

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2022-0117850
(43) 공개일자 2022년08월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/4545 (2006.01) *A61K 31/4525*

(2006.01)

A61K 31/555 (2006.01) *A61K 33/243* (2019.01)*A61K 45/06* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)*G01N 33/50* (2017.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/4545 (2013.01)*A61K 31/4525* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2022-0020278

(22) 출원일자 2022년02월16일

심사청구일자 2022년02월16일

(30) 우선권주장

1020210021215 2021년02월17일 대한민국(KR)

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

정재호

서울특별시 서초구 효령로77길 20 현대ESA아파트 1302호

김재우

서울특별시 서초구 방배로 270 방배 신삼호아파트 바동 101호

윤보경

서울특별시 성동구 매봉길 50 이편한세상옥수파크힐스 101동 202호

(74) 대리인

파도특허법인유한회사

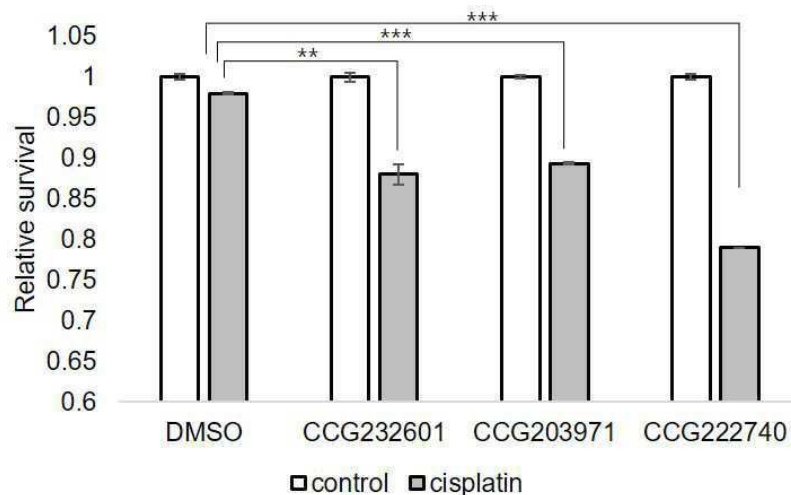
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 항암제 내성 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명에 따른 조성물은 단독으로 사용할 시 항암제 내성을 극복하거나 항암제 감수성을 증진시킴으로써 항암제 내성암의 성장을 억제할 수 있을 뿐만 아니라, 항암제와 병용 투여할 시 다양한 암, 특히는 항암제 내성암의 예방, 개선 또는 치료에 매우 효과적으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도8



(52) CPC특허분류

A61K 31/555 (2013.01)

A61K 33/243 (2022.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

G01N 33/5011 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1465030977

과제번호 HR14C0005040020

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원

연구사업명 연구중심병원육성(R&D)

연구과제명 제1 유닛(4세부) : 종양대사 조절 표적 항암 신약개발(Development of Novel therapeutics targeting cancer metabolism)

기 여 율 1/2

과제수행기관명 연세대학교 세브란스병원

연구기간 2020.01.01 ~ 2020.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1465031002

과제번호 HR18C0012020020

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원

연구사업명 연구중심병원육성(R&D)

연구과제명 장-간-지방조직 상호작용 기반 비만 및 지방간질환 치료 혁신기술 개발

기 여 율 1/2

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2020.01.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

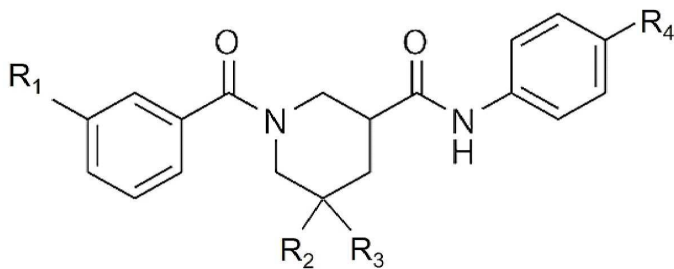
MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 억제제를 포함하는 항암제 내성 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 MRTF A 억제제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염인, 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

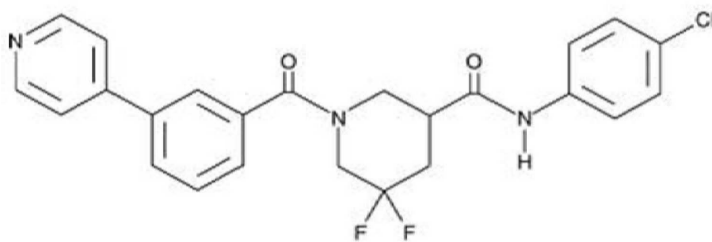
R₁은 5원 내지 6원 고리의 헤테로아릴이고, R₂ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소 또는 할로젠이다.

청구항 3

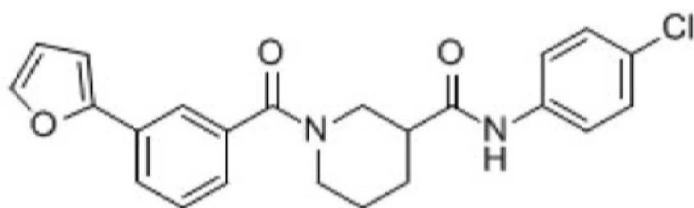
제 2항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 내지 4로 표시되는 화합물 군에서 선택된 적어도 하나에 해당하는, 조성물:

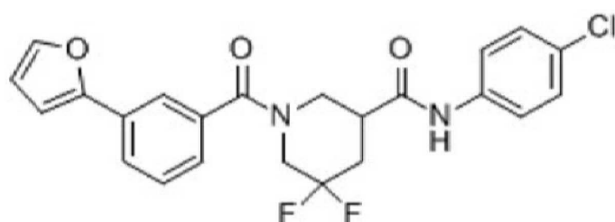
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]



청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 항암제는 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상인, 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 조성물은 추가로 다른 항암제를 더 포함하는, 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 항암제는 시스플라틴, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맙, 케피티니브, 보르테조미브, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맙, 세톡시맙, 비스쑤알부, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 젬투주맙오조가마이신, 이브리투모맙튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀름 키토산, 켄시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토크세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 예노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레오마이신, 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 1 종 이상인, 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 항암제는 백금 계열의 항암제로서, 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴으로 이루어진 군으로부터 선

택되는 적어도 하나인, 조성물.

청구항 8

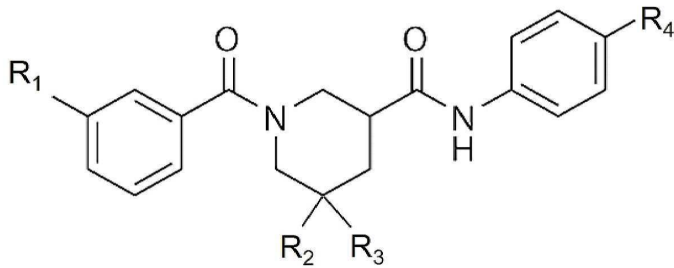
MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 억제제를 포함하는 항암제 감수성 증진용 약학적 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 MRTF A 억제제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염인, 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

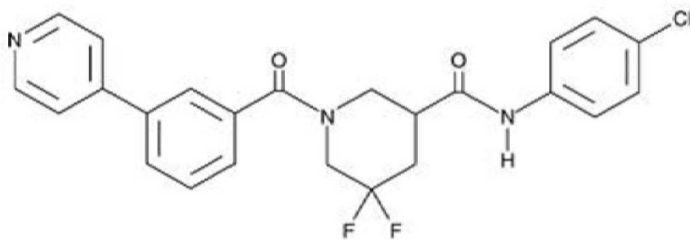
R₁은 5원 내지 6원 고리의 헤테로아릴이고, R₂ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소 또는 할로젠이다.

청구항 10

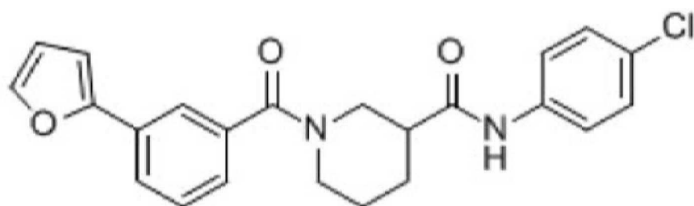
제 9항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 내지 4로 표시되는 화합물 군에서 선택된 적어도 하나에 해당하는, 조성물:

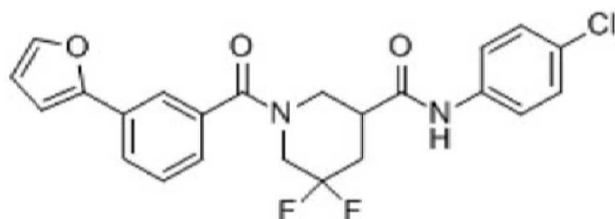
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]



청구항 11

제 8항에 있어서,

상기 항암제는 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상인, 조성물.

청구항 12

제 8항에 있어서,

상기 조성물은 추가로 다른 항암제를 더 포함하는 것인, 조성물.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 항암제는 시스플라틴, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테조미브, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맵, 세톡시맵, 비스큐알부민, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라메스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레블린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산훈몰 키토산, 켄시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토크세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레오마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 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 1 종 이상인, 조성물.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 항암제는 백금 계열의 항암제로서, 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 조성물.

청구항 15

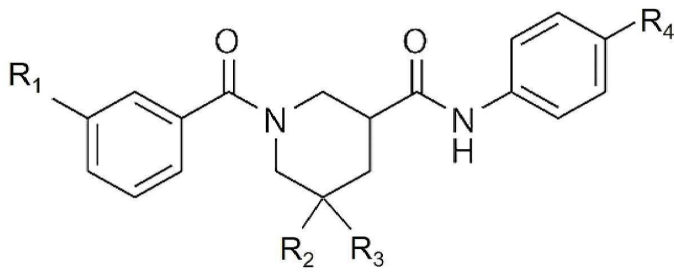
MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 억제제를 포함하는 항암제 내성 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 MRTF A 억제제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염인, 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

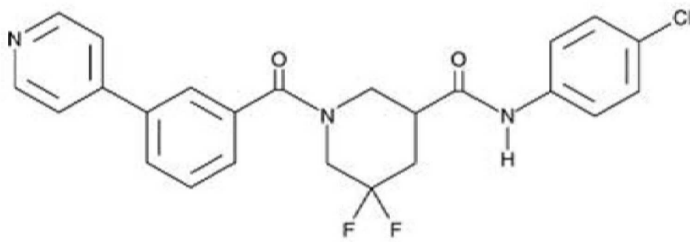
R₁은 5원 내지 6원 고리의 헤테로아릴이고, R₂ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소 또는 할로젠이다.

청구항 17

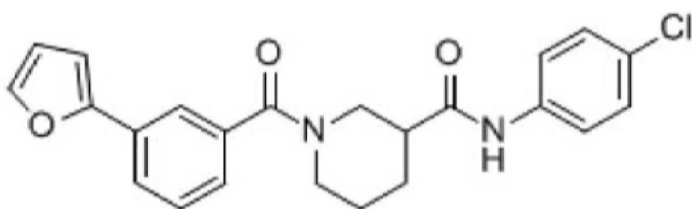
제 16항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 내지 4로 표시되는 화합물 군에서 선택된 적어도 하나에 해당하는 조성물:

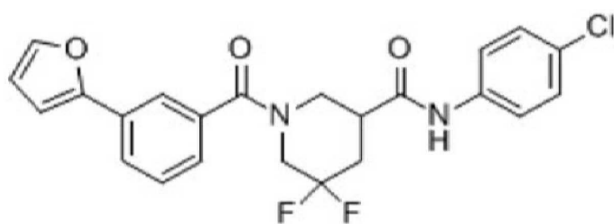
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]



청구항 18

제 15항에 있어서,

상기 조성물은 추가로 다른 항암제를 더 포함하는 것인, 조성물.

청구항 19

제 15항에 있어서,

상기 항암제는 시스플라틴, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맙, 케피티니브, 보르테조밐, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맙, 세톡시맙, 비스쑼알뱀, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겐투주맙오조가마이신, 이브리투모맙튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀름 키토산, 켐시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토크세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 탈티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레오마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레틴인, 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 1 종 이상인, 조성물.

청구항 20

제 15항에 있어서,

상기 암은 위암, 유방암, 대장암, 폐암, 간암, 식도암, 췌장암, 담낭암, 신장암, 방광암, 전립선암, 고환암, 결장암, 자궁경부암, 자궁내막암, 유모암, 피부암, 난소암, 갑상선암, 뇌암, 혈액암, 두경부암, 악성흑색종 및 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 조성물.

청구항 21

다음의 단계를 포함하는 항암제 내성 치료용 조성물의 스크리닝 방법:

- MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 또는 이를 발현하는 세포를 포함하는 생물학적 시료와 후보물질을 접촉시키는 단계; 및
- 상기 MRTF A 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 활성 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 상기에서 측정된 활성 또는 발현 수준이 감소한 경우 상기 후보물질을 항암제 내성 치료용 조성물로 판정한다.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항암제에 대한 감수성을 증진시켜, 항암제에 대한 내성을 극복하거나 더 나아가서는 내성암의 성장을 억제할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 암 (Cancer)이란 조직을 이루고 있는 세포가 비 정상적으로 무제한 증식하여 종양이 형성되도록 하고, 그에 따라 장기가 정상적인 기능을 수행할 수 없도록 하여 개체의 생명을 위협할 수 있는 매우 치명적인 질환이다. 2017 년 한국인 사망 원인 1 위가 악성 신생물(암)이었으며, 전체 사망자 중에서 27.6 %가 암으로 인해 사망하였다. 특히 위암 (gastric cancer; GC)은 세계에서 세 번째로 흔한 치명적인 암으로 인종, 성별 및 지역에 따라 암의 발생 부위에 있어서 차이가 있지만, 최근 분자 유전체 기술을 통해 분자적 특성에 따라 위암의 유형을 분류할 수 있게 되었다.

[0003] 위암의 생물학적으로 관련된 하위 유형 중 특히 줄기 유사 특성을 가진 유형은 치료가 어려운 악성인 생물학적 특성을 가지며 표준 치료 화학 요법에 대한 무반응으로 인해 최악의 예후가 나타나며, 면역 체크 포인트 봉쇄

요법도 줄기 유사/EMT 암 아형에 대해 효과가 없는 것으로 확인되면서 이에 대하여 표적 치료법을 적용할 수 없는 문제점이 있다. 또한, 현재 위암 환자에 대하여 사용되는 항암제로 에피루비신, 시스플라틴, 플루오로우라실 등이 있는데, 줄기 유사 특성을 가진 유형의 암에 약물에 대한 저항성(drug resistance)이 나타나 성공적인 항암 치료 효과를 반감시켜 위암의 예후를 나쁘게 하는 문제점이 존재한다.

[0004] 이에 본 발명자들은 항암제 내성을 극복함으로써 악성 위암을 효과적으로 치료할 수 있는 항암제 내성 치료용 병용제를 개발하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 일 목적은 항암제에 대한 내성 극복용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 항암제 감수성 증진용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 또 다른 목적은 항암제 내성암의 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 항암제 내성 치료용 조성물의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

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

과제의 해결 수단

[0010] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세 사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구체예에는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.

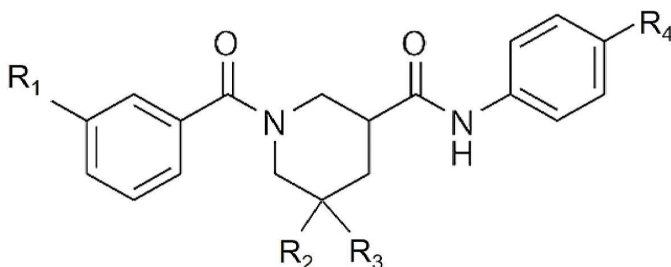
[0011] 명세서 내에 특별한 정의가 없으면 본 명세서에 사용된 모든 과학적 및 기술적인 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 당업자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.

[0013] 본 발명의 일 구현 예에 따르면, 항암제에 대한 내성 극복용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0014] 본 발명에서 상기 조성물은 MRTF A 억제제(Myocardin-related transcription factor A inhibitor)를 유효 성분으로 포함할 수 있다.

[0015] 본 발명에서 상기 MRTF A 억제제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다:

[0016] [화학식 1]



[0017]

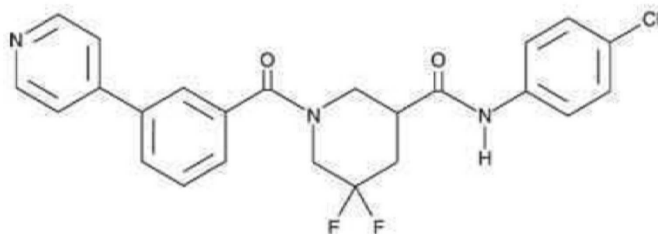
[0018] 본 발명의 상기 화학식 1에서,

[0019] R_1 은 5원 내지 6원 고리의 헤테로아릴이고, R_2 내지 R_4 는 각각 독립적으로 수소 또는 할로젠일 수 있고, 상기 헤테로아릴은 퓨란 또는 피리딘일 수 있다.

[0020] 본 발명의 상기 MRTF A 억제제는 Rho/MRTF/SRF 시그널을 억제하는 기능을 수행하며, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 CCG-232601, CCG-203971 및 CCG-222740로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으나, 같은 기능을 수행하는 억제제의 종류에 해당한다면 이에 제한되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 일 구체 예에서 상기 CCG-232601은 상기 화학식 1에서의 R_1 은 피리딘이고, R_2 및 R_3 은 플루오르이며, R_4 은 클로라이드인 화합물로서, N-(4-클로로페닐)-5,5-디플루오로-1-(3-(피리딘-4-일)벤조일)피페리딘-3-카르복사미드 [N-(4-Chlorophenyl)-5,5-difluoro-1-(3-(pyridin-4-yl)benzoyl)piperidine-3-carboxamide]로 하기 화학식 2로 표시되는 화합물일 수 있다. 본 발명의 상기 CCG-232601 화합물은 Rho/MRTF/SRF 신호 전달 경로의 억제제로서 전신 경피증에 대한 잠재적인 항섬유증 치료제로 알려져 있으며, 마우스 경구 투여 시 블레오 마이신에 의한 진피 섬유증의 발생을 억제하는 것으로도 알려져 있는 물질에 해당한다.

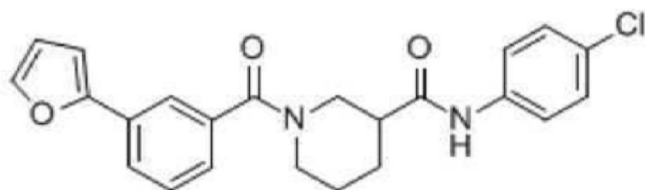
[0022] [화학식 2]



[0023]

[0024] 본 발명의 다른 구체 예에서 상기 CCG-203971은 상기 화학식 1에서의 R_1 은 퓨란이고, R_2 및 R_3 은 수소이며, R_4 은 클로라이드인 화합물로서, N-(4-클로로페닐)-1-(3-(퓨란-2-일)벤조일)피페리딘-3-카르복사미드 [N-(4-Chlorophenyl)-1-(3-(furan-2-yl)benzoyl)piperidine-3-carboxamide]로 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물일 수 있다. 본 발명의 상기 CCG-203971 화합물은 Rho/MKL1/SRF 전사 경로의 억제제로서 흑색종 및 유방암의 전이에 역할을 하며 임상적으로 전립선 암과 관련된 것으로 알려져 있으며, Rho/MRTF/SRF 경로는 또한 여러 유형의 섬유증에 관여하는 것으로도 알려져 있다. 인간 결장 근섬유 아세포에서 기질 강성과 TGF- β 매개 섬유 생성을 모두 억제하고 피부 손상의 쥐 모델 및 폐 섬유증 폐 섬유 아세포에서 항 섬유화 활성을 나타내는 화합물에 해당한다.

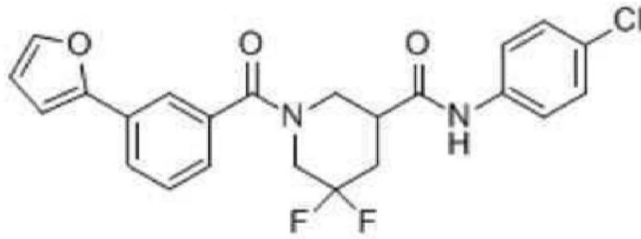
[0025] [화학식 3]



[0026]

[0027] 본 발명의 또 다른 구체 예에서 상기 CCG-222740은 상기 화학식 1에서의 R_1 은 퓨란이고, R_2 및 R_3 은 플루오르이며, R_4 은 클로라이드인 화합물로서, N-(4-클로로페닐)-5,5-디플루오로-1-(3-(퓨란-2-일)벤조일)피페리딘-3-카르복사미드 [N-(4-Chlorophenyl)-5,5-difluoro-1-(3-(furan-2-yl)benzoyl)piperidine-3-carboxamide]로 하기 화학식 4로 표시되는 화합물일 수 있다. 본 발명의 상기 CCG-222740 화합물은 MRTF/SRF 억제제로서 알파 평활근 액틴 단백질의 발현을 방지하며 세포 독성이 적어 섬유증의 전임상 모델에서 흉터 조직 형성을 효과적으로 방지하는 것으로 알려져 있는 물질에 해당한다.

[0028] [화학식 4]



[0029]

[0030] 본 발명의 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 항암제 내성을 매우 효과적으로 치료할 수 있다. 본 발명의 상기 조성물은 줄기 유사 악성 암의 항암제 내성을 극복함으로써 암의 예방, 개선 또는 치료에 매우 효과적으로 사용될 수 있다.

[0031] 본 발명의 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 산 또는 염기의 부가염, 및 이의 입체화학적 이성질체를 포함할 수 있다. 예를 들면, 화합물은 유기산 또는 무기산의 부가염의 형태로 있을 수 있다. 염은 환자에 투여되었을 때 환자에게 바람직한 효과를 갖는 것으로, 그들의 모화합물의 활성을 유지하는 염의 염들을 포함하지만, 이에 특별히 한정되는 것은 아니다. 이러한 염들은 무기염 및 유기염, 예컨대 아세트산, 질산, 아스파르트산, 술폰산, 설푸릭산, 말레산, 글루탐산, 포름산, 숙신산, 인산, 프탈산, 탄닌산, 타르타르산, 히드로브롬산, 프로피온산, 벤젠술폰산, 벤조산, 스테아르산, 락트산, 비카르본산, 비설푸릭산, 비타르타르산, 옥살산, 부틸산, 칼슘 이데트, 카르보닉산, 클로로벤조산, 시트르산, 이데트산, 톨루엔술폰산, 푸마르산, 글루세프산, 에실린산, 파모익산, 글루코닉산, 메틸질산, 말론산, 염산, 히드로요도익산, 히드록시나프톨산, 이세티온산, 락토비오닉산, 만델산, 점액산, 나프실릭산, 뮤코닉산, p-니트로메탄술폰산, 헥사믹산, 판토테닉산, 모노히드로젠인산, 디히드로젠인산, 살리실산, 술파민산, 술파닐린산, 메탄술폰산의 염 등을 포함할 수 있다. 염기의 부가염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속의 염, 예컨대 암모늄, 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등의 염; 유기 염기를 갖는 염, 예컨대 벤자틴, N-메틸-D-글루카민, 하이드라라민 등의 염; 및 아미노산을 갖는 염, 예컨대 아르기닌, 리신 등을 포함할 수 있다. 또한, 이들 염들은 적정 염기 또는 산으로 처리함으로써 유리된 형태로 전환될 수 있다.

[0032] 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 사용빈도를 증가시켜야 하거나 혹은 이전과 같은 용량의 물질을 투여해도 전과 똑같은 효과를 얻지 못하는 상태를 말한다.

[0033] 본 발명에서 상기 "내성 극복(내성 치료)"이란 항암제를 정량 반복적으로 사용했을 때 해당 약물의 효과가 감소하거나, 항암제 내성이 있는 환자에게 이전에 경험한 동일한 효과를 얻기 위해서는 그 사용량을 늘리거나 사용빈도를 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.

[0034] 본 발명에서 상기와 같이 내성을 유발시키는 항암제는 암 세포를 사멸시키는 기전을 가진 약물로서 항암 효과가 있는 약물에 해당하며, 암 치료 효과가 있는 약물을 말한다. 그 종류를 특별히 제한하지 않으나, 예를 들어, 시스플라틴, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테오미드, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맵, 세톡시맵, 비스큐알BUM, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시 카바마이드, 다사티닙, 에스트라메스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타디, 질산홀륨 키토산, 켈시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시타딘, 메토평렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캄토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르포퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미토산트론, 미토마이신, 블레오마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부설판, 이포스파

미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레트민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토락톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토락톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 백금 계열의 항암제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명에서 상기 "암"은 포유류에서 전형적으로 조절되지 않는 세포 성장으로 특징지어진 생리적 상태를 나타내거나 가리킨다. 상기 암은 위암, 갑상선암, 부갑상선암, 난소암, 대장암, 췌장암, 간암, 유방암, 자궁경부암, 폐암, 비소세포성폐암, 전립선암, 담낭암, 담도암, 비호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 혈액암, 방광암, 신장암, 흑색종, 결장암, 골암, 피부암, 두부암, 자궁암, 직장암, 뇌종양, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 질암, 음문암종, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 수노관암, 신장세포암종, 신장골반 암종, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간 신경교종 또는 뇌하수체 선종으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나인 것일 수 있고, 바람직하게는 위암일 수 있으나, 종양의 분화 및/또는 증식 등 암의 진행이 본 발명에서 기술하는 암세포 또는 암 줄기세포에 의존적인 암의 종류라면 이에 제한되지 않는다.

[0036] 또한, 본 발명에서 상기 항암제에 대한 내성 극복용 약학적 조성물은 추가로 다른 항암제를 더 포함함으로써, 내성 극복 효과를 현저히 향상시킬 수 있다. 여기서, 추가로 더 포함될 수 있는 항암제의 종류는 특별히 제한하지 않으나, 예를 들면, 시스플라틴, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테조미브, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맵, 세톡시맵, 비스큐알BUM, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레블린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀륨, 키토산, 쟈시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토크렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토퍼린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모피, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레오마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레트민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토락톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토락톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있으나, 바람직하게는 백금 계열의 항암제일 수 있으며, 보다 바람직하게는 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0037] 구체적으로, 본 발명에서 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 일반적인 항암제, 보다 바람직하게는 백금 계열의 항암제에 병용 투여하는 경우 항암제 내성을 극복함으로써 암 또는 암 줄기세포의 성장 억제 및 세포사멸을 유도하는 데 매우 높은 시너지 효과를 부여할 수 있다.

[0038] 본 발명에서 상기 "병용 투여"란, 치료 요법의 개별 성분들을 동시, 순차적으로, 또는 개별적으로 투여하는 방식으로 이를 수 있다. 2 이상의 약물을 동시에 또는 순차적으로 투여하거나, 또는 일정한 또는 정해지지 않은 간격으로 교대로 투여하는 등의 방법으로 병용 치료 효과를 얻는 것으로, 병용 치료법은 이에 한정되지 아니하지만, 예를 들어 반응 정도, 반응 속도, 질병 진행까지의 기간 또는 생존 기간을 통해 측정된 효능이 병용 치료법의 성분 중 하나 또는 나머지를 통상적인 용량으로 투약하여 얻을 수 있는 효능보다 치료학적으로 우수하면서 상승효과를 제공할 수 있는 것으로 정의될 수 있다.

[0039] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 상기 항암제는 1 : 0.01 ~ 100 또는 1 : 0.1 ~ 400의 중량비로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니고 사용되는 항암제의 종류에 따라 적절히 조절할 수 있다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 내성 극복을 위한 항암제 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 항암제 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 항암제의 내성 극복의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0040] 본 발명의 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 백금 계열의 항암제는

1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 내성 극복을 위한 백금 계열의 항암제 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 백금 계열의 항암제 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제의 내성 극복의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0041] 본 발명의 또 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 시스플라틴은 1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 내성 극복을 위한 시스플라틴 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 시스플라틴 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제의 내성 극복의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0042] 본 발명의 또 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 옥살리플라틴은 1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 내성 극복을 위한 옥살리플라틴 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 옥살리플라틴 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제의 내성 극복의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0043] 또한, 본 발명의 상기 조성물은 MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 단백질의 활성 또는 발현 수준을 감소시키는 제제; 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 감소시키는 제제를 유효 성분으로 포함하는 것일 수 있다.

[0044] 본 발명의 상기 단백질의 활성 또는 발현 수준을 감소시키는 제제는 상기 단백질 또는 그 일부 부위에 특이적으로 결합하는 화합물, 펩티드, 펩티드 미메틱스, 앵타머, 항체, 및 천연물로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 표적 MRTF A 단백질에 직간접적으로 작용하여 그의 활성 또는 발현이 저해되는 효과를 도출하는 수단에 해당하는 것으로 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법으로 공지된 기술에 의하여 용이하게 도출 가능한 것이라면 이에 제한되지 아니하고 모두 포함할 수 있다.

[0045] 본 발명에서 상기 "펩티드 미메틱스 (Peptide Mimetics)"는 MRTF A의 활성 억제제를 이끄는 MRTF A 단백질의 결합 도메인을 억제하는 펩티드 또는 비펩티드이다. 비가수분해성 펩티드 유사체의 주요 잔기로는 β -턴 디펩티드 코어 (Nagai et al. Tetrahedron Lett 26:647, 1985), 케토-메틸렌 슈도펩티드류 (Ewenson et al. J Med chem 29:295, 1986; 및 Ewenson et al. in Peptides: Structure and Function (Proceedings of the 9th American Peptide Symposium) Pierce chemical co. Rockland, IL, 1985), 아제핀 (Huffman et al. in Peptides: chemistry and Biology, G.R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988), 벤조디아제핀 (Freidinger et al. in Peptides; chemistry and Biology, G.R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988), β -아미노알콜 (Gordon et al. Biochem Biophys Res commun 126:419 1985) 및 치환 감마 락탐환 (Garvey et al. in Peptides: chemistry and Biology, G.R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988)을 사용하여 생성할 수 있다.

[0046] 본 발명에서 상기 "앵타머 (Aptamer)"는 그 자체로 안정된 삼차구조를 가지면서 표적분자에 높은 친화성과 특이성으로 결합할 수 있는 특징을 가진 단일가닥 핵산 (DNA, RNA 또는 변형핵산)이다. 앵타머는 SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment)라는 앵타머 발굴 기술이 처음 개발된 이후(Ellington, AD and Szostak, JW., Nature 346:818-822, 1990), 저분자 유기물, 펩타이드, 막 단백질까지 다양한 표적분자에 결합할 수 있는 많은 앵타머들이 계속해서 발굴되었다. 앵타머는 고유의 높은 친화성(보통 pM 수준)과 특이성으로 표적분자에 결합할 수 있다는 특성 때문에 단일 항체와 비교가 되고, 특히 "화학 항체"라고 할 만큼 대체 항체로서의 높은 가능성이 있다.

[0047] 본 발명에서 상기 "항체"는 상기 단백질 주입을 통해 제조된 것 또는 시판되어 구입한 것이 모두 사용 가능하다. 또한, 상기 항체는 다클론 항체, 단클론 항체 및 에피토프와 결합할 수 있는 단편 등을 포함한다.

[0048] 여기서, 상기 다클론 항체는 상기 단백질을 동물에 주사하고, 해당 동물로부터 채혈하여 항체를 포함하는 혈청을 수득하는 종래의 방법에 의해 생산할 수 있다. 이러한 다클론 항체는 당업계에 알려진 어떠한 방법에 의해서든 정제될 수 있고, 염소, 토끼, 양, 원숭이, 말, 돼지, 소, 개 등의 임의의 동물 종 속주로부터 만들어질 수

있다.

- [0049] 또한, 상기 단클론 항체는 연속 세포주의 배양을 통한 항체 분자의 생성을 제공하는 어떠한 기술을 사용하여도 제조할 수 있다. 이러한 기술로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 하이브리도마 기술, 사람 B-세포주 하이브리도마 기술 및 EBV-하이브리도마 기술이 포함된다.
- [0050] 또한, 상기 단백질에 대한 특정 결합 부위를 함유한 항체 단편이 제조될 수 있다. 예를 들면 이들로 한정되는 것은 아니지만 F(ab')₂ 단편은 항체 분자를 펩신으로 분해시켜 제조할 수 있으며, Fab 단편은 F(ab')₂ 단편의 디설파이드 브릿지를 환원시킴으로써 제조할 수 있다. 다른 방도로서, Fab 발현 라이브러리를 작게 하여 원하는 특이성을 갖는 단클론 Fab 단편을 신속하고 간편하게 동정할 수 있다.
- [0051] 본 발명에서 상기 항체는 세척이나 복합체의 분리 등 그 이후의 단계를 용이하게 하기 위해 고형 기질 (solid substrate)에 결합될 수 있다. 고형 기질은 예를 들어 합성수지, 니트로셀룰로오스, 유리기판, 금속기판, 유리 섬유, 미세구체 및 미세비드 등이 있다. 또한, 상기 합성수지에는 폴리에스터, 폴리염화비닐, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, PVDF 및 나일론 등이 있다.
- [0052] 본 발명의 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 감소시키는 제제는 상기 단백질을 코딩하는 유전자, 바람직하게는 상기 유전자 또는 그 일부 부위에 상보적으로 결합하는 안티센스 뉴클레오티드, 작은 간섭 RNA (short interfering RNA; siRNA), 짧은 헤어핀 RNA (short hairpin RNA) 및 리보자임 (ribozyme)으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 표적 MRTF A 단백질을 코딩하는 유전자에 직간접적으로 작용하여 그 발현이 저해되는 효과를 도출하는 수단에 해당하는 것으로 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법으로 공지된 기술에 의하여 용이하게 도출 가능한 것이라면 이에 제한되지 아니하고 모두 포함할 수 있다.
- [0053] 본 발명의 일 예시로 상기 MRTF A 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 감소시키는 제제는 MRTF A 단백질을 코딩하는 유전자의 일부 또는 전부인 염기 서열로 이루어진 폴리뉴클레오티드에 상보적으로 결합하는 안티센스 뉴클레오티드, 작은 간섭 RNA (short interfering RNA; siRNA), 짧은 헤어핀 RNA (short hairpin RNA) 및 리보자임 (ribozyme)으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 본 발명에서 상기 "안티센스 뉴클레오티드"는 왓슨-클릭 염기쌍에 정의된 바에 따라, DNA, 미성숙-mRNA 또는 성숙된 mRNA의 상보적 염기서열에 결합(혼성화)하여 DNA에서 단백질로서 유전정보의 흐름을 방해하는 것이다. 표적 서열에 특이성이 있는 안티센스 뉴클레오티드의 성질은 그것들을 예외적으로 다기능이 되도록 한다. 안티센스 뉴클레오티드는 모노머 단위의 긴 사슬이기 때문에 이들은 표적 RNA 서열에 대해 쉽게 합성될 수 있다. 최근 많은 연구들은 표적 단백질을 연구하기 위한 생화학적 수단으로 안티센스 뉴클레오티드의 유용성을 증명하였다. 올리고뉴클레오티드 화학 및 향상된 세포주흡착, 표적결합 친화도 및 뉴클레아제 내성을 나타내는 뉴클레오티드 합성 분야에서 최근 많은 진보가 있었으므로 안티센스 뉴클레오티드의 사용은 새로운 형태의 억제제로 고려될 수 있다.
- [0055] 본 발명에서 상기 "shRNA" 및 "siRNA"는 RNA 방해 또는 유전자 사일런싱 (silencing)을 매개할 수 있는 핵산 분자로서, 표적 유전자의 발현을 억제할 수 있기 때문에 효율적인 유전자 킥다운 (knockdown) 방법 또는 유전자 치료 방법으로 사용된다. shRNA는 단일 가닥의 올리고 뉴클레오티드 내에서 상보적인 서열 간의 결합에 의해 헤어핀 (hairpin) 구조를 형성한 것이고, 생체 내에서 상기 shRNA는 다이스 (dicer)에 의해 절단되면서 21 내지 25 뉴클레오티드 크기의 작은 RNA 조각으로 이중 가닥의 올리고 뉴클레오티드인 siRNA가 되며, 상보적인 서열을 갖는 mRNA에 특이적으로 결합하여 발현을 억제할 수 있다. 또한, siRNA는 이중 가닥 RNA(dsRNA)에 의해 타겟이 되는 mRNA를 변형시켜 RNA 간섭 현상(RNA interference; RNAi)을 유도하게 되는 21 내지 25 뉴클레오티드 크기의 작은 이중 가닥의 RNA 단편에 해당하는 것을 말한다.
- [0056] 본 발명에서 상기 shRNA 및 siRNA 중 어느 수단을 이용할지는 당업자의 선택에 의해 결정될 수 있으며 이들이 표적으로 하는 mRNA 서열이 동일한 경우라면 유사한 발현 감소 효과를 기대할 수 있다. 본 발명의 목적상 상기 MRTF A를 코딩하는 유전자에 특이적으로 작용하여 MRTF A 유전자(예; mRNA 분자)를 절단하여 RNA 간섭 (RNAi, RNA interference) 현상을 유도함으로써, 상기 MRTF A의 발현을 억제할 수 있다. siRNA는 화학적으로 또는 효소학적으로 합성될 수 있다. siRNA의 제조방법으로는 특별히 한정되지 않으며, 당업계에 공지된 방법을 사용할 수 있다. 예를 들면, siRNA를 직접 화학적으로 합성하는 방법, 시험관 내 (in vitro) 전사를 이용한 siRNA의 합성법, 시험관 내 (in vitro) 전사에 의해 합성된 긴 이중 가닥 RNA를 효소를 이용하여 절단하는 방법, shRNA 발현

플라스미드나 바이러스성 벡터의 세포 내 전달을 통한 발현법 및 PCR (polymerase chain reaction) 유도 siRNA 발현 카세트 (cassette)의 세포 내 전달을 통한 발현법 등이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

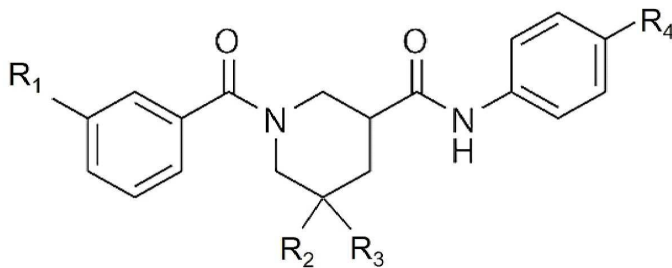
[0057] 본 발명에서 상기 "리보자임 (ribozyme)"은 촉매 활성을 갖는 RNA 분자를 말한다. 다양한 활성을 갖는 리보자임이 공지되어 있으며, MRTF A 유전자의 리보자임은 공지된 또는 인공적으로 생성된 리보자임을 포함하며, 선택적으로 표적 특이적 RNA 절단 활성을 갖는 리보자임이 공지된 표준 기법에 의해 제조될 수 있다.

[0059] 본 발명의 다른 구현 예에 따르면, 항암제 감수성 증진용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0060] 본 발명에서 상기 조성물은 MRTF A 억제제(Myocardin-related transcription factor A inhibitor)를 유효 성분으로 포함할 수 있다.

[0061] 본 발명에서 상기 MRTF A 억제제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다:

[0062] [화학식 1]



[0063]

[0064] 본 발명의 상기 화학식 1에서,

[0065] R₁은 5원 내지 6원 고리의 헤테로아릴이고, R₂ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소 또는 할로젠일 수 있고, 상기 헤테로아릴은 퓨란 또는 피리딘일 수 있다.

[0066] 본 발명의 상기 MRTF A 억제제는 Rho/MRTF/SRF 시그널을 억제하는 기능을 수행하며, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 CCG-232601, CCG-203971 및 CCG-222740로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으나, 같은 기능을 수행하는 억제제의 종류에 해당한다면 이에 제한되는 것은 아니다.

[0067] 본 발명에서 상기 MRTF A 억제제는 바람직하게는 CCG-232601, CCG-203971 및 CCG-222740로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으며, 상기 MRTF A 억제제, CCG-232601, CCG-203971 및 CCG-222740, 약학적으로 허용 가능한 염, 항암제 등에 관한 기재는 항암제 내성 치료용 약학 조성물에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.

[0068] 본 발명의 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 항암제의 감수성을 효과적으로 증진시킬 수 있으며, 보다 구체적으로 항암제의 약물 반응성을 높여 항암제의 항암 작용을 효과적으로 높여줌으로써 암의 예방, 개선 또는 치료에 매우 효과적으로 사용될 수 있다.

[0069] 본 발명에서 상기 "항암제 감수성"이란 항암제 사용에 대한 반응 민감도를 의미하는 것으로, 항암제의 투여 시 개체에 작용하는 효과를 극대화시킬 수 있는 특성을 말한다. 항암제 감수성을 증가시키는 경우 약물 효과가 원활하게 작용하도록 함으로써 항암제의 치료 효과를 증대시킬 수 있다.

[0070] 또한, 본 발명에서 상기 항암제 감수성 증진용 약학적 조성물은 추가로 다른 항암제를 더 포함함으로써, 감수성 증진 효과를 현저히 향상시킬 수 있다. 여기서, 추가로 더 포함될 수 있는 항암제의 종류는 특별히 제한하지 않으나, 예를 들면, 시스플라틴, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 게피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테오미브, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맵, 세톡시맵, 비스쿰 알부민, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라메스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레블린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질

산홀름 키토산, 켄시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토티렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토푸린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모피, 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, 미토라톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있으나, 바람직하게는 백금 계열의 항암제일 수 있으며, 보다 바람직하게는 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0071] 구체적으로, 본 발명에서 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 일반적인 항암제, 보다 바람직하게는 백금 계열의 항암제에 병용 투여하는 경우 항암제 감수성을 증진시킴으로써 암 또는 암 줄기세포의 성장 억제 및 세포사멸을 유도하는 데 매우 높은 시너지 효과를 부여할 수 있다.

[0072] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 상기 항암제는 1 : 0.01 ~ 100 또는 1 : 0.1 ~ 400의 중량비로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니고 사용되는 항암제의 종류에 따라 적절히 조절할 수 있다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 감수성 증진을 위한 항암제 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 항암제 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 항암제 감수성 증진의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0073] 본 발명의 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 백금 계열의 항암제는 1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 감수성 증진을 위한 백금 계열의 항암제 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 백금 계열의 항암제 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제 감수성 증진의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0074] 본 발명의 또 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 시스플라틴은 1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 감수성 증진을 위한 시스플라틴 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 시스플라틴 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제 감수성 증진의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0075] 본 발명의 또 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 옥살리플라틴은 1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 내성 극복을 위한 옥살리플라틴 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 옥살리플라틴 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제의 내성 극복의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0076] 또한, 본 발명의 상기 조성물은 MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 단백질의 활성 또는 발현 수준을 감소시키는 제제; 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 감소시키는 제제를 유효 성분으로 포함하는 것일 수 있다.

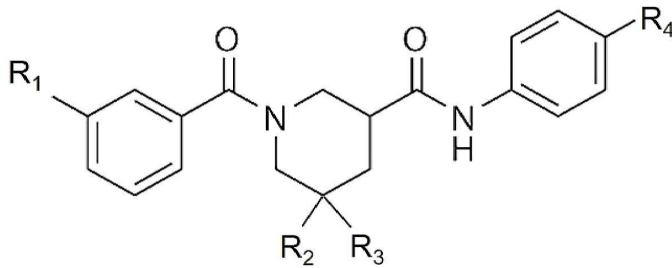
[0078] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 항암제 내성암의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0079] 본 발명에서 상기 조성물은 MRTF A 억제제(Myocardin-related transcription factor A inhibitor)를 유효 성분으로 포함할 수 있다.

[0080] 본 발명에서 상기 MRTF A 억제제는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을

포함할 수 있다:

[화학식 1]



본 발명의 상기 화학식 1에서,

R₁은 5원 내지 6원 고리의 헤테로아릴이고, R₂ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소 또는 할로젠일 수 있고, 상기 헤테로아릴은 퓨란 또는 피리딘일 수 있다.

본 발명의 상기 MRTF A 억제제는 Rho/MRTF/SRF 시그널을 억제하는 기능을 수행하며, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 CCG-232601, CCG-203971 및 CCG-222740로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으나, 같은 기능을 수행하는 억제제의 종류에 해당한다면 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명에서 상기 MRTF A 억제제는 바람직하게는 CCG-232601, CCG-203971 및 CCG-222740로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으며, 상기 MRTF A 억제제, CCG-232601, CCG-203971 및 CCG-222740, 약학적으로 허용 가능한 염, 항암제 등에 관한 기재는 항암제 내성 치료용 약학 조성물에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.

본 발명의 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 항암제 저항성이 있는 항암제 내성 암을 매우 효과적으로 치료할 수 있다. 본 발명의 상기 조성물은 줄기 유사 악성 암의 항암제 저항성을 낮추는 동시에 항암제 감수성을 높여줌으로써 암의 예방, 개선 또는 치료에 매우 효과적으로 사용될 수 있다.

또한, 본 발명에서 상기 항암제 내성암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 추가로 항암제를 더 포함함으로써 항암제에 내성을 유도하는 암 줄기세포의 성장 억제 효율이 현저히 향상됨에 따라 항암제 내성암의 예방 또는 치료 효과 또한 향상될 수 있다.

본 발명의 상기와 같이 추가로 더 포함되는 항암제의 종류는 특별히 제한하지 않으나, 예를 들면, 시스플라틴, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 만데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테오미드, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맵, 세록시맵, 비스췌알부민, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미도레볼린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀름 키토산, 켈시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토크렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모피, 칼티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레오마이신, 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 1 종 이상을 포함할 수 있으나, 바람직하게는 백금 계열의 항암제일 수 있으며, 보다 바람직하게는 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

구체적으로, 본 발명에서 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 일반적인 항암제, 보다 바람직하게는 백금 계열의 항암제에 병용 투여하는 경우 항암제 내성이 있는 암 또는 암 줄기세포의 성장 억제 및 세포사멸을 유도

하는 데 매우 높은 시너지 효과를 부여할 수 있다.

- [0091] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 상기 항암제는 1 : 0.01 ~ 100 또는 1 : 0.1 ~ 400)의 중량비로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니고 사용되는 항암제의 종류에 따라 적절히 조절할 수 있다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 항암제 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 항암제 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 항암제 내성암의 치료 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.
- [0092] 본 발명의 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 백금 계열의 항암제는 1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 백금 계열의 항암제 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 백금 계열의 항암제 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제 내성암의 치료 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.
- [0093] 본 발명의 또 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 시스플라틴은 1 : 0.1 ~ 10)의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 시스플라틴 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 시스플라틴 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제 내성암의 치료 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.
- [0094] 본 발명의 또 다른 구체 예에서, 상기 화학식 1 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 화합물 및 옥살리플라틴은 1 : 0.1 ~ 10의 중량비로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물은 내성 극복을 위한 옥살리플라틴 사용 전 또는 동시에 미리 투여하는 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 옥살리플라틴 사용 전 12 내지 36 시간 전, 가장 바람직하게는 18 내지 30 시간 전에 투여하는 것일 수 있다. 상기 함량 범위를 벗어나는 경우 병용 투여로 인한 목적하는 항암제의 내성 극복의 효과를 얻을 수 없고, 약물에 의한 독성이 목적하는 개체에 발생할 수 있다는 문제점이 있다.
- [0095] 또한, 본 발명의 상기 조성물은 MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 단백질의 활성 또는 발현 수준을 감소시키는 제제; 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 감소시키는 제제를 유효 성분으로 포함하는 것일 수 있다.
- [0096] 본 발명의 조성물에서 예방, 개선 또는 치료의 대상이 되는 질환으로는 목적하는 개체에서 발병 되었거나 발병 될 가능성이 있는 항암제 내성 암일 수 있다.
- [0097] 본 발명에서 상기 "목적하는 개체"란 인간을 포함하는 포유 동물로, 예를 들면, 인간, 래트, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 및 염소로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0098] 본 발명에서 상기 "인간"은 암이 발생하였거나 그 발생이 의심되는 자로, 암의 적절한 치료가 필요하거나 예상되는 환자를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0099] 본 발명의 상기 "예방"이란, 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 암 세포의 제어되지 않은 성장 등에 의해 발생하는 증상을 차단하거나, 그 증상을 억제 또는 지연시키는 행위라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0100] 본 발명의 상기 "개선"이란, 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 암 세포의 제어되지 않은 성장 등에 의해 발생하는 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위라면 제한없이 포함할 수 있다.
- [0101] 본 발명의 상기 "치료"란, 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 암 세포의 제어되지 않은 성장 등에 의해 발생된 증상이 호전되거나 이롭게 되는 행위라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0102] 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.
- [0103] 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, 활택제, 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, 유헬제, 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.

[0104] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 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, 향응집제, 유헬제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0105] 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.

[0106] 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.

[0107] 본 발명의 약학적 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정직, 투여시간, 투여경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 증상을 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만 담당자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1 일 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 의약 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형될 수 있다.

[0109] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 항암제 내성 치료용 조성물의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

[0110] 본 발명의 상기 방법은 MRTF A(Myocardin-related transcription factor A) 또는 이를 발현하는 세포를 포함하는 생물학적 시료와 후보물질을 접촉시키는 단계; 및 상기 MRTF A 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 활성 또는 발현 수준을 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0111] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기에서 측정된 MRTF A 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 활성 또는 발현 수준이 감소한 경우 상기 후보물질을 항암제 내성 치료용 조성물로 판정할 수 있다.

[0112] 본 발명에서 상기 "스크리닝"이란, 여러 물질로 이루어진 후보군으로부터 목적으로 하는 어떤 특정한 성질을 갖는 물질을 특정한 조작 또는 평가 방법으로 선별하는 것이다.

[0113] 본 발명에서 상기 세포는 상기 MRTF A 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자가 과발현되도록 조작된 것일 수 있고, 바람직하게는 상기 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터가 상기 세포 내로 도입되어 형질 감염된 것일 수 있다.

발명의 효과

[0114] 본 발명에 따른 조성물은 단독으로 사용할 시 항암제 내성을 극복하거나 항암제 감수성을 증진시킴으로써 항암제 내성암의 성장을 억제할 수 있을 뿐만 아니라, 항암제와 병용 투여할 시 다양한 암, 특히는 항암제 내성암의 예방, 개선 또는 치료에 매우 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0115] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 암 세포주와 암 줄기세포 특성을 갖는 세포주에 시스플라틴 (CDDP) 또는

CCG-232601 처리 시 생존 및 성장 억제 효과를 세포 생존 능력 측정 방법을 통해 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 암 줄기세포 특성을 갖는 HS746T 및 MKN1 세포주에 CCG-232601의 처리 후 세포의 산소 소비량 (OCR) 및 세포외기질 산화도 (ECAR)를 측정할 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 암 줄기세포 특성을 갖는 HS746T 및 MKN1 세포주에 대한 CCG-232601 처리 시 암 전이 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 HS746T 및 MKN1 세포주에 시스플라틴 처리 시 약물 반응성을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 MKN1 세포주에 CCG-232601과 시스플라틴의 병용 처리 시 모식도를 나타낸 도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 MKN1 세포주에 CCG-232601과 시스플라틴의 단독 또는 병용 처리 시 생존 및 성장 억제 효과를 세포생존율 분석 키트 (Cell Counting Kit-8; CCK-8)를 이용하여 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 HS746T 세포주에 CCG-232601과 옥살리플라틴의 단독 또는 병용 처리 시 생존 및 성장 억제 효과를 세포생존율 분석 키트 (Cell Counting Kit-8; CCK-8)를 이용하여 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 HS746T 세포주에 CCG-232601, CCG-203971 또는 CCG-222740과 시스플라틴의 병용 처리 시 세포생존율 분석 키트 (Cell Counting Kit-8; CCK-8)를 이용하여 시스플라틴 내성 치료 효과를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0116] 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.

[0118] 준비예: 세포주의 배양

[0119] 본 발명에 따른 실시예에서 암 세포 또는 암 줄기세포주의 성장 또는 전이 억제능을 확인하기 위해 본 발명자들은 미국 세포주 은행 (American Type Culture Collection; ATCC) 및 한국 세포주 은행 (Korean Cell Line Bank; KCRB)으로부터 인간 유래 위암 줄기세포 특성을 갖는 세포주인 MKN1, HS746T, 인간 유래 위암 세포주인 SNU601, YCC7 및 NCIN87 세포를 수득하였다. 상기 각 세포주는 ATCC 또는 KCRB 가이드에 따라 배양 배지 및 배양 조건을 달리하여 배양하였다. MKN1, SNU601, 및 NCIN87 세포주는 10 % 소 태아 혈청 (FBS), 2 mM L- 글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토 마이신이 함유된 RPMI1640 배지에서 배양하였으며, HS746T 및 YCC7 세포주는 10 % FBS, 2 mM L-글루타민, 100 U ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토 마이신을 포함하는 DMEM 배지에서 배양하였다. 모든 세포주는 37 °C, 5 % CO₂ 환경에서 배양되었으며, 마이코 플라스마 오염 테스트를 수행하였다.

[0121] 실시예 1: CCG-232601의 처리 시 암 세포 및 암 줄기세포의 치료 효과 확인

[0122] 상기한 준비예에서 배양한 세포주를 웰 플레이트에 1 웰 당 1×10^4 세포 농도로 분주하고, 37 °C, 5 % CO₂ 환경에서 하룻밤 배양하였다. 이후, 위암 환자의 치료 과정에서 현재 많이 쓰이는 항암제인 시스플라틴 (CDDP) 약물과 MRTF A 억제제인 CCG-232601 화합물을 서로 다른 농도로 각각 위암 줄기 유사 세포인 HS746T 및 MKN1 세포주와 위암 세포인 YCC7 및 NCIN87 세포주에 처리하고 48 시간 후의 세포 수를 비교하여 도 1에 나타내었다. 세포 배양액 100 µL와 반응 버퍼 (CCK) 10 µL를 혼합하여 96웰 플레이트에 넣고 실온에서 1 시간 반응시킨 후에 분광광도계를 이용하여 450 nm 파장에서 흡광도 측정하였다(Synergy HTX Multi-Reader, BioTek, Winooski, VT, USA). 동시에 각 시료의 세포 수를 세포생존율 분석 키트 (Cell Counting Kit-8)로 측정하고, 측정값은 음성대조군의 세포 수에 대비하여 각 시료에서의 동일한 세포 수 대비 측정값이 비교될 수 있도록 환산하여 산출하였

다. 모든 실험은 3 회를 반복하여, 도 1에 나타내었으며, 본 실험 결과는 반복 실험을 하여 평균한 값으로 나타내었다.

[0123] 실험 결과, CCG-232601 화합물을 단독으로 처리하였을 시 암 세포 뿐만 아니라 암 줄기세포에서도 항 종양 효과가 나타나는 것을 확인하였으며, 더 나아가 시스플라틴만을 처리하였을 시 약물 내성이 있어 항 종양 효과가 나타나지 않았던 줄기 유사 세포주인 HS746T 및 MKN1 세포주에서 현저하게 향상된 항 종양 효과가 나타난 것을 확인하였다(도 1 참조). 이처럼 본 발명에 따른 CCG-232601 화합물은 암 세포 및 암 줄기세포의 생존능력을 저하시키고, 성장을 억제할 수 있음을 알 수 있다.

[0124] 특히, CCG-232601 화합물의 암 줄기세포 성장 억제 효과가 현저히 뛰어난 것을 확인하고자, 대사 스트레스에 대한 저항성이 높은 줄기 유사 세포주인 HS746T 및 MKN1를 이용하여 산소 소비량 (OCR)과 세포외기질 산화도 (ECAR)를 측정하여 도 2에 나타내었다. 보다 구체적으로 상기 세포주를 씨홀스 (Seahorse) 정상 배양 배지에서 70 내지 80 % 컨플루언스로 접종하였고, XF96 또는 XFp 세포 외 플럭스 분석기 (Agilent)를 사용하여 산소 소비량 (OCR, pmol/min/ μ g 단백질)과 세포외기질 산화도 (ECAR, mpH/min/ μ g 단백질)를 분석하여 미토콘드리아 산화 및 해당 작용 수준을 측정하였다. Seahorse XF 미토 스트레스 키트 (Agilent)를 사용하여 10 mM β -HB (Sigma)의 유무에 관계 없이 1 시간 동안 전처리 된 세포의 미토콘드리아 산화 능력을 평가하였다. CCG-232601 처리 시 산화 및 해당 과정의 변화를 해결하기 위해 세포를 대조군 또는 억제제로 밤새 전 처리하고 마지막으로 첫 번째 주입시 10 mM β -하이드록시 부티레이트를 첨가하였다.

[0125] 실험 결과, CCG-232601 처리 시 미토콘드리아 호흡의 지표가 되는 OCR보다 해당 과정 (Glycolysis) ECAR 비율이 더 높은 것으로 확인되었다(도 2 참조).

[0126] 상기 결과를 통해 CCG-232601 화합물의 처리 시 대사 스트레스에 대한 저항성이 대표적 특성인 위암 줄기세포에서 포도당 부족에 대한 민감성을 크게 증가시키는 것으로 확인되었다.

[0128] 실시예 2: CCG-232601 의 투여 시 암 전이 억제 효과 확인

[0129] CCG-232601 처리 유무에 따른 트랜스웰 Transwell 침입 분석 (Invasion assay)을 수행하였다. 침입 능력은 혈청이 없는 배지로 0.67 μ g/ μ l로 희석된 매트릭젤 (matrigel, Corning)으로 코팅한 후 8.0 μ m - pore 폴리 카보네이트 멤브레인 삽입물 (Corning)이 있는 6.5 mm 트랜스웰을 사용하여 측정하였다. 그 후 1 웰 당 세포 2×10^4 개를 비히클이 있는 200 μ l의 무혈청 배지 또는 10 μ g/ml CCG-232601에 현탁하고, 10 % FBS가 포함된 배양 배지 1000 μ l를 하부 챔버에 첨가하였다. 12 시간 후 전이된 세포를 0.2 % 크리스탈 바이올렛으로 염색하고 광학 현미경으로 관찰하였다. 막을 관통하는 평균 세포 수는 무작위로 선택된 3 개의 고출력 필드와 2 개의 독립적인 실험에서 ImageJ (NIH)로 계산하였으며, 그에 따른 결과를 도 3에 나타내었다.

[0130] 실험 결과 MRTFA/SRF 억제제인 CCG-232601의 처리 시 HS746T 및 MKN1 세포주에서의 침습, 전이를 감소시키는 것을 확인하였다.

[0131] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 화합물은 암 세포의 MRTFA/SRF를 억제하여 암 세포의 침윤 및 암 전이를 매우 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있다.

[0133] 실시예 3: MRTF A 억제제의 약물 반응성 개선 효과의 확인(1)

[0134] 위암 세포주인 SNU601과 NCIN87 세포주와 위암 줄기세포와 유사한 특성을 가지는 HS746T 및 MKN1 세포주에 나타나는 시스플라틴 (CDDP) 처리 시 약물 민감성을 측정한 결과를 도 3에 나타내었다. 실험 결과, 상대적으로 암 줄기 유사 세포주인 HS746T 및 MKN1 세포주에서 시스플라틴에 대한 내성이 나타나는 것을 확인하였으며, 암 줄기세포주의 약물 반응성이 암 세포주의 약물 반응성에 비하여 약 20 내지 40 % 정도 낮게 나타나는 것을 확인할 수 있었다(도 4 참조).

[0135] 3-1 CCG-232601의 화합물의 시스플라틴 내성 치료 효과

[0136] 이에, CCG-232601의 화합물의 병용 투여 시 효과를 확인하고자 MKN1 세포주에 CCG-232601과 시스플라틴 (CDDP)의 단독 또는 병용 투여 시 생존 및 성장 억제 효과를 세포생존을 분석 키트 (Cell Counting Kit-8; CCK-8)를 이용하여 확인하고자 하였다. 이를 위한 구체적 실험 과정의 모식도를 도 5에 나타내었다. 단독 투여 시와는 달리 병용 투여 시 효과를 확인하기 위하여 MKN1 세포주에 1 차적으로 CCG-232601 5 μ g/ml을 투여하고 24 시간

경과한 때 2 차적으로 시스플라틴 (CDDP) 5 μ M을 투여하였으며 이로부터 24 시간이 지나 세포생존율 분석 키트 (CCK-8 assay)로 결과를 확인하였다.

[0137] 실험 결과, 본 발명에 따른 CCG-232601의 화합물만을 단독 투여하는 경우가 음성 대조군 및 시스플라틴만을 투여한 군에 비하여 암 줄기세포 특성을 갖는 MKN1 세포주의 세포 생존율이 20 % 감소한 것으로 나타났다. 또한, 시스플라틴만을 단독으로 투여하였을 때 나타난 약물 내성이 CCG-232601의 화합물을 병용하여 처리하자 극복된 것을 확인할 수 있다(도 6 참조).

[0138] 3-2 CCG-232601의 화합물의 옥살리플라틴 내성 치료 효과

[0139] CCG-232601의 화합물의 병용 투여 시 시스플라틴과 동일한 플라틴 계열의 다른 항암제 약물 반응성 개선에도 효과가 나타나는 지를 확인하고자 HS746T 세포주에 CCG-232601과 옥살리플라틴 (oxaliplatin)의 단독 또는 병용 투여 시 생존 및 성장 억제 효과를 세포생존율 분석 키트 (Cell Counting Kit-8; CCK-8)를 이용하여 확인하고자 하였다. 이를 위한 구체적 실험 과정의 모식도를 도 7에 나타내었다. 단독 투여 시와는 달리 병용 투여 시 효과를 확인하기 위하여 HS746T 세포주에 1 차적으로 CCG-232601 5 μ g/ml을 투여하고 24 시간 경과한 때 2 차적으로 옥살리플라틴 24 μ g/ μ l을 투여하였으며 이로부터 24 시간이 지나 세포생존율 분석 키트 (CCK-8 assay)로 결과를 확인하였다.

[0140] 실험 결과, 본 발명에 따른 CCG-232601의 화합물을 단독으로 투여하는 경우, 자체적으로도 암 줄기 유사 세포의 성장을 감소시키는 것으로 나타났으며, 더 나아가 CCG-232601의 화합물을 병용 투여한 경우 옥살리플라틴만을 단독으로 투여하였을 때보다 약 20 % 이상 세포 생존율이 감소하여 약물 반응성이 현저히 개선되는 효과를 확인할 수 있었다(도 7 참조).

[0142] 실시예 4: MRTF A 억제제의 약물 반응성 개선 효과의 확인(2)

[0143] CCG-232601의 화합물을 포함한 다양한 MRTF A 억제제의 병용 투여 시 항암제 내성 치료 효과를 확인 검증하고자 HS746T 세포주에 CCG-232601, CCG-203971 또는 CCG-222740과 시스플라틴 (CDDP)의 단독 또는 병용 투여 시 생존 및 성장 억제 효과를 세포생존율 분석 키트 (Cell Counting Kit-8; CCK-8)를 이용하여 확인하였다. 상기에서와 같은 방식으로 HS746T 세포주에 1 차적으로 CCG-232601, CCG-203971 또는 CCG-222740 5 μ g/ml을 투여하고 24 시간 경과한 때 2 차적으로 시스플라틴 (CDDP) 5 μ M을 투여하였으며 이로부터 24 시간이 지나 세포생존율 분석 키트 (CCK-8 assay)로 결과를 확인하였다.

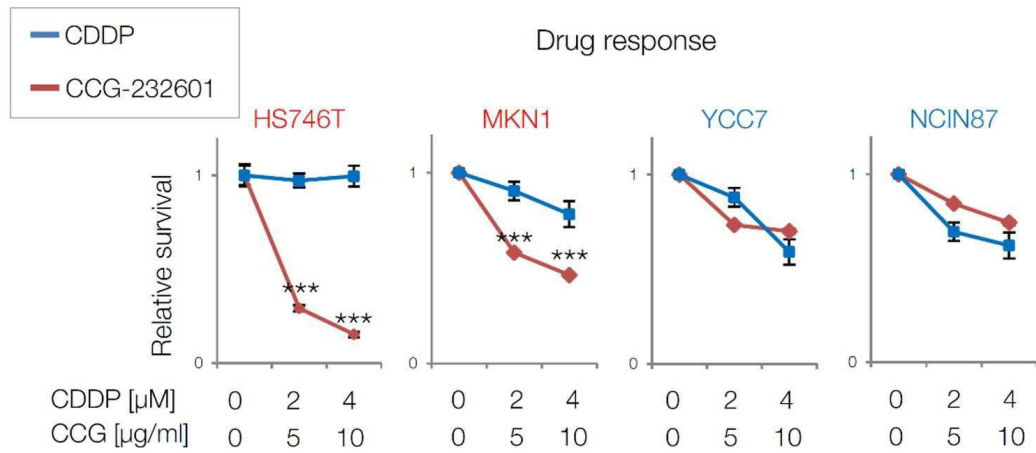
[0144] 실험 결과, 시스플라틴만을 단독으로 투여하였을 때보다 MRTF A 억제제 처리 시 약물 반응성이 MRTF A 억제제 (CCG-232601, CCG-203971 또는 CCG-222740) 모두에서 개선된 것을 확인할 수 있었다(도 8 참조).

[0146] 상기 결과를 종합하면, 본 발명에 따른 MRTF A 억제제는 항암제, 특히는 백금 계열의 항암제의 반응성을 개선시키는 효과가 있어 암 줄기세포의 성장 억제에 시너지 효과를 부여할 수 있을 뿐만 아니라, 백금 계열의 항암제 내성 또한 극복할 수 있음을 알 수 있다.

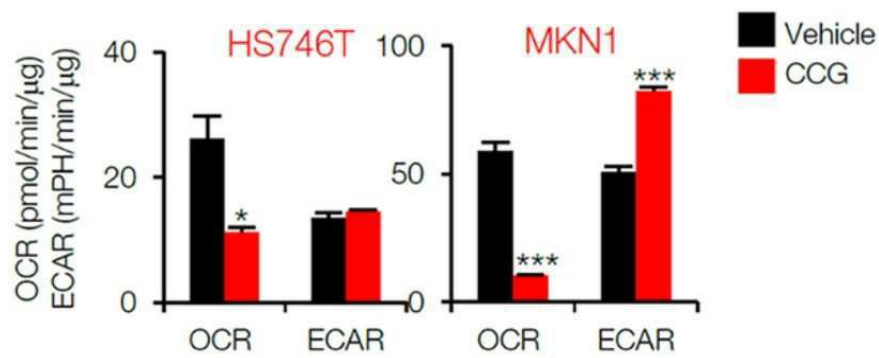
[0148] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

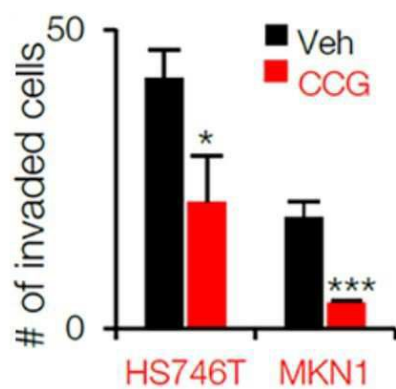
도면1



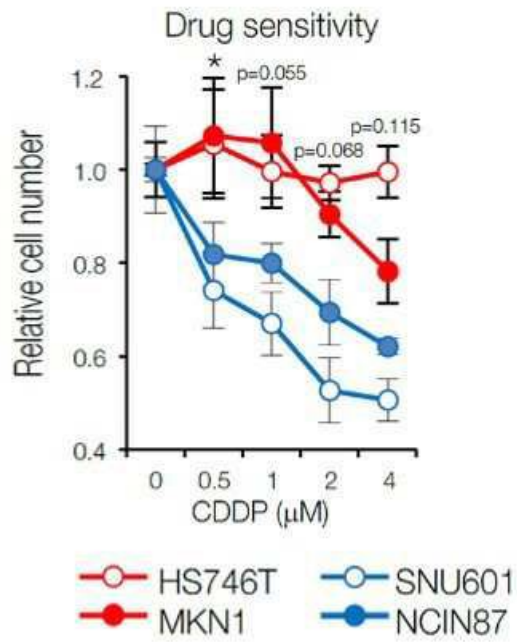
도면2



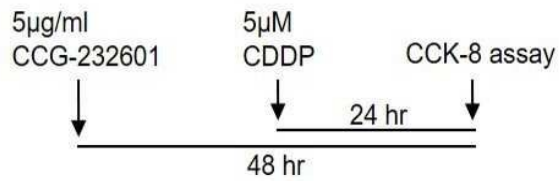
도면3



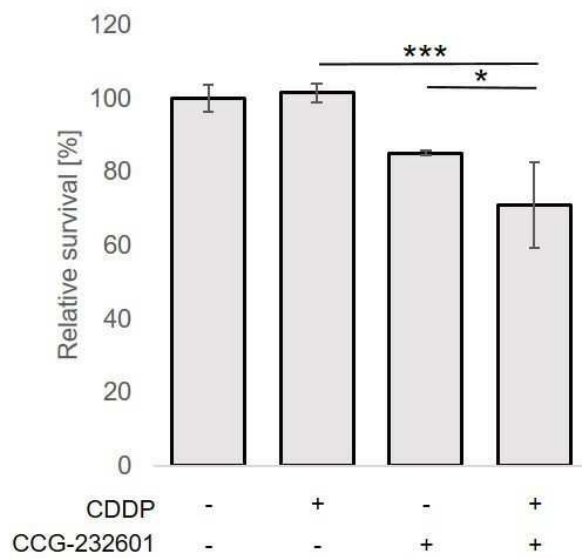
도면4



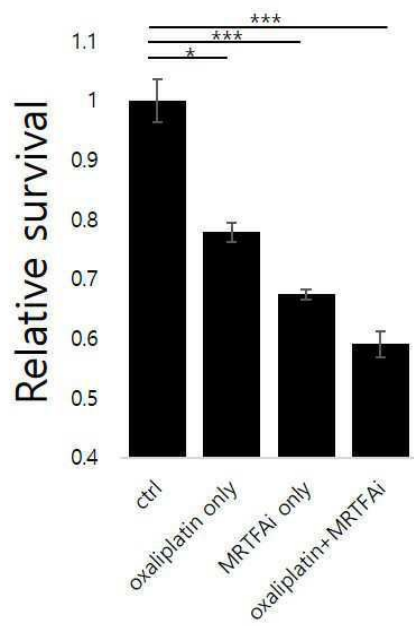
도면5



도면6



도면7



도면8

