

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0007123
(43) 공개일자 2023년01월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4704 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/4704 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
- (21) 출원번호 10-2021-0087976
(22) 출원일자 2021년07월05일
심사청구일자 2021년07월05일
- (71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
- (72) 발명자
서재홍
경기도 과천시 관문로 166, 1018동 303호 (중양동, 주공아파트)
- 남기달
서울특별시 동대문구 고산자로 534, 107동 803호 (제기동, 한신아파트)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 무한

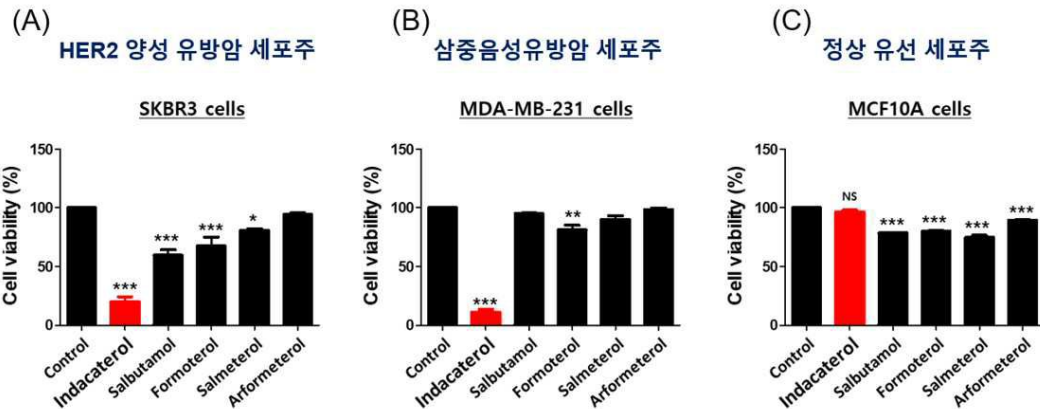
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 인다카테롤을 포함하는 유방암의 치료 또는 예방용 조성물

(57) 요약

본 발명은 인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방, 치료 또는 개선용 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명의 조성물은 정상 세포에 영향 없이 유방암 세포, 특히 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer) 또는 HER2 양성 유방암(HER2-positive breast cancer) 특이적으로 세포 사멸을 유도함으로써 세포 독성을 나타내므로, 유방암의 예방 또는 치료에 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)

(72) 발명자

김지영

서울특별시 구로구 가마산로20라길 28-8, 204호 (구로동)

김윤재

경기도 파주시 한빛로 11, 308동 1502호 (야당동, 한빛마을3단지 자유로아이파크)

박정민

서울특별시 송파구 오금로32길 31, 104동 903호 (송파동, 래미안송파파인탑)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465032772
과제번호	HR20C0021
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	연구중심병원육성R&D
연구과제명	인공지능 기반 차세대 항암신약 개발 및 플랫폼 고도화
기 여 율	1/2
과제수행기관명	고려대학교 구로병원
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711132893
과제번호	2019M3E5D1A01068998
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	혁신형 의사과학자 공동연구 사업
연구과제명	난치성 삼중음성유방암의 신규 표적치료제 상용화를 위한 프로드럭 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2019.07.01 ~ 2023.12.31

명세서

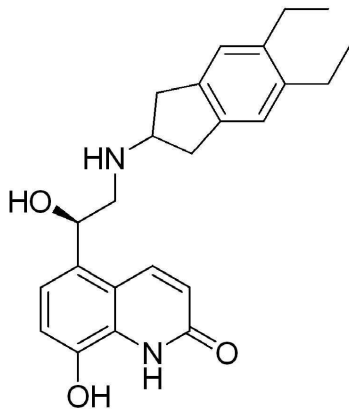
청구범위

청구항 1

인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 치료 용 약학적 조성물로서,

상기 인다카테롤은 하기 [화학식 1]로 표시되는 화합물인 것인, 약학적 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서,

상기 유방암은 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer) 또는 HER2 양성 유방암(HER2-positive breast cancer)인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

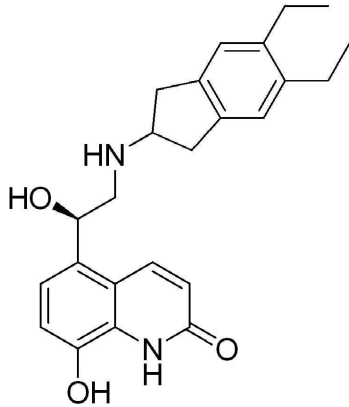
상기 조성물은 유방암 세포 특이적으로 세포 독성을 나타내는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 식품 조성물로서,

상기 인다카테롤은 하기 [화학식 1]로 표시되는 화합물인 것인, 건강기능식품 조성물.

[화학식 1]



청구항 5

제4항에 있어서,

상기 유방암은 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer) 또는 HER2 양성 유방암(HER2-positive breast cancer)인 것을 특징으로 하는, 건강기능식품 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 조성물은 유방암 세포 특이적으로 세포 독성을 나타내는 것을 특징으로 하는, 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 등에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 암은 체내에서 정상 세포보다 빠르게 증식하고 성장하는 세포의 총칭이다. 종양은 정상세포가 단지 빠르게 성장 및 증식하여 크기가 커지면서 덩어리를 형성하는 양성종양과 비정상적으로 변형된 세포가 성장 및/또는 증식하고, 다른 곳으로 전이되는 악성종양으로 구분되며, 흔히 말하는 암은 상기 악성종양을 지칭한다.

[0004] 유방암은 국내 여성 암 1위며, 유방암 발생률은 여성 인구 10만명 당 52.1명으로 아시아 국가 중 1위를 기록하고 있는 만큼 현대인에게 빈번하게 발생할 수 있는 암종이다. 또한, 심사평가원 통계에 따르면 최근 5년간 국내 유방암 환자가 약 4만여명 증가하였으며, 유방암 관련 청구 건수 및 요양급여비용이 2013년 대비 2017년에 각각 123.2%, 151.4% 증가하였는바, 사회경제적 부담이 큰 질병으로 볼 수 있다.

[0006] 유방암은 임상적으로 크게 호르몬 의존성 유방암(luminal 타입), HER2 양성유방암, 삼중음성유방암 등으로 분류할 수 있다.

[0007] 호르몬 의존성 유방암은 호르몬 수용체인 에스트로겐 수용체(estrogen receptor, ER), 프로게스테론 수용체(progesterone receptor, PR)가 양성이고, HER2가 음성인 유방암으로 60~65%를 차지하나, 호르몬 치료법이 존재한다.

- [0008] HER2(인간 표피 성장인자 수용체-2, human epidermal growth factor receptor 2) 양성유방암은 상기 호르몬 수용체는 음성이고, HER2가 양성인 유방암으로 15~20%를 차지한다. 재발률이 높고 예후도 좋지 않으며, 유방암 세포 내의 HER2 유전자 증폭은 환자의 더욱 임상적인 공격적인 반응과 연결되고 높은 사망률과 관련된다. HER2 양성 유방암은 일반적으로 HER2의 하향조절 및 재재화를 유도하고 세포 주기 억제 인자를 상향조절하는 단일클론 항체인, 트라스투주마브(trastuzumab)로 치료된다. 현재 HER2 표적치료제로 알려진 허셉틴, 퍼제타 등은 내성으로 인한 재발 또는 전이가 발생할 위험이 높아, 상기 약물의 내성을 극복하기 위한 치료제가 필요한 실정이다.
- [0009] 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer, TNBC)은 상기 호르몬 수용체 및 HER2가 모두 음성인 유방암으로 10~15%를 차지하며, 호르몬 치료법이나 HER2 표적치료제의 혜택을 받지 못한다. 현재 삼중음성유방암의 표준 치료는 일반적인 세포독성항암제(Taxene계 또는 Anthracycline계)에 전적으로 의존하고 있는 실정이다. 확립된 표적 치료제가 없기 때문에 다른 유방암에 비해 치료 전략이 다양하지 못하다. 더욱 심각한 것은 수술이나 항암 치료 후, 대부분의 환자에서 2~3년 이내에 재발이 나타나고, 폐, 간, 뇌 및 뼈 등의 타 기관으로 전이가 쉽게 유발되어 환자의 생존율 감소에 영향을 미친다.
- [0010] 3기(stage-III)로 진단받은 삼중음성유방암 환자의 5년 이내 생존율(5-years overall survival)은 55 % 이하이며, 이미 암전이가 진행된 환자(advanced-stage)는 5 년 이내 생존율이 30 % 이하로 매우 낮다. 이들 환자의 대부분은 궁극적으로 수년 내에 모두 사망에 이르게 되는 매우 심각한 질병이다.
- [0012] 인다카테롤(indacaterol)은 베타-아드레날린 수용체 작용제(β -adrenergic agonist)로서 만성 폐쇄성 폐질환(chronic obstruction pulmonary disease, COPD)의 치료에 사용되는 경구 또는 흡입용 기관지 확장제이다.
- [0013] 본 발명자들은 인다카테롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 유방암 세포 특이적으로 세포 사멸을 유도한다는 점을 나타낸다는 점을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0015] (특허문헌 0001) KR 10-2181813

발명의 내용

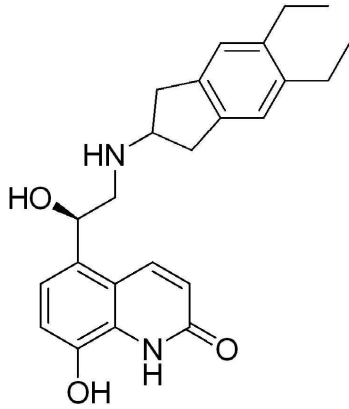
해결하려는 과제

- [0016] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0017] 또한, 본 발명의 다른 목적은 인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0018] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0020] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 인다카테롤은 하기 [화학적식 1]로 표시되는 화합물일 수 있다.

[0022] [화학식 1]



[0023]

[0024] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 유방암은 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer) 또는 HER2 양성유방암(HER2-positive breast cancer)일 수 있다.

[0025] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 조성물은 유방암 세포 특이적으로 세포 독성을 나타내는 것일 수 있다.

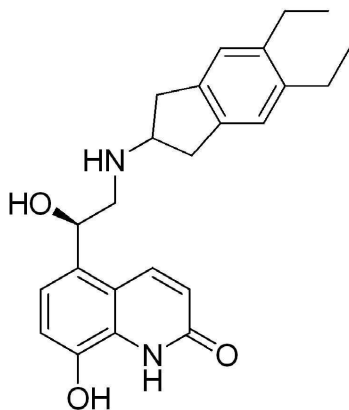
[0027] 또한, 본 발명은 인다가테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 유방암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0028] 또한, 본 발명은 유방암의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 인다가테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

[0030] 또한, 본 발명은 인다가테롤(indacaterol) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0031] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 인다가테롤은 하기 [화학식 1]로 표시되는 화합물일 수 있다.

[0032] [화학식 1]



[0033]

[0034] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 유방암은 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer) 또는 HER2 양성유방암(HER2-positive breast cancer)일 수 있다.

[0035] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 조성물은 유방암 세포 특이적으로 세포 독성을 나타내는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0037] 본 발명은 인다가테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방, 치료 또는 개선용 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명의 조성물은 정상 세포에 영향 없이 유방암 세포,

특히 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer) 또는 HER2 양성유방암(HER2-positive breast cancer) 특이적으로 세포 사멸을 유도함으로써 세포 독성을 나타내므로, 유방암의 예방 또는 치료에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0039] 도 1은 (A) HER2 양성유방암 세포주인 SKBR3 세포주, (B) 삼중음성유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포주, 및 (C) 정상 유선 상피세포주인 MCF10A 세포주에서 인다카테롤 및 이의 유사체를 처리한 후 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 (A) 삼중음성유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포주와 BT549 세포주, 및 (B) 비소세포성 폐암 세포주인 A549 세포주와 H1299 세포주에 인다카테롤을 처리한 후, 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 (A) 삼중음성유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포주, 및 (B) 인간 혈액암 세포주인 HL-60 세포주에 인다카테롤을 처리한 후, 항암 활성을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 삼중음성유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포주에서 세포사멸 유도를 확인하기 위해 (A) 인다카테롤에 의한 세포의 형태학적 변화 및 세포사멸(apoptosis) 유도 여부를 조사하고, (B) 초기 및 후기 세포사멸의 비율을 유세포 측정기를 이용해 정량화하고, (C) 세포사멸 관련인자 caspase-3와 caspase-7의 활성화 및 DNA 회복인자 PARP의 분절화 여부를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 본 발명자들은 인다카테롤(indacaterol)에 대해 연구한 결과, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 식품학적으로 허용가능한 염의 항암 활성을 확인하여 본 발명을 완성하였다. 보다 구체적으로, 상기 인다카테롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 식품학적으로 허용가능한 염은 정상 세포에 영향 없이 유방암 세포 특이적으로 세포 사멸을 유도함으로써 세포 독성을 나타낸다는 점을 확인하였다.

[0041] 이에, 본 발명은 인다카테롤(indacaterol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0043] 본 발명에서, 용어, “약학적으로 허용 가능한 염”은 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는 화합물의 제형을 의미한다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 본 발명의 화합물을 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 술폰산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 카프릭산, 이소부탄산, 말론산, 석신산, 프탈산, 클루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카본산과 반응시켜 얻어질 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물을 염기와 반응시켜, 암모니움 염, 나트륨 염 또는 칼륨 염 등의 알칼리 금속염, 칼슘 또는 마그네슘 염 등의 알칼리 토금속염 등의 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸) 메틸아민 등의 유기염기들의 염 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 형성함으로써 얻어질 수도 있다.

[0044] 또한, 상기 인다카테롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함할 수 있다.

[0045] 본 발명에서, "유효성분으로 포함"은 원하는 생물학적 효과를 실현하는데 필요하거나 또는 충분한 양으로 해당 성분이 포함되는 것을 의미한다 실제 적용에 있어서 유효 성분으로 포함되는 양의 결정은 대상 질병을 치료하기 위한 양으로서, 다른 독성을 야기하지 않는 사항을 고려해서 결정될 수 있으며, 예를 들어 치료되는 질병 또는 병태, 투여되는 조성물의 형태, 피험체의 크기, 또는 질병 또는 병태의 심각도 등과 같은 다양한 인자에 따라서 변화될 수 있다. 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 기술을 지닌 기술자라면 과도한 실험을 동반하지 않고 개별적 조성물의 유효량을 경험적으로 결정할 수 있다.

[0047] 본 발명에서 용어, "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 유방암의 발생, 확산 또는 재발을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 유방암의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, "개선"은 본 발명의 조성물의 투여로 유방암의 증상의 중증도를 감소시키는 모든 행위

를 의미한다.

- [0048] 본 발명에서 용어, "약학적 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0049] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은, 각각의 제형에 따라 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함할 수 있다.
- [0050] 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 하나 이상의 혼합물일 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수도 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수도 있다. 더 나아가, 당분야의 적절한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Science (Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수도 있다.
- [0051] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 약학적으로 유효한 양으로 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 본 발명의 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0052] 본 발명에서 용어, "개체"는 유방암의 예방 또는 치료가 필요한 가축, 인간 등의 포유류라면 제한되지 아니하나, 바람직하게는 인간일 수 있다.
- [0053] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에 투여를 위한 다양한 형태로 제형화 될 수 있으며, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제형으로 등장성 수용액 또는 현탁액이 바람직하다. 주사용 제형은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 예를 들면, 각 성분을 식염수 또는 완충액에 용해시켜 주사용으로 제형화 될 수 있다. 또한, 경구 투여용 제형으로는 예를들면 섭취형 정제, 협측 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭시르, 서스펜션, 시럽 및 웨이퍼 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신)와 활탁제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 포함할 수 있다. 상기 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 포함할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제 및/또는 감미제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0054] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 방부제, 수화제, 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 또는 완충제와 같은 보조제와 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 포함할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 제제화 될 수 있다.
- [0055] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있으며, 활성 성분의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 중증도 등의 여러 인자에 따라 적절히 선택될 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 목적하는 효과를 상승시킬 수 있는 공지의 화합물과도 병행하여 투여할 수 있다.
- [0056] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 경로로는 경구적으로 또는 정맥 내, 피하, 비강 내 또는 복강 내 등과 같은 비경구적으로 사람과 동물에게 투여될 수 있다. 경구 투여는 설하 적용도 포함한다. 비경구적 투여는 피하주사, 근육 내 주사 및 정맥 주사와 같은 주사법 및 점적법을 포함한다.
- [0057] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 본 발명에 따른 인다카테롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)이 장기간 투여되는 분할 치료 방법 (fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있으나, 통상적으로 성인을 기준으로 1회 투여시 100 μ g 내지 3,000 mg의 유효용량으로 하루에 수차례 반복 투여될 수 있다. 그러나 상기 인다카테롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 농도는 약의 투여 경로 및 치료 횟수뿐 만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환

의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정될 수 있다.

[0058] 또한, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지는 않으며, 본 발명의 약학적 조성물은 유효성분으로서 상기 인다카테롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 이외에 공지된 항암제를 추가로 포함할 수 있고, 이들 질환의 치료를 위해 공지된 다른 치료와 병용될 수 있다.

[0059] 상기 항암제는 기존에 사용되고 있는 임의의 약물이거나 어느 것이나 사용 가능하다. 예를 들어, 머스타드 가스 유도체류(메클로레타민, 시클로포스파미드, 클로람부실, 멜팔란, 및 이포스파미드 등), 에틸렌이민류(티오테파 및 헥사메틸멜라민), 아킬알킬술포네이트류(부술포), 히드라진류 및 트리아진류(알트레타민, 프로카르바진, 다카르바진 및 테모졸로마이드), 니트로스유레아류(카르뮤스틴, 로뮤스틴 및 스트렙토조신 등), 금속염류(카르보플라틴, 시스플라틴 및 옥살리플라틴), 빈카 알칼로이드류(빈크리스틴, 빈블라스틴 및 빈오렐빈), 타산류(파클리탁셀 및 도세탁셀), 포도필로톡신류(에토포시드 및 테니소피드), 캄프토테칸 유사체류(이리노테칸 및 토포테칸), 안트라시클린류(독소루비신, 다우노루비신, 에피루비신, 미톡산트론 및 이다루비신), 크로모마이신류(닥티노마이신 및 플리카마이신), 항종양 항생제류(미토마이신 및 블레오마이신 등), 염산 길항제류(메토트렉세이트), 피리미딘 길항제류(5-플루오로우라실, 폭수리딘, 시타라빈, 카페시타빈 및 챔시타빈), 퓨린 길항제류(6-메르캅토퓨린 및 6-티오구아닌), 아데노신 디아미나제 억제제류(클라드리빈, 플루다라빈, 벨라라빈 및 펜토스타틴), 토포이소머라제 I 억제제류(이리노테칸 및 토포테칸), 토포이소머라제 II 억제제류(암사크린, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트 및 테니포시드), 리보뉴클레오티드 환원효소 억제제류(히드록시유레아), 아드레노코르티칼 스테로이드 억제제류(미토탄), 효소류(아스파라기나제 및 페가스파르가제), 항미소관제류(에스트라뮤스틴) 및 레티노이드류(백사로텐, 이소트레티노인 및 트레티노인(ATRA))로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상을 사용할 수 있으나, 이로 제한되는 것은 아니다.

[0061] 한편, 본 발명은 인다카테롤 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물로 이용될 수 있다.

[0062] 본 발명에서 용어, “건강기능식품 조성물”은 상기 인다카테롤 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다.

[0063] 상기 건강기능식품 조성물은 육류, 곡류, 카페인 음료, 일반음료, 초콜렛, 빵류, 스낵류, 과자류, 피자, 젤리, 면류, 껌류, 아이스크림류, 알코올성 음료, 술, 비타민 복합제 및 그 밖의 건강보조식품류 중 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0065] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

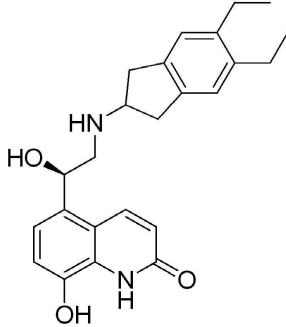
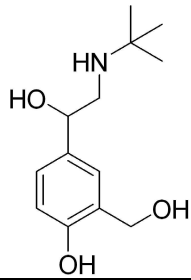
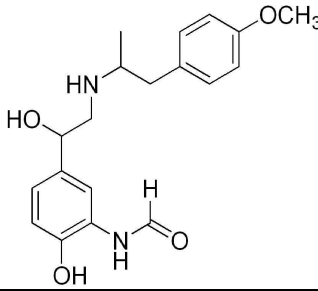
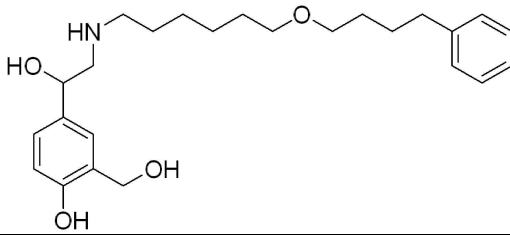
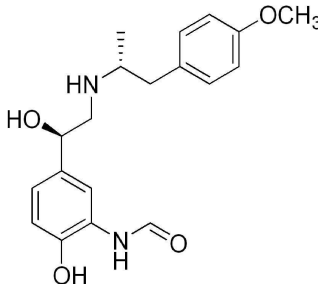
[0067] 실시예 1 : 인다카테롤 및 이의 유사체의 세포생존율 억제 효능 확인

[0068] HER2 양성유방암(HER2-positive breast cancer) 세포주인 SKBR3 세포주, 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer, TNBC) 세포주인 MDA-MB-231 세포주, 및 정상 유선 상피세포주(normal human mammary gland epithelial cells)인 MCF10A 세포주를 실험에 사용하였다.

[0069] 상기 세포주에서 본 발명의 실시예인 인다카테롤 외에 비교예로서 이의 유사체인 살부타몰(salbutamol), 포모테롤(formoterol), 살메테롤(salmeterol), 및 알포모테롤(arformoterol)을 처리한 후(표 1), MTS assay 기법으로 세포생존율을 측정하였다. MTS assay는 96 well plate에 24 시간 동안 세포를 부착시킨 후, 상기 유사체들을 20 μ M의 농도로 72 시간 동안 처리하여, MTS(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium)로 4 시간 동안 발색한 뒤, Spectramax Plus384 microplate analyzer를 이용하여

490 nm에서 흡광도로 측정하였다.

표 1

[0070] 실시예	인다카테롤(indacaterol)	
비교예	살부타몰(salbutamol)	
	포모테롤(formoterol)	
	살메테롤(salmeterol)	
	알포모테롤(arformoterol)	

[0072] 그 결과 상기 유방암 세포주에서 인다카테롤만 유일하게 세포 생존율을 감소시켰으며, 특히 삼중음성유방암 세포주(MDA-MB-231)에서는 세포 생존율을 21%까지 감소시켰다. 반면, 살부타몰(salbutamol), 포모테롤(formoterol), 살메테롤(salmeterol), 및 알포모테롤(arformoterol)은 세포 생존율을 크게 저해하지 못하였다.

[0073] 한편, 정상 유선 상피세포주(MCF10A)에서 인다카테롤은 대조군과 거의 유사한 세포 생존율을 나타내는 바, 정상 세포에는 독성을 미치지 않으면서 유방암 세포주에 특이적으로 세포 독성을 나타낸다는 점을 확인하였다(도 1).

[0075] **실시예 2 : 삼중음성유방암 및 폐암에서 인다카테롤의 항암활성 효능 비교**

[0076] 삼중음성유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포주와 BT549 세포주, 및 비소세포성 폐암 세포주(non-small cell lung cancer, NSCLC)인 A549 세포주와 H1299 세포주를 실험에 사용하였다.

[0077] 상기 세포주에서 인다카테롤을 농도별(0, 10, 15, 20 μ M)로 72 시간 동안 처리한 후, 상술한 MTS assay 기법으로 세포생존율을 측정하였다.

[0078] 그 결과 삼중음성유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포주에서는 반수저해농도(50% inhibitory concentration, IC^{50})가 9.538 μ M, BT549 세포주에서는 IC^{50} 값이 15.19 μ M이었으나, 비소세포성 폐암 세포주인 A549 세포주에서는 IC^{50} 값이 34.68 μ M, H1299 세포주에서는 IC^{50} 값이 31.00 μ M으로 2배 이상 높게 나타났다.

[0079] 환언하면, 인다카테롤이 삼중음성유방암에서 보다 효과적으로 세포생존율을 억제시킨다는 점을 확인하였다(도 2).

[0081] **실시예 3 : 삼중음성유방암 및 혈액암에서 인다카테롤의 항암활성 효능 비교**

[0082] 삼중음성유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포주, 및 인간 혈액암 세포주인 HL-60 세포주를 실험에 사용하였다. 상기 세포주에서 인다카테롤이 유도하는 세포사멸(apoptosis)을 비교하기 위해, 유세포 측정기(Flow cytometry)를 이용하여 DNA 함량분석을 수행하였다.

[0083] 인다카테롤을 15 μ M으로 72 시간 동안 처리한 후, 24시간 동안 0.5% Tween-20을 포함하는 95% 에탄올로 고정하고, 30분 동안 propidium iodide (PI, 50 μ g/ml)과 RNase (50 μ g/ml)를 포함하는 완충용액에 염색하였다. 유세포 측정기로 DNA 함량에 따른 세포주기(cell cycle)를 분석하였다.

[0084] 세포사멸이 유도되면 DNA의 절편현상 (DNA fragmentation)을 동반하여, 세포내 DNA 함량이 현저히 낮아져 세포주기에서 Sub-G1 분포가 증가하게 되는데, 인다카테롤에 의한 Sub-G1 분포의 증가 수치를 분석하여 정량화하였다.

[0085] 그 결과, 인다카테롤은 삼중음성유방암 세포주(79.1)에서 혈액암 세포주(3.7)에 비해 효과적으로 세포사멸(Sub-G1 축적)을 유도한다는 점을 확인하였다(도 3).

[0087] **실시예 4 : 삼중음성유방암에서 인다카테롤의 세포사멸 유도 증명**

[0088] 삼중음성유방암에서 인다카테롤에 의한 세포사멸 유도를 증명하기 위해, Annexin V를 이용한 세포사멸 분석 및 세포사멸 관련 단백질의 발현 양상을 조사하였다.

[0089] MDA-MB-231 세포주에 인다카테롤을 15, 20 μ M로 72 시간동안 처리 후, 세포사멸 여부를 위상차 현미경을 이용하여 세포의 형태학적 변화를 관찰하였다. 세포사멸 비율을 결정하기 위해, 상기 인다카테롤이 처리된 세포를 수확하고 annexin-V-FITC (10 μ g/ml) 및 PI (50 μ g/ml)로 이중 염색하였다. 세포의 생존, 괴사(necrosis), 초기 세포사멸 (early apoptosis) 및 후기 세포사멸(late apoptosis)의 비율은 유세포 측정기(Flow cytometry)에 의해 정량화되었다. 세포사멸 기작을 조사하기 위해, 세포사멸 관련인자 caspase-3와 caspase-7의 활성화 및 DNA 회복 인자 PARP[Poly (ADP-ribose) polymerase]의 절편화를 western blotting 기법으로 확인하였다.

[0090] 그 결과, MDA-MB-231 세포주에서 인다카테롤에 의해 세포질이 수축되었으며, 대부분의 세포가 부유한 상태로 전형적인 세포사멸의 형태 변화가 관찰되었다. 또한, 초기 및 후기 세포사멸이 인다카테롤 농도의존적으로 증가되므로, 인다카테롤이 삼중음성유방암 세포의 초기 및 후기 세포사멸을 유도하며, 이는 caspase-3 및 -7의 활성화 및 PARP 절단을 동반한 결과라는 점을 확인하였다(도 4).

[0092] **제조예 1 : 건강기능식품의 제조**

[0093] 인다카테롤을 포함하는 본 발명의 건강기능식품 조성물의 제조예를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0094]

인다가테롤	100 mg
비타민 혼합물	적량
비타민 A 아세테이트	70 μ g
비타민 E	1.0 mg
비타민 B1	0.13 mg
비타민 B2	0.15 mg
비타민 B6	0.5 mg
비타민 B12	0.2 μ g
비타민 C	10 mg
비오틴	10 μ g
니코틴산아미드	1.7 mg
엽산	50 μ g
판토텐산 칼슘	0.5 mg
무기질 혼합물	적량
황산제1철	1.75 mg
산화아연	0.82 mg
탄산마그네슘	25.3 mg
제1인산칼륨	15 mg
제2인산칼슘	55 mg
구연산칼륨	90 mg
탄산칼슘	100 mg
엽화마그네슘	24.8 mg

[0096]

상기의 조성비는 비교적 건강기능성 식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능성 식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능성 식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0098]

제조예 2 : 건강음료의 제조

[0099]

인다가테롤을 포함하는 본 발명의 건강기능식품 조성물의 제조예를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0100]

인다가테롤	100 mg
구연산	100 mg
올리고당	10 g
매실농축액	0.2 g
타우린	0.1 g
정제수	적량

[0101]

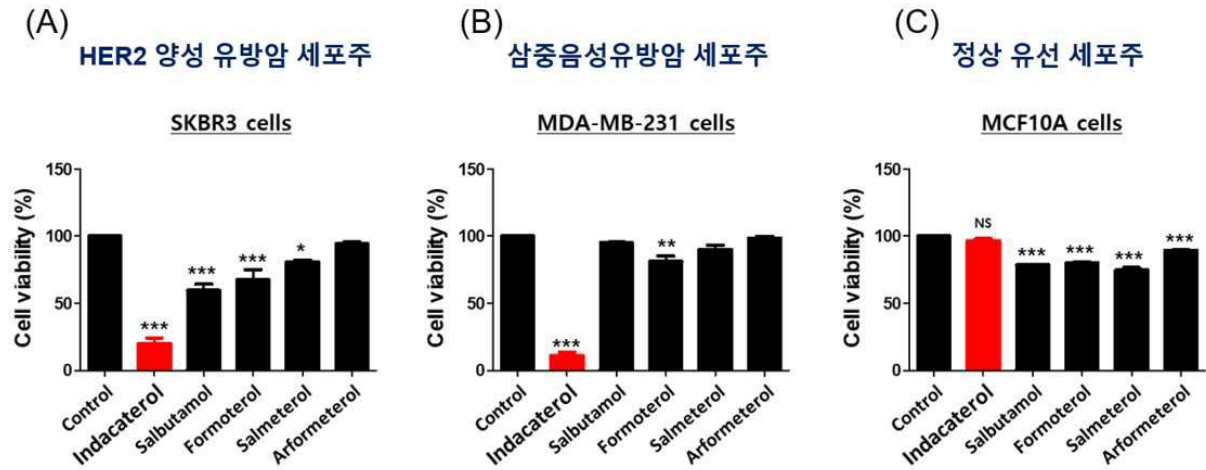
통상의 건강 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하여 제조할 수 있다. 상기의 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0103]

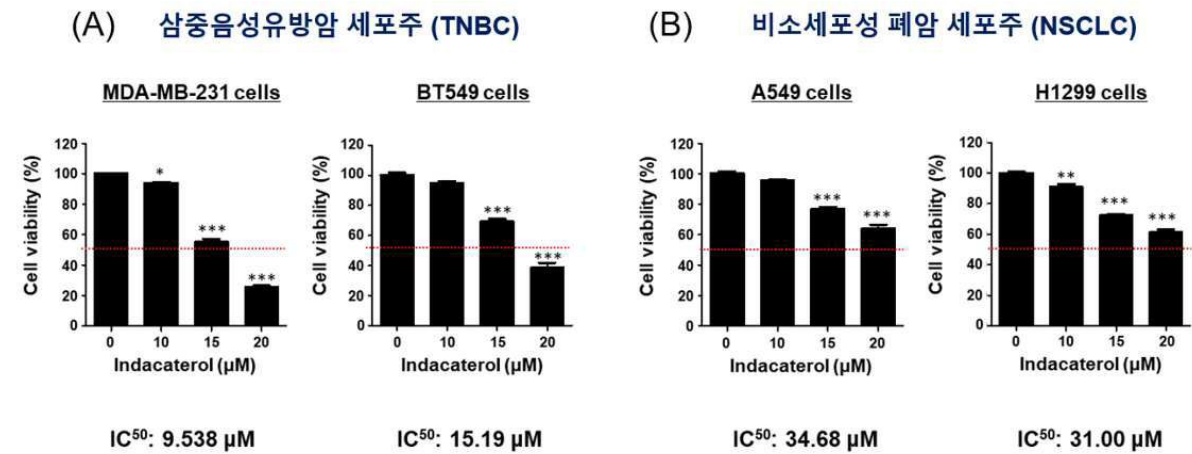
이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1

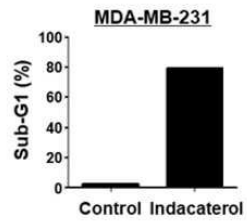
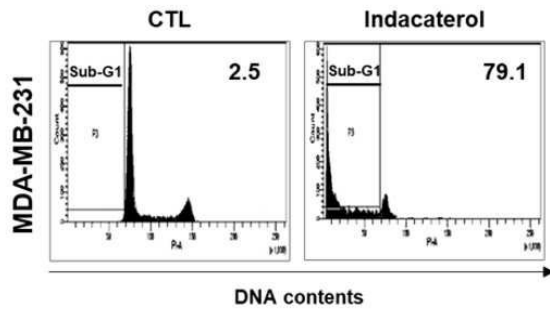


도면2

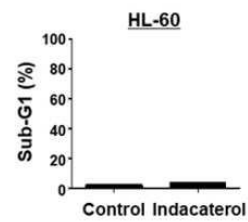
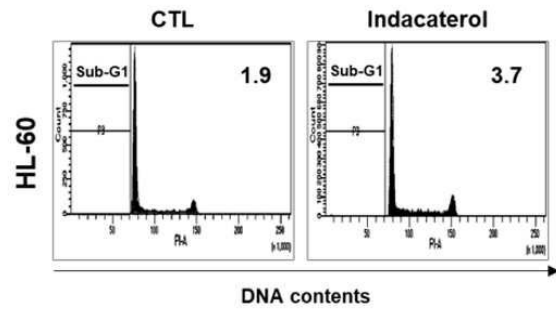


도면3

(A) 삼중음성유방암 세포주



(B) 인간 혈액암 세포주



도면4

