 흑색종이다.

[0070] 다른 실시태양에서, 암 환자, 특히, 다발성 골수종 또는 비-호지킨 림프종 환자에서 약물 치료에 대한 감수성을 예측하는 방법이 본원에서 제공된다. 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계, 선택적으로 상기 생물학적 샘플로부터 mRNA를 분리하거나 정제하는 단계, 예를 들어 RT-PCR에 의해 mRNA 전사체를 증폭하는 단계를 포함하며, 이때 특정 바이오마커의 더 높은 기저 레벨은 암이 약물을 이용한 치료에 대해 감수성일 것이라는 더 높은 가능성을 나타낸다. 특정 실시태양에서, 바이오마커는 다발성 골수종 또는 비-호지킨 림프종에 관련된 유전자 또는 단백질이다. 일 실시태양에서, 상기 유전자는 CRBN에 관련된 것이며, DDB1, DDB2, GSK3B, CUL4A, CUL4B, XBP-1, FAS1, RANBP6, DUS3L, PHGDH, AMPK, IRF4 및 NF-κB로 구성된 그룹 중에서 선택된다. 다른 실시태양에서, 상기 유전자는 DDB1, DDB2, IRF4 및 NF-κB로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0071] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성인, 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 고형 종양, 비-호지킨 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종 또는 흑색종을 갖는 환자를 식별하는 방법은 CRBN에 관련된 유전자 또는 단백질의 동정을 포함하며, 이때 CRBN에 관련된 유전자 또는 단백질의 존재는 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성인, 림프

종, 백혈병, 다발성 골수종, 고형 종양, 비-호지킨 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종 또는 흑색종임을 가리킨다. 일 실시태양에서, CRBN에 관련된 유전자 또는 단백질은 DDB1, DDB2, IRF4 및 NF-κB로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0072] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성인, 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 고형 종양, 비-호지킨 림프종 또는 흑색종을 가진 환자를 식별하는 방법은 상기 환자 내 CRBN 활성의 레벨을 측정하는 것을 포함한다. 다른 실시태양에서, 상기 환자 내 CRBN 활성의 레벨을 측정하는 것은 상기 환자로부터 수득한 세포 내 DDB1, DDB2, IRF4 및/또는 NF-κB를 측정하는 것을 포함한다.

[0073] 일 실시태양에서, 비-호지킨 림프종의 치료 또는 관리방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법을 하기 단계를 포함한다:

[0074] (ⅰ) 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성인 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML 또는 고형 종양을 가진 환자를 식별하는 단계; 및

[0075] (ii) 상기 환자에게 치료적 유효량의 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 투여하는 단계.

[0076] 일 실시태양에서, 환자는 비-호지킨 림프종을 갖는다. 일 실시태양에서, 비-호지킨 림프종은 미만성 대형 B-세포 림프종이다. 다른 실시태양에서, 비-호지킨 림프종은 활성화된 B-세포 표현형을 갖는다.

[0077] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성인 비-호지킨 림프종을 갖는 환자를 식별하는 방법은 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 동정을 포함한다. 일 실시태양에서, 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0078] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성인 비-호지킨 림프종을 갖는 환자를 식별하는 방법은 상기 환자 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 것을 포함한다. 다른 실시태양에서, 환자 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 것은 상기 환자로부터 수득한 종양 세포 내 기저 NF-κB 활성 레벨을 측정하는 것을 포함한다.

[0079] 또한, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML 또는 고형 종양의 효과적인 치료의 가능성을 예측하거나, 또는 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료의 유효성을 모니터링하는데 유용한 키트가 본원에서 제공된다. 키트는 고체 지지체, 및 생물학적 샘플 내 적어도 하나의 바이오마커의 단백질 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다. 이러한 키트는 예를 들어 계량봉(dipstick), 막, 칩, 디스크, 테스트 스트립, 필터, 마이크로스피어, 슬라이드, 다중웰 플레이트, 또는 광섬유를 사용할 수 있다. 키트의 고체 지지체는 예를 들어 플라스틱, 실리콘, 금속, 수지, 유리, 막, 입자, 침전물, 젤, 폴리머, 시트, 구, 다당류, 모세관, 필름 플레이트, 또는 슬라이드일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 세포 배양액, 세포주, 조직, 구강 조직, 위장 조직, 기관, 세포기관, 생물학적 액체, 혈액 시료, 소변 시료, 또는 피부 시료일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 림프절 생검, 골수 생검, 또는 말초 혈액 종양 세포의 샘플일 수 있다.

[0080] 추가의 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 유효한 치료의 가능성을 예측하거나 또는 이를 이용한 치료의 유효성을 모니터링하는데 유용한 키트가 본원에서 제공된다. 키트는 고체 지지체; 상기 지지체에 접촉하는 핵산으로, mRNA의 적어도 20, 50, 100, 200, 350개 또는 그 이상의 염기에 상보성인 핵산; 및 생물학적 샘플 내 상기 mRNA의 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다.

[0081] 다른 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 유효한 치료의 가능성을 예측하거나 또는 이를 이용한 치료의 유효성을 모니터링하는데 유용한 키트가 본원에서 제공된다. 키트는 고체 지지체; 상기 지지체에 접촉하는 적어도 하나의 핵산으로, mRNA의 적어도 20, 50, 100, 200, 350, 500개 또는 그 이상의 염기에 상보성인 핵산; 및 생물학적 샘플 내 상기 mRNA의 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다.

[0082] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 키트는 정량적 실시간 PCR(QRT-PCR), 마이크로어레이, 유세포분석기(flow cytometry) 또는 면역형광분석법에 의해 바이오마커의 발현을 검출하기 위한 수단을 사용한다. 다른 실시태양에서, 바이오마커의 발현은 ELISA-기초한 방법론 또는 당업계에 알려진 다른 유사한 방법들에 의해 측정된다.

[0083] 또한, 약 1 내지 1,000 mg의 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 포함하는 약학적 조성물이 본원에서 제공된다.

[0084] 나아가, 약 1 내지 1,000 mg의 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체; 및 하나 이상의 추가의 활성 성분을 포함하는 약학적 조성물이 본원에서 제공된다. 특정 실시태양에서, 상기 하나 이상의 추가의 활성 성분은 오블리메르센(oblimersen), 멜팔란(melphalan), G-CSF, GM-CSF, GC-CSF, BCG, EPO, 인터류킨(interleukins), 모노클로날 항체, 암 항체, cox-2 저해제, 토포테칸(topotecan), 펜톡시파일리네(pentoxifylline), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 탁소테레(taxotere), 이리토테칸(iritotecan), 덱사메타손(dexamethasone), 독소루비신(doxorubicin), 빈크리스틴(vincristine), IL-2, IFN(인터페론), 다카르바진(dacarbazine), Ara-C, 비노렐비네(vinorelbine), 이소트레티노인(isotretinoin), 프로테아좀 저해제(proteasome inhibitor), HDAC 저해제, 탁산(taxanes), 리툭산(리툭산), 및 프레드니손(prednisone) 중에서 선택된다.

[0085] 또한, 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 고형 종양, 비-호지킨 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종 또는 흑색종의 효과적인 치료의 가능성을 예측하거나, 또는 하나 이상의 약물, 예를 들어, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료의 유효성을 모니터링하는데 유용한 키트가 본원에서 제공된다. 키트는 고체 지지체, 및 생물학적 샘플 내 적어도 하나의 바이오마커의 단백질 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다. 이러한 키트는 예를 들어 계량봉(dipstick), 막, 칩, 디스크, 테스트 스트립, 필터, 마이크로스피어, 슬라이드, 다중웰 플레이트, 또는 광섬유를 사용할 수 있다. 키트의 고체 지지체는 예를 들어 플라스틱, 실리콘, 금속, 수지, 유리, 막, 입자, 침전물, 젤, 폴리머, 시트, 구, 다당류, 모세관, 필름 플레이트, 또는 슬라이드일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 세포 배양액, 세포주, 조직, 구강 조직, 위장 조직, 기관, 세포기관, 생물학적 액체, 혈액 시료, 소변 시료, 또는 피부 시료일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 림프절 생검, 골수 생검, 또는 말초 혈액 종양 세포의 샘플일 수 있다.

[0086] 다른 실시태양에서, 키트는 고체 지지체; 상기 지지체에 접촉하는 핵산으로, mRNA의 적어도 20, 50, 100, 200, 350개 또는 그 이상의 염기에 상보성인 핵산; 및 생물학적 샘플 내 상기 mRNA의 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다.

[0087] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 키트는 정량적 실시간 PCR(QRT-PCR), 마이크로어레이, 유세포분석기(flow cytometry) 또는 면역형광분석법에 의해 바이오마커의 발현을 검출하기 위한 수단을 사용한다. 다른 실시태양에서, 바이오마커의 발현은 ELISA-기초한 방법론 또는 당업계에 알려진 다른 유사한 방법들에 의해 측정된다.

[0088] 또한, (ⅰ) 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 포함하는 약학적 조성물; 및 (ii) 조혈성장인자(hematopoietic growth factor), 사이토카인, 항암제, 항생제, cox-2 저해제, 면역조절제, 면역억제제, 코르티코스테로이드, 또는 이들의 약리학적 활성 돌연변이 또는 유도체, 또는 이들의 조합을 포함하는 약학적 조성물을 포함하는 키트가 본원에서 제공된다.

[0089] 일 실시태양에서, (ⅰ) 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는

이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 포함하는 약학적 조성물; 및 (ii) 오블리메르센(oblimersen), 멜팔란(melphalan), G-CSF, GM-CSF, EPO, cox-2 저해제, 토포테칸(topotecan), 펜톡시파일리네(pentoxifylline), 탁소테레(taxotere), 이리토테칸(iritotecan), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 덱사메타손(dexamethasone), 독소루비신(doxorubicin), 빈크리스틴(vincristine), IL-2, IFN(인터페론), 다카르바진(dacarbazine), Ara-C, 비노렐비네(vinorelbine), 또는 이소트레티노인(isotretinoin)을 포함하는 약학적 조성물을 포함하는 키트가 본원에서 제공된다.

[0090] 다른 실시태양에서, (i) 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 포함하는 약학적 조성물; 및 (ii) 제대혈(umbilical cord blood), 태반 혈액, 말초혈액 줄기세포, 조혈 줄기세포 제제(hematopoietic stem cell preparation), 또는 골수를 포함하는 키트가 본원에서 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0091] 도 1은 항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I의 효과를 나타낸 것으로, 생성된 절대량을 나타낸다.

도 2는 항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I의 효과를 나타낸 것으로, 대조의 퍼센트를 나타낸다.

도 3은 항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-R의 효과를 나타낸 것으로, 생성된 절대량을 나타낸다.

도 4는 항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-R의 효과를 나타낸 것으로, 대조의 퍼센트를 나타낸다.

도 5는 항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-S의 효과를 나타낸 것으로, 생성된 절대량을 나타낸다.

도 6은 항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-S의 효과를 나타낸 것으로, 대조의 퍼센트를 나타낸다.

도 7은 고정된 IgG 및 IL-2에 반응하여 NK 세포 IFN-감마 생성에 대한 본원 화합물의 효과를 나타낸 것으로, 생성된 절대량을 나타낸다.

도 8은 고정된 IgG 및 IL-2에 반응하여 NK 세포 IFN-감마 생성에 대한 본원 화합물의 효과를 나타낸 것으로, 1 마이크로몰의 포말리도미드(pomalidomide)의 존재 하에서 생성된 IFN-감마의 양의 퍼센트를 나타낸다.

도 9는 리툭시맙이 코팅된 림프종 세포에 대한 NK 세포 매개된 ADCC에 대하여 본원 화합물이 미치는 효과를 나타낸 것이다.

도 10은 성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포 증식에 대한 본원 화합물의 효과를 나타낸 것이다.

도 11은 성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포 관 형성에 대한 본원 화합물의 효과를 나타낸 것이다.

도 12는 성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포 침입에 대한 본원 화합물의 효과를 나타낸 것이다.

도 13은 리툭시맙과 병용한 화합물 I-S의 증식 아세이 결과를 나타낸 것이다.

도 14는 다양한 DLBCL 세포에 대한 본원 화합물의 항-증식 효과를 나타낸 것이다.

도 15는 마우스 마트리젤(Matrigel) 혈관형성 모델에서 화합물 I의 결과를 나타낸 것이다.

도 16은 WSU-DLCL2 DLBCL 이종이식 모델에서 화합물 I의 결과를 나타낸 것이다.

도 17은 DoHH2 이종이식 모델에서 화합물 I-S의 결과(단일 치료)를 나타낸 것이다.

도 18은 DoHH2 이종이식 모델에서 화합물 I-S의 결과(병용 치료)를 나타낸 것이다.

도 19는 DoHH2 이종이식 종양에 대한 화합물 I-S의 CD31 IHC를 나타낸 것이다.

도 20은 Rec-1 MCL 이종이식 모델에서 화합물 I의 결과를 나타낸 것이다.

도 21은 NCI-H929 MM 이종이식 모델에서 본원 화합물의 결과를 나타낸 것이다.

도 22는 U87 교모세포종(glioblastoma) 이종이식 모델에서 본원 화합물의 결과를 나타낸 것이다.

도 23은 HCT116 대장(colorectal) 이종이식 모델에서 본원 화합물의 결과를 나타낸 것이다.

도 24는 Hep3b 간세포(hepatocellular) 이종이식 모델에서 본원 화합물의 겨로가를 나타낸 것이다.

도 25는 탈리도미드(thalidomide) 친화성 비드 경쟁 아세이에서 화합물 I-S의 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0092] **5. 상세한 설명**

[0093] 암의 치료, 관리, 또는 예방을 필요로 하는 환자에게 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 치료적 또는 예방적 유효량을 단일제로서 또는 병용 요법의 일부로서 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 관리, 또는 예방 방법을 본원에서 제공한다. 일부 실시태양에서, 상기 화합물은 *(S)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온이다. 일부 실시태양에서, 상기 화합물은 *(R)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온이다.

[0094] 특정 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 암의 치료, 관리, 또는 예방에서의 사용을 위해 하나 이상의 추가의 약물(또는 "제2의 활성제")와 병용하여 투여된다. 제2의 활성제는 줄기세포뿐만 아니라, 일부 예시가 본원에 제공된 소분자 및 대분자(예를 들어, 단백질 및 항체)를 포함한다. 본원 화합물의 투여와 함께 병용하여 사용될 수 있는 방법 또는 치료법은 수술, 수혈, 면역치료, 생물학적 치료, 방사선 치료, 및 암을 치료, 예방 또는 관리하기 위해 현재 사용되고 있는 기타 비-약물 기반 치료법을 포함하나 이에 국한되는 것은 아니다. 특정 실시태양에서, 본원 화합물은 백신 어주번트(adjuvant)로서 사용될 수 있다.

[0095] 일부 실시태양에서, 본원에서 제공된 방법은, 부분적으로, 특정 암 세포에 관련된 특정 유전자 또는 단백질의 발현을 바이오마커로서 사용하여 질병 치료의 유효성 또는 경과를 나타낼 수 있다는 발견에 기초한다. 이러한 암은 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), 및 고형 종양을 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다. 특정 실시태양에서, 암은 비-호지킨 림프종에서 활성화된 B-세포 표현형을 갖는다. 특히, 이러한 바이오마커는 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 환자 치료의 유효성을 예측, 평가 및 추적하는데 사용될 수 있다.

[0096] 일부 실시태양에서, 본원에서 제공된 방법은, 부분적으로, 세레블론(CRBN)이 특정 약물, 예컨대 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 항-증식 활성에 관련되어 있다는 발견에 기초한다. 일부 실시태양에서, CRBN을 바이오마커로 사용하여 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 질병 치료의 유효성 또는 경과를 나타낼 수 있다. 특정 이론에 의해 구속되는바 없이, 특정 약물, 예컨대 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 항-증식 활성 또는 다른 활성에 CRBN 결합이 기여하거나 또는 필요할 수도 있다.

[0097] 특정 이론에 의해 제한되는바 없이, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 특정 종류의 암, 예컨대 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML, 및 고형 종양에서 성장 저해, 세포자멸 및 혈관형성인자의 저해를 매개할 수 있다. 3-(4-((4-모르

포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료 전후에 몇몇 세포 종류 내 몇몇 암-관련 유전자의 발현을 검사한 결과, 몇몇 암-관련 유전자 또는 단백질의 발현 레벨이 암 치료를 예측하고 모니터링하기 위한 바이오마커로서 사용될 수 있음이 밝혀졌다.

[0098] 다른 종류의 림프종 세포에 대하여 상대적으로 비-호지킨 림프종 내 활성화된 B-세포 표현형을 갖는 세포에서 NF-κB 활성의 레벨이 상승하고, 이러한 세포들이 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성일 수 있다는 사실이 또한 밝혀졌다. 이는 림프종 세포 내 NF-κB 활성의 기저 활성이, 비-호지킨 림프종 환자에서 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 예측가능한 바이오마커일 수 있다는 점을 시사한다.

[0099] 따라서, 특정 실시태양에서, 비-호지킨 림프종 환자에서 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법이 본원에서 제공된다. 일 실시태양에서, 비-호지킨 림프종 환자에서 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은 환자로부터 종양 조직을 수득하는 단계, 상기 종양으로부터 단백질 또는 RNA를 정제하는 단계, 및 예를 들어, 단백질 또는 유전자 발현 분석에 의해 바이오마커의 존재 또는 부존재를 측정하는 단계를 포함한다. 모니터되는 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 특정 실시태양에서, 바이오마커는 DLBCL의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이다. 상기 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다. 일 실시태양에서, 바이오마커는 NF-κB이다.

[0100] 다른 실시태양에서, 상기 방법은 환자로부터 종양 세포를 수득하는 단계; 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 존재 또는 부존재하에서 상기 세포를 배양하는 단계; 상기 배양된 세포로부터 RNA 또는 단백질을 정제하는 단계; 및 예를 들어, 유전자 또는 단백질 발현 분석에 의해 바이오마커의 존재 또는 부존재를 측정하는 단계를 포함한다.

[0101] 특정 실시태양에서, 바이오마커의 존재 또는 부존재는 정량적 실시간 PCR(QRT-PCR), 마이크로어레이, 유세포분석기(flow cytometry) 또는 면역형광분석법에 의해 측정된다. 다른 실시태양에서, 바이오마커의 존재 또는 부존재는 ELISA-기초한 방법론 또는 당업계에 알려진 다른 유사한 방법들에 의해 측정된다.

[0102] 본원에서 제공되는 방법은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 암 환자, 예를 들어, 비-호지킨 림프종 환자를 스크리닝하거나 식별하는 방법을 포함한다. 특히, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료법에 대하여 더 높은 반응율을 가지거나, 또는 그러한 반응율을 가질 것 같은 환자를 선별하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0103] 일 실시태양에서, 상기 방법은 환자로부터 종양 세포를 수득하는 단계; 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 존재 또는 부존재하에서 상기 세포를 배양하는 단계; 상기 배양된 세포로부터 RNA 또는 단백질을 정제하는 단계; 및 특정 바이오마커의 존재 또는 부존재를 측정하는 단계에 의해, 치료법에 대해 반응할 것 같은 환자를 식별하는 것을 포함한다. 모니터되는 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 처리된 샘플 내 발현은, 예를 들어, 약 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상 증가할 수 있다. 특정 실시태양에서, 바이오마커는 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이다. 상기 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다. 일 실시태양에서, 바이오마커는 NF-κB이다.

[0104] 다른 실시태양에서, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML 또는 고형 종양 환자에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 치료에 대한 종양 반응을 모니터링하는 방법이 본원에서 제공된다. 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계; 상기 생물학적 샘플 내 하나 이상의 바이오마커의 발현을 측정하는 단계; 3-(4-((4-모르포리노메

틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 상기 환자에게 투여하는 단계; 그후에 상기 환자로부터 2차 생물학적 샘플을 수득하는 단계; 상기 2차 생물학적 샘플 내 바이오마커의 발현을 측정하는 단계; 및 바이오마커 발현의 레벨을 비교하는 단계를 포함하며, 이때 처리 후 바이오마커 발현의 증가된 레벨은 유효한 종양 반응의 가능성을 나타낸다. 일 실시태양에서, 처리 후 바이오마커 발현의 감소된 레벨이 유효한 종양 반응의 가능성을 나타낸다. 특정 실시태양에서, 바이오마커는 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이다. 상기 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다. 일 실시태양에서, 바이오마커는 NF-κB이다.

[0105] 특정 실시태양에서, 상기 방법은 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 하나 이상의 바이오마커 유전자의 발현을 측정하는 것을 포함한다. 상기 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다. 모니터되는 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 처리된 샘플 내 발현은, 예를 들어, 약 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상 증가할 수 있다.

[0106] 또 다른 실시태양에서, 약물 처리 프로토콜에 대한 환자 순응도를 모니터링하는 방법에 제공된다. 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계, 상기 샘플 내 적어도 하나의 바이오마커의 발현 레벨을 측정하는 단계, 및 대조군 비처리된 샘플 내 발현 레벨과 비교하여 환자 샘플 내에서 발현 레벨이 증가 또는 감소되었는지를 결정하는 단계를 포함하며, 이때 증가 또는 감소된 발현은 약물 치료 프로토콜에 대한 환자 순응도를 나타낸다. 일 실시태양에서, 하나 이상의 바이오마커의 발현이 증가한다. 모니터되는 발현은, 예를 들어, mRNA 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 처리된 샘플 내 발현은, 예를 들어, 약 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상 증가할 수 있다. 특정 실시태양에서, 바이오마커는 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이다. 상기 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다. 일 실시태양에서, 바이오마커는 NF-κB이다.

[0107] 다른 실시태양에서, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML 또는 고형 종양 환자에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 감수성을 예측하는 방법이 제공된다. 일 실시태양에서, 환자는 비-호지킨 림프종 환자, 특히, DLBCL 환자이다. 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계, 선택적으로 상기 생물학적 샘플로부터 mRNA를 분리하거나 정제하는 단계, 예를 들어 RT-PCR에 의해 mRNA 전사체를 증폭하는 단계를 포함하며, 이때 하나 이상의 특정 바이오마커의 더 높은 기저 레벨은 암이 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대해 감수성일 것이라는 더 높은 가능성을 나타낸다. 일 실시태양에서, 바이오마커는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택되는 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이다.

[0108] 다른 실시태양에서, NHL, 예를 들어, DLBCL 환자에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 감수성을 예측하는 방법은 환자로부터 종양 샘플을 수득하는 단계, 상기 종양 샘플을 포매하여 파라핀-포매되고 포르말린-고정된 블록으로 만드는 단계, 및 그 전문이 본원에 참고자료로 포함된 Hans *et al.*, *Blood*, 2004, 103: 275-282에 기재된 바와 같이, CD20, CD10, bcl-6, IRF4/MUM1, bcl-2, cyclin D2, 및/또는 FOXP1에 대한 항체를 이용하여 상기 샘플을 염색하는 단계를 포함한다. 일 실시태양에서, CD10, bcl-6, 및 IRF4/MUM-1 염색을 사용하여 DLBCL을 GCB 및 비-GCB 서브그룹으로 나누어 그 결과를 예측할 수 있다.

[0109] 일 실시태양에서, 하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법이 본원에서 제공된다:

[0110] (ⅰ) 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계;

[0111] (ii) 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 경로의 활성을 측정하는 단계; 및

[0112] (iii) 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 비-활성화된 B-세포 림프종 서브타입의 생물학적 샘플의 그것과 비교하는 단계;

[0113] 여기에서, 상기 비-활성화된 B-세포 서브타입 림프종 세포에 대하여 상대적으로 증가된 레벨의 NF-κB 활성은

3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 유효한 환자 종양 반응의 가능성을 나타낸다.

[0114] 일 실시태양에서, 생물학적 샘플 내 NF-κB 경로의 활성을 측정하는 것은 생물학적 샘플 내 NF-κB 레벨을 측정하는 것을 포함한다.

[0115] 일 실시태양에서, 하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서 치료에 대한 종양 반응을 모니터링하는 방법이 본원에서 제공된다:

[0116] (ⅰ) 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계;

[0117] (ii) 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 단계;

[0118] (iii) 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 치료적 유효량을 상기 환자에게 투여하는 단계;

[0119] (iv) 상기 환자로부터 2차 생물학적 시료를 수득하는 단계;

[0120] (ⅴ) 상기 2차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 단계; 및

[0121] (vi) 상기 1차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 상기 2차 생물학적 샘플 내의 그것과 비교하는 단계;

[0122] 여기에서, 상기 1차 생물학적 샘플에 대하여 상대적으로 상기 2차 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 감소된 레벨은 유효한 환자 종양 반응의 가능성을 나타낸다.

[0123] 일 실시태양에서, 하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서 약물 치료 프로토콜에 대한 환자 순응도를 모니터링하는 방법이 본원에서 제공된다:

[0124] (ⅰ) 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계;

[0125] (ii) 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 단계;

[0126] (iii) 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 레벨을 대조군 비처리된 샘플과 비교하는 단계;

[0127] 여기에서, 상기 대조군에 대하여 상대적으로 상기 생물학적 샘플 내 NF-κB 활성의 감소된 레벨은 약물 치료 프로토콜에 대한 환자 순응도를 나타낸다.

[0128] 일 실시태양에서, 비-호지킨 림프종은 미만성 대형 B-세포 리프종이다.

[0129] 다른 실시태양에서, NF-κB 활성의 레벨은 효소-결합 면역흡착 분석법에 의해 측정된다.

[0130] 일 실시태양에서, 하기 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서 치료에 대한 종양 반응을 예측하는 방법이 본원에서 제공된다:

[0131] (ⅰ) 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계;

[0132] (ii) 상기 샘플로부터 세포를 배양하는 단계;

[0133] (iii) 상기 배양된 세포로부터 RNA를 정제하는 단계; 및

[0134] (iv) 대조군 비-호지킨 림프종의 비-활성화된 B-세포 표현형에 대하여 상기 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 상대적으로 증가된 발현을 식별하는 단계;

[0135] 여기에서, 상기 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 증가된 발현은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 유효한 환자 종양 반응의 가능성을 나타낸다.

[0136] 일 실시태양에서, 증가된 발현은 약 1.5X, 2.0X, 3X, 5X, 또는 그 이상의 증가이다.

[0137] 일 실시태양에서, 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0138] 일 실시태양에서, 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 발현을 식별하는 것은 정량적 실시간 PCR에 의해 수행된다.

[0139] 또한, (ⅰ) 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 비-호지킨 림프종을 갖는 환자를 식별하는 단계; 및

[0140] (ii) 치료적 유효량의 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 비-호지킨 림프종의 치료 또는 관리 방법이 본원에서 제공된다.

[0141] 일 실시태양에서, 비-호지킨 림프종은 미만성 대형 B-세포 림프종이다.

[0142] 다른 실시태양에서, 비-호지킨 림프종은 활성화된 B-세포 표현형을 갖는다.

[0143] 다른 실시태양에서, 미만성 대형 B-세포 림프종은 RIVA, U2932, TMD8, OCI-Ly3 또는 OCI-Ly10 세포주에서 과발현되는 하나 이상의 바이오마커의 발현을 특징으로 한다.

[0144] 다른 실시태양에서, 미만성 대형 B-세포 림프종은 RIVA, U2932, TMD8 또는 OCI-Ly3 세포주에서 과발현되는 하나 이상의 바이오마커의 발현을 특징으로 한다.

[0145] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 림프종을 갖는 환자를 식별하는 것은 환자의 림프종 표현형을 특징화(characterization)하는 것을 포함한다.

[0146] 일 실시태양에서, 림프종 표현형은 활성화된 B-세포 서브타입으로 특징화된다.

[0147] 일 실시태양에서, 림프종 표현형은 미만성 대형 B-세포 림프종의 활성화된 B-세포 서브타입으로 특징화된다.

[0148] 특정 실시태양에서, 림프종 표현형의 식별은 림프종을 갖는 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하는 것을 포함한다. 일 실시태양에서, 생물학적 샘플은 세포 배양 또는 조직 샘플이다. 일 실시태양에서, 생물학적 샘플은 종양 세포의 샘플이다. 다른 실시태양에서, 생물학적 샘플은 림프절 생검, 골수 생검, 또는 말초혈액 종양 세포의 샘플이다. 일 실시태양에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플이다.

[0149] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 비-호지킨 림프종을 갖는 환자를 식별하는 것은 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 동정을 포함한다. 일 실시태양에서, 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0150] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 비-호지킨 림프종을 갖는 환자를 식별하는 것은 환자 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 것을 포함한다. 다른 실시태양에서, 환자 내 NF-κB 활성의 레벨을 측정하는 것은 환자로부터 수득한 종양 세포 내 기저 NF-κB 활성 레벨을 측정하는 것을 포함한다.

[0151] 다른 실시태양에서, 미만성 대형 B-세포 림프종은 하나 이상의 하기의 것을 특징으로 한다:

[0152] (ⅰ) 활성화된 B-세포 서브타입 세포의 생존에 필요한 조혈-특이성 Ets 패밀리 전사 인자인 SPIB의 과발현;

[0153] (ii) GCB 서브타입 세포에 비해 더 높은 구성적 IRF4/MUM1 발현;

[0154] (iii) 세염색체(trisomy) 3에 의해 상향 조절되는 더 높은 구성적 FOXP1 발현;

[0155] (iv) 더 높은 구성적 Blimp1, 즉, PRDM1 발현;

[0156] (ⅴ) 더 높은 구성적 CARD11 유전자 발현; 및

[0157] (vi) 비활성화된 B-세포 서브타입 DLBCL 세포에 대하여 상대적으로 NF-κB 활성의 증가된 레벨.

[0158] 본원에서 제공된 발명과 동시에 함께 이용될 수 있는 추가의 예후 인자는 질병(암) 부담의 예후 인자, 절대적 림프구 계수(ALC), 림프종에 대한 마지막 리툭시맙 치료 이후의 시간, 또는 상기 모두 다를 포함한다. 또한, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 투여에 대한 임상적 반응의 예측, 임상적 반응의 모니터링, 또는 환자 순응도의 모니터링을 위해, 암 내에서의 CRBN 발현의 레벨, 또는 DDB1, DDB2, IRF4 또는 NF-κB 발현의 레벨에 기초하여 암 환자들의 그룹을 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 암 환자들은 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종, 흑색종 및 고형 종양 환자들 중에서 선택된다.

[0159] 일 실시태양에서, 암 환자들은 다발성 골수종 환자들이다.

[0160] 일 실시태양에서, 암 환자들은 비-호지킨 림프종 환자들이다.

[0161] 일 실시태양에서, 암 환자의 그룹을 선택하는 방법은 암 내에서의 DDB1 발현의 레벨에 기초한다.

[0162] 일 실시태양에서, 암 환자의 그룹을 선택하는 방법은 암 내에서의 DDB2 발현의 레벨에 기초한다.

[0163] 일 실시태양에서, 암 환자의 그룹을 선택하는 방법은 암 내에서의 IRF4 발현의 레벨에 기초한다.

[0164] 일 실시태양에서, 암 환자의 그룹을 선택하는 방법은 암 내에서의 NF-κB 발현의 레벨에 기초한다.

[0165] 다른 실시태양에서, 상기 방법은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 투여에 대한 임상적 반응의 예측, 임상적 반응의 모니터링, 또는 환자 순응도의 모니터링을 위해, 상기 환자의 T 세포, B 세포, 또는 형질 세포 내에서의 CRBN 발현의 레벨, 또는 DDB1, DDB2, IRF4 또는 NF-κB 발현의 레벨에 기초하여, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 반응하는 암 환자들의 그룹을 선택하는 방법을 포함한다.

[0166] 일 실시태양에서, 암 환자들은 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종, 흑색종 및 고형 종양 환자들 중에서 선택된다.

[0167] 또한, 환자의 전체 생존율의 향상을 가져오는, 암, 예를 들어, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), 및 고형 종양의 치료방법이 본원에서 제공된다. 일부 실시태양에서, 환자의 전체 생존율의 향상은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군에서 관찰된다. 일부 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군은 본원에서 제공된 하나 이상의 바이오마커를 특징으로 한다.

[0168] 다른 실시태양에서, 환자의 무병 생존을 가져오는, 암, 예를 들어, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), 및 고형 종양의 치료방법이 본원에서 제공된다. 일부 실시태양에서, 환자의 무병 생존은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군에서 관찰된다. 일부 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군은 본원에서 제공된 하나 이상의 바이오마커를 특징으로 한다.

[0169] 다른 실시태양에서, 환자 개체군에서 객관적 반응율의 향상을 가져오는, 암, 예를 들어, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), 및 고형 종양의 치료방법이 본원에서 제공된다. 일부 실시태양에서, 환자 개체군에서 객관적 반응율의 향상은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군에서 관찰된다. 일부 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의

에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군은 본원에서 제공된 하나 이상의 바이오마커를 특징으로 한다.

[0170] 다른 실시태양에서, 향상된 시간 대 진행 또는 환자의 무진행 생존을 가져오는, 암, 예를 들어, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), 및 고형 종양의 치료방법이 본원에서 제공된다. 일부 실시태양에서, 향상된 시간 대 진행 또는 환자의 무진행 생존은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군에서 관찰된다. 일부 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 감수성인 환자 개체군은 본원에서 제공된 하나 이상의 바이오마커를 특징으로 한다.

[0171] 또한, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML 또는 고형 종양의 효과적인 치료의 가능성을 예측하거나, 또는 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료의 유효성을 모니터링하는데 유용한 키트가 본원에서 제공된다. 키트는 고체 지지체, 및 생물학적 샘플 내 적어도 하나의 바이오마커의 단백질 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다. 이러한 키트는 예를 들어 계량봉(dipstick), 막, 칩, 디스크, 테스트 스트립, 필터, 마이크로스피어, 슬라이드, 다중웰 플레이트, 또는 광섬유를 사용할 수 있다. 키트의 고체 지지체는 예를 들어 플라스틱, 실리콘, 금속, 수지, 유리, 막, 입자, 침전물, 젤, 폴리머, 시트, 구, 다당류, 모세관, 필름 플레이트, 또는 슬라이드일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 세포 배양액, 세포주, 조직, 구강 조직, 위장 조직, 기관, 세포기관, 생물학적 액체, 혈액 시료, 소변 시료, 또는 피부 시료일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 림프절 생검, 골수 생검, 또는 말초 혈액 종양 세포의 샘플일 수 있다.

[0172] 일 실시태양에서, 키트는 고체 지지체; 상기 지지체에 접촉하는 핵산으로, NHL 내 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자의 mRNA의 적어도 20, 50, 100, 200, 350개 또는 그 이상의 염기에 상보성인 핵산; 및 생물학적 샘플 내 상기 mRNA의 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다. 일 실시태양에서, 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자는 IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1으로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0173] 일 실시태양에서, 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, AML 또는 고형 종양의 효과적인 치료의 가능성을 예측하거나, 또는 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료의 유효성을 모니터링하는데 유용한 키트가 제공된다. 키트는 고체 지지체, 및 생물학적 샘플 내 NF-κB의 발현을 검출하기 위한 수단을 포함한다. 일 실시태양에서, 생물학적 샘플은 세포 배양물 또는 조직 샘플이다. 일 실시태양에서, 생물학적 샘플은 종양 세포의 샘플이다. 다른 실시태양에서, 생물학적 샘플은 림프절 생검, 골수 생검, 또는 말초혈액 종양 세포의 샘플이다. 일 실시태양에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플이다. 일 실시태양에서, NHL은 DLBCL이다.

[0174] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 키트는 정량적 실시간 PCR(QRT-PCR), 마이크로어레이, 유세포분석기(flow cytometry) 또는 면역형광분석법에 의해 바이오마커의 발현을 검출하기 위한 수단을 사용한다. 다른 실시태양에서, 바이오마커의 발현은 ELISA-기초한 방법론 또는 당업계에 알려진 다른 유사한 방법들에 의해 측정된다.

[0175] 추가의 mRNA 및 단백질 발현 기술, 예를 들어, CDNA 혼성화 및 혈구계산 비드 어레이(cytometric bead array) 방법을 본원에서 제공되는 방법 및 키트와 관련하여 사용할 수 있다.

[0176] 일 실시태양에서, (ⅰ) 고체 지지체; 및 (ii) 생물학적 샘플 내 비-호지킨 림프종의 활성화된 B-세포 표현형의 바이오마커의 발현을 검출하기 위한 수단을 포함하는, 비-호지킨 림프종 환자에서 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 이용한 치료에 대한 종양 반응을 예측하기 위한 키트가 제공된다.

[0177] 일 실시태양에서, 바이오마커는 NF-κB이다.

[0178] 일 실시태양에서, 바이오마커는 활성화된 B-세포 표현형에 관련된 유전자이고, IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 및 BLIMP/PDRM1로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0179] 일부 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를, 암의 치료, 예방 또는 관리를 위해 종래에 사용되는 치료법과 병용하여 투여한다. 이러한 종래 치료법의 예로는, 수술, 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법 및 면역요법을 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0180] 또한, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 제2의 활성제 또는 추가의 활성제를 포함하는 약학적 조성물, 단일 단위 투여 제형(single unit dosage form), 투여 요법(dosing regimen) 및 키트가 본원에서 제공된다. 제2 활성제는 약물의 특정 복합, 또는 "칵테일(cocktail)"을 포함한다.

[0181] 일부 실시태양에서, 본원에서 제공되는 림프종의 치료, 예방 및/또는 관리방법은 표준 치료에 반응하지 않아온 환자들에 사용할 수 있다. 일 실시태양에서, 림프종은 종래 치료법에 대하여 재발성, 난치성 또는 내성이다.

[0182] 다른 실시태양에서, 본원에서 제공되는 림프종의 치료, 예방 및/또는 관리방법은 치료를 받은 적이 없는 환자들, 즉 한 번도 치료를 받아본 적이 없었던 환자들에 사용할 수 있다.

[0183] 특정 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 하나 이상의 추가의 활성제의 치료적 유효량과 병용 또는 교대로 투여할 수 있다. 제2의 활성제는 줄기세포뿐만 아니라, 본원에 그 예시가 제공된 소분자 및 대분자(예를 들어, 단백질 및 항체)를 포함한다. 본원에서 제공되는 화합물의 투여와 병용하여 사용될 수 있는 방법 또는 치료법은 수술, 수혈, 면역치료, 생물학적 치료, 방사선 치료, 및 원하지 않는 혈관생성에 관련되거나 이를 특징으로 하는 질병 및 상태를 치료, 예방 또는 관리하기 위해 현재 사용되고 있는 기타 비-약물 기반 치료법을 포함하나 이에 국한되는 것은 아니다.

[0184] 일 실시태양에서, 추가의 활성제는 알킬화제, 아데노신 유사체, 글루코코르티코이드, 키나제 저해제, SYK 저해제, PDE3 저해제, PDE7 저해제, 독소루비신(doxorubicin), 클로람부실(chlorambucil), 빈크리스틴(vincristine), 벤다무스틴(bendamustine), 폴스콜린(forskolin), 리툭시맙(rituximab), 또는 이들의 조합으로 구성된 그룹 중에서 선택된다.

[0185] 일 실시태양에서, 추가의 활성제는 리툭시맙이다. 다른 실시태양에서, 추가의 활성제는 프레드니손이다.

[0186] 일 실시태양에서, 글루코코르티코이드는 하이드로코르티손 또는 덱사메타손이다.

[0187] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 약 0.1 내지 약 100 mg/일, 약 0.1 내지 약 50 mg/일, 약 0.1 내지 약 25 mg/일, 0.1 내지 약 20 mg/일, 0.1 내지 약 15 mg/일, 약 0.1 내지 약 10 mg/일, 0.1 내지 약 7.5 mg/일, 약 0.1 내지 약 5 mg/일, 0.1 내지 약 4 mg/일, 0.1 내지 약 3 mg/일, 0.1 내지 약 2.5 mg/일, 0.1 내지 약 2 mg/일, 0.1 내지 약 1 mg/일, 0.1 내지 약 0.5 mg/일, 또는 0.1 내지 약 0.2 mg/일의 양으로 투여된다.

[0188] 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 0.1 내지 약 100 mg/일, 약 0.1 내지 약 50 mg/일, 약 0.1 내지 약 25 mg/일, 0.1 내지 약 20 mg/일, 0.1 내지 약 15 mg/일, 약 0.1 내지 약 10 mg/일, 0.1 내지 약 7.5 mg/일, 약 0.1 내지 약 5 mg/일, 0.1 내지 약 4 mg/일, 0.1 내지 약 3 mg/일, 0.1 내지 약 2.5 mg/일, 0.1 내지 약 2 mg/일, 0.1 내지 약 1 mg/일, 0.1 내지 약 0.5 mg/일, 또는 0.1 내지 약 0.2 mg/일의 양으로 투여된다.

[0189] 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 0.1 내지 약 100 mg/일의 양으로 투여된다.

[0190] 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 0.1 내지 약 25 mg/일의 양으로 투여된다.

[0191] 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 0.1 내지 약 5 mg/일의 양으로 투여된다.

[0192] 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 2.5, 3, 4, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 50, 또는 100 mg/일의 양으로 투여된다. 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 0.1 mg/일의 양으로 투여된다. 다른 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 0.2 mg/일의 양으로 투여된다. 다른 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 1.0 mg/일의 양으로 투여된다. 다른 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 약 5.0 mg/일의 양으로 투여된다.

[0193] 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온은 1일 2회 투여된다.

[0194] 본원에 개시된 방법에 사용될 수 있는 약학적 조성물(예를 들어, 단일 단위 투여 제형)이 본원에서 제공된다. 특정 실시태양에서, 약학적 조성물은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 제2 활성제를 포함한다.

[0195] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 경구 투여된다.

[0196] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 캡슐 또는 정제로 투여된다.

[0197] 일 실시태양에서, 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 28일 주기에서 21일 동안 투여되고 이어서 7일 동안 휴약된다.

[0199] 5.1 정의

[0200] 본원에서 사용되는 용어 "대상체" 또는 "환자"는, 다르게 정의되어 있지 않는 한, 영장류(예를 들어, 인간), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 쥐, 또는 마우스를 포함하는 포유동물을 포함하나 이에 국한되지는 않는 동물을 의미한다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 예를 들어 포유동물 대상체, 예컨대 인간 대상체를 지칭할 때 본원에서 상호호환하여 사용된다.

[0201] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 질병 또는 질환, 또는 상기 질병 또는 질환과 관련된 하나 이상의 증상의 근절 또는 개선을 의미한다. 특정 실시태양에서, 상기 용어는 그러한 질병 또는 질환을 가진 환자에게 하나 이상의 예방제 또는 치료제를 투여함으로써 상기 질병 또는 질환의 확산 또는 악화를 최소화하는 것을 의미한다. 특정 실시태양에서, 상기 용어는 특정 질병의 증상의 시작(onset) 이후, 다른 추가의 활성제와 함께 또는 없이, 본원에서 제공되는 화합물의 투여를 의미한다.

[0202] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "예방하다", "예방하는" 및 "예방"은 질병 또는 질환, 또는 이들의 하나 이상의 증상의 시작, 재발 또는 확산의 예방을 의미한다. 특정 실시태양에서, 상기 용어는, 증상의 시작 전에, 특히 본원에 기재된 질병 또는 질환의 위험이 있는 환자에게, 다른 추가의 활성제와 함께 또는 없이, 본원에세 제공되는 화합물을 이용한 치료 또는 투여를 의미한다. 상기 용어는 특정 질병의 증상의 억제 또는 감소를 포함한다. 질병의 가족력이 있는 환자들은 특히 특정 실시태양에서 예방적 요법(regimen)을 위한 후보자들이다. 한편, 재발성 증상의 내력을 가진 환자들 역시 예방을 위한 잠재적인 후보자들이다. 이와 관련하여, 용어 "예방"은 용어 "예방적 치료(prophylactic treatment)"와 상호호환적으로 사용될 수 있다.

[0203] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "관리하다", "관리하는" 및 "관리"는 질병 또는 질환, 또는 이들의 하나 이상의 증상의 진행, 확산 또는 악화를 예방하거나 둔화시키는 것을 의미한다. 종종, 예방제 및/또는 치료제로부터 환자가 얻는 유익한 효과가 질병 또는 질환의 치료가 되지 않는 경우가 있다. 이와 관련하여, 용어 "관리하는"은 특정 질병의 재발을 예방 또는 최소화하기 위한 시도로 상기 질병으로 고생해 온 환자

를 치료하는 것, 또는 차도(remission)가 있는 시간을 연장하는 것을 포함한다.

[0204] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어, 화합물의 "치료적 유효량"은 질병 또는 질환의 치료 또는 관리에서 치료적 혜택을 제공하기에, 또는 상기 질병 또는 질환과 관련된 하나 이상의 증상을 지연 또는 최소화하기에 충분한 양이다. 화합물의 치료적 유효량은, 단독으로 또는 다른 치료와 함께, 질병 또는 질환의 치료 또는 관리에서 치료적 혜택을 제공하는 치료제의 양을 의미한다. 용어 "치료적 유효량"은 전반적 치료를 향상시키고, 질병 또는 질환의 증상 또는 원인을 감소 또는 방지하고, 또는 다른 치료제의 치료적 효능을 증강시키는 양을 포함할 수 있다.

[0205] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어, 화합물의 "예방적 유효량"은 질병 또는 질환을 예방하기에, 또는 그의 재발을 예방하기에 충분한 양이다. 화합물의 예방적 유효량은, 단독으로 또는 다른 약제와 함께, 질병의 예방에 있어서 예방적 혜택을 제공하는 치료제의 양을 의미한다. 용어 "예방적 유효량"은 전반적 예방을 향상시키거나 또는 다른 예방제의 예방적 효능을 증강시키는 양을 포함할 수 있다.

[0206] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용되는 담체", "약학적으로 허용되는 부형제", "생리학적으로 허용되는 담체", 또는 "생리학적으로 허용되는 부형제"는 약학적으로-허용되는 물질, 조성물, 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 필러, 희석제, 부형제, 용매, 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 일 실시태양에서, 각 성분은 약학적 제제의 다른 성분들과의 양립가능성의 의미에서 "약학적으로 허용가능한" 것이고, 합당한 이점/위험 비에 비례하여 과도한 독성, 자극, 알레르기성 반응, 면역원성, 또는 기타 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직 또는 기관과 접촉하여 사용하는데 적절한 것이다. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21st Edition; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th Edition; Rowe *et al.*, Eds., The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2005; and *Handbook of Pharmaceutical Additives*, 3rd Edition; Ash and Ash Eds., Gower Publishing Company: 2007; *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*, Gibson Ed., CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2004) 참조.

[0207] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "종양"은 악성 또는 양성인 모든 종양성(neoplastic) 세포 성장 및 증식, 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 의미한다. 본원에서 사용되는 용어 "종양성"은 비정상적인 조직 성장을 야기하는 악성 또는 양성인 모든 형태의 결핍 제한 또는 비조절 세포 성장을 의미한다. 따라서, "종양성 세포"는 결핍 제한 또는 비조절 세포 성장을 갖는 악성 및 양성 세포를 포함한다.

[0208] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "재발된(relapsed)"은 치료 후 암의 차도를 나타내었던 대상체 또는 포유동물에서 다시 암 세포가 나타나는 상황을 의미한다.

[0209] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "유효한 환자 종양 반응"은 환자에 대한 치료적 혜택의 모든 증가를 의미한다. "유효한 환자 종양 반응"은, 예를 들어, 종양의 진행 속도에서 5%, 10%, 25%, 50%, 또는 100% 감소일 수 있다. "유효한 환자 종양 반응"은, 예를 들어, 암의 물리적 증상에서 5%, 10%, 25%, 50%, 또는 100% 감소일 수 있다. "유효한 환자 종양 반응"은 또한, 예를 들어, 유전자 발현, 세포 수, 측정 결과 등과 같은 모든 적절한 수단에 의해 측정되는 환자의 반응에서의 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200%, 또는 그 이상의 증가일 수 있다.

[0210] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "가능성"은 일반적으로 어떤 이벤트의 확률의 증가를 의미한다. 환자 종양 반응의 효과와 관련해서 사용될 때, 용어 "가능성"은 일반적으로 종양 진행 또는 종양 세포 성장 속도가 감소할 것이라는 증가된 확률을 나타낸다. 환자 종양 반응의 효과와 관련해서 사용될 때, 용어 "가능성"은 또한 일반적으로, 종양 치료에서 진전의 증가를 입증할 수 있는 mRNA 또는 단백질 발현과 같은 지표의 증가를 의미할 수도 있다.

[0211] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "예측하다"는 일반적으로 미리 결정하거나 말하는 것을 의미한다. 암 치료의 효과를 "예측"하기 위해 사용할 때, 예를 들어, 용어 "예측하다"는 처음부터, 치료 시작 전에, 또는 치료 기간이 상당히 진행되기 전에 암 치료 결과의 가능성을 결정할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.

[0212] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "모니터하다"는 일반적으로 활성의 감독, 관리, 조절, 관찰, 추적, 또는 감시를 의미한다. 예를 들어, 용어 "화합물의 효과를 모니터링하는"은 환자의 암 치료 또는 종양 세포 배양에서의 효과를 추적하는 것을 의미한다. 마찬가지로, 개인적으로든, 또는 임상 실험에서든, 환자 순응도와 관련해서 사용할 때 "모니터링"은 환자가 시험 중인 면역조절 화합물을 처방대로 실제로 복용하고 있

는 지를 추적 또는 확인하는 것을 의미한다. 모니터링은, 예를 들어, mRNA 또는 단백질 바이오마커의 발현을 추적함으로써 수행될 수 있다.

[0213] 암 또는 암 관련 질환의 개선은 완전 또는 부분 반응으로서 특징지어 질 수 있다. "완전 반응"은 모든 이전의 비정상적 방사선 촬영 검사, 골수, 및 뇌척수액(CSF) 또는 비정상 단일 클론 단백질 측정의 정상화로 임상학적으로 감지할 수 있는 질환이 없다는 것을 의미한다. "부분 반응"은 새로운 병변이 없을 때 모든 측정 가능한 종양 존재량(즉, 대상에 존재하는 악성 세포의 수, 또는 측정된 종양 종괴의 크기 또는 비정상 단일 클론 단백질의 양)이 최소한 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90% 감소하는 것을 의미한다. 용어 "치료"는 완전 반응과 부분 반응 모두를 고려한다.

[0214] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "난치성 또는 내성"은 집중 치료 후에도 대상체 또는 포유동물이 그 체내에 잔류 암 세포를 가지고 있는 상황을 의미한다.

[0215] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "약물 내성"은 질병이 약물 또는 약물들의 치료에 반응하지 않는 상태를 의미한다. 약물 내성은 질병이 약물 또는 약물들에 반응한 적이 전혀 없는 경우를 의미하는 내재성일 수도 있고, 질병이 이전에는 반응하였던 약물 또는 약물들에 대하여 반응을 중단한 경우를 의미하는 후천성일 수도 있다. 특정 실시태양에서, 약물 내성은 내재성이다. 특정 실시태양에서, 약물 내성은 후천성이다.

[0216] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "감수성" 및 "감수성인(민감한)"은 화합물을 이용한 치료와 관련하여 사용될 때 치료 중인 종양 또는 질병의 진행을 완화하거나 감소시킴에 있어서 화합물의 효과의 정도를 의미하는 상대적 용어이다. 예를 들어, 화합물과 관련 세포 또는 종양의 치료와 관련하여 사용할 때, 용어 "증가된 감수성"는 종양 치료의 효과에 있어서 적어도 5%, 또는 그 이상의 증가를 의미한다.

[0217] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "발현되는" 또는 "발현"은 유전자로부터 RNA 핵산 분자를 제공하는 전사(transcription)를 의미하며, 상기 RNA 핵산 분자는 상기 유전자의 2개의 핵산 가닥 중 하나의 영역에 적어도 부분적으로 상보적이다. 본원에서 사용되는 용어 "발현되는" 또는 "발현"은 또한 단백질, 폴리펩티드 또는 이들의 일부를 제공하는 상기 RNA 분자로부터의 번역(translation)을 의미한다.

[0218] "상향 조절되는" mRNA는 일반적으로 주어진 치료 또는 조건에 따라 증가된다. "하향 조절되는" mRNA는 일반적으로 주어진 치료 또는 조건에 반응하여 mRNA의 발현 레벨이 감소하는 것을 의미한다. 일부 상황에서, mRNA 레벨은 주어진 치료 또는 조건에 따라 변하지 않고 유지될 수 있다.

[0219] 환자 샘플로부터의 mRNA는 면역조절 화합물을 사용하여 치료할 때 비처리된 대조군에 비하여 "상향 조절"될 수 있다. 이러한 상향 조절은, 예를 들어, 비교 대조군 mRNA 레벨의 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 90%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1,000%, 5,000% 또는 그 이상의 증가일 수 있다.

[0220] 다르게는, mRNA는 특정 면역조절 화합물 또는 다른 제제의 투여에 반응하여 "하향 조절"되거나 또는 더 낮은 레벨에서 발현될 수 있다. 하향 조절된 mRNA는, 예를 들어, 비교 대조군 mRNA 레벨의 약 99%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 1% 또는 그 미만의 레벨로 존재할 수 있다.

[0221] 마찬가지로, 환자 샘플로부터의 폴리펩티드 또는 단백질 바이오마커의 레벨은 면역조절 화합물을 사용하여 치료할 때 비처리된 대조군에 비교하여 증가할 수 있다. 이러한 증가는 비교 대조군 단백질 레벨의 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 90%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1,000%, 5,000% 또는 그 이상일 수 있다.

[0222] 다르게는, 단백질 바이오마커의 레벨은 특정 면역조절 화합물 또는 다른 체체의 투여에 반응하여 감소할 수 있다. 이러한 감소는, 예를 들어, 비교 대조군 단백질 레벨의 약 99%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 1% 또는 그 미만의 레벨로 존재할 수 있다.

[0223] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "결정하는", "측정하는", "평가하는(evaluating)", "평가하는(assessing)" 및 "분석하는(assaying)"은 일반적으로 모든 형태의 측정을 의미하며, 어떤 요소가 존재하는지 아닌지 여부의 결정을 포함한다. 이들 용어는 정량적 및/또는 정성적 결정 모두를 포함한다. 평가는 상대적이거나 절대적일 수 있다. "존재의 평가"는 존재하는 어떤 것의 양을 결정하는 것 뿐만 아니라 그것이 존재하는지 아닌지 여부를 결정하는 것도 포함할 수 있다.

[0224] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용가능한 염"은 상기 용어가 지칭하는 화합물의 비-독성 산 및 염기 첨가 염을 포함한다. 허용가능한 비-독성 산 첨가 염으로는, 예를 들어, 염산, 브롬화수소산, 인산, 황산, 메탄술폰산, 아세트산, 주석산, 젖산, 숙신산, 구연산, 말산, 말레산, 소르브산, 아코

니트산, 살리실산, 프탈산, 엠보릭 산, 에난트산 등을 포함하는 당업계에 알려진 유기 및 무기 산 또는 염기로부터 유래된 것들이 포함된다.

[0225] 자연에서 산성인 화합물은 다양한 약학적으로 허용가능한 염기와 염을 형성할 수 있다. 이러한 산성 화합물의 약학적으로 허용가능한 염기 첨가 염을 제조하기 위해 사용할 수 있는 염기는 비-독성 염기 첨가 염, 즉 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염, 및 특히, 칼슘, 마그네슘, 나트륨 또는 칼륨 염과 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 약학적으로 허용가능한 양이온을 포함하는 염을 형성하는 염이다. 적합한 유기 염기로는, N,N-디벤질에틸렌디아민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루마인(N-메틸글루카민), 리신, 및 프로카인이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0226] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "용매화물"은 비-공유적 분자간 힘에 의해 결합된 화학양론적 또는 비-화학 양론적 양의 용매를 추가로 포함하는 본원에서 제공되는 화합물 또는 이의 염을 의미한다. 용매가 물인 경우, 용매화물은 수화물이다.

[0227] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "전구 약물(프로드럭)"은 생물학적 조건(시험관내 또는 생체내) 하에서 가수분해, 산화, 또는 그 외 방식으로 반응하여 화합물을 제공하는 상기 화합물의 유도체를 의미한다. 프로드럭의 예로는, 생가수분해가능한(biohydrolyzable) 부위, 예컨대 생가수분해가능한 아미드, 생가수분해가능한 에스테르, 생가수분해가능한 카바메이트, 생가수분해가능한 카보네이트, 생가수분해가능한 우레이드, 및 생가수분해가능한 포스페이트 유사체를 포함하는 본원에서 제공되는 화학식 I의 화합물의 유도체를 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다. 프로드럭의 다른 예로는 -NO, $-NO_2$, -ONO, 또는 $-ONO_2$ 부위를 포함하는 본원에서 제공되는 화학식 I의 화합물의 유도체를 포함한다. 프로드럭은 *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff *ed.*, 5th ed. 1995), 및 *Design of Prodrugs* (H. Bundgaard ed., Elselvier, New York 1985)에 기재된 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

[0228] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "생가수분해가능한 아미드", "생가수분해가능한 에스테르", "생가수분해가능한 카바메이트", "생가수분해가능한 카보네이트", "생가수분해가능한 우레이드", 및 "생가수분해가능한 포스페이트"는 1) 화합물의 생물학적 활성을 방해하지 않으면서 생체내에서 상기 화합물의 유리한 특성, 예컨대, 섭취, 작용의 기간, 또는 작용의 개시를 부여할 수 있거나, 또는 2) 생물학적으로 불활성이나 생체내에서 생물학적으로 활성인 화합물로 전환될 수 있는, 화합물의 아미드, 에스테르, 카바메이트, 카보네이트, 우레이드, 또는 포스페이트를 각각 의미한다. 생가수분해가능한 에스테르의 예로는 저급 알킬 에스테르, 저급 아실옥시알킬 에스테르(예컨대 아세톡실메틸, 아세톡실에틸, 아미노카르보닐옥시메틸, 피발로일옥시메틸, 및 피발로일옥시에틸 에스테르), 락토닐 에스테르(예컨대 프탈리딜 및 티오프탈리딜 에스테르), 저급 알콕시아실옥시알킬 에스테르(예컨대 메톡시카르보닐옥시메틸, 에톡시카르보닐옥시에틸 및 이소프로폭시카르보닐옥시에틸 에스테르), 알콕시알킬 에스테르, 콜린 에스테르, 및 아실아미노 알킬 에스테르(예컨대 아세트아미도메틸 에스테르)를 포함하나 이에 국한되는 것은 아니다. 생가수분해가능한 아미드의 예로는 저급 알킬 아미드, α-아미노산 아미드, 알콕시아실 아미드, 및 아킬아미노알킬카르보닐 아미드를 포함하나 이에 국한되는 것은 아니다. 생가수분해가능한 카바메이트의 예로는 저급 알킬아민, 치환된 에틸렌디아민, 아미노산, 하이드록시알킬아민, 헤테로사이클릭 및 헤테로방향족 아민, 및 폴리에테르 아민을 포함하나 이에 국한되는 것은 아니다.

[0229] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "입체 이성질적으로 순수한"은 화합물의 하나의 입체 이성질체를 포함하고 상기 화합물의 다른 입체 이성질체는 실질적으로 존재하지 않는 조성물을 의미한다. 예를 들어, 하나의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체 이성질적으로 순수한 조성은 실질적으로 화합물의 반대 거울상 이성질체가 존재하지 않을 것이다. 두 개의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체 이성질적으로 순수한 조성은 화합물의 다른 부분 입체 이성질체가 존재하지 않을 것이다. 일반적으로, 입체 이성질적으로 순수한 화합물은 화합물의 하나의 입체 이성질체의 약 80 중량% 이상과 화합물의 다른 입체 이성질체의 약 20 중량% 미만, 더 바람직하게는 화합물의 하나의 입체 이성질체의 약 90 중량% 이상과 화합물의 다른 입체 이성질체의 약 10 중량% 미만, 더욱 바람직하게는 화합물의 하나의 입체 이성질체의 약 95 중량% 이상과 화합물의 다른 입체 이성질체의 약 5 중량% 미만, 및 가장 바람직하게는 화합물의 하나의 입체 이성질체의 약 97 중량% 이상과 화합물의 다른 입체 이성질체의 약 3 중량% 미만을 포함한다. 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "입체 이성질적으로 풍부한"은 화합물의 하나의 입체 이성질체를 약 60 중량% 이상, 바람직하게는 약 70 중량% 이상, 더 바람직하게는 화합물의 하나의 입체 이성질체를 약 80 중량% 이상을 포함하는 조성물을 의미한다. 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "거울상 이성질적으로(enantiomerically) 순수한"은 하나의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체 이성질적으로 순수한 조성을 의미한다. 마찬가지로, 용어 "입체 이성질적으로

풍부한"은 하나의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체 이성질적으로 풍부한 조성을 의미한다.

[0230] 달리 명시되어 있지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "약" 또는 "대략"은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 측정되는 바와 같은 특정 값에 대한 허용가능한 오류를 의미하는 것으로, 이는 그 값이 어떻게 측정 또는 결정되는지에 일부 의존한다. 특정 실시태양에서, 용어 "약" 또는 "대략"은 1, 2, 3, 또는 4 표준 편차 내를 의미한다. 특정 실시태양에서, 용어 "약" 또는 "대략"은 주어진 값 또는 범위의 50%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 또는 0.05% 내를 의미한다.

[0232] **5.2 암 허가를 위한 임상 시험 엔드포인트(endpoint)**

[0233] "전체 생존율"은 무작위 추출로부터 임의의 원인으로부터 죽음까지의 시간으로서 정의되며, 치료 의향 개체군에서 측정된다. 전체 생존율은 무작위 대조 연구로 평가되어야 한다. 전체 생존율에서의 통계학적으로 중요한 개선의 실증은 독성 프로파일을 수용하는 경우, 임상적으로 중요한 것으로 간주될 수 있으며, 종종 신규 약물 승인에 뒷받침이 되었다.

[0234] 여러 엔드포인트는 종양 평가를 기반으로 한다. 이들 엔드포인트는 무병 생존율(DFS), 목표 응답 속도(ORR), 진행되기까지의 시간(TTP), 무진행 생존율(PFS), 및 치료 실패까지의 시간(TTF)을 포함한다. 이들 시간 의존성 엔드포인트에 대한 데이터의 수집 및 분석은 간접 평가, 계산 및 추정(예를 들어, 종양 측정)을 근거로 한다.

[0235] 일반적으로, "무질병 생존율(disease free survival, DFS)"은 무작위 추출로부터 어떤 원인으로부터 암의 재발 또는 죽음까지의 시간으로서 정의된다. 전체 생존율은 대부분의 수술 후 보조 요법에 대한 기존의 엔드포인트이지만, 생존 엔드포인트를 비현실적으로 만드는, 생존을 연장할 수 있는 상황에서는 DFS가 중요한 엔드포인트일 수 있다. DFS는 임상적 이점에 대한 대리일 수 있으며, 또는 임상적 이점의 직접적인 증거를 제공할 수 있다. 이 결정은 효과의 크기, 그 위험-이점 상관 관계, 및 질환 설정(disease setting)에 근거한다. DFS의 정의는 특히, 이전의 암 진행 기록 없이 죽음이 설명될 때 복잡해질 수 있다. 이들 사건은 질환 재발 또는 삭제된 사건으로서 기록될 수 있다. 죽음의 통계학적 분석을 위한 모든 방법은 몇 가지 제한이 있지만, 모든 죽음(모든 원인으로부터의 죽음)을 재발로서 간주하는 것은 편향을 최소화할 수 있다. DFS는 특히, 관찰없이 장기간 후에 죽은 환자에게서 이 정의를 사용하여 과대 평가될 수 있다. 장기 후속 방문 빈도수가 연구 그룹 사이에서 다르거나, 탈락자가 독성에 의한 무작위가 아니라면, 편향이 도입될 수 있다.

[0236] "목표 반응 속도(objective response rate, ORR)"는 사전 정의된 양과 최소 기간 동안의 암 감소 환자의 비율로서 정의된다. 보통, 반응 기간은 초기 반응 시간에서부터 암 진행이 기록될 때까지 측정된다. 일반적으로, FDA는 부분 반응과 완전 반응의 합으로서 ORR를 정의했다. 이러한 방식으로 정의할 때, ORR은 단일군 연구에서 평가될 수 있는 약물 항암 활성의 직접적인 측정이다. 가능하면, 표준화된 기준이 확인할 반응에 사용되어야 한다. 다양한 반응 기준이 적합한 것으로 간주되었다(예를 들어, RECIST 기준) (Therasse 등., (2000) J. Natl. Cancer Inst, 92: 205-16). ORR의 의미는 그 크기와 기간, 및 (감지할 수 있는 어떠한 암의 증거도 없는) 완전 반응의 비율에 의해 평가된다.

[0237] "진행되기까지의 시간(time to progression, TTP)" 및 "무진행 생존율(progression-free survival, PFS)"은 약물 승인을 위한 주요 엔드포인트로서의 역할을 해왔다. TTP는 무작위 추출로부터, 목표 암 진행까지의 시간으로 정의된다; TTP는 죽음을 포함하지 않는다. PFS는 무작위 추출로부터, 목표 암 진행 또는 죽음까지의 시간으로서 정의된다. TTP와 비교하여, PFS는 바람직한 규제 엔드포인트이다. PFS는 죽음을 포함하기 때문에 전체 생존율과 더 잘 연관될 수 있다. PFS는 환자의 죽음이 무작위로 암 진행에 관련되어 있다고 가정한다. 그러나, 대다수의 죽음이 암과 관련이 없는 상황에서는 TTP가 허용가능한 엔드포인트로 될 수 있다.

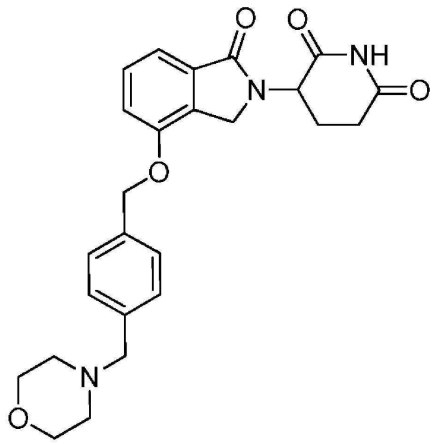
[0238] 약물 승인을 지원하는 엔드포인트로서, PFS는 암 성장을 반영할 수 있으며, 생존 혜택의 결정 전에 평가될 수 있다. 그 결정은 이후의 치료에 의해 혼동되지 않는다. 주어진 시료 크기에 대해, PFS에 미치는 영향의 크기는 전체 생존율에 미치는 영향보다 크다. 그러나, 존재하는 많은 다른 악성 종양에 대한 생존을 위한 대용으로서 PFS의 공식 검증은 어려울 수 있다. 데이터는 때때로 생존과 PFS에 미치는 영향들 사이의 상관 관계를 확실하게 평가하기에 불충분하다. 암 임상 시험은 자주 적고, 기존 약물의 증명된 생존 이익은 일반적으로 그다지 대단하지 않다. 면허 승인을 지원하는 엔드포인트로서의 PFS의 역할은 다른 암 설정에 따라 달라진다. PFS에서의 향상이 직접적인 임상적 혜택을 나타내는지, 임상적 혜택에 대한 대용인지는 여부는 이용 가능한 치료와 비교한 새로운 치료의 효과 및 위험-혜택의 크기에 의존한다.

[0239] "치료 실패까지의 시간(time-to-treatment failure, TTF)"은 무작위 추출로부터, 질환 진행, 치료 독성, 및 죽음을 포함하여 어떤 이유로 인한 치료 중단까지의 시간을 측정하는 복합 엔드포인트로서 정의된다. TTF는 약물

승인을 위한 규제 엔드포인트로서 권장되지 않는다. TTF는 이들 추가 변수로부터 효과를 적절하게 구별하지 않는다. 규제 엔드포인트는 독성, 환자 또는 의사 철회, 또는 환자의 편협으로부터 약물의 효과를 명확하게 구별해야 한다.

[0241] **5.3 화합물**

[0242] 본원에서 제공되는 방법에 사용하기에 적합한 화합물은 하기 화학식 I의 구조를 갖는 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체(clathrate), 또는 다형체이다:

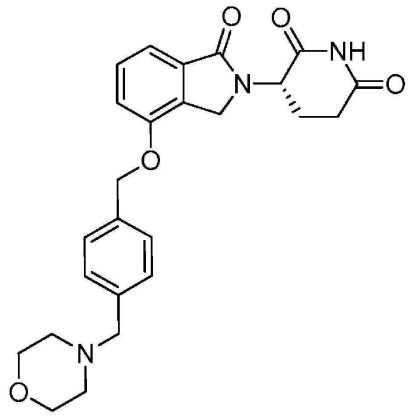


(I)

[0243] .

[0244] 일 실시태양에서, 화합물은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온이다. 일 실시태양에서, 화합물은 화합물 I의 약학적으로 허용가능한 염이다. 일 실시태양에서, 화합물은 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 하이드로클로라이드이다.

[0245] 일 실시태양에서, 화합물은 하기 화학식 I-S의 구조를 갖는 *(S)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온이다:

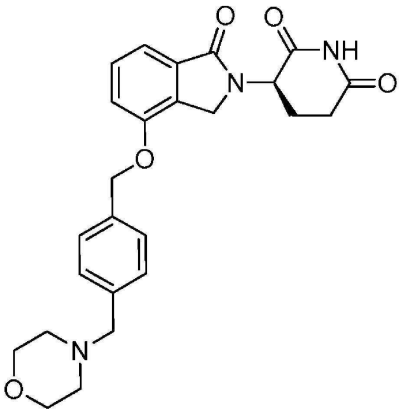


(I-S)

[0246] .

[0247] 일 실시태양에서, 화합물은 화합물 I-S의 약학적으로 허용가능한 염이다. 일 실시태양에서, 화합물은 *(S)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 하이드로클로라이드이다.

[0248] 일 실시태양에서, 화합물은 하기 화학식 I-R의 구조를 갖는 *(R)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온이다:



(I-R)

[0249]

[0250] 일 실시태양에서, 화합물은 화합물 I-R의 약학적으로 허용가능한 염이다. 일 실시태양에서, 화합물은 *(R)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 하이드로클로라이드이다.

[0251] 화학식 I의 화합물은 본원에서 제공되는 실시예, 또는 그 개시사항이 전체로서 본원에 참고로 포함되어 있는 미국출원공개번호 US2011-0196150호에 기재된 바와 같은 방법에 따라 제조할 수 있다. 본원의 개시사항에 기초하여 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명한 기타 방법에 따라서도 화합물을 합성할 수 있다.

[0252] 본원에서 제공되는 화합물은 LPS-자극된 hPBMC 및 인간 전혈에서 TNF-α, IL-1β, 및 다른 염증성 사이토카인을 현저하게 저해한다. TNF-α는 급성 염증 동안 마크로파지 및 단핵구에 의해 생성되는 염증성 사이토카인이다. TNF-α는 세포 내 다양한 범위의 시그널링 이벤트에 책임이 있다. TNF-α는 암에서 병리학적 역할을 담당한다. 이론에 제한되는 바 없이, 본원에서 제공되는 면역조절 화합물에 의해 발휘되는 생물학적 효과의 하나는 TNF-α 합성의 감소이다. 본원에서 제공되는 면역조절 화합물은 TNF-α mRNA의 분해를 증강시킨다. 본원에서 제공되는 화합물은 또한 이러한 조건하에서 IL-1β를 강력하게 저해하고 IL-10을 자극한다.

[0253] 또한, 어떠한 특정 이론에도 제한되는 바 없이, 본원에서 제공되는 화합물은 T 세포의 강력한 공동-자극자이고 적절한 조건하에서 용량 의존적인 방식으로 세포 증식을 증가시킨다.

[0254] 특정 실시태양에서, 이론에 제한되는 바 없이, 본원에서 제공되는 면역조절 화합물에 의해 발휘되는 생물학적 효과는 항-혈관생성 및 면역조절 효과를 포함하며 이에 국한되는 것은 아니다.

[0255] 본원에서 제공되는 화학식 I의 화합물은 하나의 키랄 중심을 포함하며, 에난티오머의 혼합물, 즉, 라세미 혼합물로서 존재할 수 있다. 본 발명은 그러한 화합물의 입체 이성질적으로 순수한 형태의 사용뿐만 아니라 이들 형태의 혼합물의 사용도 포함한다. 예를 들어, 본원에서 제공되는 화학식 I의 화합물의 에난티오머의 동량 또는 비동량을 포함하는 혼합물은 본원에서 개시되는 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. 이들 아이소머는 키랄 컬럼 또는 키랄 분리제와 같은 표준 기술을 사용하여 비대칭적으로 합성되거나 분리될 수 있다. 참고, 예를 들어, Jacques, J., *et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., *et al., Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon 화합물s* (McGraw-Hill, NY, 1962); and Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

[0256] 만약 도시된 구조 및 상기 구조에 주어진 명칭 사이에 불일치가 있다면, 도시된 구조에 더 많은 무게를 부여해야 한다는 점을 인식해야 한다. 또한, 구조 또는 구조의 일부의 입체화학이 예를 들어 굵은 선 또는 점선으로 표시되어 있지 않다면, 상기 구조 또는 구조의 일부는 상기 구조의 모든 입체 이성질체를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0258] **5.4 제2 활성제**

[0259] 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 본원에서 제공되는 방법 및 조성물에 있어서 하나 이상의 다른 약리학적으로 활성인 화합물("제2 활성제")과 조합될 수 있다. 일부 조합은 특정 유형의 암, 및 원하지 않은 혈관형성과 관련되거나 또는 원하지 않은 혈관형성을 특징으로 하는 일부 질환 및 질병의 치료에서 상승 작용하는 것으로 알려져 있다. 또한, 본원에서 제공되는 화합물은 일부 제2 활성제와 관련된 역효과를 완화하기 위해 작용할 수 있으며, 일부 제2 활성제는 본원에서 제공되는 화합물

과 관련된 역효과를 완화하기 위해 사용될 수 있다.

[0260] 하나 이상의 제2 활성 성분 또는 제2 활성제는 본 명세서에서 제공되는 화합물과 함께 본 명세서에서 제공되는 방법 및 조성에서 사용될 수 있다. 제2 활성제는 큰 분자(예를 들어, 단백질) 또는 작은 분자(예를 들어, 합성 무기 분자, 유기 금속 분자, 또는 유기 분자)일 수 있다.

[0261] 큰 분자 활성제의 예로는 조혈 성장 인자, 사이토카인, 및 단일 클론 및 다중 클론 항체가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 특정 실시예들에서, 큰 분자 활성제는 자연적으로 발생하거나 인위적으로 만들어진 단백질과 같은 생물학적 분자이다. 본 발명에서 특히 유용한 단백질은 시험관내 또는 생체내에서 조혈 전구 세포 및 면역학적으로 활성인 포이에틱(poietic) 세포의 생존 및/또는 증식을 자극하는 단백질을 포함한다. 다른 단백질은 체외 또는 생체 내에서 세포의 위탁 적혈구 전구(committed erythroid progenitors)의 분열 및 분화를 자극한다. 특정 단백질로는 IL-2 (재조합 IL-II ("rIL2") 및 카나리폭스 IL-2를 포함), IL-10, IL-12, 및 IL-18과 같은 인터류킨; 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 알파-n1, 인터페론 알파-n3, 인터페론 베타-Ia 및 인터페론 감마-Ib와 같은 인터페론; GM-CF 및 GM-CSF; 및 EPO가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0262] 본 발명의 방법 및 조성물에서 사용할 수 있는 특정 단백질로는 NEUPOGEN®(Amgen, Thousand Oaks, CA)이라는 상품명으로 미국에서 판매되는 필그라스팀; LEUKINE®(Immunex, Seattle, WA)이라는 상품명으로 미국에서 판매되는 사르그라모스팀; EPGEN®(Amgen, Thousand Oaks, CA)이라는 상품명으로 미국에서 판매되는 재조합 EPO가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0263] ActRII 수용체의 저해제 또는 액티빈-ActRII 저해제를 본원에서 개시된 방법 및 조성물에 사용할 수 있다. ActRII 수용체의 저해제는 ActRIIA 저해제 및 ActRIIB 저해체를 포함한다. ActRII 수용체의 저해제는 ActRII의 액티빈-결합 도메인을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다. 특정 실시태양에서, 액티빈-결합 도메인을 포함하는 폴리펩타이드는 항체의 Fc 부위에 연결된다(즉, ActRII 수용체의 액티빈-결합 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 및 항체의 Fc 부위를 포함하는 컨쥬게이트가 생성된다). 특정 실시태양에서, 액티빈-결합 도메인은 링커, 예를 들어, 펩타이드 링커를 통해 항체의 Fc 부위에 연결된다. 액티빈 또는 ActRIIA 결합용으로 선택되는 그러한 비-항체 단백질의 예 및 이를 디자인 및 선택하는 방법은 WO/2002/088171, WO/2006/055689, WO/2002/032925, WO/2005/037989, US 2003/0133939, 및 US 2005/0238646에 기재되어 있으며, 이들 각 문헌은 그 전체로서 본원에 참고로 포함되어 있다. 일 실시태양에서, ActRII 수용체의 저해제는 ACE-11이다. 다른 실시태양에서, ActRII 수용체의 저해제는 ACE-536이다.

[0264] GM-CSF의 재조합 및 돌연변이 형태는, 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된 각각의 미국 특허 제5,391,485호, 제5.393,870호, 및 제5,229,496호에 개시된 것처럼 제조될 수 있다. G-CSF의 재조합 및 돌연변이 형태는, 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된 각각의 미국 특허 제4,810,643호, 제4,999,291호, 제5,528,823호, 및 제5,580,755호에 개시된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0265] 본 발명은 자연에 존재하는 단백질, 자연적으로 발생하는 단백질, 및 재조합 단백질의 사용을 포함한다. 본 발명은, 생체 내에서, 적어도 그들이 기반으로 한 단백질의 약리학적 활성 일부를 나타내는 자연적으로 발생하는 단백질의 돌연변이 및 유도체(예를 들어, 변형된 형태)를 추가로 포함한다. 돌연변이의 예로는 단백질의 자연적으로 발생하는 형태의 해당 잔기와는 다른 하나 이상의 아미노산 잔기를 갖는 단백질이 있지만, 이에 국한되지는 않는다. 용어 "돌연변이"에 의해, 단백질의 자연적으로 발생하는 형태(예를 들어 당화되지 않은 형태)에는 정상적으로 존재하는 탄수화물 성분이 없는 단백질도 또한 포함된다. 유도체의 예로는 페길화된 유도체, 및 단백질 또는 관심있는 단백질의 활성 일부에 IgG1 또는 IgG3를 융합하여 형성된 단백질과 같은 융합 단백질이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다(예를 들어, Penichet, M.L. and Morrison, S.L., *J. Immunol. Methods* 248:91-101 (2001) 참조).

[0266] 본 명세서에서 제공되는 화합물과 조합으로 사용될 수 있는 항체로는 단일 클론 및 다중 클론 항체가 있다. 항체의 예로는 트라스투주맙(HERCEPTIN®), 리툭시맙(리툭산®), 베바시주맙(AVASTIN™, 페르투주맙(OMNITARG™), 토시투모맙(BEXXAR®), 에드레콜로맙(PANOREX®), 파니투무맙 및 G250가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 또한, 본 명세서에서 제공되는 화학식I의 화합물은 항-TNF-α항체와 결합되거나, 또는 조합으로 사용될 수 있다.

[0267] 큰 분자 활성제는 항암 백신의 형태로 투여될 수 있다. 예를 들어, IL-2, SCF, CXC14 (혈소판 인자4), G-CSF, 및 GM-CSF과 같은 사이토카인을 분비, 또는 사이토카인의 분비를 야기하는 백신이 본 발명의 방법, 제약 조성물, 및 키트에 사용될 수 있다(예를 들어, Emens, L.A., 등., *Curr. Opinion Mol. Ther.* 3(1):77-84

(2001) 참조).

[0268] 또한, 본 명세서에서 제공되는 화합물의 투여와 관련된 역효과를 완화하기 위해 소분자인 제2 활성제가 사용될 수 있다. 그러나, 일부 큰 분자와 같이, 이들의 대다수도 본원에서 제공되는 화합물과 함께 투여될 때(예를 들어, 전, 후, 또는 동시에) 시너지 효과를 제공할 것으로 생각된다. 소분자 제2 활성제의 예로는 항암제, 항생제, 면역 억제제, 및 스테로이드가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0269] 항암제의 예로는, 아브락산; 에이스-11; 아시비신; 아클라루비신; 아코다졸 염산염; 아크로닌; 아도젤레신; 알데스루킨; 알트레타민; 암보마이신; 아메탄트론 아세테이트; 암루비신; 암사크린; 아나스트로졸; 안트라마이신; 아스파라기나아제; 아스퍼린; 아자시티딘; 아제테파; 아조토마이신; 바티마스타트; 벤조데파; 비칼루타미드; 비산트렌 염산염; 비스나피드 디메실레이트; 비젤레신; 블레오마이신 황산염; 브레퀴나르 나트륨; 브로피리민; 부설판; 카티노마이신; 칼루스테론; 카라세마이드; 카르베티머; 카르보플라틴; 카르무수틴; 카루비신 염산염; 카젤레신; 세데핀골; 셀레콕시브 (COX-2 억제제); 클로람부실; 시롤레마이신; 시스플라틴; 클라드리빈; 크리스나톨 메실레이트; 시클로포스파미드; 사이타라빈; 다카르바진; 닥티노마이신; 다우노루비신 염산염; 데시타빈; 덱소마플라틴; 데자구아닌; 데자구아닌 메실레이트; 디아지쿠온; 도세탁셀; 독소르비신; 독소르비신 염산염; 드롤록시펜; 드롤록시펜 구연산염; 드로모스타놀론 프로피오네이트; 두아조마이신; 에다트렉사이트; 에플로니틴 염산염; 엘사미트루신; 엔로플라틴; 엔프로메이트; 에피프로피딘; 에피루비신 염산염; 에르불로졸; 에소루비신 염산염; 에스트라무스틴; 에스트라무스틴 인산 나트륨; 에타니다졸; 에토포시드; 에토포시드 인산염; 에포프린; 파드로졸 염산염; 파자라빈; 펜레티나이드; 플록스우리딘; 플루다라빈 인산염; 플루오로우라실; 플루로시타빈; 포스퀴돈; 포스트리에신 나트륨; 젬시타빈; 젬시타빈 염산염; 헤르셉틴; 수산화요소; 이다루비신 염산염; 이포스파미드; 일모포신; 이프로플라틴; 이리노테칸; 이리노테칸 염산염; 란레오티드 아세테이트; 라파티닙; 레트로졸; 루프로라이드 아세테이트; 리아로졸 염산염; 로메트렉솔 나트륨; 로무스틴; 로소잔트론 염산염; 마소프로콜; 마이탄신; 메클로레타민 염산염; 메게스트롤 아세테이트; 멜렌게스트롤 아세테이트; 멜팔란; 메노가릴; 메르캅토퓨린; 메토트렉사이트; 메토트렉사이트 나트륨; 메토프린; 메투레데파; 미틴도미드; 미토카르신; 미토크로민; 미토길린; 미토말신; 미토마이신; 미토스퍼; 미토탄; 미토잔트론 염산염; 마이코페놀산; 노코다졸; 노갈라마이신; 오르마플라틴; 옥시수란; 파클리탁셀; 페가스파르가아제; 펠리오마이신; 펜타무스틴; 페플로마이신 황산염; 퍼포스파미드; 피포브로만; 피포설판; 피로잔트론 염산염; 플라카마이신; 플로메스탄; 포르피머 나트륨; 포르피로마이신; 프레드니무스틴; 프로카르바진 염산염; 푸로마이신; 푸로마이신 염산염; 피라조푸린; 리보프린; 로미뎁신; 사핑골; 사핑골 염산염; 세무스틴; 심트라젠; 스파르포세이트 나트륨; 스파르소마이신; 스피로게르마늄 염산염; 스피로무스틴; 스피로플라틴; PDA-001과 같은 줄기 세포 치료제; 스트렙토니그린; 스트렙토조신; 술로페누르; 탈리소마이신; 테코갈란 나트륨; 탁소텔; 테가푸르; 텔로잔트론 염산염; 테모포르핀; 테니포시드; 테록시론; 테스토락톤; 티아미프린; 티오구아닌; 티오테파; 티아조푸린; 티라파자민; 토레미펜 구연산염; 트레스톨론 아세테이트; 트리시리빈 인산염; 트리메트렉사이트; 트리메트렉사이트 글루쿠론산염; 트리프토렐린; 투불로졸 염산염; 우라실 머스타드; 우레데파; 바프레오타이드; 베르테포르핀; 빈블라스틴 황산염; 빈크리스틴 황산염; 빈데신; 빈데신 황산염; 비네피딘 황산염; 빈글리시네이트 황산염; 빈레우로신 황산염; 비노렐빈 주석산염; 빈로시딘 황산염; 빈졸리딘 황산염; 보로졸; 제니플라틴; 지노스타틴; 및 조루비신 염산염이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0270] 다른 항암 약물로는 20-에피-1, 25 디하이드록시비타민 D3; 5-에티닐우라실; 아비라테론; 아클라루비신; 아실풀벤; 아데시페놀; 아도젤레신; 알데스루킨; ALL-TK 길항제; 알트레타민; 암바무스틴; 아미독; 아미포스틴; 아미노레불린산; 암루비신; 암사크린; 아나그레라이드; 아나스트로졸; 안드로그라포라이드; 혈관 형성 억제제; 길항제 D; 길항제 G; 안타렐릭스; 항-등쪽 결정 유전자 형성 단백질-1(anti-dorsalizing morphogenetic protein-1); 항안드로겐, 전립선암; 항에스트로겐; 안티네오플라스톤; 안티센스 올리고뉴클레오티드; 아피디콜린 글르시네이트; 세포 사멸 유전자 조절제; 세포 사멸 조절제; 애푸린산; ara-CDP-DL-PTBA; 아르기닌 탈아미노 효소; 아술라크린; 아타메스탄; 아트리무스틴; 악시나스타틴 1; 악시나스타틴2; 악시나스타틴3; 아자세트론; 아자톡신; 아자티로신; 바카틴 III 유도체; 발라놀; 바티마스타트; BCR/ABL 길항제; 벤조클로린; 벤조일스타우로스포린; 베타 락탐 유도체; 베타-알레틴; 베타클라마이신B; 베툴린산; b-FGF 억제제; 비칼루타미드; 비산트렌; 비스아지리디닐스퍼민; 비스나피드; 비스트라텐 A; 비젤레신; 브레플레이트; 브로피리민; 부도티탄; 부티오닌 설폭시민; 칼시포트리올; 칼포스틴C; 캄프토테신 유도체; 카페시타빈; 카르복사미드-아미노-트리아졸; 카르복시아미도트리아졸; CaRest M3; CARN 700; 연골 유래 억제제; 카르젤레신; 카세인 키나아제 억제제(ICOS); 카스타노스퍼민; 세크로핀B; 세트로렐릭스; 클몰린; 클로로퀴녹살린 술폰아미드; 시카프로스트; 시스-포르피린; 클라드리빈; 클로미펜 유사체; 클로트리마졸; 콜리스마이신A; 콜리스마이신B; 콤브레타스타틴A4; 콤브레타스타틴 유사체; 코나게닌; 크람베스시딘 816; 크리스나톨; 크립토피신8; 크립토피신 A 유도체; 쿠라신A; 시클로펜탄트라퀴논; 시클

로플라탐; 시페마이신; 시타라빈 옥포스페이트; 세포 용해 인자; 시토스타틴; 다크릭시맙; 데시타빈; 디하이드로디뎀닌 B; 데스로레린; 덱사메타손; 덱시포스파미드; 덱스라족산; 덱스베라파밀; 디아지쿠온; 디뎀닌B; 디독스; 디에틸노르스퍼민; 디하이드로-5-아지시티딘; 디하이드로탁솔, 9-; 디옥사마이신; 디페닐스피로무스틴; 도세탁셀; 도코사놀; 돌라세트론; 독시플루리딘; 독소루비신; 드롤록시펜; 드로나비놀; 두오카르마이신SA; 엡셀렌; 에코무스틴; 에델포신; 에드레콜로맙; 에플로니틴; 엘레멘; 에미테퓨르; 에피루비신; 에프리스테라이드; 에스트라무스틴 유사체; 에스트로겐 작용제; 에스트로겐 길항제; 에타니다졸; 에토포시드 포스페이트; 엑세메스탄; 파드로졸; 파자라빈; 펜레티나이드; 필그라스팀; 피나스테라이드; 플라보피리돌; 플레젤라스틴; 플루아스테론; 플루다라빈; 플루오로다우노루니신 염산염; 포르페니멕스; 포르메스탄; 포스트리에신; 포테무스틴; 가돌리늄 텍사피린; 갈륨 질산염; 갈로시타빈; 가니렐릭스; 젤라티나아제 억제제; 젬시타빈; 글루타티온 억제제; 헵술팜; 헤레굴린; 헥사메틸렌 비스아세타미드; 히페리신; 이반드론산; 이다루비신; 이독시펜; 이드라만톤; 일모포신; 일로마스타트; 이마티닙 (예를 들어, GLEEVEC®), 이미퀴모드; 면역 자극 펩티드; 인슐린 유사 성장 인자-1 수용체 억제제; 인터페론 작용제; 인터페론; 인터루킨; 이오벤구안; 이오도독소루비신; 이포메아놀, 4-; 이로플락트; 이르소글라딘; 이소벤가졸; 이소호모할리콘드린 B; 이타세트론; 자스플라키놀라이드; 카할라라이드F; 라멜라린-N 트리아세테이트; 란레오타이드; 레이나마이신; 레노그라스팀; 렌티난 황산염; 렙톨스타틴; 레트로졸; 백혈병 억제 인자; 백혈구 알파 인터페론; 레우프로라이드+에스트로겐+프로게스테론; 레우프로렐린; 레바미솔; 리아로졸; 선형 폴리아민 유사체; 친유성 이당류 펩티드; 친유성 플라티늄 화합물; 리소클린아미드 7; 로바플라틴; 롬브리신; 로메트렉솔; 로니다민; 로속산트론; 록소리빈; 루르토테칸; 루테튬 텍사피린; 리소필린; 용해 펩티드; 마이탄신; 만노스타틴A; 마리마스타트; 마소프로콜; 마스핀; 마트릴리신 억제제; 매트릭스 메탈로프로테이나아제 억제제; 메노가릴; 메르바론; 메테렐린; 메티오니나아제; 메토클로프라미드; MIF 억제제; 미페프리스톤; 밀테포신; 미리모스팀; 미토구아존; 미토락톨; 미토마이신 유사체; 미토나파이드; 미토톡신 섬유아세포 성장 인자-사포린; 미토잔트론; 모파로텐; 몰그라모스팀; 에르비툭스, 인간 융모성 고나도트로핀; 모노포스포릴 지질A+미오박테리아 세포벽 sk; 모피다몰; 머스타드 항암제; 미카퍼옥사이드B; 마이코박테리아 세포벽 추출물; 미리아포론; N-아세틸디날린; N-치환 벤즈아미드; 나파렐린; 나그레스팁; 날록손+펜타조신; 나파빈; 나프테르핀; 나르토그라스팀; 네다플라틴; 네모루비신; 네리드로닉산; 닐루타미드; 니사마이신; 산화질소 조절제; 니트록시드 산화방지제; 니트룰린; 오블리메르센(GENASENSE®); O^6-벤질구아닌; 옥트레오타이드; 오키세논; 올리고뉴클레오티드; 오나프리스톤; 온단세트론; 온단세트론; 오라신; 경구용 사이토카인 유도 인자; 오르마플라틴; 오사테론; 옥살리플라틴; 옥사우노마이신; 파클리탁셀; 파클리탁셀 유사체; 파클리탁셀 유도체; 팔라우아민; 팔미토일리족신; 파미드로닉산; 파낙시트리올; 파노미펜; 파라박틴; 파젤립틴; 페가스파가제; 펠데신; 펜토산 폴리설페이트 나트륨; 펜토스타틴; 펜트로졸; 퍼플루브론; 퍼포스파미드; 페릴리 알코올; 페나지노마이신; 페닐아세테이트; 포스파타아제 억제제; 피시바닐; 필로카르핀 염산염; 피라루비신; 피리트렉심; 플라세틴 A; 플라세틴B; 플라스미노겐 활성화 인자 억제제; 플라티늄 복합체; 플라티늄 화합물; 플라티늄-트리아민 복합체; 포르피머 나트륨; 포르피로마이신; 프레드니손; 프로필 비스-아크리돈; 프로스타글란딘 J2; 프로테아좀 억제제; 단백질A-계 면역 조절제; 단백질 키나아제 C 억제제; 단백질 키나아제 C 억제제, 마이크로알갈; 단백질 티로신 포스파타아제 억제제; 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라아제 억제제; 퍼퓨린; 피라졸로아크리딘; 피리독실레이티드 헤모글로빈 폴리옥시에틸렌 콘쥬게이트; raf 길항제; 랄티트렉세드; 라모세트론; ras 파르네실 단백질 전이 효소 억제제; ras 억제제; ras-GAP 억제제; 디메틸화 레텔립틴; 레늄 Re 186 에티드로네이트; 리족신; 리보짐; RII 레틴아미드; 로히투킨; 로무르타이드; 로퀴니멕스; 루비기논B1; 루복실; 사핑골; 사인토핀; SarCNU; 사르코피톨 A; 사르그라모스팀; 모조 Sdi 1; 세무스틴; 노화 유래 억제제 1; 센스 올리고뉴클레오티드; 신호 전달 억제제; 시조피란; 소부족산; 보로캅테이트 나트륨; 페닐아세테이트 나트륨; 솔베롤; 소마토메딘 결합 단백질; 소네르민; 스파르포스산; 스피카마이신D; 스피로무스틴; 스플레노펜틴; 스폰기스타틴1; 스쿠알라민; 스티피아미드; 스트로멜리신 억제제; 술피노신; 초활성 혈관 작동성 장 펩티드 길항제; 수라디스타; 수라민; 스와인소닌; 탈리무스틴; 타목시펜 메티오다이드; 타우로무스틴; 타자로텐; 테코갈란 나트륨; 테가푸르; 텔루라피릴륨; 텔로머라아제 억제제; 테모포르핀; 테니포사이드; 테트라클로로데카녹사이드; 테트라조민; 탈리블라스틴; 티오코랄린; 트롬보포이에틴; 모조 트롬보포이에틴; 티말파신; 티모포이에틴 수용체 작용제; 티모트리난; 갑상선 자극 호르몬; 주석 에틸 에티오푸르푸린; 티라파자민; 티타노센 이염화물; 톱센틴; 토레미펜; 번역 억제제(translation inhibitor); 트레티노인; 트리아세틸우리딘; 트리시리빈; 트리메트렉사이트; 트립토렐린; 트로피세트론; 투로스테라이드; 티로신 키나아제 억제제; 티르포스틴; UBC 억제제; 우베니멕스; 비뇨생식동-유래 성장 억제 인자; 우로키나아제 수용체 길항제; 바프레오타이드; 바리올린 B; 벨라레솔; 베라민; 베르딘; 베르테포르핀; 비노렐빈; 빈잘틴; 비탁신; 보로졸; 자노테론; 제니플라틴; 질라스코르브; 및 지노스타틴 스티말라머가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0271] 일 실시태양에서, 제2 활성제는 프로테아좀 저해제이다. 일 실시태양에서, 프로테아좀 저해제는 보르테조밉(bortezomib), 다이설피람(disulfiram), 에피갈로카테킨-3-갈레이트, 살리노스포라미드(salinosporamide) A, 카르필조밉(carfilzomib), ONX 0912, CEP-18770, 또는 MLN9708이다.

[0272] 일 실시태양에서, 제2 활성제는 HDAC 저해제이다. 일 실시태양에서, HDAC 저해제는 보리노스탯(vorinostat), 로미뎁신(romidepsin), 파노비노스탯(panobinostat), 발프로산(valproic acid), 벨리노스탯(belinostat), 모세티노스탯(mocetinostat), 아벡시노스탯(abexinostat), 엔티노스탯(entinostat), SB939, 레스미노스탯(resminostat), 기비노스탯(givinostat), CUDC-101, AR-42, CHR-2845, CHR-3996, 4SC-202, CG200745, ACY-1215, 설포라판(sulforaphane), 케베트린(kevetrin), 또는 트리초스타틴(trichostatin) A이다.

[0273] 일 실시태양에서, 제2 활성제는 유사분열 억제제이다. 일 실시태양에서, 유사분열 억제제는 탁산, 빈카 알칼로이드(vinca alkaloids), 또는 콜치신(colchicines)이다. 일 실시태양에서, 탁산은 파클리탁셀(Abraxane) 또는 도세탁셀(docetaxel)이다. 일 실시태양에서, 빈카 알칼로이드는 빈플라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine), 빈데신(vindesine), 또는 비노렐빈(vinorelbine)이다.

[0274] 특정 제2 활성제로는, 오블리메르센(GENASENSE®), 레미케이드, 도세탁셀, 셀레콕시브, 멜팔란, 덱사메타솔(DECADRON®), 스테로이드, 젬시타빈, 시스플라티늄, 테모졸로미드, 에토포시드, 시클로포스파미드, 테모다르, 카르보플라틴, 프로카르비진, 글리아델, 타모시펜, 토포테칸, 메토트렉사이트, ARISA®, 택솔, 탁소텔, 플루오로우라실, 류코보린, 이리노테칸, 젤로다, CPT-11, 인터페론 알파, 페길화된 인터페론 알파(예를 들어, PEG INTRON-A), 카페시타빈, 시스플라틴, 티오테파, 플루다라빈, 카르보플라틴, 리포솜 다우노루비신, 사이타라빈, 독세타졸, 파크리탁셀, 빈블라스틴, IL-2, GM-CSF, 다카르바진, 비노렐빈, 졸레드론산, 팔미토로네이트, 비악신, 부설판, 프레드니손, 비스포스포네이트, 삼산화 비소, 빈크리스틴, 독소루비신(DOXIL®), 파클리탁셀, 간시클로비르, 아드리아마이신, 에스트라무스틴 인산 나트륨(EMCYT®), 술린닥, 및 에토포시드가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0275] **5.5 바이오마커**

[0276] 암 치료의 효과를 확인하기 위해 바이오마커로서 mRNA 또는 단백질의 사용에 관련된 방법이 본원에서 제공된다. mRNA 또는 단백질 레벨은 특정 제제가 특정 유형의 암, 예를 들어 비-호지킨 림프종의 치료에 성공적일 것인지 여부를 결정하는데 사용될 수 있다.

[0277] 생물학적 마커 또는 "바이오마커"는 그것의 검출이 특정 생물학적 상태, 예컨대, 예를 들어, 암의 존재를 나타내는 물질이다. 일부 실시태양에서, 바이오마커는 개별적으로 결정될 수도 있고, 또는 수개의 바이오마커가 동시에 측정될 수도 있다.

[0278] 일부 실시태양에서, "바이오마커"는 질환의 위험 또는 진행, 또는 주어진 치료에 대한 질환의 감수성과 관련이 있을 수 있는 mRNA 발현 수준의 변화를 나타낸다. 일부 실시예들에서, 바이오마커는 mRNA 또는 cDNA와 같은 핵산이다.

[0279] 추가의 실시태양에서, "바이오마커"는 치료에 대한 위험, 감수성, 또는 질환의 진행과 관련이 있을 수 있는 폴리펩티드 또는 단백질 발현 레벨의 변화를 나타낸다. 일부 실시태양에서, 바이오마커는 폴리펩티드나 단백질, 또는 이의 단편일 수 있다. 특정 단백질의 상대적 레벨은 당업계에 알려져 있는 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 면역 블롯, 효소-결합 면역 흡착 분석법(ELISA)과 같은 항체 기반의 방법, 또는 다른 방법이 사용될 수 있다.

[0281] **5.6 치료 및 예방 방법**

[0282] 일 실시태양에서, 암을 치료하고 예방하는 방법이 본 명세서에서 제공되며, 이 방법은 본 명세서에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0283] 다른 실시태양에서, 암을 관리하는 방법이 본 명세서에서 제공되며, 이 방법은 본 명세서에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 림프종, 특히 비-호지킨 림프종의 치료 또는 관리 방법이 본원에서 제공된다. 일부 실시태양에서, 예후 인자를 사용하여, 미만성 대형 B-세포 림프종(DLBCL)을 포함하나 이에 국한되지 않는, 비-호지킨 림프종(NHL)을 치료 또는 관리하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0284] 또한, 이전에 암 치료를 받았지만 표준 치료에 반응하지 않은 환자뿐만 아니라 이전에 치료받지 않은 환자를 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공된다. 또한, 일부 질환 또는 장애는 특정 나이 그룹에 보다 일반적이지만, 본 발명은 환자 나이에 상관없이 환자를 치료하는 방법을 포함한다. 본 발명은 문제가 되고 있는 질환 또는 질병을 치료하려는 시도로 수술을 받은 환자뿐만 아니라 수술받지 않은 환자를 치료하기 위한 방법을 추가로 포함한다. 암 환자는 서로 다른 임상 양상 및 다양한 임상 결과를 갖기 때문에, 환자에게 주어지는 치료는 환자의 예후에 따라 달라질 수 있다. 숙련된 임상의는 개별 암 환자를 치료하기 위해 효과적으로 사용될 수 있는 특정 보조제, 수술의 유형, 및 비-약물 기반 표준 치료의 유형을 과도한 실험없이 쉽게 결정할 수 있을 것이다.

[0285] 본 명세서에서 사용되는 용어 "암"은 고형 종양 및 혈액 매개 종양을 포함하지만, 이에 국한되지는 않는다. 용어 "암"은 방광, 뼈, 혈액, 뇌, 유방, 자궁경부, 가슴, 결장, 자궁 내막, 식도, 눈, 귀, 신장, 간, 림프절, 폐, 입, 목, 난소, 췌장, 전립선, 직장, 위, 고환, 인후, 및 자궁의 암을 포함하여, 그러나 이에 국한되지 않는, 피부 조직, 장기, 혈액 및 혈관의 질환을 의미한다. 특정 암에는 경과된 종양, 아밀로이드증, 신경 아세포종, 뇌수막종, 혈관 주위 세포종, 다발상 뇌 전이, 다형성 교아종, 교아종, 뇌간 신경교종, 나쁜 예후 악성 뇌종양, 악성 뇌교종, 재발 악성 뇌교종, 악성 성상 세포종, 악성 뇌교종, 신경 내분비 종양, 직장 선암, Dukes C & D 대장암, 절제 불가능한 대장암종, 전이성 간세포 암, 카포시 육종, 카로타입의 급성 골수아구성 백혈병, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 피부 T-세포 림프종, 피부 B-세포 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종, 정도가 낮은 여포성 핌프종, 악성 흑색종, 악성 중피종, 악성 흉강 유출 중피종 증후군, 복막 암, 유두상 장액 암종, 부인과 육종, 연조직 육종, 강피증, 피부 맥관염, 랑게르한스 세포 조직구증, 평활 근육종, 진행성 골화성 섬유 이형성증, 호르몬 무반응 전립선암, 절제된 고위험 연조직 육종, 절제 불가능한 간세포 암종, 발덴스트롬 마크로글로불린 혈증, 아급성 골수종, 무통성 골수종, 난관암, 안드로겐 비의존성 전립선암, 안드로겐 의존 단계 IV 비전이성 전립선암, 호르몬-불감성 전립선암, 화학 요법-불감성 전립선암, 유두상 갑상선암, 여포상 갑상선암, 수질 갑상선암, 및 평활 근종이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0286] 특정 실시태양에서, 암은 혈액 매개 종양이다. 특정 실시예들에서, 혈액 매개 종양은 전이성이다. 특정 실시태양에서, 혈액 매개 종양은 약물 내성이 있다. 특정 실시태양에서, 암은 골수종 또는 림프종이다.

[0287] 특정 실시태양에서, 암은 고형 종양이다. 특정 실시태양에서, 고형 종양은 전이성이다. 특정 실시태양에서, 고형 종양은 약물-내성이 있다. 특정 실시태양에서, 고형 종양은 간세포 암종, 전립선암, 난소암, 또는 교아종이다.

[0288] 특정 실시태양에서, 손상된 신장 기능을 갖는 환자에서 질병을 치료, 예방, 및/또는 관리하는 방법이 본원에서 제공된다. 특정 실시태양에서, 손상된 신장 기능을 갖는 환자에서 암을 치료, 예방, 및/또는 관리하는 방법이 본원에서 제공된다. 특정 실시태양에서, 질병, 노화, 또는 다른 환자 인자에 국한되는 것은 아니지만 이로 인한 손상된 신장 기능을 갖는 환자에게 적절한 용량 조절을 제공하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0289] 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 입체 이성질체, 토토머 또는 이들의 라세미 혼합물의 치료적 유효량을 손상된 신장 기능과 함께 재발성/난치성 다발성 골수종을 갖는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 손상된 신장 기능 또는 그 증상을 갖는 환자에서 재발성/난치성 다발성 골수종을 치료, 예방, 및/또는 관리하는 방법이 본원에서 제공된다. 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 손상된 신장 기능과 함께 재발성/난치성 다발성 골수종을 갖는 환자에게 투여하는 것을 포함하여, 손상된 신장 기능 또는 그 증상을 갖는 환자에서 재발성/난치성 다발성 골수종을 치료, 예방, 및/또는 관리하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0290] 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 입체 이성질체, 토토머 또는 이들의 라세미 혼합물의 유효량을 손상된 신장 기능과 함께 재발성/난치성 다발성 골수종을 가질 위험이 있는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 손상된 신장 기능 또는 그 증상을 갖는 환자에서 재발성/난치성 다발성 골수종을 예방하는 방법이 본원에서 제공된다. 일 실시태양에서, (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 유효량을 손상된 신장 기능과 함께 재발성/난치성 다발성 골수종을 가질 위험이 있는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 손상된 신장 기능 또는 그 증상을 갖는 환자에서 재발성/난치성 다발성 골수종을 예방하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0291] 특정 실시태양에서, 손상된 신장 기능을 갖는 환자에서 재발성/난치성 다발성 골수종을 치료, 예방, 및/또는 관

리하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0292] 특정 실시태양에서, 화합물의 치료적 또는 예방적 유효량은 약 0.005-1,000 mg/일, 약 0.01-500 mg/일, 약 0.01-250 mg/일, 약 0.01-100 mg/일, 약 0.1-100 mg/일, 약 0.5-100 mg/일, 약 1-100 mg/일, 약 0.01-50 mg/일, 약 0.1-50 mg/일, 약 0.5-50 mg/일, 약 1-50 mg/일, 약 0.02-25 mg/일, 또는 약 0.05-10 mg/일이다.

[0293] 특정 실시태양에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 약 0.005-1,000 mg/일, 약 0.01-500 mg/일, 약 0.01-250 mg/일, 약 0.01-100 mg/일, 약 0.1-100 mg/일, 약 0.5-100 mg/일, 약 1-100 mg/일, 약 0.01-50 mg/일, 약 0.1-50 mg/일, 약 0.5-50 mg/일, 약 1-50 mg/일, 약 0.02-25 mg/일, 또는 약 0.05-10 mg/격일이다.

[0294] 특정 실시태양에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 약 0.1, 약 0.2, 약 0.5, 약 1, 약 2, 약 5, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 40, 약 45, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90, 약 100, 또는 약 150 mg/일이다.

[0295] 일 실시태양에서, 본원에 개시된 상태를 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 1일 권장 투여량 범위는 약 0.5-50 mg/일의 범위 이내이며, 1일 1회 일회량으로 투여하거나, 또는 분할 용량을 하루에 걸쳐 투여하는 것이 바람직하다. 일부 실시태양에서, 투여량 범위는 약 1-50 mg/일이다. 다른 실시태양에서, 투여량 범위는 약 0.5-5 mg/일이다. 하루 당 특정 투여량은 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50 mg/일을 포함한다.

[0296] 특정 실시태양에서, 권장 시작 투여량은 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 또는 50 mg/일일 수 있다. 다른 실시태양에서, 권장 시작 투여량은 0.5, 1, 2, 3, 4, 또는 5 mg/일일 수 있다. 투여량은 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 및 50 mg/일로 증가될 수 있다. 특정 실시태양에서, 화합물은 NHL(예를 들어, DLBCL) 환자에게 약 25 mg/일의 양으로 투여될 수 있다. 특정 실시태양에서, 화합물은 NHL(예를 들어, DLBCL) 환자에게 약 10 mg/일의 양으로 투여될 수 있다.

[0297] 특정 실시태양에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 약 0.001-100 mg/kg/일, 약 0.01-50 mg/kg/일, 약 0.01-25 mg/kg/일, 약 0.01-10 mg/kg/일, 약 0.01-9 mg/kg/일, 약 0.01-8 mg/kg/일, 약 0.01-7 mg/kg/일, 약 0.01-6 mg/kg/일, 약 0.01-5 mg/kg/일, 약 0.01-4 mg/kg/일, 약 0.01-3 mg/kg/일, 약 0.01-2 mg/kg/일, 또는 약 0.01-1 mg/kg/일이다.

[0298] 또한, 투여량은 mg/kg/일 이외의 단위로 표현될 수 있다. 예를 들어, 비경구 투여를 위한 투여량은 mg/m^2/일으로 표현될 수 있다. 당업자 중 하나라면, 주어진 대상의 키 또는 몸무게, 또는 둘 다에 대해 투여량을 mg/kg/일에서 mg/m^2/일로 변환하는 방법을 쉽게 알 것이다(www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm 참조). 예를 들어, 65 kg인 사람에 대한 1 mg/kg/일의 투여량은 대략 38 mg/m^2/일과 같다.

[0299] 특정 실시태양에서, 투여되는 화합물의 양은 정상 상태에서 화합물의 혈장 농도를 제공하기에 충분하며, 이는 약 0.001-500 μM, 약 0.002-200 μM, 약 0.005-100 μM, 약 0.01-50 μM, 또는 약 1-50 μM, 약 0.02-25 μM, 약 0.05-20 μM, 약 0.1-20 μM, 약 0.5-20 μM, 또는 약 1-20 μM의 범위이다.

[0300] 다른 실시태양에서, 투여되는 화합물의 양은 정상 상태에서 화합물의 혈장 농도를 제공하기에 충분하며, 이는 약 5-100 nM, 약 5-50 nM, 약 10-100 nM 약 10-50 nM, 또는 약 50-100 nM의 범위이다.

[0301] 본원에서 사용되는 용어 "정상 상태에서의 혈장 농도"는 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 투여 기간 후에 도달하는 농도이다. 일단 정상 상태에 도달하면, 화합물의 혈장 농도의 시간 의존성 곡선 상에 작은 피크 및 저점(trough)이 존재한다.

[0302] 특정 실시태양에서, 투여되는 화합물의 양은 화합물의 최대 혈장 농도(피크 농도)를 제공하기에 충분하며, 이는 약 0.001-500 μM, 약 0.002-200 μM, 약 0.005-100 μM, 약 0.01-50 μM, 약 1-50 μM, 약 0.02-25 μM, 약 0.05-20 μM, 약 0.1-20 μM, 약 0.5-20 μM, 또는 약 1-20 μM의 범위이다.

[0303] 특정 실시태양에서, 투여되는 화합물의 양은 화합물의 최소 혈장 농도(저점 농도)를 제공하기에 충분하며, 이는 약 0.001-500 μM, 약 0.002-200 μM, 약 0.005-100 μM, 약 0.01-50 μM, 약 1-50 μM, 약 0.01-25 μM, 약 0.01-20 μM, 약 0.02-20 μM, 약 0.02-20 μM, 또는 약 0.01-20 μM의 범위이다.

[0304] 특정 실시태양에서, 투여되는 화합물의 양은 화합물의 곡선 아래 면적(area under the curve, AUC)을 제공하기에 충분하며, 이는 약 100-100,000 ng*hr/mL, 약 1,000-50,000 ng*hr/mL, 약 5,000-25,000 ng*hr/mL, 또는 약 5,000-10,000 ng*hr/mL의 범위이다.

[0305] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 방법 중 하나로 치료할 환자는, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 투여 이전에 항암 요법으로 치료받지 않았다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 방법 중 하나로 치료할 환자는, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 투여 이전에 약물 투여 전에 항암 요법으로 치료받았다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 방법 중 하나로 치료할 환자는 항암 요법에 대한 약물 내성이 생겼다.

[0306] 일부 질환 또는 장애는 특정 나이 그룹에서 더 일반적이지만, 본 명세서에서 제공되는 방법은 환자의 나이에 상관없이 환자를 치료하는 것을 포함한다. 본 명세서에서는 문제가 되는 질환 또는 질병을 치료하기 위한 시도로 수술을 받았던 환자뿐만 아니라 수술을 받지 않은 환자를 치료하기 위한 방법이 추가로 제공된다. 암에 걸린 대상은 서로 다른 임상 양상 및 다양한 임상 결과를 갖기 때문에, 특정 대상에 주어진 치료는 대상의 예후에 따라서 달라질 수 있다. 숙련된 임상의는 암에 걸린 각각의 대상을 치료하기 위해 효과적으로 사용할 수 있는 특정 보조제, 수술의 유형, 및 비-약물 기반 표준 치료의 유형을 과도한 실험없이 쉽게 결정할 수 있을 것이다.

[0307] 치료할 질병 및 대상체의 상태에 따라서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 경구, 비경구(예를 들어, 근육내, 복강내, 정맥내, CIV, 낭내(intracisternal) 주사 또는 투입, 피하 주사, 또는 이식), 흡입, 비강, 질, 직장, 설하, 또는 국소(예를 들어, 경피 또는 국부)의 투여 경로에 의해 투여될 수 있다. 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 단독으로 또는 각각의 투여 경로에 적합한 약학적으로 허용가능한 부형제, 담체, 어주번트 및 비히클과 함께 적절한 투여량 단위로 제형화될 수 있다.

[0308] 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 경구 투여된다. 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 비경구 투여된다. 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 정맥내로 투여된다.

[0309] 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 예를 들어, 단일 볼루스 주사, 또는 경구 정제 또는 알약과 같은 단일 투여로 전달되거나; 또는 예를 들어, 시간에 걸친 연속적 주입 또는 시간에 걸친 분할된 볼루스 투여와 같이 시간에 걸쳐 전달될 수 있다. 화합물은 필요하다면, 예를 들어, 환자가 안정적 질병 또는 차도를 경험하거나, 환자가 질병 진행 또는 허용되지 않는 독성을 경험할 때까지 반복적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 고형 종양에 대한 안정적 질병은 일반적으로 측정가능한 병변의 수직 직경이 마지막 측정으로부터 25% 이상 증가하지 않은 경우를 의미한다(고형 종양의 반응 평가 기준(RECIST) 가이드라인, *Journal of the National Cancer Institute* 92(3): 205-216 (2000)). 안정적 질병 또는 이의 부족은 환자 증상 평가, 신체 검사, X-ray, CAT, PET, 또는 MRI 스캔을 사용하여 영상화된 종양의 시각화, 및 일반적으로 받아들여지는 평가 양상과 같은 당업계에 알려져 있는 방법에 의해 결정된다.

[0310] 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 1일 1회(QD) 투여되거나, 1일 2회(BID), 1일 3회(TID), 및 1일 4회(QID)와 같이 1일 다회 투여량으로 분할될 수 있다. 또한, 투여는 연속적(즉, 연일 동안 매일, 또는 매일), 간헐적, 예를 들어 주기적(즉, 일, 주, 또는 달의 약물 없는 휴식을 포함)일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는, 용어 "매일"은 치료 화합물, 예컨대 화학식 I의 화합물이 매일, 예를 들어, 시간의 기간 동안, 1회 또는 1회 이상 투여되는 것을 의미하는 것이다. 용어 "연속적"은 치료 화합물, 예컨대 화학식 I의 화합물이 최소 10일 내지 52주의 연속된 기간 동안 매일 투여되는 것을 의미하는 것이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "간헐적" 또는 "간헐적으로"는 규칙적 또는 불규칙적 간격으로 중지 및 개시하는 것을 의미하는 것이다. 예를 들어, 화학식 I의 화합물의 간헐적 투여는 주당 1일 내지 6일 동안의 투여, 주기적 투여(예를 들어, 연속 2주 내지 8

주 동안 매일 투여하고 나서, 최대 1주 동안 어떠한 투여도 없는 휴식 기간), 또는 격일 투여이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "주기"는 치료 화합물, 예컨대 화학식 I의 화합물이 매일 또는 연속적으로 투여되되 휴식기가 있는 것을 의미하는 것이다.

[0311] 일부 실시태양에서, 투여 횟수의 범위는 약 매일 투여에서 약 한달에 한번 투여까지이다. 특정 실시태양에서, 투여는 하루에 한번, 하루에 두번, 하루에 세번, 하루에 네번, 격일에 한번, 일주일에 두번, 매주 한번, 2주에 한번, 3주에 한번, 또는 4주에 한번이다. 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 하루에 한번 투여된다. 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 하루에 두번 투여된다. 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 하루에 세번 투여된다. 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 하루에 네번 투여된다.

[0312] 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 1일 내지 6달까지, 1주 내지 3달까지, 1주 내지 4주까지, 1주 내지 3주까지, 또는 1주 내지 2주까지 하루에 한번 투여된다. 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 1주, 2주, 3주, 또는 4주 동안 하루에 한번 투여된다. 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 1주 동안 하루에 한번 투여된다. 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 2주 동안 하루에 한번 투여된다. 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 3주 동안 하루에 한번 투여된다. 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 4주 동안 하루에 한번 투여된다.

[0314] **5.6.1 제2 활성제와의 병용 치료**

[0315] 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 본원에 개시된 암의 치료 및/또는 예방에 유용한 다른 치료제와 조합되거나 병용하여 사용될 수 있다.

[0316] 일 실시태양에서, *(S)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를; 하나 이상의 제2 활성제와 병용하고, 방사선 치료, 수혈, 또는 수술과 선택적으로 병용하여 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료, 예방, 또는 관리하는 방법이 본원에서 제공된다. 제2 활성제의 예는 본 명세서(예를 들어, 섹션 5.4 참조)에 개시되어 있다.

[0317] 본 명세서에서 사용되는 용어 "병용하여"는 하나 이상의 치료제(예를 들어, 하나 이상의 예방 및/또는 치료제)의 사용을 포함한다. 그러나, 용어 "병용하여"의 사용이 치료제(예를 들어, 예방 및/또는 치료제)가 질환 또는 장애를 가진 환자에게 투여되는 순서를 제한하지는 않는다. 제1 치료제(예를 들어, 본원에서 제공되는 화합물과 같은 예방제 또는 치료제, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체)는 대상체에게 제2 치료제(예를 들어, 예방 또는 치료제)를 투여하기 이전에(예를 들어, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 전), 투여와 동시에, 또는 투여 이후에(예를 들어, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 후) 투여될 수 있다. 또한, 삼중 치료가 본 명세서에서 고려된다.

[0318] 환자에게 화학식 I의 화합물 및 하나 이상의 제2 활성제를 투여하는 것은 동일하거나 다른 투여 경로에 의해 동시에 또는 연속적으로 일어날 수 있다. 특정 활성제를 위해 사용되는 특정 투여 경로의 적합성은 활성제 자체(예를 들면, 혈류로 들어가기 전에 분해하지 않고 경구 투여될 수 있는지 여부) 및 치료하고 있는 암에 따라 달

라질 것이다.

[0319] 화학식 I의 화합물의 투여 경로는 제2 치료제의 투여 경로와 독립적이다. 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물은 경구 투여된다. 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물은 정맥내로 투여된다. 따라서, 이들 실시태양에 따라서, 화학식 I의 화합물은 경구 또는 정맥내로 투여되고, 제2 치료제는 경구, 비경구, 복강내, 정맥내, 동맥내, 경피, 설하, 근육내, 직장, 구강내, 비강내, 리포솜, 호흡, 질 동맥, 안구내, 카테터나 스텐트에 의한 국소 전달, 피하, 지방질내, 관절내, 척수내로, 또는 느린 방출 제형으로 투여될 수 있다. 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물 및 제2 치료제는 동일한 투여 방법에 의해 경구적으로, 또는 IV에 의해 투여된다. 다른 실시태양에서, 화학식 I의 합물은 하나의 투여 방법, 예를 들어, IV에 의해 투여되는 반면에, 제2 치료제(항암제)는 다른 투여 방법, 예를 들어, 경구적으로 투여된다.

[0320] 일 실시태양에서, 제2 활성제는 약 1-1000 mg, 약 5-500 mg, 약 10-350 mg, 약 50-200 mg의 양이 하루에 한번 또는 두번 정맥내 또는 피하로 투여된다. 제2 활성제의 특정량은 사용되는 특정 치료제, 치료 또는 관리되고 있는 질환의 유형, 질환의 심각성 및 단계, 및 화학식 I의 화합물 및 환자에게 동시에 투여되는 임의의 추가 활성제의 양에 따라 달라질 것이다. 특정 실시태양에서, 제2 활성제는 오블리메르센(GENASENSE®), GM-CSF, G-CSF, SCF, EPO, 탁소텔, 이리노테칸, 다카르바진, 트란스레티놀산, 토포테칸, 펜톡시필린, 시프로플록사신, 덱사메타손, 빈크리스틴, 독소루비신, COX-2 억제제, IL2, IL8, IL18, IFN, Ara-C, 비노렐빈, 또는 이들의 조합이다.

[0321] 특정 실시태양에서, GM-CSF, G-CSF, SCF 또는 EPO는 약 1-750 mg/m^2/일, 약 25-500 mg/m^2/일, 약 50-250 mg/m^2/일, 또는 약 50-200 mg/m^2/일 범위의 양이 4주 또는 6주 주기로 약 5일 동안 피하로 투여된다. 특정 실시태양에서, GM-CSF는 약 60-500 mcg/m^2 의 양이 2시간에 걸쳐서 정맥내로, 또는 약 5-12 mcg/m^2/일의 양이 피하로 투여될 수 있다. 특정 실시태양에서, G-CSF는 초기에 약 1 mcg/kg/일의 양이 피하로 투여될 수 있으며, 총 과립성 백혈구수에 따라 조절될 수 있다. G-CSF의 유지 투여량은 약 300mcg (작은 환자의 경우) 또는 480 mcg의 양이 피하로 투여될 수 있다. 특정 실시태양에서, EPO는 일주일에 세번 10,000 Unit의 양이 피하로 투여될 수 있다.

[0322] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 멜팔란 및 덱사메타손과 함께 아밀로이드증 환자에게 투여된다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 스테로이드가 아밀로이드증 환자에게 투여될 수 있다.

[0323] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 젬시타빈 및 시스플라티늄과 함께 국소 진행성 또는 전이성 이행 세포 방광암 환자에게 투여된다.

[0324] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 다음과 같은 제2 활성 성분과 병용하여 투여된다: 재발되거나 진행 중인 뇌종양 또는 재발성 신경아세포종 소아과 환자에 대한 테모졸로미드; 재발되거나 진행 중인 CNS 암에 대한 셀레콕시브, 에토포시드 및 시클로포스파미드; 재발성 또는 진행 중인 수막종, 악성 수막종, 혈관 주위 세포종, 다발성 뇌전이, 재발된 뇌종양, 또는 처음 진단된 다형성 교아종 환자에 대한 테모다르; 재발성 교아종 환자에 대한 이리노테칸; 뇌간 신경교종 소아과 환자에 대한 카르보플라틴; 진행 중인 악성 신경교종 소아과 환자에 대한 프로카르바진; 나쁜 예후의 악성 뇌종양, 처음 진단되거나 재발된 다형성 교아종 환자에 대한 시클로포스파미드; 많이 진전된 재발성 악성 신경교종에 대한 Gliadel®; 미분화성상 세포종에 대한 테모졸로미드 및 타목시펜; 또는 신경 교종, 교아종, 미분화성상 세포종 또는 악성 뇌교종에 대한 토포테칸.

[0325] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 메토트렉사이트, 시클로포스파미드, 탁산, 아브락산, 라파티닙, 헤르셉틴, 아로마타아제 억제제, 선택적 에스트로겐 조절제, 에스트로겐 수용체 길항제, 및/또는 PLX3397 (Plexxikon)과 함께 전이성 유방암 환자에게 투여된다.

[0326] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 테모졸로미드와 함께 신경 내분비 종양 환자에게 투여된다.

[0327] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 젬시타빈과 함께 재발성 또는 전이성 두경부암 환자에게 투여된다.

[0328] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 젬시타빈과 함께 췌장암 환자에게 투여된다.

[0329] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 ARISA®, 아바스타틴, 탁솔, 및/또는 탁소텔과 병용하여 대장암 환자에게 투여된다.

[0330] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 카페시타빈 및/또는 PLX4032(Plexxikon)과 함께 난치성 대장암 환자 또는 일차 치료에 실패하거나 대장 또는 직장 선암에서 나쁜 성과를 가진 환자에게 투여된다.

[0331] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 플루오로우라실, 류코보린 및 이리노테칸과 병용하여 Dukes C & D 대장암 환자 또는 이전에 전이성 대장암에 대한 치료를 받은 환자에게 투여된다.

[0332] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 카페시타빈, 젤로다, 및/또는 CPT-11과 병용하여 난치성 대장암 환자에게 투여된다.

[0333] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 카페시타빈 및 이리노테칸과 함께 난치성 대장암 환자 또는 절제 불가능 또는 전이성 대장암종 환자에게 투여된다.

[0334] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 단독으로, 또는 인터페론 알파 또는 카페시타빈과 병용하여 절제 불가능 또는 전이성 간세포 암종 환자에게, 또는 시스플라틴 및 티오테파와 병용하여 일차 또는 전이성 간암 환자에게 투여된다.

[0335] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 페길화된 인터페론 알파와 병용하여 카포시 육종 환자에게 투여된다.

[0336] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 플루다라빈, 카르보플라틴 및/또는 토포테칸과 병용하여 난치성 또는 재발된 또는 고-위험 급성 골수성 백혈성 환자에게 투여된다.

[0337] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 리포솜 다우노루비신, 토포테칸 및/또는 사이타라빈과 병용하여 불리한 카로타입 급성 골수성 백혈병 환자에게 투여된다.

[0338] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 젬시타빈, 아브락산, 에를로티닙, 제프티닙, 및/또는 이리노테칸과 병용하여 비소형 세포 폐암 환자에게 투

여된다.

[0339] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 카르보플라틴 및 이리노테칸과 병용하여 비소형 세포 폐암 환자에게 투여된다.

[0340] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 도세탁솔과 함께 이전에 카르보/VP 16 치료 및 방사선 치료를 받은 비소형 세포 폐암 환자에게 투여된다.

[0341] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 카르보플라틴 및/또는 탁소텔과 병용하여, 또는 카르보플라틴, 파크리탁셀 및/또는 흉부 방사선 치료와 병용하여 비소형 세포 폐암 환자에게 투여된다.

[0342] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 탁소텔과 병용하여 IIIB 또는 IV 단계의 비소형 세포 폐암 환자에게 투여된다.

[0343] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 오블리메르센(Genasense®)과 병용하여 소형 세포 폐암 환자에게 투여된다.

[0344] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 ABT-737 (Abbott Laboratories) 및/또는 오바토클락스(GX15-070)와 병용하여 림프종 및 다른 혈액암 환자에게 투여된다.

[0345] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 단독으로, 또는 빈블라스틴 또는 플루다라빈과 같은 제2 활성 성분과 병용하여 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 피부 T-세포 림프종, 피부 B-세포 림프종, 미만성 대형 B-세포 림프종 또는 재발되거나 난치성의 덜 심각한 여포성 림프종을 포함하여, 그러나 이에 국한되지는 않는, 다양한 유형의 림프종 환자에게 투여된다.

[0346] 특정 실시태양에서,본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 탁소텔, IL-2, IFN, GM-CSF, PLX4032 (Plexxikon) 및/또는 다카르바진과 병용하여 다양한 유형 또는 단계의 흑색종 환자에게 투여된다.

[0347] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 단독으로, 또는 비노렐빈과 병용하여 악성 중피종 환자, 또는 흉막 이식 또는 악성 흉수 중피종 증후군을 갖는 IIIB 단계의 비소형 세포 폐암 환자에게 투여된다.

[0348] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 덱사메타손, 졸레드론산, 팔미트로네이트, GM-CSF, 비악신, 빈블라스틴, 멜팔란, 부설판, 시클로포스파미드, IFN, 팔미드로네이트, 프레드니손, 비스포스포네이트, 셀레콕십, 삼산화비소, PEG INTRON-A, 빈크리스틴, 또는 이들의 조합과 병용하여 다양한 유형 또는 단계의 다발성 골수종 환자에게 투여된다.

[0349] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 독소루비신(Doxil®), 빈크리스틴 및/또는 덱사메타손(Decadron®)과 병용하여 재발되거나 난치성 다발성 골수종 환자에게 투여된다.

[0350] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 탁솔, 카르보플라틴, 독소루비신, 젬시타빈, 시스플라틴, 젤로다, 파클리탁셀, 덱사메타손, 또는 이들의 조

합과 병용하여 복막 암종, 유두상 장액 암종, 난치성 난소암 또는 재발성 난소암과 같은 다양한 유형 또는 단계의 난소암 환자에게 투여된다.

[0351] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 젤로다, 5 FU/LV, 젬시타빈, 이리노테칸+젬시타빈, 시클로포스파미드, 빈크리스틴, 덱사메타손, GM-CSF, 셀레콕십, 탁소텔, 간사이클로비르, 파클리탁셀, 아드리아마이신, 도세탁셀, 에스트라무스틴, 엠시트, 덴데론 또는 이들의 조합과 병용하여 다양한 유형 또는 단계의 전립선암 환자에게 투여된다.

[0352] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 카페시타빈, IFN, 타목시펜, IL-2, GM-CSF, Celebrex®, 또는 이들의 조합과 병용하여 다양한 유형 또는 단계의 신장 세포암 환자에게 투여된다.

[0353] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 IFN, Celebrex®와 같은 COX-2 억제제, 및/또는 술린닥과 병용하여 다양한 유형 또는 단계의 부인과(gynecologic)의 자궁 또는 연조직 육종암 환자에게 투여된다.

[0354] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 셀레브렉스, 에토포시드, 시클로포스파미드, 도세탁셀, 아페시타빈, IFN, 타목시펜, IL-2, GM-CSF, 또는 이들의 조합과 병용하여 다양한 유형 또는 단계의 고형 종양 환자에게 투여된다.

[0355] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 셀레브렉스, 에토포시드, 시클로포스파미드, 도세탁셀, 아페시타빈, IFN, 타목시펜, IL-2, GM-CSF, 또는 이들의 조합과 병용하여 경피증 또는 피부 혈관염 환자에게 투여된다.

[0356] 또한, 환자에게 안전하고 효과적으로 투여될 수 있는 항암 약물 또는 치료제의 투여량을 증가시키는 방법이 본 명세서에 포함되며, 이 방법은 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 환자(예를 들어, 인간)에게 투여하는 것을 포함한다. 이 방법에 의한 혜택을 누릴 수 있는 환자는 피부, 피하 조직, 림프절, 뇌, 폐, 간, 뼈, 장, 대장, 심장, 췌장, 부신, 신장, 전립선, 유방, 결장의 특정 암, 또는 이들의 조합을 치료하기 위한 항암 약물과 관련된 역효과로 고생할 가능성이 있는 환자들이다. 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 투여는, 항암 약물의 양을 제한해야 할 정도의 심각성을 갖는 역효과를 완화시키거나 감소시킨다.

[0357] 일 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 환자에게 항암 약물의 투여와 관련된 역효과가 발생하기 전, 발생하는 동안, 또는 발생 후에, 약 0.1-150 mg, 약 1-50 mg, 또는 약 2-25 mg 범위의 양으로 매일 경구 투여된다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 호중구 감소증 또는 혈소판 감소증과 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 항암 약물과 관련된 역효과를 방지하기 위해 헤파린, 아스피린, 쿠마딘, 또는 G-CSF와 같은 특정 치료제와 병용하여 투여된다.

[0358] 일 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 항암 약물, 항염증제, 항히스타민제, 항생제, 및 스테로이드를 포함하나 이에 국한되지는 않는 추가 활성 성분과 병용하여 원하지 않은 혈관 형성과 관련되거나 혈관 형성을 특징으로 하는 질환 및 장애를 가진 환자에게 투여된다.

[0359] 다른 실시태양에서, 수술, 면역 치료, 생물학적 치료, 방사선 치료, 또는 암을 치료, 예방 또는 관리하기 위해 현재 사용되는 다른 비-약물 기반 치료를 포함하나 이에 국한되지는 않는 종래의 치료와 함께(예를 들어, 전에,

동안, 또는 후에) 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 예방 및/또는 관리 방법이 본 명세서에 포함된다. 본원에서 제공되는 화합물과 종래 치료법과의 병용 사용은 일부 환자에게 예상외로 효과적인 특별한 치료 요법을 제공할 수 있다. 이론에 의해 제한받지 않고, 화학식 I의 화합물은 종래 치료와 함께 제공될 때 부가 또는 상승 효과를 제공할 수 있다고 생각된다.

[0360] 본 명세서의 다른 곳에서 논의된 바와 같이, 수술, 화학적 치료, 방사선 치료, 호르몬 치료, 생물학적 치료 및 면역 치료를 포함하나 이에 국한되지는 않는 종래의 치료와 관련된 역효과 또는 원하지 않는 효과를 감소, 치료 및/또는 예방하는 방법이 본 명세서에 포함된다. 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 다른 활성 성분이 종래 치료제와 관련된 역효과가 발생하기 전, 발생하는 동안, 또는 발생한 후에 투여될 수 있다.

[0361] 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물은 단독으로, 또는 종래 치료법을 사용하기 전, 사용하는 동안, 또는 사용한 후에 본원에 개시된 제2 활성제(예를 들어, 섹션 5.4 참조)와 병용하여 약 0.1-150 mg, 약 1-25 mg, 또는 약 2-10 mg 범위의 양으로 매일 경구 투여될 수 있다.

[0362] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 독세탁솔은 이전에 카르보/VP 16 치료 및 방사선 치료를 받았던 비소형 세포 폐암 환자에게 투여된다.

[0364] **5.6.2 이식 치료법과의 사용**

[0365] 본원에서 제공되는 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 이식편대숙주병(GVHD)의 위험을 감소시키는데 사용될 수 있다. 따라서, 이식 치료법과 함께, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 예방 및/또는 관리 방법이 본원에 포함된다.

[0366] 당업자라면 알고 있는 바와 같이, 암의 치료는 종종 질병의 단계 및 메카니즘에 기초한다. 예를 들어, 암의 특정 단계에서 불가피한 백혈병성 변형이 발생하므로, 말초혈액 줄기세포, 조혈 줄기세포 또는 골수의 이식이 필요할 수 있다. 본원에서 제공되는 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체와 이식 치료법의 병용 사용은 특별하고 예측하지 못한 상승효과를 제공한다. 특히, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 암 환자에서 이식 치료법과 함께 사용될 경우 상가 또는 상승효과를 제공할 수 있는 면역조절 활성을 나타낸다.

[0367] 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 이식 치료법과 병용하여 이식의 침습적 과정과 관련된 합병증 및 GVHD의 위험을 감소시키는 작용을 할 수 있다. 제대혈, 태반 혈액, 말초혈액 줄기세포, 조혈 줄기세포 제제, 또는 골수의 이식 전, 이식 동안, 또는 이식 후에 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 환자(예를 들어, 인간)에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 예방 및/또는 관리 방법이 본원에 포함된다. 본원에서 제공되는 방법에 사용하는데 적절한 줄기세포의 일부 예시가 미국특허 제7,498,171호에 개시되어 있으며, 상기 문헌의 개시사항은 그 전체가 본원에 참고로 포함되어 있다.

[0368] 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 자가 말초혈액 전구세포의 이식 전, 이식 동안, 또는 이식 후에 다발성 골수종 환자에게 투여된다.

[0369] 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 줄기세포 이식 후에 재발성 다발성 골수종 환자에게 투여된다.

[0370] 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 프레드니손은 자가 줄기세포의 이

식 후에 다발성 골수종 환자에게 유지 요법(maintenance therapy)으로 투여된다.

[0371] 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 덱사메타손은 다발성 골수종 환자에게 이식 후 저 위험을 위한 구조 요법(salvage therapy)으로 투여된다.

[0372] 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 덱사메타손은 자가 골수의 이식 후에 다발성 골수종 환자에게 유지 요법으로 투여된다.

[0373] 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 화학치료법 반응성인 다발성 골수종 환자에게 고 용량의 멜팔란의 투여 및 자가 줄기세포 이식 후에 투여된다.

[0374] 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 PEG INTRO-A는 자가 CD34-선택된 말초 줄기세포 이식 후 다발성 골수종 환자에게 유지 요법으로 투여된다.

[0375] 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 항-혈관생성을 측정하기 위해 새로이 다발성 골수종으로 진단된 환자에게 이식 후 강화(consolidation) 화학치료법과 함께 투여된다.

[0376] 또 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 덱사메타손은 65세 이상의 연령인 다발성 골수종 환자에게 고 용량의 멜팔란 처리 및 말초혈액 줄기세포 이식에 이어서 DCEP 강화 후 유지 요법으로 투여된다.

[0377] 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 자가 말초혈액 전구세포 이식 전, 이식 동안, 또는 이식 후 NHL(예를 들어, DLBCL) 환자에게 투여된다.

[0378] 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 줄기세포 이식 후 NHL(예를 들어, DLBCL) 환자에게 투여된다.

[0380] **5.6.3. 주기 요법**

[0381] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 예방제 또는 치료제는 환자에게 주기적으로 투여된다. 주기 요법은 일정 기간 동안 활성제의 투여한 후에, 일정 기간 동안 휴약기를 갖고, 이러한 순차적 투여를 반복하는 것을 포함한다. 주기 요법은 하나 이상의 요법에 대한 내성 발생을 감소시키거나, 요법 중 하나의 부작용을 감소시키거나, 및/또는 치료의 효능을 개선할 수 있다.

[0382] 따라서, 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 4주 내지 6주 주기 동안 단일 용량 또는 분할 용량으로 매일 투여되고, 이어서 약 1주 내지 2주의 휴약기를 갖는다. 주기 방법은 투여 주기의 빈도, 횟수, 및 기간이 증가하는 것을 추가로 가능하게 한다. 따라서, 특정 실시태양에서 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 단독 투여시에 통상적인 주기보다 더 많은 주기 동안 투여되는 것이 본원에 포함된다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는, 제2 활성 성분이 또한 투여되고 있지 않은 환자에서 통상 용량-제한 독성을 야기하는 주기보다 더 많은 횟수의 주기 동안 투여된다.

[0383] 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 약 0.1 내지 약 150 mg/d의 용량으로 3주 내지 4주 동안 매일 연속적으로 투여되고, 이어서 1주 또는 2주의 휴약기를 갖는다.

[0384] 다른 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으

로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 제2 활성 성분은, 4주 내지 6주의 기간 동안, 제2 활성 성분 보다 30 분 내지 60분 전에 화학식 I의 화합물을 투여하는 방식으로 경구 투여된다. 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체와 제2 활성 성분의 조합은 매 주기마다 약 90 분에 걸쳐 정맥 주사에 의해 투여된다. 특정 실시태양에서, 한 주기는 3주 내지 4주 동안 매일 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체 약 0.1 내지 약 150 mg/일, 및 제2 활성 성분 약 50 내지 약 200 mg/m^2/일의 투여, 및 이어서 1주 내지 2주의 휴약기를 포함한다. 특정 실시태양에서, 병용적 요법이 환자에게 투여되는 주기의 개수는 약 1 내지 약 24 주기, 약 2 내지 약 16 주기, 또는 약 4 내지 3 주기의 범위이다.

[0386] **5.7 약학적 조성물 및 제형**

[0387] 일 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 포함하는 약학적 조성물 및 제형이 본원에서 제공된다. 다른 실시태양에서, 약학적 조성물 및 제형은 하나 이상의 부형제를 추가로 포함한다.

[0388] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 약학적 조성물 및 제형은 하나 이상의 추가적 활성 성분을 또한 포함한다. 따라서, 본원에서 제공되는 약학적 조성물 및 제형은 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체, 및 제2 활성제를 포함한다. 선택적인 제2, 또는 추가의, 활성제의 예시는 본원에 개시되어 있다(예를 들어, 섹션 4.3 참조).

[0389] 본원에서 제공되는 단일 단위 투여 제형은 환자에 대한 경구, 점막(예를 들어, 코, 설하, 질, 구상, 또는 직장), 비경구(예를 들어, 피하, 정맥내, 환약 주입, 근육내, 또는 동맥내), 국소(예를 들어, 안약 또는 다른 안과용 제제), 경피(transdermal) 또는 경피성(transcutaneous) 투여에 적합하다. 제형의 예로는 정제; 당의정; 부드러운 탄력의 젤라틴 캡슐과 같은 캡슐; 카시에; 트로키제; 치료용 캔디; 분산제; 좌약; 분말; 에어로졸(예를 들어, 비강 스프레이 또는 흡입기); 젤; 현탁물(예를 들어, 수성 또는 비수성 액상 현탁물, 수중 유적형 에멀젼, 또는 유중 수적형 액상 에멀젼), 용액, 및 엘릭시르제를 포함하여 환자에 대한 경구 또는 점막 투여에 적합한 액상 제형; 환자에 대한 비경구 투여에 적합한 액상 제형; 국소 투여에 적합한 안약 또는 안과용 제제; 및 환자에 대한 비경구 투여에 적합한 액상 제형을 제공하기 위해 재구성될 수 있는 무균 고형물(예를 들어, 결정성 또는 비결정성 고형물)이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0390] 본원에서 제공되는 제형의 조성, 형태, 및 유형은 일반적으로 그들의 용도에 따라 달라질 것이다. 예를 들어, 질환의 급성 치료에 사용되는 제형은 동일 질환의 만성 치료에 사용되는 제형보다, 제형이 포함하는 하나 이상의 활성 성분을 더 많은 양 포함할 수 있다. 마찬가지로, 비경구 제형은 동일 질환을 치료하기 위해 사용되는 경구 제형보다 더 적은 양의 하나 이상의 활성 성분을 포함할 수 있다(예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18판., Mack Publishing, Easton PA (1990) 참조).

[0391] 특정 부형제가 약학적 조성물 또는 제형에 포함되기에 적합한 지 여부는 제형이 환자에게 투여되는 방법을 포함하여, 그러나 이에 국한되지는 않는, 당업계에 주지되어 있는 다양한 인자에 의존한다. 예를 들어, 정제와 같은 경구 제형은 비경구 제형에 사용하기에 적합하지 않은 부형제를 포함할 수 있다. 또한, 특정 부형제의 적합성은 제형의 특정 활성 성분에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 활성 성분의 분해는 유당같은 일부 부형제에 의해, 또는 물에 노출될 때 가속화될 수 있다. 일차 또는 이차 아민을 포함하는 활성 성분은 이러한 가속화된 분해에 특히 민감하다. 결과적으로, 만약 있다면, 유당, 또는 다른 단당류 또는 이당류를 거의 포함하지 않는 약학적 조성물 및 제형이 본 명세서에서 제공된다. 본 명세서에서 사용되는, 용어 "무-유당"은, 만약 있다면, 존재하는 유당의 양이 활성 성분의 분해 속도를 실질적으로 증가시키기에는 불충분하다는 것을 의미한다.

[0392] 본 명세서에서 제공되는 무-유당 조성물은 당업계에서 주지되어 있고, 예를 들어, *U.S. Pharmacopeia* (USP) 25-NF20 (2002)에 개시되어 있는 부형제를 포함할 수 있다. 일반적으로, 무-유당 조성물은 약학적으로 적합하고, 약학적으로 허용가능한 양의 활성 성분, 바인더/충전제, 및 윤활제를 포함한다. 일 실시태양에서, 무-유당 제형은 활성 성분, 마이크로 결정성 셀루로오스, 호화 전분, 및 스테아린산마그네슘을 포함한다.

[0393] 또한, 물이 일부 화합물의 분해를 가능하게 할 수 있기 때문에, 활성 성분을 포함하는 무수 약학적 조성물 및 제형이 본 명세서에서 제공된다. 예를 들어, 물의 첨가(예를 들어, 5%)는 시간에 따른 제제의 저장 수명 또는 안정성과 같은 특성을 결정하기 위해 장기 저장을 시뮬레이션하는 수단으로서 제약 업계에서 널리 사용된다(예

를 들어, Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2판 Marcel Dekker, NY, NY, 1995, 페이지 379-80 참조). 사실상, 물과 열은 일부 화합물의 분해를 가속화시킨다. 따라서, 수분 및/또는 습도는 제조, 취급, 포장, 저장, 수송, 및 제제의 사용 중에 일반적으로 존재하기 때문에 제제에 대한 물의 영향은 큰 의미가 될 수 있다.

[0394] 무수 약학적 조성물 및 제형은 무수 또는 저수분 함유 성분, 및 저수분 또는 저습도 조건을 사용하여 제조될 수 있다. 제조, 포장, 및/또는 저장 중에 수분 및/또는 습도와 실질적으로 접촉할 가능성이 있다면, 유당, 및 일차 또는 이차 아민을 포함하는 하나 이상의 활성 성분을 포함하는 약학적 조성물 및 제형은 무수가 바람직하다.

[0395] 무수 약학적 조성물은 그 무수 성질이 유지되도록 제조 및 보관되어야 한다. 따라서, 무수 조성물은 그들이 적합한 처방 키트에 포함될 수 있도록, 물에 대한 노출을 방지하는 것으로 알려진 물질을 사용하여 포장하는 것이 바람직하다. 적합한 포장의 예로는 밀봉 포일, 플라스틱, 1회 투여량 용기(예를 들어, 물약병), 블리스터 팩, 및 스트립 팩이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0396] 또한, 활성 성분이 분해하는 속도를 감소시키는 하나 이상의 화합물을 포함하는 약학적 조성물 및 제형이 본 명세서에서 제공된다. 본 명세서에서 "안정제"로서 언급되는 이러한 화합물로는 아스코르브산과 같은 항산화제, pH 완충제, 또는 염 완충제가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0397] 부형제의 양 및 종류처럼, 제형 내 활성 성분의 양 및 특정 종류는 인자들, 예컨대 환자에게 투여되는 경로, 그러나 이에 국한되지는 않는, 인자들에 따라 다를 수 있다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 제형은 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 약 0.10-1000 mg, 약 0.10-500 mg, 약 0.10-200 mg, 약 0.10-150 mg, 약 0.10-100 mg, 또는 약 0.10-50 mg의 범위의 양으로 포함한다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 제형은 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 약 0.1, 약 1, 약 2, 약 5, 약 7.5, 약 10, 약 12.5, 약 15, 약 17.5, 약 20, 약 25, 약 50, 약 100, 약 150, or 약 200 mg의 양으로 포함한다.

[0399] **5.7.1 경구 제형**

[0400] 특정 실시태양에서, 경구 투여에 적합한 본원에서 제공되는 약학적 조성물은 정제(예를 들어, 씹어 먹을 수 있는 정제), 당의정, 캡슐, 및 액상(예를 들어 향미 시럽)과 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 별개의 제형으로서 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 소정의 활성 성분 양을 포함하며, 당업자에게 주지되어 있는 조제 방법에 의해 제조될 수 있다(일반적으로, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18 판., Mack Publishing, Easton PA (1990) 참조).

[0401] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 경구 제형은 종래의 제약 조제 기술에 따라 밀접한 혼합물에서 활성 성분과 하나 이상의 부형제를 조합하는 것에 의해 제조될 수 있다. 부형제는 투여를 위해 원하는 제제 형태에 따라 매우 다양한 형태를 가질 수 있다. 예를 들어, 경구용 액상 또는 에어로졸 제형으로의 사용에 적합한 부형제로는 물, 글리콜, 오일, 알코올, 착향료, 방부제, 및 착색제가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 고형 경구 제형(예를 들어, 분말, 정제, 캡슐, 및 당의정)으로의 사용에 적합한 부형제의 예로는 전분, 당분, 마이크로결정성 셀룰로오스, 희석제, 과립화제, 윤활제, 바인더, 및 분해제가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0402] 정제 및 캡슐은, 그들의 투여 용이성 때문에, 고형 부형제가 사용되는 경우에 가장 유리한 경구 투여 단위 형태로 대표된다. 원한다면, 정제는 표준 수성 또는 비수성 기술로 코팅될 수 있다. 이러한 제형은 모든 조제 방법으로 제조될 수 있다. 일반적으로, 약학적 조성물 및 제형은 활성 성분을 액상 운반체, 미세하게 분할된 고형 운반체, 또는 둘 다와 함께 균일하고 친밀하게 혼합한 후, 필요하다면 원하는 제공 형태로 제품을 형성하는 것에 의해 제조될 수 있다.

[0403] 특정 실시태양에서, 정제는 압축 또는 성형에 의해 제조될 수 있다. 압축 정제는 선택적으로 부형제와 혼합되는, 분말 또는 과립과 같이 유동성이 없는 형태의 활성 성분을 적합한 기계로 압축하는 것에 의해 제조될 수 있다. 성형 정제는 불활성 액체 희석제로 촉촉해진 분말 화합물의 혼합물을 적합한 기계로 성형하여 제조할 수 있다.

[0404] 본 명세서에서 제공되는 경구 제형으로 사용할 수 있는 부형제의 예로는 바인더, 충전제, 정제 분해 물질, 및 윤활제가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 약학적 조성물 및 제형에 사용하기 적합한 바인더로는 옥수수 전분, 감자 전분, 또는 다른 전분, 젤라틴, 아카시아와 같은 천연 및 합성 고무, 알긴산나트륨, 알긴산, 다른 알긴산염, 분말 트래거캔스, 구아 고무, 셀룰로오스 및 그 유도체(예를 들어, 에틸셀룰로오스, 셀룰로오스아세

테이트, 카르복시메틸 셀룰로오스 칼슘, 카르복시메틸 셀룰로오스 나트륨), 폴리비닐필로리돈, 메틸 셀룰로오스, 호화 전분, 하이드록시프로필 메틸 셀룰로오스(예를 들어, Nos. 2208, 2906, 2910), 마이크로결정성 셀룰로오스, 및 이들의 혼합물이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0405] 마이크로결정성 셀룰로오스의 적합한 형태는 AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA 판매)로서 판매되는 물질, 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이에 국한되지는 않는다. 특정 바인더는 마이크로결정성 셀룰로오스와 AVICEL RC-581로 판매되는 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨의 혼합물이다. 적합한 무수 또는 저수분 부형제 또는 첨가제는 AVICEL-PH-103™ 및 Starch 1500 LM을 포함한다.

[0406] 본원에서 제공되는 약학적 조성물 및 제형에 사용하기 적합한 충전제의 예로는 활석, 탄산 칼슘(예를 들어, 과립 또는 분말), 마이크로결정성 셀룰로오스, 분말 셀룰로오스, 덱스트레이트, 카올린, 만니톨, 규산, 소르비톨, 전분, 호화 전분, 및 이들의 혼합물이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 본 발명의 약학적 조성물에서 바인더 또는 충전제는 일반적으로 약학적 조성물 또는 제형의 약 50-99 중량%로 존재한다.

[0407] 붕해제는 수성 환경에 노출될 때 분해되는 정제를 제공하기 위해 본원에서 제공되는 조성물에 사용된다. 너무 많은 붕해제를 포함하는 정제는 저장 중 분해될 수 있는 반면에, 너무 적은 양을 포함하는 정제는 원하는 속도에서 또는 원하는 조건 하에서 분해되지 않을 수 있다. 따라서, 활성 성분의 방출을 불리하게 변화시키는 너무 많은 양도, 너무 적은 양도 아닌 충분한 양의 붕해제를 고형 경구 제형 형성에 사용해야 한다. 사용되는 붕해제의 양은 제제의 유형에 따라 다르다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 약학적 조성물은 약 0.5-15 중량% 또는 약 1-5 중량%의 붕해제를 포함한다.

[0408] 본원에서 제공되는 약학적 조성물 및 제형에 사용하기에 적합한 붕해제로는 한천, 알긴산, 탄산 칼슘, 마이크로결정성 셀룰로오스, 크로스카멜로오스 나트륨, 크로스포비돈, 폴라크릴린 칼륨, 나트륨 전분 글리콜산염, 감자 또는 타피오카 전분, 다른 전분, 호화 전분, 다른 전분, 점토, 다른 알긴류, 다른 셀룰로오스, 고무, 및 이들의 혼합물이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0409] 본원에서 제공되는 약학적 조성물 및 제형에 사용하기에 적합한 윤활제로는 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 미네랄 오일, 경량 미네랄 오일, 글리세린, 소르비톨, 만니톨, 폴리에틸렌글리콜, 다른 글리콜, 스테아르산, 라우릴황산나트륨, 활석, 수소 첨가 식물성 기름(예를 들어, 땅콩 기름, 면실유, 해바라기 기름, 참기름, 올리브 기름, 옥수수 기름, 및 콩기름), 스테라르산아연, 올레인산에틸, 라우릴산에틸, 한천, 및 이들의 혼합물이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 추가 윤활제로는, 예를 들어, 실로이드 실리카 겔(AEROSIL200, W.R. Grace Co. of Baltimore, MD 제조), 합성 실리카의 응고 에어로졸(Degussa Co. of Plano, TX 판매), CAB-O-SIL (Cabot Co. of Boston, MA에 의해 판매되는 발열성 이산화규소 제품), 및 이들의 혼합물이 포함된다. 특정 실시태양에서, 만약 사용된다면, 윤활제는 일반적으로 그들이 포함되는 약학적 조성물 또는 제형의 약 1 중량% 미만의 양이 사용된다.

[0410] 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체; 및 무수 락토스, 마이크로결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 스테아르산, 콜로이드성 무수 실리카, 및 젤라틴으로부터 선택되는 하나 이상의 부형제를 포함하는 고형 경구 제형이 본원에서 제공된다.

[0411] 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체; 및 무수 락토스, 마이크로결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 스테아르산, 콜로이드성 무수 실리카, 및 젤라틴을 포함하는 고형 경구 제형이 본원에서 제공된다.

[0412] 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물의 하이드로클로라이드 염, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체; 및 무수 락토스, 마이크로결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 스테아르산, 콜로이드성 무수 실리카, 및 젤라틴으로부터 선택되는 하나 이상의 부형제를 포함하는 고형 경구 제형이 본원에서 제공된다.

[0413] 특정 실시태양에서, 화학식 I의 화합물의 하이드로클로라이드 염, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체; 및 무수 락토스, 마이크로결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 스테아르산, 콜로이드성 무수 실리카, 및 젤라틴을 포함하는 고형 경구 제형이 본원에서 제공된다.

[0415] **5.7.2 지연 방출성 제형**

[0416] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 활성 성분은 방출 제어 수단 또는 전달 장치에 의해 투여될 수 있다. 본 명세서에 각각 참조로 포함된, 미국특허 제3,845,770호, 제3,916,899호, 제3,536,809호, 제3,598,123호, 제4,008,719호, 제5,674,533호, 제5,059,595호, 제5,591,767호, 제5,120,548호, 제5,073,543호, 제5,639,476호, 제5,354,556호, 및 제5,733,566호에 개시된 것이 예로서 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 특정 실시태양에서, 이러한 제형은, 다양한 비율로 원하는 방출 프로파일을 제공하기 위하여, 예를 들어, 하이드로프로필메틸셀룰로오스, 다른 고분자 매트릭스, 겔, 투과성 막, 삼투 시스템, 다층 코팅, 미세 입자, 리포솜, 미소 구체, 또는 이들의 조합을 사용하여 하나 이상의 활성 성분의 방출을 느리게 하거나 또는 제어하기 위해 사용될 수 있다. 방출을 제어하도록 구성된 정제, 캡슐, 젤라틴 캡슐, 및 당의정과 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 경구 투여에 적합한 단일 단위 투여 제형이 본원에서 제공된다.

[0417] 모든 방출 제어 제약품은 그들의 비-제어 제약품에 의해 달성된 약물 치료 개선이라는 공통된 목표를 갖는다. 이상적으로, 의학적 치료에서 최적으로 설계된 방출 제어 제제의 사용은 최소 시간으로 질병을 치료하거나 제어하기 위해 사용되는 최소량의 약물로서 특징지어진다. 방출 제어 제제의 장점으로는 약물의 활성 연장, 투여 횟수 감소, 및 환자의 수용 상태 증가를 들 수 있다. 또한, 방출 제어 제제는 작용의 개시 시간 또는 약물의 혈중 농도와 같은 다른 특성에 영향주기 위해 사용될 수 있으며, 따라서, 부작용(예를 들어, 역효과)의 발생에 영향을 줄 수 있다.

[0418] 대부분의 방출 제어 제제는 처음에 원하는 치료 효과를 신속하게 생성하는 약물(활성 성분)의 양을 방출하고, 연장된 기간 동안 이 수준의 치료 또는 예방 효과를 유지하기 위해 약물의 다른 양을 점진적이고 지속적으로 방출하도록 설계된다. 신체에 이 일정 수준의 약물을 유지하기 위해서, 약물은 대사되어 몸에서 배출되는 약물의 양을 대체할 속도로 제형으로부터 방출되어야 한다. 활성 성분의 제어 방출은 pH, 온도, 효소, 물, 또는 다른 생리적 조건 또는 화합물을 포함하여, 그러나 이에 국한되지는 않는, 다양한 조건에 의해 자극될 수 있다.

[0420] **5.7.3 비경구용 제형**

[0421] 비경구용 제형은 피하, 정맥내(많은 양의 약 주입 등), 근육내, 및 동맥내를 포함하여, 그러나 이에 국한되지는 않는, 다양한 경로를 통해 환자에게 투여될 수 있다. 그들의 투여는 일반적으로 오염 물질에 대한 환자의 자연 방어를 우회하기 때문에, 비경구용 제형은 환자에게 투여하기 전에 살균되거나 또는 살균될 수 있는 것이 바람직하다. 비경구용 제형의 예로는 주입을 위해 준비한 용액, 주입을 위해 약학적으로 허용가능한 비히클에 용해 또는 현탁시키기 위해 준비한 건조 제품, 주입을 위해 준비된 현탁물, 및 에멀젼이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0422] 비경구용 제형을 제공하기 위해 사용할 수 있는 적합한 비히클은 당업자에게 주지되어 있다. 예로는 주사용 증류수 USP; 염화나트륨 주사, 링거 주사, 포도당 주사, 포도당 및 염화나트륨 주사, 및 유당 링거 주사와 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 수성 비히클; 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리프로필렌 글리콜과 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 물-혼화성 비히클; 및 옥수수 기름, 면실유, 땅콩 기름, 참기름, 올레인산에틸, 이소프로틸 미리스테이트, 및 벤질벤조산과 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 비-수성 비히클이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0423] 본원에 개시된 하나 이상의 활성 성분의 용해성을 증가시키는 화합물이 본 명세서에서 제공되는 비경구용 제형에 또한 포함될 수 있다. 예를 들어, 시클로덱스트린 및 그 유도체가 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 용해성을 증가시키기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 본 명세서에 참조로 포함된 미국 특허 제5,134,127호 참조).

[0425] **5.7.4 국소용 및 점막용 제형**

[0426] 본 명세서에서 제공되는 국소용 및 점막용 제형은 스프레이, 에어로졸, 용액, 에멀젼, 현탁액, 안약 또는 다른 안과용 제제, 또는 당업자에게 알려진 다른 형태를 포함하지만, 이에 국한되지는 않는다(예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16판 및 18판., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990); 및 *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4판., Lea & Febiger, Philadelphia (1985) 참조). 구강 내 점막 조직 치료에 적합한 제형은 양치액 또는 구강 겔로서 조제될 수 있다.

[0427] 본원에서 제공되는 국소용 및 점막용 제형을 제공하기 위해 사용할 수 있는 적합한 부형제(예를 들어, 담체 및

희석제) 및 다른 물질은 해당 약학적 조성물 또는 제형을 적용할 특정 조직에 따라 달라진다. 그러한 이유로, 특정 실시태양에서, 부형제는 물, 아세톤, 에탄올, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 부탄-1,3-디올, 이소프로필 미리스테이트, 이소프로필 팔미테이트, 미네랄 오일, 및 비독성이며 약학적으로 허용가능한 용액, 에멀젼 또는 겔을 형성하는 이들의 혼합물을 포함하지만, 이에 국한되지는 않는다. 원한다면 약학적 조성물 및 제형에 보습제 또는 습윤제가 또한 첨가될 수 있다. 이러한 첨가 성분의 예는 당업계에 주지되어 있다(예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16판 및 18판., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990) 참조).

[0428] 또한, 하나 이상의 활성 성분의 전달을 개선하기 위해 약학적 조성물 또는 제형의 pH가 조절될 수 있다. 마찬가지로, 전달을 개선하기 위해 용매 운반체의 극성, 이의 이온 강도, 또는 긴장성이 조절될 수 있다. 하나 이상의 활성 성분의 친수성 또는 친유성을 유리하게 변화시켜서 전달을 개선하기 위해 약학적 조성물 또는 제형에 스테아르산염과 같은 화합물이 또한 첨가될 수 있다. 이점에서, 스테아르산염은 제제에 대한 지질 비히클, 유화제 또는 계면활성제, 및 전달-강화제 또는 침투 강화제로서 작용할 수 있다. 결과 조성물의 특성을 추가로 조절하기 위해 활성 성분의 다른 염, 수화물 또는 용매화물이 사용될 수 있다.

[0430] **5.7.5 키트**

[0431] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 활성 성분들은 동시에 또는 동일한 투여 경로를 통해 환자에게 투여되지 않는다. 따라서, 의사가 사용할 때, 환자에게 적절한 양의 활성 성분의 투여를 단순화할 수 있는 키트가 본원에서 제공된다.

[0432] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 키트는 본원에서 제공되는 화합물, 예를 들어, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 제형을 포함한다. 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 키트는 추가의 활성 성분, 예컨대 오블리메르센(GENASENSE®), 멜팔란, G-CSF, GM-CSF, EPO, 토포테칸, 다카르바진, 이리노테칸, 탁소텔, IFN, COX-2 저해제, 펜톡시팔일린(pentoxifylline), 시프로플록사신, 덱사메타손, IL2, IL8, IL18, Ara-C, 비노렐빈, 이소트레티노인, 13 시스-레티노산, 또는 이들의 약리학적으로 활성인 돌연변이 또는 유도체, 또는 이들의 조합을 추가로 포함한다. 추가의 활성 성분의 예는 본원에 개시된 것들을 포함하나 이에 국한되는 것은 아니다(예를 들어, 섹션 5.4 참조).

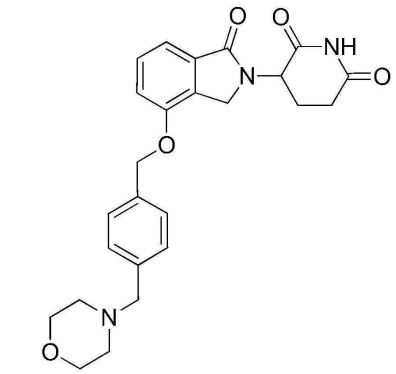
[0433] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 키트는 활성 성분을 투여하기 위해 사용되는 장치를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 장치의 예로는 주사기, 드립팩, 패치, 및 흡입기가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0434] 특정 실시태양에서, 본원에서 제공되는 키트는 이식을 위한 세포 또는 혈액뿐만 아니라 하나 이상의 활성 성분을 투여하기 위해 사용할 수 있는 약학적으로 허용가능한 비히클을 추가로 포함한다. 예를 들어, 활성 성분이 비경구 투여용으로 재구성되어야 하는 고체 형태로 제공된다면, 키트는 경구 투여에 적합한 입자가 없는 멸균 용액을 형성하기 위해 활성 성분이 용해될 수 있는 적합한 비히클의 밀폐 용기를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 비히클의 예로는 주사용 증류수 USP; 염화나트륨 주사, 링거 주사, 포도당 주사, 포도당 및 염화나트륨 주사, 및 유당 링거 주사와 같은, 그러나 이에 국한되지는 않는, 수성 비히클; 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리프로필렌 글리콜과 같은, 그러나 이에 국한되지 않는, 물-혼화성 비히클; 옥수수 기름, 면실유, 땅콩 기름, 참기름, 올레인산 에틸, 이소프로필 미리스테이트, 및 벤질 벤조산과 같은, 그러나 이에 국한되지 않는, 비-수성 비히클이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

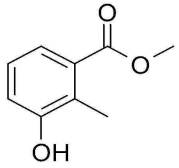
[0436] **6. 실시예**

[0437] 본원 발명의 특정 실시태양들이 하기 비-제한적인 실시예에 의해 설명된다.

[0439] 6.1 3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온의 제조

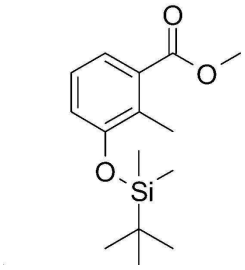
[0440] 

[0441] 6.1.1: 3-하이드록시-2-메틸-벤조산 메틸 에스테르

[0442] 

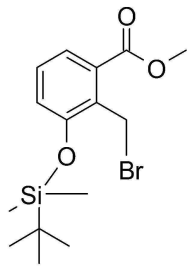
[0443] 3-하이드록시-2-메틸벤조산 (105 g, 690 mmol)을 응축기, 온도계 및 교반바가 장치된 2L 용량의 3구 둥근바닥 플라스크내 MeOH (800 mL)에 첨가한 뒤, 이어 MeOH (250 ml)를 첨가하였다. H_2SO_4 (10 mL, 180 mmol)를 상기 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 62℃에서 17시간 동안 교반하였다. 용매를 진공중에 제거하였다. 잔사 (200 mL)를 실온에서 물 (600 mL)에 천천히 첨가하고, 백색 고체를 얻었다. 현탁액을 빙조에서 30분간 교반하고, 여과하였다. 고체를 물로 세척하고 (5 x 250 mL), 건조하여 3-하이드록시-2-메틸-벤조산 메틸 에스테르를 백색 고체로 수득하였다 (100 g, 87% 수율). 화합물을 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다: LCMS MH = 167; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 2.28 (s, 3H, CH_3), 3.80 (s, 3H, CH_3), 6.96 - 7.03 (m, 1H, Ar), 7.09 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.14 - 7.24 (m, 1H, Ar), 9.71 (s, 1H, OH).

[0444] 6.1.2: 3-(tert-부틸-디메틸-실라닐옥시)-2-메틸-벤조산 메틸 에스테르

[0445] 

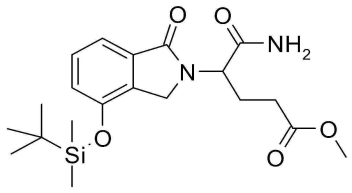
[0446] 교반바 및 온도계가 장치된 1L 용량의 3구 둥근바닥 플라스크에 DMF (300 mL), 메틸 3-하이드록시-2-메틸벤조에이트 (90 g, 542 mmol) 및 이미다졸 (92 g, 1,354 mmol)을 첨가하였다. 상기 용액에 TBDMS-Cl (90 g, 596 mmol)을 20분간 내부 온도를 15-19℃로 조절하기 위해 여러번 나누어 첨가하고, 첨가를 마친 후, 내부 온도를 1℃ 아래로 떨어뜨렸다. 빙조를 제거하고, 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 빙수 (500 mL)에 첨가한 뒤, 생성된 용액을 두 부분 (700 mL x 2)으로 나누었다. 각 부분을 EtOAc (700 mL)로 추출하였다. 각 유기층을 냉수 (350 mL) 및 염수 (350 mL)로 세척하였다. 유기층을 합해 $MgSO_4$로 건조하였다. 합해진 유기층을 농축하여 3-(tert-부틸-디메틸-실라닐옥시)-2-메틸-벤조산 메틸 에스테르를 담갈색 오일로 수득하였다 (160 g, 100% 조 수율). 화합물을 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다: LCMS MH = 281; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ -0.21 (s, 6H, CH_3, CH_3), 0.73 - 0.84 (m, 9H, CH_3, CH_3, CH_3), 2.10 (s, 3H, CH_3), 3.60 (s, 3H, CH_3), 6.82 (dd, 1H, Ar), 6.97 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, Ar), 7.13 (dd, *J* = 1.1, 7.7 Hz, 1H, Ar).

[0447] **6.1.3: 2-브로모메틸-3-(tert-부틸-디메틸-실라닐옥시)-벤조산 메틸 에스테르**

[0448] 

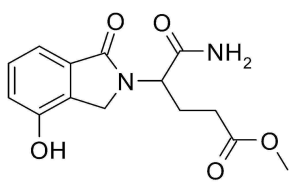
[0449] NBS (49.8 g, 280 mmol)를 실온에서 메틸 아세테이트 (500 mL) 중의 메틸 3-(tert-부틸 디메틸실릴옥시)-2-메틸벤조에이트 (78.4 g, 280 mmol)에 첨가하여 오렌지색 현탁액을 얻었다. 생성된 반응 혼합물을 40℃ 오일조에서 가열하고, 환류하에 4시간 동안 300 wt 태양광 전구로 조사하였다. 반응 혼합물을 식히고, Na_2SO_3 용액 (2 x 600 mL, 50% 포화 농도), 물 (500 mL) 및 염수 (600 mL)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 차콜로 탈색하였다. 유기층을 농축하여 2-브로모메틸-3-(tert-부틸-디메틸-실라닐옥시)-벤조산 메틸 에스테르를 담갈색 오일로 수득하였다 (96 g, 91% 조 수율). 화합물을 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다: LCMS M-Br = 279; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 0.05 - 0.11 (m, 6H, CH_3, CH_3), 0.82 (s, 9H, CH_3, CH_3, CH_3), 3.65 (s, 3H, CH_3), 4.74 (s, 2H, CH_2), 6.94 (dd, *J* = 1.3, 8.1 Hz, 1H, Ar), 7.10 - 7.20 (m, 1H, Ar), 7.21 - 7.29 (m, 1H, Ar).

[0450] **6.1.4: 4-카바모일-부티르산 메틸 에스테르**

[0451] 

[0452] 2L 용량의 둥근바닥 플라스크내에서 아세토니트릴 (1100 mL) 중 메틸 2-(브로모메틸)-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)벤조에이트 (137.5 g, 325 mmol)의 교반 용액에 메틸 4,5-디아미노-5-옥소펜타노에이트 하이드로클로라이드 (70.4 g, 358 mmol)를 첨가하였다. 현탁액에 DIPEA (119 ml, 683 mmol)를 부가 깔때기를 통해 10분간 첨가한 뒤, 현탁액을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 혼합물을 40℃ 오일조에서 23시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축하였다. 잔사를 에테르 (600 mL)에서 교반하였고, 백색 고체가 석출되었다. 혼합물을 여과하고, 고체를 에테르 (400 mL)로 세척하였다. 여액을 HCl (1N, 200 mL), $NaHCO_3$ (포화, 200 mL) 및 염수 (250 mL)로 세척하였다. 수성산층 및 염기층을 별도로 유지하였다. 이어, 고체를 에테르 (250 mL)로 추가 세척하고, 액체를 상기 산 용액 및 염기 용액으로 세척하였다. 두 유기층을 합하고 진공하에 농축하여 4-[4-(tert-부틸-디메틸-실라닐옥시)-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일]-4-카바모일-부티르산 메틸 에스테르를 갈색 오일로 수득하였다 (152g, 115% 조 수율, H NMR에 의한 순도 77%). 화합물을 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다: LCMS MH = 407.

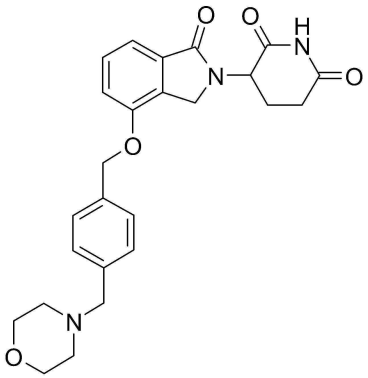
[0453] **6.1.5: 4-카바모일-4-(4-하이드록시-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일)-부티르산 메틸 에스테르**

[0454] 

[0455] DMF (500 mL) 및 물 (55 mL) 중 메틸 5-아미노-4-(4-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)-5-옥소펜타노에이트 (152 g, 288 mmol)의 교반 냉각 용액에 K_2CO_3 (19.89 g, 144 mmol)을 5분간 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 40분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 빙조에서 냉각하였다. 혼합물에 HCl (12M, 23.99 ml, 288 mmol)을 천천히 첨가하였다. 첨가후, 아세토니트릴 (280 mL)을 혼합물에 첨가하였고, 고체가 석출되었다. 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하고, 여과하였다. 고체를 아세토니트릴로 세척하였다 (50 mL

x 4). 여액을 고진공하에 농축하여 황색 오일 (168 g)을 얻었다. 오일을 아세토니트릴 (600 mL)에 용해시키고, 실온에서 10분 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 고체를 아세토니트릴로 세척하였다 (25 mL x 2). 여액을 고진공하에 농축하여 황색 오일 (169 g)을 얻고, 물 (1200 mL) 및 에테르 (1000 mL)의 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 3분간 교반한 뒤, 층을 분리하였다. 수용액을 고진공하에 농축하고, 잔사를 아세토니트릴 (160 mL)에서 교반하고, 밤새 교반하여 백색 고체를 얻었다. 혼합물을 여과하여 4-카바모일-4-(4-하이드록시-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일)-부티르산 메틸 에스테르를 백색 고체로 수득하였다 (46 g, 54% 수율). 여액을 농축하고, 잔사를 아세토니트릴 (60 mL)에서 추가 결정화하여 추가의 4-카바모일-4-(4-하이드록시-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일)-부티르산 메틸 에스테르를 백색 고체로 수득하였다 (11.7 g, 14% 수율). 여액을 농축하고, 잔사를 ISCO 크로마토그래피에 의해 정제하여 추가의 4-카바모일-4-(4-하이드록시-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일)-부티르산 메틸 에스테르를 백색 고체로 수득하였다 (13.2 g, 15% 수율). 얻은 총 생성물은 70.9 g으로 수율 83%이다: LCMS MH = 293; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 1.95 - 2.34 (m, 4H, CH_2, CH_2), 3.51 (s, 3H, CH_3), 4.32 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H, CHH), 4.49 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H, CHH), 4.73 (dd, *J* = 4.7, 10.2 Hz, 1H, CHH), 6.99 (dd, *J* = 0.8, 7.9 Hz, 1H, Ar), 7.10 - 7.23 (m, 2H, Ar, NHH), 7.25 - 7.38 (m, 1H, Ar), 7.58 (s, 1H, NHH), 10.04 (s, 1H, OH).

[0456] **6.1.6: 3-(4-((4-(모르폴리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온**



[0457]

[0458] 단계 1: THF (60 mL) 중 3-(4-하이드록시-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온 (2.5 g, 8.56 mmol)의 용액에 트리페닐 포스핀 (폴리머 담지, 1.6 mmol/g, 12 g, 18.8 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 디이소프로필 아조디카복실레이트 (3.96 mL, 18.8 mmol)를 0℃에서 첨가하고, 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. (4-모르폴린-4-일메틸-페닐)-메탄올 (2.62 g,12.4 mmol)을 0℃에서 첨가하고, 혼합물을 실온으로 가온한 후, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 농축하였다. 생성된 오일을 실리카겔 상에서 메틸렌 클로라이드 및 메탄올 (구배, 생성물은 6% 메탄올로 나온다)로 용출하면서 정제하여 4-카바모일-4-[4-(4-모르폴린-4-일메틸-벤질옥시)-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일]-부티르산 메틸 에스테르 (2.2 g, 54% 수율)를 수득하였다. 생성물을 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다.

[0459] 단계 2: 4-카바모일-4-[4-(4-모르폴린-4-일메틸-벤질옥시)-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일]-부티르산 메틸 에스테르 (2.2 g, 4.57 mmol)의 THF 용액 (50 mL)에 포타슘 t-부톡사이드 (0.51 g, 4.57 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 10분 동안 교반하고, 1N HCl (5 mL, 5mmol)에 이어 포화 $NaHCO_3$ (25 mL)로 퀀칭하였다. 혼합물을 EtOAc로 추출하였다 (2 x 50 mL). 유기층을 물 (30 mL), 염수 (30 mL)로 세척하고, $MgSO_4$로 건조한 후, 농축하였다. 생성된 고체에 EtOAc (10 mL)에 이어 헥산 (10 mL)을 교반하에 첨가하였다. 현탁액을 여과하여 3-(4-((4-(모르폴리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온을 백색 고체로 수득하였다 (1.5 g, 73% 수율). HPLC: Waters Symmetry C_{18}, 5 ㎛, 3.9 x 150 mm, 1 mL/분, 240 nm, 95/5 아세토니트릴/0.1% H_3PO_4로 5분 구배: t_R = 4.78 분 (97.5%); mp: 210-212℃; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 1.86 - 2.09 (m, 1H, CHH), 2.29 - 2.38 (m, 4H, CH_2,CH_2), 2.44 (dd, J = 4.3, 13.0 Hz, 1H, CHH), 2.53 - 2.64 (m, 1H, CHH), 2.82 - 2.99 (m, 1H, CHH), 3.46 (s, 2H, CH_2), 3.52 - 3.61 (m, 4H, CH_2,CH_2), 4.18 - 4.51 (m, 2H, CH_2), 5.11 (dd, J = 5.0, 13.3 Hz, 1H, NCH), 5.22 (s, 2H, CH_2), 7.27 - 7.38 (m, 5H, Ar), 7.40 - 7.53 (m, 3H,

Ar), 10.98 (s, 1H, NH) ^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ 22.36, 31.21, 45.09, 51.58, 53.14, 62.10, 66.17, 69.41, 114.97, 115.23, 127.64, 128.99, 129.81, 129.95, 133.31, 135.29, 137.68, 153.50, 168.01, 170.98, 172.83; LCMS: 465; 분석 - $C_{25}H_{27}N_3O_5$ + 0.86 H_2O에 대한 이론치: C, 64.58; H, 6.23; N, 9.04; 실측치: C, 64.77; H, 6.24; N, 8.88.

[0460] *(S)*-3-(4-((4-(모르폴리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온으로부터 키랄 분리를 통해 (*S*)-3-(4-((4-(모르폴리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 및 (*R*)-3-(4-((4-(모르폴리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온을 제조하였다.

[0462] **6.2 아세이**

[0463] **6.2.1 T 세포에 의한 사이토카인 생성**

[0464] RosetteSep® T 세포 농축 칵테일을 사용하여 음성 선택(negative selection)에 의해 T 세포를 버피 코트로부터 분리하였다. 제조사의 과정을 그대로 따랐다. 모든 96-웰 플레이트를 37℃에서 4시간 동안 100 μl 1X PBS에서 3 mg/ml 항-인간 CD3 항체로 전코팅하였다. T 세포 아세이에 앞서 플레이트를 RPMI-1640 Complete Media를 이용하여 3회 세척하였다. T 세포를 180 μl RPMI-1640 Complete Media 중에서 2.5 x 10^5 세포/웰의 밀도로 CD3 전코팅된 플레이트에 플레이팅하였다. 세포를 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 및 0.00001 μM에서 20 μl 10X 적정 화합물로 처리하였다. 최종 DMSO 농도는 0.25%였다. 플레이트를 37℃, 5% CO_2에서 48 시간 동안 인큐베이션하였다. 48 시간 후에, 상청액을 수확하여 다음의 사이토카인/키모카인에 대해 다중 혈구계산 비드 어레이(CBA) 아세이로 테스트하였다: IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17a, GM-CSF, G-SCF, IFN-γ, TNF-α 및 RANTES. CBA 플레이트를 루미넥스 IS100 장비 상에서 분석하였다. 각 공여자로부터의 데이터를 GraphPad Prism 5.0 소프트웨어를 사용하여 그래프화하고, 평균 pg/mL ± SEM 및 % DMSO 대조 ± SEM으로 나타내었다.

[0465] 비교적으로 낮은 농도 (0.01 nM 내지 1 nM)의 화합물 I은 자극된 인간 T 세포에서 IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, GM-CSF, IFN-γ, TNF-α 및 RANTES(10 nM)를 증강시켰다(도 1 및 도 2). 대부분의 사이토카인 및 키모카인의 생성의 증강은 1 내지 10 nM의 화합물 I에서 피크를 나타내었고 그 레벨에 그대로 머무르거나 증가된 농도에서 점차적으로 감소하였다. 1 nM에서, 화합물 I은 IL-2, IL-13, 및 GM-CSF의 생성을 대조 세포의 레벨보다 각각 7, 5 및 3배의 레벨로 증가시켰다. 10 nM에서, 화합물 I은 IL-2, IL-13, 및 GM-CSF의 생성을 대조 세포의 레벨보다 각각 22, 6.5, 및 6배의 레벨로 증가시켰다. 화합물 I은 0.1 및 1 nM의 농도에서 IL-10의 생성을 약 1.5 내지 3.5 배로 증가시켰으나, ≥10 nM에서는 IL-10의 생성을 저해하였다. 화합물 I은 IL-5 생성을 대조 세포의 그것에 비해 6배 증가시켰으나 이는 1 nM의 농도에서만 그러하였다; IL-5 생성은 10 nM에서 ≤ 2-배 증가되었다. 화합물 I은 10 nM 내지 10 μM 범위의 농도에서 RANTES 생성을 대조 세포의 그것에 비해 2 내지 3배 증가시켰다. 화합물 I은 1 nM 내지 10 μM 범위의 농도에서 TNF-α 및 IFN-γ 생성을 에 비해 2 내지 3배 증가시켰다.

[0466] 낮은 농도의 화합물 I-R 역시 자극된 인간 T 세포에서 사이토카인 및 키모카인 생성을 증가시켰다. 화합물 I-R은 1 nM과 같은 낮은 농도에서도 자극된 인간 T 세포에서 IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, GM-CSF, IFN-γ, RANTES, 및 TNF-α를 증가시켰다(도 3 및 도 4). 10 nM의 농도에서, 화합물 I-R은 IL-2, IL-13 및 GM-CSF 생성을 대조 세포의 그것에 비해 각각 15, 7, 및 6 배 증가시켰다. 0.01 내지 1 nM의 화합물 I-R의 농도는 IL-10 생성을 ~5배 증가시켰으나, > 10 nM 농도에서는IL-10 생성을 저해하였다. 1 내지 100 nM의 화합물 I-R의 농도는 IL-5 생성을 대조 세포의 그것에 비해 2.5 배까지 증가시켰으나, 화합물 I-R은 1 nM에서 화합물 I-S에 의해 보여진 6-배 증가를 나타내지 않았다. IL-5 생성의 증가 패턴 및 IFN-γ 생성의 아마도 낮은 정도의 증가를 제외하고, 화합물 I-R에 의해 보여진 사이토카인 및 키모카인 증강의 프로파일은 생성의 증가의 규모 및 증가가 발생한 농도 범위에 있어서 화합물 I의 그것과 닮았다.

[0467] 낮은 농도의 화합물 I-S 역시 자극된 인간 T 세포에서 사이토카인 및 키모카인 생성을 증가시켰고, 화합물 I-R에 의해 보여진 사이토카인 및 키모카인 증강의 프로파일은 생성의 증가의 규모 및 증가가 발생한 농도 범위에 있어서 화합물 I의 그것과 닮았다. 화합물 I-S는 1 nM과 같은 낮은 농도에서도 자극된 인간 T 세포에서 IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, GM-CSF, IFN-γ, RANTES, 및 TNF-α를 증가시켰다(도 5 및 도 6). 10 nM의 농도에서, 화합물 I-S는 IL-2, IL-13 및 GM-CSF 생성을 대조 세포의 그것에 비해 각각 18, 7, 및 5 배 증가시켰다. 0.1 및 1 nM의 화합물 I-S의 농도는 IL-10 생성을 ~2 내지 3배 증가시켰으나, > 10 nM 농도에서는IL-10 생성을

저해하였다. 화합물 I에서 관찰된 바와 같이, 화합물 I-S에 의한 IL-5 생성의 증가는 1 nM에서 피크를 나타내었다. 일 실시태양에서, 화합물 I-S는 T 세포에 의한 IL-2 생성을 공동자극하였고, 포말리도미드에 대한 10 nM과 비교하여 약 0.29 nM의 EC_{50}을 나타내었다.

[0469] **6.2.2 인간 말초 혈액 단핵 세포 중 사이토카인의 프로파일링**

[0470] 인간 버피 코트 50 ml를 50 ml 용량의 원뿔형 시험관 2개에 각각 25 ml씩 분취하여 첨가하고, 멸균 HBSS 25 ml를 각 원뿔형 시험관에 첨가하였다. 시험관을 전도시켜 부드럽게 혼합하였다. 실온의 피콜-파크 플러스 (GE 헬쓰케어(GE Healthcare) (소재); cat# 17-1440-02) 15 ml를 50 ml 용량의 원뿔형 시험관 4개에 분취하여 첨가하였다. 그 후에, 버피 코트/HBSS 혼합물 25 ml를 피콜의 상층에 부드럽게 서서히 층상화하였다. 샘플을 35분 동안 450 rpm에서 원심분리하였다. 혈장을 함유하는 상층을 피펫팅하여 버렸다. 단핵 세포를 함유하는 계면을 50 ml 용량의 원뿔형 시험관 2개로 옮겼다. 두 원뿔형 시험관을 HBSS로 50 ml의 총 부피까지 충전하고, 10분 동안 1200 rpm에서 원심분리하였다. 세포를 HBSS로 다시 세척하고, 10분 동안 1000 rpm에서 회전시켰다. 세포 펠렛을 RPMI 완전 배지 (RPMI/5% 인간 혈청/1x pen./strep./glut.) 20 ml로 재현탁시키고 계수하였다.

[0471] hPBMC 100 ㎕ (2 x 10^6/ml)를 96 웰 평바닥 플레이트의 각 웰에 첨가하고 (최종 세포수 = 2 x 10^5/웰), 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 화합물 20 ㎕ (10x)를 각 시험 웰에 첨가하고, 2.5% DMSO를 함유하는 배지 20 ㎕를 각 대조군 웰에 첨가하고 ([DMSO]최종 = 0.25%), 플레이트를 1시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 그 후에, 세포를 2.5 ng/ml의 LPS 80 ㎕로 자극하고 ([LPS]최종 = 1 ng/ml), 18시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 각각의 웰로부터의 상청액 50 ㎕를 3개의 새로운 둥근 바닥 96 웰 플레이트로 옮기고, 루미넥스 분석을 위해 -20℃에서 보관하였다. 각각의 샘플에 대하여 2벌의 웰을 작업하였다.

[0472] 상청액 샘플을 루미넥스 IS100 장치를 사용하여 제조사 (밀리포어, 미국 매사추세츠주 01821 빌레리카)의 지침에 따라 멀티플렉스 포맷으로 시토카인에 대하여 분석하였다. IL-12 및 GM-CSF 분석은 아무 것도 넣지 않은 (neat) 상청액을 사용하여 2-플렉스 포맷으로 수행하였고, 반면에 모든 다른 시토카인은 1:20 희석된 상청액을 사용하여 멀티플렉스 포맷으로 수행하였다. 데이터 분석은 업스테이트 비드뷰(Upstate Beadview) 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. IC_{50}을, 최고점을 100%로 한정하고 최저점을 0%로 한정하며, 가변성 기울기를 허용하는 S자형 용량-반응의 비선형 회귀를 사용하여 계산하였다. EC_{50}은 10 μM에서 포말리도마이드 (대조군)에 의해 제공되는 평균 IL-10 증강을 나타내는 246.9%에 해당하는 S자형 곡선의 상한 및 100%로의 하한을 토대로 한다. IC_{50}은 그래프패드 프리즘 v5.00을 사용하여 수행하였다. 데이터 값은 n (이중 실험의 횟수)의 평균 + SEM (평균의 표준 오차)을 나타낸다.

[0473] 화합물 I은 생성을 저해하였다(효능의 순서대로): IL-1β (IC_{50} = 0.00085 μM) > TNF-α (IC_{50} = 0.0018) > MDC (IC_{50} = 0.0026 μM) > GM-CSF (IC_{50} = 0.0092 μM) > IL-6 (IC_{50} = 0.01 μM) > MIP-1α (IC_{50} = 0.19 μM) > IL-8 (IC_{50} > 10 μM). 화합물 I은 MIP-1β 생성에는 별 영향이 없었으며, IC_{50} 값은 >10 μM 였다(도 7A 및 표 1). 화합물 I은 IL-10, MCP-1, 및 RANTES 생성을 0.1 μM 농도에서 대조 값의 평균 퍼센트로 각각 372%, 208%, 및 153% 증가시켰다(도 7B 및 표 2).

[0474] 화합물 I-R은 생성을 저해하였다(효능의 순서대로): IL-1β (IC_{50} = 0.0062 μM) > TNF-α (IC_{50} = 0.0095 μM) > MDC (IC_{50} = 0.012 μM) > GM-CSF (IC_{50} = 0.039 μM) > IL-6 (IC_{50} = 0.083 μM) > MIP-1α (IC_{50} = 0.045 μM) > MIP-1β (IC_{50} > 10 μM). 또한 화합물 I-R은 IC_{50} 값 > 10 μM과 함께 IL-8 생성에는 보통의 저해 효과를 나타내었다(도 8A 및 표 1). 화합물 I-R은 IL-10, MCP-1, 및 RANTES 생성을 0.1 μM 농도에서 대조 값의 평균 퍼센트로 각각 442%, 223%, 및 151% 증가시켰다(도 8B 및 표 2).

[0475] 화합물 I-S는 생성을 저해하였다(효능의 순서대로): IL-1β (IC_{50} = 0.00046 μM) > TNF-α (IC_{50} = 0.00059 μM) > MDC (IC_{50} = 0.0021 μM) > GM-CSF (IC_{50} = 0.0022 μM) > IL-6 (IC_{50} = 0.0038 μM) > MIP-1α (IC_{50} = 0.028 μM > MIP-1β (IC_{50} > 10 μM). 또한 화합물 I-S는 IC_{50} 값 > 10 μM과 함께 IL-8 생성에는 보통의 저해 효과를 나타내었다(도 9A 및 표 1). 화합물 I-S는 IL-10, MCP-1, 및 RANTES 생성을 0.1 μM 농도에서 대조 값의 평균 퍼센트로 각각 379, 233%, 및 153% 증가시켰다(도 9B 및 표 2).

표 1

표 1. 테스트 화합물의 사이토카인 저해 프로파일의 개요

테스트 화합물	IL-6	IL-8	IL-1β	GM-CSF	MDC	MIP-1α	MIP-1β	TNF-α
화합물 I	0.01	>10	0.00085	0.0092	0.0026	0.19	>10	0.0018
화합물 I-R	0.083	>10	0.0062	0.039	0.012	0.45	>10	0.0095
화합물 I-S	0.0038	>10	0.00046	0.0022	0.0021	0.028	>10	0.00059

[0476]

표 2

표 2. 테스트 화합물의 사이토카인 프로파일 개요

테스트 화합물	IL-10 (대조의 %)	MCP-1 (대조의 %)	RANTES (대조의 %)
화합물 I	372	208	153
화합물 I-R	442	223	151
화합물 I-S	379	233	153

[0477]

[0478] **6.2.3 NK 세포 IFN-γ 생산 및 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC)**

[0479] 제조사의 지침에 따라 건강한 공여자로부터의 NK 세포를 로제테셉 NK 세포 농축 칵테일(스템 셀 테크놀로지즈, 캐나다 브리티시 컬럼비아주 밴쿠버)을 사용하여 음성 선택에 의해 버피 코트 혈액으로부터 단리한 후에, 피콜-하이파크 (피셔 사이언티픽 컴파니 엘엘씨, 미국 펜실베니아주) 밀도 구배 원심분리하였다. CD56+ NK 세포는 유세포계수법(BD 바이오사이언시즈, 미국 캘리포니아주)에 의해 측정된 바, 약 85%의 순도로 단리되었다.

[0480] **NK IgG-유도된 인터페론-감마(IFN-γ) 아세이:** 96-웰 평바닥 플레이트를 100 ㎍/mL의 인간 IgG (시그마)로 밤새 4℃에서 코팅하였다. 다음 날에, 비결합 IgG를 냉각 1X PBS를 사용하여 세척해냈다. 그 후에, NK 세포를 IgG-코팅된 96-웰 플레이트에서 RPMI-1640 배지 180 μL 중에 웰마다 2 x 10^5개 세포로 플레이팅하고, 10 ng/mL의 rhIL-2 (R & D 시스템즈, 미국 미네소타주)를 첨가하였다. 시험 화합물을 DMSO 20 μL의 부피로 첨가하였다. 시험 화합물의 최종 농도는 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 또는 10 μM이었다. 최종 DMSO 농도는 0.25%였다. 48시간 후에, 상청액을 수거하고, IFN-γ 생성에 대하여 ELISA에 의해 분석하였다.

[0481] 시험 화합물이 고정화 IgG 및 rhIL-2 자극에 반응하여 NK 세포 IFN-γ 생성을 증강시키는 능력을 측정하기 위해 사용된 데이터를 각각의 공여자에 대하여 그래프패드 프리즘 v5.0 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 데이터는 다음 두가지 방식으로 나타냈다: (1) IFN-γ가 생성되었다면 절대량 (pg/mL ± SEM)으로서, 또한 (2) 1 μM 포말리도마이드의 존재하에 생성된 IFN-γ의 양에 대한 백분율로서. EC_{50}은 IFN-γ의 최대 생성의 절반을 제공하는 시험 화합물의 농도이고, 최대 생성은 1 μM 포말리도마이드의 존재하에 생성된 IFN-γ의 양으로 정의된다. EC_{50} 값을 최고점을 100%로 한정하고 최저점을 0%로 한정하며, 가변성 기울기를 허용하는 S자형 용량-반응의 비선형 회귀를 사용하여 계산하였다.

[0482] **ADCC Assay:** 정제된 NK 세포 (5 x 10^4)를 100 μL 페놀을 포함하지 않는 RPMI-1640 배지(Invitrogen) + 2% 인간 AB+ 혈청(Gemini Bio Products, CA) 중에서 96-웰 U-바닥 플레이트에 씨드하고, 10 ng/mL rhIL-2 및 리툭시맙 (5 μg/mL)에 0.01 내지 10 μM의 시험 화합물의 서로 다른 농도를 더하여 48 시간 동안 처리하였다. 다양한 림프종 세포주(GCB-DLBCL: WSU-DLCL2 및 Farage; 여포성 림프종: DoHH2; ABC-DLBCL: Riva; 버킷 림프종[BL]: Raji)을 5 μg/mL 리툭시맙으로 37℃에서 30분 동안 처리하였다. 비결합된 리툭시맙을 세척해내고, 타켓 세포(5 x 10^3/100 μL/웰)를 전처리된 주효 세포(effector 세포)(NK 세포)에 10:1 비율로 ㅊ첨가하고, 이들 둘을 37℃에서 4시간 동안 공동-인큐베이션하였다. 대조 조건은 (1) 배지 단독, (2) 리툭시맙 단독, 또는 (3) IL-2 단독으로 처리된 NK 세포와 종양 세포로 구성되었다. 상청액의 분취물(50 μL)을 사용하여, ADCC를 측정하는 표준 락트산 탈수소효소(LDH) 방출 아세이(CytoTox 96 Non-Radioactive Cytoxicity Assay, Promega, WI)를 사용하여 종양 세포에 대한 NK 세포 세포독성을 분석하였다. 1% Triton X-100 중 용해된 타켓 세포를 이용하여 결정한 결과, 타겟 세포 단독에 의한 자발적(spontaneous) 방출은 최대 방출의 < 15% 였다. 실험적 방출은 상응하는 희석에서 주효 세포의 자발적 방출을 공제함으로써 보정되었다. 특이 용해의 퍼센트는 다음의 식에 따라 계산하였다: 퍼센트 특이 용해 = 100 x (실험적 - 주효 자발적 - 타겟 자발적) / (타겟 최대 - 타겟 자발적).

[0483] NK 세포-매개된 특이 용해는 다음의 식에 따라 계산하였다: 퍼센트 특이 용해 = [(실험적 방출 - 자발적 방출) / (최대 방출 - 자발적 방출)] x 100. 결과를 GraphPad Prism v5.0 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. DMSO-처리 세포에 대한 상대적인 퍼센트 세포독성으로 데이터를 나타내었다.

[0484] IgG가 매개하는 NK 세포 IFN-γ 생성의 유도를 증가시키는 화합물 I, I-R 및 I-S의 능력을 병행하여 결정하였다. 총 7개의 NK 세포 공여자를 이 실험에 포함시켰고, 그 결과를 도 10(생성된 IFN-γ의 pg/mL으로 표현됨) 및 도 11(1 μM의 포말리도미드의 존재 하에서 생성된 IFN-γ에 대하여 상대적으로 생성된 IFN-γ의 증가한 퍼센트로 표현됨)에 나타내었다. 모든 화합물이 고정된 IgG 및 IL-2 자극에 반응하여 용량-의존적인 방식으로 NK 세포 IFN-γ 생성을 증가시켰다. 화합물 I은 포말리도미드에 의한 생성과 유사한 방식으로 IFN-γ 생성을 유도하였다. 화합물 I-S 및 I-R은 화합물 I에 비하여 조금 더 활성을 나타내었다.

[0485] 몇개의 림프종 세포주에 대하여 리툭시맙-매개된 ADCC를 증가시킴에 있어서 화합물 I, I-R 및 I-S의 면역조절 활성을 각 세포주에서 병행하여 결정하였다. 총 15개의 NK 세포 공여자를 포함시켰고(각 세포주에 대하여 3개의 NK 세포 공여자), 그 결과(도 12)는 모든 화합물이 모든 세포주에 있어서 용량-의존적 NK 세포-매개된 ADCC를 유도하였음을 보여준다. GCB-DLBCL 세포주(WSU-DLCL2 및 Farage)에서, 화합물 I에 의해 나타난 활성은 포말리도미드에 의해 나타난 활성에 필적한다. 화합물 I의 피크 활성은 WSU-DLCL2에서 0.1 μM 이였으나, Farage 세포에서는 1 μM였다. 화합물 I-R은 WSU-DLCL2 세포에서 화합물 I-S 보다 덜 활성이었다. 여포성 림프종 세포주(DoHH2)에서, 화합물 I은 화합물 I-S 및 I-R 보다 덜 활성이었다. ABC-DLBCL 세포주(Riva)에서, 화합물 I은 화합물 I-S 및 I-R 보다 덜 활성이었다. 화합물 I-R은 화합물 I-S 보다 덜 활성이었다. BL 세포주(Raji)에서, 화합물 I은 화합물 I-S 및 I-R 보다 더 활성이었다. 화합물 I의 피크 활성은 0.1 μM 이었다. 화합물 I-R은 Raji 세포에서 화합물 I-S 보다 더 활성이었다. 화합물 I의 피크 활성은 WSU-DLCL2 및 Raji 세포주에서 0.1 μM 이었으나, 다른 세포주에서는 1 μM 이었다. 일반적으로, 화합물 I이 Riva 세포를 제외한 테스트된 모든 세포주에서 화합물 I-S 및 I-R 보다 더 활성이었다. 화합물 I-R은 WSU-DLCL2 및 Riva 세포에서 화합물 I-S 보다 덜 활성이었으나 다른 세포주에서는 그러하지 않았다.

[0487] **6.2.4 인간 혈관 내피 세포 증식, 관 형성, 이동, 및 침입 아세이**

[0488] **인간 제대 혈관 내피 세포 증식 아세이:** 인간 제대 혈관 내피 세포를 해동하여 EGM2 배지에서 모든 증식 검정에 대해 3 내지 6 계대까지로 증식시켰다. 인간 제대 혈관 내피 세포를 트립신화하고, 20% FBS/M199 배지로 세척한 후, 동일한 배지로 96-웰 세포 배양 플레이트에 웰마다 10^4 세포/100 μL로 플레이팅하였다. 플레이트를 37℃에서 밤새 인큐베이션하여 세포가 부착되도록 하였다. 이어, 세포를 동일한 배지로 3회 세척한 후, 1% FBS/M199 배지에서 18시간 동안 굶겼다. HUVEC 증식 검정에서 성장 인자 농도의 최적화를 위해, 100 ng/mL에서 시작하여 2X 연속 희석된 성장 인자를 37℃ 및 5% CO_2의 습윤화 세포 배양 인큐베이터내에 HUVEC에 100 μL/웰로 72시간 동안 이중으로 첨가하였다. 시험 화합물을 분석하기 위해 0.4% DMSO/1% FBS/M199 배지내 시험 화합물의 연속 희석물을 10 mM 스톡으로부터 중복으로 만들었다. 세포에 연속 희석한 시험 화합물 (10, 1.0, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001, 0.00001 μM)을 웰마다 50 μL씩 37℃에서 1 내지 2시간 동안 첨가하였다. 세포내 최종 DMSO 농도는 0.1%이다. 이어서, 4X 최종 농도의 상대 성장 인자 50 μL를 37℃ 및 5% CO_2의 습윤화 세포 배양 인큐베이터내

각 웰에 72시간 동안 이중으로 첨가하였다. 20 μL 배지중 1 마이크로퀴리의 3H-티미딘 (아머샴(Amersham))을 각 웰에 첨가하고, 5% CO_2의 습윤화 세포 배양 인큐베이터에서 37℃로 5 내지 6시간 동안 인큐베이션하여 티미딘 편입을 측정하였다. 이어서 세포를 트립신화하고, 세포 하베스터 (톰텍(Tomtec))를 사용하여 유니필터 (UniFilter) GF/C 필터 플레이트 (퍼킨 엘머)에서 수거하였다. 플레이트를 공기 건조시킨 후, Microscint 20 (팩커드)을 웰마다 20 μL 첨가하고, 플레이트를 TopCount NXT (팩커드)에서 분석하였다. 각 웰을 1분 동안 계수하였다. 실험을 3개의 각 공여자에 대해 두 번씩 수행하였다.

[0489] **인간 제대 혈관 내피 세포 관 형성 아세이:** 화합물을 성장 인자-유발성 HUVEC 관 형성 검정으로 시험하였다. 관 형성 플레이트를 마트리젤이 중합되도록 37℃에서 30분간 인큐베이션하였다. HUVEC를 동일한 배지로 3회 세척한 후, 0.1% BSA 기초 EBM2 배지에서 5시간 동안 굶겼다. 세포를 트립신화하고, 원심분리하였다. 이어서, 4X 연속 희석한 화합물 (10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001, 0.00001 μM) 25 μL를 마트리젤로 코팅된 관 형성 플레이트에 웰마다 2 x 10^4 세포 50 μL과 함께 이중으로 첨가하였다. 50 μL의 4X VEGF (최종 농도 = 25 ng/mL) 또는 bFGF (최종 농도 = 10 ng/mL)를 플레이트에 첨가하였다. 이어 세포를 습윤화 인큐베이터에서 37℃에서 밤새 (~18시간 동안) 인큐베이션하였다. 세관망을 칼세인 AM에 의해 2% FBS/HBSS 중에 4 μg/μL로 30분 동안 염색하고, 형광 현미경으로 사진을 찍었다. 세관을 메타모프(MetaMorph) 관 형성 소프트웨어 프로그램으로 관 면적 및 관 길이에 대해 정량화하였다.

[0490] **인간 제대 혈관 내피 세포 침입 아세이:** HUVEC 침입 검정에서는, 부착 세포가 삽입 플레이트의 하부 챔버에서 혈관형성 자극 (예를 들어 VEGF, bFGF, 또는 HGF)에 반응하여 자유로이 이동하고 막에 부착하기에 적합한 단백질 구조를 제공하도록 인간 피브로넥틴의 농도를 최적화시켰다. HUVEC를 동일한 배지로 3회 세척한 후, 0.1% BSA EBM2 배지에서 6시간 동안 굶겼다. 이어 세포를 트립신화하고, 원심분리하여 잔류 트립신을 제거하였다. 이어서, 웰마다 125 μL중 ~0.5 내지 1 x 10^6 세포 및 8X 연속 희석 화합물 125 μL (10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 μM)을 BD 팔콘 24-웰 및 96-웰 삽입 플레이트의 상부 챔버에 이중으로 첨가하고, ~1 내지 2시간 동안 인큐베이션하였다. (플레이트는 인간 피브로넥틴으로 균일하게 코팅된, 형광 차단, 미소다공성 [기공 크기 3.0 ㎛] PET 막을 가진다). VEGF (최종 농도 25 ng/mL), bFGF (최종 농도 10 ng/mL), 또는 HGF (최종 농도 25 ng/mL)의 1.33 X 스톡 용액 750 μL를 하부 챔버에 첨가하였다. 세포를 37℃에서 22±1시간 동안 인큐베이션하였다. 24-웰 플레이트에서 500 μL/웰 및 96-웰 플레이트에서 200 μL/웰을 채용하여, 이동 세포를 칼세인 AM에 의해 2% FBS를 함유하는 HBSS 중에 4 ㎍/mL로 염색하였다. 플레이트를 37℃에서 90분 동안 인큐베이션하고, 형광 플레이트 판독기에서 판독하였다.

[0491] 시험 샘플 결과로부터 비자극 DMSO 대조군에 대한 결과를 제하고 모든 중복물의 평균을 내고 성장 인자-자극 DMSO 대조군 (0% 억제)에 정규화하여 세포 증식, 관 형성, 이동, 및 침입 억제의 백분율을 계산하였다. 그래프패드 프리즘 5.0를 사용하여 IC_{50} 값을 계산하였다.

[0492] **인간 제대 혈관 내피 세포 증식 아세이 결과:** 성장 인자 최적화 연구로부터의 결과는 증식 유발을 위한 VEGF, bFGF, 및 HGF의 최적의 농도가 각각 25, 10, 및 25 ng/mL임을 제시한다. 시험 화합물을 최적화 성장 인자 농도로 조사하였고, 그 결과는 화합물 I, I-R 및 I-S가 VEGF-, bFGF-, 또는 HGF-유발성 HUVEC 증식을 억제하지 못하였음을 나타내었다(도 13). 그러나, 화합물 I-S에 의해 VEGF- 및 HGF-처리된 HUVEC에서 증식의 유의적인 증강이 관찰되었다 (VEGF-처리: 1 - 10 μM; HGF-처리: 0.1 - 1 μM). 또한, 화합물 I (0.01 - 1 μM), 및 화합물 I-R (0.1 - 1 μM)에 의해서도 bFGF-처리된 HUVEC에서 유의적인 증강이 관찰되었다. IC_{50} 값을 표 3에 요약하였다.

표 3

표 3. 성장 인자-유도된 인간 제대 혈관 내피 세포 증식 연구로부터의 IC_{50} 값의 개요

테스트 화합물	VEGF (25 ng/mL) IC_{50} 값 (μM)	bFGF (10 ng/mL) IC_{50} 값 (μM)	HGF (25 ng/mL) IC_{50} 값 (μM)
화합물 I	>100	99	24
화합물 I-R	>100	76	38
화합물 I-S	>100	52	51

[0493]

[0494] **인간 제대 혈관 내피 세포 관 형성 아세이 결과:** 화합물 I, I-R 및 I-S는 관 길이 및 관 면적 양자 모두의 면에서 VEGF-유도된 HUVEC 관 형성을 억제하는 경향을 나타내었다(도 14). 모든 화합물이 VEGF-유도된 HUVEC 관 형성에 대해 용량-의존적 효과를 나타내었다. 화합물 I-R은 10 μM에서 관 면적 및 길이에서 유의적인 저해를 나타내었다($p < 0.05$ vs 자극된 DMSO 대조). 화합물은 관 길이 및 관 면적 양자 모두의 면에서 bFGF-유도된 HUVEC 관 형성을 억제하는 경향을 또한 나타내었으나(도 14), 다만 그 효과는 VEGF-유도된 HUVEC 관 형성에서의 효과보다는 덜 현저하였다.

[0495] **인간 제대 혈관 내피 세포 침입 아세이 결과:** 화합물 I, I-R 및 I-S는 VEGF-, bFGF-, 및 HGF-유도된 HUVEC 침입을 용량-의존적 방식으로 유의적으로 억제하였다(도 15). 화합물은 HGF-유도된 HUVEC 침입에 대해서 보다 VEGF- 및 bFGF-유도된 HUVEC 침입에 대해 훨씬 강력하였다(표 4). 화합물 I, I-R 및 I-S에 의한 VEGF-유도된 HUVEC 침입 억제에 대한 IC_{50} 값은 < 0.3 nM이었다. 화합물 I의 IC_{50}(0.4 nM) 및 화합물 I-S의 IC_{50}(< 0.1 nM)은 화합물 I-R(13 nM) 보다 10배 이상 강력하였다(표 4).

표 4

표 4. 성장 인자-유도된 인간 제대 혈관 내피 세포 침입에 대한 테스트 화합물의 효과의 개요

테스트 화합물	VEGF-유도된 침입 IC_{50} 값 (μM)	bFGF-유도된 침입 IC_{50} 값 (μM)	HGF-유도된 침입 IC_{50} 값 (μM)
화합물 I	0.00014	0.00042	0.59
화합물 I-R	< 0.0001	0.013	0.45
화합물 I-S	< 0.0001	< 0.0001	0.019

[0496]

[0497] **6.2.5 세포 주기, 세포사멸, 및 항-증식 아세이**

[0498] **세포 주기 분석:** 세포를 DMSO 또는 본원에서 제공되는 화합물의 일정 양으로 48 시간 동안 처리하였다. 세포 주기용 프로피듐 요오드화물 염색을 제조사의 프로토콜에 따라 CycleTEST PLUS (Becton Dickinson)를 사용하여 수행하였다. 염색에 이어서, ModFit LT 소프트웨어(Becton Dickinson)를 사용하여 FACSCalibur 유세포분석기에 의해 세포를 분석하였다.

[0499] **세포사멸 분석:** 세포를 DMSO 또는 본원에서 제공되는 화합물의 일정 양으로 다양한 시점에서 처리한 후, 아넥신-V 세척 버퍼(BD Biosciences)로 세척하였다. 세포를 아넥신-V 결합 단백질 및 프로피듐 요오드화물(BD Biosciences)과 함께 10분 동안 인큐베이트하였다. 샘플을 유세포분석기를 사용하여 분석하였다.

[0500] 화합물 I은 DoHH2 세포주에서 세포사멸 및 수반하는 세포 수의 감소를 유도하였다. 화합물 I은 리툭산과 상가적 방식으로 조합되어 DoHH2 세포주에서 세포사멸을 유도하고 생 세포 수를 감소시켰다.

[0501] 화합물 I-S는 DoHH2 및 WSU-DLCL2 세포주에서 G1 정지를 유도하였다. 화합물 I-S 및 리툭산을 3일째 ^{3}H-티미딘 편입 아세이로 측정하였다. 화합물 I-S는 강력한 항-증식 활성을 나타내어, Rec-1 MCL 세포에서 IC_{50}이 0.027 μM, DoHH2 FL 세포에서 IC_{50}이 0.04 μM, 및 Farage DLBCL 세포에서 IC_{50}이 0.28 μM이었다. 데이터는 다음을 나타내었다; 분수적 생성물 방법(fractional product method)에 의해 산출되는 바와 같이, 화합물 I-S는 DoHH2 FL 세포에서 리툭산과 상승적 방식으로 조합되고; 분수적 생성물 방법에 의해 산출되는 바와 같이, 화합물 I-S는 Farage DLBCL 세포에서 리툭산과 상가적 내지 상승적 방식으로 조합되고; 분수적 생성물 방법에 의해 산출되는 바와 같이, 화합물 I-S는 Rec-1 MCL 세포에서 리툭산과 상가적 방식으로 조합된다(도 16).

[0503] **6.2.6 시험관내 DLBCL 세포 티미딘 편입 아세이**

[0504] 다양한 세포유전학적 특징의 DLBCL 세포주의 패널을 화합물 I 및 I-S의 항증식 활성에 대한 감수성에 대하여 테스트하였다(도 17). 세포를 37℃에서 5일 동안 테스트 화합물과 함께 처리하였다; 세포의 증식을 ^{3}H-티미딘 편입 방법을 사용하여 결정하였다. 0.1-1 μM에서 시작하는 화합물 양자 모두 DLBCL 세포, 특히 ABC-서브타입 세포, 예컨대 Riva, U2932, TMD8, OCI-Ly3 및 OCI-Ly10 세포의 몇몇 세포주의 증식을 유의적으로 저해하였다. ABC-서브타입 세포는 GCB-DLBCL 및 PMBL 세포를 포함한 다른 서브타입 세포에 비해 항증식 효과에 대해 더 민감한 것으로 나타난다. 화합물 I-S의 IC_{50} 값을 표 5에 나타내었다.

표 5

표 5. 2 차 아세이에서 화합물 I-S 의 항-증식 활성

5 일째 ^{3}H 티미딘 편입 2 차 스크린 아세이 IC_{50} (μM)			
		레블리미드	화합물 I-S
ABC 서브타입	OCI-Ly10	0.15	0.0009
	U2932	1.6	0.005
	TMD8	75	0.059
	RIVA	>100	2.3
	OCI-Ly3	>100	>10
PMBL	Karpas-1106P	>100	0.28
GCB 서브타입	WSU-DLCL2	>100	0.24
	SUDHL4	>100	1.6
	OCI-Ly19	>100	>10

[0505]

[0506] **6.2.7 레블리미드(Revlimid)에 내성인 세포주**

[0507] 레블리미드에 내성인 세포주를 다음과 같이 제조하였다: NCI-H929 세포를 1 μM 레블리미드와 함께 2 개월 동안 배양물 내에 유지시킨 후, 10 μM 레블리미드로 추가의 3.5 개월 동안 증가시켰다(엔트리 R1-10, R2-10, R3-10, 및 R4-10).

[0508] 레블리미드-내성 또는 -감수성 세포주를 테스트 화합물로 5일 동안 처리하고, 세포 증식 및 생존능을 7-아미노 액티노마이신 D (7-AAD) 염색에 의해 평가하였다. 레블리미드-내성 세포주에 대한 화합물 I-S의 활성을 표 6에 정리하였다. 데이터는 화합물 I-S가 레블리미드-내성 세포주에 대하여 활성이었음을 나타내었다. 일 실시태양에서, H929 세포를 화합물 I-S로 처리하고 24 시간 후에 세포 주기(S-phase)의 50% 감소가 관찰되었다. 다른 실시태양에서, 48 시간째에, 화합물 I-S가 서바이빈 및 망막모세포종(retinoblastoma) 단백질(pRB)의 발현을 감소시켰고, 사이클린-의존성 키나제 저해제 p27의 발현을 증가시켰다.

표 6

표 6. 레블리미드 내성 세포주에 대한 화합물 I-S 의 활성

IC_{50} (μM)	대조	R1-10	R2-10	R3-10	R4-10
레블리미드	1	>30	>30	>30	>30
포말리도미드	0.09	>30	>30	6.3	14
화합물 I-S	0.01	1.32	1.20	0.51	1.58

[0509]

[0510] **6.2.8 거대핵세포 콜로니 형성 아세이**

[0511] 화합물/IL-3/IL-6/Tpo를 포함하는 반-고형 콜라겐 매트릭스 중에서 14-16일 동안 처리된 정상 인간 골수를 이용하여 콜로니 형성 아세이를 수행하였고, 그 결과를 표 7에 정리하였다. 데이터는 화합물 I-S가 거대핵세포 전구 세포를 저해하였음을 나타내었다.

표 7

표 7. 거대핵세포 콜로니 형성 아세이에서 관찰된 저해

골수 ID	화합물	중간 콜로니 IC_{50} (μM)	미성숙 콜로니 IC_{50} (μM)
0090128	레블리미드	>10	1.3 +/- 0.9
	포말리도미드	>10	>10
	화합물 I-S	9.2 +/- 0.3	0.08 +/- 0.03
	화합물 I	>10	0.1-1.0
	화합물 I-R	>10	10
0090714	레블리미드	>10	0.41 +/- 0.23
	포말리도미드	>10	1 +/- 0.5
	화합물 I-S	0.86 +/- 0.09	0.05 +/- 0.03
	화합물 I	>10	0.05 +/- 0.02
	화합물 I-R	>10	0.4 +/- 0.4
0090616	레블리미드	1.3 +/- 0.09	0.56 +/- 0.13
	포말리도미드	1.4 +/- 1.3	0.35 +/- 0.38
	화합물 I-S	0.65 +/- 0.23	0.04 +/- 0.03
	화합물 I	>10	0.06 +/- 0.03
	화합물 I-R	>10	0.4 +/- 0.2

[0512]

[0513] **6.2.9 DLBCL 세포에서 NFκB 활성에 대한 저해 효과**

[0514] DLBCL 세포를 테스트 화합물 또는 IKK1/2 이중 저해제(양성 저해제 대조로 사용됨)로 2일 동안 처리하였다. 처리 후 세포로부터의 핵 추출물을 이용하여 활성 모티브 전사 인자 아세이를 사용하여 NFκB 활성을 검사하였다. 화학식 I의 라세미 화합물이 1 μM 및 10 μM 농도에서 NFκB p65 및 p50 활성을 유의적으로 저해한다. 화학식 I의 라세미 화합물은 ABC 서브타입, 예컨대 TMD8 및 OCI-Ly10 세포의 일부 DLBCL 주에서 NFκB 활성을 저해하는 것으로 밝혀졌다. 이러한 결과는 NFκB 신호 전달에의 영향이 ABC-DLBCL 세포에 대한 화학식 I의 화합물의 항증식 활성에 관여할 수도 있다는 점, 그리고 기저 NFκB 활성이 화합물을 이용한 치료에 대한 림프종 종양 반응의 예측성 바이오마커일 수 있다는 점을 제시한다.

[0516] **6.2.10 추가의 혈관생성 저해 아세이**

[0517] 화합물 I, I-R, 및 I-S를 다양한 혈관생성 저해 아세이로 테스트하였다. 화합물 I-S는 인간 제대 동맥 아세이

에서 52 nM의 IC_{50}을 나타내었고, 레블리미드에 비해 약 25-배 더 강력하고 포말리도미드에 비해 약 6-배 더 강력하였다. 화합물 I, I-R, 및 I-S는 랫트 대동맥 아세이에서 보통의 항-혈관생성 활성을 나타내었다.

[0519] **6.3 마우스 마트리젤 혈관형성 모델**

[0520] 마우스 마트리젤 혈관형성 모델을 다음과 같이 수행하였다: rhVegf, rhbFGF 및 헤파린과 함께 마트리젤 플러그(plugs)를 약물 처리와 함께 10일 동안 C57B/6 마우스 내에 삽입하였다. 플러그를 IHC에 의해 ms CD31에 대하여 분석하였다. 화합물 I은 3 및 30 mpk에서 혈관 성장을 유의적으로 저해한다(도 18).

[0522] **6.4 생체내 마우스 이종이식 모델**

[0523] **6.4.1 림프종 모델**

[0524] 화합물 I을 WSU-DLCL2 DLBCL 이종이식 모델에서 단일제로서 및 리툭산과 병용하여 테스트하였다(도 19). 화합물 I은 3 및 30 mg/kg에서 단일제로서 30 mg/kg의 레블리미드의 그것과 유사한 종양 성장 저해를 나타내었다. 화합물 I을 리툭산과 병용하여 투여한 경우, 테스트된 모든 병용 처리 그룹에서 완전한 차도(종양 용적 <25 mm^3)가 관찰되었다(도 19 및 표 8).

표 8

표 8. WSU-DLCL2 DLBCL 이종이식 모델에서 리툭산과 병용한 화합물 I의 효능

약물 1 (2 mg/kg iv qw)	약물 2	44 일째에 종양 없는 생존
리툭산		2/10
리툭산	레블리미드 (30 mg/kg)	6/9
리툭산	화합물 I (3 mg/kg)	6/10
리툭산	화합물 I (30 mg/kg)	6/10

[0525]

[0526] 화합물 I-S를 DoHH2 여포성 림프종 이종이식 모델에서 테스트하였고, 그 결과를 표 9에 정리하였다. 데이터는 화합물 I-S가 2 및 40 mg/kg에서 단일치료 연구에서 종양 성장을 유의적으로 저해하였음을 나타내었다(도 20). 또한 데이터는 화합물 I-S가 3 mg/kg에서 리툭산과 병용시 종양 성장 대 단일치료를 유의적으로 저해하였고, 종양 성장을 저해함에 있어서 레블리미드 30 mg/kg을 리툭산과 병용한 경우에 비해 보다 효과적이었음을 나타내었다(도 21). CD31 IHC 데이터를 도 22에 도시하였다.

표 9

표 9. DoHH2 여포성 림프종 이식이종 모델에서 화합물 I-S 의 활성

약물 1 (mg/kg)	약물 2 (mg/kg)	12 일째 %TGI (T/C)	%TGD ((T-C)/C)
레블리미드 (40)		49	17
화합물 I-S (2) [a]		49	33
화합물 I-S (40) [a]		67	52
리툭산 (1)		19	34
레블리미드 (30)		19	12
화합물 I-S (3) [b]		27	13
화합물 I-S (30) [b]		35	21
레블리미드 (30)	리툭산 (1)	54	52
화합물 I-S (3) [b]	리툭산 (1)	71	57
화합물 I-S (30) [b]	리툭산 (1)	50	56

[a] 91% S-에난티오머, 9% R-에난티오머

[b] 84% S-에난티오머, 16% R-에난티오머

[0527]

[0528] 화합물 I을 Rec-1 맨틀 세포 림프종 이종이식 모델에서 테스트하였고, 그 결과를 도 23에 도시하였다.

[0529] **6.4.2 다발성 골수종 모델**

[0530] 화합물 I, I-R, 및 I-S를 NCI-H929 다발성 골수종 이종이식 모델에서 테스트하였고, 그 결과를 도 24에 도시하였다. 데이터는 화합물 I 및 I-S가 H929 종양 성장을 용량-의존적 방식으로 유의적으로 저해하였고, 서로 비교할만하였음을 나타내었다. 19일째에, 화합물 I-S는 30 mg/kg에서 87 % 종양 성장 저해를, 3 mg/kg에서 67 % 종양 성장 저해를, 0.3 mg/kg에서 34 % 종양 성장 저해를 나타내었다.

[0531] **6.4.3 교모세포종(Glioblastoma) 모델**

[0532] 화합물0 I, I-R, 및 I-S를 U87 교모세포종 이종세포 모델에서 테스트하였고, 그 결과를 도 25에 도시하였다. 데이터는 화합물 I 및 I-S가 30 mg/kg qd에서 U87 종양 성장을 유의적으로 저해하였음을 나타내었다. 한 연구에서, 화합물 I는 30 mg/kg에서 48일째에 >80 % 종양 성장 저해를 나타내었고, 화합물 I-S는 30 mg/kg에서 48일째에 약 60 % 종양 성장 저해를 나타내었다. 다른 연구에서, 화합물 I-S는 15 mg/kg에서 43일째에 약 47 % 종양 성장 저해를 나타내었다. 체중의 유의적인 변화는 테스트된 화합물 중 어느 것에서도 관찰되지 않았다.

[0533] **6.4.4 대장 모델**

[0534] 화합물 I, I-R, 및 I-S를 HCT116 대장 이종이식 모델에서 테스트하였고, 그 결과를 도 26에 도시하였다.

[0535] **6.4.5 간세포 모델**

[0536] 화합물 I, I-R, 및 I-S를 Hep3b 간세포 이종이식 모델에서 테스트하였고, 그결과를 도 27에 도시하였다.

[0537] **6.5 약동력학**

[0538] 랫트 및 원숭이에서의 화합물 I-S의 약동력학을 표 10에 정리하였다.

표 10

표 10. 랫트 및 원숭이에서 화합물 I-S 의 약동력학

	SD 랫트*		원숭이**	
용량	2 mpk iv	10 mpk po	0.5 mpk iv	1 mpk po
Cmax		1,500 ng/mL (3.3 μM)		140 ng/mL (0.31 μM)
AUC	890 ng*h/mL (2 μM-h)	2,400 ng*h/mL (5.2 μM-h)	490 ng*h/mL (1.1 μM-h)	390 ng*h/mL (0.87 μM-h)
F		52%		20%
Vss	2.9 L/Kg		1.2 L/Kg	
CLp	37 mL/min/Kg		8.4 mL/min/Kg	

* 67% S-에난티오머, 33% R-에난티오머

** >99.5% S-에난티오머, <0.5% R-에난티오머

[0539]

[0540] **6.6 세레블론 모델**

[0541] **6.6.1 CRBN 유비퀴틴화 아세이**

[0542] 아미노-말단 His-비오틴-태그된 CRBN 작제물로 트랜스펙션 후, 테스트 화합물과 1 시간 동안 예비인큐베이션하고, (유비퀴틴화된 단백질 분해를 정지시키기 위해) 프로테아좀 저해제로 처리한 HEK293T 세포에서 CRBN 유비퀴틴화를 측정하였다. 세포를 용해시키고 처리하여 항-유비퀴틴 항체를 사용한 면역블롯 분석 및 SDS-PAGE에 의해 CRBN 유비퀴틴화를 측정하였다.

[0543] 일 실시태양에서, 화합물 I-S를 상기 기재된 과정을 사용하여 세레블론(CRBN) 유비퀴틴화 아세이에서 테스트하였고, 그 결과 IC_{50} 값이 레날리도미드에서는 12.9 μM이고 포말리도미드에서는 21.6 μM인데 반해, 0.19 μM의 IC_{50} 값을 나타내었다. 다른 실시태양에서, 화합물 I-S는 CRBN 단백질의 자가-유비퀴틴화를 저해하였으나(IC_{50} = 0.5 μM), CRBN-YW/AA 돌연변이 단백질에서는 그러하지 않았다.

[0544] **6.6.2 탈리도미드 친환성 비드 경쟁 아세이**

[0545] 인간 골수종 U266 세포를 0.5 x 10^6 세포/mL로 씨드하여 벤트 캡 쉐이킹 플라스크가 있는 2 L 에를렌마이어 플라스크 중에서 1.5 x 10^6 세포/ mL에서 로그(log) 단계로 배양하여, 원심분리기에 의해 세포를 수집하고, 계수하고, PBS 중에서 세척하고 액체 질소 중 펠렛 동결하였다. U266 세포 펠렛을 약 1-2 x 10^8 세포/ml (10-20mg 단백질/ml)로 NP-40 용해 버퍼(0.5% NP40, 50 mM Tris HCl (pH 8.0), 150 mM NaCl, 0.5 mM DTT, 0.25 mM PMSF, 1 x 프로테아제 저해제 혼합물(Roche, Indianapolis, IN) 중에서 실온에서 해동시켰다. 세포 잔해물 및 핵산을 원심분리기로 제거하였다(14,000 rpm 30 분 4℃). 수득한 상청액을 얼음상에 저장한 후, CRBN-함유 U266 추출물로서 탈리도미드-유사체 친화성 비드 결합 아세이에서 사용하였다.

[0546] Ito *et al.*, "Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity," Science 327:1345-1350, 2010에 기재된 방법에 따라 Tamagawa Seiko Co Japan으로부터 FG 친화성 비드를 사용하여 탈리도미드 유사체 커플된 비드를 제조한 후, 아세이에서 사용하기에 앞서 4℃에서 4주까지 동안 저장하였다.

[0547] 경쟁 실험에서 U266 용해물 추출물의 0.5 ml (3-5 mg 단백질) 분취물을 5 μl DMSO (대조) 또는 DMSO 중 다양한 농도의 5 μl 화합물과 함께 예비인큐베이션하였다(실온에서 15분). 탈리도미드 유사체-커플된 비드(0.3-0.5mg)를 단백질 추출물에 첨가하고 샘플을 회전시켰다(2 시간, 4℃). 비드를 0.5 ml NP40 버퍼로 3회 세척하고, 결합된 단백질을 SDS-PAGE 샘플 버퍼로 용출시켰다. 샘플을 SDS-PAGE에 적용시키고 항-CRBN 65-76 (1:10,000 희석) 및 항-DDB1 (1:2,000 희석)을 사용하여 면역블롯 분석을 수행하였다. 탈리도미드 친화성 비드 경쟁 아세이에서, LI-COR Odessey 시스템을 사용하여 CRBN 밴드 밀도를 정량하고, 적어도 3개의 DMSO 대조를 평균하고, 100% 결합으로서 평균 대조에 대한 상태적인 CRBN 단백질의 퍼센트 저해로 각 경쟁 샘플 내 CRBN을 나타냄으로써 CRBN의 상대적 양을 결정하였다.

[0548] 고형 화합물 스톡(30 mM)을 사용하기 1시간 전에 DMSO 중에서 제조하고, 추출물에 첨가하기 바로 전에 준비된 DMSO 중에서 연속 희석하였다. 최초 30 mM 스톡 희석액을 10 mM 용액 (또는 최종 아세이에서 10 uM 용액)에 대해 1:3으로 하였고, 이어서 연속 1:10 희석하였다.

[0549] U266 세포를 쉐이킹 플라스크 내에서 로그 상으로 배양한 후, 세포를 원심분리기로 회수하고, 계수하고, PBS 중에서 세척하고 액체 질소 중 펠렛 동결하였다.

[0550] 2개의 독립적인 면역블롯 및 대조 밀도에 상대적인 CRBN 신호 밀도의 계산의 적용을 받는 각 실험으로부터의 샘플을 사용한 2개의 독립적인 실험으로부터의 데이터를 로그 저해제 대 다양한 슬로프를 갖는 반응에 세팅된 프리즘그래프 비선형 회귀 분석을 사용하여 그래프화하였다. 프리즘그래프 프로그램으로 각 화합물 농도 포인트에서 SEM을 계산하였다.

[0551] 상기 기재된 과정을 사용하여 탈리도미드 친화성 비드 경쟁 아세이에서 화합물 I-S를 테스트하였고, 그 결과를 도 28에 도시하였다. 데이터는 화합물 I-S가 내인성 인간 CRBN에 결합한다는 것을 나타내었다. 일 실시태양에서, 0.1 μM 농도의 화합물 I-S는 친화성 비드에 결합된 CRBN가 약 50% 감소하는 결과를 나타낸 반면, 포말리도미드는 3 μM 농도에서 친화성 비드에 결합된 CRBN을 약 50% 감소시켰다.

[0552] **6.6.3 B 세포 질환에 대한 세레블론의 표적화**

[0553] (*S*)-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 ("화합물 I-S")이 CRBN 결합, 유비퀴틴화, 및 세포 증식에 미치는 효과를 프로파일링하였다. CRBN는 CUL4A, DDB1, 및 ROC-1을 포함하는 E3 유비퀴틴 리가제 복합체의 한 성분으로서, 탈리도미드, 레날리도미드, 및 포말리도미드의 분자 결합 표적인 것으로 밝혀졌다.

[0554] 경쟁 아세이에서 테스트 화합물-접한된 비드를 사용하여 CRBN에 대한 결합 연구를 수행하였다. 세포 추출물을 다양한 농도의 화합물 I-S 또는 양성 대조군으로서 포말리도미드와 인큐베이션하여 인간 U266 다발성 골수종 (MM) 세포로부터의 내인성 CRBN을 측정하였다. 탈리도미드산 유사체에 커플링된 친화성 비드를 U266 추출물과 인큐베이션하고, 비드를 철저히 세척한 후, 결합된 단백질를 용출시켰다. 탈리도미드-커플링 친화성 비드에 대한 CRBN 결합을 정량적 CRBN 면역블롯 측정으로 결정하였다.

[0555] 아미노-말단 His-비오틴-태그된 CRBN 작제물로의 트랜스펙션 후, 화합물과 1 시간 동안 예비인큐베이션하고, (유비퀴틴화 단백질 분해를 정지시키기 위해) MG132 프로테아좀 제해제로 처리한 HEK293T 세포에서 CRBN 유비퀴틴화를 측정하였다. 세포를 용해시키고 처리하여 항-유비퀴틴 항체를 채용한 면역블롯 분석 및 SDS-PAGE에 의해 CRBN 유비퀴틴화를 측정하였다. 세포 증식 연구를 레날리도미드-감수성 및 난치성 다발성 골수종 세포에서 수행하였다. 레날리도미드-내성 또는 감수성 H929 MM 세포주를 화합물 I-S로 5일간 처리한 후, 세포 증식 및 생존능을 7-아미노액티노마이신 D ("7-ADD") 염색으로 평가하였다. 세포 배양에서 2일간 고정화 항-CD3 항체를 사용하여 자극된 정제한 일차 인간 T 세포에서 T-세포 공동 자극을 측정하고, ELISA에 의해 사이토카인 분비를 측정하였다.

[0556] B 세포 분화 인자 재조합 인간 IL-2 (20 U/mL), IL-10 (50 ng/mL), IL-15 (10 ng/mL), His-표지 CD40 리간드 (50 ng/mL), 폴리히스티딘 마우스 IgG1 항체 (5 μg/mL), 및 ODN 2006-인간 TLR9 리간드 (10 μg/mL)의 존재하에 4일 동안 배양하고, 이어서 IL-2, IL-10, IL-15, 및 IL-6 (50 ng/mL)의 존재하에 추가로 3일 동안 배양하여 정상 공여자 말초 혈액 단핵 세포로부터 면역글로불린 M 및 G ("IgG 및 IgM") 생성을 측정하였다. ELISA에 의해

IgM 및 IgG를 측정하였다.

[0557] 경쟁 CRBN 결합 연구에서, 포말리도미드와 3 uM의 농도에서 예비인큐베이션하면 CRBN이 친화성 비드에 약 50% 미만 결합한 것에 반해, 화합물 I-S는 0.1μM의 농도에서 유사한 CRBN 결합을 나타내었다. 트랜스펙션된 HEK293T 세포에서 CRBN 유비퀴틴화 연구로 다음의 효능이 얻어졌다: 화합물 I-S IC_{50} = 0.19 μM; 레날리도미드 IC_{50} = 12.9 μM; 및 포말리도미드 IC_{50} = 21.6 μM. 화합물 I-S에 의한 증식 억제에 대한 IC_{50} 값은 모(parental) H929 세포주에서의 0.01 μM 및 DMSO-처리 서브클론에서의 0.04 μM에서 레날리도미드 내성 서브클론에서의 0.51-1.58 μM로 변경되었다.

[0558] H929 세포를 화합물 I-S로 처리하고 24 시간후에 세포 주기 (S-기)의 50%가 명백히 감소하였다. 48 시간째에, 화합물 I-S는 서바이빈 및 망막모세포종(retinoblastoma) 단백질 ("pRB")의 발현을 감소시켰고, 사이클린-의존성 키나제 억제제 p27의 발현을 증가시켰다. 화합물 I-S는 T 세포에 의한 IL-2 생성을 약 0.29 nM의 EC_{50}로 공동-자극한 것에 비해, 포말리도미드는 10 nM로 공동-자극하였다. 화합물 I-S는 IgM 및 IgG 생성을 각각 0.35 및 2.1 nM의 IC_{50}으로 억제한 것에 비해, 포말리도미드는 17 nM 및 63 nM로 억제하였다.

[0559] 결과는 화합물 I-S가 이 시스템에서 포말리도미드보다 약 30-배 더 높은 친화성으로 CRBN에 결합하고 포말리도미드보다 약 110-배 더 큰 효능으로 CRBN 유비퀴틴화를 억제함을 보여준다. 화합물 I-S는 T 세포에 의한 IL-2 생성을 공동-자극하는데 포말리도미드보다 약 34-배 더 효능적이고, 면역글로불린 생성을 억제하는데 포말리도미드보다 30 내지 48-배 더 효능적이다.

[0561] **6.7 임상 프로토콜**

[0562] 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 진행된 고형 종양, 비-호지킨 림프종, 또는 다발성 골수종을 가진 대상체에게 경구 투여시의 안전성, 용인성(tolerability), 약동력학 및 효능을 결정하기 위한 임상 연구가 본원에서 제공된다. 비-용인 용량(NTD), 최대 용인 용량(MTD) 및 권장 2상 용량(RP2D)을 수행한다. 조직생검 처리 전 및 처리 동안의 혈관생성의 바이오마커에 대한 화합물의 효과를 또한 평가한다.

[0563] **연구 디자인**: 연구는 2개의 파트로 구성된다: 용량 증가(파트 A), 및 용량 확장(파트 B). 파트 A에서, 약물동력학(PK)을 측정하고 최대 용인 용량(MTD) 및 권장 2상 용량(PR2D)를 확인하기 위해, 대상체는 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 단일 및 다중 상승적 용량을 받는다. 표준 용량 (3+3) 증가 디자인 (Simon et al., 1997)은 초기 독성을 확인하기 위해 사용된다. 3명의 대상체의 초기 코호트는 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체 (1일 1회 0.5 mg)를 제1 주기에서 약물-관련된 것으로 의심되는 그레이드 3 이상의 독성의 최초 발생시까지 100%의 용량 증분으로 받고, 그 시점에서 특정의 코호트는 총 6명의 대상체로 확대된다. 이러한 표준 증가 스케쥴은 비-용인 용량(NTD) 및 MTD를 확인하기 위해 개시된다. 용량 코호트 내에서 더 적은 증분 및 추가의 대상체는 또한 안전성에 대해서도 평가할 수 있다. 약 20 내지 40 대상체가 파트 A에서 처리되고 평가된다; 그러나 파트 A의 대상체의 총 수는 MTD를 확인하기 위해 필요한 용량 코호트의 수에 의존한다. 코호트 내 6명의 평가가능한 대상체 중 2명 이상이 주기 1 동안 약물-관련된 용량 제한적 독성(DLT)를 경험할 때 용량은 NTD로 간주된다. NTD가 확인되면, 용량 증가는 중단한다. MTD는 6명의 평가가능한 대상체 중 0 또는 1명이 주기 1 동안 DLT를 경험하는 NTD보다 낮은 마지막 용량 레벨로 정의된다. 보다 정확하게 MTD 및 RP2D를 결정하기 위해 용량 코호트 내에서 중간 용량(즉, NTD와 NTD 전 마지막 용량 레벨 사이의 어느 하나) 또는 추가의 대상체가 필요할 수 있다.

[0564] 파트 B에서, 대상체는 파트 A로부터의 안전성, PK 및/또는 PD 데이터에 기초하여 MTD 및/또는 보다 낮은 용량 레벨에서 투여를 시작할 수 있다. 종양 유형에 의해 계층화된 약 100명의 대상체(코호트 당 20명까지)를 처리하고 치료의 매 2회 주기 후 안전성 및 항종양 활성에 대해 평가한다. 용량 및 투여 스케쥴은 적절히 결정한다. 파트 B 동안, 적절하다면, 연구 지속과 관련하여 정기적으로 안전성 데이터를 검토한다.

[0565] **연구 집단**: 진행된 고형 종양(ST), 비-호지킨 림프종(NHL), 다발성 골수종(MM), 또는 진행된 절제불가능한 고형 종양을 갖는 18세 이상의 남성 및 여성으로, 표준 치료에 대해 진전을 나타낸 (또는 용인할 수 없었던) 대상체 또는 표준 항암 치료법이 존재하지 않는 대상체를 포함한다. 선택된 종양 유형은 전이성 유방암(mBC), 다형성 교모세포종(glioblastoma multiforms, GBM), 간세포암종(HCC), 미만성 대형 B-세포 림프종(DLBCL), 및 다발

성 골수종(MM)을 포함한다.

[0566] **투여 및 연구의 기간**: 제1 주기 동안, 파트 A에서만, 각 대상체를 1일째에 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체의 단일 1회 투여량으로 투여하고, 48-시간 관찰 및 PK 샘플 추출 기간이 후속되고, 1일째에 이어서 28일 동안 매일 연속된 투여가 후속된다(주기 1 = 30 일). 다음의 파트 A 주기에서, 대상체를 1일째부터 28일째까지 연속된 투여로 28-일 주기 동안 처리한다. 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 초기 용량에서 0.1, 0.5, 1, 2, 4 ,5 , 7.5, 10, 20, 25, 50, 또는 100 mg의 용량으로 1일 1회 또는 2회 주어진다. 용량은 0.1, 0.5, 1, 2, 4, 5, 7.5, 10 mg으로 1일 1회 주어질 수 있다. 용량은 50, 25, 또는 10 mg으로 1일 2회 주어질 수 있다. 용량은 처리기간 동안 시작 용량에서 높게, 또는 낮게 조절할 수 있다. 상기 기재한 바와 같이, 필요하다면, 약물은 주기적 방식으로 주어질 수 있다.

[0567] 파트 B에서, 대상체는 시작부터 28일 동안 연속된 투여를 받는다. 개시 후, 단일 용량 48-시간 PK 회수 시간은 없다.

[0568] 질병 진전의 증거, 허용할 수 없는 독성 또는 대상체/의사의 중단 결정이 있다면 치료는 중단된다. 조사관이 판단한 바 대상체가 이득을 취하는 기간 동안에는 대상체는 중단 없이 약물을 계속해서 받을 수 있다.

[0569] 등록은 약 24 개월에 걸쳐 발생한다. 활성 처리의 종료 및 대상체 팔로우-업은 추가의 3-6 개월이 소요될 수 있다.

[0571] **연구 처리**: 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체는 0.1 mg, 0.5 mg, 1 mg 및 3 mg 캡슐제로서 경구 투여를 위해 공급된다. 화합물은 28 일 동안 약물을 포함하는 박스 내 병 속에 포장되어 있을 것이다.

[0572] 파트 A(용량 증가 단계)에서, 용량 레벨은 단일 PK 용량 후 1일 1회 0.5 mg으로 시작한다. 첫 번째 용량을 코호트 내 마지막 대상체에게 투여한 후, 대상체를 적어도 30 일 동안 관찰하고, 다음으로 더 높은, 프로토콜-특정된 용량 코호트를 시작한다. 책임 조사관 및 스폰서 의료 모니터로 구성되는 안전성 검토 위원호(Safety Review Committee, SRC)에 의해 승인되지 않는한, 조사관 대상체 내 용량 증가는 허용되지 않는다.

[0573] 파트 B에서, 대상체는 파트 A로부터의 안전성, PK 및 PD 평가에 기초한, MTD 및/또는 더 낮은 용량 레벨로 화학식 I의 화합물, 또는 이의 에난티오머 또는 에난티오머의 혼합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정형, 포접체, 또는 다형체를 받는다. 약 100명의 대상체(20명까지의 그룹 내 사전 선택된 종양 유형)를 안전성 및 항종양 효과에 대해 평가한다.

[0574] **유효성 평가의 개요:** 대상체를 매 2 주기 후에 유효성에 대해 평가한다. 주된 유효성 변수는 반응이다. 종양 반응은 Response Evaluation Criteria in Solid Tumors(RECIST 1.1), NHL에 대한 International Workshop Criteria(IWC), International Uniform Response Criteria for Multiple Myeloma(IURC)(첨부 A, 섹션 18.1), 또는 GBM에 대한 Responses Assessment for Neuro-Oncology (RANO) Working Group에 기초한다.

[0575] 2차적/탐구적 엔드포인트는 혈액 및 종양 내 바이오마커 측정, 병리조직학적 반응 및 약제유전체학적 발견과의 상관관계를 포함한다. 보충적 유효성 변수(예를 들어, ECOG 수행 상태, PET 결과) 또한 검사된다; 또한, DCE-MRIs를 사용하여 부피 전달 상수(Ktrans) 및 초기 AUC(IAUC)에 의해 저혈관형성(hypovascularization) 변화를 측정한다.

[0576] **안전성 평가의 개요**: 이 연구를 위한 안전성 변수는 유해 사례(adverse events), 임상 실험적 변수, 12-lead ECGs (중심적으로 검토됨), LVEF 평가, 신체검사 및 바이탈 사인이다.

[0577] **약동력학 평가의 개요**: 화학식 I의 화합물 및 이의 대사체들의 PK 프로파일을 1차 처리 주기 동안 일련의 혈액 및 소변 수집물로부터 결정한다. 가능한 경우 이들은 약력학(PD) 결과와 연결된다.

[0578] 상기의 실시예들은 청구하는 실시태양들을 어떻게 제조하고 사용하는지에 대한 완전한 개시 및 설명을 통상의 기술자에게 주기 위해 제공된 것으로, 본원에서 개시된 발명의 범위를 제한하려는 의도는 아니다. 통상의 기술자에게 자명한 변형은 후술하는 청구항의 범위 내인 것으로 의도된다. 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허, 및 특허출원은, 상기 각 간행물, 특허 또는 특허출원이 본원에 참고로 삽입되는 것으로 구체적이고도 개별적으로 명시된 것처럼 본원에 참고로 삽입된다.

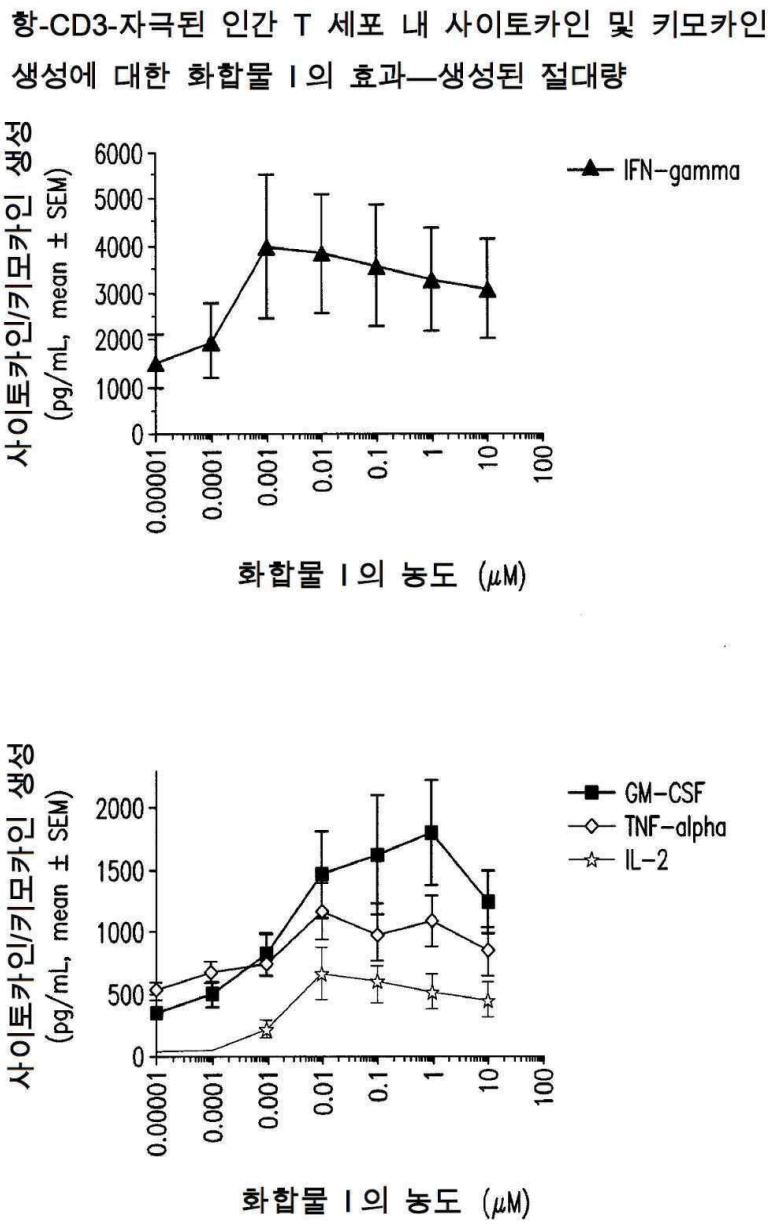
[0579] **6.8 신장 손상 환자에서의 사용**

[0580] *(S)*-3-(4-((4-모르포리노메틸)벤질)옥시)-1-옥소이소인돌린-2-일)피페리딘-2,6-디온 ("화합물 I-S")은 탈리도미드와 같은 기존의 면역조절 화합물에 비하여 보다 강력하다. 면역조절 화합물은 난치성 및/또는 재발된 및 난치성 질병을 가진 환자에서 유의적인 임상적 활성을 나타내었다. 신장 손상은 다발성 골수종 환자에 흔한 동반질병(co-morbidity)으로 환자의 40% 이상에서 발생한다(Eleftherakis-Papapiakovou et al., *Leuk Lymphoma* 2011; 52(12):2299-2303).

[0581] 신장 손상을 갖는 다발성 골수종 환자를 본원의 다른 부분에서 제공되는 처리 요법에 따라 화합물 I-S로 처리한다. 대사되고 신장으로 제거되는 특정 면역조절 화합물이 모 약물로서 낮은 수준으로 제거된다는 것이 알려져 있다. 포말리도미드와 같은 관련된 면역조절 화합물의 특징은 모 약물에의 노출이 신장 기능의 정도에 의해 실질적으로 영향을 받지 않을 것이라는 점을 제시한다.

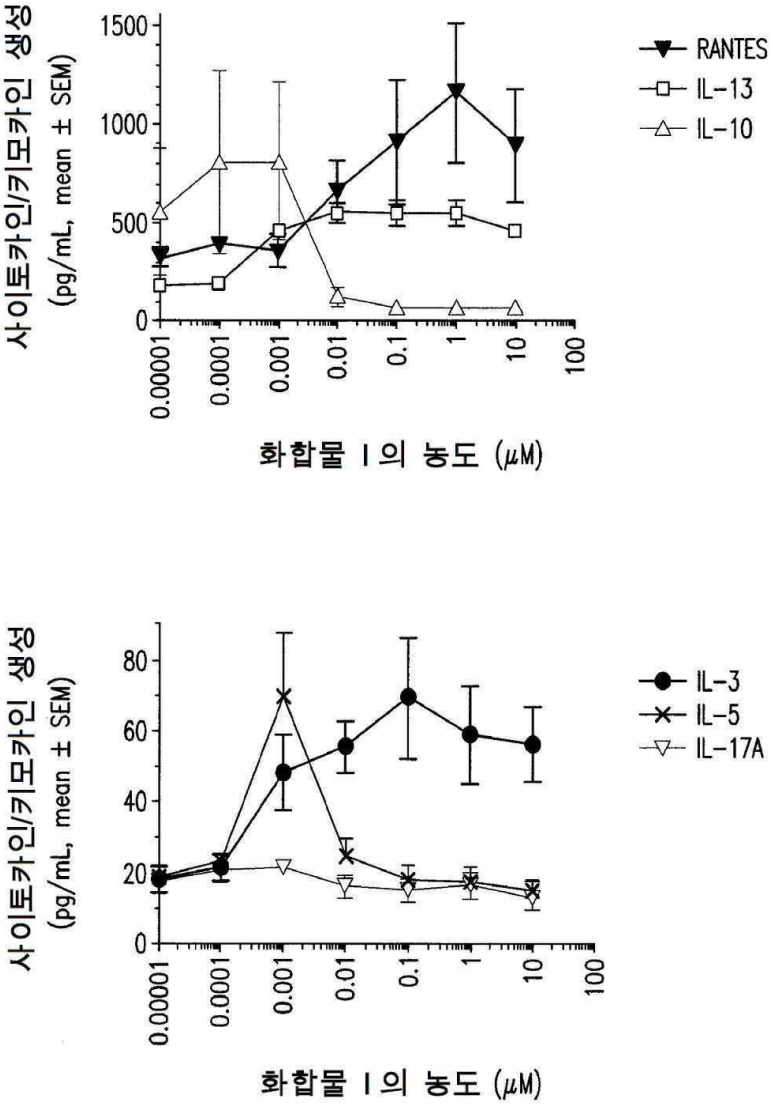
도면

도면1a



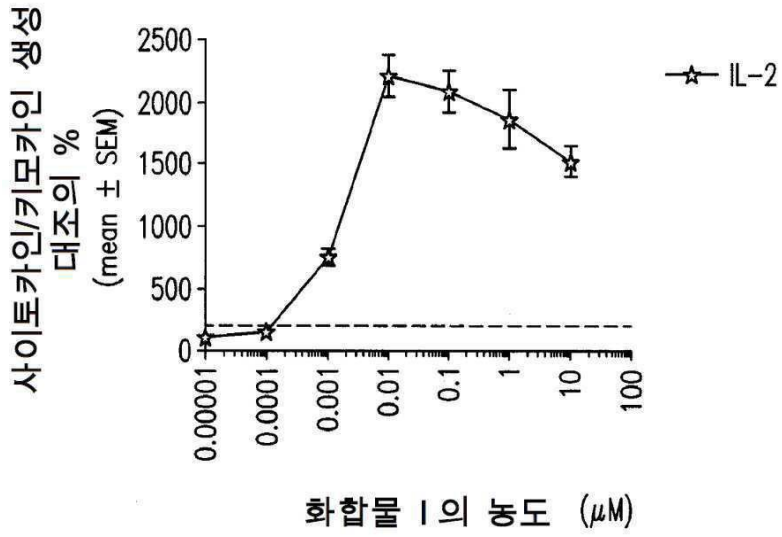
도면1b

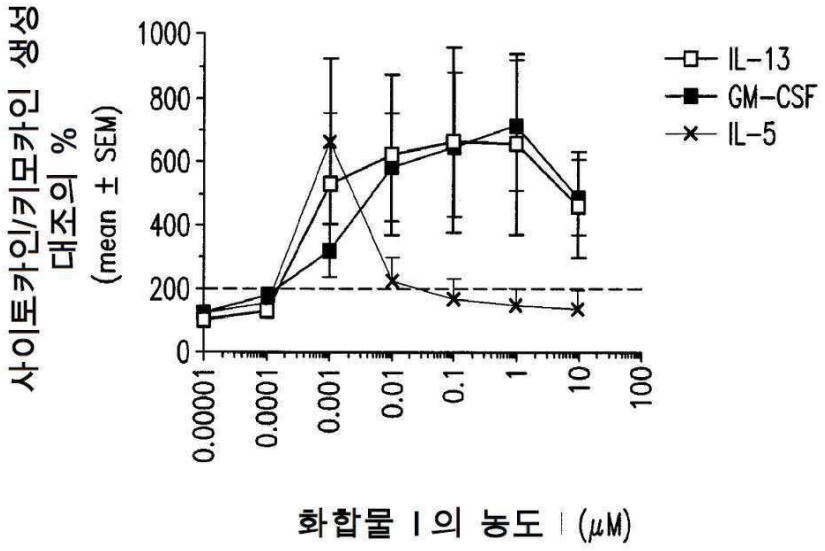
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I의 효과—생성된 절대량



도면2a

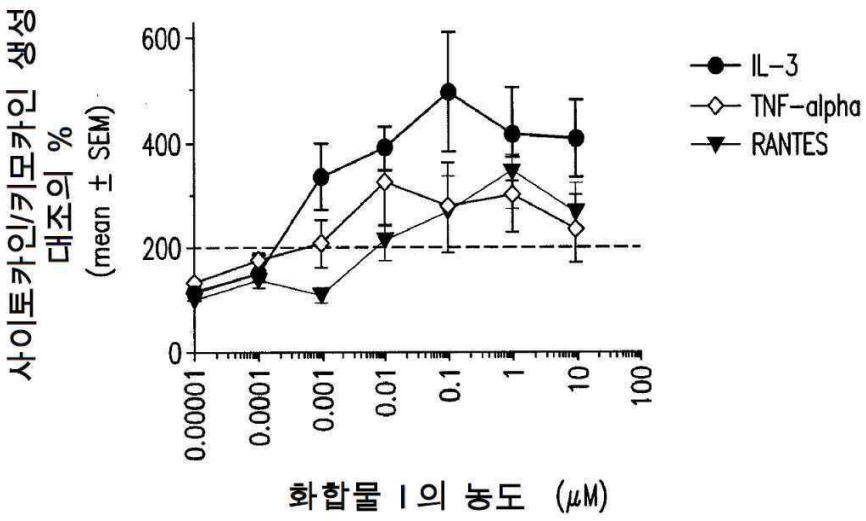
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I의 효과—대조의 퍼센트

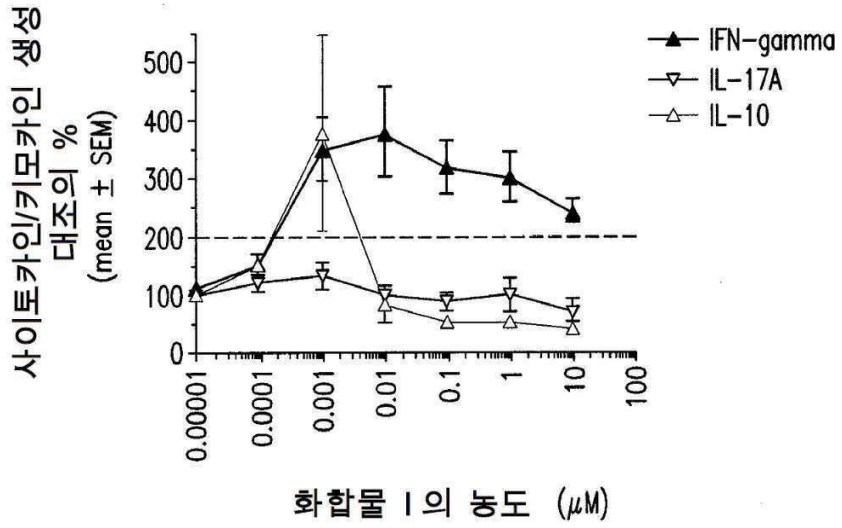




도면2b

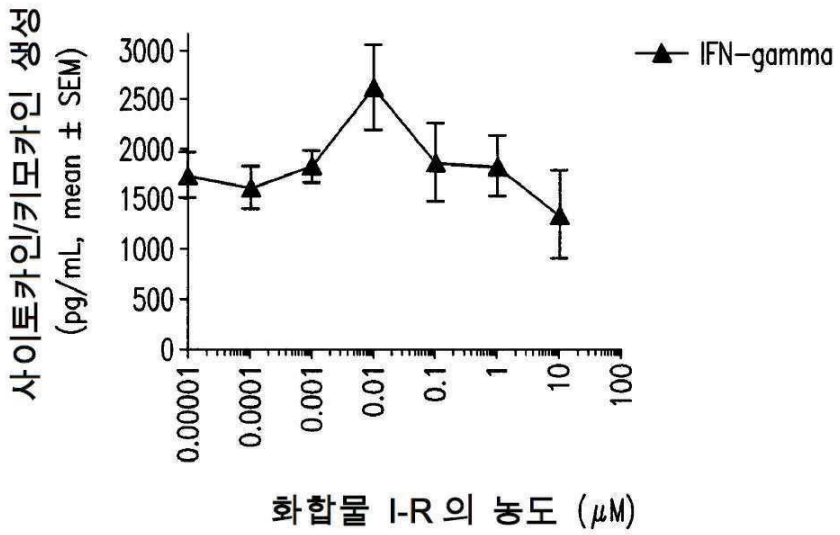
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I의 효과—대조의 퍼센트

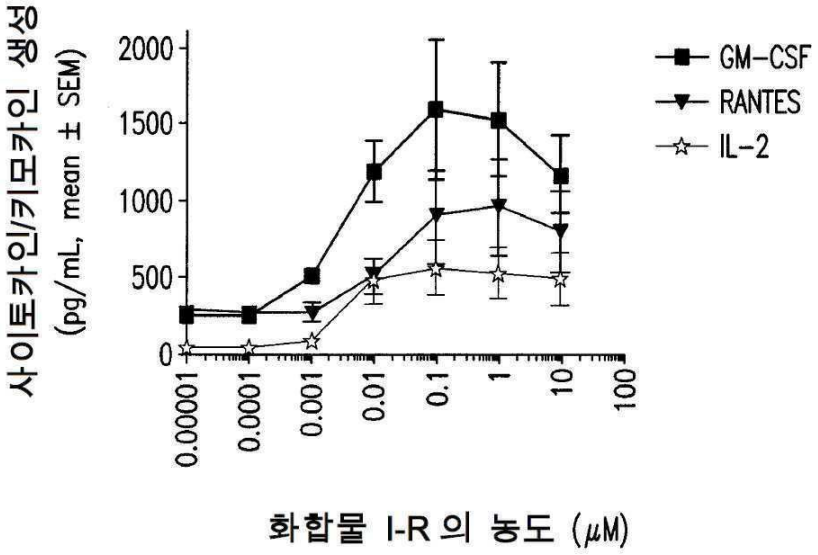




도면3a

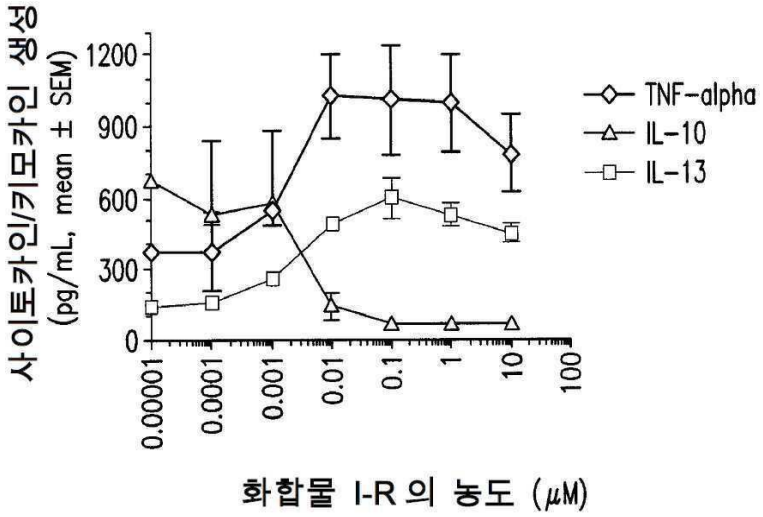
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-R 의 효과—생성된 절대량

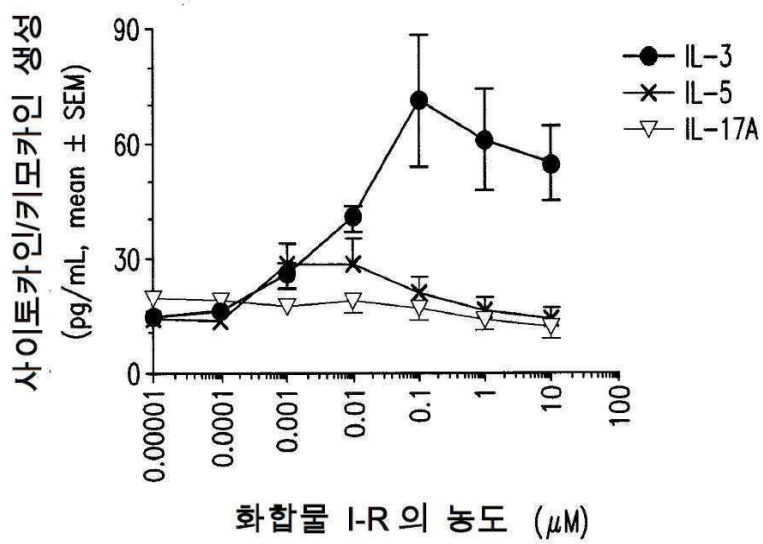




도면3b

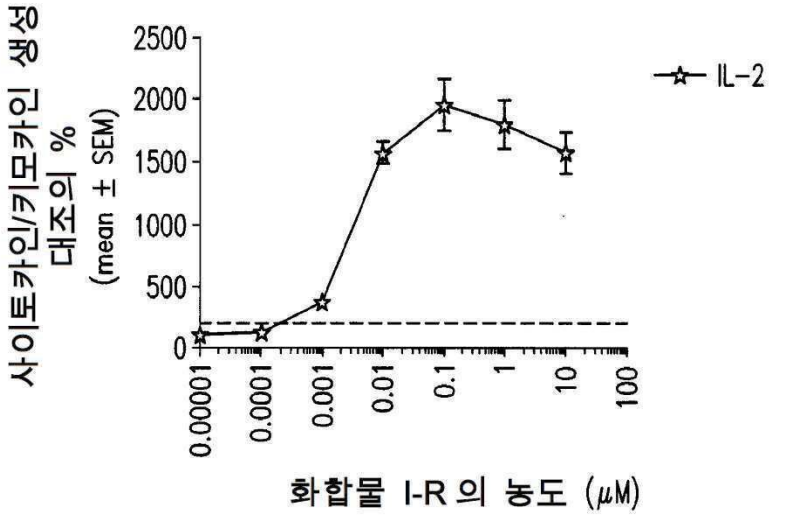
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-R 의 효과—생성된 절대량

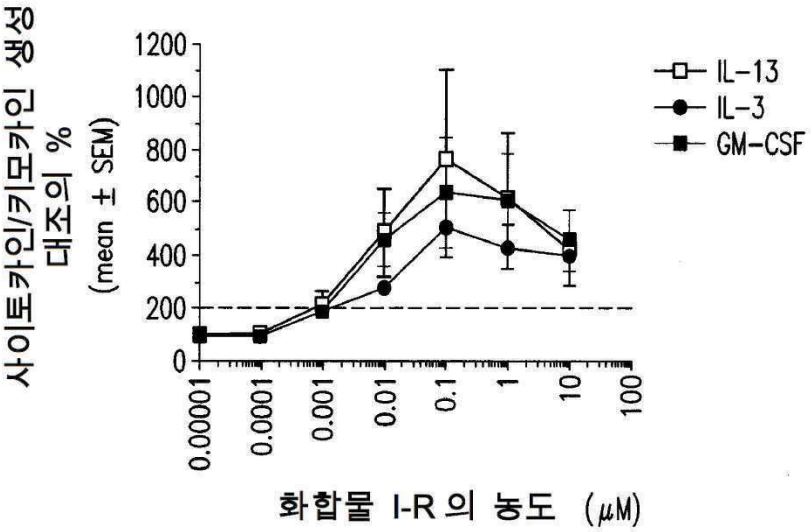




도면4a

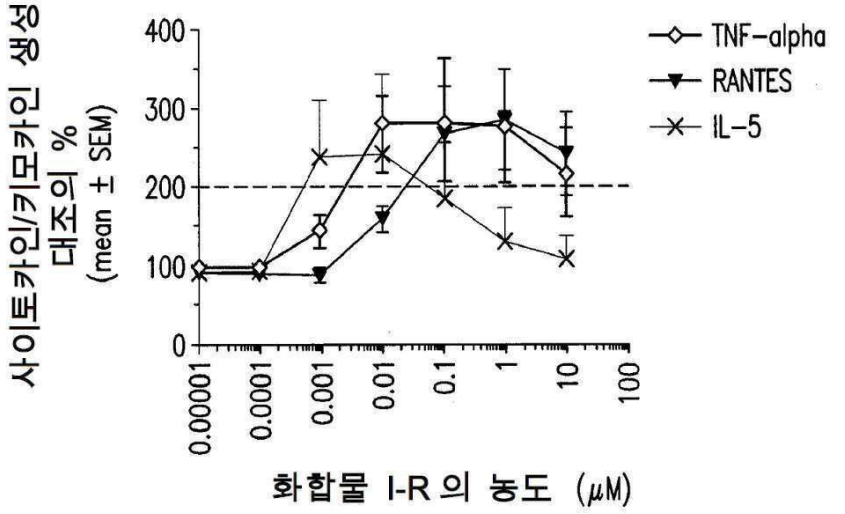
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-R의 효과—대조의 퍼센트

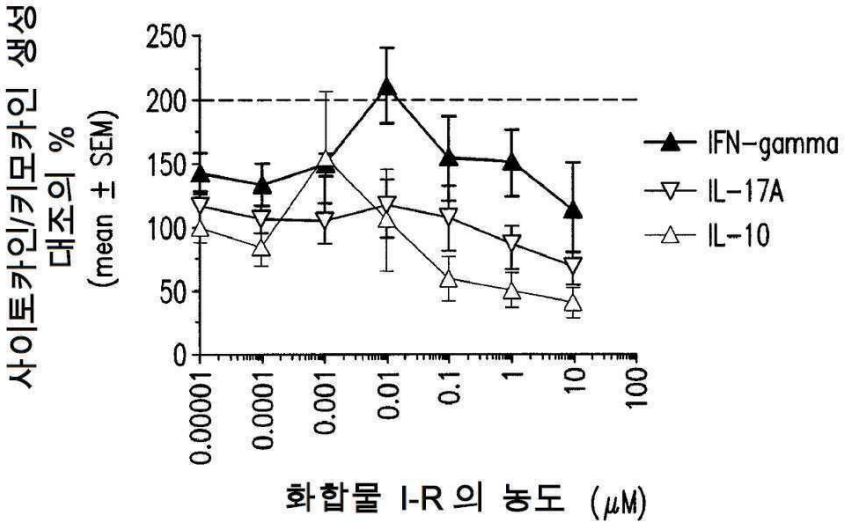




도면4b

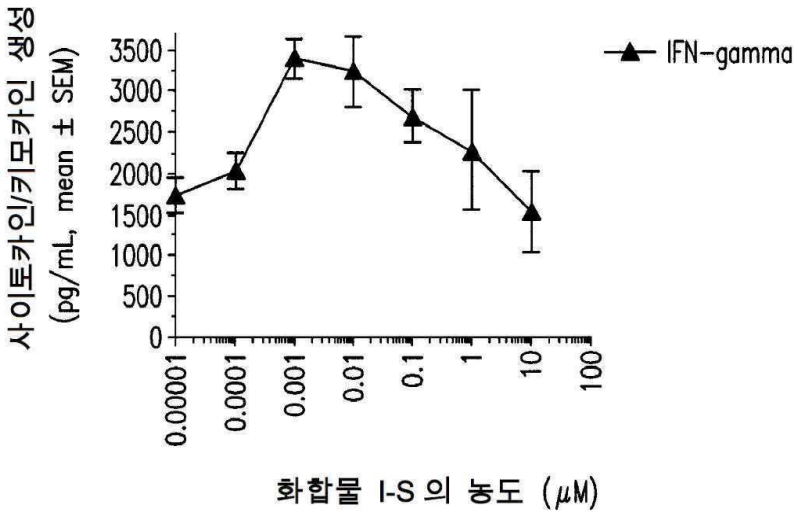
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-R의 효과—대조의 퍼센트

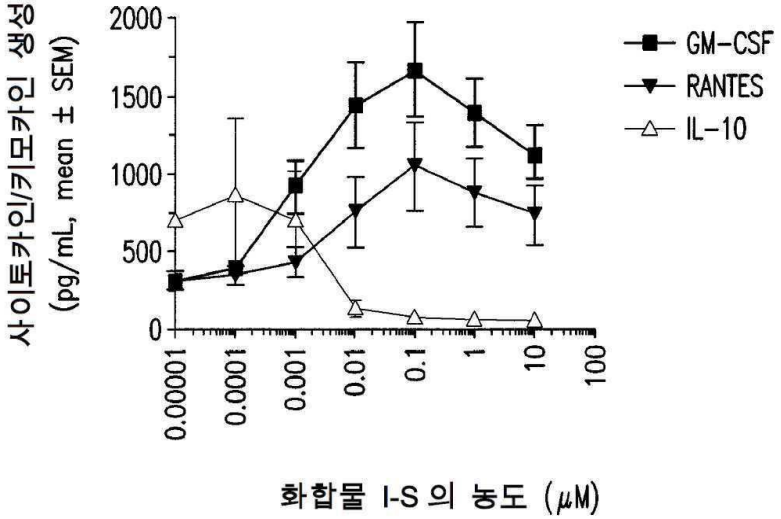




도면5a

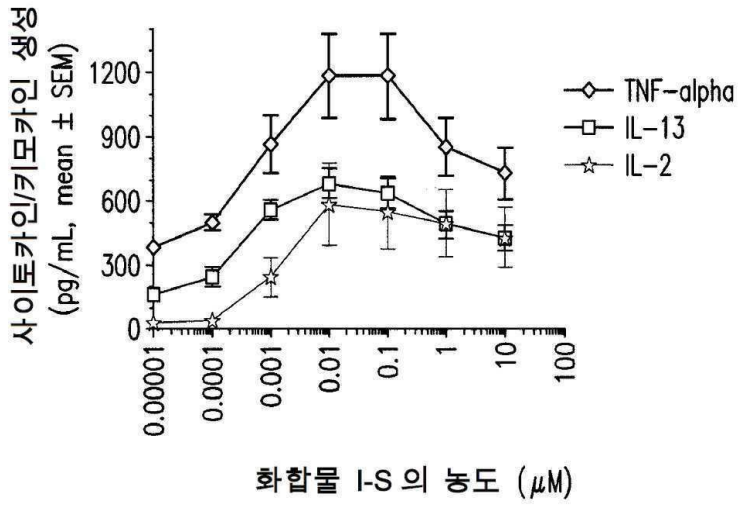
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-S 의 효과—생성된 절대량

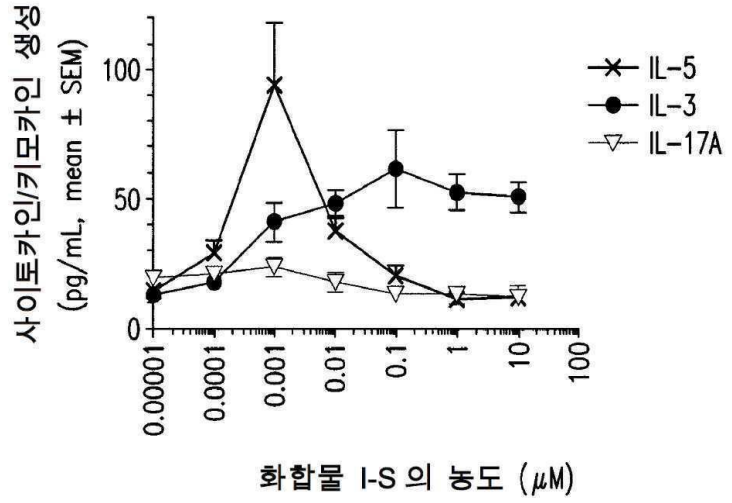




도면5b

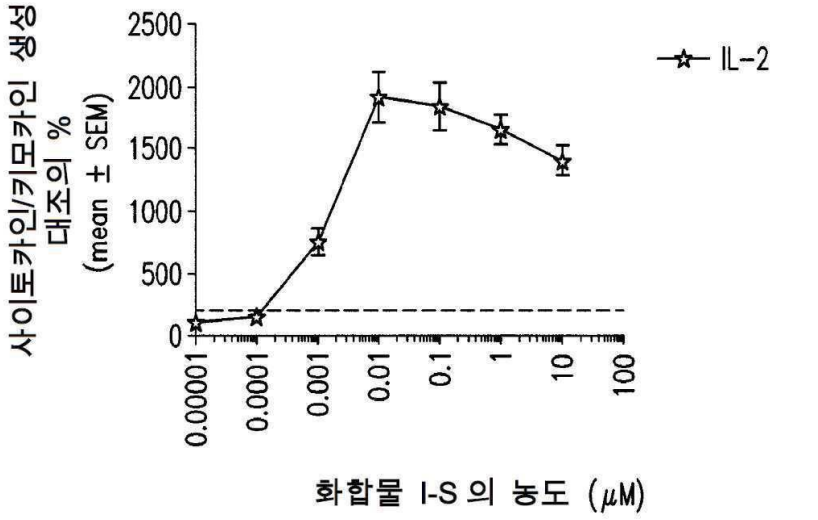
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-S 의 효과—생성된 절대량

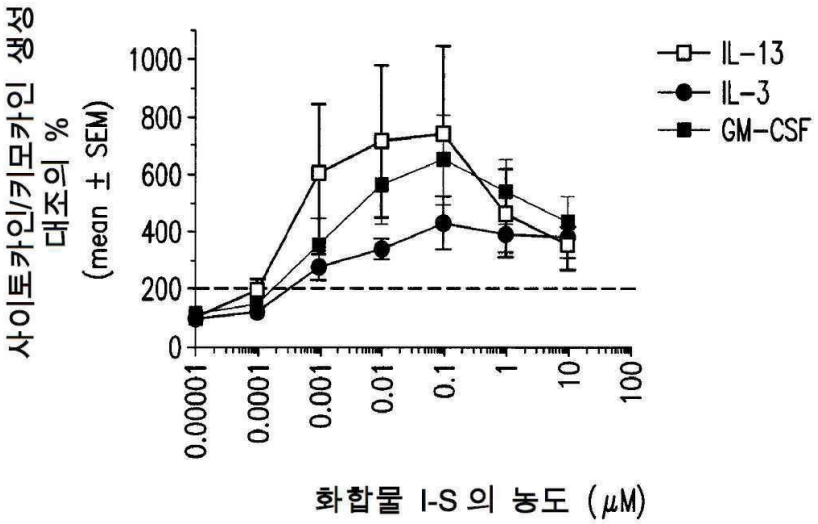




도면6a

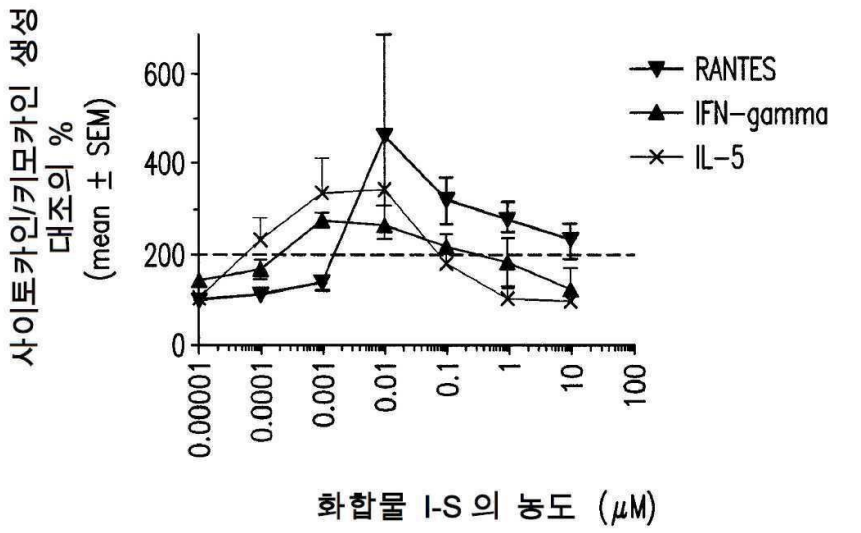
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-S의 효과—대조의 퍼센트

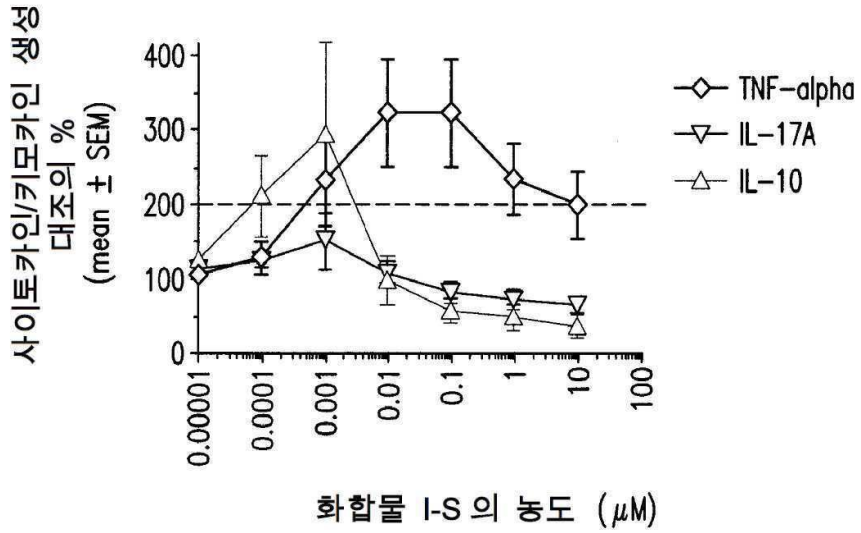




도면6b

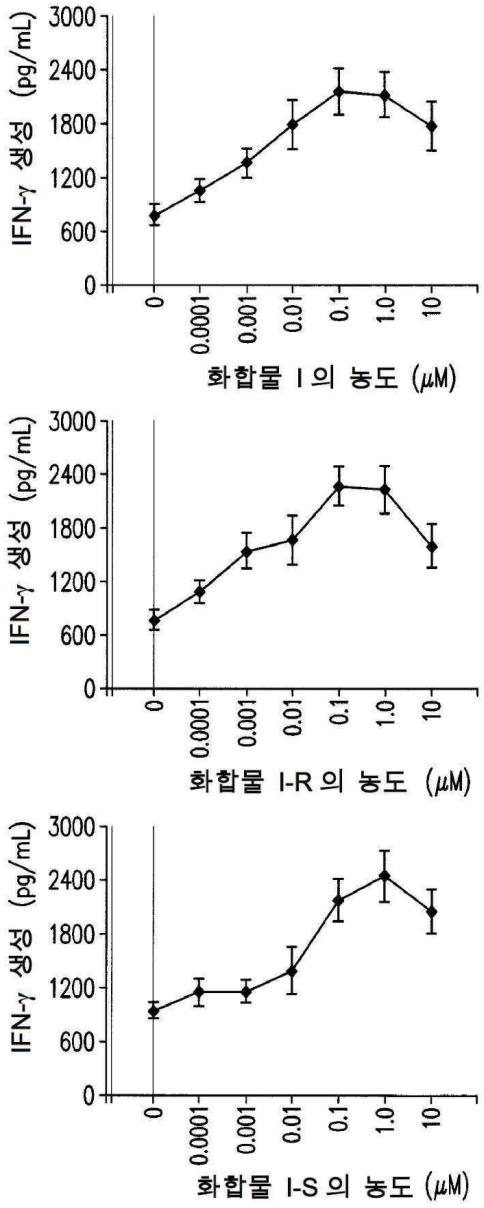
항-CD3-자극된 인간 T 세포 내 사이토카인 및 키모카인 생성에 대한 화합물 I-S의 효과—대조의 퍼센트





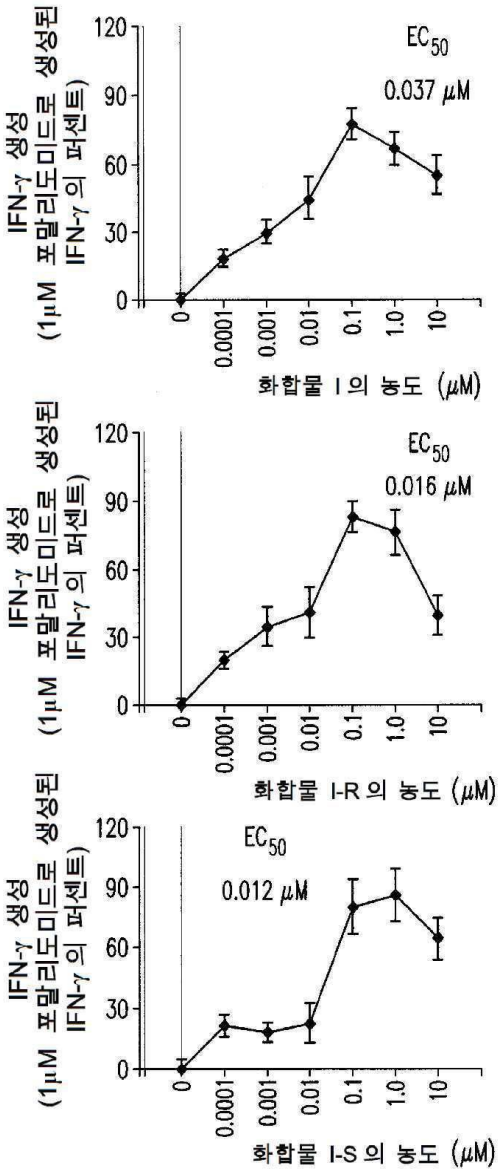
도면7

고정된 IgG 및 IL-2에 반응하여 NK 세포 IFN-감마 생성에 대한 테스트 화합물의 효과—생성된 절대량

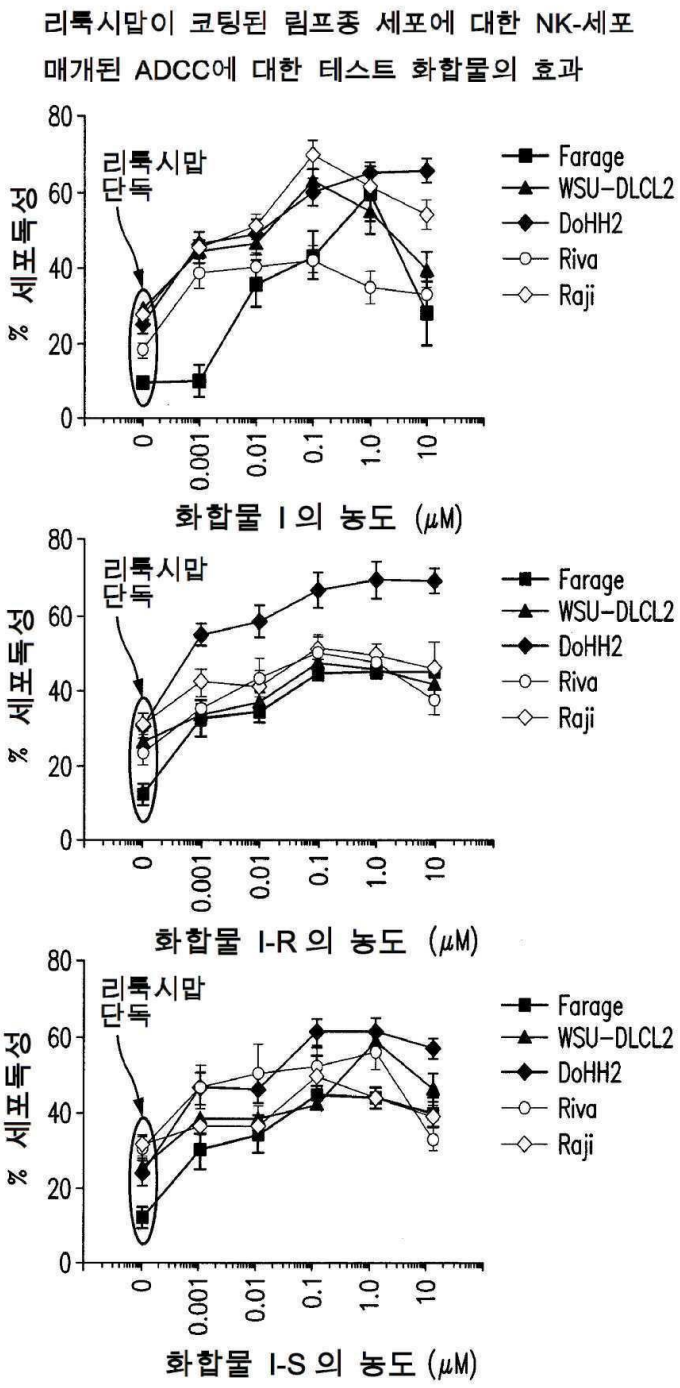


도면8

고정된 IgG 및 IL-2에 반응하여 NK 세포 IFN-감마 생성에 대한 테스트 화합물의 효과—1 마이크로몰의 포말리도미드의 존재 하에서 생성된 IFN-감마의 양의 퍼센트

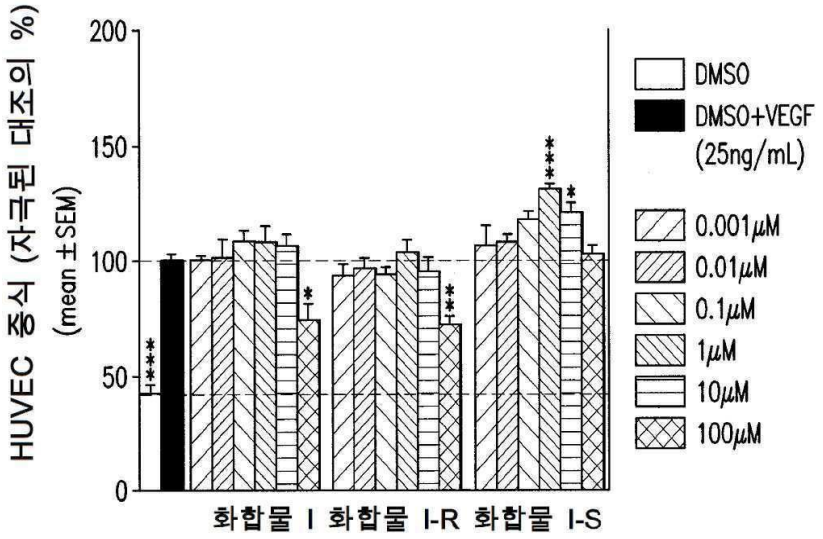


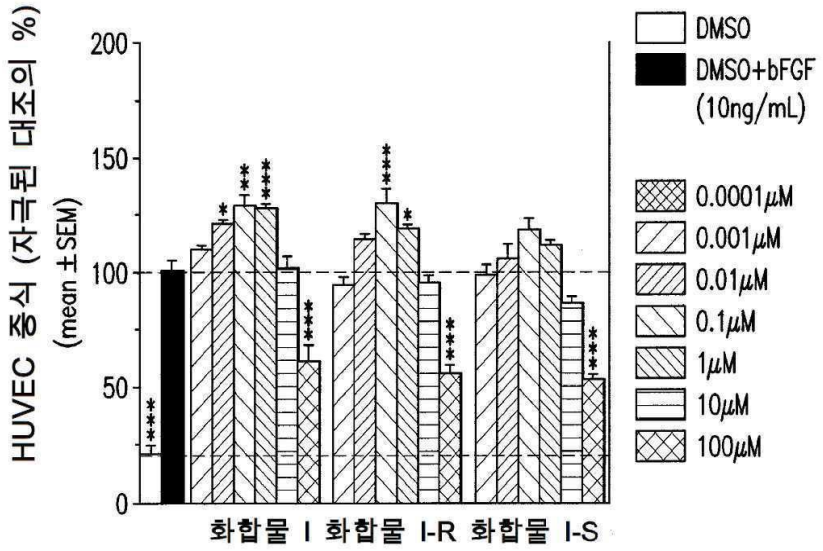
도면9


리툭시맙이 코팅된 림프종 세포에 대한 NK-세포 매개된 ADCC에 대한 테스트 화합물의 효과
% 세포독성
리툭시맙 단독
Farage
WSU-DLCL2
DoHH2
Riva
Raji
0
20
40
60
80
0
0.001
0.01
0.1
1.0
10
화합물 I 의 농도 (μM)
화합물 I-R 의 농도 (μM)
화합물 I-S 의 농도 (μM)

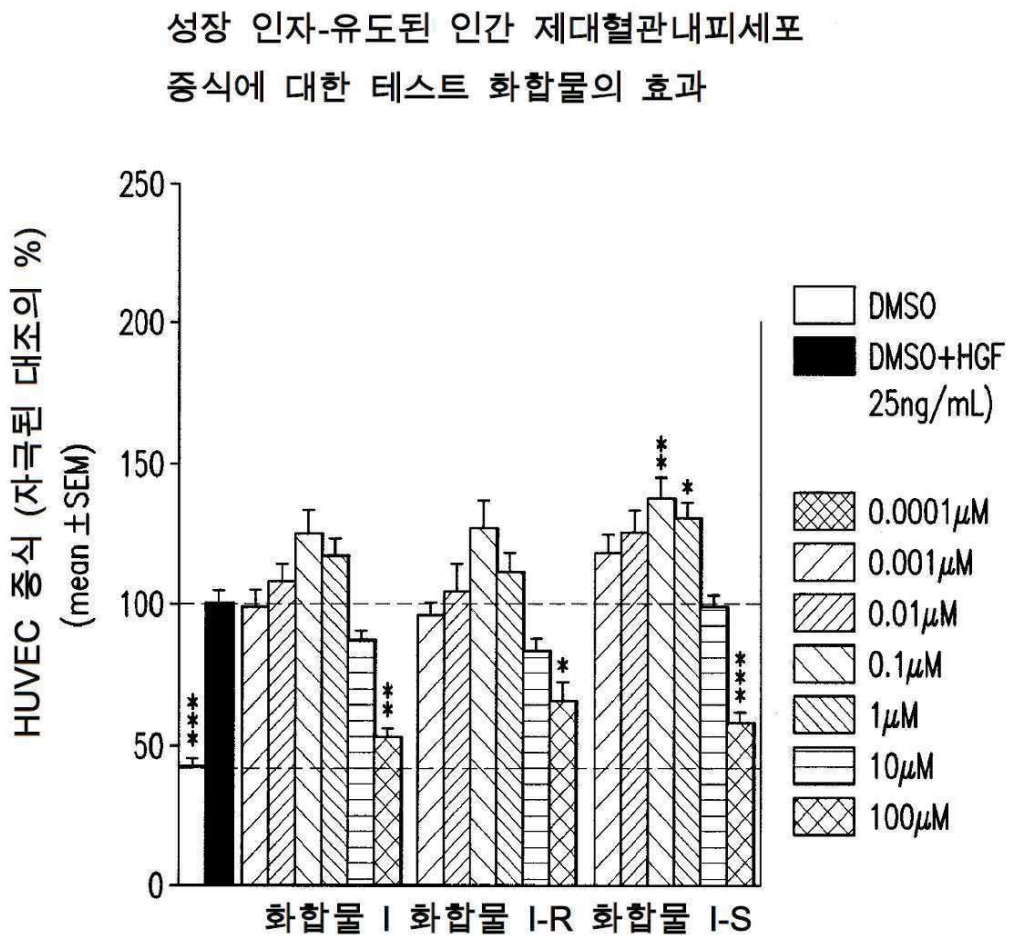
도면10a

성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포 증식에 대한 테스트 화합물의 효과

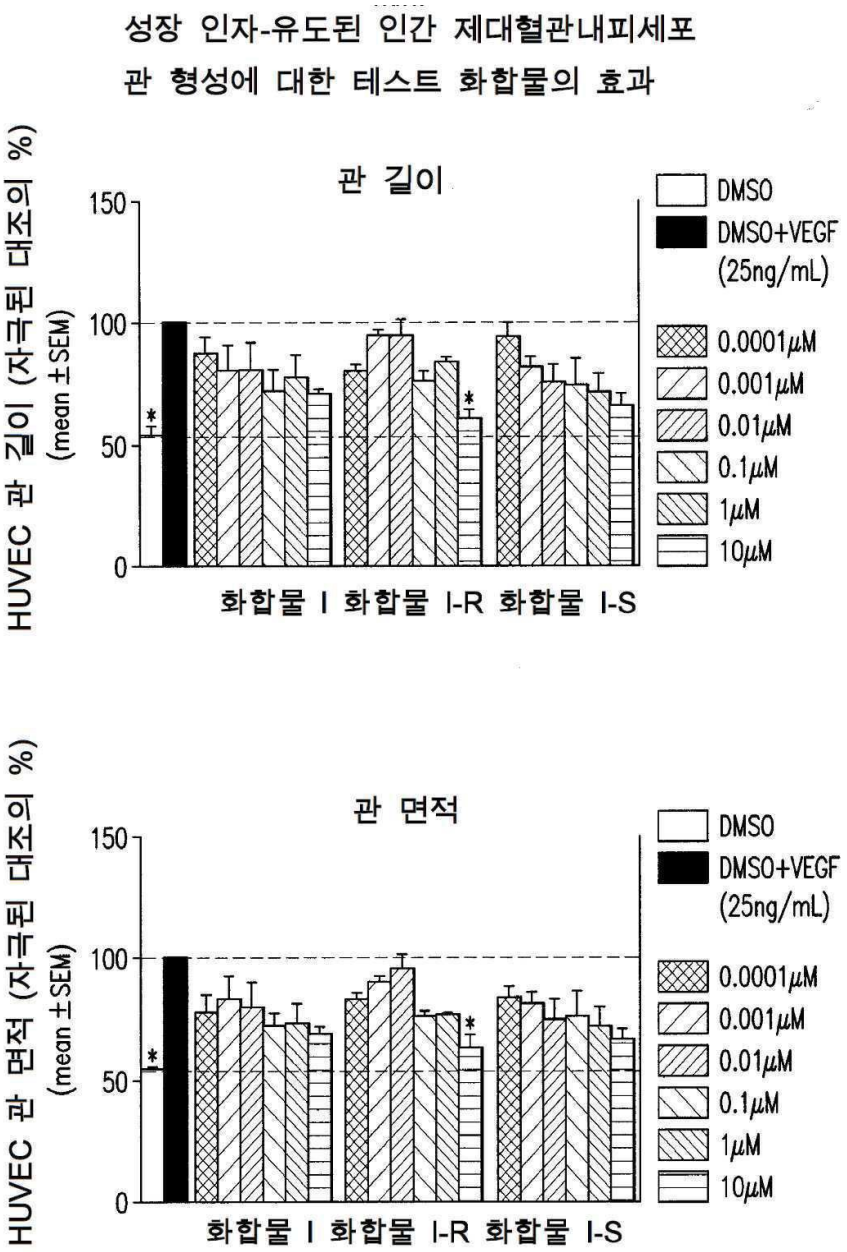




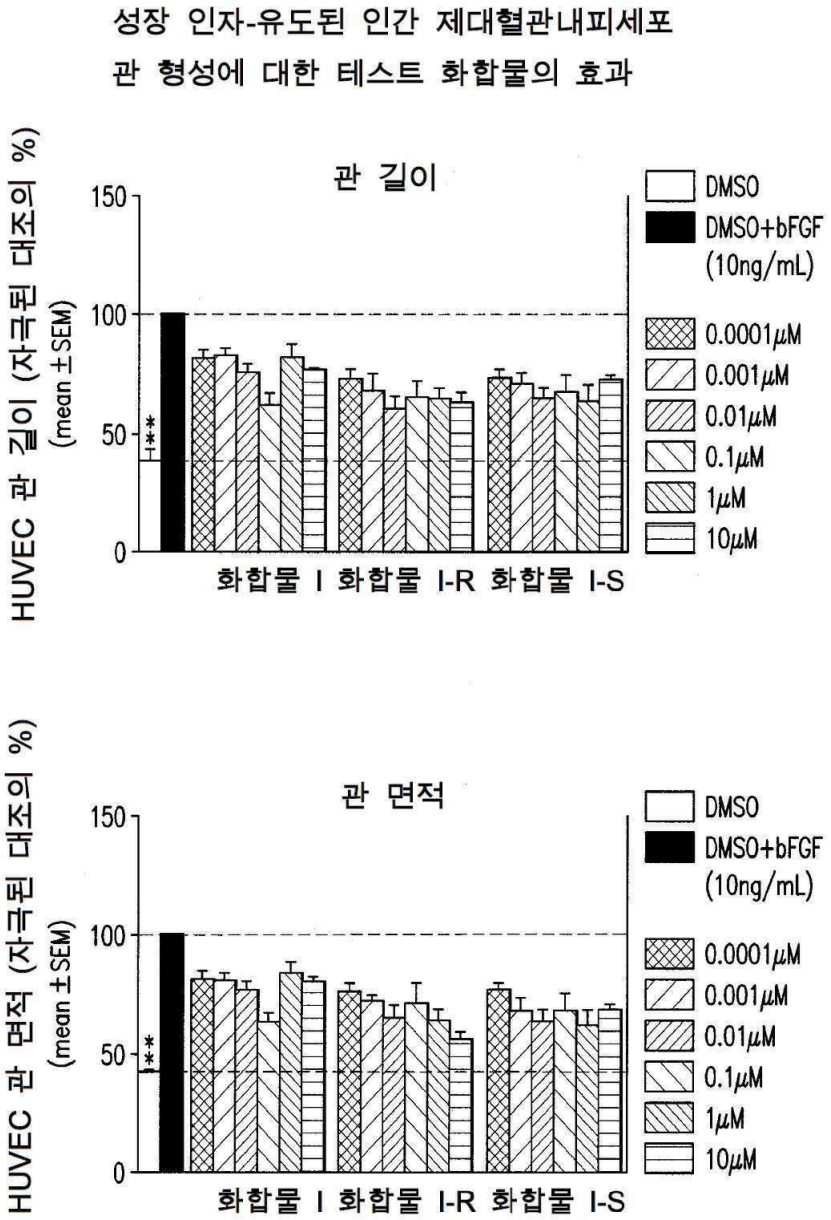
도면10b


성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포
증식에 대한 테스트 화합물의 효과
HUVEC 증식 (자극된 대조의 %)
(mean ±SEM)
250
200
150
100
50
0
DMSO
DMSO+HGF
25ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM
10μM
100μM
화합물 I
화합물 I-R
화합물 I-S

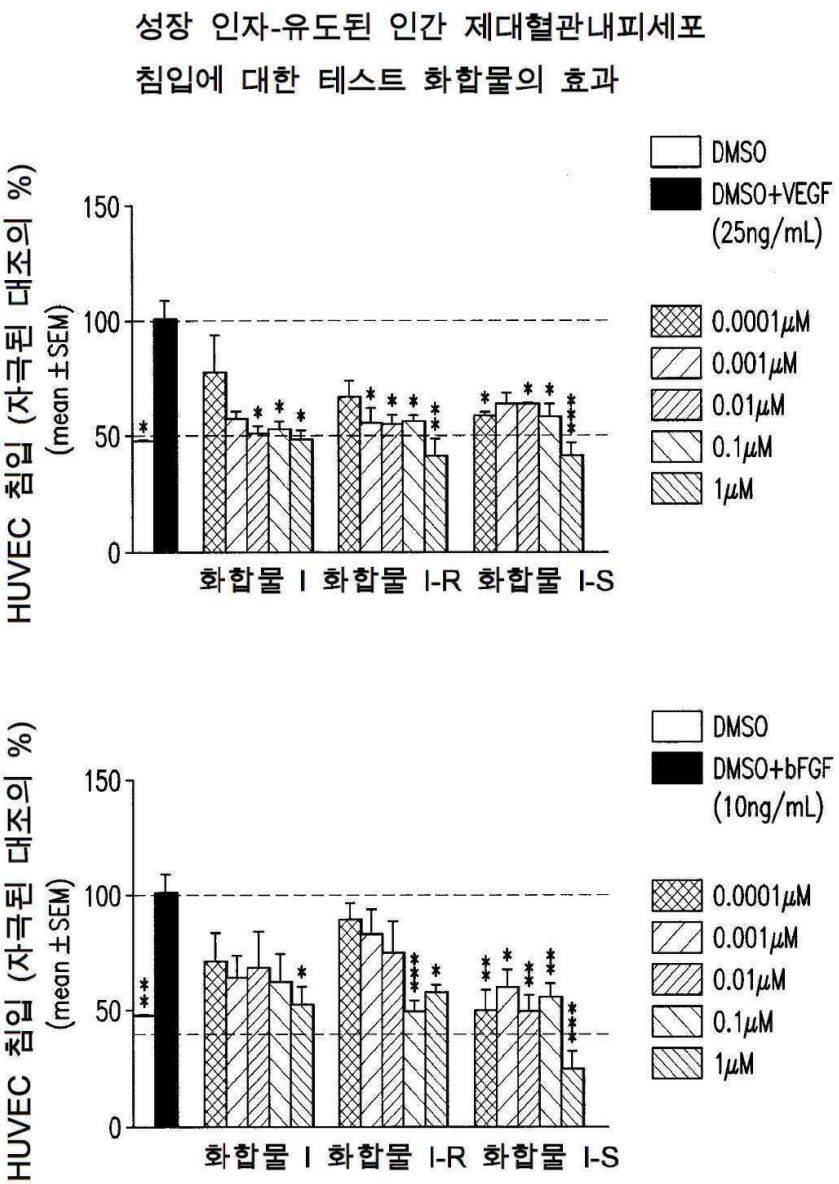
도면11a


성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포
관 형성에 대한 테스트 화합물의 효과
관 길이
HUVEC 관 길이 (자극된 대조의 %)
(mean ±SEM)
150
100
50
0
DMSO
DMSO+VEGF
(25ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM
10μM
화합물 I 화합물 I-R 화합물 I-S
관 면적
HUVEC 관 면적 (자극된 대조의 %)
(mean ±SEM)
150
100
50
0
DMSO
DMSO+VEGF
(25ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM
10μM
화합물 I 화합물 I-R 화합물 I-S

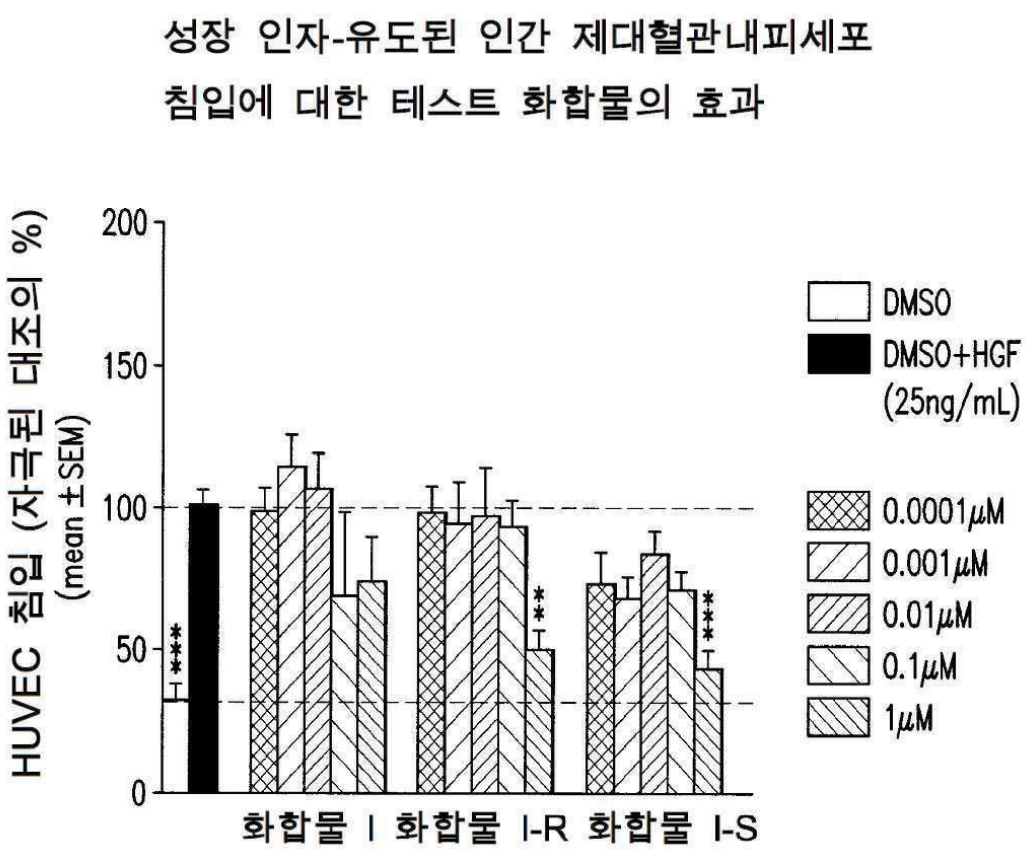
도면11b


성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포
관 형성에 대한 테스트 화합물의 효과
관 길이
HUVEC 관 길이 (자극된 대조의 %)
(mean ± SEM)
150
100
50
0
***
DMSO
DMSO+bFGF
(10ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM
10μM
화합물 I 화합물 I-R 화합물 I-S
관 면적
HUVEC 관 면적 (자극된 대조의 %)
(mean ± SEM)
150
100
50
0
***
DMSO
DMSO+bFGF
(10ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM
10μM
화합물 I 화합물 I-R 화합물 I-S

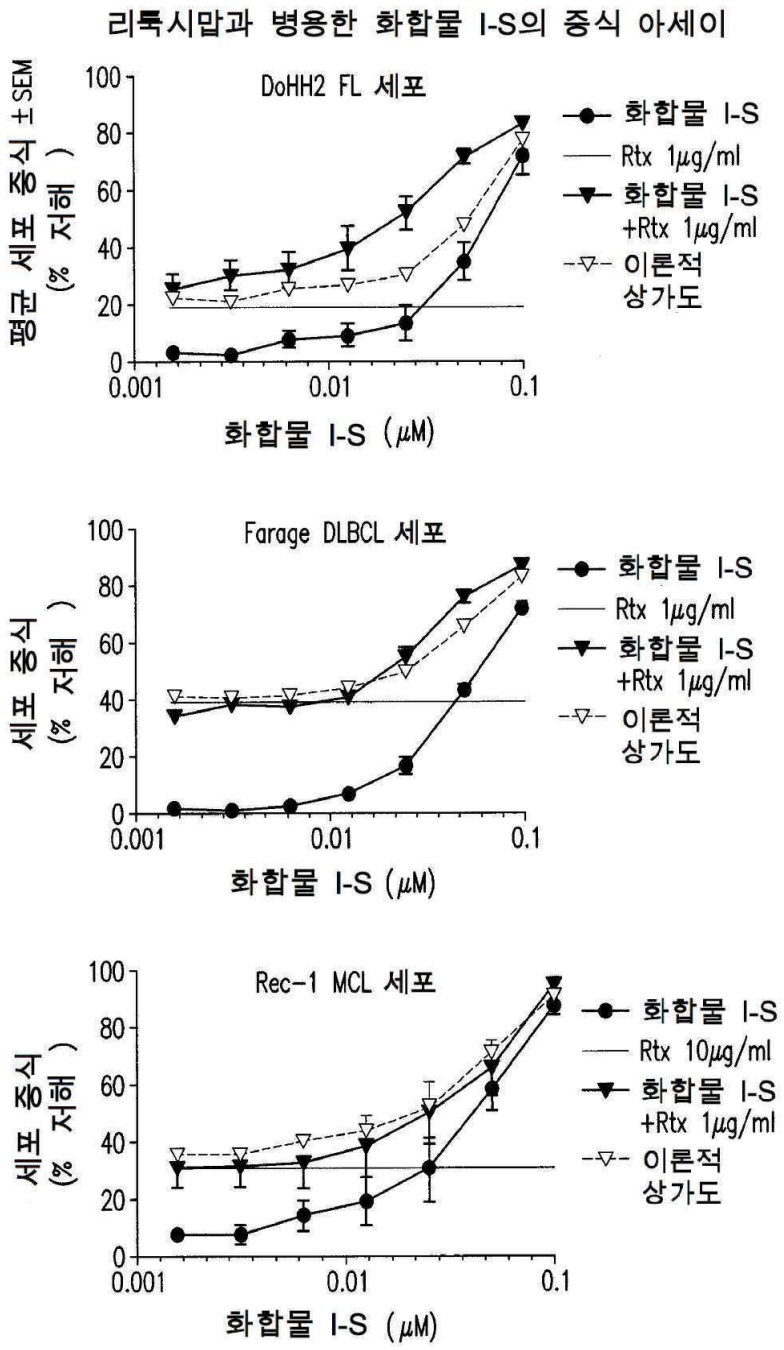
도면12a


성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포
침입에 대한 테스트 화합물의 효과
HUVEC 침입 (자극된 대조의 %)
(mean ±SEM)
150
100
50
0
화합물 I
화합물 I-R
화합물 I-S
DMSO
DMSO+VEGF
(25ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM
HUVEC 침입 (자극된 대조의 %)
(mean ±SEM)
150
100
50
0
화합물 I
화합물 I-R
화합물 I-S
DMSO
DMSO+bFGF
(10ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM

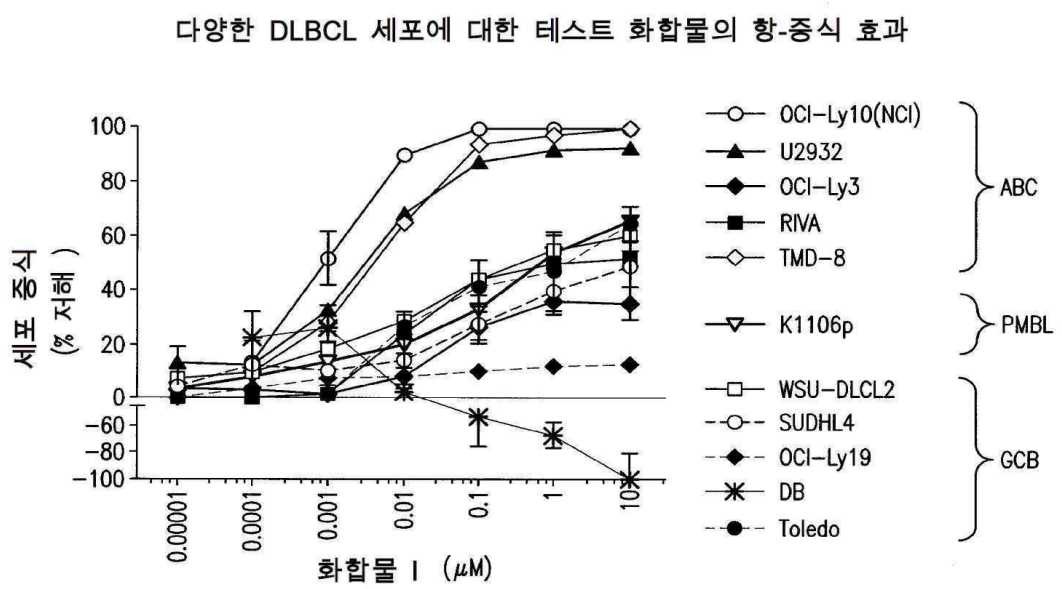
도면12b


성장 인자-유도된 인간 제대혈관내피세포
침입에 대한 테스트 화합물의 효과
HUVEC 침입 (자극된 대조의 %)
(mean ±SEM)
200
150
100
50
0
***
***
***
화합물 I
화합물 I-R
화합물 I-S
DMSO
DMSO+HGF
(25ng/mL)
0.0001μM
0.001μM
0.01μM
0.1μM
1μM

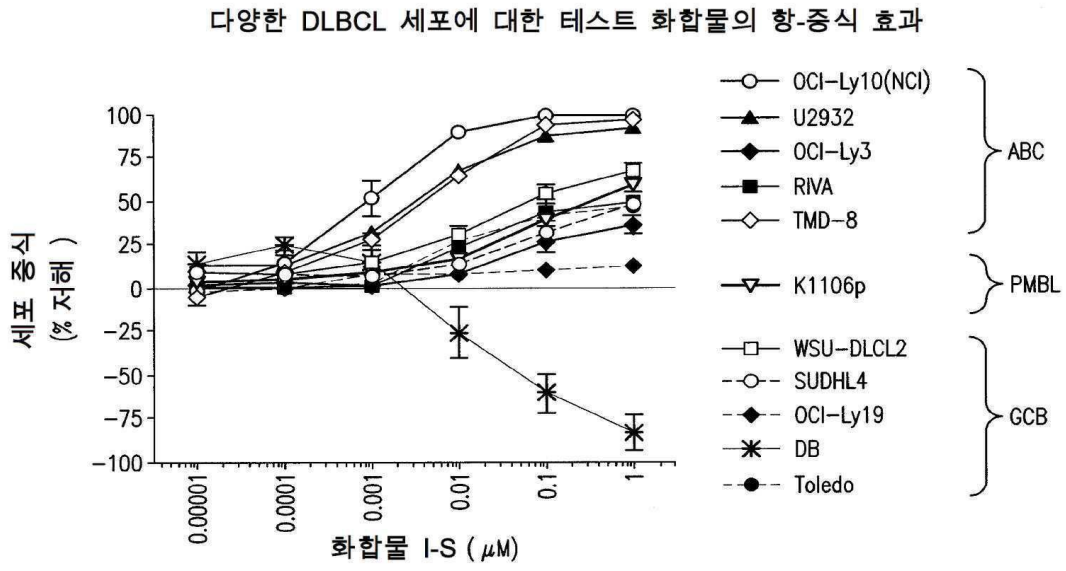
도면13


리툭시맙과 병용한 화합물 I-S의 증식 아세이
DoHH2 FL 세포
평균 세포 증식 ±SEM (% 저해)
화합물 I-S
Rtx 1μg/ml
화합물 I-S +Rtx 1μg/ml
이론적 상가도
화합물 I-S (μM)
Farage DLBCL 세포
세포 증식 (% 저해)
Rtx 1μg/ml
화합물 I-S +Rtx 1μg/ml
이론적 상가도
화합물 I-S (μM)
Rec-1 MCL 세포
세포 증식 (% 저해)
Rtx 10μg/ml
화합물 I-S +Rtx 1μg/ml
이론적 상가도
화합물 I-S (μM)

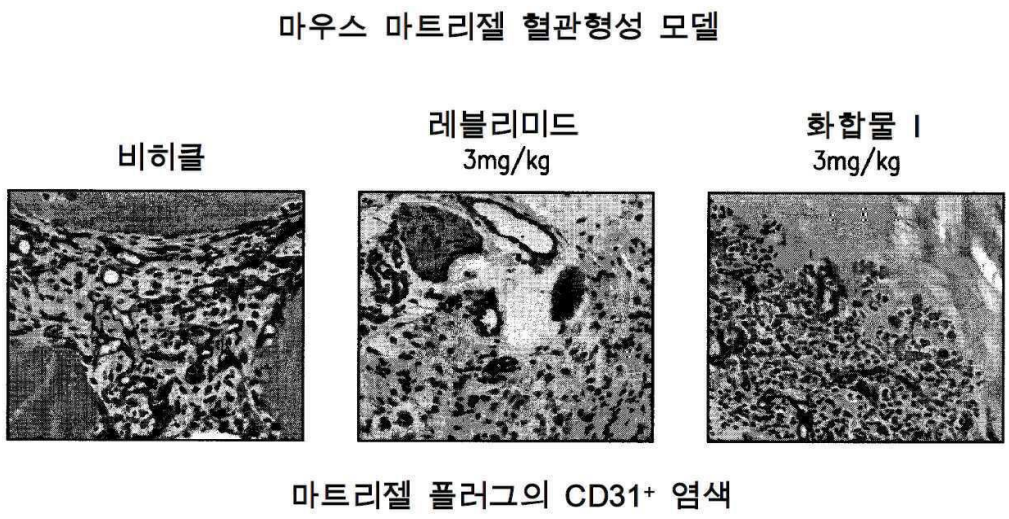
도면14a


다양한 DLBCL 세포에 대한 테스트 화합물의 항-증식 효과
세포 증식 (% 저해)
100
80
60
40
20
0
−60
−80
−100
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
화합물 I (μM)
OCI-Ly10(NCI)
U2932
OCI-Ly3
RIVA
TMD-8
ABC
K1106p
PMBL
WSU-DLCL2
SUDHL4
OCI-Ly19
DB
Toledo
GCB

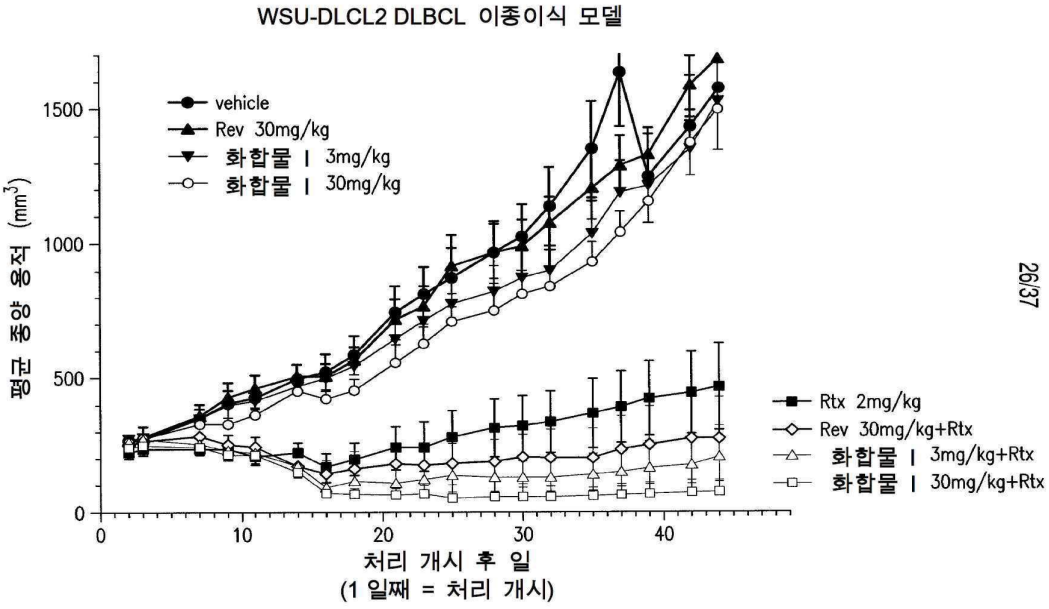
도면14b


다양한 DLBCL 세포에 대한 테스트 화합물의 항-증식 효과
세포 증식 (% 저해)
100
75
50
25
0
−25
−50
−75
−100
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
화합물 I-S (μM)
OCI-Ly10(NCI)
U2932
OCI-Ly3
RIVA
TMD-8
ABC
K1106p
PMBL
WSU-DLCL2
SUDHL4
OCI-Ly19
DB
Toledo
GCB

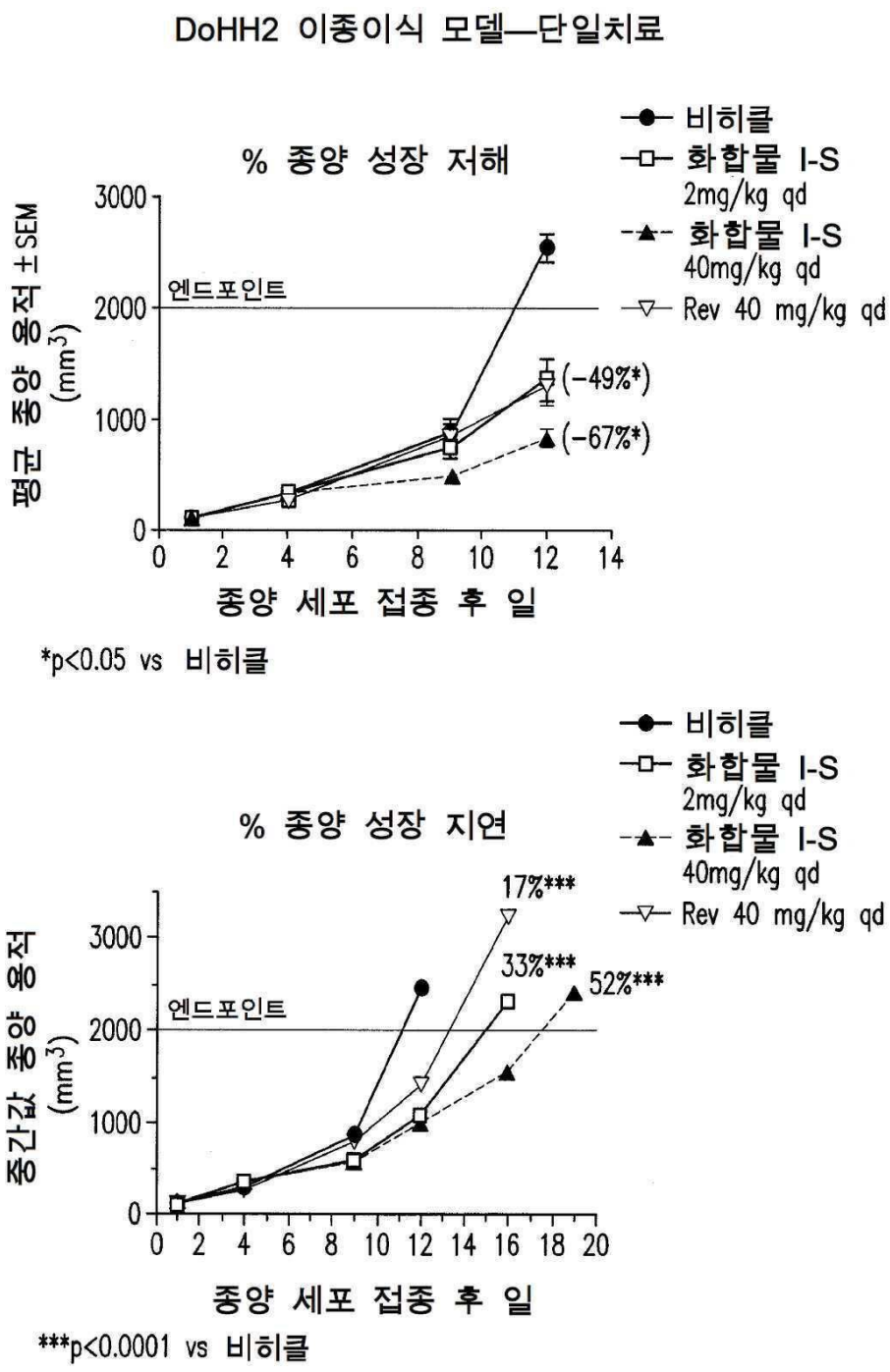
도면15


마우스 마트리젤 혈관형성 모델
비히클
레블리미드
3mg/kg
화합물 I
3mg/kg
마트리젤 플러그의 CD31+ 염색

도면16

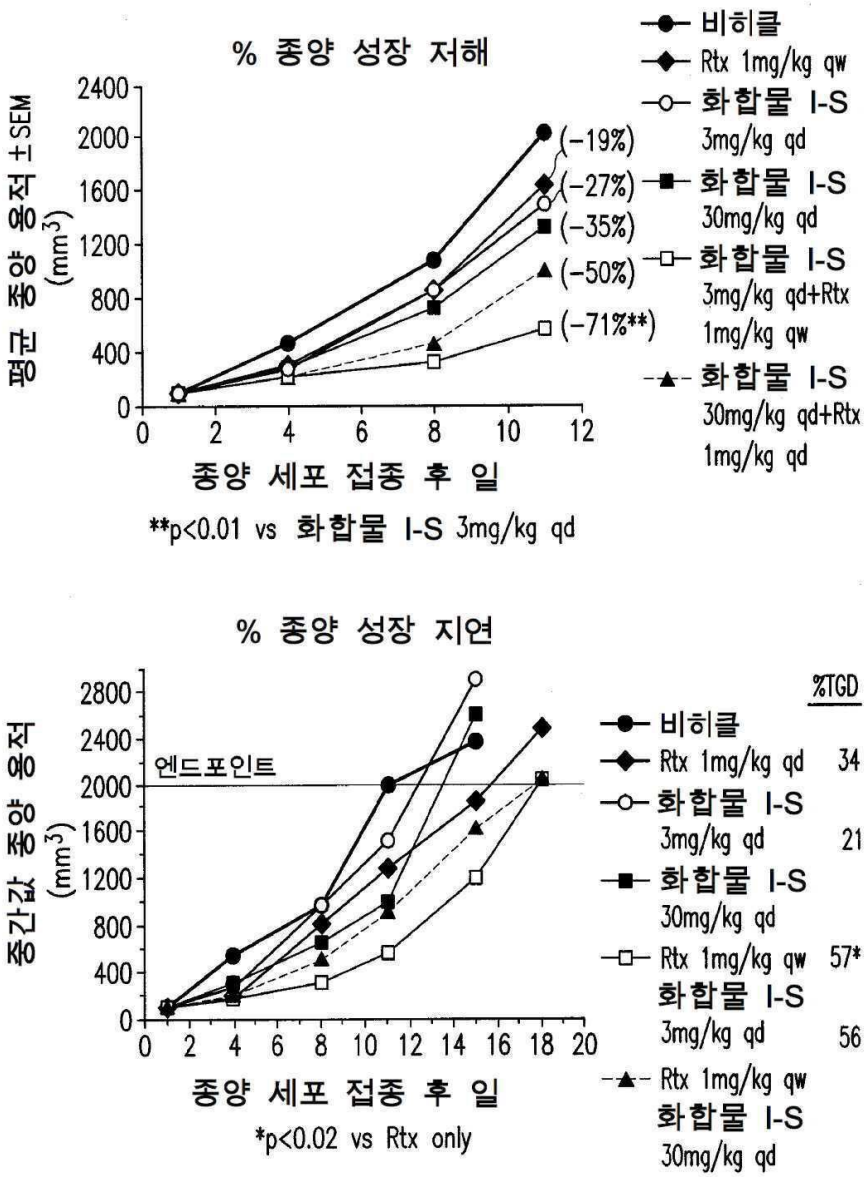

WSU-DLCL2 DLBCL 이종이식 모델
vehicle
Rev 30mg/kg
화합물 I 3mg/kg
화합물 I 30mg/kg
Rtx 2mg/kg
Rev 30mg/kg+Rtx
화합물 I 3mg/kg+Rtx
화합물 I 30mg/kg+Rtx
평균 종양 용적 (mm3)
0
500
1000
1500
0
10
20
30
40
처리 개시 후 일
(1 일째 = 처리 개시)
26/37

도면17


DoHH2 이종이식 모델—단일치료
% 종양 성장 저해
비히클
화합물 I-S
2mg/kg qd
화합물 I-S
40mg/kg qd
Rev 40 mg/kg qd
평균 종양 용적 ± SEM (mm3)
엔드포인트
(-49%*)
(-67%*)
종양 세포 접종 후 일
*p<0.05 vs 비히클
% 종양 성장 지연
중간값 종양 용적 (mm3)
17%***
33%***
52%***
***p<0.0001 vs 비히클

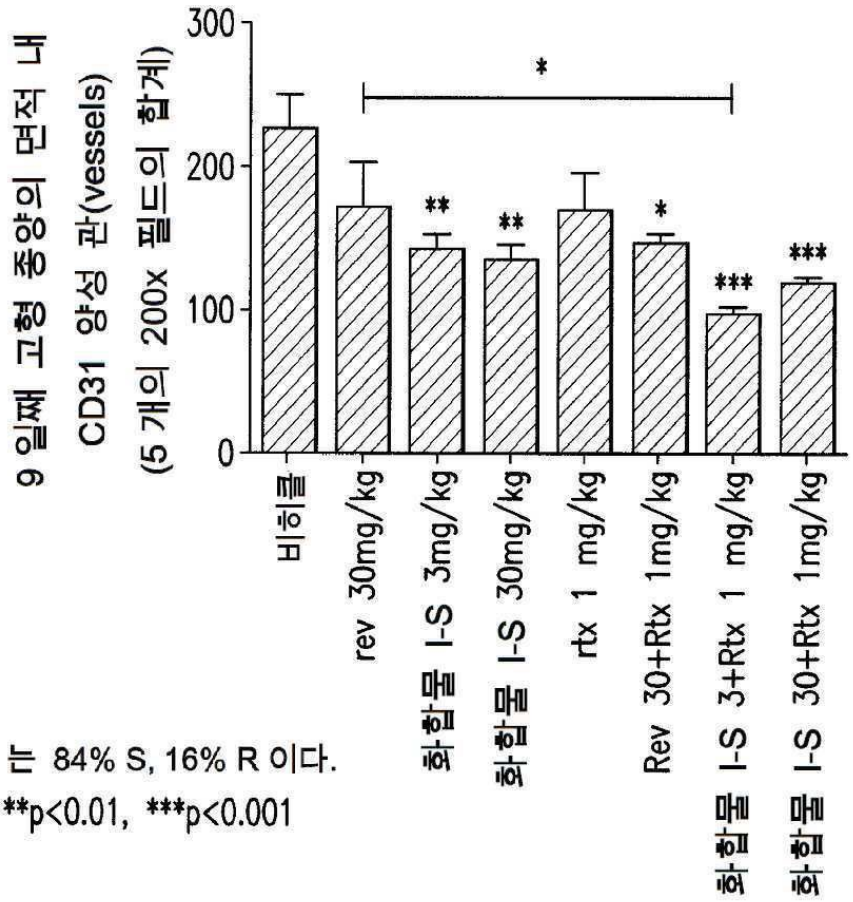
도면18

DoHH2 이종이식 모델—병용 치료



도면19

DoHH2 이종이식 종양에 대한 CD31 IHC

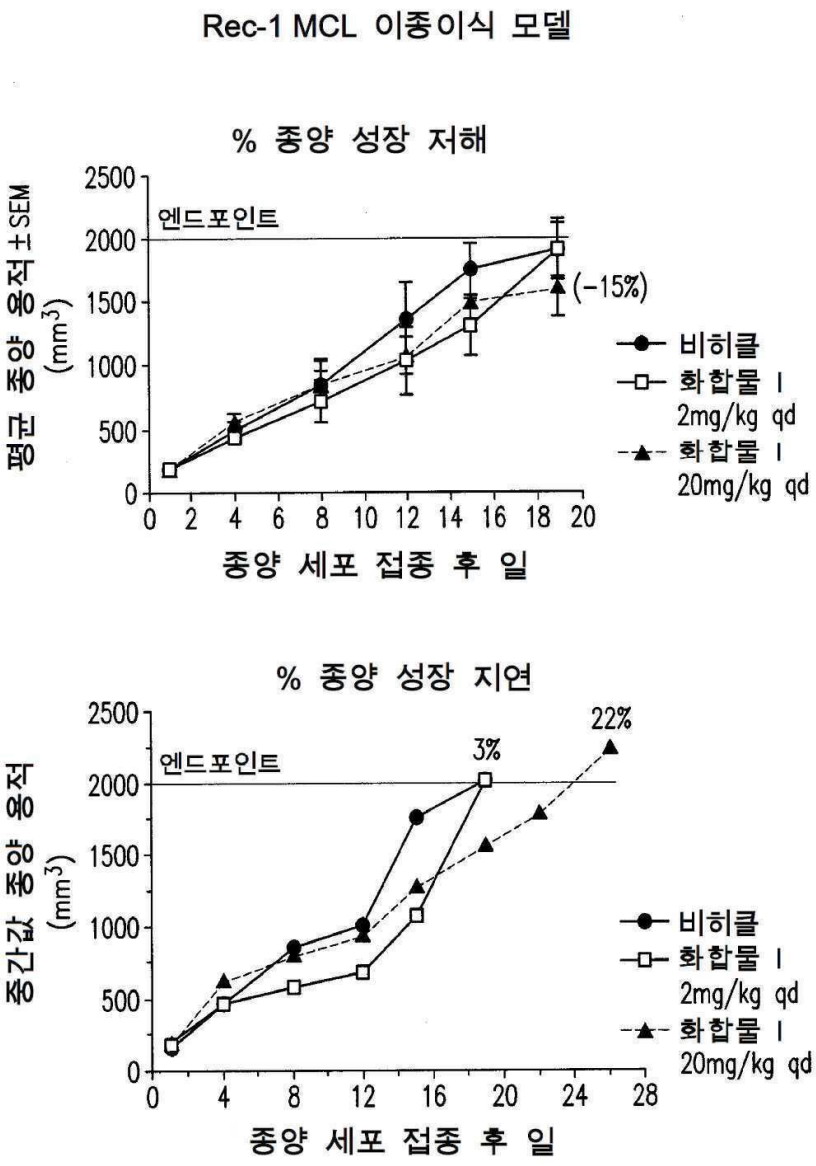


화합물 I-S 는 84% S, 16% R 이다.

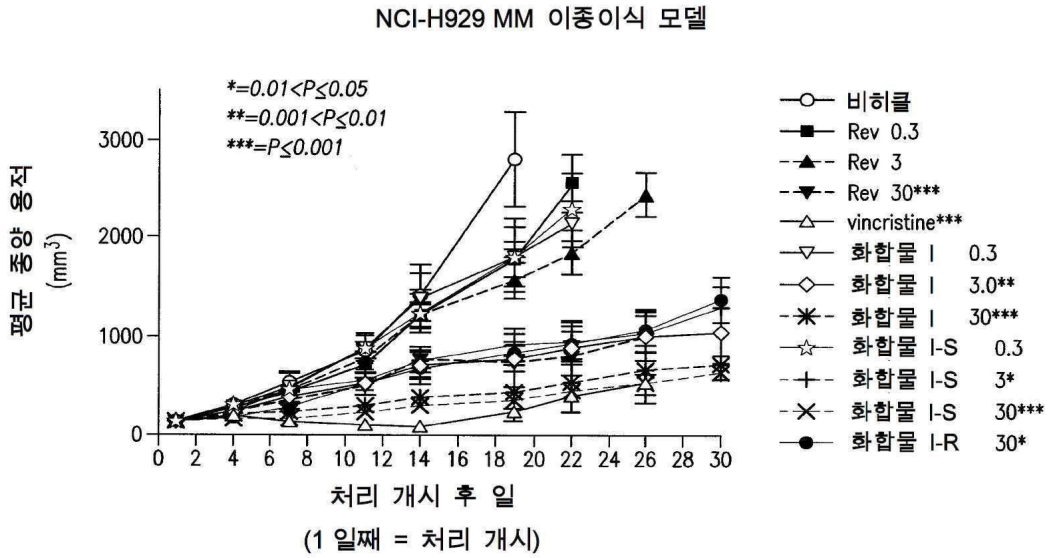
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

종양 크기 D9(g)	2.7	2.8	2.4	2.7	1.8	1.2	1.3	1.3
%TGI at D12		19	27	35	19	54	71	50

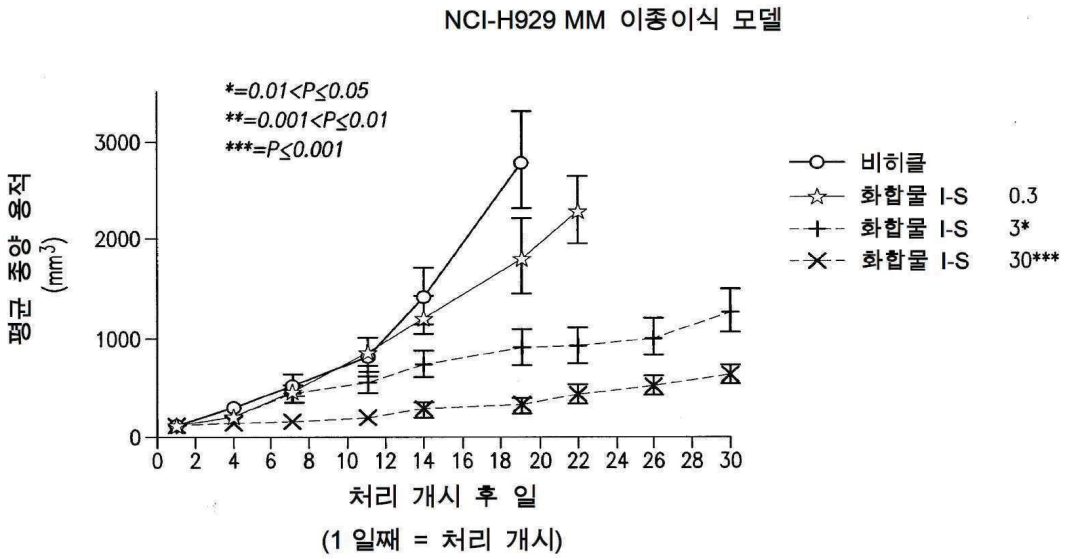
도면20


Rec-1 MCL 이종이식 모델
% 종양 성장 저해
평균 종양 용적 ± SEM (mm³)
엔드포인트
(-15%)
비히클
화합물 I 2mg/kg qd
화합물 I 20mg/kg qd
종양 세포 접종 후 일
% 종양 성장 지연
중간값 종양 용적 (mm³)
엔드포인트
3%
22%
비히클
화합물 I 2mg/kg qd
화합물 I 20mg/kg qd
종양 세포 접종 후 일

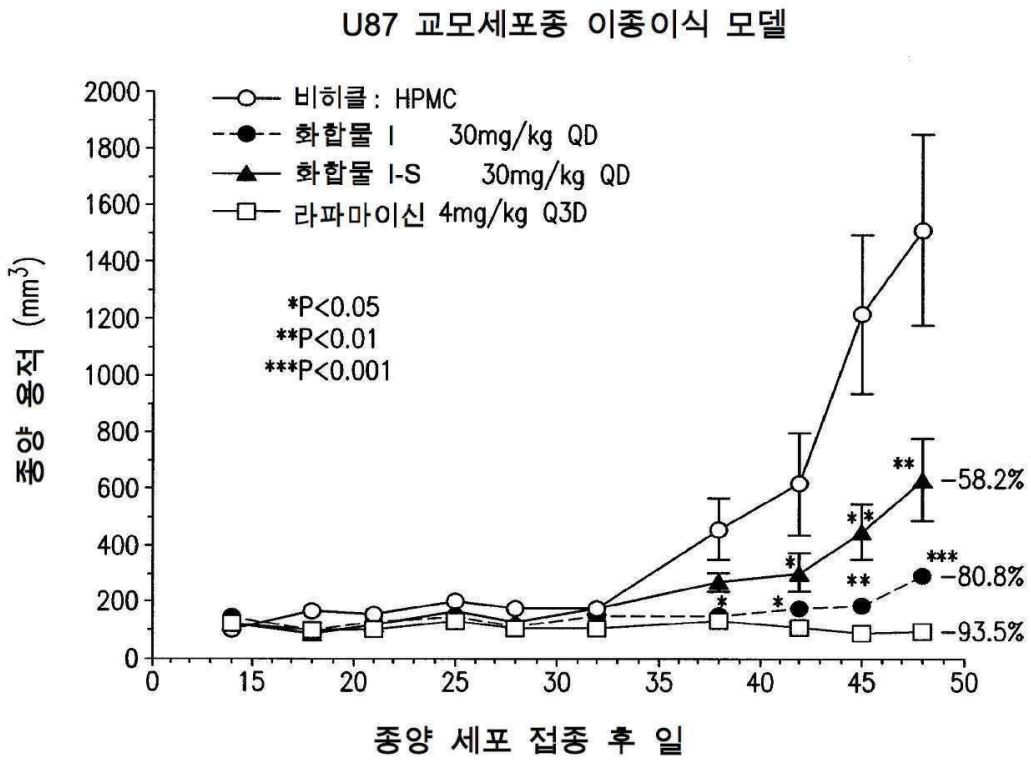
도면21a


NCI-H929 MM 이종이식 모델
*=0.01<P≤0.05
**=0.001<P≤0.01
***=P≤0.001
평균 종양 용적 (mm3)
3000
2000
1000
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
처리 개시 후 일
(1 일째 = 처리 개시)
비히클
Rev 0.3
Rev 3
Rev 30***
vincristine***
화합물 I 0.3
화합물 I 3.0**
화합물 I 30***
화합물 I-S 0.3
화합물 I-S 3*
화합물 I-S 30***
화합물 I-R 30*

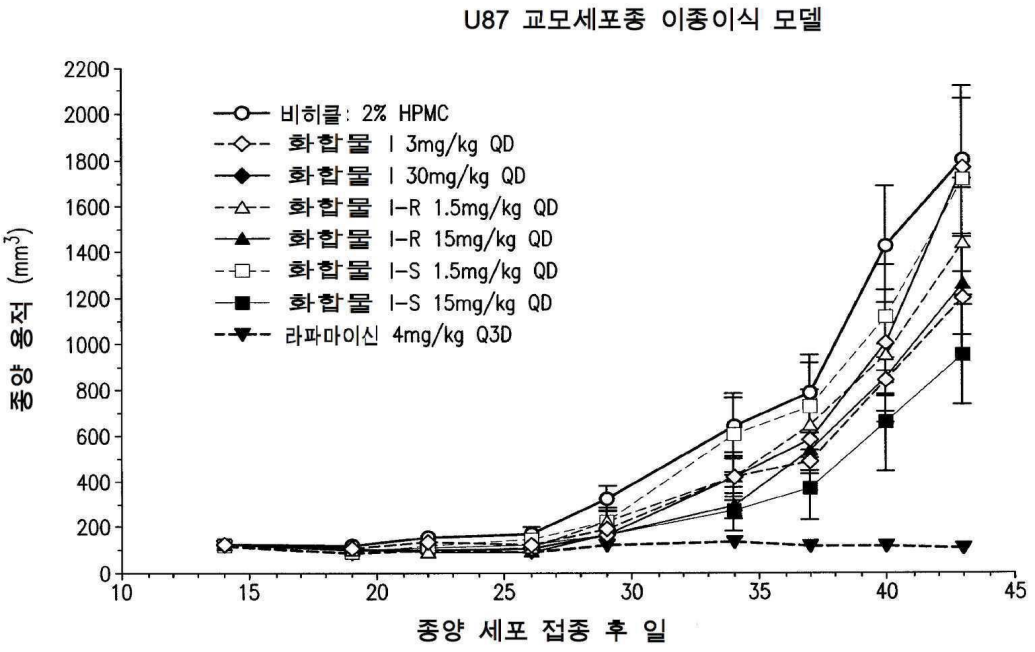
도면21b


NCI-H929 MM 이종이식 모델
*=0.01<P≤0.05
**=0.001<P≤0.01
***=P≤0.001
평균 종양 용적 (mm3)
3000
2000
1000
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
처리 개시 후 일
(1 일째 = 처리 개시)
비히클
화합물 I-S 0.3
화합물 I-S 3*
화합물 I-S 30***

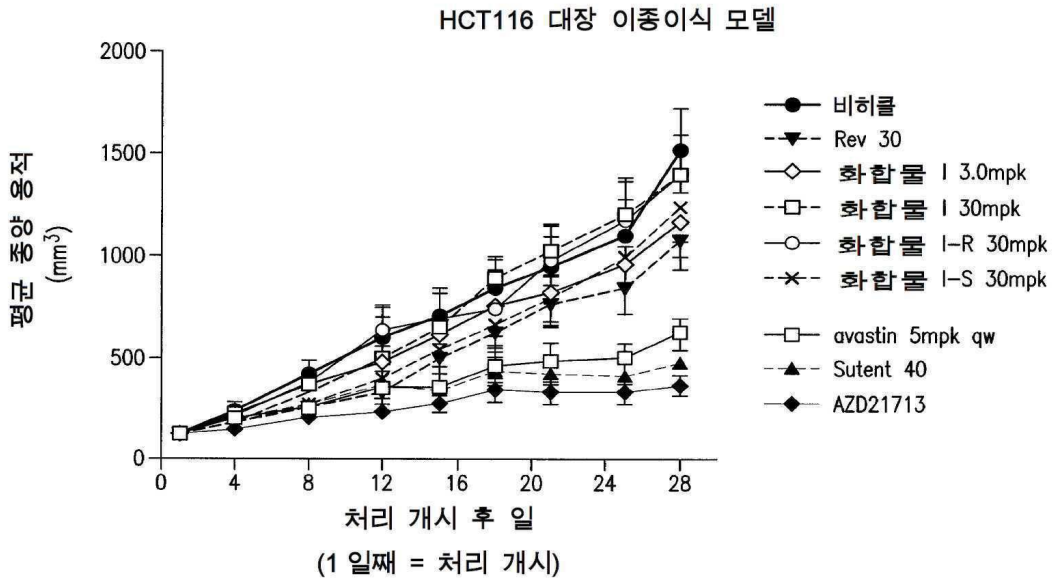
도면22a


U87 교모세포종 이종이식 모델
비히클: HPMC
화합물 I 30mg/kg QD
화합물 I-S 30mg/kg QD
라파마이신 4mg/kg Q3D
*P<0.05
**P<0.01
***P<0.001
-58.2%
-80.8%
-93.5%
종양 용적 (mm3)
종양 세포 접종 후 일

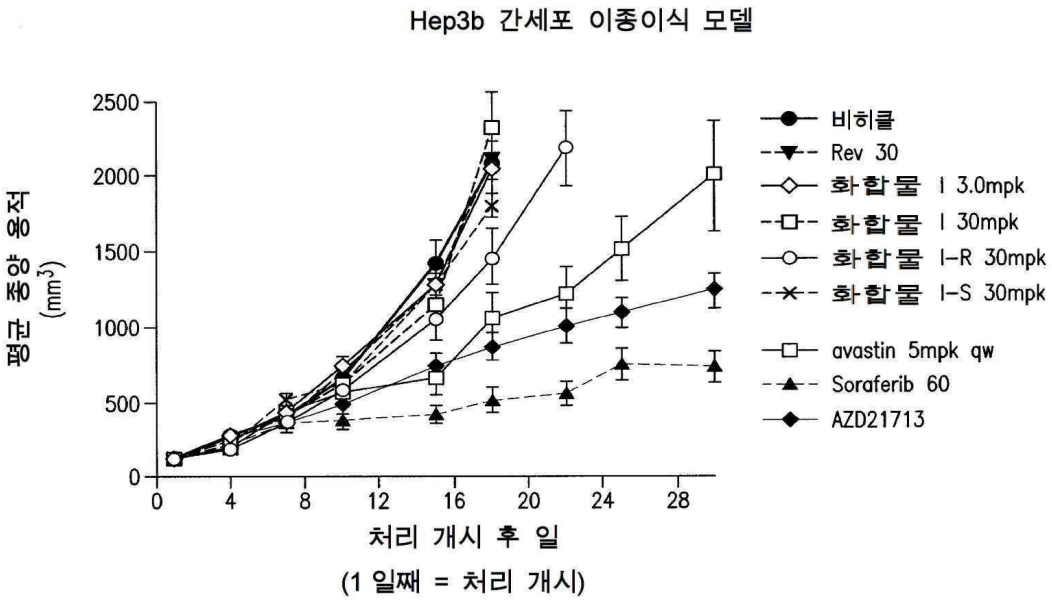
도면22b


U87 교모세포종 이종이식 모델
비히클: 2% HPMC
화합물 I 3mg/kg QD
화합물 I 30mg/kg QD
화합물 I-R 1.5mg/kg QD
화합물 I-R 15mg/kg QD
화합물 I-S 1.5mg/kg QD
화합물 I-S 15mg/kg QD
라파마이신 4mg/kg Q3D
종양 용적 (mm3)
종양 세포 접종 후 일

도면23


HCT116 대장 이종이식 모델
평균 종양 용적 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
4
8
12
16
20
24
28
처리 개시 후 일
(1 일째 = 처리 개시)
비히클
Rev 30
화합물 I 3.0mpk
화합물 I 30mpk
화합물 I-R 30mpk
화합물 I-S 30mpk
avastin 5mpk qw
Sutent 40
AZD21713

도면24


Hep3b 간세포 이종이식 모델
평균 종양 용적 (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
4
8
12
16
20
24
28
처리 개시 후 일
(1 일째 = 처리 개시)
비히클
Rev 30
화합물 I 3.0mpk
화합물 I 30mpk
화합물 I-R 30mpk
화합물 I-S 30mpk
avastin 5mpk qw
Soraferib 60
AZD21713

도면25

