



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년01월09일
(11) 등록번호 10-1937054
(24) 등록일자 2019년01월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 495/04 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61K 31/4365 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 495/04 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0135267
(22) 출원일자 2017년10월18일
심사청구일자 2017년10월18일
(56) 선행기술조사문헌
JP2005511565 A
JP2015516439 A

(73) 특허권자
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
서영호
대구광역시 수성구 청수로 261, 1410동 1301호 (황금동, 캐슬골드파크 4단지)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 6 항

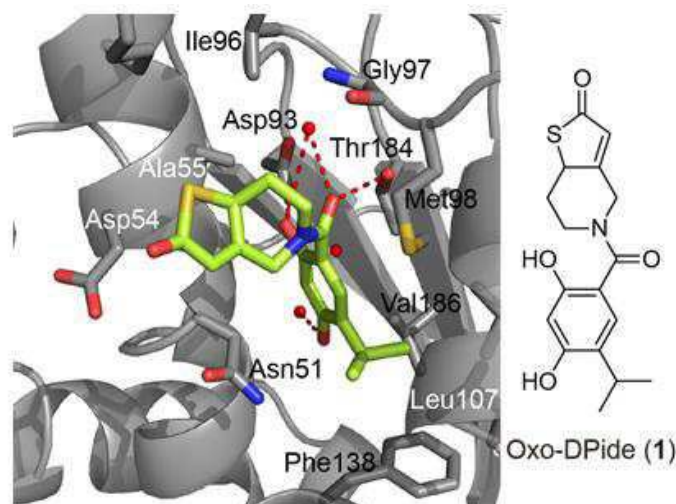
심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 유방암 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 신규한 유방암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 화합물은 에스트로젠 수용체 (estrogen receptor; ER) 및 프로그스테론 수용체(progesterone receptor; PR)가 결손되어 있고, 인간 상피세포 성장인자 수용체 2(HER2)가 발현 되지 않는 삼중 음성 유방암 세포를 억제하며, 유방암을 일으키는 Hsp90 단백질 억제 및 Hsp90 클라이언트 단백질의 분해를 유도하여 유방암의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 유방암의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/4365 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016R1A6A1A03011325

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 중점연구소지원(이공계분야)

연구과제명 약물의존장애 핵심 진단기술 개발 및 치료전략 연구

기 여 율 50/100

주관기관 계명대학교

연구기간 2017.01.01 ~ 2017.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016R1D1A1B01009559

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기본연구지원사업(6년~8년)

연구과제명 여성생식기 암 치료를 위한 저분자 화합물 설계 및 합성 연구

기 여 율 50/100

주관기관 계명대학교

연구기간 2017.06.01 ~ 2018.02.28

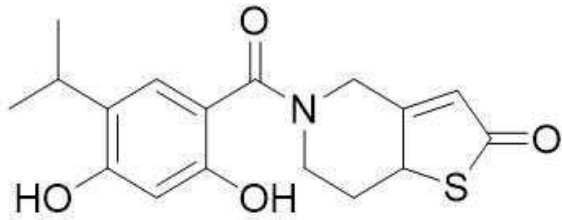
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물:

[화학식 1]



청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 Hsp90 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 화합물.

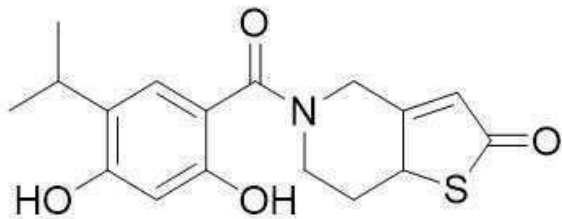
청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 암세포의 증식을 억제하는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 4

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 유방암의 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



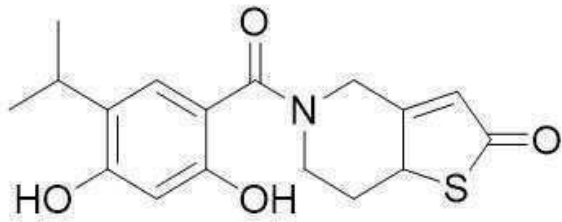
청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 유방암은 삼중 음성 유방암인 것을 특징으로 하는 유방암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 유방암의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물:

[화학식 1]



발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 HSP90 억제 활성을 나타내는 신규 화합물을 포함하는 삼중 음성 유방암의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 유방암(breast cancer)은 전 세계적으로 가장 악성 종양에 해당하며, 여성의 사망원인 중의 하나로 높은 비율을 차지하고 있다. 유방암 중에서 삼중 음성 유방암(triple-negative breast cancer; TNBC)은 에스트로겐 수용체(estrogen receptor; ER), 프로게스테론 수용체(progesterone receptor; PR) 및 인간 상피세포성장인자 수용체 2(human epidermal growth factor receptor 2; Her2)의 부족으로 인해, 가장 공격적이고 전이성이 강하며 치료가 어려운 것으로 알려져 있다. 따라서 TNBC는 다른 유방암 아형(subtype)에 비해 임상 결과가 좋지 않다. 또한, TNBC의 분자 이종성(heterogeneity)은 환자의 생존율을 향상시키는데 어려움을 증가시킨다. 호르몬 및 Her2 표적 치료제의 개발에도 불구하고 TNBC 환자는 상기 치료 옵션에 거의 반응하지 않는다. 따라서 탁산(Taxanes) 및 안트라사이클린(anthracyclines)과 같은 기존의 화학요법이 여전히 TNBC 환자의 치료에 중점적으로 사용되고 있어 TNBC 환자의 치료를 위한 대체 치료 방법의 개발이 절실한 실정이다.

[0003] 열 충격 단백질 90(Heat shock protein 90; Hsp90)은 '클라이언트(client)' 단백질이라고 하는 기질 단백질의 접힘, 안정성 및 기능을 조절하는 분자 샤페론(chaperone)이다. 상기 클라이언트는 상피세포성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor; EGFR), 인간 상피세포성장인자 수용체 2(Her2), 역행성 림프종 키나제(anaplastic lymphoma kinase; Alk), 간엽-상피 전환 전이인자(mesenchymal-epidermal transition factor; Met), 단백질 키나아제 B(protein kinase B; Akt), 사이클린 의존성 키나아제 4(cyclin-dependent kinase 4; Cdk4), 저산소증 유도인자 1(hypoxia inducible factor 1; HIF-1 α) 및 기질 금속단백분해효소 9(matrix metalloproteinase 9; MMP9)를 포함한다. 많은 종류의 Hsp90 클라이언트 단백질이 암을 유발하는 것으로 알려져 있다. 암세포들은 그들의 유전적 불안정성 및 스트레스 환경으로 인해 정상세포보다 Hsp90 샤페론 기능에 더욱 의존적임에 따라 정상세포보다 암세포에서 Hsp90의 발현이 2 내지 10배 높게 나타난다.

[0004] 이에 따라, Hsp90은 효과적인 암 치료를 위한 타겟이 될 수 있는데, Hsp90 단백질의 활성 억제제는 다양한 암 유발 단백질을 동시에 감소시키는 효과를 나타낼 수 있으며, 저항성을 가지는 암 치료에도 효과를 나타낼 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제 10-0965726호 (2010.06.15 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

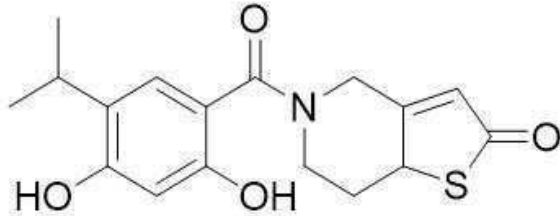
[0006] 본 발명의 목적은 새로운 구조의 Hsp90 억제제를 개발하여, 유방암 특히, 삼중 음성 유방암의 치료제로 사용 가

능한 신규 화합물 및 이의 의학적 용도를 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이를 유효성분 포함하는 유방암의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 유방암의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[화학식 1]



발명의 효과

본 발명의 화합물은 에스트로젠 수용체(estrogen receptor; ER) 및 프로게스테론 수용체(progesterone receptor; PR)가 결손되어 있고, 인간 상피세포성장인자 수용체 2(HER2)가 발현 되지 않는 삼중 음성 유방암 세포를 억제하며, 유방암을 일으키는 Hsp90 단백질 억제 및 Hsp90 클라이언트 단백질의 분해를 유도하여 유방암의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 유방암의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

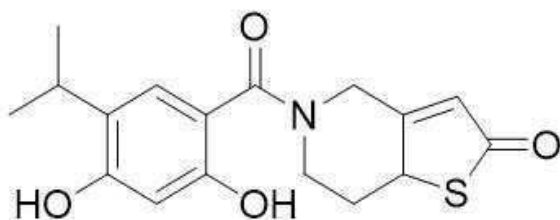
도 1은 인간 Hsp90(PDB 코드 : 2XJX)의 ATP 결합 주머니에 결합된 Oxo-DPide(1)의 분자 도킹 모델을 나타낸 것으로, Oxo-DPide(1)의 탄소, 산소, 질소 및 황 원자는 각각 녹색, 적색, 청색 및 황색으로 표시하였으며, 결합 부위의 측쇄는 잔기 이름으로, 물 분자는 적색 구체, 수소 결합은 빨간색 점선으로 표시하였다.

도 2는 Oxo-DPide에 대한 Hsp90의 결합 친화도 및 항 증식 활성을 나타낸 것으로, (A)는 Hsp90 α의 ATP 결합 주머니에 대한 결합 친화도를 형광 편광 분석으로 수행한 결과이며, (B)는 H1975 비소세포 폐암(NSCLC) 세포를 이용하여 Oxo-DPide의 항 증식 효과를 MTS 분석법으로 수행한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다.

[화학식 1]

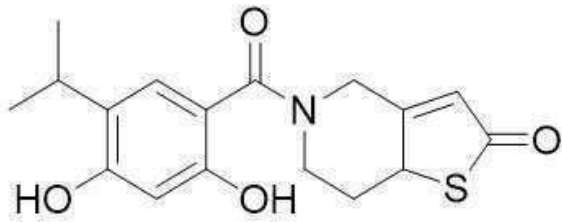


상기 화합물은 Hsp90 단백질의 N-말단에 결합하여 Hsp90 활성을 억제할 수 있다. 더불어, 분자 모델링을 통해 상기 화합물이 Hsp90 단백질의 N-말단 ATP 결합 주머니에 결합하는 것을 확인하였다.

상기 화합물은 암세포의 증식을 억제할 수 있다. 삼중 음성 유방암 세포주(MDA-MB-231) 및 비소세포성 폐암 세포주(H1975)에 상기 화합물을 처리함으로써, 암세포 증식 억제 효과를 확인하였다.

또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 유방암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0019] [화학식 1]



[0020]

[0022] 상기 유방암은 삼중 음성 유방암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0024]

본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 투여를 위하여, 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0025]

본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는 제형화할 경우 통상 사용하는 충전제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형 제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형 제제는 상기 유효성분 외에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 과제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔, 마크로솔, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

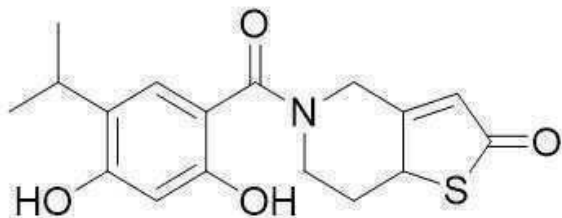
[0026]

본 발명의 약학 조성물의 적합한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 시간에 따라 다르지만, 당 업자에 의해 적절하게 선택될 수 있는 바, 상기 조성물의 일일 투여량은 바람직하게는 0.001 mg/kg 내지 50 mg/kg이며, 필요에 따라 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[0028]

또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 유방암의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0029] [화학식 1]



[0030]

[0032]

본 발명의 조성물이 건강식품 조성물인 경우, 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일 주스, 합성 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또한, 건강식품 조성물은 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 껌류, 아이스크림류, 스프, 음료수, 차, 기능수, 드링크제, 알코올 및 비타민 복합제 중 어느 하나의 형태일 수 있다.

- [0033] 또한, 상기 건강식품 조성물은 식품첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, 식품첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전처에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반 시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0034] 상기 식품첨가물공전에 수록된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산 칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고령색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류 첨가 알칼리제, 보존료제제, 타르색소 제제 등의 혼합 제제류 등을 들 수 있다.
- [0035] 이때, 건강식품 조성물을 제조하는 과정에서 식품에 첨가되는 본 발명에 따른 조성물은 필요에 따라 그 함량을 적절히 가감할 수 있다.
- [0037] 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0039] **실시예 1 : 시약 및 기기**
- [0040] 모든 시약 및 용매는 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich, Milwaukee Wisconsin, USA) 및 알파 에이사(Alfa Aesar, Massachusetts, USA)에서 구입하였으며, 추가적인 정제 없이 사용하였다. 습기에 민감한 화합물을 다루는 모든 실험은 아르곤 대기 하에서 수행하였다. 회전 증발기를 사용하여 감압 하에 농축 또는 용매 제거를 수행하였다. 분석용 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography; TLC)는 실리카 겔 F₂₅₄ TLC 플레이트(E, Merck)를 이용하였으며 자외선 하에 시각화하였다. 컬럼 크로마토그래피는 실리카(Merck Silica Gel 40-63 μ m)에서 중압 하에서 수행하거나 실리카 겔 카트라이드(Biotage)로 Biotage SP1 플래시 정제 시스템을 사용하여 수행하였다. NMR 분석은 JNM-ECZ500R(500 MHz)을 사용하여 수행하였다. 화학적 이동은 백만(δ) 당 부분으로 나타내었다. 시료 용매의 중수소 고정 신호(deuterium lock signal)를 기준으로 사용하였으며, 커플링 상수(J)는 헤르츠(Hz)로 표시하였다. 분할 패턴의 약어는 다음과 같다: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; dd, doublet of doublets; m, multiplet. VP-ODS C18 컬럼(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m, Shimadzu)이 장착된 이중 펌프 Shimadzu LC-6AD 시스템으로 수행된 HPLC에 의해 모든 최종 화합물의 순도가 95% 이상임을 확인하였다.
- [0042] **실시예 2 : 5-(2,4-디하이드록시-5-이소프로필벤조일)-5,6,7,7a-테트라하이드로티에노[3,2-c]피리딘-2(4H)-일(Oxo-DPide, 1)**
- [0043] **[5-(2,4-Dihydroxy-5-isopropylbenzoyl)-5,6,7,7a-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridin-2(4H)-one]**
- [0044] DMF 4 mL에 화합물 2(0.20 g, 1.02 mmol), 5,6,7,7a-테트라하이드로티에노[3,2-c]피리딘-2(4H)-일 하이드로클로라이드(5,6,7,7a-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridin-2(4H)-one hydrochloride, 0.29 ml, 1.53 mmol), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, 0.39 g, 2.04 mmol), N,N-디이소프로필에틸아민(N,N-diisopropylethylamine, 0.36 mL, 2.04 mmol)의 혼합물을 40°C에서 4시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시키고 MPLC로 정제하여 Oxo-DPide(1)을 10% 수율로 수득하였다.
- [0045] R_f = 0.19 (5 : 5 에틸아세테이트 : 헥산). ^1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.02 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 5.32 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 4.49-4.46 (m, 1H), 3.79 (1H), 3.25 (t, J = 14.5Hz, 1H), 3.18-3.12 (m, 1H), 2.53-2.49 (m, 1H), 1.91-1.85 (m, 1H), 1.19 (d, J = 6.5Hz, 6H). ESI MS (m / e) 334.12 [M + 1]⁺.
- [0047] **실시예 3 : 형광 편광 분석법(fluorescence polarization assay)**
- [0048] 모든 형광 편광 실험은 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 96 웰의 검정색 둥근 바닥 플레이트(96 well, black, round-bottom plates)에서 수행하였다. 형광 편광 분석 실험을 위해, 각 웰에 HFB 완충액(20 mM HEPES pH 7.3, 50 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 20 mM Na₂MoO₄, 0.01 % NP-40), 30 nM 재조합 Hsp90 α 전장 단백질, 5 nM 플루오레세인 이소티오시아나이트 표지된 겔다나마이신[fluorescein isothiocyanate labeled geldanamycin (GA-FITC)] 억제제, 0.1 mg/mL 소 글로불린(Bovine globulin; BGG), 2 mM 1,4-디티오프레이톨(dithiothreitol; DTT), Oxo-DPide(0.001, 0.01, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 μ M)를 첨가하였다. 모든 웰에 HFB 완충액을 최종 부피 100 μ L로 처리하고, 플레이트를 4°C에서 16시간 동안 배양하였다. mP(millipolarization units)의 분극 값은 495 nm에서의 여기 파장 및 530 nm에서의 방출 파장에서 측정하였다. 모든 실험 데이터는 프리즘 소프트웨어(Prism software, version 5.0, Graphpad Software, San Diego, CA)를 사용하여 분석하였다.

표 1

Compound	Hsp90 α (FP) ^a (IC ₅₀ ; nM)	H1975 (GI ₅₀ ; μ M)	MDA-MB-231 (GI ₅₀ ; μ M)
Oxo-DPide (1)	73.7	20.7	35.8

[0067]

[0069]

FITC-표지 젤다나마이신을 이용한 형광 탐침 분석에 의해 인간 Hsp90 α 에 대한 Oxo-DPide의 직접 결합 친화력을 측정하였다. 그 결과, 도 2A 및 표 1를 참조하여 보면, Oxo-DPide는 Hsp90 α 의 ATP 결합 주머니에 직접 결합하여 IC₅₀ 값은 73.7 nM인 것을 확인할 수 있었다.

[0070]

다음으로 게피티닙(gefitinib) 내성 비소세포성 폐암 세포주(H1975) 및 삼중 음성 유방암 세포주(MDA-MB-231)에서 Oxo-DPide에 의한 항 증식 효과를 분석하였다. 그 결과, 도 2B를 참조하여 보면, 형광 편광 분석의 결과와 일치하게, Oxo-DPide는 H1975 및 MDA-MB-231 세포에 대해 각각 20.7 μ M 및 35.8 μ M의 매우 강력한 항 증식 활성을 나타내는 것을 확인하였다.

[0072]

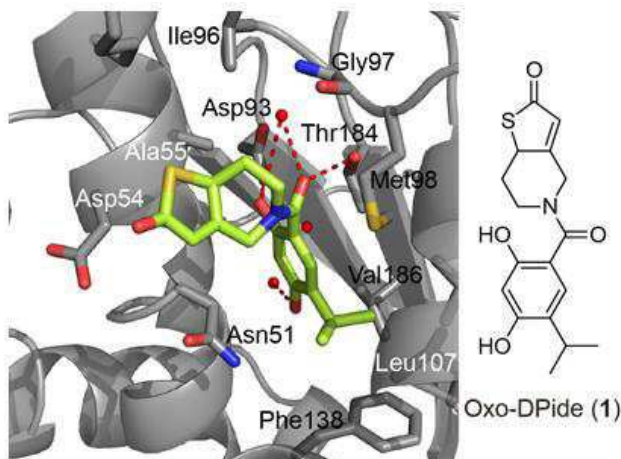
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술한 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0073]

본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1



도면2

