(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년08월25일
(11) 등록번호 10-2436309
(24) 등록일자 2022년08월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/165 (2006.01) *A61K 33/243* (2019.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/165 (2013.01)
A61K 33/243 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2020-0063171
(22) 출원일자 2020년05월26일
심사청구일자 2020년05월26일
(65) 공개번호 10-2021-0146108
(43) 공개일자 2021년12월03일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020070018039 A*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(72) 발명자
박기청
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동134) 연세대학교의료원
김석모
서울특별시 강남구 언주로63길 20(역삼동, 강남세브란스병원 교수연구동)
임진홍
서울특별시 강남구 영동대로138길 12 청담자이아파트 205-2205
(74) 대리인
파도특허법인유한회사, 이재영

전체 청구항 수 : 총 17 항 심사관 : 곽희찬

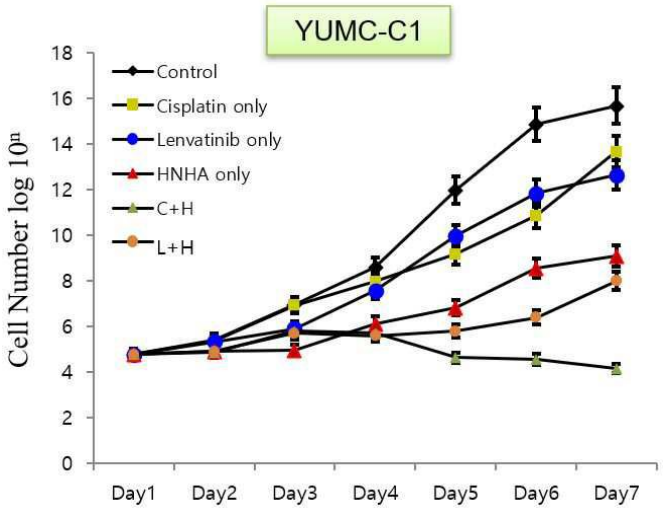
(54) 발명의 명칭 **암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 히스톤 탈아세틸화 저해제(Histone Deacetylation inhibitor; HDAC inhibitor) 및 시스플라틴(Cisplatin)을 유효 성분으로 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 약학적 조성물은 히스톤 탈아세틸화 저해제와 시스플라틴을 함께 사용하여 암 세포 또는 암 줄기세포의 증식을 효과적으로 억제하여, 암을 예방 또는 치료할 수 있을 뿐만 아니라, 항암제에 대한 내성이나, 암의 전이 또는 재발 또한 방지할 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
Anticancer Research 39(3):1119-1127 (2019)
JP2014526456 A
JP2019131546 A
KR1020060015117 A*
KR1020060015117 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

히스톤 탈아세틸화 저해제(Histone Deacetylation inhibitor; HDAC inhibitor) 및 시스플라틴(Cisplatin)을 유효 성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서,

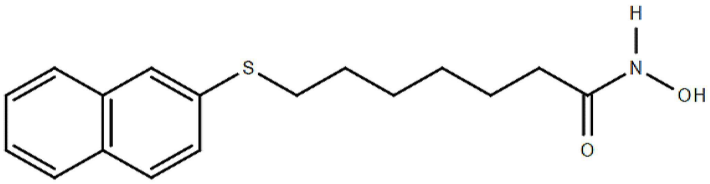
상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드(N-hydroxy-7-(2-naphthylthio)heptanomide; HNHA)인, 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염인, 약학적 조성물:

[화학식 1]



청구항 3

제1항에 있어서,

상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 상기 조성물 내에 1μM 내지 20μM 농도로 포함되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 10μM 내지 200μM 농도로 포함되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴은 1:1~100의 몰비로 포함되는, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 암은 유방암, 담도암, 담낭암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 폐암, 방광암, 신장암, 난소암, 전립선암, 자궁암, 두경부암, 피부암, 혈액암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인, 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 암은 대장암인, 약학적 조성물.

청구항 8

히스톤 탈아세틸화 저해제(Histone Deacetylation inhibitor; HDAC inhibitor) 및 시스플라틴(Cisplatin)을 유효 성분으로 포함하는 내성 암, 재발성 암 또는 전이성 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서,

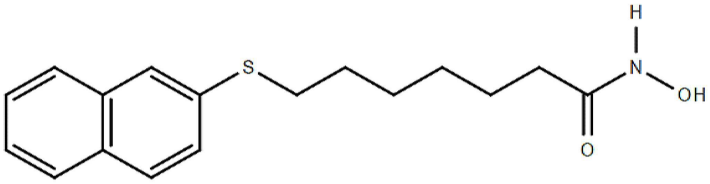
상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드(N-hydroxy-7-(2-naphthylthio)heptanomide; HNHA)인, 약학적 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염인, 약학적 조성물:

[화학식 1]



청구항 10

제8항에 있어서,

상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 상기 조성물 내에 1μM 내지 20μM 농도로 포함되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 10μM 내지 200μM 농도로 포함되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 12

제8항에 있어서,

상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴은 1:1~100의 몰비로 포함되는, 약학적 조성물.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 암은 유방암, 담도암, 담낭암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 폐암, 방광암, 신장암, 난소암, 전립선암, 자궁암, 두경부암, 피부암, 혈액암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인, 약학적 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 암은 대장암인, 약학적 조성물.

청구항 15

제8항에 있어서,

상기 내성 암은 항암제에 내성을 갖는 암인, 약학적 조성물.

청구항 16

제8항에 있어서,

상기 전이성 암은 암세포가 간, 폐, 뼈, 림프절 또는 복강으로 전이된 것인, 약학적 조성물.

청구항 17

히스톤 탈아세틸화 저해제(Histone Deacetylation inhibitor; HDAC inhibitor) 및 시스플라틴(Cisplatin)을 유효 성분으로 포함하는 암 줄기세포(Cancer Stem CELL, Tumor Initiating Cells; CSC, TICs)의 성장 억제용 약학적 조성물조성물로서,

상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드(N-hydroxy-7-(2-naphthylthio)heptanomide; HNHA)인, 약학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 암 세포 뿐만 아니라, 내성 암, 재발성 암 또는 전이성 암 세포주의 성장을 억제할 수 있는 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암은 인류가 해결해야 할 난치병 중의 하나로, 전 세계적으로 이를 치유하기 위한 개발에 막대한 자본이 투자되고 있는 실정이며, 우리나라의 경우, 질병 사망원인 중 제1위의 질병으로서 연간 약 10만명 이상이 진단되고, 약 6만명 이상이 사망하고 있다.

[0003] 이러한 암의 유발 인자인 발암물질로는 흡연, 자외선, 화학물질, 음식물, 기타 환경인자들이 있으나, 그 유발 원인이 다양하여 치료제의 개발이 어려울 뿐만 아니라 발생하는 부위에 따라 치료제의 효과 또한 각기 다르다. 현재 치료제로 사용되는 물질들은 상당한 독성을 지니고 있으며, 암 세포만을 선택적으로 제거하지 못하므로, 암의 발생 후 이의 치료뿐 아니라, 암의 발생을 예방하기 위한 독성이 적고 효과적인 항암제의 개발이 절실히 필요하다.

[0004] 한편, 대장암(Colorectal cancer; CRC)은 전 세계적으로 세 번째로 가장 일반적인 암이며, 암-관련 질병 및 사망률의 주요 원인 중 하나이다. 모든 암 발생률 중 대장암은 전 세계적으로 9.7%를 차지한다. 육십만 명의 대장암 관련 사망뿐만 아니라 매년 백만 명 이상의 대장암 진단 사례가 있다. 임상 결과를 개선하기 위해 수술과 화학요법이 수행되나, 많은 대장암 환자들은 낮은 생존율을 갖는 진행 병기로의 종양 전이를 갖는 것으로 나타난다. 그러므로, 대장암의 효과적인 치료 전략을 마련함에 있어 새로운 치료 요법이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 일 목적은 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 내성 암, 재발성 암 또는 전이성 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0007] 본 발명의 다른 일 목적은 암 줄기세포의 성장 억제용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0008] 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.

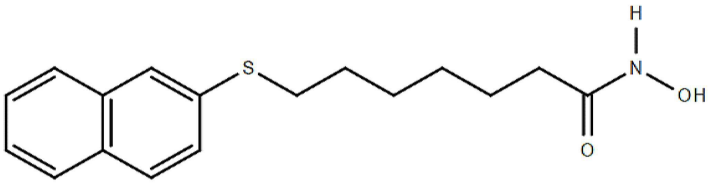
과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 일 구현 예에 따르면, 히스톤 탈아세틸화 저해제(Histone Deacetylation inhibitor; HDAC inhibitor) 및 시스플라틴(Cisplatin)을 유효 성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0010] 본 발명에서 상기 "히스톤 탈아세틸화 저해제"는 유전자 발현 조절 기작에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는 히스톤 탈아세틸화 효소(Histone deacetylase; HDAC)의 활성을 저해하는 것으로, 히스톤의 과아세틸화(Hypoacetylation)와 이에 따른 유전자 발현의 변화를 유도한다. 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 a) 금속(특

히, 아연)과 결합 가능한 영역(domain), b) 상기 히스톤 탈아세틸화 효소의 채널을 채울 수 있는 링커(linker), 및 c) 히스톤 탈아세틸화 효소 활성 영역의 가장자리에서 구조체들과 상호 작용할 수 있는 표면 인지 영역의 구조적인 특징을 갖고 있다(J. Med. Chem., 2003, 46(24), 5097-5116). 본 발명에서 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제로는 하기 화학식 1로 표시되는 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드(N-hydroxy-7-(2-naphthylthio)heptanomide) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염일 수 있다:

[0011] [화학식 1]



[0012]

[0013] 본 발명에서 상기 화학식 1로 표시되는 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드는 'HNHA'라고 불리우며, 히스톤 디아세틸라제(histone deacetylase, HDAC) 활성의 세포 투과성 억제제로, 세포 주기의 진행을 억제하며 히스톤 하이퍼아세틸화(histone hyperacetylation) 및 p21 전사를 유도한다. HNHA는 종양 성장을 억제하며, 인간 제대 정맥 내피 세포(human umbilical vein endothelial cells; HUVECs)의 성장을 억제하고, 튜브 형성과 HUVECs의 이동을 억제한다.

[0014] 본 발명에서, 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 상기 조성물 내에 1μM 내지 20μM 농도로 포함될 수 있다. 상기 HNHA의 농도가 1μM 미만인 경우 조성물의 효과가 충분하게 나타나지 않을 수 있고, 상기 HNHA의 농도가 20μM를 초과하는 경우 정상 세포에 대한 조성물의 독성이 커질 수 있다.

[0015] 본 발명에서, 상기 시스플라틴은 암 치료에 널리 사용되는 알킬화제 가운데 하나로, 백금 원자에 2개의 염소와 암모니아가 배위된 화합물로(시스-다이암민다이클로로백금(II)[$Pt(NH_3)_2Cl_2$]), 시스구조가 DNA와 킬레이트 고리를 형성하여 세포분열을 막는 것으로 알려져 있다. 하지만, 시스플라틴은 그 자체가 국제 암 연구소에 의하여 2A등급 발암물질로 분류된 바 있어, 고농도로 사용되기 어려운 문제점이 있다.

[0016] 본 발명에서, 상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 10μM 내지 200μM 농도로 포함될 수 있다. 상기 시스플라틴의 농도가 10μM 미만인 경우 조성물의 효과가 충분하게 나타나지 않을 수 있고, 상기 시스플라틴의 농도가 200μM를 초과하는 경우 정상세포에 대한 조성물의 독성이 커질 수 있다.

[0017] 또한, 본 발명에서 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 1:1~100의 몰비로 포함될 수 있다. 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴의 몰비가 상기한 범위로 포함될 경우 저용량으로 암 치료에 효과적인 시너지 효과를 낼 수 있다.

[0018] 본 발명에서 상기 "암"은 포유류에서 전형적으로 조절되지 않는 세포 성장으로 특징지어진 생리적 상태를 나타내거나 가리킨다. 본 발명의 상기 암은 예방 또는 치료의 대상이 되는 암의 종류는 특별히 제한하지 않으나, 예를 들면, 유방암, 담도암, 담낭암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 폐암, 방광암, 신장암, 난소암, 전립선암, 자궁암, 두경부암, 피부암, 혈액암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 암일 수 있고, 바람직하게는 대장암일 수 있다.

[0020] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 히스톤 탈아세틸화 저해제 및 시스플라틴(Cisplatin)을 유효 성분으로 포함하는 내성 암, 재발성 암 또는 전이성 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0021] 본 발명에서 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제로는 상기 화학식 1로 표시되는 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드(N-hydroxy-7-(2-naphthylthio)heptanomide) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염일 수 있다.

[0022] 본 발명에서, 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 상기 조성물 내에 1μM 내지 20μM 농도로 포함될 수 있다. 상기 HNHA의 농도가 1μM 미만인 경우 조성물의 효과가 충분하게 나타나지 않을 수 있고, 상기 HNHA의 농도가 20μM를 초과하는 경우 정상세포에 대한 조성물의 독성이 커질 수 있다.

[0023] 본 발명에서, 상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 10μM 내지 200μM의 농도로 포함될 수 있다. 상기 시스플라틴의 농도가 10μM 미만인 경우 조성물의 효과가 충분하게 나타나지 않을 수 있고, 상기 시스플라틴의 농도가 200μM를 초과하는 경우 정상세포에 대한 조성물의 독성이 커질 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명에서 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 1:1~100의 몰비로 포함될 수 있다. 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴의 몰비가 상기한 범위로 포함될 경우 저용량으로 암 치료에 효과적인 시너지 효과를 낼 수 있다.

[0025] 본 발명에서는 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제 중에서도 특히 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드와, 시스플라틴을 병용 투여할 경우, 약제의 내성이 생기는 것을 방지하거나 혹은 기 생성된 내성을 극복하여 항암제에 대한 감수성을 증진시킬 수 있고, 그 외에도 암의 재발을 예방하거나, 재발된 암을 치료할 수 있으며, 원발암에서 타 기관이나 조직으로의 암이 전이하는 것을 예방하거나, 전이된 암을 치료할 수 있다.

[0026] 본 발명에서 상기 "내성 암"이란, 암 치료용 약물, 특히 항암제 치료에 대하여 극히 낮은 감수성을 나타내어, 상기 치료법에 의해 증세가 호전, 완화, 경감 또는 치료증상을 나타내지 않는 암을 의미한다. 상기 내성 암은 특정한 치료법에 대하여 처음부터 내성을 가질 수도 있고, 최초에는 내성을 나타내지 않았으나, 긴 시간의 치료로 인하여 암 세포 내의 유전자 변이 등에 의하여 동일한 치료에 대해 더이상 감수성을 나타내지 않게 되어 발생할 수도 있다.

[0027] 본 발명에서 "암 치료용 약물"이란 암을 치료하기 위한 약물로, 항암제일 수 있고, 그 종류를 특별히 한정하지는 않으나, 바람직하게는 대장암의 치료용 약물일 수 있다. 구체적인 예를 들면, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리툭시맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맙, 게피티니브, 보르테조밉, 수니티닙, 카보플라틴, 소라페닙, 베바시주맙, 시스플라틴, 세툭시맙, 비스쿰알붐, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겜투주맵오조가마이신, 이브리투모맙튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레불린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀뮴 키토산, 젬시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 카페시타빈, 머캅토푸린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 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, 미토락톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토락톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴, 보리노스텟, 엔티노스텟, 5FU, 카르무스틴 및 렌바티닙으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0028] 본 발명에서 상기 "내성 극복"이란, 특정 약물에 대한 내성을 획득한 암 세포의 치료용 약물에 대한 감수성을 증가시키는 작용을 의미한다. 본 발명의 목적상 상기 특정 약물은 암 치료용 약물, 특히 항암제를 의미한다. 상기 감수성의 증가는 내성이 없는 암세포에 대해 성장억제 등의 효과를 보이는 농도와 비교하여, 내성을 획득한 암세포의 성장억제 및 세포사멸 등의 효과를 보이는 농도가 동등하거나 그 이상으로 상승시키는 정도에 이르는 것을 의미한다. 상기 내성 극복과 동의어로서 "내성억제", "내성해제", "저항성 해제" 및 "감수성 증강" 등이 있다.

[0029] 본 발명에서, 암의 "재발"은 치료 후 암을 발견할 수 없다가 일정 기간이 지난 후 다시 발견되는 것을 의미한다. 상기 "재발성 암"은 상기와 같이 암의 재발이 일어난 결과 생긴 암을 의미한다. 특히 대장암의 경우 대장암 치료 후 약 30~50%의 확률로 재발성 대장암이 발생하고, 60% 이상이 처음 상기 대장암 치료 후 2년 내에 발생하며, 나머지 40%가 2년 내지 5년 후에 재발할 수 있다. 상기 대장암이 재발할 경우 절제가 어려운 경우가 많고, 절제가 가능한 경우에도 상당한 규모의 수술을 할 수밖에 없을 수 있다. 또한, 항암 치료 및 방사선 치료에도 제한이 있을 수 있다.

[0030] 본 발명에서, 상기 "전이"는 암이 원발한 기관이나 부분으로부터 거리상으로 분리되어 있는 다른 곳으로 옮겨가는 성질을 의미한다. 상기 "전이성 암"은 전이하려는 성질을 가진 암 또는 전이가 이루어진 암이다. 특히 상기 전이성 암은 간, 폐, 뼈, 림프절 또는 복강으로 전이되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 전이성 암은 치료가 어렵고, 특히 원발암이 대장암인 전이성 대장암은 간에 전이된 것 중 극히 일부를 제외하고는 수술이 어렵고, 처음 치료과정 보다 진행 양상 및 치료가 복잡할 수 있다.

[0031] 본 발명에서 상기 암은 그 발생 부위에 따라 유방암, 담도암, 담낭암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 폐암, 방광암, 신장암, 난소암, 전립선암, 자궁암, 두경부암, 피부암, 혈액암 및 간암 등 일 수

있고, 바람직하게는 대장암일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0033] 본 발명의 다른 구현 예에 따르면, 히스톤 탈아세틸화 저해제 및 시스플라틴(Cisplatin)을 유효 성분으로 포함하는 암 줄기세포(Cancer Stem Cell, Tumor Initiating Cells; CSC, TICs)의 성장 억제용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0034] 본 발명에서 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제로는 상기 화학식 1로 표시되는 N-하이드록시-7-(2-나프틸티오)헵타노마이드(N-hydroxy-7-(2-naphthylthio)heptanomide) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염일 수 있다.

[0035] 본 발명에서, 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제는 상기 조성물 내에 1μM 내지 20μM 농도로 포함될 수 있다. 상기 HNHA의 농도가 1μM 미만인 경우 조성물의 효과가 충분하게 나타나지 않을 수 있고, 상기 HNHA의 농도가 20μM를 초과하는 경우 정상세포에 대한 조성물의 독성이 커질 수 있다.

[0036] 본 발명에서, 상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 10μM 내지 200μM의 농도로 포함될 수 있다. 상기 시스플라틴의 농도가 10μM 미만인 경우 조성물의 효과가 충분하게 나타나지 않을 수 있고, 상기 시스플라틴의 농도가 200μM를 초과하는 경우 정상세포에 대한 조성물의 독성이 커질 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명에서 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴은 상기 조성물 내에 1:1~100의 몰비로 포함될 수 있다. 상기 히스톤 탈아세틸화 저해제와 상기 시스플라틴의 몰비가 상기한 범위로 포함될 경우 저용량으로 암 치료에 효과적인 시너지 효과를 낼 수 있다.

[0038] 본 발명에서 상기 암은 유방암, 담도암, 담낭암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 폐암, 방광암, 신장암, 난소암, 전립선암, 자궁암, 두경부암, 피부암, 혈액암 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 암일 수 있고, 바람직하게는 대장암일 수 있으며, 종양의 분화 및/또는 증식 등 암의 진행이 본 발명에서 기술하는 암 줄기세포에 의존적인 암의 종류라면 이에 제한되지 않는다.

[0039] 본 발명에서, 상기 암 줄기세포(Cancer Stem CELL, Tumor Initiating Cells; CSC, TICs)는 악성 종양 조직 내에 1 ~ 2% 정도로 존재하며 정상줄기세포의 특성인 자가복제 능력 (self-renewal)과 다른 세포로 분화할 수 있는 전분화능 (pluripotent)을 가지고 있으나 자가 조절 기능에 이상이 있어 세포분열 활성화로 세포 수를 증가하게 되고 스스로 악성 종양 세포로 분화하는 것으로 보고되었다.

[0040] 상기 암 줄기세포는 1997년에 Bonnet 과 Dick이 표면 표지자 CD38를 발현하지 않고 CD34를 발현하는 백혈구 세포 일부 집단을 분리하여 발견하였다(Blood, 1997). 이후, 유방암 (PNAS, 2003), 뇌종양 (Nature, 2004), 전립선암 (Cancer Res, 2005), 대장암 (Nature, 2007), 흑색종 (Nature, 2008)에서도 암 줄기세포가 존재한다는 증거들이 제시되었고. 종양에 포함되어 있는 소수의 암 줄기세포가 종양의 악성화, 항암저항성 및 재발의 주된 원인으로 부각되었다.

[0041] 암 줄기세포들은 다른 암 세포들과 구별되는 표지 인자(marker)가 존재하며, 암 줄기세포의 표지 인자(cancer stem cell marker)로는 하기 표 1과 같이 다양한 암 종 특이적인 암 줄기세포 표지 인자가 알려져 있다.

표 1

[0043]

암종	암 줄기세포 표지인자	출처
교모세포종	CD133	
신장암	CD105, CD133	Contemp Oncol (Pozn). 2015; 19(1A): A44-A51
갑상선암	ABCG2, MRP1, LRP 및 CXCR4	J Clin Pathol. 2014 Feb;67(2):125-33
급성골수성백혈병 (AMM)	CD34+/CD38-	
다발성골수종 (multiple myeloma)	CD133-	
유방암	CD44+/CD24-/low	Breast Cancer Res. 2007; 9(3): 303
대장암	CD133+	
전립선암	CD44+/α2β1hi/CD133+	
흑색종 (melanoma)	ABCB5+	

[0045] 상기한 암 줄기세포들은 끊임없이 자기 재생(self-renewal)을 하며, 실험동물 모델에서 천개 미만의 적은 세포수로도 종양을 만들 수 있으며 악성 종양 세포로서의 능력을 보유하고 있다. 또한 암 치료법인 항암제 치료와 방사선 치료에 놀라울 정도로 저항성을 가지고 있어, 암 줄기세포의 제거는 암 치료의 성패를 가늠할 수 있는

바로미터로 점차 인식되고 있다. 최근에는 수술, 방사선 치료, 항암화학요법 등 기존의 여러 치료 방법을 이용해 암 세포들을 사멸시키더라도 암 줄기세포들을 모두 사멸시키지 못한다면 남아있는 암 줄기세포들로부터 다시 암이 재발할 수 있다는 것으로 인식되고 있다. 이러한 암의 재발을 방지하기 위하여 종양을 재생성할 수 있는 능력을 가진 암 줄기세포를 타겟으로 하는 화학요법 및 이를 바탕으로 암을 치료하고자 하는 치료 프로토콜 개발에 관심이 높아지고 있다.

[0046] 정상 조직에서의 줄기세포는 자가 재생 (self-renewal) 기전에 의해 세포 성장과 분화를 조절하지만, 암 줄기세포는 종양세포 주변의 종양 미세환경 인자에 영향을 받아 비정상적인 자가분열(Self-renewal) 및 유지(maintenance) 경로를 활성화하여 급격히 집적됨으로써 악성화되고, 항암치료에 대한 저항성을 획득하게 되며 궁극적으로 암의 재발을 야기한다고 제시되고 있다. 그러나 아직까지 암 줄기세포의 집적 및 유지를 조절하는 종양 미세 환경 인자의 실체와 상호작용에 대한 구체적인 기전 연구는 진행되지 못하고 있다.

[0047] 본 발명에서, 성장 억제의 대상이 되는 암 줄기세포로는 상기 열거된 암의 줄기세포를 모두 포함할 수 있지만, 특히 대장암 줄기세포일 수 있다.

[0048] 본 발명에서, "암 줄기세포의 성장 억제"란 암 줄기세포 유지(maintenance) 억제, 암 줄기세포 악성화(malignance) 억제 및 암 줄기세포 침윤 활성(invasive) 억제 등의 의미를 포함할 수 있다.

[0050] 본 발명에서, "예방"은 본 발명의 약학적 조성물을 이용하여 암 증상을 차단하거나, 암 증상의 억제 또는 지연시키는 모든 행위라면 제한없이 포함할 수 있다.

[0051] 본 발명에서, "치료"는 본 발명의 약학적 조성물을 조사하여 암 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위라면 제한없이 포함할 수 있다.

[0052] 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학적 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0053] 본 발명의 약학적 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 약제적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활탁제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 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 제형할 수 있다.

[0054] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0055] 본 발명에 따른 약학적 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 투하가 바람직하다.

[0056] 본 발명에서, "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 발명의 약학적 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.

[0057] 본 발명의 약학적 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여시간, 투여경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증을 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약무형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 50mg/kg 또는 0.001 내지 50mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으

로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 의약 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형될 수 있다.

발명의 효과

[0058] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 히스톤 탈아세틸화 저해제와 시스플라틴을 함께 사용하여 암 세포 또는 암 줄기세포의 증식을 효과적으로 억제하여, 암을 예방 또는 치료할 수 있으며, 더 나아가 약제의 내성이 생기는 것을 방지하거나 혹은 기 생성된 내성을 극복하여 항암제에 대한 감수성을 증진시킬 수 있고, 그 외에도 암의 재발이나 원발암에서 타 기관이나 조직으로의 암이 전이하는 것을 예방하거나, 재발된 암 또는 전이된 암을 효과적으로 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0059] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 HT-29 대장암 세포주에 시스플라틴 및 HNHA를 단독 또는 이들 혼합물을 처리한 경우 세포수를 그래프로 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 재발성 대장암 세포주에 시스플라틴 및 HNHA를 단독 또는 이들 혼합물을 처리한 경우 세포수를 그래프로 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 전이성 대장암 세포주에 시스플라틴 및 HNHA를 단독 또는 이들 혼합물을 처리한 경우 세포수를 그래프로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0060] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0062] **실시예**

[0064] **환자/조직 샘플로부터 종양 세포 분리 및 1차 배양**

[0065] 연세대학교 강남 세브란스 병원의 하기 표 2의 대장암 환자로부터 종양 덩어리를 확보한 뒤 하기의 과정을 거쳐 대장암 세포주인 YUMC-C1, YUMC-C2 세포를 얻었다.

[0066] 구체적으로, 상기 종양 덩어리는 대장암의 원발 부위 및 전이 부위의 외과적 절제술 중에 확보하였다. 절제술 다음날에 획득한 종양 덩어리를 항진균제 및 항생제를 포함하는 생리 식염수에 보관한 뒤 실험실로 이동하였다. 상기 종양 덩어리로부터 정상 조직과 지방을 제거한 뒤, 종양 조직을 1X HBSS로 세척하였다. 종양 조직을 튜브 내에서 해리 배지와 함께 분쇄하였다. 해리 배지는 콜라게나제 IV형(Sigma, USA) 1mg/ml 및 20% FBS를 포함하는 DMEM/F12를 사용하였다. 분쇄되어 부유하는 종양 세포를 50ml 1X HBSS로 세척하며 멸균 70-마이크로 포어 나일론 세포 스트레이너(BD Falcom)로 여과한 후 1400 rpm으로 5분 동안 원심 분리하였다. 세포를 10% 소태아 혈청(Hyclone, South Logan, UT, USA) 및 2% 페니실린/스트렙토마이신 용액(Gibco, Grand Island, NY, USA)를 포함하는 RPMI-1640(Hyclone) 배지에 재부유시켰다. 세포 생존율은 트립판 블루 염색 배제법에 의하여 측정하였다.

표 2

[0068]

구분	HT-29	YUMC-C1	YUMC-C2
진단 시 나이	-	71	63
성별	-	여성	남성
1차 병변	대장암	대장암	대장암
2차 병변	-	방사선 치료 후 원발 부위에서 재발	간 전이
암 기(stage)	-	IVc	IVc
배양 시 사용한 샘플의 분류	-	새로운 종양	새로운 종양
종양 덩어리 확보처	ATCC	대한민국 서울 강남 세브란스 병원	대한민국 서울 강남 세브란스 병원

[0070] **세포 배양**

[0071] 상기와 같이 (1) 대조군으로 사용된 대장암 세포주 HT-29, (2) 환자로부터 유래된 재발성 대장암 세포주인 YUMC-C1, (3) 환자로부터 유래된 전이성 대장암 세포주인 YUMC-C2 세포를 각각 분리한 뒤, 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI-1640 배지에서 배양하였다.

[0073] **HNHA 및 시스플라틴 병용 조합의 대장암 세포주에 대한 IC_{50} 측정**

[0074] (1) 대조군으로 사용된 대장암 세포주 HT-29, (2) 환자로부터 유래된 재발성 대장암 세포주인 YUMC-C1, (3) 환자로부터 유래된 전이성 대장암 세포주인 YUMC-C2 세포에 시스플라틴 및 HNHA를 병용 투여하는 경우 항암 효과에 시너지 효과가 부여되는지 확인하기 위하여, HT-29, YUMC-C1, YUMC-C2 세포 각각에 HNHA, 시스플라틴 각각 또는 이들을 병용으로 처리한 후 MTT 어쎄이에 의하여 IC_{50}을 측정하여 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0076]

세포주	조직 병리학	동물	세포 증식 IC_{50}(μM)		
			시스플라틴	HNHA	시스플라틴 + HNHA
HT-29	대장암	인간	70.1(±0.2)	19.5(±0.1)	20.1(±0.5) + 4.2(±0.1)
YUMC-C1	대장암	인간	241.2(±0.1)	40.4(±0.5)	104.3(±0.2) + 10.4(±0.3)
YUMC-C2	대장암	인간	247.1(±0.3)	45.4(±0.2)	113.4(±0.1) + 13.2(±0.2)

[0078] 상기 표 3에서 보는 바와 같이, (1) 대조군으로 사용된 대장암 세포주 HT-29, (2) 환자로부터 유래된 재발성 대장암 세포주인 YUMC-C1, (3) 환자로부터 유래된 전이성 대장암 세포주인 YUMC-C2 세포 모두에서 시스플라틴과 HNHA을 병용 투여한 경우 시스플라틴을 단독으로 투여한 경우나, HNHA을 단독으로 투여한 경우보다 IC_{50}이 현저히 낮은 값을 보였다.

[0080] **HNHA 및 시스플라틴의 병용 조합에 의한 암 세포 증식 억제의 시너지 효과 분석**

[0081] (1) 대조군으로 사용된 대장암 세포주 HT-29, (2) 환자로부터 유래된 재발성 대장암 세포주인 YUMC-C1, (3) 환자로부터 유래된 전이성 대장암 세포주인 YUMC-C2 세포에 시스플라틴 및 HNHA를 병용 투여하는 경우 항암 효과에 시너지 효과가 부여되는지 확인하기 위하여, HT-29, YUMC-C1, YUMC-C2 세포 각각에 HNHA; 시스플라틴; 렌바티닙; 시스플라틴 및 HNHA를 병용 투여(Cisplatin+HNHA; C+H); 렌바티닙 및 HNHA를 병용 투여(Lenvatinib+HNHA; L+H)한 후 MTT 어쎄이에 의하여 시간에 따른 암 세포의 수를 분석하여, 그 결과를 도 1 내지 3에 나타내었다.

[0082] 도 1에서 보는 바와 같이, 대장암 세포주인 HT-29에 HNHA나 시스플라틴을 단독으로 처리한 경우에 비하여 이들을 병용으로 처리한 경우(C+H) 상기 대장암 세포주의 세포 수가 더욱 감소한 것을 확인할 수 있었다. 또한, 시스플라틴과 HNHA를 병용 처리한 경우(C+H)가 렌바티닙과 HNHA를 병용 처리한 경우(L+H)에 비하여 HT-29 대장암 세포주의 세포 수 감소 효과가 현저히 뛰어난 것을 확인할 수 있었다. 한편, 렌바티닙을 단독으로 처리한 경우는 다른 항암제를 처리한 경우보다 HT-29 대장암 세포주 사멸에 큰 효과가 없음을 알 수 있었다.

[0083] 도 2에서 보는 바와 같이, 환자로부터 유래된 재발성 대장암 세포주인 YUMC-C1 세포에 HNHA나 시스플라틴을 단독으로 처리한 경우에 비하여 이들을 병용으로 처리한 경우(C+H)에 상기 재발성 대장암 세포주의 세포 수가 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었고, 렌바티닙을 단독으로 처리한 경우나 렌바티닙과 HNHA를 병용 처리한 경우(L+H)에 비하여서도 재발성 대장암 세포주의 세포 수 감소 효과가 현저히 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

[0084] 도 3에서 보는 바와 같이, 환자로부터 유래된 전이성 대장암 세포주인 YUMC-C2 세포에 HNHA나 시스플라틴을 단독으로 처리한 경우에 비하여 이들을 병용으로 처리한 경우(C+H) 상기 전이성 대장암 세포주의 세포 수가 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었다. 또한, 시스플라틴과 HNHA를 병용 처리한 경우(C+H)가 렌바티닙을 단독으로 처리한 경우나 렌바티닙과 HNHA를 병용 처리한 경우(L+H)에 비하여 전이성 대장암 세포주의 세포 수 감소 효과가 현저히 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

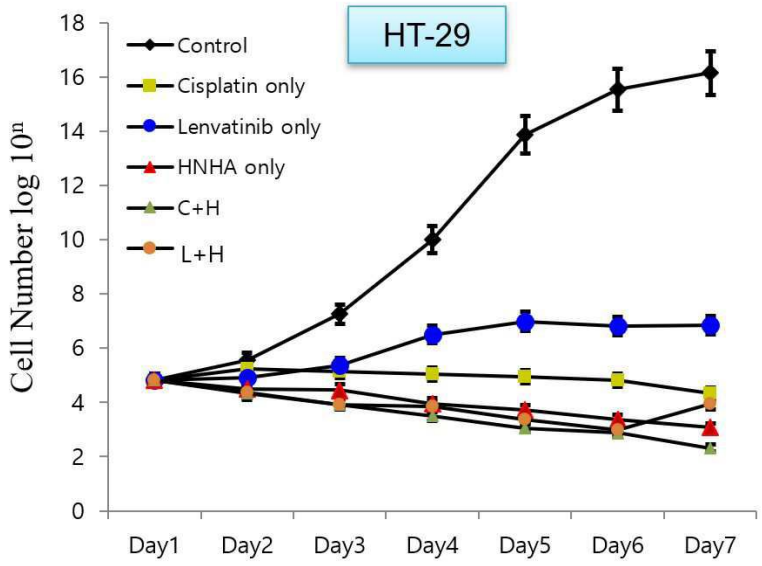
[0086] 상기 실시예들을 통하여 본 발명에 따른 시스플라틴과 HNHA의 조합은 대장암, 특히는 항암제 내성 대장암, 재발성 대장암 또는 전이성 대장암에 효과적인 치료제로 사용될 수 있음을 알 수 있다.

[0088] 이상에서 본 발명의 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고,

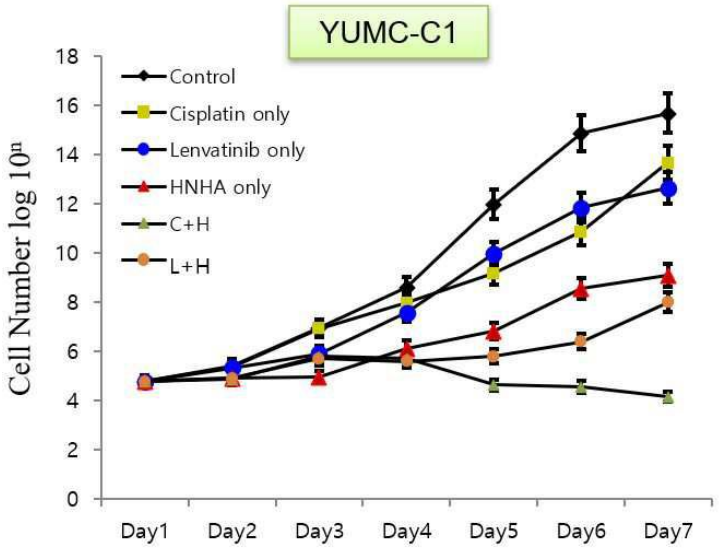
청구범위에 기재된 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능하다는 것은 당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게는 자명할 것이다.

도면

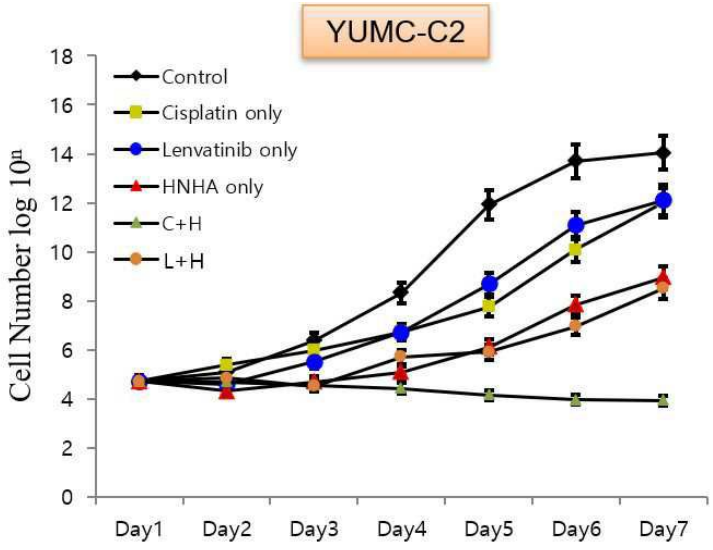
도면1



도면2



도면3


YUMC-C2
Control
Cisplatin only
Lenvatinib only
HNHA only
C+H
L+H
Cell Number log 10n
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
Day1
Day2
Day3
Day4
Day5
Day6
Day7