



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년06월25일

(11) 등록번호 10-2678038

(24) 등록일자 2024년06월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/05 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/05 (2023.05)

A61K 45/06 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0088659

(22) 출원일자 2021년07월06일

심사청구일자 2021년07월06일

(65) 공개번호 10-2023-0007849

(43) 공개일자 2023년01월13일

(56) 선행기술조사문헌

Cell Biochemistry and Biophysics 69, 475-479 (2014) 1부.*

Jpn. J. Cancer Res. 88, 88-96 (1997. 1.) 1부.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

박기청

서울특별시 서대문구 연세로 50

연세대학교의료원 (신촌동 134)

김석모

서울특별시 강남구 언주로 211 강남세브란스병원 (도곡동)

(74) 대리인

파도특허법인유한회사

전체 청구항 수 : 총 7 항

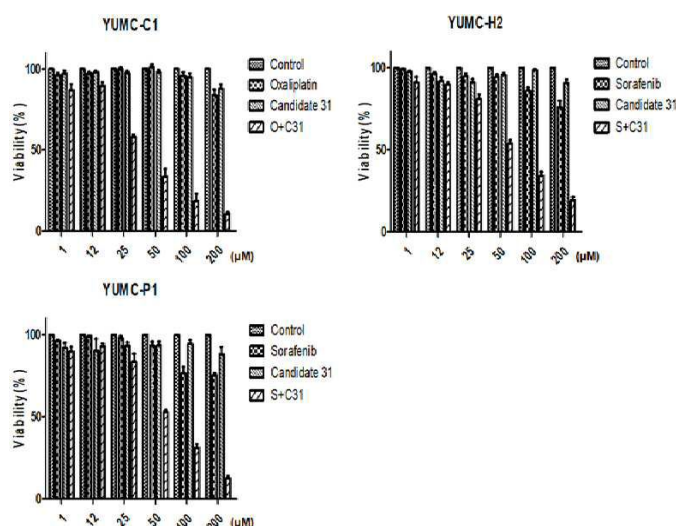
심사관 : 최연정

(54) 발명의 명칭 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 항암제와 병용하여 사용하였을 때 항암 효과를 현저하게 향상시킬 수 있어, 기존에 사용되던 항암제의 양보다 현저하게 적은 양으로도 동일한 항암 효과를 유도할 수 있어 항암제 복용으로 인한 부작용을 감소시킬 수 있고, 나아가서는 항암제 내성 암이나, 항암제 치료 후 재발 또는 전이된 암도 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

명세서

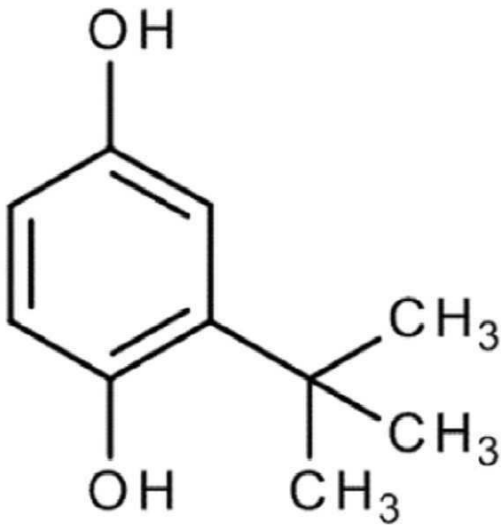
청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 tert-부틸하이드로퀴논(tert-butylhydroquinone; TBHQ) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항암제의 감수성 증진용 약학 조성물로서,

상기 항암제는 소라페닙인, 조성물:

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서,

상기 항암제는 대장암, 유방암, 자궁암, 나팔관암, 난소암, 위암, 뇌암, 직장암, 소장암, 직장암, 식도암, 임파선암, 담낭암, 폐암, 피부암, 신장암, 방광암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 갑상선암, 내분비선암, 구강암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 암의 예방, 개선 또는 치료를 위한 것인, 약학 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

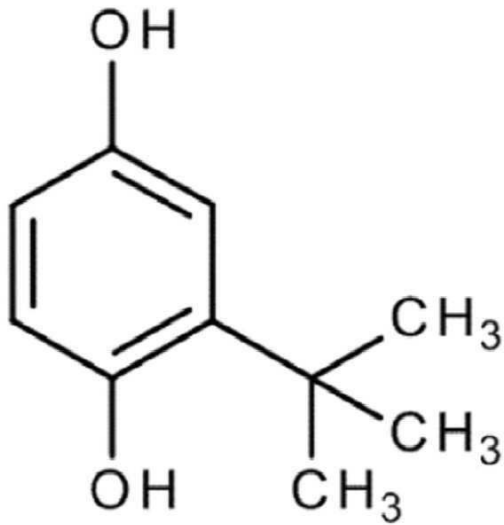
삭제

청구항 5

하기 화학식 1로 표시되는 tert-부틸하이드로퀴논(tert-butylhydroquinone; TBHQ) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항암제의 내성 극복 또는 치료용 약학 조성물로서,

상기 항암제는 소라페닙인, 조성물:

[화학식 1]



청구항 6

제5항에 있어서,

상기 항암제는 대장암, 유방암, 자궁암, 나팔관암, 난소암, 위암, 뇌암, 직장암, 소장암, 직장암, 식도암, 임파선암, 담낭암, 폐암, 피부암, 신장암, 방광암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 갑상선암, 내분비선암, 구강암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 암의 예방, 개선 또는 치료를 위한 것인, 약학 조성물.

청구항 7

삭제

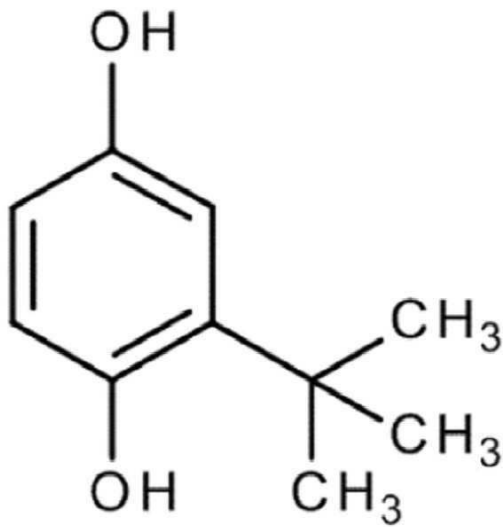
청구항 8

하기 화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논(tert-butylhydroquinone; TBHQ) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 항암제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물로서,

상기 항암제는 소라페닙이며,

상기 암은 소라페닙에 내성을 가지는 암인, 조성물:

[화학식 1]



청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 암은 내성, 재발성 또는 전이성을 갖는 암인, 약학 조성물.

청구항 12

삭제

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 암은 대장암, 유방암, 자궁암, 나팔관암, 난소암, 위암, 뇌암, 직장암, 소장암, 직장암, 식도암, 임파선암, 담낭암, 폐암, 피부암, 신장암, 방광암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 갑상선암, 내분비선암, 구강암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것인, 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 암은 전 세계적으로 상당한 수의 사망에 기여하는 질환으로서, 2018년 전 세계적으로 암에 인한 사망은 960만명에 해당하였다. 1990년에는 암이 사망의 원인으로 3번째에 해당하였으나, 2018년에는 심장 질환 다음으로 가장 높은 사망 원인으로 등극하였다. 암에 대한 연구의 지속으로 인하여 진행률 및 전체 평균 생존율이 증가하였음에도 불구하고, 항암제에 대한 약물 내성으로 인하여 아직까지도 암은 완전한 치료가 불가능한 상황이다.

[0003] 항암 화학 요법에 사용되는 항암제는 암세포의 발육이나 증식을 억제하는 약물이다. 크게 세포독성항암제, 표적항암제, 면역항암제로 분류되며, 암의 종류나 진행 정도, 환자의 상태 등에 따라 항암제를 선택하고 효과를 높

이기 위해 2가지 이상의 약제를 동시에 사용하는 복합 항암 화학 요법이 사용되기도 한다. 1세대 항암제로 알려져 있는 세포독성항암제는 무분별하고 빠르게 분화하는 세포를 직접 공격하여 항암효과를 가진다. 다만, 모근세포와 같이 빠르게 분화하는 특성을 가진 정상세포들도 세포독성항암제에 의해 공격받기 때문에 백혈구 감소, 탈모, 구토, 설사 등의 부작용을 일으키는 단점이 있다. 2세대 항암제로 알려져 있는 표적항암제는 암세포에 나타나는 특정 단백질이나 특정 유전자 변화에 작용하여 암의 성장과 분화에 관여하는 신호전달을 차단한다. 세포독성항암제와는 달리 정상세포에는 작용하지 않으며 암세포에만 특이적으로 작용하여 부작용이 적은 편이다.

[0004] 그러나 항암 화학 요법을 사용하는데 장애가 되는 요소 중 하나는 항암제 내성을 일으킨다는 점이다. 암환자에 대한 항암 화학 요법이 성공하기 위해서는 정상조직이 살아남을 수 있는 혈중농도에서 암세포가 살해되어야 하는데, 항암제에 대한 약제 내성은 암세포를 죽일 수 있는 혈중농도에 도달할 수 있는 양의 항암제를 투여했음에도 불구하고 암세포가 죽지 않는 경우를 말한다. 항암제 내성은 환자 개개인에 따라 다를 수 있으며 심지어 같은 조직으로부터 유래된 종양들 사이의 유전적 차이 등을 포함한 다양한 인자들에 의해 유발될 수 있다. 한 환자로부터 유래된 각각의 암세포들은 다른 유전적 특성을 획득할 수 있으며 '돌연변이현상'에 의해 유전자 발현의 다양성뿐만 아니라 종양유발인자의 활성화와 종양억제인자의 불활성화 등을 보이게 된다. 그 결과 모든 암은 다른 패턴으로 항암제 내성 유전자를 발현하며, 하나의 암 덩어리 안에 있는 세포들은 약제 내성에 대한 다양성을 획득하게 된다. 또한 종양들이 특정 항암치료에 기본적으로 내성을 가지고 있지 않더라도 일단 항암제에 노출되면 이런 다양성을 바탕으로 선별적으로 내성 세포들이 자라나게 되고 결국 많은 암세포들이 빠르게 항암제 내성을 가지게 된다. 이러한 경우에 세포내 또 다른 표적물질들을 갖는 다수의 약제들을 사용하면 효과적으로 치료할 수 있고 완치율을 높일 수 있다. 그러나 많은 경우에 있어서 세포들은 구조적으로나 기능적으로 완전히 다른 약제들에 대해서 동시에 내성을 보이곤 한다. 이러한 현상을 다중 약물 내성(MDR, multi drug resistance)이라고 하며 항암제의 제한적인 흡수, 증가된 방출 또는 세라마이드와 같은 막 지질들의 변화 등을 통해 세포내 약제의 축적을 제한함으로써 유발된다. 다중 약물 내성은 대부분의 항암제에 의해 유도되는 세포 사멸(apoptosis)을 저해하고, DNA 손상의 복구와 약제의 비독성화를 유발시키며 세포주기를 변화시킴으로서 세포에 항암제에 대한 내성을 추가로 부여할 수 있다.

[0005] 암세포를 사멸시킬 수 있을 뿐만 아니라, 항암제 내성을 갖는 암세포의 사멸을 유도할 수 있는 새로운 항암제의 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 일 목적은 항암제의 감수성 증진 또는 병용 투여용 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 항암제의 내성 극복 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

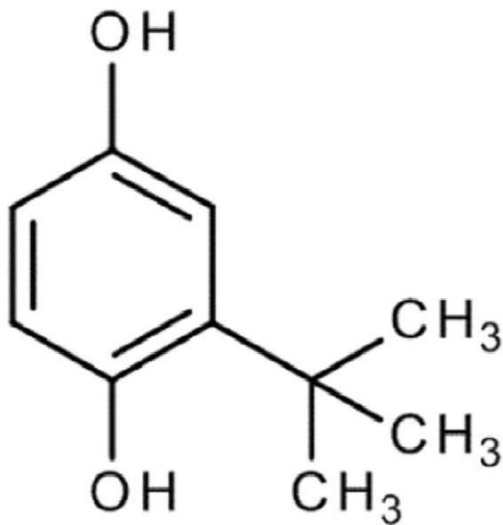
[0009] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 일 구현 예에서는 항암제의 감수성 증진 또는 병용 투여용 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명의 상기 약학 조성물은 하기 화학식 1로 표시되는 tert-부틸하이드로퀴논(tert-butylhydroquinone; TBHQ) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함한다:

[0012] [화학식 1]



[0013]

[0014] 본 발명에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 CAS 번호는 1948-33-0이며, 동의어로는 NSC 4972; 2-(1,1-디메틸에틸)-1,4-벤젠디올(2-(1,1-Dimethylethyl)-1,4-benzenediol); 등이 있다.

[0015] 본 발명에서 상기 약학적으로 허용되는 염은, 의학적 적용에 적합한 것으로 당업자에 의해 일반적으로 간주되는 염(예를 들어 이러한 염이 상기 염으로 치료될 수 있는 대상체에게 유해하지 않기 때문임), 또는 각각의 치료 내에서 허용 가능한 부작용을 야기하는 염이다. 일반적으로, 상기 약학적으로 허용되는 염은 미국 식품 의약국(FDA), 유럽 의약청(EMA), 또는 일본 후생성의 의약품 의료기기 종합기구(PMDA)와 같은 규제 당국에 의해 허용되는 것으로 간주되는 염이다. 그러나, 본 발명은 원칙적으로, 예를 들어 본 발명에 따른 화합물 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체의 제조에서의 중간체, 또는 본 발명에 따른 화합물의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체의 제조에서의 중간체로서, 그 자체로는 약학적으로 허용되지 않는 본 발명에 따른 화합물의 염을 또한 포함한다. 상기 염은 수불용성 염을 포함하고, 특히, 수용성 염을 포함한다.

[0016] 각각의 경우에, 당업자는 본 발명에 따른 특정 화합물 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체가 염을 형성할 수 있는지 여부, 즉, 상기 본 발명에 따른 화합물 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체가, 예를 들어 아미노기, 카복실산기 등과 같은 전하를 띌 수 있는 기를 가지는지 여부를 쉽게 결정할 수 있다.

[0017] 본 발명의 화합물의 예시적인 염은 산 부가 염 또는 염기와 염, 특히 약학적으로 허용되는 무기산 및 유기산 부가 염 및 약학에서 통상적으로 사용되는 염기와 염이며, 이는 수불용성 또는 특히 수용성 산 부가 염이다. 본 발명의 화합물의 치환기에 따라 염기와 염이 또한 적합할 수 있다. 산 부가 염은, 예를 들어, 본 발명의 화합물의 용액을 염산, 황산, 푸마르산, 말레산, 석신산, 아세트산, 벤조산, 시트르산, 타르타르산, 탄산 또는 인산과 같은 약학적으로 허용되는 산의 용액과 혼합함으로써 형성될 수 있다. 마찬가지로, 약학적으로 허용되는 염기 부가 염은 알칼리 금속염(예를 들어, 나트륨 또는 칼륨 염); 알칼리 토금속 염(예를 들어, 칼슘 또는 마그네슘 염); 및 적합한 유기 리간드로 형성된 염(예를 들어, 할라이드, 하이드록사이드, 카복실레이트, 설페이트, 포스페이트, 니트레이트, 알킬 설포네이트 및 아릴 설포네이트와 같은 반대 음이온을 사용하여 형성된 암모늄, 4차 암모늄 및 아민 양이온)을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 염의 예시적인 예로는 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아르기네이트, 아스코르베이트, 아스파테이트, 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 바이카르보네이트, 바이설페이트, 바이타르테이트, 보레이트, 브로마이드, 부티레이트, 칼슘 에테데이트, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 캄실레이트, 카르보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 디글루코네이트, 디하이드로클로라이드, 도데실설페이트, 에테데이트, 에디실레이트, 에탄설포네이트, 포르메이트, 푸마레이트, 갈락테이트, 갈락투로네이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 헥실레소르시네이트, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시-에탄설포네이트, 하이드록시나프토에이트, 요오다이드, 이소부티레이트, 이소티오에이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 설페이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 만델레이트, 메탄설포네이트(메실레이트), 메틸설페이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 판토테네이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트/디포스페이트, 프탈레이트, 피크레

이트, 피발레이트, 폴리갈락투로네이트, 프로피오네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 셀레이트, 수베레이트, 석시네이트, 탄네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 운데카노에이트, 발레레이트 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0018] 본 발명에서 약학적으로 허용되지 않으며, 예를 들어, 산업적 규모로 본 발명에 따른 화합물을 제조하는 동안 공정 생성물로서 수득될 수 있는 염이 또한 본 발명에 포함되고, 요망되는 경우, 이는 당업자에게 알려진 방법에 의해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다.

[0019] 본 발명의 상기 암은 대장암, 유방암, 자궁암, 나팔관암, 난소암, 위암, 뇌암, 직장암, 소장암, 직장암, 식도암, 임파선암, 담낭암, 폐암, 피부암, 신장암, 방광암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 갑상선암, 내분비선암, 구강암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있고, 예를 들면, 대장암, 간암 또는 갑상선암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명의 상기 암은 내성, 재발성 또는 전이성을 갖는 암일 수 있다. 본 발명의 목적상 상기 암은 항암제 치료에 대하여 내성을 갖거나, 치료 이후 전이 또는 재발된 암일 수 있다. 여기서 상기 항암제의 종류는 특별히 제한하지 않으며 모든 종류의 항암제일 수 있으나, 예를 들면, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맙, 파니투무맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 소라페닙, 렌바티닙, 트라스투주맙, 게피티니브, 보르테조미드, 수니티닙, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맙, 시스플라틴, 세톡시맙, 아플리베르셉트, 레고라페닙, 비스쿰알부민, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라메스틴, 겐투주맙오조가마이신, 이브리투모맙티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀름 키토산, 쟈시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 류코보린, 카르모피, 랄티트렉세드, 인터페론알파-2a, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레틴, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토라톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 바람직하게는 세톡시맙, 파니투무맙, 이리노테칸, 비노렐빈, 카페시타빈, 류코보린, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴, 소라페닙, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맙, 아플리베르셉트 및 레고라페닙으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 항암제일 수 있고, 보다 바람직하게는 5-플루오로우라실 (5-FU), 류코보린 (폴리닌산) 및 옥살리플라틴을 포함하는 FOLFOX 체제; 류코보린 (폴리닌산), 플루오로우라실 (5-FU) 및 이리노테칸을 포함하는 FOLFIRI 체제; 카페시타빈 및 옥살리플라틴을 포함하는 CAPOX 체제; 옥살리플라틴; 또는 소라페닙;일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 항암제와 병용 투여되어 항암제의 활성을 증진시키는 것일 수 있다. 본 발명에서 상기 항암제는 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 의해 활성이 증진되어 암을 예방 또는 치료할 수 있는 약물이라면 모두 포함될 수 있고, 예를 들면, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맙, 파니투무맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 소라페닙, 렌바티닙, 트라스투주맙, 게피티니브, 보르테조미드, 수니티닙, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맙, 시스플라틴, 세톡시맙, 아플리베르셉트, 레고라페닙, 비스쿰알부민, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라메스틴, 겐투주맙오조가마이신, 이브리투모맙티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀름 키토산, 쟈시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 류코보린, 카르모피, 랄티트렉세드, 인터페론알파-2a, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레틴, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토라톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤,

아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 바람직하게는 파클리탁셀, 인터페론알파-2a, 카보플라틴, 독소루비신, 시스플라틴, 젬시타빈, 5-플루오로우라실, 세톡시맵, 류코보린, 이리노테칸, 옥살리플라틴, 카페시타빈, 도세탁셀 및 소라페닙으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 본 발명의 일 실시예에서는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 항암제의 한 종류인 옥살리플라틴 및 소라페닙 중 적어도 하나와 병용하여 투여함으로써, 약물 내성, 재발성 또는 전이성을 갖는 암에서 항암제의 활성을 효과적으로 증진시켜 종양의 크기 및 무게를 매우 효과적으로 감소시킬 수 있는 것을 확인하였다.

[0024] 본 발명의 다른 구현 예에서는 항암제의 내성 극복 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명의 상기 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논(TBHQ) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함한다.

[0026] 본 발명에서 상기 "항암제 내성"이란 항암제를 정량 반복적으로 사용했을 때 해당 약물의 효과가 감소하는 것을 말하며, 항암제 내성이 있는 환자에게 이전에 경험한 동일한 효과를 얻기 위해서는 그 사용량을 늘리거나 사용 빈도를 증가시켜야 하거나 혹은 이전과 같은 용량의 물질을 투여해도 전과 똑같은 효과를 얻지 못하는 상태를 말한다. 여기서 상기 항암제의 종류는 특별히 제한하지 않으며 모든 종류의 항암제일 수 있으나, 예를 들면, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 파니투무맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 소라페닙, 렌바티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테조미브, 수니티닙, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맵, 시스플라틴, 세톡시맵, 아플리베르셉트, 레고라페닙, 비스큐알분, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라메스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레블린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀름 키토산, 젬시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토티렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 류코보린, 카르모피, 랄티트렉세드, 인터페론알파-2a, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레오마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시플리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레트민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토락톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 바람직하게는 세톡시맵, 파니투무맵, 이리노테칸, 비노렐빈, 카페시타빈, 류코보린, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴, 소라페닙, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맵, 아플리베르셉트 및 레고라페닙으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 항암제일 수 있고, 보다 바람직하게는 5-플루오로우라실 (5-FU), 류코보린 (폴리닌산) 및 옥살리플라틴을 포함하는 FOLFOX 체제; 류코보린 (폴리닌산), 플루오로우라실 (5-FU) 및 이리노테칸을 포함하는 FOLFIRI 체제; 카페시타빈 및 옥살리플라틴을 포함하는 CAPOX 체제; 옥살리플라틴; 또는 소라페닙;일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0027] 본 발명에서 상기 "내성 극복 또는 치료"란 항암제를 정량 반복적으로 사용했을 때 해당 약물의 효과가 감소하거나, 항암제 내성이 있는 환자에게 이전에 경험한 동일한 효과를 얻기 위해서는 그 사용량을 늘리거나 사용 빈도를 증가시켜야 하거나 혹은 이전과 같은 용량의 물질을 투여해도 전과 똑같은 효과를 얻지 못하는 상태를 회복시키는 작용을 말한다. 보다 구체적으로 항암제를 보다 적은 횟수 또는 보다 적은 용량을 적용하여도 동일한 항암 효과가 나타나게 만들거나 항암제 내성이 발생하기 이전 상태로 되돌려 이전과 같은 용량 또는 이보다 적은 용량의 물질을 투여해도 같은 효과를 얻을 수 있는 상태로 만드는 작용을 말한다.

[0028] 본 발명의 상기 항암제는 대장암, 유방암, 자궁암, 나팔관암, 난소암, 위암, 뇌암, 직장암, 소장암, 직장암, 식도암, 임파선암, 담낭암, 폐암, 피부암, 신장암, 방광암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 갑상선암, 내분비선암 및 구강암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 암, 예를 들면, 대장암, 간암 또는 갑상선암의 예방, 개선 또는 치료를 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 본 발명의 일 실시예에서는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 항암제의 한 종류인 옥살리플라틴 및 소라페닙 중 적어도 하나에 대한 내성을 극복 또는 치료하여, 더 나아가서는 항암제 내성 암을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 것을 확인하였다.

- [0030] 본 발명의 항암제의 내성 극복 또는 치료용 조성물에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 기재는 앞서 기재된 바와 중복되어 이하 자세한 기재를 생략한다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 구현 예에서는, 암의 예방, 개선 또는 치료를 위한 조성물을 제공한다.
- [0033] 본 발명의 상기 약학 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논(TBHQ) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 항암제를 유효 성분으로 포함한다.
- [0034] 본 발명에서 상기 항암제는 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 의해 활성이 증진되어 암을 예방 또는 치료할 수 있는 약물이거나 모두 포함될 수 있고, 예를 들면, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 파니투무맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 소라페닙, 렌바티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테조미, 수니티닙, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맵, 시스플라틴, 세톡시맵, 아플리베르셉트, 레고라페닙, 비스쿰알BUM, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산훈류 키토산, 켄시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 류코보린, 카르모퍼, 칼티트렉세드, 인터페론알파-2a, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부설판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레트민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토라톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 바람직하게는 파클리탁셀, 인터페론알파-2a, 카보플라틴, 독소루비신, 시스플라틴, 켄시타빈, 5-플루오로우라실, 세톡시맵, 류코보린, 이리노테칸, 옥살리플라틴, 카페시타빈, 도세탁셀 및 소라페닙으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 보다 바람직하게는 옥살리플라틴 및 소라페닙 중 적어도 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명의 조성물에서 상기 화합물 및 항암제는 1:0.001 내지 1:1000, 바람직하게는 1:0.01 내지 1:100, 더욱 바람직하게는 1:0.1 내지 1:10의 비율로 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 여기서, 상기 비율은 물 농도비 또는 중량비일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명의 상기 암은 대장암, 유방암, 자궁암, 나팔관암, 난소암, 위암, 뇌암, 직장암, 소장암, 직장암, 식도암, 임파선암, 담낭암, 폐암, 피부암, 신장암, 방광암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 갑상선암, 내분비선암 및 구강암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있고, 예를 들면, 대장암, 간암 또는 갑상선암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명의 상기 암은 내성, 재발성 또는 전이성을 갖는 암일 수 있다. 본 발명의 목적상 상기 암은 항암제 치료에 대하여 내성을 갖거나, 치료 이후 전이 또는 재발된 암일 수 있다. 여기서 상기 항암제의 종류는 특별히 제한하지 않으며 모든 종류의 항암제일 수 있으나, 예를 들면, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 파니투무맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 소라페닙, 렌바티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테조미, 수니티닙, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맵, 시스플라틴, 세톡시맵, 아플리베르셉트, 레고라페닙, 비스쿰알BUM, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산훈류 키토산, 켄시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 류코보린, 카르모퍼, 칼티트렉세드, 인터페론알파-2a, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부설판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레트민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토라톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보

로줄, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 바람직하게는 세특시맙, 파니투무맙, 이리노테칸, 비노렐빈, 카페시타빈, 류코보린, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실 (5-FU), 베바시주맙, 아플리베르셉트 및 레고라페닙으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 항암제에 대한 내성 암일 수 있고, 보다 바람직하게는 5-플루오로우라실 (5-FU), 류코보린 (폴리닌산) 및 옥살리플라틴을 포함하는 FOLFOX 체제; 폴리닌산 (류코보린), 플루오로우라실 (5-FU) 및 이리노테칸을 포함하는 FOLFIRI 체제; 카페시타빈 및 옥살리플라틴을 포함하는 CAPOX 체제; 옥살리플라틴; 또는 소라페닙; 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0038] 본 발명의 암의 예방, 개선 또는 치료를 위한 조성물에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 기재는 앞서 기재된 바와 중복되어 이하 자세한 기재를 생략한다.
- [0040] 본 발명의 상기 "예방"은 질병 또는 병증의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 본 발명의 목적상 상기 조성물은 항암제와 함께 사용되어 암의 발병 시기를 지연시키거나, 발병을 억제하는 것을 의미한다.
- [0041] 본 발명의 상기 "개선"은 질병 또는 병증 상태를 호전 또는 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미하는 것으로, 본 발명의 목적상 상기 조성물은 항암제와 함께 사용되어 암의 증상을 호전시키는 것을 의미한다.
- [0042] 본 발명의 상기 "치료"는 질병 또는 병증의 진행을 지연, 중단 또는 역전시키는 모든 행위를 의미하는 것으로서, 본 발명의 목적상 상기 조성물은 항암제와 함께 사용되어 암의 진행을 중단, 경감, 완화 또는 없애거나 역전시키는 것을 의미한다.
- [0043] 본 발명의 조성물은 약학 조성물 또는 식품 조성물로 사용될 수 있으며, 그 형태를 특별히 제한하지 않는다.
- [0044] 본 발명의 상기 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 상기 약학 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사 용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있고, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다.
- [0046] 본 발명의 상기 약학 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(Elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형화 할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 상기 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필 하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 상기 약학 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투여가 바람직하다. 본 발명에서 상기 "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 또한, 상기 약학 조성물은 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 상기 약학 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여 시간, 투여 경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 기간에 따라 다르지만 담당자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 50 mg/kg 또는 0.001 내지 50 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형화될 수 있다.

- [0050] 본 발명의 상기 식품 조성물은 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 과자, 떡, 빵 등의 형태로 제조될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물이 유효성분으로 식품 조성물에 포함될 때 그 양은 전체 중량의 0.1 내지 50%의 비율로 첨가할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명의 상기 식품 조성물이 음료 형태로 제조되는 경우 지시된 비율로 상기 식품 조성물을 포함하는 것 외에 특별한 제한점은 없으며, 통상의 음료와 같이 다양한 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 구체적으로, 천연 탄수화물로서 포도당 등의 모노사카라이드, 과당 등의 디사카라이드, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜 등을 포함할 수 있다. 상기 향미제로서는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오 시드 A, 글리시리히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등) 등일 수 있다.
- [0053] 본 발명의 상기 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등이 더 포함될 수 있다.
- [0054] 본 발명의 상기 식품 조성물에 포함되는 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 본 발명의 핵심적인 요소에 해당하지 아니하지만, 본 발명의 식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 50 중량부의 범위에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0055] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 항암제와 병용하여 사용하였을 때 항암 효과를 현저하게 향상시킬 수 있어, 기존에 사용되던 항암제의 양보다 현저하게 적은 양으로도 동일한 항암 효과를 유도할 수 있어 항암제 복용으로 인한 부작용을 감소시킬 수 있고, 나아가서는 항암제 내성 암이나, 항암제 치료 후 재발 또는 전이된 암도 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0056] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주의 유전자 발현 변화를 마이크로 어레이 분석을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주에 본 발명의 일 실시예에 따른 약물 처리에 따른 세포 생존율의 변화를 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 3은 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주의 이중 이식 마우스 모델에 본 발명의 일 실시예에 따른 약물 투여에 따른 종양의 크기 변화를 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 4는 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주의 이중 이식 마우스 모델에 본 발명의 일 실시예에 따른 약물 투여에 따른 순수 종양 무게의 변화를 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 5는 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주의 이중 이식 마우스 모델에 본 발명의 일 실시예에 따른 약물 투여에 따른 마우스의 체중 변화를 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0057] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0059] 실시예
- [0061] [실시예 1] 항암 치료 후 재발한 암 환자로부터 암 세포의 분리
- [0062] 하기 표 1에 기재되어 있는 대장암, 간암, 및 갑상선암 환자로, 항암 치료를 받다가 재발한 각 암종의 환자로부터 암 세포를 분리하였다.

표 1

[0064]

	환자 1 (YUMC-C1 세포주)	환자 2 (YUMC-H2 세포주)	환자 3 (YUMC-P1 세포주)
나이	71	71	57
성별	여성	남성	남성
일차 질환 위치	대장(colon)	간(liver)	갑상선(thyroid)
단계	IVc	IVc	IVc
일차 병리	대장암(FOLFOX* 후 재발 및 전이)	간암 (소라페닙 후 재발)	갑상선 유두암 (소라페닙 후 재발)
배양에 사용되는 표본의 분류	신선한 종양	신선한 종양	신선한 종양
얻은 곳	세브란스 병원(서울, 한국)	세브란스 병원(서울, 한국)	세브란스 병원(서울, 한국)
* FOLFOX: 대장암에서 폴린산(Folinic acid), 플루오라실(Fluorouracil; 5-FU) 및 옥살리플라틴(Oxaliplatin) 삼중 병용투여			

[0066]

[실시예 2] 마이크로 어레이(Microarray)를 이용한 유전자 발현 분석

[0067]

마이크로 어레이 분석 방법을 이용하여, 상기 실시예 1의 YUMC-C1 세포주, YUMC-H2 세포주 및 YUMC-P1 세포주와, 대조군으로 표준항암치료법에 사용되는 항암제를 복용하여 항암 치료가 성공적으로 진행된 갑상선암 환자로부터 분리된 갑상선암 세포주(YUMC-M1)에 있어서 유전자 발현을 비교하였다.

[0068]

구체적으로, RNA 순도 및 무결성은 ND-1000 분광 광도계 (NanoDrop) 및 Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)를 사용하여 측정되었다. RNA 표지 및 하이브리드화는 Agilent 1색 마이크로어레이에 기초한 유전자 발현 분석 프로토콜(Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis protocol, Agilent Technology, V 6.5, 2010)을 사용하여 수행되었다. 각 샘플로부터 100 ng의 토털 RNA를 선형으로 증폭시키고 Cy3-dCTP로 표지하였고, 표지된 cRNA를 RNAeasy Mini Kit(Qiagen)를 사용하여 정제하였다. 표지된 cRNA (pmol Cy3/μg cRNA)의 농도 및 특이적 활성은 NanoDrop ND-1000을 사용하여 측정되었다. 이어, 5μl 10x 블로킹 에이전트(blocking agent) 및 1μl의 25X 단편화 버퍼(fragmentation buffer)를 첨가하여 각각의 표지된 cRNA 600 ng을 단편화한 다음, 60 °C에서 30분 동안 가열하였다. 마지막으로, 25μl의 2X GE 하이브리드화 버퍼를 첨가하여 표지된 cRNA를 희석시켰다. 하이브리드화 용액(Hybridization solution) 40 μl를 슬라이드(gasket slide)에 분배하고 Agilent SurePrint G3 Human GE 8X60K, V3 Microarrays (Agilent®)에 처리하였다. 로데이터(raw data)는 Agilent Feature Extraction Software (v11.0.1.1)를 이용하여 확보하였고, 그 후 각 유전자에 대한 로데이터를 Agilent 추출 프로토콜(Agilent feature extraction protocol)로 파일을 생성하여 각 유전자에 대한 발현 정보를 확인할 수 있었다. 중요한 프로브 목록에 대한 유전자 및 기능 분석은 온톨로지 및 유전자 계층에 대한 교토 백과사전(KEGG) 분석을 이용하여 수행되었으며, 차등 발현된 유전자의 모든 정보에 대한 분석 및 시각화는 R 3.1.2.을 통해 수행되었다. 이렇게 분석된 차등 발현된 유전자에 대한 결과를 도 1에 나타내었다.

[0069]

도 1에서 보는 바와 같이, 항암제 비저항성 암 세포인 YUMC-M1 세포주와 유전자 발현 수준을 비교해 보았을 때, 항암제 저항성 암 세포인 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주의 경우, 암 줄기세포 마커에 해당하는 유전자들의 발현 수준이 현저하게 증가되어 있는 것을 확인할 수 있었다.

[0070]

이와 같은 결과를 통해, 본 발명의 상기 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주는 암 줄기세포인 동시에 항암제 저항성을 가지는 것임을 알 수 있다.

[0072]

[실시예 3] 항암제 내성 암 세포주의 사멸 효과 확인 결과

[0073]

96 웰에 상기 실시예 1의 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포 6 X 10³ 세포/웰을 접종한 뒤 컨플루언시 90% 될 때까지 배양하였다. 화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논(TBHQ)(Candidate 31)과, 옥살리플라틴 또는 소라페닙을 최종 농도가 0-200 μM이 되도록 첨가한 뒤 세포를 배양하였다. 단, tert-뷰틸하이드로퀴논(TBHQ)과 옥살리플라틴 또는 소라페닙의 병용 시 옥살리플라틴과 소라페닙의 처리 농도는 각 30 μM로 하였다. 이후 MTT 시약을 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. 흡광도는 550 nm에서 측정하였고, 트립판 블루 염색을 이용하여 생세포 수를 계수하였다. 각 처리에 따른 세포 생존율의 변화를 도 2에 그래프로 나타내었고, tert-뷰틸하이드로퀴논(TBHQ)과, 옥살리플라틴 또는 소라페닙의 병용 처리 시 IC₅₀의 값을 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

	IC ₅₀ (μM)		
	YUMC-C1 세포주	YUMC-H2 세포주	YUMC-P1 세포주
TBHQ+옥살리플라틴	30	-	-
TBHQ+소라페닙	-	40	50

도 2에서 보는 바와 같이, YUMC-C1 세포주는 옥살리플라틴에 저항성을 보였고, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주는 소라페닙에 저항성을 보였지만, 상기한 각 세포주에 옥살리플라틴 또는 소라페닙과 함께 tert-뷰틸하이드로퀴논(TBHQ)을 병용 처리하자 암 세포의 사멸율이 현저히 증가하는 것을 확인할 수 있었고, 표 2에서도 보는 바와 같이, 항암제 저항성 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주에 대하여 TBHQ 및 표준항암제(옥살리플라틴 또는 소라페닙)의 IC₅₀가 각각 30 μM, 40 μM 및 50 μM로 매우 낮은 농도를 보였다.

[실시예 4] 항암제 내성 암 세포주의 이중 이식 마우스 모델에서 치료 효과 확인 결과

상기 실시예 1의 YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주(4.5 X 10⁶ cells/mouse)를 시험관에서 배양한 뒤, 6주령 암컷 BALB/c 누드, NOD/Shi-scid, IL-2Rγ KOJic (NOG)마우스의 왼쪽 상단 옆구리 영역에 피하 주사하였다. 세포주를 주사한 지 15일 후, 종양의 크기가 약 100 내지 200 mm³에 도달하였을 때, 해당 크기의 종양을 갖는 마우스를 무작위로 그룹화(n=10/그룹)한 뒤 하기 표 3에 나타낸 조건으로 각 약물을 총 41일간 13회 투여한 뒤, 이러한 기간 동안의 종양의 크기 변화를 측정하여 그 결과를 도 3에 나타내었다. 또한, 상기 종양을 적출하여 순수한 종양의 무게를 측정한 뒤, 그 결과를 도 4에 나타내었으며, 마우스의 체중 변화를 측정하여 그 결과는 도 5에 나타내었다. 여기서, 대조군(Control)의 경우에는 아무것도 투여하지 않았다.

표 3

	투여 조건
제1 그룹	-
제2 그룹	옥살리플라틴 단독(17 mg/kg, Oxaliplatin), 경구 투여
제3 그룹	소라페닙 단독(80 mg/kg, Sorafenib), 경구 투여
제4 그룹	화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논 단독(25 mg/kg, Candidate 31), 경구 투여
제5 그룹	옥살리플라틴(8.5 mg/kg, Oxaliplatin), 경구 투여 tert-뷰틸하이드로퀴논 (25 mg/kg, Candidate 31), 경구 투여
제6 그룹	소라페닙(25 mg/kg, Sorafenib), 경구 투여 tert-뷰틸하이드로퀴논 (25 mg/kg, Candidate 31), 경구 투여

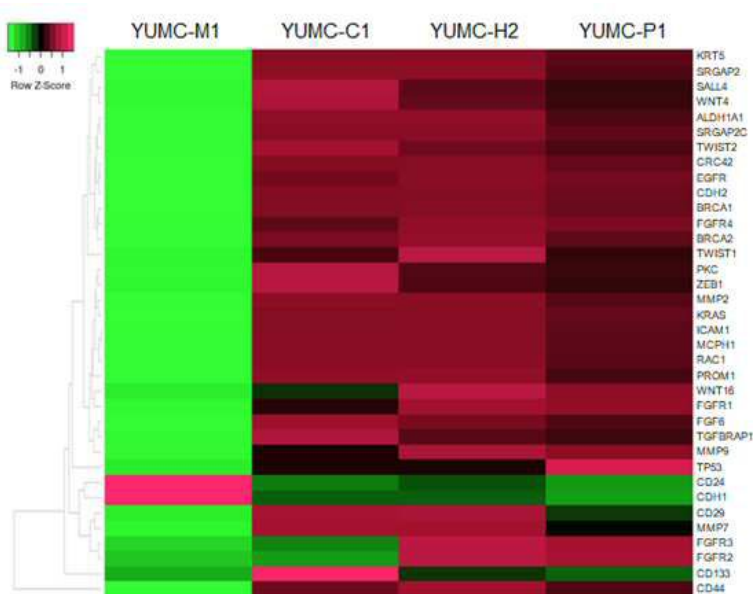
도 3 및 4에서 보는 바와 같이, YUMC-C1 세포주를 이중 이식한 마우스 모델에 옥살리플라틴을 투여한 경우 대조군과 비교하였을 때에 저항성을 보여 종양의 크기 및 무게가 유의적으로 감소되지 않았고, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주를 이중 이식한 마우스 모델에서는 소라페닙을 투여한 경우에도 종양의 크기 및 무게에 유의적 변화가 관찰되지 않았다. 하지만, 이러한 마우스 모델에 옥살리플라틴 또는 소라페닙의 항암제와 함께 화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논을 병용하여 투여하자, 종양의 크기 및 무게가 현저히 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

한편, 도 5에서 보는 바와 같이, YUMC-C1, YUMC-H2 및 YUMC-P1 세포주를 이중 이식한 마우스 모델에 화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논을 단독, 또는 옥살리플라틴 또는 소라페닙의 항암제와 병용 투여하였을 때 모두 마우스의 체중에 변화가 없는 것을 볼 수 있는 바, 독성 문제가 없음을 알 수 있었다.

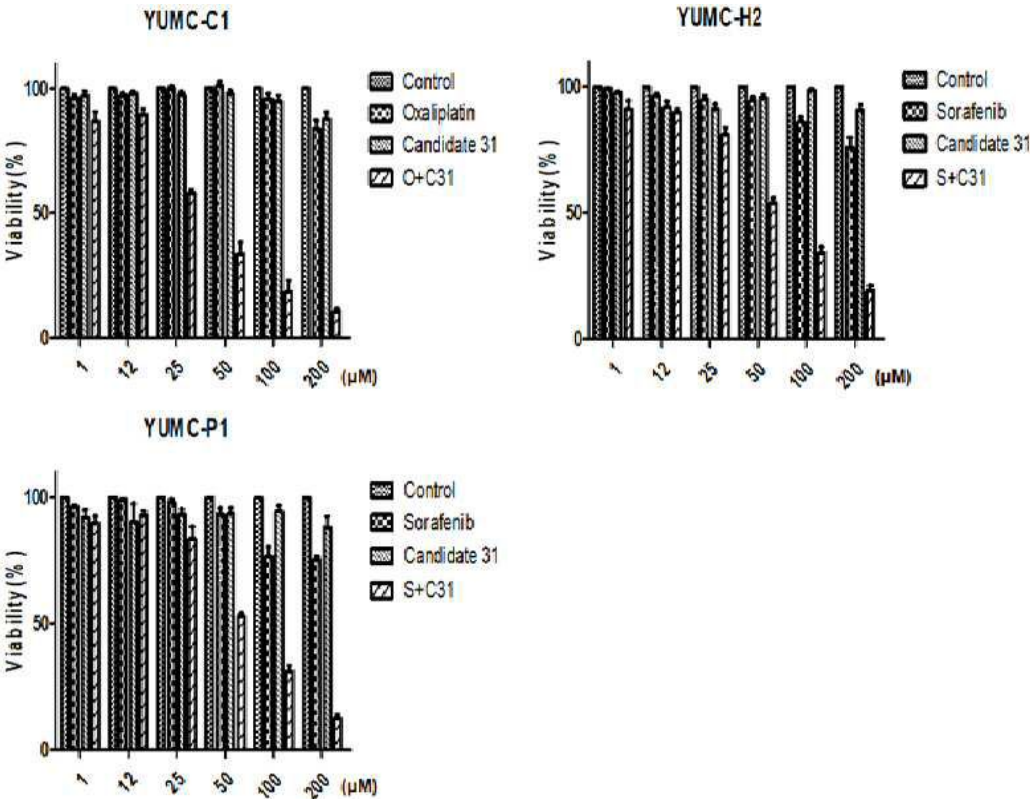
상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 tert-뷰틸하이드로퀴논의 화합물은 다양한 암종에서 항암제 저항성을 보이는 경우, 해당 항암제와 병용하여 사용하였을 때 항암 효과를 현저하게 향상시킬 수 있을 뿐만 아니라, 기존에 사용되던 항암제의 양보다 현저하게 적은 양으로도 동일한 항암 효과를 유도할 수 있어 항암제 복용으로 인한 부작용을 감소시킬 수 있음을 알 수 있다.

도면

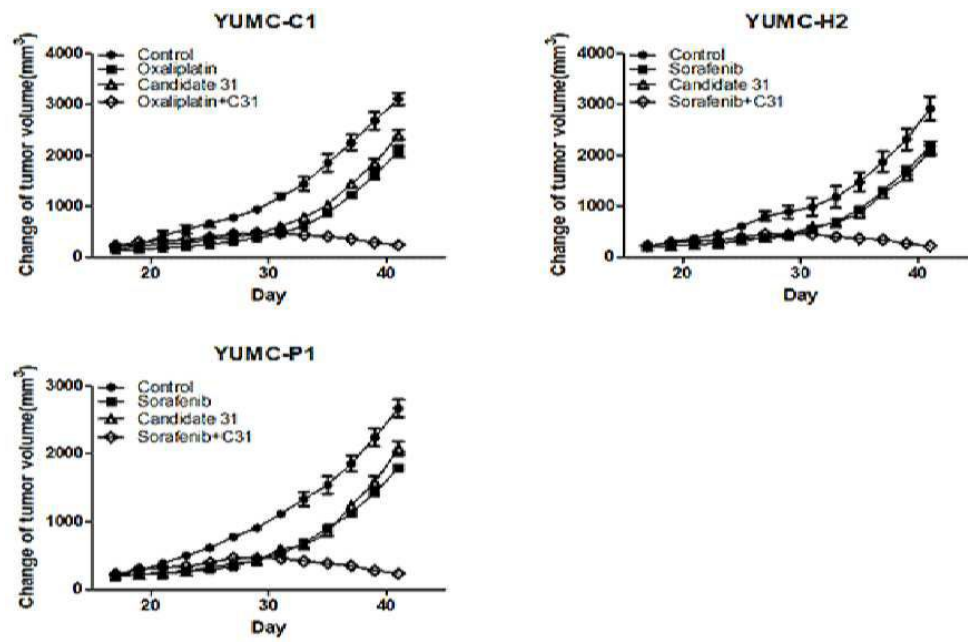
도면1



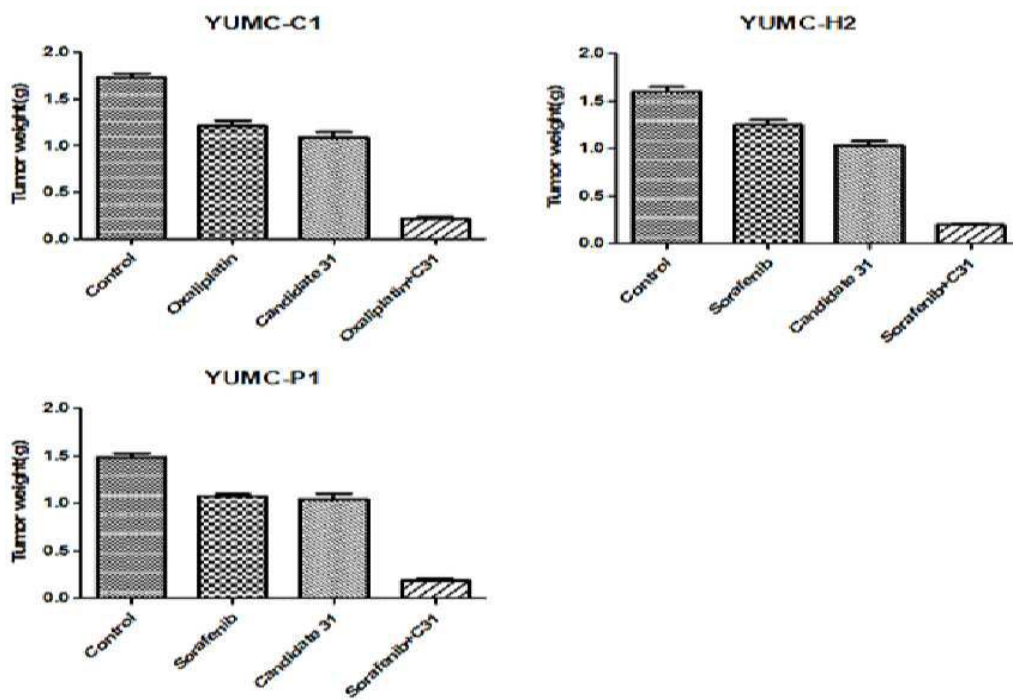
도면2



도면3



도면4



도면5

