



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0102105
(43) 공개일자 2018년09월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/519 (2006.01) *A61K 31/167* (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 31/167 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7021446

(22) 출원일자(국제) 2016년12월29일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2018년07월25일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/069161

(87) 국제공개번호 WO 2017/117372
국제공개일자 2017년07월06일

(30) 우선권주장
62/273,135 2015년12월30일 미국(US)

(71) 출원인
아지オス 파마슈티컬스 아이엔씨.
미국, 매사추세츠주 02139, 캠브릿지, 시드니 스트리트 88

(72) 발명자
시, 야구양
미국 02476 매사추세츠주 알링턴 호손 애비뉴 15
키년, 마리 씨.
미국 02021 매사추세츠주 캔턴 셔틀클리프 애비뉴
35

(74) 대리인
양영준, 이상남

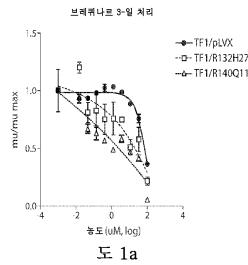
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 돌연변이체 이소시트레이트 테히드로제나제를 포함하고 있는 종양의 치료

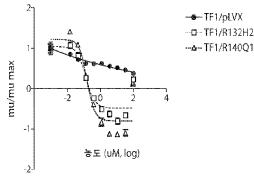
(57) 요 약

본 발명은 DHODH 억제제 또는 항대사물로 암 환자의 치료의 유효성을 예측하기 위한 진단 및 예후 방법을 제공한다. 종양 세포가 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질을 포함하며 그에 의해 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질을 포함하는 세포가 DHODH 억제제 및 항대사물에 의한 억제에 감수성인지 여부를 사정하는 것을 포함하는, DHODH 억제제 또는 항대사물에 의한 억제에 대한 종양 세포 성장의 감수성을 예측하는 방법이 제공된다.

대 표 도



도 1a



도 1b

(52) CPC특허분류

A61K 31/52 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C12Q 1/6886 (2018.05)

G01N 33/57496 (2013.01)

C12Q 2600/106 (2013.01)

C12Q 2600/156 (2013.01)

G01N 2333/904 (2013.01)

G01N 2800/52 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 돌연변이체 IDH 암을 치료하는 방법이며, 대상체에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 암에서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 검출하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 3

종양 세포의 생존 또는 증식이 상기 종양 세포를 항대사물 또는 DHODH 억제제와 접촉시킴으로써 억제될 수 있는지 여부를 결정하는 방법이며, 상기 종양 세포에서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 상기 종양 세포의 생존 또는 증식이 항대사물 또는 DHODH 억제제에 의해 억제될 수 있다는 것을 나타내는 것인 방법.

청구항 4

종양 세포를 특징화하는 방법이며, 상기 종양 세포에서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 상기 종양 세포의 생존 또는 증식이 항대사물 또는 DHODH 억제제에 의해 억제될 수 있다는 것을 나타내는 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 돌연변이체 IDH가 IDH1 단백질 또는 유전자의 돌연변이인 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 돌연변이가 G97D, R132H, R132C, R132L, R132V, R132S 및 R132G로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 돌연변이체 IDH가 IDH2 단백질 또는 유전자의 돌연변이인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 돌연변이가 R140Q, R140W, R140L, R172K 및 R172G로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 항대사물이 아자티오프린, 6-메르캅토피린, 티오구아닌, 플루다라빈, 펜토스타틴 및 클라드리빈, 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 시타라빈, 6-아자우라실, 메토트렉세이트 또는 페메트렉세드인 방법.

청구항 10

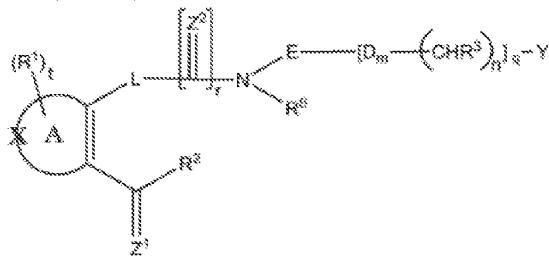
제9항에 있어서, 상기 항대사물이 메토트렉세이트인 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 DHODH 억제제가 브레퀴나르, 비도플루디무스, 레플루노미드 또는 테리플루노미드인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, DHODH 억제제가 하기 화학식의 화합물인 방법.



A는 방향족 또는 비-방향족 5- 또는 6-원 탄화수소 고리이며, 여기서 임의로 탄소 원자 중 1개 이상은 기 X에 의해 대체되며, 여기서 X는 독립적으로 S, O, NR⁴, SO₂ 및 SO로 이루어진 군으로부터 선택되고;

L은 단일 결합 또는 NH이고;

D는 O, S, SO₂, NR⁴, 또는 CH₂이고;

Z¹은 O, S, 또는 NR⁵이고;

Z²는 O, S, 또는 NR⁵이고;

R¹은 독립적으로 H, 할로겐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, -CO₂R", -SO₃H, -OH, -CONR⁸R", -CR⁹O, -SO₂-NR⁸R", -NO₂, -SO₂-R", -SO-R^{*}, -CN, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, 아릴, -NR"-CO₂-R', -NR"-CO-R^{*}, -NR"-SO₂-R', -O-CO-R^{*}, -O-CO₂-R", -O-CO-NR⁸R", 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 알카닐아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 히드록시알카닐아미노, 히드록시알케닐아미노, 히드록시알키닐아미노, -SH, 헤테로아릴, 알카닐, 알케닐 또는 알키닐을 나타내고;

R⁸는 독립적으로 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤�테로시클로알킬, 아미노알카닐, 아미노알케닐, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, -OH, -SH, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, 히드록시알카닐, 히드록시알케닐, 히드록시알키닐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 아릴 또는 헤�테로아릴을 나타내고; R'는 독립적으로 H, -CO₂R", -CONR⁸R", -CR⁹O, -SO₂NR", -NR"-CO-할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, -NR"-SO₂-할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, -NR"-SO₂-알카닐, -NR"-SO₂-알케닐, -NR"-SO₂-알키닐, -SO₂-알카닐, -SO₂-알케닐, -SO₂-알키닐, -NR"-CO-알카닐, -NR"-CO-알케닐, -NR"-CO-알키닐, -CN, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤�테로시클로알킬, 아미노알카닐, 아미노알키닐, 알카닐아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 시클로알킬옥시, -OH, -SH, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, 히드록시알카닐, 히드록시알케닐, 히드록시알키닐, 히드록시알카닐아미노, 히드록시알케닐아미노, 히드록시알키닐아미노, 할로겐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 아릴, 아르알킬 또는 헤�테로아릴을 나타내고;

R"는 독립적으로 수소, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 히드록시알카닐, 히드록시알케닐, 히드록시알키닐, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 아미노알카닐, 아미노알케닐 또는 아미노알키닐을 나타내고;

R'''는 독립적으로 H 또는 알카닐을 나타내고;

R²는 H 또는 OR⁶, NHR⁷, NR⁷OR⁷이거나;

또는 R^2 는 R^8 에 부착되어 있는 질소 원자와 함께 5 내지 7 원, 바람직하게는 5 또는 6 원 헤테로시클릭 고리를 형성하며, 여기서 R^2 는 $-[CH_2]_s$ 이고 R^8 은 부재하고;

R^3 은 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, -0-아릴; -0-시클로알킬, -0-헤테로시클로알킬, 할로겐, 아미노알카닐, 아미노알케닐, 아미노알키닐, 알카닐아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 히드록실아미노, 히드록실알카닐, 히드록실알케닐, 히드록실알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 헤테로아릴, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, -S-아릴; -S-시클로알킬, -S-헤테로시클로알킬, 아르알킬, 할로알카닐, 할로알케닐 또는 할로알키닐이고;

R^4 는 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고;

R^5 는 H, OH, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 0-아릴, 알카닐, 알케닐, 알키닐 또는 아릴이고;

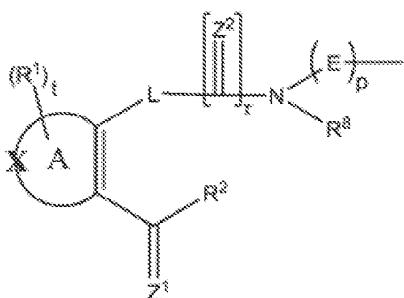
R^6 은 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 알카닐옥시알카닐, 알카닐옥시알케닐, 알카닐옥시알키닐, 알케닐옥시알카닐, 알케닐옥시알케닐, 알키닐옥시알카닐, 알키닐옥시알케닐, 알키닐옥시알키닐, 아실알카닐, (아실옥시)알카닐, (아실옥시)알케닐, (아실옥시)알키닐 아실, 비대칭 (아실옥시)알카닐디에스테르, 비대칭 (아실옥시)알케닐디에스테르, 비대칭 (아실옥시)알키닐디에스테르, 또는 디알카닐포스페이트, 디알케닐포스페이트 또는 디알키닐포스페이트이고;

R^7 은 H, OH, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 아릴, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, -0-아릴, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, -0-시클로알킬, 또는 -0-헤테로시클로알킬이고;

R^8 은 H, 알카닐, 알케닐 또는 알키닐이고;

E는 알카닐, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로시클로알킬 또는 시클로알킬 기 또는 융합된 비시클릭 또는 트리시클릭 고리 시스템이며, 여기서 1개의 페닐 고리는 1 또는 2개의 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리 또는 1개의 비시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리에 융합되거나, 또는 여기서 2개의 페닐 고리는 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리에 융합되며, 여기서 모노시클릭 및 비시클릭 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬 고리는 본원에 정의된 바와 같고, 여기서 상기 언급된 모든 기는 1개 이상의 치환기 R' 로 임의로 치환될 수 있고;

Y는 H, 할로겐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로시클로알킬 또는 시클로알킬 기 또는 융합된 비시클릭 또는 트리시클릭 고리 시스템이며, 여기서 1개의 페닐 고리는 1 또는 2개의 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리 또는 1개의 비시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리에 융합되거나, 또는 여기서 2개의 페닐 고리는 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리에 융합되고, 여기서 상기 언급된 모든 기는 1개 이상의 치환기 R' 로 임의로 치환될 수 있거나, 또는 Y는 하기이고:



m은 0 또는 1이고;

n은 0 또는 1이고;

p는 0 또는 1이고;

q는 0 또는 1이고;

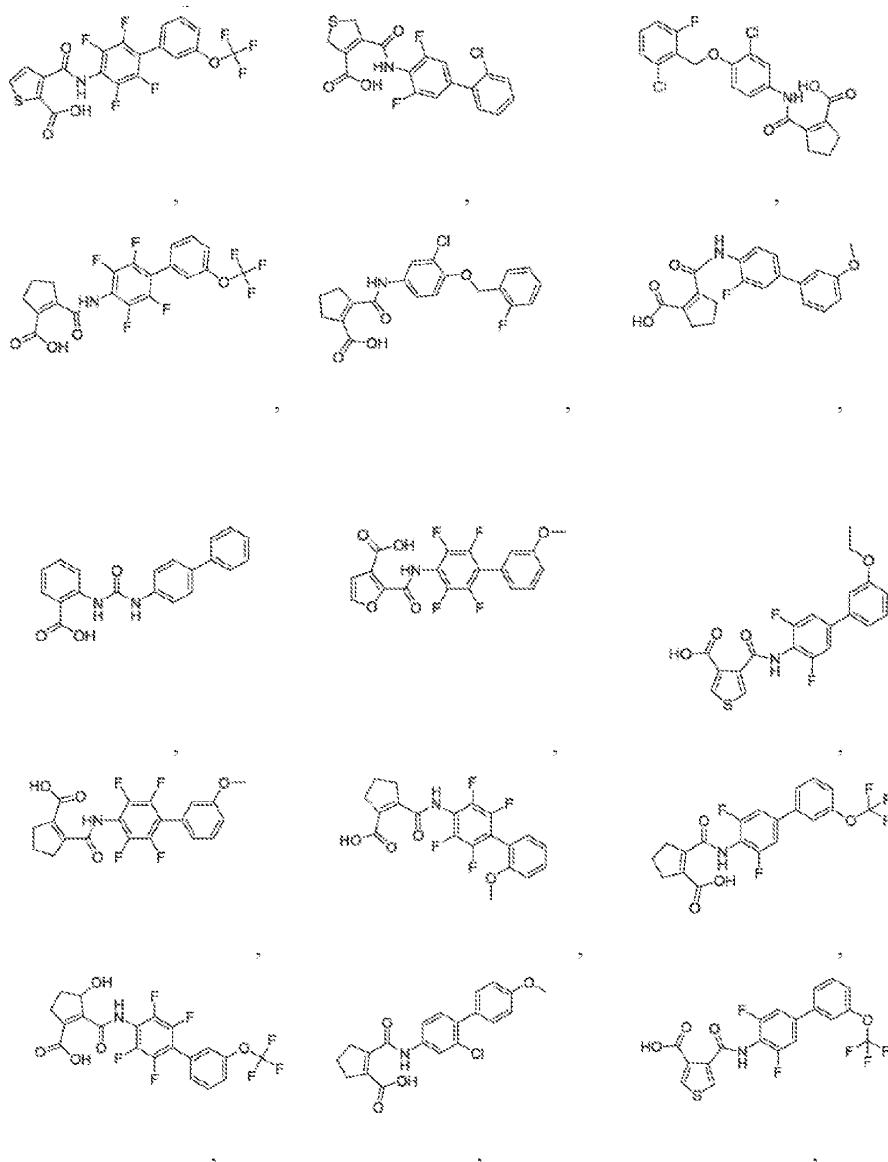
r은 0 또는 1이고;

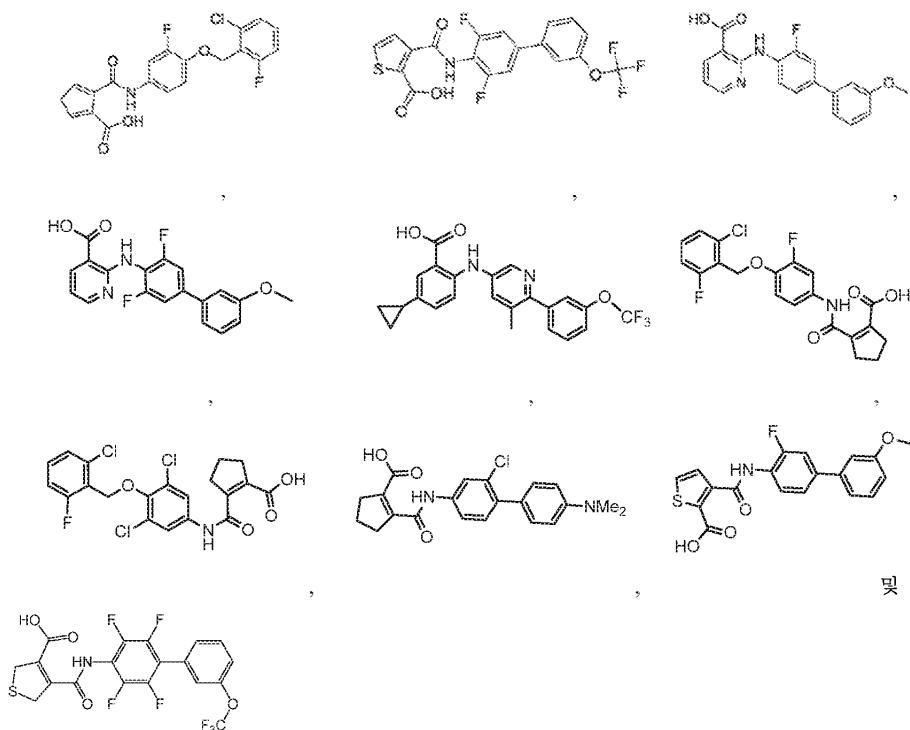
s는 0 내지 2 이고;

t는 0 내지 3이다.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 화합물이 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.





청구항 14

돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질을 검출하기 위한 시약, 및 치료 유효량의 항대사물 화합물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 돌연변이체 IDH가 IDH1 단백질 또는 유전자의 돌연변이인 키트.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 돌연변이가 G97D, R132H, R132C, R132L, R132V, R132S 및 R132G로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환인 키트.

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 돌연변이체 IDH가 IDH2 단백질 또는 유전자의 돌연변이인 키트.

청구항 18

제17항에 있어서, 돌연변이가 R140Q, R140W, R140L, R172K 및 R172G로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환인 키트.

청구항 19

제14항에 있어서, 상기 시약이 돌연변이체 IDH 단백질에 특이적인 항체를 포함하는 것인 키트.

청구항 20

제14항에 있어서, 돌연변이체 IDH 유전자를 서열분석 또는 증폭시키기 위한 시약을 포함하는 키트.

청구항 21

제14항에 있어서, 상기 시약이 PCR에 의해 돌연변이체 IDH 유전자를 검출하는 것인 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 우선권 주장

본 출원은 2015년 12월 30일자로 출원된, U.S.S.N. 62/273,135로부터의 우선권을 주장하며, 그 전문은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

본 발명은 암 환자를 치료 및 진단하는 방법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 환자가 항대사를 또는 DHODH 억제제로의 치료로부터 이익을 얻을 것인지를 결정하는 방법에 관한 것이다.

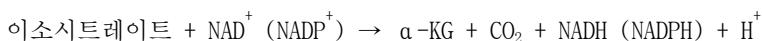
배경기술

[0005] 이소시트레이트 데히드로제나제 (IDH)는 이소시트레이트의 2-옥소글루타레이트 (즉, α -케토글루타레이트)로의 산화성 탈카르복실화를 촉매한다. 이를 효소는 2가지 별개의 하위 부류에 속하며, 이를 중 한 부류는 전자 수용자로서 NAD(+)를 활용하고 다른 부류는 NADP(+)를 활용한다. 5종의 이소시트레이트 데히드로제나제가 보고되어 있다: 미토콘드리아 매트릭스에 국재화된 3종의 NAD(+)의존성 이소시트레이트 데히드로제나제, 및 2종의 NADP(+)의존성 이소시트레이트 데히드로제나제, 이를 중 하나는 미토콘드리아성이고 다른 하나는 주로 시토졸 성임. 각각의 NADP(+)의존성 동종효소는 동종이량체이다.

[0006] IDH1 (이소시트레이트 데히드로제나제 1 (NADP+), 시토졸성)은 IDH; IDP; IDCD; IDPC 또는 PICD로도 알려져 있다. 이러한 유전자에 의해 코딩된 단백질은 세포질 및 페옥시솜에서 발견된 NADP(+)의존성 이소시트레이트 데히드로제나제이다. 이는 PTS-1 페옥시솜 표적화 신호 서열을 함유한다. 페옥시솜에서의 이러한 효소의 존재는 페옥시솜내 환원을 위한 NADPH의 재생, 예컨대 2,4-디에노일-CoA의 3-에노일-CoA로의 전환에서의, 뿐만 아니라 2-옥소글루타레이트를 소모하는 페옥시솜 반응, 즉 피탄산의 알파-히드록실화에서의 역할을 시사한다. 세포질 효소는 세포질 NADPH 생성에서 유의한 역할을 한다. 인간 IDH1 유전자는 414개 아미노산의 단백질을 코딩한다. 인간 IDH1에 대한 뉴클레오티드 및 아미노산 서열은 각각 진뱅크(GenBank) 목록 NM_005896.2 및 NP_005887.2로서 발견될 수 있다. IDH1에 대한 뉴클레오티드 및 아미노산 서열은 또한 예를 들어 문헌 [Nekrutenko *et al.*, Mol. Biol. Evol. 15:1674-1684(1998); Geisbrecht *et al.*, J. Biol. Chem. 274:30527-30533(1999); Wiemann *et al.*, Genome Res. 11:422-435(2001); The MGC Project Team, Genome Res. 14:2121-2127(2004); Lubec *et al.*, Submitted (DEC-2008) to UniProtKB; Kullmann *et al.*, Submitted (JUN-1996) to the EMBL/GenBank/DDBJ databases; 및 Sjoebloem *et al.*, Science 314:268-274(2006)]에 기재되어 있다.

[0007] IDH2 (이소시트레이트 데히드로제나제 2 (NADP+), 미토콘드리아성)는 또한 IDH; IDP; IDHM; IDPM; ICD-M; 또는 mNADP-IDH로도 알려져 있다. 이러한 유전자에 의해 코딩된 단백질은 미토콘드리아에서 발견된 NADP(+)의존성 이소시트레이트 데히드로제나제이다. 이는 중간 대사 및 에너지 생산에서 역할을 한다. 이러한 단백질은 피루 베이트 데히드로제나제 복합체와 치밀하게 결합하거나 또는 상호작용할 수 있다. 인간 IDH2 유전자는 452개 아미노산의 단백질을 코딩한다. IDH2에 대한 뉴클레오티드 및 아미노산 서열은 각각 진뱅크 목록 NM_002168.2 및 NP_002159.2로서 발견될 수 있다. 인간 IDH2에 대한 뉴클레오티드 및 아미노산 서열은 또한 예를 들어 문헌 [Huh *et al.*, Submitted (NOV-1992) to the EMBL/GenBank/DDBJ databases; and The MGC Project Team, Genome Res. 14:2121-2127(2004)]에 기재되어 있다.

[0008] 비-돌연변이체, 예를 들어, 암생형 IDH1 및 IDH2는 이소시트레이트의 α -케토글루타레이트로의 산화성 탈카르복실화를 촉매하여, 그에 의해, 예를 들어, 정반응으로 NAD^+ (NADP^+)를 NADH (NADPH)로 환원시킨다:



[0010] 특정 암 세포에 존재하는 IDH1 및 IDH2의 돌연변이는 α -케토글루타레이트의 R(-)-2-히드록시글루타레이트 (2HG)로의 NAPH-의존성 환원을 촉매하는 효소의 새로운 능력을 유발하는 것으로 발견된 바 있다. 2HG의 생산은 암의 형성 및 진행에 기여하는 것으로 여겨진다 (Dang, L *et al.*, Nature 2009, 462:739-44).

[0011] 디히드로오로테이트 데히드로제나제 (DHODH)는 인간에서 염색체 16 상의 DHODH 유전자에 의해 코딩되는 효소이다. 이러한 유전자에 의해 코딩된 단백질은 신생 피리미딘 생합성에서, 제4 효소적 단계, 디히드로오로테이트의 오로테이트로의 유비퀴논-매개 산화를 촉매한다. 이러한 단백질은 내부 미토콘드리아 막 (IMM)의 외부 표면 상에 위치된 미토콘드리아 단백질이다. DHODH는 보조인자 함량, 올리고머 상태, 세포하 국재화, 및 막 결합에

서 달라질 수 있다. 이들 DHODH 변이체의 전체 서열 정렬은 DHODH의 2개의 클래스: 시토졸 클래스 1 및 막-결합된 클래스 2를 제시한다. 클래스 1 DHODH에서, 염기성 시스테인 잔기는 산화 반응을 촉매하는 반면, 클래스 2에서, 세린은 이러한 촉매적 기능으로 역할을 한다. 구조적으로, 클래스 1 DHODH는 또한 2개의 서브클래스로 나뉘질 수 있으며, 이들 중 하나는 동종이량체를 형성하고 그의 전자 수용자로서 푸마레이트를 사용하고, 이들 중 다른 하나는 이종사량체를 형성하고 그의 전자 수용자로서 NAD⁺를 사용한다. 이러한 제2 서브클래스는 철-황 클러스터 및 플라빈 아데닌 디뉴클레오티드 (FAD)를 함유하는 부가 서브유닛 (PyrK)을 함유한다. 반면에, 클래스 2 DHODH는 그의 산화제에 대해 조효소 Q/유비퀴논을 사용한다. 고등 진핵생물에서, DHODH의 이러한 클래스는 약 30개 잔기의 양이온성, 양친매성 미토콘드리아 표적화 서열 및 소수성 막횡단 서열을 포함하는 N-말단 양분성 신호를 함유한다. 표적화 서열은, 아마도 유입 장치를 동원하고 내부 및 외부 미토콘드리아 막을 가로질러 $\Delta \Psi$ -구동된 수송을 매개하는 것으로부터, IMM에 대한 이러한 단백질의 국제화를 담당하는 반면, 막횡단 서열은 IMM으로의 그의 삽입에 필수적이다. 이러한 서열은 짧은 루프에 의해 연결되는 한 쌍의 α -헬릭스, $\alpha 1$ 및 $\alpha 2$ 에 인접한다. 함께, 이러한 쌍은 C-말단에서 FMN 결합 캐비티와 접합하여, 유비퀴논에 대한 삽입 부위로서 역할을 하는 것으로 시사된 소수성 편넬을 형성한다. 2개의 말단 도메인은 연장된 루프에 의해 직접적으로 연결된다. C-말단 도메인은 2개 중 더 큰 것이고 8개의 α 헬릭스에 의해 둘러싸인 8개의 평행한 β -가닥의 코어를 갖는 보존된 α/β -배럴 구조로 폴딩된다.

발명의 내용

- [0012] 본 발명은 대상체에서 IDH 돌연변이의 존재를 특징으로 하는 암을 치료하는 방법이며, 대상체에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0013] 본 발명은 종양 세포의 생존 또는 증식이 상기 종양 세포를 항대사물 또는 DHODH 억제제와 접촉시킴으로써 억제될 수 있는지 여부를 결정하는 방법이며, 상기 종양 세포에서 IDH의 상태를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 IDH 돌연변이의 존재는 상기 종양 세포의 성장 또는 증식이 항대사물 또는 DHODH 억제제에 의해 억제될 수 있다는 것을 나타내는 것인 방법을 제공한다.
- [0014] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 세포를 특징화하는 방법이며, 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 돌연변이된 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 상기 종양 세포의 생존 또는 증식이 항대사물 또는 DHODH 억제제에 의해 억제될 수 있다는 것을 나타내는 것인 방법을 제공한다.
- [0015] 또 다른 측면에서, 본 발명은 항대사물 또는 DHODH 억제제에 대한 종양의 반응성을 결정하는 방법이며, 상기 종양의 샘플에서 돌연변이된 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 돌연변이된 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 상기 종양이 항대사물 또는 DHODH 억제제에 대해 반응성이라는 것을 나타내는 것인 방법을 제공한다.
- [0016] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 샘플에서 돌연변이된 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 측정하기 위한 시약을 포함하며, 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것에 대한 지침서를 추가로 포함하는 키트를 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1a 및 1b는 DHODH 억제제 브레퀴나르로의 3-일 처리 (도 1a) 및 7-일 처리 (도 1b) 후의 IHD 야생형 (원형), 돌연변이체 IDH1 R132H (사각형) 및 돌연변이체 IDH2 R140Q (삼각형) TF1 세포의 증식의 선 그래프를 도시한다. 브레퀴나르는 돌연변이체 IDH1 (R132H) 및 돌연변이체 IDH2 (R140Q) 세포주를 각각 1.3 μ M 및 1.6 μ M의 IC₅₀으로 억제하였다.

도 2a는 브레퀴나르 처리된 TF1 세포에서의 ATP 배수-변화 (제0일 대비 제3일)로서 표현된 대사 활성에서의 하락이 돌연변이체 IDH1 및 돌연변이체 IDH2 세포에서 8 μ M의 농도로 3-일 우리던 보충에 의해 구출되었다는 것을 예시한다.

도 2b는 대사 활성에서의 하락이 mIDH1 및 mIDH2 세포에서 1,000 μ M의 농도로 우리던에 의해 구출되었다는 것을 예시한다.

도 3은 메토트렉세이트 처리된 TF1 세포에서의 ATP 배수-변화 (제0일 대비 제3일)로 표현된 대사 활성에서의 하락을 예시한다. 대사 활성은 3-일 폴린산 보충으로 mIDH1 및 mIDH2 TF1 세포에서 구출되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018]

돌연변이체 IDH1 또는 돌연변이체 IDH2를 포함하고 있는 적백혈병 TF1 세포주의 대사 프로파일링은 퓨린 및 피리미딘 중간체의 수준에서 대략 5배 감소를 나타내었으며, 이는 돌연변이체 IDH1 또는 돌연변이체 IDH2가 항대사물 화합물 및 DHODH 억제제에 의한 억제에 예상외의 감수성을 제시한다는 발견으로 이어진다. 이러한 관찰은 종양 성장에 대한 항대사물 화합물 및 DHODH 억제제의 효과를 예측하기 위한 가치있는 새로운 진단 방법의 기초를 형성하고, 종양학자에게 그들이 그들의 환자에 대한 가장 적절한 치료를 선택하는데 도움이 되는 추가적인 도구를 제공한다.

[0019]

따라서, 본 발명은 대상체에서 돌연변이체 IDH 암을 치료하는 방법이며, 대상체에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 특징으로 하는 암을 치료하는 방법이며, 대상체에게 치료 유효량의 항대사물 화합물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0020]

본 발명의 또 다른 측면에서, 암 세포의 생존 또는 증식이 상기 암 세포를 항대사물 또는 DHODH 억제제와 접촉시킴으로써 억제될 수 있는지 여부를 결정하는 방법이며, 상기 종양 세포에서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 상기 암 세포의 생존 또는 증식이 항대사물 또는 DHODH 억제제에 의해 억제될 수 있다는 것을 나타내는 것인 방법을 제공한다. 본 발명의 또 다른 측면에서, 암 세포를 특징화하는 방법이며, 상기 암 세포에서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 상기 암 세포의 생존 또는 증식이 항대사물 또는 DHODH 억제제에 의해 억제될 수 있다는 것을 나타내는 것인 방법이 제공된다.

[0021]

본 발명의 또 다른 측면에서, 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 특징으로 하는 암 세포의 증식 또는 생존을 억제하는 방법이며, 상기 암 세포를 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제와 접촉시키는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 환자에서 종양을 진단하는 방법이며, 상기 종양의 샘플에서 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 결정하고, 상기 환자에게 치료상 허용되는 양의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0022]

특정한 실시양태에서, 암은 돌연변이체 IDH1 유전자 또는 단백질의 존재를 특징으로 한다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH1 단백질은 잔기 G97에서의 아미노산 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH1 유전자는 잔기 G97에서의 아미노산 치환을 포함하는 단백질을 코딩한다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 G97D이다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH1 단백질은 아미노산 잔기 R132에서의 치환을 포함한다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R132D이다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH1 유전자는 아미노산 잔기 R132에서의 치환을 포함하는 단백질을 코딩한다. 한 실시양태에서, 아미노산 치환은 R132H, R132C, R132L, R132V, R132S 및 R132G로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R132H이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R132C이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R132L이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R132V이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R132S이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R132G이다.

[0023]

특정한 실시양태에서, 암은 돌연변이체 IDH2 유전자 또는 단백질의 존재를 특징으로 한다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH2 단백질은 잔기 R140에서의 아미노산 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH2 유전자는 잔기 R140에서의 아미노산 치환을 포함하는 단백질을 코딩한다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R140Q, R140W 또는 R140L이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R140Q이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R140W이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R140L이다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH2 단백질은 아미노산 잔기 R172에서의 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH1 유전자는 아미노산 잔기 R172에서의 치환을 포함하는 단백질을 코딩한다. 한 실시양태에서, 아미노산 치환은 R172K 또는 R172G로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R172K이다. 한 실시양태에서 아미노산 치환은 R172G이다.

[0024]

"항대사물"은 대사물의 사용을 억제하는 화학물질을 의미하며, 이는 정상 세포 대사의 일부인 화학물질이다. 이러한 물질은 그들이 방해하는 대사물, 예컨대 종종 폴산의 사용을 방해하는 항폴레이트와 구조가 유사하다. 본 발명에서, 항대사물은 세포에 대한 독성 효과를 갖고, 예컨대 세포 정상 및 세포 분열을 중단시키고, 따라서 암에 대한 화학요법으로서 유용하다. 특정한 항대사물은 퓨린 유사체 (아자티오프린, 6-메르캅토퓨린, 티오피린 예컨대 티오구아닌, 플루다라빈, 펜토스티atin 및 클라드리빈), 피리미딘 유사체 (예컨대 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 시타라빈, 6-아자우라실), 뉴클레오시드 유사체, 변경된 핵염기를 갖는 뉴클레오시드, 변경된 당

구성성분을 갖는 뉴클레오시드, 뉴클레오티드 유사체 및 항폴레이트 (예컨대 메토트렉세이트 및 페메트렉세드)를 포함한다. 특정한 실시양태에서, 항대사물은 디히드로폴레이트 리덕타제 억제제이다. 특정한 실시양태에서, 항대사물은 메토트렉세이트이다. 본 발명의 방법의 특정한 실시양태에서, 항대사물 및 DHODH 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여된다.

[0025]

포유동물에서의 "암"은 암의 전형적인 특징, 예컨대 비체어된 증식, 불멸성, 전이성 잠재력, 빠른 성장 및 증식 속도, 및 특정의 특징적인 형태학적 특색을 보유하는 세포의 존재를 지칭한다. 용어 암 및 종양은 본원에 상호 교환가능하게 사용된다. 종종, 암 세포는 고형 종양 형태일 것이지만, 이러한 세포는 동물 내에 단독으로 존재 할 수 있거나, 또는 혈류에서 독립적 세포, 예컨대 백혈병성 세포로서 순환할 수 있다. 한 실시양태에서, 암은 디히드로오로테이트의 감소된 수준을 추가로 특정으로 한다. 본 발명의 방법에서, 암 세포는 임의의 조직 유형, 예를 들어, 담관암종, 퀘장, 폐, 방광, 유방, 식도, 결장, 난소일 수 있다. 또 다른 실시양태에서 암은 교모세포종 (신경교종), 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 신생물 (MPN), 급성 골수 백혈병 (AML), 육종, 흑색종, 비소세포 폐암, 연골육종, 담관암종 및 혈관면역모세포성 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서 암은 신경교종, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 신생물 (MPN), 급성 골수 백혈병 (AML), 흑색종, 연골육종, 또는 혈관면역모세포성 비-호지킨 림프종 (NHL)이다. 암은 바람직하게는 항대사물 또는 DHODH 억제제의 투여에 의해, 부분적으로 또는 완전히, 치료가능한 임의의 암이다. 암은, 예를 들어, 폐암, 비소세포 폐 (NSCL) 암, 세기관지폐포 세포 폐암, 골암, 퀘장암, 피부암, 두부 또는 경부 암, 피부 또는 안내 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부암, 위장암, 위암, 결장암, 유방암, 자궁암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 방광암, 신장 또는 요관 암, 신세포 암종, 신우 암종, 중피종, 간세포성암, 담도암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구성 림프종, 중추 신경계 (CNS)의 신생물, 척수축 종양, 뇌간 신경교종, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 슈반세포종, 상의세포종, 수모세포종, 수막종, 편평 세포 암종, 뇌하수체 선종, 예컨대 임의의 상기 암의 불응성 버전, 또는 상기 암 중 하나 이상의 조합일 수 있다. 전암성 병태 또는 병변은, 예를 들어, 경구 백색판증, 광선 각광증 (일광 각광증), 결장 또는 직장의 전암성 폴립, 위 상피 이형성증, 선종성 이형성증, 유전성 비폴립증 결장암 증후군 (HNPCC), 바렛 식도, 방광 이형성증, 및 전암성 자궁경부 병태로 이루어진 군을 포함한다.

[0026]

본원에 사용된 바와 같은 용어 "치료하는"은, 달리 나타내지 않는 한, 환자에서 종양의 성장, 종양 전이, 또는 다른 암-유발 또는 신생물성 세포를, 부분적으로 또는 완전히, 반전, 완화, 진행 억제, 또는 방지하는 것을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "치료"는, 달리 나타내지 않는 한, 치료하는 작용을 지칭한다. "암을 치료하는 방법"은 동물에서 암 세포의 수를 줄이거나 제거하도록, 또는 암의 증상을 완화하도록 디자인된 작용의 절차 또는 과정을 지칭한다.

[0027]

용어 "유효량" 또는 "유효한 양"은 추구하는 조직, 계 또는 동물 예를 들어 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 도출할 항대사물 또는 DHODH 억제제 화합물 또는 또 다른 약물과의 조합물의 양을 의미한다. 한 실시양태에서, 반응은 종양 부피 또는 시간 경과에 따른 종양 부피의 증가율의 억제, 예를 들어, 정적 부피 또는 감소된 부피이다. 또 다른 실시양태에서, 유효량은 암 세포의 수를 감소시키거나 또는 암 세포의 수의 증가율을 감소시키는 항대사물 또는 DHODH 억제제의 양이다. 또 다른 실시양태에서, 유효량은 암 세포의 적어도 일부의 분화, 예를 들어, 혈액 종양에서 미분화된 모세포의 기능적 호중구로의 전환을 야기하기에 충분한 항대사물 또는 DHODH 억제제의 양이다. 치료 유효량은 암 세포가 전적으로 제거되거나, 또는 세포의 수가 0으로 또는 검출 불가능하도록 감소되거나, 또는 암의 증상이 완전히 완화되는 것을 반드시 의미하는 것은 아니다.

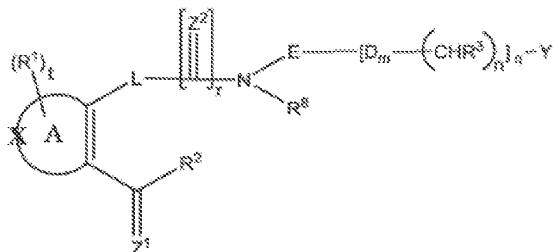
[0028]

종양 또는 종양 세포에서의 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 표준 기술, 예를 들어, 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용하고 항체 예를 들어 이뮤노블롯 분석에서 종양 세포주 또는 원발성 종양 시편으로부터 단리된 (야생형 IDH 단백질 대비) 돌연변이체 IDH 단백질에 특이적인 폴리클로날 항혈청의 사용으로 결정될 수 있다. 대안적으로, 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는 종양대사물 2-히드록시글루타레이트 (2HG)의 수준을 측정함으로써 결정될 수 있다. 2HG는 직접적으로 조직으로부터 또는 분광기로, 예를 들어, 자기 공명 분광분석법 (MRS)에 의해 측정될 수 있다. 한 실시양태에서, 대상체는 MRS에 적용되고, 평가는, 자기 공명에 의해 결정된 바와 같이, 2HG, 예를 들어, R-2HG에 상관된 또는 상응하는 피크의 존재 또는 상승된 양을 평가하는 것을 포함한다. 예를 들어, 종양 세포, 종양 샘플 또는 종양을 갖는 것으로 의심되는 환자는 약 2.5 ppm에서의 신호의 존재 및/또는 강도에 대해 분석되어 2HG의 존재 및/또는 양이 결정될 수 있다. 2HG의 상승된 수준은 종양 세포 또는 종양이 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질을 포함하고 있다는 것을 나타낸다.

[0029]

"DHODH 억제제"는 디히드로오로테이트를 오로테이트로 전환시키는데 있어서 DHODH의 정상 효소적 기능을 억제하

는 화합물을 의미한다. 대안적으로, DHODH 억제제는 DHODH 유전자의 전사 또는 번역을 억제한다. 특정한 실시양태에서, DHODH 억제제는, 예를 들어, DHODH 핵산 (즉, DNA 또는 mRNA)에 결합하고 그를 억제함으로써 DHODH 유전자 발현 또는 생성물 활성을 억제하는 올리고뉴클레오티드이다. 특정한 실시양태에서, DHODH 억제제는 올리고뉴클레오티드 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오티드, shRNA, siRNA, 마이크로RNA 또는 암타머이다. 한 실시양태에서 DHODH 억제제는 DHODH 효소적 기능에 결합하고 그를 조정하는 소분자이다. DHODH 억제제의 예는 브레퀴나르, 비도플루디무스, 레플루노미드 및 테리플루노미드를 포함한다. 특정한 실시양태에서, DHODH 억제제는 브레퀴나르이다. 한 실시양태에서, DHODH 억제제는 비도플루디무스이다. 한 실시양태에서, DHODH 억제제는 레플루노미드이다. 또 다른 실시양태에서, DHODH 억제제는 테리플루노미드이다. 또 다른 실시양태에서, DHODH 억제제는 하기 화학식의 화합물이다:



[0031] A는 방향족 또는 비-방향족 5- 또는 6-원 탄화수소 고리이며, 여기서 임의로 탄소 원자 중 1개 이상은 기 X에 의해 대체되며, 여기서 X는 독립적으로 S, O, NR⁴, SO₂ 및 SO로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0032] L은 단일 결합 또는 NH이고;

[0033] D는 O, S, SO₂, NR⁴, 또는 CH₂이고;

[0034] Z¹은 O, S, 또는 NR⁵이고;

[0035] Z²는 O, S, 또는 NR⁵이고;

[0036] R¹은 독립적으로 H, 할로겐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, -CO₂R", -SO₃H, -OH, -CONR⁸R", -CR⁹O, -SO₂-NR⁸R", -NO₂, -SO₂-R", -SO-R⁸, -CN, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, 아릴, -NR"-CO₂-R', -NR"-CO-R⁸, -NR"-SO₂-R', -O-CO-R⁸, -O-CO₂-R", -O-CO-NR⁸R", 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 알카닐아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 히드록시알카닐아미노, 히드록시알케닐아미노, 히드록시알카닐아미노, -SH, 헤테로아릴, 알카닐, 알케닐 또는 알키닐을 나타내고;

[0037] R⁸는 독립적으로 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤�테로시클로알킬, 아미노알카닐, 아미노알케닐, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, -OH, -SH, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, 히드록시알카닐, 히드록시알케닐, 히드록시알키닐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 아릴 또는 헤�테로아릴을 나타내고; R'는 독립적으로 H, -CO₂R", -CONR⁸R", -CR⁹O, -SO₂NR", -NR"-CO-할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, -NO₂, -NR"-SO₂-할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, -NR"-SO₂-알카닐, -NR"-SO₂-알케닐, -NR"-SO₂-알키닐, -SO₂-알카닐, -SO₂-알케닐, -SO₂-알키닐, -NR"-CO-알카닐, -NR"-CO-알케닐, -NR"-CO-알키닐, -CN, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤�테로시클로알킬, 아미노알카닐, 아미노알키닐, 알카닐아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 시클로알킬옥시, -OH, -SH, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, 히드록시알카닐, 히드록시알케닐, 히드록시알키닐, 히드록시알카닐아미노, 히드록시알케닐아미노, 히드록시알카닐아미노, 할로겐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 아릴, 아르알킬 또는 헤�테로아릴을 나타내고;

[0038] R"는 독립적으로 수소, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 히드록시알카닐, 히드록시알케닐,

히드록시알카닐, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아미노알카닐, 아미노알케닐 또는 아미노알키닐을 나타내고;

[0039] R'' 은 독립적으로 H 또는 알카닐을 나타내고;

[0040] R^2 은 H 또는 OR^6 , NHR^7 , NR^7OR^7 이거나;

[0041] 또는 R^2 는 R^8 에 부착되어 있는 질소 원자와 함께 5 내지 7 원, 바람직하게는 5 또는 6 원 헤테로시클릭 고리를 형성하며, 여기서 R^2 는 $-\text{[CH}_2\text{]}_s$ 이고 R^8 은 부재하고;

[0042] R^3 은 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, -O-아릴; -O-시클로알킬, -O-헤테로시클로알킬, 할로겐, 아미노알카닐, 아미노알케닐, 아미노알키닐, 알카닐아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 히드록실아미노, 히드록실알카닐, 히드록실알케닐, 히드록실알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 헤테로아릴, 알카닐티오, 알케닐티오, 알키닐티오, -S-아릴; -S-시클로알킬, -S-헤테로시클로알킬, 아르알킬, 할로알카닐, 할로알케닐 또는 할로알키닐이고;

[0043] R^4 는 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤�테로시클로알킬, 아릴 또는 헤�테로아릴이고;

[0044] R^5 는 H, OH, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, O-아릴, 알카닐, 알케닐, 알키닐 또는 아릴이고;

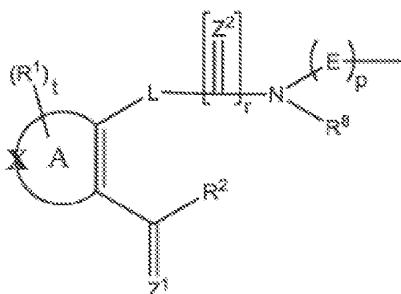
[0045] R^6 은 H, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 아르알킬, 알카닐옥시알카닐, 알카닐옥시알케닐, 알카닐옥시알키닐, 알케닐옥시알카닐, 알케닐옥시알케닐, 알키닐옥시알카닐, 알키닐옥시알케닐, 알키닐옥시알키닐, 아실알카닐, (아실옥시)알카닐, (아실옥시)알케닐, (아실옥시)알키닐 아실, 비대칭 (아실옥시)알카닐디에스테르, 비대칭 (아실옥시)알케닐디에스테르, 비대칭 (아실옥시)알키닐디에스테르, 또는 디알카닐포스페이트, 디알케닐포스페이트 또는 디알키닐포스페이트이고;

[0046] R^7 은 H, OH, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 아릴, 알카닐옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, -O-아릴, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, -O-시클로알킬, 또는 -O-헤테로시클로알킬이고;

[0047] R^8 은 H, 알카닐, 알케닐 또는 알키닐이고;

[0048] E는 알카닐, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤�테로아릴, 헤�테로시클로알킬 또는 시클로알킬 기 또는 융합된 비시클릭 또는 트리시클릭 고리 시스템이며, 여기서 1개의 페닐 고리는 1 또는 2개의 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리 또는 1개의 비시클릭 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬 고리에 융합되거나, 또는 여기서 2개의 페닐 고리는 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤�테로시클로알킬 고리에 융합되며, 여기서 모노시클릭 및 비시클릭 시클로알킬 및 헤�테로시클로알킬 고리는 본원에 정의된 바와 같고, 여기서 상기 언급된 모든 기는 1개 이상의 치환기 R' 로 임의로 치환될 수 있고;

[0049] Y는 H, 할로겐, 할로알카닐, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로알카닐옥시, 할로알케닐옥시, 할로알키닐옥시, 알카닐, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤�테로아릴, 헤�테로시클로알킬 또는 시클로알킬 기 또는 융합된 비시클릭 또는 트리시클릭 고리 시스템이며, 여기서 1개의 페닐 고리는 1 또는 2개의 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤�테로시클로알킬 고리 또는 1개의 비시클릭 시클로알킬 또는 헤�테로시클로알킬 고리에 융합되거나, 또는 여기서 2개의 페닐 고리는 모노시클릭 시클로알킬 또는 헤�테로시클로알킬 고리에 융합되고, 여기서 상기 언급된 모든 기는 1개 이상의 치환기 R' 로 임의로 치환될 수 있거나, 또는 Y는 하기이고:



[0050]

- [0051] m 은 0 또는 1이고;

- [0052] n 은 0 또는 1이고;

- [0053] p 는 0 또는 1이고;

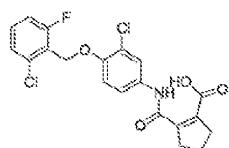
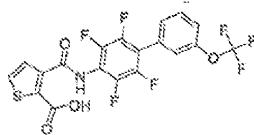
- [0054] q 는 0 또는 1이고;

- [0055] r 은 0 또는 1이고;

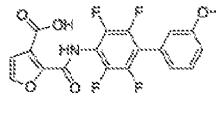
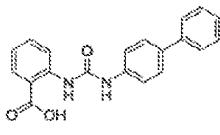
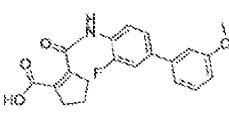
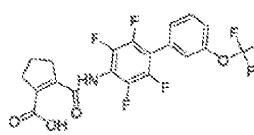
- [0056] s 는 0 내지 2이고;

- [0057] t 는 0 내지 3이다.

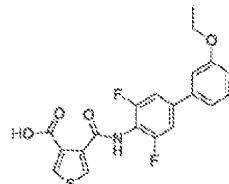
- [0058] 특정한 실시양태에서, DHODH 억제제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물이다:



2

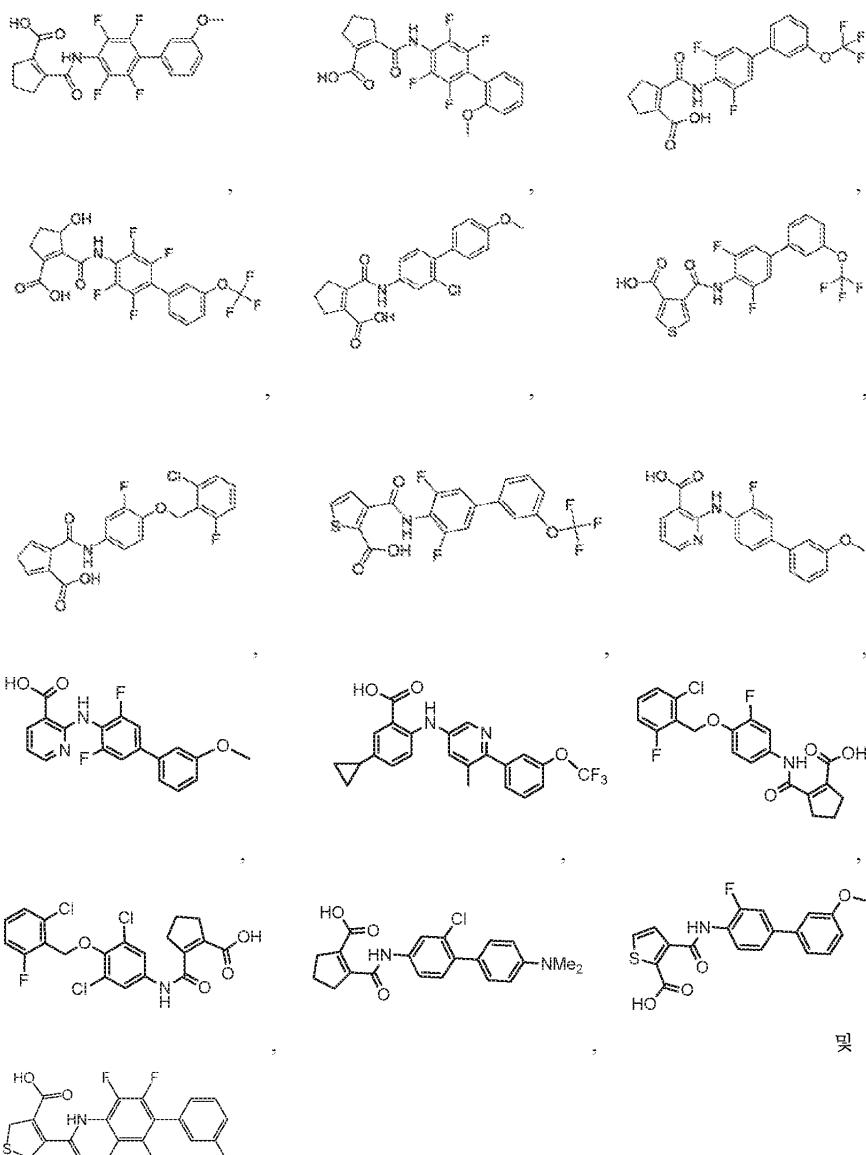


3

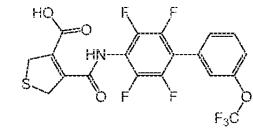


5

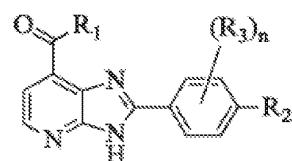
- [0059]



[0060]



[0061] 또 다른 실시양태에서, DHODH 억제제는 하기 화학식의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다:



[0062]

[0063] 여기서,

[0064]

R₁은 히드록시 또는 아미노이고;

[0065]

R₂는 임의로 치환된 아릴, 임의로 치환된 헤테로시클릴 또는 -0-(CH₂)₁₋₂ 아릴이며; 여기서 각각의 경우에 치환기는 1 내지 4개의 R₄이고;

[0066]

R₃은 수소, 할로겐, 알킬, 알콕시, 아미노, 아미드, 시아노, 카르복시, 또는 히드록실이고;

[0067]

R₄는 할로겐 또는 -NHC(O)시클로알킬이고;

[0068]

'n'은 1 내지 4 범위의 정수이다.

- [0069] 한 실시양태에서, 화합물은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:
- [0070] 2-(4'-(시클로프로판카르복스아미도)-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0071] 2-(4'-(시클로프로판카르복스아미도)-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복스아미드;
- [0072] 2-([1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0073] 2-([1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복스아미드;
- [0074] 2-(3-플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0075] 2-(3-플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복스아미드;
- [0076] 2-(4'-(시클로프로판카르복스아미도)-3-플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0077] 2-(2',3-디플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0078] 2-(4'-(시클로프로판카르복스아미도)-2',3-디플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0079] 2-(4'-(시클로프로판카르복스아미도)-2',3-디플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복스아미드;
- [0080] 2-(2'-(시클로프로판카르복스아미도)-3-플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0081] 2-(2'-(시클로프로판카르복스아미도)-3-플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복스아미드;
- [0082] 2-(3'-(시클로프로판카르복스아미도)-3-플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0083] 2-(3'-(시클로프로판카르복스아미도)-3-플루오로-[1,1'-비페닐]-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복스아미드;
- [0084] 2-(2-플루오로-4-(2-옥소-1,2,3,4-테트라히드로퀴놀린-7-일)페닐)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0085] 2-(4-(벤질옥시)페닐)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산;
- [0086] 2-(4-(벤질옥시)페닐)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복스아미드;
- [0087] 및
- [0088] 2-(4-(6-옥소-3,4,5,6-테트라히드로-1H-아제페노[5,4,3-cd]인돌-2-일)페닐)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-7-카르복실산.
- [0089] 본 발명의 방법에서, 종양 세포에서의 돌연변이체 IDH 유전자 또는 단백질의 존재는, 하기 보다 상세히 기재된 바와 같이, 예를 들어 ELISA, RIA, 면역침전, 이뮤노블롯팅, 면역형광 현미경검사, RT-PCR, 계내 혼성화, cDNA 마이크로어레이 등을 포함한, 관련 기술분야에 알려진 임의의 표준 생물검정 절차를 사용함으로써 사정될 수 있다.
- [0090] 생물학적 샘플에서 돌연변이체 IDH 단백질 또는 핵산의 존재를 검출하는 예시적인 방법은 시험 대상체로부터 생물학적 샘플 (예를 들어 종양-연관 체액)을 수득하고 상기 생물학적 샘플을 폴리펩티드 또는 핵산 (예를 들어, mRNA, 게놈 DNA, 또는 cDNA)을 검출할 수 있는 화합물 또는 작용제와 접촉시키는 것을 수반한다. 따라서 본 발명의 검출 방법은, 예를 들어, 시험관내 뿐만 아니라 생체내에서 생물학적 샘플에서 mRNA, 단백질, cDNA, 또는 게놈 DNA를 검출하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, mRNA의 검출을 위한 시험관내 기술은 노던 혼성화 및 계내 혼성화를 포함한다. 바이오마커 단백질의 검출을 위한 시험관내 기술은 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA), 웨스턴 블로트, 면역침전 및 면역형광을 포함한다. 게놈 DNA의 검출을 위한 시험관내 기술은 서던 혼성화를 포함한다. mRNA의 검출을 위한 생체내 기술은 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR), 노던 혼성화 및 계내 혼성화를 포함한다. 게다가, 바이오마커 단백질의 검출을 위한 생체내 기술은 단백질 또는 그의 단편에 대해 지시된 표지된 항체를 대상체에 도입하는 것을 포함한다. 예를 들어, 항체는 대상체에서의 존재 및 위치가 표준 영상화 기술에 의해 검출될 수 있는 방사성 마커로 표지될 수 있다.
- [0091] 이러한 진단 및 예후 검정의 일반적 원리는 돌연변이체 IDH 유전자 및 프로브가 상호작용하고 결합하여, 따라서

반응 혼합물에서 제거 및/또는 검출될 수 있는 복합체를 형성하도록 하기에 적절한 조건 하에 및 충분한 시간 동안 돌연변이체 IDH 유전자, 및 프로브를 함유할 수 있는 샘플 또는 반응 혼합물을 제조하는 것을 수반한다. 이를 검정은 다양한 방식으로 수행될 수 있다. 예를 들어, 이러한 검정을 수행하는 하나의 방법은 돌연변이체 IDH 유전자 또는 그의 단편 또는 프로브를 기질로도 지칭되는 고체 상 지지체 상에 앵커링시키고, 반응 종료 시 고체 상에 앵커링된 표적 IDH 유전자/프로브 복합체를 검출하는 것을 수반할 것이다. 이러한 방법의 한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH 유전자의 존재에 대해 검정될 대상체로부터의 샘플은 담체 또는 고체 상 지지체 상에 앵커링될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 프로브가 고체 상에 앵커링될 수 있고 대상체로부터의 샘플이 검정의 비앵커링된 구성성분으로서 반응하도록 하는 반대 상황이 가능하다.

[0092] 검정 구성성분을 고체 상에 앵커링시키는 많은 방법이 확립되어 있다. 이들은 비제한적으로 비오틴 및 스트렙타비딘의 접합을 통해 고정화된 돌연변이체 IDH 유전자 또는 그의 단편 또는 프로브 분자를 포함한다. 이러한 비오틴화 검정 구성성분은 관련 기술분야에 알려진 기술 (예를 들어, 비오틴화 키트 (피어스 케미칼스 (Pierce Chemicals), 일리노이주 락포드))을 사용하여 비오틴-NHS (N-히드록시-숙신이미드)로부터 제조되고, 스트렙타비딘-코팅된 96웰 플레이트 (피어스 케미칼)의 웰 내에 고정화될 수 있다. 특정 실시양태에서, 고정화된 검정 구성성분을 갖는 표면은 미리 제조되고 저장될 수 있다. 널리 알려진 지지체 또는 담체는 유리, 폴리스티렌, 나일론, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리에틸렌, 텍스트란, 아밀라제, 천연 및 변형된 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 반려암, 및 마그네타이트를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0093] 상기 언급된 접근법으로 검정을 수행하기 위해, 비-고정화된 구성성분은 제2 구성성분이 앵커링된 고체 상에 첨가된다. 반응이 완료된 후, 비복합체화된 구성성분은, 형성된 임의의 복합체가 고체 상에 고정화된 상태로 유지되도록 하는 조건 하에 (예를 들어, 세척에 의해) 제거될 수 있다. 고체 상에 앵커링된 돌연변이체 IDH 유전자/프로브 복합체의 검출은 본원에 요약된 다수의 방법으로 달성될 수 있다. 한 실시양태에서, 프로브가 비앵커링된 검정 구성성분인 경우에, 이는 본원에 논의되고 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려된 검출 가능한 표지로, 직접적으로 또는 간접적으로, 검정의 검출 및 판독의 목적을 위해 표지될 수 있다. 또한, 예를 들어 형광 공명 에너지 전달 (즉, FRET, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,631,169 (Lakowicz et al.); 미국 특허 번호 4,868,103 (Stavrianopoulos, et al.) 참조)의 기술을 활용함으로써 구성성분 (유전자 또는 프로브)의 추가의 조작 또는 표지화 없이 돌연변이체 IDH 유전자/프로브 복합체 형성을 직접적으로 검출하는 것이 가능하다. 제1 '공여자' 분자 상의 형광단 표지는, 적절한 광장의 입사광으로 여기될 때, 그의 방출된 형광 에너지가 제2 '수용자' 분자 상의 형광 표지에 의해 흡수되어 차례로 흡수된 에너지로 인해 형광을 낼 수 있도록 선택된다. 대안적으로, '공여자' 단백질 분자는 트립토판 잔기의 천연 형광 에너지를 단순히 활용할 수 있다. 표지는 상이한 광장의 광을 방출하여 '수용자' 분자 표지가 '공여자'의 것과는 차별화될 수 있도록 선택된다. 표지 사이의 에너지 전달의 효율은 분자를 분리하는 거리와 관련이 있으므로, 분자 사이의 공간적 관계가 사정될 수 있다. 결합이 분자 사이에 발생하는 상황에서, 검정에서의 '수용자' 분자 표지의 형광 방출은 최대여야만 한다. FRET 결합 사건은 관련 기술분야에 널리 알려진 표준 형광측정 검출 수단을 통해 (예를 들어, 형광측정 기를 사용하여) 편리하게 측정될 수 있다.

[0094] 또 다른 실시양태에서, 바이오마커를 인식하는 프로브의 능력의 결정은 검정 구성성분 (프로브 또는 IDH 유전자)을 표지하지 않으면서 실시간 생체분자 상호작용 분석 (BIA)과 같은 기술을 활용하여 달성될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Sjolander, S. and Urbaniczky, C., 1991, Anal. Chem. 63:2338-2345 및 Szabo et al., 1995, Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705] 참조). 본원에 사용된 바와 같이, "BIA" 또는 "표면 플라즈몬 공명"은, 상호작용물 중 어떠한 것도 표지하지 않으면서, 실시간으로 생체특이적 상호작용을 연구하는 기술이다 (예를 들어, 비아코어(BIAcore)). 결합 표면에서의 질량의 변화 (결합 사건을 나타냄)는 표면 근처에서 광의 굴절률의 변경 (표면 플라즈몬 공명 (SPR)의 광학 현상)을 발생시켜, 생물학적 분자 사이의 실시간 반응의 지표로서 사용될 수 있는 검출가능한 신호를 유발한다.

[0095] 대안적으로, 또 다른 실시양태에서, 유사한 진단 및 예후 검정은 액체 상 중 용질로서 돌연변이체 IDH 유전자 및 프로브로 수행될 수 있다. 이러한 검정에서, 복합체화된 바이오마커 및 프로브는 차등 원심분리, 크로마토그래피, 전기영동 및 면역침전을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다수의 표준 기술 중 임의의 것에 의해 비복합체화된 구성성분으로부터 분리된다. 차등 원심분리에서, 돌연변이체 IDH 유전자/프로브 복합체는 복합체의 상이한 크기 및 밀도를 기반으로 하는 복합체의 상이한 침강 평형으로 인해, 일련의 원심분리 단계로부터 비복합체화된 검정 구성성분으로부터 분리될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Rivas, G., and Minton, A. P., 1993, Trends Biochem Sci. 18(8):284-7] 참조). 표준 크로마토그래피 기술은 또한 비복합체화된 것들로부터 복합체화된 분자를 분리하는데 활용될 수 있다. 예를 들어, 겔 여과 크로마토그래피는 크기를 기반으로, 및 칼럼 포

맷에서 적절한 젤 여과 수지의 활용을 통해 분자를 분리하고, 예를 들어, 상대적으로 더 큰 복합체는 상대적으로 더 작은 비복합체화된 구성성분으로부터 분리될 수 있다. 유사하게, 비복합체화된 구성성분과 비교하여 돌연변이체 IDH 유전자/프로브 복합체의 상대적으로 상이한 전하 특성은, 예를 들어 이온-교환 크로마토그래피 수지의 활용을 통해 비복합체화된 구성성분으로부터 복합체를 구별하는데 이용될 수 있다. 이러한 수지 및 크로마토그래피 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려져 있다 (예를 들어, 문헌 [Heegaard, N. H., 1998, *J. Mol. Recognit.* Winter 11(1-6):141-8; Hage, D. S., and Tweed, S. A. *J. Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997 Oct 10:699(1-2):499-525] 참조). 또한, 젤 전기영동이 미결합된 구성성분으로부터 복합체화된 검정 구성성분을 분리하는데 이용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ausubel et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, 1987-1999] 참조). 이러한 기술에서, 단백질 또는 핵산 복합체는, 예를 들어 크기 또는 전하를 기반으로 하여 분리된다. 전기영동 프로세스 동안 결합 상호작용을 유지하기 위해, 비-변성 젤 매트릭스 물질 및 환원제의 부재 하의 조건이 전형적으로 바람직하다. 특정한 검정 및 그의 구성성분에 대한 적절한 조건은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려져 있을 것이다.

[0096]

특정한 실시양태에서, 돌연변이체 IDH mRNA의 수준은 관련 기술분야에 알려진 방법을 사용하여 생물학적 샘플에서 계내 및 시험관내 포맷 둘 다에 의해 결정될 수 있다. 용어 "생물학적 샘플"은 대상체로부터 단리된 조직, 세포, 생물학적 유체 및 그의 단리물, 뿐만 아니라 대상체 내에 존재하는 조직, 세포, 및 유체를 포함하는 것으로 의도된다. 많은 발현 검출 방법은 단리된 RNA를 사용한다. 시험관내 방법의 경우에, mRNA의 단리에 대해 선택되지 않은 임의의 RNA 단리 기술이 종양 세포로부터의 RNA의 정체에 활용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ausubel et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York 1987-1999] 참조). 추가적으로, 다수의 조직 샘플은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려진 기술, 예컨대, 예를 들어, 촘크진스키(Chomczynski)의 단일-단계 RNA 단리 프로세스 (1989, 미국 특허 번호 4,843,155)를 사용하여 용이하게 프로세싱될 수 있다. 단리된 mRNA는 서던 또는 노던 분석, 폴리머라제 연쇄 반응 분석 및 프로브 검정을 포함하나 이에 제한되지는 않는 혼성화 또는 증폭 검정에 사용될 수 있다. mRNA의 검출을 위한 하나의 특정한 진단 방법은 단리된 mRNA를 검출될 유전자에 의해 코딩된 mRNA에 혼성화될 수 있는 핵산 분자 (프로브)와 접촉시키는 것을 수반한다. 핵산 프로브는, 예를 들어, 전장 cDNA, 또는 그의 부분, 예컨대 적어도 7, 15, 30, 50, 100, 250 또는 500개 뉴클레오티드 길이이고 엄격한 조건 하에 IDH를 코딩하는 mRNA 또는 계놈 DNA에 특이적으로 혼성화하기에 충분한 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 본 발명의 진단 검정에 사용하기에 적합한 다른 프로브는 본원에 기재되어 있다. mRNA와 프로브의 혼성화는 돌연변이체 IDH 유전자가 발현되고 있다는 것을 나타낸다. 하나의 포맷에서, mRNA는 고체 표면 상에 고정화되고, 예를 들어 단리된 mRNA를 아가로스 젤 상에서 전개시키고 젤로부터의 mRNA를 니트로셀룰로스와 같은 막으로 옮김으로써 프로브와 접촉시킨다. 대안적인 포맷에서, 프로브(들)는 고체 표면 상에 고정화되고 mRNA는, 예를 들어, 아피메트릭스(Affymetrix) 유전자 칩 검정에서 프로브(들)와 접촉된다. 통상의 기술자는 IDH 유전자에 의해 코딩된 mRNA의 수준을 검출하는데 사용하기 위한 알려진 mRNA 검출 방법을 용이하게 적합화할 수 있다.

[0097]

샘플에서 돌연변이체 IDH mRNA를 검출하는 대안적인 방법은, 예를 들어, RT-PCR (미국 특허 번호 4,683,202 (Mullis, 1987)에 제시된 실험적 실시양태), 리가제 연쇄 반응 (Barany, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:189-193), 자기-지속 서열 복제 (Guatelli et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878), 전사 증폭 시스템 (Kwoh et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177), Q-베타 래플리카제 (Lizardi et al., 1988, *Bio/Technology* 6:1197), 룰링 서클 복제 (미국 특허 번호 5,854,033 (Lizardi et al.)) 또는 임의의 다른 핵산 증폭 방법에 의한 핵산 증폭의 프로세스, 이어서 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려진 기술을 사용하는 증폭된 분자의 검출을 수반한다. 이들 검출 스팸은 핵산 분자가 매우 적은 수로 존재하는 경우에 이러한 분자의 검출에 특히 유용하다. 본원에 사용된 바와 같이, 증폭 프라이머는 유전자의 5' 또는 3' 영역 (각각 플러스 및 마이너스 가닥, 또는 그 반대의 경우)에 어닐링하고 사이에 짧은 영역을 함유할 수 있는 핵산 분자의 쌍으로서 정의된다. 일반적으로, 증폭 프라이머는 약 10 내지 30개 뉴클레오티드 길이이고 약 50 내지 200개 뉴클레오티드 길이의 영역을 플랭킹한다. 적절한 조건 하에 및 적절한 시약을 사용하면, 이러한 프라이머는 프라이머에 의해 플랭킹된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자의 증폭을 허용한다.

[0098]

계내 방법의 경우에, mRNA는 검출 전에 종양 세포로부터 단리될 필요가 없다. 이러한 방법에서, 세포 또는 조직 샘플은 알려진 조직학적 방법을 사용하여 제조/프로세싱된다. 이어서, 샘플은 지지체, 전형적으로는 유리슬라이드 상에 고정화되고, 이어서 바이오마커를 코딩하는 mRNA에 혼성화될 수 있는 프로브와 접촉된다.

[0099]

본 발명의 또 다른 실시양태에서, 돌연변이체 IDH 단백질이 검출된다. 돌연변이체 IDH 단백질을 검출하는데 있어서 바람직한 작용체는 IDH 단백질에 결합할 수 있는 항체 또는 그의 단편, 바람직하게는 검출가능한 표지를

갖는 항체이다. 항체는 폴리클로날, 또는 보다 바람직하게는 모노클로날일 수 있다. 무손상 항체, 또는 그의 단편 또는 유도체 (예를 들어, Fab 또는 $F(ab')_2$)가 사용될 수 있다. 프로브 또는 항체와 관련하여, 용어 "표지된"은 검출가능한 물질을 프로브 또는 항체에 커플링시키는 (즉, 물리적으로 연결시키는) 것에 의한 프로브 또는 항체의 직접 표지화, 뿐만 아니라 직접 표지된 또 다른 시약과의 반응성에 의한 프로브 또는 항체의 간접 표지화를 포괄하는 것으로 의도된다. 간접 표지화의 예는 형광 표지된 2차 항체를 사용하고 DNA 프로브를 비오틴으로 말단-표지화하여 형광 표지된 스트렙타비딘으로 검출될 수 있도록 함으로써 1차 항체를 검출하는 것을 포함한다.

[0100]

돌연변이체 IDH 단백질은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려져 있는 기술을 사용하여 종양 세포로부터 단리될 수 있다. 이용된 단백질 단리 방법은, 예를 들어, 예컨대 문헌 [Harlow and Lane (Harlow and Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York)]에 기재된 것들일 수 있다. 샘플이 주어진 항체에 결합하는 단백질을 함유하는지 여부를 결정하는데 다양한 포맷이 이용될 수 있다. 이러한 포맷의 예는 효소 면역검정 (EIA), 방사성 면역검정 (RIA), 웨스턴 블롯 분석, 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 통상의 기술자는 종양 세포가 본 발명의 바이오마커를 발현하는지 여부를 결정하는데 사용하기 위한 알려진 단백질/항체 검출 방법을 용이하게 적합화할 수 있다. 하나의 포맷에서, 항체 또는 항체 단편 또는 유도체는 발현된 돌연변이체 IDH 단백질을 검출하는 방법 예컨대 웨스턴 블롯 또는 면역형광 기술에 사용될 수 있다. 이러한 용도에서, 일반적으로 항체 또는 돌연변이체 IDH 단백질을 고체 지지체 상에 고정화하는 것이 바람직하다. 적합한 고체 상 지지체 또는 담체는 항원 또는 항체에 결합할 수 있는 임의의 지지체를 포함한다. 널리 알려진 지지체 또는 담체는 유리, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 텍스트란, 나일론, 아밀라제, 천연 및 변형된 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 반려암, 및 마그네사이트를 포함한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 항체 또는 항원에 결합하는 많은 다른 적합한 담체를 인지할 것이고, 본 발명과 함께 사용하기 위해 이러한 지지체를 적합화할 수 있을 것이다. 예를 들어, 종양 세포로부터 단리된 돌연변이체 IDH 단백질은 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 상에 전개될 수 있고 니트로셀룰로스와 같은 고체 상 지지체 상에 고정화될 수 있다. 이어서 지지체는 적합한 완충제로 세척하고, 이어서 검출가능하게 표지된 항체로 처리될 수 있다. 이어서 고체 상 지지체는 완충제로 재차 세척하여 미결합된 항체를 제거할 수 있다. 이어서 고체 지지체 상의 결합된 표지의 양은 통상적인 수단으로 검출될 수 있다.

[0101]

ELISA 검정의 경우에, 특이적 결합 쌍은 면역 또는 비-면역 유형의 것일 수 있다. 면역 특이적 결합 쌍은 항원-항체 시스템 또는 합텐/항-합텐 시스템에 의해 예시된다. 플루오레세인/항-플루오레세인, 디니트로페닐/항-디니트로페닐, 비오틴/항-비오틴, 펩티드/항-펩티드 등이 언급될 수 있다. 특이적 결합 쌍의 항체 구성원은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 친숙한 통상적인 방법에 의해 생성될 수 있다. 이러한 방법은 동물을 특이적 결합 쌍의 항원 구성원으로 면역화하는 것을 수반한다. 특이적 결합 쌍의 항원 구성원, 예를 들어, 합텐이 면역 원성이 아니면, 이는 담체 단백질에 공유적으로 커플링되어 이를 면역원성으로 만들 수 있다. 비-면역 결합 쌍은 2개의 구성성분이 서로에 대해 자연 친화도를 공유하지만 항체는 아닌 시스템을 포함한다. 예시적인 비-면역 쌍은 비오틴-스트렙타비딘, 내인성 인자-비타민 B₁₂, 폴산-폴레이트 결합 단백질 등이다.

[0102]

다양한 방법이 항체를 특이적 결합 쌍의 구성원으로 공유적으로 표지하는데 이용가능하다. 방법은 특이적 결합 쌍의 구성원의 특성, 목적한 연결의 유형, 및 다양한 접합 화학물질에 대한 항체의 내성을 기반으로 하여 선택된다. 비오틴은 상업적으로 입수가능한 활성 유도체를 활용함으로써 항체에 공유적으로 커플링될 수 있다. 이들 중 일부는 단백질 상의 아미노 기에 결합하는 비오틴-N-히드록시숙신이미드; 카르보디이미드 커플링을 통해 탄수화물 모이어티, 알데히드 및 카르복실 기에 결합하는 비오틴 히드라지드; 및 술프히드릴 기에 결합하는 비오틴 말레이이미드 및 아이오도아세틸 비오틴이다. 플루오레세인은 플루오레세인 이소티오시아네이트를 사용하여 단백질 아민 기에 커플링될 수 있다. 디니트로페닐 기는 2,4-디니트로벤젠 슬레이트 또는 2,4-디니트로플루오로벤젠을 사용하여 단백질 아민 기에 커플링될 수 있다. 디알데히드, 카르보디이미드 커플링, 동종관능성 가교 및 이종이관능성 가교를 포함한 접합의 다른 표준 방법을 이용하여 특이적 결합 쌍의 구성원에 모노클로날 항체를 커플링할 수 있다. 카르보디이미드 커플링은 하나의 물질 상의 카르복실 기를 또 다른 물질 상의 아민 기에 커플링하는 효과적인 방법이다. 카르보디이미드 커플링은 상업적으로 입수가능한 시약 1-에틸-3-(디메틸-아미노프로필)-카르보디이미드 (EDAC)을 사용함으로써 용이하게 된다.

[0103]

이관능성 이미도에스테르 및 이관능성 N-히드록시숙신이미드 에스테르를 포함한, 동종이관능성 가교제는 상업적으로 입수가능하고 하나의 물질 상의 아민 기를 또 다른 물질 상의 아민 기에 커플링하는데 이용된다. 이종이관능성 가교제는 상이한 관능기를 보유하는 시약이다. 가장 흔한 상업적으로 입수가능한 이종이관능성 가교제

는 하나의 관능기로서 아민 반응성 N-히드록시숙신이미드 에스테르, 및 제2 관능기로서 술프히드릴 반응성 기를 갖는다. 가장 흔한 술프히드릴 반응성 기는 말레이이미드, 피리딜 디술피드 및 활성 할로겐이다. 관능기 중 하나는, 조사 시 다양한 기와 반응하는 광활성 아릴 니트렌일 수 있다.

[0104] 특이적 결합 쌍의 검출가능하게 표지된 항체 또는 검출가능하게 표지된 구성원은 방사성 동위원소, 효소, 형광원성, 화학발광 또는 전기화학 물질일 수 있는 리포터에 커플링함으로써 제조된다. 2종의 통상적으로 사용되는 방사성 동위원소는 ¹²⁵I 및 ³H이다. 표준 방사성 동위원소 표지 절차는 ¹²⁵I의 경우에 클로라민 T, 락토파옥시다제 및 불턴-헌터 방법 및 ³H의 경우에 환원성 메틸화를 포함한다. 용어 "검출가능하게 표지된"은 표지의 고유 효소적 활성에 의해 또는 그 자체로 용이하게 검출될 수 있는 또 다른 구성성분의 표지에 대한 결합에 의해 용이하게 검출될 수 있는 그러한 방식으로 표지된 분자를 지칭한다. 본 발명에 사용하기에 적합한 효소는 양고추냉이 페옥시다제, 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제, 글루코스 옥시다제, 과이어플라이 및 레닐라를 포함한 루시페라제, β -락타마제, 우레아제, 녹색 형광 단백질 (GFP) 및 리소자임을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 효소 표지화는 항체를 특이적 결합 쌍의 구성원과 커플링하기 위해 상기 기재된 바와 같은 디알데히드, 카르보디이미드 커플링, 동종이관능성 가교제 및 이종이관능성 가교제를 사용하여 용이하게 된다.

[0105] 선택된 표지화 방법은 표지화될 효소 및 물질 상에서 이용가능한 관능기, 접합 조건에 대한 둘 다의 내성에 따른다. 본 발명에 사용된 표지화 방법은 비제한적으로 문헌 [Engvall and Pearlmann, *Immunochemistry* 8, 871 (1971), Avrameas and Ternynck, *Immunochemistry* 8, 1175 (1975), Ishikawa et al., *J. Immunoassay* 4(3):209-327 (1983) 및 Jablonski, *Anal. Biochem.* 148:199 (1985)]에 기재된 것들을 포함하여 현재 이용된 임의의 통상적인 방법 중 하나일 수 있다. 표지화는 간접 방법 예컨대 스페이서 또는 특이적 결합 쌍의 다른 구성원을 사용함으로써 달성될 수 있다. 그의 예는 스트렙타비딘 및 비오티닐화 효소로의 비오티닐화 항체의 검출이다. 따라서, 본 발명에 따르면, 검출에 사용되는 항체는 리포터로 직접적으로 또는 특이적 결합 쌍의 제1 구성원으로 간접적으로 검출가능하게 표지될 수 있다. 항체가 특이적 결합 쌍의 제1 구성원에 커플링되면, 검출은 특이적 결합 복합체의 항체-제1 구성원을 상기 언급된 바와 같이 표지된 또는 비표지된 결합 쌍의 제2 구성원과 반응시킴으로써 수행된다. 더욱이, 비표지된 검출기 항체는 비표지된 항체를 비표지된 항체에 특이적인 표지된 항체와 반응시킴으로써 검출될 수 있다. 이러한 경우에 상기 사용된 바와 같은 "검출가능하게 표지된"은 비표지된 항체에 특이적인 항체가 결합할 수 있는 에피토프를 함유하는 것을 의미한다. 이러한 항-항체는 상기 논의된 임의의 접근법을 사용하여 직접적으로 또는 간접적으로 표지될 수 있다. 예를 들어, 항-항체는 상기 논의된 스트렙타비딘-양고추냉이 페옥시다제 시스템과 반응함으로써 검출되는 비오틴에 커플링될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서 비오틴이 활용된다. 비오티닐화 항체는 차례로 스트렙타비딘-양고추냉이 페옥시다제 복합체와 반응된다. 오르토페닐렌디아민, 4-클로로-나프톨, 테트라메틸벤지딘 (TMB), ABTS, BTS 또는 ASA를 사용하여 색원체성 검출을 수행할 수 있다.

[0106] 본 발명을 실시하기 위한 하나의 면역검정 포맷에서, 포획 시약이 통상적인 기술을 사용하여 지지체의 표면 상에 고정화되어 있는 포위드 샌드위치 검정이 사용된다. 검정에 사용되는 적합한 지지체는 합성 중합체 지지체, 예컨대 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 치환된 폴리스티렌, 예를 들어 아민화 또는 카르복실화 폴리스티렌, 폴리아크릴아미드, 폴리아미드, 폴리비닐클로라이드, 유리 비드, 아가로스, 또는 니트로셀룰로스를 포함한다.

[0107] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 샘플에서 돌연변이된 IDH 유전자 또는 단백질의 존재를 측정하기 위한 시약을 포함하며, 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 것에 대한 지침서를 추가로 포함하는 키트를 제공한다. 이러한 키트는 대상체가 항대사물 또는 DHODH 억제제에 의한 억제에 감수성이 있는 종양을 앓고 있거나 또는 그의 발생 위험이 높은지를 결정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 키트는 생물학적 샘플에서 돌연변이체 IDH 단백질 또는 핵산을 검출할 수 있는 표지된 화합물 또는 작용제 (예를 들어, 단백질에 결합하는 항체 또는 그의 단편, 또는 단백질을 코딩하는 DNA 또는 mRNA에 결합하는 올리고뉴클레오티드 프로브)를 포함할 수 있다. 키트는 또한 키트를 사용하여 수득된 결과를 해석하는 것에 대한 지침서를 포함할 수 있다. 항체-기반 키트의 경우에, 키트는, 예를 들어, (1) 돌연변이체 IDH 단백질에 결합하는 (예를 들어, 고체 지지체에 부착된) 제1 항체; 및, 임의로, (2) 단백질 또는 제1 항체에 결합하고 검출가능한 표지에 접합되는 제2, 상이한 항체를 포함할 수 있다.

[0108] 올리고뉴클레오티드-기반 키트의 경우에, 키트는, 예를 들어, (1) IDH 단백질을 코딩하는 핵산 서열에 혼성화되는 올리고뉴클레오티드, 예를 들어, 검출가능하게 표지된 올리고뉴클레오티드 또는 (2) IDH 핵산을 증폭시키는데 유용한 한 쌍의 프라이머를 포함할 수 있다. 키트는 또한, 예를 들어, 완충제, 보존제, 또는 단백질 안정화

제를 포함할 수 있다. 키트는 검출가능한 표지를 검출하는데 필요한 구성성분 (예를 들어, 효소 또는 기질)을 추가로 포함할 수 있다. 키트는 또한 시험 샘플에 대해 검정되고 비교될 수 있는 대조군 샘플 또는 대조군 샘플의 시리즈를 함유할 수 있다. 키트의 각각의 구성성분은 개별 용기 내에 동봉될 수 있고 모든 다양한 용기는 키트를 사용하여 수행된 검정의 결과를 해석하는 것에 대한 지침서와 함께 단일 포장물 내에 있을 수 있다.

[0109] 본 발명은 환자에서 종양을 치료하는 방법이며, IDH 상태 즉 IDH 단백질 또는 유전자가 본원에 기재된 바와 같이 돌연변이되는지 여부를 사정함으로써 항대사물 또는 DHODH 억제제에 대한 환자의 반응 가능성을 진단하는 단계, 및 상기 환자에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 방법을 추가로 제공한다. 이러한 방법에서 1종 이상의 추가적인 항암제 또는 치료제는, 개별 환자에 관한 임의의 추가적인 환경과 조합하여, IDH 억제제에 대한 환자의 반응 가능성의 예측을 고려하여 투여 의사에 의해 적절하다고 판단된 바와 같이, 항대사물 또는 DHODH 억제제와 동시에 또는 순차적으로 공동-투여될 수 있다.

[0110] 항대사물 또는 DHODH 억제제에 대한 환자의 반응 가능성의 진단 후에 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제를 상기 환자에게 투여하는 정확한 방식은 담당의의 판단에 따라 좌우될 것임이 의학 분야의 통상의 속련자에 의해 인지될 것이다. 투여량, 다른 항암제와의 조합, 투여 시기 및 빈도 등을 포함한 투여 방식은 항대사물 또는 DHODH 억제제에 대한 환자의 반응 가능성의 진단, 뿐만 아니라 환자의 병태 및 병력에 의해 영향받을 수 있다.

[0111] 본 발명의 맥락에서, 항대사물 또는 DHODH 억제제는 예를 들어 하기를 포함한, 세포독성제, 화학요법제 또는 항암제와 조합하여 투여될 수 있다: 알킬화제 또는 알킬화 작용을 갖는 작용제, 예컨대 시클로포스파미드 (CTX; 예를 들어 시톡산(CYTOXAN)®), 클로람부실 (CHL; 예를 들어 류케란(LEUKERAN)®), 시스플라틴 (CisP; 예를 들어 플라티놀(PLATINOL)®), 부술판 (예를 들어 밀레란(MYLERAN)®), 멜팔란, 카르무스틴 (BCNU), 스트렙토조신, 트리에틸렌멜라민 (TEM), 미토마이신 C 등; 항생제, 예컨대 악티노마이신 D, 독소루비신 (DXR; 예를 들어 아드리아마이신(ADRIAMYCIN)®), 다우노루비신 (다우노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신 등; 알칼로이드, 예컨대 빈카 알칼로이드 예컨대 빈크리스틴 (VCR), 빈블라스틴 등; 및 다른 항종양제, 예컨대 파클리탁셀 (예를 들어 탁솔(TAXOL)®) 및 파클리탁셀 유도체, 세포증식억제제, 글루코코르티코이드 예컨대 덱사메타손 (DEX; 예를 들어 데카드론(DECADRON)®) 및 코르티코스테로이드 예컨대 프레드니손, 뉴클레오시드 효소 억제제 예컨대 히드록시우레아, 아미노산 고갈 효소 예컨대 아스파라기나제, 류코보린 및 다른 폴산 유도체, 및 유사한, 다양한 항종양제. 하기 작용제가 또한 추가적인 작용제로서 사용될 수 있다: 아미포스틴 (예를 들어 에티올(ETHYOL)®), 닉티노마이신, 메클로레타민 (질소 머스타드), 스트렙토조신, 시클로포스파미드, 로무스틴 (CCNU), 독소루비신 리포 (예를 들어 독실(DOXIL)®), 켐시타빈 (예를 들어 켐자르(GEMZAR)®), 다우노루비신 리포 (예를 들어 다우녹솜(DAUNOXOME)®), 프로카르바진, 미토마이신, 도세탁셀 (예를 들어 탁소테레(TAXOTER E)®), 알데스류킨, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 클라드리빈, 캄프토테신, CPT 11 (이리노테칸), 10-히드록시7-에틸-캄프토테신 (SN38), 플록수리딘, 플루다라빈, 이포스파미드, 이다루비신, 메스나, 인터페론 베타, 인터페론 알파, 미톡산트론, 토포테칸, 류프롤리드, 메게스트롤, 멜팔란, 메르캅토퓨린, 폴리카마이신, 미토탄, 폐가스파르가제, 펜토스타틴, 페포브로만, 폴리카마이신, 타목시펜, 테니포시드, 테스토락톤, 티오구아닌, 티오테파, 우라실 머스타드, 비노렐빈, 클로람부실.

[0112] 본 발명은 환자에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제 및 추가로, 동시에 또는 순차적으로, 1종 이상의 항호르몬제를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양을 치료하는 상기 방법을 추가로 제공한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항호르몬제"는 종양에 대한 호르몬 작용을 조절 또는 억제하도록 작용하는 천연 또는 합성 유기 또는 펩티드성 화합물을 포함한다. 항호르몬제는, 예를 들어, 하기를 포함한다: 스테로이드 수용체 길항제, 항에스트로겐 예컨대 타목시펜, 란록시펜, 아로마타제 억제 4(5)-이미다졸, 다른 아로마타제 억제제, 42-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY 117018, 오나프리스톤, 및 토레미펜 (예를 들어 파레스톤(FARESTON)®); 항안드로겐 예컨대 플루타미드, 널루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드, 및 고세렐린; 및 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체; 당단백질 호르몬 예컨대 난포 자극 호르몬 (FSH), 갑상선 자극 호르몬 (TSH), 및 황체형성 호르몬 (LH) 및 LHRH (황체형성 호르몬-방출 호르몬)의 효능제 및/또는 길항제; 콜라덱스(ZOLADEX)® (아스트라제네카(AstraZeneca))로서 상업적으로 입수가능한, LHRH 효능제 고세렐린 아세테이트; LHRH 길항제 D-알라닌아미드 N-아세틸-3-(2-나프탈레닐)-D-알라닐-4-클로로-D-페닐알라닐-3-(3-페리디닐)-D-알라닐-L-세릴-N6-(3-페리디닐카르보닐)-L-리실-N6-(3-페리디닐카르보닐)-D-리실-L-류실-N6-(1-메틸에틸)-L-리실-L-프롤린 (예를 들어 안티드(ANTIDE)®, 아레스-세로노(Ares-Serono)); LHRH 길항제 가니렐릭스 아세테이트; 스테로이드성 항안드로겐 시프로테론 아세테이트 (CPA) 및 메게이스(MEGACE)® (브리스톨-마이어스 온콜로지(Bristol-Myers Oncology))로서 상업적으로 입수가능한, 메게스트롤 아세테이트; 유렉신(EULEXIN)®

(쉐링 코포레이션(Schering Corp.))으로서 상업적으로 입수 가능한, 비스테로이드성 항안드로겐 플루타미드 (2-메틸-N-[4,20-나트로-3-(트리플루오로메틸) 페닐프로판아미드]; 비-스테로이드성 항안드로겐 널루타미드, (5,5-디메틸-3-[4-나트로-3-(트리플루오로메틸-4'-나트로페닐)-4,4-디메틸-이미다졸리딘-디온); 및 다른 비-허용 수용체에 대한 길항제, 예컨대 RAR, RXR, TR, VDR 등에 대한 길항제.

[0113]

화학치료 레지멘에서 상기 기재된 세포독성제 및 다른 항암제의 사용은 일반적으로 암 요법 분야에서 널리 특징화되고, 본원에서의 그의 사용은, 일부 조정 하에, 내약성 및 유효성을 모니터링하고 투여 경로 및 투여량을 제어하기 위한 동일한 고려사항에 속한다. 예를 들어, 세포독성제의 실제 투여량은 조직배양 방법을 사용함으로써 결정된 환자의 배양된 세포 반응에 따라 달라질 수 있다. 일반적으로, 투여량은 추가적인 다른 작용제의 부재 하에 사용된 양과 비교하여 감소될 것이다. 효과적인 세포독성제의 전형적인 투여량은 제조업체에 의해 권장된 범위 내일 수 있고, 시험관내 반응 또는 동물 모델에서의 반응에 의해 나타낸 경우에, 최대 약 한 자릿수 농도 또는 양만큼 감소될 수 있다. 따라서, 실제 투여량은 의사의 판단, 환자의 병태, 및 1차 배양된 악성 세포 또는 조직배양된 조직 샘플의 시험관내 반응성, 또는 적절한 동물 모델에서 관찰된 반응을 기반으로 한 치료 방법의 유효성에 따를 것이다.

[0114]

본 발명은 환자에게 치료 유효량의 항대사를 또는 DHODH 억제제 및 추가로, 동시에 또는 순차적으로, 1종 이상의 혈관신생 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양 또는 종양 전이를 치료하는 상기 방법을 추가로 제공한다. 혈관신생억제제는, 예를 들어 하기를 포함한다: VEGFR 억제제, 예컨대 SU-5416 및 SU-6668 (미국 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 소재의 수젠 인크.(Sugen Inc.)), 또는 국제 출원 번호 WO 99/24440, WO 99/62890, WO 95/21613, WO 99/61422, WO 98/50356, WO 99/10349, WO 97/32856, WO 97/22596, WO 98/54093, WO 98/02438, WO 99/16755, 및 WO 98/02437, 및 미국 특허 번호 5,883,113, 5,886,020, 5,792,783, 5,834,504 및 6,235,764에 기재된 바와 같은 것; VEGF 억제제 예컨대 IM862 (미국 위싱톤주 커크랜드 소재의 시트란 인크(Cytran Inc.)); 안지오자임, 리보자임(Ribozyme) (콜로라도주 볼더) 및 키론(Chiron) (캘리포니아주 에머리빌)으로부터의 합성 리보자임; 및 VEGF에 대한 항체, 예컨대 베바시주맙 (예를 들어 아바스틴(AVASTIM)™, 제넨테크(Genentech), 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코), VEGF에 대한 재조합 인간화 항체; 인테그린 수용체 길항제 및 인테그린 길항제, 예컨대 $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ 및 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린, 및 그의 하위유형, 예를 들어 실랜기티드 (EMD 121974), 또는 항-인테그린 항체, 예컨대 예를 들어 $\alpha_v\beta_3$ 특이적 인간화 항체 (예를 들어 비탁신(VITAXIN)®); 예컨대 IFN-알파와 같은 인자 (미국 특허 번호 41530,901, 4,503,035, 및 5,231,176); 안지오스타틴 및 플라스미노겐 단편 (예를 들어 크링글 1-4, 크링글 5, 크링글 1-3 (O'Reilly, M. S. et al. (1994) Cell 79:315-328; Cao et al. (1996) J. Biol. Chem. 271: 29461-29467; Cao et al. (1997) J. Biol. Chem. 272:22924-22928); 엔도스타틴 (O'Reilly, M. S. et al. (1997) Cell 88:277; 및 국제 특허 공개 번호 WO 97/15666); 트롬보스폰딘 (TSP-1; Frazier, (1991) Curr. Opin. Cell Biol. 3:792); 혈소판 인자 4 (PF4); 플라스미노겐 활성화제/우로키나제 억제제; 우로키나제 수용체 길항제; 헤파리나제; 푸마길린 유사체 예컨대 TNP-4701; 수라민 및 수라민 유사체; 혈관신생억제 스테로이드; bFGF 길항제; flk-1 및 f1t-1 길항제; 항-혈관신생제 예컨대 MMP-2 (매트릭스-메탈로프로테이나제 2) 억제제 및 MMP-9 (매트릭스-메탈로프로테이나제 9) 억제제. 유용한 매트릭스 메탈로프로테이나제 억제제의 예는 국제 특허 공개 번호 WO 96/33172, WO 96/27583, WO 98/07697, WO 98/03516, WO 98/34918, WO 98/34915, WO 98/33768, WO 98/30566, WO 90/05719, WO 99/52910, WO 99/52889, WO 99/29667, 및 WO 99/07675, 유럽 특허 공개 번호 818,442, 780,386, 1,004,578, 606,046, 및 931,788; 영국 특허 공개 번호 9912961, 및 미국 특허 번호 5,863,949 및 5,861,510에 기재되어 있다. 바람직한 MMP-2 및 MMP-9 억제제는 MMP-1을 억제하는 활성을 거의 또는 전혀 갖지 않는 것이다. 다른 매트릭스-메탈로프로테이나제 (즉 MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12, 및 MMP-13)에 비해 MMP-2 및/또는 MMP-9를 선택적으로 억제하는 것들이 보다 바람직하다.

[0115]

본 발명은 환자에게 치료 유효량의 항대사를 또는 DHODH 억제제 및 추가로, 동시에 또는 순차적으로, 1종 이상의 종양 세포 아폽토시스촉진제 또는 아폽토시스-자극 작용제를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양을 치료하는 상기 방법을 추가로 제공한다. 본 발명은 환자에게 치료 유효량의 항대사를 또는 DHODH 억제제 및 추가로, 동시에 또는 순차적으로, 1종 이상의 신호 전달 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양을 치료하는 상기 방법을 추가로 제공한다. 신호 전달 억제제는, 예를 들어, 하기를 포함한다: erbB2 수용체 억제제, 예컨대 유기 분자, 또는 erbB2 수용체에 결합하는 항체, 예를 들어, 트라스투주맙 (예를 들어 헤르셉틴(HERCEPTIN)®); 다른 단백질 티로신-키나제의 억제제, 예를 들어 이마티닙 (예를 들어 글리벡(GLEEVEC)®); ras 억제제; raf 억제제 (예를 들어 BAY 43-9006, 오닉스 과마슈티칼스/바이엘 과마슈티칼스(Onyx Pharmaceuticals/Bayer Pharmaceuticals)); MEK 억제제; mTOR 억제제; 시클린 의존성 키나제 억제제; 단백질

키나제 C 억제제; 및 PDK-1 억제제 (상기 억제제의 여러 예의 설명, 및 암의 치료를 위한 임상 시험에서 그의 용도의 경우에 문헌 [Dancey, J. and Sausville, E.A. (2003) *Nature Rev. Drug Discovery* 2:92-313] 참조). ErbB2 수용체 억제제는, 예를 들어 하기를 포함한다: ErbB2 수용체 억제제, 예컨대 GW-282974 (글락소 웰컴 피엘씨(Glaxo Wellcome plc)), 모노클로날 항체 예컨대 AR-209 (미국 텍사스주 더 우드랜드 소재의 아로넥스 파마슈티칼스 인크.(Aronex Pharmaceuticals Inc.)) 및 2B-1 (키론), 및 erbB2 억제제 예컨대 국제 공개 번호 WO 98/02434, WO 99/35146, WO 99/35132, WO 98/02437, WO 97/13760, 및 WO 95/19970, 및 미국 특허 번호 5,587,458, 5,877,305, 6,465,449 및 6,541,481에 기재된 것들.

[0116] 본 발명은 환자에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제 및 추가로, 동시에 또는 순차적으로, 1종 이상의 추가적인 항증식제를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양을 치료하는 상기 방법을 추가로 제공한다. 추가적인 항증식제는, 예를 들어 하기를 포함한다: 미국 특허 번호 6,080,769, 6,194,438, 6,258,824, 6,586,447, 6,071,935, 6,495,564, 6,150,377, 6,596,735 및 6,479,513, 및 국제 특허 번호 WO 01/40217에 개시되고 청구된 화합물을 포함한, 효소 파르네실 단백질 트랜스퍼라제의 억제제 및 수용체 티로신 키나제 PDGFR의 억제제.

[0117] 본 발명은 환자에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제 및 추가로, 동시에 또는 순차적으로, 방사선 치료 또는 방사성제약을 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양을 치료하는 상기 방법을 추가로 제공한다. 방사선의 공급원은 치료되는 환자에 대해 외부 또는 내부일 수 있다. 공급원이 환자에 대해 외부일 때, 요법은 외부 빔 방사선 요법 (EBRT)으로 알려져 있다. 방사선의 공급원이 환자에 대해 내부일 때, 치료는 근접요법 (BT)으로 불린다. 본 발명의 맥락에서 사용하기 위한 방사성 원자는 라듐, 세슘-137, 이리듐-192, 아메리슘-241, 금-198, 코발트-57, 구리-67, 테크네튬-99, 아이오딘-123, 아이오딘-131, 및 인듐-111을 포함하나 이에 제한되지는 않는 군으로부터 선택될 수 있다. 본 발명에 따른 DHODH 억제제가 항체인 경우에, 항체를 이러한 방사성 동위원소로 표지하는 것이 또한 가능하다. 방사선 요법은 절제불가능한 또는 수술불가능한 종양 및/또는 종양 전이를 제어하는 표준 치료이다. 개선된 결과는 방사선 요법이 화학요법과 조합되었을 때 보여진 바 있다. 방사선 요법은 표적 영역에 고-용량 방사선이 전달되면 종양 및 정상 조직 둘 다에서 재생 세포의 사멸을 유발할 것이라는 원리를 기반으로 한다. 방사선 투여 레지멘은 일반적으로 방사선 흡수된 선량 (Gy), 시간 및 분할조사의 관점에서 정의되고, 종양학자에 의해 신중하게 정의되어야 한다. 환자가 받는 방사선의 양은 다양한 고려사항에 따를 것이지만, 가장 중요한 2개의 고려사항은 신체의 다른 주요한 구조 또는 기관과 관련한 종양의 위치, 및 종양이 퍼진 정도이다. 방사선 요법을 겪는 환자에 대한 전형적 치료 과정은 약 1.8 내지 2.0 Gy, 1주 5일의 단일 일일 분할로 환자에게 투여된 10 내지 80 Gy의 총 선량으로 1 내지 6주 기간에 걸친 치료 스케줄일 것이다. 본 발명의 바람직한 실시양태에서 인간 환자에서의 종양이 본 발명 및 방사선의 조합 치료로 치료될 때 상승작용이 있다. 다시 말해서, 본 발명의 조합물을 포함하는 작용제에 의한 종양 성장의 억제는 방사선, 임의로 추가적인 화학치료제 또는 항암제와 조합될 때 증진된다. 보조 방사선 요법의 파라미터는, 예를 들어, 국제 특허 공개 WO 99/60023에 함유된다.

[0118] 본 발명은 환자에게 치료 유효량의 항대사물 또는 DHODH 억제제 및 추가로, 동시에 또는 순차적으로, 항종양 면역 반응을 증진시킬 수 있는 1종 이상의 작용제로의 치료를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양 또는 종양 전이를 치료하는 상기 방법을 추가로 제공한다. 항종양 면역 반응을 증진시킬 수 있는 작용제는, 예를 들어 하기를 포함한다: CTLA4 (세포독성 램프구 항원 4) 항체 (예를 들어 MDX-CTLA4), 및 CTLA4를 차단할 수 있는 다른 작용제. 본 발명에 사용될 수 있는 특이적 CTLA4 항체는 미국 특허 번호 6,682,736에 기재된 것들을 포함한다.

[0119] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "환자"는 바람직하게는 임의의 목적을 위한 항대사물 또는 DHODH 억제제로의 치료를 필요로 하는 인간, 보다 바람직하게는 암, 또는 전암성 병태 또는 병변을 치료하기 위한 이러한 치료를 필요로 하는 인간을 지칭한다. 그러나, 용어 "환자"는 또한 항대사물 또는 DHODH 억제제로의 치료를 필요로 하는, 특히, 비-인간 동물, 바람직하게는 포유동물 예컨대 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 양 및 비-인간 영장류를 지칭할 수 있다.

[0120] 항대사물 또는 DHODH 억제제는 전형적으로, 관련 기술분야에 알려진 바와 같이, 환자가 치료되는 암의 가장 효과적인 치료 (효능 및 안전성 관점 둘 다로부터)를 제공하는 투여 레지멘으로 환자에게 투여될 것이다. 본 발명의 치료 방법을 수행하는데 있어서, 항대사물 또는 DHODH 억제제는 치료할 암의 유형, 사용할 DHODH 억제제의 유형 (예를 들어, 소분자, 항체, RNAi, 리보자임 또는 안티센스 구축물), 및 예를 들어 공개된 임상 연구의 결과를 기반으로 한 처방 의사의 의학적 판단에 따라 관련 기술분야에 알려진 임의의 효과적인 방식으로, 예컨대 경구, 국소, 정맥내, 복막내, 근육내, 관절내, 피하, 비강내, 안내, 질, 직장, 또는 피내 경로에 의해 투여될

수 있다.

[0121] 투여되는 항대사물 또는 DHODH 억제제의 양 및 투여 시기는 치료할 환자의 유형 (종, 성별, 연령, 체중 등) 및 병태, 치료할 질환 또는 병태의 중증도, 및 투여 경로에 따를 것이다. 예를 들어, 항대사물 또는 소분자 DHODH 억제제는 환자에게 1일에 또는 1주에 0.001 내지 100 mg/kg 체중 범위의 용량으로 단일 또는 분할 용량으로, 또는 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 항체-기반 DHODH 억제제, 또는 안티센스, RNAi 또는 리보자임 구축물을 환자에게 1일에 또는 1주에 0.1 내지 100 mg/kg 체중 범위의 용량으로 단일 또는 분할 용량으로, 또는 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 일부 경우에, 상기 범위의 하한치 미만인 투여량 수준이 더욱 적절할 수 있고, 다른 경우에는 훨씬 더 많은 용량이 어떠한 해로운 부작용도 유발하지 않으면서 사용될 수 있으며, 단 이러한 더 많은 용량은 먼저 하루에 걸친 투여를 위해 수회의 적은 용량으로 분할된다.

[0122] 항대사물 또는 DHODH 억제제는 정제, 캡슐, 로젠지, 트로키, 하드 캔디, 분말, 스프레이, 크림, 살브, 좌제, 젤리, 젤, 페이스트, 로션, 연고, 엘릭시르, 시럽 등의 형태로 다양한 제약상 허용되는 불활성 담체와 함께 투여될 수 있다. 이러한 투여 형태의 투여는 단일 또는 다중 용량으로 수행될 수 있다. 담체는 고체 희석제 또는 충전제, 멸균 수성 매질 및 다양한 비-독성 유기 용매 등을 포함한다. 경구 제약 조성물은 적합하게 감미첨가되고/거나 향미첨가될 수 있다. 활성제는 스프레이, 크림, 살브, 좌제, 젤리, 젤, 페이스트, 로션, 연고 등의 형태로 다양한 제약상 허용되는 불활성 담체와 함께 조합될 수 있다. 이러한 투여 형태의 투여는 단일 또는 다중 용량으로 수행될 수 있다. 담체는 고체 희석제 또는 충전제, 멸균 수성 매질, 및 다양한 비-독성 유기 용매 등을 포함한다. 단백질성 활성제를 포함하는 모든 제제는 활성제의 생물학적 활성의 변성 및/또는 분해 및 손실을 방지하도록 선택되어야 한다.

[0123] 제약 조성물을 제조하는 방법은 관련 기술분야에 알려져 있고, 예를 들어 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 18th edition (1990)]에 기재되어 있다. 경구 투여를 위해, 활성제 중 하나 또는 둘 다를 함유하는 정제는 임의의 다양한 부형제 예컨대, 예를 들어, 미세결정질 셀룰로스, 나트륨 시트레이트, 칼슘 카르보네이트, 디칼슘 포스페이트 및 글리신과 함께, 다양한 붕해제 예컨대 전분 (및 바람직하게는 옥수수, 감자 또는 타피오카 전분), 알긴산 및 특정 복합 실리케이트와 함께, 과립화 결합제 예컨대 폴리비닐 피롤리돈, 수크로스, 젤라틴 및 아카시아와 함께 조합된다. 추가적으로, 유후제 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 라우릴 술페이트 및 활석은 종종 정제화 목적에 매우 유용하다. 유사한 유형의 고체 조성물이 또한 젤라틴 캡슐에 충전제로 이용될 수 있고; 이와 관련하여 바람직한 물질은 또한 락토스 또는 유당 뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 수성 혼탁액 및/또는 엘릭시르가 경구 투여를 위해 목적되는 경우에, 억제제는 다양한 감미제 또는 향미제, 착색 물질 또는 염료, 및 목적되는 경우에, 유화제 및/또는 현탁화제와, 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세린 및 그의 다양한 유사 조합으로서 이러한 희석제와 함께 조합될 수 있다. 활성제 중 하나 또는 둘 다의 비경구 투여를 위해, 참깨 또는 땅콩 오일 중 또는 수성 프로필렌 글리콜 중 용액 뿐만 아니라 활성제 또는 그의 상응하는 수용성 염을 포함하는 멸균 수성 용액이 이용될 수 있다. 이러한 멸균 수성 용액은 바람직하게는 적합하게 완충되고, 또한 바람직하게는 예를 들어 충분한 염수 또는 글루코스로 등장성으로 만든다. 이를 특정한 수성 용액은 특히 정맥내, 근육내, 피하 및 복강내 주사 목적에 적합하다. 유성 용액은 관절내, 근육내 및 피하 주사 목적에 적합하다. 멸균 조건 하의 모든 이를 용액의 제조는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려진 표준 제약 기술에 의해 용이하게 달성된다. 단백질성 억제제의 투여를 위해 선택된 임의의 비경구 제제는 억제제의 생물학적 활성의 변성 및 손실을 방지하도록 선택되어야 한다.

[0124] 추가적으로, 표준 제약 수행에 따라, 예를 들어, 크림, 로션, 젤리, 젤, 페이스트, 연고, 살브 등에 의해, 활성제 중 하나 또는 둘 다를 국소적으로 투여하는 것이 가능하다. 예를 들어, 약 0.1% (w/v) 내지 약 5% (w/v) 농도로 DHODH 억제제를 포함하는 국소 제제가 제조될 수 있다.

[0125] 수의학적 목적을 위해, 활성제는 임의의 형태를 사용하여 및 상기 기재된 임의의 경로에 의해 동물에게 별개로 또는 함께 투여될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 억제제는 캡슐, 볼루스, 정제, 액체 드렌치의 형태로, 주사에 의해 또는 이식물로서 투여된다. 대안으로서, 억제제는 동물 사료와 함께 투여될 수 있고, 이러한 목적을 위해 농축 사료 첨가제 또는 프리미스가 정상 동물 사료를 위해 제조될 수 있다. 이러한 제제는 표준 수의학 수행에 따라 종래의 방식으로 제조된다.

[0126] 모노클로날 항체 및 항체 단편의 생산 및 단리를 위한 기술은 관련 기술분야에 널리 알려져 있고, 문헌 [Harlow and Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 및 J. W. Goding, 1986, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, London]에 기재되어 있다. 인간화 항-

DHODH 항체 및 항체 단편은 또한 알려진 기술 예컨대 문헌 [Vaughn, T. J. et al., 1998, *Nature Biotech.* 16:535-539] 및 그에 인용된 참고문헌에 기재된 것들에 따라 제조될 수 있고, 이러한 항체 또는 그의 단편은 또한 본 발명을 수행하는데 유용하다.

[0127] 본 발명에 사용하기 위한 DHODH 억제제는 대안적으로 안티센스 올리고뉴클레오티드 구축물을 기반으로 할 수 있다. 안티센스 RNA 문자 및 안티센스 DNA 문자를 포함한 안티센스 올리고뉴클레오티드는 DHODH mRNA에 결합하여 단백질 번역을 방지하거나 또는 mRNA 분해를 증가킴으로써 DHODH mRNA의 번역을 직접적으로 차단하도록 작용할 것이며, 이에 따라 세포에서 DHODH 단백질 수준, 및 이에 따른 활성을 감소시킨다. 예를 들어, 적어도 약 15개 염기를 가지며 DHODH를 코딩하는 mRNA 전사체 서열의 고유한 영역에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어, 전형적인 포스포디에스테르 기술에 의해 합성될 수 있고, 예를 들어 정맥내 주사 또는 주입에 의해 투여될 수 있다. 서열이 알려져 있는 유전자의 유전자 발현을 특이적으로 억제하기 위한 안티센스 기술을 사용하는 방법은 관련 기술분야에 널리 알려져 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 6,566,135; 6,566,131; 6,365,354; 6,410,323; 6,107,091; 6,046,321; 및 5,981,732 참조).

[0128] 소형 억제성 RNA (siRNA)는 또한 본 발명에 사용하기 위한 억제제로서 기능할 수 있다. DHODH 유전자 발현은 종양, 대상체 또는 세포를 소형 이중 가닥 RNA (dsRNA), 또는 소형 이중 가닥 RNA의 생산을 야기하는 벡터 또는 구축물과 접촉시킴으로써 감소될 수 있으며, 이에 따라 DHODH의 발현이 특이적으로 억제된다 (즉, RNA 간섭 또는 RNAi). 서열이 알려져 있는 유전자에 대한 적절한 dsRNA 또는 dsRNA-코딩 벡터를 선택하는 방법은 관련 기술분야에 널리 알려져 있다 (예를 들어, 문헌 [Tuschi, T., et al. (1999) *Genes Dev.* 13(24):3191-3197; Elbashir, S.M. et al. (2001) *Nature* 411:494-498; Hannon, G.J. (2002) *Nature* 418:244-251; McManus, M.T. and Sharp, P. A. (2002) *Nature Reviews Genetics* 3:737-747; Bremmelkamp, T.R. et al. (2002) *Science* 296:550-553]; 미국 특허 번호 6,573,099 및 6,506,559; 및 국제 특허 공개 번호 WO 01/36646, WO 99/32619, 및 WO 01/68836 참조).

[0129] 리보자임은 또한 본 발명에 사용하기 위한 DHODH 억제제로서 기능할 수 있다. 리보자임은 RNA의 특이적 절단을 촉매화할 수 있는 효소적 RNA 분자이다. 리보자임 작용의 메카니즘은 상보적 표적 RNA에 대한 리보자임 분자의 서열 특이적 혼성화에 이어서 핵산내부분해 절단을 수반한다. 그에 의해, mRNA 서열의 핵산내절단을 특이적으로 및 효율적으로 촉매화하는 조작된 헤어핀 또는 해머헤드 모티프 리보자임 분자가 본 발명의 범주 내에서 유용하다. 임의의 잠재적 RNA 표적 내의 특이적 리보자임 절단 부위는 초기에, 전형적으로 하기 서열, GUA, GUU 및 GUC를 포함하는 리보자임 절단 부위에 대한 표적 분자를 스캐닝함으로써 확인된다. 일단 확인되면, 절단 부위를 함유하는 표적 유전자의 영역에 상응하는 약 15 내지 20개 리보뉴클레오티드의 짧은 RNA 서열은 올리고뉴클레오티드 서열을 부적합하도록 만들 수 있는 예측된 구조적 특색, 예컨대 2차 구조에 대해 평가될 수 있다. 후보 표적의 적합성은 또한, 예를 들어, 리보뉴클레아제 보호 검정을 사용하여 상보적 올리고뉴클레오티드와의 혼성화에 대한 그의 접근가능성을 시험함으로써 평가될 수 있다.

[0130] 억제제로서 유용한 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 리보자임은 둘 다 알려진 방법에 의해 제조될 수 있다. 이들은 화학적 합성을 위한 기술 예컨대, 예를 들어, 고체 상 포스포르아마다이트 화학적 합성에 의한 것을 포함한다. 대안적으로, 안티센스 RNA 문자는 RNA 문자를 코딩하는 DNA 서열의 시험관내 또는 생체내 전사에 의해 생성될 수 있다. 이러한 DNA 서열은 적합한 RNA 폴리머라제 프로모터 예컨대 T7 또는 SP6 폴리머라제 프로모터를 포함하고 있는 매우 다양한 벡터 내로 흔입될 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드에 대한 다양한 변형은 세포내 안정성 및 반감기를 증가시키는 수단으로서 도입될 수 있다. 가능한 변형은 리보뉴클레오티드 또는 데옥시리보뉴클레오티드의 플랭킹 서열의 문자의 5' 및/또는 3' 단부에의 첨가, 또는 올리고뉴클레오티드 백분내의 포스포디에스테라제 연결보다 오히려 포스포로티오에이트 또는 2'-0-메틸의 사용을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0131] 용어 "제약상 허용되는 염"은 제약상 허용되는 비-독성 염기 또는 산으로부터 제조된 염을 지칭한다. 활성제가 산성일 때, 그의 상응하는 염은 편리하게는 무기 염기 및 유기 염기를 포함한 제약상 허용되는 비-독성 염기로부터 제조될 수 있다. 이러한 무기 염기로부터 유래된 염은 알루미늄, 암모늄, 칼슘, 구리 (제2구리 및 제1구리), 제2철, 제1철, 리튬, 마그네슘, 망가니즈 (제2망가니즈 및 제1망가니즈), 칼륨, 나트륨, 아연 등의 염을 포함한다. 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 칼륨 및 나트륨 염이 특히 바람직하다. 제약상 허용되는 유기 비-독성 염기로부터 유래된 염은 1급, 2급, 및 3급 아민, 뿐만 아니라 시클릭 아민 및 치환된 아민 예컨대 천연 발생 및 합성 치환된 아민의 염을 포함한다. 염을 형성할 수 있는 다른 제약상 허용되는 유기 비-독성 염기는 이온 교환 수지 예컨대, 예를 들어, 아르기닌, 베타인, 카페인, 콜린, N',N'-디벤질에틸렌디아민, 디에틸아민, 2-디에틸아미노에탄올, 2-디메틸아미노에탄올, 에탄올아민, 에틸렌디아민, N-에틸모르폴린, N-에틸페페리딘,

글루카민, 글루코사민, 히스티딘, 히드라바민, 이소프로필아민, 리신, 메틸글루카민, 모르폴린, 피페라진, 피페리딘, 폴리아민 수지, 프로카인, 퓨린, 테오브로민, 트리에틸아민, 트리메틸아민, 트리프로필아민 및 트로메타민 등을 포함한다.

[0132] 본 발명에 사용된 활성제가 염기성일 때, 그의 상응하는 염은 편리하게는 무기 및 유기 산을 포함한 제약상 허용되는 비-독성 산으로부터 제조될 수 있다. 이러한 산은, 예를 들어, 아세트산, 벤젠술폰산, 벤조산, 캄포르술폰산, 시트르산, 에탄술폰산, 푸마르산, 글루콘산, 글루탐산, 브로민화수소산, 염산, 이세티온산, 락트산, 말레산, 말산, 만델산, 메탄술폰산, 뮤신산, 질산, 파모산, 판토텐산, 인산, 숙신산, 황산, 타르타르산, p-톨루엔술폰산 등을 포함한다. 시트르산, 브로민화수소산, 염산, 말레산, 인산, 황산 및 타르타르산이 특히 바람직하다.

[0133] 활성 성분을 포함하는 본 발명에 사용된 제약 조성물은 제약상 허용되는 담체 및 임의로 다른 치료 성분 또는 아주반트를 포함할 수 있다. 다른 치료제는 상기에 열거된 바와 같은, 세포독성제, 화학요법제 또는 항암제, 또는 이러한 작용제의 효과를 증진시키는 작용제를 포함할 수 있다. 조성물은, 임의의 주어진 경우에 가장 적합한 경로가 특정한 숙주, 및 활성 성분이 투여되는 병태의 특성 및 중증도에 따를 것이지만, 경구, 직장, 국소, 및 비경구 (폐하, 근육내, 및 정맥내 포함) 투여에 적합한 조성물을 포함한다. 제약 조성물은 편리하게는 단위 투여 형태로 제시되고 제약 분야에 널리 알려진 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0134] 실제로, 본 발명의 활성제는 통상적인 제약 배합 기술에 따라 제약 담체와 친밀하게 혼합한 활성 성분으로서 조합될 수 있다. 담체는 투여, 예를 들어 경구 또는 비경구 (정맥내 포함) 투여에 목적되는 제제의 형태에 따라 다양한 형태를 취할 수 있다. 따라서, 본 발명의 제약 조성물은 경구 투여에 적합한 이산 단위 예컨대 각각 미리 결정된 양의 활성 성분을 함유하는 캡슐, 카쉐 또는 정제로서 제시될 수 있다. 추가로, 조성물은 분말, 과립, 용액, 수성 액체 중의 혼탁액, 비-수성 액체, 수중유 에멀젼 또는 유중수 액체 에멀젼으로 제시될 수 있다. 상기 제시된 통상의 투여 형태 이외에, 활성제 (그의 각각의 구성성분의 제약상 허용되는 염 포함)는 또한 제어 방출 수단 및/또는 전달 장치에 의해 투여될 수 있다. 조합 조성물은 임의의 제약 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 이러한 방법은 활성 성분을 1종 이상의 필수 성분을 구성하는 담체와 회합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 조성물은 활성 성분을 액체 담체 또는 미분된 고체 담체 또는 둘 다와 균일하게 및 친밀하게 혼합함으로써 제조된다. 이어서, 생성물은 목적되는 외형으로 편리하게 성형될 수 있다.

[0135] 본 발명에 사용된 활성제 (그의 제약상 허용되는 염 포함)는 또한 1종 이상의 다른 치료 활성 화합물과 조합하여 제약 조성물에 포함될 수 있다. 다른 치료 활성 화합물은 상기 열거된 바와 같은, 세포독성제, 화학요법제 또는 항암제, 또는 이러한 작용제의 효과를 증진시키는 작용제를 포함할 수 있다. 따라서 본 발명의 한 실시양태에서, 제약 조성물은 항대사물 또는 DHODH 억제제를 항암제와 조합하여 포함할 수 있으며, 여기서 상기 항암제는 알킬화 약물, 미세관 억제제, 포도필로토신, 항생제, 니트로소우레아, 호르몬 요법, 키나제 억제제, 종양 세포 아폽토시스의 활성화제, 및 항혈관신생제로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 이용되는 제약 담체는, 예를 들어, 고체, 액체, 또는 기체일 수 있다. 고체 담체의 예는 락토스, 백토, 수크로스, 활석, 젤라틴, 한천, 펙틴, 아카시아, 마그네슘 스테아레이트, 및 스테아르산을 포함한다. 액체 담체의 예는 당 시럽, 땅콩오일, 올리브 오일, 및 물이다. 기체 담체의 예는 이산화탄소 및 질소를 포함한다. 경구 투여 형태를 위한 조성물의 제조에 있어서, 임의의 편리한 제약 매질이 이용될 수 있다. 예를 들어, 물, 글리콜, 오일, 알콜, 향미제, 보존제, 착색제 등을 사용하여 경구 액체 제제, 예컨대 혼탁액, 엘리시르 및 용액을 형성할 수 있지만; 담체, 예컨대 전분, 당, 미세결정질 셀룰로스, 회석제, 과립화제, 윤활제, 결합제, 봉해제 등을 사용하여 경구 고체 제제 예컨대 분말, 캡슐 및 정제를 형성할 수 있다. 투여의 용이성으로 인해, 정제 및 캡슐은 고체 제약 담체가 사용되는 바람직한 경구 투여 단위이다. 임의로, 정제는 표준 수성 또는 비수성 기술에 의해 코팅될 수 있다. 본 발명에 사용된 조성물을 함유하는 정제는, 임의로 1종 이상의 부속 성분 또는 아주반트와의 압착 또는 성형에 의해 제조될 수 있다. 압축된 정제는 임의로 결합제, 윤활제, 불활성 회석제, 표면 활성제 또는 분산제와 혼합된 자유-유동 형태 예컨대 분말 또는 과립 중 활성 성분을 적합한 기계에서 압축함으로써 제조될 수 있다. 몰딩된 정제는 불활성 액체 회석제로 습윤된 분말화 화합물의 혼합물을 적합한 기계에서 몰딩함으로써 제조될 수 있다. 각각의 정제는 바람직하게는 약 0.05mg 내지 약 5g의 활성 성분을 함유하고, 각각의 카쉐 또는 캡슐은 바람직하게는 약 0.05mg 내지 약 5g의 활성 성분을 함유한다. 예를 들어, 인간에게 경구 투여하기 위해 의도된 제제는 전체 조성물의 약 5 내지 약 95 퍼센트에서 달라질 수 있는 적절하고 편리한 양의 담체 물질과 배합된 약 0.5mg 내지 약 5g의 활성제를 함유할 수 있다. 단위 투여 형태는 일반적으로 약 1mg 내지 약 2g의 활성 성분, 전형적으로 25mg, 50mg, 100mg, 200mg, 300mg, 400mg, 500mg, 600mg, 800mg, 또는 1000mg을 함유할 것이다.

[0136]

비경구 투여에 적합한 본 발명에 사용된 제약 조성물은 물 중 활성 화합물의 용액 또는 혼탁액으로 제조될 수 있다. 적합한 계면활성제, 예컨대, 예를 들어, 히드록시프로필셀룰로스가 포함될 수 있다. 분산액은 또한 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜, 및 오일 중 그의 혼합물에서 제조될 수 있다. 추가로, 미생물의 유해한 성장을 방지하기 위한 보존제가 포함될 수 있다. 주사용으로 적합한 본 발명에 사용된 제약 조성물은 멸균 수성 용액 또는 분산액을 포함한다. 게다가, 조성물은 이러한 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말 형태일 수 있다. 모든 경우에, 최종 주사가능한 형태는 멸균되어야 하며, 용이한 주사능을 위해 효과적으로 유동성이어야 한다. 제약 조성물은 제조 및 저장의 조건 하에 안정하여야 하며; 따라서, 바람직하게는 미생물 예컨대 박테리아 및 진균의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 식물성 오일, 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 본 발명을 위한 제약 조성물은 국소 사용, 예컨대, 예를 들어, 에어로졸, 크림, 연고, 로션, 살포성 분말 등에 적합한 형태일 수 있다. 추가로, 조성물은 경피 장치에 사용하기에 적합한 형태일 수 있다. 이들 제제는 통상적인 프로세싱 방법을 통해, 항대사물 또는 DHODH 억제제 (그의 제약상 허용되는 염 포함)를 활용하여 제조될 수 있다. 예로서, 크림 또는 연고는 친수성 물질 및 물을, 약 5 중량% 내지 약 10 중량%의 화합물과 함께 혼합하여 목적되는 점조도를 갖는 크림 또는 연고를 생성함으로써 제조된다.

[0137]

본 발명을 위한 제약 조성물은 담체가 고체인 직장 투여에 적합한 형태일 수 있다. 혼합물이 단위 용량 좌제를 형성하는 것이 바람직하다. 적합한 담체는 코코아 버터 및 관련 기술분야에서 통상적으로 사용되는 다른 물질을 포함한다. 좌제는 편리하게, 조성물을 연화된 또는 용융된 담체(들)와 혼합한 후에 금형에서 냉각 및 성형시킴으로써 형성될 수 있다. 상기 언급된 담체 성분 이외에, 상기 기재된 제약 제제는, 적절한 경우에, 1종 이상의 추가적인 담체 성분, 예컨대 희석제, 완충제, 향미제, 결합제, 표면-활성제, 증점제, 윤활제, 보존제 (항산화제 포함) 등을 포함할 수 있다. 게다가, 다른 아주반트는 제제가 의도되는 수용자의 혈액과 등장성이 되도록 포함될 수 있다. 항대사물 또는 DHODH 억제제 (그의 제약상 허용되는 염 포함)를 함유하는 조성물은 또한 분말 또는 액체 농축물 형태로 제조될 수 있다.

[0138]

실시예

[0139]

본 발명은 하기 실시예로부터 보다 잘 이해될 것이다. 그러나, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 논의된 구체적 방법 및 결과가 단지 이후에 기재되는 청구범위에서 보다 자세하게 기재된 바와 같은 본 발명을 예시하는 것이며, 어떠한 방식으로도 이에 제한되는 것으로 간주되지 않는다는 것을 용이하게 이해할 것이다.

[0140]

야생형 및 돌연변이체 IDH 세포주의 증식 검정

[0141]

TF1-pLVX (야생형) 세포를 20k/ml, 90 μ l/웰로 pLVX 플레이팅한 반면 TF1/R132H27 (mIDH1) 및 TF1/R140Q11 (mIDH2) 세포를 RPMI, 10%FBS, G418 및 GM-CSF 중 80k/ml, 90 μ l/웰로 플레이팅하였다. 시험 화합물을 제0일에 첨가하고 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)® 검정 (프로메가(Promega))을 제3/4일 및 제7일에 수행하였다. 배지를 7-일 배양 동안 교체하지 않았다. 브레퀴나르는 R132H IDH1 및 R140Q IDH2 돌연변이체 세포주를 각각 1.3 μ M 및 1.6 μ M의 IC₅₀으로 억제하였다.

[0142]

표적에 대한 브레퀴나르의 효과를 입증하기 위해, 우리단 및 오로테이트를 세포 배양 배지에 5종의 농도로 별개로 첨가하였다: 0, 8, 40, 200 및 1000uM +/- 브레퀴나르의 단일 용량 (2 μ M, ~ IC90 @ 제7일). 데이터를 ATP 배수-변화로서 표현하였다: 제0일 대비 제3일. 도 2a는 mIDH1 (73%) 및 mIDH2 (52%)에서의 대사 활성의 하락이 8 μ M의 농도에서의 우리단에 의해 구출되었다는 것을 예시한다. 도 2b는 mIDH1 (77%) 및 mIDH2 (47%)에서의 대사 활성의 하락이 1,000 μ M의 농도에서의 우리단에 의해 구출되었다는 것을 예시한다.

[0143]

참조로 포함

[0144]

본원에 개시된 모든 특허, 공개된 특허 출원 및 다른 참고문헌은 명확하게 본원에 참조로 포함된다.

[0145]

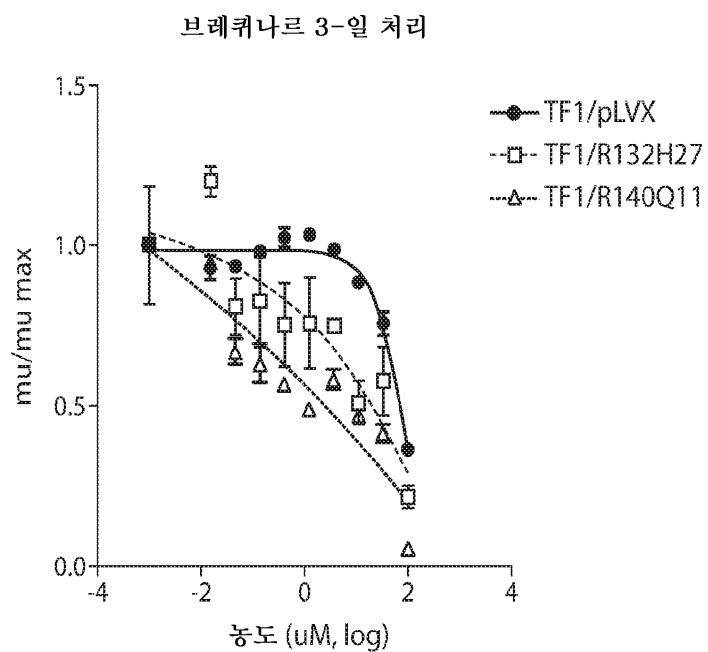
등가물

[0146]

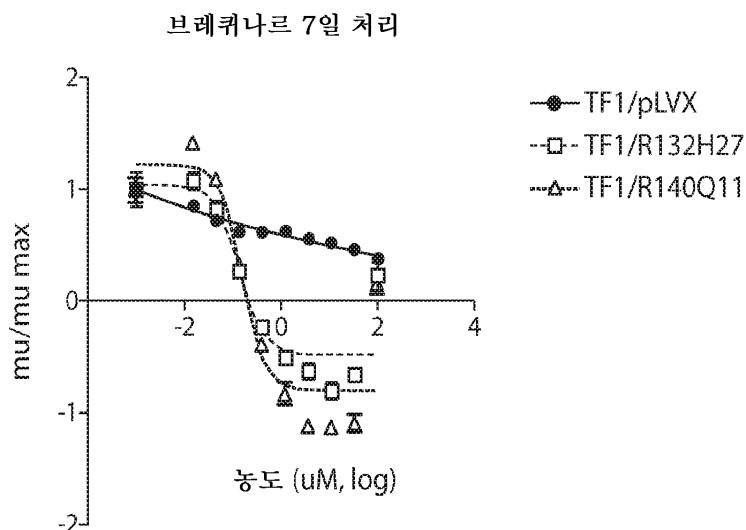
관련 기술분야의 통상의 기술자는 단지 상용 실험만을 사용하여, 본원에 구체적으로 기재된 본 발명의 구체적 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나, 또는 이를 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 청구범위의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

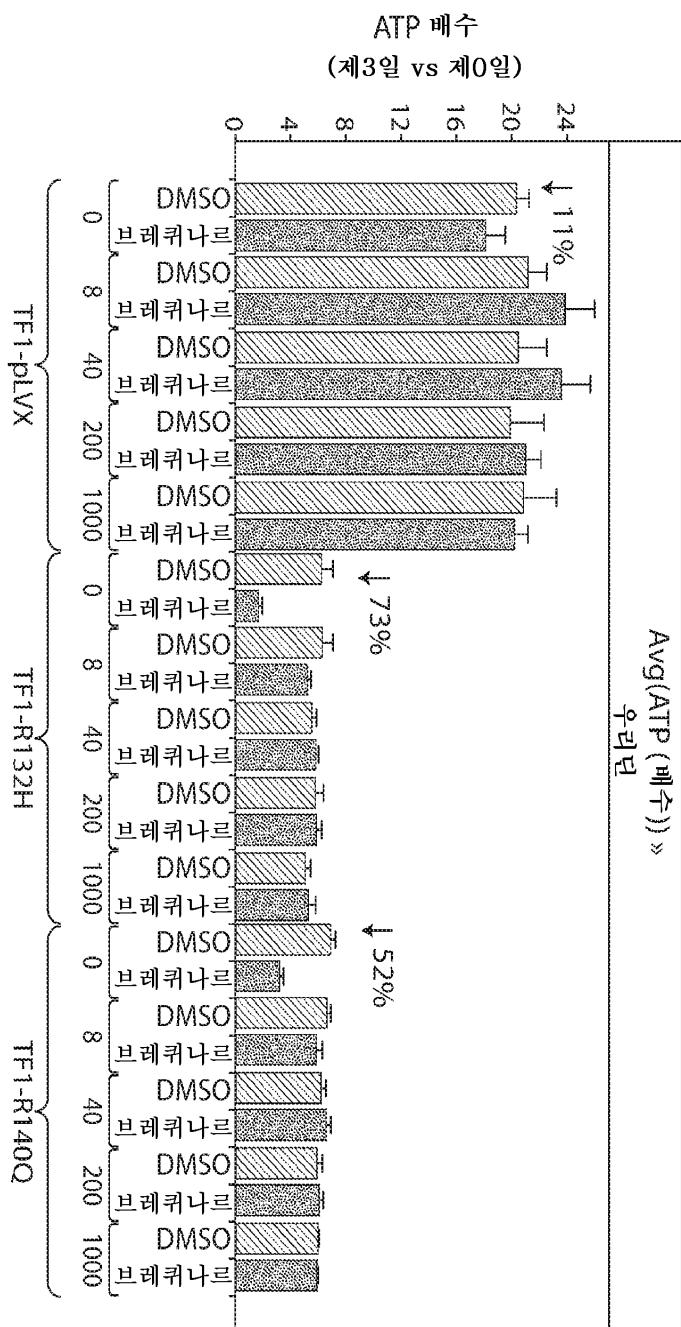
도면 1a



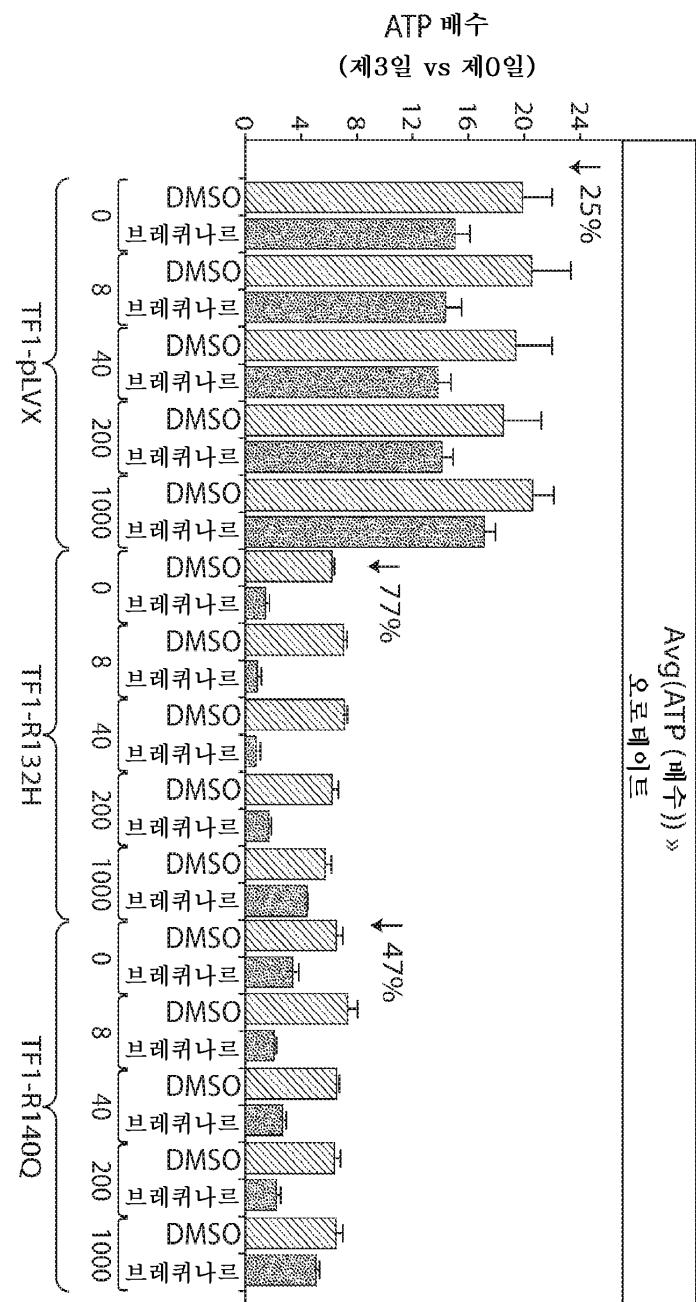
도면 1b



도면2a



도면2b



도면3

