(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0146969
(43) 공개일자 2024년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7068 (2006.01) *A61K 33/36* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/7068 (2013.01)
A61K 33/36 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0042232
(22) 출원일자 2023년03월30일
심사청구일자 2024년01월04일

(71) 출원인
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
탁은영
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
김송철
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 221동 2022호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이명진

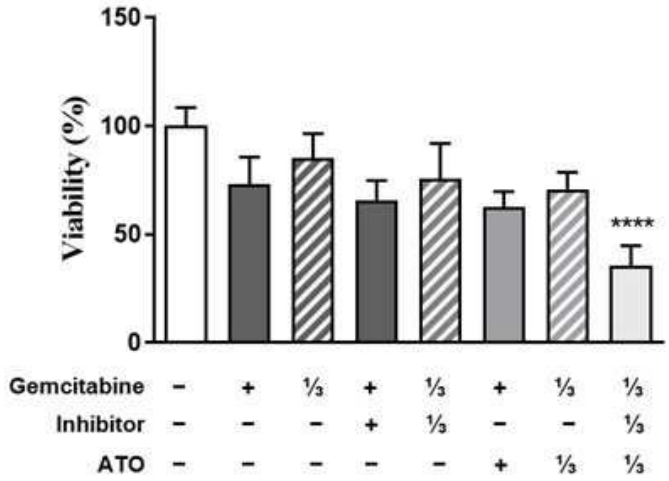
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소를 포함하는 암 예방, 개선, 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소를 포함하는 암 예방, 개선, 또는 치료용 조성물 등에 관한 것으로, 젬시타빈(gemcitabine), 삼산화비소, miR-342-3p 억제제의 병용 투여에 따른 췌장암 치료 효과를 확인한 결과, 상기 약물들을 단독으로 투여하는 것에 비해 병용 투여했을 때 췌장암 세포에 대한 항암 작용이 보다 효과적으로 유도되는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명에 따른 젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소의 병용 사용은 췌장암 치료에 다양하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자
이주영
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
김지예
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
이륜진
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
이은경
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
곽봉준
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서관 10층 외과의국 서울아산병원

명 세 서

청구범위

청구항 1

젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소가 혼합된 혼합제 형태인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소가 각각 제제화되어 동시에 (simultaneously), 또는 순차적으로 (sequentially) 투여되는 형태인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 암은 편평상피세포암, 신경교종, 폐암, 폐의 선암, 복막암, 피부암, 안암, 직장암, 항문부근암, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부갑상선암, 부신암, 골육종, 연조직 육종, 요도암, 혈액암, 간암, 위장암, 췌장암, 교아종, 경부암, 난소암, 방광암, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 두경부암, 구강암, 설암, 뇌암, 및 기질 종양으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소는 1:5 내지 15:1 내지 5 의 중량비로 포함되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 젬시타빈은 전체 조성물 대비 0.1 내지 0.5 중량%;

상기 miR-342-3p 억제제는 전체 조성물 대비 1 내지 5 중량%; 및

상기 삼산화비소는 전체 조성물 대비 0.5 내지 1 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 포함하는 암 예방 또는 치료용 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소를 포함하는 암 예방, 개선, 또는 치료용 조성물 등에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 췌장암은 다른 암에 비해 발생 빈도는 낮지만 기간별 암환자 사망률은 가장 높으며, 주변 장기나 림프절로 쉽게 전이되므로 예후가 가장 좋지 않은 암 중의 하나로 알려져 있다. 췌장암에 대하여 많은 연구가 진행되고 있지만, 지난 30년간 암환자의 5년 이상 생존율은 개선되지 않았고 췌장암으로 인한 사망률이 국내 암 사망률 중 5위를 차지하고 있다. 또한, 보건복지부 암 등록 본부에서 공개한 자료에서는 췌장암에 걸린 환자의 1년 이내 사망률이 약 80%로 생존율이 매우 낮은 것으로 보고되어 있다.

[0004] 또한, 췌장암은 초기 진단이 어렵고 전이율이 매우 빨라 수술을 할 수 있는 시점을 놓치는 경우가 많고, 치료를 위해 화학요법과 방사선 요법을 실시하고 있으나 그 효과가 낮다. 췌장암 환자에 가장 많이 사용하고 있는 항암제인 젬시타빈(gemcitabine)은 피리미딘 항대사물질로, 제 2상 연구에서 관해율이 6 - 11%로 나타났다. 상기 젬시타빈을 초기에 췌장암 환자에게 적용 시, 다른 약물에 비해 부작용이 낮아서 다른 약물과 혼합하여 복합제로 쓰이기도 한다.

[0005] 젬시타빈과 병용 투여를 통해 효과를 극대화시키고, 부작용을 최소화시키는 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 예를 들어, 아브락산과 젬시타빈을 병용 투여하기도 하며, 표적 치료제인 타세바와 젬시타빈을 병용 투여하기도 한다. 또한, 시스플라틴과 젬시타빈을 병용 투여 하기도 한다. 하지만, 환자의 생존률를 더욱 향상시키고, 부작용을 최소화하기 위한 방법은 여전히 연구과제로 남아있다.

[0006] 한편, 전통적인 중국의학에서 항암제로서 사용된 삼산화비소(As_2O_3)는 장기간의 임상 실험에서 급성 전골수 백혈병(Acute premylocytic leukemia:APL)을 포함한 다양한 백혈병의 치료에 효과적인 것으로 알려져 왔을 뿐만 아니라, 방사선과의 병용 처리에 의한 방사선 민감도 증진작용에 대해 보고되었다.

[0007] 그러나, 삼산화비소는 가장 간편하고 부작용이 적은 투여방법인 경구투여 시, 심각한 위장 독성을 유도하는 것으로 보고되었다(Z.X. Shen et al., Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): II. Clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients. Blood 89 (1997) 3354-60).

[0008] 한편, miRNA(microRNA)는 21 내지 25 뉴클레오티드(nt)의 단일가닥 RNA 분자로서 mRNA의 3'-UTR에 결합하여 진핵생물의 유전자 발현을 제어하는 새로운 물질이다. miRNA의 생성은 Drosha(RNaseⅢtype 효소)에 의해 stem-loop 구조의 pre-miRNA로 만들어지고, 세포질로 이동하여 Dicer에 의해 절단되어 miRNA로 만들어진다. 이렇게 만들어진 miRNA는 표적단백질의 발현을 조절함으로써 발생, 세포증식 및 사멸, 지방대사, 종양형성 등에 관여한다. 이러한 기능을 갖는 miRNA가 최근에는 히스톤 디아세틸라아제(histone decaetylases. HDACs) 또는 DNA 메틸트랜스 퍼라아제(DNA methyl transferases, DNMTs) 외의 또 다른 후생적 조절자(epigenetic regulators)로 주목받고 있다.

[0009] miRNA는 수천 개의 포유동물 유전자를 조절할 것으로 예측되고 있으나, 아직까지는 상대적으로 적은 수의 표적(target)들 만이 실험적으로 검증되었다. 최근에는 마이크로 RNA가 암, 심혈관계질환, 자가면역질환 등 여러 질병에서 중요한 조절인자로 작용한다는 사실이 보고되고 있으며, 이에 따라 마이크로 RNA를 저해하는 질병 치료제들이 개발되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-2371980호

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) Z.X. Shen et al., Use of arsenic trioxide (As203) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): II. Clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients. Blood 89 (1997) 3354-60.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명자들은 젬시타빈(gemcitabine), 삼산화비소, miR-342-3p 억제제의 병용 투여에 따른 췌장암 치료 효과를 확인한 결과, 상기 약물들을 단독으로 투여하는 것에 비해 병용 투여했을 때 췌장암 세포에 대한 항암 작용이 보다 효과적으로 유도되는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0014] 따라서, 본 발명의 목적은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 다른 목적은 본 발명에 따른 약학적 조성물을 포함하는 암 예방 또는 치료용 키트를 제공하는 것이다.

[0017] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 약학적 조성물을 포함하는 암 예방 또는 치료용 키트를 제공한다.

[0021] 본 발명의 일 구현예로, 상기 약학적 조성물은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소가 혼합된 혼합제 형태일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0022] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 약학적 조성물은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소가 각각 제제화되어 동시에 (simultaneously), 또는 순차적으로 (sequentially) 투여되는 형태일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0023] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 암은 편평상피세포암, 신경교종, 폐암, 폐의 선암, 복막암, 피부암, 안암, 직장암, 항문부근암, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부갑상선암, 부신암, 골육종, 연조직 육종, 요도암, 혈액암, 간암, 위장암, 췌장암, 교아종, 경부암, 난소암, 방광암, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 두경부암, 구강암, 설암, 뇌암, 및 기질 종양으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0024] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소는 1:5 내지 15:1 내지 5 의 중량비로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0025] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 젬시타빈은 전체 조성물 대비 0.1 내지 0.5 중량%; 상기 miR-342-3p 억제제는 전체 조성물 대비 1 내지 5 중량%; 및 상기 삼산화비소는 전체 조성물 대비 0.5 내지 1 중량%로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0026] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0027] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 이를 필요로 하는 개체에 병용 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0028] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 포함하는 조성물의 암 예방 또는 치료 용도를 제공한다.

[0029] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소의 병용 투여 용도를 제공한다.

[0030] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 포함하는 조성물의 암 치료제 제조를 위한 용도를 제공한다.

[0031] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소의 암 치료용 병용 투여용 제제의 제조를 위한 용도를 제공한다.

발명의 효과

[0033] 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소를 포함하는 암 예방, 개선, 또는 치료용 조성물 등에 관한 것으로, 젬시타빈(gemcitabine), 삼산화비소, miR-342-3p 억제제의 병용 투여에 따른 췌장암 치료 효과를 확인한 결과, 상기 약물들을 단독으로 투여하는 것에 비해 병용 투여했을 때 췌장암 세포에 대한 항암 작용이 보다 효과적으로 유도되는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명에 따른 젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소의 병용 사용은 췌장암 치료에 다양하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소의 단독 투여 또는 병용 투여에 따른 췌장암 세포의 생존율을 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 2는 젬시타빈, miR-342-3p 억제제 및 삼산화비소의 단독 투여 또는 병용 투여에 따른 췌장암 세포의 콜로니 형성능을 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 본 발명자들은 젬시타빈(gemcitabine), 삼산화비소, miR-342-3p 억제제의 병용 투여에 따른 췌장암 치료 효과를 확인한 결과, 상기 약물들을 단독으로 투여하는 것에 비해 병용 투여했을 때 췌장암 세포에 대한 항암 작용이 보다 효과적으로 유도되는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0037] 구체적으로, 본 발명의 일 실시예에서는 췌장암 세포에 젬시타빈(gemcitabine), 삼산화비소, 및 miR-342-3p 억제제를 병용 처리한 결과, 각 약물들의 단독 투여에 비해 병용 투여한 경우, 췌장암 세포의 사멸이 보다 효과적으로 유도되는 것을 확인하였다 (실시예 1 및 2 참조).

[0038] 본 발명의 다른 실시예에서는 췌장암 세포에 젬시타빈(gemcitabine), 삼산화비소, 및 miR-342-3p 억제제를 병용 처리한 결과, 각 약물들의 단독 투여에 비해 병용 투여한 경우, 췌장암 세포의 콜로니 형성능이 보다 효과적으로 억제되는 것을 확인하였다 (실시예 3 참조).

[0040] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

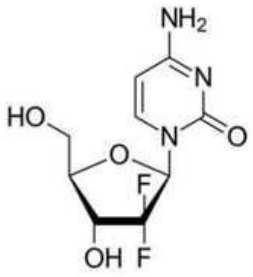
[0042] 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0043] 본 발명에서 사용된 용어 "젬시타빈(gemcitabine)"은 하기 화학식 1로 표시되는 피리미딘 유사체로서, DNA 복제에 필요한 dCTP의 합성에 관여하는 리보뉴클레오티드 환원효소(ribonucleotide reductase)를 억제하고 DNA 폴리

머라아제 α/ε을 저해하여 세포 성장을 억제하는 항 대사약물(antimetabolite)의 일종이다.

화학식 1

[0044]



[0046] 본 발명에서 사용된 용어 "삼산화비소(Arsenic III oxide; ATO; As_2O_3)"는 제올라이트에서 나온 광물물질을 가열·승화시켜 얻는 결정체로 고온 건조 시, 높은 순도의 백색 분말을 형성한다. 삼산화비소는 급성 백혈병 치료에 효과가 탁월하고, 건선, 관절염 등의 치료에 쓰이며, 그 외 방부제, 안료 제조 등에도 사용되는 것으로 알려져 있다.

[0047] 본 발명에서 사용된 용어 "miR", "miRNA", 또는 "microRNA(마이크로RNA)"는 표적 RNA의 3' UTR(비번역부위)에 결합하여 이의 분해(degradation)을 촉진시키거나 또는 그들의 번역을 억제시킴으로써 유전자 발현을 전사 후에 조절하는 21 내지 23개의 비코딩 RNA를 말한다. 일반적으로 마이크로 RNA는 pre-miRNA라 불리는 헤어핀 구조를 갖는 약 70-80nt(nucleotide) 길이의 전구체로 전사된 후, RNAse III 효소인 Dicer에 의해 잘려 성숙된 형태로 생성된다. 마이크로 RNA는 miRNP라 불리는 리보뉴클레오복합체를 형성하여 표적 부위에 상보적 결합을 통해 표적 유전자를 절단하거나, 번역을 억제한다. 30% 이상의 인간 miRNA는 클러스터로 존재하며, 하나의 전구체로 전사된 후, 절단 과정을 거쳐 최종 성숙 miRNA가 형성된다.

[0048] 본 발명에서 사용된 용어 "miR-342-3p 억제제"는 miR-342-3p의 발현 또는 활성 억제제로 miR-342-3p의 발현 및/또는 활성을 억제할 수 있는 임의의 물질을 포함한다. 이러한 물질은 예를 들면 안타고미르(antagomir), 안티센스 올리고뉴클레오티드, shRNA(short hairpin RNA) 분자, siRNA 분자, 시드 표적 LNA(Locked Nucleic Acid) 올리고뉴클레오티드, 디코이 올리고뉴클레오티드, 앱타머(aptamer), 리보자임(ribozyme), 또는 DNA:RNA 하이브리드를 인지하는 항체를 포함할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 miR-342-3p 억제제는 시드 표적 LNA(Locked Nucleic Acid) 올리고뉴클레오티드일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0049] 본 발명에서 사용된 용어 "안티센스 올리고뉴클레오티드"는 표적으로 하는 miRNA, 특히 miRNA의 시드 서열의 전부 또는 일부, 또는 miRNA 시드 서열의 전부 또는 일부를 포함하는 miRNA 전부 또는 일부와 상보적인 서열을 가지고 있어, miRNA와 이합체(duplex)를 형성할 수 있는 핵산-기반 분자를 포괄하는 것이다. 일 구현예에서는 RNA-RNA 이합체이다. 따라서 본원에 사용된 용어 "안티센스 올리고뉴클레오티드"는 "상보적 핵산-기반 억제제"로 나타낼 수 있다.

[0050] 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드에는 다양한 분자가 포함되며, 예를 들면 리보핵산(RNA), 디옥시리보핵산(DNA), 안타고미르, 2'-O-변형 올리고뉴클레오티드, 포스포로싸이오에이트-백본 디옥시리보뉴클레오티드, 포스포로싸이오에이트-백본 리보뉴클레오티드, PNA(peptide nucleic acid) 올리고뉴클레오티드 또는 LNA(locked nucleic acid) 올리고뉴클레오티드 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 상기 "LNA"는 변형 리보뉴클레오티드로서 리보오스 당 부위의 2' 내지 4' 탄소 사이에 추가적인 브릿지(bridge)를 포함하여 잠금(locked) 형태를 가지며, 이에 LNA가 있는 올리고뉴클레오티드는 개선된 열 안정성을 가지게 된다.

[0052] 상기 "PNA(peptide nucleic acids)"는 당-포스페이트 백본 대신에 펩타이드-기반 백본을 포함한다. 2'-O-변형 올리고뉴클레오티드는, 예를 들면 2'-O-알킬 올리고뉴클레오티드 등이 사용될 수 있다.

[0053] 본 발명에서 사용된 용어 "안타고미르(antagomir)"란, 단일-가닥의 화학적으로 변형된 올리고뉴클레오티드를

의미하는 것으로서, 내인성 microRNA의 차단(silence)에 사용된다.

[0054] 본 발명에서 사용된 용어 “상보적”이란, 소정의 혼성화 또는 어닐링(annealing) 조건, 바람직하게는 생리학적 조건 하에서 안티센스 올리고뉴클레오티드가 miR-342-3p 표적에 선택적으로 혼성화할 정도로 충분히 상보적인 것을 의미하며, 일부 또는 부분적으로 실질적으로 상보적(substantially complementary) 및 완전히 상보적(perfectly complementary)인 것을 모두 포괄하는 의미를 가지며, 바람직하게는 완전히 상보적인 것을 의미한다. 실질적으로 상보적이란, 완전히 상보적인 것은 아니지만, 표적 서열에 결합하여 본원에 따른 효과 즉, miR-342-3p의 발현 및/또는 활성을 방해하기에 충분한 효과를 낼 정도의 상보성을 의미하는 것이다.

[0055] 본 발명에서 사용된 용어, "암(cancer)"은 세포가 정상적인 성장 한계를 무시하고 분열 및 성장하는 공격적(aggressive) 특성, 주위 조직에 침투하는 침투적(invasive) 특성, 및 체내의 다른 부위로 퍼지는 전이적(metastatic) 특성을 갖는 세포에 의한 질병을 총칭하는 의미이다. 본 발명에 있어서, 상기 암의 종류에는 제한이 없으며, 상기 암은 편평상피세포암, 신경교종, 폐암, 폐의 선암, 복막암, 피부암, 안암, 직장암, 항문부근암, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부갑상선암, 부신암, 골육종, 연조직 육종, 요도암, 혈액암, 간암, 위장암, 췌장암, 교아종, 경부암, 난소암, 방광암, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 두경부암, 구강암, 설암, 뇌암, 및 기질 종양으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있고, 본 발명의 일 실시예에 따르면 상기 암은 췌장암일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0056] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물 내의 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소의 함량은 질환의 증상, 증상의 진행 정도, 환자의 상태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 상기 젬시타빈은 전체 조성물 대비 0.1 내지 0.5, 0.1 내지 0.4, 01 내지 0.3, 0.1 내지 0.2, 0.2 내지 0.3, 0.3 내지 0.39, 0.3 내지 0.37, 0.3 내지 0.35, 0.3 내지 0.33, 0.31 내지 0.33, 0.32 내지 0.33, 0.3 내지 0.4, 0.3 내지 0.5, 0.1, 0.2, 0.3, 0.31, 0.32, 0.33, 0.34, 0.35, 0.36, 0.37, 0.38, 0.39, 또는 0.4 중량%,;

[0057] 상기 miR-342-3p 억제제는 전체 조성물 대비 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2, 2 내지 3, 3 내지 3.9, 3 내지 3.7, 3 내지 3.5, 3 내지 3.3, 3.1 내지 3.3, 3.2 내지 3.3, 3 내지 4, 3 내지 5, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 또는 4 중량%; 및

[0058] 상기 삼산화비소는 전체 조성물 대비 0.5 내지 1, 0.5 내지 0.9, 0.5 내지 0.8, 0.5 내지 0.7, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.63 내지 0.7, 0.65 내지 0.7, 0.65 내지 0.68, 0.65 내지 0.67, 0.65 내지 0.66, 0.66 내지 0.67, 0.6, 0.61, 0.62, 0.63, 0.64, 0.65, 0.66, 0.67, 0.68, 0.69, 또는 0.7 중량% 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0059] 본 발명에 있어서, 상기 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소는 1:5 내지 15:1 내지 5, 1:5 내지 13:1 내지 5, 1:5 내지 11:1 내지 5, 1:7 내지 15:1 내지 5, 1:9 내지 15:1 내지 5, 1:9 내지 11:1 내지 5, 1:10:1 내지 5, 1:5 내지 15:1 내지 4, 1:5 내지 15:1 내지 3, 1:5 내지 15:2 내지 5, 1:5 내지 15:2 내지 3, 1:5 내지 15:2, 1:7 내지 15:2 내지 5, 1:9 내지 15:1 내지 4, 1: 9 내지 13:1 내지 3, 1:9 내지 11:2 내지 3, 또는 1:10:2 의 중량비로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0060] 본 발명에서 “약학적 조성물”은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨데, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화활 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 부형제는 예를 들어, 희석제, 결합제, 붕해제, 활택제, 흡착제, 보습제, 필름-코팅 물질, 및 제어방출첨가제로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0062] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 서방형 과립제, 장용과립제, 액제, 점안제, 엘실릭제, 유제, 현탁액제, 주정제, 트로키제, 방향수제, 리모나아데제, 정제, 서방형정제, 장용정제, 설하정, 경질캅셀제, 연질캅셀제, 서방캅셀제, 장용캅셀제, 환제, 틴크제, 연조엑스제, 건조엑스제, 유동엑스제, 주사제, 캡슐제, 관류액, 경고제, 로션제, 파스타제, 분무제, 흡입제, 패취제, 멸균주사용액, 또는 에어로졸 등의 외용제 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 외용제는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0063] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0064] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0065] 본 발명에 따른 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 트로키제의 첨가제로 옥수수전분, 감자전분, 밀전분, 유당, 백당, 포도당, 과당, 디-만니톨, 침강탄산칼슘, 합성규산알루미늄, 인산일수소칼슘, 황산칼슘, 염화나트륨, 탄산수소나트륨, 정제 라놀린, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 알긴산나트륨, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 카올린, 요소, 콜로이드성실리카겔, 히드록시프로필스타치, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC) 1928, HPMC 2208, HPMC 2906, HPMC 2910, 프로필렌글리콜, 카제인, 젖산칼슘, 프리모젤 등 부형제; 젤라틴, 아라비아고무, 에탄올, 한천가루, 초산프탈산셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 포도당, 정제수, 카제인나트륨, 글리세린, 스테아린산, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 히드록시셀룰로오스, 히드록시프로필스타치, 히드록시메칠셀룰로오스, 정제셀락, 전분호, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈 등의 결합제가 사용될 수 있으며, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 옥수수전분, 한천가루, 메칠셀룰로오스, 벤토나이트, 히드록시프로필스타치, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 알긴산나트륨, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 구연산칼슘, 라우릴황산나트륨, 무수규산, 1-히드록시프로필셀룰로오스, 덱스트란, 이온교환수지, 초산폴리비닐, 포름알데히드처리 카제인 및 젤라틴, 알긴산, 아밀로오스, 구아르고무(Guar gum), 중조, 폴리비닐피롤리돈, 인산칼슘, 겔화전분, 아라비아고무, 아밀로펙틴, 펙틴, 폴리인산나트륨, 에칠셀룰로오스, 백당, 규산마그네슘알루미늄, 디-소르비톨액, 경질무수규산 등 붕해제; 스테아린산칼슘, 스테아린산마그네슘, 스테아린산, 수소화식물유(Hydrogenated vegetable oil), 탈크, 석송자, 카올린, 바셀린, 스테아린산나트륨, 카카오지, 살리실산나트륨, 살리실산마그네슘, 폴리에칠렌글리콜(PEG) 4000, PEG 6000, 유동파라핀, 수소첨가대두유(Lubri wax), 스테아린산알루미늄, 스테아린산아연, 라우릴황산나트륨, 산화마그네슘, 마크로골(Macrogol), 합성규산알루미늄, 무수규산, 고급지방산, 고급알코올, 실리콘유, 파라핀유, 폴리에칠렌글리콜지방산에테르, 전분, 염화나트륨, 초산나트륨, 올레인산나트륨, dl-로이신, 경질무수규산 등의 활택제;가 사용될 수 있다.

[0066] 본 발명에 따른 액제의 첨가제로는 물, 묽은 염산, 묽은 황산, 구연산나트륨, 모노스테아린산슈크로스류, 폴리옥시에칠렌소르비톨지방산에스텔류(트윈에스텔), 폴리옥시에칠렌모노알킬에텔류, 라놀린에텔류, 라놀린에스텔류, 초산, 염산, 암모니아수, 탄산암모늄, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 프롤아민, 폴리비닐피롤리돈, 에칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨 등이 사용될 수 있다.

[0067] 본 발명에 따른 시럽제에는 백당의 용액, 다른 당류 혹은 감미제 등이 사용될 수 있으며, 필요에 따라 방향제, 착색제, 보존제, 안정제, 현탁화제, 유화제, 점조제 등이 사용될 수 있다.

[0068] 본 발명에 따른 유제에는 정제수가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 유화제, 보존제, 안정제, 방향제 등이 사용될 수 있다.

[0069] 본 발명에 따른 현탁제에는 아카시아, 트라가칸타, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 미결정셀룰로오스, 알긴산나트륨, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC), HPMC 1828, HPMC 2906, HPMC 2910 등 현탁화제가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 계면활성제, 보존제, 안정제, 착색제, 방향제가 사용될 수 있다.

[0070] 본 발명에 따른 주사제에는 주사용 증류수, 0.9%염화나트륨주사액, 링겔주사액, 덱스트로스주사액, 덱스트로스+염화나트륨주사액, 피이지(PEG), 락테이티드 링겔주사액, 에탄올, 프로필렌글리콜, 비휘발성유-참기름, 면실유, 낙화생유, 콩기름, 옥수수기름, 올레인산에칠, 미리스트산 이소프로필, 안식향산벤젠과 같은 용제; 안식향산나트륨, 살리실산나트륨, 초산나트륨, 요소, 우레탄, 모노에칠아세트아마이드, 부타졸리딘, 프로필렌글리콜, 트윈류, 니정틴산아미드, 헥사민, 디메칠아세트아마이드와 같은 용해보조제; 약산 및 그 염(초산과 초산나트륨), 약염기 및 그 염(암모니아 및 초산암모니움), 유기화합물, 단백질, 알부민, 펩톤, 검류와 같은 완충제; 염화나트륨과 같은 등장화제; 아황산수소나트륨($NaHSO_3$) 이산화탄소가스, 메타중아황산나트륨($Na_2S_2O_5$), 아황산나트륨(Na_2SO_3), 질소가스(N_2), 에칠렌디아민테트라초산과 같은 안정제; 소디움비설파이드 0.1%, 소디움포름알데히드

설폭실레이트, 치오우레아, 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 아세톤소디움비설파이트와 같은 황산화제; 벤질알코올, 클로로부탄올, 염산프로카인, 포도당, 글루콘산칼슘과 같은 무통화제; 시엠시나트륨, 알긴산나트륨, 트윈 80, 모노스테아린산알루미늄과 같은 현탁화제를 포함할 수 있다.

[0071] 본 발명에 따른 좌제에는 카카오지, 라놀린, 위텝솔, 폴리에틸렌글리콜, 글리세로젤라틴, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 스테아린산과 올레인산의 혼합물, 수바날(Subanal), 면실유, 낙화생유, 야자유, 카카오버터+콜레스테롤, 레시틴, 라네트왁스, 모노스테아린산글리세롤, 트윈 또는 스판, 임하우젠(Imhausen), 모놀렌(모노스테아린산프로필렌글리콜), 글리세린, 아뎁스솔리두스(Adeps solidus), 부티룸 태고-G(Buytyrum Tego-G), 세베스파마 16 (Cebes Pharma 16), 헥사라이드베이스 95, 코토마(Cotomar), 히드록코테 SP, S-70-XXA, S-70-XX75(S-70-XX95), 히드록코테(Hydrokote) 25, 히드록코테 711, 이드로포스탈 (Idropostal), 마사에스트라리움(Massa estrarium, A, AS, B, C, D, E, I, T), 마사-MF, 마수폴, 마수폴-15, 네오수포스탈-엔, 파라마운드-B, 수포시로(OSI, OSIX, A, B, C, D, H, L), 좌제기제 IV 타입 (AB, B, A, BC, BBG, E, BGF, C, D, 299), 수포스탈 (N, Es), 웨코비 (W, R, S, M ,Fs), 테제스터 트리글리세라이드 기제 (TG-95, MA, 57)와 같은 기제가 사용될 수 있다.

[0072] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0073] 경구 투여를 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. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0074] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0075] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 본 발명이 속하는 기술분야에 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0076] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간(경막내) 주사, 설하 투여, 볼점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다.

[0077] 본 발명의 약학적 조성물은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.

[0078] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0079] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 이를 필요로 하는 개체에 병용 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0080] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 포함하는 조성물의 암 예방 또는 치료 용도를 제공한다.

[0081] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소의 병용 투여 용도를 제공한다.

[0082] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 포함하는 조성물의 암 치료제 제조를 위한 용도를 제공한다.

[0083] 또한, 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소의 암 치료용 병용 투여용 제제의 제조를 위한 용도를 제공한다.

[0084] 본 발명에서 "개체"란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0085] 본 발명에서 "투여"란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0086] 본 발명에서 "예방"이란 목적하는 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, "개선"이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0087] 본 발명은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소의 병용 투여를 통해 각 약물의 효능을 극대화시키고 각 약물의 과도한 투여량은 감소시킴으로써 독성 등의 부작용을 최소화시키는 것을 특징으로 한다.

[0088] 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소가 혼합된 혼합제 형태로, 상기 약물들을 동시에(simultaneous) 투여하기 위한 형태일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0089] 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소가 각각 제제화되어 동시에 (simultaneously), 또는 순차적으로 (sequentially) 투여되는 형태일 수 있다. 이 경우, 상기 약학적 조성물은 유효성분으로 젬시타빈의 약학적 유효량을 포함하는 제1 약학적 조성물; 및 유효성분으로 miR-342-3p 억제제의 약학적 유효량을 포함하는 제2 약학적 조성물; 및 유효성분으로 삼산화비소의 약학적 유효량을 포함하는 제3 약학적 조성물을 포함하는, 동시 또는 순차적 투여를 위한 병용 투여용 약학적 조성물일 수 있다. 이 때, 순차적 투여의 경우 투여 순서에 제한되는 것은 아니며, 환자의 상태 등에 따라 투여 요법은 적절하게 조절될 수 있다.

[0090] 상기 약학적 조성물이 순차적 투여를 위한 병용 투여용 약학적 조성물인 경우, 상기 조성물은 젬시타빈("제1 성분")이 먼저 투여된 후 miR-342-3p 억제제("제2 성분")이 투여되고, 삼산화비소("제3 성분")가 투여되는 것일 수 있으며, 그 반대 순서도 가능하나 이에 제한되는 것은 아니며, 환자의 상태 등에 따라 적절하게 조절될 수 있다.

[0091] 상기 약학적 조성물이 순차적 투여를 위한 병용 투여용 약학적 조성물인 경우, 제1 성분이 투여된 후 제2 성분이 투여되기까지의 시간, 제2 성분이 투여된 후 제3 성분이 투여되기까지의 시간은 10분 내지 72시간, 10분 내지 60 시간, 10분 내지 48시간, 10분 내지 36시간, 10분 내지 30시간, 10분 내지 24시간, 30분 내지 72시간, 30분 내지 60 시간, 30분 내지 48시간, 30분 내지 36시간, 30분 내지 30시간, 30분 내지 24시간, 1시간 내지 72시간, 1시간 내지 60 시간, 1시간 내지 48시간, 1시간 내지 36시간, 1시간 내지 30시간, 1시간 내지 24시간, 3시간 내지 72시간, 3시간 내지 60 시간, 3시간 내지 48시간, 3시간 내지 36시간, 3시간 내지 30시간, 3시간 내지 24시간, 6시간 내지 72시간, 6시간 내지 60 시간, 6시간 내지 48시간, 6시간 내지 36시간, 6시간 내지 30시간, 6시간 내지 24시간, 12시간 내지 72시간, 12시간 내지 60시간, 12시간 내지 48시간, 12시간 내지 36시간, 12시간 내지 30시간, 12시간 내지 24시간, 10분 내지 24시간, 10분 내지 12시간, 10분 내지 6시간, 10분 내지 3시간, 10분 내지 1시간, 10분 내지 50분, 10분 내지 40분, 또는 10분 내지 30분일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0092] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 그 투여 방법과 순서에는 제한이 없으나 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 모두 포함하는 것을 특징으로 하며, 각 성분이 순차적으로, 즉 별도로 투여될지언정 투여 시점의 차이만 있을 뿐, 결과적으로는 병용 투여되는 것을 특징으로 한다. 따라서, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소의 병용 투여를 통해 상기 각 성분을 단독 투여하는 것에 비해 암 예방, 개선, 및/또는 치료 효과가 더욱 뛰어난 것을 특징으로 한다.

[0093] 본 명세서에서 사용된 용어 "병용 투여"는, 치료 요법의 개별 성분들을 동시, 순차적으로, 또는 개별적으로 투여하는 방식으로 이룰 수 있다. 2 이상의 약물을 동시에 또는 순차적으로 투여하거나, 또는 일정한 또는 정해지지 않은 간격으로 교대로 투여하는 등의 방법으로 병용 치료 효과를 얻는 것으로, 병용 치료법은 이에 한정되지 아니하지만, 예를 들어 반응 정도, 반응 속도, 질병 진행까지의 기간 또는 생존 기간을 통해 측정된 효능이 병용 치료법의 성분 중 하나 또는 나머지를 통상적인 용량으로 투약하여 얻을 수 있는 효능보다 치료학적으로 우수하면서 상승효과를 제공할 수 있는 것으로 정의될 수 있다.

[0094] 본 명세서에서 “유효성분”은 단독으로 목적으로 하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체 등과 함께 목적으로 하는 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.

[0096] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 약학적 조성물을 포함하는 암 예방 또는 치료용 키트를 제공한다. 상기 키트는 암을 예방 또는 치료하는데 사용할 수 있는 물질 내지 기기 등의 조합을 의미하며, 상기 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소를 제조, 보관, 또는 투여할 수 있는 형태이면 되고, 구체적인 형태에는 제한이 없다. 따라서 본 발명에 따른 키트는 젬시타빈, miR-342-3p 억제제, 및 삼산화비소 뿐만 아니라 특정 질환의 치료를 위한 키트의 구성요소로서 당업계에 공지된 것이라면 제한 없이 포함할 수 있다.

[0098] 본 발명의 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다. 본 발명의 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본 발명의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.

[0100] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0102] [실시예]

[0103] **실시예 1. 젬시타빈(gemcitabine), miR-342-3p 억제제, 및 Arsenic III oxide(ATO) 병용 처리에 따른 췌장암 세포주 사멸 효과 확인**

[0104] <u>1-1. 방법</u>

[0105] 췌장암 세포 MIA-paca2 를 well 당 5×10^4개 씩 24-well plate에 배양하였다.한 well 당 총 500μl 가 되도록 다음과 같이 약물을 처리하고 나머지는 배지로 채웠다:

[0106] Gemcitabine: nuclease-free water에 50μM 농도로 희석한 젬시타빈을 well 당 5μl 또는 1.6μl 씩 처리,

[0107] Inhibitor: miR-342-3p 억제제 (hsa-miR-342-3p miRCURY LNA miRNA inhibitor, Qiagen)를 lipofectamine 2000 (invitrogen)을 사용하여 liposome 형태로 transfection (well 당 50μl 또는 16μl 씩 처리),

[0108] ATO : nuclease-free water에 250μM 농도로 희석한 arsenic III oxide를 10μl 또는 3.3μl 씩 처리.

[0109] 음성 대조군은 동량의 nuclease-free water 또는 miRNA negative control을 처리하였다. 24시간 후, CCK-8 시약을 well 당 10μl 씩 첨가한 다음, 2시간 후 배지를 옮겨 흡광도를 측정하였다.

[0111] <u>1-2. 결과</u>

[0112] 도 1에 나타낸 바와 같이, 젬시타빈 단독으로 처리한 실험군은 음성대조군에 비해 세포 생장이 30% 감소하였으며, 젬시타빈을 1/3 용량으로 처리한 실험군은 음성대조군에 비해 세포 생장이 15% 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0113] 또한, 젬시타빈과 Inhibitor를 병용 처리한 실험군은 대조군에 비해 세포 생장이 35% 감소하였으며, 젬시타빈과 Inhibitor를 1/3 용량으로 병용 처리한 실험군은 대조군에 비해 세포 생장이 25% 감소하였다.

[0114] 또한, 젬시타빈과 ATO를 병용 처리한 실험군은 대조군에 비해 세포 생장이 40% 감소하였으며, 젬시타빈과 ATO를 1/3 용량으로 병용 처리한 실험군은 대조군에 비해 세포 생장이 30% 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0115] 또한, 젬시타빈, Inhibitor, ATO를 모두 1/3 용량으로 처리한 실험군은 대조군에 비해 세포 생장이 65% 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0117] **실시예 2. 젬시타빈(gemcitabine), miR-342-3p 억제제, 및 Arsenic III oxide(ATO) 병용 처리에 따른 췌장암 세포주의 생존율 억제 효과 확인**

[0118] 2-1. 방법

[0119] 췌장암 세포 MIA-paca2를 well 당 5×10^3개 씩 96-well plate에 배양하였다. 한 well 당 총 150μl 가 되도록 다음과 같이 약물을 처리하고 남은 양은 배지로 채웠다:

[0120] Gemcitabine 0.01~5μM: nuclease-free water에 농도별로 희석한 젬시타빈을 well 당 1.5μl 씩 처리,

[0121] Inhibitor 50nM: miR-342-3p 억제제를 lipofectamine 2000 (invitrogen)을 사용하여 liposome 형태로 transfection (well 당 10μl 씩 처리),

[0122] ATO 5μM: nuclease-free water에 250μM 농도로 희석한 arsenic III oxide 3μl씩 처리.

[0123] 음성 대조군은 동량의 nuclease-free water 또는 miRNA negative control 을 처리하였다. 24시간 후, CCK-8 시약을 well 당 10μl 씩 첨가하고, 2시간 후 흡광도를 측정하였다.

[0125] 2-2. 결과

[0126] 젬시타빈(gemcitabine), miR-342-3p 억제제, 및 Arsenic III oxide(ATO) 병용 처리에 따른 췌장암 세포주의 생존율 억제 효과를 확인하기 위해, 세포 생장을 50% 억제하는데 필요한 양을 나타내는 정량적 측정값으로 반수 최대 억제 농도인 IC50을 측정한 결과, 표 1에 나타낸 바와 같이, 젬시타빈을 단독으로 처리한 실험군의 IC50은 1.343μM 이었으나, 젬시타빈, inhibitor, 및 ATO 병용 처리한 경우, 젬시타빈의 IC50 이 0.2802μM 로 감소한 것을 확인할 수 있었다.

표 1

[0127]

	Gemcitabine	Gem+In	Gem+ATO	Triple
LogIC50	0.128	-0.08877	-0.14	-0.5525
IC50 (μM)	1.343	0.8151	0.7244	0.2802

[0129] **실시예 3. 젬시타빈(gemcitabine), miR-342-3p 억제제, 및 Arsenic III oxide(ATO) 병용 처리에 따른 췌장암 세포주 성장 억제 효과 확인**

[0130] 3-1. 방법

[0131] 췌장암 세포 MIA-paca2 를 well 당 1×10^5개 씩 6-well plate에 배양하였다. 한 well 당 총 1,500μl 가 되도록 다음과 같이 약물을 처리하고 남은 양은 배지로 채웠다:

[0132] Gemcitabine 0.5μM: nuclease-free water에 50μM 농도로 희석한 젬시타빈을 15μl 처리,

[0133] Inhibitor 50nM: miR-342-3p 억제제를 lipofectamine 2000 (invitrogen)을 사용하여 liposome 형태로 transfection (well 당 50μl 씩 처리),

[0134] ATO 5μM: nuclease-free water에 500μM 농도로 희석한 arsenic III oxide을 15μl 처리.

[0135] 음성 대조군은 동량의 nuclease-free water 또는 miRNA negative control 을 처리하였다. 7일 동안 배양한 후 배지를 제거하고, crystal violet 시약으로 colony를 염색하고, 염색한 plate를 촬영하였다.

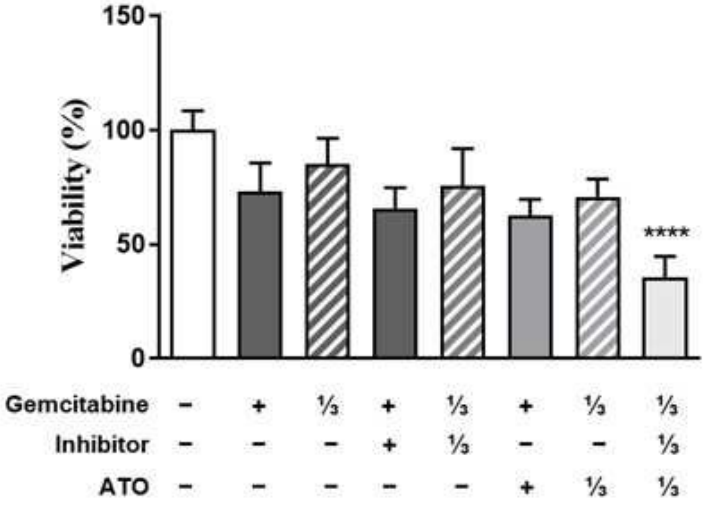
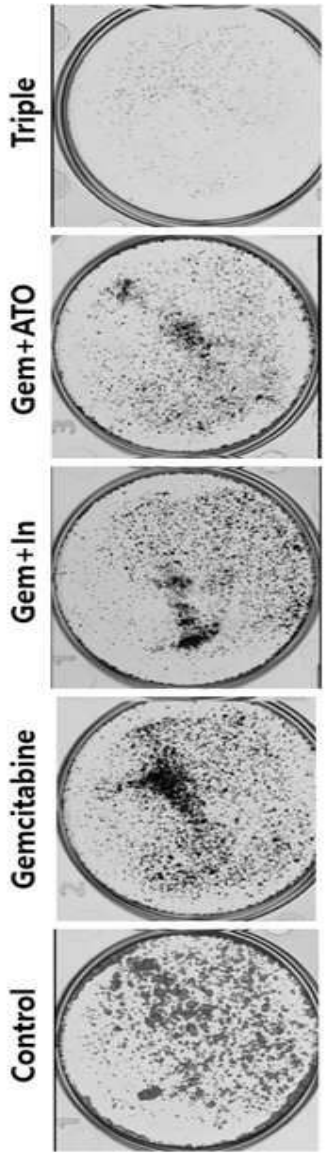
[0137] 3-2. 결과

[0138] 도 2에 나타낸 바와 같이, 젬시타빈, Inhibitor, ATO 를 모두 처리한 실험군에서 colony 형성이 가장 많이 억제된 것을 확인할 수 있었다.

[0140] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

도면1



도면2