



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0124951
(43) 공개일자 2019년11월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4995 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4995 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0049067
(22) 출원일자 2018년04월27일
심사청구일자 2018년04월27일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
권중범
서울특별시 마포구 염리동 중앙하이츠 101동 607호
이다예
경기도 수원시 권선구 권광로27번길 62(권선동, 삼천리1차아파트) 101동 403호
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 5 항

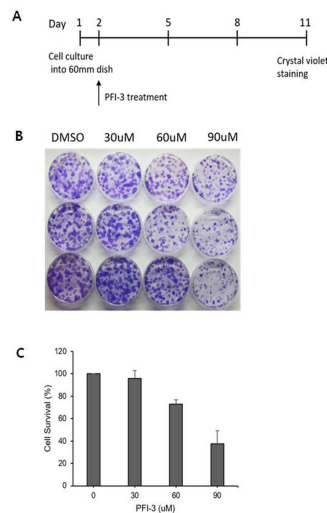
(54) 발명의 명칭 PFI-3를 포함하는 신장암의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 PFI-3를 포함하는 신장암의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 PFI-3 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 치료용 약학 조성물; 건강기능식품 조성물; 및 상기 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신장암의 치료 방법에 관한 것이다.

본 발명의 PFI-3는 신장암 세포에 대하여 우수한 사멸 효과를 나타낼뿐만 아니라 그 효과를 오랜 기간 지속시킬 수 있으므로, 신장암의 예방, 개선, 치료 등에 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015M2A2A7A01041767

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 원자력연구개발사업-방사선기술개발사업-방사선의학기술개발(기초)

연구과제명 SWI/SNF 특이적 브로모도메인 억제제의 암 치료용 방사선증감제 효능 검증

기 여 율 1/1

주관기관 이화여자대학교 산학협력단

연구기간 2015.08.10 ~ 2018.07.31

명세서

청구범위

청구항 1

PFI-3 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 PFI-3는 하기 화학식 1로 표시되는 것인, 약학 조성물.

[화학식 1]



청구항 3

제1항에 있어서, 상기 PFI-3는 신세포암종 786-0, UMRC-6 또는 Caki-2 세포의 생존을 억제하는 것인, 약학 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신장암의 치료 방법.

청구항 5

PFI-3 또는 이의 생리학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 PFI-3를 포함하는 신장암의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 PFI-3 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 치료용 약학 조성물; 건강기능식품 조성물; 및 상기 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신장암의 치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 신장암은 소변을 만드는 세포들이 모여 있는 수질과 피질로 구성된 신장의 실질에서 발생하는 악성종양을 말한다. 종양의 크기가 작을 때는 증상이 거의 없으며, 종양이 어느 정도 커져서 장기를 밀어낼 정도가 되어야 비로소 증상이 나타난다. 따라서 진단이 늦어지는 경우가 많아 처음 진단될 때 환자의 30% 정도는 이미 폐, 뇌, 간, 뼈 등에 전이된 상태로 나타나게 된다. 가장 흔한 증상은 혈뇨(hematuria)이지만 이것도 환자의 60%에서만 나타

난다. 오히려 전이된 부위에 따라 호흡곤란, 기침, 두통 등의 증상이 나타나 이러한 전이 증상 때문에 신장암을 진단하게 되는 경우도 전체 환자의 30%에 이른다.

[0004] 일반적으로, 신장암 세포는 방사선이나 화학요법에 대해서는 감수성이 매우 낮다고 알려져 있으며, 이에 따라 신장암의 치료는 주로 외과적 절제술에 의해 수행된다. 그러나, 이 경우 종양뿐만 아니라 그 주위 정상 조직까지 광범위하게 절제해야 하는 문제점이 있는바 신장암을 타겟으로 한 약물의 개발에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 그 예로, 고량강 추출물을 포함하는 신장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물(한국 공개특허공보 제10-2018-0026675호), 소라페닙 및 금은화 추출물을 포함하는 간암 또는 신장암 치료 또는 예방용 조성물(한국 등록특허공보 제10-1833036호), 아필리모드를 포함하는 신장암 치료를 위한 조성물(한국 공개특허공보 제10-2017-0098812호) 등의 개발된바 있다. 그러나, 신장암의 낮은 약물 감수성을 극복할 수 있는, 더욱 효과적인 신장암 치료 약물을 개발하여야 할 필요성은 여전히 요구되는 실정이었다.

[0006] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 보다 효과적으로 신장암을 치료할 수 있는 약물을 개발하기 위해 예의 연구 노력한 결과, PFI-3 화합물이 다양한 신장암 세포주에 대하여 높은 생존율 감소 효과를 나타냄을 확인하였고, 나아가 이러한 효과는 단기간 내 발휘되어 장기간 유지됨을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 하나의 목적은 PFI-3 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신장암의 치료 방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 PFI-3 또는 이의 생리화적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

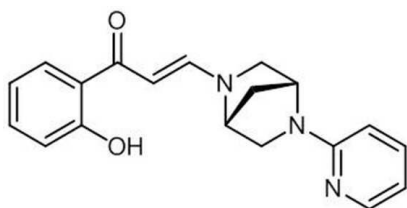
과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 하나의 양태는 PFI-3 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명에서 제공하는 PFI-3 화합물은 그 단독으로 다양한 신세포암종에 대하여 항암 효과를 나타내며, 단 한번의 처리로 그 효과를 약 10일 이상의 오랜 기간 동안 유지시킬 수 있는 장점이 있다.

[0016] 본 발명의 용어, "PFI-3"는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 의미한다.

[0017] [화학식 1]



[0018]

[0019] 상기 PFI-3의 분자량은 321.37, 화학식은 $C_{19}H_{19}N_3O_2$, 화학명은 (2E)-1-(2-하이드록시페닐)-3-[(1R,4R)-5-(피리

딘-2-일)-2,5-다이아자바이시클로[2.2.1]헵탄n-2-일]프로프-2-엔-1-원, CAS 번호는 1819363-80-8로 알려져 있다. 현재 PFI-3의 약리학적 활성에 대한 연구는 미미한 실정으로, 이의 항암 효과는 본 발명자들에 의해 처음으로 규명되었다.

- [0021] 상기 PFI-3의 입수 방법은 특별히 제한되지 않으며, 당업계에 공지된 방법을 이용하여 화학적으로 합성하거나, 시판되는 물질을 사용할 수 있다.
- [0022] 또한, 상기 PFI-3는 용매화된 형태 또는 비용매화된(unsolvated) 형태로 존재할 수 있고, 결정형 또는 무정형 형태로 존재할 수 있으며, 이러한 모든 물리적 형태는 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0024] 본 발명에서, 상기 PFI-3는 신세포암종 786-0, UMRC-6 또는 Caki-2 세포의 생존을 억제하는 것일 수 있다.
- [0025] 신세포암종은 투명세포암종(clear cell carcinoma), 유두암종(papillary carcinoma), 현색소암종(chromophobe carcinoma) 등으로 구분되는 약 40여 종이 넘는 아형이 존재한다. 그 중에서도, 투명세포암종은 전체 신세포암종의 70~80%를 차지하며 발병률이 가장 높다. 투명세포암종도 이의 유전적 특성 등에 따라 H1H2 타입, H2 타입 등으로 구분되며, H1H2 타입은 HIF1 α 및 HIF2 α 단백질 모두를 발현하고, H2 타입은 HIF2 α 단백질만을 발현하며 HIF1 α 단백질이 기능하지 않는 것으로 알려져 있다.
- [0026] 구체적으로, 상기 "786-0" 및 "UMRC-6"는 H2 타입의 신세포암종, "Caki-2"는 H1H2 타입의 신세포암종으로서, 상기 PFI-3는 신세포암종의 종류에 관계없이 항암 효능을 발휘할 수 있다.
- [0027] 한편, 본 명세서에서, 상기 신세포암종은 신장암 세포와 동일한 의미로 호용되어 사용될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 일 실시예에서는, PFI-3는 786-0, UMRC-6, Caki-2 등의 다양한 신장암 세포의 생존율을 감소시키는 효과를 나타내는데, 이러한 암세포 사멸 효과는 약 2일 정도의 짧은 기간 내 나타내며, 또한 배양 초기 단 한 번의 처리로 그 효과를 약 10일의 긴 기간 동안 유지할 수 있음을 확인하였다(도 1 내지 5).
- [0030] 이는, PFI-3를 포함하는 본 발명의 약학 조성물은 신장암의 예방, 치료 등에 유용하게 활용될 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0032] 본 발명의 용어, "치료"는 상기 PFI-3 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 조성물의 투여로 신장암의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0034] 본 발명의 용어, "약학적으로 허용가능한 염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약제학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 통상적으로 금속염, 유기염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피롤린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될 수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약학 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 PFI-3 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 0.01 내지 80%, 구체적으로 0.01 내지 70%, 더욱 구체적으로 0.01 내지 60 중량%로 포함할 수 있으나, 신장암의 치료 효과를 나타내는 한, 이에 제한되지 않는다.

- [0037] 또한, 상기 약학 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있고, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occurring carrier)를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제의 구체적인 예로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0038] 또한, 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결 건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있으며, 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 사용될 수 있으며, 상기 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등이 사용될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제 등이 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있으며, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 사용될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 또는 좌제 등이 사용될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0040] 다른 하나의 양태는 상기 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신장암의 치료 방법을 제공한다.
- [0041] 이때, 상기 "치료"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.
- [0043] 본 발명의 용어, "개체"는 신장암이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 구체적인 예로, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.
- [0044] 본 발명의 용어, "투여"는 적절한 방법으로 개체에게 상기 약학 조성물을 도입하는 것을 의미한다.
- [0046] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다.
- [0047] 상기 용어, "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, 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.
- [0048] 상기 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여할 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여할 수 있다. 또한, 단일 또는 다중 투여할 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0049] 또한, 상기 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 구체적인 예로, 상기 약학 조성물은 일반적으로 0.001 내지 1000 mg/kg, 더욱 구체적으로 0.05 내지 200 mg/kg, 가장 구체적으로 0.1 내지 100 mg/kg의 양을 1일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있으나, 바람직한 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

- [0051] 또 다른 하나의 양태는 PFI-3 또는 이의 생리학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암의 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0052] 이때, 상기 "PFI-3"의 정의는 전술한 바와 같다.
- [0054] 본 발명의 용어, "생리학적으로 허용가능한 염"은 생리학적으로 허용되고 생물체에게 투여될 때, 통상적으로 위장장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않으면서, 투여되는 화합물이 목적하는 효과를 발휘할 수 있는 통상적으로 사용되는 것을 의미한다.
- [0055] 본 발명의 용어, "개선"은 PFI-3를 포함하는 조성물의 투여로 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0057] 본 발명에 따른 PFI-3는 신장암 세포에 대하여 우수한 생존율 감소 효과를 나타내므로, 신장암의 예방 또는 개선을 목적으로 건강기능식품 조성물에 포함될 수 있으며, 상기 건강기능식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 신장암의 예방 또는 개선에 대하여 높은 효과를 기대할 수 있다.
- [0059] 본 발명의 용어, "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, '기능성'은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 한편, 건강식품은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품은 건강 보조 목적의 식품을 의미하는데, 경우에 따라, 건강기능식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용될 수 있다.
- [0061] 본 발명의 PFI-3는 그대로 첨가되거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0063] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하며, 상기 제조 시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 구체적으로, 상기 건강기능식품 조성물은 생리학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.
- [0064] 또한, 상기 건강기능식품 조성물은 방부제, 살균제, 산화방지제, 착색제, 발색제, 표백제, 조미료, 감미료, 향료, 팽창제, 강화제, 유화제, 증점제, 피막제, 감기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.
- [0065] 또한, 상기 건강기능식품의 제형은 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고 휴대성이 뛰어나므로, 본 발명의 식품은 신장암의 예방 또는 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.
- [0067] 본 발명의 PFI-3는 신장암의 개선 효과를 나타낼 수 있다면 건강기능식품 조성물에 다양한 중량%로 포함될 수 있다. 구체적으로, 건강기능식품 조성물의 총 중량 대비 0.00001 내지 100 중량% 또는 0.01 내지 80 중량%로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0069] 본 발명의 일 실시예에서는, PFI-3는 다양한 신장암 세포의 생존율을 감소시키는 효과를 나타내는데, 이러한 암 세포 사멸 효과는 약 2일 정도의 짧은 기간 내 나타내며, 또한 배양 초기 단 한 번의 처리로 그 효과를 약 10일의 긴 기간 동안 유지할 수 있음을 확인하였다(도 1 내지 5).

[0070] 이는, PFI-3를 포함하는 본 발명의 건강기능식품 조성물은 신장암의 예방, 치료 등에 유용하게 활용될 수 있음을 시사하는 것이다.

발명의 효과

[0072] 본 발명의 PFI-3는 신장암 세포에 대하여 우수한 사멸 효과를 나타낼뿐만 아니라 그 효과를 오랜 기간 지속시킬 수 있으므로, 신장암의 예방, 개선, 치료 등에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0074] 도 1은 PFI-3의 786-0 신장암 세포에 대한 항암 효과를 보여주는 도면으로, A는 PFI-3 처리 계획을 보여주는 모식도, B는 콜로니 형성 어세이 결과를 보여주는 크리스탈 바이올렛 염색(Crystal Violet staining) 이미지, 및 C는 염색에 따른 결과를 정량화한 그래프이다. PFI-3는 배양 2일째 한 번 처리하였다.

도 2는 PFI-3의 786-0 신장암 세포에 대한 항암 효과를 보여주는 도면으로, A는 PFI-3 처리 계획을 보여주는 모식도, B는 콜로니 형성 어세이 결과를 보여주는 크리스탈 바이올렛 염색 이미지, 및 C는 염색에 따른 결과를 정량화한 그래프이다. PFI-3는 배양 2, 5 및 8일째 각각 한 번씩 처리하였다.

도 3은 PFI-3의 786-0 신장암 세포에 대한 항암 효과를 보여주는 도면으로, MTS 어세이 결과를 보여주는 그래프이다.

도 4는 PFI-3의 UMRC-6 신장암 세포에 대한 항암 효과를 보여주는 도면으로, MTS 어세이 결과를 보여주는 그래프이다.

도 5는 PFI-3의 Caki-2 신장암 세포에 대한 항암 효과를 보여주는 도면으로, MTS 어세이 결과를 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0075] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0077] 실시예 1: 신세포암종 786-0 세포에 대한 PFI-3의 항암 효과 확인

[0078] PFI-3가 신장암 세포의 생장에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 786-0 세포에 PFI-3를 처리하여 암세포의 생존율을 조사하였다. 먼저, PFI-3 단회 처리에 의한 신장암 세포의 사멸 정도를 확인하였다.

[0079] 구체적으로, 786-0 세포에 PFI-3를 30 내지 90 μM 의 농도로 배양 기간 동안 한 번 처리하였고, 장기간의 세포 독성을 확인할 수 있는 콜로니 형성 어세이(colony formation assay)를 수행하여 786-0 세포의 생존율을 분석하였다. 10일 동안의 배양을 완료한 후 콜로니를 1X PBS로 행구고 10% 메탄올에 포함된 5% 크리스탈 바이올렛을 이용하여 가시화하였다.

[0080] 그 결과, 도 1에서 볼 수 있듯이, PFI-3의 농도가 높아질수록 786-0 세포의 생존율이 감소하여 90 μM 처리 시 약 40%까지 감소함을 확인하였고, 특히, PFI-3를 약 10일 이상의 긴 기간 동안 단 한 번 처리하여도 그 효과가 유지됨을 확인하였다.

[0082] 추가로, 반복하여 PFI-3를 처리하는 경우에도 동일하게 항암 효과가 나타나는지 확인하고자 하였다.

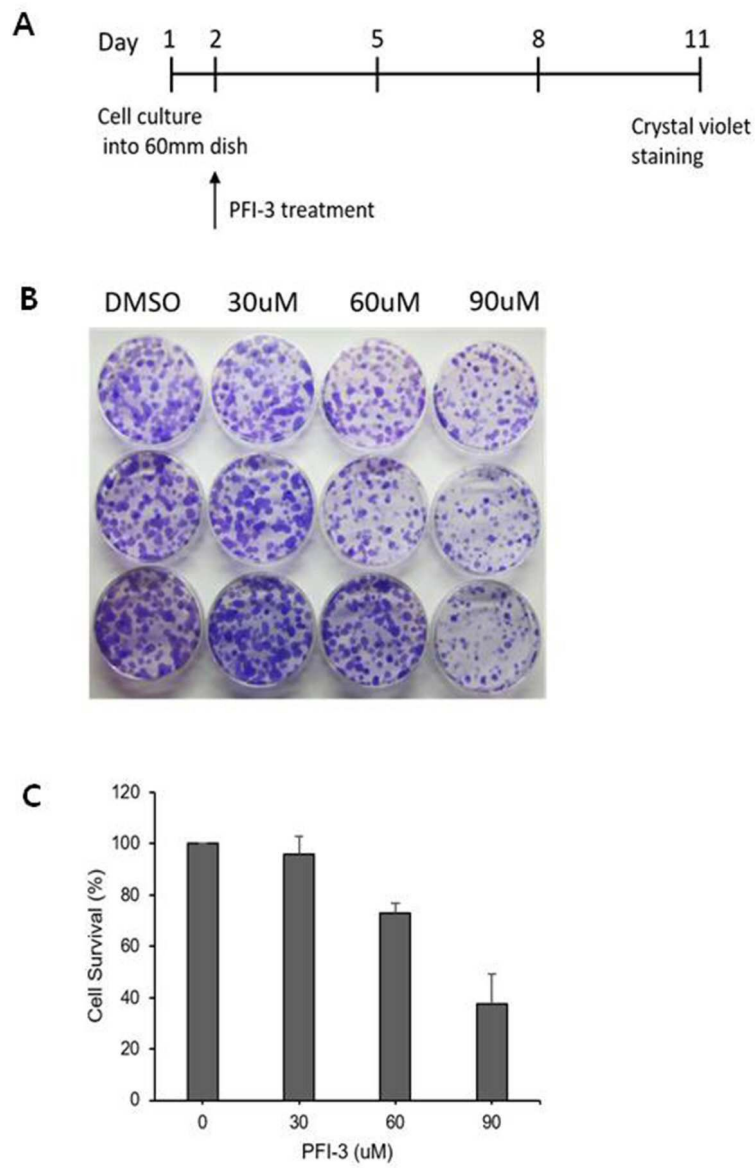
[0083] 구체적으로, 786-0 세포에 PFI-3를 30 내지 90 μM 의 농도로 10일의 배양 기간 동안 3일에 한 번 처리하였고, 콜로니 형성 어세이를 수행하여 786-0 세포의 생존율을 분석하였다.

[0084] 그 결과, 도 2에서 볼 수 있듯이, PFI-3의 농도가 높아질수록 786-0 세포의 생존율이 감소하여 90 μM 처리 시 약 15%까지 감소하며, 단회 처리에 비하여 세포 사멸 효과가 증가함을 확인하였다.

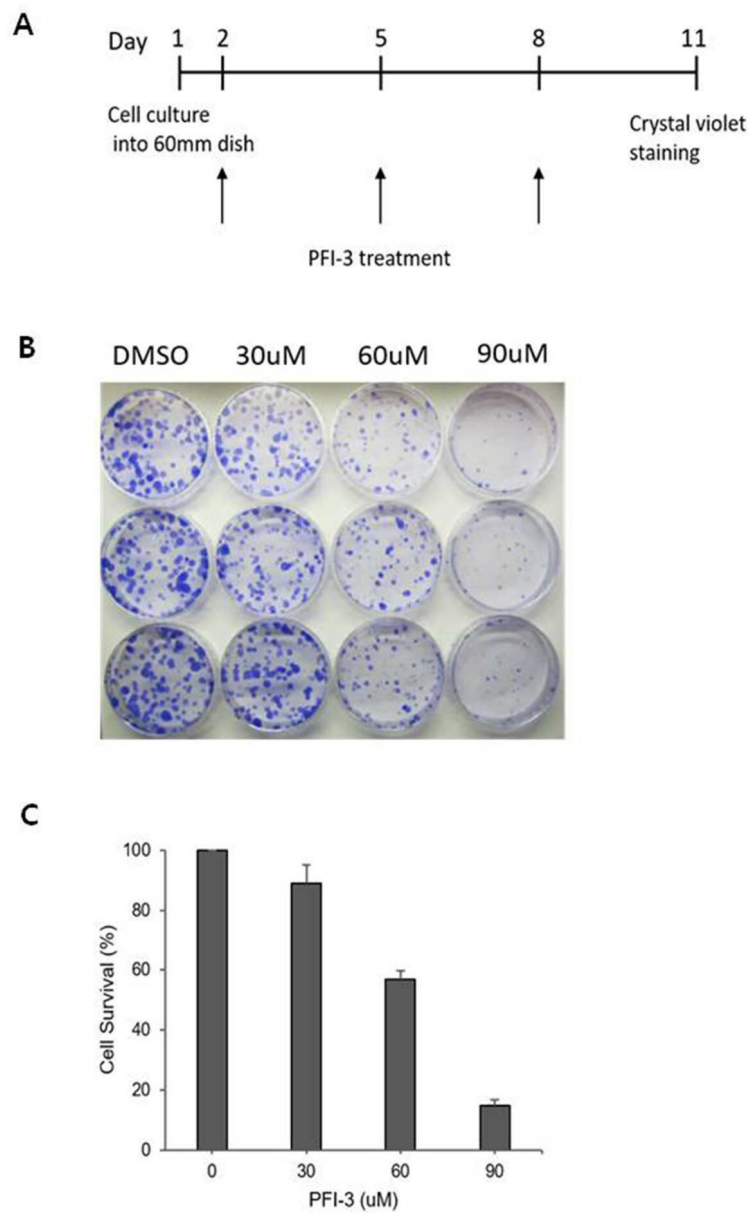
- [0085] 상기 결과를 통해, PFI-3는 786-0 신장암 세포에 대하여 우수한 항암 효과를 나타내며, 단 한번의 처리로 그 효과를 약 10일 이상 오랜 기간 동안 유지시킬 수 있음을 알 수 있었다.
- [0087] **실시예 2: 다양한 신세포암종에 대한 PFI-3의 항암 효과 확인**
- [0088] 상기 실시예 1을 통해 786-0 세포에 대한 항암 효과를 확인하였는바, 추가로 PFI-3가 다양한 신세포암종에 대해서도 동일하게 항효과를 나타내는지 확인하고자 하였다.
- [0089] 이는, 786-0, UMRC-6, Caki-2 세포를 이용하였다. 786-0, UMRC-6는 H2 타입의 신세포암종이고, Caki-2는 H1H2 타입의 신세포암종으로서 BAF180가 결실된 것인바, 서로 다른 특징을 갖는 상기의 다양한 신세포암종 모두에서 PFI-3이 항암 효과를 갖는지 확인하였다.
- [0090] 구체적으로, 786-0, UMRC-6, Caki-2 세포에 PFI-3를 30 내지 120 μM 의 농도로 처리하였고, 2일간의 배양을 완료한 후 MTS 어세이를 수행하여 암세포의 생존율을 분석하였다. 2일 동안의 배양을 완료한 후 MTS 어세이는 기존의 프로토콜(CellTiter 96 aqueous One Solution Cell Proliferation assay, Promega)에 따라 수행하였다. MTS 용액을 세포에 처리하고 1시간 동안 배양한 후, spectraMax i3X 플레이트 리더기(I3X-SC-ACAD, Molecular Devices)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0091] 그 결과, 도 3 내지 5에서 볼 수 있듯이, PFI-3는 786-0, UMRC-6, Caki-2 세포 모두에 대하여 우수한 세포 사멸 효과를 나타내며, PFI-3의 농도가 높아질수록 상기 세포의 생존율이 감소함을 확인하였다.
- [0092] 상기 결과를 통해, PFI-3는 786-0 뿐만 아니라 UMRC-6 및 Caki-2 세포에 대해서도 우수한 항암 효과를 나타내며, 약 2일 정도의 짧은 기간 내에 현저한 사멸 효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있었다.
- [0093] 또한, 상기 실시예 1 및 2의 내용을 종합하여, PFI-3는 신장암 세포에 대하여 우수한 항암 효과를 나타내며, 그 효과는 단시간 내 발휘되어 오랜 기간 지속됨을 알 수 있었다.
- [0095] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

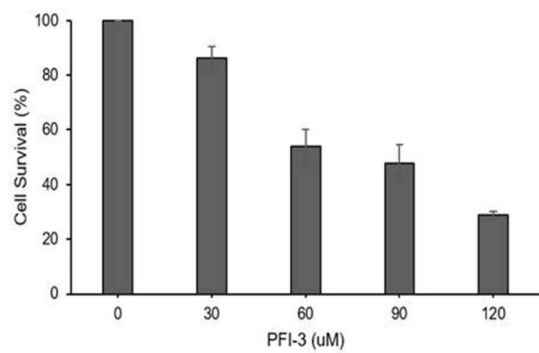
도면1



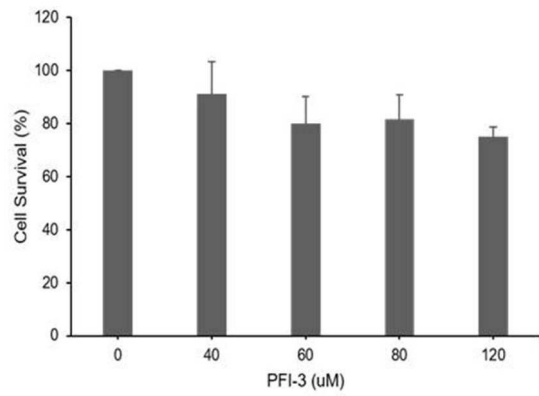
도면2



도면3



도면4



도면5

