(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0030824
(43) 공개일자 2021년03월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/164 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61K 31/565 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/164 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0112472
(22) 출원일자 2019년09월10일
심사청구일자 2019년09월10일

(71) 출원인
가천대학교 산학협력단
경기도 성남시 수정구 성남대로 1342 (복정동)
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교 산학협력관 201호(신당동)
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
박우재
경기도 성남시 수정구 성남대로 1342 (복정동)
박주원
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
김신
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교 산학협력관 201호(신당동)
(74) 대리인
이원희

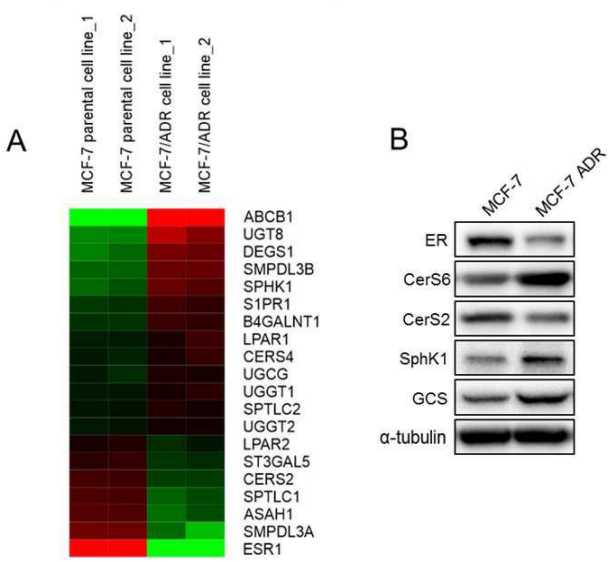
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **C12, C16 또는 C18-세라마이드를 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 C12, C16 또는 C18-세라마이드를 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, C12, C16 또는 C18-세라마이드는 에스트로겐 수용체 분해를 증가시키고, 풀베스트란트(fulvestrant)와 함께 처리한 경우 풀베스트란트에 의한 에스트로겐 수용체 분해 효과 및 세포 사멸 효과를 증대시키므로, 유방암 예방 및 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/565 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345302731
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(교육부)(R&D)
연구과제명 스핑고지질 기반 담석 후보 치료제 개발 연구
기 여 율 35/100
과제수행기관명 가천대학교
연구기간 2019.07.01 ~ 2020.04.30
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345301743
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(교육부)(R&D)
연구과제명 지방조직 리모델링에 미치는 스핑고지질의 역할 규명
기 여 율 35/100
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2019.07.01 ~ 2019.10.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345301087
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 지역대학우수과학자지원사업(1년~5년)
연구과제명 유방암 약물 저항성에 있어서 다양한 세라마이드와 글루코실세라마이드 합성효소, 글루코실세라미다아제의 연계성 규명
기 여 율 30/100
과제수행기관명 계명대학교
연구기간 2019.06.01 ~ 2020.02.29

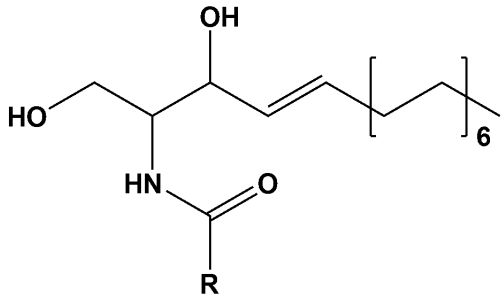
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{8-20} 알킬이다).

청구항 2

제 1항에 있어서,

R은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{10-18} 알킬인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

R은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{12-17} 알킬인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 C18-세라마이드인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 에스트로겐 수용체 분해를 증가시키는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 항암제와 병용하여 투여하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 7

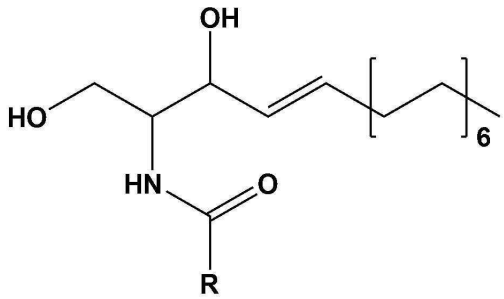
제 6항에 있어서,

상기 항암제는 풀베스트란트(fulvestrant)인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 8

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 개선 또는 치료용 건강기능식품:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{8-20} 알킬이다).

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 C12, C16 또는 C18-세라마이드를 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 유방암은 2012년 발표된 중앙 암 등록 본부 통계에 따르면, 2010년 대한민국에서 총 14,277 건이 발생되었으며, 전체 암 발생의 7.1%(6위)를 차지하는 수위의 암 중 하나이다. 또한, 여성에서 유방암의 발생 건수는 연 14,208 건으로 여성암 중에서는 2위를 차지하고 있으며, 유방암의 발생 연령대는 40대가 36.2%로 가장 많고, 50대가 28.4%, 60대가 13.7%의 순으로 나타났다. 유방암의 5년 생존률은 0기 암의 경우 100%에 가까우나 4기의 경우 20% 미만에 불과하여, 유방암의 진단 시점 및 그 성격에 따라 다양한 경과를 보인다. 유방암 환자의 40%는 초기에 뼈 전이가 일어나며, 뼈 전이가 일어난 환자의 15%는 병적인 골절이 생긴다. 뼈 전이 또는 척추 전이로 신경학적 이상이 일어나는 경우 심한 통증을 수반하기 때문에 환자들의 삶의 질이 크게 떨어지게 된다.

[0004] 에스트로겐 수용체(Estrogen Receptor, ER)는 표적 조직에서 진핵 유전자 발현, 세포 증식 및 분화의 조절에 연관된 스테로이드/핵 수용체 수퍼패밀리에 속한다. ER은 ESR1 및 ESR2 유전자에 의해 각각 암호화되는 에스트로겐 수용체 알파(ERα) 및 에스트로겐 수용체 베타(ERβ의 두 가지 형태로 존재한다. ERα 및 ERβ는 에스트로겐 호르몬에 의해 활성화되는 리간드-활성화 전사 인자이다. 호르몬의 부재시, ER은 주로 세포의 세포액에 위치한다. 에스트로겐 호르몬이 ER에 결합할 때, ER은 세포액으로부터 세포의 핵으로 이동하여 이량체를 형성한 다음

에스트로겐 반응 요소(Estrogen Response Element, ERE)로 불리는 특이적 게놈 서열에 결합한다. DNA/ER 복합체는 공동-조절자와 상호작용하여 표적 유전자의 전사를 조절한다.

[0005] ERα는 주로 생식 조직, 예를 들어 자궁, 난소, 유방, 골 및 백색 지방 조직에서 발현된다. 비정상 ERα 신호전달은 다양한 질환, 예를 들어 암, 대사 및 심장혈관 질환, 신경변성 질환, 염증 질환 및 골다공증의 발생을 초래한다. ERα는 정상 유방 상피의 10% 이하에서 발현되지만, 유선 종양의 대략 50 내지 80%에서 발현된다. 높은 수준의 ERα를 갖는 이러한 유선 종양은 ERα-양성 유선 종양으로 분류된다. 유방암에서 에스트로겐의 병인학적 역할은 잘 확립되어 있고 ERα신호전달의 조절은 주요 ERα-양성 유선 종양에 대한 유방암 치료의 주축으로 남아있다. ERα 신호 전달은 인슐린 성장인자 수용체(IGFR) 또는 상피 성장인자 수용체(EGFR)와 관련되어 있으며, 이는 mTOR 및 MAP 키나제 신호전달경로를 활성화시킨다. 유방암의 75 %가 ERα 양성이므로, ERα는 유방암에서 중요한 치료 표적이 될 수 있다.

[0006] 따라서, ERα 길항제는 유방암 치료제로서 개발되어 왔다. 예를 들어, 타목시펜은 ERα의 기능을 억제하고 풀베스트란트는 ER 이량체화를 방지하여 ER 분해를 증가시킨다. 또한, HER2, EGFR, VEGFR, IGFR, Akt, mTORC1, Raf, MEK1/2 등과 같은 ERα의 다양한 다운 스트림 표적이 밝혀졌으며, 이러한 표적에 대한 작용제가 유방암을 치료하기 위해 개발되었다. ER 및 프로게스테론 수용체와 같은 유방암의 특정 수용체를 직접 표적으로하는 호르몬 요법의 개발은 치료 결과를 개선하였다. ER 양성 종양은 특히 전통적인 화학 요법보다 부작용이 적으면서도 타목시펜과 같은 에스트로겐 길항제로 치료하고 있는 실정이다.

[0007] 스핑고지질(Sphingolipids, SLs)은 포유동물에서 C18-스핑가닌(18:0) 및 C18-스핑고신(C18:1)을 포함하는 긴 사슬 염기를 함유하는 지질로 정의된다. 스핑고지질은 세라마이드, 스핑고미엘린, 스핑고신, 스핑고신-1-포스페이트(S1P) 및 수백 가지의 다양한 글라이코스핑고리피드를 포함한다. 스핑고리피드의 기본 구조 요소인 세라마이드는 다양한 아실 사슬 길이를 가진 지방산과 스핑고신을 포함한다. 최근에 6개의 세라마이드 합성효소(ceramide synthase, CerS) 유전자가 포유동물에서 발견되었으며, CerS 패밀리의 각 구성원은 서로 다른 길이의 세라마이드 아실 사슬(chain)을 합성한다. 예를 들어, CerS1은 C18-세라마이드를, CerS2는 C22-24-세라마이드를, CerS3은 C26-34-세라마이드를, CerS4는 C20-세라마이드를, CerS5 및 CerS6는 C16-세라마이드를 합성한다. 다양한 아실 사슬 길이를 갖는 이들 세라마이드는 스핑고신으로 분해된 뒤 UDP-글루코스 세라마이드 글루코실 전이효소(UGCG)에 의해 글라이코실 세라마이드로 전환되고, 스핑고신 키나제(SPHK)에 의해 S1P로 전환될 수 있다. 스핑고리피드는 세포막의 구조적 분자일 뿐만 아니라 종양 억제 또는 생존을 제어하기 위해 세포 신호의 조절에 중요한 역할을 하는 생물활성 분자이다. 세라마이드는 세포 내에서 일어나는 여러 가지 작용 기전을 일으키는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 특히 세포 증식, 세포 분화, 성장 억제, 세포 사멸에 관여하고 있다.

[0008] 유방암에서 스핑고리피드 대사 조절의 장애는 이미 알려져 있고, CerS2, CerS4 및 CerS6의 mRNA 의 증가와 함께 C16 및 C24-세라마이드의 증가가 보고되었다. 또한, 상승된 C16-세라마이드의 수준은 양성 림프절 상태와 관련이 있고, C18 및 C20-세라마이드의 수준은 ER 음성 종양 조직과 비교하여 ER 양성 종양 조직에서 유의하게 더 높았다. UGCG에 의한 세라마이드의 글라이코실화는 유방암 줄기 세포의 특성을 선택적으로 유지하고 화학요법에 대한 반응이 좋지 않은 약물내성 암 세포 및 유방암에서 상승하였다는 연구 결과가 보고되었다(Carcinogenesis. 2009 May;30(5):745-52. doi: 10.1093/carcin/bgp061. Epub 2009 Mar 11.). 또 다른 연구는 세라마이드 글라이코실화의 억제가 cSrc/β-카테닌 경로를 통한 MDR1 유전자 발현을 감소시키고 RNA스플라이싱을 통해 p53의 발현을 회복시킬 수 있음을 밝혔다. 또한, 여러 동물 연구에서 유방암 진행에 있어 SPHK1/S1P의 중요한 역할을 제안하였다. 마우스에서 안정적으로 SPHK1 과발현된 유방암 세포는 말초에서 더 높은 미세혈관 밀도를 갖는 벡터 트랜스퍼보다 더 많은 종양을 형성하였다. 뮤린 유방암 세포를 면역 적합 암컷 마우스의 유선 지방 패드에 이소성 이식하여 유사한 결과를 얻었다. 유방암에서 스핑고리피드의 변경에 의한 몇 가지 보고에도 불구하고, 유방암에 대한 예방 및 치료에 중요한 ERα수준에 대한 스핑고리피드의 효과는 지금까지 뚜렷한 연구성과가 없는 실정이다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 이를 밝혀내기 위해 예의 노력한 결과, C12, C16 또는 C18-세라마이드와 GCS가 ERα프로테아좀 분해에서 서로 반대의 역할을 한다는 것을 알아내고, C12, C16 또는 C18-세라마이드의 처리는 유방암 세포 사멸을 상승적으로 증가시켜 유방암 예방 또는 치료에 이용될 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 목적은 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 개선 또는 치료용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 개선 또는 치료용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명의 C12, C16 또는 C18-세라마이드는 에스트로겐 수용체 분해를 증가시키고, 풀베스트란트(fulvestrant)와 함께 처리한 경우 풀베스트란트에 의한 에스트로겐 수용체 분해 효과 및 세포 사멸 효과를 증대시키므로, 유방암 예방 및 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1의 a는 MCF-7 및 MCF-7 / ADR 세포의 유전자 발현 마이크로 어레이 데이터를 나타낸 도이고, b는 독소루비신 저항성을 갖는 MCF-7 유방암 세포주에서 스핑고지질 관련 효소의 발현 변화를 웨스턴 블롯 결과로 나타낸 도이다.

도 2의 a는 1μM C2 ~ C24: 1-세라마이드를 처리한 후 에스트로겐 수용체(Estrogen receptor, ER)의 수준을 웨스턴 블롯 결과로 나타낸 도이다.

도 2의 b는 대조군인 MCF-7 세포주, HA 태그가 달린 CerS6이 과발현된 세포주, HA 태그가 달린 CerS6이 과발현된 세포주에 FB1(fumonisin B1)을 처리한 경우의 각각 HA와 ER의 발현량을 웨스턴 블롯 결과로 나타낸 도(왼쪽)와 CerS6의 농도에 따른 HA와 ER의 발현량을 나타낸 웨스턴 블롯 결과(오른쪽)이다.

도 2의 c는 대조군인 MCF-7 세포주, HA 태그가 달린 CerS1이 과발현된 세포주,HA 태그가 달린 CerS1이 과발현된 세포주에 FB1(fumonisin B1)을 처리한 경우의 각각 HA와 ER의 발현량을 웨스턴 블롯 결과로 나타낸 도(왼쪽)와 CerS1의 농도에 따른 HA와 ER의 발현량을 나타낸 웨스턴 블롯 결과(오른쪽)이다.

도 3의 a는 대조군, CerS6가 과발현된 MCF-7 세포 및 CerS1이 과발현된 MCF-7 세포에서 에스트로겐 수용체(ER) 분해 정도를 나타낸 결과(왼쪽)와 시간에 따른 에스트로겐 수용체(ER) 신호 강도를 나타낸 그래프(오른쪽)이다.

도 3의 b는 프로테아좀 억제제인 MG132 또는 류펩틴(Leupeptin)과 공동배양한 CerS6(왼쪽)과 CerS1(오른쪽) 과발현 MCF-7 세포주에서 HA 및 에스트로겐 수용체(ER)의 단백질의 겔 전기영동 결과를 나타낸 도이다.

도 4의 a는 풀베스트란트(fulvestrant)와 C12 내지 C18-세라마이드의 에스트로겐 수용체 발현 감소 효과 및 세포사멸 효과를 나타낸 도이다.

도 4의 b는 풀베스트란트(fulvestrant)와 C12 ~ C18-세라마이드의 병용처리에 의한 세포 생존력 분석한 결과를 나타낸 도이다.

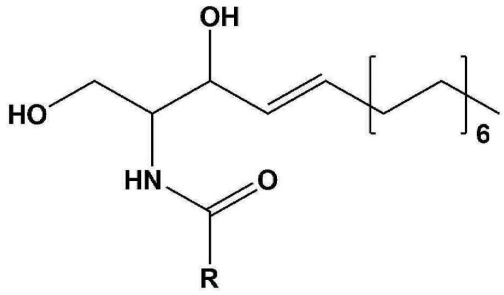
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0021] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효

성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0022] [화학식 1]

[0023] 

[0024] (상기 화학식 1에서,

[0025] R은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{8-20} 알킬이다).

[0026] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 C12-세라마이드, C16-세라마이드, C18-세라마이드를 포함한다.

[0027] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 에스트로겐 수용체 분해를 증가시키는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0028] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 항암제와 병용하여 투여할 수 있다.

[0029] 상기 항암제는 풀베스트란트(fulvestrant)일 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0030] 상기 항암제는 빈카 알카로이드(vinca alkaloid) 계열, 탁산(taxan) 계열, 안트라사이클린(anthracycline) 계열, 에피포도필로톡신(epipodophyllotoxin) 계열, 콜히친(colchicine), 미톡산트론(mitoxantrone), 닥티노마이신(dactinomycin), 토포테칸(topotecan), 트리메트렉스산(trimetrexate), 미트라마이신(mithramycin) 및 미토마이신 C(mitomycin C)로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다. 일례로, 빈카 알카로이드 계열은 빈블라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine) 및 나벨빈 (navelbine)일 수 있고, 탁산 계열은 파클리탁셀(paclitaxel, TAX), 탁소테르(taxotere)일 수 있다. 또한, 안트라사이클린 계열은 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 에피루비신 (epirubicin) 및 이다루비신(idarubicin)일 수 있고, 에피포도필로톡신 계열은 에토포시드(etoposide) 및 테니포시드(teniposide)일 수 있다. 또한, 상기 항암제는 항암제로 공지된 약물이라면 모두 포함될 수 있다.

[0031] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류 등과 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻을 수 있다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 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, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트 등이 있다.

[0032] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 유도체를 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세토니트릴 등과 같은 유기용매에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조시켜 제조하거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조시켜 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

[0033] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은

예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻을 수 있다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0034] 상기 약학적 조성물은 약학적 조성물 전체 중량에 대하여 유효성분인 보르테조밉 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염을 10 내지 95 중량%로 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 상기 유효성분 외에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 추가로 함유할 수 있다.

[0035] 본 발명의 조성물은 또한 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 둘 이상의 이들의 조합을 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 조성물을 생체 내에 전달하는데 적합한 것이면 특별히 제한되지 않으며, 예로서, Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc. 에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로스 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 또는 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합한 것일 수 있다. 이때, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.

[0036] 상기 조성물을 제제화할 경우, 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.

[0037] 본 발명의 조성물은 경구제제 또는 비경구제제로 제형화 될 수 있다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 첨가될 수 있다. 한편, 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 여기에는 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등과 같은 부형제가 포함될 수 있다.

[0038] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제 등의 주사제가 포함될 수 있다.

[0039] 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0040] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여될수 있으며, 비경구 투여는 피부 외용 또는 복강내 주사, 직장내 주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식중 선택될 수 있다.

[0041] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여된다. 이는 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물 등에 따라 달라질 수 있다. 본 발명의 조성물은 단독 또는 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 병용 투여시, 투여는 순차적 또는 동시일 수 있다.

[0042] 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명에 따른 약학적 조성물에 포함되는 유효성분의 양은 0.001 내지 10,000 mg/kg, 구체적으로는 0.1 내지 5 g/kg일 수 있다. 상기 투여는 하루에 1회일 수 있고, 수회로 나뉠 수도 있다.

[0043] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 MCF-7 또는 MCF-7/ADR 세포주에서의 스핑고지질 관련 효소 발현량을 분석하기 위해 웨스턴 블롯 실험을 수행한 결과, 독소루비신 저항성을 갖는 MCF-7 유방암 세포주에서 ER 및 CerS2의 발현이 감소하고, CerS6, GCS, SphK1의 발현이 증가한 것을 확인하였다(도 1의 b 참조).

[0044] 또한, 본 발명자들은 C2 ~ C24: 1-세라마이드 처리에 따른 에스트로겐 수용체(ER)의 발현량을 비교하기 위해 실험을 수행한 결과, C12-세라마이드, C16-세라마이드, C18-세라마이드를 처리한 경우 에스트로겐 수용체(ER)의 발현이 감소한 것을 확인하였다(도 2의 a 참조).

[0045] 또한, 본 발명자들은 CerS6 및 CerS1과 에스트로겐 수용체(ER)의 상관관계를 분석하기 위해 실험을 수행한 결과, CerS1과 CerS6이 과발현된 MCF-7세포에서는 에스트로겐 수용체(ER)의 발현이 감소하였고, 세라마이드 합성효소 억제제인 푸모니신 B1을 처리한 CerS1과 CerS6가 과발현된 MCF-7세포에서는 에스트로겐 수용체의 발현 감소 정도가 줄어든 것을 확인하였다(도 2의 a와 b 참조).

[0046] 또한, 본 발명자들은 CerS1 및 CerS6의 과발현에 따른 에스트로겐 수용체(ER) 분해 측정하기 위해서 펄스추적실험을 수행한 결과, 인큐베이션한 시간에 따라 CerS1과 CerS6가 과발현된 MCF-7 세포에서의 ER 분해 정도가 증가함을 확인하였다(도 3의 a 참조).

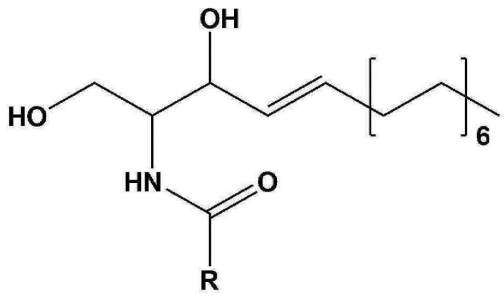
[0047] 또한, 본 발명자들은 풀베스트란트와 C12 ~ C 18-세라마이드의 병용처리에 의한 에스트로겐 수용체 분해 효과를 확인하기 위해 실험을 수행한 결과, 풀베스트란트, C12-세라마이드, C16-세라마이드, C18-세라마이드를 단독 처리한 경우보다 풀베스트란트와 C12, C16 또는 C18-세라마이드를 병용처리한 경우 에스트로겐 수용체(ER)의 발현이 감소한 것을 확인하였다(도 4의 a 참조).

[0048] 또한, 본 발명자들은 풀베스트란트(fulvestrant)와 C12 ~ C18-세라마이드의 병용처리에 의한 세포 생존력 분석하기 위해 MTT를 이용한 실험을 수행한 결과, 풀베스트란트, C12-세라마이드, C16-세라마이드, C18-세라마이드를 단독 처리한 경우보다 풀베스트란트와 C12, C16 또는 C18-세라마이드를 병용처리한 경우 농도의존적으로 세포 생존력이 감소함을 확인하였다(도 4의 b 참조).

[0049] 따라서, 본 발명의 C12, C16 또는 C18-세라마이드 화합물은 에스트로겐 수용체 분해를 증가시키고, 풀베스트란트(fulvestrant)와 함께 처리한 경우 풀베스트란트에 의한 에스트로겐 수용체 분해 효과 및 세포 사멸 효과를 증대시키므로, 유방암 예방 및 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

[0051] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 개선 또는 치료용 건강기능식품을 제공한다.

[0052] [화학식 1]



[0053]

[0054] (상기 화학식 1에서,

[0055] R은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{8-20} 알킬이다).

[0056] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있다. 이때, 첨가되는 유효성분의 함량은 목적에 따라 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중의 함량은 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부일 수 있다.

[0057] 또한, 상기 건강기능식품의 형태 및 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 건강기능식품의 형태는 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상 및 환 등일 수 있다.

[0058] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 건강기능식품과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.

[0059] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택될 수 있다.

[0061] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해서 상세히 설명한다.

[0062] 단, 하기 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0064] **<재료의 준비>**

[0065] 독소루비신, C2-, C6-, C12- 세라마이드, 항-HA, 항-세라마이드 합성효소(CerS) 2 및 α- 튜불린 항체는 Sigma-Aldrich (미국 미주리 주 세인트루이스)에서 입수하였다. 글루코실 세라마이드 합성효소(GCS)를 검출하는 항체는 Novus Biologicals (Littleton, CO, USA)로부터 구입하였다. 항-CerS6항체는 산타 크루즈 바이오 테크놀로지 (Santa Cruz Biotechnology, 미국 캘리포니아 주 산타크루즈)로부터 입수하였다. 항-ER 항체는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA)에서 입수하였다. 항-마우스-HRP 및 항-토끼-HRP 항체는 Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA)에서 입수하였으며, 항-SphK1 항체는 Abcam (Cambridge, MA, USA)에서 구입하였다. C16-, C18-, C20-, C22-, C24- 및 C24 : 1- 세라마이드는 Avanti Polar Lipid (Alabaster, AL)로부터 입수하였다. 풀베스트란트는 Biovision (미국 캘리포니아 주 팔로 알토)으로부터 입수하였다.

[0067] **<실험예 1. MCF-7 및 MCF-7 / ADR 세포의 유전자 발현 마이크로 어레이 데이터 분석>**

[0068] MCF-7과 MCF-7/ADR(Adriamycin resistant cell line)에서의 스핑고지질 mRNA 발현양상을 비교하기 위해서 하기와 같은 유전자 발현 마이크로 어레이 데이터 ㅂ분석을 수행하였다. MCF-7 및 MCF-7 / ADR 세포의 유전자 발현 마이크로 어레이 데이터는 공개적으로 이용이 가능한 GEO 데이터베이스 (http : //www.ncbi.nlm.nih. gov / geo /)에서 다운로드하였다. GEO 데이터 세트에는 2개의 모 MCF-7 세포주 샘플 및 독립적으로 생장하고 수확한 독소루비신 내성 MCF-7 세포주 샘플 2개가 포함된다. GEO 데이터베이스의 다운로드된 원시 데이터는 Robust Multichip Average 방법(Irizarry RA, Hobbs B, Collin F, Beazer-Barclay YD, Antonellis KJ, Scherf U and Speed TP: Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data. Biostatistics 4: 249-264, 2003.)을 사용하여 전사(transcript) 및 유전자 수준에서 정규화하였다.

[0069] 그 결과 도 1의 a에 나타낸 바와 같이, 관련된 유전자 20개를 분석하였다. CerS6의 경우는 mRNA에서 차이가 없지만, 단백질은 차이가 있음을 확인하였다.

[0070]

[0071] **<실시예 1. 세포 배양 및 형질감염>**

[0072] MCF-7 또는 독소루비신 내성을 가진 MCF-7/ADR 세포를 RPMI-1640, 10 % 소 태아 혈청(FBS), 2 % 페니실린/스트렙토 마이신(Hyclone, Logan, UT)에서 유지하고, 3일마다 계대배양하였다. 프로토콜에 따라 메타펙텐 (Metafectene ,Miotex Laboratories, 독일 뮌헨)을 사용하여 형질 감염을 수행하였다. pCMV-CerS1-HA, pCMV-CerS6-HA의 형질감염된 벡터는 A.H. Futerman (Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel)으로부터 입수하였다. pCMV-CerS1-HA, pCMV-CerS6-HA는 CerS1과 CerS6를 과발현한 것에 HA tag이 달려 있는 것이다.

[0074] **<실시예 2. 독소루비신 내성 세포의 준비 >**

[0075] Kovalchuk O, Filkowski J, Meservy J, Ilnytskyy Y, Tryndyak VP, Chekhun VF and Pogribny IP: Involvement of microRNA-451 in resistance of the MCF-7 breast cancer cells to chemotherapeutic drug doxorubicin. Mol Cancer Ther 7: 2152-2159, 2008 에 기재된 방법과 같이 6 내지 8개월 동안 0.5 ~ 25μM씩 증가시키면서 독소루비신을 장기간 처리하여 독소루비신 내성 MCF-7세포(MCF-7/ADR)를 준비하였다.

[0077] **<실험예 2. MCF-7 또는 MCF-7/ADR 세포주에서 스핑고지질 관련 효소 발현 분석>**

[0078] MCF-7 또는 MCF-7/ADR 세포주에서의 스핑고지질 관련 효소 발현량을 분석하기 위해 웨스턴 블롯 실험을 수행하였다.

[0079] 구체적으로, RIPA 완충액 (50mM의 Tris-Cl, pH 7.5, 150 mM의 NaCl, 1% Nonidet P-40, 0.5% 나트륨 데옥시콜레이트, 0.1 % SDS 및 프로테아제 억제제 및 포스파타제 억제제)으로 세포를 용해한 후, 세포 용해물을 얼음에 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음, 세포 용해물을 4 ℃에서 12000×g로 10분 동안 원심분리하여 상등액을 수득하였다. 단백질 분석 염료 시약 (Biorad Laboratories, Hercules, CA)을 사용하여 단백질 수준을 검사하였다. 단백질 전기영동 및 블로팅 시스템(Biorad Laboratories, Hercules, CA)을 사용하여 50μg의 단백질을 분리하고 니트로셀룰로오스막(Biorad Laboratories, Hercules, CA)으로 옮겼다. 니트로셀루로오스막을 5% 소혈청

알부민 (BSA, Sigma-Aldrich, St Louis, MO)을 함유한 PBST (0.1%의 트윈 -20을 갖는 PBS)에서 1시간 동안 블로킹시킨 후, 4 ℃에서 밤새 항-ER, 항-CerS6, 항-CerS2, 항-SphK1 또는 항-GCS 1차 항체로 인큐베이션하였다. 이어서, 항-마우스-HRP 및 항-토끼-HRP 2차 항체를 실온에서 1시간 동안 부착시켰다.

[0080] TBST 용액으로 10분 간격으로 3회 막을 세척한 후, 단백질 밴드는 ECL 웨스턴 블로팅 검출 시약 (Amersham Biosciences, Little Chalfont Bucks, UK)을 사용하여 Chemidoc MP 이미징 시스템 (Biorad Laboratories, Hercules, CA)에 의해 검출하였다.

[0081] 그 결과, 도 1의 b에 나타난 바와 같이, 독소루비신 저항성을 갖는 MCF-7 유방암 세포주에서 ER 및 CerS2의 발현이 감소하고, CerS6, GCS, SphK1의 발현이 증가한 것을 확인하였다.

[0083] **<실험예 3. C2 ~ C24:1-세라마이드 처리에 따른 에스트로겐 수용체(ER)의 발현량 비교>**

[0084] C2 ~ C24:1-세라마이드 처리에 따른 에스트로겐 수용체(ER)의 발현량을 비교하기 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다. MCF-7 세포 또는 MCF-7/ADR 세포 배양 배지에 1μM의 C2 내지 C12-세라마이드를 처리하였다. 또한, MCF-7 세포 또는 MCF-7/ADR 세포 배양 배지에 1μM의 C16 내지 C24:1-세라마이드를 처리하고 12시간마다 10분 동안 20μg/ml 농도의 디지토닌(digitonin)을 처리하여 세포의 투과성을 증가시켰다. 그런 다음, 1차 항체로 항-ER항체를 사용하여 <실험예 2>와 동일한 방법으로 웨스턴 블롯을 수행하여 확인하였다.

[0085] 그 결과, 도 2의 a에 나타난 바와 같이, C12-세라마이드, C16-세라마이드, C18-세라마이드를 처리한 경우 에스트로겐 수용체(ER)의 발현이 감소한 것을 확인하였다.

[0087] **<실험예 4. CerS1 및 CerS6과 에스트로겐 수용체(ER)의 상관관계 분석>**

[0088] CerS6 및 CerS1과 에스트로겐 수용체(ER)의 상관관계를 분석하기 위해 <실시예 1>에 기재된 방법으로 pCMV-CerS1-HA, pCMV-CerS6-HA 벡터로 형질감염된 MCF-7 세포와 세라마이드 합성효소 억제제인 푸모니신 B1(fumonisin B1, FB1)을 처리한 MCF-7 세포를 준비하고, 1차 항체로 항-ER항체를 사용하여 <실험예 2>와 동일한 방법으로 웨스턴 블롯을 수행하여 확인하였다. 또한, CerS1과 CerS6의 처리 농도가 에스트로겐 수용체(ER)에 미치는 영향을 확인하기 위하여 MCF-7 세포에 2μg, 5μg, 10μg의 CerS1과 CerS6를 처리한 후 1차 항체로 항-ER항체를 사용하여 <실험예 2>와 동일한 방법으로 웨스턴 블롯을 수행하여 확인하였다.

[0089] 그 결과, 도 2의 b와 c에 나타낸 바와 같이 CerS1과 CerS6이 과발현된 MCF-7세포에서는 에스트로겐 수용체(ER)의 발현이 감소하였고, 세라마이드 합성효소 억제제인 푸모니신 B1을 처리한 CerS1과 CerS6가 과발현된 MCF-7세포에서는 에스트로겐 수용체의 발현 감소 정도가 줄어든 것을 확인하였다. 또한, 각기 다른 농도의 CerS1과 CerS6를 처리하였을 때 농도가 높을 수록 에스트로겐 수용체의 발현이 감소됨을 확인하였다. CerS1은 C18-세라마이드를, CerS6는 C16-세라마이드를 합성한다고 알려져 있는바, 상기 결과는 세라마이드 합성효소에 의해 C16-세라마이드와 C18세라마이드가 많이 생성될수록 에스트로겐 수용체의 발현이 감소함을 시사한다.

[0090] **<실험예 5. CerS1 및 CerS6의 과발현에 따른 에스트로겐 수용체(ER) 분해 측정>**

[0091] CerS1 및 CerS6의 과발현에 따른 에스트로겐 수용체(ER) 분해 측정하기 위해서 하기와 같은 펄스추적실험을 수행하였다.

[0092] Park W-J, Park J-W, Erez-Roman R, *et al.*: Protection of a ceramide synthase 2 null mouse from drug-induced liver injury: role of gap junction dysfunction and connexin 32 mislocalization. Journal of Biological Chemistry 288: 30904-30916, 2013.에 기재된 방법과 같이, MCF-7 세포는 CerS1 또는 CerS6로 48시간 동안 과발현한 후 메티오닌 없이 DMEM에서 1시간 동안 굶기고 10% FBS로 보충하였다. 이어서, 배지를 [35S]-메티오닌 (0.1mCi / 35-mm 접시)을 포함하는 DMEM으로 교체하였다. 30분 인큐베이션한 후, 배지를 변경하고 세포를 베타-에스트라 디올과 함께 다양한 시간(1, 2, 4 및 6시간)동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 시간의 마지막에 세포를 용해 완충액 (5mM Tris, 5mM EDTA, 5mM EGTA, 10mM 요오도 아세트 아미드, 2mM 페닐 메틸 술포닐 플루오라이드(pH 8.0)), 0.6 % SDS 및 프로테아제 억제제(Sigma Aldrich)에 용해시켰다. 100℃에서 3분 동안 가열한 후, 용해물을 항-ER 항체로 면역 침전시키고, 10% SDS- 폴리 아크릴 아미드 겔 전기 영동으로 분리하였다. 겔을 건조시키고 -80℃에서 Bio / Max Transcreen LE- 강화 스크린(Kodak)에 노출시켰다.

[0093] 그 결과, 도 3의 a에 나타낸 바와 같이, 인큐베이션한 시간에 따라 CerS1과 CerS6가 과발현된 MCF-7 세포에서의

ER 분해 정도가 증가함을 확인하였다.

[0095] **<실험예 6. 프로테아좀 억제제가 CerS1 및 CerS6의 과발현에 따른 에스트로겐 수용체(ER) 분해에 미치는 영향 확인>**

[0096] 프로테아좀 억제제가 CerS1 및 CerS6의 과발현에 따른 에스트로겐 수용체(ER) 분해에 미치는 영향 확인하기 위해, <실험예 5>에 기재된 방법과 같이 MCF-7 세포는 CerS1 또는 CerS6로 48시간 동안 과발현한 후 배지를 변경하고, 세포를 프로테아좀 억제제인 MG132 또는 리소좀 억제제인 류펩틴(Leupeptin)과 함께 인큐베이션하였다.

[0097] 그 결과, 도 3의 b에 나타낸 바와 같이, CerS1과 CerS6 과발현된 MCF-7 세포주에서 에스트로겐 수용체(ER)의 발현이 감소한 반면 MG132와 공동 배양한 세포주에서는 에스트로겐 수용체의 발현이 감소하지 않았고, 류펩틴(Leupeptin)과 공동 배양한 세포주에서는 에스트로겐 수용체의 발현이 감소한 것을 확인하였다.

[0099] **<실험예 7. 풀베스트란트(fulvestrant)와 C12 ~ C18-세라마이드의 병용처리에 의한 에스트로겐 수용체 분해 효과 확인>**

[0100] 풀베스트란트와 C12 ~ C 18-세라마이드의 병용처리에 의한 에스트로겐 수용체 분해 효과를 확인하기 위해 MCF-7 세포를 RPMI-1640, 10 % 소 태아 혈청 (FBS), 2 % 페니실린 / 스트렙토 마이신(Hyclone, Logan, UT)에서 유지시키고 3일마다 계대 배양 하였다. 48시간 동안 1μM의 C12, C16, C18- 세라마이드를 각각 처리 후, 100pm의 풀베스트란트를 24시간 동안 추가로 처리하였다. 에스트로겐 수용체 발현은 <실험예 2>에 기재된 웨스턴 블롯 실험을 이용하여 측정하였다.

[0101] 그 결과, 도 4의 a에 나타낸 바와 같이, 풀베스트란트, C12-세라마이드, C16-세라마이드, C18-세라마이드를 단독 처리한 경우보다 풀베스트란트와 C12, C16 또는 C18-세라마이드를 병용처리한 경우 에스트로겐 수용체(ER)의 발현이 감소한 것을 확인하였다.

[0102]

[0103] **<실험예 8. 풀베스트란트(fulvestrant)와 C12 ~ C18-세라마이드의 병용처리에 의한 세포 생존력 분석>**

[0104] 풀베스트란트(fulvestrant)와 C12 ~ C18-세라마이드의 병용처리에 의한 세포 생존력 분석하기 위해 MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium)를 사용하여 세포 생존력을 측정하였다. <실험예 7>에 기재된 방법으로 C12, C16 및 C18-세라마이드를 각각 0, 10μM, 50μM의 농도로 처리하고, 이에 100nM와 1μM 농도의 풀베스트란트를 48시간 동안 처리한 후, MTT(PBS에서 5mg/ml)를 배지에 첨가하고 세포를 4시간 동안 인큐베이션하였다. 배지를 석션(suction)한 후, 포르마잔(formazan)을 100μL DMSO로 용해시키고, 570nm 파장으로 검출하였다.

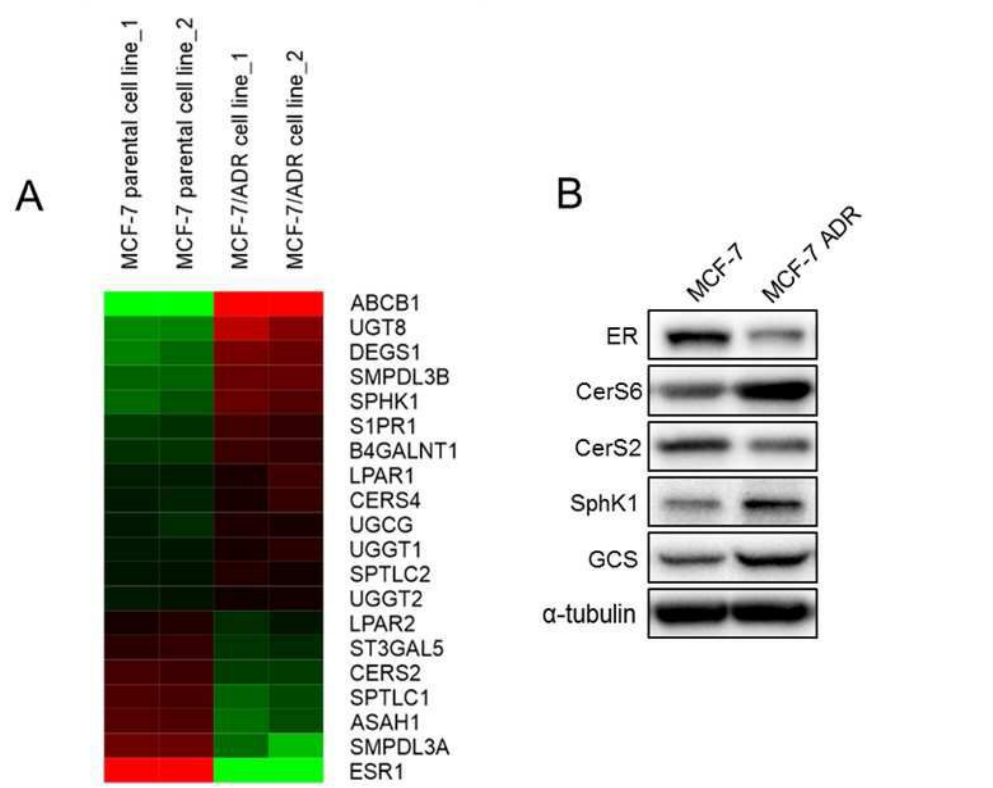
[0105] 그 결과, 도 4의 b에 나타낸 바와 같이, 풀베스트란트, C12-세라마이드, C16-세라마이드, C18-세라마이드를 단독 처리한 경우보다 풀베스트란트와 C12, C16 또는 C18-세라마이드를 병용처리한 경우 농도의존적으로 세포 생존력이 감소하였다. 이를 통해, C12, C16 또는 C18-세라마이드를 풀베스트란트와 병용처리하면 에스트로겐 수용체의 감소 효과 및 세포사멸 효과가 모두 증가함을 알 수 있다.

[0107] **<통계 분석>**

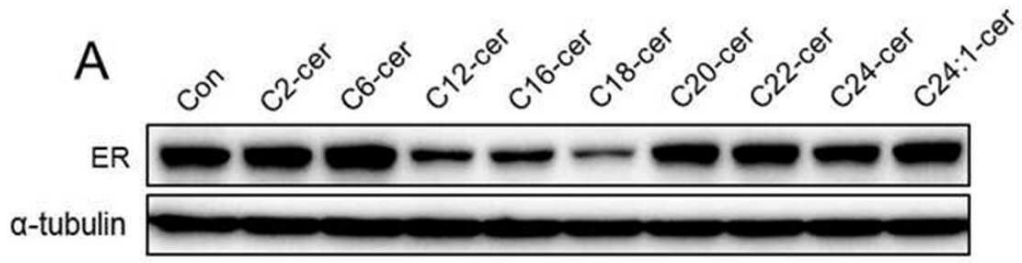
[0108] SPSS 소프트웨어 (버전 25.0; IBM SPSS, Armonk, NY, USA)를 사용하여 통계 분석을 수행하였으며, 그룹 간의 차이는 Mann Whitney-U-test를 사용하여 통계적으로 분석했다. 일반적으로, $P < 0.05$는 연구에서 수행 된 모든 통계 분석에서 유의성을 나타내는 것으로 간주되었다.

도면

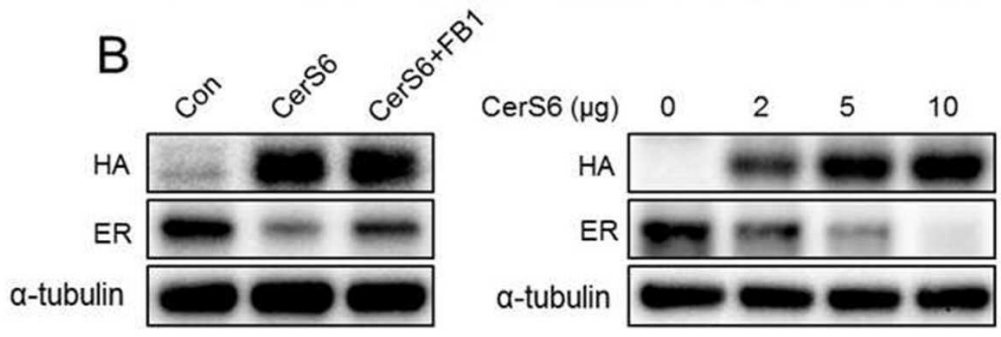
도면1



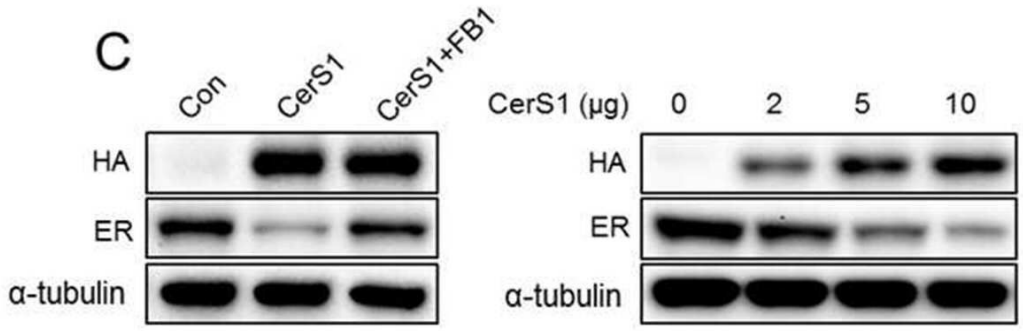
도면2a



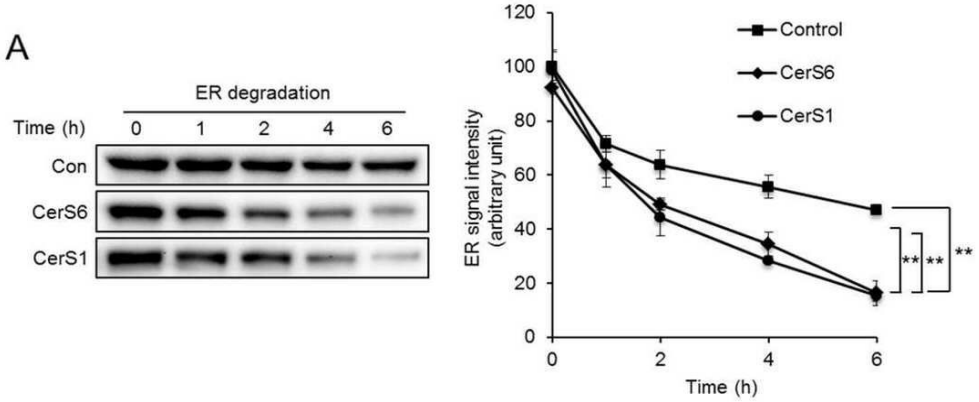
도면2b



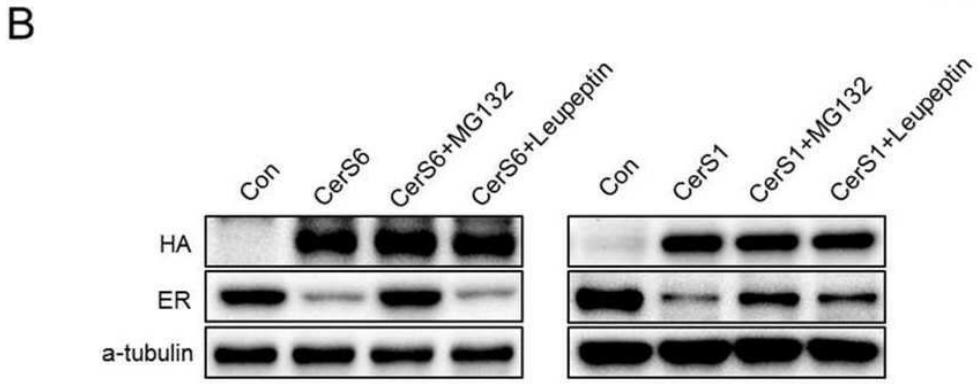
도면2c



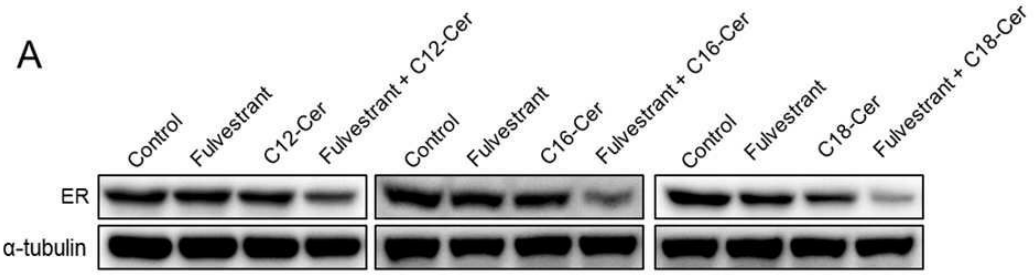
도면3a



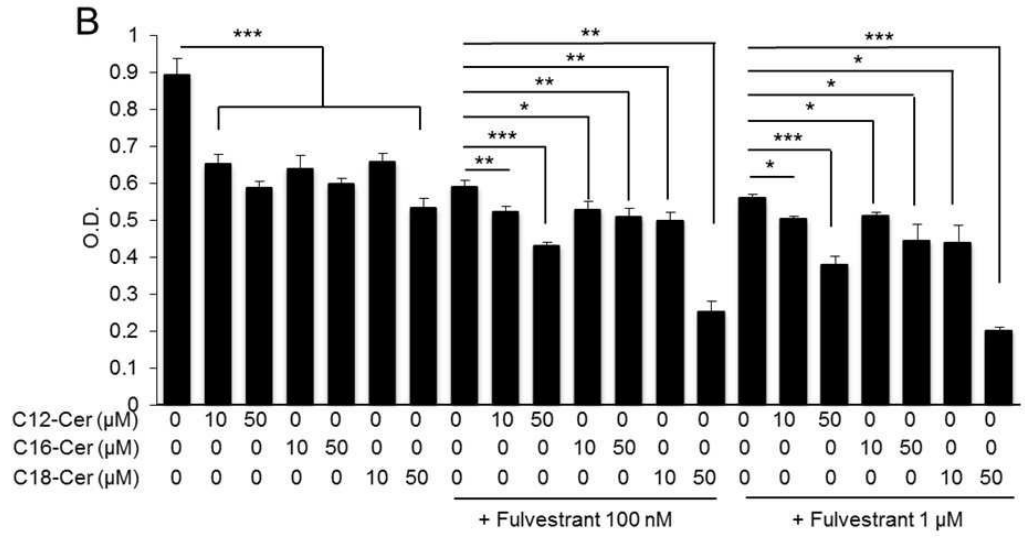
도면3b



도면4a


A
Control
Fulvestrant
C12-Cer
Fulvestrant + C12-Cer
Control
Fulvestrant
C16-Cer
Fulvestrant + C16-Cer
Control
Fulvestrant
C18-Cer
Fulvestrant + C18-Cer
ER
α-tubulin

도면4b


B
O.D.
C12-Cer (μM) 0 10 50 0 0 0 0 0 10 50 0 0 0 0 0 10 50 0 0 0 0
C16-Cer (μM) 0 0 0 10 50 0 0 0 0 0 10 50 0 0 0 0 0 10 50 0 0
C18-Cer (μM) 0 0 0 0 0 10 50 0 0 0 0 0 10 50 0 0 0 0 0 10 50
+ Fulvestrant 100 nM
+ Fulvestrant 1 μM