



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0073489  
(43) 공개일자 2021년06월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 31/407 (2006.01) A61K 31/337 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)  
A61K 45/06 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/24 (2006.01)  
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 31/407 (2013.01)  
A61K 31/337 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7037008
- (22) 출원일자(국제) 2019년07월30일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년12월22일
- (86) 국제출원번호 PCT/CN2019/098331
- (87) 국제공개번호 WO 2020/024932  
국제공개일자 2020년02월06일
- (30) 우선권주장  
201810859866.6 2018년07월31일 중국(CN)  
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인  
어센테지 파마 (쑤저우) 컴퍼니 리미티드  
중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701
- (72) 발명자  
양 다권  
중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701
- 짜이 이판  
중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
김진희, 김태홍

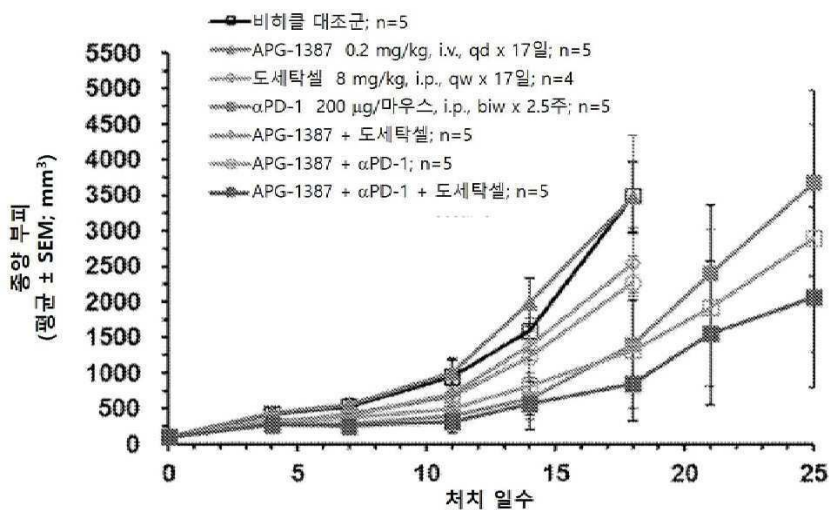
전체 청구항 수 : 총 59 항

(54) 발명의 명칭 IAP 억제제와 면역 체크포인트 분자 조절제의 병용에 의한 암 치료 방법

(57) 요약

본 발명은 바이오 의약 분야에 관한 것으로, 구체적으로 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제, 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 선택적으로 치료 유효량의 튜블린 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한, IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 선택적으로 튜블린 억제제를 포함하는 제약 조성물 또는 키트에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 39/3955* (2013.01)  
*A61K 45/06* (2013.01)  
*A61K 9/0019* (2013.01)  
*A61K 9/0053* (2013.01)  
*A61P 35/00* (2018.01)  
*C07K 16/244* (2013.01)  
*C07K 16/2818* (2013.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*A61K 2300/00* (2013.01)

(72) 발명자

**광 더글라스 동**

중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인더스트리얼  
파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701

**왕 광펑**

중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인더스트리얼  
파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701

**탕 치우치웅**

중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인더스트리얼  
파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701

**판 웬타오**

중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인더스트리얼  
파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701

**지 지아오**

중국, 장쑤 215000, 쑤저우, 쑤저우 인더스트리얼  
파크, 싱후 스트리트 218, 빌딩 비7, 유니트 701

(30) 우선권주장

PCT/CN2019/074791 2019년02월11일 중국(CN)  
PCT/CN2019/088527 2019년05월27일 중국(CN)  
201910575352.2 2019년06월28일 중국(CN)

명세서

청구범위

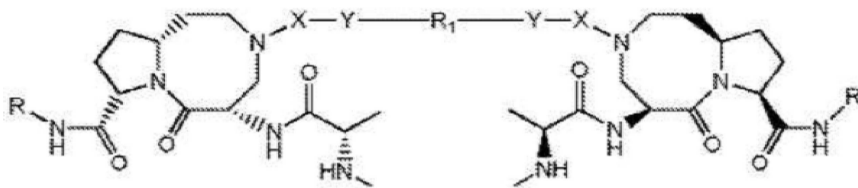
청구항 1

개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제, 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제, 및/또는 치료 유효량의 튜블린 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 이의 제약상 허용되는 염인, 방법.

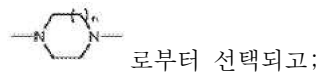
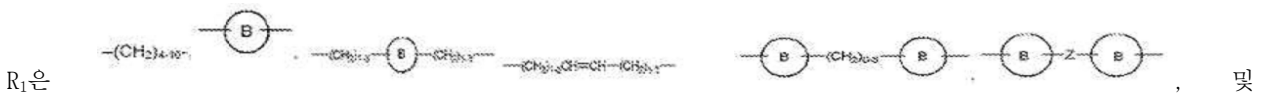
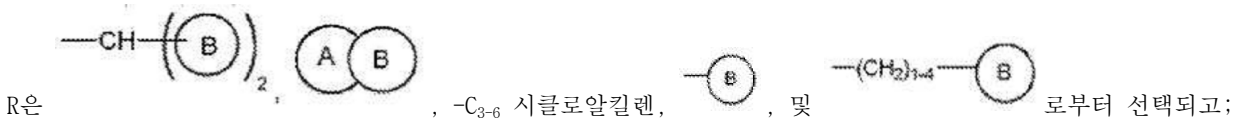
[화학식 I]



(식 중,



Y는  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ , 및 부재함으로부터 선택되고;



Z는 O, S, 또는 NH이고;

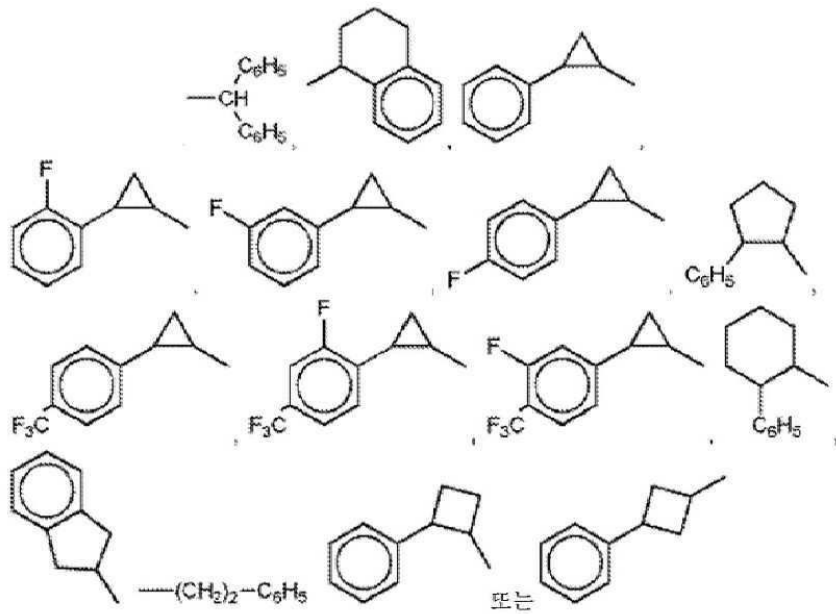
n은 0, 1, 또는 2이고;

고리 A는 C<sub>4-8</sub> 지방족 고리이고;

B 고리는 페닐, 나프틸, 피리딜, 피리다지닐, 피라지닐, 또는 피리미디닐이고, B 고리는 선택적으로 치환됨)

청구항 3

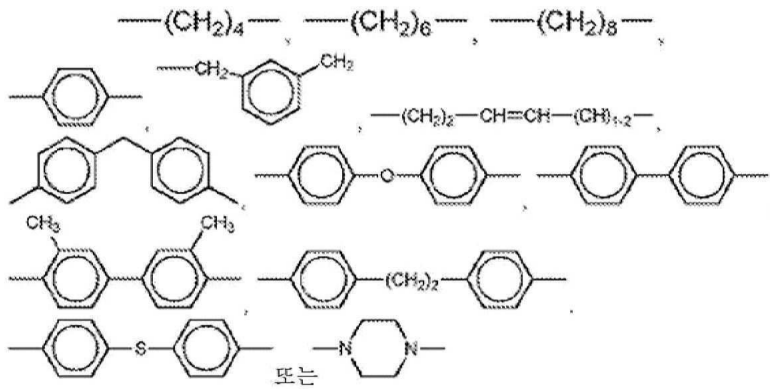
제1항 또는 제2항에 있어서, R은



인, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R<sub>1</sub>은



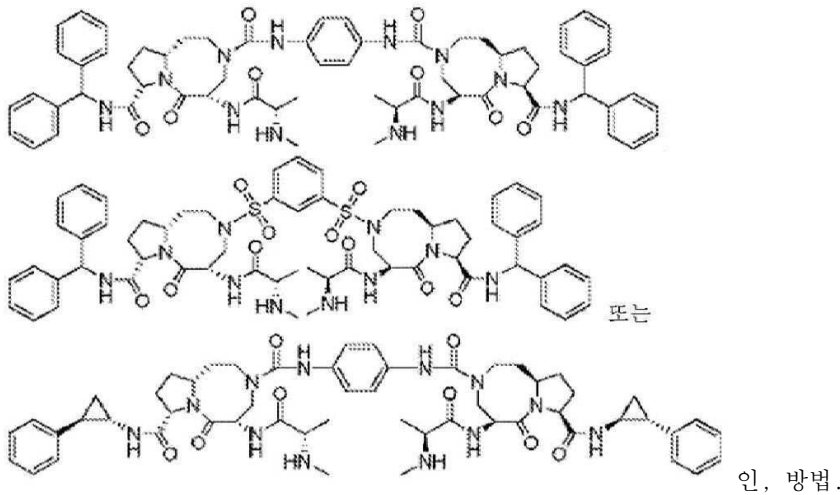
인, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, X는 SO<sub>2</sub>이고, Y는 부재하는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 I의 화합물은



**청구항 7**

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 항체, 항체 Fab 단편, 2가 항체, 항체-약물 접합체, scFv, 융합 단백질, 또는 4가 항체이고, 바람직하게, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 단클론 항체 또는 이의 항원결합 단편인, 방법.

**청구항 8**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, TIM-3, LAG3, CD160, 2B4, TGFβ, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, NKG2C, SLAMF7, NKp80, B7-H3, LFA-1, ICOS, 4-1BB, GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, 또는 CD83 리간드이고, 바람직하게, 상기 면역 체크포인트 분자는 PD-1, PD-L1, 또는 CTLA-4인, 방법.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 항종양 T세포 활성의 회복 및/또는 T세포 억제인자 세포 활성의 차단에 사용되는, 방법.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 무손상 T세포 활성화에 필요한 공동자극 신호를 변경하는 공동자극 체크포인트 분자 활성화제인, 방법.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 항PD-1 항체, 항CTLA 항체, 또는 항PD-L1 항체인, 방법.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 웹브롤리주맵, 이필리무맵, 니블루맵, 아테졸리주맵, 아벨루맵, 더발루맵, AGEN-1884, BMS-986016, CS1001, CS-1002, LAG525, MBG453, MEDI-570, OREG-103/BY40, 리릴루맵, 트레멜리무맵, JS001, SHR-1210, BGB-A317, IBI-308, REGN2810, JS003, SHR-1316, KN035, 또는 BMS-936559이고, 바람직하게, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 웹브롤리주맵인, 방법.

**청구항 13**

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 튜블린 억제제는 파클리탁셀(Taxol), 에포틸론, 도세탁셀, 디스코더몰라이드, 콜히친, 콤프레타스타틴, 2-메톡시에스트라디올, 메톡시벤젠설포아미드(E7010), 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈, 빈플루닌, 돌라스타틴, 할리콘드린, 헤미아스테를린, 및 크립토피신 52로부터 선택되는, 방법.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 튜블린 억제제는 도세탁셀 또는 파클리탁셀인, 방법.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 APG-1387이고, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 항PD-1 항체이고, 상기 튜블린 억제제는 도세탁셀 또는 파클리탁셀인, 방법.

**청구항 16**

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 초기암, 중기암, 또는 진행암이고, 바람직하게, 암은 부신피질암, 항문암, 담관암종, 방광암, 골암, 골전이암, 성인 뇌/중추 신경계 종양, 소아 뇌/중추 신경계 종양, 유방암, 남성 유방암, 소아암, 원발암 불명암, 캐슬먼병, 메르켈세포 암종, 자궁경부암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 식도암, 유잉 육종계 종양, 안암, 담낭암, 소화관암(예컨대, 위암), 위장관 기질 종양(GIST), 영양막암, 두경부암, 카포시 육종, 신장암, 신장세포암, 후두 및 하인두 암, 백혈병(예컨대, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(급성 골수성 백혈병, AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 과립구성 백혈병(CML), 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML), 또는 소아 백혈병), 간암(예컨대, 간세포 암종), 폐암(예컨대, 비소세포 폐암 또는 소세포 폐암), 림프종, 피부 림프종, 악성 중피종, 다발성 골수종, 골수이형성증후군, 비강 및 비강부비동 암, 비인두암, 신경모세포종, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 소아 비호지킨 림프종, 구강 및 구강인두 암, 골육종, 난소암, 췌장암, 음경암, 악성 뇌하수체 종양, 전립선암, 망막모세포종, 횡문근육종, 침샘암, 육종(예컨대, 성인 연조직암 또는 자궁 육종), 피부암(예컨대, 기저세포 및 편평세포 암 또는 흑색종), 소장암, 고환암, 흉선암, 갑상선암, 질암, 외음부암, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 빌름스 종양, 요로상피암, 미소부수체 불안정성 고형 종양(높은 불안정성 또는 불일치 복구 결함), 및 용모막암종으로부터 선택되고, 바람직하게, 암은 두경부암, 미소부수체 불안정성 고형 종양, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 비소세포 폐암, 신장세포암, 방광암, 흑색종, 편평세포 암종, 메르켈세포 종양, 요로상피암, 또는 대장암인, 방법.

**청구항 17**

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 약 0.005 mg/일 내지 약 5000 mg/일, 예컨대 약 0.005, 0.05, 0.5, 5, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 또는 5000 mg/일의 양으로 투여되는, 방법.

**청구항 18**

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 단위 용량당 약 1 ng/kg 내지 약 200 mg/kg, 약 1 µg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 양으로, 예컨대 단위 용량당 약 1 µg/kg, 약 10 µg/kg, 약 25 µg/kg, 약 50 µg/kg, 약 75 µg/kg, 약 100 µg/kg, 약 125 µg/kg, 약 150 µg/kg, 약 175 µg/kg, 약 200 µg/kg, 약 225 µg/kg, 약 250 µg/kg, 약 275 µg/kg, 약 300 µg/kg, 약 325 µg/kg, 약 350 µg/kg, 약 375 µg/kg, 약 400 µg/kg, 약 425 µg/kg, 약 450 µg/kg, 약 475 µg/kg, 약 500 µg/kg, 약 525 µg/kg, 약 550 µg/kg, 약 575 µg/kg, 약 600 µg/kg, 약 625 µg/kg, 약 650 µg/kg, 약 675 µg/kg, 약 700 µg/kg, 약 725 µg/kg, 약 750 µg/kg, 약 775 µg/kg, 약 800 µg/kg, 약 825 µg/kg, 약 850 µg/kg, 약 875 µg/kg, 약 900 µg/kg, 약 925 µg/kg, 약 950 µg/kg, 약 975 µg/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 3.5 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 4.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 60 mg/kg, 약 70 mg/kg, 약 80 mg/kg, 약 90 mg/kg, 약 100 mg/kg, 약 125 mg/kg, 약 150 mg/kg, 약 175 mg/kg, 및 약 200 mg/kg의 양으로 투여되고, 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10회)의 단위 용량이 매일 투여되는, 방법.

**청구항 19**

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제 또는 상기 튜블린 억제제는 약 0.005 mg/주 내지 약 5000 mg/주, 예컨대 약 0.005, 0.05, 0.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 또는 5000 mg/주의 양으로 투여되는, 방법.

**청구항 20**

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제 또는 상기 튜블린 억제제는 단위 용량당 약 1 ng/kg 내지 약 200 mg/kg, 약 1 µg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 양으로, 예컨대 단위 용량당 약 1 µg/kg, 약 10 µg/kg, 약 25 µg/kg, 약 50 µg/kg, 약 75 µg/kg, 약 100 µg/kg, 약 125 µg/kg, 약 150 µg/kg, 약 175 µg/kg, 약 200 µg/kg, 약 225 µg/kg, 약 250 µg/kg, 약 275 µg/kg, 약 300 µg/kg, 약 325 µg/kg, 약 350 µg/kg, 약 375 µg/kg, 약 400 µg/kg, 약 425 µg/kg, 약 450 µg/kg, 약 475 µg/kg, 약 500 µg/kg, 약 525 µg/kg, 약 550 µg/kg, 약 575 µg/kg, 약 600 µg/kg, 약 625 µg/kg, 약 650 µg/kg, 약 675 µg/kg, 약 700 µg/kg, 약 725 µg/kg, 약 750 µg/kg, 약 775 µg/kg, 약 800 µg/kg, 약 825 µg/kg, 약 850 µg/kg, 약 875 µg/kg, 약 900 µg/kg, 약 925 µg/kg, 약 950 µg/kg, 약 975 µg/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 3.5 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 4.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 60 mg/kg, 약 70 mg/kg, 약 80 mg/kg, 약 90 mg/kg, 약 100 mg/kg, 약 125 mg/kg, 약 150 mg/kg, 약 175 mg/kg, 및 약 200 mg/kg의 양으로 투여되고, 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 또는 20회)의 단위 용량이 매주 투여되는, 방법.

**청구항 21**

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 상기 튜블린 억제제는 함께, 동시에, 순차적으로, 또는 교번으로 투여되는, 방법.

**청구항 22**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제, 또는 상기 튜블린 억제제는 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 8일, 적어도 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일, 적어도 15일, 적어도 16일, 적어도 17일, 적어도 18일, 적어도 19일, 적어도 20일, 적어도 21일, 적어도 22일, 적어도 23일, 적어도 24일, 적어도 25일, 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도 40일, 적어도 45일, 또는 적어도 50일 동안 지속적으로 투여되는, 방법.

**청구항 23**

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제, 또는 상기 튜블린 억제제는 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 치료 과정 동안 투여되고, 각각의 치료 과정은 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 8일, 적어도 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일, 적어도 15일, 적어도 16일, 적어도 17일, 적어도 18일, 적어도 19일, 적어도 20일, 적어도 21일, 적어도 22일, 적어도 23일, 적어도 24일, 적어도 25일, 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도 40일, 적어도 45일, 또는 적어도 50일 동안 지속되고; 각각의 치료 과정에 대해, 투여는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10회 수행되고; 모든 두 치료 과정 사이의 간격은 0일, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 2주, 3주, 4주, 1개월, 또는 2개월인, 방법.

**청구항 24**

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제, 상기 면역 체크포인트 분자 조절제, 또는 상기 튜블린 억제제는 경구 투여, 정맥내 주사, 또는 피하 주사를 포함하여 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 25**

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 암 치료에서 상기 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 상기 튜블린 억제제의 효능을 향상시키고/시키거나, 암 치료에서 상기 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 상기 튜블린 억제제의 부작용을 감소시키는, 방법.

**청구항 26**

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 진행암을 앓고 있는, 방법.

**청구항 27**

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 난치암, 재발암, 또는 내성암, 특히 상기 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 상기 튜블린 억제제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있는, 방법.

**청구항 28**

IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 튜블린 억제제, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물로서,

상기 IAP 억제제는 바람직하게 제2항 내지 제6항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같고;

상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 바람직하게 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같고;

상기 튜블린 억제제는 바람직하게 제13항 또는 제14항에 정의된 바와 같은, 제약 조성물.

**청구항 29**

(a) 제1 용기 내의, IAP 억제제(바람직하게는 제2항 내지 제6항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 성분;

(b) 제2 용기 내의, 면역 체크포인트 분자 조절제(바람직하게는 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 성분;

(c) 제3 용기 내의, 튜블린 억제제(바람직하게는 제13항 또는 제14항에 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제3 성분; 및

(d) 선택적으로 설명서

를 포함하는 키트.

**청구항 30**

개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제(바람직하게는 제2항 내지 제6항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 및 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제(바람직하게는 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음)를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 31**

제30항에 있어서, 암은 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양이고, 바람직하게, 암은 전이성 췌장암, 대장암, 난소암, 림프종, 또는 간암(예컨대, 간세포 암종)인, 방법.

**청구항 32**

IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물로서,

상기 IAP 억제제는 바람직하게 제2항 내지 제6항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같고;

상기 면역 체크포인트 분자 조절제는 바람직하게 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은, 제약 조성물.

**청구항 33**

(a) 제1 용기 내의, IAP 억제제(바람직하게는 제2항 내지 제6항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 성분;

(b) 제2 용기 내의, 면역 체크포인트 분자 조절제(바람직하게는 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 성분; 및

(c) 선택적으로 설명서

를 포함하는 키트.



**청구항 34**

암 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 IAP 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법으로서, 적어도 1회의 21일 치료 주기를 포함하고, IAP 억제제가 치료 주기의 연속 3주의 1일차, 8일차, 및 15일차에 투여되는, 방법.

**청구항 35**

제34항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 APG-1387인, 방법.

**청구항 36**

제35항에 있어서, APG-1387은 정맥내 주입을 통해 투여되는, 방법.

**청구항 37**

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 유효량은 약 15 mg 내지 약 100 mg, 또는 20 내지 45 mg, 또는 20 mg 내지 60 mg의 IAP 억제제인, 방법.

**청구항 38**

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 유효량은 20 mg인, 방법.

**청구항 39**

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 유효량은 30 mg인, 방법.

**청구항 40**

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 유효량은 45 mg인, 방법.

**청구항 41**

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 유효량은 60 mg인, 방법.

**청구항 42**

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 유효량은 80 mg인, 방법.

**청구항 43**

제34항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양이고, 바람직하게, 암은 전이성 췌장암, 대장암, 난소암, 림프종, 또는 간암(예컨대, 간세포 암종)인, 방법.

**청구항 44**

제34항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 하나 이상의 전신 항암제와 함께 투여되는, 방법.

**청구항 45**

제44항에 있어서, 상기 전신 항암제는 항PD-1 항체(예컨대, 펌브롤리주맙), 튜블린 억제제(예컨대, 파클리탁셀, 도세탁셀), 및 카보플라틴으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 46**

제45항에 있어서, 펌브롤리주맙, 파클리탁셀, 및 카보플라틴은 독립적으로 정맥내 투여되는, 방법.

**청구항 47**

제44항에 있어서, APG-1387은 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위해 펌브롤리주맙과 함께 투여되는, 방법.

**청구항 48**

제44항에 있어서, APG-1387은 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위해 펩브롤리주맙 및 도세탁셀과 함께 투여되는, 방법.

**청구항 49**

제47항 또는 제48항에 있어서, 진행성 고형 종양은 진행성 난소암, 췌장암, 대장암, 또는 간암(예컨대, 간세포암종)이고, 진행성 혈액 악성종양은 림프종인, 방법.

**청구항 50**

제44항에 있어서, APG-1387은 진행성 고형 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위해 파클리탁셀 및 카보플라틴과 함께 투여되는, 방법.

**청구항 51**

제44항에 있어서, APG-1387은 진행성 난소암, 췌장암, 대장암, 또는 간암(예컨대, 간세포암종)을 치료하기 위해 파클리탁셀 및 카보플라틴과 함께 투여되는, 방법.

**청구항 52**

개체의 항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하는 방법으로서, 개체의 항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하기 위해 치료 유효량의 IAP 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 53**

제52항에 있어서, 상기 IAP 억제제는 APG-1387인, 방법.

**청구항 54**

제52항 또는 제53항에 있어서, 상기 항원은 종양 항원인, 방법.

**청구항 55**

제52항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 특이적 면역 반응은 이펙터 기억 세포의 비율을 증가시키는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 56**

제55항에 있어서, 상기 이펙터 기억 세포는 이펙터 기억 CD4+ T세포 및/또는 이펙터 기억 CD8+ T세포를 포함하는, 방법.

**청구항 57**

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 특이적 면역 반응은 항원에 의해 자극된 NK세포의 비율을 증가시키는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 58**

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 특이적 면역 반응은 항원제시 세포에서 MHC-II의 발현을 증가시키는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 59**

제52항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 특이적 면역 반응의 활성화 또는 개선은 IL-12에 의존적인, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 바이오 의학 분야에 관한 것으로, 구체적으로 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제, 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 선택적으로 치료 유효량의 튜블린 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한, IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 선택적으로 튜블린 억제제를 포함하는 제약 조성물 또는 키트에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 항자가사멸 단백질(IAP)은 시스테인 프로테아제(카스파제) 및 자가사멸을 음성적으로 조절할 수 있는 단백질이다. IAP 단백질의 발현은 많은 암에서 증가하며, 많은 항암제에 대한 내성의 일반적인 원인인 것으로 간주된다. 세포 IAP-1(cIAP-1) 및 IAP-2(cIAP-2) 유전자(각각 BIRC2 및 BIRC3)의 DNA 증폭은 폐암, 췌장암, 및 간암을 비롯한 다양한 인간 암에서 발견되었다. IAP 단백질의 조절장애 또한, 다양한 암세포주 및 종양 샘플의 단백질 수준에서 자주 관찰된다. IAP는 종양세포 생존을 촉진하며, 약물 내성, 질환 진행, 및 불량한 예후와 밀접한 관련이 있다. 또한, IAP는 면역 조절에도 중요한 역할을 한다. 예를 들어, IAP는 유비퀴틴(Ub) 의존 경로를 통해 핵 전사인자  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)를 활성화하여 선천성 면역 신호를 조절한다. 자가사멸 및 면역 반응에서의 IAP 단백질의 현저한 생물학적 기능으로 인해, IAP는 많은 악성 종양의 약물 표적이 되어 왔다.

[0003] 현재, 여러 IAP 억제제(예컨대, LCL161 및 비리나판트)가 개발되었으며, 그중 APG-1387은 XIAP, cIAP1, 및 cIAP2를 동시에 표적화할 수 있는 신규 IAP 억제제이다. 다양한 암세포 및 이종이식 종양에서, APG-1387은 cIAP-1 및 XIAP 단백질의 분해뿐만 아니라 카스파제-3 활성화 및 PARP 전단을 유도하여, 자가사멸을 유도한다.

**발명의 내용**

[0004] 일 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제 및 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0005] 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.

[0006] 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 IAP 억제제를 제공한다.

[0007] 다른 양태에서, 본 발명은 IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0008] 다른 양태에서, 본 발명은

[0009] (a) 제1 용기 내의, IAP 억제제 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 성분;

[0010] (b) 제2 용기 내의, 면역 체크포인트 분자 조절제 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 성분; 및

[0011] (c) 선택적으로 설명서

[0012] 를 포함하는 키트를 제공한다.

[0013] 일 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제, 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 치료 유효량의 튜블린 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0014] 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체크포인트 분자 조절제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.

[0015] 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체크포인트 분자 조절제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 IAP 억제제를 제공한다.

[0016] 다른 양태에서, 본 발명은 IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 튜블린 억제제, 및 제약상 허용되는 담체

를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0017] 다른 양태에서, 본 발명은

[0018] (a) 제1 용기 내의, IAP 억제제 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 성분;

[0019] (b) 제2 용기 내의, 면역 체크포인트 분자 조절제 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 성분;

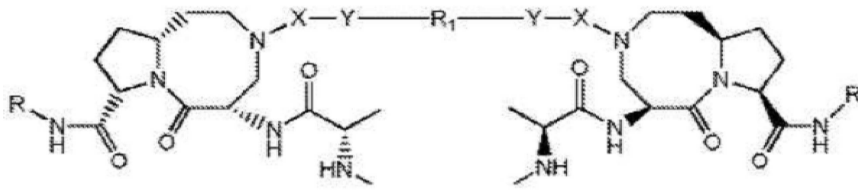
[0020] (c) 제3 용기 내의, 튜불린 억제제 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제3 성분; 및

[0021] (d) 선택적으로 설명서

[0022] 를 포함하는 키트를 제공한다.

[0023] 본 발명의 특정 구현예에서, IAP 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 이의 제약상 허용되는 염이며,

[0024] [화학식 I]



[0025] 식 중,

[0026] X는  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{C}=\text{S}$ ,  $\text{C}=\text{NH}$ , 및  $-\text{SO}_2-$ 로부터 선택되고;

[0027] Y는  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ , 및 부재함으로부터 선택되고;

[0028] R은  $-\text{CH}(\text{B})_2$ ,  $\text{A}-\text{B}$ ,  $-\text{C}_{3-6}$  시클로알킬렌,  $\text{B}$ , 및  $-(\text{CH}_2)_{1-4}-\text{B}$ 로부터 선택되고;

[0029] R<sub>1</sub>은  $-(\text{CH}_2)_{4-10}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_3-\text{B}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_3-$ ,  $-(\text{CH}_2)_2\text{C}=\text{CH}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_1-$ ,  $\text{B}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_{3-5}-\text{B}-$ ,  $\text{B}-\text{Z}-\text{B}$ , 및

[0030]  $\text{N}(\text{B})_n$ 로부터 선택되고;

[0031] Z는 O, S, 또는 NH이고;

[0032] n은 0, 1, 또는 2이고;

[0033] 고리 A는 C<sub>4-8</sub> 지방족 고리이고;

[0034] B 고리는 페닐, 나프틸, 피리딜, 피리다지닐, 피라지닐, 또는 피리미디닐이고, B 고리는 선택적으로 치환된다.



이의 항원결합 단편이다.

- [0043] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, TIM-3, LAG3, CD160, 2B4, TGFβ, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, NKG2C, SLAMF7, NKp80, B7-H3, LFA-1, ICOS, 4-1BB, GITR, CD30, CD40, BAFRR, HVEM, CD7, LIGHT, 또는 CD83 리간드이고, 바람직하게, 면역 체크포인트 분자는 PD-1, PD-L1, 또는 CTLA-4이다.
- [0044] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 항종양 T세포 활성의 회복 및/또는 T세포 억제인자 세포 활성의 차단에 사용된다.
- [0045] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 무손상 T세포 활성화에 필요한 공동자극 신호를 변경하는 공동자극 체크포인트 분자 활성화제이다.
- [0046] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 항PD-1 항체, 항CTLA-4 항체, 또는 항PD-L1 항체이다.
- [0047] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 웹브롤리주맙, 이필리무맙, 니볼루맙, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 더발루맙, AGEN-1884, BMS-986016, CS1001(전문이 본원에 참조로 포함되는 WO2017020858A1), CS-1002, LAG525, MBG453, MEDI-570, OREG-103/BY40, 리릴루맙, 트레멜리루맙, JS001, SHR-1210, BGB-A317, IBI-308, REGN2810, JS003, SHR-1316, KN035, 또는 BMS-936559이고, 바람직하게, 면역 체크포인트 분자 조절제는 웹브롤리주맙이다.
- [0048] 특정 구현예에서, 튜블린 억제제는 파클리탁셀(Taxol), 에포틸론, 도세탁셀, 디스코더몰라이드, 콜히친, 콤프레타스타틴, 2-메톡시에스트라디올, 메톡시벤젠설펜아미드(E7010), 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈, 빈플루린, 돌라스타틴, 할리콘드린, 헤미아스테를린, 및 크립토피신 52로부터 선택된다.
- [0049] 특정 구현예에서, 튜블린 억제제는 도세탁셀 또는 파클리탁셀이다.
- [0050] 상기 일부 구현예에서, IAP 억제제는 APG-1387이고, 면역 체크포인트 분자 조절제는 항PD-1 항체이고, 튜블린 억제제는 도세탁셀 또는 파클리탁셀이다.
- [0051] 특정 구현예에서, IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 튜블린 억제제는 함께, 동시에, 순차적으로, 또는 교번으로 투여된다.
- [0052] 특정 구현예에서, IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 또는 튜블린 억제제는 경구 투여, 정맥내 주사, 또는 피하 주사를 포함하여 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해 투여된다.
- [0053] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 암 치료에서 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제의 효능을 향상시키고/시키거나, 암 치료에서 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제의 부작용을 감소시킨다.
- [0054] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하는 효과가 있다.
- [0055] 일부 구현예에서, 본 발명은 암 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 IAP 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법으로서, 적어도 1회의 21일 치료 주기를 포함하고, IAP 억제제가 치료 주기의 연속 3주의 1일차, 8일차, 및 15일차에 투여되는, 방법을 제공한다.
- [0056] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 APG-1387이다.
- [0057] 특정 구현예에서, APG-1387은 정맥내 주입을 통해 투여된다.
- [0058] 특정 구현예에서, IAP 억제제의 치료 유효량은 약 15 mg 내지 약 100 mg, 또는 20 mg 내지 45 mg, 또는 20 mg 내지 60 mg이다. 일부 구현예에서, 치료 유효량은 20 mg, 30 mg, 45 mg, 60 mg, 및 80 mg이다.
- [0059] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 하나 이상의 전신 항암제와 함께 투여된다.
- [0060] 특정 구현예에서, 전신 항암제는 항PD-1 항체(예컨대, 웹브롤리주맙), 튜블린 억제제(예컨대, 파클리탁셀 및 도세탁셀), 또는 카보플라틴으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 웹브롤리주맙, 파클리탁셀, 및 도세탁셀은 독립적으로 정맥내 투여된다.
- [0061] 특정 구현예에서, 암은 초기암, 중기암, 또는 진행암이다. 바람직하게, 암은 부신피질암, 항문암, 담관암종, 방광암, 골암, 골전이암, 성인 뇌/중추 신경계 종양, 소아 뇌/중추 신경계 종양, 유방암, 남성 유방암, 소아암, 원발암 불명암, 캐슬맹핵, 메르켈세포 암종, 자궁경부암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 식도암, 유잉 육종계 종양, 안암, 담낭암, 소화관암(예컨대, 위암), 위장관 기질 종양(GIST), 영양막암, 두경부암, 카포시 육종, 신장

암, 신장세포암, 후두 및 하인두 암, 백혈병(예컨대, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(급성 골수성 백혈병, AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 과립구성 백혈병(CML), 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML), 또는 소아 백혈병), 간암(예컨대, 간세포 암종), 폐암(예컨대, 비소세포 폐암 또는 소세포 폐암), 림프종, 피부 림프종, 악성 증피종, 다발성 골수종, 골수이형성증후군, 비강 및 비강부비동 암, 비인두암, 신경모세포종, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 소아 비호지킨 림프종, 구강 및 구강인두 암, 골육종, 난소암, 췌장암, 음경암, 악성 뇌하수체 종양, 전립선암, 망막모세포종, 횡문근육종, 침샘암, 육종(예컨대, 성인 연조직암 또는 자궁 육종), 피부암(예컨대, 기저세포 및 편평세포 암 또는 흑색종), 소장암, 고환암, 흉선암, 갑상선암, 질암, 외음부암, 발텐스트롬 마크로글로불린혈증, 빌름스 종양, 요로상피암, 미소부수체 불안정성 고형 종양(높은 불안정성 또는 불일치 복구 결함), 및 용모막암종으로부터 선택되고, 바람직하게, 암은 두경부암, 미소부수체 불안정성 고형 종양, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 비소세포 폐암, 신장세포암, 방광암, 흑색종, 편평세포 암종, 메르켈세포 종양, 요로상피암, 또는 대장암이다.

- [0062] 상기 모든 구현예에서, 암은 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양이고, 바람직하게, 암은 전이성 췌장암, 대장암, 난소암, 림프종, 또는 간암(예컨대, 간세포 암종)이다.
- [0063] 상기 모든 구현예에서, 개체는 진행암을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 개체는 난치암, 재발암, 또는 내성암, 특히 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있다.
- [0064] 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하는 방법으로서, 개체의 항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하기 위해 치료 유효량의 IAP 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0065] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 APG-1387이다.
- [0066] 특정 구현예에서, 항원은 종양 항원이다.
- [0067] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응은 이펙터 기억 세포의 비율을 증가시키는 것을 포함한다.
- [0068] 일부 구현예에서, 이펙터 기억 세포는 이펙터 기억 CD4+ T세포 및/또는 이펙터 기억 CD8+ T세포를 포함한다.
- [0069] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응은 항원에 의해 자극된 NK세포의 비율을 증가시키는 것을 포함한다.
- [0070] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응은 항원제시 세포에서 MHC-II의 발현을 증가시키는 것을 포함한다.
- [0071] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응의 활성화 또는 개선은 IL-12에 의존적이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0072] **도 1.** CT26 마우스 대장암 모델에서의 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 APG-1387에 의한 병용요법의 시너지적 항종양 효과.
- 도 2.** 투여 후 18일째(A) 및 투여 후 25일째(B)의 각각의 군의 각각의 마우스에 대한 종양 성장 곡선 및 각각의 군에 대한 종양 반응률.
- 도 3.** MC38 상동성 마우스 결장암 모델에서의 항PD-1 항체와 APG-1387에 의한 병용요법의 시너지적 항종양 효과.
- 도 4.** MC38 상동성 마우스 결장암 모델에서의 항PD-1 항체와 APG-1387에 의한 병용요법의 마우스 생존율 향상 효과.
- 도 5.** APG-1387은 CD4+ 및 CD8+ T세포의 증식을 촉진함.
- 도 6.** 췌장암 치료 기간 및 반응.
- 도 7.** 췌장암 표적 병변에서의 기준선으로부터의 최상의 백분율 변화.
- 도 8.** 혈장에서의 APG-1387 약동학.
- 도 9.** APG-1387 처치 후의 XIAP 억제.
- 도 10.** APG-1387 처치 후 혈청 사이토카인 수치 변화. 기준선 및 제1 치료 주기의 16일차(APG-1387 처치 24시간 후) 환자로부터 수집된 혈청의 사이토카인 수치의 열지도(각각의 개별 환자에 대한 기준선에 대해 정규화된

것으로 표시됨).

**도 11.** APG-1387과 항PD-1 항체의 병용은 쥐과 MC38 피하 종양 이종이식편을 지닌 마우스에서 종양 성장을 유의하게 억제하였고(도 11의 A, B), 마우스의 생존을 유의하게 연장하였음(도 11의 C, D).

**도 12.** 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387은 쥐과 ID8-Luc 동소 종양 이종이식편을 지닌 마우스에서 종양 성장을 유의하게 억제하였고(도 12의 A, B), 마우스의 생존을 유의하게 연장하였음(도 12의 C, D).

**도 13.** 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 병용한 APG-1387은 쥐과 A20 피하 종양 이종이식편을 지닌 마우스에서 종양 성장을 유의하게 억제하였고(도 13의 A, B), 내약성이 양호하였음(도 13의 C).

**도 14.** MC38 모델에서, 단일제제로서의 APG-1387은 비장에서의 이펙터 기억 CD4+ T세포 및 CD8+ T세포의 비율을 유의하게 상향조절하였고(도 14의 A), 종양 조직에서의 NK세포의 비율을 유의하게 상향조절하였음(도 14의 B).

**도 15.** 복수(ascites) 샘플에서, APG-1387은 NK세포의 비율을 유의하게 상향조절하였고(도 15의 A), 항PD-1 항체와 이의 병용은 이펙터 기억 CD8+ T세포의 비율을 유의하게 상향조절하였음(도 15의 B).

**도 16.** APG-1387은 PLC/PRF/5 마우스 모델에서 종양 침윤 CD45+ 및 NK 세포의 비율을 유의하게 증가시켰음.

**도 17.** APG-1387은 비장에서의 면역세포 비율에 영향을 미치지 않았고(도 17의 A), 생체내 C57 마우스의 비장세포에서 MHC-II 발현을 유의하게 증가시켰음(도 17의 B).

**도 18.** 쥐과 MC38 피하 종양 이종이식편을 지닌 마우스에서 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과는 IL-12에 의존적임.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0073] 이하 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는 것이다. 본원에 사용된 기술에 대한 언급은 기술의 변형 또는 동등한 기술의 대체로서 당업자에게 명백한 것들을 포함하여 당업계에서 일반적으로 이해되는 기술을 지칭하고자 하는 것이다. 다음의 용어는 당업자가 잘 이해하는 것으로 여겨지지만, 본 발명을 더 잘 설명하기 위해 다음의 정의가 제시된다.

[0074] 본원에 사용된 용어 "포함하는", "갖는", "함유하는", 또는 "수반하는" 및 기타 이들의 변형어는 본원에서 포괄적이거나 개방적이며, 목록에 없는 다른 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다.

[0075] 본원에 사용된 용어 "항자가사멸 단백질(IAP)"은, 주로 카스파제 활성을 억제하고 핵인자 NF-κB의 작용을 매개함으로써 자가사멸을 억제하는 매우 보존적인 내인성 항자가사멸 인자의 계열이다.

[0076] 본원에 사용된 용어 "C<sub>4-8</sub> 지방족 고리"는, 치환되지 않거나 1 내지 3개의 기(예를 들어, C<sub>1-4</sub> 알킬, 할로젠, 트리플루오로메틸, 트리플루오로메톡시, 하이드록실, 알콕시, 니트로, 시아노, 알킬아미노, 또는 아미노)로 치환된 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 및 시클로옥틸을 의미한다.

[0077] 본원에 사용된 용어 "알킬"은 선형 및 분지형 포화 C<sub>1-10</sub> 탄화수소기를 의미하며, 이들의 비제한적인 예는 메틸, 에틸, 및 선형 및 분지형 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 및 데실을 포함한다.

[0078] 용어 "C<sub>3-6</sub> 시클로알킬렌"은 3 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 이치환 시클로알칸, 예를 들어,



을 의미한다. "C<sub>3-6</sub> 시클로알킬렌"은 치환되지 않거나, 1 내지 3개의 기, 예컨대 C<sub>1-4</sub> 알킬, 할로젠, 트리플루오로메틸, 트리플루오로메톡시, 하이드록실, 알콕시, 니트로, 시아노, 알킬아미노, 또는 아미노로 치환될 수 있다.

[0079] 본원에 사용된 용어 "할로젠"은 불소, 염소, 브롬, 및 요오드로 정의된다.

[0080] 본원에 사용된 용어 "하이드록실"은 -OH로 정의된다.

[0081] 본원에 사용된 용어 "알콕시"는 R이 알킬인 -OR로 정의된다.

[0082] 본원에 사용된 용어 "아미노"는 -NH<sub>2</sub>로 정의되고, 용어 "알킬아미노"는 적어도 하나의 R이 알킬이고 제2의 R이



알킬 또는 수소인  $-NR_2$ 로 정의된다.

- [0083] 본원에 사용된 용어 "니트로"는  $-NO_2$ 로 정의된다.
- [0084] 본원에 사용된 용어 "시아노"는  $-CN$ 으로 정의된다.
- [0085] 본원에 사용된 용어 "트리플루오로메틸"은  $-CF_3$ 로 정의된다.
- [0086] 본원에 사용된 용어 "트리플루오로메톡시"는  $-OCF_3$ 로 정의된다.
- [0087] 본원에 사용된 용어 "선택적으로 치환된"은, 예를 들어 할로젠, 알킬, 알케닐,  $-OCF_3$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-NC$ ,  $-OH$ , 알콕시, 아미노, 알킬아미노,  $-CO_2H$ ,  $-CO_2$ 알킬, 알키닐, 시클로알킬, 니트로, 설프하이드릴, 이미노, 아미도, 포스포네이트, 포스포네이트, 실릴, 알킬티오, 설프닐, 설프나마이드, 알데히드, 헤테로시클로알킬, 트리플루오로메틸, 아릴, 및 헤테로아릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상, 특히 1 내지 4개의 기로 선택적으로 치환됨을 의미한다.
- [0088] 본원에 사용된 용어 "아릴"은 단환 또는 다환 방향족기, 바람직하게는 단환 또는 이환 방향족기, 예컨대 페닐 또는 나프틸을 의미한다.
- [0089] 본원에 사용된 용어 "헤테로아릴"은, 1개 또는 2개의 방향족 고리를 함유하고 하나의 방향족 고리에 1개 이상 4개 이하의 질소 원자를 함유하는 단환 또는 이환 고리 시스템을 의미한다.
- [0090] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 염"은 화합물의 산 부가염 및 염기 부가염을 모두 포함한다.
- [0091] 적합한 산 부가염은 비독성 염을 형성하는 산으로부터 형성된다. 예로는 아세테이트, 아디페이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 베실레이트, 바이카보네이트/카보네이트, 바이설페이트/설페이트, 보레이트, 캄포설프토네이트, 시트레이트, 시클라메이트, 에탄디설프토네이트, 에탄설프토네이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글루코헵토네이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 헥사플루오로포스페이트, 히벤제이트, 하이드로클로라이드/클로라이드, 하이드로브로마이드/브로마이드, 하이드로요오다이드/요오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메실레이트, 메틸 설페이트, 나프틸레이트, 2-나프탈렌설프토네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 오로테이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/하이드로젠 포스페이트/디하이드로젠 포스페이트, 피로글루타메이트, 사카레이트, 스테아레이트, 석시네이트, 탄네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 트리플루오로아세테이트, 및 시노포에이트가 포함된다.
- [0092] 적합한 염기 부가염은 비독성 염을 형성하는 염기로부터 형성된다. 예로는 알루미늄염, 벤자틴 페니실린염, 칼슘염, 콜린염, 디에틸아민염, 디에탄올아민염, 글리신염, 리신염, 마그네슘염, 메글루민염, 에탄올아민염, 칼륨염, 나트륨염, 트로메타민염, 및 아연염이 포함된다.
- [0093] 적합한 염에 대한 개요는 문헌[Stahl and Wermuth, "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" (Wiley-VCH, 2002)] 참조. 본 발명의 화합물의 제약상 허용되는 염을 제조하는 방법은 당업자에게 알려져 있다.
- [0094] 본원에 사용된 용어 "면역 체크포인트"는, 말초 조직에서 면역 반응의 지속성과 강도를 조절하여 손상으로부터 조직을 보호하고 자가항원에 대한 내성 유지에 참여하는 면역계에 존재하는 일부 억제 신호전달 경로를 의미한다.
- [0095] 본 명세서에서 용어 "항체-약물 접합체"는 약물을 항체에 연결하여 얻어지는 물질을 의미한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 약물은 링커를 통해 항체에 연결된다. 링커는 특정 환경(예를 들어, 세포내 낮은 pH 환경)에서 또는 특정 작용(예를 들어, 리소좀 프로테아제의 작용)하에서, 약물과 항체가 분리되도록 절단될 수 있다. 본 발명의 일부 구현예에서, 링커는 절단 가능 또는 절단 불가능 단위, 예컨대 펩티드 또는 이황화 결합을 포함한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 약물은 공유 결합에 의해 항체에 직접 연결되며, 공유 결합은 특정 환경에서 또는 특정 작용하에서, 약물과 항체가 분리되도록 절단될 수 있다.
- [0096] 본 명세서에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 해석되며, 원하는 생물학적 활성을 갖는 한, 무손상 단클론 항체, 다클론 항체, 및 2개 이상의 무손상 항체로부터 형성된 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체)를 포함한다. "항체"와 "면역글로불린"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0097] 본 명세서에서, 용어 "단클론 항체"는 실질적으로 동종인 항체들의 군으로부터 유래된 항체를 의미한다(즉, 존

제할 수 있는 소수의 자연 돌연변이를 제외하고는, 균을 구성하는 항체들이 동일함). 단클론 항체는 항원의 하나의 결정기(에피토프)에 대해 높은 특이성을 갖는 반면, 다클론 항체는 서로 다른 결정기(에피토프)에 대해 서로 다른 항체를 함유한다. 특이성 외에도, 단클론 항체는 합성 중에 다른 항체에 의한 오염이 없다는 이점이 있다. 여기서 수식어 "단클론"은 항체가 실질적으로 동질인 항체의 균으로부터 유도되는 것을 특징으로 함을 의미하며, 특별한 제조 방법을 필요로 하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

- [0098] 본 발명의 일부 구현예에서, 단클론 항체는 추가로 특별히 키메라 항체를 포함한다. 즉, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 유형, 특정 클래스, 또는 특정 하위클래스의 항체와 동일하거나 상동성이고, 나머지는 원하는 생물학적 활성을 갖는 한, 다른 유형, 다른 클래스, 또는 다른 하위클래스의 항체와 동일하거나 상동성이다 (예를 들어, US 4,816,567; 및 문헌[Morrison et al., 1984, PNAS, 81: 6851-6855] 참조). 본 발명에 유용한 키메라 항체는 비인간 영장류(예를 들어, 구세계 원숭이 또는 오랑우탄 등)의 가변 영역 항원 결합 서열 및 인간의 불변 영역 서열을 포함하는 영장류화 항체를 포함한다.
- [0099] 용어 "항체 단편"은 항체의 일부, 바람직하게는 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 의미한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, dAb, 및 상보성 결정 영역 단편; 2가 항체(디아바디); 선형 항체; 및 단일쇄 항체 분자를 포함한다.
- [0100] 용어 "이중특이적 항체"는 "이중기능적 항체 집합체"와 상호교환적으로 사용되며, 집합 아암을 통해 제1 항체 (단편) 및 제2 항체(단편)에 의해 형성된 집합체를 의미한다. 집합체는 각각의 항체의 활성을 유지하므로 이중 기능적이고 이중특이적이다.
- [0101] 용어 "다중특이적 항체"는, 예를 들어 삼중특이적 항체 및 사중특이적 항체를 포함하며, 전자는 3개의 다른 항원 결합 특이성을 갖는 항체이고, 후자는 4개의 다른 항원 결합 특이성을 갖는 항체이다.
- [0102] 용어 "무손상 항체"는 항원 결합 가변 영역, 경쇄 불변 영역(CL), 및 중쇄 불변 영역(CH1, CH2, 및 CH3)을 포함하는 항체를 의미한다. 불변 영역은 자연 서열(예를 들어, 인간 자연 불변 영역 서열) 또는 이의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 무손상 항체는 바람직하게, 하나 이상의 이펙터 기능을 갖는 무손상 항체이다.
- [0103] 용어 "전구-항체(프로바디)"는, 항체 또는 항체 단편을 포함하고 표적에 특이적으로 결합할 수 있고 차폐기 (masking group)에 결합할 수 있는 변형된 항체이며, 여기서 차폐기는 항체 또는 항체 단편이 표적에 결합하는 능력에 대한 절단 상수가 차폐기가 결합되지 않은 항체 또는 항체 단편이 표적에 결합하는 능력에 대한 절단 상수보다 적어도 100배, 1000배, 또는 10000배 더 크다는 것을 의미한다.
- [0104] 본 명세서에서, 비인간(예를 들어, 쥐과) 항체의 "인간화" 형태는 최소량의 비인간 면역글로불린 서열을 포함하는 키메라 항체를 의미한다. 대부분의 인간화 항체는 인간 수용자 면역글로불린의 과변이 영역 잔기가 원하는 특이성, 친화력, 및 기능을 갖는 비인간(예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 또는 비인간 영장류) 과변이 영역 잔기(공여자 항체)로 대체된 것이다. 일부 구현예에서, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역(FR) 잔기도 비인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수도 있다. 이러한 변형은 항체의 성능을 더욱 최적화하기 위한 것이다. 인간화 항체는 일반적으로 적어도 1개, 보통은 2개의 가변 영역을 포함하고, 모든 또는 거의 모든 과변이 루프는 비인간 면역글로불린의 루프에 해당하는 반면, FR은 전적으로 또는 거의 전적으로 인간 면역글로불린의 서열이다. 인간화 항체는 또한, 면역글로불린 불변 영역(Fc, 일반적으로는 인간 면역글로불린 Fc)의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 자세한 내용은, 예를 들어 문헌[Jones et al., 1986, Nature, 321: 522-525; Riechmann et al., 1988, Nature, 332: 323-329; 및 Presta, 1992, Curr Op Struct Bwl 2: 593-596] 참조.
- [0105] 무손상 항체는 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열에 따라 여러 "클래스"로 나눌 수 있다. 5개의 주요 클래스는 IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이며, 그중 몇 개는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2와 같은 상이한 "하위 클래스"(이소형)로 더 나눌 수 있다. 상이한 클래스의 항체의 중쇄 불변 영역은 각각  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$ , 및  $\mu$  으로 불린다. 상이한 클래스의 면역글로불린의 하위유닛 구조 및 3차원 구성은 당업계에서 잘 알려져 있다.
- [0106] 본 명세서에서, 항체의 아미노산 치환은 대부분의 경우 L-아미노산에 의한 치환이지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 항체 펩티드 사슬에 하나 이상의 D-아미노산이 포함될 수 있다. D-아미노산을 포함하는 펩티드는 L-아미노산만을 포함하는 펩티드보다 구강, 장관, 또는 혈장에서 더 안정적이고 덜 분해된다.
- [0107] 본 발명에 사용되는 단클론 항체는 다양한 방법에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 사용하기 위한 단클론 항체는 많은 종(마우스, 햄스터, 래트, 및 인간의 세포 포함)을 사용하는 하이브리도마 방법에 의해 얻

거나(예를 들어, 문헌[Kohler et al., 1975, Nature, 256: 495] 참조), 재조합 DNA 기술에 의해 제조되거나(예를 들어, US 4,816,567 참조), 과지 항체 라이브러리로부터 분리될 수 있다(예를 들어, 문헌[Clackson et al., 1991, Nature, 352: 624-628; 및 Marks et al., 1991, Journal of Molecular Biology, 222: 581-597] 참조).

- [0108] 본 명세서에서 "제약상 허용되는 담체"는, 건전한 의학적 판단 범위 내에서 합리적인 이익/위험 비율에 해당하는 과도한 독성, 자극, 과민 반응, 또는 기타 문제 또는 합병증 없이 인간 및/또는 다른 동물의 조직과 접촉하기에 적합하고 치료제와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제, 또는 비히클을 의미한다.
- [0109] 본 발명의 제약 조성물 또는 키트에 유용한 제약상 허용되는 담체는 물 및 오일(석유, 동물, 식물, 또는 합성 유래의 오일, 예컨대 낙화생유, 대두유, 팜물유, 호마유 등을 포함)과 같은 멸균 액체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 제약 조성물이 정맥내 투여되는 경우, 예시적인 담체는 물이다. 생리 식염수뿐만 아니라 포도당과 글리세롤의 수용액도 특히 주사용의 액체 담체로서 사용될 수 있다. 적합한 제약 부형제는 전분, 포도당, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 말토스, 백악, 실리카겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 탈지 분유, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 제약 조성물은 필요에 따라 소량의 습윤제, 유화제, 또는 pH 완충제를 추가로 함유할 수 있다. 경구 제형은 표준 담체, 예컨대 제약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 사카린나트륨, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등을 함유할 수 있다. 제약상 허용되는 적합한 담체의 예는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (1990)]에 기재된 바와 같다.
- [0110] 본 발명의 제약 조성물 및 키트의 성분은 전신적 및/또는 국소적으로 작용할 수 있다. 이를 위해, 투여는 적합한 경로로, 예를 들어 주사(예: 정맥내, 동맥내, 피하, 복강내, 근육내 주사(점적주사 포함)) 또는 경피 투여에 의해; 또는 경구, 협측, 비강, 경점막, 국소, 안과 제제의 형태, 또는 흡입 투여로 수행될 수 있다.
- [0111] 이러한 투여 경로에 대해, 본 발명의 제약 조성물 및 키트의 성분은 적합한 투여 형태로 투여될 수 있다.
- [0112] 투여 형태는 정제, 캡슐, 로젠지, 하드 캔디, 산제, 분무제, 크림, 연고, 좌약, 겔, 페이스트, 로션, 연고, 수성 부유액, 주사액, 엘릭시르제, 및 시럽을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0113] 본원에 사용된 용어 "용기"는 제약 성분을 담기 위한 용기이다. 이 용기는 제조, 보관, 운송, 및/또는 독립형/대량 판매에 사용될 수 있으며, 병, 캔, 바이알, 플라스크, 주사기, 튜브(예를 들어, 크림 제품용), 또는 의약품용 제조, 수용, 보관, 또는 분배하기 위한 임의의 기타 용기를 덮기 위한 것이다.
- [0114] 본원에 사용된 용어 "설명서"는 용기 내의 제약 성분과 관련된 정보가 기재된 삽입물, 라벨, 지시문 등이다. 기재되는 정보는 일반적으로 제품이 판매되는 지역을 관할하는 규제 기관(예를 들어, 미국 식품의약국)에서 결정한다. 패키지 설명서에는 제약 성분의 사용이 승인된 표시가 구체적으로 기재되는 것이 바람직하다. 패키지 설명서는 설명서에 포함된 정보를 읽을 수 있는 임의의 재료로 만들어질 수 있다. 패키지 설명서는 원하는 정보가 형성(예를 들어, 인쇄 또는 적용)될 수 있는 인쇄 가능한 재료(예를 들어, 종이, 플라스틱, 판지, 호일, 접착 종이 또는 플라스틱 등)이다.
- [0115] 본원에 사용된 용어 "유효량"은 투여된 후, 치료 중인 장애의 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화하는 유효 성분의 양을 의미한다.
- [0116] 본원에 사용된 "개체"는 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 예시적인 인간 개체는 질환(예를 들어, 본원에 기재된 질환)을 앓고 있는 인간 개체(환자라고 함) 또는 정상적인 개체를 포함한다. 본 명세서에서 "비인간 동물"은 비포유류(예: 새, 양서류, 파충류) 및 포유류, 예컨대 비인간 영장류, 가축, 및/또는 길들인 동물(예: 양, 개, 고양이, 소, 돼지 등)과 같은 모든 척추 동물을 포함한다.
- [0117] 본원에 사용된 "암 전이"는 암의 초기 부위에서 신체의 다른 부위로 확산되는(전이되는) 암을 의미한다. 거의 모든 암은 확산될 가능성이 있다. 전이의 발생 여부는 암의 유형, 종양세포의 성숙(분화) 정도, 암의 부위와 존재 시간, 및 완전히 이해되지 않은 기타 요인을 비롯한 복수의 종양세포 요인 간의 복잡한 상호작용에 따라 달라진다. 전이성 확산은 세 가지 방식, 즉 중앙으로부터 주변 조직으로 국소적으로 확산되거나, 혈류를 통해 원위 부위에 도달하거나, 림프계를 통해 인접 또는 원위 림프절에 도달하는 방식으로 발생한다. 각각의 암에는 대표적인 확산 경로가 있을 수 있다. 종양은 1차 부위에 따라 명명된다(예를 들어, 뇌로 확산된 유방암은 뇌로 전이되는 전이성 유방암이라고 함).
- [0118] 본원에 사용된 "내성"은 화학요법에 대한 내성을 획득한 암세포를 의미한다. 암세포는 약물 표적의 돌연변이 또는 과발현, 약물의 비활성화, 또는 세포로부터의 약물 제거를 비롯한 일련의 메커니즘을 통해 화학요법에 대한 내성을 획득할 수 있다.

- [0119] **IAP 억제제와 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제의 병용**
- [0120] **치료 방법 및 용도**
- [0121] 일 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제 및 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0122] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.
- [0123] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 IAP 억제제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 면역 체크포인트 분자 조절제의 용도를 제공한다.
- [0124] 다른 구현예에서, 본 발명은 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.
- [0125] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 약제의 제조에 있어서 면역 체크포인트 분자 조절제의 용도를 제공한다.
- [0126] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 IAP 억제제를 제공한다.
- [0127] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 IAP 억제제와 병용하여 사용하기 위한 면역 체크포인트 분자 조절제를 제공한다.
- [0128] 다른 구현예에서, 본 발명은 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 IAP 억제제를 제공한다.
- [0129] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 면역 체크포인트 분자 조절제를 제공한다.
- [0130] 일 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제, 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 치료 유효량의 튜블린 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0131] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체크포인트 분자 조절제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.
- [0132] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 IAP 억제제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 면역 체크포인트 분자 조절제의 용도를 제공한다.
- [0133] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 IAP 억제제 및 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 튜블린 억제제의 용도를 제공한다.
- [0134] 다른 구현예에서, 본 발명은 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.
- [0135] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 약제의 제조에 있어서 면역 체크포인트 분자 조절제의 용도를 제공한다.
- [0136] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제 및/또는 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 약제의 제조에 있어서 튜블린 억제제의 용도를 제공한다.
- [0137] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 면역 체

크포인트 분자 조절제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 IAP 억제제를 제공한다.

[0138] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 IAP 억제제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 면역 체크포인트 분자 조절제를 제공한다.

[0139] 다른 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위해 IAP 억제제 및 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 튜블린 억제제를 제공한다.

[0140] 다른 구현예에서, 본 발명은 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 IAP 억제제를 제공한다.

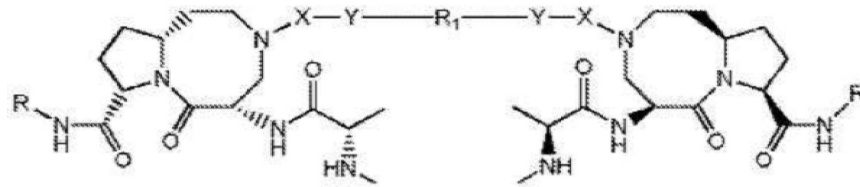
[0141] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 억제, 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 면역 체크포인트 분자 조절제를 제공한다.

[0142] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제 및/또는 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법으로 치료 중인 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 튜블린 억제제를 제공한다.

[0143] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 본원에 참조로 포함되는 W02014/031487에 기재된 바와 같은 IAP 억제제이며, 이 문헌에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다.

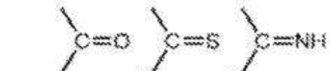
[0144] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 이의 제약상 허용되는 염이며,

[0145] [화학식 I]



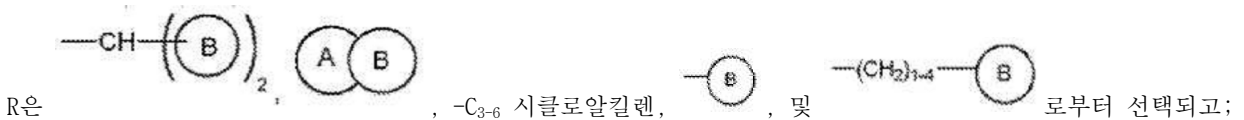
[0146]

[0147] 식 중,

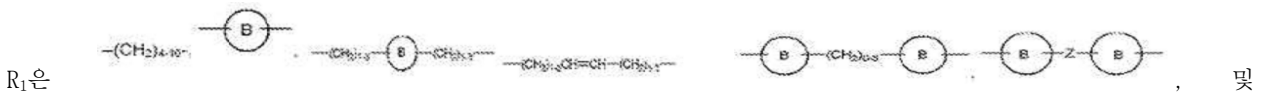


[0148] X는  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{C}=\text{S}$ ,  $\text{C}=\text{NH}$ , 및  $-\text{SO}_2-$ 로부터 선택되고;

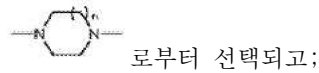
[0149] Y는  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ , 및 부재함으로부터 선택되고;



[0150] R은  $-\text{CH}-(\text{B})_2$ ,  $-\text{C}_{3-6}$  사이클로알킬렌,  $-\text{B}$ , 및  $-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{B}$ 로부터 선택되고;



[0151] R<sub>1</sub>은  $-(\text{CH}_2)_{4-10}-\text{B}$ ,  $-(\text{CH}_2)_3-\text{B}-(\text{CH}_2)_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_2\text{C}=\text{C}-(\text{CH}_2)_1$ ,  $-\text{B}-(\text{CH}_2)_3-\text{B}$ ,  $-\text{B}-\text{Z}-\text{B}$ , 및



로부터 선택되고;

[0152] Z는 O, S, 또는 NH이고;

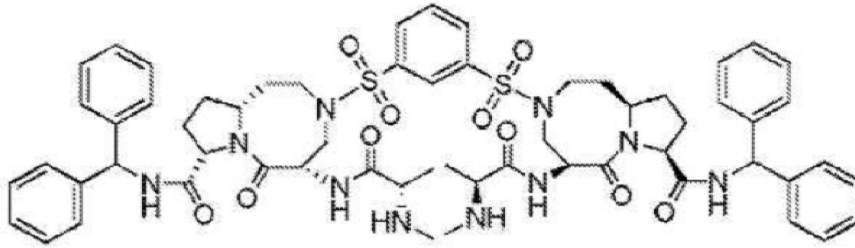
[0153] n은 0, 1, 또는 2이고;

[0154] 고리 A는 C<sub>4-8</sub> 지방족 고리이고;

[0155] B 고리는 페닐, 나프틸, 피리딜, 피리다지닐, 피라지닐, 또는 피리미디닐이고, B 고리는 선택적으로 치환된다.



노-프로피온아미도)-3-디페닐카바미드-4-옥소-3a,7-디아자-데카하이드로시클로펜타시클로옥텐)]-설폰아미드이다.



[0164]

[0165]

특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 항체, 항체 Fab 단편, 2가 항체, 항체-약물 접합체, scFv, 융합 단백질, 또는 4가 항체이고, 바람직하게, 면역 체크포인트 분자 조절제는 단클론 항체 또는 이의 항원결합 단편이다.

[0166]

특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, TIM-3, LAG3, CD160, 2B4, TGFβ, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, NKG2C, SLAMP7, Nkp80, B7-H3, LFA-1, 1COS, 4-1BB, GITR, CD30, CD40, BAFRR, HVEM, CD7, LIGHT, 또는 CD83 리간드이고, 바람직하게, 면역 체크포인트 분자는 PD-1, PD-L1, 또는 CTLA-4이다.

[0167]

특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 항종양 T세포 활성의 회복 및/또는 T세포 억제인자 세포 활성의 차단에 사용된다.

[0168]

특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 무손상 T세포 활성화에 필요한 공동자극 신호를 변경하는 공동자극 체크포인트 분자 활성화제이다.

[0169]

특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 항PD-1 항체, 항CTLA-4 항체, 또는 항PD-L1 항체이다.

[0170]

특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 켈브롤리주맵, 이필리무맵, 니볼루맵, 아테졸리주맵, 아벨루맵, 더발루맵, AGEN-1884, BMS-986016, CS1001(전문이 본원에 참조로 포함되는 WO2017020858A1), CS-1002, LAG525, MBG453, MEDI-570, OREG-103/BY40, 리릴루맵, 트레멜리루맵, JS001, SHR-1210, BGB-A317, IBI-308, REGN2810, JS003, SHR-1316, KN035, 또는 BMS-936559이고, 바람직하게, 면역 체크포인트 분자 조절제는 켈브롤리주맵이다.

[0171]

특정 구현예에서, 튜블린 억제제는 파클리탁셀(Taxol), 에포틸론, 도세탁셀, 디스코더몰라이드, 콜히친, 콰브레타스타틴, 2-메톡시에스트라디올, 메톡시벤질설폰아미드(E7010), 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈, 빈플루닌, 둘라스타틴, 할리코르딘, 헤미아스테를린, 및 크립토포신 52로부터 선택된다.

[0172]

특정 구현예에서, 튜블린 억제제는 도세탁셀 또는 파클리탁셀이다.

[0173]

상기 특정 구현예에서, IAP 억제제는 APG-1387이고, 면역 체크포인트 분자 조절제는 항PD-1 항체이고, 튜블린 억제제는 도세탁셀 또는 파클리탁셀이다.

[0174]

특정 구현예에서, IAP 억제제는 약 0.005 mg/일 내지 약 5000 mg/일, 예컨대 약 0.005, 0.05, 0.5, 5, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 또는 5000 mg/일의 양으로 투여된다. 특정 구현예에서, IAP 억제제는 약 10 mg/주 내지 약 200 mg/주, 또는 약 20 mg/주 내지 약 100 mg/주, 또는 약 20 mg/주 내지 약 80 mg/주, 예컨대 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 또는 200 mg/주의 양으로 투여된다.

[0175]

특정 구현예에서, IAP 억제제는 단위 용량당 약 1 ng/kg 내지 약 200 mg/kg, 약 1 μg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 양으로, 예컨대 단위 용량당 약 1 μg/kg, 약 10 μg/kg, 약 25 μg/kg, 약 50 μg/kg, 약 75 μg/kg, 약 100 μg/kg, 약 125 μg/kg, 약 150 μg/kg, 약 175 μg/kg, 약 200 μg/kg, 약 225 μg/kg, 약 250 μg/kg, 약 275 μg/kg, 약 300 μg/kg, 약 325 μg/kg, 약 350 μg/kg, 약 375 μg/kg, 약 400 μg/kg, 약 425 μg/kg, 약 450 μg/kg, 약 475 μg/kg, 약 500 μg/kg, 약 525 μg/kg, 약 550 μg/kg, 약 575 μg/kg, 약 600 μg/kg, 약 625 μg/kg, 약 650 μg/kg, 약 675 μg/kg, 약 700 μg/kg, 약 725 μg/kg, 약 750 μg/kg, 약 775 μg/kg, 약 800 μg/kg, 약 825 μg/kg, 약 850 μg/kg, 약 875 μg/kg, 약 900 μg/kg, 약 925 μg/kg, 약 950 μg/kg, 약 975 μg/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 3.5 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약

4.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 60 mg/kg, 약 70 mg/kg, 약 80 mg/kg, 약 90 mg/kg, 약 100 mg/kg, 약 125 mg/kg, 약 150 mg/kg, 약 175 mg/kg, 및 약 200 mg/kg의 양으로 투여되고, 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10회)의 단위 용량이 매일, 2일마다, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 6일마다, 또는 매주 투여된다.

[0176] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제는 매주, 2주마다, 3주마다, 또는 4주마다 약 0.005 mg 내지 약 5000 mg, 예컨대 매주, 2주마다, 3주마다, 또는 4주마다 약 0.005, 0.05, 0.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 또는 5000 mg의 양으로 투여된다.

[0177] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제는 단위 용량당 약 1 ng/kg 내지 약 200 mg/kg, 약 1  $\mu$ g/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 양으로, 예컨대 단위 용량당 약 1  $\mu$ g/kg, 약 10  $\mu$ g/kg, 약 25  $\mu$ g/kg, 약 50  $\mu$ g/kg, 약 75  $\mu$ g/kg, 약 100  $\mu$ g/kg, 약 125  $\mu$ g/kg, 약 150  $\mu$ g/kg, 약 175  $\mu$ g/kg, 약 200  $\mu$ g/kg, 약 225  $\mu$ g/kg, 약 250  $\mu$ g/kg, 약 275  $\mu$ g/kg, 약 300  $\mu$ g/kg, 약 325  $\mu$ g/kg, 약 350  $\mu$ g/kg, 약 375  $\mu$ g/kg, 약 400  $\mu$ g/kg, 약 425  $\mu$ g/kg, 약 450  $\mu$ g/kg, 약 475  $\mu$ g/kg, 약 500  $\mu$ g/kg, 약 525  $\mu$ g/kg, 약 550  $\mu$ g/kg, 약 575  $\mu$ g/kg, 약 600  $\mu$ g/kg, 약 625  $\mu$ g/kg, 약 650  $\mu$ g/kg, 약 675  $\mu$ g/kg, 약 700  $\mu$ g/kg, 약 725  $\mu$ g/kg, 약 750  $\mu$ g/kg, 약 775  $\mu$ g/kg, 약 800  $\mu$ g/kg, 약 825  $\mu$ g/kg, 약 850  $\mu$ g/kg, 약 875  $\mu$ g/kg, 약 900  $\mu$ g/kg, 약 925  $\mu$ g/kg, 약 950  $\mu$ g/kg, 약 975  $\mu$ g/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 3.5 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 4.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 60 mg/kg, 약 70 mg/kg, 약 80 mg/kg, 약 90 mg/kg, 약 100 mg/kg, 약 125 mg/kg, 약 150 mg/kg, 약 175 mg/kg, 및 약 200 mg/kg의 양으로 투여되고, 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 또는 20회)의 단위 용량이 매주, 2주마다, 3주마다, 또는 4주마다 투여된다.

[0178] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린은 단위 용량당 약 1 mg/m<sup>2</sup> 내지 약 200 mg/m<sup>2</sup>, 약 1  $\mu$ g/m<sup>2</sup> 내지 약 100 mg/m<sup>2</sup>, 또는 약 1 mg/m<sup>2</sup> 내지 약 50 mg/kg, 예컨대 단위 용량당 약 1  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 10  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 25  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 50  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 75  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 100  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 125  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 150  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 175  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 200  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 225  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 250  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 275  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 300  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 325  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 350  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 375  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 400  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 425  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 450  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 475  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 500  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 525  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 550  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 575  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 600  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 625  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 650  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 675  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 700  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 725  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 750  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 775  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 800  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 825  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 850  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 875  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 900  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 925  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 950  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 975  $\mu$ g/m<sup>2</sup>, 약 1 mg/m<sup>2</sup>, 약 1 mg/m<sup>2</sup>, 약 1.5 mg/m<sup>2</sup>, 약 2.5 mg/m<sup>2</sup>, 약 3 mg/m<sup>2</sup>, 약 3.5 mg/m<sup>2</sup>, 약 4 mg/m<sup>2</sup>, 약 4.5 mg/m<sup>2</sup>, 약 5 mg/m<sup>2</sup>, 약 10 mg/m<sup>2</sup>, 약 15 mg/m<sup>2</sup>, 약 20 mg/m<sup>2</sup>, 약 25 mg/m<sup>2</sup>, 약 30 mg/m<sup>2</sup>, 약 35 mg/m<sup>2</sup>, 약 40 mg/m<sup>2</sup>, 약 45 mg/m<sup>2</sup>, 약 50 mg/m<sup>2</sup>, 약 60 mg/m<sup>2</sup>, 약 70 mg/m<sup>2</sup>, 약 80 mg/m<sup>2</sup>, 약 90 mg/m<sup>2</sup>, 약 100 mg/m<sup>2</sup>, 약 125 mg/m<sup>2</sup>, 약 150 mg/m<sup>2</sup>, 약 175 mg/m<sup>2</sup>, 약 200 mg/m<sup>2</sup>의 양으로 투여되고, 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 또는 20회)의 단위 용량이 매주 투여된다.

[0179] 특정 구현예에서, IAP 억제제 및 면역 체크포인트 분자 조절제 또는 튜블린 억제제는 함께, 동시에, 순차적으로, 또는 교번으로 투여된다. 특정 구현예에서, IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 튜블린 억제제는 함께, 동시에, 순차적으로, 또는 교번으로 투여된다.

[0180] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 매주 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7회 투여된다. 일부 구현예에서, IAP는 적어도 1주, 적어도 2주, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 또는 적어도 8주 동안 지속적으로 투여된다.

[0181] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제는 매주 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7회; 2주마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7회; 또는 3주마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7회 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제는 적어도 1주, 적어도 2주, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 또는 적어도 8주 동안 지속적으로 투여된다.



- [0182] 특정 구현예에서, IAP 억제제, 또는 면역 체크포인트 분자 조절제, 및/또는 튜블린 억제제는 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 8일, 적어도 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일, 적어도 15일, 적어도 16일, 적어도 17일, 적어도 18일, 적어도 19일, 적어도 20일, 적어도 21일, 적어도 22일, 적어도 23일, 적어도 24일, 적어도 25일, 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도 40일, 적어도 45일, 또는 적어도 50일, 적어도 2주, 적어도 2주, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 11주, 또는 적어도 12주 동안 지속적으로 투여된다.
- [0183] 특정 구현예에서, IAP 억제제, 또는 면역 체크포인트 분자 조절제, 및/또는 튜블린 억제제는 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 치료 과정 동안 투여되고, 각각의 치료 과정은 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 8일, 적어도 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일, 적어도 15일, 적어도 16일, 적어도 17일, 적어도 18일, 적어도 19일, 적어도 20일, 적어도 21일, 적어도 22일, 적어도 23일, 적어도 24일, 적어도 25일, 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도 40일, 적어도 45일, 또는 적어도 50일, 적어도 2주, 적어도 2주, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 11주, 또는 적어도 12주 동안 지속되고; 각각의 치료 과정에 대해, 투여는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10회 수행되고; 모든 두 치료 과정 사이의 간격은 0일, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 2주, 3주, 4주, 1개월, 또는 2개월이다.
- [0184] 바람직한 구현예에서, 각각의 치료 과정에 대해 투여되는 IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및/또는 튜블린 억제제의 양은 복수의 치료 과정에 걸쳐 투여되는 경우 동일하거나 상이하다. 일부 구현예에서, 이전 치료 과정에 투여된 IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및/또는 튜블린 억제제의 양은 후속 치료 과정에 투여되는 양의 1~10배, 바람직하게는 1~5배, 예컨대 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 또는 5배이다.
- [0185] 특정 구현예에서, IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및/또는 튜블린 억제제는 경구 투여, 정맥내 주사, 또는 피하 주사를 포함하여 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해 투여된다.
- [0186] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 면역 체크포인트 분자 조절제가 단독으로 투여되는 경우 또는 IAP 억제제가 투여되지 않는 경우에 투여되는 양보다 적은 양으로 투여된다.
- [0187] 특정 구현예에서, 튜블린 억제제는 튜블린 억제제가 단독으로 투여되는 경우 또는 IAP 억제제 및/또는 면역 체크포인트 분자 조절제가 투여되지 않는 경우에 투여되는 양보다 적은 양으로 투여된다.
- [0188] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 암 치료에서 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제의 효능을 향상시키고/시키거나, 암 치료에서 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제의 부작용을 감소시킨다.
- [0189] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 분자 조절제는 암 치료에서 IAP 억제제 및/또는 튜블린 억제제의 효능을 향상시키고/시키거나 암 치료에서 IAP 억제제 및/또는 튜블린 억제제의 부작용을 감소시킨다.
- [0190] 특정 구현예에서, 튜블린 억제제는 암 치료에서 IAP 억제제 및/또는 면역 체크포인트 분자 조절제의 효능을 향상시키고/시키거나 암 치료에서 IAP 억제제 및/또는 면역 체크포인트 분자 조절제의 부작용을 감소시킨다.
- [0191] 특정 구현예에서, 암은 초기암, 중기암, 또는 진행암이다. 바람직하게, 암은 부신피질암, 항문암, 담관암종, 방광암, 골암, 골전이암, 성인 뇌/중추 신경계 종양, 소아 뇌/중추 신경계 종양, 유방암, 남성 유방암, 소아암, 원발암 불명암, 캐슬만병, 메르켈세포 암종, 자궁경부암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 식도암, 유방 유종계 종양, 안암, 담낭암, 소화관암(예컨대, 위암), 위장관 기질 종양(GIST), 영양막암, 두경부암, 카포시 육종, 신장암, 신장세포암, 후두 및 하인두 암, 백혈병(예컨대, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(급성 골수성 백혈병, AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 과립구성 백혈병(CML), 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML), 또는 소아 백혈병), 간암(예컨대, 간세포 암종), 폐암(예컨대, 비소세포 폐암 또는 소세포 폐암), 림프종, 피부 림프종, 악성 중피종, 다발성 골수종, 골수이형성증후군, 비강 및 비강부비동 암, 비인두암, 신경모세포종, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 소아 비호지킨 림프종, 구강 및 구강인두 암, 골육종, 난소암, 췌장암, 음경암, 악성 뇌하수체 종양, 전립선암, 망막모세포종, 횡문근육종, 침샘암, 육종(예컨대, 성인 연조직암 또는 자궁 육종), 피부암(예컨대, 기저세포 및 편평세포 암 또는 흑색종), 소장암, 고환암, 흉선암, 갑상선암, 질암, 외음부암, 발렌스트롬 마크로글로불린혈증, 빌름스 종양, 요로상피암, 미소부수체 불안정성 고�형 종양(높은 불안정성 또는 불일치 복구 결함), 및 용모막암종으로부터 선택되고, 바람직하게, 암은 두경부암, 미소부수체 불안정성 고�형 종양, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 비소세포 폐암, 신장세포암, 방광암, 흑색종, 편평세포 암종, 메르켈세포 종양, 요로상피암, 또는 대장암이다.

- [0192] 특정 구현예에서, 암은 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양이고, 바람직하게, 암은 전이성 췌장암, 대장암, 난소암, 림프종, 또는 간암(예컨대, 간세포 암종)이다.
- [0193] 특정 구현예에서, 개체는 진행암을 앓고 있다.
- [0194] 특정 구현예에서, 개체는 난치암, 재발암, 또는 내성암, 특히 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있다.
- [0195] 특정 구현예에서, 개체는 난치암, 재발암, 또는 내성암, 특히 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있다.
- [0196] 특정 구현예에서, 개체는 난치암, 재발암, 또는 내성암, 특히 IAP 억제제 및/또는 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있다.
- [0197] 특정 구현예에서, 개체는 난치암, 재발암, 또는 내성암, 특히 IAP 억제제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있다.
- [0198] 특정 구현예에서, 본 발명은 내성암, 특히 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.
- [0199] 특정 구현예에서, 본 발명은 내성암, 특히 면역 체크포인트 분자 조절제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 면역 체크포인트 분자 조절제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 IAP 억제제의 용도를 제공한다.
- [0200] 특정 구현예에서, 본 발명은 내성암, 특히 IAP 억제제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 IAP 억제제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 면역 체크포인트 분자 조절제의 용도를 제공한다.
- [0201] 특정 구현예에서, 본 발명은 내성암, 특히 IAP 억제제 및/또는 튜블린 억제제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 IAP 억제제 및 튜블린 억제제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 면역 체크포인트 분자 조절제의 용도를 제공한다.
- [0202] 특정 구현예에서, 본 발명은 내성암, 특히 IAP 억제제 및/또는 면역 체크포인트 분자 조절제를 포함하는 암요법에 내성이 있는 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 IAP 억제제 및 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 튜블린 억제제의 용도를 제공한다.
- [0203] **계약 조성물 및 키트**
- [0204] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 계약상 허용되는 담체를 포함하는 계약 조성물을 제공한다.
- [0205] 특정 구현예에서, IAP 억제제 및 면역 체크포인트 분자 조절제는 각각 앞서 정의된 바와 같다.
- [0206] 다른 구현예에서, 본 발명은
- [0207] (a) 제1 용기 내의, IAP 억제제(바람직하게는 앞서 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 계약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 성분;
- [0208] (b) 제2 용기 내의, 면역 체크포인트 분자 조절제(바람직하게는 앞서 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 계약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 성분; 및
- [0209] (c) 선택적으로 설명서
- [0210] 를 포함하는 키트를 제공한다.
- [0211] 다른 구현예에서, 본 발명은 IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 튜블린 억제제, 및 계약상 허용되는 담체를 포함하는 계약 조성물을 제공한다.
- [0212] 특정 구현예에서, IAP 억제제, 면역 체크포인트 분자 조절제, 및 튜블린 억제제는 각각 앞서 정의된 바와 같다.
- [0213] 다른 구현예에서, 본 발명은

- [0214] (a) 제1 용기 내의, IAP 억제제(바람직하게는 앞서 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 성분;
- [0215] (b) 제2 용기 내의, 면역 체크포인트 분자 조절제(바람직하게는 앞서 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 성분;
- [0216] (c) 제3 용기 내의, 튜블린 억제제(바람직하게는 앞서 정의된 바와 같음) 및 선택적으로 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제3 성분; 및
- [0217] (d) 선택적으로 설명서
- [0218] 를 포함하는 키트를 제공한다.
- [0219] **치료 방법: 단일제제 또는 병용 치료**
- [0220] 본 발명은 또한, 암 치료를 필요로 하는 환자에게 유효량의 IAP 억제제(예컨대, APG-115)를 단일제제로서 또는 다른 치료제와의 병용요법에서의 병용투여 제제로서 투여함으로써 환자의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 본원에 개시된 치료 유효량의 IAP 억제제, 예를 들어 APG-1387 또는 이의 제약상 허용되는 염 및 암의 치료를 위한 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- [0221] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 본원에 참조로 포함되는 WO2014/031487에 기재된 바와 같은 IAP 억제제이며, 이 문헌에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0222] 일부 구현예에서, IAP 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 이의 제약상 허용되는 염이다. 일부 구현예에서, IAP 억제제는 APG-1387이다.
- [0223] 일 구현예에서, 본 발명은 개체의 암의 치료, 억제, 중증도 감소, 위험 감소, 또는 전이 억제를 위한 방법으로서, 치료 유효량의 IAP 억제제를 단일제제로서, 또는 치료 유효량의 면역 체크포인트 분자 조절제와 병용하여 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0224] 일부 구현예에서, IAP 억제제(예컨대, APG-1387)는 약 0.005 mg/일 내지 약 5000 mg/일, 예컨대 약 0.005, 0.05, 0.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 또는 5000 mg/일의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, IAP 억제제는 약 10 mg/주 내지 약 200 mg/주, 또는 약 20 mg/주 내지 약 100 mg/주, 또는 약 20 mg/주 내지 약 80 mg/주, 예컨대 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 또는 200 mg/주의 양으로 투여된다.
- [0225] 특정 구현예에서, IAP 억제제(예컨대, APG-1387)는 단위 용량당 약 1 ng/kg 내지 약 200 mg/kg, 약 1  $\mu$ g/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 양으로, 예컨대 단위 용량당 약 1  $\mu$ g/kg, 약 10  $\mu$ g/kg, 약 25  $\mu$ g/kg, 약 50  $\mu$ g/kg, 약 75  $\mu$ g/kg, 약 100  $\mu$ g/kg, 약 125  $\mu$ g/kg, 약 150  $\mu$ g/kg, 약 175  $\mu$ g/kg, 약 200  $\mu$ g/kg, 약 225  $\mu$ g/kg, 약 250  $\mu$ g/kg, 약 275  $\mu$ g/kg, 약 300  $\mu$ g/kg, 약 325  $\mu$ g/kg, 약 350  $\mu$ g/kg, 약 375  $\mu$ g/kg, 약 400  $\mu$ g/kg, 약 425  $\mu$ g/kg, 약 450  $\mu$ g/kg, 약 475  $\mu$ g/kg, 약 500  $\mu$ g/kg, 약 525  $\mu$ g/kg, 약 550  $\mu$ g/kg, 약 575  $\mu$ g/kg, 약 600  $\mu$ g/kg, 약 625  $\mu$ g/kg, 약 650  $\mu$ g/kg, 약 675  $\mu$ g/kg, 약 700  $\mu$ g/kg, 약 725  $\mu$ g/kg, 약 750  $\mu$ g/kg, 약 775  $\mu$ g/kg, 약 800  $\mu$ g/kg, 약 825  $\mu$ g/kg, 약 850  $\mu$ g/kg, 약 875  $\mu$ g/kg, 약 900  $\mu$ g/kg, 약 925  $\mu$ g/kg, 약 950  $\mu$ g/kg, 약 975  $\mu$ g/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 3.5 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 4.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 60 mg/kg, 약 70 mg/kg, 약 80 mg/kg, 약 90 mg/kg, 약 100 mg/kg, 약 125 mg/kg, 약 150 mg/kg, 약 175 mg/kg, 및 약 200 mg/kg의 양으로 투여되고, 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10회)의 단위 용량이 매일 또는 매주 투여된다.
- [0226] 특정 구현예에서, 암 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 IAP 억제제(예컨대, APG-1387)를 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법은, 적어도 1회의 21일 치료 주기를 포함하고, IAP 억제제는 치료 주기의 연속 3주의 1일차, 8일차, 및 15일차에 정맥내 주입을 통해 투여된다. 이 스케줄은 21일(3주)의 주기에 대해 2주의 투여 및 1주의 투여 중단이다. 치료 주기는 필요한 만큼 여러 번 반복될 수 있다. 치료 유효량은 약 15 mg 내지 약 100 mg의 IAP 억제제이다.
- [0227] 특정 구현예에서, 암은 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양이다. 특정 구현예에서, 대상체는 기존 요법에 난치성인 진행성 또는 전이성 고형 종양을 가지고 있다. 특정 구현예에서, 암은 전이성 췌장암, 대장암, 난소암,

림프종, 또는 간암(예컨대, 간세포 암종)이다.

- [0228] 특정 구현예에서, IAP 억제제의 치료 유효량은 약 20 mg이다.
- [0229] 특정 구현예에서, IAP 억제제의 치료 유효량은 약 30 mg이다.
- [0230] 특정 구현예에서, IAP 억제제의 치료 유효량은 약 45 mg이다.
- [0231] 특정 구현예에서, IAP 억제제의 치료 유효량은 약 60 mg이다.
- [0232] 특정 구현예에서, IAP 억제제의 치료 유효량은 약 80 mg이다.
- [0233] 특정 구현예에서, IAP 억제제의 치료 유효량은 약 20 mg 내지 45 mg, 약 20 mg 내지 60 mg, 또는 약 20 mg 내지 80 mg이다.
- [0234] **치료: 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양**
- [0235] 특정 구현예에서, IAP 억제제(예컨대, APG-1387)는 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양을 앓고 있는 환자에서 병용요법으로서 하나 이상의 전신 항암제와 함께 투여된다.
- [0236] 특정 구현예에서, 전신 항암제는 면역 체크포인트 분자 조절제 또는 튜블린 억제제이다.
- [0237] 특정 구현예에서, 전신 항암제는 펩브롤리주맙, 파클리탁셀, 또는 카보플라틴으로부터 선택된다.
- [0238] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 이를 필요로 하는 환자에서 암을 치료하기 위해 펩브롤리주맙, 또는 파클리탁셀 및 카보플라틴과 병용될 수 있다.
- [0239] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 진행성 고형 종양 환자를 치료하기 위해 펩브롤리주맙과 병용될 수 있다.
- [0240] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 진행성 고형 종양 환자를 치료하기 위해 파클리탁셀 및 카보플라틴과 병용될 수 있다.
- [0241] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 진행성 난소 암종, 췌장암, 또는 결장암 환자를 치료하기 위해 파클리탁셀 및 카보플라틴과 병용될 수 있다.
- [0242] 상기 구현예에서, IAP 억제제는 본원에 참조로 포함되는 WO2014/031487에 기재된 바와 같은 IAP 억제제이며, 이 문헌에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, IAP 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 이의 제형 상 허용되는 염이다. 상기 구현예에서, IAP 억제제는 APG-1387이다.
- [0243] 특정 구현예에서, 펩브롤리주맙의 시판 제형 및 표준 치료가 병용요법에 채택된다.
- [0244] 특정 구현예에서, 펩브롤리주맙은 3주마다 30분에 걸쳐 정맥내 주입으로 투여된다. 특정 구현예에서, 펩브롤리주맙은 성인 환자에게 200 mg, 또는 체중을 기준으로 2 mg/kg에서 최대 200 mg까지 투여된다.
- [0245] 특정 구현예에서, 파클리탁셀의 시판 제형 및 표준 치료가 병용요법에 채택된다. 특정 구현예에서, 파클리탁셀은 135 mg/m<sup>2</sup> 또는 175 mg/m<sup>2</sup>의 용량으로 3주마다 3시간에 걸쳐 정맥내 투여된다. 다른 구현예에서, 환자는 심한 과민 반응을 방지하기 위해 사전 투약 후 각각의 21일 치료 주기의 1일차에 파클리탁셀을 정맥내(IV) 투여받을 것이다.
- [0246] 이러한 사전 투약은 파클리탁셀이 투여되기 약 12시간 전 및 6시간 전의 텍사메타손 20 mg 경구 투여, 파클리탁셀이 투여되기 30 내지 60분 전의 디펜히드라민(또는 이의 동등물) 50 mg IV 투여, 및 파클리탁셀이 투여되기 30~60분 전의 시메티딘(300 mg) 또는 라니티딘(50 mg) IV 투여를 포함할 수 있다.
- [0247] 특정 구현예에서, 카보플라틴의 시판 제형 및 표준 치료가 병용요법에 채택된다. 특정 구현예에서, 카보플라틴은 15분 이상 지속되는 주입에 의해 정맥내 투여된다. 특정 구현예에서, 환자는 각각의 주기의 1일차에 카보플라틴 30 mg/m<sup>2</sup>을 투여받을 것이다. 용량은 조정되거나 변경될 수 있다.
- [0248] **항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하는 방법**
- [0249] 본 발명은 또한, 개체의 항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하는 방법으로서, 개체의 항원 특이적 면역 반응을 활성화 또는 개선하기 위해 치료 유효량의 IAP 억제제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

- [0250] 특정 구현예에서, IAP 억제제는 본원에 참조로 포함되는 W02014/031487에 기재된 바와 같은 IAP 억제제이며, 이 문헌에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, IAP 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 이의 제형상 허용되는 염이다. 일부 구현예에서, IAP 억제제는 APG-1387이다.
- [0251] 특정 구현예에서, 항원은 종양 항원과 같은 질환 항원이다.
- [0252] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응은 이펙터 기억 세포의 비율을 증가시키는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 이펙터 기억 세포는 이펙터 기억 T세포이다. 특정 구현예에서, 이펙터 기억 T세포는 CD44 및 CD3을 발현하지만, CD62L(즉, CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>CD3<sup>+</sup>)을 발현하지는 않는다.
- [0253] 특정 구현예에서, 이펙터 기억 세포는 이펙터 기억 CD4<sup>+</sup> T세포, 및/또는 이펙터 기억 CD8<sup>+</sup> T세포를 포함한다.
- [0254] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응은 항원에 의해 자극된 NK세포의 비율을 증가시키는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 항원에 의해 자극된 NK세포는 종양 조직의 NK세포 또는 종양 침윤 NK세포를 포함한다.
- [0255] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응은 항원제시 세포에서 주 조직적합 복합체(MHC) 클래스 II 분자(MHC-II)의 발현을 증가시키는 것을 포함한다. 항원제시 세포의 예는 대식세포, B세포, 수지상 세포 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0256] 특정 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응의 활성화 또는 증가는 IL-12에 의존적이다. IL-12는 항원제시 세포로부터 유래된 사이토카인이며, IFN- $\gamma$ 을 분비하도록 T세포 및 NK세포를 자극하여 이들 세포의 증식 및 세포용해 활성을 향상시킬 수 있다(Gately et al, Annu Rev Immunol, 1998, Vol. 16, 495-521).
- [0257] **실시예**
- [0258] 본 발명의 목적 및 기술적 해결책을 보다 명확히 하기 위해, 구체적인 실시예와 함께 이하 추가로 본 발명을 설명한다. 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위해서만 사용되며 그 범위를 제한하기 위한 것이 아님은 이해될 것이다. 또한, 하기 실시예에 언급되지 않은 구체적인 실험 방법은 통상적인 실험 방법에 따라 수행되었다.
- [0259] 하기 실시예에 사용된 항PD-1 항체는 BioXcell(항목 번호: BE0146, 클론 번호: RMP1-14)에서 구입하였다.
- [0260] **실시예 1** 생체내 약력학 실험의 평가 방법
- [0261] 세포 접종 방법을 사용하여, 인간 종양-면역 정상 마우스 피하 동종이식 종양 모델을 수립하였다: 대수 성장기의 종양세포를 수집하여 계수한 후, 1xPBS에 재부유시켰다. 세포 부유 농도를 2.5~5x10<sup>7</sup>/mL로 조정하였다. 1 mL 주사기(4 게이지 바늘)를 사용하여, 종양세포(5~10x10<sup>6</sup>/0.2 mL/마우스)를 면역된 정상 마우스의 오른쪽 등에 피하 접종하였다. 모든 동물 실험 절차는 Gima Gene Co., Ltd 및 Suzhou Yasheng Pharmaceutical Co., Ltd의 실험실 동물 사용 및 관리 표준에 따라 엄격하게 이루어졌다. 관련 파라미터는 중국 NMPA "세포독성 항종양 약물의 비임상 연구 기법에 대한 지침(Guidelines for Non-clinical Research Techniques of Cytotoxic Antitumor Drugs)"을 참조하여 계산되었다.
- [0262] 실험 동안 동물 체중 및 종양 크기를 주 2회 측정하였다. 동물의 상태와 사망 발생을 매일 관찰하였다. 일상적인 모니터링은, 특히 실험 동물의 활동, 급식 및 급수, 체중 증가 또는 감소, 눈, 털뿐만 아니라 기타 이상을 포함하여, 종양 성장과 치료가 동물의 정상적인 행동에 미치는 영향을 포함하였다. 실험 동안 관찰된 사망과 임상 증상을 원본 데이터에 기록하였다. 투여, 마우스 체중과 종양 부피 측정의 전체 과정은 초무균 시험대에서 수행되었다. 실험 프로그램의 요구 사항에 따라, 혈장 및 종양 조직을 수집하고, 무게를 측정하고, 마지막 투여 종료 후 기록을 위해 사진을 찍었다. 혈장 및 종양 샘플은 나중에 사용하기 위해 -80°C에서 동결시켰다.
- [0263] 종양 부피(TV)는  $TV=a \times b^2/2$ 로서 계산되었고, 식에서 a와 b는 각각 종양 측정치의 길이와 폭을 나타낸다.
- [0264] 상대적 종양 부피(RTV)는  $RTV=V_t/V_1$ 로서 계산되었고, 식에서 V<sub>t</sub>은 그룹화 투여 시점의 종양 부피이고, V<sub>1</sub>는 투여 후 t일째 측정된 종양 부피이다.
- [0265] 항종양 활성의 평가 지수는 상대적 종양 증식률 T/C(%)로, 상대적 종양 증식률  $T/C(\%) = (T_{RTV}/C_{RTV}) \times 100\%$ 로서 계산되었고, 식에서 T<sub>RTV</sub>는 처치군의 RTV이고, C<sub>RTV</sub>는 비히클 대조군의 RTV이다.
- [0266] 종양 관해율(%)은 처치 후 종양이 있는 마우스에서의 SD(안정적인 질환), PR(부분 퇴행), 및 CR(완전 퇴행)의

수를 해당 군의 마우스의 총 수로 나눈 값 x 100%였다. CR은 종양의 완전 퇴행을 나타내며, 이는 치료 후 종양을 발견할 수 없음을 의미한다. PR은 종양의 부분 퇴행을 나타내며, 이는 종양 부피가 치료 전보다 작아진 것을 의미한다. SD는 안정적인 종양 진행을 나타내며, 이는 종양 부피가 치료 전과 동일함을 의미한다.

[0267] 체중의 변화(%) = (체중 측정치 - 그룹화시 체중) / 그룹화시 체중 X 100%.

[0268] 효능 평가 기준: 중국 NMPA "세포독성 항종양 약물의 비임상 연구 기법에 대한 지침"(2006년 11월)에 따라, T/C(%) 값이 40% 이하이고 통계 분석에 의한 p가 0.05 미만인 것을 효능이 있는 것으로 간주하였다. 마우스의 체중 감소가 20%를 초과하거나, 약물 관련 사망률이 20%를 초과하면, 약물 용량이 매우 독성이 있는 것으로 간주되었다.

[0269] 문헌[Clarke R., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models [J]. *Breast Cancer Research & Treatment*, 1997, 46(2-3):255-278]에 따라, 다음 식에 의해 시너지 분석을 평가하였다: 시너지 계수 = ((A/C) x (B/C))/(AB/C); A = A 약물 단일요법군의 RTV 값, B = B 약물 단일요법군의 RTV 값, C = 비히클 대조군의 RTV 값, AB = A와 B에 의한 병용요법군의 RTV 값. 시너지 계수 > 1은 시너지 효과가 달성된 것을 나타냈고, 시너지 계수 = 1은 상가 효과가 달성된 것을 나타냈고, 시너지 계수 < 1은 길항 효과가 달성된 것을 나타냈다.

[0270] **상동성 마우스 종양 모델에서의 항PD-1 항체 (αPD-1) 및 도세탁셀과 병용한 APG-1387의 시너지적 항종양 효과**

[0271] CT26 대장암 마우스의 종양 모델을 수립하였고, 이 모델에서 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 병용한 APG-1387의 항종양 효과를 평가하였다. 투여 요법은 다음과 같다.

[0272] APG-1387 단일요법군: 총 17일 동안 매일 1회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사;

[0273] 도세탁셀 단일요법군: 총 17일 동안 매주 1회, 8 mg/kg, 복강내 주사;

[0274] 항PD-1 항체 단일요법군: 총 2.5주(즉, 17일) 동안 매주 2회, 200 μg/마우스, 복강내 주사;

[0275] APG-1387 + 도세탁셀 병용군: (총 17일 동안 매일 1회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사) + (총 17일 동안 매주 1회, 8 mg/kg, 복강내 주사);

[0276] APG-1387 + 항PD-1 항체 병용군: (총 2.5주 동안 매일 1회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사) + (총 2.5주 동안 매주 2회, 200 μg/마우스, 복강내 주사);

[0277] APG-1387 + 항PD-1 항체 + 도세탁셀 병용군: (총 2.5 주 동안, 매일 1회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사) + (총 2.5 주 동안 매주 2회, 200 μg/마우스, 복강내 주사) + (총 2.5주 동안 매주 1회, 8 mg/kg, 복강내 주사).

[0278] 도 1에 나타난 바와 같이, 투여 후 18일째, 큰 종양 크기 때문에 4개 군(비히클 대조군, APG-1387 단일요법군(T/C = 105%), 도세탁셀 단일요법군(T/C = 66%), 및 APG-1387 + 도세탁셀 병용군(T/C = 74%) 포함)의 동물을 안락사시켰다. 투여 후 18일째, APG-1387 + 항PD-1 항체 병용요법군의 T/C 값은 35%였고, APG-1387 + 항PD-1 항체 + 도세탁셀 병용요법군의 T/C 값은 28%였다.

[0279] 각각의 군의 개별 동물의 종양 부피는 도 2에 나타난 바와 같다. 투여 후 18일째(도 2의 A), 비히클군 및 APG-1387 단일요법군에서 안정적인 질환(SD), 부분 퇴행(PR), 또는 완전 퇴행(CR)을 나타낸 동물은 없었다. 도세탁셀로 처리된 동물의 4분의 1에서 SD가 얻어졌다(1/4; 종양 관해율은 25%). 항PD-1 항체로 처리된 동물의 1/5에서 PR 효능이 얻어졌다(종양 관해율은 20%). 흥미롭게도, APG-1387과 항PD-1 항체에 의한 병용요법에서, 동물의 2/5(종양 관해율은 40%)가 PR 또는 CR 효능을 나타냈다. 또한, 3가지 약제에 의한 병용요법에서, 5마리 동물 중 1마리가 PR 효능을 얻을 수 있었고, 2마리가 CR 효능을 얻을 수 있었다(종양 관해율은 60%). 투여 후 25일째(도 2의 B), 항PD-1 처리군에서 5마리 동물 중 1마리가 처치 없이 연장된 관찰 기간 후 PR(20%)을 유지했다. APG-1387과 항PD-1에 의한 병용요법군에서 2마리 동물이 SD 또는 CR을 유지했다. 그러나, 3가지 약제에 의한 병용요법군에서 3마리 동물이 점진적으로 CR 효능을 얻었다(종양 관해율은 60%). 실험 데이터는, 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 APG-1387의 병용이 APG-1387 또는 항PD-1 항체에 의한 단일요법에 비해 더 높은 관해율로 종양을 효과적으로 억제할 수 있고 더 효과적이고 지속적인 항종양 반응을 얻을 수 있음을 분명히 보여주었다. 이러한 결과는 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 APG-1387의 병용이 시너지 효과를 달성했음을 보여주었다.

[0280] [표 1]

CT26 마우스 대장암 모델에서의 항 PD-1 항체 및 도세탁셀과 APG-1387에 의한 병용요법의 시너지적 항종양 효과

	처치	투여 후 18 일째 T/C 값 (%)	투여 후 18 일째 종양 관해율 (%)	투여 후 25 일째 종양 관해율 (%)
1	비히클 대조군	-	0/5 SD/PR/CR	/
2	APG-1387	105%	0/5 SD/PR/CR	/
3	도세탁셀	66%	1/4 SD	/
4	APG-1387 + 도세탁셀	74%	0/5 SD/PR/CR	/
5	α PD-1	42%	1/5 PR (20%)	1/5 PR (20%)
6	APG-1387 + α PD-1	35%	2/5 PR/CR (40%)	2/5 SD/CR (40%)
7	APG-1387 + α PD-1 + 도세탁셀	28%	3/5 PR/CR (60%)	3/5 CR (60%)

[0281]

[0282] 실시예 1에 기재된 것과 유사한 절차에 따라, MC38 상동성 마우스 결장암 모델을 수립하였고, APG-1387과 항PD-1 항체의 병용 효과를 다음의 투여 요법에 따라 시험하고, 결과를 도 3에 나타냈다.

[0283] 비히클 대조군: APG-1387과 항PD-1 항체에 대한 비히클은 총 2회분 투여되었음;

[0284] APG-1387 단일요법군: 총 2회분에 대해 매주 2회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사;

[0285] 항PD-1 항체 단일요법군: 총 2회분에 대해 매주 2회, 5 mg/kg, 복강내 주사;

[0286] APG-1387 + 항PD-1 항체 병용군: (총 2회분에 대해 매주 2회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사) + (총 2회분에 대해 매주 2회, 5 mg/kg, 복강내 주사).

[0287] [표 2]

MC38 상동성 마우스 결장암 모델에서의 항 PD-1 항체와 APG-1387에 의한 병용요법의 시너지적 항종양 효과

처치	투여 후 14 일째 RTV	투여 후 14 일째 T/C 값 (%)	투여 후 14 일째 시너지 계수
비히클 대조군	15.6±2.8	-	-
APG-1387	11.0±1.2	70	-
α PD-1	7.4±0.9	47	-
APG-1387+ α PD-1	4.8±0.8*	31	1.09

[0288]

[0289] 실시예 1에 기재된 것과 유사한 절차에 따라, MC38 상동성 마우스 결장암 모델을 수립하였고, APG-1387과 항PD-1 항체의 병용의 마우스 생존율 향상 효과를 다음의 투여 요법에 따라 시험하고, 결과를 도 4에 나타냈다.

[0290] 비히클 대조군: APG-1387과 항PD-1 항체에 대한 비히클은 총 2회분 투여되었음;

[0291] APG-1387 단일요법군: 총 3회분에 대해 매주 2회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사;

[0292] 항PD-1 항체 단일요법군: 총 2회분에 대해 매주 2회, 100 μg/마우스, 복강내 주사;

[0293] APG-1387 + 항PD-1 항체 병용군: (총 3회분에 대해 매주 2회, 0.2 mg/kg, 정맥내 주사) + (총 2회분에 대해 매주 2회, 100 μg/마우스, 복강내 주사).

[0294] 실시예 2 APG-1387은 시험관내 세포 시험에서 CD4<sup>+</sup> T세포 및 CD8<sup>+</sup> T세포의 증식을 촉진하였음

[0295] 자성 비드를 이용해 마우스 비장으로부터 (A) CD4<sup>+</sup> T세포 또는 (B) CD8<sup>+</sup> T세포를 양성적으로 분류하고, 배양 플레이트를 상이한 농도(0.1, 1, 5, 및 10 μg/ml)의 항CD3 항체로 코팅하였다. 공동자극을 위해 추가 2 μg/ml의 항CD28을 첨가하였다. 세포를 APG-1387 250 nM 또는 DMSO로 72시간 동안 처리한 후, CellTiter-Glo 발광 세포 생존율 검정(Promega)을 이용해 상대적 세포 수를 측정하고, DMSO로 처리된 비자극 배양물로 정규화하였다. 구체적으로, 96-웰 플레이트 및 CellTiter-Glo 시약을 실온에서 30분 동안 평형화시키고, 100 μL의 CellTiter-

Glo 시약을 각각의 웰에 첨가하였다. 진탕기에서 2분 동안 혼합하고 실온에서 10분 동안 방치한 후, Biotek 시너지 HMF 마이크로플레이트 리더로 형광값을 판독하였다. 3개의 복제 웰을 사용해 평균 형광값을 계산하고, 세포 증식률의 백분율을 다음의 식에 의해 계산하였다. 세포 증식률(%) = (시험 웰의 형광값 - 음성 대조군 웰) / (용매 대조군의 형광값 - 음성 대조군) x 100%. 결과는 적어도 2개의 독립적인 시험을 나타냈다.

[0296] 결과는 도 5에 나타낸 바와 같다. 시험관내 시험 결과는 APG-1387이 항CD3 및 항CD28에 의해 자극된 CD4<sup>+</sup> T세포 및 CD8<sup>+</sup> T세포의 증식을 촉진할 수 있음을 보여주었다.

[0297] **실시예 3** 진행성 고형 종양 또는 혈액 악성종양 환자를 APG-1387을 사용하여 치료.

[0298] 환자는 21일 치료 주기에 걸쳐 치료받는다. 제1 치료 주기에서, 1일차, 8일차, 및 15일차에 정맥내 주입을 통해 20 mg의 APG-1387이 투여된다. 단일제제로서 APG-1387의 DLT를 평가하여 APG-1387의 MTD를 결정하기 위해 표준 "3+3" 용량 증량이 수행된다. 파트 1에서, 환자는 21일 주기에 걸쳐 치료받고, 치료는 20 mg의 APG-1387로 시작하여 1일차, 8일차, 및 15일차에 투여된다. 첫 3명의 환자에서 제1 주기가 끝날 때까지 용량 제한 독성(DLT)이 관찰되지 않으면, APG-1387의 용량은 이에 따라 후속 코호트에서 30, 45, 60, 및 80 mg으로 증가된다. 임의의 용량 수준에서 2/6 이상의 환자가 DLT를 나타내면, 용량 증량이 중지되고, 그 다음 더 낮은 용량 수준이 즉시 6명의 환자로 확장된다. 최고 용량에 도달했을 때 1/6 이하의 환자가 DLT를 나타내면, 이를 최대 내약 용량(MTD)으로 정한다. DLT가 보고되지 않을 경우, 80 mg의 APG-1387을 MTD로 확정한다. 단일제제의 MTD가 일단 확정되면, 치료는 다음과 같이 파트 2로 진행된다.

[0299] 1. 진행성 고형 종양에서 웹브롤리주맙과 병용한 APG-1387.

[0300] 2. 진행성 난소 암종에서 파클리탁셀 및 카보플라틴과 병용한 APG-1387.

[0301] 3. 난소 암종을 제외한 진행성 고형 종양에서 파클리탁셀 및 카보플라틴과 병용한 APG-1387.

[0302] 웹브롤리주맙, 또는 파클리탁셀 및 카보플라틴과 병용한 APG-1387의 MTD/RP2D가 결정된 후, 최대 20명의 환자가 질환 진행, 허용되지 않는 독성, 또는 다른 중단 기준이 충족될 때까지 해당 용량 수준으로 병용 치료받는다. DLT를 경험하는 안정적이거나 반응을 보이는 환자는 임상연구자와 의뢰자 간의 논의에 따라 DLT가 1등급 이하로 해결되면 치료를 계속할 수 있다. 환자 개인별 용량 증량이 허용된다.

[0303] 단일제제 치료 방법에서, 주사용 APG-1387은 바이알당 10 mg의 멸균 동결건조 분말로서 공급된다. APG-1387은 다음과 같이 재구성 후 정맥내 주입을 통해 투여된다. 2 mL의 주사용 물을 바이알에 넣어 분말을 용해시킨 후, 주사용 5% 포도당 용액으로 추가로 희석해야 한다.

[0304] 병용치료 방법에서는 시판되는 제형이 사용된다. 환자는 3주마다 30분에 걸쳐 200 mg의 웹브롤리주맙을 정맥내 투여받는다. 환자는 심한 과민 반응을 방지하기 위해 사전 투약 후 각각의 21일 치료 주기의 1일차에 한 번 정맥내(IV) 파클리탁셀 표준 치료를 받는다.

[0305] 환자는 각각의 21일 치료 주기의 1일차에 한 번 정맥내(IV) 카보플라틴 표준 치료를 받는다.

[0306] **실시예 4** 단일제제로서의 또는 웹브롤리주맙과 병용한 APG-1387의 안전성 및 내약성.

[0307] APG-1387은 신규의 2가 소분자 IAP(inhibitor of apoptosis proteins) 억제제이다. APG-1387은 카스파제 활성화 화를 유발하고 자가사멸을 유도하는 cIAP1/2 또는 XIAP의 기능에 길항 작용을 할 수 있는 SMAC 모방체이다. APG-1387은 여러 인간 이중이식 암 모델에서 강한 항종양 활성을 나타냈다. APG-1387은 또한 숙주 면역 조절제로서 작용하여, 암요법을 위한 항PD-1 항체와 APG-1387의 병용 개념을 뒷받침한다.

[0308] 단일제제로서의(파트 1) 또는 웹브롤리주맙과 병용한(파트 2) APG-1387의 안전성 및 내약성을 평가하기 위해 I 상 연구(NCT03386526)를 수행하였다.

[0309] 이 연구의 1차 목표는 단일제제로서의 또는 웹브롤리주맙과 병용한 APG-1387의 안전성 및 내약성을 평가하는 것이었다. 2차 목표는 단일제제로서의 또는 웹브롤리주맙과 병용한 APG-1387의 약동학(PK), 약력학(PD), 항종양 효과를 결정하는 것이었다.

[0310] I 상 용량 증량 연구에는 두 파트가 포함되었다. 파트 1은 mPC(전이성 췌장암) 코호트 확장을 포함한, APG-1387의 "3+3" 용량 증량이다. 파트 2는 웹브롤리주맙과 병용한 APG-1387의 "3+3" 용량 증량 및 코호트 확장이다.



[0311] APG-1387은 21일 주기에서 매주 1회 30분 동안 IV 투여되었다. 펌브롤리주맙은 질환 진행 또는 허용되지 않는 독성이 나타날 때까지 21일 주기의 1일차에 200 mg이 IV 투여되었다. K<sub>2</sub>EDTA 인간 혈장 중의 APG-1387은 APG-1387-d10을 내부 표준(IS)으로 사용하는 LC-MS/MS 방법을 이용해 측정되었다. APG-1387 및 IS는 메탄올을 이용해 인간 혈장으로부터 단백질 침전에 의해 추출되었다. 역상 HPLC 분리는 Agilent Polaris 5, C18-A, 컬럼(50 x 2.0 mm, 5 마이크로)으로 달성되었다. MS/MS 검출은 TIS 양성 모드에서 APG-1387의 경우 m/z 579.4 → 167.2, 및 APG-1387-d10(IS)의 경우 m/z 584.4 → 172.1의 질량 전이로 설정되었다.

[0312] I상 연구에 대한 포함 기준은 다음과 같다. 연령 ≥ 18세; ECOG PS: 0~1; 적절한 혈액, 신장, 및 간 기능; 진행성 또는 전이성 고형 종양 환자는 자신의 병태에 임상적 이점을 제공하는 것으로 알려진 기존 요법(들)에 대해 난치성이거나 내약성이 없어야 함.

[0313] 배제 기준은 다음과 같다. 연구 시작 전 21일 내에 화학요법, 호르몬 및 생물학적(<2 반감기) 소분자 표적 요법, 또는 기타 항암 요법을 받음; 중추신경계(CNS)의 종양 관련으로 인한 임상평가에 대한 신경학적 불안정성; 또는 조절되지 않은 동시발생 질병.

[0314] 등록된 환자들은 표 3(a) 및 3(b)에 나타낸 바와 같은 기준선 특성을 나타냈다.

[0315] [표 3]

[0316] 기준선에서의 환자 인구통계 및 특성

[0317] 표 3(a)

특성, n(%)	APG-1387 단일 (N=24)	APG-1387 + 펌브롤리주맙 (N=5)
중위연령(범위)	66.5 (48;88)	61.0 (35;78)
남성	11 (45.8%)	2 (40.0%)
ECOG PS		
0	10	1
1	14	4
이전 전신 암요법(1~11)		
1	1	0
2-5	20	4
≥6	3	1

[0318]

[0319] 표 3(b)

원발암, n(%)	APG-1387 단일 (N=24)	APG-1387 + 펌브롤리주맙 (N=5)
유방암	1 (4.2%)	1 (20.0%)
담관암종	0	1 (20.0%)
결장암	5 (20.9%)	0
평활근 육종	1 (4.2%)	0
폐암	2 (8.3%)	0
폐, 편평세포암	1 (4.2%)	0
비소세포 폐암종	1 (4.2%)	0
흑색종	2 (8.3%)	1 (20.0%)
췌장암	10 (41.6%)	1 (20.0%)
전립선암	1 (4.2%)	1 (20.0%)

[0320]

[0321] 약물 투여 후의 환자의 내약성 결과를 표 3(c) 및 3(d)에 나타낸다.

[0322] 표 3(c)

환자 배치(용량 수준별)	APG-1387 단일요법					APG-1387+ 펌브롤리주맙		
	20 mg (n=3)	30 mg (n=3)	45 mg (n=13)	60 mg (n=5)	전체 (n=24)	20 mg (n=4)	30 mg (n=1)	전체 (n=5)
제1 주기 처치를 완료한 환자의 수	3	3	12	4	22	4	1	5
처치를 중단한 환자의 수	3	3	11	5	22	3	-	3
• 이상사례	0	0	1	2	3	0	-	0
• 질관 진행	2	3	8	1	14	2	-	2
• 임상 진행	0	0	1	1	2	0	-	0
• 효능 부족	1	0	1	0	2	0	-	0
• 피험자에 의한 철회	0	0	0	1	1	1	-	1

[0323]

[0324] 처치 관련 이상사례(모든 등급)

[0325] 표 3(d)

	APG-1387 단일요법					APG-1387+ 펌브롤리주맙		
	20 mg (n=3)	30 mg (n=3)	45 mg (n=13)	60 mg (n=5)	전체 (n=24)	20 mg (n=4)	30 mg (n=1)	전체 (n=5)
피로	0	0	3 (23.1%)	0	3 (12.5%)	2 (50.0%)	0	2 (40.0%)
두통	0	1 (33.3%)	0	1 (20.0%)	2 (8.3%)	1 (25.0%)	1 (100.0%)	2 (40.0%)
식욕 감소	0	0	2 (15.4%)	0	2 (8.3%)	1 (25.0%)	0	1 (20.0%)
근육통	0	0	1 (7.7%)	0	1 (4.2%)	1 (25.0%)	0	1 (20.0%)
구역질	0	1 (33.3%)	1 (7.7%)	0	2 (8.3%)	0	0	0
소양증	1 (33.3%)	0	0	1 (20.0%)	2 (8.3%)	0	0	0
반구진 발진	1 (33.3%)	0	0	1 (20.0%)	2 (8.3%)	0	0	0
아스파르트 이트 아미노전이 효소 증가	0	0	1 (7.7%)	0	1 (4.2%)	0	0	0
혈중 빌리루빈 증가	0	0	0	1 (20.0%)	1 (4.2%)	0	0	0
탈수	0	0	1 (7.7%)	0	1 (4.2%)	0	0	0
설사	0	1 (33.3%)	0	0	1 (4.2%)	0	0	0
소화불량	0	0	1 (7.7%)	0	1 (4.2%)	0	0	0
트립	0	0	0	0	0	1 (25.0%)	0	1 (20.0%)
안면 신경 마비	0	0	1 (7.7%)	1 (20.0%)	2 (8.4%)	0	0	0
리파제 증가	0	0	0	1 (20.0%)	1 (4.2%)	0	0	0
말초 감각 신경병증	0	0	1 (7.7%)	0	1 (4.2%)	0	0	0
정맥염	1 (33.3%)	0	0	0	1 (4.2%)	0	0	0
간질예염	0	0	0	1 (20.0%)	1 (4.2%)	0	0	0
종양 표증	0	0	0	0	0	1 (25.0%)	0	1 (20.0%)

[0326]

[0327] G3 이상의 TRAE: 1건의 G3 혈중 빌리루빈 증가; 1건의 리파제 증가(2건 모두 60 mg 단일요법에서).

[0328]

2019년 4월 19일까지, 24명의 환자가 APG-1387로 치료받았고, 5명의 환자는 APG-1387 + 펌브롤리주맙으로 치료

받았다. APG-1387은 내약성이 양호했고, 관리 가능한 이상사례를 나타냈다. 가장 흔한(>10%) 치료 관련 이상사례(TRAЕ)는 피로이다. 리파제 증가 및 안면 신경 장애를 포함하여, 2건의 용량 제한 독성(DLT)이 60 mg에서 관찰되었고, APG-1387 단일요법의 MTD는 45 mg으로 결정되었다.

[0329] 연구 중에 관찰된 예비 항종양 활성을 표 4 및 표 5에 특성화하였다.

[0330] [표 4]

모든 종양 유형에서의 항종양 활성

반응	APG-1387 (N=24)	APG-1387+ 펨브롤리주맙 (N=5)
ORR(객관적 반응률, CR+PR)	0	0
DCR(질환 조절률, SD 초과)	6/24	0
최상의 반응		
CR	0	0
PR	0	0
SD	6	0
PD	15	2
평가되지 않음	3	2

[0331]

[0332] [표 5]

췌장암에서의 항종양 활성

반응	APG-1387 (N=10)	APG-1387+ 펨브롤리주맙 (N=1)
ORR(객관적 반응률, CR+PR)	0	0
DCR(질환 조절률, SD 초과)	4/10	0
최상의 반응		
CR	0	0
PR	0	0
SD	4	0
PD	4	0
평가되지 않음	2	1

[0333]

[0334] APG-1387 단일요법에서 10명의 mPC(전이성 췌장암) 환자 중 4명(1명은 60 mg 용량, 3명은 45 mg 용량)이 안정적인 질환(SD)을 달성하였고, 45 mg 용량의 환자 중 1명은 확정된 SD(+6%)로 9회 주기(6개월) 넘게 치료받았다. 도 6 참조. 또한, 췌장암 표적 병변에서의 기준선으로부터 최상의 백분율 변화를 보여주는 도 7 참조.

[0335] APG-1387의 예비 PK 데이터(도 8의 (a) 및 (b))는 20 내지 45 mg의 범위에 걸쳐 AUC 및 Cmax의 증가가 대략 용량에 비례함을 나타냈고, 매주의 투약 요법에서 유의한 축적은 관찰되지 않았다.

[0336] APG-1387 치료는 PBMC에서의 XIAP 억제(도 9의 (a) 및 (b) 참조) 및 혈청에서의 사이토카인 방출(도 10 참조)을 유의하게 유도했으며, 이는 가능성 있는 메커니즘적 PD 관계 및 면역조절을 시사한다.

[0337] 실시예 5 생체내 실험에서의 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과.

[0338] 시험 검체

[0339] (1) **APG-1387**: Jiangsu Ascentage Pharmaceutical Development Co., Ltd.에서 제공. 배치 번호는 R12JA076140-A2 및 PAPG-1387-DP-201305A. 4°C에 보존되고, 차광되고, 밀봉됨. APG-1387은 정맥내(i.v.) 또는 복강내(i.p.) 또는 10 mL/kg의 투여량으로 투여되었다. APG-1387을 5% 피마자유/10% PEG400/85% 생리 식염수에 용해시켰다.

[0340] (2) **항PD-1 항체**: BioXcell에서 구입. 물품 번호는 BE0146 및 BE0273. 4°C에 보존되고 밀봉됨. 항PD-1 항체는 마우스당 100 µg 또는 마우스당 200 µg의 농도로 복강내 투여되었다.

[0341] (3) **이소형 대조군(항IgG)**: BioXcell에서 구입, 제품 번호는 BE0089. 4°C에 보존되고 밀봉됨. 이소형 대조군은 마우스당 100 µg 또는 마우스당 200 µg의 농도로 복강내 투여되었다.

[0342] (4) **도세탁셀**: Nanjing Aikang Chemical Co., Ltd에서 구입. 배치 번호는 20141024. 4°C에 보존되고 밀봉됨.

도세탁셀은 10 mL/kg의 양으로 정맥내 투여되었다.

[0343] (5) **항IL-12 항체**: BioXcell에서 구입. 물품 번호는 BE0051. 4°C에 보존되고 밀봉됨. 항IL-12 항체는 마우스당 500  $\mu$ g의 농도로 복강내 투여되었다.

[0344] **세포주**

[0345] 쥐과 MC38 결장암 세포, 쥐과 A20 림프종 세포, 및 인간 PLC/PRF/5 간암 세포는 ATCC(American Type Culture Collection)에서 구입하였다. 쥐과 ID8-Luc 난소암 세포는 중국 중산 대학교의 Xie Dan 교수 연구실에서 채취 기증하였다.

[0346] **실험 설계**

[0347] 종양 이종이식 모델을 구축하기 위해 마우스에게 0.5~10 X 10<sup>6</sup>개의 세포를 피하 주사하거나 6 X 10<sup>6</sup>개의 세포를 인 시튜로 난소에 주사하였다. 종양이 있는 마우스를 서로 다른 약물투여군에 무작위로 할당하였다. 멸균 조건하에서, 정상 면역계를 가진 마우스의 오른쪽 등 피하에 또는 동소 난소(ID8-Luc)에 종양세포를 주사하여 종양 이종 이식 모델을 구축하였다. 동소 모델의 경우, 접종한지 10일 후 생체내 형광 이미지를 검사하여 종양 성장을 측정하였다. 마우스를 서로 다른 군으로 무작위로 나누고 처치를 시작하였다. 피하 종양 이종이식 모델의 경우, 종양이 적절한 크기(50~150 mm<sup>3</sup>)에 도달하면, 동물은 종양 크기에 따라 무작위로 군이 지정된다. 각각의 군 간의 부피 차이는 평균의 10% 미만이어야 한다. 군당 동물의 수는 5~10마리이다. 군이 지정된 날(즉, D1)에 약물 투여를 시작한다. 피하 모델에서 A20의 경우, 체중에 따라 마우스를 그룹화하였고 같은 날(즉, D1)에 약물 투여를 시작하였다. 실험 동안 체중 및 종양 크기를 주 2회 측정하였다. 임상 증상을 기록하기 위해 매일 관찰하였다.

[0348] 종양 관련 파라미터의 계산은 실시예 1에 기재된 것과 동일하다. 형광 이미징 기술을 사용하면, 형광 신호의 강도는 생체내 종양의 성장과 전이를 나타낼 수 있다. 생존을 관찰의 경우, 종양이 있는 동물의 종양 부피가 2,000 mm<sup>3</sup>을 초과하면, 동물은 안락사되어야 하며 종양으로 인해 자연 사망한 것으로 간주된다.

[0349] 종양 침윤 림프구 분석 실험에서, 마지막 약물 투여 24시간 후에 조직 샘플, 예컨대 비장, 배액 림프절, 복수, 종양, 또는 기타 조직을 수집하였다. 비장 및 배액 림프절의 단일 세포 부유액을 얻고, 적혈구를 원심분리 후 용해하고, 세포를 여과한 다음, 유세포 염색 및 유세포 분석을 수행하였다. 종양 조직을 절단하고 원심분리하고, 조직을 분해하고, 세포를 여과하였다. 피콜(Ficoll)을 사용하여 개별 핵을 분리하였다. 해당 항체 유세포 염색 및 유세포 분석을 위해 개별 핵을 수집하였다. 복수 샘플을 수집하여 원심분리하고, 세포를 여과하고 유세포 염색 및 유세포 분석을 수행하였다.

[0350] **통계 분석**

[0351] 시간을 X축, 종양 부피 및 동물 체중을 Y축으로 하여 종양 성장 곡선 및 동물 체중 곡선을 플롯팅하였다. 실험 데이터는 평균  $\pm$  평균의 표준 오차(SEM)로 표현되고, 여기서 SEM = 표준 편차/n<sup>2</sup>이고, n = 실험군의 동물 수이다. 두 군 간의 차이는 Mann-Whitney U 통계 방법을 사용하여 분석되었다. 여러 군의 평균 간 차이는 일원 분산 분석을 사용하여 분석되었고, Games-Howell 방법을 사용하여 통계적으로 비교되었다. 생존 곡선은 로그 순위 통계 방법을 사용하여 비교되었고, 여러 시험이 수행되었다. 모든 데이터는 SPSS 18.0을 사용하여 분석되었다(\*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001, \*\*\*\*P < 0.0001).

[0352] **쥐과 MC38 결장암이 있는 마우스의 피하 이종이식 모델에서의 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과**

[0353] 세포 실험에서, APG-1387에 의한 시험관내 처치는 IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-12p70 등을 분비하도록 M38 세포를 자극하여 T세포 및 기타 염증성 사이토카인의 증식을 증가시킬 수 있다. 이 연구에서, 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과를 평가하기 위해, MC38 세포를 선별하고 마우스당 0.5~10 X 10<sup>6</sup>개의 세포를 암컷 C57BL/6 마우스의 오른쪽 등에 피하 접종하여 정상 면역계를 가진 마우스의 피하 이종이식 모델을 수립하였다. 구체적인 투약 요법은 표 6을 참조.

[0354] [표 6]

연구 설계

그룹	동물 수	처치	용량	투여 경로	투약 요법
1	9	APG-1387 비히클	-	i.v.	q3d x 2 회분
		이소형 대조군	100 µg/마우스	i.p.	q3d x 2 회분
2	7	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d x 2 회분
3	8	항 PD-1 항체	100 µg/마우스	i.p.	q3d x 2 회분
4	8	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d x 2 회분
		항 PD-1 항체	100 µg/마우스	i.p.	q3d x 2 회분

[0355]

[0356]

결과는 도 11의 A 및 B에 도시되어 있다. 투여 후 22일째, APG-1387은 단독투여의 경우 또는 항PD-1 항체와 병용한 경우 모두 특정 항종양 효과를 나타낸다. T/C 값은 각각 69.6% 및 48.6%였고, 이들 값은 이소형 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하다(P < 0.05). 항종양 효과는 APG-1387과 항PD-1 항체의 병용을 통해 유의하게 향상되었다. T/C 값은 30.6%에 달했고, 이는 이소형 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 것으로 입증된다(P < 0.0001). APG-1387과 항PD-1 항체 간의 병용 처치는 또한, 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타냈고(P < 0.05), 시너지 분석 결과, 두 약물의 병용은 1.10의 시너지 점수로 시너지적 항종양 효과가 있는 것으로 나타났다. 도 11의 C 및 D에 나타낸 바와 같이, 처치군 동물의 중위 생존 시간은 28.0일이었다. APG-1387 단일 제제군 및 항PD-1 항체 단일제제군은 동물의 중위 생존 시간을 어느 정도 연장할 수 있다. 중위 생존 시간은 각각 33.0일 및 34.5일이었다. APG-1387과 항PD-1 항체의 병용은 마우스의 생존 시간을 더 연장하였고, 중위 생존 시간은 47.5일이었다(P < 0.05, 대조군 대비). 각 처치군의 동물은 유의한 체중 감소를 나타내지 않았다.

[0357]

위의 결과는 APG-1387과 항PD-1 항체의 병용이 단일제제 치료보다 우수한 유의한 항종양 효과가 있음을 나타낸다.

[0358]

**컷과 ID8-Luc 난소암이 있는 마우스의 동소 난소 이종이식 모델에서의 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과**

[0359]

난소암은 세계적으로 가장 치명적인 부인과 악성종양이며 두 번째로 흔한 부인과 암이다. 현재의 화학요법 약물은 일시적으로만 효과적이다. 전이 및 재발 비율은 여전히 높다. 가장 기대할 만한 면역요법이 현재 다양한 종양 치료에서 임상적으로 큰 성공을 거두고 있지만, 난소암에서 면역요법을 시행하는 것은 여전히 중요한 과제이다. 이 분야의 이전 연구 결과, APG-1387은 난소암 세포에서 자가사멸 및 자가포식을 증가시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다(Li et al., J Exp Clin Cancer Res 37, 53). 따라서, 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과를 평가하기 위해, 이 연구에서 ID8-Luc 세포를 선별하고 마우스당 6 X 10<sup>6</sup> 개의 세포를 암컷 C57BL/6 마우스의 난소에 접종하여 마우스 동소 이식 종양 모델을 수립하였다. 구체적인 투약 요법을 표 7에 나타낸다.

[0360]

도 12의 A 및 B에 나타낸 바와 같이, 투여 후 7일째, APG-1387과 항PD-1 항체 병용군 동물의 형광 강도는 대조군 및 두 단일제제군보다 훨씬 더 약했고, 이는 병용이 시너지적 항종양 효과가 있음을 나타낸다. 도 12의 C 및 D에 나타낸 바와 같이, 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387은 마우스의 생존 시간을 유의하게 연장하였다. 어떤 처치군에서도 유의한 체중 감소는 없었다.

[0361]

요약하면, APG-1387과 항PD-1 항체의 병용은 유의한 시너지적 항종양 효과를 나타냈고 마우스의 생존을 연장하는 효과를 달성하였다.

[0362] [표 7]

연구 설계

그룹	동물 수	처치	용량	투여 경로	투약 요법
1	6	APG-1387 비히클	-	i.v.	q3d x 2 회분
		이소형 대조군	100 µg/마우스	i.p.	q3d x 2 회분
2	6	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d x 2 회분
3	6	항 PD-1 항체	100 µg/마우스	i.p.	q3d x 2 회분
4	6	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d x 2 회분
		항 PD-1 항체	100 µg/마우스	i.p.	q3d x 2 회분

[0363]

[0364]

**컷과 A20 림프종이 있는 마우스의 피하 이종이식 모델에서의 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과**

[0365]

항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 효과를 추가로 확인하기 위해, 이 연구에서 A20 세포를 선별하고 마우스당 5

X10<sup>6</sup> 개의 세포를 암컷 BALB/c 마우스의 오른쪽 등에 피하 접종하였다. 두 약물의 병용의 이점을 추가로 평가하기 위해 마우스의 피하 이종이식 모델을 수립하였다. 이 모델에서, 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 병용한 APG-1387의 항종양 효과도 평가하였다. 구체적인 투약 요법은 표 8을 참조.

[0366] 도 13의 A 및 B에 나타낸 바와 같이, 투여 후 24일째, 이 모델에서 APG-1387 및 도세탁셀 단독 또는 병용의 항종양 효과는 유의하지 않았다. 항PD-1 항체 단독투여는 약간의 항종양 효과를 나타냈다. 투여 후 24일째 T/C 값은 25%였다. 1마리의 동물이 투여 후 28일째 완전 퇴행을 나타냈고, 종양 관해율은 20%였다. APG-1387을 항PD-1 항체와 병용한 후, 항종양 효과는 유의하게 향상되었다. T/C 값은 8%였고, 두 약물은 시너지 관계가 있었다. 시너지 계수는 3.49였고, 2마리의 동물이 투여 후 28일째 완전 퇴행에 이르렀고, 종양 관해율은 40%로 이 약물 병용의 이점을 더욱 입증하였다. 항종양 효과는 APG-1387이 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 병용되었을 때 더욱 향상되었다. 세 가지 약물의 병용의 T/C 값은 3%였다. 2마리의 동물이 투여 후 28일째 완전 퇴행에 이르렀고, 2마리의 동물이 부분 퇴행에 이르렀고, 종양 관해율은 80%였다. 도 13의 C에 나타낸 바와 같이, 처치는 각 군의 동물에게 내약성이 양호했고, 체중의 유의한 감소는 발생하지 않았다.

[0367] 위의 결과는 APG-1387이 이 모델에서 항PD-1 항체의 항종양 활성을 향상시키는 것을 나타낸다. APG-1387은 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 병용시 우수한 항종양 효과를 나타낸다.

[0368] [표 8]

연구 설계

그룹	동물 수	처치	용량	투여 경로	투약 요법
1	5	APG-1387 비히클	-	i.v.	biw x 3 주
		이소형 대조군	200 µg/마우스	i.p.	biw x 3 주
2	5	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	biw x 3 주
3	5	도세탁셀	5 mg/kg	i.v.	biw x 3 주
4	5	항 PD-1 항체	200 µg/마우스	i.p.	biw x 2.5 주
5	5	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	biw x 3 주
		도세탁셀	5 mg/kg	i.v.	biw x 3 주
6	5	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	biw x 3 주
		항 PD-1 항체	200 µg/마우스	i.p.	biw x 2.5 주
7	5	항 PD-1 항체	200 µg/마우스	i.p.	biw x 2.5 주
		도세탁셀	5 mg/kg	i.v.	biw x 3 주
8	5	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	biw x 3 주
		항 PD-1 항체	200 µg/마우스	i.p.	biw x 2.5 주
		도세탁셀	5 mg/kg	i.v.	biw x 3 주

[0369] [0370] 건강한 마우스에서 종양 침윤 림프구 및 비장세포의 활성화에 대한 단일제제로서의 또는 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 효과 분석

[0371] 앞서 언급한 바와 같이, 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387은 마우스 MC38 결장암 모델 및 ID80-Luc 난소암 모델과 같은 모델에서 종양 성장에 대해 유의한 억제 효과를 나타낸다. 그러나, 시험관내 실험에서, APG-1387은 MC38 세포 및 ID8-Luc 세포와 같은 몇몇 마우스 종양 세포주에 대해 유의한 성장 억제 효과를 나타내지 않았다. 따라서, APG-1387이 면역세포와 같은 다른 세포에 작용하여 생체내 항종양 효과를 발휘할 수 있는 것으로 추측되었다. 이 가설을 검증하기 위해, MC38, ID8-Luc 세포, 및 PLC/PRF/5 세포주를 사용하여 마우스 이종이식 모델을 구축하였다. MC38 종양이 있는 마우스의 비장, 배액 림프절, 및 종양 조직을 마지막 투여 24시간 후에 수집하였다. ID8-Luc 종양 마우스의 복수, PLC/PRF/5 종양 마우스의 종양 조직에 대해 종양 침윤 림프구 분석을 수행하였다. 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과의 가능성 있는 메커니즘을 조사하기 위해 APG-1387 처치군 및 대조군에서의 림프구 비율을 분석하였다. 구체적인 투약 요법을 표 9 내지 표 11에 나타낸다.

[0372] [표 9]

연구 설계: MC38 마우스 이종이식 모델

처치	동물 수	약물	용량	투여 경로	투약 요법
1	5	APG-1387 비히클	-	i.v.	q3d x 2 회분
2	5	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d x 2 회분

[0373]

[0374] [표 10]

연구 설계: ID8-Luc 마우스 이종이식 모델

처치	동물 수	약물	용량	투여 경로	투약 요법
1	5	APG-1387 비히클	-	i.v.	q3d x 2 회분
		이소형 대조군	100 $\mu$ g/마우스	i.p.	q3d x 2 회분
2	5	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d x 2 회분
3	5	항 PD-1 항체	100 $\mu$ g/마우스	i.p.	q3d x 2 회분
4	5	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d x 2 회분
		항 PD-1 항체	100 $\mu$ g/마우스	i.p.	q3d x 2 회분

[0375]

[0376] [표 11]

연구 설계: PLC/PRF/5 마우스 이종이식 모델

처치	동물 수	약물	용량	투여 경로	투약 요법
1	7	APG-1387 비히클	-	i.v.	qd x 5 회분
2	7	APG-1387	5 mg/kg	i.v.	qd x 5 회분

[0377]

[0378]

마우스 비장, 배액 림프절, 및 종양 침윤 림프구에 대한 단일제제로서의 APG-1387의 효과를 MC38 모델에서 분석하였다. 도 14의 A에 나타낸 바와 같이, APG-1387은 비장 조직에서 이펙터 기억 CD8+ T세포(CD44+CD62L-CD3+CD8+T) 및 CD4+ T세포(CD44+CD62L-CD3+CD4+T)의 비율을 유의하게 상향조절하였다.

[0379]

NK세포 비율의 분석 결과, 단일제제로서의 APG-1387은 비장 및 림프절에서 NK세포의 비율에 유의한 영향을 미치지 않았지만, APG-1387은 종양 조직에서 NK세포의 비율을 유의하게 상향조절한 것으로 나타났다. 대조군 대비 차이는 통계적으로 유의하다(도 14의 B).

[0380]

이펙터 기억 T세포는 기억 특이적 항원을 가지며, 림포카인을 방출하는 효과가 있다. 동일한 항원이 재침입하면, 이펙터 기억 T세포는 빠르게 증식하여 항원을 파괴하고, 항원에 대한 신체의 면역력을 향상시킬 수 있다. APG-1387은 비장에서 이펙터 T세포(CD8+ 및 CD4+ T세포)의 비율을 증가시키며, 이는 또한 신체의 후천성 면역계 기능을 향상시킬 수 있다. NK세포는 선천성 및 후천성 면역계에서 중요한 세포독성 림프구이다. 이들은 악성 표적세포를 직접 죽이고 항원제시 세포 및 T세포와 상호작용하는 능력을 갖는다(Vivier et al., Science 331, 44-49). APG-1387은 종양 조직에서 NK세포의 비율을 상향조절하며, 이는 선천성 및 후천성 면역계를 활성화하는 역할을 나타낸다.

[0381]

ID8-Luc 마우스 난소암 모델에서, ID8-Luc 종양 마우스 복수 림프구에 대한 단일제제로서의 APG-1387과 항PD-1 항체의 효과 및 병용제제로서의 APG-1387과 항PD-1 항체의 효과를 조사하였다. 도 15에 나타낸 바와 같이, 결과는 이 모델에서 APG-1387 단독투여가 복수에서의 NK세포의 비율을 상향조절했음을 나타낸다(도 15의 A). 다른 독립적인 실험에서, APG-1387 및 항PD-1 항체의 개별 투여가 이펙터 기억 CD8+ T세포의 비율을 어느 정도 증가시켰지만, APG-1387과 항PD-1의 병용은 이를 상당히 증가시킨 것으로 나타났다. APG-1397 + 항PD-1 병용군과 대조군에서의 이펙터 기억 CD8+ T세포 비율의 차이는 통계적으로 유의했다( $P < 0.01$ , 도 15의 B).

[0382]

상기 결과는 APG-1387이 선천성 면역계를 강화하는 기능을 갖고 있으며, 항PD-1 항체와의 병용은 후천성 면역계의 기능을 더욱 향상시킬 수 있음을 나타낸다.

[0383]

PLC/PRF/5 마우스 간암 조직의 침윤 림프구 분석에서, APG-1387(5 mg/kg) 투여는 종양 침윤 CD45+ T세포 및 NK세포의 비율을 유의하게 증가시켰다(도 16). 이 결과는 APG-1387이 종양 침윤 NK세포의 수를 증가시키고 신체의 선천성 항종양 면역 기능을 향상시킬 수 있다는 것을 재확인시켜준다.

[0384]

**생체내 C57BL/6 마우스의 비장세포의 활성화에 대한 단일제제로서의 APG-1387의 효과**

[0385]

다음으로, 건강한 C57BL/6 마우스에게 다양한 투여량의 APG-1387을 매일 복강내 투여하였다. 각 군의 마우스는 3마리이다. 7일간의 연속 투여 후, 비장을 채취하여 단일 세포 부유액을 얻었다. NK세포, 대식세포, 수지상 세포, 및 T세포를 유세포 분석으로 분석하여 이들 하위세트의 비율을 얻고, 이에 따라 각 면역세포 하위집단에 대한 APG-1387의 효과를 평가하였다.

[0386] [표 12]

연구 설계

그룹	동물 수	약물	용량	투여 경로	투약 주기
1	3	APG-1387 비히클	-	i.p.	qd × 7회분
2	3	APG-1387	0.05 mg/kg	i.p.	qd × 7회분
3	3	APG-1387	0.2 mg/kg	i.p.	qd × 7회분
4	3	APG-1387	0.8 mg/kg	i.p.	qd × 7회분

[0387]

[0388]

결과는 도 17에 도시되어 있다. APG-1387의 3가지 투여군(0.05 mg/kg, 0.2 mg/kg, 및 0.8 mg/kg)은 비장에서의 이들 9가지 유형의 면역세포의 비율에 영향을 미치지 않았다(도 17의 A). 그러나, APG-1387의 투여량이 증가함에 따라, 비장세포 MHC-II의 평균 형광 강도도 점진적으로 증가했다. APG-1387은 0.2 및 0.8 mg/kg의 투여량에서 MHC-II 발현 수준을 크게 증가시켰다(도 17의 B).

[0389]

비장세포에서, MHC-II 발현 세포는 주로 대식세포, B세포, 및 수지상 세포와 같은 항원제시 세포를 포함한다. 주 조직적합 복합체(MHC) II 분자의 주된 기능은 처리된 항원(주로 외인성 항원)을 CD4+ T 림프구에 제시하는 것이다. 따라서, MHC II 분자는 항원 특이적 면역 반응을 시작하는 데 중요하다. APG-1387은 비장세포에서 MHC-II 분자의 발현을 증가시킬 수 있으며, 이는 APG-1387이 항원 특이적 면역 반응을 활성화하는 효과가 있음을 시사한다.

[0390]

**컷과 MC38 결장암의 마우스 피하 이종이식 모델에서의 항PD-1 항체 및 항IL-12 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과**

[0391]

앞서 언급한 바와 같이, APG-1387과 항PD-1 항체의 병용은 MC38 및 ID8-Luc와 같은 마우스 피하 이종이식 모델에서 유의한 시너지적 항종양 효과를 나타낸다. 마우스 비장, 림프절, 및 종양(복수) 침윤 림프구의 분석 결과, APG-1387 단독투여는 종양 조직 및 복수에서 NK세포의 수를 증가시킨 것으로 나타났다. 시험관내 세포 실험에서, APG-1387은 IL-12(APG-1387-PH-01)를 분비하도록 종양세포를 자극했다. IL-12는 IFN- $\gamma$ 을 분비하도록 T세포 및 NK세포를 자극하여 이들 세포의 증식 및 세포용해 활성을 향상시키는 항원제시 세포-유래(APC-유래) 사이토카인이다(Gately et al., Annu Rev Immunol 16, 495-521). APG-1387과 항PD-1 항체의 시너지적 항종양 효과가 IL-12에 의존적인지 여부를 추가로 확인하기 위해, MC38 모델에서 항IL-12 항체를 투여하여 IL-12 차단 실험을 수행하였다. 구체적인 투약 요법은 표 13을 참조.

[0392]

[표 13]

연구 설계: MC38 마우스 이종이식 모델

처치	동물 수	약물	용량	투여 경로	투약 요법
1	4	APG-1387 비히클	-	i.v.	q3d × 2회분
		이소형 대조군	100 $\mu$ g/마우스	i.p.	q3d × 2회분
2	4	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d × 2회분
		항 PD-1 항체	100 $\mu$ g/마우스	i.p.	q3d × 2회분
3	4	APG-1387	0.2 mg/kg	i.v.	q3d × 2회분
		항 PD-1 항체	100 $\mu$ g/마우스	i.p.	q3d × 2회분
		항 IL-12 항체	500 $\mu$ g/마우스	i.p.	q3d × 2회분

[0393]

[0394]

도 18에 나타난 바와 같이, 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387은 투여 후 22일째 유의한 항종양 효과를 나타냈지만, 항IL-12 항체와 병용하여 IL-12 기능을 차단한 후, 약물 병용의 항종양 효과는 현저하게 약화되었다(P < 0.05).

[0395]

상기 결과는 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 항종양 효과가 IL-12의 기능에 의존적임을 나타낸다. 이 실험의 결과는 또한, MC38 모델에서 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387의 시너지적 항종양 효과를 입증하였다.

[0396]

**결론**

[0397]

본 연구에서는 MC38 결장암 피하 이종이식, ID8-Luc 동소 난소 이종이식, 및 A20 림프종 피하 이종이식의 3가지 이종이식 모델에서 APG-1387과 항PD-1 항체의 병용의 항종양 효과를 평가하였다. 3가지 이종이식 모델의 실험 결과, 면역 체크포인트 억제제 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387은 시너지적 항종양 효과가 있으며 더 나은 생존



이익으로 해석될 수 있는 것으로 확인되었다. A20 모델에서, 항PD-1 항체 단독투여의 종양 관해율은 20%였고(1마리 동물의 종양이 완전 퇴행, 즉 CR 효능에 도달); 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387은 40%의 종양 관해율을 달성하였고(2마리의 동물이 CR에 도달), 이는 병용의 이점을 더욱 입증하였고; 항PD-1 항체 및 도세탁셀과 병용한 APG-1387은 종양 관해율을 80%까지 더욱 증가시켰고(2마리의 동물이 CR에 도달, 2마리의 동물이 부분 퇴행, 즉 PR 효능에 도달), 이는 이들 3가지 약물의 병용이 큰 잠재력을 가짐을 시사한다.

[0398] APG-1387과 항PD-1 항체의 시너지적 항종양 메커니즘을 조사하기 위해, MC38, ID8-Luc, 및 PLC/PRF/5 모델에서 일련의 종양 침윤 림프구 분석을 수행하였다. MC38 모델에서 APG-1387 단독투여는 비장 조직의 이펙터 기억 T세포의 수를 증가시킨 것으로 나타났다. ID8-Luc 모델에서, 항PD-1 항체와 병용한 APG-1387은 복수 샘플의 이펙터 기억 T세포의 수를 크게 증가시켰다. 가장 중요한 것은, APG-1387 단독투여가 상기 3가지 모델에서 종양 조직에서의 침윤 NK세포의 비율을 증가시켰다는 것이다. 이러한 결과는 APG-1387이 종양 조직 침윤 NK세포의 비율을 증가시켜 항PD-1 항체와 시너지적 항종양 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다. IL-12는 NK세포 활성화 및 사멸에 필요한 중요한 사이토카인이다. APG-1387과 항PD-1 항체의 항종양 효과는 항IL-12 항체가 IL-12 기능을 차단한 후 현저하게 약화되었고, 이는 APG-1387과 항PD-1 항체의 병용의 항종양 효과가 IL-12의 기능에 의존적임을 나타낸다. 추가로, APG-1387의 투여는 비장 분석시 건강한 마우스의 비장세포에서 MHC-II의 발현을 증가시키는 것으로 또한 확인되었다. 이러한 결과는 APG-1387이 이펙터 기억 T세포의 수, NK세포 비율의 증가, 및 면역세포에서의 MHC-II 분자 발현의 증가를 비롯한 여러 양태의 항종양 면역에 참여함으로써 항PD-1 항체와 시너지 작용을 할 수 있음을 나타낸다.

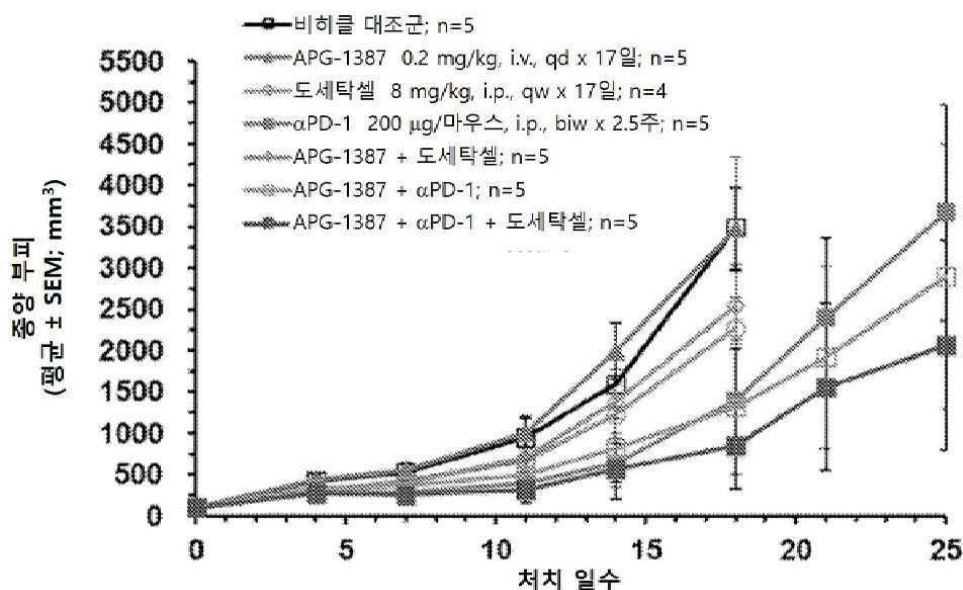
[0399] 현재, APG-1387은 진행성 고형 종양 및 혈액 악성종양 환자를 대상으로 1/2상 임상시험 진행 중이다 (NCT03386526). 상기 실험 결과는 단일약물로서의 APG-1387이 본 연구에 사용된 투약 및 투여 요법하에서 내약성이 양호했음을 나타낸다. 항PD-1 항체와 병용되었을 때, 실험 동물에서 유의한 체중 감소가 관찰되지 않았으며, 다른 유의한 약물 관련 독성도 관찰되지 않았다.

[0400] APG-1387은 다양한 종양의 임상시험 개발을 위해 면역 체크포인트 억제제 항PD-1 항체와 병용될 수 있다.

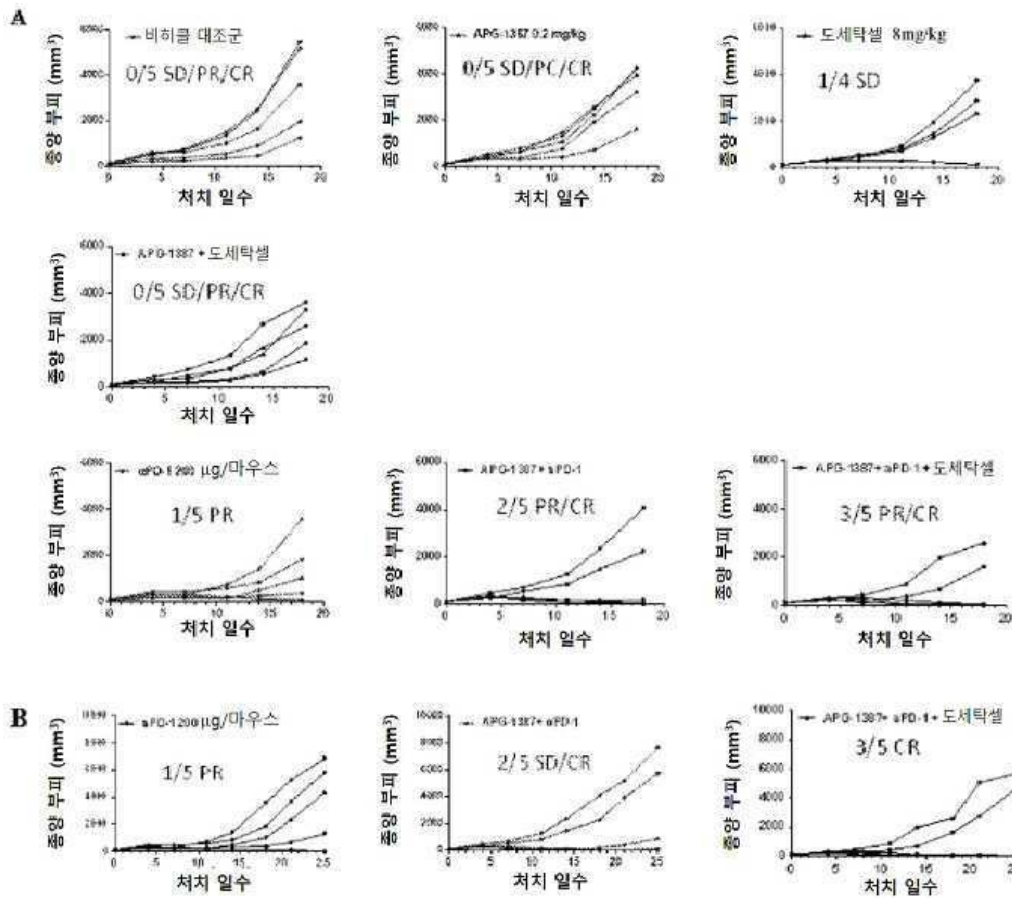
[0401] 본원에 설명된 것 이외에 본 발명의 다양한 변형에는 당업자에게 명백할 것이다. 이러한 변형에도 첨부된 청구 범위의 범주 내에 속하는 것이다. 본 출원에 인용된 각각의 참고문헌(모든 특허, 특허 출원, 논문, 서적, 및 기타 임의의 출판물 포함)은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

**도면**

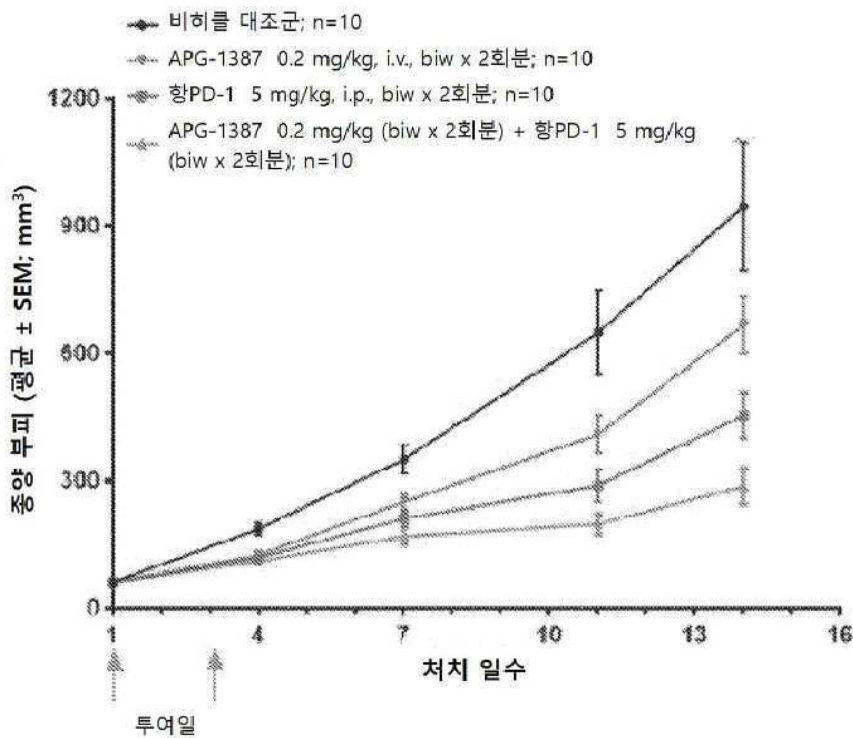
**도면1**



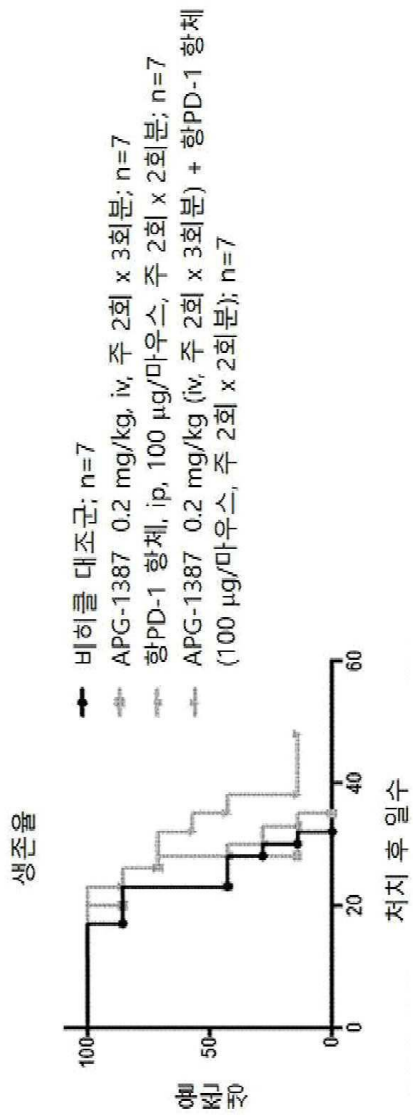
도면2



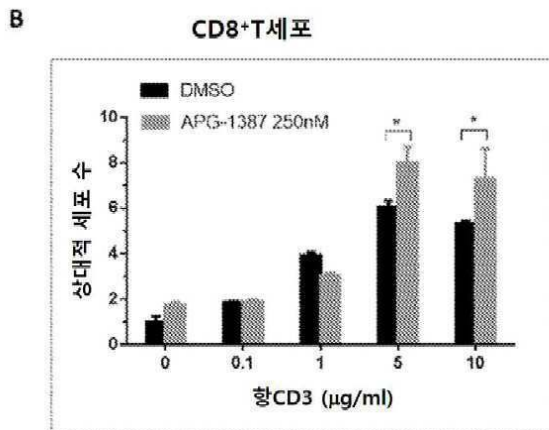
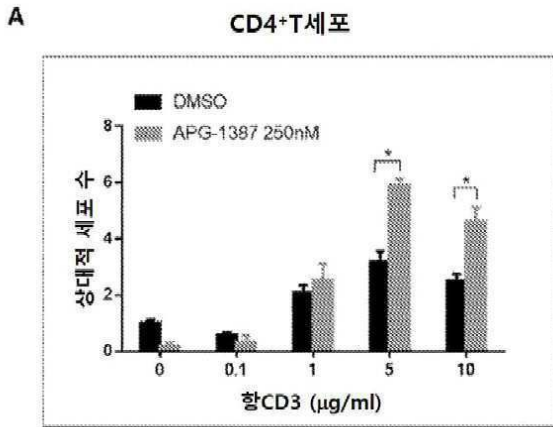
도면3



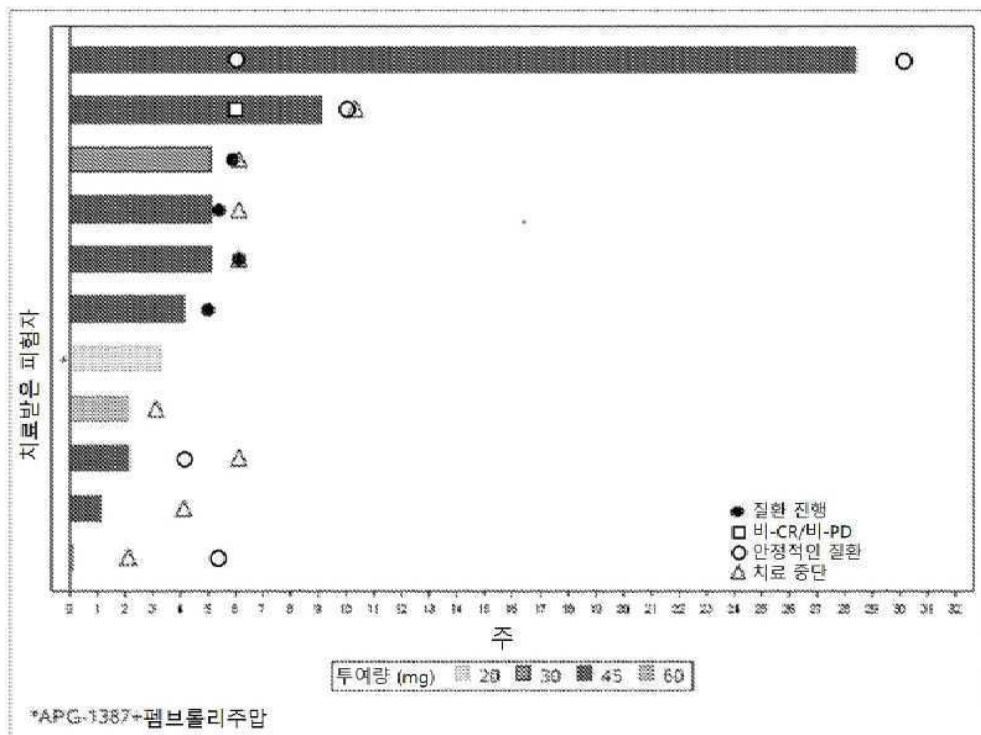
도면4



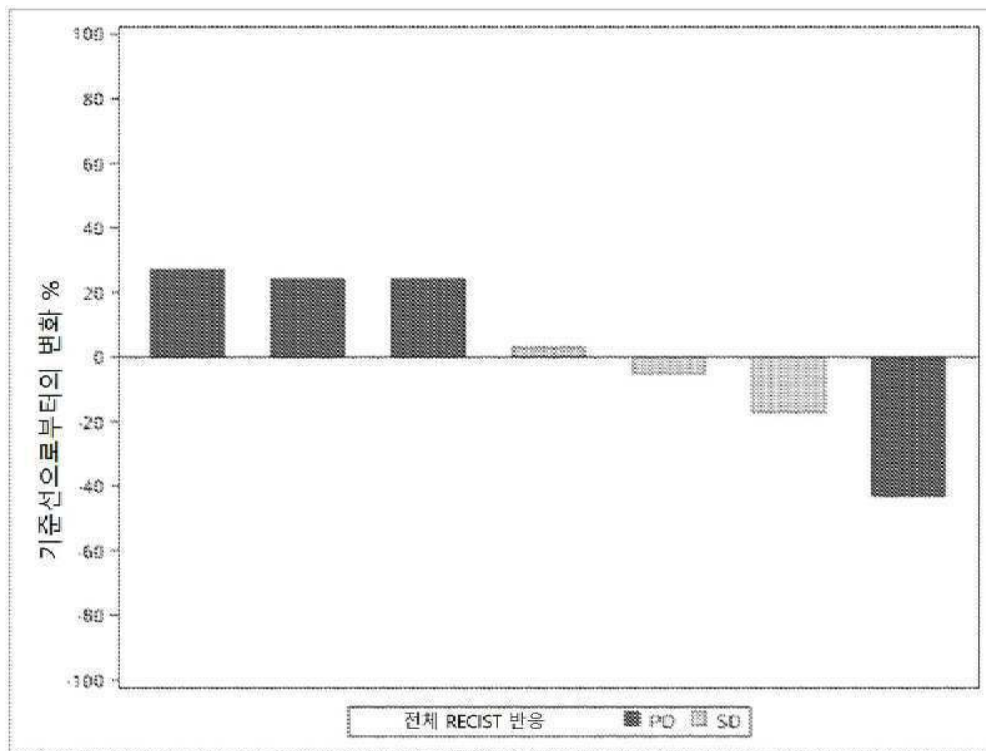
도면5



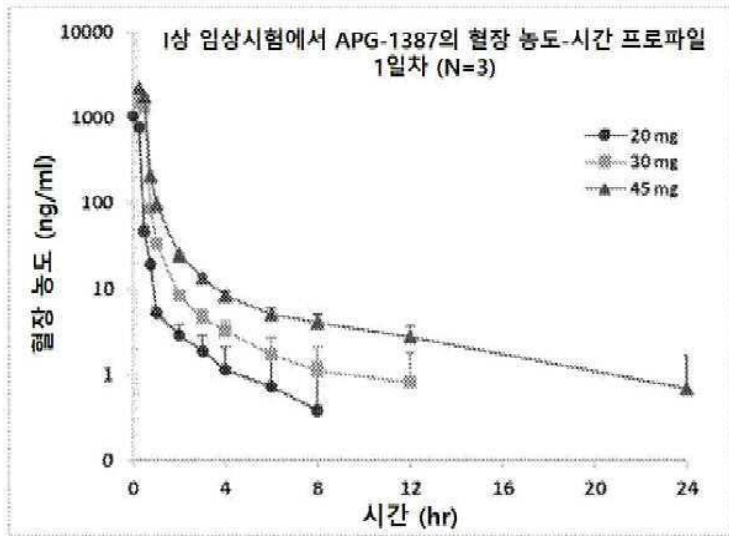
도면6



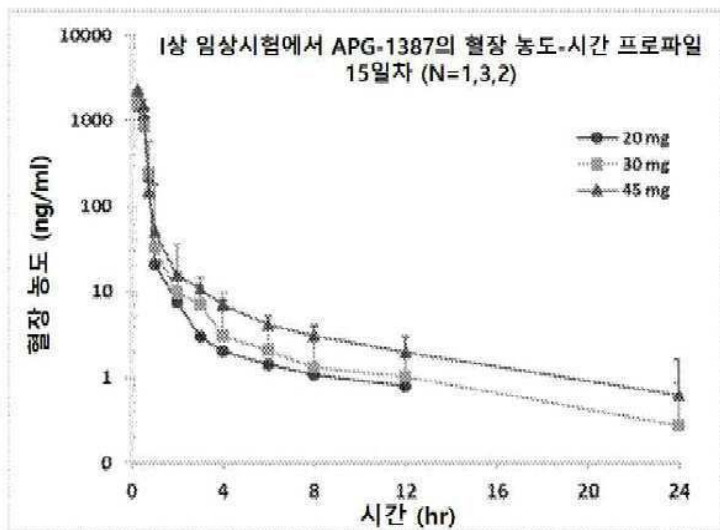
도면7



도면8

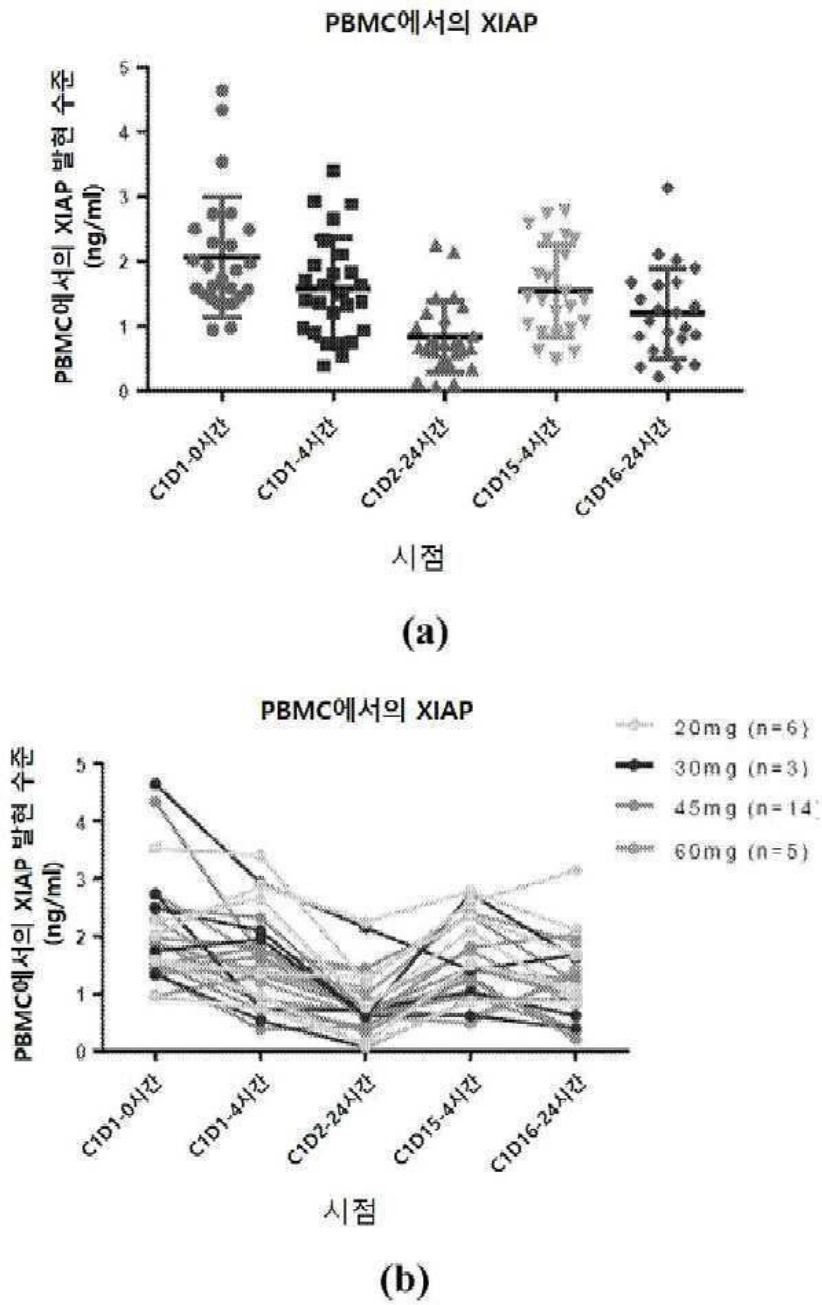


(a)



(b)

도면9



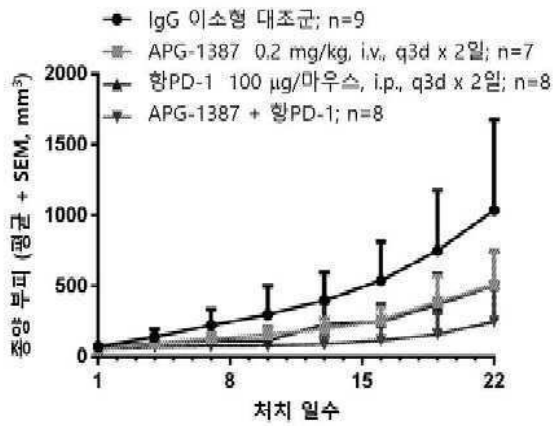
도면10

	IL-12/IL-23p40	IL-10	MCP-4	TRAC	IL-6	MDC	MIP-1β	MCP-1	IL-17A	IFN-γ	IFN-α	IFN-β	VEGF	IL-15	IL-16	IL-7	세포양산3		
001-022	1.72	1.01	0.80	0.42	0.81	0.57	0.68	0.75	1.32	1.19	1.24	1.50	1.25	0.98	1.05	1.12	0.74	1.20	
001-008	1.73	1.16	1.09	1.20	1.73	1.71	0.83	0.93	1.16	1.95	0.77	0.91	1.13	1.18	1.60	1.08	1.14	1.04	0.92
001-005	1.90	1.22	1.53	1.44	0.96	1.43	1.09	1.17	1.73	0.90	1.09	1.46	1.35	1.34	0.90	0.99	0.99	1.32	1.16
001-027	2.40	2.05	1.77	1.73	0.99	1.72	1.20	1.42	1.25	1.86	1.72	1.61	1.59	1.45	1.17	1.18	1.40	1.13	1.28
20mg 001-025	2.80	1.80	1.93	1.70	4.11	1.37	0.82	1.39	3.17	1.95	1.52	1.06	1.08	1.24	0.97	1.20	1.06	0.80	0.97
001-006	2.80	1.06	1.15	1.30	1.80	1.44	0.72	1.30	1.59	1.16	1.44	1.15	1.03	0.85	1.10	1.08	0.92	1.00	1.04
001-007	3.80	1.41	1.15	2.93	0.87	1.83	1.44	1.19	1.72	0.80	1.33	1.14	1.29	1.11	1.67	1.20	1.14	1.04	1.11
30mg 001-008	3.84	0.98	1.03	1.75	1.16	1.34	0.95	1.50	2.18	1.53	1.10	1.19	1.80	1.58	1.40	1.34	0.81	1.22	0.79
001-009	1.65	3.63	3.83	3.87	0.52	2.15	2.01	1.57	3.65	1.77	1.69	1.52	1.44	0.52	1.48	1.26	1.43	1.32	1.15
001-013	1.95	1.15	1.39	1.87	3.08	1.61	0.87	1.35	1.29	1.18	1.31	0.85	1.05	1.01	0.79	1.06	1.02	1.01	0.97
001-012	1.03	1.75	3.91	1.17	1.12	1.88	1.66	1.76	1.65	1.16	2.17	1.00	1.30	1.07	3.63	1.19	0.86	1.79	1.13
001-019	1.85	1.62	2.59	1.23	1.37	1.43	1.42	1.49	1.26	1.08	1.51	1.20	1.26	1.09	1.49	1.32	1.81	1.01	1.04
001-021	1.97	4.06	0.98	1.11	2.25	1.37	1.24	1.38	1.28	1.98	0.64	1.94	1.74	1.12	1.16	1.30	1.66	0.84	1.04
001-022	1.59	1.64	3.61	2.77	8.66	2.05	1.51	2.06	1.67	2.41	3.91	2.85	1.58	1.17	0.80	1.19	1.86	1.39	1.15
001-023	3.32	3.89	2.18	1.55	0.80	1.93	0.90	1.77	1.87	0.86	1.96	1.51	1.70	1.34	1.16	1.03	1.22	1.16	1.08
001-024	3.80	3.40	2.70	2.80	0.40	2.20	2.13	1.94	2.80	1.71	0.99	1.62	1.65	1.07	1.27	1.24	1.59	1.73	1.70
001-026	1.24	1.05	0.88	2.07	0.60	1.96	1.22	1.23	1.61	1.16	1.49	1.40	1.30	1.09	0.97	1.31	0.71	0.91	1.11
001-032	3.54	4.38	2.18	1.80	4.13	1.58	2.44	2.80	2.02	3.91	2.05	1.29	1.46	1.22	1.44	1.28	1.17	1.20	0.95
001-033	1.67	4.20	2.47	2.12	2.37	1.68	2.41	1.68	1.79	2.42	3.04	1.59	1.34	1.55	1.58	1.36	1.17	1.32	1.10
001-013	2.08	1.51	1.23	1.58	0.84	1.21	1.05	1.27	1.06	1.06	1.69	1.05	0.98	1.03	1.53	1.53	1.10	1.12	1.05
001-014	1.58	1.06	1.25	1.88	0.26	1.71	1.05	1.27	0.88	0.60	0.69	1.05	0.76	0.90	1.14	0.90	1.14	0.90	0.95
60mg 001-015	2.32	2.66	2.16	0.97	0.81	1.25	0.73	1.11	0.71	1.62	1.62	1.67	0.80	0.83	1.41	1.41	0.66	0.66	1.50



도면11

A

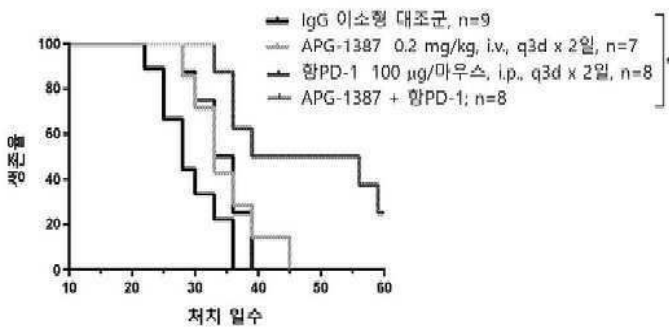


B

치치	22일째 RTV (평균)	22일째 T/C %	22일째 시너지 점수*
이소형 대조군	14.29	-	-
APG-1387 0.2 mg/kg	9.94***	69.6	-
항PD-1 100 µg/마우스	6.94***	48.6	-
APG-1387 + 항PD-1	4.38****	30.6	1.10

\*\*\*p < 0.0001, 이소형 대조군 대비, \*p < 0.05, APG-1387 단일제제군 대비, \*\*p < 0.05, 항PD-1 단일제제군 대비 ; \* 시너지 점수 : >1 시너지적, =1 상가적, <1 길항적

C



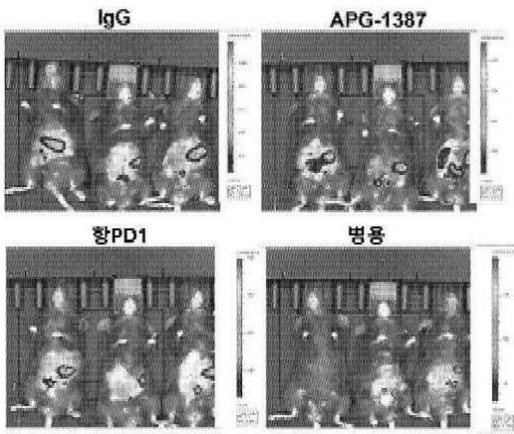
D

치치	중위 생존시간 (일)	연장 생존시간 (일)
음성 대조군	28.0	-
APG-1387 0.2 mg/kg	33.0	5.0
항PD-1 100 µg/마우스	34.5	6.5
APG-1387 + 항PD-1	47.5*	19.5

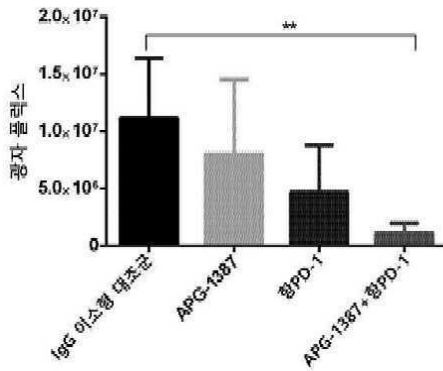
\*p < 0.05, 이소형 대조군 대비

도면12

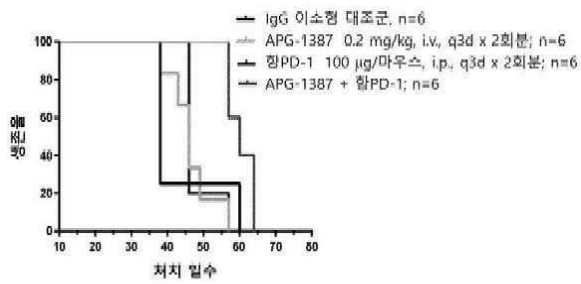
A



B



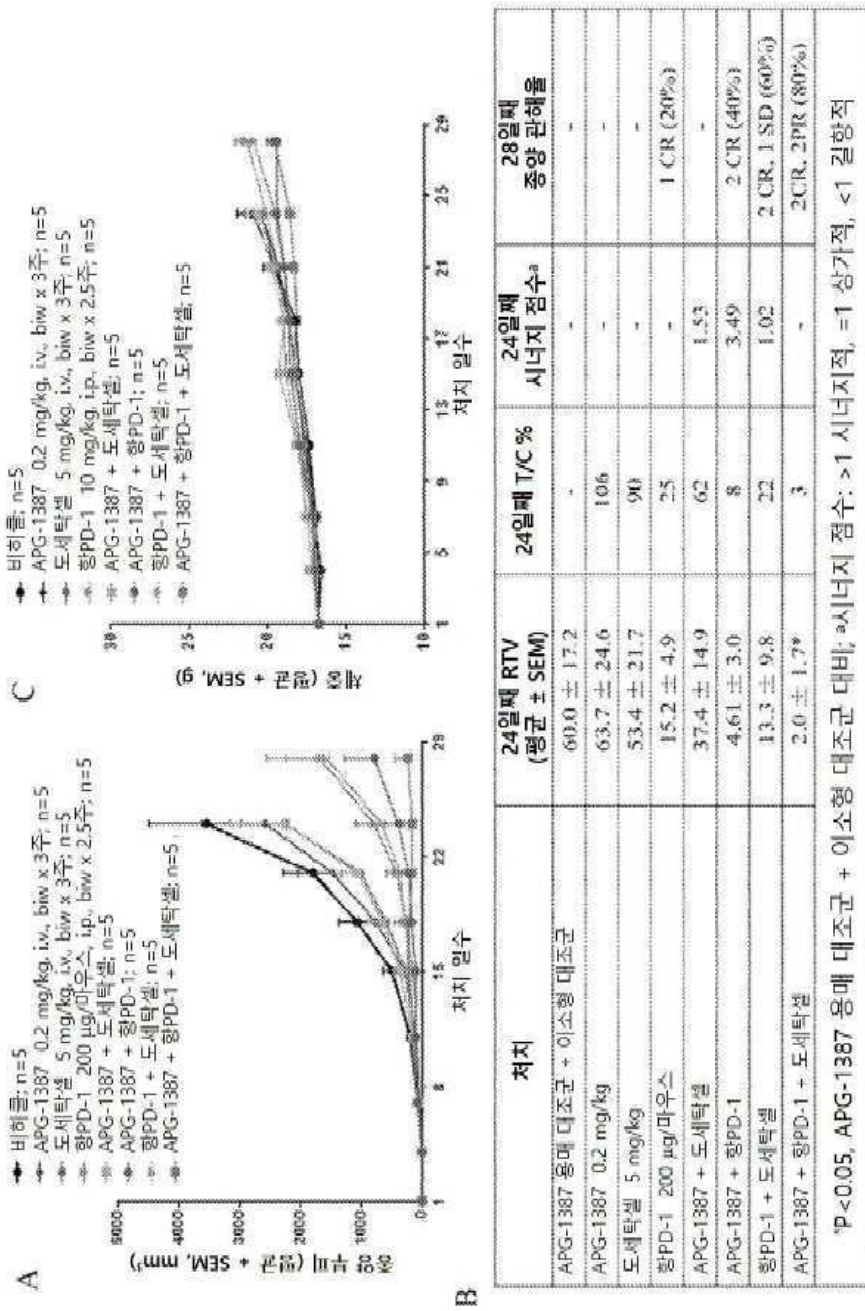
C



D

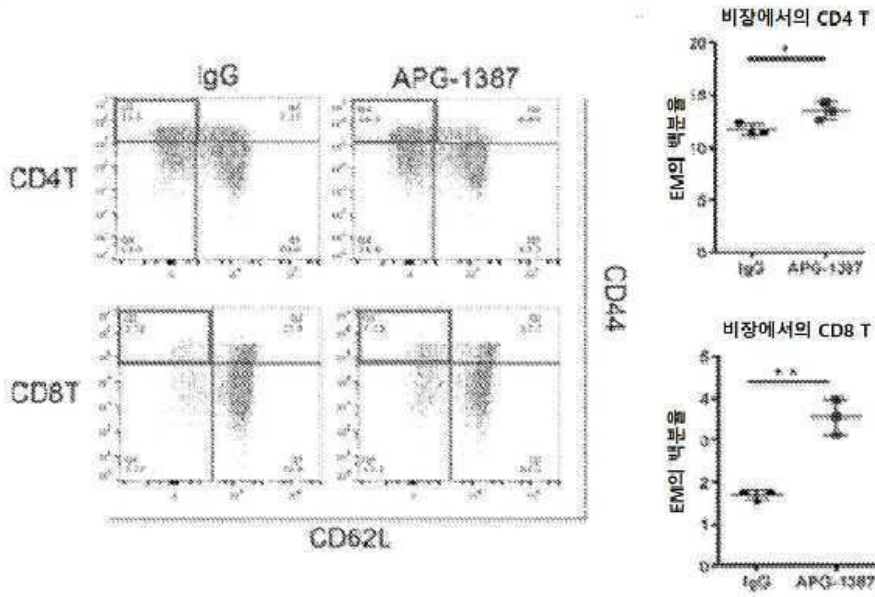
처치	중위 생존시간 (일)	연장 생존시간 (일)
이소형 대조군	38	-
APG-1387 0.2 mg/kg	46	8
항PD-1 100 µg/마우스	46	8
APG-1387 + 항PD-1	60	22

도면13

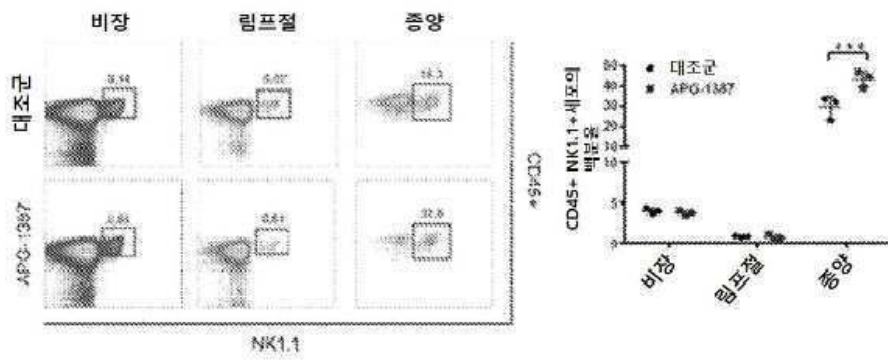


도면14

A

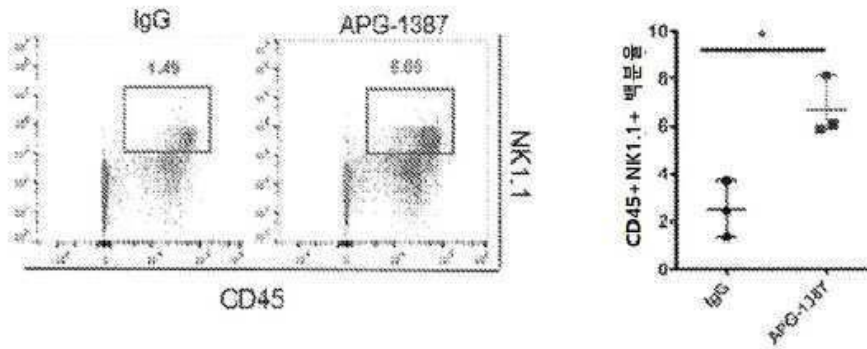


B

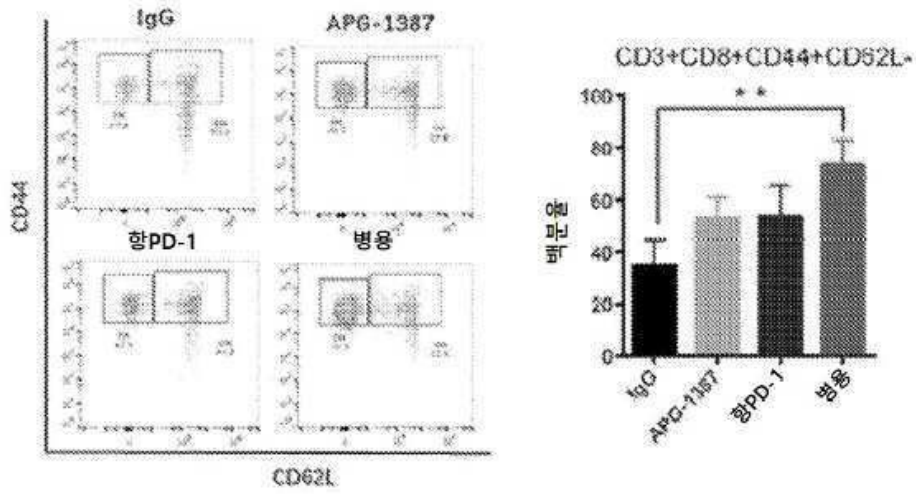


도면15

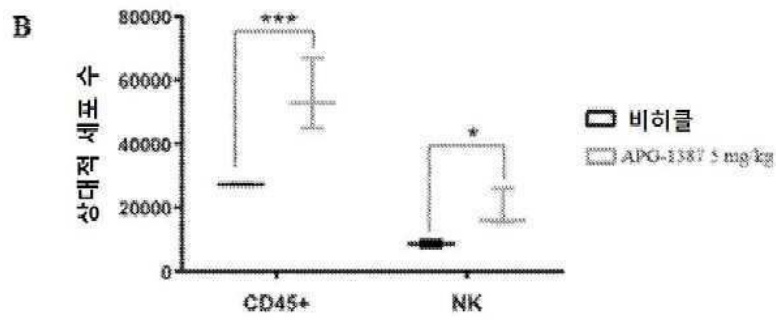
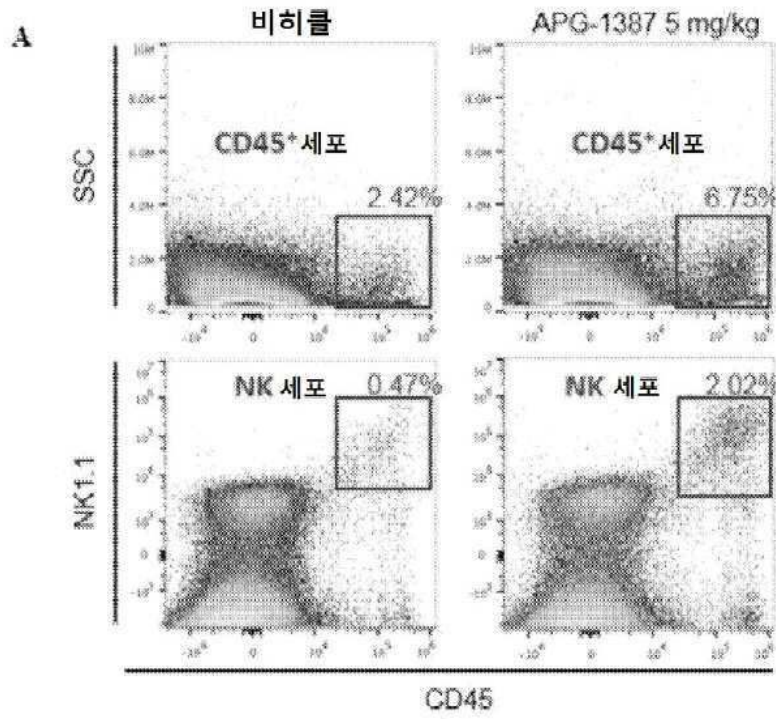
A



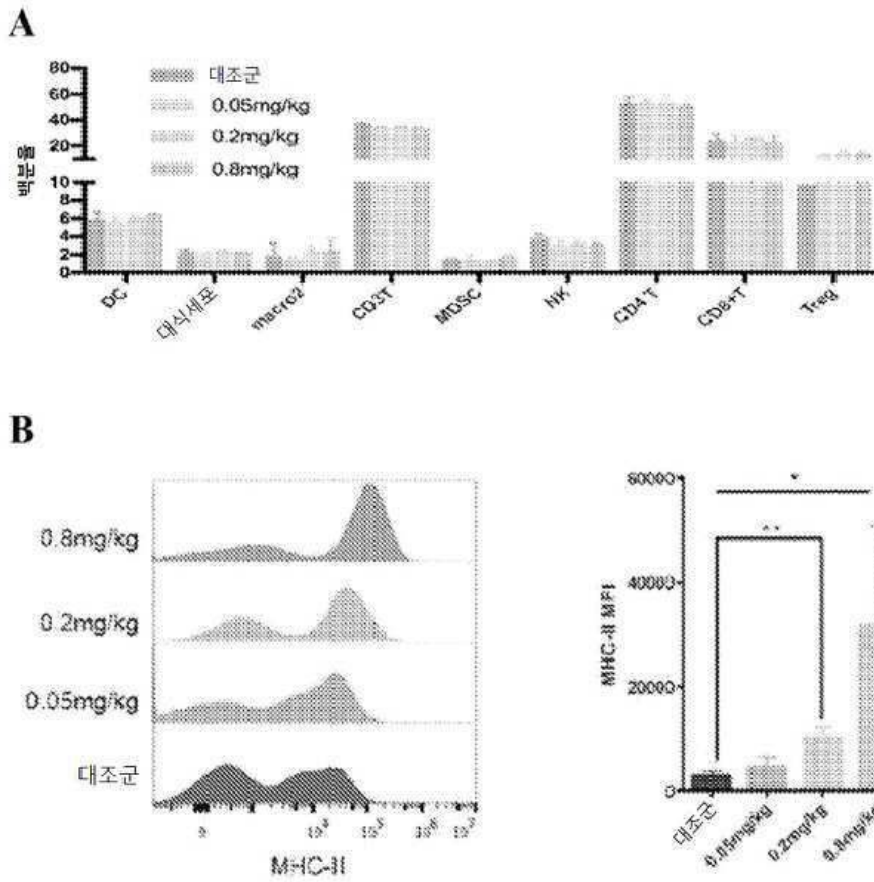
B



도면16



도면17



도면18

