

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0061813

(43) 공개일자 2020년06월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/404 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/404 (2013.01)*A61P 35/00* (2018.01)

(21) 출원번호 10-2018-0147537

(22) 출원일자 2018년11월26일

심사청구일자 2018년11월26일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김형기

경기도 용인시 수지구 성북2로 126, 314동 1702호 (성북동, 성동마을 엘지빌리지3차)

김준겸

서울특별시 동대문구 정릉천동로 156 (제기동)

전희영

인천광역시 부평구 경원대로 1269, 112동 1102호 (산곡동, 현대아파트)

(74) 대리인

특허법인 남앤남

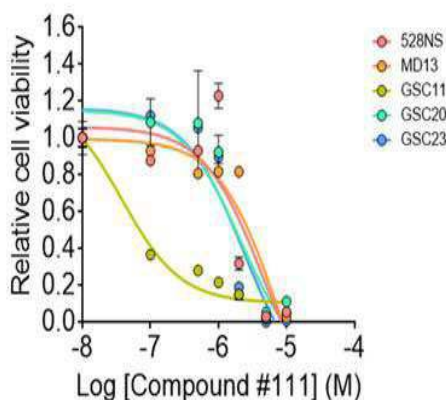
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 뇌종양 줄기세포의 세포사멸 유도 활성을 갖는 카바졸 유도체 화합물의 용도

(57) 요약

본 발명은 뇌종양 줄기세포의 세포사멸능을 갖는 카바졸 유도체 화합물의 신규용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 유효성분으로 포함하는 뇌종양 줄기세포 사멸용 약학 조성물, 뇌종양의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 유도하는 방법에 관한 것이다. 특히 본 발명에 따른 화합물은 뇌종양 줄기세포의 지질 대사를 억제할 수 있고 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 촉진하는 우수한 효과를 가지므로 뇌종양 줄기세포를 표적으로 하는 신규한 뇌종양 치료제로 활용될 수 있으며 동시에 뇌종양 치료법의 항암 효율을 높이기 위한 항암 보조용 의약품으로도 다양하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



Compound #111: 6-cyclohexyl-N-(1-phenylethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine hydrochloride

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018009876

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 (원천)바이오의료기술개발사업

연구과제명 뇌종양줄기세포 제어를 위한 SCAP 표적 억제제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2018.01.01 ~ 2019.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드(6-cyclohexyl-N-(1-phenylethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine hydrochloride) 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양 줄기세포 사멸용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화합물은 뇌종양 줄기세포에서 SREBP1의 발현을 억제하여 지질대사를 감소시키는 것을 특징으로 하는, 뇌종양 줄기세포 사멸용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 뇌종양은 역형성 성상세포종(anaplastic astrocytomas), 교모세포종(glioblastomas), 수막종(meningiomas), 뇌하수체 종양(pituitary tumors), 신경초종(schwannomas), 중추신경계 임파종(CNS lymphoma), 희소돌기아교세포종(oligodendrogliomas), 상의세포종(ependymomas), 저등급 성상세포종(low-grade astrocytomas), 수모세포종(medulloblastomas), 성상세포종 종양(astrocytic tumors), 모양세포성 성상세포종(Pilocytic astrocytoma), 미만성 성상세포종(diffuse astrocytomas), 다형성 황색성상세포종(pleomorphic xanthoastrocytomas), 상의하 거대세포 성상세포종(subependymal giant cell astrocytomas), 역형성 희소돌기아교세포종(anaplastic oligodendrogliomas), 희소돌기성상세포종(oligoastrocytomas), 역형성 희소돌기성상세포종(anaplastic oligoastrocytomas), 점액성 유두상 상의세포종(myxopapillary ependymomas), 상의하세포종(subependymomas), 뇌실상의세포종(ependymomas), 역형성 뇌실상의세포종(anaplastic ependymomas), 아스트로블라스토마(astroblastomas), 제3뇌실의 척삭모양 신경아교종(chordoid gliomas of the third ventricle), 대뇌 신경교종증(gliomatosis cerebris), 글랜글리오사이토마스(gliangliocytomas), 결합조직생성 유아 성상세포종(desmoplastic infantile astrocytomas), 결합조직생성 유아신경절교종(desmoplastic infantile gangliogliomas), 태생기발육부전 신경상피종(dysembryoplastic neuroepithelial tumors), 중심성 신경세포종(central neurocytomas), 소뇌지방신경세포종(cerebellar liponeurocytomas), 부신경절종(paragangliomas), 상의모세포종(ependymoblastomas), 천막위 원시신경외배엽성 종양(supratentorial primitive neuroectodermal tumors), 맥락막총 유두종(choroids plexus papilloma), 송과체세포종(pineocytomas), 피네오블라스토마(pineoblastomas), 중등도 분화형의 솔방울샘 실질 종양(pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation), 혈관주위세포종(hemangiopericytomas), 안장영역의 종양(tumors of the sellar region), 두개인두종(craniopharyngioma), 혈관모세포종(capillary hemangioblastoma), 및 일차성 중추신경계 임파종(primary CNS lymphoma)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 뇌종양 줄기세포 사멸용 약학 조성물.

청구항 4

6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양 치료 보조제.

청구항 6

시험관 내에서 뇌종양 줄기세포에 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이

드로클로라이드 화합물을 처리하는 단계를 포함하는, 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 유도하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 뇌종양 줄기세포의 세포사멸능을 갖는 카바졸 유도체 화합물의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 6-cyclohexyl-N-(1-phenylethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine hydrochloride 화합물을 유효성분으로 포함하는 뇌종양 줄기세포 사멸용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 뇌종양(brain tumor)은 뇌 조직이나 이를 둘러싸고 있는 막 조직에 생긴 종양을 일컫는 것으로, 원발성 뇌종양과 다른 부위에서 뇌 조직이나 뇌막으로 전이된 이차성 뇌종양을 통틀어 일컫는다. 성인에서 발견되는 뇌종양에는 신경교종(Glioma), 교모세포종(Glioblastoma), 수막종(뇌막종), 뇌하수체 선종(샘종), 신경초종 등이 있으며, 이 중에서 교모세포종(Glioblastoma)은 뇌조직의 신경교세포에서 시작하는 종양으로 전체 뇌종양의 12~15%를 차지하며, 성인에서 가장 흔한 원발성 뇌종양으로 알려져 있다.
- [0003] 이러한 뇌종양은 지난 30여 년간 치료에 의한 생존율의 향상이 미미한 대표적인 난치성 고형암으로, 최근의 향상된 복합방식의 치료기법인 수술 후 항암-방사선 병용요법에도 불구하고 뇌종양 환자의 평균생존율은 12~15개월로 발전이 없는 실정이다.
- [0004] 한편, 빠르게 자라는 세포를 제거하는 방식인 비 특이적 항암치료는 부작용이 많고 효과적으로 암세포를 제거하지 못한다는 문제점이 제시되어왔다. 이후, 암 특이적으로 발현되는 BCR-ABL kinase 억제제인 Imatinib (Gleevec)이 개발되어 백혈병(leukemia) 환자들에게 좋은 효과를 보인 것을 시작으로 ‘표적치료제’라는 개념이 도입되었고, 표적 치료제는 종양세포의 특성에 관여하는 주요 인자만을 ‘선택적’으로 표적하기 때문에 비 특이적인 기존의 항암제보다 부작용은 훨씬 적으면서 더욱 치료에 효과적이다.
- [0005] 표적치료제로는 Imatinib가 개발된 이후 Gefitinib(Iressa), Sorafenib(Nexavar), Bevacizumab(Avastin) 등과 같이 암에서 활성화되어 있는 인산화 효소나 종양 유발 신호체계(RTK/RAS/PI3K)를 표적하는 표적치료제가 꾸준히 개발된 바 있다. 하지만 이러한 표적치료제들의 치료 효과는 제한적이기 때문에 아직까지 환자들은 TMZ와 같은 기존의 비 특이적 항암제를 이용하여 치료를 받을 수 밖에 없는 실정이다. 뿐만 아니라 이러한 표적치료제의 사용에도 불구하고 결국에는 암의 재발이 나타난다는 연구 결과들이 다수 보고되고 있고, 특히 뇌종양에서는 현재까지 개발된 표적치료제가 환자의 예후를 전혀 개선시키지 못하는 것으로 보고되었다.
- [0006] 한편, 암 줄기세포는 백혈병에서 암 줄기세포가 처음으로 분리된 이후, 유방암 줄기세포, 뇌종양 줄기세포, 결장암 줄기세포 등 다양한 암 줄기세포가 분리 및 동정되고 있고, 암 줄기세포는 정상 줄기세포의 특징인 자가재생능, 다분화능, 세포증식능력과 함께 암세포의 특징인 염색체 및 유전자 변형, 종양형성, 분화된 암세포의 생성 및 높은 항암제 저항성을 갖는다고 보고되어 있다. 따라서 암의 형성과 관련된 여러 신호기전을 복합적으로 억제한다고 해도 암 줄기세포 자체를 표적하지 않으면 암 줄기세포에 의한 암 재발을 막지 못하게 되므로, 기존의 암 치료방법으로는 암의 근본적인 치료효과를 도출할 수 없다.
- [0007] 그러므로 보다 효과적이고 근본적인 뇌종양 치료를 위해서는 뇌종양 줄기세포에 대한 새로운 표적치료제의 개발이 절실히 필요한 상황이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1872950호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 이에 본 발명자들은 카바졸 유도체 화합물이 뇌종양세포보다 미분화된 뇌종양 줄기세포에서 지질대사에 관여하

고 종양의 신호전달에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 SREBP1를 효과적으로 억제하여 뇌종양 줄기세포의 지질대사를 억제할 수 있고, 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 유도하는 활성이 있어, 상기 화합물을 뇌종양 줄기세포의 사멸을 통한 뇌종양 치료제로서 사용할 수 있음을 규명함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0010] 따라서 본 발명의 목적은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드(6-cyclohexyl-N-(1-phenylethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine hydrochloride) 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양 줄기세포 사멸용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양 치료 보조제를 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내에서 뇌종양 줄기세포에 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 처리하는 단계를 포함하는, 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 유도하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기과 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드(6-cyclohexyl-N-(1-phenylethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine hydrochloride) 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양 줄기세포 사멸용 약학 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 화합물은 뇌종양 줄기세포에서 SREBP1의 발현을 억제하여 지질대사를 감소시키는 것일 수 있다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 뇌종양은 역형성 성상세포종(anaplastic astrocytomas), 교모세포종(glioblastomas), 수막종(meningiomas), 뇌하수체 종양(pituitary tumors), 신경초종(schwannomas), 중추신경계 임파종(CNS lymphoma), 희소돌기아교세포종(oligodendrogliomas), 상의세포종(ependymomas), 저등급 성상세포종(low-grade astrocytomas), 수모세포종(medulloblastomas), 성상세포종 종양(astrocytic tumors), 모양세포성 성상세포종(Pilocytic astrocytoma), 미만성 성상세포종(diffuse astrocytomas), 다형성 황색성상세포종(pleomorphic xanthoastrocytomas), 상의하 거대세포 성상세포종(subependymal giant cell astrocytomas), 역형성 희소돌기아교세포종(anaplastic oligodendrogliomas), 희소돌기성상세포종(oligoastrocytomas), 역형성 희소돌기성상세포종(anaplastic oligoastrocytomas), 점액성 유두상 상의세포종(myxopapillary ependymomas), 상의하세포종(subependymomas), 뇌실상의세포종(ependymomas), 역형성 뇌실상의세포종(anaplastic ependymomas), 아스트로블라스토마(astroblastomas), 제3뇌실의 척삭모양 신경아교종(chordoid gliomas of the third ventricle), 대뇌 신경교종증(gliomatosis cerebris), 글랜글리오사이토마스(gliangliocytomas), 결합조직생성 유아 성상세포종(desmoplastic infantile astrocytomas), 결합조직생성 유아신경절교종(desmoplastic infantile gangliogliomas), 태생기발육부전 신경상피종(dysembryoplastic neuroepithelial tumors), 중심성 신경세포종(central neurocytomas), 소뇌지방신경세포종(cerebellar liponeurocytomas), 부신경절종(parangliomas), 상의모세포종(ependymoblastomas), 천막위 원시신경외배엽성 종양(supratentorial primitive neuroectodermal tumors), 맥락막층 유두종(choroids plexus papilloma), 송과체세포종(pineocytomas), 피네오블라스토마(pineoblastomas), 중등도 분화형의 솔방울샘 실질 종양(pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation), 혈관주위세포종(hemangiopericytomas), 안장영역의 종양(tumors of the sellar region), 두개인두종(craniopharyngioma), 혈관모세포종(capillary hemangioblastoma), 및 일차성 중추신경계 임파종(primary CNS lymphoma)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것일 수 있다.

[0017] 또한, 본 발명은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양 치료 보조제를 제공한다.

[0019] 나아가 본 발명은 시험관 내에서 뇌종양 줄기세포에 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 처리하는 단계를 포함하는, 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 유도하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명의 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물은 뇌종양 줄기세포의 SREBP1의 발현을 억제하여 지질대사를 효과적으로 감소시킬 수 있고, 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 촉진하는 활성이 우수하여, 뇌종양 줄기세포를 표적으로 하는 신규한 뇌종양 치료제로 활용될 수 있으며 동시에 뇌종양 치료법의 항암 효율을 높이기 위한 항암 보조용 의약품으로도 다양하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 5종류의 뇌종양 줄기세포주에 본 발명의 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 농도별로 처리한 후, 각 세포주에서의 세포사멸 정도를 선형 그래프로 나타낸 것이다.

도 2는 5종류의 뇌종양 줄기세포주에 본 발명의 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 농도별로 처리한 후, 각 세포주에서의 세포사멸 정도를 막대 그래프로 나타낸 것이다.

도 3은 5종류의 뇌종양 줄기세포주에 본 발명의 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 처리한 후, 각 세포주에서의 SREBP1의 발현수준 정도를 웨스턴 블롯으로 확인한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 본 발명은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물이 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 촉진하는 활성이 있음을 최초로 규명한 점에 특징이 있다.

[0023] 본 발명의 일실시예에 의하면, 5종류의 뇌종양 줄기세포주에 대해 본 발명의 상기 화합물을 농도별로 처리한 후, 뇌종양 줄기세포의 세포사멸 정도를 분석하였는데, 그 결과, 본 발명의 화합물을 처리하지 않은 군에 비해 본 발명의 화합물을 처리한 뇌종양 줄기세포주에서 세포사멸 정도가 월등히 우수한 것으로 나타났으며, 이러한 세포사멸 효과는 5종류의 뇌종양 줄기세포주 모두에서 나타났다.

[0024] 나아가 다른 일실시예에서는 5종류의 뇌종양 줄기세포주에 대해 본 발명의 상기 화합물을 처리한 후, 뇌종양 줄기세포에서 지질대사에 중요한 역할을 하며 암의 신호전달에 영향을 주는 것으로 알려진 SREBP1의 발현변화 정도를 분석하였다.

[0025] 그 결과, 본 발명의 화합물을 처리한 5종류의 뇌종양 줄기세포 모두에서 상기 화합물을 처리하지 않은 군에 비해 SREBP1의 발현이 효과적으로 억제되는 것으로 나타났다.

[0026] 한편, 최근 보고되고 있는 뇌종양줄기세포의 유전자 발현 데이터의 in silico 분석 결과에 의하면, 분화된 뇌종양세포에 비해 미분화된 뇌종양 줄기세포는 지질합성대사가 더 활성화되어 있는 것으로 알려져 있고, 특히 SREBP1(sterol regulatory element-binding protein 1)은 지방합성대사 조절 인자로 알려져 있으며, 최근에는 암 대사와 종양의 신호전달에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0027] 이러한 점에서, 뇌종양 줄기세포의 지질합성대사를 효과적으로 억제할 수 있다면 뇌종양 줄기세포의 성장, 증식 및 활성을 억제할 수 있으므로 궁극적으로 뇌종양 줄기세포를 타겟으로 뇌종양을 예방 또는 치료할 수 있다.

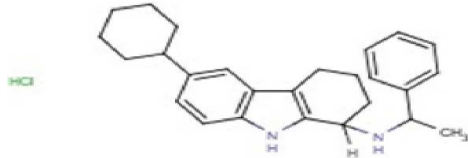
[0028] 이에 본 발명자들은 본 발명의 화합물이 뇌종양 줄기세포에서 SREBP1에 대한 억제활성이 있는지 분석한 결과, SREBP1의 발현을 효과적으로 억제할 수 있음을 확인하였고, 따라서 SREBP1의 발현억제로 세포의 지질대사를 억제하여 뇌종양 줄기세포의 활성을 감소 또는 억제시킬 수 있음을 알 수 있었다.

[0029] 따라서 본 발명은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 뇌종양 줄기세포 사멸용 약학 조성물

및 뇌종양의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

[0030] 본 발명에 따른 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물은 바람직하게 하기 화학식 1의 구조식을 갖는 화합물일 수 있다.

[0031] <화학식 1>



[0032]

[0033] 본 발명의 상기 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타르테이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0034] 본 발명에 있어서, '뇌종양'은 두개골 내에 생기는 모든 종양을 말하며, 뇌와 뇌 주변 구조물에서 발생하는 모든 종양을 포함한다.

[0035] 구체적으로 상기 뇌종양은 이에 제한되지는 않으나, 역형성 성상세포종(anaplastic astrocytomas), 교모세포종(glioblastomas), 수막종(meningiomas), 뇌하수체 종양(pituitary tumors), 신경초종(schwannomas), 중추신경계 임파종(CNS lymphoma), 희소돌기아교세포종(oligodendrogliomas), 상의세포종(ependymomas), 저등급 성상세포종(low-grade astrocytomas), 수모세포종(medulloblastomas), 성상세포종 종양(astrocytic tumors), 모양세포성 성상세포종(Pilocytic astrocytoma), 미만성 성상세포종(diffuse astrocytomas), 다형성 황색성상세포종(pleomorphic xanthoastrocytomas), 상의하 거대세포 성상세포종(subependymal giant cell astrocytomas), 역형성 희소돌기아교세포종(anaplastic oligodendrogliomas), 희소돌기성상세포종(oligoastrocytomas), 역형성 희소돌기성상세포종(anaplastic oligoastrocytomas), 점액성 유두상 상의세포종(myxopapillary ependymomas), 상의하세포종(subependymomas), 뇌실상의세포종(ependymomas), 역형성 뇌실상의세포종(anaplastic ependymomas), 아스트로블라스토마(astroblastomas), 제3뇌실의 척삭모양 신경아교종(chordoid gliomas of the third ventricle), 대뇌 신경교종증(gliomatosis cerebris), 글랜글리오사이토마스(gliangliocytomas), 결합조직생성 유아 성상세포종(desmoplastic infantile astrocytomas), 결합조직생성 유아신경절교종(desmoplastic infantile gangliogliomas), 태생기발육부전 신경상피종(dysembryoplastic neuroepithelial tumors), 중심성 신경세포종(central neurocytomas), 소뇌지방신경세포종(cerebellar liponeurocytomas), 부신경절종(parangliomas), 상의모세포종(ependymoblastomas), 천막위 원시신경외배엽성 종양(supratentorial primitive neuroectodermal tumors), 맥락막종 유두종(choroids plexus papilloma), 송과체세포종(pineocytomas), 피네오블라스토마(pineoblastomas), 중등도 분화형의 솔방울샘 실질 종양(pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation), 혈관주위세포종(hemangiopericytomas), 안장영역의 종양(tumors of the sellar region), 두개인두종(craniopharyngioma), 혈관모세포종(capillary hemangioblastoma) 또는 일차성 중추신경계 임파종(primary CNS lymphoma)일 수 있다.

- [0036] 본 발명에서 암 줄기세포의 일종인 '뇌종양 줄기세포'는 뇌종양의 성장 및 전이에 중요한 세포로, 미분화 상태를 유지하는 능력, 자기재생 및 분화능력을 가지고 있으며 종양을 발생시킬 수 있다. 아울러, 다른 집단과 구별되어 새로운 종양을 발생시키므로 암 내 소량으로 존재하나 암의 재발과 전이의 원인이 되므로, 뇌종양 치료의 핵심 표적이라고 할 수 있다.
- [0037] 본 발명의 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 포함할 수 있으며, 약학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이드실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엷, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당 등이 사용될 수 있다.
- [0038] 본 발명에 따른 약학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 내지 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 실제 임상 투여시에 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있으며, 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science, 최근, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 것을 이용하는 것이 바람직하다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유 등이 있다.
- [0040] 상기 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스 (Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제 들도 사용된다. 또한, 상기 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0041] 상기 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다.
- [0042] 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 상기 비경구투여는 피부외용 또는 복강 내 주사, 직장 내 주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사 주입방식을 사용하여 이루어질 수 있다.
- [0043] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다.
- [0044] 상기 '약학적으로 유효한 양'은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 감염된 바이러스 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0046] 본 발명에 있어서 사용되는 용어 '투여'는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [0047] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0048] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 뇌종양 줄기세포의 억제 또는 사멸을 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치

료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

- [0049] 본 발명에 있어서, '예방'은 조성물의 투여에 의해 뇌종양을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0050] 본 발명에 있어서, '개선'은 조성물의 투여에 의해 뇌종양에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [0051] 본 발명에 있어서, '치료'는 조성물의 투여에 의해 뇌종양을 낮게 하는 행위를 모두 의미한다.
- [0052] 본 발명에 있어서, '전이'는 악성 종양인 뇌종양이 진행됨에 따라 뇌로부터 폐(lung)나 위(stomach)와 같은 다른 조직으로 퍼져나가는 상태를 지칭한다.
- [0053] 또한, 본 발명은 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뇌종양 치료 보조제를 제공할 수 있다.
- [0054] 본 발명에 있어서, '뇌종양 치료 보조제'란 당업계에서 일반적으로 사용되는 뇌종양 치료법의 효과를 증진시키기 위하여 보조적으로 사용될 수 있는 제제를 말하며, 본 발명에 의한 혼합 추출물을 사용함으로써 함께 사용하는 뇌종양 치료법의 효과를 증진시킬 수 있다.
- [0055] 본 발명에 있어서, 상기 뇌종양 보조제와 함께 사용될 수 있는 뇌종양 치료법의 종류는 뇌수술, 방사선 치료법, 항암제를 이용한 화학치료법 등을 모두 포함하며, 상기에 개시한 치료법 중 2종 이상을 복합적으로 수행하는 치료법일 수 있다. 보다 구체적으로 상기 뇌종양 치료법은 바람직하게는 동시화학방사선치료법(CCRT; concurrent chemoradiotherapy) 또는 뇌수술 및 CCRT의 복합 치료법일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0056] 아울러, 상기 뇌종양 치료법은 암세포의 종류, 항암제의 흡수 속도(치료기간과 항암제 투여 경로), 종양의 위치, 종양의 크기 등의 뇌종양 치료법 선택 시 고려하는 일반적인 원칙하에 선택될 수 있다.
- [0057] 나아가 본 발명은 본 발명의 화합물을 이용한 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 유도하는 방법을 제공할 수 있는데, 즉 시험관 내에서 뇌종양 줄기세포에 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 처리하는 단계를 통해 상기 뇌종양 줄기세포의 세포사멸을 유도할 수 있다.
- [0058] 그러므로 본 발명의 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물은 뇌종양 줄기세포를 타겟팅하여 뇌종양을 예방, 개선 및 치료할 수 있으므로, 뇌종양의 새로운 치료제로 활용할 수 있고 동시에 뇌종양 치료법의 항암 효율을 높이기 위한 항암 보조용 의약품으로도 다양하게 활용될 수 있다.
- [0060] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0062] <준비예>

[0063] 시료 및 세포배양

[0064] 하기 실시예에서 사용한 뇌종양 줄기세포는 뇌종양 환자 유래의 뇌종양 줄기세포주인 528NS(교모세포종, Ichiro Nakano, University of Alabama at Birmingham), MD13(교모세포종, University of Alabama at Birmingham), GSC11(교모세포종, Joshua M. Shulman, Texas Children's Hospital), GSC23(교모세포종, Joshua M. Shulman, Texas Children's Hospital), GSC20(교모세포종, Joshua M. Shulman, Texas Children's Hospital)을 사용하였다. 각 세포는 뇌종양 줄기세포 배양조건인 1% 항미생물제(apenicillin/streptomycin, Lonza, Basel, Switzerland), 0.04% B27 (Invitrogen, MA, USA), 표피성장인자(epidermal growth factor, 20 ng/mL; R&D Systems, MN, USA) 및 섬유모세포성장인자(basic broblast growth factor, 20 ng/mL; R&D Systems)가 포함된 DMEM/F12 media (Hyclone, GE healthcare life sciences, IL, USA) 배양액에서 37℃, 5% CO₂조건으로 배양하여 사용하였다.

[0065] 또한, 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 (ChemBridge

Corporation, San Diego, CA, USA) 화합물은 최종농도 10mM이 되도록 DMSO에 녹인 후 사용하였다.

<실시예 1>

본 발명의 카바졸 유도체 화합물의 뇌종양 줄기세포의 세포사멸 효과

본 발명자들은 카바졸 유도체 화합물인 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물이 뇌종양 줄기세포에 대한 세포사멸 효과가 있는지 확인하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다.

이를 위해, 뇌종양 줄기세포주인 528NS, MD13, GSC11, GSC23, GSC20 세포들을 96 웰 플레이트 (SPL, Korea)에 5,000 cells/well 이 되도록 각각 분주하고, 24시간 후, 본 발명의 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물을 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 μ M)로 처리한 다음, 3일 동안 배양하였다. 이후 Ez-Cytox kit (DOGEN, Seoul, Korea)의 분석시약을 웰 당 20 μ L 씩 첨가하고 4시간 반응시킨 다음, 450 nm 파장에서 PowerWaveXS microplate-reader (Bio-Tek Instruments Inc., VT, USA) 장치를 이용하여 흡광도를 측정함으로써, 각 세포주별 화합물 처리 농도에 따른 세포사멸 정도를 측정하였다. 이때 측정 수치는 mean $\pm$ SEM으로 기재하였다.

그 결과, 도 1 및 도 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 화합물은 5가지 종류의 뇌종양 줄기세포 모두에 대해 세포사멸 효과가 있는 것으로 나타났고, 세포의 생존율은 본 발명의 화합물을 처리하지 않은 군에 비해 본 발명의 화합물 처리 시 월등하게 감소하는 것으로 나타났다.

따라서 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 카바졸 유도체 화합물인 6-시클로헥실-N-(1-페닐에틸)-2,3,4,9-테트라하이드로-1H-카바졸-1-아민 하이드로클로라이드 화합물은 뇌종양 줄기세포의 세포사멸능이 있는 것을 확인할 수 있었고, 상기 화합물을 뇌종양 줄기세포를 표적하는 새로운 뇌종양 치료제로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

<실시예 2>

본 발명에 따른 카바졸 유도체 화합물의 뇌종양 줄기세포에서의 SREBP1 억제효과

다음으로 본 발명자들은 본 발명의 화합물이 뇌종양 줄기세포에 대해 지질대사 및 암 신호전달에 중요한 역할을 하는 SREBP1에 대한 억제 활성이 있는지의 여부를 분석하였다.

이를 위해 뇌종양 줄기세포주인 528NS, MD13, GSC11, GSC23, GSC20 세포주를 2.0×10^6 cell/9 mL 로 분주하고, 24시간 후에 본 발명의 화합물을 배양액 1mL에 희석하여 총 10mL에 되었을 때 최종 농도가 10 μ M이 되도록 처리한 후, 72시간 후에 세포를 모아 PBS로 세척한 다음, 3500rpm에서 침전시키고 침전된 세포 펠렛에 RIPA 용액을 첨가하여 세포를 용해시키고, 15000rpm에서 침전시켜 상층액만을 모아 단백질 농도를 측정하였다. 각 샘플 당 15 μ g의 단백질을 로딩하여 멤브레인에 단백질을 이동시켰다. 이후 멤브레인을 5% 탈지분유를 이용하여 블로킹 하고, 1차 항체를 4° C에서 12시간 동안 반응시켰다. 항체는 anti-SREBP1 (sc-8984, Santa Cruz Biotechnology, TX, USA), anti- β -actin (sc-47774, Santa Cruz Biotechnology)을 사용하였다. 이후 TBST를 이용하여 5분씩 3번 세척 후 Horseradish peroxidase (HRP)가 결합된 2차 항체(Vector Laboratories, CA, USA)를 넣고 상온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 이후 TBST를 이용하여 5분씩 3번 세척 후 ECL (EBP-1073, ELPIS biotech. Inc., Korea) 용액을 1분간 반응시킨 후 암실에서 필름과 반응시켜 현상하였다.

분석결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 화합물을 처리한 5종류의 뇌종양 줄기세포 모두에서 SREBP1의 단백질 발현이 억제된 것을 확인할 수 있었다.

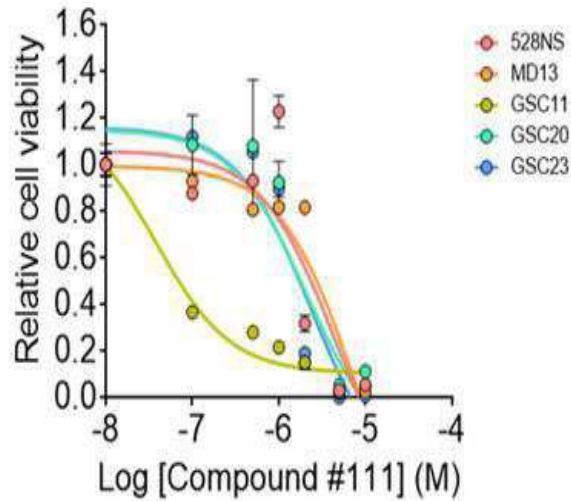
이러한 결과를 통해 본 발명의 화합물은 뇌종양 줄기세포에서 SREBP1의 발현 및 활성을 억제하여 뇌종양 줄기세포의 지질대사를 감소시키고 궁극적으로 세포사멸을 유도함으로써, 뇌종양 줄기세포를 표적하는 새로운 뇌종양 치료제로 사용 가능함을 알 수 있었다.

[0082]

이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

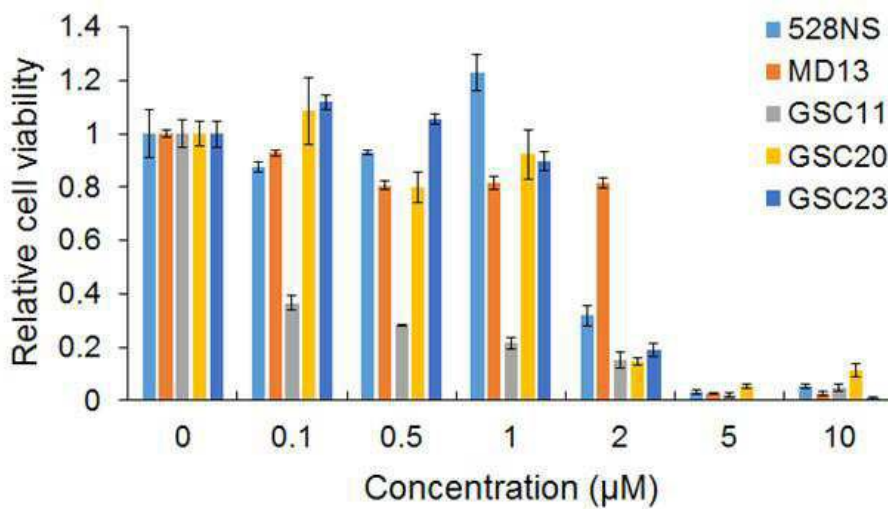
도면

도면1

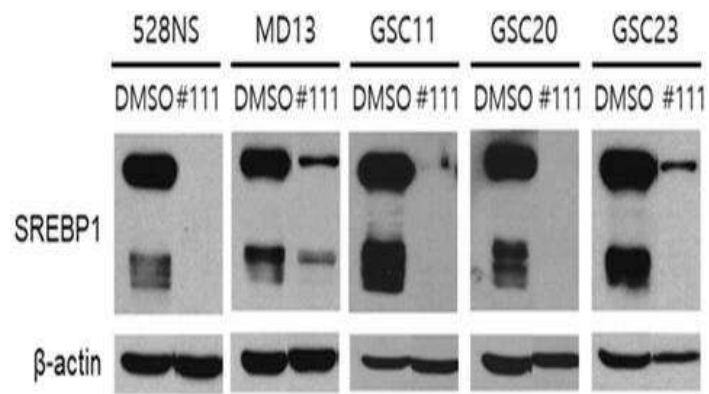


Compound #111: 6-cyclohexyl-N-(1-phenylethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine hydrochloride

도면2



도면3



Compound #111: 6-cyclohexyl-N-(1-phenylethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine hydrochloride