

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0137233

(43) 공개일자 2019년12월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/5377 (2006.01) A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/5377 (2013.01)

A61K 31/40 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0063155

(22) 출원일자 2018년06월01일

심사청구일자 2018년06월01일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

구태성

대전광역시 유성구 엑스포로 448 엑스포아파트
302-1404

김연수

대전광역시 유성구 계룡로52번길 11, 1111호(봉명
동, 유성세움펠리피아 주상복합아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 플러스

전체 청구항 수 : 총 9 항

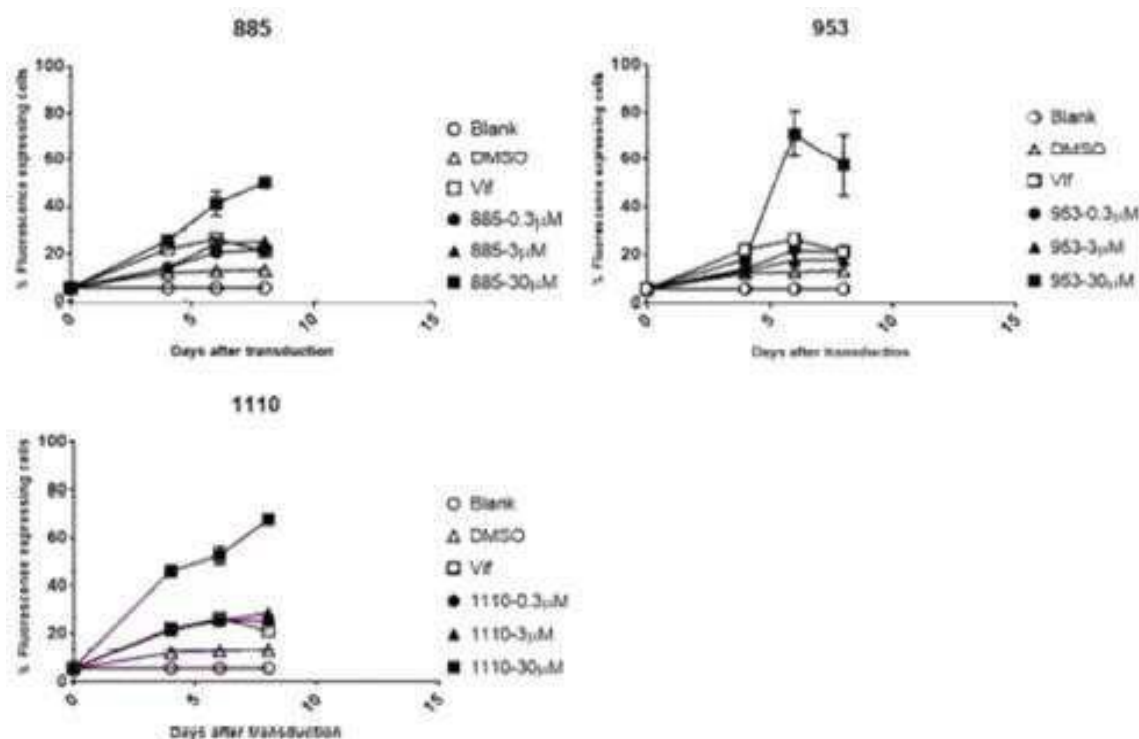
(54) 발명의 명칭 바이러스 세포특이적 방어기전 저해용 화합물을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 바이러스 세포특이적 방어기전 저해용 화합물을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 APOBEC3G(Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic Polypeptide-like 3G)의 억제제를 통한 차세대 암세포 특이적 복제가능 레트로바이러스 벡터(spRRV; splitted replicating retroviral

(뒷면에 계속)

대표도 - 도4a



vector) 감염효율의 향상을 통한 암 치료에 관한 것이다.

본 발명을 통한 바이러스 세포특이적 방어기전 저해용 화합물을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 억제학적 조성물은 세포 실험을 통해 바이러스 감염 효율성이 현저하게 증가하였을 뿐만 아니라, 동시에 안정한 용해도, 높은 대사 안전성 및 약동학적 특성을 지녔으며, 항암 바이로테라피를 위한 차세대 암세포 특이적 복제가능 레트로바이러스 벡터(spRRV)의 감염 효율을 크게 향상시킴으로써, 항암 효과를 획기적으로 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/496 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

강남숙

대전광역시 유성구 어은로 57 한빛아파트 101-201

최성욱

대전광역시 유성구 왕가봉로 23 열매마을11단지
1105-901

최성운

충청남도 논산시 연무읍 평화길 21-5

김수진

대전광역시 유성구 노은동로75번길 93

정연주

서울특별시 동대문구 사가정로12길 26

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015M3A9B5053643

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 차세대 신약기반 기술 개발사업

연구과제명 세포 특이적 레트로바이러스 방어인자 억제 저분자 화합물 개발

기 여 율 1/2

주관기관 충남대학교

연구기간 2015.09.01 ~ 2020.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015M3A9B5053640

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 차세대 신약기반 기술 개발사업

연구과제명 난치성 암치료를 위한 지능형 복제가능 레트로바이러스 벡터 최적화

기 여 율 1/2

주관기관 충남대학교

연구기간 2015.09.01 ~ 2020.08.31

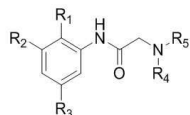
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R1은 수소, (C1-C7)알킬, 또는 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬이고,

R2는 R1이 수소 또는 (C1-C7)알킬인 경우 수소 또는 (C1-C7)알킬이고, R1이 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬인 경우 수소이고,

R3은 R1이 수소 또는 (C1-C7)알킬인 경우, 수소이고, R1이 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬인 경우, (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬이고,

R4 및 R5는 결합하여 5원 또는 6원의 고리를 형성할 수 있고, 상기 R4 및 R5가 결합하여 형성된 고리는 (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬로 더 치환될 수 있고,

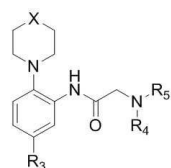
상기 헤테로사이클릭알킬은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로 원자를 포함한다.

청구항 2

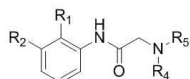
제 1항에 있어서,

하기 화학식 2 또는 3으로 표시되는 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.

[화학식 2]



[화학식 3]



상기 화학식 2 및 3에서,

R4 및 R5는 제1항의 화학식 1에서의 정의와 동일하고,

X는 헤테로원자이고,

R1 및 R2는 서로 독립적으로 수소 또는 (C1-C7)알킬이고,

R3은 (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬이다.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 X는 NH 또는 O인 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서,

상기 5원 헤테로사이클릭알킬은 하기 구조인 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.



상기 R11은 수소 또는 (C1-C7)알킬이고,

R12는 수소, (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬이다.

청구항 5

제 2항에 있어서,

상기 6원 헤테로사이클릭알킬은 하기 구조인 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.

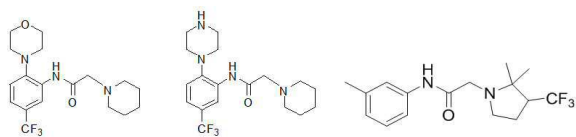


상기 R13은 수소 또는 (C1-C7)알킬이다.

청구항 6

제 2항에 있어서,

상기 화합물은 하기 구조로부터 선택되는 것인 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.

**청구항 7**

제 1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 유효성분으로 더 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.

청구항 8

제 1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 APOBEC3 저해에 따른 암 조직의 레트로바이러스 방어기전 약화를 통해 레트로바이러스 확산을 증진하는 기전에 의한 것을 특징으로 하는 암 치료용 약제학적 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 암은 APOBEC3G를 발현하는 점액상 세포 암종, 둥근 세포암종, 국소적 진행 종양, 전이성 암, 어빙 (Ewing) 육종, 암전이, 림프성 전이, 편평상피 세포 암종, 식도 편평 상피 세포 암종, 경구 암종, 다발성 골수종, 급성

림프구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병, 만성 림프구 백혈병, 만성 골수구 백혈병, 모양 세포성 백혈병, 유출 림프종, 흉선 림프종 폐암, 소 세포 폐암종, 피부 T 세포 림프종, 호지킨 림프종, 비-호지킨성 림프종, 부신 피질 암, ACTH-생성 종양, 비소세포 폐암, 유방암, 소 세포 암종, 도관 암종, 위암, 결장암, 결장직장암, 결장직장 종양 형성과 관련된 용종, 췌장암, 간암, 방광암, 1차 표면 방광 종양, 방광의 침습성 전이 세포 방광암종, 근 침윤성 방광암, 전립선암, 대장암, 신장암, 간암, 식도암, 난소 암종, 자궁경부암, 자궁내막암, 용모암, 난소암, 원발성 복막상피 신생물, 자궁 경관암종, 질암, 외음부암, 자궁암, 난포 중 고형 종양, 고환암, 음경암, 신장 세포 암종, 뇌암, 두경부암, 구경부암, 신경아세포종, 뇌간 신경교종, 신경교종, 중추신경계 중 전이성 종양 세포 침윤, 골종, 골육종, 악성 흑색종, 인간 피부 케라티노사이트의 종양 진행, 편평상피 세포 암종, 갑상선 암, 망막아종, 신경아세포종, 중피종, 빌름스 종양, 담낭암, 영양아세포 종양, 혈관주위세포종, 및 카포시 육종으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상인 것을 특징으로 하는 암 치료용 억제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 바이러스 세포특이적 방어기전 저해용 화합물을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 억제학적 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 APOBEC3G(Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic Polypeptide-like 3G)의 억제제를 통한 차세대 암세포 특이적 복제가능 레트로바이러스 벡터(spRRV; splitted replicating retroviral vector) 감염효율의 향상을 통한 암 치료에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 현존하는 항암 바이로테라피(virotherapy)에 사용되는 기술은 크게 복제 결함 바이러스(replication defective virus), 항암 바이러스(oncolytic virus), 복제가능 레트로바이러스 벡터(replicating retroviral vector)로 나눌 수 있으나, 각 기술에 있어 다음과 같은 한계점을 가지고 있다. 복제 결함 바이러스는 벡터 감염효율이 1% 미만으로 저조하며, 항암 바이러스는 바이러스의 변형 가능성이 존재하고, 높은 면역성으로 인해 적용이 매우 제한적이다. 또한, 1세대 복제가능 레트로바이러스 벡터는 벡터의 크기로 인해, 치료 유전자의 도입이 제한적이어서, 바이러스 재조합의 필수성과 세포 특이적 방어 기전으로 인한 효율성에 한계가 있어, 이에 대한 해결 방안을 제시하는 것이 절실한 상황이다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0003] (비특허문헌 0001) Rheinbay E et al. Nature, 547, 55-60, 2017.
(비특허문헌 0002) Roberts SA et al. Nature Genetics, 45, 970, 2013.
(비특허문헌 0003) Sadler HA et al. Journal of Virology, 84, 7396-404, 2010.

발명의 내용

해결하려는 과제

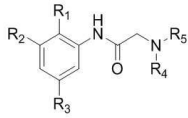
[0004] 상기와 같은 기존 항암 바이로테라피의 문제점을 해결하기 위해 본 발명에서는 레트로바이러스에 대하여 치사 수준의 돌연변이를 유발하여 선천적 항바이러스 면역 기능을 수행하는 APOBEC3G(Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic Polypeptide-like 3G)의 활성을 억제하는 바이러스 세포특이적 방어기전 저해용 화합물의 개발을 통해 항암 바이로테라피를 위한 차세대 암세포 특이적 복제가능 레트로바이러스 벡터(spRRV; splitted replicating retroviral vector)의 감염 효율을 향상시키는 저분자 화합물과 이를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 조성물을 제공하고자 하였다.

과제의 해결 수단

[0005] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 억제학

적으로 허용가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R1은 수소, (C1-C7)알킬, 또는 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬이고,

R2는 R1이 수소 또는 (C1-C7)알킬인 경우 수소 또는 (C1-C7)알킬이고, R1이 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬인 경우 수소이고,

R3은 R1이 수소 또는 (C1-C7)알킬인 경우, 수소이고, R1이 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬인 경우, (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬이고,

R4 및 R5는 결합하여 5원 또는 6원의 고리를 형성할 수 있고, 상기 R4 및 R5가 결합하여 형성된 고리는 (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬로 더 치환될 수 있고,

상기 헤테로사이클릭알킬은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로 원자를 포함한다.

발명의 효과

본 발명을 통한 바이러스 세포특이적 방어기전 저해용 화합물을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물은 세포 실험을 통해 바이러스 감염 효율성이 현저하게 증가하였을 뿐만 아니라, 동시에 안정한 용해도, 높은 대사 안전성 및 약동학적 특성을 지녔으며, 항암 바이로테라피를 위한 차세대 암세포 특이적 복제가능 레트로바이러스 벡터(spRRV)의 감염 효율을 크게 향상시킴으로써, 항암 효과를 획기적으로 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

도 1은 APOBEC3G에 의한 레트로바이러스 감염 저해에 관한 결과이다.

도 2는 각종 종양 세포주에서 내인성 A3G 발현 여부를 확인한 결과이다.

도 3은 H9 세포주에서 APOBEC3G(A3G) 저해제 스크리닝에 적절한 spRRVenvCMVGFP/sRRVgpCMVRFP 바이러스의 역가에 관한 결과이다.

도 4는 H9 세포주를 이용한 APOBEC3G 저해제의 억제 효과 측정에 관한 결과이다.

(A) CIM885, CIM953, CIM1110에 대한 측정 결과, (B) 상기 화합물과 구조가 유사한 대조군 화합물에 대한 측정 결과.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

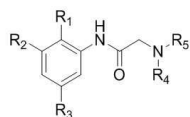
이하 첨부한 표 또는 도면들을 참조하여 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

도면이 기재되어 있을 경우, 이는 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위한 예로서 제공되는 것이다. 따라서 본 발명은 제시되는 도면들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 상기 도면들은 본 발명의 사상을 명확히 하기 위해 과장되어 도시될 수 있다.

이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 그의 프로드러, 그의 용매화물, 그의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0021] [화학식 1]



[0022]

[0023] 상기 화학식 1에서,

[0024] R1은 수소, (C1-C7)알킬, 또는 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬이고,

[0025] R2는 R1이 수소 또는 (C1-C7)알킬인 경우 수소 또는 (C1-C7)알킬이고, R1이 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬인 경우 수소이고,

[0026] R3은 R1이 수소 또는 (C1-C7)알킬인 경우, 수소이고, R1이 5원 또는 6원의 헤테로사이클릭알킬인 경우, (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬이고,

[0027] R4 및 R5는 결합하여 5원 또는 6원의 고리를 형성할 수 있고, 상기 R4 및 R5가 결합하여 형성된 고리는 (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬로 더 치환될 수 있고,

[0028] 상기 헤테로사이클릭알킬은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로 원자를 포함한다.

[0030] 본 발명의 용어 “알킬”은 탄소 및 수소 원자만으로 구성된 1가의 직쇄 또는 분쇄 포화 탄화수소 라디칼을 의미하는 것으로, 이러한 알킬 라디칼의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸, 헥실 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

[0031] 본 발명의 용어 “아릴”은 하나의 수소 제거에 의해서 방향족 탄화수소로부터 유도된 방향족 고리 1가의 유기 라디칼로, 각 고리에 적절하게는 4 내지 7개, 바람직하게는 5 또는 6개의 고리원자를 포함하는 단일 또는 융합 고리계를 포함하며, 다수개의 아릴이 단일결합으로 연결되어 있는 형태까지 포함한다. 구체적인 예로 페닐, 나프틸, 비페닐, 인데닐(indenyl), 플루오레닐 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0032] 본 발명의 용어 “헤테로아릴”은 방향족 고리 골격 원자로서 N, O 및 S로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하고, 나머지 방향족 고리 골격 원자가 탄소인 아릴 그룹인 5 내지 6원 단환 헤테로방향족고리 1가의 라디칼을 의미한다. 상기 헤테로아릴기의 예는 피롤릴, 피라졸릴, 피리딜, 피리미디닐, 옥사졸릴, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 이미다졸릴, 이소옥사졸릴, 티오펜릴, 퓨릴 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

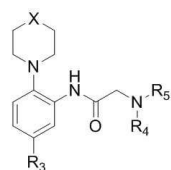
[0033] 본 발명의 용어 “할로” 또는 “할로젠”은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자를 의미한다.

[0034] 본 발명의 용어 “할로알킬”은 하나이상의 할로젠으로 치환된 알킬을 의미하며, 일례로 트리플루오로메틸 등을 들 수 있다.

[0035] 본 발명의 용어 “사이클로알킬”은 하나 이상의 고리로 구성된 1가의 포화 카보사이클릭 라디칼을 의미한다. 사이클로알킬 라디칼의 예는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

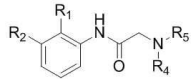
[0037] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 화합물은 하기 화학식 2 또는 3으로 표시될 수 있다.

[0038] [화학식 2]



[0039]

[0040] [화학식 3]



[0041]

[0042] 상기 화학식 2 및 3에서,

[0043] R4 및 R5는 제1항의 화학식 1에서의 정의와 동일하고,

[0044] X는 헤테로원자이고,

[0045] R1 및 R2는 서로 독립적으로 수소 또는 (C1-C7)알킬이고,

[0046] R3은 (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬이다.

[0048] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 X는 NH 또는 O일 수 있다.

[0050] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 5원 헤테로사이클릭알킬은 하기 구조일 수 있다.



[0051]

[0052] 상기 R11은 수소 또는 (C1-C7)알킬이고,

[0053] R12는 수소, (C1-C7)알킬 또는 할로(C1-C7)알킬이다.

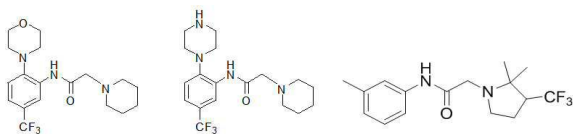
[0055] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 6원 헤테로사이클릭알킬은 하기 구조일 수 있다.



[0056]

[0057] 상기 R13은 수소 또는 (C1-C7)알킬이다.

[0059] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 화합물은 구체적으로 하기 구조로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.



[0060]

[0061] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 조성물은 본 발명의 목적을 저해하지 않는 한 제한되지 않으나, 약제학적으로 허용되는 담체를 유효성분으로 더 포함할 수 있다.

[0063] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 조성물은 APOBEC3 저해에 따른 암 조직의 레트로바이러스 방어기전 약화를 통해 레트로바이러스 확산을 증진하는 기전에 의한 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

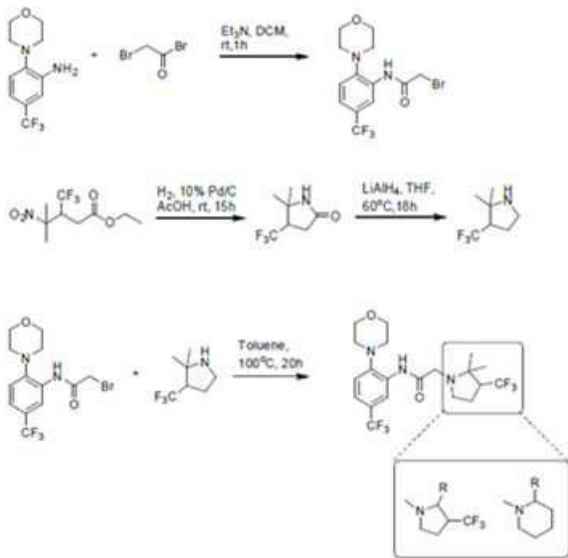
[0065] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물에서, 상기 암은 APOBEC3G를 발현하는 점액상 세포 암종, 둥근 세포암종, 국소적 진행 종양, 전이성 암, 어빙 (Ewing) 육종, 암전이, 림프성 전이, 편평상피 세포 암종, 식도 편평 상피 세포 암종, 경구 암종, 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병, 만성 림프구 백혈병, 만성 골수구 백혈병, 모양 세포성 백혈병, 유출 림프종 (체강계 림프종), 흉선 림프종 폐암, 소 세포 폐암종, 피

부 T 세포 림프종, 호지킨 림프종, 비-호지킨성 림프종, 부신 피질 암, ACTH-생성 종양, 비소세포 폐암, 유방암, 소 세포 암종, 도관 암종, 위암, 결장암, 결장직장암, 결장직장 종양 형성과 관련된 용종, 췌장암, 간암, 방광암, 1차 표면 방광 종양, 방광의 침습성 전이 세포 방광암종, 근 침윤성 방광암, 전립선암, 대장암, 신장암, 간암, 식도암, 난소 암종, 자궁경부암, 자궁내막암, 융모암, 난소암, 원발성 복막상피 신생물, 자궁 경관암종, 질암, 외음부암, 자궁암, 난포 중 고형 종양, 고환암, 음경암, 신장 세포 암종, 뇌암, 두경부암, 구경부암, 신경아세포종, 뇌간 신경교종, 신경교종, 중추신경계 중 전이성 종양 세포 침윤, 골종, 골육종, 악성 흑색종, 인간 피부 케라티노사이트의 종양 진행, 편평상피 세포 암종, 갑상선 암, 망막아종, 신경아세포종, 중피종, 빌름스 종양, 담낭암, 영양아세포 종양, 혈관주위세포종, 및 카포시 육종에서 선택될 수 있다.

[0067] 본 발명에 따른 조성물에서 상기 화합물은 생체내 흡수를 증진시키거나 용해도를 증가시키기 위하여 프로드럭, 용매화물 및 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태로 만들어 사용할 수 있으므로, 상기의 프로드럭, 용매화물 및 약제학적으로 허용 가능한 염 역시 본 발명의 범위에 속한다. 또한, 상기 화합물은 키랄 탄소를 갖고 있어서, 그의 입체이성질체가 존재하며, 이러한 입체이성질체 역시 본 발명의 범주 내에 포함된다.

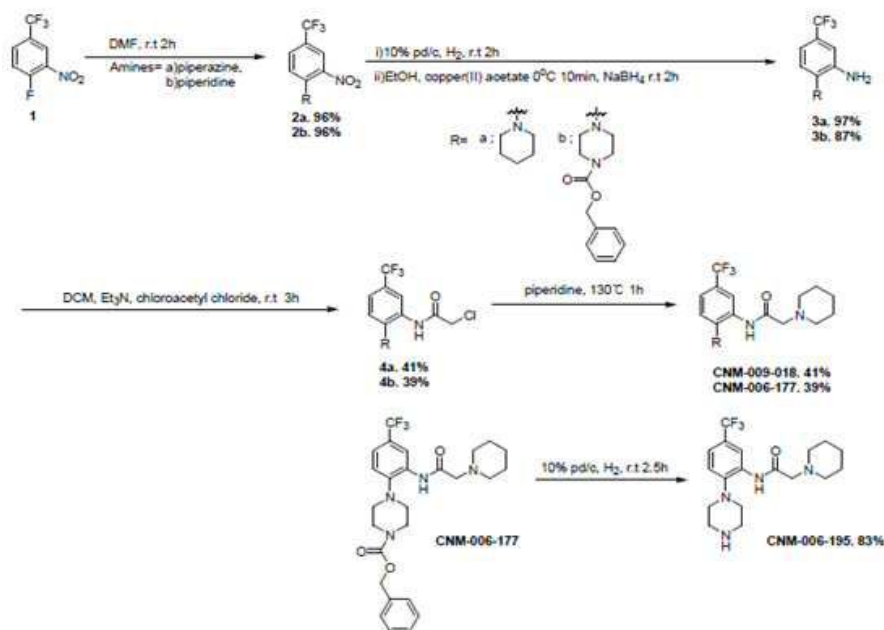
[0068] 본 발명에 따른 조성물에서 상기 화합물은 그 치환체의 종류에 따라 알려진 다양한 방법으로 제조될 수 있는데, 일례로 하기 반응식 1 내지 2를 예시하였으며, 하기의 제조방법이 본 발명의 조성물에서, 상기 화합물을 제조하는 방법을 한정하는 것은 아니다. 하기 반응식 1 내지 2에 도시된 제조방법은 예시일 뿐이며, 특정의 치환체에 따라 당업자에 의해 용이하게 변형될 수 있음은 당업자에게 자명할 것이며, 달리 언급이 없는 한 하기 반응식의 치환체의 정의는 화학식 1에서의 정의와 동일하다.

[0069] [반응식 1]



[0070]

[0071] [반응식 2]



[0072]

[0074] 본 발명에 따른 조성물에서, 상기 화합물은 약제학적으로 허용되는 염의 형태로 사용할 수 있으며, 약제학적으로 허용되는 염은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있는 것으로, 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 황산수소나트륨, 인산, 질산, 탄산 등과 같은 무기산과의 염, 개미산, 초산, 트리플루오로아세트산, 프로피온산, 옥살산, 석신산, 벤조산, 시트르산, 말레산, 말론산, 만델산, 신남산, 스테아르산, 팔미트산, 글리콜산, 글루탐산 타르타르산, 글루콘산, 락트산, 푸마르산, 락토비온산, 아스코르브산, 살리실산, 또는 아세틸살리실산(아스피린)과 같은 유기산과의 염, 글리신, 알라닌, 발닐린, 이소루신, 세린, 시스테인, 시스틴, 아스파라진산, 글루타민, 리진, 아르기닌, 타이로신, 프롤린 등과 같은 아미노산과의 염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, 톨루엔설폰산 등과 같은 설폰산과의 염, 나트륨, 칼륨 등의 알칼리금속과의 반응에 의한 금속염, 또는 암모늄 이온과의 염 등을 포함한다.

[0075] 본 발명에 따른 조성물에서, 상기 화합물은 용매화된 형태, 예를 들어 수화된 형태 및 비용매화 형태로 존재할 수 있으며, 본 발명에 따른 조성물에서, 상기 화합물의 용매화물은 제약 활성을 갖는 모든 용매화된 형태를 포함하는 것이다.

[0076] 본 발명에 따른 조성물에서, 상기 화합물은 키랄 중심을 가질 수 있고, 라세메이트, 라세미 혼합물 및 개개의 거울상 이성질체 또는 부분 입체이성질체로서 존재할 수 있다. 이러한 이성질체는 통상의 방법에 의해 분리되거나 분해될 수 있으며 입체의 소정 이성질체는 통상의 합성법에 의해 또는 입체특이적 또는 비대칭적 합성에 의해 수득할 수 있다. 이러한 모든 이성질체 형 및 이들의 혼합물은 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0077] 본 발명에 따른 조성물에서, 상기 화합물은 인간 또는 동물의 체내에서 분해되어 본 발명의 화합물을 제공하는 프로드럭의 형태로 투여될 수 있다. 프로드럭은 모 화합물의 물리적 및(또는) 약동학적 프로파일을 변경 또는 개선하는데 사용될 수 있고 모 화합물이 프로드럭을 형성하도록 유도될 수 있는 적합한 기 또는 치환체를 함유할 경우 형성될 수 있다.

[0078] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 N-(1H-이미다졸-2-일)벤즈아미드 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 그의 염에 통상의 무독성 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 부형제 등을 첨가하여 약제학적 분야에서 통상적인 제제, 예를 들면 정제, 환제, 경연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭서제(elixirs) 등의 경구투여용 제제 또는 정맥내, 피하, 설하, 근육내 투약용 멸균성 수성 또는 오일상 용제의 비경구투여용 제제로 제제화할 수 있다.

[0079] 본 발명의 약제학적 조성물에 사용될 수 있는 약제학적으로 허용 가능한 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤

조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및/또는 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0080] 본 발명의 약제학적 조성물에 사용될 수 있는 부형제로는 감미제, 결합제, 용해제, 용해보조제, 습윤제, 유화제, 등장화제, 흡착제, 붕해제, 산화방지제, 방부제, 활탁제, 충전제, 방향제 등이 있으며, 이러한 부형제의 비율 및 성질은 선택된 정제의 용해도 및 화학적 특성, 선택된 투여경로 및 표준 약제 실무에 의해 결정될 수 있다. 부형제의 예로는 락토스, 텍스트로스, 슈크로스, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로오스, 글라이신, 실리카, 탈크, 스테아린산, 스테린, 마그네슘 스테아린산염, 마그네슘 알루미늄 규산염, 녹말, 젤라틴, 트라가칸트 고무, 알지닌산, 소듐 알진산염, 메틸셀룰로오스, 소듐 카르복실메틸셀룰로오스, 아가, 물, 에탄올, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 염화나트륨, 염화칼슘, 오렌지 엡센스, 딸기 엡센스, 바닐라 향 등을 들 수 있다.

[0081] 또한, 본 발명의 약제학적 조성물은 비경구 투여 형태로 제형화될 수도 있는데, 이러한 경우 정맥 내 투여, 복강 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여 또는 국부 투여 등을 이용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이 때, 상기 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여, 상기 약제학적 조성물은 유효 성분, 즉, 화학식 1의 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 그의 염이 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합되어 용액 또는 현탁액으로 제조되고, 이러한 용액 또는 현탁액이 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제조될 수 있다.

[0082] 또한, 본 발명의 약제학적 조성물은 멸균되거나, 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제를 더 포함할 수도 있고, 기타 치료적으로 유용한 물질을 더 포함할 수도 있으며, 혼합, 과립화 또는 코팅의 통상적인 방법에 따라 제제화될 수 있다.

[0083] 또한, 본 발명에 따른 약제학적 조성물에서 유효성분인 화학식 1로 표시되는 화합물, 그의 프로드럭, 그의 용매화물, 그의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 그의 염은 사람을 포함하는 포유류에 대한 투여용량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질병 정도에 따라 달라질 수 있다. 일반적으로 하루에 0.001 내지 500 mg/kg(체중), 바람직하게는 0.01 내지 100 mg/kg(체중)의 유효량으로 상기 약제학적 조성물에 포함될 수 있고, 이러한 약제학적 조성물은 1 일 1 회 또는 2 회 이상 분할되어 경구 또는 비경구적 경로를 통해 투여될 수 있다. 그러나, 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0085] 레트로바이러스(retrovirus, 문화어: 레트롤비루스, 레트로 비루스 (RNA 종양 비루스))는 RNA 바이러스의 한 유형이다. 유전자로써 RNA와 이 RNA를 숙주의 DNA에 끼워넣기 위한 역전사효소를 가지고 있으며, 이러한 특성 때문에 유전정보중심원리(Central Dogma)를 따르지 않는 가장 대표적인 존재로 분류된다. 단백질 캡시드는 숙주 세포에서 빠져나올 때 다음 숙주 세포로 침입하기 위한 막단백질을 붙여놓은 외막으로 둘러싸여있다.

[0086] 레트로바이러스의 감염/증식은 다음과 같은 과정을 통해 일어난다.

[0087] - 레트로바이러스 입자가 숙주 세포 표면에 부착. 이때 특수한 막단백질이 큰 역할을 하게 된다.

[0088] - 캡시드가 세포질 안으로 침투한다.

[0089] - 역전사효소가 바이러스의 RNA를 DNA로 역전사한다.

[0090] - 역전사된 DNA는 숙주 세포의 DNA 속으로 끼어든다. (아무데나 끼어들게 된다.)

[0091] - 숙주 세포의 시스템을 이용해 만들어진 바이러스 RNA는 바이러스에 필요한 단백질 (역전사효소, 캡시드 단백질, 침투용 막단백질 등)을 만들게 된다.

[0092] - 조립된 새로운 바이러스 캡시드가 세포막 밖으로 뺏어나간다.

[0093] 대개의 레트로바이러스는 숙주 세포를 죽이지 않고 이용만 하기 때문에, 면역 체계가 바이러스만 인식해서 공격하는 것만으로는 레트로바이러스에 이미 감염된 세포를 없애지 못하므로 대부분 만성 감염으로 진행하게 된다. 따라서 혈액 중의 바이러스 숫자는 극히 적지만 감염 자체는 계속 진행되는 현상이 나타난다. 따라서 치료를 위해서는 레트로바이러스의 감염 자체를 막는 방법 또는 레트로바이러스에 감염된 세포를 파괴하는 방법이 필요하다. 인간에 감염되는 대표적인 레트로바이러스로는 HIV (Human Immunodeficiency Virus) 가 있다.

[0095] 일부 암 조직의 바이러스 세포 특이적 방어 기전(APOBEC3G)은 spRRV를 이용한 항암 바이로테라피 개발에 제한요소로 작용하고 있다. APOBEC3G 저해 저분자 화합물의 암조직 투여는 항암 바이로테라피를 위한 spRRV의 감염 효율성을 향상시킬 것으로 보이나, 암 조직에 투여된 APOBEC3G 저해제는 정맥혈을 타고 전신 순환혈로 이행될 수 있어, 암 조직 외에 분포될 우려가 있다. 아드리아마이신이 삽입된 리포솜을 암조직에 주사시 간 및 신장에 고농도로 분포함이 보고된 바 있으며, 바이러스 벡터 또한 주사에 의해 손상된 혈관 부위로 전신 이행이 발생한다고 알려져 있다. 따라서, APOBEC3G 저해 저분자 화합물은 일반적인 약물과 달리 암조직 외 전신에서는 바이러스에 대한 선천적 면역을 억제할 위해, 빠르게 분해되는 특성을 갖도록 하는 것이 가지는 것이 유리하다.

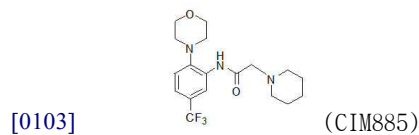
[0096] 암 조직 상에 복제가능 레트로바이러스의 분포가 많아지게 되면, 인체 내의 면역 체계에서 해당 바이러스의 인식을 보다 빠르게 수행하는 것이 가능하며, 이를 통해 암세포에 대한 방어 기전의 활동을 촉진함으로써, 암 치료 효과를 획기적으로 개선하는 것이 가능하게 된다.

[0098] 이하, 본 발명의 내용을 실시예를 통하여 보다 구체적으로 설명한다. 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 권리범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

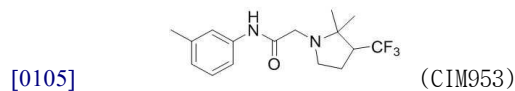
[0100] [실시예 1] 세포특이적 레트로바이러스 방어인자 억제 저분자 화합물

[0101] 하기 화학식 4, 5 및 6의 구조를 갖는 화합물을 각각 시중(4; Enamie, USA, 5; Chemspace, USA)에서 구입하거나 합성하여 사용하였다.

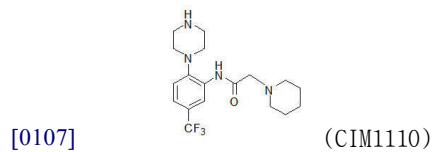
[0102] [화학식 4]



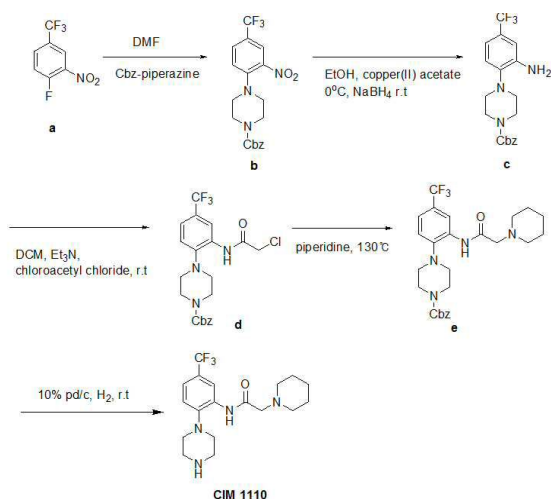
[0104] [화학식 5]



[0106] [화학식 6]



[0108] [반응식 3]



[0109]

[0110] 화합물 **a**는 먼저 Cbz로 보호된 piperazine화합물을 반응 시켜 **b**를 얻은 후, -NO₂를 환원시켜서 -NH₂인 **c**를 얻고 -NH₂의 acylation에서 화합물 **d**를 그리고 화합물 우측 부분에 piperidine의 기능을 삽입한 후에 Pd/C와 H₂로 Cbz group를 제거하여 마지막 화합물 **CIM 1110**을 얻었다. 2-Piperazin-1-yl-N-(2-piperidin-4-yl-5-trifluoromethylphenyl)acetamide(**CIM 1110**), ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.07 (s, 1H), 8.83(s, 1H), 7.34-7.20 (m, 2H), 3.16-3.13 (m, 6H), 2.89-2.87 (q, 4H), 2.58-2.65 (q, 4H), 1.71-1.69 (q, 4H), 1.54-1.52 (m, 2H).

[0112] [실시예 2] 세포특이적 레트로바이러스 방어인자 억제

[0113] 1. 세포 내 APOBEC3G에 의한 감염 저해

[0114] APOBEC3G(Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic Polypeptide-like 3G)에 의한 감염 저해 확인을 위해 293T 세포에 각각 LentiM1.4 및 LentiM1.4-APOBEC3G을 1차 감염시킨 후, 다음 날 EQPAM과 MFGmCMVGFP를 4 시간 동안 2차 처리하여 바이러스를 생산하였다. 24 시간 후 293T 세포에서 바이러스를 취하여, HeLa 세포에 감염시키고 바이러스 표지 형광을 관찰하였다. 상기 결과를 도 1에 나타내었다. 이로부터, APOBEC3G가 바이러스의 감염을 감소시키는 것을 확인하였다.

[0116] 2. 각종 종양 세포주에서 내인성 A3G 발현 여부를 확인

[0117] 레트로바이러스 감염 효율이 낮은 인간 림프종 세포주 H9에서 내인성 APOBEC3G가 다른 세포주에 비교하여 상대적으로 얼마나 발현하는지 100 μg의 단백질을 웨스턴 블랏으로 확인하였다. APOBEC3G 유전자를 transfection로 도입시켜 과발현한 U-87 MG 보다 더 많은 APOBEC3G가 H9에 발현하고 있다.

[0118] 그 결과를 도 2에 도시하였다.

[0119]

[0120] 3. 내인성 APOBEC3G를 발현하는 인간 림프종 세포주 H9를 이용한, APOBEC3G 저해제의 바이러스 전파 효율 증대 스크리닝

[0122] 가. APOBEC3G(A3G) 저해제 효율 측정에 적절한 spRRVenvCMVGFP/sRRVgpCMVRFP 바이러스의 역가

[0123] 인간 H9 세포주를 이용하여 APOBEC3G(A3G) 저해제 스크리닝에 적절한 spRRVenvCMVGFP/sRRVgpCMVRFP 바이러스의 역가를 아래 방법을 통해 산출하였다.

[0124] H9 세포주에 10¹⁰ gc, 10⁹ gc, 10⁸ gc, 10⁷ gc 및 10⁶ gc의 다양한 역가의 spRRVenvCMVGFP/sRRVgpCMVRFP 저용량

역가로부터 고용량 역가의 순으로 2 ug/ml 폴리브렌과 함께 24 시간 처리한 후, 1 ug/ml 폴리브렌이 포함된 배양액으로 교체하여 배양을 지속하였다.

[0125] 감염 후, 매 3일 경과시마다 일부 시료는 spRRVenvCMVGFP/sRRVgpCMVRFP의 전파 효율을 유세포 분석을 통해 발견되는 GFP 및 RFP의 양을 측정하고, 나머지 배양 시료는 1:6의 비율로 세포를 계대배양하였다.

[0126] 상기 결과를 도 3에 도시하였다.

[0127] 그 결과, 바이러스 역가 10^{10} gc의 spRRVenvCMVGFP/sRRVgpCMVRFP를 감염시킨 경우, 감염 후 12일차에 형광을 나타낸 세포가 최고 44%에 달하는 것을 확인하였다. 반면, 10^8 gc 및 그 이하로 감염시킨 경우, 형광 발현이 증가하지 않았다.

[0129] 나. H9 세포주를 이용한 APOBEC3G 저해제의 억제 효과

[0130] 상기 화학식 4 내지 화학식 6 (CIM885, CIM953, CIM1110)의 화합물을 감염 6일 전에 30 uM, 3 uM 및 0.3 uM의 농도로 각각 H9 세포주에 처리하였다.

[0131] 상기 4.가.의 결과로부터 10^8 gc의 바이러스 역가를 갖는 복제가능 레트로바이러스를 2 ug/ml 폴리브렌과 함께 24 시간 처리한 후, 1 ug/ml 폴리브렌과 30 uM, 3 uM 또는 0.3 uM의 상기 APOBEC3G 저해제가 포함된 배양액으로 교체하여 배양을 유지하였다.

[0132] 감염 후, 복제가능 레트로바이러스의 전파 효율을 유세포 분석기로 측정하고, 매 3일마다 1 ug/ml 폴리브렌과 30 uM, 3 uM 또는 0.3 uM의 상기 APOBEC3G 저해제가 포함된 배양액으로 세포를 1:6의 비율로 계대배양하였다.

[0133] 그 결과를 도 4에 도시하였다.

[0134] 그 결과, 상기 APOBEC3G 저해제를 농도 변화에 따라 처리하였을 때, 세포독성을 나타내지 않으면서, 월등하게 높은 바이러스 전파를 나타내었으며, 대조군(Control)인 DMSO 처리시와 비교하였을 때, 감염 4일차에는, CIM885를 30 uM 처리한 경우 3.8배 높은 유의한 바이러스 전파를 나타냈으며, CIM953를 30 uM 처리한 경우 1.5배 높은 바이러스 전파를 나타냈다.

[0135] 감염 6일차에는 CIM885 처리군의 경우 3.2배, CIM953 처리군의 경우 5.2배로 급격히 증가한 바이러스 전파를 나타냈다. 마지막으로, 감염 8일차에 CIM885 처리군의 경우 3.8배, CIM953 처리군의 경우 4.3배 높은 바이러스 감염 효율을 나타냈다.

[0137] 상기 측정은 다음과 같은 통계학적인 방법으로 수행하였다.

[0138] - Two way ANOVA, 날짜 효과, $F(3, 444)=519.6$, $P<0.0001$,

[0139] - APOBEC3G 저해제 효과, $F(36, 444)=48.31$, $P<0.0001$,

[0140] - 상호작용 효과, $F(108, 444) = 10.03$, $P<0.0001$).

[0142] Turkey 사후검정 방법을 사용하여, 실험군과 대조군의 바이러스 감염 비율에 대한 계산 결과는 아래와 같다.

[0143] - 감염 4일차에 30 uM CIM885 및 CIM1110 처리군이 대조군인 DMSO 처리군에 비해 유의하게 높은 바이러스 감염 세포 비율을 나타내었다(Turkey 사후검정, 30 uM CIM885 P value =0.0018, 30 uM CIM1110 P value <0.0001).

[0144] - 감염 6일차에 30 uM CIM885, CIM953 및 CIM1110 처리군이 대조군인 DMSO 처리군에 비해 유의하게 높은 바이러스 감염 세포 비율을 나타내었다(Turkey 사후검정, 30 uM CIM953 P value<0.0001, 30 uM CIM1110 P value<0.0001, 30 uM CIM885 P value<0.0001, Vif P value=0.0022, 3 uM CIM1110 P value=0.0083, 3 uM CIM885 P value=0.0364).

[0145] - 감염 8일차에 30 uM, 3 uM 및 0.3 uM CIM1110 처리군, 30 uM 및 3 uM CIM885 처리군이 대조군인 DMSO 처리군에 비해 유의하게 높은 바이러스 감염 세포 비율을 나타내었다(Turkey 사후검정, 30 uM CIM1110 P value<0.0001, 3 uM CIM1110 P value<0.0001, 30 uM CIM953 P value<0.0001, 30 uM CIM885 P value<0.0001, 3

μM CIM885 P value=0.0153, 0.3 μM CIM1110 P value=0.0181).

[0147] 바이러스 전파율에 있어서, 30 μM CIM953의 경우, 감염 초기인 4일차에는 유의미하게 높은 바이러스 전파율을 나타내지 않으나, 감염 6일차에 급격히 상승하여 최대 96.9%, 평균 70.98%의 바이러스 감염 세포 비율을 나타내었다.

[0148] 또한, CIM1110의 경우, CIM885 및 CIM953보다 약간 낮은 바이러스 전파 효율을 나타내었으나, 유사한 화학식 구조를 가지는 기타 화합물에 비해서는 월등히 높은 바이러스 감염 세포 비율을 나타내었다. 상기 결과는 도4A와 도4B를 비교하여 확인할 수 있다.

[0150] [실시예 3] APOBEC3G 저해제의 마우스 단회투여 일반독성

[0151] 1. CIM885의 단회투여 일반독성

[0152] 수컷 ICR 마우스에 용매만을 투여한 대조군과, CIM885를 각각 30, 100 및 300 mg/10mL/kg으로 마우스에 복강 투여한 실험군에 대하여, 5일 간 관찰을 통해 세포독성 유무를 측정하였다.

[0153] 실험 조건과 결과를 표 1에 나타내었다.

[0155] [표 1]

무게 (g)	Control		CIM885 30 mg/kg		CIM885 100 mg/kg		CIM885 300 mg/kg	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
before fasting	100.00	6.15	100.00	2.68	100.00	3.74	100.00	5.21
before dosing	92.69	5.58	91.83	3.18	94.16	3.45	92.53	4.47
Day 1	99.34	7.23	96.41	2.40	97.73	1.82	95.13	3.93
Day 2	100.33	6.48	98.69	2.51	99.35	1.79	98.38	4.90
Day 3	104.65	6.45	101.63	2.88	101.95	2.36	100.65	5.23
Day 4	105.65	6.91	103.92	3.26	103.57	2.04	102.60	4.25
Day 5	106.98	7.50	105.23	3.90	104.55	2.08	104.22	5.21

[0156]

[0158] 상기로부터, CIM885를 농도별로 투여한 결과, 실험 마우스의 체중은 용매만을 투여한 대조군에 비해 유의적인 차이 없이 일정하게 증가하는 양상을 나타내었으며, 5일 측정 후 마우스를 부검하여 육안으로 관찰한 결과, 식도, 폐, 심장, 위, 간, 소장, 및 대장 모두에서 대조군에 비해 이상 현상이 관찰되지 않음을 확인하였다. 이로 부터, CIM885는 마우스에 대한 1회 복강 투여시 300 mg/kg까지 독성을 나타내지 않음을 확인하였다.

[0160] 2. CIM953의 단회투여 일반독성

[0161] 상기 1.과 마찬가지로 방법으로 수컷 ICR 마우스에 용매만을 투여한 대조군과, CIM953을 각각 30, 100 및 300 mg/10mL/kg마우스로 투여한 실험군에 대하여, 5일 간 관찰을 통해 세포독성 유무를 측정하였다.

[0162] 실험 조건과 결과를 표 2에 나타내었다.

[0164] [표 2]

무게 (g)	Control		CIM953 30 mg/kg		CIM953 100 mg/kg		CIM953 300 mg/kg	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
before fasting	100.00	6.15	100.00	2.73	100.00	4.78	100.00	3.67
before dosing	92.69	5.58	93.16	2.87	91.80	4.37	92.28	2.92
Day 1	99.34	7.23	98.05	2.17	97.38	4.99	94.53	1.42
Day 2	100.33	6.48	100.65	3.51	99.34	5.55	96.78	2.17
Day 3	104.65	6.45	103.58	4.25	102.95	4.70	101.29	1.94
Day 4	105.65	6.91	104.56	4.85	103.61	6.07	103.22	2.03
Day 5	106.98	7.50	105.21	5.54	104.92	6.99	105.14	1.74

[0165]

[0167] 상기로부터, CIM953을 농도별로 투여한 결과, 실험 마우스의 체중은 용매만을 투여한 대조군에 비해 유의적인 차이 없이 일정하게 증가하는 양상을 나타내었으며, 5일 측정 후 마우스를 부검하여 육안으로 관찰한 결과, 식도, 폐, 심장, 위, 간, 소장, 및 대장 모두에서 대조군에 비해 이상 현상이 관찰되지 않음을 확인하였다. 이로부터, CIM953은 마우스에 대한 1회 복강 투여시 300 mg/kg까지 독성을 나타내지 않음을 확인하였다.

[0169] [실시예 4] APOBEC3G 저해제의 약동학 특성

[0170] 1. 혈중 단백 결합률 측정

[0171] 혈중 단백 결합률은 약물의 분포와 약효, 독성 등에 영향을 미치는데, 단백질과 결합하지 않은 자유 약물(free drug) 만이 반투막을 통과할 수 있다는 원리를 이용한 평형 투석(Equilibrium dialysis)법을 이용한 Thermo Pierce사의 REDdevice를 이용하여 CIM885 및 CIM953의 혈중 단백 결합률을 측정하였다.

[0172] 37℃에서 2 ug/mL의 농도로 4 시간 교반 배양하면서 혈중 단백 결합률을 측정하였다.

[0173] 그 결과, CIM885 및 CIM953은 각각 99.07% 및 80.81%의 혈중 단백 결합률을 나타내었다.

[0175] 2. 대사 안정성 측정

[0176] 약물의 체내 동태에 가장 많은 영향을 끼치는 대사 반응 중, 사이토크롬 P(cytochrome P, CYP)에 대한 1상 대사가 전체의 75%를 차지한다. 이에 따라, CYP가 가장 많이 발현되는 간(liver)의 마이크로솜을 대상으로 조효소와 함께 CIM885 및 CIM953을 가하여 소실속도를 측정함으로써, CYP에 의한 대사 속도를 측정하였다.

[0177] 래트(rat) 및 사람의 간 마이크로솜 시료에 CIM885 및 CIM953을 주입한 후 배양하였다.

[0178] 그 결과, CIM885는 래트 및 사람의 간 마이크로솜에서 각각 26.3분 및 11.5분의 반감기를 나타내었으며, CIM953은 7.28분 및 7.33분을 나타내었다.

[0180] 3. CYP 저해 측정

[0181] 상기 2.에서와 같이 CYP 효소는 약물 대사에서 75% 정도를 차지하므로, CYP를 저해하는 물질은 다른 약물과 약물 상호작용을 일으킬 가능성이 매우 높다.

[0182] 이와 같은 특성을 가지는지 확인을 위해, 5 종의 CYP (1A2, 2D6, 2C9, 2C19 및 3A4)에 대한 저해 여부를 재조합 인간 CYP (Promega, USA)를 이용하여 측정하였다.

[0184] 가. CIM885 1 uM 및 10 uM에 의한 저해도 측정

[0185] 1uM 및 10 uM 농도의 CIM885를 상기 5 종의 CYP에 처리한 결과, 1 uM에서 5종의 CYP에 대한 저해가 나타나지 않았으며, 10 uM에서 1A2, 2C19, 2D6 및 3A4 4종에 대한 미량의 저해가 있음이 측정되었다.

[0186] 이를 혈중 농도와 단백 결합을 반영한 저해 변수인 $R=1+[I_{un}]/K_i$ 의 값으로 계산해 보면, $R=1.02$ 로 계산되어, 약물 상호 작용의 가능성은 낮은 것을 확인하였다.

[0188] 나. CIM953 1 μ M 및 10 μ M에 의한 저해도 측정

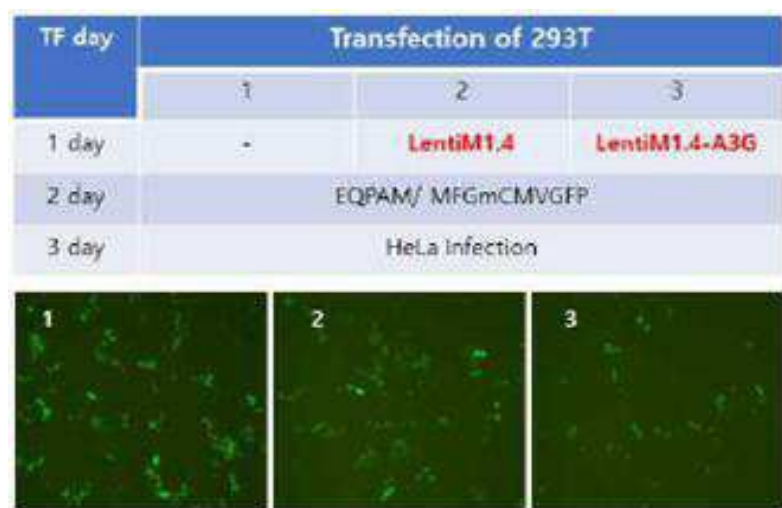
[0189] 1 μ M 및 10 μ M 농도의 CIM953을 상기 5 종의 CYP에 처리한 결과, 1 μ M에서 2C19 에 대한 미량의 저해가 있으며, 10 μ M에서 2C19, 2D6에 대한 저해가 있음이 측정되었다.

[0190] 이를 혈중 농도와 단백 결합을 반영한 저해 변수인 $R=1+[I_{un}]/K_i$ 의 값으로 계산해 보면, $R=1.02$ 로 계산되어, 약물 상호 작용의 가능성은 낮은 것을 확인하였다.

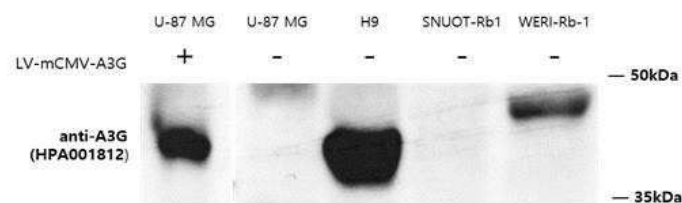
[0192] 상기 실시예 결과로부터 본원 발명의 화합물 4 내지 화합물 6은 APOBEC3G의 저해제로서, 독성을 나타내지 않으면서 복제가능 레트로바이러스의 암세포 감염 및 확산을 촉진하여, 생체 내 면역 체계에 따른 항암 효과를 현저히 향상시킬 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

도면

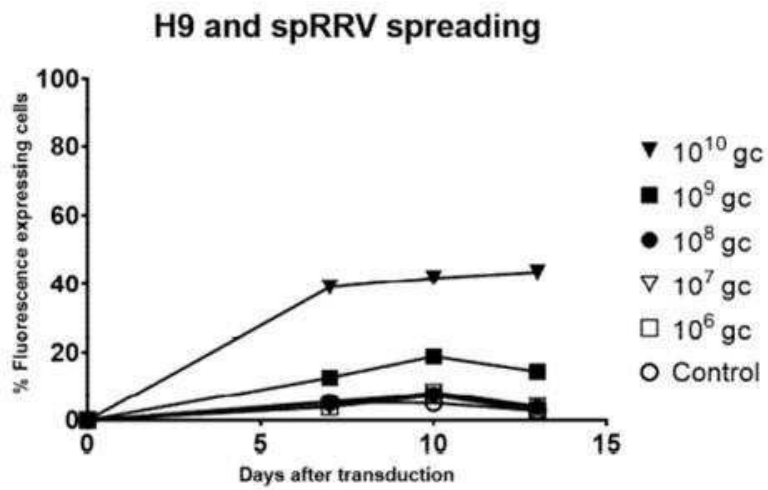
도면1



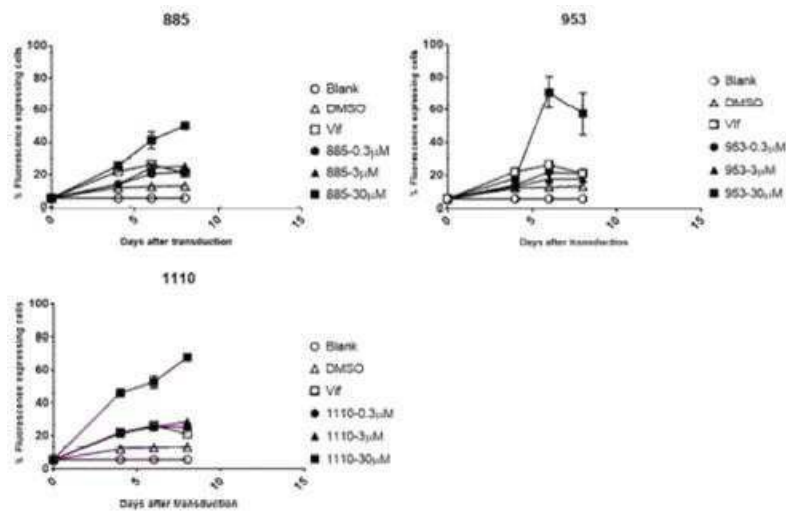
도면2



도면3



도면4a



도면4b

