(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0080141
(43) 공개일자 2022년06월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/664 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 37/02* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/664 (2013.01)
A61K 39/39575 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7015260
(22) 출원일자(국제) 2020년10월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년05월04일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/078458
(87) 국제공개번호 WO 2021/069686
국제공개일자 2021년04월15일
(30) 우선권주장
19306332.8 2019년10월11일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
인스티튜트 구스타브 루시
프랑스, 94800 빌레쥬프, 뤼 까밀레 데스물린스, 39
(72) 발명자
파치 안젤로
프랑스 92190 뫼동 뤼 데 베르뛰가댕 4
샤뻬 나딸리
프랑스 75015 파리 뤼 드제 30
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **암의 치료를 위한 옥사자포스포린의 유도체를 포함하는 신규 치료 병용물**

(57) 요 약

본 발명은 암의 치료 또는 예방을 위한 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제를 포함하는 신규 치료 병용물에 관한 것이다.

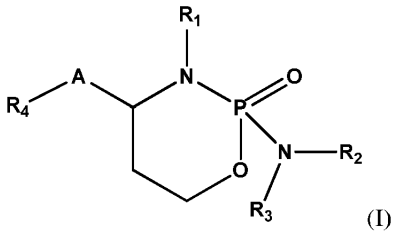
(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 37/02 (2018.01)
C07K 16/2818 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
(72) 발명자
페르페티니 장-뤽
프랑스 77100 모 아브뉘 갈리에니 15
들라우즈 쥘리아
프랑스 78955 까리에르 수 푸아지 쁠라스 생 블레즈 32

명 세 서

청구범위

청구항 1

면역 체크포인트 조절제와 병용하여 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위한, 하기 화학식 (I)의 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물:



(I)

(식에서,

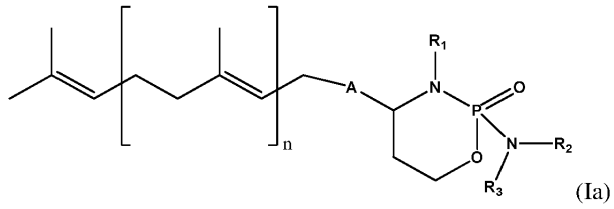
- A는 O, O-O, S, NH, NR_5 (여기서, R_5 는 알킬 기, 바람직하게 C_1-C_3 알킬 기임), 또는 500 $g.mol^{-1}$ 이하, 더 바람직하게 400 $g.mol^{-1}$ 미만의 분자량을 갖는 링커 기이고,

- R_1, R_2 및 R_3 은 독립적으로 -H, $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 할로겐 원자, 바람직하게 Cl, Br 또는 I, 더 바람직하게 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택되고,

- R_4 는 H이거나, 또는 하나 또는 몇 개의 헤테로원자, 예컨대 S, O 및 NH가 임의 개재되고, 독립적으로 할로겐 (예를 들어, F, Cl, Br, I), CN, CF_3, OH, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 히드록시알킬, C_1-C_6 알킬옥시, C_1-C_6 아미노알킬, C_1-C_6 할로게노알킬, $-C_2$-C_6 알콕시 알킬, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)R, -NHC(O)-NH-R, -NH-C(O)-R, -C(O)-NH-R, -NRR', -C(O)NRR', -NC(O)R, -NRC(O)R', 및 -SR (여기서, R 및 R'은 독립적으로 H 및 C_1-C_6 알킬로부터 선택됨)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환된, 2 내지 30개 탄소 원자의 포화 또는 불포화 사슬임).

청구항 2

제1항에 있어서, 옥사자포스포린 유도체는 하기 화학식 (Ia)의 것인 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물:



(Ia)

(식에서,

- n은 0 내지 3의 정수, 바람직하게 1 또는 2이고,

- A, R_1, R_2 및 R_3 은 제1항의 화학식 (I)의 화합물에 대해 정의된 바와 같음).

청구항 3

제2항에 있어서,

- n은 1 또는 2이고,

- A는 O, O-O, S, 및 -NH- 의 군으로부터 선택되거나, 또는

- 천연 또는 비-천연 아미노산, 디펩티드, 및 이의 유도체;

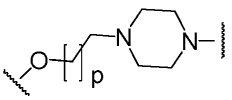
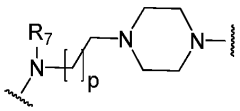
- 바람직하게 2 내지 6 단량체, 예를 들어 2, 3, 또는 4 단량체를 포함하는, 폴리에테르 기, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜;

- 예를 들어, 화학식 $-CR_7=N-NH-C(O)-$ (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬임)의 히드라존 링커,

- $-O-(C=S)-S-$, $-ONR_7-$, $-NR_7O-$ (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬임),

- $Y_1-(CH_2)_n-Y_2$ (여기서, n은 1 내지 8의 정수이고, Y_1 및 Y_2 는 독립적으로 -O-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-O-, $-C(O)NR_7-$, $NR_7C(O)-$, -OC(S)S-, -SC(S)O- $-NR_7-$, $-ONR_7-$, $-NR_7O-$, $NR_7C(S)S-$, $-SC(S)NR_7-$로부터 선택됨),

및

-  또는 

(여기서, R_7 은 H 및 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬의 군으로부터 선택되고, p는 0 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2 또는 3임)

로 이루어진 군으로부터 선택되는 스페이서 모이어티를 포함하거나, 또는 그로 이루어지고,

- R_1, R_2 및 R_3 은 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 독립적으로 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, A는 O-O, O, S 또는 NH이거나, 또는

- $-O-(C=S)-S-$, $-ONR_7-$, $-NR_7O-$ (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 CH_3 임),

- 시트룰린, 리신, 오르니틴, 알라닌, 페닐알라닌, 시스테인, 글리신, 발린, 류신 및 이의 디펩티드 예컨대 발린-시트룰린,

- $Y_1-(CH_2)_n-Y_2$, 및

- $Y_1-(CH_2-CH_2-O)_a-CH_2-CH_2-Y_2$

(여기서, Y_1 및 Y_2 는 상기 정의된 바와 같고, 바람직하게 독립적으로 O, NR_7, S, OC(O), C(O)O, NHCO, CONH (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 $-CH_3$ 임)로부터 선택되고, n은 1 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2, 3, 또는 4이고, a는 1 내지 3의 정수임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 모이어티인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 5

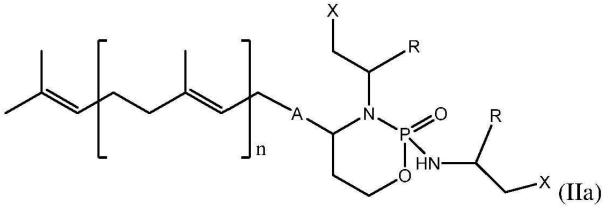
제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, R_1, R_2 및 R_3 은 독립적으로 -H, 및 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ (여기서, X는 할로겐 원자, 바람직하게 Cl, Br 또는 I, 더 바람직하게 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 6

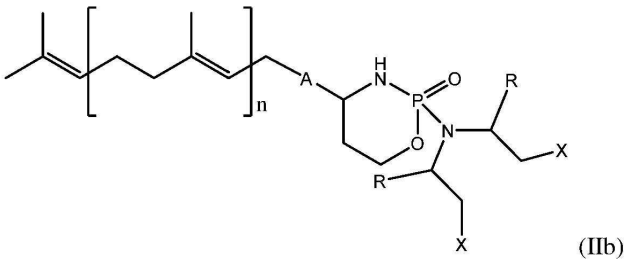
제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, R_1, R_2 및 R_3 은 독립적으로 -H, 및 $-CH_2-CH_2-X$ (여기서, X는 할로겐 원자, 바람직하게 Cl, Br 또는 I, 더 바람직하게 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 옥사자포스포린 유도체는 하기 화학식 (IIa) 및 화학식 (IIb)의 화합물의 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물:



(IIa)



(IIb)

(식에서,

- n은 1 또는 2이고,

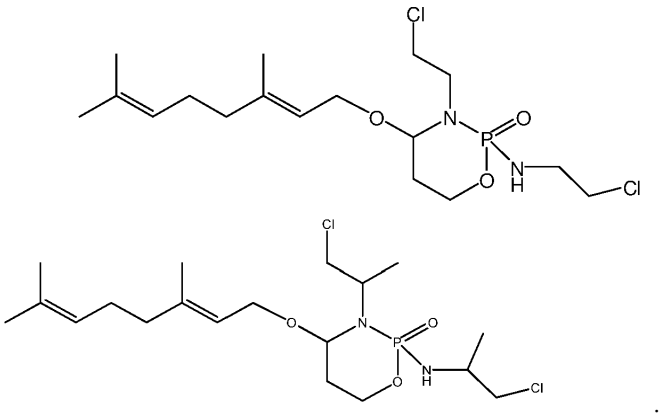
- R은 H 또는 CH_3 이고,

- X는 Cl 또는 Br이고,

- A는 O, S, -NH-, 시스테아민 링커, 발린-시트룰린 링커 및 시스테인 링커로 이루어진 군으로부터 선택됨).

청구항 8

제1항에 있어서, 옥사자포스포린 유도체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물:



.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역 체크포인트 조절제는 CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3, TIGIT 및 2B4/CD244 면역 체크포인트 경로로부터 선택되는 면역 체크포인트 경로의 억제제인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 10

제9항에 있어서, 면역 체크포인트 조절제는 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-TIGIT 항체, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또

는 용매화물.

청구항 11

제10항에 있어서, 면역 체크포인트 조절제는 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 캄렐리주맙, 신틸리맙, 스파르탈리주맙, 티슬렐리주맙, 피딜리주맙, JS001, 아벨루맙, 아테졸리주맙 (Tecentriq®), 둘발루맙 (Imfinzi®), BMS936559, MDX-1105, KN305, 이필리무맙, 트레멜리무맙, 티라귤로맙, 비보스톨리맙, 이의 변이체, 이의 항원-결합 단편 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역 체크포인트 조절제는 OX40 효현제인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 항에 있어서, 옥사자포스포린 유도체는 제라닐옥시-IFO이고, 면역 체크포인트 조절제는 PD1 억제제 및 PD-L1 억제제로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 14

제13항에 있어서, 면역 체크포인트 조절제는 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 이의 변이체, 이의 항원-결합 단편 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 하나의 항에 있어서, 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제는 대상체에게 동시에, 연속적으로 또는 별도로 대상체에게 동일한 투여 경로에 의해서 또는 상이한 투여 경로에 의해서 투여되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 있어서, 암은 만성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 호지킨 질환, 호지킨 및 비호지킨 림프종, 폐의 암, 삼중 음성 유방암을 포함하는 유방암, 비뇨생식기 암 예컨대 전립선, 방광, 고환, 자궁 경부 또는 난소의 암, 육종 예컨대 골육종 및 소아 연조직 육종을 포함한 연조직 육종, 신경아세포종, 골수종, 메르켈-세포 암종 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물.

청구항 17

바람직하게 제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 항에 정의된 바와 같은 옥사자포스포린 유도체, 및 바람직하게 제9항 내지 제14항 중 어느 하나의 항에 정의된 바와 같은 면역 체크포인트 조절제를 포함하는, 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위한 약학 조성물.

청구항 18

- 바람직하게 제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 항에 정의된 바와 같은 옥사자포스포린 유도체를 포함하는 제1 성분, 및

- 바람직하게 제9항 내지 제14항 중 어느 하나의 항에 정의된 바와 같은 면역 체크포인트 조절제를 포함하는 제2 성분

을 포함하는, 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위한 약학 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 암의 치료에 유용한 신규 치료 병용물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 옥사자포스포린은 연조직 종양 내지 림프종의 몇 개 유형의 암을 치료하기 위한 통상의 임상 실시에서 광범위하게 사용되는 알킬화제에 속한다. 그들은 여전히 몇가지 다화학요법 프로토콜의 초석이다. 옥사자포스포린은 질소 원자에 결합된 1개, 2개, 또는 3개 클로로에틸 기를 함유하는 이성질체 구조를 갖는, 이포스파미드 (IFO), 시클로포스파미드 (CPA) 및 트로포스파미드를 포함한다. 프로드러그로서, 이들 화합물은 특이적 간 시토크롬 P450 (CYP)에 의해 수행되는 물질대사 활성화를 요구한다. 이러한 활성화는 고리 개방 기전에 의해서 활성 약물, 즉 DNA 가교에 의해 세포독성을 나타내는 질소 머스타드를 방출하는 히드록실화된 중간체를 생산한다. IFO의 주요 활성화 경로는 CYP3A4에 의해 수행되고 4-히드록시-이포스파미드 (4-HO-IFO)를 유도시키는, C-4 탄소 원자에 대한 산화 반응을 포함한다. 4-HO-IFO는 호변이성체 평형 및 역-마이클 과정을 통해서 부수적으로 아크롤레인과 알킬화 머스타드를 생성시킨다. 아크롤레인은 출혈성 방광염을 특징으로 하는 비뇨기적 독성의 원인이다. 또한, 옥사자포스포린은 시토크롬, 특히 CYP2B6의 작용을 통해 분자의 측쇄의 산화에 의해 생성되는 대사산물인, 클로로아세트알데히드의 방출로 인해 신경독성 및 신장독성을 초래할 수도 있다. 환자에게 투여된 IFO의 오직 10 내지 50%만이 바람직한 알킬화 머스타드로 변형되는 반면에 투여된 IFO의 50% 내지 90%는 신장독성 및 신경독성 클로로아세트알데히드 (CAA)를 방출하는 것으로 평가된다 (Goren, Lancet, 1986, 2(8517):1219-20; Ben Abid, Oncologie, 2007, 9(11):751-7). 옥사자포스포린의 독성은 고용량 설정 프로토콜에서 증가되는 것으로 관찰되었다. 예를 들어, Le Cesne 등은 고용량 투여의 IFO (12 000 mg/m2의 누적 용량)는 진행성 난치성 연조직을 갖는 환자에서 효과적이었지만 심각한 독성을 일으켰다는 것을 보여주었다 (Le Cesne, JClinOncol, 1995, 13(7):1600-8). 소아 환자에서도 역시 그러한 사례가 있다. 통상적인 화학요법으로 사전 처치된, 골육종을 갖는 아동에서 수행된 임상 연구는 IFO 고용량의 IFO 투여 (14 000 mg/m^2의 누적 용량)가 환자의 30%에서 개선된 무질환 생존을 야기시켰지만 환자의 4분의 1에서 중증 신장독성을 야기시켰다는 것을 보여주었다 (Berrak, Pediatr Blood Cancer, 2005, 44(3):215-9). 결론적으로, 옥사자포스포린의 치료 지수의 증가는 중요한 임상적 문제이다.

[0003] 몇몇 연구팀은 독성 옥사조포스포린을 우회하기 위한 방법을 탐색하였다.

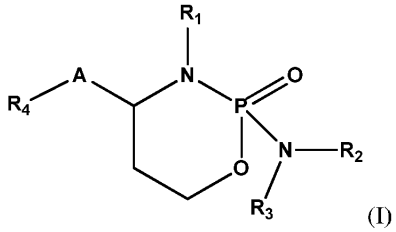
[0004] 아크롤레인-기반 독성을 약화시키기 위해 소듐 머캅토에탄술포네이트의 공동-투여가 제안된다. 다른 한편으로, 옥사자포스포린의 약학조절을 또한 조사하여 이들 독성을 피하고자 하였다. C-4 탄소 중심의 화학적 산화는 시토크롬 P450에 의한 물질대사를 겪지않고 알킬화 머스타드를 방출할 수 있는 사전 활성화된 유사체를 제공하기 위해 제안되었다. 많은 유도체, 예컨대 4-메톡시 유도체 (Paci *et al.*, 2001, *Bioorg Med Chem Lett*, **11**, 1347-1349)가 이미 제조되었지만 그들 대부분은 추가 개발을 위해서는 너무 불안정하거나 또는 IFO 사용에 비해 장점이 없는 것으로 확인되었다.

[0005] 특허 출원 공개 번호 WO2012/076824는 C-4 탄소에 스쿠알레노일 라디칼을 포함하는 SQ-IFO 및 SQ-티오-IFO를 포함하는 몇몇 이포스파미드 유도체를 개시한다. 이들 화합물은 몇몇 암성 세포에 대해 세포독성을 나타내고 이의 긴 소수성 꼬리부 덕분에 나노입자로 자가-구조화될 수 있다고 확인되었다. 특허 출원 공개번호 WO2015/173367은 C-4 탄소에 제라닐 라디칼을 포함하는 옥사자포스포린의 유도체, 예컨대 제라닐옥시-이포스파미드 (제라닐옥시-IFO, G-IFO)를 개시한다. 이러한 화합물은 시험관 내에서 종양 세포의 거대 패널에 대해 세포독성이고, 횡문근육종의 쥐 모델에서 종양 성장을 방지하는 것으로 확인되었다. 또한 정맥내 경로를 통해서 마우스에게 주사되었을 때, 제라닐옥시-IFO는 알킬화 머스타드를 자발적으로 방출하는 4-히드록시-이포스파미드 대사산물로 신속하게 전환되었다는 것을 또한 보여주었다.

[0006] 그러나, 여전히 암의 치료를 위한 새로운 치료 방법의 요구가 존재한다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 암을 치료하거나 또는 예방하기 위해서 면역 체크포인트 조절제와 병용하는 하기 화학식 (I)의 옥사자포스포린 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물의 용도에 관한 것이다:



(I)

[0008]

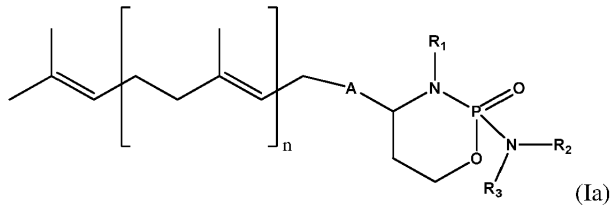
[0009] 식에서,

[0010] - A는 O, O-O, S, NH, NR_5 (여기서, R_5 은 알킬 기, 바람직하게 C_1-C_3 알킬 기임), 또는 500 $g.mol^{-1}$ 이하, 더 바람직하게 400 $g.mol^{-1}$ 미만의 분자량을 갖는 링커 기이고,

[0011] - R_1, R_2 및 R_3 은 독립적으로 -H, $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 할로겐 원자, 바람직하게 Cl, Br 또는 I, 더 바람직하게 Br 또는 Cl이고,

[0012] - R_4 는 H이거나 또는 하나 또는 몇 개의 헤테로원자 예컨대 S, O 및 NH가 임의 개재되고, 독립적으로 할로겐 (예를 들어, F, Cl, Br, I), CN, CF_3, OH, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 히드록시알킬, C_1-C_6 알킬옥시, C_1-C_6 아미노알킬, C_1-C_6 할로게노알킬, $-C_2$-C_6 알콕시 알킬, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)R, -NHC(O)-NH-R, -NH-C(O)-R, -C(O)-NH-R, -NRR', -C(O)NRR', -NC(O)R, -NRC(O)R', 및 -SR로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환되는, 2 내지 30개 탄소 원자의 포화 또는 불포화 사슬이고, 여기서 R 및 R' 은 H 및 C_1-C_6 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0013] 일부 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 하기 화학식 (Ia)의 화합물, 및 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물이다:



(Ia)

[0014]

[0015] 식에서,

[0016] - n은 0 내지 3의 정수, 바람직하게 1 또는 2이고,

[0017] - A, R_1, R_2 및 R_3 은 제1항의 화학식 (I)의 화합물에 대해 정의된 바와 같다.

[0018] 일부 추가 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 화학식 (Ia)의 화합물로서, 식에서,

[0019] - n은 1 또는 2이고,

[0020] - A는 O, O-O, S, 및 -NH- 의 군으로부터 선택되거나, 또는

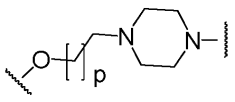
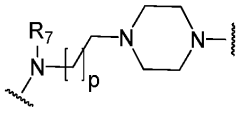
[0021] - 천연 또는 비-천연 아미노산, 디펩티드, 및 이의 유도체;

[0022] - 바람직하게 2 내지 6 단량체, 예를 들어 2, 3, 또는 4 단량체를 포함하는, 폴리에테르 기, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜;

[0023] - 예를 들어, 화학식 $-CR_7$=N-NH-C(O)- (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬임)의 히드라존 링커,

[0024] - -O-(C=S)-S-, $-ONR_7$-, $-NR_7O$- (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬임),

[0025] - Y_1-$(CH_2)_n$-Y_2 (여기서, n은 1 내지 8의 정수이고, Y_1 및 Y_2 는 독립적으로 -O-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-O-, $-C(O)NR_7$-, $NR_7C(O)$-, -OC(S)S-, -SC(S)O- $-NR_7$-, $-ONR_7$-, $-NR_7O$-, $NR_7C(S)S$-, $-SC(S)NR_7$- 으로 이루어진 군으로부터선택됨), 및

[0026] -  또는 

[0027] (여기서, R_7 은 H 및 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬의 군으로부터 선택되고, p는 0 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2 또는 3임)

[0028] 으로부터 선택되는 스페이서 모이어티를 포함하거나, 또는 그로 이루어지고,

[0029] - R_1, R_2 및 R_3 은 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고, 2개의 다른 나머지 기는 독립적으로 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)로부터 선택된다.

[0030] 일부 구현예에서, 화학식 (I) 또는 (Ia)의 옥사자포스포린은 A가 O, O-O, S 또는 NH이거나, 또는

[0031] - $-O-(C=S)-S-$, $-ONR_7-$, $-NR_7O-$ (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 CH_3 임),

[0032] - 시트룰린, 리신, 오르니틴, 알라닌, 페닐알라닌, 시스테인, 글리신, 발린, 류신 및 이의 디펩티드 예컨대 발린-시트룰린,

[0033] - $Y_1-(CH_2)_n-Y_2$, 및

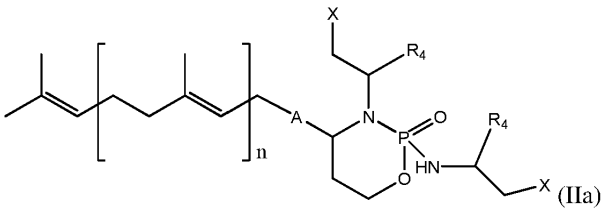
[0034] - $Y_1-(CH_2-CH_2-O)_a-CH_2-CH_2-Y_2$

[0035] (여기서, Y_1 및 Y_2 는 상기 정의된 바와 같고, 바람직하게 독립적으로 O, NR_7, S, OC(O), C(O)O, NHCO, CONH (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 $-CH_3$임)로부터 선택되고, n은 1 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2, 3, 또는 4이고, a는 1 내지 3의 정수임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 모이어티이다.

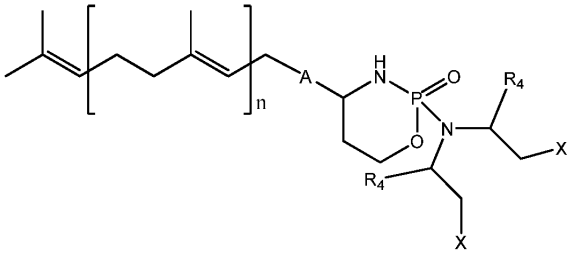
[0036] 일부 다른 구현예에서, 화학식 (I) 또는 (Ia)의 옥사자포스포린은 R_1, R_2 및 R_3 이 독립적으로 -H, 및 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ (여기서, X는 할로겐 원자, 바람직하게 Cl, Br 또는 I, 더 바람직하게 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0037] 다른 구현예에서, 화학식 (I) 또는 (Ia)의 옥사자포스포린은 R_1, R_2 및 R_3 이독립적으로 -H, 및 $-CH_2-CH_2-X$ (여기서, X는 할로겐 원자, 바람직하게 Cl, Br 또는 I, 더 바람직하게 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0038] 일부 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 하기 화학식 (IIa) 및 화학식 (IIb)의 화합물, 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물의 군으로부터 선택될 수 있다:



(IIa)



(IIb),

[0039]

[0040] 식에서,

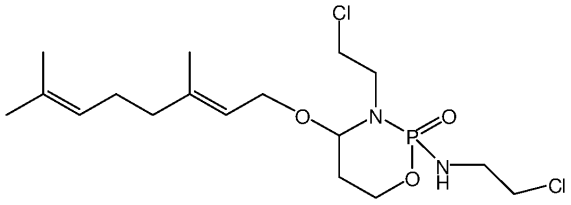
[0041] - n은 1 또는 2이고,

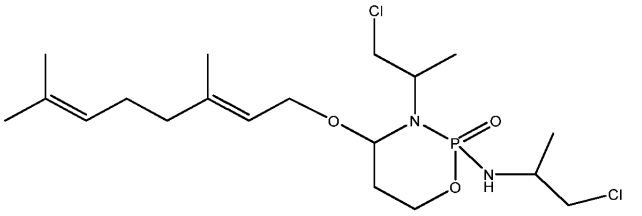
[0042] - R4는 H 또는 CH_3 이고,

[0043] - X는 Cl 또는 Br이고,

[0044] - A는 O, S, -NH-, 시스테아민 링커, 발린-시트룰린 링커 및 시스테인 링커로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0045] 예를 들어, 옥사자포스포린 유도체는 하기 화학식의 화합물, 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0046] 

[0047] 
.

[0048] 면역 체크포인트 조절제는 억제성 면역 체크포인트 경로의 면역 체크포인트 조절제일 수 있다. 예를 들어, 면역 체크포인트 조절제는 CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3, TIGIT 및 2B4/CD244 면역 체크포인트 경로로부터 선택되는 면역 체크포인트 경로의 억제제, 바람직하게 CTLA4 면역 체크포인트 경로 및 PD1 면역 체크포인트 경로의 억제제일 수 있다.

[0049] 예를 들어, 면역 체크포인트 조절제는 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-TIGIT 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 이러한 면역 체크포인트 조절제의 예는 제한없이, 펨브롤리주맙 (Keytruda®), 니볼루맙 (Opdivo®), 세미플리맙 (Liptayo®), 캄렐리주맙, 신틸리맙, 스파르탈리주맙, 티슬렐리주맙, 피딜리주맙, JS001, 아벨루맙 (Bavencio®), 아테졸리주맙 (Tecentriq®), 둘발루맙 (Imfinzi®), BMS936559, MDX-1105, KN305, 이필리무맙 (Yervoy®), 트레멜리무맙, 티라귤로맙, 비보스톨리맙, 이의 변이체, 이의 항원-결합 단편 및 이의 조합을 포괄한다.

[0050] 다른 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 OX40 효현제이다.

[0051] 추가 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 LAG3 억제제 및 TIM-3 억제제, 예를 들어, 항-LAG3 항체 및 항-TIM-3 항체로부터 선택된다.

[0052] 본 발명의 일부 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 제라닐옥시-IFO이고, 면역 체크포인트 조절제는 PD1 억제제 및 PD-L1 억제제로부터 선택된다. 예를 들어, 면역 체크포인트 조절제는 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 이의 변이체, 이의 항원-결합 단편 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0053] 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제는 대상체에게 동시에, 연속적으로 또는 별도로, 대상체에게 동일한 투여 경로에 의해서 또는 상이한 투여 경로에 의해서 투여될 수 있다.

[0054] 암은 임의 유형일 수 있고, 만성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 호지킨 질환, 호지킨 및 비호지킨 림프종, 폐의 암, 삼중 음성 유방암을 포함하는 유방암, 비뇨생식기 암 예컨대 전립선, 방광, 고환, 자궁 경부 또는 난소의 암, 육종 예컨대 골육종 및 소아 연조직 육종을 포함한 연조직 육종, 신경아세포종, 골수종, 메르켈-세포 암종 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0055] 본 발명은 또한 상기 정의된 바와 같은 옥사자포스포린 유도체, 및 바람직하게 상기 정의된 바와 같은 면역 체크포인트 조절제를 포함하는, 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위한 약학 조성물에 관한 것이다.

[0056] 본 발명의 추가 목적은 바람직하게 상기 정의된 바와 같은 옥사자포스포린 유도체를 포함하는 제1 성분, 및 상기 정의된 바와 같은 면역 체크포인트 조절제를 포함하는 제2 성분을 포함하는, 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위한 약학 키트이다.

도면의 간단한 설명

[0057] 도 1은 생체내에서 IFO 및 G-IFO의 물질대사를 도시한다.

도 2. 저용량의 G-IFO (제라닐옥시-IFO)는 T 세포 면역성을 촉진하였고 마우스에서 종양-성장을 지연시켰다. MCA205 종양-보유 마우스는 G-IFO (eq. 100 mg/kg) 또는 CPA (100 mg/kg) 또는 비히클 (DMSO/Tween 80/NaCl 0.9% (5/5/90,v/v/v))의 단일 i.p. 주사로 처치되었다. (A) 7일 이후에, 마우스를 희생시켰고 비장을 수집하였다. 림프구는 유세포측정 방법을 사용하여 기계적 해리 이후에 피장에서 검출되었다. 비장세포, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포 및 Treg 세포의 절대수. 그래프는 1회 실험의 데이터를 도시한다 (n=3-4 마우스/그룹). 사분위수간으로 중앙값이 표시된다. (B) 7일 이후에, 마우스를 희생시키고 종양을 수집하였다. 림프구는 유세포측정 방법을 사용해 기계적 해리 이후에 종양에서 검출되었다. 비장세포, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, Treg 세포 및 CD8+ T 세포/Treg 비율의 절대수. 그래프는 1회 실험의 데이터를 도시한다 (n=6 마우스/그룹). 사분위수간으로 중앙값이 표시된다. (C) 처치 후 7일에, 마우스를 희생시켰고 비장을 수집하였다. 비장세포는 항-CD3ε과 48시간 동안 37℃에서 인큐베이션되었다. 상청액을 수확하였고 (좌측 패널) IFNɣ, (중간 패널) IL-17A, 및 (우측 패널) IL-6의 농도는 ELISA로 분석하였다. 그래프는 1회 실험의 데이터를 도시한다 (n=6 마우스/그룹). 사분위수간으로 중앙값이 도시된다. (D) 종양 부피는 2일 내지 3일 마다 측정되었고, VTDi는 처치 개시일의 종양 부피에 상응하고 VTDx는 종양 부피에 상응한다. VTDx 대 VTDi 비율 (VTDx/VTDi)은 1회 실험으로부터 도시된다 (n=6 마우스/그룹). 그래프는 평균 ± SEM을 도시한다. (A,B,C) 크러스컬-왈리스 검정을 사용한 통계 분석은 95% CI에서 유의차를 의미하였다. (D) 2원 ANOVA 검정을 사용한 통계 분석은 95% CI에서 유의차를 의미하였다. (A,B,C,D) 분석의 탐색적 성분때문에 다중 비교에 대한 조정은 이루어지지 않았다. *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001; ****, p<0.0001.

도 3. 병용 요법 항-PD1 mAb 및 G-IFO는 강력한 항종양 효과를 유도하였다. MCA205 종양-보유 마우스는 저용량 (150 mg/kg) 또는 고용량 (300 mg/kg)의 IFO 150, 저용량 (eq. 100 mg/kg)의 G-IFO 또는 비히클의 단일 i.p. 주사로 주사되었다. 항-PD1 Mab 또는 이의 이소타입 대조군 IgG2와 병용은 200 또는 250 ㎍/마우스의 3회 i.p. 주사로 수행되었다. 회색 화살표는 비히클 또는 화학요법 주사르르 나타낸다; 검은색 화살표는 IgG2 또는 항-PD1 주사를 나타낸다. 종양 부피는 2일 내지 3일 마다 측정되었고; 종양 부피는 2일 내지 3일 마다 측정되었다. VTDx는 X일에 종양 부피에 상응한다. 마우스는 방법에 기술된 바와 같이, 그들이 경계 지점에 도달했을 때 희생시켰다. (A) 그래프는 이소타입 대조군 IgG2 또는 항-PD1 mAb와 병용하여 처치된 그룹에 대해 평균 ± SEM (그룹 당 n=6 마우스)으로서 VTDx 대 VTDi 비율 (VTDx/VTDi)을 도시하였다. (위 패널) 종양 성장 운동학 및 (아래 패널) VTD23/VTDi가 도시된다. 2원 ANOVA 검정을 사용한 통계 분석은 95% CI에서 유의차를 의미하였다. 분석의 탐색적 성분 때문에 다중 비교에 대한 조정은 이루어지지 않았다. *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001; ****, p<0.0001. (B) 그래프는 개시 부피의 5배에 도달하는 시간을 도시하였다. 사분위수간으로 중앙값이 표시된다. 만-위트니 검정을 사용한 통계 분석은 95% CI에서 유의차를 의미하였다. *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001; ****, p<0.0001.

도 4. IFO, CPA 또는 G-IFO에 처치된 종양-보유 마우스의 비장에서 용량-의존적 B 세포 고갈. C57Bl/6은 IFO (150 mg/kg) 또는 CPA (CPM 100 mg/kg) 또는 G-IFO (eg. 100 또는 150 mg/kg) 또는 비히클 (DMSO/Tween 80/NaCl 0.9% (5/5/90,v/v/v)의 단일 i.p. 주사로 주사되었다. 7일 이후에, 마우스를 희생시키고, 비장을 수집하였다. B 세포는 유세포측정 방법을 사용하여 기계적 해리 이후에 비장에서 검출되었고 정량되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0058] 본 발명은 암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제에 의한 새로운 병용 요법에 관한 것이다.

[0059] 실시예 섹션에 표시된 바와 같이, 발명자는 옥사자포스포린 유도체 예컨대 제라닐옥시-IFO (G-IFO)가 저용량으로 사용될 때 생체내에서 면역조절 활성을 나타낼 수 있다는 것을 입증하였다 (도 2). 보다 상세하게, 본 발명자는 저용량의 G-IFO는 Th1 편극을 선호하였고 종양-보유 마우스에서 T 세포-의존적 항종양 효과를 유도하였다는 것을 확인하였다.

[0060] 더 나아가서, 본 발명자는 본 발명의 옥사자포스포린 유도체는 이러한 면역요법에 저조하게 반응성인 것으로 알려진 MCA205 종양 모델에서 면역 체크포인트 면역요법의 효능을 유의하게 증강시킨 것을 확인하였다.

[0061] 보다 상세하게, 본 발명자는 G-IFO가 항-PD1 mAb와 병용하여 사용될 때 종양 성장을 고도로 감소시켰다는 것을 보여주었다 (도 3). 게다가, 개시 부피의 5배에 도달하는 시간은 G-IFO eq. 100 mg/kg 단독 및 항-PD1 mAb 단독과 비교하여, G-IFO eq. 100 mg/kg + 항-PD1 mAb를 사용하여 고도로 지연되었다. 대체로, 이들 결과는 종양 성장에 대한 G-IFO와 항-PD1 항체의 상승적 효과를 분명하게 입증한다 (도 3B). 특히, 이러한 상승 효과는 이포스파미드 (IFO)와 항-PD1 항체의 치료적 병용물에 대해서 관찰되지 않았다 (도 3).

[0062] 본 발명자는 마우스에서 G-IFO의 i.p. 주사 이후에 면역 변형을 더욱 면밀히 조사하였다. B 세포 개체군은 저용량의 G-IFO (eq. 100 mg/kg)에서도 옥사자포스포린에 의해 매우 영향받는 것으로 보여서 B 세포의 고민감성을 강조한다. 이러한 B 세포 감소는 면역 체크포인트 면역요법으로 빈번하게 관찰되는 면역-관련 유해 사례 (irAE)를 방지 또는 감소시킴으로써, 면역 체크포인트 억제제와 본 발명의 옥사자포스포린 유도체를 사용하는 경우의 장점일 수 있다.

[0063] 따라서, 본 발명의 제1 목적은 암의 예방 또는 치료를 위한 면역 체크포인트 조절제와 병용한 옥사자포스포린 유도체의 용도이다.

[0064] 본 발명은 또한 대상체에서 암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것으로서, 옥사자포스포린 유도체는 면역 체크포인트 조절제와 병용하여 대상체에게 투여된다.

[0065] 본 발명은 또한 암의 치료 또는 예방을 위한 약물의 제조에서 옥사자포스포린 유도체의 용도에 관한 것으로서, 약물은 면역 체크포인트 조절제와 병용하여 투여된다.

[0066] 본 발명은 또한 암의 치료 또는 예방을 위한 약물의 제조에서 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제의 용도에 관한 것이다.

[0067] 본 명세서에서 사용되는, "*병용 요법*" 또는 "*다른 것과 병용한 약물의 사용*"은 대상체가 단일 질환을 치료하기 위해서 둘 이상의 치료제로 투여되는 치료를 의미한다. 하기에 추가로 기술하는 바와 같이, 둘 이상의 치료제의 투여는 동시에, 별도로, 연속하여, 동시발생적으로, 또는 연속적으로 수행될 수 있다. 둘 이상의 치료제의 효과는 정확하게 같은 시간에 및/또는 정확히 동일한 기간 동안에 효과를 생성시키는 것이 반드시 필요하지는 않다. 치료제의 효과는 오직 그들 병용 사용으로 추구하는 조합된 치료적 활성을 발휘하기에 충분한 시간 기간 동안만 중복될 필요가 있다.

[0068] 따라서, 병용 요법은 동시에, 단일 약학 조성물로, 동일 약학 제형으로 및/또는 동일한 투여 경로에 의해 투여할 것을 반드시 요구하지 않는다.

[0069] 본 명세서에서 사용되는, "*암*"의 용어는 상향조절된 세포 성장을 포함하고 악성을 특징으로 하는 포유동물에서의 장애를 의미한다. 암은 임의 유형일 수 있다. 이것은 고형 종양일 수 있거나 또는 조혈 암일 수 있다.

[0070] 바람직하게, 암은 암종, 육종, 림프종, 백혈병, 생식 세포 종양, 아세포종 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 예를 들어, 암은 제한없이, 만성 골수성 백혈병, 급성 림프아구성 백혈병, 필라델피아 염색체 양성 급성 림프아구성 백혈병 (Ph+ ALL), 호지킨 질환, 호지킨 및 비호지킨 림프종, 편평 세포 암종, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 신경교종, 위장 암, 신장세포 암, 난소암, 간암, 직결장암, 자궁내막 암, 신장 암, 전립선 암, 갑상선 암, 신경아세포종, 췌장암, 다형성 교아세포종, 자궁경부 암, 위암, 방광 암, 악성 간세포암, 유방암, 결장 암종, 및 두경부암, 위암, 생식 세포 종양, 소아 육종, 횡문근육종, 유잉 육종, 골육종, 연조직 육종, 비부비동 NK/T-세포 림프종, 골수종, 흑색종, 메르켈-세포 암종 (MCC), 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병 (AML), 또는 만성 림프구성 백혈병으로부터 선택될 수 있다.

[0071] 일부 바람직한 구현예에서, 암은 만성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 호지킨 질환, 호지킨 및 비호지킨 림프종, 폐의 암, 삼중 음성 유방암을 포함하는 유방암, 비뇨생식기 암 예컨대 전립선, 방광, 고환, 자궁 경부 또는 난소의 암, 육종 예컨대 골육종 및 소아 연조직 육종을 포함한 연조직 육종, 신경아세포종, 골수종, 메르켈-세포 암종 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0072] 더 바람직하게, 암은 골육종 및 연조직 육종을 포함한 육종, 삼중 음성 유방암을 포함하는 유방암, 위장암, 비뇨생식기 암 및 비-소세포 폐 암종 및 소세포 폐 암종을 포함한 폐암으로부터 선택된다.

[0073] 일부 구현예에서, 암은 이전 항암 요법 예컨대 화학요법에 의한 치료, 단독으로 표적화 분자 요법 또는 면역요법, 또는 화학요법과 면역요법 치료에 난치성인 암일 수 있다. 결론적으로, 본 발명의 치료적 병용물은 대상체에서 암의 제2선-치료로서 사용된다.

[0074] 일부 다른 구현예에서, 치료적 병용물은 대상체에서 암의 제1선 치료로서 사용된다.

[0075] 다른 구현예에서, 암은 대상체에서 재발성 암일 수 있다.

[0076] 대상체는 비-인간 또는 인간, 바람직하게 인간일 수 있다. 대상체는 임의 성별 및/또는 임의 연령일 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 아동이다. 다른 구현예에서, 대상체는 성인이다.

[0077] 명세서에서 사용되는, *"암의 치료"* 또는 "암을 치료하는"은 종양 성장을 포함하여, 암의 진행을 치유, 지연, 완화, 또는 둔화시키는 것을 비롯하여, 대상체에서 암의 하나 이상의 증상의 예방, 약화, 둔화, 반전 또는 제거를 포함한다. 또한 대상체에서 종양을 근절시킨다는 사실을 포괄한다. 용어 "*암의 치료*"는 또한 대상체에서 "*전체 생존*" 및/또는 "*무진행 생존*"을 개선시킨다는 사실을 포괄한다.

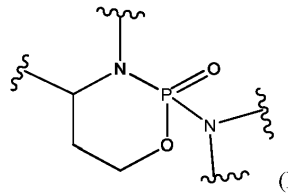
[0078] 배제하지는 않지만, 단어 "*암을 치료하는*"은 암 또는 이와 연관된 증상이 대상체에서 완전하게 제거된다는 것을 의미하지 않는다.

[0079] "*무진행 생존*"의 개선은 대상체가 악화되지 않은 암 존재에서 살아가는 암의 치료 동안 및 그 이후의 시간 길이의 증가를 의미한다. *"전체 생존"*은 환자가 여전히 살아있는 암에 대한 치료의 시작으로부터의 시간 길이를 의미한다. "*무진행 생존*" 및 "*전체 생존*" 수치는 전형적으로 적절한 크기의 임상 시험으로부터 결정된 평균값으로서 결정된다.

[0080] "*암의 예방*"은 암의 개시 또는 상기 암과 연관된 하나 이상의 증상의 예방, 또는 지연을 포함한다. "*암의 예방*"은 또한 환자의 건강 상태를 완화시키고자하는 임의 활동, 예컨대 질환의 요법, 예방법, 및 지연 및/또는 환자가 질환을 앓게되는 것을 방지하는 것을 의미한다. 일부 구현예에서, 이 용어는 또한 본 발명의 치료적 병용물을 투여하지 않은 환자와 비교하여, 환자가 상기 암이 발생될 위험성 (또는 확률)을 최소화하는 것을 의미한다.

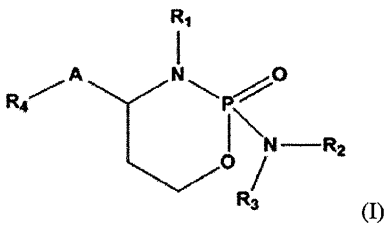
[0081] *- 옥사자포스포린 유도체*

[0082] 본 명세서에서 사용되는, 옥사자포스포린 유도체는 하기 모이어티 (M)를 포함하는 화합물을 의미한다:

[0083] 
(M)
.

[0084] 본 발명의 문맥에서, 관심 옥사자포스포린 유도체는 고리의 탄소 C-4에 치환기를 포함하는 것들이다. 이러한 옥사자포스포린 유도체는 예를 들어 특허 출원 공개 번호 WO2015/173367 및 WO2012/076824에 기술되고, 이들의 내용은 참조로 본 명세서에 편입된다.

[0085] 본 발명의 문맥에서, 관심 옥사자포스포린 유도체는 하기 화학식 (I)의 것 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물이다:

[0086] 
(I)

[0087] 식에서,

[0088] - A는 O-O, O, S, NH, NR_5 (여기서, R_5 는 알킬 기, 바람직하게 C_1-C_3 알킬 기임), 또는 바람직하게 500 $g.mol^{-1}$ 이하, 더 바람직하게 400 $g.mol^{-1}$ 미만의 분자량을 갖는 링커 기이고,

[0089] - R_1, R_2 및 R_3 은 독립적으로 -H, $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 할로겐 원자, 바람직하게 Cl, Br 또는 I, 더 바람직하게 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택되고,

[0090] - R_4 는 H이거나, 또는 하나 또는 몇 개의 헤테로원자 예컨대 S, O 및 NH가 임의 개재되고, 독립적으로 할로겐 (예를 들어, F, Cl, Br, I), CN, CF_3, OH, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 히드록시알킬, C_1-C_6 알킬옥시, C_1-C_6 아미노알킬, C_1-C_6 할로게노알킬, -C_2-C_6 알콕시 알킬, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)R, -NHC(O)-NH-R, -NH-C(O)-R, -C(O)-NH-R, -NRR', -C(O)NRR', -NC(O)R, -NRC(O)R', 및 -SR (여기서, R 및 R'은 독립적으로 H 및 C_1-C_6 알킬로부터 선택됨)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환되는, 2 내지 30개 탄소 원자의 포화 또는 불포화 사슬이다.

[0091] 본 명세서에서 사용되는, 용어 "*약학적으로 허용가능한*"은 타당한 이득/위험 비율에 상응하여 과도한 독성 또는 다른 합병증없이, 대상체에게 투여될 수 있거나, 또는 대상체의 조직과 접촉시키기에 적합한, 건전한 의학적 판단의 범주 내에 있는, 조성물, 화합물, 염 등을 의미한다.

[0092] 본 명세서에서 사용되는, 용어 "*용매화물*" 또는 "*약학적으로 허용가능한 용매화물*"은 용매의 하나 이상의 분자와 본 발명의 화합물의 하나 이상의 분자의 회합으로 형성되는 용매화물을 의미한다. 용어 용매화물은 수화물 예컨대 반수화물, 일수화물, 이수화물 삼수화물, 사수화물 등을 포함한다.

[0093] 본 명세서에서 사용되는, 용어 "*약학적으로 허용가능한 염*"은 일반적으로 적합한 유기산 또는 무기산과 본 발명의 옥사자포스포린 유도체를 접촉시켜서 제조될 수 있는, 무독성 염을 의미한다. 예를 들어, 약학적 염은 제한없이, 아세테이트, 벤젠술포네이트, 벤조네이트, 바이카보네이트, 바이술페이트, 바이타르트레이트, 브로미드, 부티레이트, 카보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 디포스페이트, 푸마레이트, 아이오다이드, 락테이트, 라우레이트, 말레이트, 말레에이트, 만델레이트, 메실레이트, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 포스페이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 술페이트, 타르트레이트 등일 수 있다.

[0094] 본 명세서에서 사용되는, "*링커 기*"는 생체내에서 알킬화 머스타드를 방출시키는 화합물의 능력을 손상시키지 않고 옥사자포스포린 골격에 R_4 기를 연결하는데 적합한 임의의 화학적 기를 의미한다. 예를 들어, 링커는

[0095] - 천연 및 비-천연 아미노산 ;

[0096] - 2 내지 10, 바람직하게 2 내지 5 아미노산 및 이의 유도체를 포함하는 펩티드;

[0097] - -N(R_6)- (여기서, R_6 은 알킬 기, 특히 C_1-C_3 알킬임);

[0098] - C_1-C_{10} 탄화수소 사슬로서, -OH, C_1-C_4 알킬 및 C_1-C_4 알킬옥시 기로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환되고/되거나,

[0099] o 하나 또는 몇 개의 헤테로원자 예컨대 NH, S 및 O; 및/또는

[0100] o 하나 또는 몇 개의 화학 기 예컨대 -NHC(O)-, -OC(O)-, OC(O)O, -NH-C(O)-NH-, -S-S-, 및 -CR_7=N-NH-C(O)-, -ONH-, -ONR$_7$- -O-C(=S)-S-, -C(=S)-S- (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6 알킬임), 및/또는

[0101] o 하나 또는 몇 개의 헤테로아릴 또는 아릴 기, 및/또는

[0102] o 바람직하게 4 내지 6 원자를 포함하고, -OH, C_1-C_4 알킬 및 C_1-C_4 알킬옥시 기로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환되는 하나 또는 몇 개의 지방족 고리 또는 복소환을 임의로 포함하는 것인, C_1-C_{10} 탄화수소 사슬

[0103] 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0104] 다른 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 A가 O, S, 및 -NH- 의 군으로부터 선택되거나, 또는

[0105] - 천연 또는 비-천연 아미노산, 디펩티드, 및 이의 유도체;

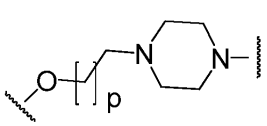
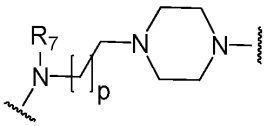
[0106] - 바람직하게 2 내지 6 단량체, 예를 들어,2, 3, 또는 4 단량체를 포함하는, 폴리에테르 기, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜;

[0107] - 예를 들어, 화학식 -CR_7=N-NH-C(O)- (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬임)의 히드라존 링커;

[0108] - -O-(C=S)-S-, -ONR$_7$-, -NR$_7$O- (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6 바람직하게 C_1-C_3 알킬임);

[0109] - Y_1-$(CH_2)_n$-Y_2 (여기서, n은 1 내지 8의 정수이고, Y_1 및 Y_2 는 독립적으로 -O-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-,-OC(O)-O-, -C(O)NR_7-, NR_7C(O)-, -OC(S)S-, -SC(S)O- -NR_7-, -ONR_7-, -NR_7O-, NR_7C(S)S-, -SC(S)NR_7- 로부터 선택됨)

[0110] 및

[0111] -  또는 

[0112] (여기서, R_7 은 H 및 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬의 군으로부터 선택되고, p는 0 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2 또는 3임)

[0113] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 스페이서 모이어티를 포함하거나, 또는 그로 이루어진다.

[0114] 다른 구현예에서, A는

[0115] - O, O-O, S, -O-(C=S)-S-,- ONR_7-, -NR_7O- (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 CH_3 임)

[0116] - 시트룰린, 리신, 오르니틴, 알라닌, 페닐알라닌, 시스테인, 글리신, 발린, 류신 및 이의 디펩티드 예컨대 발린-시트룰린,

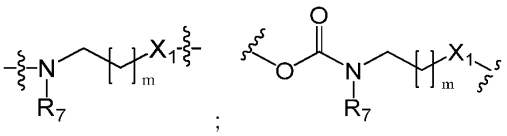
[0117] - Y_1-$(CH_2)_n$-Y_2, 및

[0118] - Y_1-$(CH_2$-CH_2-$O)_a$-CH_2-CH_2-Y_2

[0119] (여기서, Y_1 및 Y_2 는 상기 정의된 바와 같고, 바람직하게 독립적으로 O, NR_7, S, OC(O), C(O)O, NHCO, CONH (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 -CH_3 이고, n은 1 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2, 3, 또는 4이고, a는 1 내지 3의 정수임)로부터 선택됨)

[0120] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 모이어티로 이루어지거나, 또는 그를 포함한다.

[0121] 화학식 Y_1-$(CH_2)_n$-Y_2 의 링커의 예는 시스테아민을 비롯하여, 하기 화학식의 모이어티를 포괄한다:

[0122]  ;

[0123] (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬이고, X_1 은 O 또는 S이고, m은 0 내지 7의 정수, 바람직하게 1, 2 또는 3임).

[0124] 일부 추가 구현예에서, A는 O-O, O, S, -NH- 시스테아민 링커 (즉, -C(O)NH-CH_2-CH_2-S-), 발린-시트룰린 링커 및 시스테인 링커로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0125] 일부 구현예에서, R_1, R_2 및 R_3 중 하나는 H이고 2개의 다른 나머지 기는 독립적으로 -CH(CH_3)-CH_2-X 및 -$(CH_2)_2$-X (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)로부터 선택된다.

[0126] 추가 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 R_1 이 H이고 R_2 및 R_3 은 독립적으로 -CH(CH_3)-CH_2-X 및 -$(CH_2)_2$-X로부터 선택된다. 바람직하게 R_2 및 R_3 은 동일하다.

[0127] 다른 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 R_2 가 H이고 R_1 및 R_3 은 독립적으로 -CH(CH_3)-CH_2-X 및 -$(CH_2)_2$-X로부터 선택된다. 바람직하게 R_1 및 R_3 은 동일하다.

[0128] 특정 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 - CH(CH_3)-CH_2-X (여기서, X 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다.

[0129] 다른 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다.

[0130] 추가 구현예에서, R_1, R_2 및 R_3 은 독립적으로 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$로부터 선택된다. 바람직하게 R_1, R_2 및 R_3 은 동일하다.

[0131] 예를 들어, R_1, R_2 및 R_3 은 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다.

[0132] 다른 예로서, R_1, R_2 및 R_3 은 $-CH_2-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다.

[0133] 일부 구현예에서, R_4 는 H일 수 있다. R_4 가 H인 경우, A는 바람직하게 O 또는 -O-O- 이다.

[0134] 대안적으로, R_4 는 이중 및/또는 삼중 결합일 수 있는 하나 또는 몇 개의 (예를 들어, 1 내지 10, 예를 들어,1, 2, 3, 4 또는 5) 불포화기를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, R_4 는 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5 이중 결합을 이의 골격에 포함한다.

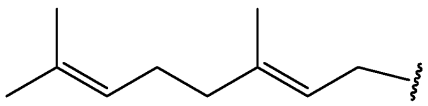
[0135] 일부 구현예에서, R_4 는 3 내지 25개 또는 5 내지 10개 (예를 들어, 5, 5, 7, 8, 9, 10) 탄소 원자를 포함할 수 있다.

[0136] 일부 구현예에서, R_4 는 독립적으로 할로겐 (예를 들어, F, Cl, Br, I), -CN, OH, CF_3, C_1-C_3 알킬, C_1-C_3 히드록시알킬, C_1-C_3 알킬옥시, C_1-C_3 아미노알킬, C_1-C_3 할로게노알킬, $-C_2$-C_4 알콕시 알킬, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)R, -NHC(O)-NH-R, -NH-C(O)-R, -C(O)-NH-R, -NRR', -C(O)NRR', -NC(O)R, -NRC(O)R', 및 -SR로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환되는, 포화 또는 불포화된, 2 내지 30개 탄소 원자의 탄화수소 사슬이고, 여기서 R 및 R'은 독립적으로 H 및 C_1-C_6 바람직하게 C_1-C_3 알킬로부터 선택된다.

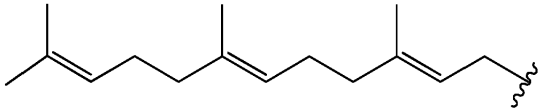
[0137] 일부 다른 구현예에서, R_4 는 독립적으로 할로겐 (예를 들어, F, Cl, Br, I), -CN, C_1-C_3 알킬, C_1-C_3 히드록시 알킬, 및 C_1-C_3 알킬옥시으로 이루어진 군, 바람직하게 -OH, -F, Cl, Br, I, $-OCH_3$ 및 CH_3 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환되는, 포화 또는 불포화된, 2 내지 30개 탄소 원자의 탄화수소 사슬이다.

[0138] 화학식 (I)의 바람직한 화합물은 R_4 가 상기 기술된 바와 같은 불포화 사슬의 군으로부터 선택되는 것이다. 일부 특정 구현예에서, R_4 는 독립적으로 할로겐 (예를 들어, F, Cl, Br, I), -CN, C_1-C_3 알킬, C_1-C_3 히드록시 알킬, 및 C_1-C_3 알킬옥시로부터 선택되는 군으로부터 선택되고, 바람직하게 -OH, -F, Cl, Br, I, $-OCH_3$ 및 CH_3 으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게 -OH, $-OCH_3$ 및 $-CH_3$ 으로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 치환기로 임의 치환되는, 3 내지 30개, 바람직하게 5 내지 30개, 예컨대 5 내지 20개, 또는 5 내지 10개 탄소 원자를 포함하는, 불포화된 탄화수소 사슬인 것들이다.

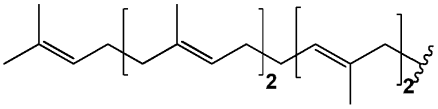
[0139] 본 발명의 특정 구현예에서, R_4 는 하나 또는 몇 개의 이소프렌 단위를 포함한다. 예를 들어, R_4 는 무고리 터펜 모이어티로 이루어질 수 있거나, 또는 그를 포함할 수 있다. 예를 들어, R_4 는 제라닐 라디칼, 파르네실 라디칼 및 스쿠알레닐 라디칼로부터 선택되는 화학 모이어티를 포함할 수 있거나, 또는 그로 이루어질 수 있다:

[0140] 

[0141] 제라닐 라디칼

[0142] 

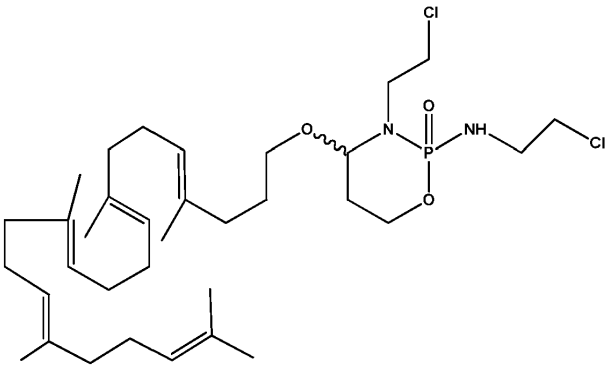
[0143] 파르네실 라디칼



[0144]

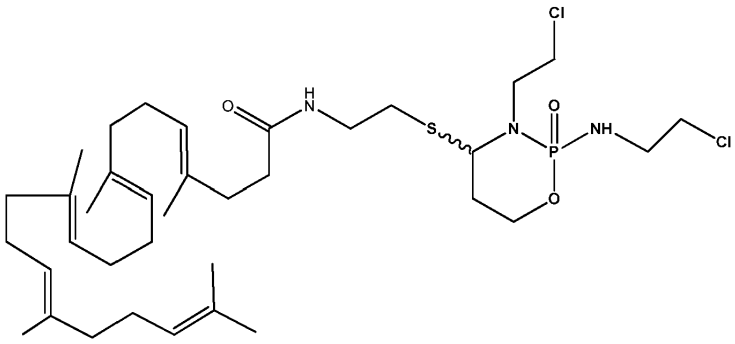
[0145] 스쿠알레닐 라디칼

[0146] 스쿠알레닐 라디칼을 포함하는 관심 화합물은 WO2012/076824에 기술된 것들, 예를 들어, 하기 화학식의 것들이다:



[0147]

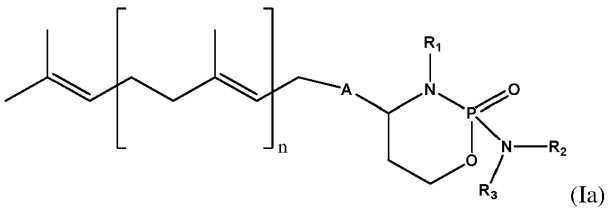
[0148] (이하 SQ-FO라고 함), 및



[0149]

[0150] (티오-SQ-IFO라고 함)

[0151] 바람직한 양태에서, 본 발명은 암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 면역 체크포인트 조절제와 병용한 옥사자포스포린 유도체의 치료적 용도에 관한 것으로서, 옥사자포스포린 유도체는 하기 화학식 (Ia)의 것 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물이다:



(Ia)

[0152]

[0153] 식에서,

[0154] - n은 0 내지 3의 정수, 바람직하게 1 또는 2이고;

[0155] - A, R_1, R_2 및 R_3 은 화학식 (I)의 화합물에 대해 정의된 바와 같다.

[0156] 일부 구현예에서, 화학식 (Ia)의 화합물은

[0157] - n이 1 또는 2이고;

[0158] - A는 O-O, O, S, 및 -NH- 의 군으로부터 선택되고, 바람직하게 O, S 및 NH이거나, 또는

[0159] - 천연 또는 비-천연 아미노산, 디펩티드, 및 이의 유도체;

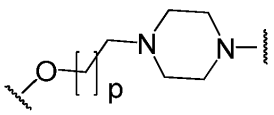
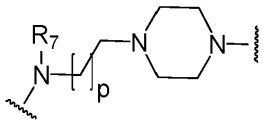
[0160] - 바람직하게 2 내지 6 단량체 예를 들어,2, 3, 또는 4 단량체를 포함하는, 폴리에테르 기, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜;

[0161] - 예를 들어, 화학식 $-CR_7=N-NH-C(O)-$ (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6, 바람직하게 C_1-C_3 알킬임)의 히드라존 링커;

[0162] - $-O-(C=S)-S-$, $-ONR_7-$, $-NR_7O-$ (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_6 바람직하게 C_1-C_3 알킬임);

[0163] - $Y_1-(CH_2)_n-Y_2$ (여기서, n은 1 내지 8의 정수이고, Y_1 및 Y_2 는 독립적으로 -O-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-,-OC(O)-O-, $-C(O)NR_7-$, $NR_7C(O)-$, -OC(S)S-, -SC(S)O- $-NR_7-$, $-ONR_7-$, $-NR_7O-$, $NR_7C(S)S-$, $-SC(S)NR_7-$ 로부터 선택됨)

[0164] 및

[0165] -  또는 

[0166] (여기서, R_7 은 H 및 C_1-C_6 의 군으로부터 선택되고, 바람직하게 C_1-C_3 알킬이고, p는 0 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2 또는 3임)

[0167] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 스페이서 모이어티를 포함하거나, 또는 그로 이루어지고,

[0168] - R_1, R_2 및 R_3 은 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 독립적으로 - $CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)로부터 선택된다. 특정 양태에서, 옥사자포스포린 유도체는 화학식 (Ia)의 화합물로서, 여기서 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다. 다른 양태에서, 옥사자포스포린 유도체는 화학식 (Ia)의 화합물로서, 여기서 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 - $CH(CH_3)-CH_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다.

[0169] 다른 구현예에서, 화학식 (Ia)의 화합물은

[0170] - n이 1 또는 2, 바람직하게 1이고,

[0171] - A는 O, S 또는 NH이거나, 또는

[0172] - $-O-(C=S)-S-$,- ONR_7-, $-NR_7O-$ (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 CH_3 임);

[0173] - 시트룰린, 리신, 오르니틴, 알라닌, 페닐알라닌, 시스테인, 글리신, 발린, 류신 및 이의 디펩티드 예컨대 발린-시트룰린;

[0174] - $Y_1-(CH_2)_n-Y_2$; 및

[0175] - $Y_1-(CH_2-CH_2-O)_a-CH_2-CH_2-Y_2$

[0176] (여기서, Y_1 및 Y_2 는 상기 정의된 바와 같고, 바람직하게 독립적으로O, NR_7, S, OC(O), C(O)O, NHCO, CONH (여기서, R_7 은 H 또는 C_1-C_3 알킬, 바람직하게 $-CH_3$ 이고, n은 1 내지 8의 정수, 바람직하게 1, 2, 3, 또는 4 이고 a는 1 내지 3의 정수임)로부터 선택됨)

[0177] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 모이어티이고;

[0178] - R_1, R_2 및 R_3 은 R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 동일하고 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X 바람직하게 Cl 또는 Br임)로부터 선택된다. 특정 양태에서, R_1, R_2 및 R_3 중 하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다. 다른 양태에서, R_1, R_2 및 R_3 중

하나가 H이고 2개의 다른 나머지 기는 $-CH(CH_3)-CH_2-X$ (여기서, X는 바람직하게 Cl 또는 Br임)이다.

[0179] 특정 구현예에서, 화학식 (Ia)의 화합물은

[0180] - n이 1 또는 2, 바람직하게 1이고;

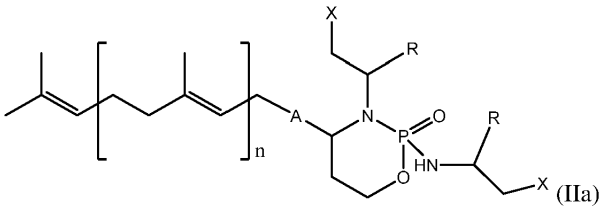
[0181] - A는 O, S, -NH- 시스테아민 링커 (즉, $-C(O)NH-CH_2-CH_2-S-$), 발린-시트룰린 링커 및 시스테인 링커로 이루어진 군으로부터 선택되고;

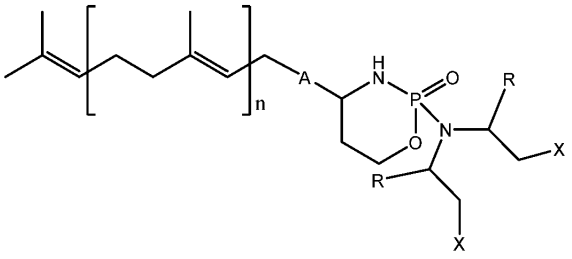
[0182] - R_1, R_2 및 R_3 은

[0183] R_1 은 H이고, R_2 및 R_3 은 동일하고, $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택되거나;

[0184] R_2 는 H이고, R_1 및 R_3 은 동일하고, $-CH(CH_3)-CH_2-X$ 및 $-(CH_2)_2-X$ (여기서, X는 Br 또는 Cl임)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0185] 화학식 (Ia)의 바람직한 화합물은 하기 도시된 바와 같은 화학식 (IIa) 및 (IIb)의 화합물, 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물이다:

[0186] 
(IIa) 및

[0187] 
(IIb)

[0188] 식에서,

[0189] - n은 1 또는 2이고,

[0190] - R은 H 또는 CH_3 이고,

[0191] - X는 Cl 또는 Br이고,

[0192] - A는 O, S, -NH-, 시스테아민 링커, 발린-시트룰린 링커 및 시스테인 링커로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0193] 특정 양태에서, 옥사자포스포린 유도체는

[0194] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0195] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3 인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0196] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0197] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3 인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0198] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0199] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3 인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0200] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0201] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0202] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0203] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0204] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0205] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0206] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0207] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0208] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0209] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0210] 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0211] 예를 들어, 옥사자포스포린 유도체는

[0212] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0213] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0214] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0215] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0216] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0217] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0218] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0219] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 CH_3인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0220] 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0221] 다른 예로서, 옥사자포스포린 유도체는

[0222] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0223] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0224] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0225] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,

[0226] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0227] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

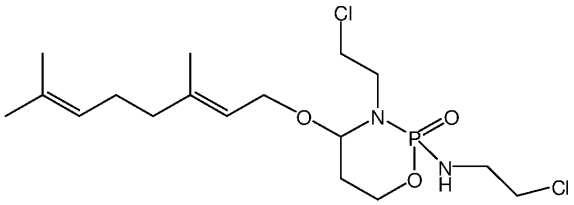
[0228] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0229] - n은 2이고, A는 O이고, X는 Br이고, R은 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,

[0230] 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0231] 보다 특정한 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는

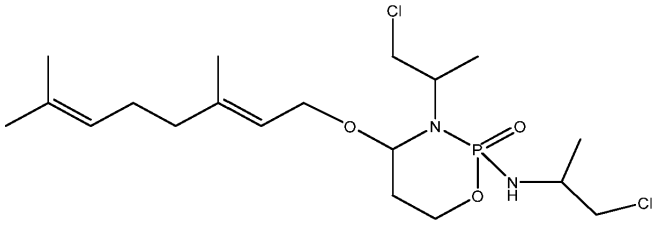
[0232] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R_4 는 H인, 화학식 (IIa)의 화합물,



[0233]

[0234] (이하, 제라닐옥시-IFO라고 함),

[0235] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R_4 는 CH_3 인, 화학식 (IIa)의 화합물,



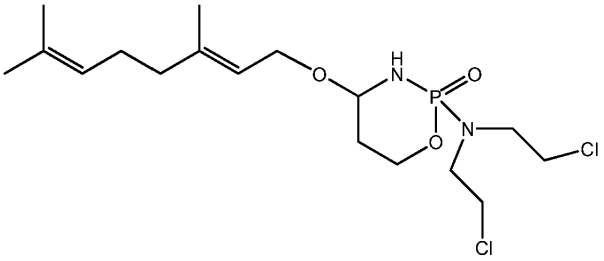
[0236]

[0237] (이하, 메틸화 제라닐옥시-IFO라고 함),

[0238] 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물로부터 선택된다.

[0239] 다른 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는

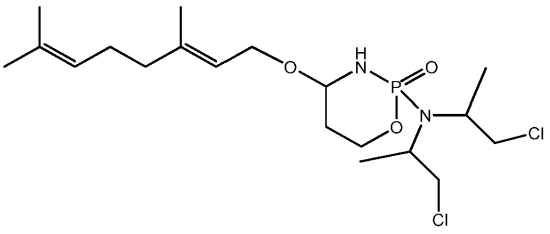
[0240] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Cl이고, R_4 는 H인, 화학식 (IIb)의 화합물,



[0241]

[0242] (이하, 제라닐옥시-CPA라고 함),

[0243] - n은 1이고, A는 O이고, X는 Br이고, R_4 는 CH_3 인, 화학식 (IIb)의 화합물,



[0244]

[0245] (이하, 메틸화 제라닐옥시-CPA라고 함),

[0246] 및 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물로부터 선택된다.

[0247] 화학식 (I),(Ia), (IIa) 및 (IIb)의 화합물을 제조하기 위한 방법은 충분히 공지되어 있다. 당업자는 표준 절차를 지칭할 수 있다. 당업자는 특허 출원 공개 번호 WO2012/076824 및 WO2015/173367에 기술된 합성 방법 중 어느 하나를 지칭할 수 있다.

[0248] 본 발명에 따른 일정 옥사자포스포린 유도체, 특히 위치 C-4에 선형 터펜 모이어티 (예를 들어, 파르네실, 스쿠알레닐 및 제라닐 라디칼)를 보유하는 것, 및 바람직하게 화학식 (Ia)의 화합물은 나노입자로 자가-조직화될 수

있다. 나노입자로 상기 자가-조립은 화합물의 생물학적 활성 예컨대 이의 세포독성을 증가시킬 수 있고 암성 세포로 이의 전달을 개선시킬 수 있다. 게다가, 나노입자 형태 중 화합물은 저장 하의 이의 유리 형태와 비교하여 개선된 안정성을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 나노입자의 형태이다.

[0249] 따라서, 본 발명의 특정 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 나노입자의 형태로 환자에게 투여된다. 이러한 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 성분으로서, 더 바람직하게 나노입자의 주요 성분으로서 존재하고, 이것은 옥사자포스포린 유도체가 나노입자의 총 중량의 50 중량% 초과, 예를 들어, 60 중량%, 70 중량%, 80 중량%, 90 중량%, 95 중량%, 98 중량%, 99 중량%, 또는 99.5 중량% 초과를 차지한다는 것을 의미한다. 일부 구현예에서, 나노입자는 화학식 (I), 바람직하게 화학식 (Ia), 예컨대 화학식 (IIa) 및 (IIb)의 옥사자포스포린 유도체의 분자의 자가-조직화에 의해 형성된다.

[0250] 본 발명의 이러한 나노입자의 평균 유체역학 직경은 전형적으로 10 내지 800 nm, 바람직하게 30 내지 500 nm, 및 특히 50 내지 400 nm이다. 예를 들어, 나노입자는 평균 유체역학 직경 70 nm 내지 200 nm, 예를 들어, 100 nm 내지 250 nm의 평균 유체역학 직경을 가질 수 있다. 평균 유체역학 직경은 바람직하게 예를 들어, Nanosizer ZS (Malvern Instrument Ltd, France)를 사용하여, 20℃에서 동적 광산란으로 결정된다. 옥사자포스포린 유도체의 나노입자는 유기 용매 예컨대 아세톤 또는 에탄올에 유도체를 용해시키고 나서, 교반 하에 수성층에 이 혼합물을 첨가하여 계면활성제(들) 존재 또는 부재에서 나노입자의 형성을 일으켜서 수득될 수 있다. 계면활성제는 예를 들어, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체, 소듐 라우릴 술페이트, 인지질 유도체, 및 폴리에틸렌 글리콜의 친지성 유도체를 포함한다.

[0251] 일부 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 대상체에게 콜로이드 시스템, 바람직하게 수성 매질 중에 존재하는 나노입자의 형태로 투여된다.

[0252] *- 면역 체크포인트 조절제*

[0253] 본 명세서에서 사용되는, "*면역 체크포인트 경로*"는 자가-내성을 유지시키고 면역 반응의 지속기간 및 진폭을 조절하는 것을 담당하는 면역계의 조절인자 경로를 의미한다.

[0254] 종양 세포는 항종양 면역 반응을 억제하는 면역 체크포인트 경로의 활성화에 의해 면역감시를 회피할 수 있다는 것을 확인하였다. 특히, 종양 세포는 면역 관용 풍경을 확립하는 면역 체크포인트를 위한, 리간드, 예컨대 PD-L1의 발현을 통해서 면역 회피의 매개인자를 제공할 수 있다는 것을 확인하였다. 면역 체크포인트 조절제 예컨대 항-PD-1, 항-PD-L1 및 항-CTLA-4 단일클론 항체는 많은 종양 예컨대 흑색종 및 소세포 폐암에 대해 효과적인 것으로 확인되었다 (Hodi, NEJM, 2010, 363(8):711-723, Zielinski, Annals of Oncology, 2013, 24(5):1170-9).

[0255] 본 발명의 문맥에서, 면역 체크포인트 조절제는 면역감시로부터 종양 세포의 회피를 방지할 수 있거나 또는 감소시킬 수 있는, 예를 들어, 면역 반응, 바람직하게 항-종양 반응, 더 바람직하게 T-세포-매개 항-종양 면역 반응의 탈활성화를 유도, 증강, 지속, 저장, 활성화, 또는 방지할 수 있는 임의 치료제를 의미한다.

[0256] 면역 체크포인트 경로는 면역 체크포인트 단백질에 의해 조절된다.

[0257] 본 명세서에서 사용되는, "*면역 체크포인트 단백질*"은 면역 반응의 정도를 조절하거나 또는 조정하는 단백질, 전형적으로 수용체 (예를 들어, CTLA4 또는 PD-1) 또는 리간드 (예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2)이다. 면역 체크포인트 단백질은 억제성일 수 있거나 또는 자극성일 수 있다. 특히, 면역 체크포인트 단백질은 면역 반응의 활성화에 억제성일 수 있다. 따라서, 억제성 면역 체크포인트 단백질의 억제는 면역 반응, 예컨대 T 세포 활성화 및 증식을 자극시키거나 또는 활성화시키도록 작용한다. 유사하게, 자극성 면역 체크포인트 단백질의 활성화는 면역 반응을 자극시키거나 또는 활성화시키도록 작용한다.

[0258] 본 발명의 문맥에서, 표적 면역 체크포인트 단백질은 제한없이, PD1 (프로그램된 사멸-1) 및 이의 리간드 PD-L1 및 PD-L2, CTLA4 (세포독성 T-림프구 항원-4), LAG-3, TIM-3, TIGIT, 2B4/CD244를 비롯하여 OX40을 포괄한다.

[0259] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 억제성 면역 체크포인트 경로를 억제할 수 있거나 또는 차단할 수 있는 치료제를 의미한다. 이러한 경우에, 면역 체크포인트 조절제는 면역 체크포인트 차단제 (ICB)로도 알려진, 면역 체크포인트 억제제이다.

[0260] 일부 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3, TIGIT 또는 2B4/CD244 면역 체크포인트 경로를 억제하는 작용제이다. 일부 바람직한 구현예에서, 표적화된 단백질은 LAG-3, PD1, 리간드 PD-L1, CTLA, TIM-3, TIGIT 및 2B4/CD244로부터 선택된다. 일부 다른 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제

는 PD1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, LAG-3 억제제, TIM-3 억제제, TIGIT 억제제, 2B4/CD244 억제제 및 이의 조합, 더 바람직하게 PD1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, TIGIT 억제제 및 이의 조합, 및 보다 더 바람직하게 PD1 억제제, PD-L1 억제제, 및 CTLA-4 억제제로부터 선택된다.

[0261] 본 명세서에서 사용되는, 억제제는 관심 단백질 표적에 결합할 수 있고 이의 활성을 억제 (예를 들어, 차단 또는 감소)시킬 수 있는 치료제를 의미한다. 예를 들어, 면역 체크포인트 억제제는 관심 면역 체크포인트 단백질에 결합 및/또는 이를 차단하여 억제성 경로를 차단시킬 수 있다. 억제제는 경쟁적 또는 비-경쟁적, 예를 들어, 입체 또는 알로스테릭일 수 있다.

[0262] 일부 다른 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 예를 들어 자극성 면역 체크포인트 수용체에 결합하고 활성화시켜서, 자극성 면역 체크포인트 경로를 활성화시킬 수 있는 치료제를 의미한다. 예를 들어, 이러한 면역 체크포인트 조절제는 OX40 면역 경로를 활성화시키는 작용제, 전형적으로 OX40 수용체의 효현제이다.

[0263] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 CTLA-4 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, TIGIT 억제제, LAG-3 억제제, TIM-3 억제제, OX-40 효현제 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0264] 본 발명의 문맥에서, 면역 체크포인트 조절제는 임의 유형일 수 있고 소형 합성 화학 약물, 단백질 예컨대 리간드 및 융합 단백질, 항체 및 이의 단편, 펩티드 및 핵산 예컨대 압타머 및 안티센스 올리고뉴클레오티드로부터 선택될 수 있다.

[0265] 본 명세서에서 사용되는, "*압타머*" (핵산 압타머라고도 함)는 전형적으로 20 내지 150 뉴클레오티드 길이를 포함하고 고친화성으로 표적 분자와 결합할 수 있는 합성 단일 가닥 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 압타머는 그들 표적 분자와 그들 상호작용에서 핵심 역할을 할 수 있는 3차원 입체형태(들)를 특징으로 한다.

[0266] "*안티센스 올리고뉴클레오티드*"는 수소 결합을 통해서 표적 핵산에 혼성화를 겪을 수 있는 핵산을 의미한다. 안티센스 화합물의 예는 단일 가닥 및 이중 가닥 화합물, 예컨대, 안티센스 올리고뉴클레오티드, siRNA, shRNA, snoRNA, miRNA, 메로듀플렉스 (mdRNA) 및 위성 반복부를 포함한다.

[0267] 본 명세서에서 사용되는, 용어 "*항체*"는 면역글로불린 또는 이의 단편 또는 유도체를 의미하고, 시험관내 또는 생체내에서 생산되는지 여부와 무관하게, 항원-결합 도메인을 포함하는 임의의 폴리펩티드를 포괄한다. 이 용어는 다클론, 단일클론, 단일특이적, 다중특이적 (예를 들어, 이중특이적), 인간화, 단쇄, 키메라, 합성, 재조합, 하이브리드, 돌연변이형, 및 그라프트형 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 용어 "항체"는 또한 항체 단편 예컨대 Fab, F(ab')2, Fv, scFv, Fd, dAb, 및 항원-결합 기능, 즉, 그들 표적에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 다른 항체 단편 (예를 들어, 단쇄 항체로부터의 VHH)을 포함한다. 전형적으로, 이러한 단편은 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0268] 용어 "*항원-결합 도메인*", 또는 "*항원-결합 단편*" 은 항체 및 항원 간 특이적 결합을 담당하는 아미노산을 포함하는 항체 분자의 일부를 의미한다. 항원이 큰 경우에, 항원-결합 도메인은 항원의 일부부에만 결합할 수 있다. 항원-결합 도메인과 특이적 상호작용을 담당하는 항원 분자의 일부분은 "에피토프" 또는 "항원성 결정부"라고 한다. 항원-결합 도메인은 항체 경쇄 가변 영역 (VL) 및 항체 중쇄 가변 영역 (VH)을 포함할 수 있다. 그러나, 반드시 둘 모두를 포함하지는 않는다 (예를 들어, 단쇄 항체 및 VHH 단편의 항원-결합 도메인 참조). 전형적으로, 항원-결합 단편 또는 도메인은 항원 결합 부위 (예를 들어, 하나 이상의 CDR, 및 일반적으로 모든 CDR)를 형성하기에 충분한 항체의 가변 영역 (중쇄 및 경쇄)의 적어도 일부분을 함유하고 따라서 항-면역 체크포인트 단백질 항체의 결합 특이성 및/또는 활성을 보유한다.

[0269] 면역 체크포인트 경로의 단백질 표적에 대해 유도된 항체의 변이체 (예를 들어, 항-CTLA-4, 항-PD-L1, 항-TIGIT, 항-LAG3, 항-TIM-3 또는 항-PD-1 항체)는 또한 본 발명에 포함되고 단 그들은 그들 표적에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하고 이 표적 상에서 요청된 작용을 발휘 (예를 들어, 표적을 억제 또는 차단)한다. 이러한 변이체는 통상의 기술을 사용하여 종래 기술에 기술된 항체의 서열로부터 유래될 수 있다.

[0270] 변이체는 하나 또는 몇 개의 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 이상) 아미노산 돌연변이 덕분에 이의 부모 폴리펩티드와 상이하다. 아미노산 돌연변이는 아미노산의 치환, 아미노산의 결실, 또는 아미노산의 첨가를 포괄한다. 본 명세서에서 사용되는, 부모 폴리펩티드의 변이체는 또한 하나 또는 몇 개의 글리코실화 변형 덕분에 이의 부모 폴리펩티드와 상이한 폴리펩티드를 포괄한다. 폴리펩티드 변이체는 이의 부모 폴리펩티드와 적어도 70%, 바람직하게 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0271] 예를 들어, 항체 변이체의 경우에, 아미노산 치환, 결실, 또는 첨가는 관심 항체의 FR (프레임워크) 및/또는 CDR (상보성 결정 영역)에 만들어질 수 있다. FR의 변화가 일반적으로 항체의 안정성 및 면역원성을 개선시키도록 디자인되지만, CDR의 변화는 전형적으로 이의 표적에 대한 항체의 친화성을 증가시키도록 디자인된다.

다른 예로서, 아미노산 돌연변이는 이의 반감기를 증가 (따라서 이의 제거율을 감소)시키거나 또는 있다면, 이의 이펙터 기능을 조절 (예를 들어, 보체 의존적 세포독성 (CDC), 항체 의존적 세포독성 (ADCC) 또는 항체 의존적 세포의 식세포작용 (ADCP)의 증가 또는 감소)을 위해서 항체의 Fc 영역에 도입될 수 있다. 본 발명의 항체의 유도체 및 변이체는 재조합 및 합성 방법, 유사성 셔플링 또는 조합 기술, 무작위 돌연변이유발법 등을 포함한 돌연변이유발법을 포함하여, 당분야에 충분히 공지된 다양한 기술로 생산될 수 있다.

[0272] 본 발명에서 사용을 위한 항체는 다른 기능성 분자, 예를 들어, 다른 펩티드 또는 단백질 (알부민, 다른 항원 결합 도메인 등), 약물, 종양에 이의 전달을 증강시키기 위한 리간드, 방사성핵종 또는 표지 예컨대 형광 표지에 연결될 수 있다. 항체는 또한 예를 들어, 그들의 순환성 반감기를 증가시키기 위해서, 합성 중합체, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜에 커플링될 수 있다. 항체는 또한 변경된 글리코실화 패턴을 가질 수 있고, 예를 들어, 하나 이상의 탄수화물 모이어티는 결실될 수 있고/있거나 하나 이상의 글리코실화 부위가 본래 항체에 첨가될 수 있다.

[0273] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 전체 길이 항체, 바람직하게 단일클론 전체 길이 항체, 이의 변이체 또는 이의 결합-도메인 단편을 비롯하여 이의 생물유사 항체이다.

[0274] 본 명세서에서 사용되는, "*전체 길이 항체*" (또한 본 명세서에서 면역글로불린 또는 Ig라고 함)는 가변 및 불변 영역을 포함한, 항체의 천연 생물학적 형태를 구성하는 구조를 갖는 단백질을 의미한다. "*전체 길이 항체*"는 단일클론 및 다클론 전체 길이 항체 둘 모두를 포괄하고, 또한 야생형 전체 길이 항체, 키메라 전체 길이 항체, 인간화 전체 길이 항체를 포괄하고, 목록은 제한적이지 않다. 인간 및 마우스를 포함한, 대부분의 포유동물에서, 전체 길이 항체의 구조는 일반적으로 사량체이다. 상기 사량체는 폴리펩티드 사슬의 2개의 동일한 쌍으로 구성되고, 각각의 쌍은 하나의 "경"쇄 (전형적으로, 약 25 kDa의 분자량을 가짐) 및 하나의 "중"쇄 (전형적으로, 약 50-70 kDa의 분자량을 가짐)를 갖는다. 인간 면역글로불린의 경우에, 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로 분류된다. 중쇄는 뮤, 델타, 감마, 알파, 또는 엡실론으로 분류되고, 항체의 이소타입을 각각 IgM, IgD, IgG, IgA, 및 IgE로서 정의한다. IgG는 제한없이, IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4를 포함한, 몇몇 서브클래스를 갖는다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는, "*이소타입*"은 그들의 불변 영역의 화학적 및 항원 특징으로 한정되는 면역글로불린의 임의의 클래스를 의미한다. 기지의 인간 면역글로불린 이소타입은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM1, IgM2, IgD, 및 IgE이다.

[0275] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 전체-인간 Ig, 인간화 Ig, 키메라 Ig 및 이의 변이체, 바람직하게 이소타입 IgG 또는 IgA, 예를 들어,IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 및 이의 변이체로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0276] "*압타머/항체는 면역 체크포인트 표적에 특이적으로 결합한다*"는 압타머 또는 항체가 표적 분자에 대한 고친화성을 나타낸다는 것을 의미한다. 이의 표적 분자에 대한 압타머 또는 항체의 해리 상수 (Kd)는 전형적으로 10^{-6} M 미만, 바람직하게 10^{-8} M 미만, 예를 들어 10^{-9} 내지 10^{-12} M이다. 용어 "*특이적으로 결합하는*"는 압타머 또는 항체가 시험관내에서 이의 표적을 인식하고 그와 특이적으로 상호작용하는 한편, 샘플에 존재할 수 있는 다른 분자와 상대적으로 적은 검출가능한 반응성을 갖는다는 것을 의미하고자 본 명세서에서 사용된다. Kd는 임의의 통상적인 방법, 예를 들어, ELISA-유형 어세이 또는 표면 플라스몬 공명 (SPR)으로 결정할 수 있다.

[0277] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제는 PD1, PD-L1, TIGIT 또는 CTLA4, 더 바람직하게 PD1, PD-L1 또는 CTLA4를 표적화하는 면역 체크포인트 억제제이다. 특히 항체 유형의 이러한 억제제는 문헌에 기술되어 있고, 이들 중 일부는 임상 시험 중이고 이미 일정 암의 치료에서 승인되었다. 이 문제에 대한 고찰을 위해서, 문헌 [Darvin et al., Experimental & Molecular Medecine (2018) 50:165]을 참조할 수 있고, 이의 내용은 참조로 본 명세서에 편입된다.

[0278] 일부 바람직한 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0279] 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 제1 치료제가 항-PD1 항체 및 항-PD-L1 항체로부터 선택되고, 제2 치료제가 항-CTLA4 항체로부터 선택되는 것인 치료적 병용물 그 자체이다. 관심 치료적 병용물의 다른 예는 항-PD-L1 항체 및 항-TIGIT 항체를 포함한다.

[0280] *a) PD1 또는 이의 리간드 PD-L1 또는 PD-L2에 대해 유도된 면역 체크포인트 억제제*

[0281] PD1은 또한 PDCD1, CD279, PD-1, PD1, hPD-1, SLEB2h, SLE1 및 프로그램된 세포 사멸 1로서도 알려져 있다. PD1은 활성화된 T 세포 및 프로-B-세포 상에서 발현된 면역글로불린 (Ig) 수퍼패밀리의 경막 세포 표면 수용체이다. PD1은 이의 리간드에 의해 활성화되었을 때 T-세포 활성화 및 이펙터 기능을 음성적으로 조절한다. 인간 PD1은 PDCD1 유전자 (NCBI 유전자 ID: 5133)에 의해 코딩되고, 바람직하게 Uniprot 데이터베이스에 기재된 서열 (예를 들어, 2007년 4월 17일의 Uniprot 등록 번호 Q15116.3)을 갖는다. 이의 내생성 리간드는 PD-L1 및 PD-L2를 포괄한다.

[0282] PD-L1은 또한 CD274, B7-H; B7H1; PDL1; hPD-L1; PDCD1L1 또는 PDCD1LG로도 알려져 있다.

[0283] PD-L1은 조혈 및 비-조혈 세포, 예컨대 T 세포 및 B 세포 및 다양한 유형의 종양 세포에 의해 발현되는 면역 억제성 수용체 리간드이다. 코딩된 단백질은 면역글로불린 V-유사 및 C-유사 도메인을 갖는 I형 경막 단백질이다. 이 리간드와 이의 수용체 PD1과의 상호작용은 T-세포 활성화 및 사이토카인 생산을 억제한다. 인간에서, PD1은 CD274 유전자 (NCBI 유전자 ID: 29126)에 의해 코딩되고, 바람직하게 Uniprot 데이터베이스에 기재된 서열 (예를 들어, 2000년 10월 1일의 Uniprot 등록 번호 Q9NZQ7.1)을 갖는다.

[0284] 프로그램된 세포 사멸 1 리간드 2, B7DC, 또는 PDL2로서도 알려진 PD-L2는 면역글로불린 수퍼패밀리에 속하고 PD1-독립적 방식으로 T-세포 증식 및 IFNG 생산에 필수적인 공자극 신호에 관여된다. PD-L2는 인간에서 PDCD1LG2 유전자 (NCBI 유전자 ID: 80380)에 의해 코딩되고 바람직하게 Uniprot 데이터베이스에 기재된 서열 (예를 들어, 1999년 11월 1일의 Uniprot 등록 번호 Q9WUL5.1)을 갖는다.

[0285] PD1 및 이의 내생성 리간드는 숙주 면역성으로부터 종양 회피에서 중요한 역할을 하기 때문에 관심 면역 체크포인트 단백질이다. 이들 세포 표면-결합된 리간드-수용체 쌍은 면역 반응을 약화시켜서 면역계의 과반응을 방지한다. 정상 조직의 감염 또는 염증 동안, PD1 및 이의 리간드 간 상호작용은 T-세포 활성화 및 사이토카인 생산의 억제를 통해서 면역 반응의 항상성을 유지시켜서 자가면역을 방지하는데 중요하다. 종양 미세환경에서, 이러한 상호작용은 세포독성 T-세포 불활성화를 통해서 종양 세포에 면역 회피를 제공한다. 암 세포는 종종 이펙터 CD8 T 세포 상의 PD1에 결합하는, 리간드 PD-L1을 과발현하여 정상 PD-L1-PD1 면역 체크포인트를 장악하여서, T 세포가 종양에 대한 면역 반응을 증가시키는 것을 방지한다는 것을 확인하였다. PD-L1은 광범위 암에서 발현되는 것으로 확인되었다.

[0286] 본 발명의 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD1 및/또는 PDL-1을 표적화하였다. PD1과 이의 리간드 PD-L1 및/또는 PD-L2 간 결합을 차단하는 항체는 PD-1의 활성화 및 이의 하류 신호전달 경로를 방지한다는 것을 확인하였다. 이러한 항체는 종양 세포에 대한 T 세포 및 T-세포-매개 면역 반응 둘 모두의 활성화를 통해서 면역 기능을 복원할 수 있다.

[0287] 따라서, 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 수용체 PD1와 이의 리간드 PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합을 방지할 수 있는 독립체이다. 일부 다른 또는 추가의 구현예에서, 상기 면역 체크포인트 억제제는 PD-L1, PD-L2, 또는 PD1의 길항제로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-L1 압타머, 항-PD1 압타머, 항-PD-L1 항체 및 항-PD1 항체로 이루어진 군으로부터, 바람직하게 차단 항-PD1 또는 항-PDL1 항체로부터 선택된다.

[0288] 본 명세서에서 사용되는, "항-PD-L1 항체", "항-PD1 항체", 또는 "항-PD-L2 항체"는 각각 PD-L1 폴리펩티드, PD1 폴리펩티드 또는 PD-L2 폴리펩티드에 선택적으로 결합하는 항체 또는 이의 가용성 단편을 의미한다. 바람직하게, 상기 항체는 PD1과 이의 리간드 PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합을 방지, 보다 상세하게 차단시킬 수 있다. 달리 말해서, 상기 항체는 바람직하게 차단 항체이다.

[0289] 일부 구현예에서, 항-PD1 및 항-PD-L1 항체는 단일클론 항체 예를 들어, 완전-인간, 인간화, 그라프트 또는 키메라 단일클론 항체 및 이의 항원-결합 단편이다.

[0290] 항-PD1 및 항-PD-L1 항체는 종래 기술에서 기술되어 있고, 예를 들어, 하기 특허 출원 공개 번호 및 특허를 참조한다: WO2011066389, WO200705874, WO200114556, US20110271358, US8217149, US20120039906, US20140044738, US8779108, WO200989149 및 EP3209778.

[0291] 몇몇 항-PD1 및 항-PD-L1 항체는 일정 암, 특히 난치성 및 재발성 암의 치료에 승인되었거나, 또는 임상 시험 중이다 (Darvin et al., 2018, 상동).

[0292] 항-PD1 항체의 예는 제한없이, 펨브롤리주맙 (Keytruda®), 니볼루맙 (Opdivo®), REGN2810 (세미플리맙으로도

알려짐), 캄렐리주맙 (SHR-1210으로도 알려짐), 신틸리맙 (IBI308 - Tyvyt®로도 알려짐), 스파르탈리주맙 (PDR001), 티슬렐리주맙 (BGB-A317로도 알려짐), 피딜리주맙 및 JS001을 포괄한다.

[0293] 항-PD-L1 항체의 예는 제한없이, 아벨루맙 (Bavencio®), 아테졸리주맙 (Tecentriq®), 둘발루맙 (Imfinzi®), BMS936559, MDX-1105, 및 KN305를 포괄한다.

[0294] 면역 체크포인트 억제제는 상기 인용된 항-PD1 항체 및 항-PD-L1 항체를 비롯하여 이의 변이체, 이의 결합-도메인 단편 및 이의 바이오시밀러로부터 선택될 수 있다.

[0295] *b) CTLA-4에 대해 유도된 면역 체크포인트 억제제*

[0296] CTLA-4는 또한 CD; GSE; GRD4; ALPS5; CD152; CTLA-4; IDDM12; CELIAC3 및 세포독성 T-림프구 연관 단백질 4로도 알려져 있다. 인간에서, CTLA-4는 CTLA4 유전자 (NCBI 유전자 ID: 1493)에 의해 코딩되고, 예를 들어, 등록 번호 P16410.3 (2003년 1월 10일자) 하에, Uniprot 데이터베이스에 표시된 바와 같은 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0297] CTLA-4는 V 도메인, 경막 도메인, 및 세포질 꼬리부를 포함하는 면역글로불린 수퍼패밀리의 구성원이다. CTLA-4는 조절 T 세포 (Treg), T 헬퍼 세포 및 CD8+ T 세포에서 발현된다. CTLA-4는 TCR 관여 이후에 미경험 및 기억 T 세포의 초기 활성화의 진폭을 조절하는 것으로 확인되었고 항종양 면역성 및 자가면역성 둘 모두에 영향을 미치는 중심 억제성 경로의 일부인 것으로 확인되었다. 이의 리간드 CD80 (B7.1) 및 CD86 (B7.2)의 발현은 대체로 항원-제시 세포, T 세포, 및 다른 면역 매개 세포에 국한된다. CTLA-4는 CD28에 비해서 더 높은 친화성으로 CD80 및 CD86에 결합하므로, 이의 리간드에 대해서 CD28을 이길 수 있게 하고 억제성 신호를 T 세포에 전달할 수 있게 한다.

[0298] 항-CTLA-4 항체의 차단은 T 세포 활성화를 증강시킨다고 보고되었다.

[0299] 몇몇 항-CLA4 항체는 종래 기술에 기술되어 있다. 예를 들어 특허 출원 공개번호 WO00/37504 및 EP3209778을 참조할 수 있다.

[0300] 일부 구현예에서, 항-CTLA4 항체는 단일클론 항체 예를 들어, 전체-인간, 인간화, 그라프트 또는 키메라 단일클론 항체 및 이의 항원-결합 단편으로부터 선택된다.

[0301] 몇몇 항-CTLA-4 항체는 일정 암, 특히 난치성 및 재발성 암의 치료에 승인되었거나, 또는 임상 시험 중이다 (Darvin et al., 2018, 상동).

[0302] 항-CTLA-4 항체의 예는 제한없이, 이필리무맙 (Yervoy®), 트레멜리무맙, Fc-조작된 IgG1 항-CTLA-4 인간 단일클론 항체 (AGEN1181) (Agenus Inc.) 및 비-푸코실화 항-CTLA-4 (BMS-986218)를 포괄한다.

[0303] 본 발명의 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 이필리무맙, 트레멜리무맙, 이의 변이체, 이의 생물유사체, 이의 항원-결합 단편 및 이의 조합으로부터 선택된다.

[0304] 다른 관심 면역 체크포인트 억제제는 CTLA4 및 PD1에 대해 유도된 이중특이적 항체를 포괄한다. 이러한 이중특이적 항체는 예를 들어, 특허 출원 공개 번호 WO2018/036473에 기술되어 있다.

[0305] *c) 다른 관심 면역 체크포인트 표적*

[0306] 몇몇 다른 면역 체크포인트 표적은 특히, LAG3 (림프구 활성화 유전자 3), TIM-3, VISTA, TIGIT, 2B4/CD244를 비롯하여 ICOS, OX40 및 4-1BB를 포함한 공자극성 분자를 확인하였다 (Sharma and Allison, Cell, 2015, 161, 205-2014).

[0307] 따라서, 관심 면역 체크포인트 조절제는 LAG3 억제제, TIM-3 억제제, VISTA 억제제, TIGIT 억제제, 2B4/CD244 억제제, ICOS 효현제, OX40 효현제, 및 4-1B 효현제로부터 선택될 수 있다.

[0308] 이러한 치료제는 종래 기술에 기술되어 있다 (예를 들어, Sharma and Allison, 상동 참조).

[0309] 이들 표적 중에서, LAG3, TIM-3, TIGIT 및 OX-40이 특히 관심대상의 것이다.

[0310] 용어 "LAG3" 또는 "림프구 활성화 유전자 3" 또는 CD223은 활성화된 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 및 NK 및 수지상 세포의 서브세트의 세포 표면 상에서 발현된 I형 경막 단백질이다 (Triebel F, et al., J. Exp. Med. 1990; 171:1393-1405; Workman C T, et al., J. Immunol. 2009; 182(4):1885-91). LAG3은 4개 세포외 Ig-유사 도메인을 갖고, 그들 기능적 활성을 위한 그들 리간드, 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 클래스 II와의 결합을 요

구한다. 예시적인 인간 LAG3의 아미노산 서열은 UniProt 등록 번호 P18627에서 확인할 수 있다. 몇몇 항-LAG3 항체는 당분야의 기술, 예를 들어, WO1991/10682 및 WO2015/138920에 기술되어 있다.

[0311] 항-LAG3 항체의 예로는, 임상 시험 평가 중인 렐라틀리맙 (BMS), IMP321 또는 에프틸라기모드 알파 (Immutep), GSK2831781 (GSK), BMS-986016 (BMS), 이에라밀리맙 또는 LAG525 (Novartis), REGN3767 (Regeneron Pharmaceuticals)을 언급할 수 있다.

[0312] HAVCR2로서도 공지된 용어 "TIM-3" 또는 "T-세포 면역글로불린 뮤신-3"은 중요한 암 면역 체크포인트이다. TIM-3은 T 세포, 조절 T 세포 (Treg), 수지상 세포 (DC), B 세포, 마크로파지, 자연 살해 (NK) 세포, 및 비만 세포를 포함한, 상이한 유형의 면역 세포에서 검출된다. 이것은 I형 막 단백질이고 281개 아미노산으로 이루어진다. 예시적인 인간 TIM-3의 아미노산 서열은 UniProt 등록 번호 Q8TDQ0 하에서 확인될 수 있다. 몇몇 항-TIM-3 항체는 당분야의 기술, 예를 들어, He et al. (Onco Targets Ther. 2018; 11:7005-7009), Das et al. (Immunol. Rev. 2017; 276(1): 97-111)에 기술되어 있다.

[0313] 항-TIM-3 항체의 예로서, MBG453 (Novartis), TSR-022 (Tesaro), LY3321367 (Ely Lilly), MBG453 (Novartis)을 언급할 수 있다.

[0314] 용어 "TIGIT" 또는 "Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T-세포 면역수용체"는 활성화된 T 세포 및 NK 세포 상에서 주로 발현되는 면역조절 수용체이다. 종양 면역감시에서 TIGIT의 역할은 종양 면역억제에서 PD-1/PD-L1 축과 유사하다. 이의 구조는 하나의 세포외 면역글로불린 도메인, 1형 경막 영역 및 2개 ITIM 모티프를 보여준다.
예시적인 인간 TIGIT의 아미노산 서열은 UniProt 등록 번호 Q495A1 하에서 확인될 수 있다. 몇몇 항-TIGIT 항체는 당분야의 기술, 예를 들어, WO2017/053748, WO2017/030823에 기술되어 있다.

[0315] 항-TIGIT 항체의 예로서, 임상 시험 평가 중인 티라귤로맙 (Roche), 단일클론 항체 BMS-986207 (BMS); 비보스톨리맙 (MK-7684); OMP-313M32 (OncoMed Pharmaceuticals, Inc.); MTIG7192A (Genentech, Inc.); BGB-A1217 (BeiGene)을 언급할 수 있다.

[0316] 본 발명의 일정 구현예에서, 면역 조절인자 체크포인트는 차단 항-LAG3 항체, 차단 항-TIM-3 항체 및 차단 항-TIGIT 항체로부터 선택되고, 바람직하게 상기 언급된 항체로부터 선택된다.

[0317] OX40은 또한 TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원 4, ACT35; CD134; IMD16; 및 TXGP1L로도 알려져 있다. 인간에서, OX40은 TNFRSF4 유전자 (NCBI 유전자 ID: 7293)에 의해 코딩되고 등록 번호 P47741.1 (1996년 2월 1일자) 하에 Uniprot 데이터베이스에 표시된 아미노산 서열을 가질 수 있다. OX40은 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포, 조절 T 세포 (Treg), 및 자연 살해 (NK) 세포 상에서 주로 발견되는 종양 괴사 인자 수용체 (TNFR)이다.
활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 OX40을 통한 신호전달은 증강된 사이토카인 생산, 그랜자임 및 퍼포린 방출, 및 이펙터 및 기억 T-세포 풀의 확장을 야기시킨다. 또한, Treg 세포 상에서 OX40 신호전달은 Treg의 확장을 억제하고, Treg의 유도를 정지시키고, Treg-억제 기능을 차단한다. 따라서, OX40 수용체의 효현제는 본 발명에 따라서 면역 체크포인트 조절제로서 사용될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는, OX40 수용체의 효현제는 OX40 수용체를 활성화시킬 수 있는 임의의 치료제를 의미한다. OX40의 효현제는 부분 및 전체 효현제를 포괄하고 전체 OX40 리간드 (OX40l, 종양 괴사 인자 리간드 수퍼패밀리 구성원 4로도 알려짐), 가용성 OX40l을 비롯하여, 이의 변이체, 융합 단백질 및 단편을 포함한, 임의 유형일 수 있다. OX40l은 등록 번호 P43488.1 하에 Uniprot 데이터베이스에 표시된 아미노산 서열을 가질 수 있다. 본 발명에 포괄되는 OX40l의 융합 단백질, 변이체, 및 단편은 따라서 OX40에 결합할 수 있고 활성화시킬 수 있다. 관심 융합 단백질은 예를 들어, 특허 출원 공개 번호 WO2006121810 및 미국 특허 제7,959,925호 및 제6,312,700호에 기술된다. 예로서, OX40 효현제는 OX40L이 IgG4P Fc와 융합된 MEDI6383이라고 하는 융합 단백질일 수 있다.

[0318] 관심 OX40 수용체의 효현제는 또한 효현제 압타머 및 효현제 항체를 포괄한다. 효현제 OX40 압타머 또는 항체는 각각 OX40에 특이적으로 결합하고 활성화시킬 수 있는 압타머 또는 항체를 의미한다.

[0319] 효현제 OX40 압타머는 예를 들어, [Dollis, Chem Biol. 2008 Jul 21; 15(7): 675-682]에 기술된다.

[0320] 효현제 OX40 항체는 또한 종래 기술, 예를 들어, [Weinberg et al. J Immuother, 2006, 26, 575-585, Morris, 2007, Mol Immunol, 44(2), 3112-3121] 또는 EP3209778에 기술되어 있다.

[0321] 일부 구현예에서, 효현제 OX40 항체는 단일클론 항체 예를 들어, 전체-인간, 인간화, 그라프트 또는 키메라 단일클론 항체 및 항원-결합 단편으로부터 선택된다.

[0322] 예를 들어, GSK3174998은 상이한 유형의 암의 치료에서 Keytruda®와 병용하여 또는 단일 작용제로서 현재 임상

시험 중인 효현제 OX40 항체이다. 항-OX40 항체의 다른 예는 MEDI6469 (Medimmune) 및 BMS 986178 (BMS)이다.

[0323] *본 발명의 치료적 병용물의 예*

[0324] 일부 특정 양태에서, 본 발명은 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위해 면역 체크포인트 조절제와 병용하는 옥사자포스포린 유도체에 관한 것이고, 여기서

[0325] - 옥사자포스포린 유도체는 상기 기술된 바와 같은 화학식 (Ia)의 화합물이고,

[0326] - 면역 체크포인트 조절제는 PDL1 억제제, PD1 억제제, CTLA4 억제제, TIGIT 억제제, LAG-3 억제제, TIM-3 억제제, OX40 효현제 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0327] 다른 특정 구현예에서, 본 발명은 암을 치료하거나 또는 예방하기 위해서 면역 체크포인트 억제제와 병용하여 사용을 위한 옥사자포스포린 유도체에 관한 것으로서, 여기서

[0328] - 옥사자포스포린 유도체는 상기 기술된 바와 같은 화학식 (IIa) 또는 (IIb)의 화합물이고,

[0329] - 면역 체크포인트 억제제는 PDL1 억제제, PD1 억제제, 및 CTLA4 억제제, 및 이의 조합, 바람직하게 PDL1 억제제, PD1 억제제 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0330] 예를 들어, 옥사자포스포린 유도체는 n이 1인, 화학식 (IIa) 또는 (IIb)의 화합물로부터 선택될 수 있고/있거나, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 이의 변이체, 이의 항원-결합 도메인 및 이의 조합으로부터 선택될 수 있다.

[0331] 특정 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 n이 1인, 상기 기술된 바와 같은 화학식 (IIa) 또는 (IIb)의 화합물이고, 면역 체크포인트 억제제는 항-PDL1 항체, 항-PD1 항체, 이의 변이체, 이의 항원-결합 도메인 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0332] 특정 구현예에서, 본 발명의 치료적 병용물은

[0333] - 옥사자포스포린 유도체는 제라닐옥시-CPA, 메틸화 제라닐옥시-CPA, 제라닐옥시-IFO, 메틸화 제라닐옥시-IFO, 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물; 바람직하게 제라닐옥시-IFO, 메틸화 제라닐옥시-IFO, 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물로부터 선택되고/되거나;

[0334] - 면역 체크포인트 억제제는 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 캄렐리주맙, 신틸리맙, 스파르탈리주맙, 티슬렐리주맙, 피딜리주맙, JS001, 아벨루맙, 아테졸리주맙, 둘발루맙, KN305, 이필리무맙, 트레멜리무맙, 이의 변이체, 이의 항원-결합 단편 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터, 바람직하게 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 캄렐리주맙, 신틸리맙, 스파르탈리주맙, 티슬렐리주맙, 피딜리주맙, JS001, 아벨루맙, 아테졸리주맙, 둘발루맙, 및 KN305로 이루어진 군으로부터, 더 바람직하게 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 이의 변이체, 및 이의 항원-결합 단편으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0335] 특정 구현예에서, 본 발명의 치료적 병용물은

[0336] - 옥사자포스포린 유도체는 R이 CH_3 인, 상기 기술된 바와 같은 화학식 (IIa) 또는 (IIb)의 화합물이고;

[0337] - 면역 체크포인트 억제제는 PD1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, TIGIT 억제제, LAG-3 억제제, TIM-3 억제제 및 OX-40 효현제로 이루어진 군으로부터, 더 바람직하게 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-TIGIT 항체 및 항-CTLA-4 항체로 이루어진 군으로부터, 보다 더 바람직하게 항-PD1 항체 및 항-PD-L1 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0338] 다른 구현예에서, 본 발명의 치료적 병용물은

[0339] - 옥사자포스포린 유도체는 R이 H인, 상기 기술된 바와 같은 화학식 (IIa) 또는 (IIb)의 화합물이고;

[0340] - 면역 체크포인트 억제제는 PD1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, TIGIT 억제제, LAG-3 억제제, TIM-3 억제제 및 OX-40 효현제로 이루어진 군으로부터, 더 바람직하게 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-TIGIT 항체 및 항-CTLA-4 항체로 이루어진 군으로부터, 보다 더 바람직하게 항-PD1 항체 및 항-PD-L1 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0341] 다른 구현예에서, 본 발명의 치료적 병용물은

[0342] - 옥사자포스포린 유도체는 R이 CH_3 이고 n은 1인, 상기 기술된 바와 같은 화학식 (IIa) 또는 (IIb)의 화합물이고;

[0343] - 면역 체크포인트 억제제는 PD1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, TIGIT 억제제, LAG-3 억제제, TIM-3 억제제 및 OX-40 효현제로 이루어진 군으로부터, 더 바람직하게 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-TIGIT 항체 및 항-CTLA-4 항체로 이루어진 군으로부터, 보다 더 바람직하게 항-PD1 항체 및 항-PD-L1 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0344] 다른 구현예에서, 본 발명의 치료적 병용물은

[0345] - 옥사자포스포린 유도체는 R이 H이고 n이 1인, 상기 기술된 바와 같은 화학식 (IIa) 또는 (IIb)의 화합물이고;

[0346] - 면역 체크포인트 억제제는 PD1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, TIGIT 억제제, LAG-3 억제제, TIM-3 억제제 및 OX-40 효현제로 이루어진 군으로부터, 더 바람직하게 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-TIGIT 항체 및 항-CTLA-4 항체로 이루어진 군으로부터, 보다 더 바람직하게 항-PD1 항체 및 항-PD-L1 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0347] 추가 구현예에서, 본 발명의 치료적 병용물은

[0348] - 옥사자포스포린 유도체는 제라닐옥시-IFO, 메틸화 제라닐옥시-IFO, 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물로부터 선택되고;

[0349] - 면역 체크포인트 억제제는 항-PD1 또는 항-PD-L1 항체인 것을 특징으로 한다.

[0350] *- 본 발명의 병용 요법의 구현*

[0351] 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제는 임의의 통상적인 경로에 의해 투여될 수 있다. 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제의 투여 경로는 동일할 수 있거나 또는 상이할 수 있다. 투여 경로는 국소, 비경구, 또는 장일 수 있다. 실제로, 본 발명의 치료제는 제한없이, 경구, 구강, 설하, 직장, 정맥내, 근육내, 피하, 골내, 피부, 경피, 점막, 경점막, 관절내, 심장내, 뇌내, 복막내, 종양내, 비내, 폐, 안내, 질, 또는 경피 경로를 포함하는 임의의 통상적인 경로를 통해서 투여될 수 있다.

[0352] 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제의 투여 경로는 상기 치료제의 성질 (특히, 이의 생체이용률), 치료하기 위한 암, 및 암이 걸린 환자의 장기 또는 조직에 의존하여 가변적일 수 있다. 일부 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 경구 경로 또는 정맥내 경로, 예를 들어, 볼러스 주사 또는 연속 주입에 의해 투여된다. 면역 체크포인트 조절제, 특히 항체 예컨대 OX40 항체, 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-TIGIT 항체, 항-LAG-3 항체, 항-TIM-3 항체, 및 항-CTLA4 항체는 비경구 경로, 바람직하게 정맥내 경로 예를 들어, 주사 또는 주입에 의해 투여될 수 있다.

[0353] 본 발명의 치료적 병용물의 용량 용법은 대상체의 특별한 특성, 즉, 그/그녀의 연령, 성별, 인종군, 체중, 건강 및 신체 상태, 병력, 암의 유형 및 이의 병기, 사전 가능한 항암 치료, 특이적 생물마커 (예컨대, 종양 세포 중 PD-L1 발현도)의 존재, 및 다른 관련 특성 관점에서 당업자가 결정할 수 있고 조정할 수 있다.

[0354] 면역 체크포인트 조절제 및 옥사자포스포린 유도체는 유효한 치료적 용량으로 대상체에게 투여된다. 본 명세서에서 사용되는, "*치료적 유효량 또는 용량*"은 대상체에서 관심 질환을 예방하거나, 제거하거나, 둔화시키거나, 또는 상기 질환에 의해서 또는 그와 연관된 하나 또는 몇 개의 증상 또는 장애를 감소시키거나 또는 지연시키는 치료제의 양을 의미한다. 용량은 1회, 2회 또는 그 이상의 볼러스, 정제 또는 주사로 투여될 수 있다. 일정 구현예에서, 치료제(들)는 연장된 기간 (예를 들어, 1시간 내지 24시간) 동안 단일 주사를 통해서 또는 주입을 통해서 투여된다.

[0355] 전형적으로, 환자에게 투여되는 옥사자포스포린 유도체의 양은 체중 기준으로 약 0.01 mg/kg 내지 500 mg/kg, 바람직하게 체중 기준으로 0.1 mg/kg 내지 300 mg/kg, 예를 들어, 25 내지 300 mg/kg 범위일 수 있다.

[0356] 일부 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체는 유의한 림프구감소증을 유도하지 않고, 환자에서 면역조절 효과, 예컨대 Th1 편극 및 따라서 T 세포-의존적 항종양 효과를 달성할 수 있는 치료적 용량으로 투여된다.

[0357] 이러한 치료적 용량은 환자에 따라서, 특히, 그녀/그의 연령, 건강 상태 및 면역 상태에 따라서 가변적이다. 면역조절 효과를 제공하는 옥사자포스포린 유도체의 일일 치료 용량은 상승적 저용량의 유도체를 환자 (또는 동일 유형의 암을 앓는 대표적인 환자 그룹)에게 투여하고 림프구 개체군 (예를 들어, B 세포, 자연 살해 T 세

포, T 세포 및 Treg) 및 면역 반응의 편극에 대한 투여된 용량의 효과를 모니터링하여 평가될 수 있다. 예를 들어, 당업자는 [Ghiringhelli, Cancer Immunol Immunother, 2007, 56:461-648]에 기술된 프로토콜을 조정할 수 있다.

[0358] 옥사자포스포린 유도체는 단일 일일 용량으로서, 예를 들어, 주사를 통해서, 수 일의 연속일 동안, 예를 들어, 2 내지 10 연속일 동안, 바람직하게 2 내지 6 연속일 동안 투여될 수 있다. 대안적으로, 옥사자포스포린 유도체는 수 시간의 연속 시간 동안, 예를 들어, 6시간 내지 48시간 동안, 예를 들어, 12시간 내지 24시간 동안 주입될 수 있다. 상기 치료는 1주, 2주 또는 3주마다, 또는 1개월, 2개월 또는 3개월마다 반복될 수 있다. 예를 들어, 옥사자포스포린 유도체에 의한 치료는 3주마다 또는 6주마다 반복될 수 있다.

[0359] 치료는 년간 1회 또는 수회 반복될 수 있다.

[0360] 환자에게 투여하려는 면역 체크포인트 조절제의 양은 체중 기준으로 약 0.001 mg/kg 내지 100 mg/kg 범위일 수 있다. 면역 체크포인트 조절제가 항체일 때, 단일 치료 주기 동안 환자에게 투여되는 누적 용량은 10 mg 내지 1 g, 예를 들어, 100 mg 내지 600 mg 범위일 수 있다. 상기 치료제는 단일 일일 용량으로서, 예를 들어, 주사 또는 주입을 통해서, 또는 연장된 기간 동안, 예를 들어, 1주 내지 12주 동안, 예를 들어, 1주 내지 8주 동안 다수 용량으로, 또한 예를 들어, 주사 또는 주입을 통해서, 투여될 수 있다. 투여의 빈도는 1개월마다, 2주마다, 1주마다, 2일마다 또는 1일 1회로 1회 투여일 수 있다.

[0361] 상기 치료는 년간 1회 또는 수회 반복될 수 있다.

[0362] 상기 언급된 바와 같이, 면역 체크포인트 조절제 및 옥사자포스포린 유도체의 투여는 동시에, 별도로, 연속하여, 동시발생적으로, 또는 연속적으로 수행될 수 있다. 병용 요법은 반드시 치료제를, 동일한 시간에, 단일 약학 조성물로, 동일한 약학 제형으로, 및/또는 동일한 투여 경로를 통해서, 투여할 필요가 없다. 본 발명의 치료제는 환자에게 임의 순서로 투여될 수 있다.

[0363] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제 및 옥사자포스포린 유도체의 투여는 동일한 개월, 동일한 주, 및 심지어 동일한 날에 환자에게 수행된다. 일부 특정 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체의 투여는 면역 체크포인트 조절제의 투여 이전 또는 이후 1개월, 2주, 또는 1주간에 수행된다. 추가 예로서, 옥사자포스포린 유도체는 환자에게 면역 체크포인트 조절제의 투여 이전 또는 이후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15일(들)에 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 치료제의 투여는 약물의 약동학 및 제거율을 기반으로 일정 기간 동안 양쪽 치료제에 대상체의 노출을 일으키기 위해 수행된다.

[0364] 일부 구현예에서, 치료제의 투여는 3주마다 또는 6주마다 반복된다. 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제의 투여는 동일한 날에 또는 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15일 간격으로 수행될 수 있다.

[0365] 일부 다르거나 또는 추가의 구현예에서, 면역 체크포인트 조절제의 수 회 (예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5) 투여는 옥사자포스포린 유도체의 2회 연속 투여 사이에 투여된다. 일부 추가 구현예에서, 옥사자포스포린 유도체의 수 회 (예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5) 투여는 면역 체크포인트 조절제의 2회 연속 투여 사이에 수행된다.

[0366] 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제는 동일한 약학 조성물 내에서 또는 상이한 약학 조성물로 환자에게 투여될 수 있다.

[0367] 본 발명의 치료제, 즉 옥사자포스포린 유도체 및/또는 면역 체크포인트 조절제는 표준 방법 예컨대 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Lippincott Williams & Wilkins; Twenty first Edition, 2005)]에 기술된 것들에 따라서 임의의 적절한 약학 조성물로 제제화될 수 있다.

[0368] 사용될 수 있는 약학적으로 허용가능한 부형제는, 특히, [Handbook of Pharmaceuticals Excipients, American Pharmaceutical Association (Pharmaceutical Press; 6th revised edition, 2009)]에 기술되어 있다. 전형적으로, 치료제(들)는 바람직한 약학 형태를 수득하기 위해서 하나 또는 몇 개의 부형제와 혼합된다.

[0369] 적절한 부형제의 예는 용매 예컨대 물 또는 물/에탄올 혼합물, 충전제, 담체, 희석제, 결합제, 고화방지제, 가소제, 붕해제, 윤활제, 풍미제, 완충제, 안정화제, 착색제, 염료, 항산화제, 부착방지제, 연화제, 보존제, 계면활성제, 왁스, 유화제, 습윤제, 및 유동화제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 희석제의 예는 제한없이, 미세정질 셀룰로스, 전분, 변성 전분, 이염기성 칼슘 포스페이트 이수화물, 칼슘 술페이트 삼수화물, 칼슘 술페이트 이수화물, 칼슘 카보네이트, 단당류 또는 이당류, 예컨대 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 만니톨, 갈락토스 및 솔비톨, 자일리톨 및 이의 조합을 포함한다. 결합제의 예는 제한없이, 전분, 예를 들

어, 감자 전분, 밀 전분, 옥수수 전분; 검, 예컨대 검 트라가칸트, 아카시아 검 및 젤라틴; 히드록시프로필 셀룰로스, 히드록시에틸 셀룰로스, 히드록시프로필 메틸 셀룰로스; 폴리비닐 피롤리돈, 코포비돈, 폴리에틸렌 글리콜 및 이의 조합을 포함한다. 윤활제의 예는 제한없이, 지방산 및 이의 유도체 예컨대 칼슘 스테아레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 글리세릴 팔미토스테아레이트 마그네슘 스테아레이트, 아연 스테아레이트, 또는 스테아르산, 또는 폴리알킬렌글리콜 예컨대 PEG를 포함한다. 유동화제는 콜로이드 실리카, 이산화규소, 탈크 등에서 선택될 수 있다. 붕해제의 예는 제한없이, 크로스포비돈, 크로스카르멜로스 염 예컨대 소듐 크로스카르멜로스, 전분 및 이의 유도체를 포괄한다. 계면활성제의 예는 제한없이, 시메티콘, 트리에탄올아민, 폴리솔베이트 및 이의 유도체 예컨대 tween®20 또는 tween®40, 폴록사머, 지방 알콜 예컨대 라우릴 알콜, 세틸 알콜, 인지질 및 알킬술페이트 예컨대 소듐 도데실술페이트 (SDS)를 포괄한다. 특히 동결건조에 유용한, 안정화제의 예는 전형적으로 당 예컨대 만니톨, 수크로스, 덱스트로스 및 트레할로스, 아미노산, 히드록시프로필-β-시클로덱스트린 및 혈청 알부민을 포괄한다. 유화제의 예는 예를 들어, 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 디메틸포름아미드, 오일, 폴리에틸렌글리콜 및 솔비탄의 지방산 에스테르 또는 이들 물질의 혼합물을 포괄한다. 보존제는 제한없이, 벤즈알코늄 클로라이드, 벤조산, 솔브산 및 이의 염을 포괄한다. 항산화제는 아스코르브산, 아스코르빌 팔미테이트, 토코페롤 및 이의 조합을 포괄한다. 완충제의 예는 인산, 트리스(히드록시메틸)아미노메탄 히드로클로라이드 (TRIS.HCl), 4-모르폴린프로판술폰산 (MOPS), 4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-에탄술폰산 (HEPES), PIPES, 2,2-비스(히드록시메틸)-2,2',2"-니트릴로트리에탄올 (BIS-TRIS), TRIS-글리신, 비신, 트리신, TAPS, TAPSO, MES, 시트레이트, 보레이트, 시트레이트/포스페이트, 바이카보네이트, 글루타르산, 숙신산, 이의 염 및 이의 조합을 포괄한다.

[0370] 관심 치료제와 조합되는 부형제(들)는 (i) 상기 치료제의 안정성을 포함한 물리-화학적 성질, (ii) 상기 치료제에 대해 추구되는 약동학적 프로파일 및/또는 방출 프로파일, (iii) 제형 및 (iv) 투여 경로를 고려하여 선택될 수 있다는 것은 당연하다.

[0371] 약학 조성물은 임의 유형일 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물은 고형 경구 제형, 액상 제형, 예를 들어, 정맥내 경로를 위한 현탁액, 국소 도포를 위한 제형 예컨대 크림, 연고, 겔 등, 패치, 예컨대 경피 패치, 점막-부착 패치 또는 정제, 특히 반창고 또는 붕대, 좌제, 비내 또는 폐 투여를 위한 에어로졸일 수 있다. 일부 특정 구현예에서, 약학 조성물은 동결건조 또는 냉동-건조 분말일 수 있다. 분말은 완충제, 동결-건조 안정화제, 항산화제, 계면활성제 및 이의 조합으로부터 선택되는 하나 또는 몇 개의 부형제와 조합하여 본 발명의 치료제 (즉, 면역 체크포인트 조절제 및/또는 옥사자포스포린 유도체)를 포함할 수 있다. 상기 분말은 예를 들어, 정맥내 경로 (예를 들어, 볼러스 주사 또는 주입) 또는 경구 경로를 통해서, 환자에게 투여되기 직전에, 적절한 비히클, 예를 들어, 물에 용해될 수 있거나 또는 현탁될 수 있다.

[0372] 추가 양태에서, 본 발명의 치료적 병용물 (예를 들어, 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제)은 추가 치료제와 병용하여 대상체에게 투여될 수 있다. 추가 치료제는 항암제일 수 있다. 비제한적인 예는 특히 인터페론, 시스플라틴, 블레오마이신, 플루오로우라실, 메토트렉세이트, 빈크리스틴, 악티노마이신, 베노렐빈, 탁산 예컨대 파클리탁셀 및 도세탁셀, 또는 안트라사이클린을 포함할 수 있다. 더 나아가서, 아크롤레인의 잠재적인 독성을 중화시키기 위한 활성 성분, 특히 소듐 머캅토에탄술포네이트가 투여될 수 있다. 추가 치료제는 체크포인트 조절제 및/또는 옥사자포스포린 유도체에 대해서, 동일 경로를 통해서 또는 별도 경로를 통해서, 동시에, 별도로 또는 연속적으로, 환자에게 투여될 수 있다.

[0373] 본 발명의 치료적 병용물은 또한 방사선요법과 공동치료되는 환자에서 사용될 수 있다.

[0374] 추가 양태에서, 본 발명은 바람직하게 면역 체크포인트 조절제 및 옥사자포스포린 유도체를 활성 성분으로서 포함하는, 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위한, 약학 조성물에 관한 것이다. 면역 체크포인트 조절제 및 옥사자포스포린 유도체는 상기 기술된 바와 같다.

[0375] 일부 구현예에서, 본 발명의 약학 조성물은

[0376] - 0,01 중량% 내지 45 중량%의 옥사자포스포린 유도체,

[0377] - 0,01 중량% 내지 45 중량%의 면역 체크포인트 조절제, 및

[0378] - 50 중량% 내지 99,98 중량%의 하나 또는 몇 개의 약학 부형제를 포함한다.

[0379] 하나 또는 몇 개의 약학 부형제는 임의 유형일 수 있고, 담체, 희석제, 결합제, 계면활성제, 안정화제, 항산화

제, 보존제, 붕해제 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0380] 약학 조성물은 상기 기술된 바와 같이 임의 유형일 수 있다. 예를 들어, 정맥내 경로를 통해서, 비경구 주사에 적합한 약학 조성물이 바람직할 수 있다.

[0381] 추가 양태에서, 본 발명은 바람직하게 암의 치료 또는 예방에서 사용을 위한 약학 키트에 관한 것이고, 상기 키트는 적어도 2개 성분을 포함한다:

[0382] - 상기 기술된 바와 같은 적어도 하나의 옥사자포스포린 유도체를 포함하는 제1 성분, 및

[0383] - 상기 기술된 바와 같은 적어도 하나의 면역 체크포인트 조절제를 포함하는 제2 성분.

[0384] 바람직한 옥사자포스포린 유도체 및 면역 체크포인트 조절제는 상기 기술된 것들이다. 예를 들어, 적어도 하나의 옥사자포스포린 유도체는 상기 기술된 바와 같은 화학식 (Ia), (IIa) 및 (IIb)의 화합물로부터 선택될 수 있고/있거나, 면역 체크포인트 조절제는 PD1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA4 억제제 및 이의 조합, 바람직하게 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체 및 이의 조합으로부터 선택될 수 있다.

[0385] 특정 구현예에서, 약학 키트는 적어도 3개 성분을 포함한다:

[0386] - 상기 기술된 바와 같은 화학식 (Ia), (IIa), 및 (IIb)의 화합물로부터 선택되는 적어도 하나의 옥사자포스포린 유도체를 포함하는 제1 성분,

[0387] - 항-PD1 또는 항-PD-L1 항체를 포함하는 제2 성분, 및

[0388] - 항-CTLA4 항체를 포함하는 임의의 제3 성분.

[0389] 전형적으로, 상기 성분은 상기 기술된 바와 같은 약학 조성물의 형태이다. 약학 조성물은 멸균 용기에 포장될 수 있다. 이러한 용기는 박스, 앰풀, 병, 바이알, 튜브, 백, 파우치, 블리스터-팩, 또는 당분야에 공지된 다른 적합한 용기 형태일 수 있다. 이러한 용기는 플라스틱, 유리, 적층지, 금속 호일, 또는 약물을 수용하기에 적합한 다른 재료로 만들어질 수 있다.

[0390] 약학 키트는 추가 구성요소 예컨대 완충제, 성분의 투여를 위한 수단 (예를 들어, 볼러스 주사 또는 주입 예컨대 시린지, 바늘, 카테터 등에 의한 투여 수단), 및 사용 설명서를 포함하는 라벨을 포함할 수 있다.

[0391] 본 발명의 다른 양태는 오직 예시적인 것이고, 본 출원의 범주를 제한하는 것이 아닌, 하기 실시예에 예시된다.

[0392] **실시예**

[0393] **재료 및 방법**

[0394] *화학제 및 시약*

[0395] 시클로포스파미드 (CPA) (Endoxan®; Baxter) 및 이포스파미드 (IFO) (Holoxan®; Baxter)는 프랑스, 파리 구스타브 루시 암 센터 (Gustave Roussy Cancer Campus Grand Paris)가 제공하였다. 제라닐옥시-IFO (G-IFO)는 Sharbek (Journal of Medecinal Chemistry, 2015, 58(2):705-17)에 이전에 기술된 바와 같이 99% 순도로 합성되었다. 생체내 연구를 위해서, CPA 및 IFO는 NaCl 0.9% 또는 DMSO/Tween 80/NaCl 0.9% (5/5/90,v/v/v) 중에 용해시켰다. G-IFO는 DMSO/Tween 80/NaCl 0.9% (5/5/90,v/v/v)에 용해시켰다. 생체내 실험을 위한 단일클론 항-CD4 (GK1.5), 항-CD8α (53-6.72), 항-PD1 (RMP1-14) 및 그들 이소타입 대조군 rIgG2a (2A3)은 BioXCell (West Lebanon, NH, USA)에서 구매하였고 포스페이트-완충 염수 (PBS)에 용해하였다. 유세포측정 및 면역조직화학 분석에 사용되는 단일클론 항체 (mAbs)는 표 S1에 기술된다.

[0396] *마우스 및 종양 세포주*

[0397] 7 내지 8주령 암컷 C57BL/6 마우스 (평균 체중, 20g)는 Harlan Laboratories (Gannat, France)에서 구매하였다. 동물은 병원체-무함유 조건에서 사용되었다. MCA205 섬유육종 종양 세포주 (C57Bl/6 마우스의 동계)는 Dr Yamazaki Takahiro (INSERM U1015, Gustave Roussy, Villejuif, France)가 친절하게 제공하였다. 그들을 10% 태아 소 혈청 (Paisley, UK) 및 2 mM L-글루타민 (Invitrogen, USA)이 보충된 Gibco™ RPMI 1640 배지 (Paisley, UK) 중에 5% CO_2 하에 37℃에서 회수하였다. 모든 동물 실험은 프랑스 및 유럽 법률 및 규칙 및 CEEA26 윤리 위원회 및 교육부, 고등 교육 및 연구부에 의거하여 수행하였고, 유럽 공동체가 수립한 조건 하에 수행되었다 (Directive 2010/63/2015-038).

[0398] *마우스의 종양 모델 및 종양 접종*

[0399] 8.10^5 종양 세포를 D0에 C57B1/6 마우스의 우측 옆구리에 피하 (s.c.) 접종하였다. 마우스는 종양 부피가 50 내지 500 mm3 (V (mm3) = 너비2 (mm2) x 길이 (mm)/2) 크기에 도달할 때 100 mg/kg의 CPA, 100, 150, 200 또는 300 mg/kg의 IFO, IFO 50, 100 또는 150 mg/kg의 등몰 용량의 비히클 또는 G-IFO의 단일 복강내 (i.p.) 주사를 받았다. T 세포 고갈 경우에, 마우스는 -3일 (D), D0, D+3에, 다음으로 1주 1회로, 항-CD8α (클론 53-6.72) 및/또는 항-CD4 (클론 GK1.5) 또는 그들 이소타입 대조군 래트 IgG2a (클론 2A3)의 200 μg/마우스 i.p. 주사, 및 D7에 IFO 또는 대조군을 투여받았다.

[0400] 화학요법 (IFO) 및 항-PD1 mAb 간 병용을 위해서, 마우스는 D7일에 IFO 또는 비히클에 이어서, 항-PD1 mAb (클론 RMP1-14) 또는 이의 이소타입 대조군 래트 IgG2a (클론 2A3)의 250 μg/마우스 i.p. 주사를 D9, D12 및 D15에 투여받았다. 화학요법 (G-IFO) 및 항-PD1 mAb 간 병용을 위한 연구에 관하여, 마우스는 G-IFO 또는 비히클을 D9에 이어서, 항-PD1 mAb (클론 RMP1-14) 또는 이의 이소타입 대조군 래트 IgG2a (클론 2A3)의 200 μg/마우스 i.p. 주사를 D12, D15 및 D19에 투여받았다. 종양 부피는 칼리퍼를 사용하여 길이 및 너비를 측정하여 1주 3회 추적하였다. 매일 종양 측정을 정규화하기 위해서 VT_{Dx} 대 VT_{Di} (VT_{Dx}/VT_{Di}) 비율을 계산하였고; VTDi는 치료 개시일의 종양 부피에 상응하고 VT_{Dx}는 각 마우스에 대한 각 측정일에 종양 부피에 상응한다.

[0401] *유세포측정 분석*

[0402] 7주 내지 8주의 암컷 C57BL/6 마우스는 상이한 치료 그룹으로 무작위로 지정하였다. 마우스의 6개 그룹은 비히클을 투여받는 미처치 대조군 및 100, 150, 200 및 300 mg/kg의 용량의 IFO 및 100 mg/kg의 CPA가 처치되는 4 내지 5개 그룹을 포함하여, 평가되었다. 양쪽 약물은 NaCl 0.9%의 용액에 용해하였다. IFO 50, 100 및 150 mg/kg의 등몰 용량의 G-IFO가 처치된 그룹을 첨가하여, 비히클, CPA, IFO 및 G-IFO는 DMSO/Tween 80/NaCl 0.9% (5/5/90,v/v/v)의 용액에 용해시켰다. G-IFO 그룹을 첨가할 때 20 mL/kg 또는 10 mL/kg의 부피로 단일 i.p. 주사를 통해 투여를 수행하였다. 처치 후 7일에, 마우스를 희생시켰고, 비장 및 종양을 수집하였다. 암모늄 클로라이드로 적혈 세포의 용해 이후에 비장 생존 세포를 트립판 블루와 Vi-CELL XR (Beckman Coulter)로 정량하였다.

[0403] 간략하게, ADNase (260913, Millipore) 및 리가제 (5401127001, Sigma)를 칭량하고 절단한 종양에 첨가한 후에 종양 해리는 GentleMACS™ 분해기를 사용해 수행하였다. 종양 세포는 40분 동안 37℃에서 교반 하에 인큐베이션한 다음에 트립판 블루와 Vi-CELL XR (Beckman Coulter)로 정량하였다. 염색 후에, Fcγ-수용체는 15분 동안 4℃에서 항-CD16/32 기능적 등급 정제 항체 (eBioscience, Paris, France)를 사용하여 차단하였다. 세포는 30분 동안 4℃에서 세포 표면 염색을 위한 항체와 인큐베이션하였다. FoxP3 염색을 위해서, 세포는 FoxP3 키트 프로토콜 (eBioscience, Paris, France)에 따라서 세포 표면 염색 이후에 고정시키고 투과시켰다. 샘플은 10-색 Gallios 세포측정기 (Beckman Coulter, Villepinte, France)에서 획득하였다. 분석은 Kaluza 소프트웨어 1.3 (Beckman Coulter)를 사용하여 수행하였다. 2개 상이한 패널을 사용하여 면역 세포를 확인하였다. 먼저 백혈구는 FITC-접합된 항-마우스 CD45의 사용을 통해 확인하였다. T 및 B 림프구는 각각 APC-Cy7-접합된 항-마우스 CD3 및 BV421-접합된 항-마우스 CD19를 사용하여 확인하였다. $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포는 각각 CD3 양성 세포 중에서 PE-Cy7-접합된 항-마우스 CD4 및 APC-R700-접합된 항-마우스 CD8a 염색을 사용해 분리하였다. Treg 세포는 $CD3^+CD4^+$ T 세포 중에서 APC-접합된 항-마우스 FoxP3 염색을 사용하여 염색하였다 (표 1).

항원	*종*	*클론*	*형광 색소*	*공급처*
CD45	마우스	30-F11	FITC	BD biosciences
CD3e	마우스	145-2C11	APC-Cy7	BD biosciences
CD4	마우스	RM4-5	PC7	BD biosciences
CD8α	마우스	53-6.7	APC-R700	BD biosciences
FoxP3	마우스	FJK-16s	APC	eBioscience
CD25	마우스	PC61	PE	BD biosciences
CD19	마우스	6D5	BV421	BioLegend

[0404] **표 1. 유세포측정 실험에 사용된 항체**

[0405] *사이토카인 어세이*

[0406] 비장 세포 현탁액으로부터, 웰 당 총 2.10^5 세포를 항-CD3ε mAb (클론 145-2C11, 10 ㎍/mL; eBioscience) 및/또는 항-CD28 mAb (클론 37.57, 2 ㎍/mL; BD Pharmingen)가 사전 코팅된 96웰 Nunc MaxiSorp® 플레이트 (eBioscience)에서 인큐베이션하였다. 상청액은 37℃에 5% CO2 하에서 48시간의 인큐베이션 이후에 어세이하였고 사이토카인 농도는 상청액 중에서 Bio-Plex™ 마우스 사이토카인 표준 23-Plex, 그룹 I 어세이 (bio rad, M60009RDPD)를 사용해 정량하였다. 패널은 하기 사이토카인 및 케모카인을 포함하였다: 에오탁신, 과립구-콜로니 자극 인자 (G-CSF), 과립구-마크로파지-콜로니 자극 인자 (GM-CSF), 인터페론 감마 (IFNγ), 인터류킨 (IL)-1α (IL-1α), IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-17A, 케라티노사이트 주화인자 (KC), 마크로파지 화학주성 단백질-1 (MCP-1), 마크로파지 염증성 단백질 (MIP)-1알파 (MIP-1α), MIP-1β, RANTES (Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted) 및 종양 괴사 인자-알파 (TNF-α). 결과는 Bio-Plex Manager 소프트웨어 V 6.1 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 사용해 분석하였다. 마우스에서 IFO 처치 이후 유의하게 조절된 사이토카인 및 케모카인의 선택은 IFNγ, IL-17A 및 IL-6에 대한 모니터링을 감소시킬 수 있게 한다. 이들 3종 사이토카인은 마우스 IL-17A ELISA Ready-SET-Go® (eBiosciences), 마우스 IFNγ ELISA Set (BD Biosciences) 및 마우스 IL-6 ELISA 세트 (BD Biosciences)를 사용하여 정량하였다.

[0407] *통계 분석*

[0408] 데이터는 Microsoft Excel® (Microsoft Co., Redmont, WA, USA), Prism™ 5.0 및 8.0 소프트웨어 (GraphPad San Diego, CA, USA)를 사용해 분석하였다. 모든 결과는 평균 ± 사분위수간에서 평균 또는 중앙치의 표준 오차로서 표시된다. 통계적으로 유의한 편차는 2개 초과의 독립 그룹을 비교하기 위해 비-모수적 만-위트니 검정 또는 비-모수적 크루스칼-왈리스 검정을 사용해 분석하였고, 반복된 측정에서 구형도 위반의 보정을 위해서 가이저-그린하우스와 결합한 2개 독립 변수와 그룹을 비교하기 위해 2원 ANOVA 검정을 사용하였다. 분석의 탐색적 성분때문에 작은 개체군 ($n \leq 6$)으로 다중 비교에 대한 조정은 수행하지 않았다. 0.05 보다 작은 p-값은 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 유의한 p 값은 다음과 같이 주석을 달았다: $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$, $****p < 0.0001$.

[0409] **결과**

[0410] *- IFO 및 제라닐옥시-IFO의 면역조절 효과*

[0411] 항종양 반응 및 면역 반응에 대한 IFO의 상승 용량의 효과를 조사하였다. CPA (시클로포스파미드)는 100 mg/kg에서 사용하였는데 사전 연구는 이 용량에서 이의 면역-매개 항종양 반응을 입증하였다.

[0412] 면역적격 MCA205-보유 C57Bl/6 마우스에서 IFO (100, 150, 200 및 300 mg/kg) 또는 CPA (100 mg/kg)의 상승적 단일 i.p. 주사의 항종양 활성을 평가하였다. 종양 성장의 유의한 감소가 100 mg/kg의 CPA에서 관찰되었고; IFO의 경우에, 저용량 (100 및 150 mg/kg)에서 고용량 (200 및 300 mg/kg)으로 종양 성장의 지연이 또한 관찰되었다.

[0413] 미경험 마우스에서, IFNγ, IL-17A 및 IL-6은 처치 이후에 유의하게 증가되었다. 예상한 바와 같이, 비히클은 약한 사이토카인 분비를 나타내었다. 100 mg/kg의 CPA로 처치된 마우스에서, TCR-구동 IFNγ, IL-17A 및 IL-6은 이전에 공개된 바와 같이 유의하게 증가되었다. IFO 그룹 (100, 150 및 200 mg/kg)에 대해서, TCR-구동 IFNγ, IL-17A 및 IL-6의 유의한 증가가 또한 CD3ε + CD28 자극 이후에 관찰되었다.

[0414] 미경험 마우스의 경우처럼, 본 발명자는 MCA205 종양-보유 마우스에서 TCR 관여 이후에 T 세포 편극을 조사하였다. IFO의 기지 세포독성 용량, 즉 300 mg/kg은 종양-보유 마우스에서 실험에 첨가되었고; IFO 200 및 300 mg/kg은 IL-17A 및 IFNγ TCR-구동 사이토카인을 유도하는데 실패하였고, 오직 TCR-구동 IL-6은 고도로 분비된 채로 남아있었다. 이들 결과는 T 세포 계수 축소를 비롯하여 더 높은 용량에서 관찰된 T 세포 비율의 감소를 상기시킨다. T 세포 계수 감소가 종양-보유 마우스에서 관찰되지 않는 100 및 150 mg/kg의 IFO 경우에, TCR-구동된 IL-17A, IFNγ 및 IL-6의 유의한 분비는 CD3ε 이후 및 CD28 공-자극 이후에 검출되었다. 예상치 않게, IFO 150 mg/kg은 CPA 100 mg/kg에 비해서 더 많은 TCR-구동된 IL-17 및 IL-6을 유도하였다.

[0415] 저용량의 IFO에 대한 항종양 활성에서 T 세포 관여를 확인하기 위해 보완 연구가 수행되었다. MCA205-보유 마우스는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 모두에서 고갈되었고, 150 mg/kg의 IFO의 단일 i.p. 주사로 처치되었다.

종양 성장의 유의한 감소는 비-고갈 마우스에서 관찰되었다. CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포 고갈된 마우스 경우에, 발명자는 항종양 효과의 감소를 관찰하였다. 마지막으로, IFO 150 mg/kg의 항종양 효능은 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 모두가 고갈된 마우스에서 완전하게 파괴되었다. 전체적으로, 이들 데이터는 저용량의 IFO (150 mg/kg)에서, T 세포가 항종양 면역-매개 효과를 관찰하기 위해 필수적이라는 것을 의미한다.

[0416] IFO의 면역-매개 항종양 반응에 대한 이들 결과는 본 발명자가 덜 독성인 옥사자포스포린 유도체, G-IFO에 대한 면역조절 성질을 연구하게 하였다.

[0417] 본 명세서에 기술된 실험에서, G-IFO의 용량은 IFO의 등몰 용량 (eq. X mg/kg)으로서 정의된다. 예를 들어, 40 mg/kg의 G-IFO는 25 mg/kg의 IFO와 등가인데 몰 질량이 G-IFO 경우에 419 g/mol이고 IFO 경우에 261 g/mol이기 때문이다.

[0418] 본 발명자는 면역 적격 MCA205-보유 C57Bl/6에서 eq. 100 mg/kg의 G-IFO의 단일 i.p. 주사의 항종양 활성을 평가하였다. eq. 100 mg/kg의 G-IFO의 용량은 고용량의 G-IFO (eq. 150 mg/kg)와 비교하여 비장 (도 2A) 및 종양 (도 2B)에서 T 세포 개체군에 대한 세포독성을 보이지 않았다. 도 2D에 도시된 바와 같이, 종양 성장의 유의한 지연은 CPA 100 mg/kg과 비교하여 G-IFO에 대해 더 낮은 종양 성장 지연으로 3개 분자에 대해 관찰되었다. 이들 데이터는 G-IFO가 단일 저용량에서도 종양 성장을 지연시킬 수 있다는 것을 시사한다.

[0419] 본 발명자는 또한 G-IFO의 상승 용량에 대해 MCA205-보유 마우스에서 TCR-구동 사이토카인 방출을 조사하였다. 도 2B에 도시된 바와 같이, G-IFO eq. 150 mg/kg은 높은 수준의 IL-6을 유도하였지만 IFNγ의 불충분한 분비를 유도하는데 반해서 G-IFO eq. 100 mg/kg은 IFNγ 분비, 즉 Th1 편극을 선호하였다. 유의한 IL-17 분비는 G-IFO의 이들 실험에서 관찰되지 않았다.

[0420] 전체적으로, 이들 결과는 eq. 150 mg/kg의 G-IFO가 T 세포 고갈을 유도하여 아마도 Th1 축적을 제한한다는 것을 보여준 한편 eq. 100 mg/kg의 G-IFO는 항종양 활성을 보였고, T 세포의 수에 영향을 미치지 않았고, IFNγ 및 IL-6 분비의 증가를 입증하였다. 그러므로, eq. 100 mg/kg의 G-IFO는 면역조절 용량으로서 선택되었다.

[0421] **항-PD1 항체, 옥사자포스포린 및 사전-활성화된 옥사자포스포린 (X-옥사자; 즉, G-IFO) 간 상승작용**

[0422] 도 3 (A-B)에 도시된 바와 같이, 항-PD1 mAb는 단독으로 투여될 때 MCA205 종양 모델에서 종양 성장을 감소시킬 수 없었다.

[0423] 항종양 효능의 개선은 IFO가 항-PD1 mAb에 회합될 때 높은 세포독성 용량 (300 mg/kg) 또는 면역조절 용량 (150 mg/kg)의 IFO로 관찰되지 않았다 (도 4). 대조적으로, 본 발명의 옥사자포스포린 유도체인, 제라닐옥시-IFO는 저용량 (G-IFO eq. 100 mg/kg)에서, 항-PD1 mAb와 병용하여 항종양 효능을 고도로 증강시킨다는 것을 보여주었다 (도 3). 총 종양 퇴행이 마우스 3의 17%에서 관찰되었다.

[0424] 마지막으로, 개시 부피의 5배에 도달할때까지의 시간은 G-IFO eq. 100 mg/kg 단독 및 항-PD1 mAb 단독과 비교하여 G-IFO eq. 100 mg/kg + 항-PD1 mAb에 의해 고도로 지연되어서 종양 성장에 대한 항-PD1 항체와 G-IFO의 병용물의 상승적 효과를 보여주었다 (도 3B).

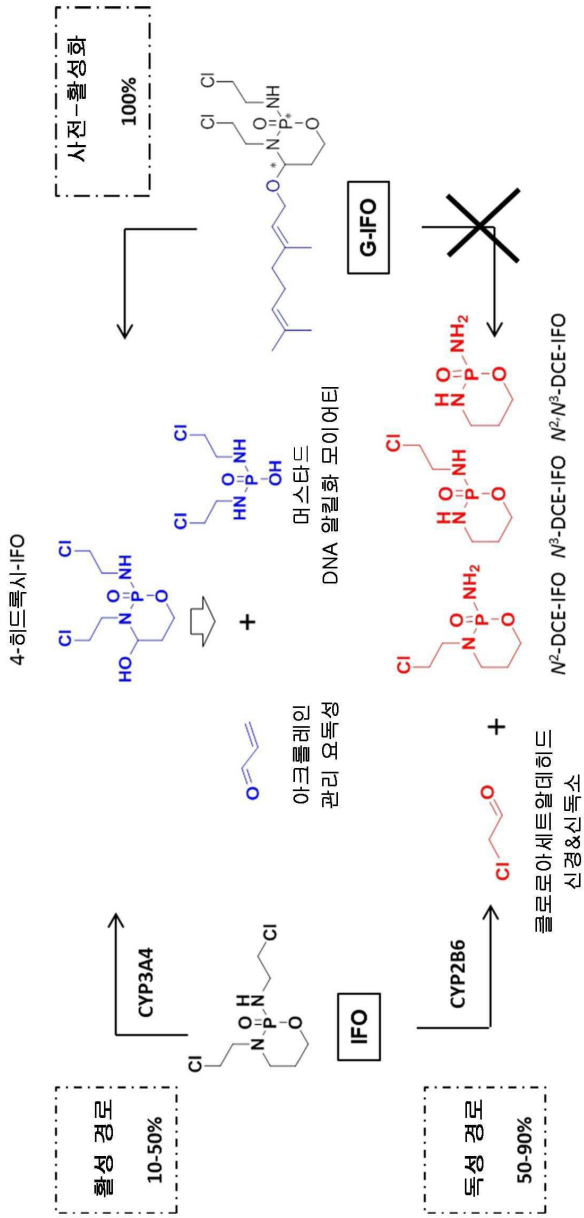
[0425] 결론

[0426] MCA205는 단독 치료로서 항-PD-1 mAb에 빈약하게 반응하였다. 도 4에 도시된 바와 같이, 항-PD1 mAb 치료에 eq. 100 mg/kg의 G-IFO의 단일 주사의 첨가는 항종양 효능을 개선시켰다. 흥미롭게도, 항-PD1 mAb가 G-IFO eq. 100 mg/kg과 회합될 때 강력한 상승효과가 관찰되었다. 따라서, 저용량의 G-IFO는 항-PD-1 mAb 활성에 영향을 미치는데 적절한 듯하였다. 이러한 효과는 고용량 및 저용량 둘 모두의 IFO에서 관찰되지 않았다.

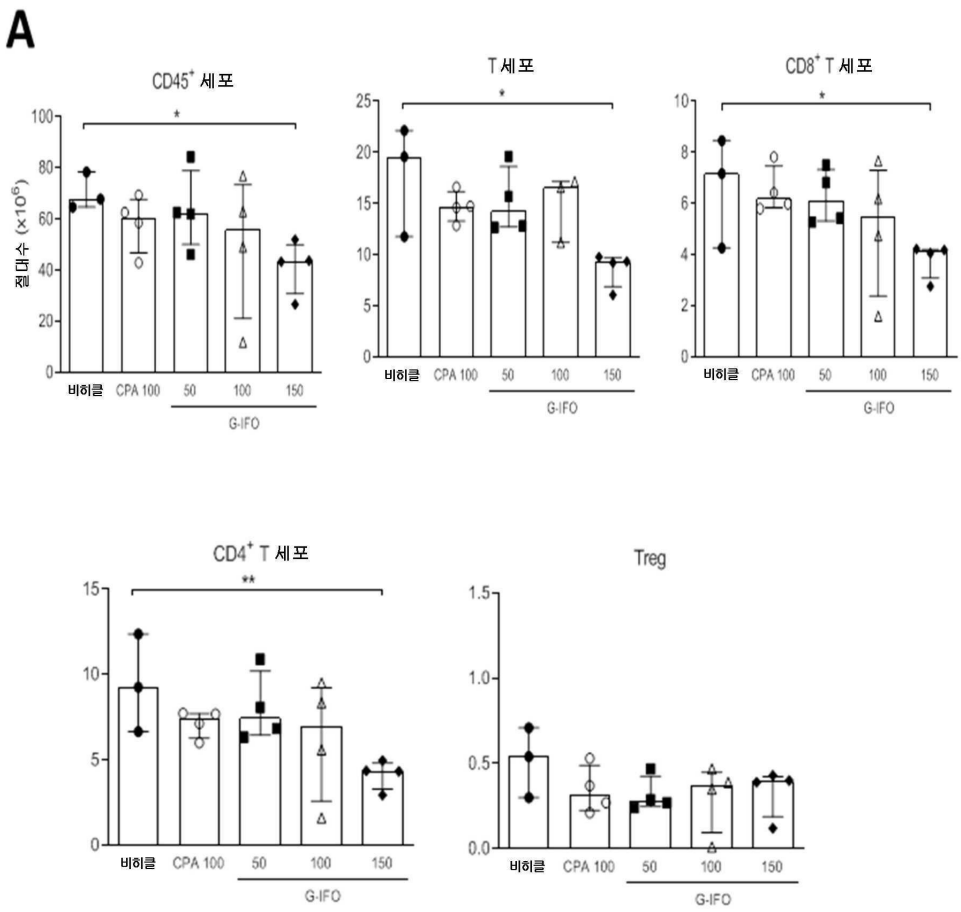
[0427] 본 발명자는 마우스에서 G-IFO의 i.p. 주사 이후에 면역 변형을 조사하였다. B 세포 개체군은 저용량의 G-IFO (eq. 100 mg/kg)에서도 G-IFO에 의해 매우 영향받는 듯하여서 (도 4) 이전에 보고된 바와 같이 이들 세포독성제에 의한 직접 사멸에 대한 B 세포의 고민감성을 강조하였다. 이러한 B 세포 감소는 옥사자포스포린 유도체와 면역 체크포인트 억제제를 사용했을 때 장점일 수 있다. 실제로, 면역 체크포인트 억제제 예컨대 항-PD-1, 항-PD-L1 및 항-CTLA-4 항체는 빈번한 면역-관련 유해 사례 (irAE)를 가졌다. 이들 irAE의 일부는 자가-항체 유도 및/또는 증가의 결과이다. 요즘 코르티코이드 투여는 대부분의 사례에서 면역요법이 개재되는 중증 irAE에 대한 주요 치료이다. 따라서, 본 발명의 옥사자포스포린 유도체와 면역 체크포인트 조절제의 병용은 자가-반응성 B 세포의 덜 빈번한 재활성화 및 따라서 적은 자가면역-관련 유해 사례를 야기시킬 수 있다.

도면

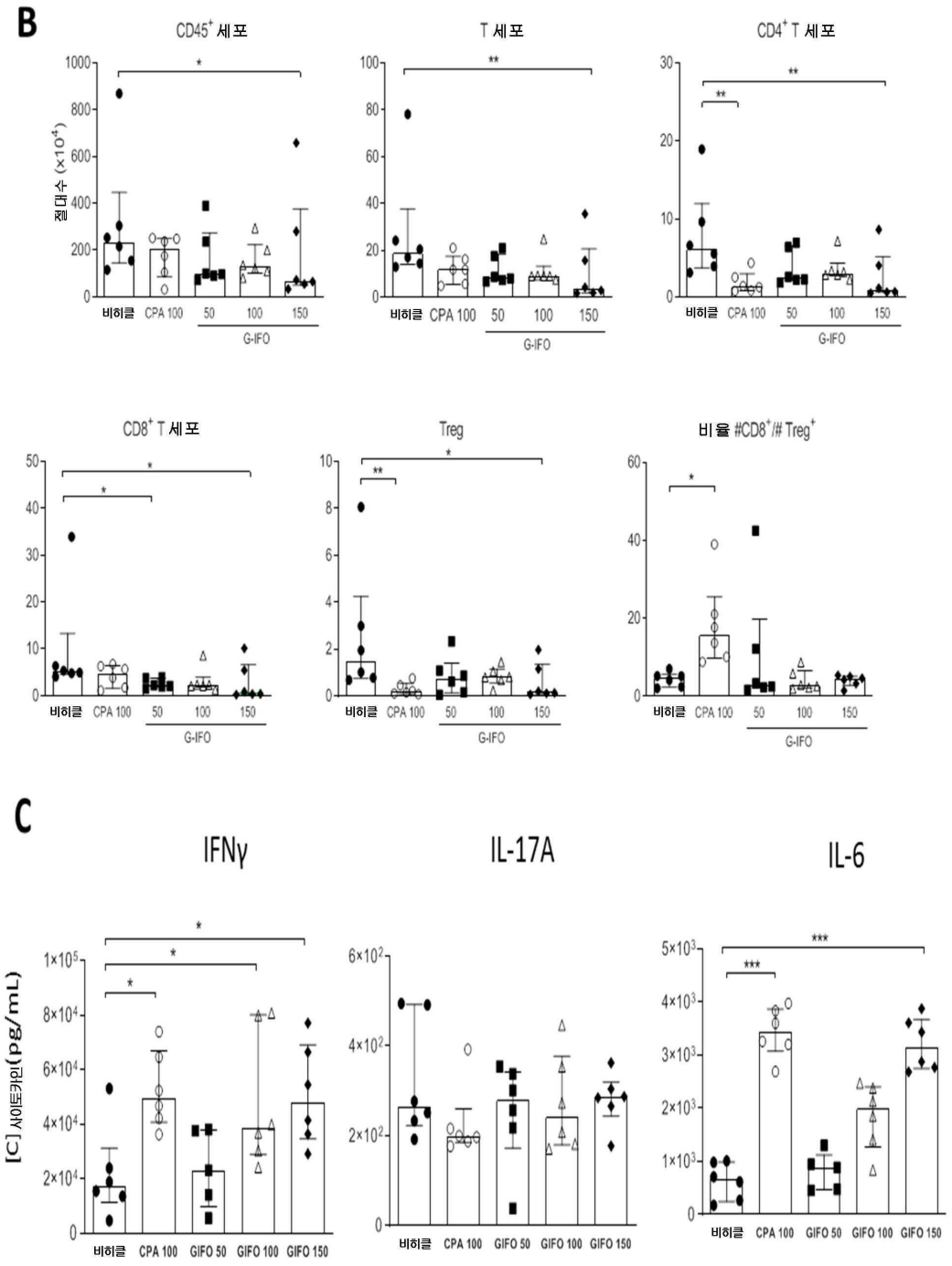
도면1


4-히드록시-IFO
사전-활성화
100%
CYP3A4
활성 경로
10-50%
IFO
CYP2B6
독성 경로
50-90%
머스타드
DNA 알킬화 모이어티
아크롤레인
관리 요독성
클로로아세트알데히드
신경&신독소
G-IFO
N2-DCE-IFO
N3-DCE-IFO
N2/N3-DCE-IFO

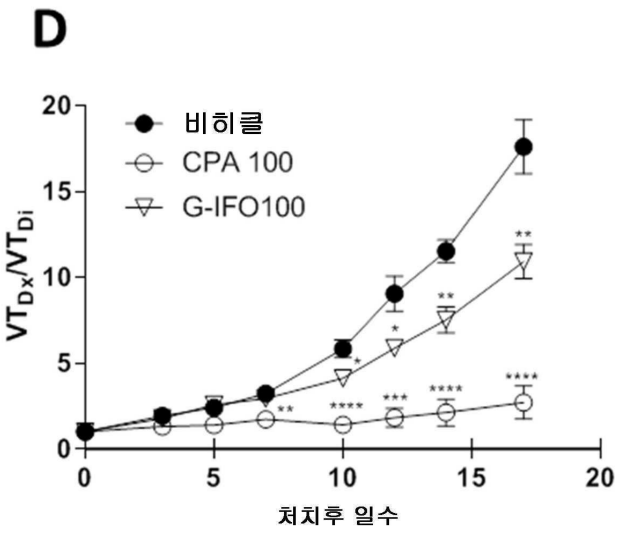
도면2a


A
CD45+ 세포
T 세포
CD8+ T 세포
CD4+ T 세포
Treg
절대수 (×10⁶)
비히클
CPA 100
50
100
150
G-IFO

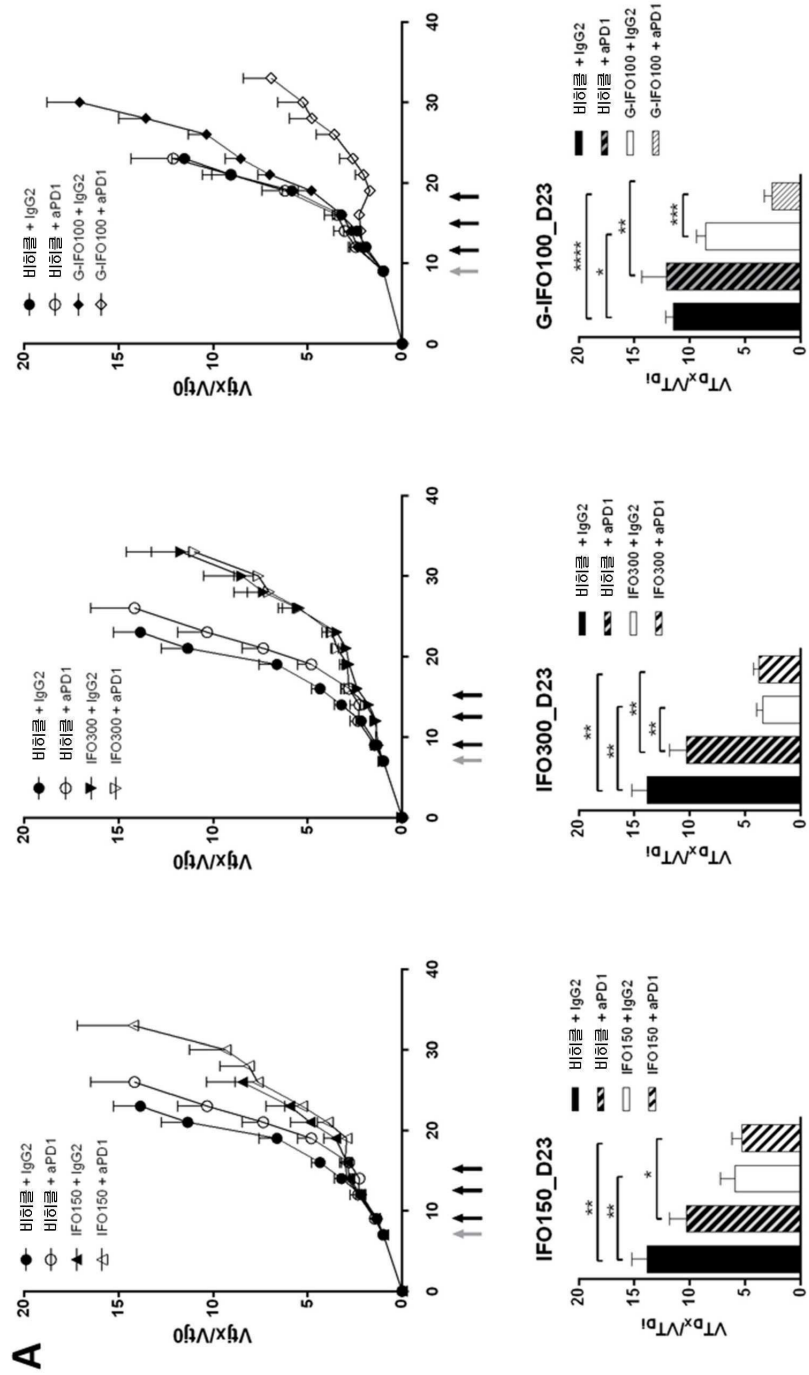
도면2bc


B
CD45+ 세포
T 세포
CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
Treg
비율 #CD8+/# Treg+
절대수 (×10⁴)
비히클
CPA 100
50
100
150
G-IFO
C
IFNγ
IL-17A
IL-6
[C] 사이토카인(pg/mL)
비히클
CPA 100
GIFO 50
GIFO 100
GIFO 150

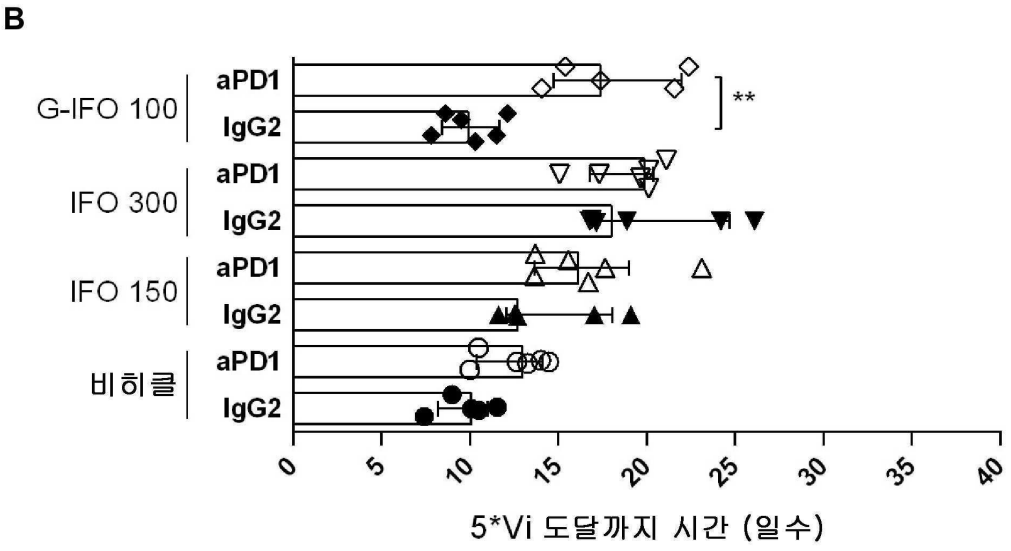
도면2d



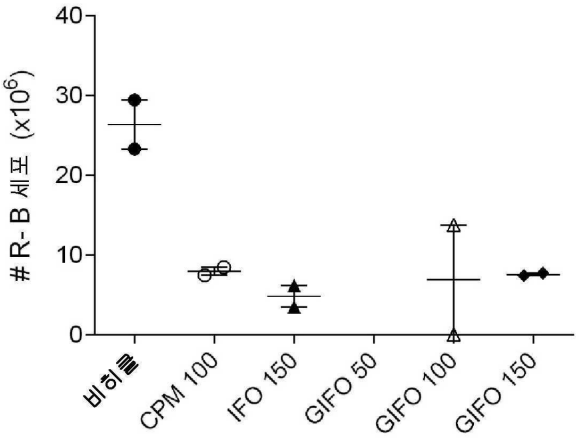
도면3a


A
Vtx/Vt0
비히클 + IgG2
비히클 + aPD1
IFO150 + IgG2
IFO150 + aPD1
IFO300 + IgG2
IFO300 + aPD1
G-IFO100 + IgG2
G-IFO100 + aPD1
IFO150_D23
IFO300_D23
G-IFO100_D23
VTbx/VTbi

도면3b


B
G-IFO 100
IFO 300
IFO 150
비히클
aPD1
IgG2
**
0
5
10
15
20
25
30
35
40
5*Vi 도달까지 시간 (일수)

도면4


R-B 세포 (x10^6)
40
30
20
10
0
비히클
CPM 100
IFO 150
GIFO 50
GIFO 100
GIFO 150