(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020 년 9 월 24 일 (24.09.2020)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2020/189937 A2

(51) 국제특허분류:
A61K 47/54 (2017.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2020/003248

(22) 국제출원일: 2020 년 3 월 9 일 (09.03.2020)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2019-0030384 2019 년 3 월 18 일 (18.03.2019) KR

(71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (**KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION**) [KR/KR]; 02841 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).

(72) 발명자: 김종승 (**KIM, Jong Seung**); 02841 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR). 선우경 (**SUNWOO, Kyoung**); 02841 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR). 베르비스트퍼터 (**VERWILST, Peter**); 02841 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR). 원미애 (**WON, Miae**); 02841 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).

(74) 대리인: 정은열 등 (**JUNG, Eun Youl** et al.); 06149 서울시 강남구 테헤란로55길 21, 402호 (정앤김 특허법률사무소), Seoul (KR).

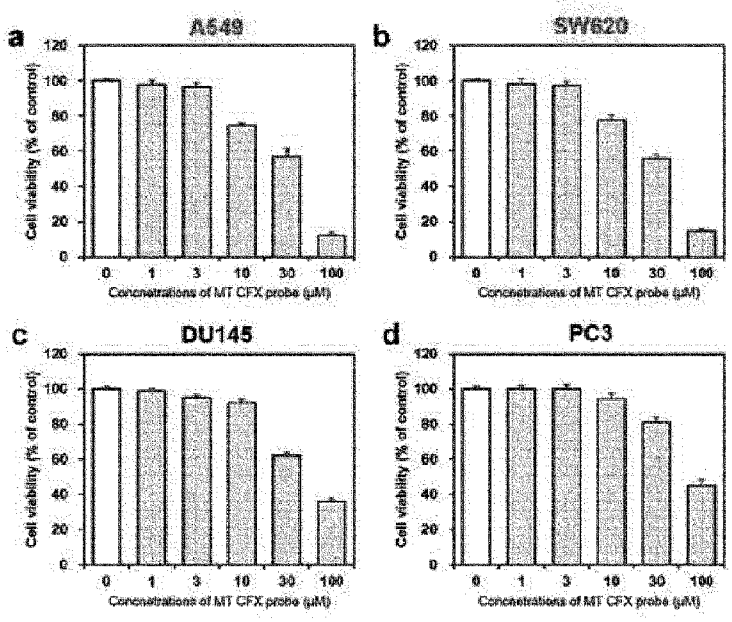
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,

WO 2020/189937 A2

(54) **Title:** REPURPOSED ANTIBIOTICS FOR NON-NUCLEAR GENOTOXIC CHEMOTHERAPY AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR ANTI-CANCER CONTAINING THE SAME

(54) **발명의 명칭:** 핵 유전자 손상을 최소화한 암 치료를 위한 변형 항생제 화합물 및 이를 포함하는 항암 약학 조성물



(57) **Abstract:** The present invention relates to a repurposed antibiotic compound for the treatment of cancer with minimal nuclear gene damage and an anticancer pharmaceutical composition comprising same. Since the repurposed antibiotic compound has a therapeutic effect in a manner that targets only the mitochondria of cancer cells, the modified antibiotic compound does not cause gene degeneration unlike conventional chemotherapy which damages nuclear DNAs to kill cancer cells, , thereby preventing the recurrence of cancer. In addition, a mitochondria targeted therapy using the compound according to the present invention can effectively treat malignant tumors that are difficult to treat due to acquiring drug resistance by general anticancer treatment.

[다음 쪽 계속]

LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(57) 요약서: 본 발명은 핵 유전자 손상을 최소화한 암 치료를 위한 변형 항생제 화합물 및 이를 포함하는 항암 약학 조성물에 관한 것으로서, 암세포의 미토콘드리아만을 표적하는 방식으로 치료 효과를 내기 때문에 핵 DNA 를 손상시켜 암세포를 사멸시키는 기존의 화학요법과는 달리 유전자 변성을 일으키지 않아 암의 재발을 예방할 수 있으며, 또한 본 발명에 따른 화합물을 이용한 미토콘드리아 표적 치료법은 일반적인 항암 치료에 의해 약물 저항성을 획득해 치료가 어려운 악성 종양을 효과적으로 치료할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 핵 유전자 손상을 최소화한 암 치료를 위한 변형 항생제 화합물 및 이를 포함하는 항암 약학 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 핵 유전자 손상을 최소화한 암 치료를 위한 변형 항생제 화합물 및 이를 포함하는 항암 약학 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[2] 세계적으로 많은 연구단의 노력으로 기존의 항암제의 부작용을 줄이고 항암 치료 효과를 향상시키기 위한 다양한 약물 전달 시스템이 개발되었고, 그 결과 독성이 강한 기존의 항암제들을 효과적으로 암 조직에 전달하고 암 미세 환경에서만 활성화되도록 하는 약물전달 시스템의 개발로 항암치료의 안전성을 현저히 높일 수 있었다.

[3] 하지만, 이러한 기술 발전에도 불구하고 여전히 기존 항암 치료의 난제로 남아있는 것은 약물에 대한 저항성을 획득한 재발암 및 전이암의 치료 및 억제이다. 암사망률 중 90%는 원발암이 아닌 재발암에 의한 사망이며 5년 생존 이후에도 한번 암을 겪은 환자는 일생에 걸쳐 암이 재발할 확률이 매우 높으므로 특히 소아암 환자의 경우 이러한 재발에 대한 우려의 목소리가 크다. 최근 이러한 암의 재발이 역설적이게도 항암제의 사용에 기인한다는 점이 보고되어지고 있다.

[4] 일반적인 화학요법은 암세포의 핵 DNA의 복제를 억제시키며 핵 DNA의 손상으로 암세포를 사멸시키므로 이때 발생한 변이가 이후 암을 재발시키는 것이다. 2단계 신경교종 환자들에게 항암치료로 테모졸로마이드를 투여한 경우 재발암은 4단계로 더 악성의 신경교종이 나타났고 이러한 재발암에서 항암제 테모졸로마이드에 의한 DNA 변이가 감지되었다.

[5] 세포 내 소기관인 미토콘드리아는 동물의 핵과는 다른 독자적인 원형 DNA를 가지고 원핵세포와 같은 방식으로 분열과 융합을 한다. 이러한 이유로 세포 내 공생설을 들 수 있는데 박테리아가 진화 과정 중 숙주 세포로 유입되어 동물세포의 미토콘드리아가 되었다는 학설이다. 그 근거로 미토콘드리아는 박테리아와 같이 환형 DNA를 가지며 구조적, 유전적으로 박테리아와 유사하다. 또한, 미토콘드리아는 생합성에도 박테리아와 유사한 효소들이 이용되기 때문에 본래 박테리아를 표적하는 항생제 중 일부는 미토콘드리아의 기능 또한 저해하여 독성을 야기하므로 항생제의 부작용은 미토콘드리아 독성에 기인한다는 연구 결과가 다수 발표되었다. 이러한 항생제의 독성을 역으로 이용하여 암세포를 사멸시키려는 시도가 있었으나 저농도에서는 인간 세포에 큰 독성을 나타내지 않고 고농도에서는 암세포와 정상세포의 분열을 모두 억제하는데 정상세포에 더 선택적인 독성을 나타내는 등 실질적으로

항암제로의 이용이 불가능해 단순히 동물세포에 대한 독성을 보여주는 연구로 그쳤다. 이러한 항생제를 고농도로 암줄기 세포에 처리할 경우 암의 생장을 억제한다는 연구 또한 진행된 바 있다. 그러나 이러한 연구에서도 암 부피의 99%를 차지하는 벌크 암세포에는 효과가 없고 암줄기세포 또한 사멸시키는 것이 아닌 분열과 성장을 억제하는 것으로 치료효과의 가능성을 제시하는데 그쳤다.

[6] 암줄기세포는 높은 미토콘드리아 질량과 높은 미토콘드리아 막전위를 가지므로 미토콘드리아 막전위를 이용해 약물을 전달하고 미토콘드리아에 축적시키는 약물전달 시스템에서 가장 효과적으로 제거될 수 있다. 특히, 암세포의 미토콘드리아만을 표적하는 방식으로 치료 효과를 낼 수 있기 때문에 핵 DNA를 손상시켜 암세포를 사멸시키는 기존의 화학요법과는 달리 유전자 변성을 일으키지 않아 암의 재발을 예방할 수 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

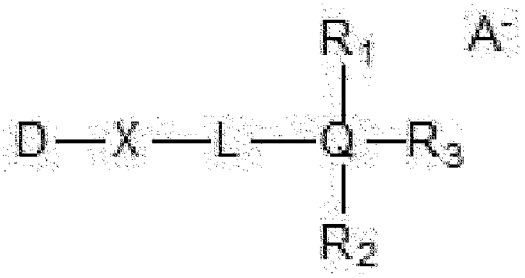
[7] 따라서, 본 발명의 발명자들은 정상세포와 정상줄기세포는 손상시키지 않고 암세포와 암줄기세포만을 선택적으로 골라 사멸시키고 일정시간이 지난 뒤에는 표적기를 잃고 단순한 항생제가 되어 2차적 독성 없이 안전하게 인체 밖으로 배출될 수 있어 재발과 전이를 억제하고 부작용의 가능성을 최소화하기 위한 새로운 암 치료법이 될 수 변형 항생제 항암 약물을 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

[8] 본 발명은 상기 과제를 해결하기 위하여, 하기 [화학식 1]로 표시되는 핵 유전자 손상을 최소화한 암 치료를 위한 변형 항생제 화합물을 제공한다.

[9] [화학식 1]

[10]



[11] 상기 [화학식 1]의 구조 및 치환기에 대한 설명은 후술하기로 한다.

[12] 본 발명에 따른 변형 항생제 항암 화합물은 암세포의 핵 유전자 손상을 최소화하고, 암세포의 미토콘드리아를 선택적 표적으로 하는 것을 특징으로 하며, 이에 따라 암세포의 미토콘드리아 전자전달계 (ETC) 기능을 억제하고, 미토콘드리아 DNA 합성을 억제하는 것을 특징으로 한다.

[13]

[14] 또한, 본 발명은 상기 [화학식 1]로 표시되는 핵 유전자 손상을 최소화한 암 치료를 위한 변형 항생제 화합물 또는 그 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의

예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[15] 본 발명에 따른 변형 항생제 항암 약물은 암세포의 미토콘드리아만을 표적하는 방식으로 치료 효과를 내기 때문에 핵 DNA를 손상시켜 암세포를 사멸시키는 기존의 화학요법과는 달리 유전자 변성을 일으키지 않아 암의 재발을 예방할 수 있으며, 또한 본 발명에 따른 화합물을 이용한 미토콘드리아 표적 치료법은 일반적인 항암 치료에 의해 약물 저항성을 획득해 치료가 어려운 악성 종양을 효과적으로 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[16] 도 1은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물과 상용화된 항생제 시프로플록사신의 암세포 (MDA-MB-231 유방암 전이 암세포) 세포 생존능을 분석한 결과이다.

[17] 도 2는 체내 적합성을 높이기 위하여 Ester Mt-CFX 화합물에서 결합 부위를 아마이드로 변형한 Amide Mt-CFX와 Ester Mt-CFX 화합물의 암세포 (MDA-MB-231 유방암 전이 암세포) 세포 생존능을 분석한 결과이다.

[18] 도 3은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물의 A549 (폐암세포), SW620 (대장암세포), DU145 (전립선암세포) 및 PC3 (전립선암세포) 등의 다양한 암세포종에 대한 세포 생존능을 분석한 것이다.

[19] 도 4는 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물에 의한 Amplex-red와 CM-H_2 DCFDA 형광표지인자를 이용하여 세포 내부에서 발생한 활성산소 (ROS: reactive oxidative species)생성 효과를 분석한 것이다.

[20] 도 5는 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물의 처리에 따른 미토콘드리아 DNA 합성 억제와 막전위 감소 결과를 나타낸 것이다.

[21] 도 6은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물의 처리 후 발생한 활성산소에 의한 DNA, 단백질, 지질의 손상도을 분석한 결과이다.

[22] 도 7은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물의 처리 후 시간 경과에 따라 미토콘드리아 막전위차의 감소 (JC-1 assay) 및 세포사멸 (Annexin V assay)을 분석한 결과이다.

[23] 도 8은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물 항암제에 대하여 상용화된 항암제인 독소루비신 (DOXO)과 비교하여 핵 DNA와 미토콘드리아 DNA 손상 유발 정도를 분석한 결과이다.

[24] 도 9는 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물과 상용화된 항암제인 독소루비신 (DOXO)를 처리한 후의 DNA 복구 단백질의 발현 정도(여기서 POLγ는 미토콘드리아 유전자 복구, ERCC1과 DDB2는 핵 유전자 복구에 관여하는 것임)를 분석한 결과이다.

[25] 도 10은 핵 DNA를 손상시키는 기존에 상용화된 항암제들과는 달리Ester Mt-CFX가 미토콘드리아 유전체 DNA 손상을 확인하기 위해 Taq1 assay를

수행하여 미토콘드리아 유전체 DNA 손상도를 분석한 결과이다.

[26] 도 11은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX와 기존에 상용화된 항암제들 (Doxorubicin, Temozolomide, Camptothecin, Cisplatin, Chlorambucil 과 5-FU) 을 처리한 후에 핵 DNA와 미토콘드리아 DNA 손상이 일어난 부위를 realtime PCR로 분석한 결과이다.

[27] 도 12는 유방암 종양 이식 모델을 이용하여 Ester Mt-CFX 화합물의 종양 억제효과의 기능을 확인한 것으로, 화합물 주입에 의한 시간별 종양 표적 효과 (in vivo imaging) 및 화합물 주입에 의한 시간에 따른 체적 및 무게 변화를 확인한 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

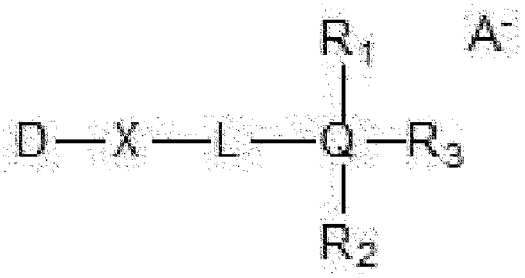
[28] 이하, 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기로 한다.

[29] 본 발명은 현재 항암 치료의 큰 문제점인 강한 유전자 독성에서 기여한 재발 및 전이를 억제할 수 있는 새로운 개념의 항암치료를 위한 변형 항생제 약물에 관한 것이다.

[30] 본 발명에 따른 변형 항생제 항암 약물 화합물은 하기 [화학식 1]로 표시되는 것으로서, 안정성이 높은 항생제를 기본 골격으로 하고, 여기에 미토콘드리아를 선택적으로 표적시킬 수 있도록 설계하여 높은 항암치료 효과를 나타내며 미토콘드리아 표적기가 체내에서 가수분해된 뒤에는 안전한 항생제가 됨으로써 부작용을 최소화한 것을 특징으로 한다.

[31] [화학식 1]

[32]



[33] 상기 [화학식 1]에서,

[34] D는 안정성이 높은 플루오로퀴놀론계 항생제 골격으로서 플루메퀸 (flumequine), 옥솔린산 (oxolinic acid), 로속사신 (rosoxacin), 시녹사신 (cinoxacin), 날리딕산 (nalidixic acid), 피로미드산 (piromidic acid), 피페미드산(pipemidic acid), 시프로플록사신 (ciprofloxacin), 플레록사신 (fleroxacin), 로메플록사신 (lomefloxacin), 나디플록사신 (nadifloxacin), 노르플록사신 (norfloxacin), 오플록사신 (ofloxacin), 페플록사신 (pefloxacin), 루플록사신 (rufloxacin), 에녹사신 (enoxacin), 발로플록사신 (balofloxacin), 그레파플록사신 (grepafloxacin) 레보플록사신 (levofloxacin), 파주플록사신 (pazufloxacin), 스파르플록사신 (sparfloxacin), 테마플록사신 (temafloxacin), 토수플록사신 (tosufloxacin), 클리나프록사신 (clinafloxacin), 가티플록사신 (gatifloxacin), 목시플록사신

(moxifloxacin), 시타플록사신 (sitafloxacin), 프룰리플록사신 (prulifloxacin), 베시플록사신 (besifloxacin), 제미플록사신 (gemifloxacin), 트로바플록사신 (trovafloxacin), 델라플록사신 (delafloxacin), 다노플록사신 (danofloxacin), 디플록사신 (difloxacin), 엔로플록사신 (enrofloxacin) 이바플록사신 (ibafloxacin), 마보플록사신 (marbofloxacin), 오비플록사신 (orbifloxacin) 및 사라플록사신 (sarafloxacin) 중에 선택되며, 상기 플루오로퀴놀론계 항생제 골격 말단의 하이드록실기가 상기 X와 연결된다.

[35] 상기 X는 O, S 및 NR (상기 R은 수소, 탄소수 1 내지 30의 알킬기, 탄소수 6 내지 30의 아릴기 및 탄소수 2 내지 30의 헤테로아릴기 중에서 선택되는 어느 하나임) 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게는 O 또는 NR일 수 있다.

[36] 이때, X가 아마이드기(NR)인 경우에는 본 발명에 따른 [화학식 1]의 체내 안정성은 더욱 우수하다.

[37] L은 표적기 그룹과의 연결기로서, 탄소수 1 내지 30의 알킬기, 탄소수 2 내지 30의 알케닐기 및 폴리알킬렌글리콜기 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[38] Q는 N. P, As 및 Sb 등의 15족 원소 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며, R_1 내지 R_3는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 30의 알킬기, 탄소수 2 내지 30의 알케닐기, 탄소수 6 내지 30의 아릴기 및 탄소수 2 내지 30의 헤테로아릴기 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[39] A^-는 할로겐, 하드드록실, 카르복실레이트, 설페이트, 설퍼메이트, 설포네이트, 포스페이트, 포스포네이트, 보로네이트 및 (폴리)에틸렌옥시 중에서 선택되는 어느 하나의 음이온이다.

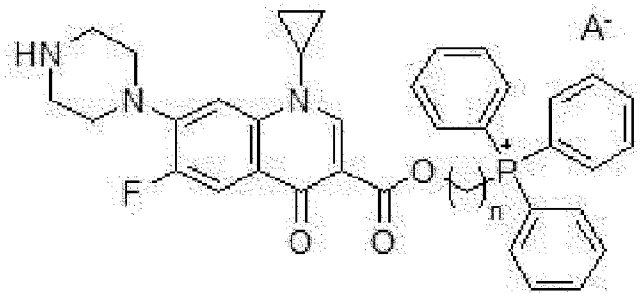
[40]

[41] 이와 같은 본 발명에 따른 [화학식 1]에 대해서 일 실시예에 의하여 구체적인 화합물을 예시하면 다음과 같을 수 있으며, 이에 의하여 본 발명에 따른 [화학식 1]의 범위가 제한되는 것은 아니다.

[42] 하기 구체적인 일 실시예 화합물은 플루오로퀴놀론계 항생제 중 시프로플록사신 (ciprofloxacin)을 골격으로 한 것이다.

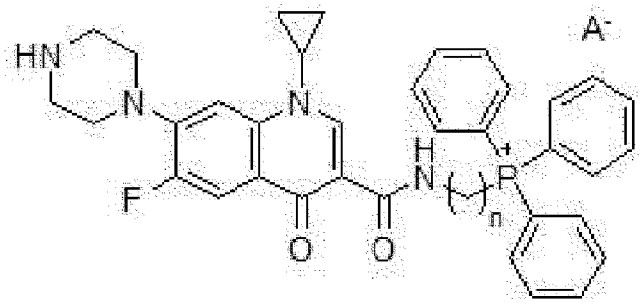
[43] [Ester-Mt-CFX]

[44]



[45] [Amide-Mt-CFX]

[46]



[47] 상기 화합물에서 n은 1 내지 30의 정수이며, A 는 상기 정의와 동일하며 후술하는 실시예에서 n은 6이고 A 는 클로라이드 음이온이며, 상기 [Amide-Mt-CFX]는 체내에서 안정성을 더욱 향상시키기 위하여 결합 부위를 에스테르가 아닌 아마이드기로 변형된 것이다.

[48]

[49] 또한, 본 발명은 상기 [화학식 1]로 표시되는 변형 항생제 항암 화합물 또는 그 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[50] 본 발명에 따른 약학 조성물은 다양함 암과 이의 전이암 등의 암 질환을 예방하고 치료하는 데 사용 가능한 바, 이에 제한되는 것은 아니지만, 상기 암 질환은 유방암, 폐암, 대장암, 전립선암 및 이들의 전이성 암일 수 있다.

[51] 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물은 암 질환의 예방 또는 치료용으로 알려진 다른 약물과 함께 복합 제제의 형태로 투여되거나, 또는 담체, 희석제, 보조제 및 안정화제 등과 같은 기타 성분을 포함할 수도 있다.

[52] 또한, 본 발명에 따른 조성물의 형태는 투여하고자 하는 모드에 따라서 다양하게 선택될 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니지만, 예를 들어 정제, 환약, 분말, 캡슐, 겔, 연고, 유체 또는 현탁액 등의 고상, 반고상 또는 액상의 투약 형태일 수 있고, 정확한 투약량의 단독 투여에 적절한 단위 투약 형태로 투여될 수 있으며, 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입 등으로 투여할 수 있다.

[53] 또한, 상기 조성물은 인간 투여를 위한 약학 조성물을 제형화하는데 일반적으로 사용되는 수성-기제 운반제로 정의되는 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 보조제, 안정화제를 원하는 제형에 의존하여 포함할 수 있다.

[54] 담체(carrier)라 함은 세포 또는 조직 내로 화합물의 부가를 용이하게 하는 물질을 의미하고, 예를 들어, 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 탄수화물류 화합물 (예: 락토스, 아밀로스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 셀룰로스, 등), 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 염 용액, 알코올, 아라비아고무, 식물성 기름 (예: 옥수수 기름, 목화 종자유, 두유, 올리브유, 코코넛유), 폴리에틸렌 글리콜, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄

오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 희석제(diluent)라 함은 대상 화합물의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 화합물을 용해시키는 물에서 희석되는 물질로 정의되는 것으로 예를 들어, 희석제로는 증류수, 생리 식염수, 링거액, 포도당 용액, 및 행크스(Hank's) 용액 등일 수 있다. 안정화제는 단백질, 당질, 완충제 및 그 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 또한, 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[55] 또한, 이러한 담체, 희석제, 보조제 및 안정화제 등과 같은 기타 성분의 유효량은 성분의 용해성, 생물학적 활성 등으로 환산하여 약학적으로 허용 가능한 제형을 획득하는데 유효한 양이다.

발명의 실시를 위한 형태

[56] 이하에서는 바람직한 실시예 등을 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 등은 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 의하여 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.

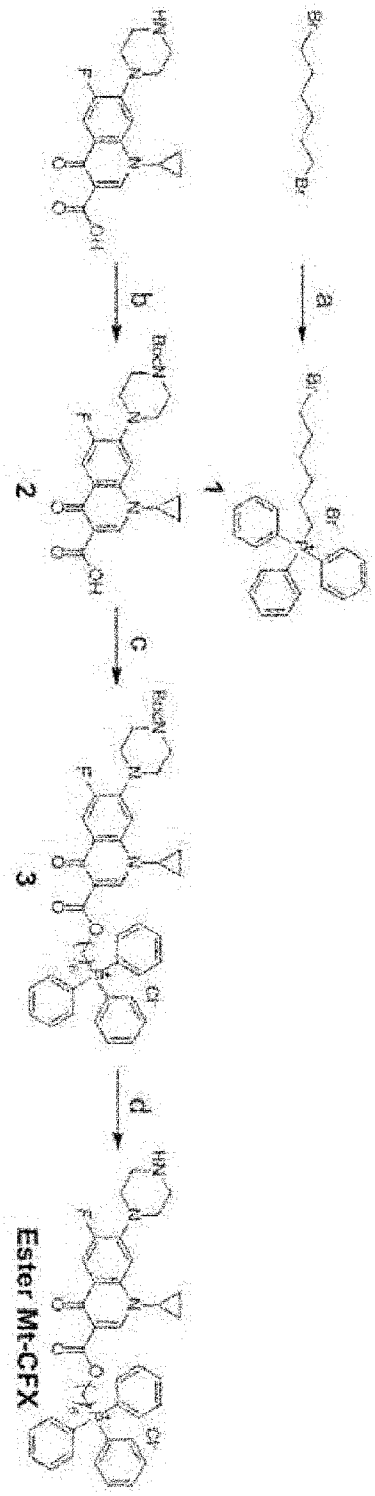
[57]

[58] **합성예 1 : Ester Mt - CFX의 합성**

[59] 하기 Scheme 1의 합성 경로를 통하여 Ester Mt-CFX를 합성하였으며, 하기 Scheme 1에서 화합물 1 및 2는 종래 알려진 방법에 따라 합성하였다.

[60] [Scheme 1]

[61]



[62]

[63] (1) 화합물 3의 합성

[64] 디메틸포름아마이드 용매에 화합물 1 (1 g, 1.975 mmol) 과 화합물 2 (852 mg, 1.975 mmol)를 녹인 뒤 탄산칼륨 (819 mg, 5.925 mmol)을 천천히 가한다. 50 ℃에서 12시간 동안 교반한 뒤 감압하여 용매를 증발시킨다. 컬럼 크로마토그래피로 분리 정제한 뒤 50 mL 혼합용액 (메탄올/증류수 = 1/9)에

녹이고 $NaBF_4$를 넣고 1시간 동안 교반하고, 디클로로메탄과 증류수로 추출하고, 이후 메탄올에 녹이고 Dowex® 1×8 chloride를 가한 뒤 6시간 동안 교반하고 필터 후 용매를 증발시킨다.

[65]

[66] (2) Ester Mt-CFX의 합성

[67] 18 mL의 혼합용액 (1,4-다이옥세인/디클로로메탄 = 4/1)에 화합물 3을 녹인 뒤 0 ℃에서 4 N HCl in Dioxane 6 mL을 한 방울씩 넣어준다. 상온에서 12 시간 동안 교반한 뒤 감압하여 용매를 증발시켜 Ester Mt-CFX를 합성한다.

[68] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ8.50 (s, 1H), 7.87-7.70 (m, 15H), 7.66 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.29 - 4.23 (m, 2H), 3.69-3.60 (m,2H), 3.59-3.53 (m, 1H), 3.50-3.42 (m, 4H), 3.30-3.20 (m, 4H), 1.78-1.65 (m, 6H), 1.61-1.53 (m, 2H), 1.39 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 1.14 - 1.07 (m, 2H) ppm.

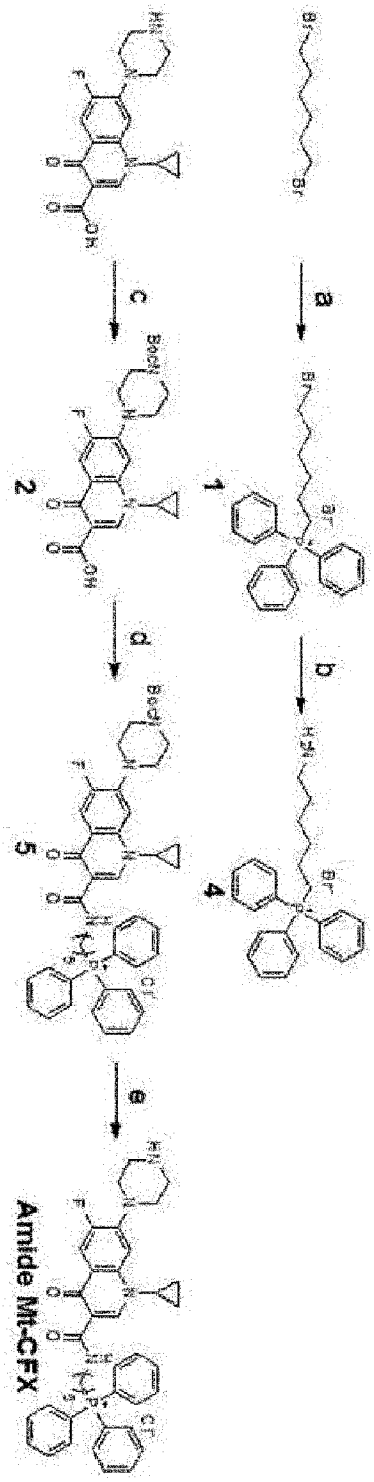
[69]

[70] **합성예 2 : Amide Mt - CFX의 합성**

[71] 하기 Scheme 2의 합성 경로를 통하여 Amide Mt-CFX를 합성하였으며, 하기 Scheme 2에서 화합물 1 및 2는 종래 알려진 방법에 따라 합성하였다.

[72] [Scheme 2]

[73]



[74]

[75] (1) 화합물 4의 합성

[76] 화합물 1 (1 g, mmol)을 35 mL의 7 N NH_3 메탄올 용액에 녹인 후 3일 동안 상온에서 교반한다. 이후 용매를 감압하여 증발시키고 컬럼크로마토그래피로 분리 정제한다.

[77]

[78] (2) 화합물 5의 합성

[79] 디메틸포름아마이드 용매에 화합물 2 (1 g, 2.318 mmol), EDC hydrochloride (667 mg, 3.477 mmol), 1-Hydroxybenzotriazole hydrate (470 mg, 3.477 mmol)을 녹인 후 30분 동안 상온에서 교반한다. DMAP (425 mg, 3.477mmol)과 화합물 4 (1.025 g, 2.318 mmol)을 넣어준 뒤 12시간 동안 교반한 뒤 감압하여 용매를 증발시킨다. 컬럼 크로마토그래피로 분리 정제한 뒤 50 mL 혼합용액 (메탄올/증류수 = 1/9)에 녹이고 $NaBF_4$를 넣고 1시간 동안 교반하고 디클로로메탄과 증류수로 추출한 후에 메탄올에 녹이고 Dowex® 1X8 chloride를 가한 뒤 6시간동안 교반하고 필터 후 용매를 증발시킨다.

[80]

[81] (3) Amide Mt-CFX의 합성

[82] 18 mL의 혼합용액 (1,4-다이옥세인/디클로로메탄 = 4/1)에 화합물 5를 녹인 뒤 0 ℃에서 4N HCl in Dioxane 6 mL을 한 방울씩 넣어준다. 상온에서 12시간 동안 교반 한 뒤 감압하여 용매를 증발시켜 Amide Mt-CFX를 합성하였다.

[83] ^{1}H NMR (MeOD, 500 MHz): δ 8.88 (s, 1H), 7.95 - 7.74 (m, 17H), 7.69 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H) 3.85 - 3.79 (m, 1H), 3.69 - 3.64 (m, 4H), 3.54 - 3.49 (m, 4H), 3.49 - 3.41 (m, 4H), 1.77 - 1.70 (m, 2H), 1.70 - 1.58 (m, 4H), 1.53 - 1.42 (m, 4H) ppm.

[84]

[85] <u>실험예</u>

[86] <u>1-1 동물세포배양</u>

[87] 인간 유방암전이 세포주 MDA-MB-231 (Human breast cancer cell), 폐암 세포주 A549(Human lung carcinoma cell), 인간 대장암 세포주 SW620 (Humna colon carcinoma cell), 인간 전립선암 세포주 DU145와 PC3 (Human prostate cancer cell)를 RPMI1640 medium과 MEM (modified Eagle's medium)에서 배양하였다. 모든 배지는 10% 불활성화 FBS (fetal bovine serum) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(peniciline-streptomycin)을 포함하였고, 모든 세포주는 37 ℃, 5% 이산화탄소 조건에서 배양되었다.

[88]

[89] <u>1-2 세포 생존능 (Cell viability) 분석</u>

[90] MDA-MB-231, A549, SW620, DU145 및 PC3 세포를 96-well 플레이트에 접종하고, 세포의 안정화를 위해 하룻밤동안 배양하였다. 안정화된 세포에 Ester MT-CFX, Amide MT-CFX 및 시프로플록사신을 0 ~100 uM까지의 다양한 농도로 48시간 처리 후, 살아있는 세포 내의 LDH의 양을 측정하여 세포 생존능을 측정하였다. 각 측정값은 3번의 독립적인 실험의 평균을 ±SE으로 나타내었다.

[91]

[92] <u>1-3 ROS (reactive oxidative species)측정 분석</u>

[93] 세포 내 생성된 hydrogen peroxide (H_2O_2)의 활성도를 평가하기 위하여 Amplex ® red reagent (10-acethyl-3,7-dihydroxyphenoxazine; Thermo Fisher scientific)을 사용하여 검출하였다. 본 방법은 세포 내 peroxidase가 있으면 Amplex ® red

reagent이 H_2O_2에 1:1 stoichiometry로 반응해 적색 형광 산물인 resorufin을 생성하여, resorufin의 여기 및 방출 파장 571 nm/581 nm을 이용하여 형광 분석을 할 수 있으며, MDA-MB-231 세포주를 96-well 플레이트에 접종하여, 10 uM Ester MT-CFX를 48시간 처리 후 hydrogen peroxide를 측정하였다. 50 uM Amplex ® red reagent 와 0.1 U/mL HRP를 Krebs-Ringer phosphate buffer (145 mM NaCl, 5.7 mM sodium phosphate, 4.86 mM KCl, 0.54 mM $CaCl_2$, 1.22 mM $MgSO_4$, 5.5 mM glucose, pH 7.35)에 반응 혼합물을 만들어 각 plate well에 100 uL씩 넣어 37 ℃에서 10분간 반응 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 여기 530-560 nm / 방출 590 nm 파장에서 형광 밝기를 측정하였다. 또한, MDA-MB-231 세포주를 confocal 전용 디쉬에 접종하였다. 10 uM Ester MT-CFX를 48시간 처리 후, 세포 내 활성산소 표지자로 알려진 10 uM CM-H_2DCFDA dye를 30분간 배양하였다. 세포 내 발생한 활성산소를 confocal laser scanning microscopy를 이용하여 여기 492-495 nm/방출 517-527 nm 파장에서 형광을 이미징하였다.

[94]

[95] 1-4 DNA oxidation 측정

[96] 산화적 스트레스에 의한 세포 내 DNA oxidation은 시판된 8-OHdG ELISA kit를 사용하여 효소 결합 면역 측정법으로 분석하였다. MDA-MB-231 세포에서 10 uM Ester MT-CFX와 10 uM CFX를 48시간 처리 한 샘플을 1차 항체와 37 ℃에서 반응하였으며, 2차 항체와 37 ℃에서 1시간 동안 반응하였다. 발색 반응은 실온에서 15분간 수행되었다. 생성된 용액의 흡광도는 멀티플레이터리더기를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

[97]

[98] 1-5 Protein carbonylation 측정

[99] 단백질 carbonyl 그룹은 산화적 스트레스의 중요한 생리학적 지표로 알려져 있으며, 세포 내 단백질들은 ROS (reactive oxygen species)에 의해 손상을 받기 쉽다. 단백질 carbonylation의 측정은 ELISA 방법으로 수행하였다. MDA-MB-231 세포에서 10 uM Ester MT-CFX와 10 uM CFX를 48시간 처리한 1 ug/uL 단백질 용해물 10 uL를 10% SDS 10 uL로 변성시키고 20 mM DNPH (2,4-dinietrophenylhydrazine) 20 uL로 유도체화 시킨 후, 용액을 TPA중에서 제조하였다. 2분마다 vortexing하면서 실온에서 10시간 동안 배양한 후, 반응물을 2 M Tris-Cl 20 uL로 중화하였다. DNP 유도체화 샘플을 3 uL를 0.25 mL의 흡착완충액 (20 mM NaHCO3, 150 mM NaCl, 0.25 % SDS, pH 8.5)으로 희석하고 희석된 시료 100 uL를 96 well 플레이트에 이동하여, 알루미늄 호일로 빛을 차단하여 4 ℃에서 밤새 배양하였다. 배양 후에 샘플 웰을 PBST (0.5% Tween 20)으로 5회 세척 후, 37 ℃에서 1시간 동안 블로킹 완충액 (흡착 완충액 중 1% BSA) 200 uL와 함께 배양하였다. 그 후 샘플 웰을 실온에서 1시간 동안 염소-항-DNP 항체를 함유하는 차단 완충액 100 uL와 함께 인큐베이션 하였다. 배양 후, 샘플 웰을 PBST로 5회 세척 후, 실온에서 1 시간 동안 (HRP)-접합 된

토끼 항-염소 IgG 항체와 함께 배양하였다. PBST로 5회 세척 후, 스탠다드 웰을 100 uL의 TMB 기질과 함께 발색을 위해 2-3 분 동안 실온에서 배양하였다. 0.5 M H_2SO_4 100 uL로 반응을 멈추고 450 nm 및 690 nm에서 흡광도를 측정했다. 690 nm에서 배경 흡광도를 뺀 후, 산화된 BSA 표준의 표준 곡선을 사용하여 각 샘플의 카르보닐 함량을 측정하였다.

[100]

[101] 1-6 Lipid peroxidation 측정

[102] 지질과산화 (Lipid peroxidation)는 세포 손상의 메카니즘 지표의 하나로서, 지질과산화의 산물인 malondialdehyde (MDA)를 측정하여 확인할 수 있다. MDA-MB-231 세포에서 10 uM Ester MT-CFX와 10 uM CFX를 48시간 동안 처리한 후, 각 샘플은 1 mg/mL 농도로 phosphate buffer에 넣어 37 ℃ 항온 수조에서 6시간 동안 배양하였다. 10% TCA로 퀜칭된 10 uL butylated hydroxytoluene (BHT) 혼합용액에 0.5 mL 0.75% thiobarbituric acid를 첨가하였다. 혼합물은 95 ℃에서 20분 동안 가열하고 냉각시킨 후, 780 ×g에서 10분 동안 원심분리하였다. 생성된 용액의 흡광도는 멀티플레이터리더기를 이용하여 532 nm에서 측정하였다.

[103]

[104] 1-7. FACS 측정

[105] Annexin-V 양성 사멸성 세포들의 분석은 유동 세포분석기에 의해 수행되었다. MDA-MB-231 세포에 10 uM Ester MT-CFX를 0, 6, 12, 24시간 동안 각각 처리하였다. 세포들은 각 시간대별로 배양 후 회수하였다. 이어 얼음 냉각된 PBS로 2회 세척하였다. 세척된 세포들은 BD FACS 튜브에 위치시키고 (10 ⁶/mL), 10% FBS를 함유한 PBS 중에서 10 ug/mL Annexin V와 함께 실온에서 30분 동안 배양하였다. 이어 세포들은 얼음 냉각된 PBS에 세척 후, Annexin V 형광을 FACSCalibar 장비 (BD, USA)의 FL-1 채널에서 측정하였다.

[106]

[107] 1-8 미토콘드리아 막전위 (Mitochondria membrane potential) 측정

[108] 미토콘드리아의 막전위 차이를 측정하기 위해 MDA-MB-231 세포에 10 uM Ester MT-CFX를 0, 6, 12, 24시간 동안 각각 처리하였다. 세포들은 각 시간대별로 배양 후 회수하였다. 회수된 세포는 얼음 냉각된 PBS에 1회 세척하였고, 2 M JC-1 (5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethyl-benzimidazolyl carbocyanine chloride)과 함께 37 ℃에서 20분 동안 배양하였다. JC-1 염색한 세포들을 1,300 *g*에서 3분간 원심분리 후, 얼음 냉각된 PBS에 2회 세척하였다. JC-1의 monomer (green channel)와 aggegated (red channel) 를 파장대의 변화를 통해 미토콘드리아의 막전위를 측정하였다.

[109]

[110] 1-9 Realtime PCR 분석

[111] 트리졸 (TRIzol) 용액을 이용하여 샘플에서 RNA를 추출한 후, 분리한

RNA로부터 합성된 cDNA를 사용하거나, genomic DNA isolation kit를 사용하여 세포 내 genomic DNA를 추출하여 실시간 중합효과 연쇄반응 (realtime PCR)을 실시하였다. Realtime PCR의 결과는 GAPDH (gluceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase) 발현에 의해 정규화된 후 상대적인 발현량을 폴드 (fold)화하여 나타내었고, 상기 결과 (평균±SE)는 세 번 반복 실시하여 얻었으며, 통계적으로 유의한 값은 $p<0.05$로 나타내었다.

[112]

[113] 1-10 동물준비

[114] 면역결핍 BALB/c-nu-nu 마우스 (Orient bio, Korea)는 5주령 수컷의 18~20g을 사용하였다. 동물 사육실은 30 ~ 40% 습도와 22±1 ℃의 온도를 유지하였으며, 실내의 조명은 12시간 light/dark 주기로 하였다. 동물 실험은 고려대학교 동물실험윤리위원회에 의해 승인되었고, 동물은 프로토콜의 지침에 따라 처리하였다.

[115]

[116] 1-11 In vivo 마우스 이종이식 모델

[117] MDA-MB-231 세포 (5×10^{6}cells) 18-20 g의 6주령 면역결핍 BALB/c-nu-nu 마우스에 피하 주사하여, 종양이식 모델을 확립하였다. 확립된 종양이식 마우스 모델에 시프로플록사신, Ester-MT-CFX를 매주 3회 정맥 주사하였고, 종양의 길고 짧은 축의 길이를 매주 측정하였다. 화합물의 최초 주입 후 12주째에 마우스를 희생시킨 다음, 추가 분석을 위하여 종양 샘플을 수집하였다. 결과는 각 그룹 내 4마리 마우스의 종양의 평균±SE로 나타내었고, *의 표시는 대응하는 대조군과 비교할 때 유의한 값을 나타낸다.

[118]

[119] 1-12 In vivo 형광영상

[120] Ester MT-CFX의 종양 타겟 능력 및 각 장기의 분포를 평가하였다. In vivo 스펙트럼-형광 영상들은 IVIS luminar Serise III 전임상 영상화 시스템 (PerkinElmer CO., USA)에서 Ester MT-CFX를 종양이식 마우스 꼬리 정맥 내로 2 umol/kg 주사하여 1시간부터 48시간까지 확인하였다. In vivo 영상을 얻기 위해 사용된 필터는 여기 560 nm 파장에서 측정하였고, 형광 영상들은 다중여기 스펙트럼 분석 함수를 사용하여 디콘볼루션 (deconvulated) 하였다.

[121]

[122] 1-13 통계적 분석

[123] 각 그룹들의 평균 및 평균오차 (SE)는 삼중으로 수행된 3회의 독립적인 실험들로부터 계산되었으며, SAS 소프트웨어 (version 9.0, Cary) 중 ANOVA (분산의 일방 분석)를 수행함으로서, 그룹간의 통계적으로 유의미한 차이를 평가하였다. ANOVA가 유의한 차이를 나타내는 경우에는, Studuent's t 테스트를 수행함으로서 평균들을 비교하였으며, p 수치가 <0.05인 경우를 통계적으로 유의미한 경우로 간주하였다.

[124]

[125] 실험예 결과

[126] (1) 상용화된 항생제 시프로플록사신이 MDA-MB-231 유방암 전이 암세포에 거의 사멸 효과가 없는데 비하여 표적기를 달아준 본 발명에 다른 Ester Mt-CFX 화합물은 강한 사멸효과를 보였으며 약 15μM의 IC_{50}를 보인다 (도 1).

[127] 하기 도 1은 MDA-MB-231 종양 세포주 (한국세포주은행)를 이용하여 cell viability를 측정하였고, MDA-MB-231은 삼중음성유방암 세포종으로 현재 효과적으로 삼중음성유방암을 치료할 수 있는 항암치료제는 존재하지 않는다. 세포는 37 ℃, 5% 이산화탄소 조건에서 배양되었으며, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지가 이용되었다. LDH 실험으로 세포 독성을 확인하였으며 세포는 약 24시간 동안 안정적으로 디쉬 바닥에 부착되도록 배양시킨 후 시프로플록사신 항생제와 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX로 48시간 동안 처리하였다. 반복실험을 진행한 결과 시프로플록사신의 IC_{50}는 1.65 M로 추정되고 Ester Mt-CFX는 20 ~ 30 μM 로 55,000배 이상 증진된 암세포 사멸 효율을 보였다. 본 발명에 따른 항암 약물은 이러한 삼중음성유방암에 매우 특출난 효과를 보였다.

[128]

[129] (2) 또한, 본 발명은 체내에서의 안정성을 높이기 위해 결합 부위를 에스테르가 아닌 아마이드로 바꾼 Amide Mt-CFX를 합성하고, 이의 암세포 사멸 효과가 Ester Mt-CFX와 유사함이 검증하였다 (도 2).

[130] 하기 도 2는 하기 도 1과 동일하게 실험을 진행한 결과로서, 본 발명에 따른 Amide Mt-CFX에 역시 증진된 암세포 사멸효과를 확인할 수 있었다.

[131]

[132] (3) 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물 및 Amide Mt-CFX 화합물은 MDA-MB-231 유방암 전이 암세포뿐만 아니라 A549 (폐암세포), SW620 (대장암세포), DU145 (전립선암세포) 및 PC3 (전립선암세포) 등의 다양한 암세포종에 대한 사멸 효과를 보임으로써 본 발명에 따른 화합물의 넓은 응용 가능성을 확인하였다 (도 3).

[133] 하기 도 3은 본 발명에 따른 항암 약물에 대해서 다양한 암세포에서의 적용 가능성을 확인하기 위해 A549, DU145, SW620, PC3 종양 세포주 (한국세포주은행)에서 도 1과 같은 실험을 반복한 결과 다양한 암세포에서도 효과가 있었으며 특히 A549는 23.77 μM, SW620은 27.05 μM 의 IC_{50} 값을 가졌다.

[134]

[135] (4) 이와 같이 본 발명에 따른 변형 항생제 Mt-CFX의 항암 효과는 두 가지 기작으로 설명될 수 있으며, ① 첫 번째는 Mt-CFX 화합물의 미토콘드리아로의 축적에 의하여 전자전달계 (ETC) 기능을 억제하고 이에 따른 활성산소 생성이라고 할 수 있으며 (도 4), ② 두 번째는 미토콘드리아 DNA 합성 억제이다 (도 5).

[136] 또한, 하기 도 6은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물의 처리 후 발생한

활성산소에 의한 DNA, 단백질, 지질의 손상을 확인한 결과이며, 하기 도 7에서 보는 바와 같이 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물의 처리 후 시간 경과에 따라 미토콘드리아 막전위차가 감소하며 (JC-1 assay) 세포사멸이 일어남을 확인할 수 있다.

[137]

[138] (5) 하기 도 8은 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물 항암제의 핵 유전자 비독성에 대한 결과로서, 상용화된 항암제인 독소루비신 (DOXO)과 비교하여 핵 DNA와 미토콘드리아 DNA 손상 유발 정도를 측정한 결과이고, 독소루비신이 핵 유전자에 강한 독성을 보이는 반면에, 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물 항암제는 핵 유전자에는 비독성을 보이고 미토콘드리아에 선택적인 독성을 보였다.

[139] 또한, 하기 도 9는 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물과 상용화된 항암제인 독소루비신 (DOXO)를 처리한 후의 DNA 복구 단백질의 발현 정도를 측정한 결과이며 (여기서 POLγ는 미토콘드리아 유전자 복구에, ERCC1과 DDB2는 핵 유전자 복구에 관여하는 것임), 하기 도 10에서 보는 바와 같이 Taq1 assay를 통해 개발된 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX가 상용화된 항암제들과는 달리 미토콘드리아를 표적함을 확인할 수 있다.

[140] 또한, 하기 도 11에서 보는 바와 같이, 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX와 다양한 항암제들을 처리한 후에 DNA에 손상이 일어난 부위를 PCR로 확인한 결과, 상용화된 항암제는 핵유전자에 많은 변이를 일으키고, Ester Mt-CFX는 미토콘드리아에 변이를 일으킴을 확인할 수 있다.

[141]

[142] (6) 또한, 형광체가 도입된 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물 항암제가 In Vivo 실험 결과에서 암조직으로만 선택적으로 축적됨을 확인하였으며, 암 부피를 측정한 결과 대조군에 비해 월등한 암 부피 감소 효과를 나타내어 본 발명에 따른 Ester Mt-CFX 화합물 항암제가 갖는 높은 치료 효과를 입증 확인하였다 (도 12).

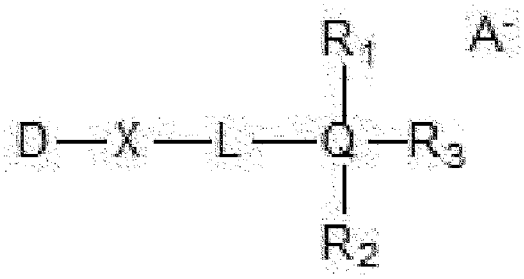
산업상 이용가능성

[143] 본 발명에 따른 변형 항생제 항암 약물은 암세포의 미토콘드리아만을 표적하는 방식으로 치료 효과를 내기 때문에 핵 DNA를 손상시켜 암세포를 사멸시키는 기존의 화학요법과는 달리 유전자 변성을 일으키지 않아 암의 재발을 예방할 수 있으며, 일반적인 항암 치료에 의해 약물 저항성을 획득해 치료가 어려운 악성 종양을 효과적으로 치료할 수 있다.

청구범위

[청구항 1] 하기 [화학식 1]로 표시되는 변형 항생제 항암 화합물:

[화학식 1]



상기 [화학식 1]에서,

D는 플루오로퀴놀론계 항생제로서 X와 연결되고,

X는 O, S 및 NR 중에서 선택되는 어느 하나이며, 상기 R은 수소, 탄소수 1 내지 30의 알킬기, 탄소수 6 내지 30의 아릴기 및 탄소수 2 내지 30의 헤테로아릴기 중에서 선택되는 어느 하나이고,

L은 탄소수 1 내지 30의 알킬기, 탄소수 2 내지 30의 알케닐기 및 폴리알킬렌글리콜기 중에서 선택되는 어느 하나이며,

Q는 N. P, As 및 Sb 중에서 선택되는 어느 하나이고,

R_1 내지 R_3는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 30의 알킬기, 탄소수 2 내지 30의 알케닐기, 탄소수 6 내지 30의 아릴기 및 탄소수 2 내지 30의 헤테로아릴기 중에서 선택되는 어느 하나이며,

A^-는 할로겐, 하드드록실, 카르복실레이트, 설페이트, 설퍼메이트, 설포네이트, 포스페이트, 포스포네이트, 보로네이트 및 (폴리)에틸렌옥시 중에서 선택되는 어느 하나의 음이온이다.

[청구항 2] 제1항에 있어서,

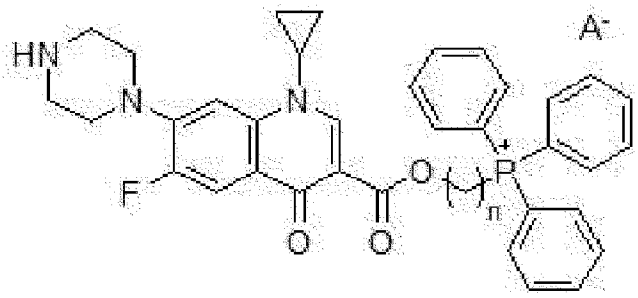
상기 D는 플루오로퀴놀론계 항생제로서, 플루메퀸 (flumequine), 옥솔린산 (oxolinic acid), 로속사신 (rosoxacin), 시녹사신 (cinoxacin), 날리딕산 (nalidixic acid), 피로미드산 (piromidic acid), 피페미드산(pipemidic acid), 시프로플록사신 (ciprofloxacin), 플레록사신 (fleroxacin), 로메플록사신 (lomefloxacin), 나디플록사신 (nadifloxacin), 노르플록사신 (norfloxacin), 오플록사신 (ofloxacin), 페플록사신 (pefloxacin), 루플록사신 (rufloxacin), 에녹사신 (enoxacin), 발로플록사신 (balofloxacin), 그레파플록사신 (grepafloxacin) 레보플록사신 (levofloxacin), 파주플록사신 (pazufloxacin), 스파르플록사신 (sparfloxacin), 테마플록사신 (temafloxacin), 토수플록사신 (tosufloxacin), 클리나프록사신 (clinafloxacin), 가티플록사신 (gatifloxacin), 목시플록사신 (moxifloxacin), 시타플록사신 (sitafloxacin), 프룰리플록사신 (prulifloxacin), 베시플록사신 (besifloxacin), 제미플록사신 (gemifloxacin),

트로바플록사신 (trovafloxacin), 델라플록사신 (delafloxacin), 다노플록사신 (danofloxacin), 디플록사신 (difloxacin), 엔로플록사신 (enrofloxacin) 이바플록사신 (ibafloxacin), 마보플록사신 (marbofloxacin), 오비플록사신 (orbifloxacin) 및 사라플록사신 (sarafloxacin) 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 변형 항생제 항암 화합물.

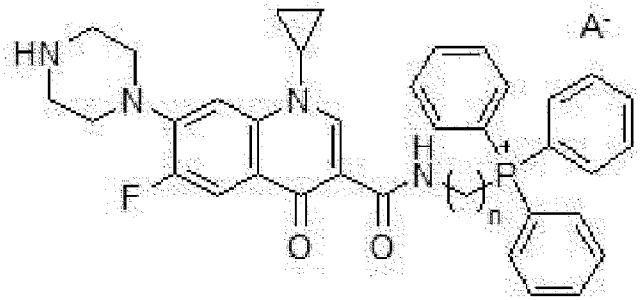
[청구항 3] 제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]은 하기 화합물 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 변형 항생제 항암 화합물:

[Ester-Mt-CFX]



[Amide-Mt-CFX]



상기 화합물에서, A^-의 정의는 제1항에서의 정의와 동일하고, n은 1 내지 30의 정수이다.

[청구항 4] 제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]은 암세포의 미토코드리아를 선택적 표적으로 하는 것을 특징으로 하는 변형 항생제 항암 화합물.

[청구항 5] 제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]은 암세포의 미토콘드리아 전자전달계 (ETC) 기능을 억제하고, 미토콘드리아 DNA 합성을 억제하는 것을 특징으로 하는 변형 항생제 항암 화합물.

[청구항 6] 제1항에 따른 [화학식 1]로 표시되는 변형 항생제 항암 화합물 또는 그 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

[청구항 7] 제6항에 있어서,

상기 약학 조성물은 암세포의 미토코드리아를 선택적 표적으로 하는 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

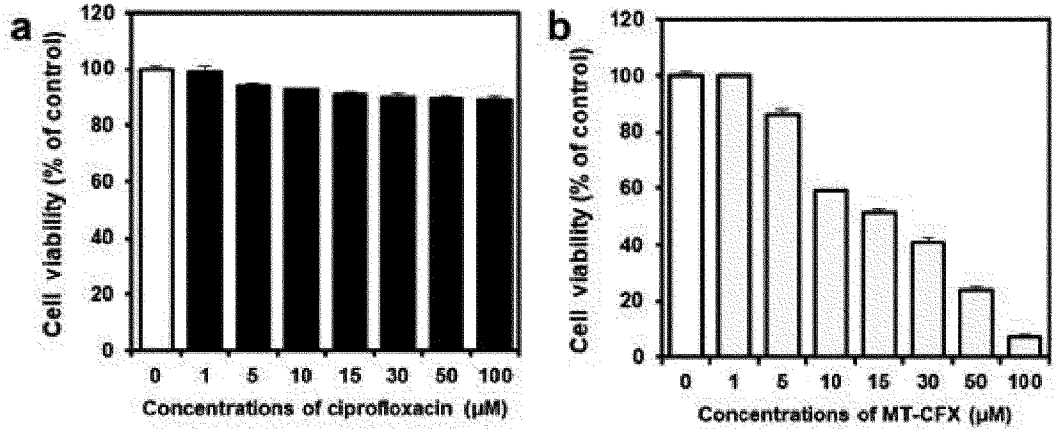
[청구항 8] 제6항에 있어서,

상기 약학 조성물은 암세포의 미토콘드리아 전자전달계 (ETC) 기능을 억제하고, 미토콘드리아 DNA 합성을 억제하는 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

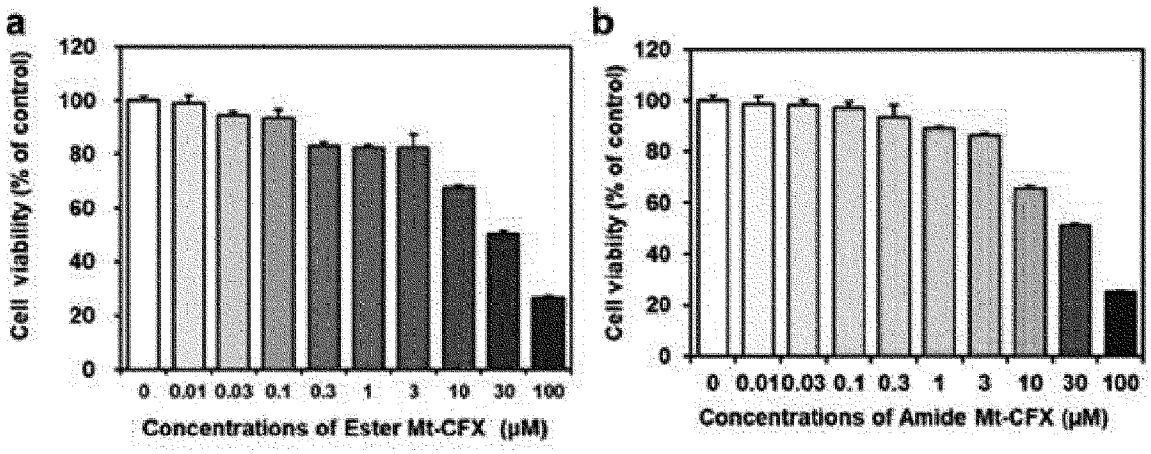
[청구항 9] 제6항에 있어서,

상기 암 질환은 유방암, 폐암, 대장암, 전립선암 및 이들의 전이성 암 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

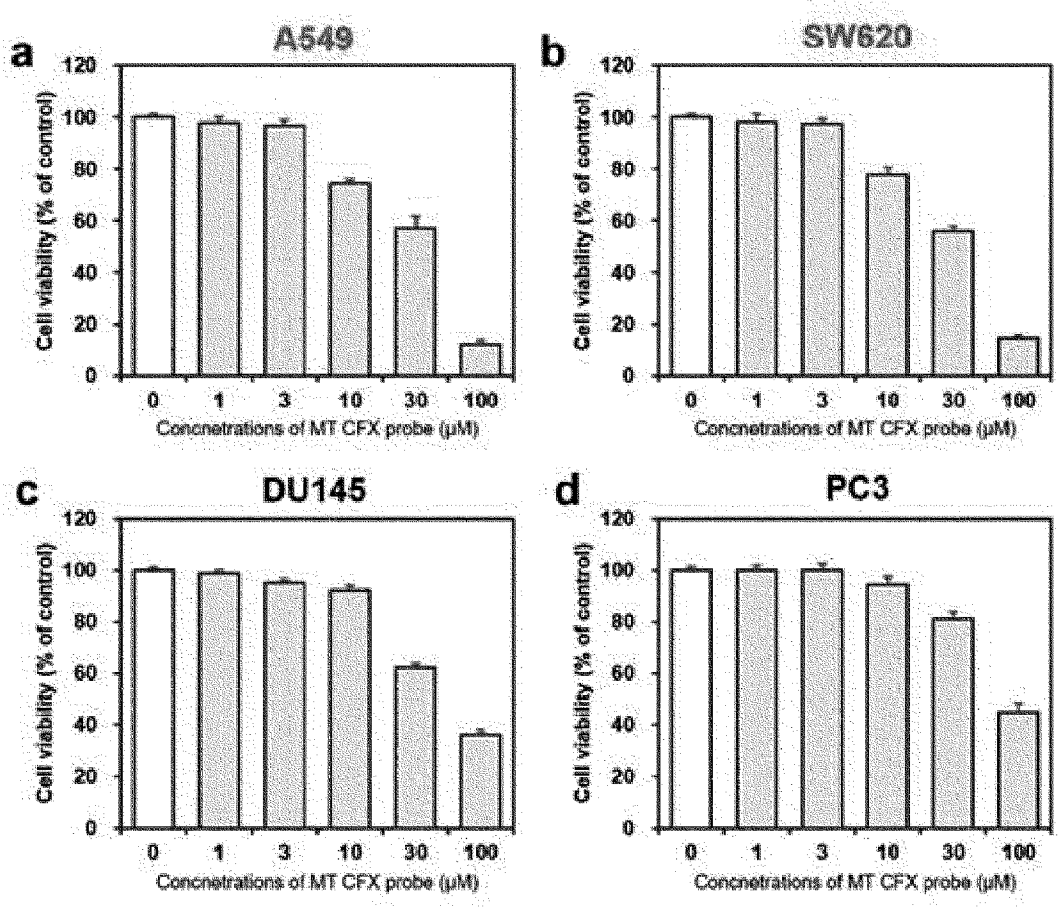
[도1]


a
Cell viability (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
0 1 5 10 15 30 50 100
Concentrations of ciprofloxacin (μM)
b
Cell viability (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
0 1 5 10 15 30 50 100
Concentrations of MT-CFX (μM)

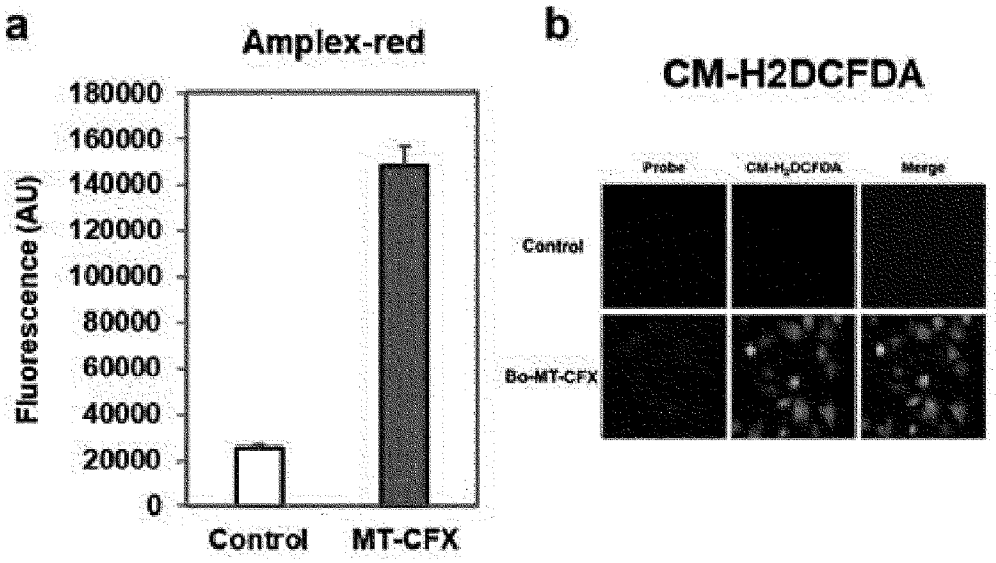
[도2]


a
Cell viability (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
0 0.01 0.03 0.1 0.3 1 3 10 30 100
Concentrations of Ester Mt-CFX (μM)
b
Cell viability (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
0 0.01 0.03 0.1 0.3 1 3 10 30 100
Concentrations of Amide Mt-CFX (μM)

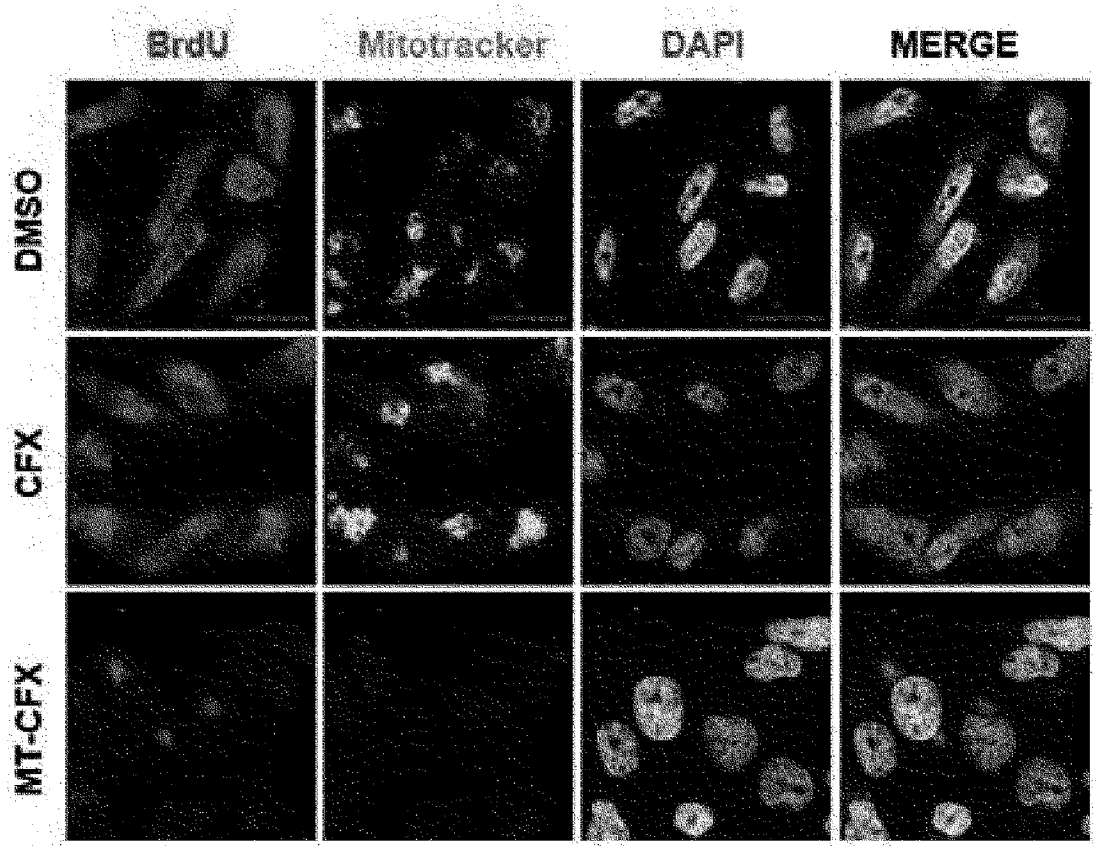
[도3]


a
A549
b
SW620
c
DU145
d
PC3
Cell viability (% of control)
0
20
40
60
80
100
120
0
1
3
10
30
100
Concnetrations of MT CFX probe (μM)

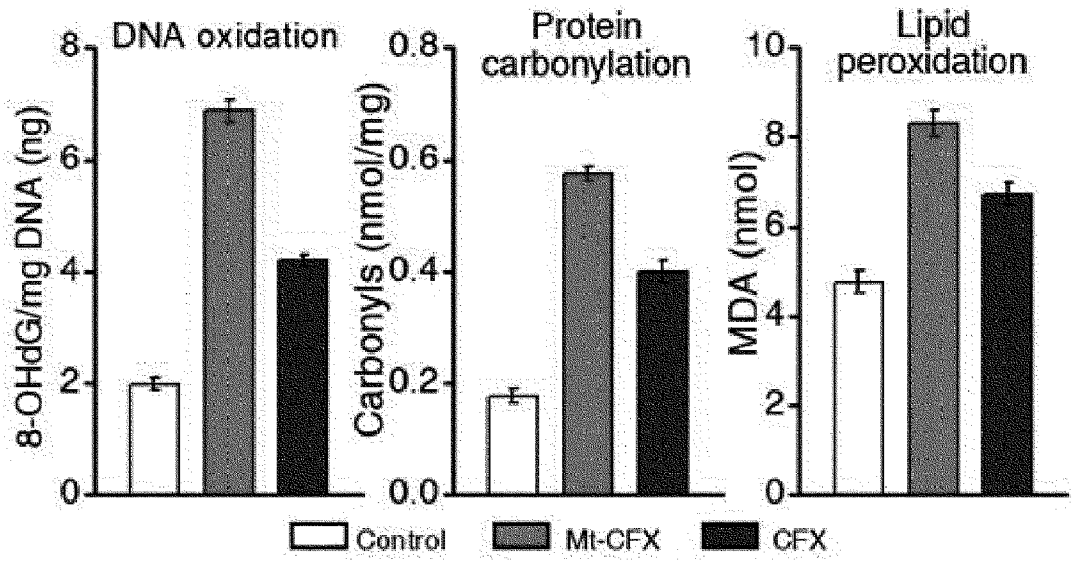
[도4]


a
Amplex-red
Fluorescence (AU)
0
20000
40000
60000
80000
100000
120000
140000
160000
180000
Control
MT-CFX
b
CM-H2DCFDA
Probe
CM-H2DCFDA
Merge
Control
Bo-MT-CFX

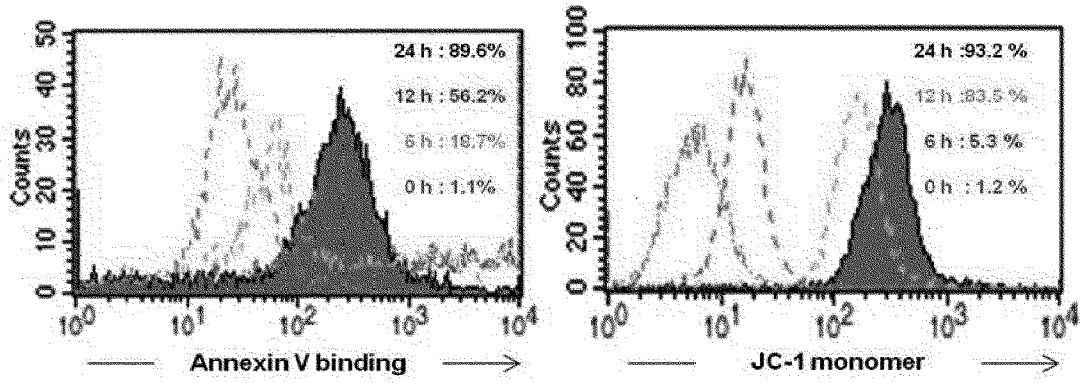
[도5]


BrdU
Mitotracker
DAPI
MERGE
DMSO
CFX
MT-CFX

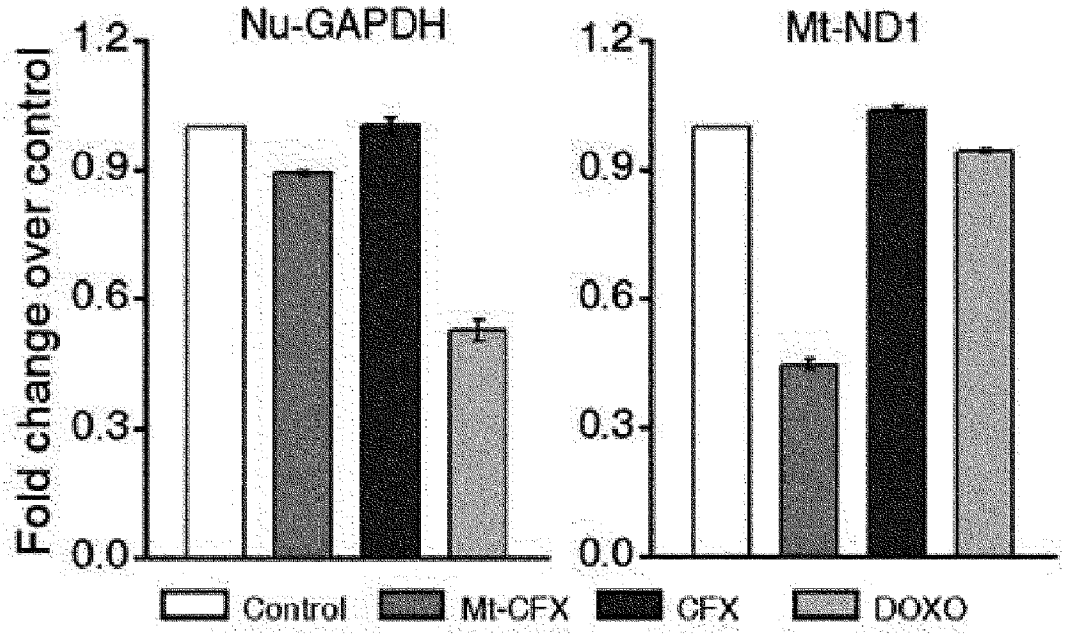
[도6]


DNA oxidation
8-OHdG/mg DNA (ng)
0
2
4
6
8
Protein carbonylation
Carbonyls (nmol/mg)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
Lipid peroxidation
MDA (nmol)
0
2
4
6
8
10
Control
Mt-CFX
CFX

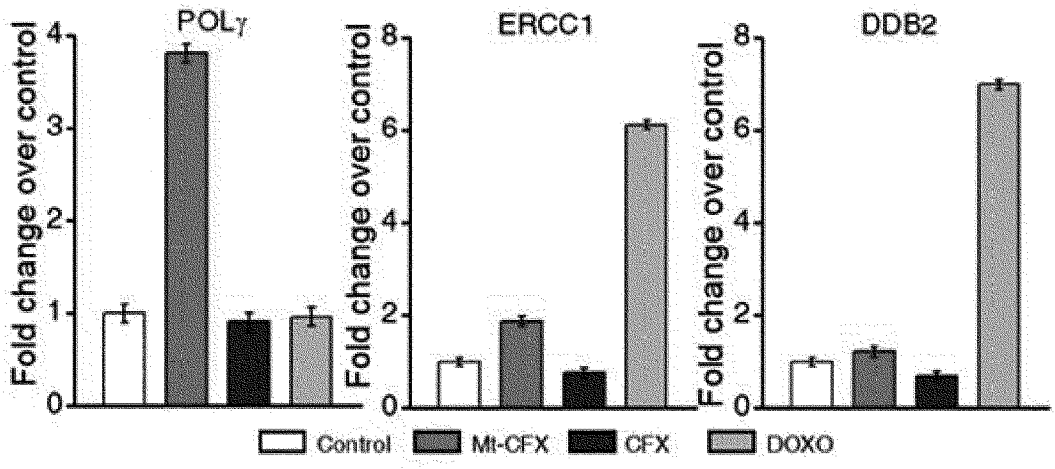
[도7]


24 h : 89.6%
12 h : 56.2%
6 h : 19.7%
0 h : 1.1%
Counts
Annexin V binding
24 h :93.2 %
12 h :83.5 %
6 h : 5.3 %
0 h : 1.2 %
Counts
JC-1 monomer

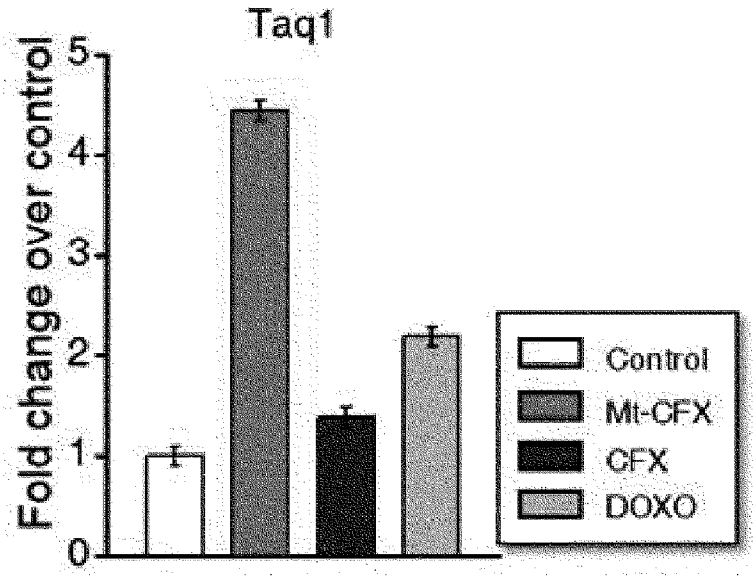
[도8]


Nu-GAPDH
Mt-ND1
Fold change over control
1.2
0.9
0.6
0.3
0.0
Control
Mt-CFX
CFX
DOXO

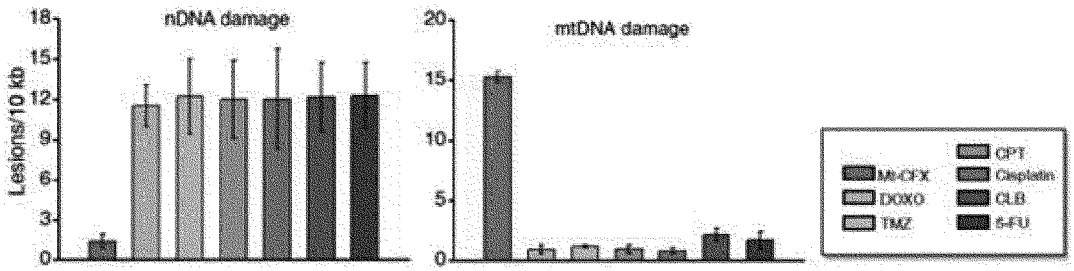
[도9]


POLγ
ERCC1
DDB2
Fold change over control
Control
Mt-CFX
CFX
DOXO

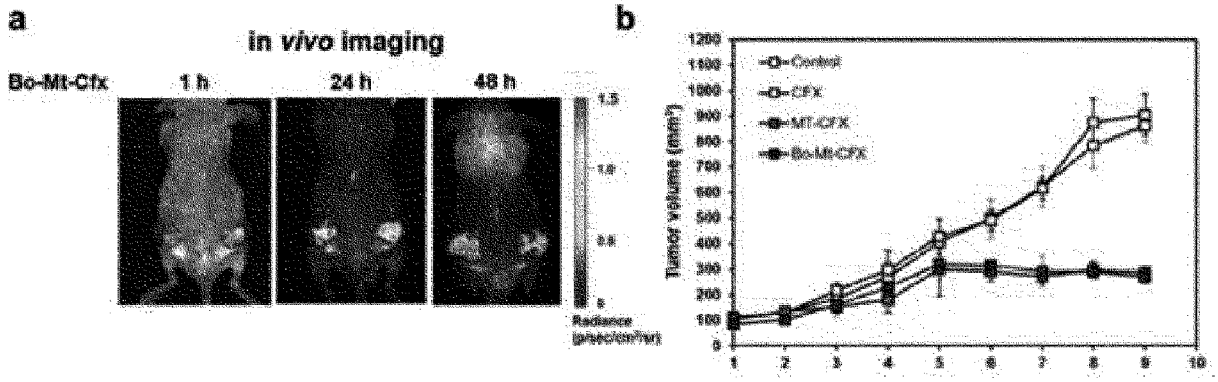
[도10]


Taq1
Fold change over control
0
1
2
3
4
5
Control
Mt-CFX
CFX
DOXO

[도11]


nDNA damage
Lesions/10 kb
0
3
6
9
12
15
18
mtDNA damage
0
5
10
15
20
Mt-CFX
DOXO
TMZ
CPT
Cisplatin
CLB
5-FU

[도12]


a
in vivo imaging
Bo-Mt-Cfx
1 h
24 h
48 h
Radiance (p/sec/cm²/sr)
b
Tumor volume (mm³)
Control
CFX
MT-CFX
Bo-Mt-CFX