



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0106157  
(43) 공개일자 2021년08월30일

- |  |  |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <i>A61K 38/08</i> (2019.01) <i>A61K 33/243</i> (2019.01)<br/> <i>A61K 38/10</i> (2006.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)<br/> <i>A61P 35/04</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/> <i>A61K 38/08</i> (2021.08)<br/> <i>A61K 33/243</i> (2019.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2020-0020956<br/>                 (22) 출원일자 2020년02월20일<br/>                 심사청구일자 없음</p> | <p>(71) 출원인<br/>                 서울대학교산학협력단<br/>                 서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)</p> <p>(72) 발명자<br/>                 강재승<br/>                 경기도 성남시 분당구 분당로 190, 110동 202호(분당동, 셋별마을)</p> <p>김예진<br/>                 서울특별시 은평구 갈현로21길 13-4 하나블루힐스 503호</p> <p>(74) 대리인<br/>                 특허법인유아이피</p> |
|--|--|

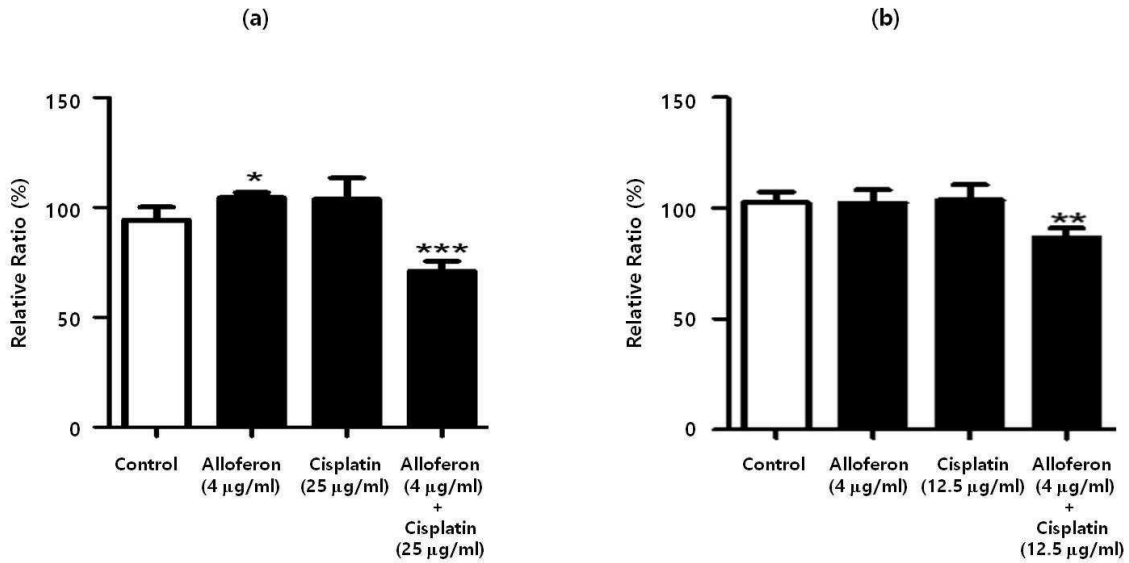
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 알로페론을 포함하는 난소암 치료용 조성물 및 치료 보조제

(57) 요약

본 발명은 난소암 치료용 약학적 조성물 및 치료 보조제에 관한 것으로, 상세하게는 알로페론을 유효성분으로 포함함으로써 효과적으로 난소암 암세포의 세포사멸을 유도할 수 있을 뿐 아니라 종래 항암 치료제와 병용 투여되는 경우 암 치료 효과를 현저하게 향상시킬 수 있는 난소암 치료용 약학적 조성물 및 치료 보조제에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 38/10* (2013.01)

*A61P 35/00* (2018.01)

*A61P 35/04* (2018.01)

*A61K 2300/00* (2013.01)

---

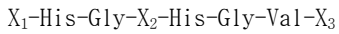
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 구조식 1의 킴파운드를 유효성분으로 함유하는, 난소암 치료 및 전이 억제용 약학적 조성물.

[구조식 1]



(상기 구조식 1에서,

$X_1$ 은 존재하지 않거나 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_2$ 는 펩티드결합 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_3$ 은 존재하지 않거나, 적어도 하나의 아미노산 잔기 또는 생리적으로 가능한 염을 나타낸다.)

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 구조식 1의 킴파운드는 서열번호 1 내지 20 중 적어도 하나의 서열을 갖는 펩타이드를 포함하는, 난소암 치료 및 전이 억제용 약학적 조성물.

#### 청구항 3

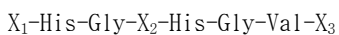
제 1항에 있어서,

난소암에 대한 시스플라틴(cisplatin)의 항암 작용을 향상시키는, 난소암 치료 및 전이 억제용 약학적 조성물.

#### 청구항 4

하기 구조식 1의 킴파운드를 유효성분으로 함유하는, 난소암 치료 보조제.

[구조식 1]



(상기 구조식 1에서,

$X_1$ 은 존재하지 않거나 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_2$ 는 펩티드결합 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_3$ 은 존재하지 않거나, 적어도 하나의 아미노산 잔기 또는 생리적으로 가능한 염을 나타낸다.)

#### 청구항 5

제 4항에 있어서,

종양 치료 요법과 병용하기 위한 것인, 난소암 치료 보조제.

**청구항 6**

제 5항에 있어서,  
 상기 종양 치료 요법은 항암 치료제 투여 및 수술적인 절제 중 적어도 하나인, 난소암 치료 보조제.

**청구항 7**

제 6항에 있어서,  
 상기 항암 치료제는 시스플라틴(cisplatin)인, 난소암 치료 보조제.

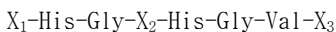
**청구항 8**

제 4항에 있어서, 상기 구조식 1의 컴파운드는 서열번호 1 내지 20 중 적어도 하나의 서열을 갖는 펩타이드를 포함하는, 난소암 치료 보조제.

**청구항 9**

항암 치료제와 병용되되, 하기 구조식 1의 컴파운드를 유효성분으로 함유하며, 상기 항암 치료제는 시스플라틴(cisplatin)인, 항암 치료제 효과 증진용 항암 치료 보조제.

[구조식 1]



(상기 구조식 1에서,

$X_1$ 은 존재하지 않거나 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_2$ 는 펩티드결합 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_3$ 은 존재하지 않거나, 적어도 하나의 아미노산 잔기 또는 생리적으로 가능한 염을 나타낸다.)

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 항암 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 알로페론을 유효성분으로 함유하는 난소암 치료용 약학적 조성물 및 치료 보조제에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 알로페론은 동물에서 항암활성 면역조절을 수행하는 것이 알려져 있으며, 특히 인간 말초혈액 림프구의 자연적 세포독성을 자극시키고, 마우스 및 휴먼 모델에서 인터페론 생성을 유도하며, 마우스에서 항바이러스 및 항종양 저항을 증진시키는 것이 보고되어 있다(Chernysh, Proceedings of the National Academy of Science of the United States 99, 12628 (2002)). 알로페론은 인터페론과 유사한 치료적 효과를 갖는 것으로 알려졌지만, 알로페론의 화학적 구조는 인터페론, 다른 알려진 사이토카인 및 인터페론 인두서 뿐 아니라 의학적으로 중요한 다른 어떤 물질과 어떤 유사점도 공유하지 않는다(US 6,692,747).

[0004] 또한 알로페론은 자연살해세포(NK cell)의 세포독성을 향상시키는 것이 알려져 있다(Bae, Immunobiology 218(8), 1026 (2013)). 자연살해세포는 임파구의 일종으로 선천적 면역체계의 구성요소다. 자연살해세포는 항종양 및 항바이러스 면역에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 알로페론은 자연살해-활성 수용체 2B4의

상향조절 및 자연살해세포의 과립 방출(exocytosis) 증진을 통해 항종양 효과를 가진다는 것이 보고되었다.

- [0005] 종양(tumor)은 비정상적인 세포의 과잉으로 인하여 발생하는 비정상적이고 비제어적이며 무질서한 세포증식의 산물로서, 이러한 종양이 파괴적인 증식성, 침윤 및 전이성을 가지게 되면 악성종양(malignant tumor)으로 분류된다. 분자생물학적인 관점에서 볼 때 유전자의 변이에 의하여 발생하는 유전적 질환(genetic disease)이라고 할 수 있다.
- [0006] 이 중 난소암은 초기 증상 및 조기 진단을 위한 효과적인 바이오마커의 부재로 대다수의 난소암 환자들이 병기(stage)III 또는 IV에 진단되며 낮은 5년 생존율을 나타내며, 2016년 통계학적 분석을 통해 미국 내 사망률 5위에 이르는 치명적인 암으로 분류되었다(Siegel RL et al., CA Cancer J Clin, 65:5-29 2016). 또한 난소암은 재발률이 85% 이상으로 매우 높은 편이고 항암제 내성이 연관되어, 재발 시에는 항암 치료가 매우 어려워 생존율이 매우 낮은 암에 속한다.
- [0007] 현재까지 악성종양인 암을 치료하는 방법으로 주로 3가지 치료법 즉, 방사선 치료, 외과적인 수술 및 화학요법을 이용하고 있으며, 이 중 한 가지 또는 이들의 조합을 통해 암을 치료하고 있다. 화학요법은 항암 치료제 등을 이용하여 암세포의 복제 또는 대사를 교란시킴으로써 암을 치료하는데 널리 이용되고 있는데, 화학요법에 의한 부작용은 환자의 생명에 중요한 영향을 미치며 치료에 대한 환자의 불안감을 증가시킬 수 있다. 화학치료제와 관련된 부작용으로는 일반적으로 이러한 약물의 투여 시 주의해야 하는 용량 제한 독성(dose limiting toxicity, DLT)이 있다.
- [0008] 항암 치료제를 이용한 암의 치료는 심각한 부작용의 위험을 수반한다. 예를 들어, 파클리탁셀은 많은 임상독성과 연관되어 있고(Rowinsky, Seminars in Oncology 20 (4), 1 (1993)), 가장 공격적인 고형암의 하나인 췌장 AC의 치료에 사용되는 젠시타빈은 혈액적 독성과 연관되어 있다 (Xie, Diagnostic Pathology 9, 214 (2014)). 따라서, 항종양 치료제의 부작용 위험을 저감 또는 최소화하면서 효과적으로 암을 치료할 수 있는 항종양 치료제 또는 치료방법이 필요하다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0010] (특허문헌 0001) US 6692747 B2
- (특허문헌 0002) US 7462360 B2
- (특허문헌 0003) WO 2005037824 A2

**비특허문헌**

- [0011] (비특허문헌 0001) Chernysh, Proceedings of the National Academy of Science of the United States 99, 12628 (2002)
- (비특허문헌 0002) Bae, Immunobiology 218(8), 1026 (2013)
- (비특허문헌 0003) Rowinsky, Seminars in Oncology 20 (4), 1 (1993)
- (비특허문헌 0004) Siegel RL et al., CA Cancer J Clin, 65:5-29 (2016)

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0012] 본 발명의 목적은 알로페론을 유효성분으로 포함함으로써 난소암의 치료 및 전이억제에 대해 우수한 효과를 나타낼 수 있는 항암 치료용 약학적 조성물 및 암 치료용 보조제를 제공하기 위한 것이다.

**과제의 해결 수단**

- [0014] 본 발명의 일 측면에 따르면, 하기 구조식 1의 컴파운드를 유효성분으로 함유하는, 난소암 치료 및 전이 억제용 약학적 조성물이 제공된다.
  
- [0016] [구조식 1]
- [0017]  $X_1$ -His-Gly- $X_2$ -His-Gly-Val- $X_3$
- [0018] (상기 구조식 1에서,
- [0019]  $X_1$ 은 존재하지 않거나 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_2$ 는 펩티드결합 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_3$ 은 존재하지 않거나, 적어도 하나의 아미노산 잔기 또는 생리적으로 가능한 염을 나타낸다.)
  
- [0021] 또한, 상기 구조식 1의 컴파운드는 서열번호 1 내지 20 중 적어도 하나의 서열을 갖는 펩타이드를 포함할 수 있다.
- [0022] 또한, 난소암에 대한 시스플라틴(cisplatin)의 항암 작용을 향상시킬 수 있다.
- [0023] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 하기 구조식 1의 컴파운드를 유효성분으로 함유하는, 난소암 치료 보조제가 제공된다.
  
- [0025] [구조식 1]
- [0026]  $X_1$ -His-Gly- $X_2$ -His-Gly-Val- $X_3$
- [0027] (상기 구조식 1에서,
- [0028]  $X_1$ 은 존재하지 않거나 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_2$ 는 펩티드결합 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_3$ 은 존재하지 않거나, 적어도 하나의 아미노산 잔기 또는 생리적으로 가능한 염을 나타낸다.)
  
- [0030] 또한, 종양 치료 요법과 병용하기 위한 것일 수 있다.
- [0031] 또한, 상기 종양 치료 요법은 항암 치료제 투여 및 수술적인 절제 중 적어도 하나일 수 있다.
- [0032] 또한, 상기 항암 치료제는 시스플라틴일 수 있다.
- [0033] 또한, 상기 구조식 1의 컴파운드는 서열번호 1 내지 20 중 적어도 하나의 서열을 갖는 펩타이드를 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 항암 치료제와 병용되되, 하기 구조식 1의 컴파운드를 유효성분으로 함유하며, 상기 항암 치료제는 시스플라틴(cisplatin)인, 항암 치료제 효과 증진용 항암 치료 보조제가 제공된다.
  
- [0036] [구조식 1]
- [0037]  $X_1$ -His-Gly- $X_2$ -His-Gly-Val- $X_3$
- [0038] (상기 구조식 1에서,
- [0039]  $X_1$ 은 존재하지 않거나 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_2$ 는 펩티드결합 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고,  $X_3$ 은 존재하지 않거나, 적어도 하나의 아미노산 잔기 또는 생리적으로 가능한 염을 나타

낸다.)

**발명의 효과**

- [0041] 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물은 효과적으로 난소암 암세포의 세포사멸을 유도할 수 있어, 우수한 항암 치료 효과를 나타낼 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물은 종래 항암 치료제와 병용 투여되는 경우 세포사멸의 시너지 효과를 얻을 수 있으므로, 암 치료 효과를 현저하게 향상시킬 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0044] 도 1의 (a)는 알로페론 및 시스플라틴이 단독으로 또는 병용 처리된 경우 SKOV3 세포에서의 세포 생존능을 확인한 결과이고, (b)는 알로페론 및 시스플라틴이 단독으로 또는 병용 처리된 경우 OVCAR3 세포에서의 세포 생존능을 확인한 결과이고,
- 도 2는 알로페론 및 시스플라틴이 단독으로 또는 병용 처리된 경우 SKOV3 세포에서의 세포주기 변화를 확인한 결과이고,
- 도 3은 알로페론 및 시스플라틴이 단독으로 또는 병용 처리된 경우 OVCAR3 세포에서의 세포주기 변화를 확인한 결과이고,
- 도 4는 알로페론 및 시스플라틴이 단독으로 또는 병용 처리된 경우 SKOV3 세포에서의 세포사멸 효과를 확인한 결과이고,
- 도 5는 알로페론 및 시스플라틴이 단독으로 또는 병용 처리된 경우 OVCAR3 세포에서의 세포사멸 효과를 확인한 결과이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0045] 본 발명은 알로페론을 유효성분으로 함유하는 난소암 치료용 약학적 조성물 및 난소암 치료용 보조제에 관한 것이다.
- [0046] 본 발명을 설명함에 있어서, “암(cancer)”은 가장 일반적인 의미로, 부적절한 세포확산, 이동, 사멸및/또는 혈관신생이 특징적인 질병으로 이해되어야 한다. 부적절한 세포확산은 부적절한 세포 성장, 과도한 세포 분열, 가속화된 속도에서의 세포분열 및/또는 부적절한 세포 생존에서 비롯된 세포 확산을 의미한다.
- [0047] 이하, 본 발명에 대해 보다 상세히 설명한다.
- [0049] 본 발명에서, 알로페론은 하기 구조식 1의 컴파운드(compound)로 표현될 수 있다.

[0051] [구조식 1]

[0052]  $X_1$ -His-Gly- $X_2$ -His-Gly-Val- $X_3$

- [0054] 상기 구조식 1에서,  $X_1$ 내지  $X_3$ 은 각각 다음과 같은 컴파운드를 포함하도록 정의된다.
- [0055] 상기  $X_1$ 은 존재하지 않거나 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고, 상기  $X_2$ 는 펩티드결합 또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 나타내고, 상기  $X_3$ 은 존재하지 않거나, 적어도 하나의 아미노산 잔기 또는 생리적으로 가능한 염을 나타낸다. 또는, 상기  $X_3$ 은 면역조절 활성을 나타내는 펩타이드로 약학적으로 적용가능한 염 또는 에테르일 수 있다.

- [0056] 상기 구조식 1의 컴파운드는 서열번호 1 내지 20 중 적어도 하나의 서열을 갖는 펩타이드를 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 상기 구조식 1의 컴파운드는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드를 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 상기 구조식 1의 컴파운드는 서열번호 2의 펩타이드를 포함할 수 있다. 후술할 본 발명의 구체적인 실시예들에 있어서, 상기 구조식 1의 컴파운드를 ‘알로페론’이라 하기로 한다. 바람직하게는, 상기 알로페론은 서열번호 1 또는 2의 서열을 갖는 펩타이드일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 바람직하게는, 상기 알로페론은 서열번호 2의 서열을 갖는 펩타이드일 수 있다. 상기 알로페론은 천연으로부터 분리 및 정제하거나 또는 합성하여 얻은 것일 수 있다.
- [0057] 상기 알로페론은 펩타이드 외에 펩티도미메틱(peptidomimetics; 펩타이드유사체) 또한 포함한다. 펩타이드 유사체(apatide analogs)는 템플릿 펩타이드와 유사한 성질을 갖는 비펩타이드 약물로서 제약산업에서 흔히 사용된다. 이러한 펩티도미메틱은 화학적으로 변형된 펩타이드, 비자연적으로 발생하는 아미노산을 포함하는 펩타이드 유사분자 및 펩티드를 포함한다. 이런 종류의 비펩타이드 화합물은 “펩타이드 미메틱” 또는 “펩티도미메틱스”라고 불리며, 흔히 컴퓨터화된 분자적 모델링에 의해 개발된다. 펩타이드 미메틱은 구조적으로는 치료적으로 유용한 펩타이드와 유사하며, 이러한 유사체(mimetic)를 사용하여 펩타이드와 동등한 치료 또는 예방 효과를 낼 수 있다.
- [0058] 펩타이드 또는 펩티도미메틱은 환형 또는 다른 구조로 결합될 수 있다. 구조적으로 결합된 분자들은 향상된 특성, 이를 테면 향상된 친밀성, 대사적 안정성, 막 투과성 또는 용해성을 가질 수 있으며, 구조적 결합 방법은 당업계에 공지되어 있다.
- [0059] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 알로페론을 포함하는 조성물이 제공된다. 본 발명의 다른 실시예에서, 난소암의 치료를 위한 난소암 치료용 조성물이 제공된다. 본 발명의 또 다른 실시예에서, 난소암 치료를 위한 치료제의 성능을 향상시키기 위한 난소암 치료 보조제가 제공된다.
- [0061] 본 발명의 일 측면에서, 알로페론을 포함하는 조성물이 준비될 수 있다.
- [0062] 본 발명의 일 측면에 따른 조성물은 비경구적 투여를 위한 조성물로 준비될 수 있다. 이를 위하여 일반적으로 약학적으로 수용가능한 캐리어, 바람직하게는 수용성 캐리어에 담긴 펩타이드의 용액 또는 현탁액의 형태로 준비될 수 있다. 수용가능한 수용성 캐리어로는, 예를 들면 물, 완충액, 식염수(0.4%), 글라이신 용액(0.3%), 히알루론산 및 이와 유사하게 알려진 캐리어들이 있다. 수용성 캐리어 외에도 디메틸설폭소(dimethylsulphoxide), 프로필렌글라이콜(propyleneglycol), 디메틸포름아미드(dimethylformamide) 및 이들의 혼합물과 같은 용매도 사용할 수 있다. 또한, 상기 조성물은 약학적으로 수용가능한 첨가제, 예를 들면, 정상 삼투압 및/또는 효과적인 동결건조를 위한 완충 물질 및 무기염을 포함할 수 있다. 상기 첨가제로는, 예를 들면 나트륨(sodium) 및 칼륨(potassium) 염, 염소 및 인산염, 수크로스, 글루코스, 단백질 가수분해효소, 텍스트란(dextran), 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone) 또는 폴리에틸렌 글라이콜(polyethylene glycol)이 있다. 상기 조성물은 종래 방법, 예를 들면 멸균 여과와 같은 방법에 의하여 멸균될 수 있다. 상기 조성물은 그 형태 그대로 사용되거나 또는 동결건조시킨후 사용전에 멸균 용액과 혼합하여 사용될 수도 있다.
- [0063] 본 발명에 있어 약학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 예를 들면, 생리식염수, 폴리에틸렌글리콜, 에탄올, 식물성 오일, 링거액, 텍스트로스 용액, 글리세롤 및 이소프로필미리스테이트 등을 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] 본 발명의 조성물은 치료용 보조제 등 약제학적 제제로 제조될 수 있다. 본 발명의 약제학적 제제는 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제 및 부형제로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수 있다. 상기 제제는 분산제 또는 안정화제를 더 포함할 수 있다. 필요에 따라, 상기 약제학적 제제는 약제학적으로 허용되는 담체를 더 포함할 수 있다. 필요에 따라, 상기 약제학적 제제는 전술한 성분들 이외에 당업계에 공지된 첨가물을 더 포함할 수 있다.
- [0065] 질병의 종류와 정도에 따라, 알로페론 또는 알로페론을 포함하는 조성물을 체중의 1 μg/kg 에서 1000 mg/kg의 농도로 1일 1회 환자에게 초기투여할 수 있으며, 또한, 예를 들어, 별도 분리 투여 또는 연속 투여로 투여할 수 있다. 일반적인 일일 복용량은 전술한 요인에 따라 1 μg/kg에서 100mg/kg 이상까지 다양할 수 있으며, 바람직



하계는 체중의 0.1 내지 20mg/kg인 것이 좋으며, 피하 또는 근육 투여시에는 체중의 1 내지 20mg/kg일 수 있다. 이 용량 범위에 있어서 필요한 변형은 여기 주어진 일상적 실험만을 통해 당업계의 일반적 기술자에 의해 결정될 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, (ed. A. Gennaro; Lippincott, Williams & Wilkins 2000)). 수일 또는 그 이상에 걸쳐 반복 투여되는 경우에는, 상태에 따라 원하는 정도로 질병 증상이 억제될 때까지 치료를 지속한다. 그러나, 전술한 외에도 다른 복용량 요법이 유용할 수 있음은 물론이다. 본 발명에 따른 치료의 진행은 종래 기술 및 분석을 통해 쉽게 모니터링될 수 있다.

[0066] 상기 알로페론을 포함하는 조성물은 여러 가지 방법으로 투여될 수 있다. 대표적인 전달 요법은 경구, 피하, 근육내 및 정맥 주사를 포함하는 비경구, 직장, 설하를 포함한 구강, 경피, 흡입, 눈 및 비강 투여를 포함한다.

[0067] 본 발명의 조성물의 투여 대상 환자는 포유 동물, 바람직하게는 사람, 영장류, 설치류일 수 있다.

[0068] 본 발명의 일 실시예에서, 펩타이드의 전달은 제어된 방출 주입 가능한 제형의 피하주입을 수반한다. 다른 실시예에서, 여기에서 설명된 펩타이드 및/또는 단백질은 피하, 비강 및 흡입 투여에 유용하다.

[0069] 종양 치료를 위해 알로페론을 포함하는 조성물은 단독으로 처리되거나, 다른 항암 치료제 또는 시술과 함께 병용 처리될 수 있다.

[0071] 상기 조성물은 암 치료용 보조제로 사용될 수 있다. 본 발명의 바람직한 일 실시예는 알로페론을 시스플라틴(cisplatin)과 함께 사용하여 종양을 치료하는 것과 관련된다. 본 발명의 일 측면에 따른 조성물은 시스플라틴과 함께 적용되는 경우, 시스플라틴의 암세포 사멸 효과를 더욱 증진시킬 수 있다. 시스플라틴은 암 치료에 널리 사용되는 항암제 중 하나로 난소, 고환, 방광, 머리 및 목 등에 발생한 암의 치료에 적용되고 있다.

[0073] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 본 발명을 하기 실시예에 의거하여 좀 더 상세하게 설명한다. 단, 이들 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 첨부된 특허청구범위를 제한하는 것이 아니며, 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 실시예에 대한 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변경 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

[0075] **실시예**

[0076] <알로페론 및 세포주의 준비>

[0077] 합성한 서열번호 2의 펩타이드를 이용하여 본 발명의 일 측면에 따른 알로페론의 난소암에 대한 항암 효과를 확인하였다. 또한, 시스플라틴과 병용 처리하였을 경우에 시스플라틴의 항암 치료 효과를 증진시키는지의 여부를 함께 확인하였다. 알로페론은 solid-phase synthesis technique에 의해 Peptide synthesis Ltd. (Moscow, Russia)에서 합성된 후에 Allotech Co., Ltd.에서 공급받았으며 HPLC로 측정된 합성 펩타이드의 순도는 98% 이상이었다. 실험 세포주로는 난소암 세포주인 SKOV3 및 OVCAR3을 이용하였다. 모든 세포는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 배양되었다.

[0079] <알로페론의 단독 및 병용 처리에 따른 난소암 세포 억제 효과 확인>

[0080] CCK(cell counting kit)-8 Assay를 이용하여 세포 생존능을 확인함으로써 알로페론의 단독 및 병용 처리가 난소암 세포의 증식 억제에 미치는 효과를 평가하였다. 두 종의 난소암 세포 1×10<sup>4</sup> cells/well를 100 μL의 완전배지에서 96-well 편평바닥 플레이트에 접종 후 세포를 밤새 항온처리하여 세포를 부착시켜 회수하고, 아무것도 처리하지 않은 음성대조군(control), 알로페론의 항암 효과를 확인하기 위한 알로페론군(alloferon), 시스플라틴을 처리한 시스플라틴군(cisplatin), 알로페론 및 시스플라틴의 병용 처리 효과를 확인하기 위한 병용 처리군(alloferon+cisplatin)으로 구분하여 처리 후 12시간 배양하였다. SKOV3 세포의 경우, 알로페론군은 알로페론 4 μg/ml 농도로, 시스플라틴군은 시스플라틴 25 μg/ml 농도로, 병용 처리군은 알로페론 4 μg/ml 및 시스플라틴 25 μg/ml 동시 처리로 세포에 처리하였다. OVCAR3 세포의 경우, 시스플라틴의 처리 농도만을 12.5 μg/ml로 조절한 것을 제외하면 SKOV3 세포와 동일한 조건으로 처리하였다. 세포 배양 후 CCK-8 용액 10 μl를 각 웰에 첨가하고, 세포를 추가 2시간 동안 항온처리하였다. 450 nm에서 마이크로플레이트 리더를 사용하여 흡수율을 측정하되, 독

립적 실험을 3회 반복 수행하고 그 결과를 도 1에 나타냈다. 도 1에서, (a)는 SKOV2 세포주, (b)는 OVCAR3 세포주를 대상으로 처리한 결과를 나타냈다.

[0081] 도 1을 참조하면, 알로페론과 시스플라틴이 병용 처리되는 경우 세포증식이 현저히 억제되는 것을 확인할 수 있다. SKOV3 및 OVCAR3 두 난소암 세포 모두에서 시스플라틴 단독으로 처리된 경우에 비하여 알로페론이 함께 처리된 경우 억제효과가 현저하게 향상되는 것으로 나타났다.

[0083] <알로페론의 단독 및 병용 처리가 난소암 세포의 세포주기에 미치는 영향 확인>

[0084] PI(propidium iodide)staining 을 통해 알로페론의 단독 및 병용 처리가 난소암 세포의 세포주기에 미치는 영향을 확인하였다. 배양된 세포를  $1 \times 10^6$  cells 로 24시간 배양 후 전술한 것과 동일하게 네 군으로 구분하여 약물 처리한 배지에서 12시간 배양하였다. 이후 PBS로 워싱하고 70%(v/v) ethanol로 5분간 고정한 후, PI(propidium iodide Sigma, USA)로 염색하였으며, 형광현미경 하에서 관찰한 결과를 도 2 및 도 3에 나타냈다. 도 2 및 도 3에서, (a)는 음성대조군(control), (b)는 알로페론군, (c)는 시스플라틴군, (d)는 병용처리군의 결과이다.

[0085] 도 2 및 도 3을 참조하면, 알로페론과 시스플라틴이 병용 처리되는 경우 두 난소암 세포에서 sub-G1 phase가 증대되는 것으로 나타났다. 이로 미루어 볼 때, 알로페론 및 시스플라틴의 병용 처리시 난소암 세포의 세포사멸이 발생하는 것으로 추정된다.

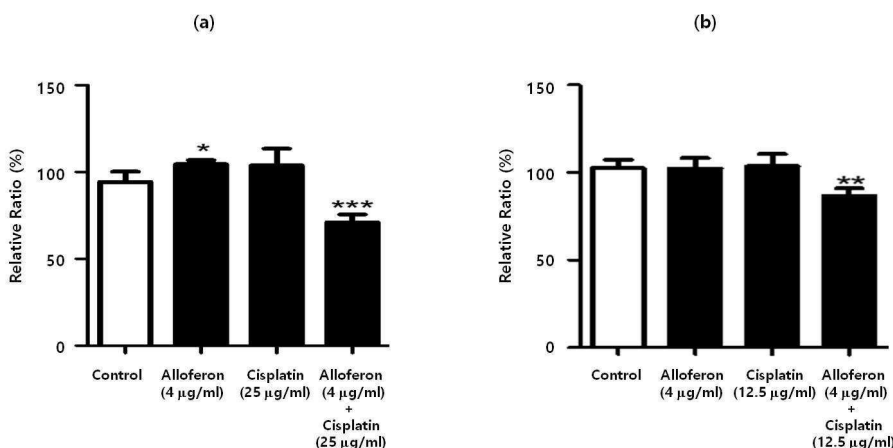
[0087] <알로페론의 단독 및 병용 처리에 따른 난소암 세포 세포사멸 효과 확인>

[0088] Annexin V-7AAD staining을 이용하여 알로페론의 단독 및 병용 처리가 난소암 세포에 미치는 세포사멸 효과를 확인하였다. 배양된 세포를  $1 \times 10^6$  cells 로 24시간 배양 후 전술한 것과 동일하게 네 군으로 구분하여 약물 처리한 배지에서 12시간 배양하였다. 세포를 수집하여 차가운 PBS로 3회 워싱한 이후  $1 \times 10^6$  cells/ml 의 농도로 1X Annexin V 바인딩 버퍼(BD Biosciences)에 풀어준 후 이 용액  $100 \mu\text{l}$  ( $1 \times 10^5$  cells)을 5ml 배양튜브에 옮기고,  $5 \mu\text{l}$ 의 FITC-conjugated Annexin V를 첨가하여 15분간 암조건으로 상온배양했다. 각 튜브에  $400 \mu\text{l}$ 의 1X Annexin V 바인딩 버퍼를 첨가하고,  $1 \mu\text{l}$ 의 propidium iodide (PI)를 플로우 사이토메트리(flow cytometry) 분석 직전에 첨가했다. 사멸 세포(apoptotic cells)는 LSRII flow cytometer (BD Biosciences)로 분석하고 (excitation 488nm/emission 525 nm) 그 결과를 도 4 및 5에 나타냈다. 도 4 및 5에서, (a)는 음성대조군(control), (b)는 알로페론군, (c)는 시스플라틴군, (d)는 병용처리군의 결과이다.

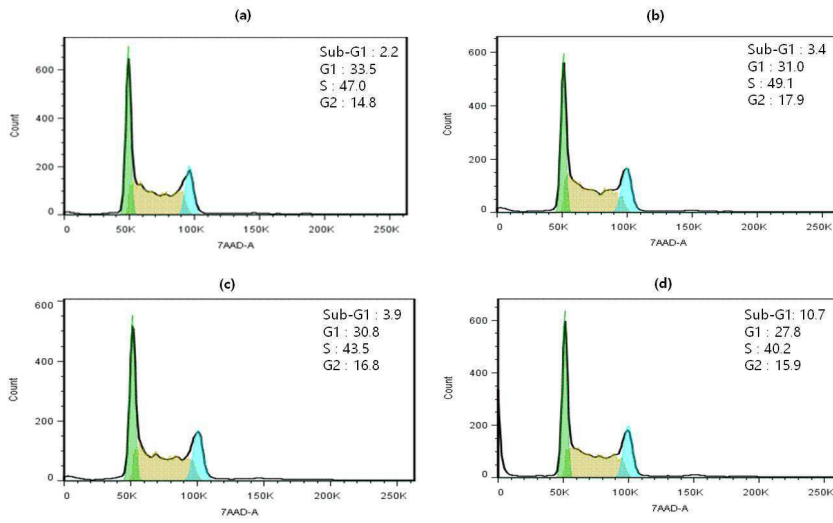
[0089] 도 4 및 5를 참조하면, 시스플라틴 및 알로페론을 병용 처리하는 경우 난소암 세포에 대한 항암 효과가 더욱 향상되는 것을 확인할 수 있다.

**도면**

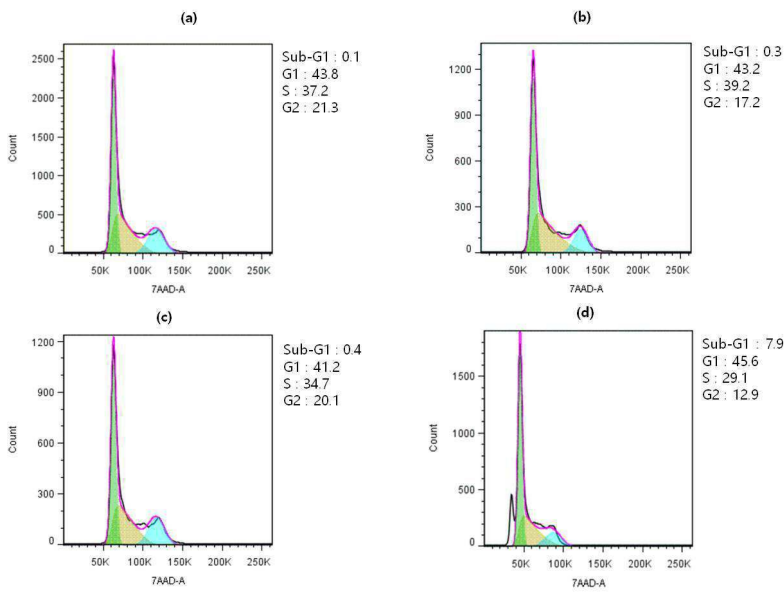
**도면1**



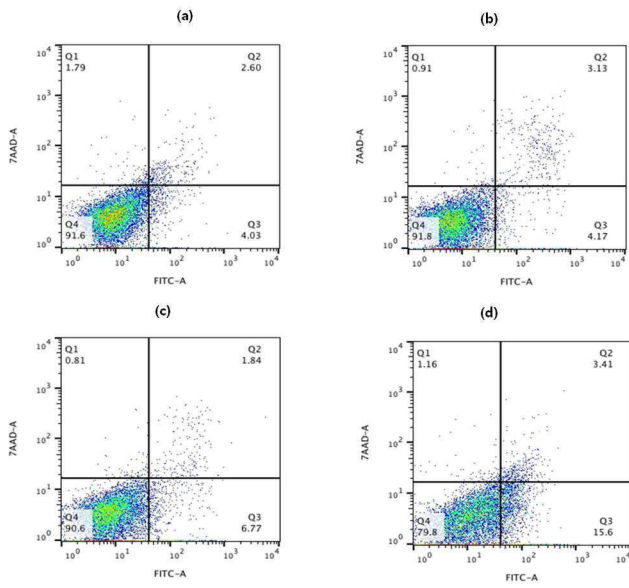
도면2



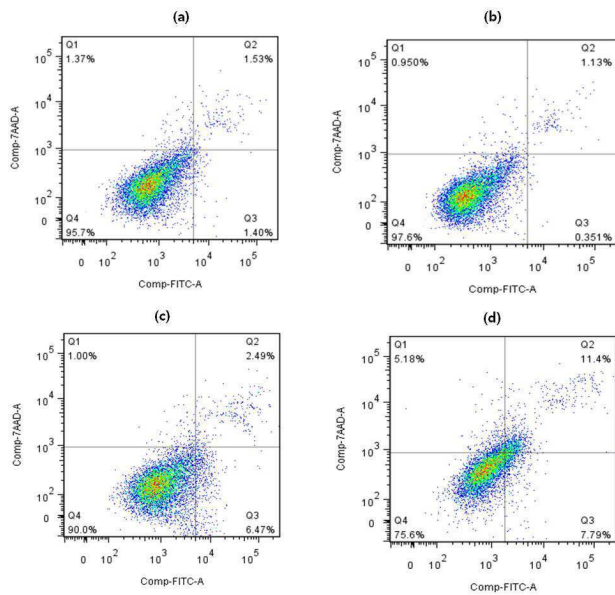
도면3



도면4



도면5



서열 목록

- <110> AT-Pharma Co., Ltd.
- <120> COMPOSITION FOR ANTI-OVARIAN CANCER AND ANTI-CANCER ADJUVANT  
COMPRISING ALLOFERON
- <130> P201911181
- <160> 20
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 13

<212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 1  
 His Gly Val Ser Gly His Gly Gln His Gly Val His Gly  
 1 5 10

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 2

Gly Val Ser Gly His Gly Gln His Gly Val His Gly

1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 3

Val Ser Gly His Gly Gln His Gly Val His

1 5 10

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 4

Ser Gly His Gly Gln His Gly Val

1 5

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 5

Pro Ser Leu Thr Gly His Gly Phe His Gly Val Tyr Asp

1 5 10

<210> 6  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 6  
 Phe Ile Val Ser Ala His Gly Asp His Gly Val

1 5 10

<210> 7  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 7

Thr His Gly Gln His Gly Val

1 5

<210> 8  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 8

His Gly His Gly Val His Gly

1 5

<210> 9  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina

<400> 9

Leu Ala Ser Leu His Gly Gln His Gly Val

1 5 10

<210> 10  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 10

Cys Val Val Thr Gly His Gly Ser His Gly Val Phe Val

1                    5                    10  
 <210> 11  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 11

Ile Ser Gly His Gly Gln His Gly Val Pro

1                    5                    10  
 <210> 12  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina

<400> 12

Cys Gly His Gly Asn His Gly Val His

1                    5  
 <210> 13  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 13

Ile Val Ala Arg Ile His Gly Gln Asn His Gly Val

1                    5                    10  
 <210> 14  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina  
 <400> 14

His Gly Ser Asp Gly His Gly Val Gln His Gly

1                    5                    10  
 <210> 15  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Calliphora vicina

<400> 15

Phe Gly His Gly His Gly Val

1 5

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 16

His Gly Asn His Gly Val Leu Ala

1 5

<210> 17

<211> 12

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 17

His Gly Asp Ser Gly His Gly Gln His Gly Val Asp

1 5 10

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 18

His Gly His Gly Val Pro Leu

1 5

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Calliphora vicina

<400> 19

Ser Gly His Gly Ala Val His Gly Val Met

1 5 10

<210> 20

<211> 12

<212> PRT



<213> Calliphora vicina

<400> 20

Tyr Ala Met Ser Gly His Gly His Gly Val Phe Ile

1

5

10