(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0044521
(43) 공개일자 2021년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 237/28 (2006.01) *A61K 31/502* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 237/28 (2013.01)
A61K 31/502 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0127785
(22) 출원일자 2019년10월15일
심사청구일자 2019년10월15일

(71) 출원인
건양대학교산학협력단
충청남도 논산시 대학로 121 (내동)
성균관대학교산학협력단
경기도 수원시 장안구 서부로 2066 (천천동, 성균관대학교내)
(72) 발명자
김인수
경기도 수원시 장안구 정자로42번길 52, 741동 1705호(천천동, 비단마을 베스트타운)
이희영
대전광역시 서구 관저동로90번길 15, 104동 304호(관저동, 관저리슈빌)
조경화
대전광역시 유성구 상대남로 26, 914동 202호(상대동, 도안신도시9블록 트리풀시티아파트)
(74) 대리인
특허법인도담

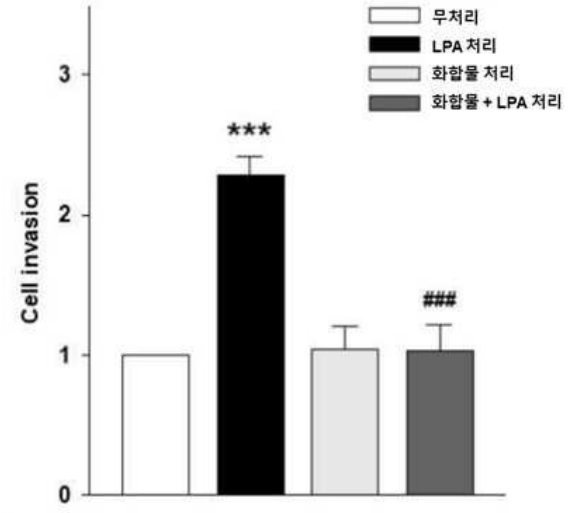
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **오토탁신 또는 리소포스파티드산에 의해 유도된 암세포 침윤을 억제하는 항암용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 개시내용은 디메틸 2-(4-(메톡시카보닐)-6-메틸-3-옥소-2-p-톨릴-2,3-디하이드로시놀리-8-닐)말로네이트가 오토탁신 또는 리소포스파티드산에 의한 암세포의 침윤을 저해하여 암세포의 침윤, 전이, 증식, 이동을 억제할 수 있는 항암용 약학적 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2017R1E1A1A01074091
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공분야기초연구사업
연구과제명 Endosome 재순환을 통한 세포이동 및 제어연구
기 여 율 50/100
과제수행기관명 건양대학교
연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2019R1A4A2001451
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 기초연구실후속연구
연구과제명 레이트스테이지 약물 최적화 연구실
기 여 율 50/100
과제수행기관명 성균관대학교(자연과학캠퍼스)
연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.28

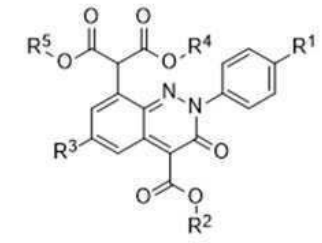
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 용매화물 또는 약제학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



상기 R^1, R^2, R^3, R^4 및 R^5는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 6개의 알킬기임.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 R^1, R^2, R^3, R^4 및 R^5는 메틸인 화합물, 이의 이성질체, 용매화물 또는 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제 2항의 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약제학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 조합을 포함하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서,

항암제를 더 포함하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 항암제는 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리툭시맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맙, 게피티니브, 보르테조밉, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맙, 시스플라틴, 세툭시맙, 비스쿰알붐, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겜투주맵오조가마이신, 이브리투모맙튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레불린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀뮴 키토산, 젬시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토푸린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 부설판, 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 적어도 하나인 항암용 약학적 조성물.

청구항 6

제 3 내지 5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항암용 약학적 조성물은 암세포 침윤 억제용 약학적 조성물인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 7

제 3 내지 5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항암용 약학적 조성물은 백혈병, 갑상선암, 유방암, 담도암, 담낭암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 폐암, 방광암, 신장암, 난소암, 전립선암, 자궁암, 두경부암, 피부암 및 간암으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나의 암을 대상으로 하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 8

제 3 내지 5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항암용 약학적 조성물은 유방암 및 난소암 중 적어도 하나의 암을 대상으로 하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 9

제 3 내지 5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항암용 약학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여하는 것을 특징으로 하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 10

제 3 내지 5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항암용 약학적 조성물의 투여량은 0.001 ㎎/kg 내지 100 ㎎/kg인 것을 특징으로 하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 11

제 3 내지 5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 조합의 유효한 양은 상기 약학적 조성물 당 0.5 ㎍ 내지 2 g인 것을 특징으로 하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 12

제 4항 또는 5항에 있어서,

상기 항암용 약학적 조성물과 항암제의 비율은 1: 0.001 내지 1000인 것을 특징으로 하는 항암용 약학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시내용은 오토탁신 또는 리소포스파티드산에 의해 유도되는 암세포 침윤을 억제하는 약학적 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 암세포에서 분비되는 오토탁신 또는 리소포스파티드산에 의해 단백질을 분해하여 침윤 과정을 통해 다른 장기로 전이되는 것을 억제하여 항암활성을 나타낼 수 있는 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 오토탁신(Autotaxin, ATX)은 엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포다이에스터라제 2 또는 리소포스포리파제 D(lysophospholipase D)로도 지칭되는 효소인데, 상기 효소는 복수 및 혈장에서의 리소포스파티드산(Lysophosphatidic acid, LPA)의 증가의 원인이 되는 것으로, 리소파티딜콜린(LPC)을 생활성 신호화 분자인 리소포스파티드산(LPA)으로 전환하는데 중요한 분비 효소이다.

[0003] 오토탁신에 의해서 생성되는 리소포스파티드산은 초기 연구에는 혈소판이 활성될 때 생성되는 것으로 알려져 지

혈, 상처 치유 및 조직 재생과 관련이 있는 것으로 보고되었다. 그러나 최근의 연구에 따르면 LPA는 각종 생리활성에 관여하는데, 암환자에게는 오토탁신의 작용에 의하여 과도하게 생성된 LPA가 암세포 성장, 이동(migration), 전이(metastasis), 침윤(invasion), 콜로니 형성(colony formation)을 촉진하여 이로 인한 사망의 주요 원인이 되는 것으로 알려지게 되었다. 특히 신장암(renal cell carcinoma), 전이가 심한 난소암 및 유방암, 갑상선암(thyroid carcinoma), 호지킨 림프종(Hodgkin lymphomas), 신경모세포종(neuroblastoma), 침습성 다형성 교모세포종(invasive glioblastoma multiforme), 전립선암, 및 피부암(melanomas)등과 같은 암 환자의 암세포에서 오토탁신(autotaxin)이 과다하게 생성 분비되고, 분비된 오토탁신은 LPC를 LPA로 전환시키는데, 이렇게 생성된 LPA는 정상인의 약 40배가 발견되어, 다양한 암세포의 성장, 전이, 침윤 등을 촉진시키는 것으로 보고되고 있다.

[0004] 리소포스파티드산(LPA)는 다양한 암세포의 이동, 증식, 및 생존에 영향을 미치는 생리활성 지질이고, 이런 리소포스파티드산(LPA)의 혈장 수준은 오토탁신(ATX) 활성과 매우 연관되어 있다. 따라서 종양 환자를 치료하기 위해 리소포스파티드산(LPA)과 이를 유도하는 오토탁신(ATX)의 수준을 낮추는 것이 바람직하고, 또는 이들에 의한 암세포 침윤을 억제시키는 것이 중요하다. 따라서 암세포의 침윤을 막아 암세포의 증식과 전이를 효율적으로 막을 수 있는 약학적 조성물이 요구된다. 또한 계속된 치료에 의해 암세포는 치료제에 저항성을 갖게 된다. 따라서 오토탁신 또는 리소포스파티드산에 의한 암세포 침윤을 막는 약학적 조성물의 다양성 연구가 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

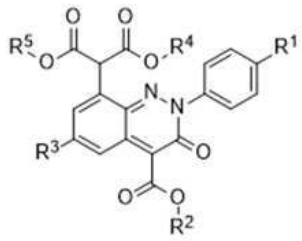
[0005] 본 개시내용은 오토탁신 및/또는 리소포스파티드산에 의해 유도되는 암세포의 침윤을 억제하는 신규한 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약제학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 조합을 포함한 항암용 약학적 조성물이 제공된다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 개시내용의 일 구체예에 의하면,

[0007] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 용매화물 또는 약제학적으로 허용가능한 염이 제공된다.

[0008] [화학식 1]

[0009] 

[0010] 상기 R^1, R^2, R^3, R^4 및 R^5는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 6개의 알킬기일 수 있다.

[0011] 다른 구체예에 의하면,

[0012] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약제학적으로 허용가능한 염 또는 이의 조합을 포함하는 항암용 약학적 조성물이 제공된다.

[0013] 다른 구체예에 의하면,

[0014] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약제학적으로 허용가능한 염 또는 이의 조합을 포함하는 암세포 침윤 억제용 약학적 조성물이 제공된다.

발명의 효과

[0015] 본 개시내용의 항암용 약학적 조성물은 오토탁신 또는 리소포스파티드산에 의한 암세포 침윤에 대하여 높은 억제효과가 있다. 나아가 다른 부위로 침윤하는 것을 효과적으로 억제하여 암의 증식, 전이, 이동 가능성을 현저

히 낮출 수 있다.

[0016] 한편 본 개시내용의 암세포 침윤 억제용 약학적 조성물에 항암제를 더 포함시키거나 항암제와 병용투여시, 보다 효율적인 항암효과를 얻을 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 디메틸 2-(4-(메톡시카보닐)-6-메틸-3-옥소-2-p-톨릴-2,3-디하이드로시놀리-8-닐)말로네이트의 ^{1}H-NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 2는 디메틸 2-(4-(메톡시카보닐)-6-메틸-3-옥소-2-p-톨릴-2,3-디하이드로시놀리-8-닐)말로네이트의 ^{13}C-NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 3은 본 개시내용의 약학적 조성물이 리소포스파티드산에 의해 난소암세포의 침윤촉진을 억제하는 효과를 도식화한 것이다.

도 4는 본 개시내용의 약학적 조성물이 오토탁신에 의해 난소암세포의 침윤촉진을 억제하는 효과를 도식화한 것이다.

도 5는 본 개시내용의 약학적 조성물이 리소포스파티드산에 의해 유방암세포의 침윤촉진을 억제하는 효과를 도식화한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

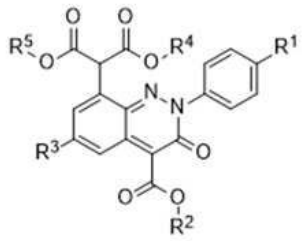
[0018] 본 개시내용은 하기의 설명에 의하여 모두 달성될 수 있다. 하기의 설명은 본 개시내용의 구체예를 기술하는 것으로 이해되어야 하며, 본 개시내용이 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 첨부된 도면은 이해를 돕기 위한 것으로, 본 개시내용이 이에 한정되는 것이 아님을 이해하여야 한다.

[0019] 본 개시내용의 실시예는 다양한 변경을 가할 수 있고, 다양한 형태로 실시할 수 있다. 따라서, 본 개시내용의 사상 및 기술적 특징의 동일성이 인정되는 범위의 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해하여야 한다.

[0020] 달리 명시하지 않았더라도, 본 개시내용에 사용된 모든 숫자는 모든 경우마다 "약"이란 용어가 수식하고 있는 것으로 이해되어야 한다. 수식어 "약"은 통상적으로 인식되는 대략적으로의 의미를 갖도록 하기 위한 것인데, 이는 수식된 값의 특정 퍼센트 이내의 의미로서 더욱 정확하게 해석될 수 있고, 보다 구체적으로는 ±20%, ±10%, ±5%, ±2% 또는 ±1% 또는 그 미만을 의미할 수 있다.

[0022] 본 개시내용에 따른 항암용 약학적 조성물은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약제학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0023] [화학식 1]



[0024]

[0025] 상기 R^1, R^2, R^3, R^4 및 R^5는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 6개의 알킬기일 수 있다. 구체적으로 상기 R^1, R^2, R^3, R^4 및 R^5는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, tert-부틸, 이소부틸, sec-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, sec-펜틸, tert-펜틸, n-헥실, 이소헥실, tert-헥실, 및 sec-헥실로 이루어진 군에서 각각 독립적으로 선택될 수 있다. 특정구체예에 의하면 상기 R^1, R^2, R^3, R^4 및 R^5는 모두 메틸기일 수 있다.

[0027] 본 개시내용의 항암용 약학적 조성물은 암세포의 증식, 전이, 이동 또는 침윤을 막는 효과를 가질 수 있다. 구체적으로 상기 항암용 약학적 조성물은 암세포 침윤 억제용 약학적 조성물일 수 있다. 보다 구체적으로 상기 약학적 조성물은 오토탁신 또는 리소포스파티드산에 의해 유도되는 암세포의 침윤을 저해하는 암세포 침윤 억제용 조성물일 수 있다.

[0028] 상기 약학적으로 허용가능한 염은 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는 염일 수 있다. 상기 염은 예를 들면 무기산염, 유기산염 및 금속염으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0029] 일 구체예에 의하면 무기산염은 염산염, 브롬산염, 인산염, 황산염 및 이황산염으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나일 수 있고, 유기산염은 메실산염, 포름산염, 아세트산염, 프로피온산염, 젖산염, 옥살산염, 주석산염, 말산염, 말레인산염, 구연산염, 푸마르산염, 베실산염, 캠실산염, 에디실염, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산염, 벤조산염, 글루콘산염, 메탄술폰산염, 글리콜산염, 숙신산염, 4-톨루엔술폰산염, 갈룩투론산염, 엠본산염, 글루탐산염, 에탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 및 아스파르트산염으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나일 수 있으며, 금속염은 칼슘염, 나트륨염, 마그네슘염, 스트론튬염 및 칼륨염으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0030] 상기 용매화물(solvate)은 용질과 용매 분자간의 인력에 의해 형성된 화합물일 수 있다. 상기 용매화물은 예를 들어 수화물(hydrate)일 수 있다.

[0031] 상기 약학적 조성물은 암이 발병할 수 있는 개체를 대상으로 하는 약학적 조성물일 수 있다. 구체적으로 암이 발병할 수 있는 개체는 동물을 의미할 수 있으며, 상기 동물은 인간, 소, 말, 돼지, 개, 양, 염소, 원숭이 또는 고양이일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0032] 본 개시내용의 약학적 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 분말, 캡슐, 정제, 수성 현탁액, n중정(n은 2, 3 또는 4), 구강붕해정, 설하정 또는 필름정 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0033] 본 개시내용의 약학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활탁제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소 및 향료로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나를 사용할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제 또는 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제 또는 보존제 등을 혼합하여 사용할 수 있다.

[0034] 본 개시내용의 약학적 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약학적으로 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 있고, 또한 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형할 수 있다.

[0035] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 또는 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 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, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0036] 본 개시내용에 따른 약학적 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥 내, 근육 내, 동맥 내, 골수 내, 경막 내, 심장 내, 경피, 피하, 복강 내, 비강 내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투여가 바람직하다.

[0037] 본 개시내용에서 "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 개시내용의 약학적 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.

[0038] 본 개시내용에서 “암”은 악성 종양으로 빠른 성장과 침윤성 성장, 신생혈관생성효과를 가져 체내 각 부위에 확산, 전이하여 생명에 위험을 초래하는 악성 종양을 의미할 수 있으며, 인체의 모든 부위에서 발병할 수 있다. 구체적으로 “암”은 백혈병, 갑상선암, 유방암, 담도암, 담낭암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 식도암, 위암,

뇌암, 직장암, 폐암, 방광암, 신장암, 난소암, 전립선암, 자궁암, 두경부암, 피부암 및 간암으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나일 수 있으나, 위에 한정되는 것은 아니다.

[0039] 상기 약학적 조성물은 상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 조합을 유효한 양으로 포함할 수 있다. 용어 "유효한 양"은 필요로 하는 개체에게 투여되는 경우 본 개시내용의 목적에 따른 효과를 나타내기에 충분한 양을 말한다. 상기 유효한 양은 본 개시내용이 속한 분야의 통상의 기술자가 선택되는 세포 또는 개체에 따라 적절하게 선택할 수 있다. 질환의 중증도, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 사용된 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 용매화물, 약학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 조합의 유효한 양은 예를 들어 상기 약학적 조성물 당 약 0.5 ㎍ 내지 약 2 g일 수 있고, 예를 들어 약 1 ㎍ 내지 약 1 g일 수 있고, 예를 들어 약 10 ㎍ 내지 약 500 ㎎일 수 있고, 예를 들어 약 100 ㎍ 내지 약 100 ㎎일 수 있고, 예를 들어 약 1 ㎎ 내지 약 90 ㎎일 수 있고, 예를 들어 약 5 ㎎ 내지 약 80 ㎎일 수 있고, 예를 들어 약 10 ㎎ 내지 약 70 ㎎일 수 있고, 예를 들어 약 15 ㎎ 내지 약 60 ㎎일 수 있고, 또는 예를 들어 약 20 ㎎ 내지 약 50 ㎎일 수 있다.

[0040] 상기 약학적 조성물의 투여량은 예를 들어, 성인 기준으로 약 0.001 ㎎/㎏ 내지 약 100 ㎎/㎏일 수 있고, 예를 들어 약 0.01 ㎎/㎏ 내지 약 10 ㎎/㎏일 수 있고, 또는 에를 들어 약 0.1 ㎎/㎏ 내지 약 1 ㎎/㎏ 일 수 있다. 상기 투여횟수는 1 일 1회, 1 일 다회, 1주 2 내지 3회, 1달 1 내지 4회 또는 1년 1 내지 12회 투여될 수 있다.

[0041] 본 개시내용에 따르면, 상기 약학적 조성물에 다른 항암제가 더 포함될 수 있다. 구체적으로 화학식 1로 표시되는 화합물과 다른 항암제의 유효성분이 포함된 비율은 예를 들어 1 : 약 0.001 내지 1000일 수 있고, 예를 들어 1 : 약 0.01 내지 100일 수 있고, 또는 예를 들어 1 : 약 0.1 내지 10일 수 있다.

[0042] 본 개시내용의 약학적 조성물은 단독으로, 혹은 다른 항암제를 혼합하여 사용할 수 있고, 혹은 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 기타 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0043] 상기 “다른 항암제”는 항암제로 상용되고 있는 화합물, 추출물, 합성의약품, 바이오의약품 등을 포함한 의약품일 수 있고, 항암효과를 기대할 수 있는 기작을 가진 것으로 보고된 화합물, 추출물, 단백질, 세포, 체내분비물일 수 있다. 특정 구체예에 따르면 상기 항암제로는 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리툭시맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맙, 게피티니브, 보르테조밉, 수니티닙, 카보플라틴, 베바시주맙, 시스플라틴, 세툭시맙, 비스쿰알붐, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겜투주맵오조가마이신, 이브리투모맙튜세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레불린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀뮴 키토산, 젬시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토푸린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 부설판, 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 적어도 하나를 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

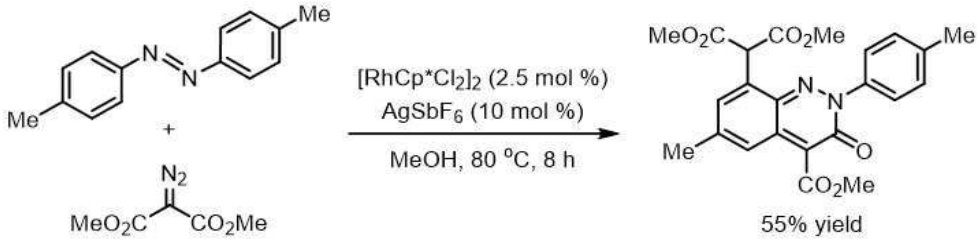
[0045] 하기 실시예를 통해 본 개시내용을 보다 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시예에 의해 본 개시내용이 한정되는 것은 아니다.

[0047] **실시예 1 : 디메틸 2-(4-(메톡시카보닐)-6-메틸-3-옥소-2-p-톨릴-2,3-디하이드로시놀리-8-닐)말로네이트의 제조**

[0049] 하기 반응식 1에 도시한 바와 같이, 2.5 mol %의 $[RhCp^*Cl_2]_2$ 촉매, 10 mol %의 $AgSbF_6$ 첨가제 및 1.0 mL의 메탄올 용매 하에서, 0.2 mmol의 (E)-1,2-di(p-tolyl)diazene과 0.6 mmol의 dimethyl 2-diazomalonate를 80 ℃에

서 8시간 동안 교반하였으며, 최종 생성물인 디메틸 2-(4-(메톡시카보닐)-6-메틸-3-옥소-2-p-톨릴-2,3-디하이드로시놀리-8-닐)말로네이트는 컬럼 크로마토그래피(column chromatography)로 분리하였고, 수득률은 55%로 나타났다.

[0051] [반응식 1]



[0052]

[0054] **실시예 2 : NMR 분석을 통한 디메틸 2-(4-(메톡시카보닐)-6-메틸-3-옥소-2-p-톨릴-2,3-디하이드로시놀리-8-닐)말로네이트의 구조 분석**

[0056] 반응식 1을 통하여 생성된 디메틸 2-(4-(메톡시카보닐)-6-메틸-3-옥소-2-p-톨릴-2,3-디하이드로시놀리-8-닐)말로네이트의 구조를 규명하기 위하여 핵자기공명(nuclear magnetic resonance: NMR), 적외선분광법(infrared spectrometry: IR) 및 질량분석법을 수행하였다.

[0057] ^{1}H-NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ 7.59 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.20 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 5.51 (s, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.74 (s, 6H), 2.42 (s, 3H), 2.40 (s, 3H); ^{13}C-NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ 168.0, 165.2, 156.8, 144.4, 139.3, 139.1, 137.3, 132.0, 131.2, 131.1, 129.2, 125.1, 123.4, 120.5, 53.0, 52.9, 51.2, 22.8, 21.2; IR (KBr) υ 2953, 2923, 1732, 1712, 1649, 1634, 1486, 1433, 1314, 1206, 1150, 1085, 1018, 968, 752 cm^{-1}; HRMS (EI) calcd for $C_{23}H_{22}N_2O_7$ [M]+ 438.1427, found 438.1426.

[0059] **실시예 3 : 암세포 침윤 억제효과**

[0060] 본 개시내용의 화학식 1로 표시되는 화합물의 효과를 검증하기 위하여 보이든 챔버 시험(Boyden chamber assay)를 이용한 암세포 침윤분석을 실시하였다. 약물의 농도는 보통 암세포의 침윤이나 이동 억제에 대한 실험을 실시할 때 약물이 암세포의 성장을 억제하면 안되기 때문에 암세포의 성장을 15% 이상 억제하지 않는 농도의 약물을 암세포에 처치하였다. 상기 화합물이 암세포의 성장에 영향을 주지 않는 농도를 알아보기 위하여 MTT 실험을 실시하였다. 그 결과 암세포에 20 μM을 처리하여도 암세포의 성장을 15% 이상 억제하지 않았다. 이에 따라 상기 화합물을 각 암세포에 10 μM로 처리하였다.

[0061] 8 μm 크기의 기공막을 갖는 타입 I 콜라겐-코팅되었고, 폴리비닐피롤리딘 없는 폴리카보네이트 필터를 암세포 침윤분석에 사용하였다. 시료를 37 ℃에서 이동(migration)을 위한 6시간과 침윤(invasion)을 위한 17시간동안 인큐베이션한 후, 이동 또는 침윤된 세포를 순차적으로 고정시키고, Diff-Quik 시약(Dade Behring Inc., Newark, DE, USA)으로 염색하였다. 광학 현미경으로 세포의 수를 세어 정량하였다.

[0063] **실시예 3-1 : LPA에 의해 유도된 난소암세포 침윤에 대한 억제효과**

[0064] 시험관 내 수준에서 암세포 침습억제효과를 확인하기 위하여 보이든 챔버 어세이(boyden chamber assay)를 수행하였다. 도 1에서 확인할 수 있듯이, 1×10^{6}개의 난소암세포에 LPA를 처리한 결과, 난소암세포의 침윤이 증가하였으며, 상기 화합물을 전처리한 결과 LPA에 의한 난소암세포의 침윤 증가효과가 억제되어 무처리한 상태와 유

사정도가 됨을 관찰하였다.

[0066] **실시예 3-2 : Autotaxin에 의해 유도된 난소암세포 침윤에 대한 억제효과**

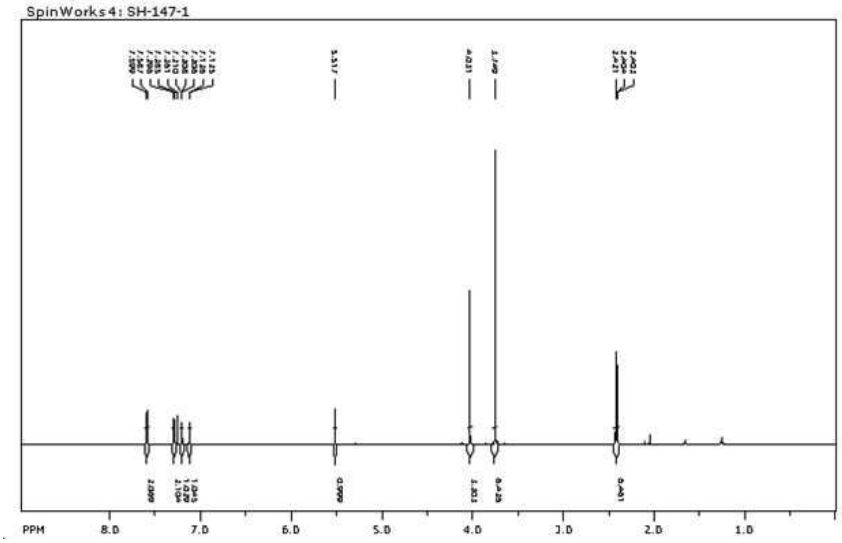
[0067] 시험관 내 수준에서 암세포 침습억제효과를 확인하기 위하여 보이든 챔버 어세이(boyden chamber assay)를 수행하였다. 도 2에서 확인할 수 있듯이, 1×10^{6}개의 난소암세포에 ATX를 처리한 결과, 난소암세포의 침윤이 증가하였으며, 상기 화합물을 전처리한 결과 ATX에 의한 난소암세포의 침윤 증가효과가 억제되어 무처리한 상태와 유사정도가 됨을 관찰하였다.

[0069] **실시예 3-3 : LPA에 의해 유도된 유방암세포 침윤에 대한 억제효과**

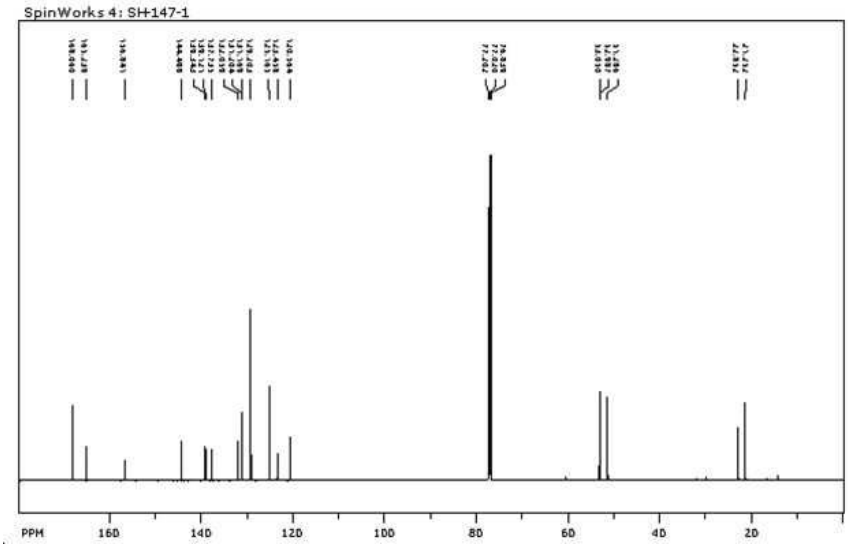
[0070] 시험관 내 수준에서 암세포 침습억제효과를 확인하기 위하여 보이든 챔버 어세이(boyden chamber assay)를 수행하였다. 도 3에서 확인할 수 있듯이, 4×10^{5}개의 유방암세포에 LPA를 처리한 결과, 유방암세포의 침윤이 증가하였으며, 상기 화합물을 전처리한 결과 LPA에 의한 유방암세포의 침윤 증가효과가 크게 억제되는 것을 관찰하였다. 한편 유방암세포에 대하여 TGF β-1 세포 처리로 증가된 침윤효과 역시 화합물 처리시 크게 감소되는 것을 관찰하였다.

도면

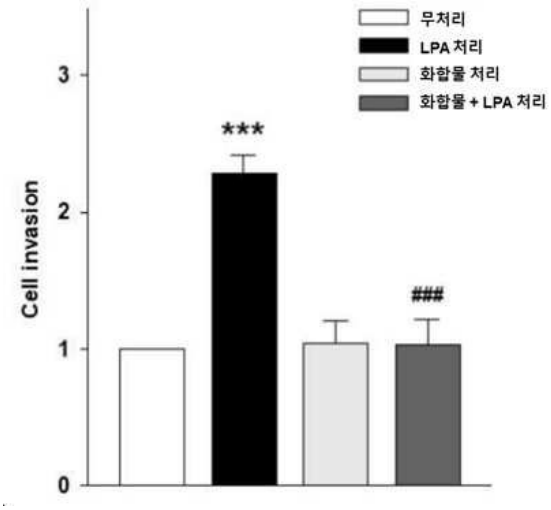
도면1



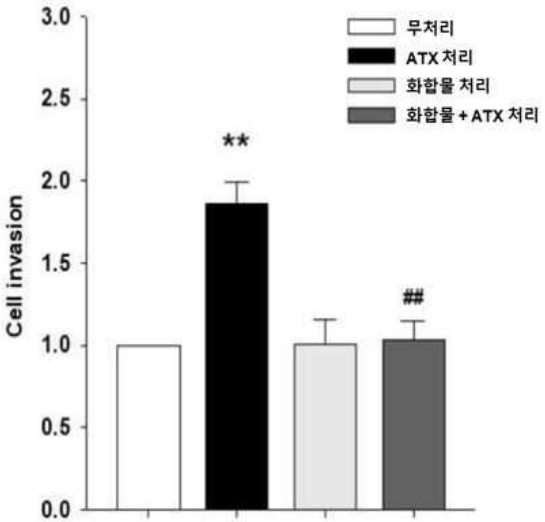
도면2


SpinWorks 4: SH-147-1
PPM
160
140
120
100
80
60
40
20

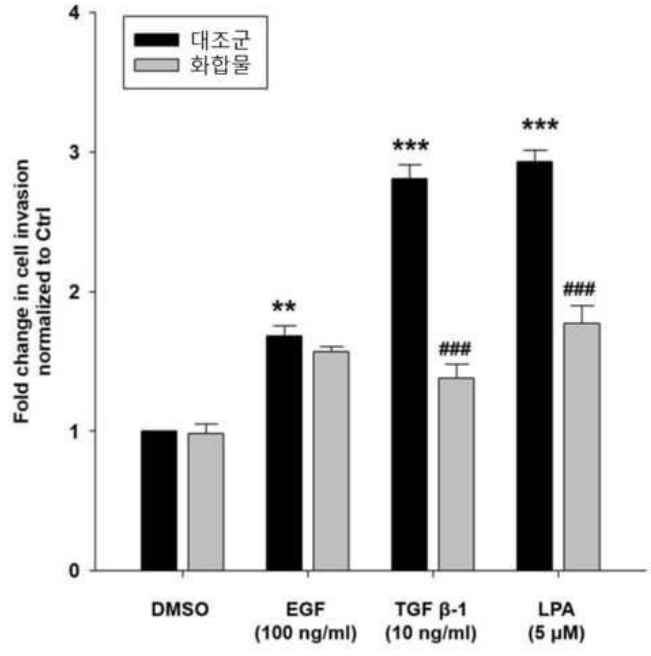
도면3


무처리
LPA 처리
화합물 처리
화합물 + LPA 처리
Cell invasion
0
1
2
3
***
###

도면4


무처리
ATX 처리
화합물 처리
화합물 + ATX 처리
Cell invasion
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
**
##

도면5


대조군
화합물
Fold change in cell invasion normalized to Ctrl
4
3
2
1
0
**
***
***
###
###
DMSO
EGF (100 ng/ml)
TGF β-1 (10 ng/ml)
LPA (5 μM)