



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0051179
(43) 공개일자 2011년05월17일

(51) Int. Cl.

A61K 31/352 (2006.01) A61K 31/35 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7000057

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년06월04일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년01월03일

(86) 국제출원번호 PCT/GB2009/050621

(87) 국제공개번호 WO 2009/147439

국제공개일자 2009년12월10일

(30) 우선권주장

0810195.8 2008년06월04일 영국(GB)

(71) 출원인

지더블유 파마 리미티드

영국 월트셔 에스퍼4 0제이큐 솔즈베리 포턴 다운 사이언스 파크

오쓰카 세이야꾸 가부시키키가이샤

일본 도쿄도 지요다꾸 간다-쓰까사마치 2-9

(72) 발명자

벨라스코 디아즈, 길레르모

스페인, 마드리드 이-28040, 파쿠르타드 데 시엔 시아스 끼미카스, 데파르타멘토 데 비오키미카 이 비오로지아 모레큐라르 아이, 유니베르시다드 콤 뽀루텐세 데 마드리드

구즈만 파스토르, 마누엘

스페인, 마드리드 이-28040, 파쿠르타드 데 시엔 시아스 끼미카스, 데파르타멘토 데 비오키미카 이 비오로지아 모레큐라르 아이, 유니베르시다드 콤 뽀루텐세 데 마드리드

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

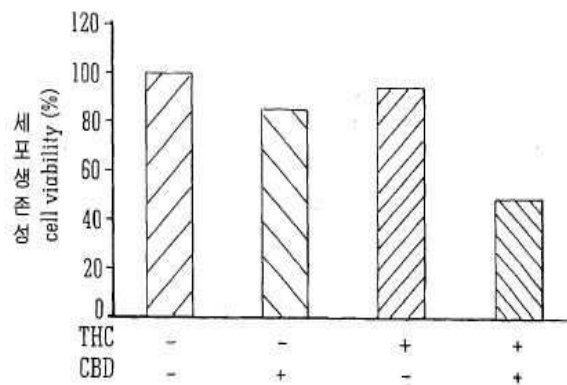
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 카나비노이드 병용 제제의 항종양 효능

(57) 요약

본 발명은 암 치료를 위한 의약 제조에 있어 카나비노이드 병용 제제의 용도에 대한 것이다. 치료되는 암으로는 바람직하게 뇌암, 더욱 바람직하게는 신경교종(glioma)이며, 가장 바람직하게는 교모세포종(glioblastoma multiforme, GBM)이고, 상기 바람직한 카나비노이드 병용 제제는 테트라하이드로카나비놀(THC) 및 카나비다이올(CBD)로 구성된다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

로렌테, 마르

스페인, 마드리드 이-28040, 파쿠르타드 데 시엔시아스 끼미카스, 데파르타멘토 데 비오키미카 이 비오로지아 모레큐라르 아이, 유니베르시다드 콤뽀루텐세 데 마드리드

토레스, 로피아

스페인, 마드리드 이-28040, 파쿠르타드 데 시엔시아스 끼미카스, 데파르타멘토 데 비오키미카 이 비오로지아 모레큐라르 아이, 유니베르시다드 콤뽀루텐세 데 마드리드

로드리게스, 파티마

스페인, 마드리드 이-28040, 파쿠르타드 데 시엔시아스 끼미카스, 데파르타멘토 데 비오키미카 이 비오로지아 모레큐라르 아이, 유니베르시다드 콤뽀루텐세 데 마드리드

특허청구의 범위

청구항 1

암 치료에 사용하기 위한 의약 제조에 있어서, 카나비노이드 병용 제제의 용도.

청구항 2

제1항에 있어서, 적어도 테트라하이드로카나비놀(THC) 및 카나비다이올(CBD)을 포함하는 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 THC와 CBD는 20 : 1 내지 1 : 20 (THC : CBD)사이의 비인 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 THC와 CBD는 약 1 : 1의 비율인 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 5

선행 청구항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카나비노이드의 함량은 존재하는 총 카나비노이드의 5 - 100 mg 사 이인 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 6

선행 청구항 중 어느 한 항에 있어서, 각 카나비노이드는 단독으로 사용될 경우 차선으로 고려되는 수준에서 사 용되는 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 7

선행 청구항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료되는 암은 뇌 종양인 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제 제의 용도.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 뇌 종양은 신경교종 종양인 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 뇌 종양은 교모세포종(GBM)인 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 1 이상의 카나비노이드는 식물 추출물, 순수 화합물 또는 둘의 병용 제제로 존재하는 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 식물 추출물은 식물성 의약 물질 형태인 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

청구항 12

선행 청구항 중 어느 한 항에 있어서, 1 이상의 카나비노이드는 서로 별개로, 순차적으로 또는 동시에 투여되는 것을 특징으로 하는 카나비노이드 병용제제의 용도.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 암 치료를 위한 의약 제조에 있어 카나비노이드 병용 제제의 용도에 대한 것이다.

배경기술

[0002] 암은 세포 군이 비제어 성장 특성을 나타내는 질병이다. 이는 세포가 정상 수준(normal limits)을 벗어나 성장하고 분열하는 것이다. 또한, 세포는 주변 조직을 침입하거나 파괴할 수 있다. 나아가, 암세포는 종종 혈액 또는 림프를 통해 체내 다른 부분으로 확산되는 전이를 한다.

[0003] 대부분의 암은 세포 유전 물질의 이상(abnormality)에 의해 유발된다. 이러한 이상은 발암물질의 영향에 의한 것이다. 그 외 암을 촉진시키는 유전적 이상은 DNA 복제 오류(error)를 통해서 무작위로 습득될 수 있거나, 또는 유전되어 태어날 때부터 모든 세포에 존재하게 된다.

[0004] 암에서 발견되는 유전적 이상은 통상 두 개의 일반적 유전자 부류에 영향을 준다. 암 촉진 종양유전자는 보통 암세포에서 활성화되며, 상기 세포에 과잉의 활동적 성장 및 분열, 프로그램된 세포사멸에 대한 방어, 정상 조직 경계에 대한 고려(중요성), 다양한 조직 환경에서 설정되는 가능성과 같은 새로운 특성을 부여한다.

[0005] 정확한 DNA 복제, 세포 주기 제어, 조직에서의 배향 및 부착, 및 면역 시스템 보호세포와의 상호작용과 같은 암 세포에서 정상 기능이 상실된 결과, 종양 억제 유전자는 종종 암세포에서 불활성화 된다.

[0006] 암에는 매우 다양한 종류가 있고, 일반적으로 발원되는 조직의 종류에 따라 분류된다.

[0007] 암은 일반적으로 하기의 하나 이상의 방법으로 치료된다 : 수술, 화학 요법, 방사선 치료, 면역 치료 및 단일 클론 항체 치료. 치료 방법은 종양의 위치 및 정도와 질병 단계에 따른다.

[0008] 몸의 다른 부분에 손상을 입히지 않고 암을 완벽하게 제거하는 것은 치료방법의 목표이다. 가끔 이는 수술로서 이를 수 있지만, 미세한 전이에 의해서 암의 인접 조직으로의 침입 또는 다른 위치로 전이되는 경향은 수술의 유효성을 제한한다. 화학 요법의 유효성은 몸 속 다른 조직에 대한 독성 때문에 흔히 제한된다. 또한, 방사선은 정상 조직을 손상시킬 수 있다.

- [0009] 하기의 암을 포함하는 대부분의 일반적인 암은, 몸속의 많은 부분에 영향을 주는 것으로 알려져 있다 : 담관암(cancer of the bile duct), 방광암(cancer of the bladder), 뼈암(cancer of the bone), 장암(cancer of the bowel) (대장암(cancer of the colon) 및 직장암(cancer of the rectum) 포함), 뇌암(cancer of the brain), 유방암(cancer of the breast), 신경 내분비계 암(cancer of the neuroendocrine system)(유암종(carcinoid)으로 알려짐), 자궁경부암(cancer of the cervix), 안암(cancer of the eye), 식도암(cancer of the oesophagus), 두경부암(cancer of the head) (혀를 보호하는 표층, 입, 코, 목구멍 또는 귀의 내측을 형성하는 세포에서 기원하는 암종(carcinomas) 포함), 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 신장암(cancer of the kidney), 후두암(cancer of the larynx), 백혈병(leukaemia), 간암(cancer of the liver), 폐암(cancer of the lung), 림프절암(cancer of the lymph nodes), 호지킨 림프종(Hodgkin's lymphoma), 비호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma), 흑색종(melanoma), 중피종(mesothelioma), 골수종(myeloma), 난소암(cancer of the ovary), 췌장암(cancer of the pancreas), 음경암(cancer of the penis), 전립선암(cancer of the prostate), 피부암(skin cancer), 연부 조직 육종(soft tissue sarcomas), 척수암(cancer of the spinal cord), 위암(cancer of the stomach), 고환암(testicular cancer), 갑상선암(cancer of the thyroid), 질암(cancer of the vagina), 외음암(cancer of the vulva) 및 자궁암(cancer of the uterus).
- [0010] 뇌에서 발생하는 종양은 염증 유발, 뇌의 다른 부분 압박, 뇌 부종(뇌 팽창) 유발을 통해 뇌세포를 파괴하거나 손상을 줄 수 있고, 두뇌 압력 상승(두개골 내의 압력)을 유발할 수 있다.
- [0011] 매년, 영국의 약 4300명이 뇌암을 진단받는다. 1차 뇌 종양은 뇌 세포의 성장 또는 비제어 증식에 의해 생성되는 덩어리이다. 악성 1차 뇌 종양은 대부분 이를 둘러싸고 있는 정상 뇌 조직 내로의 확산 및 압력의 유발에 의한 문제가 있고 뇌 주변에 손상을 입힌다. 이러한 종양은 뇌 바깥부분인 몸의 다른 부분으로 거의 퍼지지 않는다. 그러나, 폐 또는 유방과 같은 몸의 다른 부분의 암 세포가 뇌로 퍼지는 경우 2차 뇌 종양이 발생한다.
- [0012] 수술은 많은 뇌 종양을 위해 선택할 수 있는 치료 방법이다. 일부는 완전히 제거될 수 있으나, 심부 또는 뇌 조직에 침윤한 뇌종양은 완전히 제거되기보다는 부분절제(debulked) 된다.
- [0013] 관련된 종양 타입에 따라 방사선 치료와 화학요법이 권장될 수 있다.
- [0014] 신경교종(glioma) 세포 종양은 보통 치명적일 수 있다. 신경교종(glioma) 특유의 미만성 침윤성 종양(diffuse infiltrative tumour) 성장은 보통 그들의 외과적 제거를 불가능하게 하고, 이는 환자의 임상적 관리를 매우 복잡하게 한다.
- [0015] 교모세포종(glioblastoma multiforme, GBM)은 가장 일반적이고 가장 공격적인 타입의 1차 뇌 종양이고, 모든 1차 뇌 종양의 52% 및 모든 두개 내 종양의 20%를 차지한다.
- [0016] 신경교종(glioma) 진단 환자의 사망률을 개선시키기 위해서 다른 접근이 연구되었다. 이는 신경교종 세포는 타겟으로 하지만 정상 세포는 손상시키지 않는 치료법, 암 세포의 확산 제한하는 방법 및 종양 수명 유지 분자(tumour life-sustaining molecules)를 차단하는 치료법을 포함한다.
- [0017] 상기 연구의 한 방법으로서 항 종양성 물질로 카나비노이드를 사용하는 것을 포함한다.

- [0018] 카나비노이드는 카나비스 식물의 활성 성분이고, 많은 약리학적 성질이 증명되었다.
- [0019] 예를 들어, 유럽 등록 특허 제1177790호(Guzman et al.)에는 천연 또는 합성 카나비노이드, 바람직하게는 THF를 투여하여 뇌종양을 치료하는 것에 대해 기재되어 있다. 특정 수용체의 활성화는 형질전환된 세포의 선택적인 사멸을 유도한다고 기재되어 있다.
- [0020] 최근 카나비노이드 CBD의 항 종양 성질이 보고되었다 (Massi et al. 2004) . 상기 문헌에는 U87 및 U373 인간 신경교종(glioma) 세포주를 이용하여 생체 외에서 및 누드마우스에 피하 이식시킨 U87 인간 신경교종 세포를 이용하여 세포 내에서 모두 항 증식 효과가 있음을 기재하고 있다.
- [0021] 악성 신경교종(glioma)은 특유의 성장 패턴을 따르는 높은 침윤성 및 증식성 종양이다. 신경교종 세포는 인접한 정상 뇌 조직 및 주변의 넓은 혈관에 침투한다.
- [0022] 또한, 본 출원인의 이전 유럽 등록특허 제1802274호에는 1차 종양 위치로부터 2차 위치로 전이되는 암 세포 성장을 지연시키기 위한 카나비노이드 CBD의 용도를 기재하였다.
- [0023] 나아가, Medical hypothesis(2006, vol 66, p.234- 246)에는 THC 및 CBD의 생리적 효과 및 임상효과를 논의하고, 그들의 병용 이유가 제시된다. “신생물성 질환(neoplastic disease, p.242)”에 의하면 THC는 세포독성 효과가 있고, CBD는 세포증식 억제/세포독성이 있음이 인정된다. 암 치료에 있어 CBD : THC 조합의 진통 효과, 구토를 유발시키는 화학 요법에 있어서 THC 및 CBD의 부수 효과, 및 종양 성장 및 확산에 대한 주요 효과를 고려하면, 추가적인 임상 시도를 위해 매우 합리적임을 시사한다. 그러나, 화합물을 단독으로 사용하는 경우 차선(또는 효과없는 양)으로 간주되지 않는다면 병용하여 달성될 수 있는 이러한 교시의 보편성은 예측될 수 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0024] 본 발명의 목적은 암 치료를 위한 의약 제조에 있어 카나비노이드 병용 제제의 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0025] 상기 목적을 달성하기 위해, 본원발명은 암 치료를 위한 의약 제조에 있어 카나비노이드 병용 제제의 용도를 제공한다. 치료되는 암으로는 바람직하게 뇌암, 더욱 바람직하게는 신경교종(glioma)이며, 가장 바람직하게는 교모세포종(glioblastoma multiforme, GBM)이고, 상기 바람직한 카나비노이드 병용 제제는 테트라하이드로카나비놀(THC) 및 카나비다이올(CBD)로 구성된다.

발명의 효과

- [0026] 본 발명에 따른 병용 제제는, THC와 CBD 추출물의 활성화는 순수 화합물의 활성화에 비하여 매우 유리하며 신경교종(glioma) 세포 성장 억제에 매우 효과적이다. 또한, THC 또는 CBD 각각으로 처리한 후의 세포 생존성과 비교하여, THC와 CBD가 병용 제제로 사용될 때 세포 생존율은 현저히 저하되어 종양 치료에 있어 더욱 효과적이다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 THC, CBD 또는 THC와 CBD의 병용 제제로 치료 후 인간 U87 MG 성상세포종(astrocytoma)의 세포 생존성(cell viability)를 대조군과 비교하여 나타낸 막대 그래프이고;
- 도 2a와 도 2b는 2a) U87MG 2b) T98G의 두 세포주에 대해 상이한 농도에서의 생체 내 세포 생존성 데이터를 나타낸 막대 그래프이고;
- 도 3a, 도 3b 및 도 3c는 U87MG 세포에 대한 병용 제제의 작용 메커니즘(mechanism of action)을 나타낸 데이터이다.
- 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**
- [0028] 본 발명은 암 치료용 의약의 제조에 있어 카나비노이드 병용 제제의 용도를 제공한다.
- [0029]
- [0030] 바람직하게, 카나비노이드(cannabinoid)는 적어도 테트라하이드로카나비놀(tetrahydrocannabinol, THC) 및 카나비다이올(cannabidiol, CBD)을 포함한다.
- [0031] 바람직하게는, 상기 THC와 CBD는 20:1 - 1:20 (THC : CBD) 비율로 존재한다.
- [0032] 더욱 바람직하게는, THC와 CBD는 5:1 - 1:5 (THC : CBD) 비율로 존재한다.
- [0033] 가장 바람직하게는, THC와 CBD는 2:1 - 1:2 (THC : CBD) 비율로 존재하며, 거의 1:1이 가장 바람직하다.
- [0034] 각 카나비노이드는 치료적 유효량으로 제공된다. THC와 CBD에 대한 용량(dose)은 카나비노이드 함량에 따라 정해지며, 총 카나비노이드의 5-100 mg 사이 범위가 바람직하다.
- [0035] 치료되는 암은 뇌암일 수 있다.
- [0036] 뇌 종양은 보통 암이 발생하는 세포 타입 및 종양 위치에 따라 분류된다.
- [0037] 예를 들어, 상이한 유형의 뇌종양으로는 청신경교종(acoustic neuroma), 성상세포종(성상세포종), 뇌림프종(CNS lymphoma), 상의세포종(ependymoma), 혈관모세포종(haemangioblastoma), 수모세포종(medulloblastoma), 뇌수막종(meningioma), 신경교종(glioma), 혼합된 신경교종(mixed glioma), 뿔지교종(oligodendroglioma), 송과선구종양(pineal region tumours) 및 뇌하수체 종양(pituitary tumours)을 포함한다.
- [0038] 신경교종(gliomas)은 신경 교세포의 종양이다. 이러한 세포는 뇌에서 신경세포를 지지하고 보호한다. 신경교종은 모든 1차 뇌 종양의 거의 절반 및 1차 척수종양의 5분의 1을 차지한다.
- [0039] 본 발명의 카나비노이드 병용 제제는, 바람직하게는 상기 뇌 종양이 신경교종 종양이고, 더욱 바람직하게는 교모세포종(glioblastoma multiforme, GBM)인 경우 유용하다.
- [0040] 1 이상의 카나비노이드는 식물 추출물, 순수 화합물 또는 이들 둘의 병용 제제로 존재할 수 있다.

- [0041] 산업 식물 의약품 초안 지침서(Industry Botanical Drug Products Draft Guidance, 2000년 8월), 미국 보건복지부, 미국 식품의약청의 의약개발연구센터의 가이드스에 의해, 식물 추출물은 식물 원재료로부터의 추출물로 정의되어 있다.
- [0042] 식물 원재는 삼출액(exudates)과 마찬가지로 식물 또는 식물 부분 (예를 들어, 껍질, 목질, 잎, 줄기, 뿌리, 꽃, 열매(fruit), 씨앗, 장과(berry), 또는 이들의 일부분)으로 정의된다.
- [0043] 더욱 바람직하게는, 식물 추출물은 식물성 의약 물질의 형태이다.
- [0044] 카나비스 식물로부터 유래된 식물성 의약 물질은 연화(maceration), 침루(percolation), 압력 하에서 C1-C5 알코올(예를 들어, 에탄올), 노르플루린(Norflurane, HFA134a), HFA227, 액체 이산화탄소와 같은 용매로 추출 및 뜨거운 기체(hot gas)를 이용한 추출과 같은 공정에 의해 제조된 1차 추출물을 포함한다. 1차 추출물은 초임계 또는 미임계 추출, 증발 및 크로마토그래피에 의해 추가적으로 정제될 수 있다. 상기와 같은 용매가 사용될 때, 생성된 추출물은 비특정 지용성 물질을 포함한다. 이는 -20 °C로의 냉각 후 왁스성 밸러스트(waxy ballast) 제거를 위한 여과를 포함하는 동결, 액체 이산화탄소로 추출 및 증류를 포함하는 다양한 공정에 의해 제거될 수 있다.
- [0045] 식물성 의약 물질은 식물성 의약품(Botanical Drug Products)으로 제제화되며, 식물성 의약품은 산업 식물 의약품 초안 지침서(Industry Botanical Drug Products Draft Guidance, 2000년 8월), 미국 보건복지부(US Department of Health and Human Services), 의약 평가 및 조사를 위한 미국 식품의약청의 지침서에 정의되어 있다 : “의약으로 사용하기 위한 식물성 제품 ; 식물성 의약 물질로부터 제조된 의약 제품” 으로 정의된다.
- [0046] 1 이상의 카나비노이드는 서로 별개로, 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다.
- [0047] 다음 실시예는 항 종양제로서의 카나비노이드 병용 제제의 효과를 확인하기 위해 수행한 실험을 기재하였다.
- [0048] **실시예 1 : 생체 외에서 암 세포 성장 억제에 대한 THC와 CBD의 효과**
- [0049] 카나비스 식물 추출물 형태의 테트라하이드로카나비놀(tetrahydrocannabinol , THC) 및 카나비다이올(cannabidiol, CBD)을 100 mM 농도로 에탄올에 용해시키고, 이를 필요시까지 -20 °C에서 보관하였다.
- [0050] 사용하기 전에 카나비스 식물 추출물을 에탄올 농도가 0.001% 이하인 것을 확인하면서 필요한 농도로 추가 희석하였다.
- [0051] U87 인간 신경교종(glioma) 세포가 본 실험 전체에 걸쳐 사용되었다. 세포는 5% CO₂ 및 95% 공기의 습한 조건(humidified atmosphere)에서 37 °C로 유지되었다.
- [0052] 세포는 75 cm² 의 돌베코 개량형 이글 배지(Dulbecco 's Modified Eagle Medium, DMEM) 배양 플라스크에서 배양되었고, 4 mM L-글루타민, 100 units/ml 페니실린, 100 mg/ml 스트렙토마이신, 1% 소듐 피루부산염, 1% 비필수 아미노산 및 10% 열비활성 소태아혈청으로 보충되었다.
- [0053] 인간 U87 MG 정상세포종 세포의 생존성은 다양한 카나비노이드 농도에서 측정되었다. 상기 THC와 CBD 추출물을

순수한 THC 및 CBD와 비교하였다.

[0054] 결과 :

표 1

[0055] 배양된 인간 U87 MG 정상세포종 세포의 생존성(cell viability)

	IC50 μ m (순수 카나비노이드)	IC50 μ m (카나비스 식물 추출물)	IC50 μ m (카나비스 식물 추출물에서의 순물질과 동일 양)
THC	0.37	0.64	0.43
CBD	0.47	0.72	0.47

[0056] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 추출물에서 카나비노이드의 양이 순수 화합물과 동일한 양으로 조절되었을 때, THC와 CBD 추출물의 활성은 순수 화합물의 활성에 비하여 매우 유리한 것을 알 수 있다.

[0057] 이는 THC와 CBD 및 그들의 추출물이 신경교종(glioma) 세포 성장 억제에 매우 효과적임을 나타낸다.

[0058] 실시예 2 : 생체 외에서의 암 세포 성장 억제에 대한 THC와 CBD 추출물 병용 제제의 효과

[0059] THC와 CBD 추출물 병용 제제가 단일 추출물만큼 세포 성장 억제에 효과가 있는지 여부를 실험하였다.

[0060] 상기 실시예 1의 방법이 사용되었다.

[0061] 결과 :

[0062] 도 1은 THC와 CBD 단일 추출물과 이들의 병용 제제에 대한 인간 U87 MG 정상세포종 세포의 세포 생존성을 막대 그래프로 나타내었다.

[0063] 도 1에 나타난 바와 같이, THC 또는 CBD 각각으로 처리한 후의 세포 생존성과 비교하여, THC와 CBD가 병용 제제로 사용될 때 세포 생존율은 현저히 저하되었다.

[0064] 이러한 데이터는 카나비노이드 THC와 CBD는 병용 제제로 사용될 때 종양 치료에 있어 더욱 효과적임을 나타낸다.

[0065] 실시예 3 : 생체 내 암 세포 성장 억제에 있어서 THC와 CBD 병용 제제의 효과

[0066] THC와 CBD 추출물 병용 제제가 생체 내에서도 효과적인지 실험하였다.

[0067] 인간 U87 MG 정상세포종 세포가 누드 마우스(nude mice)에 이종이식되었고, 시험 화합물을 1일 15 mg/kg의 농도로 종양 주위에 주입(peritumourly injection)하였다.

[0068] 결과 :

표 2

[0069] 치료 15일 후 제로 시간(zero time)에 대한 상대적인 종양 부피 비교

	종양 부피
비히클(vehicle)	9.2 ± 0.6
순수 THC	5.1 ± 0.4
THC 추출물	6.6 ± 0.3
THC:CBD (1:1) 추출물	4.8 ± 0.3

[0070] 표 2에 나타난 바와 같이 THC와 CBD 추출물의 1:1 병용 제제로 처리한 후의 종양 부피는 순수 THC 또는 THC 추출물 각각으로 처리한 것에 비해 매우 우수함을 알 수 있다.

[0071] 이러한 데이터는 카나비노이드 THC와 CBD는 병용 제제로 사용될 때 종양 치료에 있어 더욱 효과적임을 나타낸다.

실시예 4 : 상이한 2종의 세포주에서의 세포 생존성에 대한 카나비노이드 농도 효과

[0073] THC, CBD 및 THC와 CBD의 1:1 혼합물의 활성을 2종의 세포주(U87MG 및 T98G)에 대해 상이한 농도에서 조사하였다. 세포 생존성 데이터는 도 2a 및 2b에 나타내었다.

[0074] 도 2a에 따르면, 0.1 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 및 0.25 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 의 농도로 THC 및 CBD의 비효과적/차선택적 투여는(90% 세포 생존성 이상), 세포 생존성이 통계적으로 유의하게 감소함을 알 수 있고, 이는 농도 증가에 따른 용량 의존적 관계가 있음을 나타낸다(0.25 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 에서의 더 높은 세포독성).

[0075] 도 2b에 나타난 바와 같이, 세포주 T98G(인간 신경교종(glioma)세포주의 대체)에서도 유사한 결과가 얻어졌다.

실시예 5 : 작용 메커니즘(mechanism of action) 조사

[0077] THC는 ATG1 유전자 및 팬-카스파제(pan-caspase)를 포함하는 신호 루트(signaling route)를 이용하여 세포 사멸을 유도하는 것으로 알려져 있다. S6 인산화, LC3 지질화 및 ATG1 및 팬-카스파제 억제제 효과의 조사 결과를 도 3a, 3b 및 3c에 나타내었다.

[0078] (대조군 C와 비교하여)THC:CBD 병용 제제는,

- [0079] · (S6 인산화 레벨에 의해 정해지는) mTORC1 활성 저해; 및
- [0080] · LC3 지질화된 형태의 축적 촉진(자가포식(autophagy)의 특징)

[0081] 임이 도 3a로부터 알 수 있다.

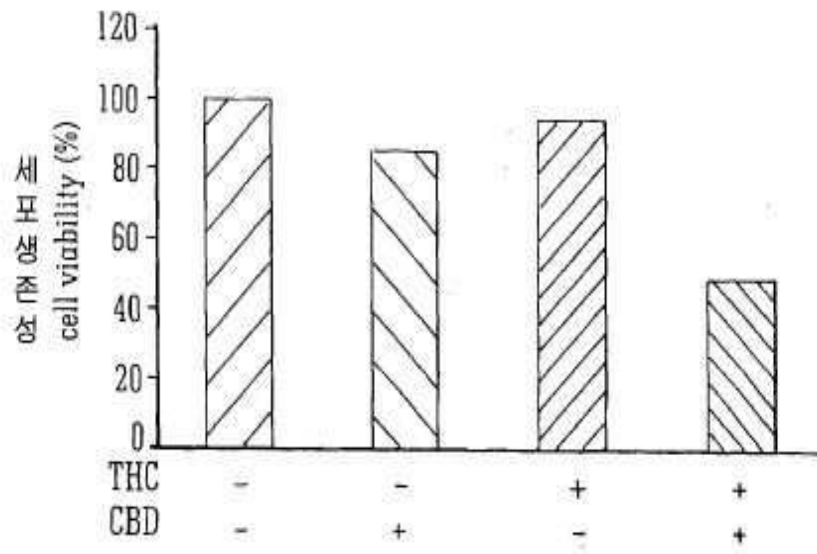
[0082] 선택적 (siATG10) siRNA 억제제로 필수 자가포식(autophagy) 유전자 ATG1을 침묵(silencing)시킨 것은, 대조군인 siC로 감염된 세포와 비교하여 유도된 세포 사멸을 감소시킴을 도 3b에 나타내었다.

[0083] 마지막으로, 팬-카스파제 억제제인 Z-VAD로 처리한 세포는, 유도된 세포사멸을 방지하는 것을 도 3c에 나타내었다.

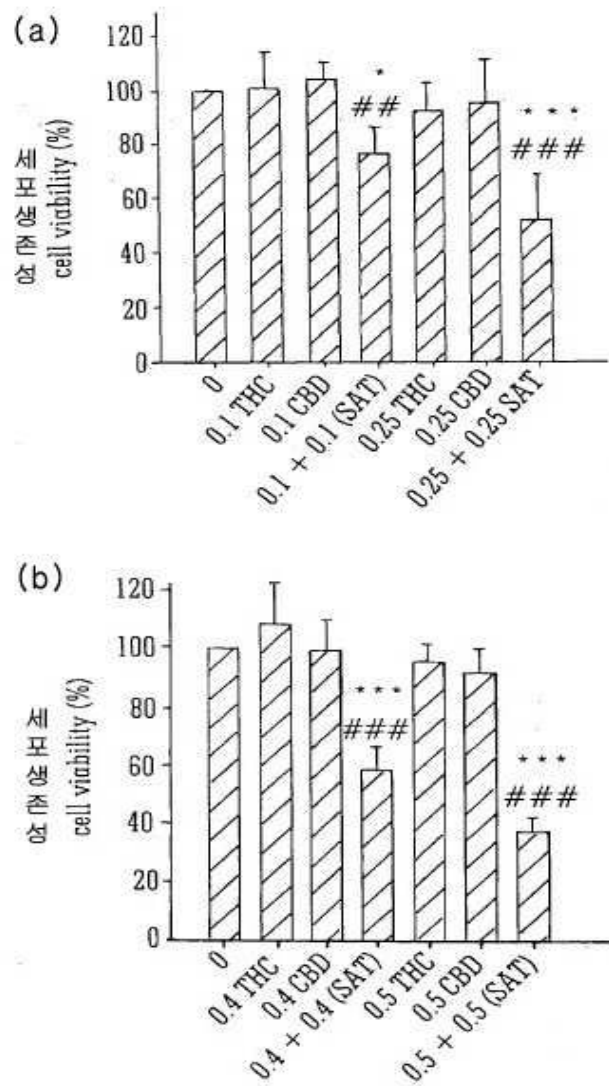
다.

도면

도면1



도면2



도면3

