(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0099049
(43) 공개일자 2025년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4178 (2006.01) *A61K 31/277* (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01) *A61K 31/436* (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01) *A61K 31/4439* (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01) *A61K 31/4709* (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4178 (2013.01)
A61K 31/277 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7033654
(22) 출원일자(국제) 2023년03월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년10월08일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2023/050163
(87) 국제공개번호 WO 2023/168491
국제공개일자 2023년09월14일
(30) 우선권주장
2022900578 2022년03월09일 오스트레일리아(AU)

(71) 출원인
레이스 온콜로지 리미티드
오스트레일리아 뉴 사우스 웨일즈 2000 시드니 맥쿼리 플레이스 1 엘36
(72) 발명자
틸레트, 다니엘
오스트레일리아 뉴사우스웨일스 2025 울라라 존스트리트 29
베릴스, 니콜 마가렛
오스트레일리아 뉴사우스웨일스 2291 미어웨더 버너 스티트 37
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 광장리앤고

전체 청구항 수 : 총 43 항

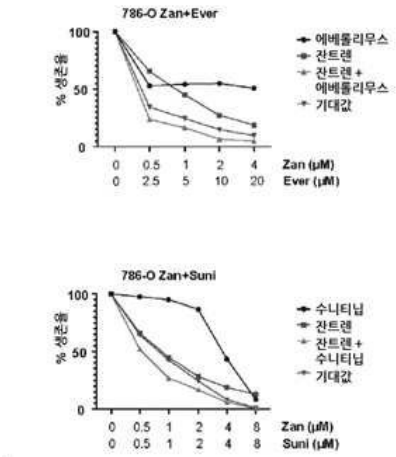
(54) 발명의 명칭 **투명세포 신세포 암종의 치료**

(57) 요 약

본 발명은 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 적어도 제2 제제의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 상기 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 또한, 본 발명은 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 약학적 조성물 및 키트뿐만 아니라, ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 이러한 조성물의 용도를 제공한다.

대 표 도 - 도1

a



b

786-O

Zan (μM)	Ever (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Suni (μM)	Webb 결과
0.5	1.25	-0.080[A]	0.5	0.5	-0.124*
0.5	2.5	-0.138*	0.5	1	-0.312*
0.5	5	-0.187*	0.5	2	-0.375*
0.5	10	-0.264*	0.5	4	-0.146*
0.5	20	-0.269*	0.5	8	0.052[A]
1	1.25	-0.001[A]	1	0.5	0.037[A]
1	2.5	-0.056[A]	1	1	-0.159*
1	5	-0.102*	1	2	-0.219*
1	10	-0.178*	1	4	-0.061[A]
1	20	-0.164*	1	8	0.060[A]
2	1.25	0.072[A]	2	0.5	0.125*
2	2.5	0.020[A]	2	1	-0.028[A]
2	5	-0.053[A]	2	2	-0.076[A]
2	10	-0.086[A]	2	4	0.006[A]
2	20	-0.081[A]	2	8	0.058[A]
4	1.25	0.109[A]	4	0.5	0.064[A]
4	2.5	0.070[A]	4	1	-0.009[A]
4	5	-0.038[A]	4	2	-0.039[A]
4	10	-0.036[A]	4	4	-0.023[A]
4	20	-0.048[A]	4	8	0.021[A]
8	1.25	0.156[A]	8	0.5	-0.055[A]
8	2.5	0.050[A]	8	1	-0.084[A]
8	5	0.019[A]	8	2	-0.101*
8	10	-0.024[A]	8	4	-0.049[A]
8	20	-0.047[A]	8	8	-0.005[A]

(52) CPC특허분류
A61K 31/404 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
A61K 31/44 (2013.01)
A61K 31/4439 (2013.01)
A61K 31/47 (2013.01)
A61K 31/4709 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
(72) 발명자
머레이, 헤더 콘스탄스
오스트레일리아 뉴사우스웨일스 2280 벨몬트 노스 이글스 네스트 클로즈 16
브르조조우스키, 조슈아 스티븐 시드니
오스트레일리아 뉴사우스웨일스 2283 펜넬 베이 브로엄 애비뉴 27

명 세 서

청구범위

청구항 1

ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암을 갖는 환자를 치료하는 방법으로서,

상기 방법이 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 적어도 제2 제제의 치료적 유효량을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하고,

상기 제2 제제가 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 단백질 키나아제 억제제가 티로신 키나아제 억제제인 것인, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 단백질 키나아제 억제제가 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, DDR1, DDR2, RET 및 RIPK2 중 하나 이상을 억제하는 것인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제가

(a) 파조파닙;

(b) 렌바티닙;

(c) 카보잔티닙;

(d) 에베롤리무스;

(e) 소라페닙;

(f) 수니티닙;

(g) 템시롤리무스;

(h) 미토마이신 C;

(i) 액시티닙;

(j) 티보자닙; 및

(k) 벨주티판

으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제가

(a) 파조파닙;

(b) 렌바티닙; 및

(c) 카보잔티닙

으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제2 제제가 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것인, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

하나의 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

ccRCC, 선택적으로 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC의 치료를 포함하는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 적어도 하나의 추가 요법제의 투여를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

추가 요법제가 관문 억제제 약물 또는 면역조절제인 것인, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

적어도 하나의 추가 요법제가

(a) 아테졸리주맙;

(b) 아벨루맙;

(c) 베바시주맙;

(d) 세미플리맙;

(e) 도스탈리맙;

(f) 더발루맙;

(g) 인터루킨-2

(h) 이필리무맙;

(i) 니볼루맙;

(j) 펨브롤리주맙; 및

(k) 프로루킨

으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 환자에게 상기 제2 제제를 투여하기 전에, 동시에, 또는 후에, 상기 환자에게 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 제2 제제가 동시에, 선택적으로 단일 조성물로 상기 환자에게 투여되는 것인, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 치료가 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 또는 상기 제2 제제가 단독으로 투여되는 방법과 비교하여 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암에 대해 상승적 결과를 갖는 것인, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제의 용량이, 동일한 표적 결과를 달성하기 위해 상기 제2 제제 없이 투여되는 경우에 요구되는 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제의 용량보다 적어도 25% 더 낮은 것인, 방법.

청구항 16

ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 제2 제제를 포함하는 약학적 조성물로서,

상기 제2 제제가 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 단백질 키나아제 억제제가 티로신 키나아제 억제제인, 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 단백질 키나아제 억제제가 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, DDR1, DDR2, RET 및 RIPK2 중 하나 이상을 억제하는, 조성물.

청구항 19

제16항에 있어서,

상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제가

(a) 파조파닙;

(b) 렌바티닙;

(c) 카보잔티닙;

(d) 에베롤리무스;

(e) 소라페닙;

(f) 수니티닙;

(g) 템시롤리무스;

(h) 미토마이신 C;

(i) 액시티닙;

(j) 티보자닙; 및

(k) 벨주티판

으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 20

제16항에 있어서,

상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제가

(a) 파조파닙;

(b) 렌바티닙; 및

(c) 카보잔티닙

으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 21

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,

ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 적어도 하나의 추가 요법제를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서,

추가 요법제가 관문 억제제 약물 또는 면역조절제인, 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서,

적어도 하나의 추가 요법제가

(a) 아테졸리주맙;

(b) 아벨루맙;

(c) 베바시주맙;

(d) 세미플리맙;

(e) 도스탈리맙;

(f) 더발루맙;

(g) 인터루킨-2

(h) 이필리무맙;

(i) 니볼루맙;

(j) 펨브롤리주맙; 및

(k) 프로루킨

으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 24

제16항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제2 제제가 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인, 조성물.

청구항 25

제16항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,

하나의 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함하는, 조성물.

청구항 26

제16항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서,

ccRCC, 선택적으로 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC의 치료를 위한, 조성물.

청구항 27

제16항 중 어느 한 항에 있어서,

단독으로 투여되는 경우의 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 또는 상기 제2 제제와 비교하여 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암에 대해 상승적 활성도를 갖는, 조성물.

청구항 28

환자에서 ccRCC 또는 다른 VHL(-)의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 제16항 내지 제26항 중 어느 한 항에 따른 조성물의 용도.

청구항 29

제28항에 있어서,

상기 의약이 ccRCC, 선택적으로 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC의 치료를 위한 것인, 용도.

청구항 30

제28항 또는 제29항에 있어서,

상기 의약이 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 것인, 용도.

청구항 31

ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 키트로서,

상기 키트가 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 적어도 제2 제제를 포함하고,

상기 제2 제제가 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 키트

청구항 32

제31항에 있어서,

상기 단백질 카나아제 억제제가 티로신 키나아제 억제제인, 키트.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서,

상기 단백질 키나아제 억제제가 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, DDR1, DDR2, RET 및 RIPK2 중 하나 이상을 억제하는, 키트.

청구항 34

제31항에 있어서,

적어도 하나의 추가 요법제가

(a) 파조파닙;

(b) 렌바티닙;

(c) 카보잔티닙;

(d) 에베롤리무스;

(e) 소라페닙;

(f) 수니티닙;

(g) 템시롤리무스;

(h) 미토마이신 C;

(i) 액시티닙;

(j) 티보자닙; 및

(k) 벨주티판

으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 키트.

청구항 35

제31항에 있어서,

상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제가

(a) 파조파닙;

(b) 렌바티닙; 및

(c) 카보잔티닙

으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 키트.

청구항 36

제31항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제2 제제가 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인, 키트.

청구항 37

제31항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서,

하나의 단백질 키나아제 억제제 및 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 키트.

청구항 38

제31항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 적어도 하나의 추가 요법제를 추가로 포함하는, 키트.

청구항 39

제38항에 있어서,

추가 요법제가 관문 억제제 약물 또는 면역조절제인, 키트.

청구항 40

제39항에 있어서,

적어도 하나의 추가 요법제가

(a) 아테졸리주맙;

(b) 아벨루맙;

(c) 베바시주맙;

(d) 세미플리맙;

(e) 도스탈리맙;

(f) 더발루맙;

(g) 인터루킨-2

(h) 이필리무맙;

(i) 니볼루맙;

(j) 펨브롤리주맙; 및

(k) 프로루킨

으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 키트.

청구항 41

제31항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서,

ccRCC, 선택적으로 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC의 치료 위한, 키트.

청구항 42

제31항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 환자에게 상기 제2 제제를 투여하기 전에, 동시에, 또는 후에, 상기 환자에게 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제를 투여하는 것에 대한 설명서를 포함하는, 키트.

청구항 43

제31항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 환자에게 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 제2 제제를 동시에 투여하는 것에 대한 설명서를 포함하는, 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 단백질 키나아제 억제제와 조합하여 비산트렌을 사용하여 투명세포 신세포 암종(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) 및 비활성 본 히펠-린다우(von Hippel-Lindau, VHL) 종양 억제 유전자를 갖는 다른 암을 치료하는 것을 목적으로 한다. 본 발명은 또한 이러한 치료를 위한 약학적 조성물 및 키트뿐만 아니라, 이러한 치료를 위한 의약의 제조를 위한 이러한 조성물의 용도를 고려한다.

배 경 기 술

[0002] 신장암은 가장 흔한 10대 암 중 하나이다. 신세포 암종(RCC)은 전체 새로운 암의 3.8%를 차지한다. 신세포 암종

(RCC)의 대략 80 내지 85%는 투명세포 신세포 암종(ccRCC)이다. 나머지 15% 내지 20%는 각각 다양한 분자 프로파일을 갖는, 조직학적 아형의 다양한 그룹을 포함하는 비-투명세포 RCC이다. 미국암학회(American Cancer Society)에 따르면, 남성의 평생 신장암 발생 위험은 47명 중 1명이고, 여성은 82명 중 1명이다.

[0003] 흡연 및 비만은 RCC 발생의 위험 요인으로 정립되어 있다. RCC의 여러 유전적 유형이 존재하며, 본 히펠-린다우(VHL) 질환이 가장 흔하다. VHL 질환은 개체가 ccRCC 및 다양한 다른 암에 걸리기 쉽게 하는, VHL 유전자에서의 상염색체-우성 돌연변이(autosomal-dominant mutation)에 의해 유발된다. VHL 기능-상실 또한 산발적인 ccRCC에서 중요한 것으로 나타났다. 다수의 연구는 대립유전자 상실, 돌연변이 및 프로모터 메틸화에 의해 유발된 산발적 ccRCC의 90% 초과에서 VHL 기능-상실 변화 VHL(-)을 보고하였다.

[0004] 미국에서, 2019년에 대략 65,000건의 신장암 신규 사례가 발생하여 15,000명이 사망하였다. 진행된 질환을 갖는 환자는 종종 무증상이며 진단 시점에 환자의 약 20%가 전이성 질환을 갖는다. 5년 생존의 가장 중요한 예후 결정요인은 종양 단계, 등급, 종양의 국소 범위, 국소 결절 전이의 존재 및 진단 시 전이성 질환의 증거이다. RCC는 주로 폐, 림프절, 뼈, 간, 부신 및 뇌로 전이된다. 전이성 ccRCC에 대한 5년 생존율은 12%로 낮다.

[0005] 수술은 세포환원성 신장절제술 후 전이성 질환을 치료하는 데 전형적으로 사용되는 전신 요법으로 단계 I 내지 III의 ccRCC에 대한 1차 치료이다. RCC는 세포독성 화학요법 또는 방사선요법에 반응성이 높지 않다. 표적 요법은 점점 더 많은 RCC 환자들에게 도움이 되고 있다. 혈관 내피 성장 인자(vascular endothelial growth factor, VEGF) 결합 단일클론 항체(베바시주맙), VEGF 수용체에 대한 강력한 활성도를 갖는 경구 티로신 키나아제 억제제(예를 들어, 액시티닙, 카보잔티닙, 렌바티닙, 파조파닙, 소라페닙, 수니티닙 및 티보자닙) 및 라파마이신 억제제의 포유동물 표적(에베롤리무스 및 템시롤리무스)과 같은 표적 제제가 최근 몇 년 동안 새로운 치료 대안을 제공하였다.

[0006] 대부분의 ccRCC 종양 세포는 세포막 상에 PD-L1을 발현하여 면역 공격을 회피하는데 도움을 준다. 면역 관문 억제제, PD-1 억제 또는 PD-L1 억제는 이러한 경로를 차단하여, 면역계 상의 "오프 스위치(off switch)"를 방출하고, 세포독성 T 세포가 종양 세포를 사멸시키는 능력을 증가시킨다. CTLA-4 억제는 면역 프라이밍 단계 동안 자가반응성 T 세포를 중단시켜, 이펙터 T 세포의 활성화 및 증식을 지원한다. FDA는 ccRCC에 사용할 수 있도록 2개의 PD-1 억제제(니볼루맙 및 펨브롤리주맙), 1개의 PD-L1 억제제(아벨루맙) 및 1개의 CTLA-4 억제제(이필리무맙)를 승인하였다. 잠재적 고려사항인 다른 PD-1/ PD-L1 면역 관문 억제제는 아테졸리주맙, 베바시주맙, 세미플리맙, 도스탈리맙 및 더발루맙을 포함한다.

[0007] 이러한 새로운 치료 옵션에도 불구하고, 많은 환자들은 약물 저항 또는 우회 경로의 발생으로 인해 질병 진행을 갖는다. 따라서, ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 새로운 약물, 새로운 약물의 조합 또는 새로운 조합된 약물 치료에 대한 수요가 있다.

발명의 내용

[0008] 발명의 요약

[0009] 본 발명은 단백질 키나아제 억제제와 조합하여 비산트렌을 투여함으로써 ccRCC 및 다른 VHL(-)암을 치료하기 위한 새로운 패러다임을 제공한다. 이는 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암을 갖는 환자, 특히 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC를 갖는 환자의 임상 결과를 개선시키는 새로운 치료의 수요를 충족시킨다.

[0010] 비산트렌은 DNA 인터칼레이션(intercalation), 토포이소머라제 및 지방 덩어리 및 비만 관련 단백질(FTO)의 억제 및 면역 시스템의 활성화를 포함하는, 다중 작용 메커니즘을 갖는 항종양제(antineoplastic agent)이다.

[0011] 놀랍게도, 이러한 연구의 과정을 통해, 비산트렌 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 투명세포 신 암종 암세포에 대해 단백질 키나아제 억제제와 상승적으로 작용한다는 것이 밝혀졌다.

[0012] 따라서, 본 발명의 하나의 양태는 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 티로신 키나아제 억제제일 수 있는 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 적어도 제2 제제의 치료적 유효량을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 상기 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다.

[0013] 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제는 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, DDR1, DDR2, RET 및 RIPK2 중 하나 이상을 억제한다. 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제는 mTOR를 억제한다.

[0014] 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는

[0015] (a) 파조파닙;

[0016] (b) 렌바티닙;

[0017] (c) 카보잔티닙;

[0018] (d) 에베롤리무스;

[0019] (e) 소라페닙;

[0020] (f) 수니티닙;

[0021] (g) 템시롤리무스;

[0022] (h) 미토마이신 C;

[0023] (i) 액시티닙;

[0024] (j) 티보자닙; 및

[0025] (k) 벨주티판

[0026] 으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0027] 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는

[0028] (a) 파조파닙;

[0029] (b) 렌바티닙; 및

[0030] (c) 카보잔티닙

[0031] 으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0032] 특정 실시양태에 따르면, 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다.

[0033] 특정 실시양태에 따르면, 방법은 하나의 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0034] 특정 실시양태에 따르면, 방법은 단백질 키나아제 저항성 ccRCC의 치료를 포함한다.

[0035] 방법은 환자의 암의 VHL 돌연변이 및 후생유전학적 상태를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. VHL 돌연변이 또는 후생유전학적 상태는 치료 개시 전에 또는 대안적으로, 치료 진행의 마커로서 치료 동안 결정될 수 있다. 암의 VHL 돌연변이 또는 후생유전학적 상태는 차세대 염기서열 분석, RT-PCR, VHL에 대한 적절한 항체를 이용한 ELISA 검정, RNA 혼성화 검정 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0036] 특정 실시양태에 따르면, 방법은 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 적어도 하나의 추가 요법제, 선택적으로 관문 억제제 약물 또는 면역조절제의 투여를 추가로 포함할 수 있다. 적어도 하나의 추가 요법제는 아테졸리주맙; 아벨루맙; 베바시주맙; 세미플리맙; 도스탈리맙; 더발루맙; 인터루킨-2; 이필리무맙; 니볼루맙; 펨브롤리주맙; 및 프로루킨으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0037] 특정 실시양태에 따르면, 방법은 상기 환자에게 상기 제2 제제를 투여하기 전에, 동시에, 또는 후에, 상기 환자에게 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0038] 특정 실시양태에 따르면, 방법은 동시에, 선택적으로 단일 조성물로 상기 환자에게 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 제2 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0039] 특정 실시양태에 따르면, 치료는 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 또는 상기 제2 제제가 단독으로 투여되는 방법과 비교하여 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암에 대해 상승적 결과를 갖는다. 특정 실시양태에서, 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제의 용량은 동일한 표적 결과를 달성하기 위해 상기 제2 제제 없이 투여되는 경우의 상기 하나 이상의 단백질 키나아제 억제제 제제의 요구되는 용량보다 적어도 20% 낮다.

[0040] 본 발명의 또 다른 양태는 위에 기재된 바와 같은 치료 방법의 실시양태에 의한 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 약학적 조성물을 제공하며, 상기 조성물은 위에 기재된 바와 같이, 티로신 키나아제 억제제일 수 있는 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 위에 기재된 바와 같은 제2 제제를 포함하고, 상기 제2 제제는

비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 상기 조성물은 위에 기재된 바와 같은 추가 활성제를 포함할 수 있다.

[0041] 본 발명의 또 다른 양태는 환자에서 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암, 선택적으로 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, 위에 기재된 바와 같은 본 발명에 따른 조성물의 용도를 제공한다.

[0042] 본 발명의 또 다른 양태는 위에 기재된 바와 같이, 본 발명의 방법의 실시양태에 의한 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암, 선택적으로 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC의 치료를 위한 키트를 제공하며, 상기 키트는 위에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제, 선택적으로 티로신 키나아제 억제제 및 위에 기재된 바와 같은 적어도 제2 제제를 포함하고, 상기 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 본 발명에 따른 키트는 상기 환자에게 상기 제2 제제를 투여하기 전에, 동시에, 또는 후에, 상기 환자에게 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제를 투여하는 것에 대한 설명서를 포함할 수 있다. 대안적으로, 본 발명에 따른 키트는 동시에 상기 환자에게 상기 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 제2 제제를 투여하는 것에 대한 설명서를 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0043] 다음의 발명은 명세서, 첨부된 청구범위 및 첨부된 도면을 참조함으로써 더 잘 이해될 것이며, 용어 "Zan" 또는 "잔트렌(Zantrene)"은 비산트렌의 대체 용어이다.

도 1은 786-O 세포에서 비산트렌-에베롤리무스 또는 비산트렌-수니티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 에베롤리무스 및 수니티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 2는 786-O 세포에서 비산트렌-소라페닙 또는 비산트렌-파조파닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 소라페닙 및 파조파닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 또는 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(적색)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(녹색); 및 >0.1을 길항효과(황색)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 3은 786-O 세포에서 비산트렌-렌바티닙 또는 비산트렌-카보잔티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 렌바티닙 및 카보잔티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 4는 Caki-1 세포에서 비산트렌-에베롤리무스 또는 비산트렌-수니티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 에베롤리무스 및 수니티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 5는 Caki-1 세포에서 비산트렌-소라페닙 또는 비산트렌-파조파닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 소라페닙 및 파조파닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 또는 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 6은 Caki-1 세포에서 비산트렌-렌바티닙 또는 비산트렌-카보잔티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a)

표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 렌바티닙 및 카보잔티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 7은 Caki-2 세포에서 비산트렌-에베롤리무스 또는 비산트렌-수니티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 에베롤리무스 및 수니티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 8은 Caki-2 세포에서 비산트렌-소라페닙 또는 비산트렌-파조파닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 소라페닙 및 파조파닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 또는 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 9는 Caki-2 세포에서 비산트렌-렌바티닙 또는 비산트렌-카보잔티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 렌바티닙 및 카보잔티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 10은 RCC4 EV 세포에서 비산트렌-에베롤리무스 또는 비산트렌-수니티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 에베롤리무스 및 수니티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 11은 RCC4 EV 세포에서 비산트렌-소라페닙 또는 비산트렌-파조파닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 소라페닙 및 파조파닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 또는 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 12는 RCC4 EV 세포에서 비산트렌-렌바티닙 또는 비산트렌-카보잔티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 렌바티닙 및 카보잔티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 13은 RCC4 VHL 세포에서 비산트렌-에베롤리무스 또는 비산트렌-수니티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 에베롤리무스 및 수니티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 14는 RCC4 VHL 세포에서 비산트렌-소라페닙 또는 비산트렌-파조파닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 소라페닙 및 파조파닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 또는 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 15는 RCC4 VHL 세포에서 비산트렌-렌바티닙 또는 비산트렌-카보잔티닙 약물 조합의 Webb 분석을 나타낸다. a) 표시된 바와 같은, 잔트렌과 조합된 렌바티닙 및 카보잔티닙의 상이한 용량 범위에 따른 세포 생존율. 실험 데이터는 각각의 약물 단독 및 조합에 대해 나타난다. '기대값'은 Webb의 방법을 사용하여 계산되고, 약물 조합이 부가일 경우의 기대값을 나타낸다. 따라서, 이 선 아래의 임의의 실험값은 상승효과로 간주된다. 선 상 또는 근처는 부가효과이고; 선 위는 길항효과이다. b) <-0.1의 결과를 상승효과(*)로 표시하고; -0.1 내지 0.1 사이를 부가효과(&); 및 >0.1을 길항효과(#)로 하는 시험된 모든 약물 조합 용량에 대한 Webb 분석.

도 16은 비산트렌, 및 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료 저항을 극복하기 위한 표적 또는 화학요법제를 나타낸다.

도 17은 비산트렌, 및 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 면역요법 저항을 극복하기 위한 관문 억제제 조합 시험 설계를 나타낸다.

도 18은 비산트렌 민감도 및 동종의 신장암 세포주 RCC4 EV(VHL(-) 돌연변이) 및 RCC4 VHL(VHL 레스큐 주(rescue line))의 VHL 상태 사이의 연관성을 나타낸다. **(a)** t-검정을 사용하여 비교된, VHL 상태에 기반한 IC_{50} 값. **(b)** *RCC4* 동종 세포주 쌍에서 잔트렌 민감도의 직접 비교. 평균 +/- SEM, n=3.

도 19는 비산트렌 민감도 및 클론생성 검정을 사용하여 평가된 VHL 상태 사이의 연관성을 나타낸다. **(a)** IC_{50} 값은 VHL 돌연변이 및 야생형 세포주 사이에 비교된다. NS, 유의미하지 않음, 짝을 이루지 않은 t-검정(unpaired t-test) **(b)** *RCC4 EV* 및 *RCC4 VHL* 레스큐 세포주에 대해 관찰된 콜로니. n=4, *p<0.05, 대응표본 t-검정(paired t-test).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 정의

[0045] 본원에 사용된 바와 같이, "치료"는 원하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 수득하기 위해 대상체/환자, 조직 또는 세포에 영향을 미치는 것을 의미하고, 병태를 억제하는 것, 즉 그 발생을 둔화 또는 저지하는 것; 또는 병태의 효과를 완화 또는 개선시키는 것, 즉 병태의 효과의 반전 또는 퇴행을 유발하는 것을 포함한다.

[0046] 본원에 사용된 바와 같이, "예방"은 병태를 가질 위험이 있을 수 있는 세포, 조직 또는 대상체에서 발생하는 병태를 예방하는 것을 의미하지만, 반드시 그 병태가 결국 발생하지 않을 것이거나, 대상체가 결국 병태를 발전시키지 않을 것이라는 것을 의미하는 것은 아니다. 예방은 세포, 조직 또는 대상체에서 병태의 개시를 지연시키는 것을 포함한다.

[0047] 본원에 사용된 바와 같이, "대상체" 또는 "환자"는 포유동물을 지칭한다. 포유동물은 인간 또는 비-인간일 수 있다. 비-인간의 예는 영장류, 가축 동물(예를 들어, 양, 소, 말, 당나귀, 돼지), 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이), 실험실 시험 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 래트, 기니피그, 햄스터), 포획된 야생 동물(예를 들어, 여우, 사슴)을 포함한다. 전형적으로, 포유동물은 인간 또는 비-인간 영장류이다. 보다 전형적으로, 포유동물은 인간이다.

[0048] 용어 "조성물"은 활성 약학적 성분(예를 들어, "단백질 키나아제 억제제" 및 "비산트렌 또는 비산트렌의 유도체 또는 비산트렌의 약학적으로 허용가능한 염 또는 비산트렌의 심장보호 유도체를 포함하는 제2제제")을 부형제 또는 담체와 함께 포함하는 조성물 및 제형, 및 또한 담체를 갖는 조성물 및 제형을 포함한다. 약학적 조성물에서, 부형제 또는 담체는 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않은 것이 아니라는 것을 의미하는 "약학적으로 허용가능"하며, 즉 물질은 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 유발하거나, 물질이 함유된 조성물의 다른 성분과 유해한 방식으로 상호작용하지 않고 환자에게 투여되는 약학적 조성물에 포함될 수 있다. 보충 활성 성분이 또한 조성물에 포함될 수 있다.

[0049] "약학적으로 허용가능한 염" 또는 "약학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체"의 설명에서와 같은 "약학적으로

허용가능한"은 본원에서 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않은 것이 아닌 물질을 의미하고, 즉 물질은 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 유발하거나, 물질이 함유된 조성물의 다른 성분과 유해한 방식으로 상호작용하지 않고 환자에게 투여되는 약학적 조성물에 포함될 수 있다.

[0050] "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 원하는 요법적 반응을 산출하기에 충분한 활성 약학적 성분의 양을 지칭한다. 구체적인 유효량 또는 치료적 유효량은 치료되는 특정 병태, 대상체의 연령, 체중, 일반 건강, 신체 상태, 성별 및 식이, 치료 기간, 병행 요법의 성질(존재하는 경우) 및 특정 병태의 중증도와 같은 요인에 따라 달라질 것이다.

[0051] 본원에 사용된 바와 같이, "담체"는 임의의 및 모든 용매, 분산제, 비히클, 코팅제, 희석제, 증량제, 담체 용액, 현탁액, 콜로이드 및 형성제 및 결합제를 포함하고, 이들 중 임의의 것 또는 모두는 윤활제, 항균제 및 항진균제, 등장성제 및 흡수 지연제, 완충제, 항산화제, 증점제 및 점도 증진제와 같은 물리적 안정화제를 포함하는 다른 안정화제, 착색제, 향미제 및 감미제 등을 포함하는 당업계에 알려진 다른 약학적 부형제를 포함할 수 있다. 약학적 활성 물질에 대한 매질 및 제제의 사용은 당업계에 잘 알려져 있다. 임의의 전통적인 매질 또는 제제가 활성 성분과 양립불가능한 경우를 제외하고, 요법적 조성물에서 그의 사용이 고려된다.

[0052] 본원에 사용된 바와 같이, "투여" 또는 "투여하다" 또는 "투여하는"은 환자에게 하나 이상의 제제를 조제, 적용 또는 제공하는 것을 지칭한다. 투여는 당업계에 알려진 임의의 다수의 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 본원에 사용된 바와 같은 "투여"는 주입(정맥내 투여(i.v.)), 비경구 투여를 통한 것이다. "비경구"는 정맥내, 피하 및 근육내 투여를 의미한다.

[0053] 발명의 상세한 설명

[0054] 본 개시는 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암, 특히 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC의 치료를 위한 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 비산트렌의 치료적 활성량을 단백질 키나아제 억제제, 특히 티로신 키나아제 억제제("TKI")와 조합하여 투여하는 단계를 포함한다.

[0055] *단백질 키나아제 억제제*

[0056] 단백질 키나아제는 전형적으로 신호전달 경로에서, 표적 단백질, 즉 세린, 트레오닌 및 티로신뿐만 아니라, 다른 표적 상에 하이드록실 기를 보유하는 아미노산 측쇄를 인산화시키는 단백질 효소이다. 실제로, 많은 신호전달 경로는 단백질 키나아제의 캐스케이드를 포함한다. 이러한 인산화는 많은 경우에, 표적 단백질의 형태 변화를 유발하고, 이는 결과적으로 표적 단백질 활성도의 활성화 또는 억제를 초래하거나 이의 물리적 특성을 변경(이에 따라 이의 상호작용을 조절)할 수 있다. 따라서, 단백질 인산화 및 탈인산화 사건은 특정 생리학적 경로를 활성화 또는 억제할 수 있다. 예를 들어, 특정 단백질 또는 경로의 구성적 발현(constitutive expression) 또는 조절되지 않은 활성도를 유발하는 돌연변이를 통하는 것과 같은 이러한 신호전달의 조절장애(dysregulation)는 암에 관여되고/되거나 이들의 생존을 허용할 수 있다. EGFR, VEGFR, HER, ALK, RAS 및 RAF(몇 가지 예를 들면)와 같은 다양한 단백질 키나아제의 발현 및/또는 활성도의 조절장애는 ccRCC 세포를 포함하는 다양한 종양 세포의 증가된 성장, 증식, 운동성 및 생존과 연관되어 있다.

[0057] 당업계에 알려진 다양한 범위의 단백질 키나아제가 있다. 실제로, 인간 게놈은 단백질 키나아제 유전자를 518개 포함하는 것으로 알려진다. 매우 많은 수의 단백질 키나아제가 ccRCC를 포함하는 암과 연관된 것으로 알려져 있으며, 이는 이들이 성장, 특히 혈관신생(angiogenesis)뿐만 아니라, 막횡단 신호전달과 연관된 경로의 활성화 또는 억제 및 신호전달 경로와 관련이 있다는 것을 고려하면 놀라운 일이 아니다.

[0058] 암, 특히, ccRCC와 같은 신장암과 관련된 단백질 키나아제는, 예를 들어, 티로신 키나아제, 세린/트레오닌 키나아제, 사이클린-의존성 키나아제, 오로라 키나아제, mTOR, 및 미토겐-활성화 단백질 키나아제를 포함하고, 이들은, 예를 들어, AATK, ABL1, AKT2, ALK, AURKA, AXL, CHK2, DDR1, DDR2, EML4-ALK, EPHA2, EPHA5, ERBB2, EGFR, FIP1L1-PDGFRA, FTL3, HER, HIF, KIT, MET, p21Cip1, p27Kip1, PDGFR, PKD1, RET, 망막모세포종 단백질(RB), RIPK2, SCH1, VEGFR1, VEGFR2, 및 VEGFR3와 같은 키나아제를 포함할 수 있다.

[0059] 위에 언급된 키나아제는 1차 표적을 가질 수 있으나, 다른 표적/모이어티를 인산화시킬 수도 있다는 것에 주목하는 것이 중요하다. 예를 들어, 티로신 키나아제는 또한 세린 및/또는 트레오닌 하이드록실 모이어티를 인산화시킬 수 있다. 유사하게, 세린/트레오닌 키나아제는 또한 티로신 하이드록실 모이어티를 인산화시킬 수 있다. 유사하게, 키나아제가 주로 하나의 단백질을 표적으로 할 수 있지만, 다른 단백질을 또한 인산화시킬 수 있다. 따라서, 티로신 키나아제는 특정 단백질(종종 수용체) 상의 티로신 하이드록실을 주로 표적으로 하거나 또는 표적으로 하는 것으로 알려져 있을 수 있으나, 세린 및/또는 트레오닌 및/또는 다른 단백질 상의 하이드록실 모이

어티를 또한 인산화시킬 수 있다. 당업계에 알려진 바와 같이, 표적의 특이성에 있어서 이러한 가변성은 본원에 단백질 키나아제의 맥락 내에 포함된다.

[0060] 2001년 FDA 승인을 획득한 최초로 합리적으로 설계된 단백질 키나아제인, 이마티닙을 포함하는 광범위한 단백질 키나아제 억제제가 다양한 암의 치료를 위해 개발되었다. 그 후, 몇 가지 예를 들면 게피티닙, 에를로티닙, 다사티닙, 닐로티닙, 라파티닙, 오시머티닙, 올무티닙, 로를라티닙, 카프마티닙, 테포티닙, 셀퍼카티닙, 프랄세티닙, 셀루메티닙, 트라메티닙, 아파티닙, 이브루티닙, 다브라페닙, 포나티닙, 보수티닙, 라도티닙, 이델라리시브, 크리조티닙, 베무라페닙, 졸리티닙, 올무티닙, 미토마이신 C, 템시롤리무스, 에베롤리무스, 액시티닙, 소라페닙, 수니티닙, 카보잔티닙, 렌바티닙, 파조파닙 및 티보자닙와 같은 단백질 키나아제 억제제.

[0061] 현재 ccRCC의 치료를 위해 승인된 단백질 키나아제 억제제는 예를 들어, 템시롤리무스, 액시티닙, 벨주티판, 카보잔티닙, 에베롤리무스, 렌바티닙, 미토마이신 C, 파조파닙, 소라페닙, 수니티닙 및 티보자닙을 포함한다.

[0062] 액시티닙, 카보잔티닙, 파조파닙, 소라페닙, 수니티닙은 VEGFR 패밀리와 같은 표적을 포함하는 소분자 티로신 키나아제 억제제이다. 베줄티판은 저산소증 유도인자(hypoxia inducible factor, HIF)-2알파(HIF-2a)의 억제제이다. 에베롤리무스 및 템시롤리무스는 라파마이신의 표유동물 표적(mTOR)의 복합체의 억제제이다. 렌바티닙은 VEGFR1, 2 및 3뿐만 아니라, 섬유아세포 성장 인자 수용체(FGFR) 1, 2, 3 및 4, 혈소판-유래 성장 인자 수용체(PDGFR) 알파, c-Kit, 및 RET 원종양유전자에 작용하는 다중 키나아제 억제제이다. 마이토마이신 C는 강력한 DNA 가교 화학요법제이다. 티보자닙은 VEGFR1, 2 및 3에 작용하는 다중 키나아제 억제제이다.

[0063] 단백질 키나아제의 VEGFR 패밀리 외에도, 렌바티닙, 카보잔티닙 및 파조파닙에 대한 공통 표적은 DDR1 및 DDR2(디스코이딘 도메인 수용체 1 및 2), RET("형질감염 동안 재배열된(REarranged during Transfection)") 및 RIPK2(세린/트레오닌 키나아제 2와 상호작용하는 수용체)를 포함한다. RET는 또한 수니티닙 및 액시티닙의 표적으로, AXL 및 MET는 추가 카보잔티닙 표적으로 확인되었다.

[0064] ccRCC 및 다른 VHL(-) 암을 포함하는 다양한 암을 치료하기 위한 단백질 키나아제 억제제의 사용에서의 성공에도 불구하고, 많은 환자는 약물 저항 또는 우회 경로의 발생으로 인해 질병 진행을 갖는다.

[0065] 본 연구는 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료에 사용되는 비산트렌 및 단백질 키나아제 억제제 사이의 놀라운 상승효과를 나타내었다. 이러한 상승효과는 저항의 발생을 완전히 없애지는 않더라도 적어도 반전시키거나 완화하는 데 도움이 될 것으로 기대되며, 또한 단백질 키나아제 억제제 및/또는 비산트렌의 더 낮은 투여를 가능하게 하는 부가 이익을 가져, 이에 따라 임의의 부정적인 부작용을 감소시킬 것으로 기대된다.

[0066] *비산트렌 및 이의 유도체 또는 유사체, 및 약학적으로 허용가능한 염*

[0067] 비산트렌은 그 활성도의 일부를 담당할 수 있는 면역학적 특성을 가지고 있으며, 이는 이 제제가 조합적 슈퍼코일링 및 DNA 연관 단백질과 연관된 가닥 파괴를 개시하는 데 유용한 도구가 되도록 할 수 있다. 이는 복제 동안 DNA 코일링을 완화시키는 효소 토포이소머라제 II의 억제로부터 초래한다. 경구, 정맥내(i.v.), 복강내(i.p.) 또는 피하(s.c.)로는 비활성이지만, 약물이 대장 26, 루이스 폐, 리지웨이 골육종, B16, 리버만 혈장 세포, P388 또는 L1210 암 세포를 사용하는 암 모델에서 효과적이라는 것이 밝혀졌다. 684명의 환자로부터의 클론생성 검정에서의 활성도는 유방, 소세포 폐, 대세포 폐, 편평 세포 폐, 난소, 췌장, 신장, 부신, 두경부, 육종, 위, 림프종 및 흑색종 종양 세포에서 관찰되었으나, 대장암에서는 관찰되지 않았다. 중요한 것은 아드리아마이신 및 미톡산트론과의 교차 저항이 부족하다는 것이다. 비산트렌을 이용한 치료 후, 및 그 후 4주 동안, 대식세포는 P815(비만세포종) 종양 세포의 배양에서 세포증식 억제 항-증식 활성도를 갖는 복막 삼출물로부터 단리될 수 있다. 또한, 비산트렌 활성화 대식세포로부터의 상청액은 또한 종양 세포 배양에서 보호 세포증식 억제 효과를 가졌다. 추가 연구는 비산트렌으로 활성화되고 EL-4 림프종을 갖는 마우스로 입양전달된(adoptively transferred) 대식세포가 중간 생존 시간을 두 배 이상 증가시켰으며, 그룹에서 10마리 중 7마리가 치료되었다는 것을 드러냈다. 활성화된 대식세포의 다중 투여는 단일 투여보다 더 효과적이었다. 비산트렌은 직접적인 세포독성 작용뿐만 아니라, 지방 덩어리 및 비만-연관 단백질(fat mass and obesity-associated protein, FTO)의 강력한 억제제(IC_{50} 142 nM)로서 RNA N6-메틸아데노신(m6A) 데메틸라제를 포함하는 게놈 및 면역학적 작용 방법을 갖는 흔치 않은 제제이다(Su, R., Dong, L., Li, Y., Gao, M., Han, L., Wunderlich, M., *et al.* (2020), "Targeting FTO Suppresses Cancer Stem Cell Maintenance and Immune Evasion", *Cancer Cell*, **38**(1): 79-96.e11).

[0068] 비산트렌의 화학명은 9,10-안트라센디카르복스알데하이드-비스 [(4,5-디하이드로-1H-이미다졸-2-일) 하이드라진] 디하이드로클로라이드이며, 원래 안트라사이클린 화학요법제로 분류되었다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "비산트렌"은, 디하이드로클로라이드 또는 다른 구체적인 약리학적으로 양립가능한 염의 형태가 구체

적으로 명시되어 있는 경우가 아니라면, 비산트렌 디하이드로클로라이드뿐만 아니라, 비산트렌 또는 임의의 약리학적으로 양립가능한 염의 형태를 지칭한다. 전형적으로, 비산트렌의 약리학적으로 양립가능한 염은 대부분 약리학적 적용을 위한 비산트렌 디하이드로클로라이드이다. 이들은 DNA의 나선 내에 인터칼레이트하고, 아마도 효소 토포이소머라제 II에 대한 강한 억제 효과로 인해 복제를 포함하는 다양한 기능을 방해하는, 공명 방향족 고리 구조에 기반한 평면 구조를 갖는 약물이다. 이는 다른 안트라사이클린과 마찬가지로, 클론생성 검정에서 종양 세포를 사멸시키고 DNA에 인터칼레이트하여, DNA 및 RNA 합성 둘 모두를 억제할 수 있다는 것이 밝혀졌다. 비산트렌에 대한 주요 화학요법 메커니즘은 변화에 영향을 미치는 A-T 풍부 영역에 우선적 결합하는 것이다.

[0069] 최근 연구는 비산트렌이 R. Su. *et al*. (2020), "Targeting FTO Suppresses Cancer Stem Cell Maintenance and Immune Evasion", *Cancer Cell*, **38**(1): 79-96.e11에 기재된 바와 같이 FTO RNA 데메틸라제의 효소 억제를 통해 면역 관문 유전자 발현 및 면역 회피를 억제한다는 것을 확인하였다.

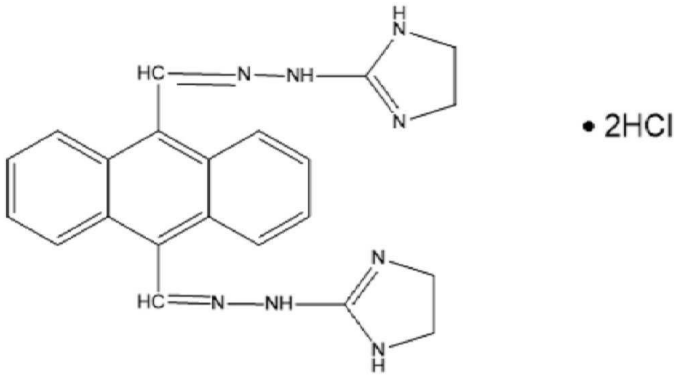
[0070] 비산트렌은 또한 비-면역학적 텔로머 효과를 갖는 것으로 밝혀졌다. 비산트렌은 4개의 구아닌이 접힘에 의해 연관된 G-4중체(G-quadruplex)라고 불리는 부위에서 DNA와 결합한다. G-4중체의 안정화는 텔로미어-텔로머라제 상호작용을 방해하여 텔로머라제 결합 단백질의 이동을 포함하는 다양한 방식으로 텔로머라제의 활성을 억제할 수 있다. 토포이소머라제 II 억제의 수준이 항상 세포독성 효능과 상관관계가 있는 것은 아니기 때문에, 대안적인 메커니즘이 비산트렌의 작용에서 역할을 할 수 있다. 비산트렌의 유사체는 항-텔로머라제 활성도를 개선하려는 시도로 만들어졌으며; 이들 유사체는 아래에 추가로 기재된다. 인간 흑색종(SK-Mel5) 및 결장암(LoVo) 종양 세포는 이러한 제제의 존재 하에 이들의 증식능을 상실하는 것으로 관찰되었다. 아폽토시스는 관찰되지 않았지만; 불멸성 상실이 관찰되었고, 치료된 세포가 늙고, 나이 들며, 사망할 수 있는 능력을 재획득하였다.

[0071] 위에 상세히 설명된 바와 같이, DNA 인터칼레이터로서의 비산트렌의 활성도와 관련된 직접적인 항종양 효과 외에도, 비산트렌은 또한 면역강화를 포함하는 다른 작용 메커니즘을 갖는다. 이러한 메커니즘은 다음에서 기재된다: (i) N.R. West *et al*. (2011), "Tumor-Infiltrating Lymphocytes Predict Response to Anthracycline-Based Chemotherapy in Estrogen-Resistant Breast Cancer", *Breast Canc. Res*. **13**: R126은, 종양-침윤 림프구의 수준이 안트라사이클린-기반 제제의 투여에 대한 반응과 상관관계가 있고; 종양 침윤 림프구(TIL)와 연관된 마커가 CD19, CD3D, CD48, GZMB, LCK, MS4A1, PRF1, 및 SELL을 포함한다고 결론 내리고; (ii) L. Zitvogel *et al*. (2008), "Immunological Aspects of Cancer Chemotherapy", *Nature Rev. Immunol*. 8: 59-73은, 비산트렌과 같은 인터칼레이트제에 의해 생성된 것과 같은 DNA 손상은 ATM-의존적 및 CHK1-의존적(다만 p53-독립적) 방식으로 종양 세포 상에서 NKG2D 리간드의 발현을 유도하고; NKG2D가 NK 세포, NKT 세포, γδ T 세포 및 휴면(마우스 내) 및/또는 활성화된(인간 내) $CD8^+$ T 세포에 의한 종양 면역감시(tumor immunosurveillance)에 관여하는 활성화 수용체라고 명시하고, 또한 안트라사이클린-기반 제제가 특히 IL-12와 조합하여 면역 자극제로서 작용할 수 있고; 이러한 제제는 또한 HMGB1 방출을 촉진하고 T 세포를 활성화한다고 명시하고; (iii) D.V. Krysko *et al*. (2011), "TLR2 and TLR9 Are Sensors of Apoptosis in a Mouse Model of Doxorubicin-Induced Acute Inflammation", *Cell Death Different*. **18**: 1316-1325은, 안트라사이클린-기반 항생제가 MyD88, TLR2 및 TLR9에 의해 매개되는 면역자극 특성을 갖는 아포톱시스의 면역원성 형태를 유도한다고 명시하고; (iv) C. Ferraro *et al*. (2000), "Anthracyclines Trigger Apoptosis of Both G0-G1 and Cycling Peripheral Blood Lymphocytes and Induce Massive Deletion of Mature T and B Cells", *Cancer Res*. **60**: 1901-1907은, 안트라사이클린이 아폽토시스 및 세라마이드 제조를 유도할 뿐만 아니라, 휴면 및 사이클링 세포에서 카스파제-3을 활성화시키고; 유도된 아포톱시스가 CD95-L/CD95 및 TNF/TNF-R으로부터 독립적임을 명시하고; (v) K. Lee *et al*. (2009), "Anthracycline Chemotherapy Inhibits HIF-1 Transcriptional Activity and Tumor-Induced Mobilization of Circulating Angiogenic Cells", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**: 2353-2358은, 안트라사이클린-기반 항생제에 대한 또 다른 항종양성 메커니즘, 즉 혈관신생에 필요한 VEGF의 전사를 억제하는 HIF-1 매개 유전자 전사의 억제를 제공하고; HIF-1은 또한 전이성 암세포에서 관찰되는 높은 수준의 글루코오스 흡수 및 인산화에 필요한 글루코오스 수송체 GLUT1 및 헥소키나아제 HK1 및 HK2, 그리고 미토콘드리아로부터 피루베이트를 단락시켜 락테이트 생산을 증가시키는 피루베이트 디하이드로게나제 키나아제 1(PDK1)을 인코딩하는 유전자들의 전사를 활성화하고; 면역조직화학적 결과를 기반으로 HIF-1α 과발현을 갖는 환자가 안트라사이클린-기반 항생제 치료에 대한 좋은 후보로 제안된다.

[0072] 여러 임상 시험은 인간에서 비산트렌의 약동학에 대해 조사하였다. 260 mg/m^2으로 90분 주입된 환자의 한 실험에서, 2상 제거(biphasic elimination)는 초기 반감기가 65 ± 15분, 말기 반감기가 1142 ± 226분이고, 정상 상태 분포 용적(Vdss)이 1845 L/m^2이었다. 이 시험에서의 혈장 제거(plasma clearance)는 735 mL/분/m^2이고, 투

여된 용량의 11.3%가 24시간 동안 소변에서 변경되지 않고 배출되었다. 또 다른 시험에서, 80-250 mg/m^{2}의 용량을 평가하였고, 초기 및 말기 반감기가 각각 0.6시간 및 24.7시간이었으며, 제거가 1045.5 ± 51.0 mL/kg이고 계산된 분포 용적이 42.1 ± 5.9 L/kg이었다. 이 연구에서는 투여된 용량의 3.4 ± 1.1%만이 96시간에 걸쳐 소변에서 발견되었다. 3개의 다른 단일 용량 연구에서 3상 제거를 보고하였는데, 하나는 t½ α, β 및 γ가 각각 3.44분, 1.33시간 및 26.13시간이고, 다른 하나는 각각 3분, 1시간 및 8시간이고, 마지막은 제거가 각각 0.1시간, 1.9시간 및 43.9시간이었다. 한 보고에서, 큰 분포 용적(687 L/m^2)은 후속적 저장 효과(depot effect)를 갖는 약물의 조직 격리(tissue sequestration)로 해석되었다. 72시간 주입 연구에서, 12 ± 6 ng/mL의 혈장 농도는 56 mg/m^{2}의 용량에서 관찰되었고, 260 mg/m^{2}의 용량은 55 ± 8 ng/mL의 혈장 농도를 초래하였다. 이 시험에서, 혈장 제거는 1306 ± 179 mL/min/m^{2}이었고, 24시간 동안 용량의 4.6%가 소변 배출되었다. 마지막으로, 또 다른 연구에서, 60분 주입의 5-일 일정은 t½ α 및 β가 각각 0.9 및 9.7시간으로 나타났고, 용량의 7.1%가 소변으로 배출되었다.

[0073] 비산트렌 디하이드로클로라이드의 구조는 화학식 (I)에 나타낸다.



[0074]

[0075] (I).

[0076] 비산트렌 디하이드로클로라이드는 화학명 9,10-안트라센디카르복스알데하이드 비스[(4,5-디하이드로-1H-이미다졸-2-일)하이드라진] 디하이드로클로라이드의 트리사이클릭 방향족 화합물이다. 비산트렌 디하이드로클로라이드의 분자식은 $C_{22}H_{22}N_8$ · 2HCl이고, 분자량은 471.4이다. 알킬이미다졸 측쇄는 매우 염기성이며, 생리학적 pH에서 양으로 하전된다. 이는 DNA 내 음으로 하전된 리보스 인산 기에 대한 정전기적 인력을 촉진하는 것으로 여겨진다.

[0077] 비산트렌은 전형적으로 중추 도는 말초 정맥내로 투여된다.

[0078] 비산트렌 또는 이의 유도체 또는 유사체의 투여에 사용하기에 적합한 다양한 제형이 당업계에 알려져 있다. Desai *et al.*의 미국 특허 제4,784,845호는 (i) 소수성 약물; (ii) 부틸화된 하이드록시아니솔(BHA) 또는 부틸화된 하이드록시톨루엔(BHT)이 실질적으로 없는 유성 비히클(oleaginous vehicle) 또는 오일 상; (iii) 공동-계면활성제 또는 유화제; (iv) 공동-계면활성제 또는 보조 유화제; 및 (v) 공동-용매로서 벤질 알코올을 포함하는 소수성 약물(즉, 비산트렌 또는 이의 유도체 또는 유사체)의 전달을 위한 조성물을 개시한다. Desai *et al.*의 미국 특허 제4,816,247호는 (i) 소수성 약물; (ii) BHT 또는 BHA가 없는, (a) 자연적으로 발생하는 식물성 오일 및 (b) 반합성 모노-, 디-, 및 트리글리세라이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 약학적으로 허용가능한 유성 비히클 또는 오일; (iii) 계면활성제 또는 유화제; (iv) 공동-계면활성제 또는 유화제; (v) 소수성 약물이 염기성인 경우 C_6-C_{20} 포화 또는 불포화 지방산으로부터 선택되는 이온-쌍 형성제 및 소수성 약물이 산성인 경우 약학적으로 허용가능한 방향족 아민; 및 (vi) 물을 포함하는 소수성 약물(예를 들어, 비산트렌 또는 이의 유도체 또는 유사체)의 정맥내, 근육내 또는 관절내 경로에 의한 전달을 위한 조성물을 개시한다. Lawter *et al.*의 미국 특허 제5,000,886호 및 Lawter *et al.*의 미국 특허 제5,143,661호는 마이크로캡슐을 포함하는 비산트렌 또는 이의 유도체 또는 유사체와 같은 약학적 제제의 전달을 위한 조성물을 개시하며, 마이크로캡슐은 휘발성 실리콘 유체인 경화제를 포함한다. Murdock *et al.*의 미국 특허 제5,070,082호, Murdock *et al.*의 미국 특허 제5,077,282호 및 Murdock *et al.*의 미국 특허 제5,077,283호는 포스포아미드산의 염인, 비산트렌 및 유도체 및 유사체를 포함하는 난용성 소수성 약물의 프로드러그(prodrug) 형태를 개시한다. Murdock *et al.*의 미국 특허

제5,116,827호 및 Murdock *et al.*의 미국 특허 제5,212,291호는 퀴놀린카르복실산 유도체인, 비산트렌 및 유도체 및 유사체를 포함하는 난용성 소수성 약물의 프로드러그 형태를 개시한다. Tsou의 미국 특허 제5,378,456호는 비산트렌 또는 이의 유도체 또는 유사체와 같은 안트라센 항종양제를 함유하는 조성물을 포함하며, 비산트렌 또는 이의 유도체 또는 유사체는 디비닐 에테르-말레산(MVE) 공중합체에 접합되거나 혼합된다. Tsou의 미국 특허 제5,609,867호는 비산트렌의 중합체성 1,4-비스 유도체 및 비산트렌 및 다른 단량체, 예컨대 이무수물의 공중합체를 개시한다.

[0079] 본원에 기재된 방법 및 조성물은 비산트렌 자체를 대신하여 비산트렌의 유도체 또는 유사체를 사용할 수 있다. 비산트렌의 유도체 및 유사체는 Garner *et al.*의 의해 미국 특허 10,500,19 및 10,548,876에 기재된다.

[0080] *ccRCC 및 다른 VHL(-) 암을 치료하기 위한 방법*

[0081] 놀랍게도, 본 연구는 단백질 키나아제 억제제 및 비산트렌(또는 이의 약학적으로 허용가능한 염)이 ccRCC 세포주에 대해 상승적으로 작용한다는 것을 보여주었다. 실질적으로 동일한 활성도를 갖는 비산트렌의 유도체가 또한 본 발명에 따른 방법 및 조성물에서 단백질 키나아제와 상승적으로 작용할 것으로 고려된다.

[0082] 따라서, 본 발명의 한 양태는 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암, 특히 단백질 키나아제 억제제 저항성 ccRCC를 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 단백질 키나아제 억제제, 예컨대 티로신 키나아제 억제제의 치료적 유효량, 및 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제2 제제의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0083] 단백질 키나아제 억제제는 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암과 연관된 하나 이상의 잠재적 단백질 키나아제 표적을 억제할 수 있다. 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제가 억제한다. 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제는 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, DDR1, DDR2, RET 및 RIPK2 중 적어도 하나 이상을 억제한다. 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제는 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3 중 적어도 하나 이상을 억제한다.

[0084] 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙; 렌바티닙; 카보잔티닙; 에베롤리무스; 소라페닙; 수니티닙; 템시롤리무스; 미토마이신 C; 액시티닙; 티보자닙; 및 벨주티판으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0085] 구체적인 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙; 렌바티닙; 카보잔티닙; 소라페닙; 수니티닙; 미토마이신 C; 액시티닙; 티보자닙; 및 벨주티판으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0086] 본 발명의 보다 구체적인 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙; 렌바티닙; 카보잔티닙; 소라페닙; 수니티닙; 액시티닙; 및 티보자닙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0087] 본 발명의 보다 더 구체적인 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙; 렌바티닙; 및 카보잔티닙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0088] 대안적인 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는 선택적으로 템시롤리무스 및 에베롤리무스로부터 선택되는 mTOR의 억제제이다.

[0089] 본 발명의 구체적인 실시양태에 따르면, 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다.

[0090] 특정 실시양태에 따르면, 비산트렌은 추가로 아래에 논의되는 바와 같이, 약물 화합물로서 또는 약학적 조성물의 성분으로서 투여될 수 있다.

[0091] 특정 구체적인 실시양태에 따르면, 방법은 하나의 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0092] 본 발명의 약학적 조성물 및 의약은 비제한적으로 주입(예컨대 정맥내, 피하, 근육내, 볼루스(bolus) 등)을 포함하는 표준 경구 또는 비경구 경로 또는 예를 들어, 국소, 구강, 설하, 비강, 폐, 귀, 직장 또는 질 투여 경로에 의한 투여에 의해 대상체에 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 그 자체로 또는 다른 약학적 조성물(들)과 조합하여 대상체에 투여될 수 있다. 후자의 경우, 투여는 동시에 또는 순차적으로 이루어질 수 있거나, 약학적 조성물(들)의 투여는 서로 독립적일 수 있다.

[0093] 특정 구현예에서, 비산트렌(또는 유도체, 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염)은 근육내, 피하 및/또는 피내 주입을 포함하는, 중추 또는 말초 정맥내로 투여된다.

[0094] 일반적으로, 본 발명의 약학적 조성물 및 의약은 투여 경로 및 대상체의 물리적 특성(건강 상태 포함)과 양립가

능한 방식으로, 및 원하는 효과(들)가 유도되는(즉, 치료적으로 유효하거나 예방적인) 방식으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 적절한 투여량은 비제한적으로 대상체의 물리적 특성(예를 들어, 연령, 체중, 성별), 조성물 또는 의약이 단일 제제로서 사용되는지 여부, 치료 중인 질환 또는 장애의 진행(즉, 생리학적 상태) 및 당업자에게 쉽게 명백한 다른 요인을 포함하는 다양한 요인에 의존할 수 있다.

[0095] 화학요법제에 대한 적합한 투여량, 투여 빈도, 투여 기간 및 투여 경로는 당업계에 알려져 있다. 도 16에 제시된 바와 같이, 비산트렌, 비산트렌의 유도체 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염은 단백질 키나아제 억제제와 동일한 약학적 조성물로, 단백질 키나아제 억제제와 별도의 조성물로, 동시에 또는 상이한 시간에 투여될 수 있다. 비산트렌, 비산트렌의 유도체 또는 비산트렌 또는 비산트렌의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염이 단백질 키나아제 억제제와 상이한 시간에 투여되는 경우, 이는 단백질 키나아제 억제제 전 또는 후 및/또는 상이한 타이밍에 투여될 수 있고, 상이한 타이밍 및/또는 빈도 요법에 따라 투여될 수 있다. 당업자는, 대상체의 연령, 체중 및 성별, 활성제의 부작용에 대한 대상체의 민감성, 유전자 마커, 활성제(들)의 용량, 이전 활성제(들)를 사용한 대상체 이력 및 심장, 간 또는 신장 기능과 같은 다른 약동학적 파라미터와 같은 변수에 기반하여 투여에 적합한 스케줄을 결정할 수 있다.

[0096] 본원에 제공된 방법 및 조성물은 심장독성(cardiotoxicity)과 같은 부작용의 위험에 의해 유의미하게 변경된 투여량 요법을 갖지 않고 대상체가 더 빈번하게 치료를 받을 수 있게 한다. 단백질 키나아제 억제제 및 비산트렌, 비산트렌의 유도체 또는 비산트렌 또는 비산트렌의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염의 용량(들)은 1일 1회 이상의 용량으로 대상체에 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 화학요법제의 일일 용량은 단일 용량으로, 비산트렌, 비산트렌의 유도체 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 투여될 수 있다.

[0097] 본원에 기재된 약학적 조성물은 1일 1회 이상 환자에게 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 약학적 조성물은 1일 1회 환자에게 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 약학적 조성물은 적어도 1일 2회, 3회, 4회, 5회 또는 6회 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 약학적 조성물은 1일 3회 환자에게 투여될 수 있다.

[0098] 본원에 기재된 방법에서, 비산트렌(또는 비산트렌의 유도체 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염)의 적합한 투여량은 당업자에 의해 결정될 수 있다. 선택된 투여량 수준은 투여되는 활성제(들)의 양, 투여 경로, 투여 시간, 이용되는 특정 화합물의 배출률, 병태의 중증도, 대상체에 영향을 미치는 다른 건강 고려사항 및 대상체의 간 및 신장 기능의 상태를 포함하는 다양한 약동학적 요인에 의존한다. 이는 또한 치료 기간, 이용된 특정 요법제와 조합하여 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질뿐만 아니라, 치료되는 대상체의 연령, 체중, 병태, 일반적인 건강 및 이전 병력 및 유사한 요인에 의존한다. 최적의 투여량을 결정하는 방법은 당업계, 예를 들어, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy,* Mack Publishing Co., 20th ed., 2000, and Gilman *et al.*, (Eds), (1990), "*Goodman And Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics*", Pergamon Press에 기재된다. 주어진 조건 세트에 대한 최적의 투여량은 제제에 대한 실험 데이터를 고려하여 전통적인 투여량-결정 시험을 사용하여 당업자에 의해 확인될 수 있다.

[0099] 특정 실시양태에 따르면, 비산트렌의 투여는 약 0.1 mg/m^2/일 내지 약 400 mg/m^2/일, 예컨대 약 0.2 mg/m^2/일 내지 약 300 mg/m^2/일, 약 0.5 mg/m^2/일 내지 약 200 mg/m^2/일, 약 0.5 mg/m^2/일 내지 약 100 mg/m^2/일, 약 0.5 mg/m^2/일 내지 약 50 mg/m^2/일, 약 0.5 mg/m^2/일 내지 약 30 mg/m^2/일, 약 0.5 mg/m^2/일 내지 약 20 mg/m^2/일, 약 1.0 mg/m^2/일 내지 약 10 mg/m^2/일, 약 1.0 mg/m^2/일 내지 약 8 mg/m^2/일, 약 1 mg/m^2/일, 약 2 mg/m^2/일, 약 3 mg/m^2/일, 약 4 mg/m^2/일, 약 5 mg/m^2/일, 약 6 mg/m^2/일, 약 7 mg/m^2/일, 또는 약 10 mg/m^2/일의 투여량으로 수행된다. 일부 실시양태에서, 비산트렌은, 예를 들어 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일, 10 일, 11 일, 12 일, 13 일, 14 일, 21 일, 28 일, 35 일, 42 일, 49 일, 56 일 또는 63 일의 기간에 걸쳐 매일 또는 매주, 2 주에 1 회, 3 주에 1 회, 4 주에 1 회 투여된다. 특정 실시양태에서, 비산트렌은 약 20-50 mg/m^2/28일의 투여량으로 28 일의 기간에 걸쳐 1 회 또는 여러 회, 선택적으로 매일 또는 매주 1 회 또는 여러 회, 2 주에 1 회, 3 주에 1 회, 4 주에 1 회 투여된다. 비산트렌 또는 유도체의 약학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염의 투여는 몰 당량(molar equivalence)을 위해 조정된 유사한 투여량으로 수행될 수 있다.

[0100] 단백질 키나아제 억제제에 대한 투여 요법은 특정 단백질 키나아제 억제제에 의존할 것이고, ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 것을 포함하여, 알려진 단백질 키나아제 억제제에 대해 공표되었다. 또한, 주어진 단백질 키나아제 억제제의 적합한 투여량은 비산트렌과 관련하여 위에 논의된 바와 같은 알려진 접근법 및 기법을

사용하여 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다.

[0101] 특정 실시양태에 따르면, 및 비산트렌(또는 비산트렌의 유도체 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염)이 단백질 키나아제 억제제와 함께 투여되는 경우에 관찰되는 상승적 생물학적 활성도의 결과로서, 치료 결과가 해당 단백질 키나아제 억제제에 대한 주어진 투여량에 대해 더 효과적으로 달성될 수 있다. 비산트렌(또는 비산트렌의 유도체 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염)의 이러한 생물학적 활성도는 또한 정상 투여량이 심장독성과 같은 유해한 부작용을 가질 수 있는 단백질 키나아제 억제제의 사용 또는 확장된 사용을 허용할 수 있다.

[0102] 대안적으로, 비산트렌(또는 비산트렌의 유도체 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염)과 함께 투여되는 경우, 단백질 키나아제 억제제는 비슷한 지속적인 치료 결과를 유지하면서 더 긴 기간에 걸쳐 통상적으로 투여되는 것보다 더 낮은 투여량으로 환자에게 투여될 수 있다. 이는 심장독성과 같은 해로운 부작용을 갖는 활성제에 있어서 특히 중요하다. 따라서, 본 발명에 따른 방법의 특정 실시양태에서, 비산트렌(또는 비산트렌의 유도체 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염)과 함께 투여되는 경우, 단백질 키나아제 억제제는 단독으로 투여되는 경우의 단백질 키나아제 억제제에 대한 권고된 투여량보다 유의미하게 낮은 양, 예컨대 단독으로 투여되는 경우의 단백질 키나아제 억제제에 대한 투여량보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% 또는 70% 낮은 양으로 투여될 수 있다.

[0103] *추가 활성제*

[0104] 프로그래밍된 세포 사멸 1 리간드 1(PDL1) 및 이의 수용체 프로그래밍된 세포 사멸 1(PD1)은 면역 세포의 활성화를 조절한다. 관문 억제제는 이 조절을 억제하여 면역 세포가 종양을 파괴하도록 하는 것을 도울 수 있다. 새로운 전략은 관문 억제제와 단백질 키나아제 억제제, 특히 VEGFR 및 혈관신생에 관련된 다른 키나아제를 표적으로 하는 단백질 키나아제 억제제의 조합이며, 혈관신생이 면역억제 환경을 확립하는 데 중요하다는 기저 근거를 갖는다. 알려진 관문 억제제는 PD1 또는 PDL1을 표적으로 하는 항체를 포함한다.

[0105] FDA는 ccRCC에 사용할 수 있도록 2개의 PD-1 억제제(니볼루맙 및 펨브롤리주맙), 1개의 PD-L1 억제제(아벨루맙) 및 1개의 CTLA-4 억제제(이필리무맙)를 승인하였다. 잠재적 고려사항인 다른 PD-1/PD-L1 면역 관문 억제제는 아테졸리주맙, 베바시주맙, 세미플리맙, 도스탈리맙 및 더발루맙을 포함한다.

[0106] 또한, 일부 연구는 단백질 키나아제 억제제가 그 자체로 종양에 대한 면역 반응을 자극할 수 있으며, 이는 결과적으로 관문 억제제와 조합되는 경우 상승적 반응을 초래할 수 있다는 것을 보여주었다.

[0107] 유사하게, 인터루킨-2(알데스루킨/프로루킨®), 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b(및 페그인터페론 알파-2b) 및 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자(GM-CSF)를 포함하는 면역 세포 성숙, 성장 및 활성화를 조절하는 사이토카인과 같은 면역 조절인자가 또한 면역 자극을 통한 다양한 암의 치료를 위해 승인받았다. 인터루킨-2(또는 재조합 인간 버전 알데스루킨/프로루킨®)는 RCC의 치료를 위해 승인받았다.

[0108] 따라서, 본 발명에 따른 방법은 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 적어도 하나의 추가 요법제의 투여를 추가로 포함할 수 있다.

[0109] 특정 실시양태에 따르면, 추가 요법제는 위에 논의된 것들과 같은 관문 억제제 또는 면역조절제이다. 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 추가 요법제는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 아벨루맙, 이필리무맙, 아테졸리주맙, 베바시주맙, 세미플리맙, 도스탈리맙 및 더발루맙을 포함하는 군으로부터 선택되는 관문 억제제 또는 인터루킨-2(알데스루킨/프로루킨®), 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b(및 페그인터페론 알파-2b) 및 GM-CSF로부터 선택되는 면역조절제를 포함한다. 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 추가 요법제는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 아벨루맙 및 이필리무맙을 포함하는 군으로부터 선택되는 관문 억제제를 포함한다. 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 추가 요법제는 인터루킨-2(알데스루킨/프로루킨®)를 포함한다.

[0110] 이러한 추가 제제에 대한 적합한 투여량, 투여 빈도, 투여 기간 및 투여 경로는 당업계에 알려져 있다. 도 17에 제시된 바와 같이, 이러한 추가 제제는 비산트렌 또는 비산트렌의 유도체 또는 유사체와 동시에, 또는 비산트렌 또는 비산트렌의 유도체 또는 유사체와 상이한 시간에 투여될 수 있다. 추가 제제가 비산트렌 또는 비산트렌의 유도체 또는 유사체와 상이한 시간에 투여되는 경우, 이는 비산트렌 또는 비산트렌의 유도체 또는 유사체 전 또는 후 및/또는 상이한 타이밍에 투여될 수 있고, 상이한 타이밍 및/또는 빈도 요법에 따라 투여될 수 있다. 유사하게, 및 비산트렌 고려사항과 독립적으로, 이러한 추가 제제는 단백질 키나아제 억제제와 동시에, 또는 단백질 키나아제 억제제와 상이한 시간에 투여될 수 있다. 추가 제제가 단백질 키나아제 억제제와 상이한 시간에 투여되는 경우, 이는 단백질 키나아제 억제제 전 또는 후 및/또는 상이한 타이밍에 투여될 수 있고, 상이한 타이밍 및/또는 빈도 요법에 따라 투여될 수 있다. 당업자는 환자의 연령, 체중 및 성별, 암의 중증도, 아래에 추가

로 기재되는 바와 같은 유전자 마커 및 간 및 신장 기능과 같은 약동학적 파라미터와 같은 변수에 기반하여 투여에 적합한 스케줄을 결정할 수 있다.

[0111] 도 16은 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암에서 요법 저항을 극복하기 위한 비산트렌 및 표적 제제 조합 시험 설계의 예언적 예를 나타낸다.

[0112] 도 17은 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암에서 면역요법 저항을 극복하기 위한 비산트렌 및 관문 억제제 조합 시험 설계의 예언적 예를 나타낸다.

[0113] *ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 약학적 조성물*

[0114] 본 발명은 또한 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 약학적 조성물을 제공하며, 상기 조성물은 위에 기재된 바와 같이, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 제2 제제를 포함하고, 상기 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 위에 기재된 바와 같이, 본 발명의 조성물은 관문 억제제 및 면역조절제로부터 선택되는 추가 제제를 포함할 수 있다.

[0115] 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제는 티로신 키나아제 억제제이다. 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제는 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, DDR1, DDR2, RET 및 RIPK2 중 적어도 하나 이상을 억제한다. 특정 실시양태에 따르면, 단백질 키나아제 억제제는 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3 중 적어도 하나 이상을 억제한다.

[0116] 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙; 렌바티닙; 카보잔티닙; 에베롤리무스; 소라페닙; 수니티닙; 템시롤리무스; 미토마이신 C; 액시티닙; 티보자닙; 및 벨주티판으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0117] 본 발명의 구체적인 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙; 렌바티닙; 및 카보잔티닙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0118] 본 발명의 구체적인 실시양태에 따르면, 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다.

[0119] 본 발명의 구체적인 실시양태에 따르면, 조성물은 하나의 단백질 키나아제 억제제의 치료적 유효량 및 비산트렌 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함할 수 있다.

[0120] 본 발명에 따른 조성물은 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 적어도 하나의 추가 요법제의 투여를 추가로 포함할 수 있다.

[0121] 특정 실시양태에 따르면, 추가 요법제는 위에 논의된 것들과 같은 관문 억제제 또는 면역조절제이다. 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 추가 요법제는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 아벨루맙, 이필리무맙, 아테졸리주맙, 베바시주맙, 세미플리맙, 도스탈리맙 및 더발루맙을 포함하는 군으로부터 선택되는 관문 억제제 또는 인터루킨-2(알데스루킨/프로루킨®), 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b(및 페그인터페론 알파-2b) 및 GM-CSF로부터 선택되는 면역조절제를 포함한다. 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 추가 요법제는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 아벨루맙 및 이필리무맙을 포함하는 군으로부터 선택되는 관문 억제제를 포함한다. 특정 실시양태에 따르면, 적어도 하나의 추가 요법제는 인터루킨-2(알데스루킨/프로루킨®)를 포함한다.

[0122] 본 발명에 따른 조성물은 당업계에 알려진 바와 같이, 임의의 경로 및 그 경로에 적합한 형태로 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 주입(예컨대 정맥내, 피하, 근육내, 볼루스 등)을 포함하는 경구 또는 비경구 경로 또는 예를 들어, 국소, 구강, 설하, 비강, 폐, 귀, 직장 또는 질 투여 경로에 의한 투여에 의해 대상체에 투여될 수 있다.

[0123] 전형적으로, 본원에 기재된 약학적 조성물은 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제 및/또는 희석제를 포함한다. 약학적 조성물 및 의약을 제조하기 위해, 불활성인 약학적으로 허용가능한 담체는 고체 또는 액체일 수 있다. 액체 형태 제제는 용액, 현탁액 및 에멀젼, 예를 들어, 비경구 주입을 위한 물 또는 물-프로필렌 글리콜 용액을 포함한다. 또한, 사용 직전에 경구 또는 주입 투여를 위한 액체 형태 제제로 전환하도록 의도된 동결건조 제제를 포함하는 정제(tablet), 또는 비정형 또는 결정질 분말과 같은 고체 형태 제제가 포함된다. 이러한 액체 형태는 용액, 현탁액 및 에멀젼을 포함한다. 다양한 조성물에 대한 약학적으로 허용가능한 담체 및 제조 방법의 예는, 예를 들어, "Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*", Mack Publishing Co., 20th ed., 2000, 및 Gilman *et al.*, (Eds), (1990), "*Goodman And Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics*", Pergamon Press에서 찾을 수 있다.

[0124] 약학적으로 허용가능한 담체 및 부형제는

[0125] (i) 액체 담체;

[0126] (ii) 등장성제;

[0127] (iii) 습윤제 또는 유화제;

[0128] (iv) 방부제;

[0129] (v) 완충제;

[0130] (vi) 산성화제;

[0131] (vii) 산화방지제;

[0132] (viii) 알칼리화제;

[0133] (ix) 담체제;

[0134] (x) 킬레이트화제;

[0135] (xi) 착색제;

[0136] (xii) 착화제

[0137] (xiii) 용매;

[0138] (xiv) 현탁화제 및/또는 점도증가제;

[0139] (xv) 오일;

[0140] (xvi) 침투 강화제;

[0141] (xvii) 중합체;

[0142] (xviii) 보강제;

[0143] (xix) 단백질;

[0144] (xx) 탄수화물;

[0145] (xxi) 증량제; 및

[0146] (xxii) 윤활제

[0147] 를 포함한다.

[0148] 당업계에 알려진 다른 약학적으로 허용가능한 담체 및 부형제가 사용될 수 있다.

[0149] 담체, 희석제, 부형제 및 보조제는 조성물 또는 의약의 다른 성분과 양립가능하다는 측면에서 "허용가능한" 것이어야 하고, 일반적으로 대상체에 유해하지 않다. 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제의 비제한적인 예는 탈염수 또는 증류수; 식염수; 땅콩 오일, 홍화 오일, 올리브 오일, 목화씨 오일, 옥수수 오일과 같은 식물-기반 오일; 땅콩 오일, 홍화 오일, 올리브 오일, 목화씨 오일, 옥수수 오일, 참기름, 아라시스(arachis) 오일 또는 코코넛 오일과 같은 참기름; 메틸 폴리실록산, 페닐 폴리실록산 및 메틸페닐 폴리솔폭산과 같은 폴리실록산을 포함하는 실리콘 오일; 휘발성 실리콘; 액체 파라핀, 소프트 파라핀 또는 스쿠알란과 같은 미네랄 오일; 메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스 또는 하이드록실프로필메틸셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 유도체; 저급 알칸올, 예를 들어 에탄올 또는 이소프로판올; 저급 아르알칸올; 저급 폴리알킬렌 글리콜 또는 저급 알킬렌 글리콜, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜 또는 글리세린; 이소프로필 팔미테이트, 이소프로필 미리스테이트 또는 에틸 올리에이트와 같은 지방산 에스테르; 폴리비닐피롤리돈; 한천; 트래거캔스 고무(gum tragacanth) 또는 아카시아 고무, 및 석유 젤리(petroleum jelly)이다. 전형적으로, 담체 또는 담체들은 조성물, 백신 또는 의약의 약 10 중량% 내지 약 99.9 중량%로 형성할 것이다.

[0150] 주입가능한 용액 또는 현탁액으로 투여하기 위해, 비-독성 비경구 허용가능한 희석제 또는 담체는 링거 용액(Ringer's solution), 등장성 식염수, 인산 완충 식염수, 에탄올 및 1,2 프로필렌 글리콜을 포함할 수 있다. 비

경구 투여가능한 약학적 조성물 및 의약를 제조하기 위한 방법은 당업자에게 명백하고, 예를 들어, "Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*", Mack Publishing Co., 20th ed., 2000, 및 Gilman *et al.*, (Eds), (1990), "*Goodman And Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics*", Pergamon Press에 더 상세히 기재된다.

[0151] 경구 투여를 위해, 적합한 담체, 희석제, 부형제 및 보조제의 일부 예는 땅콩 오일, 액체 파라핀, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 소듐 알지네이트, 아카시아 고무, 트래거캔스 고무, 덱스트로스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 젤라틴 및 레시틴을 포함한다. 추가로, 이러한 구강 제형은 적합한 향미제 및 착색제를 함유할 수 있다. 캡슐 형태로 사용되는 경우, 캡슐은 분해를 지연시키는 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 스테아레이트와 같은 화합물로 코팅될 수 있다.

[0152] 경구 투여를 위한 고체 형태는 인간 및 수의학 약학적 관행에서 허용가능한 결합제, 감미제, 붕해제(disintegrating agents), 희석제, 향미제, 코팅제, 방부제, 윤활제 및/또는 시간 지연제를 함유할 수 있다. 적합한 결합제는 아카시아 고무, 젤라틴, 옥수수 전분, 트래거캔스 고무, 소듐 알지네이트, 카르복시메틸셀룰로오스 또는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 적합한 감미제는 수크로오스, 락토오스, 글루코오스, 아스파탐 또는 사카린을 포함한다. 적합한 붕해제는 옥수수 전분, 메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 구아 고무(guar gum), 잔탄 고무, 벤토나이트, 알긴산 또는 한천을 포함한다. 적합한 희석제는 락토오스, 소르비톨, 만니톨, 덱스트로스, 카올린, 셀룰로오스, 칼슘 카르보네이트, 칼슘 실리케이트 또는 디칼슘 포스페이트를 포함한다. 적합한 향미제는 페퍼민트 오일, 윈터그린 오일, 체리, 오렌지 또는 라즈베리 향료를 포함한다. 적합한 코팅제는 아크릴산 및/또는 메타크릴산 및/또는 이의 에스테르의 중합체 또는 공중합체, 왁스, 지방 알코올, 제인(zein), 셸락(shellac) 또는 글루텐을 포함한다. 적합한 방부제는 소듐 벤조에이트, 비타민 E, 알파-토코페롤, 아스코르브산, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤 또는 소듐 바이설파이트를 포함한다. 적합한 윤활제는 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 소듐 올리에이트, 소듐 클로라이드 또는 활석(talc)을 포함한다. 적합한 시간 지연제는 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트를 포함한다.

[0153] 경구 투여를 위한 액체 형태는 위 제제들에 추가로 액체 담체를 함유할 수 있다. 적합한 액체 담체는 물, 오일, 예컨대 올리브 오일, 땅콩 오일, 참기름, 해바라기 오일, 홍화 오일, 아라시스 오일, 코코넛 오일, 액체 파라핀, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 글리세롤, 지방 알코올, 트리글리세리드 또는 이의 혼합물을 포함한다.

[0154] 경구 투여를 위한 현탁액은 분산제 및/또는 현탁제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 현탁제는 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스, 폴리비닐-피롤리돈, 소듐 알지네이트 또는 아세틸 알코올을 포함한다. 적합한 분산제는 레시틴, 지방산, 예컨대 스테아르산의 폴리옥시에틸렌 에스테르, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노- 또는 디-올리에이트, -스테아레이트 또는 -라우레이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노- 또는 디-올리에이트, -스테아레이트 또는 -라우레이트 등을 포함한다.

[0155] 특정 실시양태에서, 약학적 조성물은 리포좀을 포함할 수 있다. 비산트렌 또는 이의 심장보호 유도체에 적합한 리포좀 제형은 동결건조된 형태로부터 주입가능한 리포좀 현탁액으로 재구성될 수 있는 수용액에서, 0.01 내지 100 μM 사이의 크기 범위의 작은 유니라멜라(unilamellar) 또는 멀티라멜라(multilamellar) 리포좀, 및 수소화된 대두 포스파티딜콜린, 디스테아로일 포스파티딜글리세롤 및 천연 또는 합성 기원 지질의 콜레스테롤로 구성된 약 50 내지 95% 리포좀-포획된 비산트렌을 포함한다. 조성물은 동결건조된 비산트렌/리포좀 조성물을 리포좀 농축물로 재구성한 후, 흑색종의 치료를 위한 비경구 투여를 위해 농축물을 희석함으로써 제조된다.

[0156] 또 다른 실시양태에서, 약학적 조성물은 베타-사이클로덱스트린을 갖는 복합체를 포함할 수 있다. 비산트렌, 비산트렌의 치료적으로 활성인 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염에 적합한 리포좀 제형은 동결건조된 형태로부터 주입가능한 현탁액으로 재구성될 수 있는 수용액에서 형성된 복합체를 포함한다. 하나의 이러한 조성물은 동결건조된 비산트렌/베타-사이클로덱스트린 조성물을 농축물로 재구성한 후, 비경구 투여를 위해 농축물을 희석함으로써 제조된다. 베타-사이클로덱스트린 복합체 및 이러한 복합체의 제조 방법은 당업계에 알려져 있고, 예를 들어, Rothman의 WO 2019/073296에 기재된다.

[0157] 비산트렌, 비산트렌의 치료적으로 활성인 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염의 투여에 사용하기에 적합한 다양한 제형은 당업계에 알려져 있다. Desai et al.의 미국 특허 제4,784,845호는 (i) 소수성 약물; (ii) 부틸화된 하이드록시아니솔(BHA) 또는 부틸화된 하이드록시톨루엔(BHT)이 실질적으로 없는 유성 비히클 또는 오일 상; (iii) 공동-계면활성제 또는 유화제; (iv) 공동-계면활성제 또는 보조 유화제; 및 (v) 공동-용매로서 벤질 알코올을 포함하는 소수성 약물(즉, 비산트렌 또는 이의 심장보호 유도체)의 전달을

위한 조성물을 개시한다. Desai et al.의 미국 특허 제4,816,247호는 (i) 소수성 약물; (ii) BHT 또는 BHA가 없는, (a) 자연적으로 발생하는 식물성 오일 및 (b) 반합성 모노-, 디-, 및 트리글리세라이드로 이루어진 군으로부터 선택된 약학적으로 허용가능한 유성 비히클 또는 오일; (iii) 계면활성제 또는 유화제; (iv) 공동-계면활성제 또는 유화제; (v) 소수성 약물이 염기성인 경우 C_6-C_{20} 포화 또는 불포화 지방산으로부터 선택된 이온-쌍 형성제 및 소수성 약물이 산성인 경우 약학적으로 허용가능한 방향족 아민; 및 (vi) 물을 포함하는 소수성 약물(예를 들어, 비산트렌 또는 이의 심장보호 유도체 또는 유사체)의 정맥내, 근육내 또는 관절내 경로에 의한 전달을 위한 조성물을 개시한다.

[0158] 특정 실시양태에 따르면, 본 발명에 따른 조성물은 약 0.1 mg/m^2/일 내지 약 100 mg/m^2/일, 예컨대 약 0.2 mg/m^2/일 내지 약 50 mg/m^2/일, 약 0.5 mg/m^2/일 내지 약 20 mg/m^2/일, 약 1.0 mg/m^2/일 내지 약 10 mg/m^2/일, 약 1.0 mg/m^2/일 내지 약 8 mg/m^2/일, 약 1 mg/m^2/일, 약 2 mg/m^2/일, 약 3 mg/m^2/일, 약 4 mg/m^2/일, 약 5 mg/m^2/일, 약 6 mg/m^2/일, 약 7 mg/m^2/일 또는 약 10 mg/m^2/일의 투여량으로 비산트렌의 투여에 적응될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명에 따른 조성물은, 예를 들어 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일, 10 일, 11 일, 12 일, 13 일, 14 일, 21 일, 28 일, 35 일, 42 일, 49 일, 56 일 또는 63 일의 기간에 걸쳐 매일 또는 매주 1회 또는 여러 회, 2 주에 1 회, 3 주에 1 회, 4 주에 1 회 비산트렌의 투여에 적응될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 조성물은 약 20-50 mg/m^2/28일의 투여량으로 28 일의 기간에 걸쳐, 선택적으로 매일 또는 매주 1 회 또는 여러 회, 2 주에 1 회, 3 주에 1 회, 4 주에 1 회 비산트렌의 투여에 적응될 수 있다. 비산트렌의 약학적으로 허용가능한 염 또는 이의 치료적으로 활성인 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 본 발명에 따른 조성물은 몰 당량을 위해 조정된 유사한 투여량을 전달하도록 적응될 수 있다.

[0159] 단백질 키나아제 억제제에 대한 투여 요법은 특정 단백질 키나아제 억제제에 의존하고, ccRCC의 치료를 포함하는 알려진 단백질 키나아제 억제제에 대해 공표되었다. 또한, 주어진 단백질 키나아제 억제제의 적합한 투여량은 비산트렌과 관련하여 위에 논의된 바와 같은 알려진 접근법 및 기법을 사용하여 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 아래에 논의된 바와 같은 이들의 권고된 투여량 또는 상이한 투여량으로 단백질 키나아제(들)를 포함하도록 제형화될 수 있다.

[0160] 특정 실시양태에 따르면, 그리고 비산트렌(또는 비산트렌의 유도체, 또는 이들 중 어느 하나의 약학적으로 허용가능한 염)이 단백질 키나아제 억제제와 함께 투여되는 경우에 관찰되는 상승적 생물학적 활성의 결과로서, 본 발명에 따른 조성물 내의 단백질 키나아제의 투여량은 그 자체로 환자에게 투여되는 경우보다 더 낮을 수 있다. 이는 심장독성과 같은 해로운 부작용을 갖는 활성제에 있어서 특히 중요하다. 따라서, 본 발명에 따른 조성물의 특정 실시양태에서, 단백질 키나아제 억제제는 단독으로 투여되는 경우의 단백질 키나아제 억제제에 대한 권고된 투여량보다 유의미하게 낮은 투여량, 예컨대 단독으로 투여되는 경우의 단백질 키나아제 억제제에 대한 투여량보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% 또는 70% 낮은 양으로 조성물에 포함될 수 있다.

[0161] 유사하게, 본 발명에 따른 조성물이 관문 억제제 및/또는 면역조절제인 추가 요법제를 포함하는 경우, 그 추가 요법제는 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위해 알려진 권고된 양, 또는 성분 간의 상승효과가 결정되는 경우 더 낮은 양으로 조성물에 포함될 수 있다.

[0162] *ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 조성물의 용도*

[0163] 본 발명은 또한 환자에서 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암, 특히 단백질 키나아제 저항성 ccRCC의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본 발명에 따른 조성물의 용도를 제공한다.

[0164] 단백질 키나아제 억제제, 비산트렌, 비산트렌 유도체 및 이의 염뿐만 아니라, 선택적 추가 요법제로서의 관문 억제제 및 면역조절제를 포함하는, 이러한 제조에 대한 파라미터 및 모든 활성제, 투여 형태 및 다른 성분에 대한 투여량/용량이 위에 기재되어 있다.

[0165] *ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료를 위한 키트*

[0166] 본 발명은 또한 ccRCC 또는 다른 VHL(-) 암, 특히 단백질 키나아제 저항성 ccRCC의 치료를 위한 키트를 제공하며, 상기 키트는 적어도 하나의 단백질 키나아제 억제제 및 적어도 하나의 제2 제제를 포함하고, 상기 제2 제제는 비산트렌 또는 이의 유도체, 또는 비산트렌 또는 이의 유도체의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다.

[0167] 단백질 키나아제 억제제, 비산트렌, 비산트렌 유도체 및 이들의 염뿐만 아니라, 선택적 추가 요법제로서의 관문

억제제 및 면역조절제를 포함하는, 이러한 키트에 대한 파라미터 및 모든 활성제, 투여 형태 및 다른 성분에 대한 투여량/용량이 위에 기재되어 있다.

[0168] 일부 경우에서, 키트는 또한 바이알(vial), 튜브, 바늘, 포장 또는 다른 물질을 포함할 수 있다.

[0169] 본원에 기재된 하나 이상의 활성제의 단위 용량, 통상적으로 주입가능한 용량을 갖는 키트가 제공된다. 이러한 키트는 단위 용량을 함유하는 용기, 질환을 치료하는 데 있어서 약물의 사용 및 부수적인 이익을 설명하는 정보 패키지 삽입물 및 선택적으로 조성물의 전달을 위한 기구(들) 또는 장치(들)를 포함할 수 있다.

[0170] 키트는 조성물의 투여에 적합한 임의의 장치를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 키트는 정맥내 투여에 적합한 바늘을 포함할 수 있다.

[0171] 일부 경우에서, 키트는 설명서와 함께 제공될 수 있다. 설명서는 키트에 제공되거나 전자적으로 접근될 수 있다. 설명서는 본 개시의 조성물을 사용하는 방법에 대한 정보를 제공할 수 있다. 설명서는 본 개시의 장치를 사용하는 방법에 대한 정보를 추가로 제공할 수 있다. 설명서는 본 개시의 방법을 수행하는 방법에 대한 정보를 제공할 수 있다. 일부 경우에서, 설명서는 투여 정보를 제공할 수 있다. 설명서는 작용 메커니즘, 약물의 제형, 부정적 위험, 금기사항 등과 같은 약물 정보를 제공할 수 있다. 일부 경우에서, 키트는 클리닉 또는 병원에서 투여하기 위해 의사 또는 의료인에 의해 구매된다. 일부 경우에서, 키트는 실험실에 의해 구매되고 후보 화합물을 스크리닝하는 데 사용된다.

[0172] 본 발명의 바람직한 형태는 비교 데이터를 포함하는 다음의 실시예를 참조하여 단지 예로서 기재될 것이며, 이들은 어느 방식으로도 본 발명의 범위 또는 사상을 제한하는 것으로 간주되지 않는다.

[0173] 실시예

[0174] 실시예 1: 세포 생존율 검정 및 분석

[0175] 세포 생존율을 레자주린(resazurin) 대사 활성도 검정을 사용하여 결정하였다. 세포를 24시간 동안 1 x 10^3 세포/웰(786-O, RCC4 EV, RCC4 VHL) 또는 3 x 10^3 세포/웰(Caki-1, Caki-2)으로 96-웰 마이크로타이터 플레이트의 복제 웰에 시딩하였다.

[0176] 잔트렌(비산트렌 디하이드로클로라이드)을 20mM의 디메틸설폭사이드(DMSO) 또는 15mM의 5% 캡티졸 용액에 재구성하였다. 에베롤리무스(RAD001), 수니티닙, 소라페닙, 파조파닙, 렌바티닙(메실레이트), 카보잔티닙(BMS-907351)을 17.2mM (렌바티닙) 또는 100mM (다른 모든 물질)로 DMSO에 재구성하였다.

[0177] 그 후, 약물을 배지에 희석하여 웰에 참가하고, 세포를 추가로 72 시간 동안 배양하였다.

[0178] 인간 신세포주를 아래 표 1에 열거된 배지에서 5% CO_2로 37 ℃의 가습 챔버에서 배양하였다:

[0179] **표 1** - 신세포주를 위한 세포 배양 배지 및 보충제

세포주	기본 배지	보충제
786-O	RPMI-1640 (및 GlutaMAX)	10% 태아 소 혈청(FBS), 20 mM HEPES, 1 mM 소듐 피루베이트
Caki-1, Caki-2	McCoy's 5A	10% FBS, 2 mM L-글루타민
RCC4 EV, RCC4 VHL	DMEM(높은 글루코스)	10% FBS, 2 mM L-글루타민, 20 mM HEPES

[0180]

[0181] 생존율을 형광성 생존율 염료 레자주린(PBS[3]에 용해된, Ex 544 nm, Em 590 nm; 0.6mM 레자주린, 78 μM 메틸렌 블루, 1 mM 포타슘 헥사시아노페레이트(III), 1 mM 포타슘 헥사시아노페레이트(II) 삼수화물(Sigma Aldrich))을 사용하여 결정하였다. 레자주린은 대사적으로 활성인 세포에 의해 적색-형광 레조루핀으로 대사된다. 형광을 FLUOstar OPTIMA 플레이트 판독기(BMG LabTechnologies) 상의 544 nm 여기/590 nm 방출에서 레자주린 용액(1:10, v/v)의 첨가 5시간 후 측정하였다. Graphpad Prism 9 소프트웨어를 그래프를 생성하기 위해 사용

하였다. 약물 IC_{50} 값을 Prism 9를 사용하여 큐빅 스플라인 보간 회귀분석으로 결정하였다. 적어도 3회의 독립적인 복제를 각각의 세포주 및 각각의 약물 조합에 대해 수행하였으며, 데이터를 평균 ± 평균의 표준 오차(SEM)로 나타내었다. 각각의 세포주에 대한 배양 조건을 아래에 기재하였다.

[0182] *클론생성 검정* - 클론생성 검정을 잔트렌으로 치료된 세포의 콜로니-형성 능력을 결정하기 위해 사용하였다. RCC4 EV 및 RCC4 VHL 세포를 1000 세포/웰로 6-웰 플레이트에 시딩하고, 24시간 동안 부착시켰다. 비산트렌을 배지에 희석하여 웰에 첨가하고, 세포를 96시간 동안 배양하였다. 약물-함유 배지를 제거하고 새로운 배지(약물 없음)로 교체하고, 추가 96시간 동안 배양하여 세포 콜로니의 형성을 허용하였다. 종점에서, 배지를 웰로부터 제거하고, 세포를 저온 PBS로 2회 세척하였다. 세포를 얼음 상에서 10분 동안 빙냉 메탄올로 고정시킨 후, 즉시 실온에서 크리스탈 바이올렛 용액(PBS 중 25% 메탄올, 0.5% 크리스탈 바이올렛)으로 염색하였다. 과량의 크리스탈 바이올렛 용액을 세척하고 ChemiDoc MP 이미징 시스템(Bio-Rad) 상에 캡쳐된 플레이트의 사진을 찍었다. 이미지를 ImageJ[Schneider C.A. *et al* (2012), "NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis", *Nat Methods* **9**(7):671-675]에 대한 ColonyArea plugin[Guzman C. *et al* (2014), "ColonyArea: an ImageJ plugin to automatically quantify colony formation in clonogenic assays", *PLoS One*, **9**(3):e92444]을 사용하여 분석하였고, 콜로니로 채워진 웰 면적의 백분율을 Prism 9를 사용하여 결정하고 미처리 세포의 %로 제시하였다. 4개의 독립적인 복제를 각각의 세포주에 대해 수행하였고, 데이터를 평균 ± SEM으로 제시하였다.

[0183] *상승효과 분석* - 조합 약물 치료의 경우, Webb의 분획 산물 방법(Webb J (1963), "Effect of more than one inhibitor" In: Hochster E.R., Quastel J. (eds). "Enzymes and metabolic inhibitors", Academic Press: New York), Chou-Talalay(조합 지수; CI)(Chou T-C. (2020), "Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies", *Pharmacological Reviews*, **58**(3):621-681) 및 SynergyFinder 2.0 software(Ianevski A, Giri AK, Aittokallio T (2020): "SynergyFinder 2.0: visual analytics of multi-drug combination synergies", Nucleic Acids Res., **48**(W1):W488-W493)를 사용한 BLISS 상승효과 방법(Bliss (1939) "CI: The toxicity of poisons applied jointly" *Ann App Biol*, **26**:585-615)을 포함하는 세 가지 상이한 상승효과 분석을 수행하였다. 각 방법의 상세한 내용은 아래에 제공된다.

[0184] Webb의 분획 산물 방법: Webb은 1963년에(Webb J (1963), "Effect of more than one inhibitor" In: Hochster E.R., Quastel J. (eds). "Enzymes and metabolic inhibitors", Academic Press: New York) 후에 "분획 산물" 방법이라 불리는 방법을 도입하였다(Chou T-C. (2020), "Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies", *Pharmacological Reviews*, **58**(3):621-681). 이는 각각의 약물 단독의 효과의 분획 산물을 사용하여 두 약물의 기대되는 부가 효과를 추정하며, 즉

[0185] 1 - Fa(약물1 + 약물2) = (1 - Fa약물1)*(1 - Fa약물2)

[0186] 여기서 Fa = 영향을 받은 세포의 분획으로, 소수(decimal)로 표현된다.

[0187] 기대되는 Fa(약물1+약물2) 값 결과보다 큰 관찰된 Fa(약물1+약물2) 값은 상승효과를 나타내는 반면, 기대값보다 낮은 관찰된 Fa(약물1+약물2) 값은 길항효과를 나타낸다. 따라서, Webb의 방법은 특정 용량에서 각각의 약물의 효능을 고려하지만, 용량 - 반응 곡선의 전체 형상을 고려하지는 않는다[10]. 결과는 다음과 같이 간주된다:

[0188] · <-0.1의 결과 값은 *상승효과*를 나타낸다

[0189] · -0.1내지 0.1 사이의 결과 값은 *부가효과*를 나타낸다

[0190] · >0.1의 결과 값은 *길항효과*를 나타낸다

[0191] Chou-Talalay 방법: 1984년, Chou 및 Talalay는 현재까지 가장 널리 사용되는 상승효과 평가 방법을 제시하였다(Chou TC and Talalay P (1984), "Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Advances in enzyme regulation", 1984, 22:27-55). Henderson-Hasselbalch, Michaelis-Menten, Scatchard 및 Hill 방정식을 사용하여, Chou 및 Talalay는 "중앙값-효과" 방정식을 유도하여 입력된 용량 및 대응하는 용량-효과를 사용하여 용량-반응 곡선의 효과 용량 중앙값 및 시그모이드성(sigmoidicity)을 모델링하였다. Chou 및 Talalay는 또한 "조합 지수(CI)"라는 용어를 만들어 두 화합물 사이의 상승효과 정도를 평가하였고, 다음과 같이 정의된다.

[0192] $$CI = \frac{1}{DRI_{약물A}} + \frac{1}{DRI_{약물B}}$$

[0193] 여기서:

[0194] · DRI = 약물 감소 지수, 또는 약물 B의 존재에 의해 영향을 받는 약물 A의 용량의 감소 배수

[0195] · 0.9 미만의 CI는 *상승효과*를 나타내고;

[0196] · 0.9 내지 1.1 사이의 CI는 *부가* 상호작용을 나타내고; 및

[0197] · 1.1 초과의 CI는 *길항효과*를 나타낸다.

[0198] 임의의 Fa에서의 CI는 중앙값 효과 방정식을 사용하여 추정될 수 있다.

[0199] Chou Talalay 및 Webb 방법 둘 모두 광범위하게 사용되며 강력한 상승효과 결정 방법이다. Chou Talalay 방법이 더 정교한 모델로 여겨지며, 조합된 두 약물 사이에 일정한 용량 비율을 사용하는 것이 권장된다. 따라서 이 가정을 충족하지 못하는 경우에는 Webb의 방법을 사용하는 것이 권장된다.

[0200] *Bliss 방법*: SynergyFinder(버전 2.0)는 다중-약물(2개 이상의 약물) 조합 프로파일링 데이터의 상호 분석 및 시각화를 위한 독립형 웹-애플리케이션이다(Ianevski A, Giri AK, Aittokallio T (2020): "SynergyFinder 2.0: visual analytics of multi-drug combination synergies", *Nucleic Acids Res.*, **48**(W1):W488-W493). 조합 상승효과 또는 길항효과의 정도는, 약물 사이의 상호작용이 없다는 것을 가정하는 참조 모델을 사용하여 계산된 기대 반응과 관찰된 약물 조합 반응을 비교함으로써 정량화된다. SynergyFinder 내에서 Bliss 모델을 사용하였다. 이 모델은 단일 약물이 독립적으로 작용한 것처럼 상승효과의 정도를 단일 약물의 배수 효과(multiplicative effect)로 정량화한다. 이 독립성 모델은 두 약물이 독립적으로 이들의 효과를 도출하는 확률적 과정을 가정하고, 기대되는 조합 효과를 독립적인 사건의 확률에 기반하여 계산할 수 있다. 상승효과 점수가 다음과 같은 경우:

[0201] · -10 미만: 두 약물 사이의 상호작용이 *길항효과*일 가능성이 있고;

[0202] · -10 내지 10: 두 약물 사이의 상호작용이 *부가효과*일 가능성이 있고; 및

[0203] · 10 초과: 두 약물 사이의 상호작용이 *상승효과*일 가능성이 있다.

[0204] 실시예 2: 잔트렌과 현재 사용되는 단백질 키나아제 억제제의 조합

[0205] 조합 약물 치료의 효과를 결정하기 위해, 세 가지 상이한 방법을 활용하였다. Webb 분석 방법은 786-O 세포주에서 잔트렌 및 단백질 키나아제 억제제에 대한 다수의 약물 용량에 걸쳐 상승효과를 나타내었다(도 1 내지 3). 가장 강한 상승효과는 렌바티닙, 카보잔티닙 및 파조파닙과 잔트렌의 조합에서 관찰되었다. 상승효과는 또한 수니티닙, 소라페닙 및 에베롤리무스의 용량에서 관찰되었으며, 대부분 더 낮은 용량에서 관찰되었다. 유사한 결과가 렌바티닙 및 카보잔티닙에 이어 파조파닙에 대해 다른 4개의 세포주에 걸쳐 관찰되었으며, 지속적으로 잔트렌과 가장 강한 상승효과를 나타내었다(도 4 내지 15).

[0206] Bliss 방법을 사용한 분석은 모든 5개 세포주에서 렌바티닙 및 파조파닙과 잔트렌의 종합 상승효과를 유사하게 나타내었다(표 2). 이러한 방법은 에베롤리무스가 모든 5개 세포주에서 상승효과를 갖고, 모든 세포주에서 카보잔티닙이 상승효과를 가진다는 것을 추가로 나타내었다(Caki-2 세포에 대해서는 미미하였음). 경미한 시너지가 수니티닙 및 소라페닙에 대해서 관찰되었다(표 2). Bliss 분석은 또한 약물 용량에 걸쳐 가장 상승효과를 갖는 영역에 대한 점수를 제공할 수 있으며, 이는 모든 세포주에 걸쳐 시험된 약물에 대한 상승효과의 영역을 제시한다(표 3). 각각의 용량 조합에 대한 개별 Bliss 점수는 대부분의 세포주에 걸쳐 상승적인 다중 용량을 추가로 나타내었다.

[0207] **표 2** - Bliss 상승효과 분석에 의해 결정된 비산트렌-약물 조합의 종합 상승효과 점수

약물 조합	786-0	Caki-1	Caki-2	RCC4-EV	RCC4-VHL
에베롤리무스 + 잔트렌	18.15*	19.88*	15.45*	17.58*	17.74*
수니티닙 + 잔트렌	12.26*	6.42[&]	5.26[&]	8.01[&]	5.21[&]
소라페닙 + 잔트렌	10.40*	7.86[&]	5.07[&]	5.09[&]	4.41[&]
파조파닙 + 잔트렌	21.86*	16.24*	13.95*	22.34*	17.84*
렌바티닙 + 잔트렌	24.49*	20.68*	17.93*	36.42*	29.32*
카보잔티닙 + 잔트렌	18.07*	15.08*	8.64[&]	19.15*	15.21*

[0208]

[0209] >10의 값은 상승효과(*)로 간주되고; -10 내지 10 사이의 값은 부가효과([&])로 간주되고; -10 미만의 값은 길항효과([#])로 간주된다.

[0210] **표 3** - Bliss 상승효과 분석에 의해 결정된 비산트렌-약물 조합의 가장 상승효과를 갖는 영역

약물 조합	786-0	Caki-1	Caki-2	RCC4-EV	RCC4-VHL
에베롤리무스 + 잔트렌	27.12*	28.81*	23.00*	22.31*	27.52*
수니티닙 + 잔트렌	24.37*	14.24*	15.73*	14.79*	12.97*
소라페닙 + 잔트렌	23.69*	18.66*	11.54*	10.41*	12.14*
파조파닙 + 잔트렌	30.44*	22.50*	16.90*	26.02*	22.96*
렌바티닙 + 잔트렌	35.02*	30.28*	21.24*	44.15*	36.05*
카보잔티닙 + 잔트렌	30.13*	26.66*	18.54*	26.86*	24.50*

[0211]

[0212] >10의 값은 상승효과(*)로 간주되고; -10 내지 10 사이의 값은 부가효과([&])로 간주되고; -10 미만의 값은 길항효과([#])로 간주된다.

[0213] 마지막으로, Chou-Talalay 분석을 잔트렌 및 각각의 항-RCC 약물의 조합 효과를 정량화하는 데 사용하였다. 이러한 분석은 Webb의 방법 또는 Bliss 분석의 방법보다 덜 엄격하며, 거의 모든 조합에 대해 대부분의 용량에서 상승효과를 확인하였다. 약물 둘 모두에 대해 IC_{50}에서 상승효과 점수를 고려할 때, 상승효과는 수니티닙, 파조파닙, 렌바티닙 및 카보잔티닙과 잔트렌에 대해 예측되었다(표 4).

[0214] **표 4** - Chou Talalay 분석에 의해 결정된 비산트렌-약물 조합의 조합 지수

	ED_{50}				
약물 조합	786-O	Caki-1	Caki-2	RCC-EV	RCC-VHL
에베롤리무스 - 잔트렌	0.35*	NA	0.27*	6.28E+11[#]	6.17E+57[#]
수니티닙 - 잔트렌	0.76*	0.61*	0.67*	0.69*	0.69*
소라페닙 - 잔트렌	0.75*	0.69*	0.92[&]	0.83*	0.9*
파조파닙 - 잔트렌	0.51*	0.71*	0.56*	0.42*	0.44*
렌바티닙 - 잔트렌	0.37*	0.61*	0.28*	0.3*	0.28*
카보잔티닙 - 잔트렌	0.53*	0.5*	0.56*	0.52*	0.58*

[0215]

[0216] 조합 지수는 Chou-Talalay 분석을 사용하여 ED50으로부터 계산되었다; 길항효과(#); 부가효과(&); 적당한 상승효과(*).

[0217] 렌바티닙, 카보잔티닙 및 파조파닙은 시험된 ccRCC 세포에서 잔트렌과 가장 강한 상승효과를 나타내었다. 이는 잔트렌과 상승적으로 치명적인 이러한 약물에 대한 공통 세포 표적을 나타낼 수 있다. 이러한 약물은 모두 혈관신생을 억제하는 VEGFR 억제제이다. 내피 세포 상의 VEGFR을 억제하는 것 외에도, 이러한 다중-키나아제 억제제는 또한 다른 키나아제의 종양-세포 고유 억제로 인한 종양 성장을 억제한다. 본 분석이 종양 세포만으로 구성된 점을 고려하면, 잔트렌으로 관찰되는 상승적 세포독성은 종양 세포 내의 키나아제 억제에 기인하여야 한다. 렌바티닙, 카보잔티닙 및 파조파닙에 대한 공통 표적은 DDR2, DDR1, RET 및 RIPK2를 포함한다. RET는 또한 수니티닙의 표적으로 확인되었다. Caki-1 세포주를 카보잔티닙을 포함하는 일부 약물의 분석을 위해 4-세포주 풀에 추가로 첨가하였고, 이는 AXL 및 MET가 카보잔티닙 표적임을 추가로 확인하였다.

[0218] 실시예 3: 잔트렌은 투명세포 신세포 암종 세포를 사멸시키고 VHL(-) 세포에 더 독성이 있다

[0219] 실시예 2에 나타낸 결과는 돌연변이 VHL(-) 세포(RCC4 EV 세포)가 비산트렌 및 단백질 키나아제 억제제의 조합으로 치료되는 경우 VHL 레스큐 주(RCC4 VHL)와 비교하여 비산트렌 및 단백질 키나아제 억제제 사이에 더 큰 시너지를 나타내었다. 이러한 결과는, 표 5에 나타내고 도 18에 도시된 바와 같이, 비산트렌이 모든 신장암 세포주에 독성일 뿐만 아니라(데이터 미도시), 동종 레스큐(VHL(+)) RCC4 VHL 세포와 비교하여 VHL(-) 돌연변이체 세포인 RCC4 EV 세포에 대해 놀랍게도 더 독성인 것으로 나타난 이전 관찰과 일치한다.

[0220] **표 5** - 신장암 RCC4 EV(VHL(-); 돌연변이/Mut) 및 VHL 레스큐 RCC4 VHL(야생형/WT) 세포주에서의 비산트렌의 세포독성 IC_{50} 값

세포주	신세포 유형	VHL 상태	비산트렌 IC_{50} (nM)
RCC4 EV	ccRCC	Mut	907
RCC4 VHL	ccRCC	Mut + WT	1170

[0221]

[0222] 실시예 1에 기재된 바와 같이, VHL 상실 및 비산트렌 사이의 더 큰 치사성이 장기간 클론생성 세포 성장 검정(세포 콜로니 형성)을 사용한 RCC4 VHL 세포와 비교하여, RCC4 EV 세포에 대해 또한 관찰되었으며, 이는 세포 사멸보다 암 세포 성장에 대한 약물의 효과를 더 잘 측정한다.

[0223] *RCC-4 EV*(VHL 돌연변이) 세포는 야생형 VHL 레스큐 세포보다 비산트렌에 유의미하게 더 민감하였다(2.9x)(표 6 및 도 19).

[0224] **표 6** - 신장 RCC4 EV(VHL(-); 돌연변이/Mut) 및 VHL 레스큐 RCC4 VHL(야생형/WT) 세포주에서의 잔트렌의 클론생성 IC_{50}

세포주	신세포 유형	VHL 상태	비산트렌 IC_{50} (nM)
RCC4 EV	ccRCC	Mut	167
RCC4 VHL	ccRCC	Mut + WT	483

[0225]

[0226] 발명의 이점

[0227] 본 발명은 DNA 인터칼레이션, 토포이소머라제의 억제, 지방 및 비만 연관 단백질(FTO)의 억제 및 면역계의 활성화를 포함하는 다수의 작용 메커니즘을 갖는 항종양제인, 비산트렌을 투여함으로써 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암을 치료하기 위한 새로운 패러다임을 제공한다. 비산트렌은 내약성이 좋으며, 특히 일부 다른 안트라센 유도체의 특징인 심장독성이 없다. 비산트렌은 ccRCC 및 다른 VHL(-) 암의 치료에 사용되는 다른 요법제와 함께 사용될 수 있다.

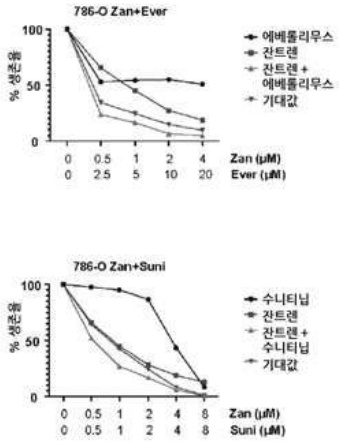
[0228] 본원에 예시적으로 기재된 발명은 본원에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소 또는 요소들, 제한 또는 제한들 없이 적합하게 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들어, "포함하는(comprising)," "포함하는(including)," "함유하는" 등은 제한없이 확장적으로 읽혀야 한다. 본원에 사용된 바와 같이, 청구범위에 전환구(transitional

phrase)로서 용어 "포함하는"의 사용은 더 좁은 전환구가 명시적으로 배제되지 않는 경우 "본질적으로 구성되는" 또는 "구성되는"이라는 전환구의 사용을 포함하도록 의도된다. 본 발명은 바람직한 실시양태 및 선택적 특징에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본원에 개시된 발명의 변경 및 변형은 당업자에 의해 재조정될 수 있고, 이러한 변경 및 변형은 본원에 개시된 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 본 발명은 본원에 광범위하게 및 일반적으로 기재되었다. 일반적인 개시의 범위 내에 있는 더 좁은 종 및 아속 그룹 또한 이러한 발명의 일부를 형성한다. 이는 삭제된 물질이 구체적으로 거기에 존재하는지 여부와 관계없이, 속(genus)으로부터 임의의 대상 물질을 제거하는 것에 대한 단서나 부정적인 제한과 함께 각각의 발명에 대한 일반적인 설명을 포함한다.

도면

도면1

a



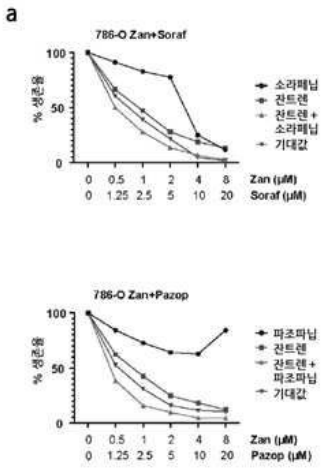
b

786-O

Zan (μM)	Ever (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Suni (μM)	Webb 결과
0.5	1.25	-0.080[A]	0.5	0.5	-0.124*
0.5	2.5	-0.138*	0.5	1	-0.312*
0.5	5	-0.187*	0.5	2	-0.375*
0.5	10	-0.264*	0.5	4	-0.146*
0.5	20	-0.269*	0.5	8	0.052[A]
1	1.25	-0.001[A]	1	0.5	0.037[A]
1	2.5	-0.056[A]	1	1	-0.159*
1	5	-0.102*	1	2	-0.219*
1	10	-0.178*	1	4	-0.061[A]
1	20	-0.164*	1	8	0.060[A]
2	1.25	0.072[A]	2	0.5	0.125[#]
2	2.5	0.020[A]	2	1	-0.028[A]
2	5	-0.053[A]	2	2	-0.076[A]
2	10	-0.086[A]	2	4	0.006[A]
2	20	-0.081[A]	2	8	0.058[A]
4	1.25	0.109[#]	4	0.5	0.064[A]
4	2.5	0.070[A]	4	1	-0.009[A]
4	5	-0.038[A]	4	2	-0.039[A]
4	10	-0.036[A]	4	4	-0.023[A]
4	20	-0.048[A]	4	8	0.021[A]
8	1.25	0.156[#]	8	0.5	-0.055[A]
8	2.5	0.050[A]	8	1	-0.084[A]
8	5	0.019[A]	8	2	-0.101*
8	10	-0.024[A]	8	4	-0.049[A]
8	20	-0.047[A]	8	8	-0.005[A]

도면2

a



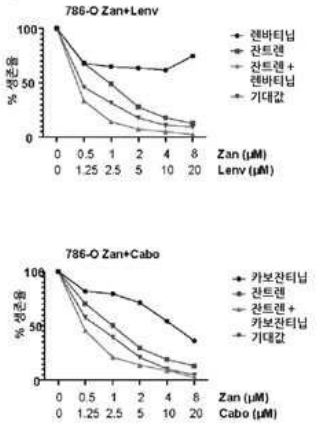
b

786-O

Zan (μM)	Soraf (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Pazop (μM)	Webb 결과
0.5	1.25	-0.106*	0.5	1.25	-0.141*
0.5	2.5	-0.231*	0.5	2.5	-0.220*
0.5	5	-0.322*	0.5	5	-0.247*
0.5	10	-0.038[A]	0.5	10	-0.271*
0.5	20	0.022[A]	0.5	20	-0.445*
1	1.25	0.020[A]	1	1.25	-0.115*
1	2.5	-0.113*	1	2.5	-0.150*
1	5	-0.199*	1	5	-0.141*
1	10	-0.009[A]	1	10	-0.181*
1	20	0.028[A]	1	20	-0.300*
2	1.25	0.122[#]	2	1.25	-0.062[A]
2	2.5	0.001[A]	2	2.5	-0.059[A]
2	5	-0.082[A]	2	5	-0.063[A]
2	10	0.023[A]	2	10	-0.101*
2	20	0.032[A]	2	20	-0.178*
4	1.25	-0.001[A]	4	1.25	-0.008[A]
4	2.5	-0.021[A]	4	2.5	-0.012[A]
4	5	-0.040[A]	4	5	-0.043[A]
4	10	0.020[A]	4	10	-0.068[A]
4	20	0.029[A]	4	20	-0.127*
8	1.25	0.003[A]	8	1.25	0.182[#]
8	2.5	0.001[A]	8	2.5	0.099[A]
8	5	-0.030[A]	8	5	0.050[A]
8	10	0.011[A]	8	10	0.000[A]
8	20	0.008[A]	8	20	-0.060[A]

도면3

a



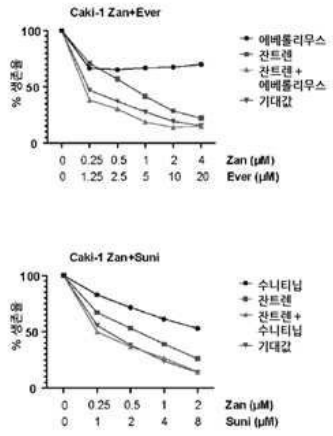
b

786-O

Zan (μM)	Lenv (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Cabo (μM)	Webb 결과
0.5	1.25	-0.125*	0.5	1.25	-0.120*
0.5	2.5	-0.274*	0.5	2.5	-0.254*
0.5	5	-0.333*	0.5	5	-0.314*
0.5	10	-0.348*	0.5	10	-0.237*
0.5	20	-0.470*	0.5	20	-0.156*
1	1.25	-0.067[A]	1	1.25	-0.078[A]
1	2.5	-0.173*	1	2.5	-0.185*
1	5	-0.223*	1	5	-0.202*
1	10	-0.235*	1	10	-0.142*
1	20	-0.330*	1	20	-0.093[A]
2	1.25	0.030[A]	2	1.25	-0.042[A]
2	2.5	-0.048[A]	2	2.5	-0.081[A]
2	5	-0.103*	2	5	-0.072[A]
2	10	-0.111*	2	10	-0.065[A]
2	20	-0.173*	2	20	-0.046[A]
4	1.25	0.064[A]	4	1.25	-0.007[A]
4	2.5	0.007[A]	4	2.5	0.001[A]
4	5	-0.044[A]	4	5	-0.015[A]
4	10	-0.059[A]	4	10	-0.015[A]
4	20	-0.102*	4	20	-0.024[A]
8	1.25	0.140[F]	8	1.25	0.028[A]
8	2.5	0.071[A]	8	2.5	0.041[A]
8	5	0.006[A]	8	5	-0.020[A]
8	10	-0.030[A]	8	10	-0.012[A]
8	20	-0.068[A]	8	20	-0.021[A]

도면4

a



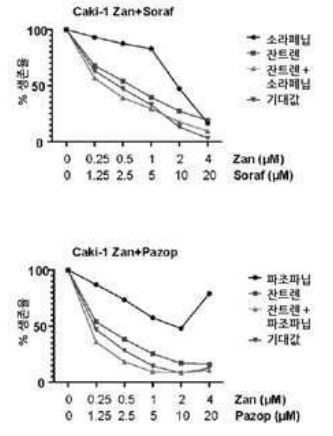
b

Caki-1

Zan (μM)	Ever (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Suni (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.089[A]	0.25	0.5	-0.036[A]
0.25	2.5	-0.138*	0.25	1	-0.101*
0.25	5	-0.235*	0.25	2	-0.131*
0.25	10	-0.313*	0.25	4	-0.163*
0.25	20	-0.339*	0.25	8	-0.156*
0.5	1.25	-0.014[A]	0.5	0.5	0.020[A]
0.5	2.5	-0.070[A]	0.5	1	-0.035[A]
0.5	5	-0.157*	0.5	2	-0.076[A]
0.5	10	-0.242*	0.5	4	-0.108*
0.5	20	-0.244*	0.5	8	-0.085[A]
1	1.25	0.055[A]	1	0.5	0.104[F]
1	2.5	0.002[A]	1	1	0.043[A]
1	5	-0.091[A]	1	2	-0.004[A]
1	10	-0.150*	1	4	-0.037[A]
1	20	-0.134*	1	8	-0.031[A]
2	1.25	0.168[F]	2	0.5	0.194[F]
2	2.5	0.096[A]	2	1	0.143[F]
2	5	0.004[A]	2	2	0.078[A]
2	10	-0.052[A]	2	4	0.038[A]
2	20	-0.043[A]	2	8	0.023[A]
4	1.25	0.225[F]	4	0.5	0.258[F]
4	2.5	0.152[F]	4	1	0.218[F]
4	5	0.043[A]	4	2	0.118[F]
4	10	0.022[A]	4	4	0.022[A]
4	20	-0.004[A]	4	8	-0.036[A]

도면5

a



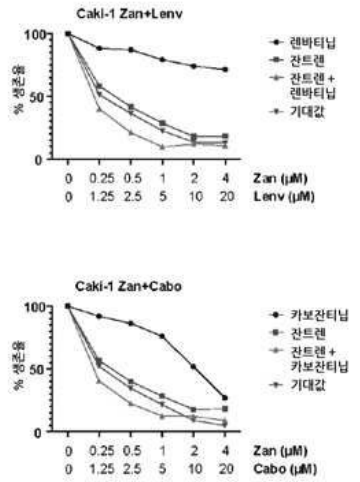
b

Caki-1

Zan (μM)	Soraf (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Pazop (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.065[A]	0.25	1.25	-0.112*
0.25	2.5	-0.172*	0.25	2.5	-0.147*
0.25	5	-0.248*	0.25	5	-0.132*
0.25	10	-0.093[A]	0.25	10	-0.135*
0.25	20	0.080[A]	0.25	20	-0.302*
0.5	1.25	0.013[A]	0.5	1.25	-0.080[A]
0.5	2.5	-0.081[A]	0.5	2.5	-0.101*
0.5	5	-0.138*	0.5	5	-0.088[A]
0.5	10	-0.038[A]	0.5	10	-0.075[A]
0.5	20	0.092[A]	0.5	20	-0.185*
1	1.25	0.143[F]	1	1.25	-0.041[A]
1	2.5	0.065[A]	1	2.5	-0.048[A]
1	5	-0.035[A]	1	5	-0.053[A]
1	10	0.025[A]	1	10	-0.030[A]
1	20	0.093[A]	1	20	-0.102*
2	1.25	0.081[A]	2	1.25	-0.010[A]
2	2.5	0.048[A]	2	2.5	-0.012[A]
2	5	0.012[A]	2	5	-0.032[A]
2	10	0.044[A]	2	10	0.003[A]
2	20	0.102[F]	2	20	-0.062[A]
4	1.25	-0.035[A]	4	1.25	0.106[F]
4	2.5	-0.037[A]	4	2.5	0.072[A]
4	5	-0.036[A]	4	5	0.023[A]
4	10	0.009[A]	4	10	0.037[A]
4	20	0.063[A]	4	20	-0.022[A]

도면6

a

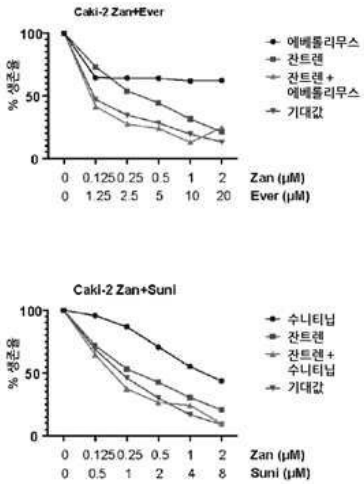


b

Caki-1					
Zan (μM)	Lenv (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Cabo (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.115*	0.25	1.25	-0.117*
0.25	2.5	-0.262*	0.25	2.5	-0.215*
0.25	5	-0.319*	0.25	5	-0.224*
0.25	10	-0.290*	0.25	10	-0.162*
0.25	20	-0.279*	0.25	20	-0.018[b]
0.5	1.25	-0.016[b]	0.5	1.25	-0.054[b]
0.5	2.5	-0.152*	0.5	2.5	-0.123*
0.5	5	-0.223*	0.5	5	-0.139*
0.5	10	-0.191*	0.5	10	-0.091[b]
0.5	20	-0.179*	0.5	20	0.016[b]
1	1.25	0.055[b]	1	1.25	-0.018[b]
1	2.5	-0.047[b]	1	2.5	-0.067[b]
1	5	-0.129*	1	5	-0.092[b]
1	10	-0.096[b]	1	10	-0.037[b]
1	20	-0.098[b]	1	20	0.030[b]
2	1.25	0.136[c]	2	1.25	0.030[b]
2	2.5	0.041[b]	2	2.5	-0.012[b]
2	5	-0.057[b]	2	5	-0.051[b]
2	10	-0.015[b]	2	10	0.030[b]
2	20	-0.027[b]	2	20	0.048[b]
4	1.25	0.162[c]	4	1.25	-0.024[b]
4	2.5	0.081[b]	4	2.5	-0.047[b]
4	5	-0.042[b]	4	5	-0.069[b]
4	10	-0.003[b]	4	10	0.032[b]
4	20	-0.023[b]	4	20	0.041[b]

도면7

a

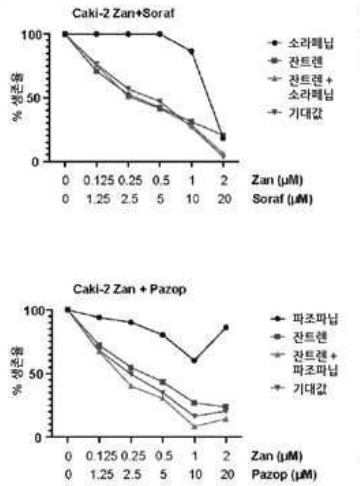


b

Caki-2					
Zan (μM)	Ever (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Suni (μM)	Webb 결과
0.125	1.25	-0.056[b]	0.125	0.5	-0.041[b]
0.125	2.5	-0.164*	0.125	1	-0.151*
0.125	5	-0.195*	0.125	2	-0.147*
0.125	10	-0.235*	0.125	4	-0.126*
0.125	20	-0.259*	0.125	8	-0.085[b]
0.25	1.25	0.032[b]	0.25	0.5	0.032[b]
0.25	2.5	-0.073[b]	0.25	1	-0.088[b]
0.25	5	-0.099[b]	0.25	2	-0.075[b]
0.25	10	-0.143*	0.25	4	-0.028[b]
0.25	20	-0.147*	0.25	8	-0.004[b]
0.5	1.25	0.085[b]	0.5	0.5	0.041[b]
0.5	2.5	-0.010[b]	0.5	1	-0.047[b]
0.5	5	-0.044[b]	0.5	2	-0.038[b]
0.5	10	-0.116*	0.5	4	-0.001[b]
0.5	20	-0.088[b]	0.5	8	0.029[b]
1	1.25	0.185[c]	1	0.5	0.117[c]
1	2.5	0.103[c]	1	1	0.078[b]
1	5	0.073[b]	1	2	0.083[b]
1	10	-0.066[b]	1	4	0.075[b]
1	20	0.014[b]	1	8	0.074[b]
2	1.25	0.264[c]	2	0.5	0.201[c]
2	2.5	0.212[c]	2	1	0.184[c]
2	5	0.159[c]	2	2	0.098[b]
2	10	-0.034[b]	2	4	-0.007[b]
2	20	0.114[c]	2	8	0.007[b]

도면8

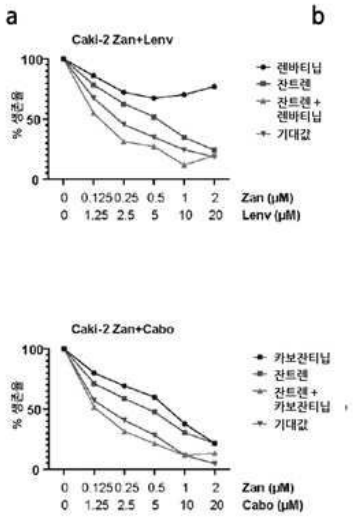
a



b

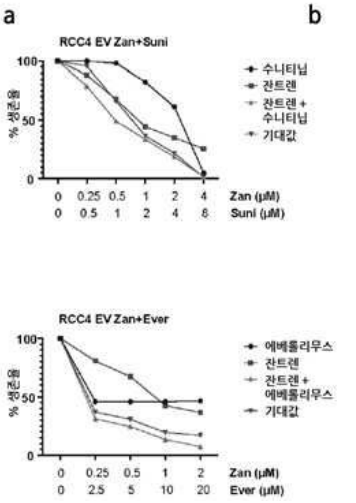
Caki-2					
Zan (μM)	Soraf (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Pazop (μM)	Webb 결과
0.125	1.25	-0.009[b]	0.125	1.25	-0.008[b]
0.125	2.5	-0.234*	0.125	2.5	-0.184*
0.125	5	-0.395*	0.125	5	-0.209*
0.125	10	-0.312*	0.125	10	-0.234*
0.125	20	0.062[b]	0.125	20	-0.448*
0.25	1.25	0.170[c]	0.25	1.25	0.093[b]
0.25	2.5	-0.061[b]	0.25	2.5	-0.094[b]
0.25	5	-0.205*	0.25	5	-0.102*
0.25	10	-0.163*	0.25	10	-0.160*
0.25	20	0.091[b]	0.25	20	-0.329*
0.5	1.25	0.313[c]	0.5	1.25	0.102[c]
0.5	2.5	0.096[b]	0.5	2.5	-0.029[b]
0.5	5	-0.058[b]	0.5	5	-0.044[b]
0.5	10	-0.072[b]	0.5	10	-0.127*
0.5	20	0.093[b]	0.5	20	-0.260*
1	1.25	0.349[c]	1	1.25	0.156[c]
1	2.5	0.241[c]	1	2.5	0.059[b]
1	5	0.126[c]	1	5	0.054[b]
1	10	0.016[b]	1	10	-0.080[b]
1	20	0.091[b]	1	20	-0.126*
2	1.25	-0.019[b]	2	1.25	0.340[c]
2	2.5	-0.042[b]	2	2.5	0.223[c]
2	5	-0.100[b]	2	5	0.183[c]
2	10	-0.118*	2	10	-0.004[b]
2	20	0.022[b]	2	20	-0.060[b]

도면9



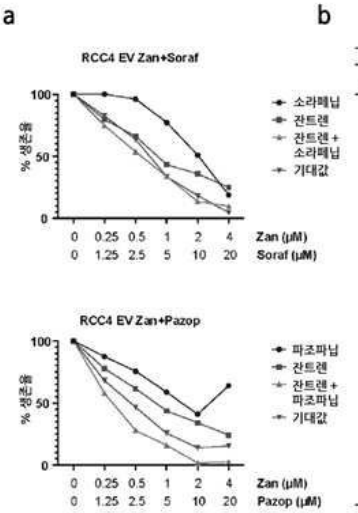
Caki-2					
Zan (μM)	Lenv (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Cabo (μM)	Webb 결과
0.125	1.25	-0.126*	0.125	1.25	-0.054[k]
0.125	2.5	-0.170*	0.125	2.5	-0.091[k]
0.125	5	-0.190*	0.125	5	-0.086[k]
0.125	10	-0.375*	0.125	10	-0.028[k]
0.125	20	-0.420*	0.125	20	0.040[k]
0.25	1.25	-0.097[k]	0.25	1.25	-0.072[k]
0.25	2.5	-0.141*	0.25	2.5	-0.092[k]
0.25	5	-0.149*	0.25	5	-0.095[k]
0.25	10	-0.292*	0.25	10	-0.021[k]
0.25	20	-0.304*	0.25	20	0.051[k]
0.5	1.25	-0.031[k]	0.5	1.25	-0.071[k]
0.5	2.5	-0.076[k]	0.5	2.5	-0.102*
0.5	5	-0.077[k]	0.5	5	-0.072[k]
0.5	10	-0.241*	0.5	10	-0.015[k]
0.5	20	-0.216*	0.5	20	0.037[k]
1	1.25	0.120[i]	1	1.25	-0.012[k]
1	2.5	0.070[k]	1	2.5	-0.019[k]
1	5	0.083[k]	1	5	0.002[k]
1	10	-0.126*	1	10	0.000[k]
1	20	-0.071[k]	1	20	0.053[k]
2	1.25	0.252[i]	2	1.25	0.002[k]
2	2.5	0.197[i]	2	2.5	0.013[k]
2	5	0.203[i]	2	5	0.030[k]
2	10	-0.051[k]	2	10	-0.036[k]
2	20	0.009[k]	2	20	0.088[k]

도면10



RCC4 EV					
Zan (μM)	Ever (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Suni (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.053[k]	0.25	0.5	-0.167*
0.25	2.5	-0.091[k]	0.25	1	-0.291*
0.25	5	-0.115*	0.25	2	-0.327*
0.25	10	-0.154*	0.25	4	-0.185
0.25	20	-0.280*	0.25	8	0.189[i]
0.5	1.25	-0.003[k]	0.5	0.5	-0.052[k]
0.5	2.5	-0.048[k]	0.5	1	-0.172*
0.5	5	-0.088[k]	0.5	2	-0.169*
0.5	10	-0.159*	0.5	4	-0.076[k]
0.5	20	-0.233*	0.5	8	0.143[i]
1	1.25	0.095[k]	1	0.5	0.089[k]
1	2.5	0.051[k]	1	1	-0.025[k]
1	5	0.012[k]	1	2	-0.029[k]
1	10	-0.117*	1	4	0.031[k]
1	20	-0.103*	1	8	0.077[k]
2	1.25	0.144[i]	2	0.5	0.068[k]
2	2.5	0.099[k]	2	1	0.021[k]
2	5	-0.032[k]	2	2	0.030[k]
2	10	-0.100*	2	4	-0.029[k]
2	20	-0.074[k]	2	8	0.041[k]
4	1.25	0.223[i]	4	0.5	-0.238*
4	2.5	0.111[i]	4	1	-0.224*
4	5	-0.071[k]	4	2	-0.193*
4	10	-0.049[k]	4	4	-0.140*
4	20	-0.053[k]	4	8	0.002[k]

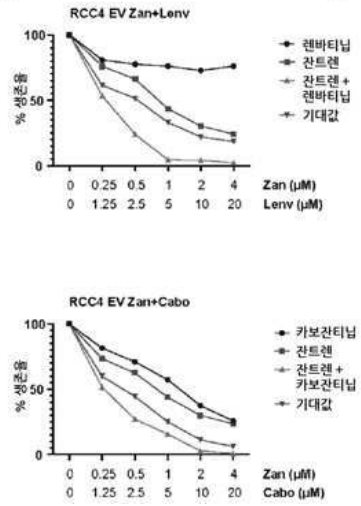
도면11



RCC4 EV					
Zan (μM)	Soraf (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Pazop (μM)	Webb
0.25	1.25	-0.077[k]	0.25	1.25	-0.101*
0.25	2.5	-0.184*	0.25	2.5	-0.196*
0.25	5	-0.225*	0.25	5	-0.179*
0.25	10	-0.088[k]	0.25	10	-0.077[k]
0.25	20	0.069[k]	0.25	20	-0.388*
0.5	1.25	-0.007[k]	0.5	1.25	-0.141*
0.5	2.5	-0.099[k]	0.5	2.5	-0.187*
0.5	5	-0.121*	0.5	5	-0.126*
0.5	10	-0.044[k]	0.5	10	-0.097[k]
0.5	20	0.045[k]	0.5	20	-0.343*
1	1.25	0.188[i]	1	1.25	-0.129*
1	2.5	0.074[k]	1	2.5	-0.135*
1	5	0.003[k]	1	5	-0.098[k]
1	10	0.014[k]	1	10	-0.148*
1	20	0.026[k]	1	20	-0.257*
2	1.25	0.078[k]	2	1.25	-0.125*
2	2.5	0.048[k]	2	2.5	-0.112*
2	5	0.004[k]	2	5	-0.186*
2	10	-0.047[k]	2	10	-0.123*
2	20	0.055[k]	2	20	-0.208*
4	1.25	-0.061[k]	4	1.25	0.098[k]
4	2.5	-0.027[k]	4	2.5	0.063[k]
4	5	-0.042[k]	4	5	0.018[k]
4	10	-0.023[k]	4	10	-0.052[k]
4	20	0.050[k]	4	20	-0.129*

도면12

a

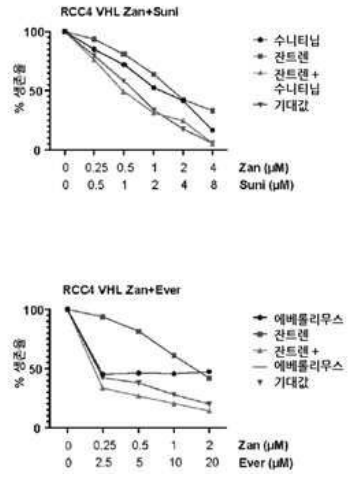


b

RCC4 EV					
Zan (μM)	Lenv (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Cabo (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.080[A]	0.25	1.25	-0.084[A]
0.25	2.5	-0.289*	0.25	2.5	-0.097[A]
0.25	5	-0.432*	0.25	5	-0.168*
0.25	10	-0.513*	0.25	10	-0.077[A]
0.25	20	-0.555*	0.25	20	-0.066[A]
0.5	1.25	-0.076[A]	0.5	1.25	-0.102*
0.5	2.5	-0.275*	0.5	2.5	-0.174*
0.5	5	-0.431*	0.5	5	-0.157*
0.5	10	-0.449*	0.5	10	-0.063[A]
0.5	20	-0.477*	0.5	20	-0.118*
1	1.25	0.045[A]	1	1.25	-0.100*
1	2.5	-0.132*	1	2.5	-0.128*
1	5	-0.286*	1	5	-0.095[A]
1	10	-0.281*	1	10	-0.081[A]
1	20	-0.303*	1	20	-0.085[A]
2	1.25	0.103[B]	2	1.25	-0.067[A]
2	2.5	-0.028[A]	2	2.5	-0.066[A]
2	5	-0.197*	2	5	-0.067[A]
2	10	-0.179*	2	10	-0.084[A]
2	20	-0.199*	2	20	-0.055[A]
4	1.25	0.193[C]	4	1.25	-0.076[A]
4	2.5	0.040[A]	4	2.5	-0.074[A]
4	5	-0.154*	4	5	-0.115*
4	10	-0.138*	4	10	-0.077[A]
4	20	-0.163*	4	20	-0.052[A]

도면13

a

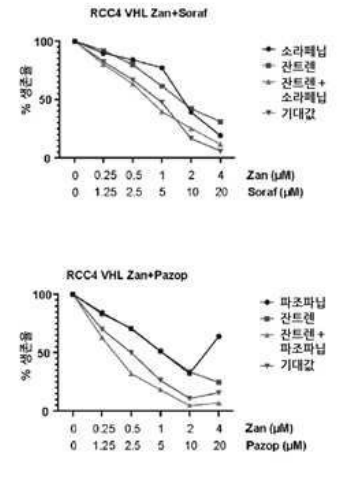


b

RCC4 VHL					
Zan (μM)	Ever (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Suni (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.079[A]	0.25	0.5	-0.036[A]
0.25	2.5	-0.091[A]	0.25	1	-0.049[A]
0.25	5	-0.143*	0.25	2	-0.001[A]
0.25	10	-0.147*	0.25	4	-0.020[A]
0.25	20	-0.248*	0.25	8	0.182[C]
0.5	1.25	-0.053[A]	0.5	0.5	-0.088[A]
0.5	2.5	-0.072[A]	0.5	1	-0.091[A]
0.5	5	-0.098[A]	0.5	2	-0.022[A]
0.5	10	-0.132*	0.5	4	0.006[A]
0.5	20	-0.241*	0.5	8	0.177[C]
1	1.25	0.012[A]	1	0.5	-0.094[A]
1	2.5	-0.010[A]	1	1	-0.095[A]
1	5	-0.032[A]	1	2	-0.025[A]
1	10	-0.101*	1	4	0.037[A]
1	20	-0.156*	1	8	0.130[C]
2	1.25	0.097[A]	2	0.5	0.004[A]
2	2.5	0.096[A]	2	1	0.004[A]
2	5	0.011[A]	2	2	0.051[A]
2	10	-0.067[A]	2	4	0.070[A]
2	20	-0.053[A]	2	8	0.079[A]
4	1.25	0.180[C]	4	0.5	-0.134*
4	2.5	0.143[B]	4	1	-0.111*
4	5	-0.038[A]	4	2	-0.084[A]
4	10	-0.005[A]	4	4	-0.096[A]
4	20	-0.026[A]	4	8	-0.003[A]

도면14

a

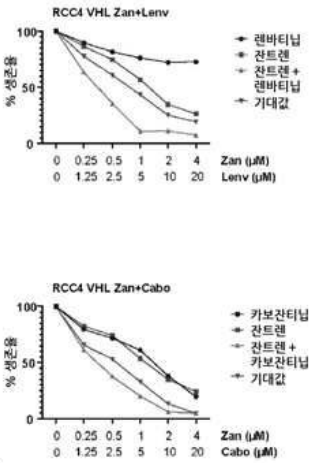


b

RCC4 VHL					
Zan (μM)	Soraf (μM)	Webb 결과	Zan (μM)	Pazop (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.020[A]	0.25	1.25	-0.071[A]
0.25	2.5	-0.081[A]	0.25	2.5	-0.093[A]
0.25	5	-0.182*	0.25	5	-0.091[A]
0.25	10	-0.007[A]	0.25	10	-0.024[A]
0.25	20	0.131[C]	0.25	20	-0.354*
0.5	1.25	0.020[A]	0.5	1.25	-0.137*
0.5	2.5	-0.035[A]	0.5	2.5	-0.179*
0.5	5	-0.134*	0.5	5	-0.119*
0.5	10	0.017[A]	0.5	10	-0.037[A]
0.5	20	0.125[C]	0.5	20	-0.359*
1	1.25	0.108[B]	1	1.25	-0.163*
1	2.5	0.022[A]	1	2.5	-0.152*
1	5	-0.078[A]	1	5	-0.081[A]
1	10	0.058[A]	1	10	-0.091[A]
1	20	0.092[A]	1	20	-0.254*
2	1.25	0.004[A]	2	1.25	-0.108*
2	2.5	-0.021[A]	2	2.5	-0.088[A]
2	5	-0.026[A]	2	5	-0.104*
2	10	0.088[A]	2	10	-0.062[A]
2	20	0.088[A]	2	20	-0.165*
4	1.25	-0.073[A]	4	1.25	0.116[C]
4	2.5	-0.057[A]	4	2.5	0.094[A]
4	5	-0.049[A]	4	5	0.098[A]
4	10	0.028[A]	4	10	0.017[A]
4	20	0.056[A]	4	20	-0.088[A]

도면15

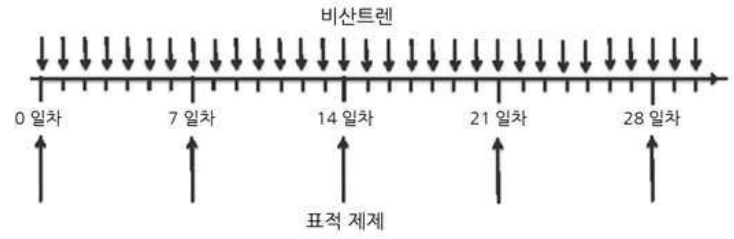
a



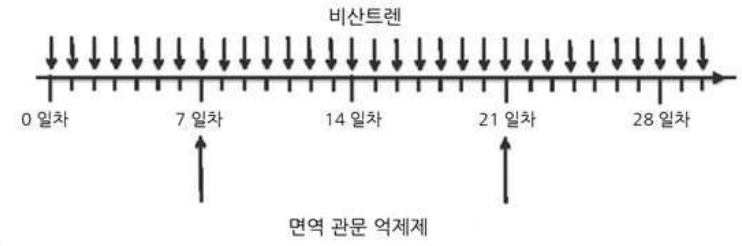
b

RCC4 VHL					
Zan (μM)	Lenv (μM)		Zan (μM)	Cabo (μM)	Webb 결과
0.25	1.25	-0.143*	0.25	1.25	-0.045[&]
0.25	2.5	-0.257*	0.25	2.5	-0.078[&]
0.25	5	-0.446*	0.25	5	-0.171*
0.25	10	-0.529*	0.25	10	-0.075[&]
0.25	20	-0.530*	0.25	20	0.012[&]
0.5	1.25	-0.099[&]	0.5	1.25	-0.080[&]
0.5	2.5	-0.254*	0.5	2.5	-0.155*
0.5	5	-0.421*	0.5	5	-0.193*
0.5	10	-0.434*	0.5	10	-0.074[&]
0.5	20	-0.450*	0.5	20	-0.033[&]
1	1.25	0.002[&]	1	1.25	-0.099[&]
1	2.5	-0.175*	1	2.5	-0.140*
1	5	-0.326*	1	5	-0.125*
1	10	-0.302*	1	10	-0.068[&]
1	20	-0.330*	1	20	-0.038[&]
2	1.25	0.130[#]	2	1.25	-0.083[&]
2	2.5	-0.018[&]	2	2.5	-0.068[&]
2	5	-0.180*	2	5	-0.083[&]
2	10	-0.139*	2	10	-0.072[&]
2	20	-0.174*	2	20	0.011[&]
4	1.25	0.265[#]	4	1.25	-0.049[&]
4	2.5	0.076[&]	4	2.5	-0.057[&]
4	5	-0.122*	4	5	-0.102*
4	10	-0.080[&]	4	10	-0.034[&]
4	20	-0.118*	4	20	0.002[&]

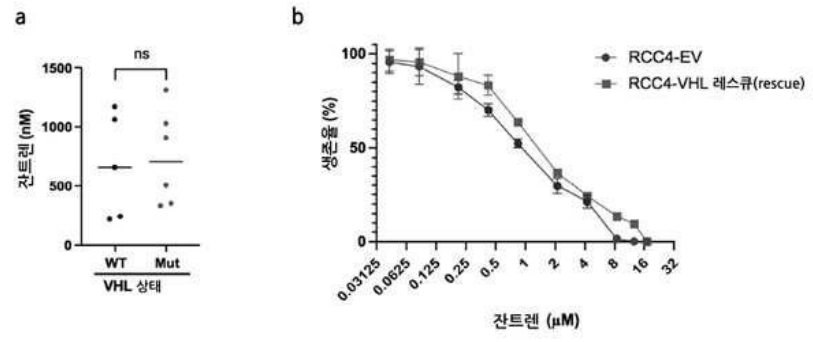
도면16



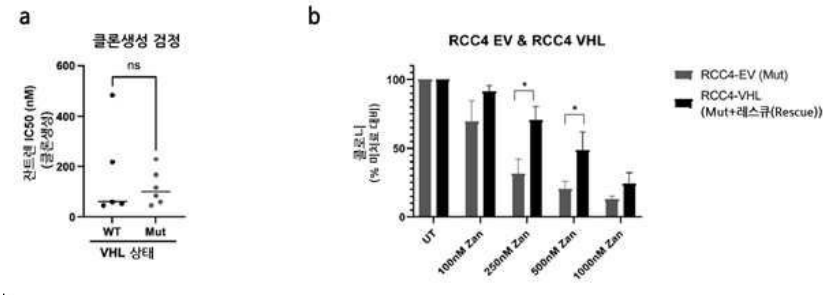
도면17



도면18



도면19


a
클론생성 검정
ns
600
400
200
0
WT
Mut
VHL 상태
b
RCC4 EV & RCC4 VHL
RCC4-EV (Mut)
RCC4-VHL
(Mut+레스큐(Rescue))
100
50
0
UT
100nM Zan
250nM Zan
500nM Zan
1000nM Zan