(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0140981
(43) 공개일자 2015년12월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/352 (2006.01) *A61K 31/35* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0069295
(22) 출원일자 2014년06월09일
심사청구일자 2014년06월09일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
이윤실
서울특별시 노원구 중계로 184, 108동 1101호 (중계동, 라이프 청구 신동아아파트)
나영화
경기도 고양시 일산동구 강촌로 114, 507동 1403호 (백석동, 백송마을5단지아파트)
권영주
경기도 고양시 일산동구 강촌로 114, 507동 1403호 (백석동, 백송마을5단지아파트)
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 9 항

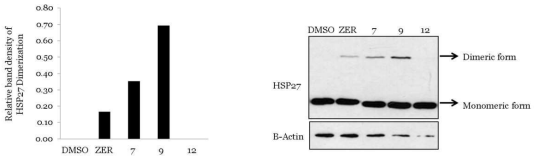
(54) 발명의 명칭 **항암제 조성물**

(57) 요 약

본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

본 발명의 조성물은 HSP27 변형된 이량체를 생성함으로써 정상적인 HSP27 비인산화 다량체가 샤페론으로 기능을 수행하지 못하게 하여 본래 샤페론이 수행하던 세포 보호 능력을 감소시킴으로써, 항암효과를 보이며, 특히 방사선 또는 항암제 내성을 감소시켜 암세포의 세포사 등을 증가시킨다.

대 표 도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711001355
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 원자력연구개발사업-방사선의학기술개발
연구과제명 방사선 특이적 단백질 구조 조절 인자 표적 부작용 제어제 개발
기 여 율 1/2
주관기관 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2013.07.16 ~ 2016.06.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711002478
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 원자력연구개발사업-원자력연구기반확충사업
연구과제명 임상유사 방사선 폐 부작용 바이오마커 발굴
기 여 율 1/2
주관기관 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2011.12.15 ~ 2016.11.30

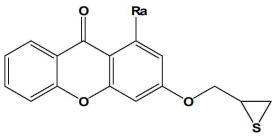
명 세 서

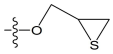
청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물:

[화학식 1]

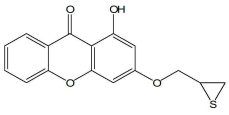


상기 화학식 1에서 Ra는 -OH 또는  임.

청구항 2

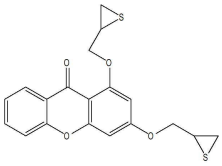
제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 또는 3으로 표시되는 화합물인 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물:

[화학식 2]



,

[화학식 3]



.

청구항 3

제2항에 있어서, 열충격 단백질 90 억제제(HSP90)를 더 포함하는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 열충격 단백질 90 억제제(HSP90)는 라디시콜(radicicol) 또는 17-알릴아미노겔다나마이신(17-allylaminogeldanamycin)인 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 폐암, 유방암 또는 골육종으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 암의 예방 및 치료용 조성물은 항암 약물 치료 내성 환자 또는 방사선 치료 내성 환자에게 투여되는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

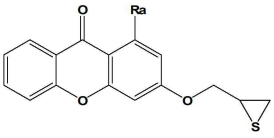
청구항 7

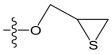
제6항에 있어서, 상기 암의 예방 및 치료는 열 충격 단백질27(HSP27)의 이량화를 통한 샤페론 기능 억제에 의한 것인 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 8

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

[화학식 1]

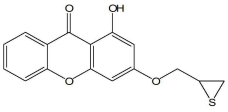


상기 화학식 1에서 Ra는 -OH 또는  임.

청구항 9

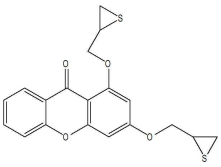
제8항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 또는 3으로 표시되는 화합물인 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

[화학식 2]



,

[화학식 3]



.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온 또는 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온을 이용한 암의 치료 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암은 인간 건강에 가장 치명적인 위협 중의 하나이다. 미국에서만 매년 1백 3십만명 정도의 새로운 암 환자가 발생하고, 이는 심혈관계 질환 다음으로 두 번째로 높은 사망 원인이며, 사망자 4명 중의 대략 1명이 암 환자인 것으로 추정된다. 이러한 사망의 대부분은 고형 암으로 인한 것이다. 특정 암의 의학적 치료에는 상당한 진보가 있어 왔지만, 모든 암에 대한 전반적인 5년 생존율은 과거 20년간 약 10% 정도만 개선되었다. 암 또는 악성 종양은 제어되지 않는 방식으로 신속하게 전이 및 성장하기 때문에, 제시간에 이를 검출하고 치료하는 것이 극도로 어렵다.

[0003] 암의 치료 요법에서 항암제 또는 방사선 치료에 대한 내성의 발현은 암 치료의 중대한 장애요소로 남아있으며, 내성이 생긴 세포는 작용 부위나 작용 기작이 상이한 다른 종류의 약제에 대해서도 교차 내성이 발생하는 경우가 많아 항암 치료 실패의 주요한 원인이 되고 있다. 이러한 항암제 내지 방사선에 대한 내성의 발현은 치료의 중대한 장애 요소로 남아있으며, 암 세포에 대한 내성 기작의 연구는 전 세계적으로 그 중요성이 점차로 증가하는 추세에 있으며, 암 세포에 대한 다양한 분자생물학적, 생화학적 정보들이 밝혀지고 있으나, 아직까지 암 세

포의 약제 내지 방사선 내성 기작에 대한 이해는 초기 단계를 벗어나지 못하고 있는 실정이다.

[0004] 특히, 암 치료의 화학 요법 또는 방사선 요법은 암 치료에 있어서 불가결한 것으로 되어 있지만, 내성이 생기는 경우가 많다. 내성을 획득한 암 세포에서는, 치료에는 이용하고 있지 않은 항암제, 혹은 작용 기전이나 구조가 상이한 복수의 약제에 대해서도 내성을 나타내는, 이른바 다제 내성을 나타내는 경우가 많다. 내성은 치료 상의 큰 문제이지만 그 중에서도 다제 내성은 심각하여, 그 극복약의 개발이 절실히 요망되고 있다.

[0005] 열충격 단백질(Heat shock protein) 중 하나인 HSP27은 1980년대에 발견되었다. HeLa세포를 배양할 때, 온도를 증가시키면 27kDa의 알려지지 않은 단백질이 발견되었는데 이 단백질이 HSP27로 세포 내에 편재하며 스트레스에 의해 과다 발현이 유도된다. HSP27은 세포의 생존, 세포의 이동, 암세포의 침습성을 향상시키며 HSP27의 발현이 높은 암세포의 경우 전이가 잘되며 항암치료에 대한 내성이 증가하는 양상을 보이게 된다. HSP27의 단백질 구조를 살펴보면 α-크리스탈린 도메인과 N-말단의 WDPF 도메인이 HSP27의 다량체 생성에 중요한 역할을 하게 된다. α-크리스탈린 도메인 내의 시스테인 잔기는 HSP27의 단량체와 단량체간의 이황화 결합(disulfide bond)을 형성하여 HSP27의 이량체를 형성하도록 한다. HSP27의 세포내 기능은 이러한 다량체 생성 정도와 관련이 있다. 인산화된 작은 단위의 HSP27 다량체는 액틴 필라멘트를 안정화시키며 인산화되지 않은 거대한 HSP27의 다량체는 HSP27의 이량체간의 상호작용에 의해 안정화되며 ATP에 영향을 받지 않는 샤페론으로의 기능을 수행하며 세포사와 관련이 있는 시토크롬 c 또는 Daxx등과 결합한다. 따라서 기존의 HSP 억제제가 아닌 새로운 형태의 저분자 물질을 이용하여 HSP27의 거대 다량체 형태를 저해함으로써 HSP27이 샤페론 기능을 수행하지 못하도록 한다면 방사선이나 항암제에 대한 내성이 극복될 것이다.

[0006] 이러한 배경 하에, 새로운 항암제, 방사선 치료 내지 항암제 내성을 가진 암에 대한 신규 항암제 등에 대한 발굴이 절실한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-2014-0037954, 2014.03.27

(특허문헌 0002) KR 10-2013-0084987, 2013.07.26

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물을 제공하고자 한다.

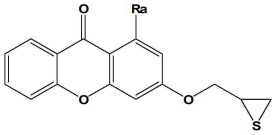
[0009] 본 발명은 또한 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하고자 한다.

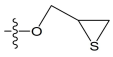
과제의 해결 수단

[0010] 본 발명자들은 암, 특히 방사선 내지 항암제에 내성을 가진 암의 치료에 대해 예의 연구한 결과, 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온, 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 HSP27 이량체 형성에 효과를 보이며 방사선 내성 등을 저해하고 암세포 사멸을 유도함을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

[0011] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물을 제공하고자 한다:

[0012] [화학식 1]

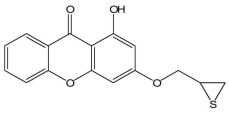
[0013] 

[0014] 상기 화학식 1에서 Ra는 -OH 또는  이다.

[0015] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온 또는 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온이며, 하기 화학식 2 또는 3의 구조를 가진다.

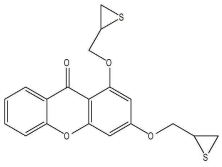
[0016] 본 발명에 있어서, 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온은 하기 화학식 2로 표시되는 화합물이다:

[0017] [화학식 2]

[0018]  .

[0019] 본 발명에 있어서, 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온은 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물이다:

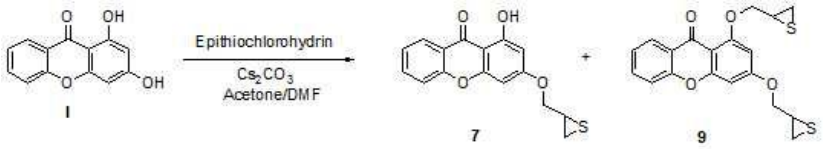
[0020] [화학식 3]

[0021]  .

[0022] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 1,3-디히드록시-9H-잔텐-9-온에 에피티오클로로히드린(epithiochlorohydrin)을 처리하여 합성될 수 있다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 합성 방법은 하기 반응식 1에 나타내었다.

[0024] [반응식 1]

[0025] 

[0026] 본 발명에서, 약제학적으로 허용되는 염은 의약업계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미하며, 예를 들어 칼슘, 칼륨, 나트륨 및 마그네슘 등으로 제조된 무기이온염, 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산, 타르타르산 및 황산 등으로 제조된 무기산염, 아세트산, 트라이플루오로아세트산, 시트르산, 말레산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만델산, 프로피온산, 시트르산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산 등으로 제조된 유기산염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 및 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염, 글리신, 아르기닌, 라이신 등으로 제조된 아미노산염 및 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 암모니아, 피리딘, 피콜린 등으로 제조된 아민염 등이 있으나, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다.

[0027] 본 발명에 있어서, 암은 폐암, 유방암, 골육종을 포함하며, 특히 방사선 내지 항암제에 내성을 가진 암에 현저한 효과를 보인다. 이러한 방사선 내지 항암제에 내성을 가진 암은 이에 제한되지 않으나 예컨대, 방사선 조사 내지 항암제 투여에 의한 치료가 수행되었던 폐암, 유방암 등을 포함한다 .

[0028] 본 발명의 조성물은 세포에서 변형된 HSP27 이량체를 생성하여 정상적인 HSP27 비인산화 다량체가 샤페론으로

기능을 수행하지 못하게 하고 본래 샤페론이 수행하던 세포 보호 능력을 감소시킴으로써, 항암효과를 보이며, 특히 방사선 또는 항암제 내성을 감소시켜 암세포의 세포사 등을 증가시킨다. 이에 따라, 화학 항암요법 내성 극복 또는 방사선 치료 내성 극복을 위해 효과적으로 사용될 수 있는 바, 항암 약물 치료 내성 환자 또는 방사선 치료 내성 환자 치료에 효과적이다.

[0029] 본 발명의 조성물은 HSP90 저해제와 병용되어 사용될 수 있다. 일반적으로, 특정 열충격 단백질을 억제하면 다른 열 충격 단백질들의 발현이 더욱 증가하는 현상이 나타나며 HSP90 저해제의 부작용도 이러한 다른 열충격 단백질의 발현 증가에 의한다. 그러나, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 되는 염과 HSP90 저해제를 유효성분으로 포함하는 조성물은 상기와 같은 부작용을 개선하며 HSP27 생성을 억제하고 변형된 HSP27 이량체를 생성하며 다량체 생성을 저해함으로써, 다른 열충격 단백질의 발현 감소에도 영향을 미쳐 더 나은 항암 효과를 보인다. 본 발명의 바람직한 HSP90 저해제는 이에 한정되는 것은 아니지만, 라디시콜(radicicol) 또는 17-알릴아미노겔다나마이신 (17-AAG; 17-allylaminogeldanamycin)이다.

[0030] 본 발명의 조성물은 상기 유효성분을 조성물 총 중량에 대하여 0.1~90 중량 % 함유할 수 있다.

[0031] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 추가적으로 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 덱스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다.

[0032] 본 발명에 따른 약제학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물 100 중량부에 대해 1 ~ 50 중량부, 바람직하게는 20~ 50 중량부 포함되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0033] 즉, 본 발명의 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calciumcarbonate), 수크로스(Sucrose), 락토오스(Lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 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 포함될 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 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0034] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하다. 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다.

[0035] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 본 발명의 조성물의 양을 기준으로 0.01 내지 1000 mg/kg 이고, 바람직하게는 1 내지 600 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.

[0036] 아울러, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0037] 본 발명의 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0038] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0039] 상기 외에 본 발명의 조성물은 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0040] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 되는 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및 치료용 약제학적 조성물은 변형된 HSP27 이량체를 생성함으로써 정상적인 HSP27 비인산화 다량체가 샤페론으로 기능을 수행하지 못하게 하여 본래 샤페론이 수행하던 세포 보호 능력을 감소시킴으로써, 항암효과를 보이며, 특히 방사선 또는 항암제 내성을 감소시켜 암세포의 세포사 등을 증가시키고 현저한 항암 효과를 보인다.

도면의 간단한 설명

[0041] 도 1은 변형된 HSP27 이량화를 유도하는 화합물을 스크리닝한 결과를 나타내는 도이다.

도 2는 화합물 7(3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온) 또는 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)의 변형된 HSP27 이량화를 나타내는 도이다.

도 3은 화합물 7(3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온) 또는 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)의 농도 및 시간 의존적 변형된 HSP27 이량화를 나타내는 도이다.

도 4는 화합물 7(3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온) 또는 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)의 세포 사멸 효과를 나타내는 도이다.

도 5는 자외선 조사와 화합물 7(3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온) 또는 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)의 병용 처리시 세포 생존율을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 6은 이종 이식 마우스에서 자외선 조사와 화합물 7(3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온) 또는 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)의 병용 처리시 종양 부피 변화를 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 7은 세포사멸 마커인 TUNEL 또는 세포 증식 마커인 Ki-67을 이용하여 면역 조직 화학법에 따라 종양 조직을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 8은 HSP90 억제제와 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)의 병용 처리에 따른 HSP27 발현 억제를 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 9는 HSP90 억제제와 화합물 7(3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온) 또는 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)를 병용 처리시 세포 사멸 효과를 확인한 결과를 나타내는 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0043] **<제조예> 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9*H*-잔텐-9-온 (화합물 7) 및 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9*H*-잔텐-9-온 (화합물 9)의 제조**

[0044] **(1) 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9*H*-잔텐-9-온 및 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9*H*-잔텐-9-온의 제조**

[0045] 1,3-디히드록시-9H-잔텐-9-온(1,3-dihydroxy-9H-xanthen-9-one, 0.50 g, 2.19 mm ol)과 Cs_2CO_3 (1.43 g, 4.28 mmol)이 들어있는 아세톤/디엠에프(DMF) (14 mL/7 mL) 반응 혼합액에 에피티오클로로히드린(epithiochlorohydrin, 0.71 g, 6.57 mmol)을 첨가하고 62 ℃에서 20시간 동안 환류 교반하였다. 반응 종료 후 물을 가하고 에틸아세테이트(EtOAc)로 추출하고, 유기층을 모아 포화 소금물(brine)로 씻고 무수 $MgSO_4$로 수분

을 제거하였다. 고체 물질을 여과하여 제거하고, 여액의 용매를 감압 하에서 증류하고, 남은 잔사를 실리카겔 컬럼크로마토그래피 (전개용매, 에틸아세테이트:*n*-헥산 = 1:2 → 1:1(v/v))로 분리 정제하여 연노랑색의 고체 (화합물 7) (40 mg, 6.1%)와 흰색의 고체 (화합물 9) (148 mg, 18.1%)를 얻었다.

[0046] 화합물 7: m.p. 178 ℃; R_f 0.82 (에틸 아세테이트:n-헥산 = 1:1); ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 2.38 (dd, *J* = 0.8, 5.2 Hz, 1H), 2.67 (dd, *J* = 0.8, 6.0 Hz, 1H), 3.29-3.35 (m, 1H), 4.03 (dd, *J* = 7.0, 10.3 Hz, 1H), 4.29 (dd, *J* = 5.8, 10.3 Hz, 1H), 6.37 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.45 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.36-7.47 (m, 2H), 7.74 (ddd, *J* = 1.3, 7.0, 7.4 Hz, 1H), 8.27 (dd, *J* = 1.3, 8.1 Hz, 1H), 12.89 (s, 1H); ^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$) 24.0, 30.9, 73.1, 93.4, 97.6, 104.3, 117.7, 120.7, 124.2, 126.0, 135.2, 156.1, 157.8, 163.3, 165.4, 180.9 ppm; LC-ESI: m/e 301.1 $[M+1]^+$.

[0047] 화합물 9: R_f 0.68 (에틸 아세테이트:n-헥산 = 1:1(v/v)); ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2.36 (dd, *J* = 5.2, 1.2 Hz, 1H), 2.45 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 2.65 (d , *J* = 6.0 Hz, 1H), 2.71 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 3.26-3.32 (m, 1H), 3.44-3.50 (m, 1H), 3.95 (dd, *J* = 10.0, 7.2 Hz, 1 H), 4.03 (dd, *J* = 10.0, 6.8 Hz, 1H), 4.25 (dd, *J* = 10.0, 6.0 Hz, 1H), 4.45 (dd, *J* = 10.0, 4.8 Hz, 1H), 6.36 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.51 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.31-7.38 (m, 2H), 7.64 (ddd, *J* = 7.2, 7.2, 2.0 Hz, 1H), 8.28 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H); ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) 23.9, 24.7, 30.9, 31.2, 73.1, 74.0, 94.4, 97.4, 108.2, 117.2, 123.2, 124.2, 126.9, 134.1, 155.2, 159.9, 161.0, 163.6, 175.5 ppm;

[0048] **(2) 3-메톡시-1(티이란-2-일메톡시)-9H-잔텐-9온의 제조**

[0049] 본 발명 화합물과 대비되는 비교예 중 하나로 3-메톡시-1(티이란-2-일메톡시)-9H-잔텐-9온을 다음과 같이 제조하였다. 1,3-디히드록시-9H-잔텐-9-온(1,3-dihydroxy-9H-xanthen-9-one, 0.50 g, 2.19 mm ol)과 K_2CO_3 (0.30 g, 2.17 mmol)이 들어있는 아세톤/디엠에프(DMF) (20 mL/ 10 mL) 반응 혼액에 CH_3I (0.47 g, 3.29 mmol)을 넣고 실온에서 20시간동안 교반하였다. 이 반응 혼액에 물을 가하고 생성된 고체물질을 여과하고, 건조하여 연노랑색의 고체 (1-하이드록시-3-메톡시-9*H*-잔텐-9-온, 388 mg, 73.7%)을 얻었다.

[0050] R_f 0.58 (에틸 아세테이트:*n*-헥산 = 1:3(v/v)); ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.89 (s, 3H), 6.35 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.43 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.37 (ddd, *J* = 8.0, 7.2, 0.8 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.0, 0.8 Hz, 1H), 7.71 (ddd, *J* = 7.2, 7.2, 1.6 Hz, 1H), 8.24 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 12.86 (s, 1H); ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) 56.0, 93.0, 97.3, 104.2, 117.8, 120.9, 124.2, 126.1, 135.2, 156.2, 157.9, 163.8, 167.0, 181.0 ppm.

[0051] 상기에서 얻어진 화합물인 1-하이드록시-3-메톡시-9*H*-잔텐-9-온 (0.10 g, 0.40 mmol)과 K_2CO_3 (0.08 g, 0.59 mmol)이 들어있는 아세톤/디엠에프(DMF) (5 mL/5 mL) 반응 혼합액에 에피티오클로로히드린 (epithiochlorohydrin, 0.09 g, 0.80 mmol)을 첨가하고 64 ℃에서 20시간 동안 환류 교반하였다. 반응 종료 후 물을 가하고 에틸아세테이트(EtOAc)로 추출하고, 유기층을 모아 포화소금물(brine)로 세척하고 무수 $MgSO_4$로 수분을 제거하였다. 고체 물질을 여과하여 제거하고, 여액의 용매를 감압 하에서 증류하고, 남은 잔사를 실리카겔 컬럼크로마토그래피 (전개용매: 에틸 아세테이트:*n*-헥산 = 1:2 → 1:1(v/v))로 분리 정제하여 흰색의 고체 (화합물 12) (46 mg, 35.9%)을 얻었다.

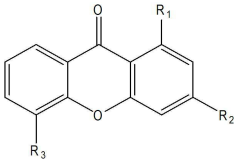
[0052] R_f 0.33 (에틸 아세테이트:n-헥산 = 1:3(v/v)); ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2.53 (dd, *J* = 5.2, 1.2 Hz, 1H), 2.71 (dd, *J* = 6.0, 1.2 Hz, 1H), 3.44-3.50 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.94 (dd, *J* = 10.4, 3.6 Hz, 1H), 4.45 (dd, *J* = 10.4, 4.0 Hz, 1H), 6.34 (dd, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.32 (ddd, *J* = 7.2, 7.2, 0.8 Hz, 1H), 7.37 (dd, *J* = 8.0, 0.8 Hz, 1H), 7.63 (ddd, *J* = 7.2, 7.2, 2.0 Hz, 1H), 8.29 (dd, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H); ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) 24.7, 31.2, 56.0, 74.0, 93.9, 97.2, 107.9, 117.2, 123.2, 124.1, 126.9, 134.0, 155.2, 160.0, 160.9, 165.0 ppm.

[0053] **<실시예 1> 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 및 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-**

온의 변형된 HSP27 이량화 유도 확인

[0054] 잔톤계 화합물들의 구조의 차이에 따른 HSP27의 변형된 이량화 정도를 확인하고자, 유사한 구조를 가지는 하기 화합물을 인체 유래 비소세포 폐암 세포인 NCI-H460 세포에 12.5 μM 농도로 3시간 처리하여 웨스턴 블랏으로 확인하였다. 처리된 화합물로 화합물 1 내지 12는 하기 화학식 4의 구조를 모핵으로 가지며, 하기 표 1과 같은 R1 내지 R3기를 치환기로 가진다.

[0055] [화학식 4]

[0056] 

[0057] [표 1] 화합물 1 내지 12에 있어서 R1 내지 R3 치환기 종류

[0058]

화합물	R1	R2	R3
1	OH	$C_3H_5O_2$	H
2	$C_3H_5O_2$	$C_3H_5O_2$	H
3	$C_3H_5O_2$	$C_3H_5O_2$	OCH_3
4	OH	$C_4H_7O_2$	H
5	$C_4H_7O_2$	$C_4H_7O_2$	H
6	$C_4H_7O_2$	$C_4H_7O_2$	OCH_3
7	OH	C_3H_5OS	H
8	OH	C_3H_5OS	OCH_3
9	C_3H_5OS	C_3H_5OS	H
10	C_3H_5OS	C_3H_5OS	OCH_3
11	OCH_3	$C_3H_6ClO_2$	H
12	C_3H_5OS	OCH_3	H

[0059] 상기에서, 본원 발명의 화합물은 **화합물 7**(3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온) 및 **화합물 9**(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)이다.

[0060] 실험을 위하여 12.5 μM 농도로 상기 화합물 1 내지 12가 처리된 NCI-H460 세포는 10% FBS와 1X Antibiotic-Antimycotic (GIBCO-Invitrogen, Paisley, Scotland, UK)가 포함된 RPMI 1640 (RPMI, GIBCO-Invitrogen, Paisley, Scotland, UK)배지를 사용하여 37 ℃, 5 % CO_2 배양기에서 3시간 배양하였다.

[0061] 웨스턴 블랏을 수행하기 위해 화합물 1 내지 12를 처리한 세포를 1X PBS(0.14 M NaCl, 2.68 mM KCl, 10 mM Na_2HPO_4, 1.83mMKH_2PO_4)로 2회 세척한 후 Radio Immunoprecipitation Polyacrylamide Assay buffer(20 mM Tris-HCl(pH 7.5), 150 mM NaCl, 1 mM Na_2EDTA, 1% NP-40,1% Sodium deoxycholate, 1mMβ-glycerophosphate, 1 mM Na_3VO_4, 4mM NaF)에 용해시켰다. 세포 현탁액을 13000 rpm으로 30분간 원심분리를 수행하여 상층액만을 취하고 Bradford assay를 이용하여 Protein Dye 1 mL에 standard로는 1% BSA 용액을 8, 6, 4, 2, 0 μL를 넣고 상층액 2 μL를 넣어 96-well plate에 200 μL씩 분주하여 ELISA 리더기에 넣고 595 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 같은 양의 단백질을 함유하도록 6X 시료 버퍼(0.35 M Tris(pH6.8), 3% 글리세롤, 1% Sodium Dodecyl Sulfate, 6 mM Dithiothreitol)를 넣어 샘플을 만들어 5분간 100 ℃ 물에 담가 끓이고 SDS-PAGE를 이용하여 같은 양의 단백질을 분석했다. 웨스턴 블랏을 위한 일차 항체는 Goat polyclonal anti-HSP27(sc-1029) 및 β-actin(sc-47778)를 사용하였으며, 이차항체는 Donkey anti goat(sc-2020), Goat anti rabbit(sc-2004), Goat anti mouse(sc-2005)를 사용하였다.

[0062] 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1에 나타낸 바와 같이, 본원 발명의 화합물 7 및 9는 HSP27 이량화를 유도하는 화합물로 알려진 Zerumbone(ZER)과 대비하여서도 더 높은 HSP27 이량화를 유도하였다. 반면, 유사한 잔톤계 화합물에 해당하더라도 치환기가 상이한 화합물 1 내지 6, 8 및 10 내지 12의 경우 HSP27의 이량화를 거의 유도하지 못하거나 매우 낮은 수준으로 유도함을 확인하였다.

[0063] 또한, 상기 스크리닝 결과에서 HSP27 이량화에 현저한 효과를 보이는 화합물 7 및 9에 대해서는 NCI-H460 세포에 12.5 μM 농도로 3시간 처리한 후 다시 웨스턴 블랏을 수행하여 이량화된 HSP27을 확인하였다. 그 결과를 도

2에 나타내었다. HSP27 이량화를 유도하지 못하였던 화합물 12는 대조군으로 사용되었다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 화합물 7((3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온)) 및 화합물 9(1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온)는 HSP27 이량화에 효과를 보임을 확인할 수 있었다.

[0064] **<실시예 2> 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 및 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온의 시간 및 농도 의존적 HSP27 이량화 유도 확인**

[0065] 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 및 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온의 농도 의존적 HSP27 이량화를 확인하고자 NCI-H460 세포에 농도 의존적으로 0, 5, 10, 15 및 20 uM 농도의 화합물 7, 9 또는 12를 12시간 처리하여 웨스턴 블랏을 수행하였다. 또한, 시간 의존적 HSP27 이량화를 확인하고자 NCI-H460 세포에 시간 의존적으로 0, 3, 6, 12 및 24시간 동안 10 uM의 화합물 7, 9 또는 12를 처리하여 상기 실시예 1과 같이 웨스턴 블랏을 수행하였다.

[0066] 그 결과를 도 3의 A 및 B에 나타내었다.

[0067] 도 3에 나타낸 바와 같이, HSP27의 이량화를 유도하였던 화합물 7 및 화합물 9는 투여량과 투여 시간에 비례하여 증가하는 것을 확인하였다.

[0068] **<실시예 3> 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 및 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온의 세포사멸 효과 확인**

[0069] HSP27 이량화에 따른 샤페론 기능 억제 등을 통한 화합물 7 및 9의 암세포 사멸효과를 확인하기 위하여 MTT 검정을 수행하였다.

[0070] MTT 검정은 96 웰 플레이트에 NCI-H460세포를 같은 양으로 분주하고 플레이트에 잘 붙을 때까지 배양한 후 10 uM 농도의 화합물 7, 9 또는 12를 각각 3칸씩 처리하였다. 이후 24시간 동안 더 배양하였던 세포의 배지를 제거하고 1X PBS로 세척하고 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT; Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, UK) 시약을 1X PBS에 5 mg/ml 농도로 희석하여 100 μL씩 칸마다 분주한 후 37 ℃, 5% CO_2 배양기에서 4시간 정도 배양한 후 세포가 보라색으로 변한 것이 확인되면 상층액을 제거하고 DMSO를 100μL씩 넣어 생성된 Formazan 결정을 잘 용해시켜준다. 용해가 끝나면 ELISA 리더기로 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0071] 그 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4에 나타낸 바와 같이, HSP27 이량화가 큰 화합물 9에서 세포사멸이 가장 높게 나타났으며, 화합물 7 역시 HSP27 이량화 효과가 없는 화합물 12를 처리한 대조군과 대비하여 통계적으로 유의미하게 세포 사멸 효과가 나타남을 확인하였다.

[0072] **<실시예 4> 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 및 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온과 방사선 병용 처리**

[0073] 항암 치료시에 이용되는 방사선 치료 방법과 시스템을 적용하기 위하여 NCI-H460 세포에 먼저 10 μM 농도로 화합물을 처리하고 비교적 낮은 방사선 용량인 3Gy의 방사선을 노출시킨 후, 24시간을 배양하였다. 트립판 블루(trypan blue)를 이용하여 살아 있는 세포 수를 측정하였다.

[0074] 세포 수 측정은 다음 방법으로 수행하였다. 35mm cell culture dish에 $8x10^5$개의 세포를 각 그룹당 3개의 dish에 분주한 후 플레이트에 붙을 정도로 배양한 후 Zerumbone, 화합물 7, 9 또는 12를 처리하고, 일부 시험군에서는 이와 함께 방사선 조사를 수행하여 배양한 후 배지를 제거하고 1X PBS로 2번 세척하고 0.05 % Trypsin-EDTA(GIBCO-Invitrogen, Paisley, Scotland, UK) 100 μL를 처리하여 37 ℃ incubator에서 3분간 처리하였다가 배지 200 μL를 넣어서 세포를 모은 후 trypan blue 90 μL에 세포를 모은 용액 10 μL를 넣어 잘 섞은 후 10 μL씩 Counting chamber(Marienfeld, Germany)에 넣어 세포 수를 세었다.

[0075] 그 결과를 도 5에 나타내었다. 도 5에 나타낸 바와 같이, 화합물 7 및 9를 처리한 시험군은 Zerumbone을 처리한 시험군과 대비하여서도 세포 사멸이 더 높게 나타났으며, 특히, 자외선과 병용하여 처리시에 HSP27 이량화에 의해 방사선 내성을 극복함에 따라 더욱 현저한 세포 사멸 효과를 보이는 것을 확인하였다.

[0076] **<실시예 5> 누드마우스 이종이식 시스템을 이용한 화합물의 치료 효과 확인**

[0077] BALB/C nude mouse에 NCI-H460 세포로 이종 이식을 수행한 후에, *in vivo*에서 양상을 확인하였다. BALB/C nude mouse에 NCI-H460 세포 $1x10^6$를 주사하여 종양을 형성하였으며, 형성된 종양에 방사선을 종양부위에 5 Gy를 일

주일에 1회 조사하면서, 3 mg/mL농도의 화합물 7, 9 또는 12 용액을 50 μL씩 일주일에 3회 종양에 직접 주사하였다.

[0078] 그 결과를 도 6에 나타내었다. 도 6에 나타낸 바와 같이, 종양 부위에 5 Gy의 방사선 조사와 화합물을 같이 투여한 그룹에서는 HSP27의 변형된 이량화를 가장 강하게 유도하는 화합물 9에서 종양의 크기가 가장 감소하였고 HSP27의 변형된 이량화를 유도하지 않는 화합물 12의 경우는 대조군과 비교하여 큰 차이가 없는 것이 관찰되었다.

[0079] 또한 종양 조직을 세포사의 마커인 TUNEL과 세포 증식의 마커인 Ki-67을 이용하여 면역조직화학염색을 수행하였다. 종양조직은 4% 포름알데히드 용액에 고정하였고, 파라핀으로 포매하였다. 조직절편은 두께 3μm 박절하고, 파라핀을 제거한 뒤 재수화하였다. 면역퍼옥시다아제 라벨링을 위해 세포내의 퍼옥시다아제를 0.3% H_2O_2에 15분간 노출하여 억제하였다. 그 후, 항원 복구를 위해 조직절편을 구연산 용액(pH 6.0)에 넣고 10분간 전자레인지에 가열하였다. 비특이성 면역 반응 배제를 위해 블로킹 용액에 20분간 노출시켰다. 조직 절편 위에 희석된 일차항체를 24시간동안 4℃에서 반응시켜 항원-항체 반응 복합체를 형성시켰다. 그 다음으로 중간항체(이차항체)로 항원-항체반응을 진행하였다. 이어서, 퍼옥시다아제-항퍼옥시다아제 복합체(PAP:Peroxidase-antiperoxidase)를 반응시킨 후 DAB(3,3-diaminobenzidine)기질로 정색 반응을 시켜 항원의 존재부위를 현미경으로 관찰하였다.

[0080] 상기 면역 조직화학 수행 결과를 도 7에 나타내었다. 도 7에 나타낸 바와 같이, 변형된 HSP27 이량화를 유도하는 7 번 및 9번 화합물에서 세포사가 증가하고 세포 증식이 감소하는 반면, 변형된 이량화를 유도하지 않는 12번 화합물의 경우는 대조군과 비교하여 큰 차이가 없는 것을 관찰하였다.

[0081] 상기와 같은 결과를 통해서, HSP27의 변형된 이량화를 유도하는 화합물을 처리하여 발생하는 HSP27의 변형된 이량체는 HSP27의 거대한 다량체의 생성을 억제함으로써, HSP27의 샤페론 기능을 억제하여 세포 보호 기능을 감소시키고 방사선에 대한 내성을 감소하는 것을 확인하였다. 따라서, 상기 실험 결과들을 통해 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 및 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온의 항암제로써의 효과, 방사선 치료와 병용 효과를 확인하였다.

[0082] **<실시예 6> HSP90 억제제와 병용 효과**

[0083] 열충격 단백질 90(Heat shock protein 90, HSP90)의 억제제로 알려진 Radicicol을 이용하여, HSP90을 억제함으로써 유도되는 HSP27 발현 유도를 1,3-비스((티이란-2-일)메톡시)-9H-잔텐-9온 및 3-((티이란-2-일)메톡시)-1-하이드록시-9H-잔텐-9-온이 효과적으로 저해할 수 있는지 확인하였다. 즉, 본 발명 화합물의 투여가 HSP90 저해제에 의한 내성을 극복할 수 있는지 여부를 본 발명 화합물들의 투여를 통해 확인하였다.

[0084] HSP90 억제제인 Radicicol 처리에 따른 HSP27 모노머 생성 여부를 웨스턴 블랏을 통해 확인하였다. NCI-H460세포에 각각 Radicicol 5μM 단독투여, 9번 화합물 10μM 단독투여, Radicicol과 9번 화합물 병용 투여 후 24 시간 동안 배양한 후, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 웨스턴 블랏을 수행하여 그 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8에 나타낸 바와 같이, Radicicol 처리시 HSP27의 발현량이 증가하였으나, Radicicol과 9번 화합물을 병용 투여하자 Radicicol 투여량에 따라 증가하였던 HSP27의 발현이 크게 감소되는 것을 확인하였다.

[0085] 또한, 상기와 같이 화합물을 처리한 후에 FACS를 이용하여 세포 사멸 여부를 확인하였다. FACS는 60 mm cell culture dish에 원하는 양의 세포를 분주 후 각각 24시간 배양한 후 1X PBS로 2회 세척한 후 500 μL의 0.05 % Trypsin-EDTA(GIBCO-Invitrogen, Paisley, Scotland, UK)를 넣고 37℃ 배양기에서 3분간 처리한 후 세포를 dish에서 떼어내 1300 rpm에서 3분간 원심분리하여 상층액은 제거하고 1X PBS로 현탁액이 되도록 세포를 세척하여 1300 rpm에서 3분간 원심분리하는 것을 2회 실시하여 세척한다. 세척된 세포는 1X PBS로 뭉치지 않도록 풀어 500 μL씩 5ml Polystyrene round-bottom tube에 넣은 후 1X PBS에 5 mg/mL으로 용해시킨 Propidium Iodide(PI; Sigma, Saint Louis, USA)용액을 5 μL첨가하여 샘플을 준비하고 FACS(BD Biosciences, CA, USA)를 수행하였다.

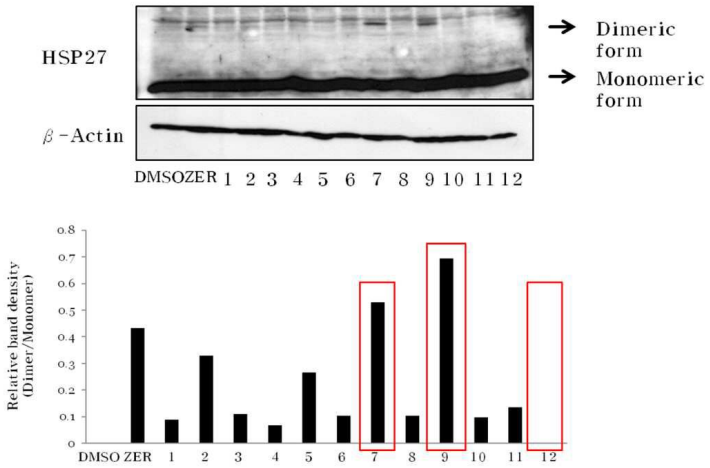
[0086] 그 결과를 도 9에 나타내었다. 도 9에 나타낸 바와 같이, 화합물 7 또는 9와 Radicicol을 병용투여한 시험군에서 암세포 사멸효과가 가장 현저함을 확인하였다.

[0087] 상기 결과를 통해서, HSP27을 변형된 이량체로 만들어 다량체 생성을 저해함으로써 샤페론 기능을 수행하지 못하게 하는 것은 방사선 치료에 대한 민감성을 증가시킴을 확인하였다. 또한, 다른 열충격단백질의 발현 감소에도 영향을 미쳐 항암제, 특히 항암제 또는 방사선 내성을 가지는 암에 대한 치료제로써 유용하게 이용될 수 있

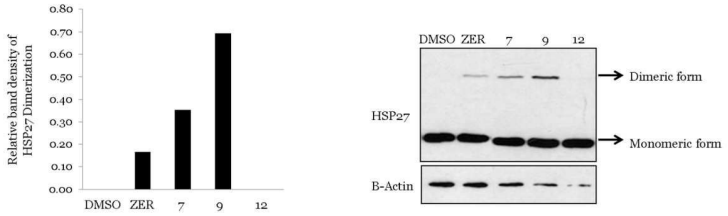
음을 확인하였다.

도면

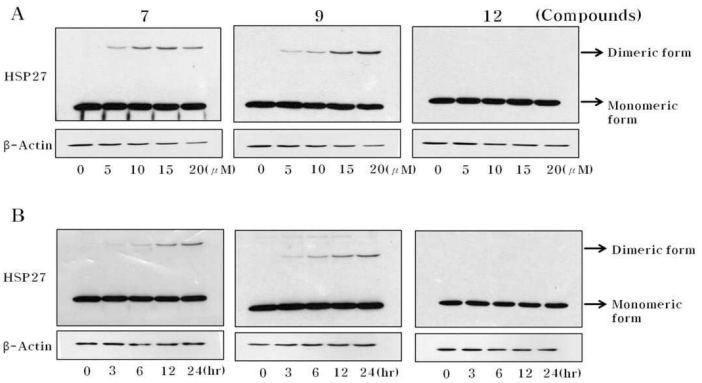
도면1



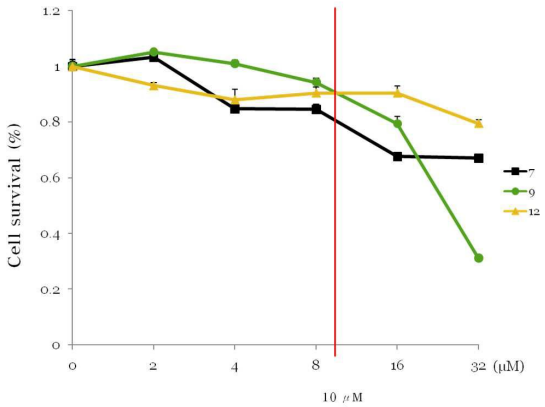
도면2



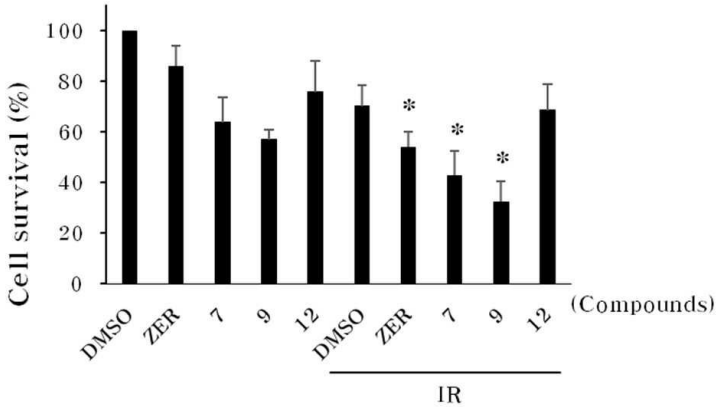
도면3



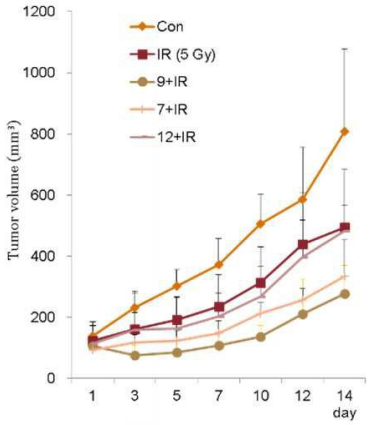
도면4


Cell survival (%)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
2
4
8
16
32 (μM)
10 μM
7
9
12

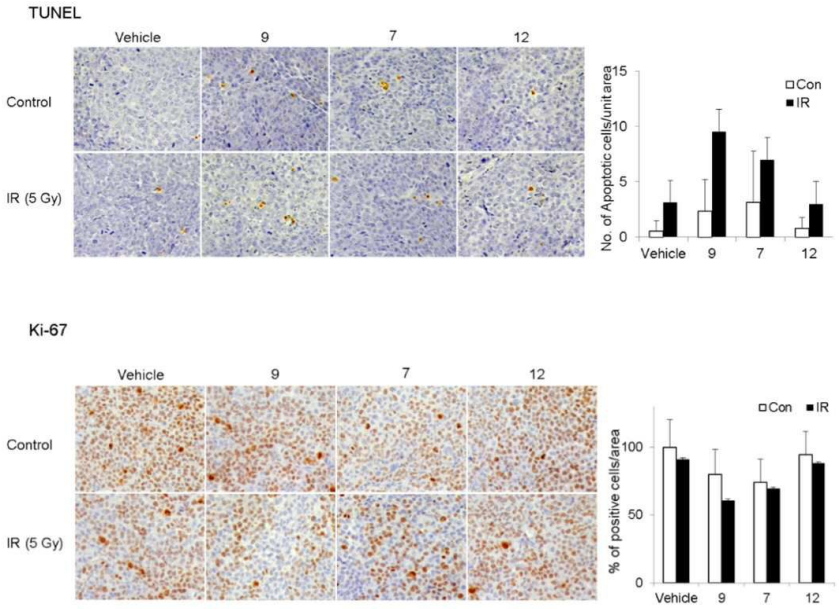
도면5


Cell survival (%)
100
80
60
40
20
0
DMSO
ZER
7
9
12
DMSO
ZER
7
9
12
(Compounds)
IR

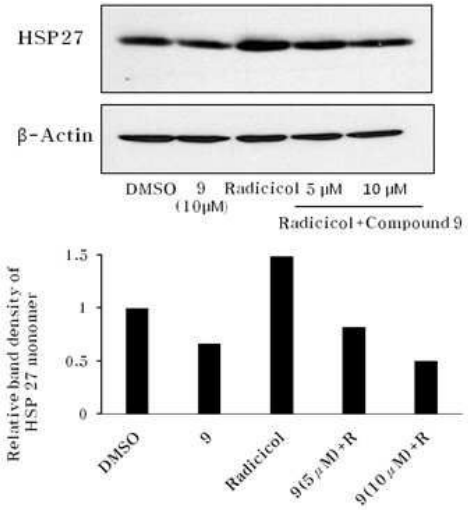
도면6


Tumor volume (mm³)
1200
1000
800
600
400
200
0
1
3
5
7
10
12
14
day
Con
IR (5 Gy)
9+IR
7+IR
12+IR

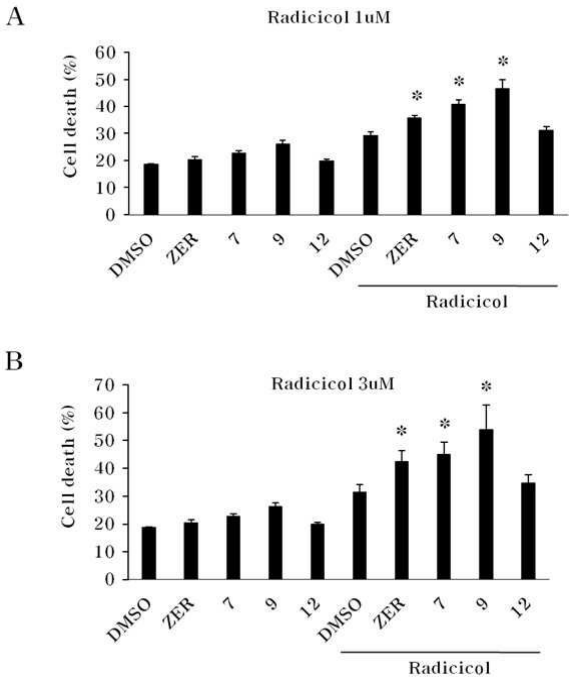
도면7


TUNEL
Vehicle
9
7
12
Control
IR (5 Gy)
No. of Apoptotic cells/unit area
15
10
5
0
Con
IR
Vehicle
9
7
12
Ki-67
Vehicle
9
7
12
Control
IR (5 Gy)
% of positive cells/area
100
50
0
Con
IR
Vehicle
9
7
12

도면8


HSP27
β-Actin
DMSO
9 (10μM)
Radicicol
5 μM
10 μM
Radicicol+Compound 9
Relative band density of HSP 27 monomer
1.5
1
0.5
0
DMSO
9
Radicicol
9(5 μM)+R
9(10 μM)+R

도면9


A
Radicicol 1uM
Cell death (%)
60
50
40
30
20
10
0
DMSO
ZER
7
9
12
DMSO
ZER
7
9
12
Radicicol
B
Radicicol 3uM
Cell death (%)
70
60
50
40
30
20
10
0
DMSO
ZER
7
9
12
DMSO
ZER
7
9
12
Radicicol