

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 4월 16일 (16.04.2020) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호
WO 2020/076124 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/194 (2006.01) A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2019/013369

(22) 국제출원일: 2019년 10월 11일 (11.10.2019)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:

10-2018-0121927 2018년 10월 12일 (12.10.2018) KR
10-2019-0126235 2019년 10월 11일 (11.10.2019) KR

(71) 출원인: 국립암센터 (NATIONAL CANCER CENTER)
[KR/KR]: 10408 경기도 고양시 일산동구 일산로 323 (마두동), Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: 김수열 (KIM, Soo Youl); 10382 경기도 고양시 일산서구 주화로 211, 103동 1304호 (대화동, 장성마을 1단지아파트), Gyeonggi-do (KR).

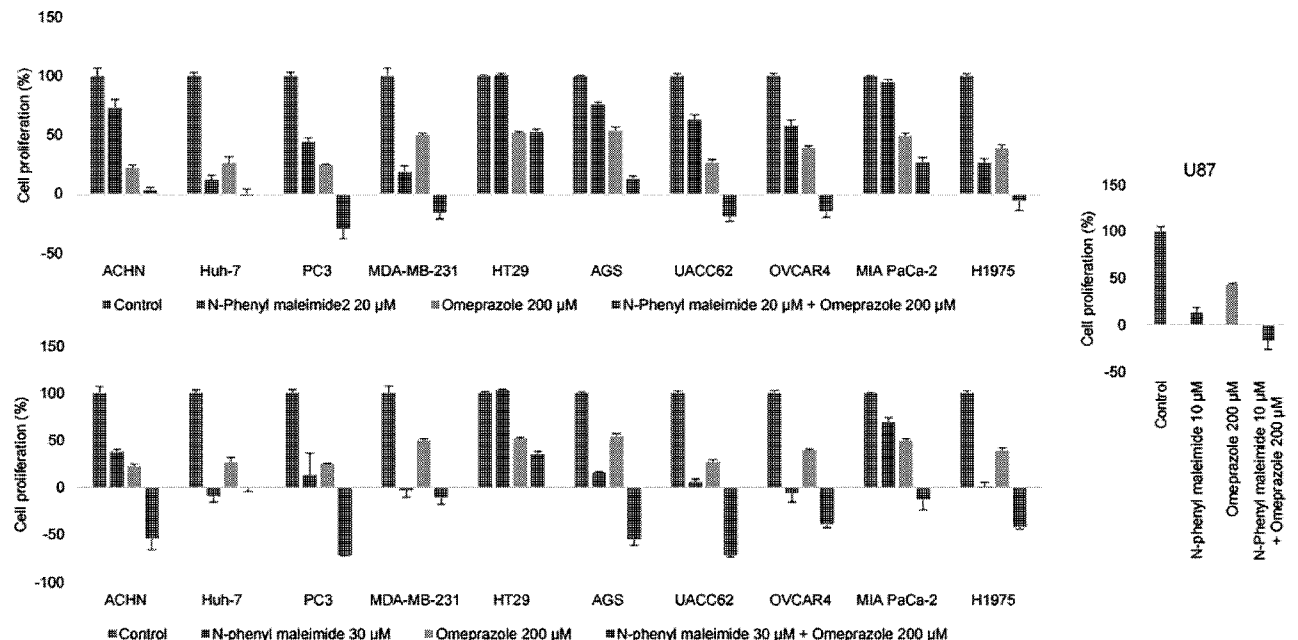
(74) 대리인: 특허법인 이룸리온 (ERUUM & LEEON INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 06575 서울시 서초구 사평대로 108, 3층 (반포동), Seoul (KR).

(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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING CANCER, CONTAINING MALATE-ASPARTATE SHUTTLE INHIBITOR AND CARNITINE ACYLCARNITINE CARRIER SHUTTLE INHIBITOR

(54) 발명의 명칭: 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition and an anti-cancer adjuvant for preventing or treating cancer, containing a malate-aspartate shuttle inhibitor and a carnitine acylcarnitine carrier shuttle inhibitor. Therefore, the present invention enables the growth of cancer cells to be significantly more inhibited than when a malate-aspartate shuttle inhibitor or a carnitine acylcarnitine carrier shuttle inhibitor is used alone.

(57) 요약서: 본 발명은 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 항암보조제에 대한 것이다. 따라서, 본 발명은 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제 또는 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제를 단독으로 사용하는 경우에 비하여 암세포의 성장을 유의적으로 억제할 수 있다.

[다음 쪽 계속]

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:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물

기술분야

- [1] 본 출원은 2018년 10월 12일 출원된 대한민국 특허출원 제10-2018-0121927호 및 2019년 10월 11일 출원된 대한민국 특허출원 제10-2019-0126235호를 우선권으로 주장하고, 상기 명세서 전체는 본 출원의 참고문헌이다.

[2]

- [3] 본 발명은 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 항암보조제에 대한 것이다.

[4]

배경기술

- [5] 암은 크게 혈액암과 고형암으로 분류되며 신체의 거의 모든 부위에서 발생한다. 치료방법으로는 현재 수술이나 방사선 요법 및 세포증식을 억제하는 화학물질을 이용한 항암제 치료가 주로 사용되고 있다. 그러나 기존 화학물질 항암제 치료의 가장 큰 문제점은 세포독성으로 인한 부작용과 약제 내성이며, 이는 화학물질 항암제를 이용한 치료가 결국에는 실패하게 되는 주요 요인이다. 따라서, 화학물질 항암제를 대체하기 위한 치료제로서, 항암작용 기전이 명확한 표적 치료제의 개발이 지속적으로 필요하다.
- [6] 이에, 표적 치료제를 개발하기 위한 여러 연구가 진행되고 있으며, 그 중 종양 형성에 관여하는 특정 분자생물학적 인자들에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 상기 분자생물학적 인자들은 암의 예후예측이나 화학요법 내지 방사선치료 여부 결정 등 다양한 분야에서 연구 및 이용되고 있다.
- [7] 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS)은 해당과정에서 생성된 전자가 미토콘드리아의 내막을 통과함으로써 산화적 인산화를 수행하는 시스템을 말한다. 미토콘드리아의 전자전달계를 통한 ATP 생산에는 NADH가 사용되는데, NADH는 미토콘드리아 내막을 직접적으로 통과할 수 없다. 따라서, MAS를 통해 전자들을 이동시켜 미토콘드리아의 기질(matrix) 내에서 NADH를 생산하여 궁극적으로 미토콘드리아가 ATP를 합성할 수 있게 된다.
- [8] 카르니틴 아실카르니틴 운반자(Carnitine Acylcarnitine Carrier; CAC 또는 Carnitine Acylcarnitine Translocase; CACT)는 미토콘드리아 내막에 속하는 수송단백질이다. CAC는 카르니틴-지방산 복합체(carnitine-fatty acid complex) 및 카르니틴을 미토콘드리아 내막으로 수송하는 역할을 하며, 지방산의 미토콘드리아에 의한 산화 및 생명체의 생존에 필수적이다.

- [9] MAS 시스템에 사용되는 말산 탈수소효소 1(Malate dehydrogenase 1)의 아르기닌 248(arginine 248)을 메틸화하여 저해시키는 경우, 췌장 관세포암(pancreatic ductal adenocarcinoma; PDAC) 세포의 증식을 억제할 수 있음이 알려져 있다(Molecular Cell 64, 1-15, November 17, 2016).
- [10] 그러나, MAS 시스템과 CAC를 동시에 억제시키는 경우 암세포주의 성장을 억제할 수 있는지 여부는 연구되거나 개시된 바 없다.

[11]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [12] 이에, 본 발명자들은 암세포주의 성장을 유의적으로 억제시킬 수 있는 표적 치료제를 제공하기 위하여 노력한 결과, 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 시스템의 억제자와 카르니틴 아실카르니틴 운반자(Carnitine Acylcarnitine Carrier; CAC) 수송 억제제를 병용하는 경우, 각각 단독으로 처리하는 경우에 비하여 암세포주의 성장을 유의적으로 억제함을 확인하고 본 발명을 완성하였다.
- [13]
- [14] 따라서, 본 발명의 목적은 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제; 를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 내지 항암보조제를 제공하는 것이다.
- [15] 본 발명의 또 다른 목적은, 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제를 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료방법을 제공하는 것이다.

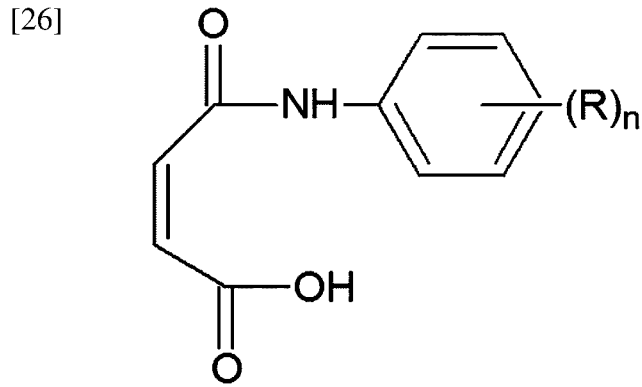
[16]

과제 해결 수단

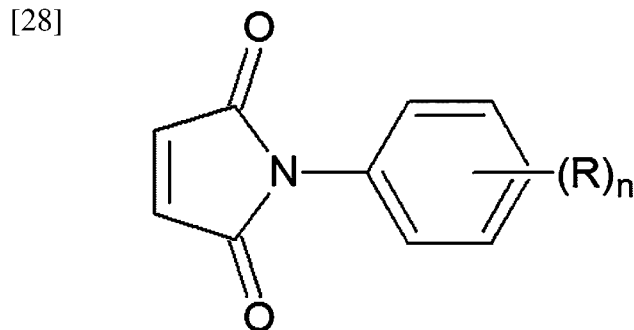
- [17] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제;를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.
- [18] 본 발명의 바람직한 일실시에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제는 페닐숙신산(Phenyl Succinic Acid), 메틸말론산(Methyl Malonic Acid), 부틸말론산(Butyl malonic acid), 말레이미드(Maleimide), N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide), N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide), N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid), 에오신-5-말레이미드(eosin-5-maleimide), 프탈로닉산(Phthalonic Acid),

메틸3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)-프로판아미도)벤조에이트(Methyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)-propanamido)benzoate),
 3-[[2-[4-(1-아드만틸)페녹시]아세틸]아미노]-4-하이드록시벤조에이트(Methyl 3-[[2-[4-(1-adamantyl)phenoxy]acetyl]amino]-4-hydroxybenzoate),
 2-테노일-트리플루오르아세톤(2-Thenoyl-trifluoroacetone), 클로로트리신(chlorothricin), 아미노옥시아세트산(aminooxyacetic acid, AOA),
 히드라지노숙신산(hydrazinosuccinate),
 2-아미노-3-부테노익산(2-amino-3-butenic acid) 및 BPTES 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.

- [19] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 오메프라졸(Omeprazole), 트라이메트아지딘(Trimetazidine), 퍼헥실린(perhexiline), 에토목시르(etomoxir), 멜도늄(meldonium), 펜포르민(phenformin), 이들의 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 이들의 유도체 및 이들의 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [20] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 50:1 내지 1:50의 몰농도비로 포함되는 것일 수 있다.
- [21] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것일 수 있다.
- [22] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암일 수 있다.
- [23] 본 발명은 또한, 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제;를 포함하는 항암보조제를 제공할 수 있다.
- [24] 본 발명은 또한, 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있는데;
- [25] [화학식 1]



[27] [화학식 2]



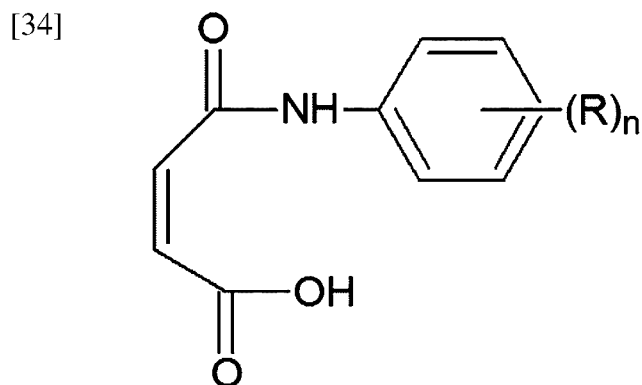
[29] 상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고,

[30] 상기 n는 1 내지 5 의 정수이다.

[31] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것일 수 있다.

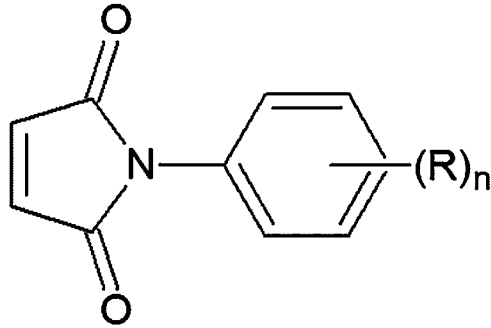
[32] 본 발명은 또한, 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 항암보조제를 제공할 수 있는데;

[33] [화학식 1]



[35] [화학식 2]

[36]



[37] 상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고,

[38] 상기 n는 1 내지 5 이다.

[39] 본 발명은 또한 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제를 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료방법을 제공할 수 있다.

[40] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제는 페닐숙신산(Phenyl Succinic Acid), 메틸말론산(Methyl Malonic Acid), 부틸말론산(Butyl malonic acid), 말레이미드(Maleimide), N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide), N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide), N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid), 에오신-5-말레이미드(eosin-5-maleimide), 프탈로닉산(Phthalonic Acid), 메틸3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)-프로판아미도)벤조에이트(Methyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)-propanamido)benzoate), 3-[[2-[4-(1-아드만틸)페녹시]아세틸]아미노]-4-하이드록시벤조에이트(Methyl 3-[[2-[4-(1-adamantyl)phenoxy]acetyl]amino]-4-hydroxybenzoate), 2-테노일-트리플루오르아세톤(2-Thenoyl-trifluoroacetone), 클로로트리신(chlorothricin), 아미노옥시아세트산(aminooxyacetic acid, AOA), 히드라지노숙신산(hydrazinosuccinate), 2-아미노-3-부테노익산(2-amino-3-butenic acid) 및 비스-2-(5-페닐아세타미도-1,3,4-티아디아졸-2-일)에틸 술파이드(Bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide, BPTES) 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.

[41] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 오메프라졸(Omeprazole), 트라이메타지딘(Trimetazidine), 퍼헥실린(perhexiline), 에토목시르(etomoxir), 멜도늄(meldonium), 펜포르민(phenformin), 이들의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나

이상인 것일 수 있다.

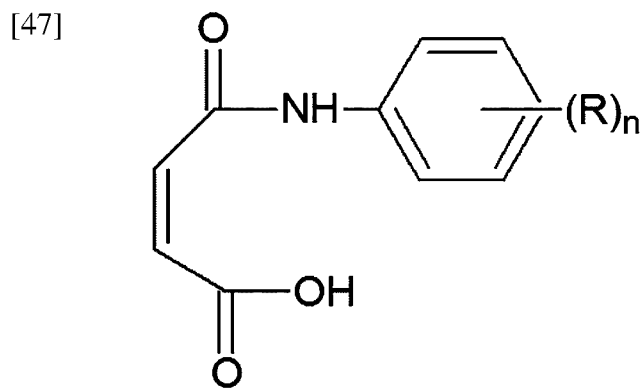
[42] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것일 수 있다.

[43] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 20:1 내지 1:20의 mg/kg(mpk) 비율로 투여되는 것일 수 있다.

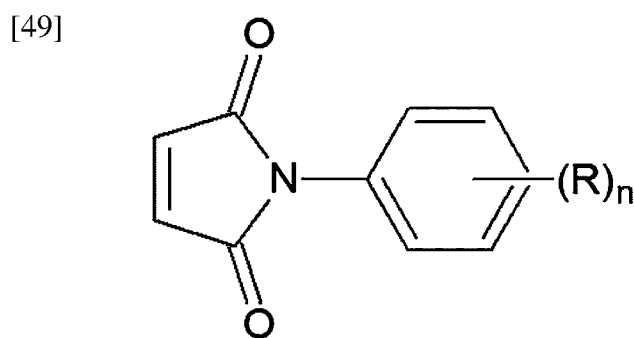
[44] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것일 수 있다.

[45] 본 발명은 또한, 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법을 제공할 수 있는데;

[46] [화학식 1]



[48] [화학식 2]



[50] 상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고,

[51] 상기 n는 1 내지 5의 정수이다.

[52] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것일 수 있다.

[53]

[54] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[55] 본 발명에서 'CAC' 및 'CACT'는 모두 카르니틴 아실카르니틴 운반자를 의미하는 것으로 사용하였다.

[56]

[57] 상술한 바와 같이, 종래에 암 치료로 사용되는 화학물질 항암제는 부작용 및 약제 내성이 발생하기 쉽다는 문제점이 있기 때문에 이의 대체제로서 항암 표적 치료제의 개발이 요구되고 있으며 그 중 분자생물학적 인자에 대한 연구가 진행되고 있다.

[58] 본 발명에 따른 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제를 포함하는 조성물의 경우, 상기 두 억제제를 각각 단독으로 처리하는 경우에 비하여 암세포 성장 억제 효과에 대해 유의적으로 상승한 시너지 효과가 발생하므로 암 예방 또는 치료용 조성물 내지 항암보조제로서 효과적이다.

[59]

[60] 따라서, 본 발명은 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제;를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[61] 상기 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제는 MAS 시스템에 참여하는 단백질의 활성을 억제하는 화합물을 의미한다.

[62] 구체적으로, 상기 MAS 시스템에 참여하는 단백질은 [도 1]에 나타나는 바와 같이 말산-알파-케토글루탐산 수송체(MAT; malate-a-ketoglutarate transporter), 글루탐산-아스파르트산 수송체(GAT; glutamate-aspartate transporter), 말산 디하이드로게나제 1(MDH1; malate dehydrogenase 1), 말산 디하이드로게나제 2(MDH2; malate dehydrogenase 2), 글루타믹 옥살아세트 트랜스아미나제 1(GOT1; glutamic oxaloacetic transaminase 1), 글루타믹 옥살아세트 트랜스아미나제 2(GOT2; glutamic oxaloacetic transaminase 2) 및 글루타민아제(GLS1; glutaminase 1) 등이 있다. 상기 MAT는 인간 SLC25A11 유전자로 암호화되는 수송단백질(transpoter)로서, Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein으로도 지칭할 수 있다. 상기 GAT는 인간 SLC25A12 유전자로 암호화되는 수송단백질로서, Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar1으로도 지칭할 수 있다. 상기 말산 디하이드로게나제에 있어서, MDH1은 세포질에 존재하고(cytosolic form), MDH2는 미토콘드리아 내부에 존재한다(mitochondrial form). 또한, 상기 글루타믹 옥살아세트 트랜스아미나제에 있어서, GOT1은 세포질에 존재하고, GOT2는 미토콘드리아 내부에 존재한다. 상기 GOT1 및 GOT2는 각각 아스파르트산 아미노트랜스퍼라제 1(AST1; aspartate aminotransferase 1) 및 AST2로도 지칭할 수 있다. 상기 GLS1은 글루타민(glutamine)을 글루타메이트(glutamate)로

변환시키는 효소이다.

- [63] 상기 MAS 시스템에 참여하는 단백질 중에서 본 발명이 활성을 억제하고자 하는 단백질은 MAT, GOT1, GOT2 또는 GLS1 이며, 바람직하게는 MAT를 억제하는 것이 바람직하다. 상기 MAT의 활성은 말레이미드(maleimide) 유도체로, GOT1 또는 GOT2의 활성은 아미노옥시아세트산(aminooxyacetic acid, AOA)으로, GLS1의 활성은 BPTES로 억제할 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

- [64] 보다 구체적으로, 본 발명의 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제는 페닐숙신산(Phenyl Succinic Acid), 메틸말론산(Methyl Malonic Acid), 부틸말론산(Butyl malonic acid), 말레이미드(Maleimide), N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide), N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide), N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid), 에오신-5-말레이미드(eosin-5-maleimide), 프탈로닉산(Phthalonic Acid), 메틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)-프로판아미도)벤조에이트(Methyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)-propanamido)benzoate), 3-[[2-[4-(1-아드만틸)페녹시]아세틸]아미노]-4-하이드록시벤조에이트(Methyl 3-[[2-[4-(1-adamantyl)phenoxy]acetyl]amino]-4-hydroxybenzoate), 2-테노일-트리플루오르아세톤(2-Thenoyl-trifluoroacetone), 클로로트리신(chlorothricin), 아미노옥시아세트산(aminooxyacetic acid, AOA), 히드라지노숙신산(hydrazinosuccinate), 2-아미노-3-부테노익산(2-amino-3-butenic acid) 및 비스-2-(5-페닐아세타미도-1,3,4-티아디아졸-2-일)에틸 숄파이드(Bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide, BPTES) 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide), N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide) 및 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하다.

[65]

- [66] 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle)에 참여하는 단백질은 카르니틴 아세틸트랜스퍼레이즈(carnitine (O)-acetyltransferase; CAT 또는 CART), 카르니틴 옥타노일 전이효소(carnitine octanoyltransferase; COT), 카르니틴 팔미토일 전달효소 1(carnitine palmitoyltransferase; CPT1), 카르니틴 팔미토일 전달효소 2(CPT2) 또는 카르니틴 아실카르니틴 운반자(CAC 또는 CACT) 등이 있다. 상기 CAC는 인간 SLC25A20 유전자로 암호화된다.

- [67] 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제가 억제하고자 하는 대상은 카르니틴 아실카르니틴 운반자(Carnitine

Acylcarnitine Carrier; CAC 또는 Carnitine Acylcarnitine translocase; CACT), 지질 과산화(lipid peroxidation), β -산화(oxidation), CPT-1, CAT 또는 산화적 인산화(oxidative phosphorylation; OxPhos)이며, 바람직하게는 CAC(CACT)를 억제하는 것이 바람직하다. 상기 CAC(CACT)의 활성은 UK5099 유도체로, 지질 과산화는 퍼옥시좀 억제제(peroxisome inhibitor) 또는 ALDH 억제제로, β -산화는 트라이메트아지딘(Trimetazidine)으로, CPT-1의 활성은 퍼헥실린(perhexiline) 또는 에토목시르(etomoxir)로, CAT의 활성은 멜도늄(meldonium)으로, OxPhos의 활성은 펜포르민(phenformin)으로 억제할 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

- [68] 보다 구체적으로, 본 발명의 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 오메프라졸(Omeprazole), 트라이메트아지딘(Trimetazidine), 퍼헥실린(perhexiline), 에토목시르(etomoxir), 멜도늄(meldonium), 펜포르민(phenformin), 이들의 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 이들의 유도체 및 이들의 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [69] 본 발명의 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 50:1 내지 1:50의 몰농도비로 포함되는 것이 바람직하나, 더욱 바람직하게는 30:1 내지 1:30의 몰농도비로 포함되는 것이 바람직하고, 가장 바람직하게는 20:1 내지 1:20의 몰농도비로 포함되는 것이 바람직하다.
- [70] 본 발명의 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것이 바람직하다.
- [71] 본 발명의 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것이 바람직하며, 가장 바람직하게는 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것이 가장 바람직하다.
- [72]
- [73] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 상기 조성물을 제형화할 경우에는 하나 이상의 완충제(예를 들어, 식염수 또는 PBS), 항산화제, 정균제, 킬레이트화제(예를 들어, EDTA 또는 글루타치온), 충전제, 증량제, 결합제, 아쥘란트(예를 들어, 알루미늄 하이드록사이드), 현탁제, 농후제 습윤제, 붕해제 또는 계면활성제, 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [74] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분(옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 등 포함), 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose),

덱스트로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 말티톨, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 예컨대, 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다.

[75] 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있으며, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[76] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제 또는 좌제 등이 포함된다. 비수성용제 및 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

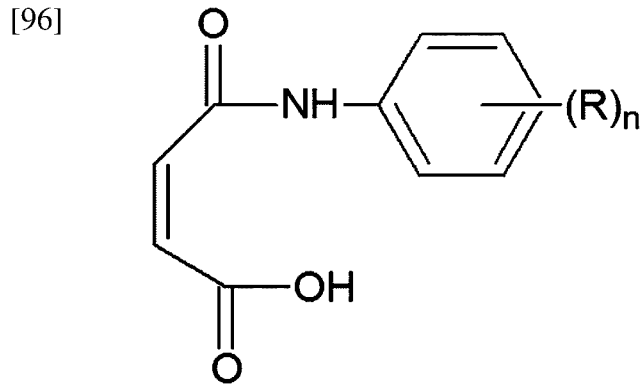
[77] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여시 피부외용; 복강내, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사하는 주사제; 경피 투여제; 또는 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법에 따라 제형화할 수 있다.

[78] 상기 주사제의 경우에는 반드시 멸균되어야 하며 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염으로부터 보호되어야 한다. 주사제의 경우 적합한 담체의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 혼합물 및/또는 식물유를 포함하는 용매 또는 분산매질일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적합한 담체로는 헵스 용액, 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline) 또는 주사용 멸균수, 10% 에탄올, 40% 프로필렌 글리콜 및 5% 덱스트로스와 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 상기 주사제를 미생물 오염으로부터 보호하기 위해서는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 주사제는 대부분의 경우 당 또는 나트륨 클로라이드와 같은 등장화제를 추가로 포함할 수 있다.

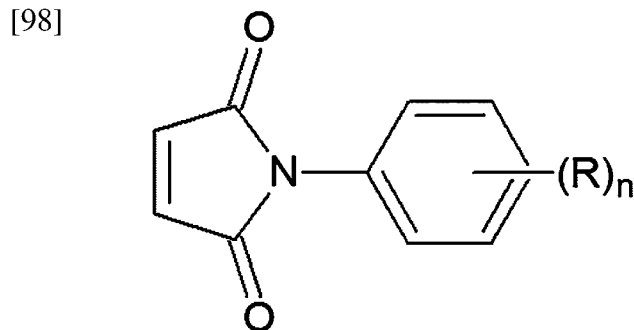
[79] 경피 투여제의 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태가 포함된다. 상기에서 경피 투여는 약학 조성물을 국소적으로 피부에 투여하여 약학 조성물에 함유된 유효한 양의 활성성분이 피부 내로 전달되는 것을 의미한다.

- [80] 흡입 투여제의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 화합물은 적합한 추진제, 예를 들면, 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여, 가압 액 또는 연무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달 할 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 예를 들면, 흡입기 또는 취입기에 사용되는 젤라틴 캡슐 및 카트리지는 화합물, 및 락토즈 또는 전분과 같은 적합한 분말 기제의 분말 혼합물을 함유하도록 제형화할 수 있다.
- [81] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 약제학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [82] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [83] 본 발명의 약학 조성물은 또한 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제를 유효성분으로 포함하는 외용제의 제형으로 제공할 수 있다. 본 발명의 알러지성 질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- [84] 본 발명의 알러지성 질환 예방 및 치료용 약학 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.
- [85]

- [86] 따라서, 본 발명의 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제;를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 암세포주에 처리하는 경우 각각 단독으로 처리하는 경우에 비하여 유의적으로 상승한 암세포 성장 억제 효과를 얻을 수 있다. 이때 암세포 성장 억제 효과 비교를 위해 사용된 대조군은 비히클(vehicle) 용매를 처리한 배지로서, 상기 비히클은 DW(1%), DMSO(0.1%~0.2%) 또는 SMSO(0.1%) 일 수 있다.
- [87]
- [88] 또한, 본 발명은 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제;를 포함하는 항암보조제를 제공한다.
- [89] 본 발명의 항암보조제는 항암제의 항암효과를 증대시키거나 항암제의 부작용을 억제 또는 개선시키기 위한 모든 형태를 의미한다. 본 발명의 항암보조제는 다양한 종류의 항암제 또는 항암보조제와 병용투여될 수 있으며, 병용투여시 통상적인 항암제의 투여량보다 낮은 수준으로 항암제를 투여하더라도 동등한 수준의 항암치료효과를 나타낼 수 있으므로 보다 안전한 항암치료를 수행할 수 있다.
- [90] 상기 항암보조제의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 본 발명의 항암보조제는 목적하는 바에 따라 복강 내 투여, 정맥 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여, 경구 투여, 폐 내 투여, 직장 내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 상기 항암보조제는 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.
- [91] 본 발명의 항암보조제는 투여를 위해서 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 항암보조제로 바람직하게 제제화할 수 있다. 본 발명의 항암치료 보조제에 포함될 수 있는 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [92] 본 발명의 항암보조제는 경구 또는 비경구 투여를 위한 제제일 수 있으며, 제제에 대한 설명은 상기 약학적 조성물의 제제에 대한 기재로 대신한다.
- [93]
- [94] 본 발명은 또한, 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 내지 항암보조제를 제공할 수 있는데;
- [95] [화학식 1]



[97] [화학식 2]



[99] 상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고, 상기 n는 1 내지 5의 정수이다.

바람직하게는 상기 R는 수소이며, 상기 n은 5인 것이 바람직하다.

[100] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것일 수 있다.

[101] 상기 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 내지 항암보조제는 상기 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제;를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물과 동일한 개념이므로 설명은 상기 기재로 대신한다.

[102]

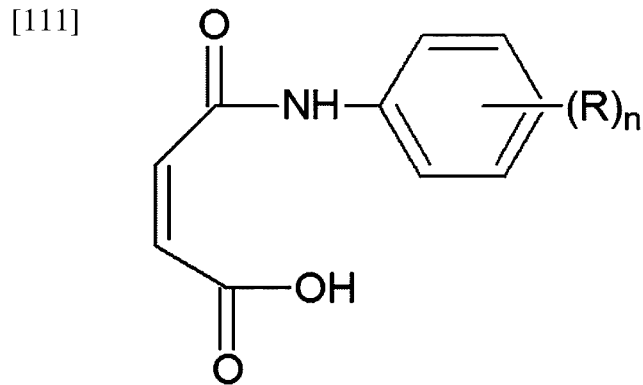
[103] 본 발명은 또한, 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제를 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료방법을 제공할 수 있다.

[104] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제는 페닐숙신산(Phenyl Succinic Acid), 메틸말론산(Methyl Malonic Acid), 부틸말론산(Butyl malonic acid), 말레이미드(Maleimide), N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide), N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide), N-페닐말레아믹산(N-phenyl

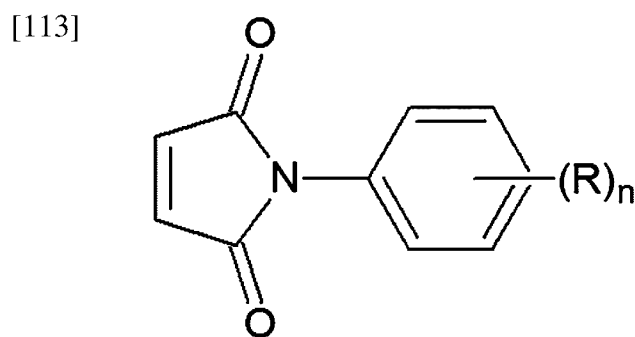
maleamic acid), 에오신-5-말레이미드(eosin-5-maleimide), 프탈로닉산(Phthalonic Acid),
 메틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)-프로판아미도)벤조에이트(Methyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)-propanamido)benzoate),
 3-[[2-[4-(1-아드만틸)페녹시]아세틸]아미노]-4-하이드록시벤조에이트(Methyl 3-[[2-[4-(1-adamantyl)phenoxy]acetyl]amino]-4-hydroxybenzoate),
 2-테노일-트리플루오르아세톤(2-Thenoyl-trifluoroacetone), 클로로트리신(chlorothricin), 아미노옥시아세트산(aminooxyacetic acid, AOA),
 히드라지노숙신산(hydrazinosuccinate),
 2-아미노-3-부테노익산(2-amino-3-butenic acid) 및
 비스-2-(5-페닐아세타미도-1,3,4-티아디아졸-2-일)에틸
 숄파이드(Bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide, BPTES) 로
 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하며, 보다
 바람직하게는 N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide),
 N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide) 및 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것이
 바람직하다.

- [105] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 오메프라졸(Omeprazole), 트라이메트아지딘(Trimetazidine), 퍼헥실린(perhexiline), 에토목시르(etomoxir), 멜도늄(meldonium), 펜포르민(phenformin), 이들의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [106] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것일 수 있다.
- [107] 본 발명의 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 20:1 내지 1:20 의 mg/kg(mpk) 비율로 투여되는 것이 바람직하나, 더욱 바람직하게는 10:1 내지 1:10 의 mg/kg(mpk) 비율로 투여되는 것이 바람직하고, 가장 바람직하게는 5:1 내지 1:5 의 mg/kg(mpk) 비율로 투여되는 것이 바람직하다.
- [108] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것일 수 있다.
- [109] 본 발명은 또한, 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법을 제공할 수 있는데;

[110] [화학식 1]



[112] [화학식 2]



[114] 상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고, 상기 n는 1 내지 5의 정수이다.

바람직하게는 상기 R은 수소이며, 상기 n은 5인 것이 바람직하다.

[115] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것일 수 있다.

[116]

발명의 효과

[117] 본 발명은 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제 또는 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제를 단독으로 사용하는 경우에 비하여 암세포의 성장을 유의적으로 억제할 수 있다.

[118]

도면의 간단한 설명

[119] 도 1은 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle)과 관련된 메커니즘에 대한 모식도를 나타낸다.

[120] 도 2는 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle)과 관련된 메커니즘에 대한 모식도를 나타낸다.

[121] 도 3은 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide, KN-612)의 hERG K⁺ channel Binding assay-심장독성가능성 평가 결과를 나타낸다.

- [122] 도 4는 N-(1-피레닐)말레이미드(KN-611) 또는 N-페닐말레이미드(KN-612) 각각의 흑색종 또는 췌장암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [123] 도 5는 N-(1-피레닐)말레이미드(KN-611) 또는 N-페닐말레이미드(KN-612) 각각의 신장암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [124] 도 6은 N-(1-피레닐)말레이미드(KN-611) 또는 N-페닐말레이미드(KN-612) 각각의 흑색종 세포주에 대한 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [125] 도 7은 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 정상 세포에 대한 세포독성을 세포 증식으로 확인한 결과를 나타낸다.
- [126] 도 8은 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 정상 세포에 대한 세포독성을 ATP 수준으로 확인한 결과를 나타낸다.
- [127] 도 9는 오메프라졸(omeprazole) 단독의 췌장암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [128] 도 10은 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 단독의 췌장암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [129] 도 11은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 단독의 췌장암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [130] 도 12은 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 단독의 다양한 암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [131] 도 13는 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 췌장암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [132] 도 14은 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 췌장암 세포주의 ATP 생산 수준에 미치는 영향을 나타낸다. A는 각 약물 처리 후 ATP 생산 수준을, B는 약물 처리 후 6시간, 12시간 또는 24시간 후 측정한 ATP 생산 수준을 나타낸다.
- [133] 도 15는 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 다양한 암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [134] 도 16는 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 다양한 암 세포주에 대한 ATP 생산 수준 억제 효과를 나타낸다.
- [135] 도 17은 대장암(COLO 205), 흑색종(RPMI-8226 또는 UACC62), 폐암(H1975), 위암(AGS), 유방암(MDA-MB-231), 뇌암(SF539), 전립선암(PC3), 난소암(OVCAR3), 신장암(ACHN), 간암(HUH7) 및 췌장암(AsPC-1)의 암세포주들에 대하여 N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-Pyrenyl)maleimide)와 오메프라졸(omeprazole)을 각각 단독으로 혹은 병용(Combination)하여 처리하는

경우 그에 따른 세포 성장정도를 나타낸다. 모든 암세포주들에 대하여 병용 처리에 따른 성장 억제 효과에 대한 시너지 효과가 나타났으나, 그 중에서도 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 췌장암 및 간암 세포주의 성장 억제 효과가 유의적으로 증가하였음을 확인하였다.

- [136] 도 18은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 췌장암 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [137] 도 19는 흑색종(UACC62), 폐암(H1975), 위암(AGS), 교아세포종(U87), 전립선암(PC3), 난소암(OVCAR4) 및 간암(HUH7)의 암세포주들에 대하여 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid)과 오메프라졸(omeprazole)을 각각 단독으로 혹은 병용(Combination)하여 처리하는 경우 그에 따른 세포 성장정도를 나타낸다.
- [138] 도 20은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 폐암(H1975) 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다. 파란색은 N-페닐말레아믹산 단독, 노란색은 오메프라졸 단독 및 초록색은 N-페닐말레아믹산 및 오메프라졸의 병용을 나타낸다.
- [139] 도 21은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 전립선암(PC3) 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다. 파란색은 N-페닐말레아믹산 단독, 노란색은 오메프라졸 단독 및 초록색은 N-페닐말레아믹산 및 오메프라졸의 병용을 나타낸다.
- [140] 도 22은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 위암(AGS) 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다. 파란색은 N-페닐말레아믹산 단독, 노란색은 오메프라졸 단독 및 초록색은 N-페닐말레아믹산 및 오메프라졸의 병용을 나타낸다.
- [141] 도 23은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 흑색종(UACC62) 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다. 파란색은 N-페닐말레아믹산 단독, 노란색은 오메프라졸 단독 및 초록색은 N-페닐말레아믹산 및 오메프라졸의 병용을 나타낸다.
- [142] 도 24은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 교아세포종(U87) 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다. 파란색은 N-페닐말레아믹산 단독, 노란색은 오메프라졸 단독 및 초록색은 N-페닐말레아믹산 및 오메프라졸의 병용을 나타낸다.
- [143] 도 25은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 간암(HUH7) 세포주에 대한 세포 증식 억제 효과를 나타낸다. 파란색은 N-페닐말레아믹산 단독, 노란색은 오메프라졸 단독 및 초록색은 N-페닐말레아믹산 및 오메프라졸의 병용을 나타낸다.
- [144] 도 26은 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 난소암(OVCAR4) 세포주에 대한 세포 증식 억제

효과를 나타낸다. 파란색은 N-페닐말레이믹산 단독, 노란색은 오메프라졸 단독 및 초록색은 N-페닐말레이믹산 및 오메프라졸의 병용을 나타낸다.

- [145] 도 27은 췌장암 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [146] 도 28은 신장암 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [147] 도 29는 흑색종 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [148] 도 30은 간암 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [149] 도 31은 뇌암 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [150] 도 32는 위암 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [151] 도 33은 대장암 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.
- [152] 도 34는 난소암 종양 이종이식 마우스 모델에 대한 N-페닐말레이미드(N-phenylmaleimide) 및/또는 오메프라졸(omeprazole)의 종양 억제 효과를 나타낸다.

[153]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[154] [실시예 1]

[155] 암세포주 및 약물 준비

[156] 여러 암세포주들에 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제와 카르니틴 아실카르니틴 운반자(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle; CAC) 억제제를 단독으로 혹은 병용하여 처리하는 경우 그 성장이 유의적으로 억제되는지 여부 및 여러 암세포주들 중에서 특히 유의적으로 시너지 효과를 나타내는 암세포주들을 확인하기 위하여 먼저 여러 암세포주 및 처리할 약물을 준비하였다.

[157] 구체적으로, 암세포주들은 대장암(COLO 205 또는 HT29), 흑색종(RPMI-8226,

MALME-3M, UACC-62, M14, Lox 또는 B16), 폐암(H1975), 위암(AGS), 유방암(MDA-MB-231), 뇌암(SF539 또는 U87), 전립선암(PC3), 난소암(OVCAR3), 신장암(ACHN 또는 CAKI-1), 간암(HUH7) 및 췌장암(MIA PaCa-2, Capan-1, Capan-2, SNU-324, SNU-213, BxPC-3, AsPC-1, SNU-410 또는 CFPAC1)의 세포주들로 준비하였다. 약물은 MAS 억제제로서 N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-Pyrenyl)maleimide), N-페닐말레이미드(N-Phenylmaleimide) 또는 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid)을 준비하고, CAC 억제제로서 오메프라졸(omeprazole)을 200 μ M의 농도로 준비하였다.

[158]

[159] [실시예 2]

[160] N-(1-피레닐)말레이미드 및 N-페닐말레이미드의 비교

[161] N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-Pyrenyl)maleimide, KN-611), N-페닐말레이미드(N-Phenylmaleimide, KN-612) 및 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid, KN-613)을 비교하여 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제로서 보다 우수한 화합물을 비교평가하고자 하였다.

[162] <2-1> hERG K⁺ channel Binding assay-심장독성가능성 평가

[163] Predictor hERG fluorescence polarization assay kit(Life technology)의 hERG tracer 및 membrane fraction은 사용 전 실온에서 녹여 준비하였다. Tracer와 hERG assay buffer를 1:62.5 로 희석하였다. KN-611, KN-612 또는 KN-613(10 mM DMSO stock), 아스테미졸(astemizole; 1 mM DMSO stock, Basal signal compensation), 양성대조군(E-4031, 3 mM DMSO stock solution), 음성대조군(DMSO)을 assay buffer를 이용해 최종시험농도의 4 $\times$ 용액으로 희석한다. 각각의 희석 용액을 384-well low volume flat bottom microplates(round; Corning)에 5 μ l 씩 분주한다. 각 웰에 membrane fraction을 각각 10 μ l 씩 분주한다. hERG tracer를 5 μ l 씩 분주한다. 빛을 차단하고 25°C에서 2시간동안 배양한다. TECAN plate reader(Infinite M1000 pro Microplate Reader)를 이용해 편광을 측정한다.

[164] 그 결과, KN-611은 하기 [표 1]과 같이 저해율이 1% 미만으로 나타나 hERG K⁺ CHANNEL 결합에 의한 심장독성 유발에 대해 안전한 것으로 판단하였다.

[165] [표 1]

처리		농도(μ M)	% 저해율
양성 대조군	E-4031	10	94.9 $\pm$ 0.674
실험 화합물	KN-611	10	1% 미만

[166] KN-612는 [도 3]에 나타나는 바와 같이 10 μ M의 IC₅₀값을 safety bottom line으로 간주하여, IC₅₀값이 78 μ M이상으로 hERG K⁺ CHANNEL 저해에 의한

심장 독성 유발에 대해 안전한 것으로 판단하였다.

- [167] KN-613은 10 μ M의 IC50값을 safety bottom line으로 간주하여, IC50값이 683.916 μ M으로 hERG K⁺ CHANNEL 저해에 의한 심장 독성 유발에 대해 안전한 것으로 판단하였다.

[168]

[169] <2-2> CYP Cocktail inhibition assay

- [170] Library tubes 에 오메프라졸(Omeprazole; Cat.# O104, Sigma-Aldrich; 10 mM in DMSO)과 KN-611, KN-612 또는 KN-613(10 mM DMSO stock)을 각 농도별로 분주한다. Pooled human liver microsomes(20 mg/ml; Cat# 452117, Corning) 을 넣고 혼합한 뒤 37°C 로 설정된 shaking incubator 에서 5분간 preincubation 시킨다. 5분 후 cofactor 인 NADPH(Cat# 451220, Cat# 451200, Corning) 을 혼합하여 shaking incubator 에서 20분간 incubation 시킨다. 20분 반응 뒤 ice 환경 하에서 차가운 내부표준물질이 포함된 아세토니트릴(acetonitrile)을 첨가하여 반응을 중단시킨다. Vortex mixer 로 vortexing 한 뒤 원심분리(10,000 g, 4°C, 20분)하여 얻은 상층액을 LC-MS/MS에 주입하여 각 대사산물(metabolite)의 농도를 Mass sepectrometry(Waters Xevo TQ-S) 및 UPLC(Waters ACQUITY UPLC)로 측정하고 정량한다. 일반적으로 10 μ M 농도의 화합물이 CYP 효소의 활성을 50% 이상 저해하는 경우 해당 CYP 효소의 활성에 주의를 요하는 물질로 예측한다.

- [171] 그 결과, 하기 [표 2] 내지 [표 4]와 같은 결과를 얻을 수 있었다.

[172] [표2]

화합물	1A2	2C9	2C19	2D6	3A4
KN-611 (10 μ M)	97.4	72.6	24.6	40.6	99.1
억제제	87.2	92.3	92.5	92.9	99.6

[173] [표3]

화합물	1A2	2C9	2C19	2D6	3A4
KN-612 (10 μ M)	61.8	<1	<1	28.8	64.2
억제제	90.0	94.8	84.9	93.8	99.4

[174] [표4]

화합물	1A2	2C9	2C19	2D6	3A4
KN-613 (10 μ M)	7.7	8.6	8.8	5.4	5.5
억제제	91.5	95.5	93.4	93.9	99.5

[175]

[176] <2-3> In vitro metabolic stability

[177] 96-웰 플레이트에 Potassium Phosphate buffer(0.5M, pH 7.4; Cat# 451201, Corning)로 희석시킨 중간 microsome(20mg/mL Rat liver microsomes(Cat# 452501, Corning) 20mg/mL Mouse liver microsomes(Cat# 452701, Corning) 20mg/mL Mixed Gender Pooled 150-donor Human liver microsomes(Cat# 452117, Corning))을 37 °C 5분간 배양시킨다. KN-611, KN-612 또는 KN-613(10 mM DMSO stock)와 NADPH(Cat# 451220, Cat# 451200, Corning)를 넣어 30분간 37 °C에서 반응시킨다(KN-611, KN-612 또는 KN-613의 최종농도: 1 μ M, Microsome 최종농도: 0.5 mg/mL). 해당시간에 Internal standard가 포함된 차가운 아세토니트릴(acetonitrile)을 가하여 반응을 종결 시킨다. 4000 rpm에서 15분간 원심분리 후 100 μ l 상층액을 96-웰 플레이트에 옮긴 후 LC-MS/MS로 Mass spectrometry(Agilent 6460) 및 HPLC(Agilent 1260)를 이용하여 분석한다. 베라파밀(Verapamil) 및 부스피론(Buspirone)은 양성대조군이다. 30분간의 반응 실험 결과인 % remaining 값에 따른 microsomal stability 평가기준에 따르면 > 90%는 반감기가 3시간 이상으로 매우 안정한 화합물로 판단하고, 70~90%는 반감기가 1시간~3시간 정도로 비교적 안정한 화합물 < 30%는 반감기가 15분 정도로 불안정한 화합물로 판단한다.

[178] 그 결과, 하기 [표 5] 내지 [표 7]과 같이 KN-611 및 KN-613은 인간에서 비교적 안정한 화합물로 평가할 수 있었으며, KN-612는 매우 안정한 화합물로 평가할 수 있었다.

[179] [표5]

화합물 (1 μ M)	인간(%)	마우스(%)
KN-611	66.74	18.87
부스피론(Buspirone)	3.87	0.04

[180] [표6]

화합물 (1 μ M)	인간(%)	마우스(%)
KN-612	>100	>100
베라파밀(Verapamil)	22.7	

[181] [표7]

화합물 (1 μ M)	인간(%)	마우스(%)
KN-613	72	70
부스피론(Buspirone)	2	0.04

[182]

[183] <2-4> SRB 분석

[184] 흑색종(MALME-3M, UACC-62, M14, Lox 또는 B16), 췌장암(MIA PaCa-2, Capan-1, Capan-2, SNU-324, SNU-213, BxPC-3 또는 AsPC-1) 또는 신장암(CAKI-1 또는 ACHN) 세포주(100 ml)를 각 세포주의 배가 시간에 따라 5000 내지 20,000 세포/웰 범위의 도금 밀도로 96-웰 마이크로 타이터 플레이트에 접종하였다. 세포 접종 후, KN-611 또는 KN-612를 첨가하기 전에 마이크로 타이터 플레이트를 24 시간 동안 인큐베이션 하였다. 0, 10, 20, 30, 40 또는 50 μ M 농도의 KN-611 또는 KN-612 100 ml를 제조하여 각 웰에 첨가한 후 플레이트를 CO₂ 인큐베이터에서 인큐베이션 하였다. 차가운 TCA를 첨가하여 분석을 종료하였다. 50 ml의 차가운 50 % (w/v) TCA(최종 농도: 10 % TCA)를 부드럽게 첨가하여 세포를 고정시키고 4 °C에서 60 분 동안 배양하였다. 상청액을 버리고, 플레이트를 수돗물로 5 회 세척 한 다음 공기 건조시켰다. 1 % 아세트산 중 0.4 % (w/v)의 Sulforhodamine B 용액(100 ml)을 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 실온에서 10 분 동안 방치 하였다. 염색 후, 1 % 아세트산으로 5 회 세척하여 결합되지 않은 염료를 제거한 후 플레이트를 공기 건조시켰다. 이어서, 결합된 염료를 10 mM 트리즈마 염기(trizma base)로 가용화시키고, 흡광도를 515 nm에서 자동화된 플레이트 판독기를 사용하여 기록 하였다.

[185] 그 결과, [도 4] 및 [도 5]에서 나타나는 바와 같이 KN-612가 KN-611에 비하여 보다 유의적인 암 세포주 증식 억제 효과를 가지는 것을 확인할 수 있었다.

[186]

[187] <2-5> 전임상 이중익식 종양모델

[188] Balb/c-nu 마우스(OrientBio. Animal, Korea)는 흑색종(melanoma) 종양 유도 전 6-8 주령이었다. UACC62 세포(1×10^7)를 1 ml 주사기를 사용하여 마우스 피하로 접종하고, 2 주 후 종양의 부피가 130 mm³에 도달했을 때 해당 마우스를 4 가지 그룹, 즉 용매 대조군(5 % DMSO, 10 % Cremophor, 85 % PBS), KN611 및 KN612 그룹으로 나누었다. 비히클 단독 또는 약물(KN-612 또는 KN-611; 20, 40mg/kg)을 4 주 동안 하루에 한 번, 5 일/주 로 경구 투여 하였다. 캘리퍼를 사용하여 1 주마다 1 차 종양 크기를 측정하였다. 종양 부피는 $V = (A \times B^2)/2$ 공식을 사용하여 계산되었으며, 여기서 V는 부피(mm³), A는 긴 직경, B는 짧은 직경이다. 상기 방법은 국립 암센터 연구소의 기관 동물 관리 및 사용위원회(IACUC)에 의해 검토 및 승인되었다.

[189] 그 결과, [도 6]에서 나타나는 바와 같이 KN-612가 KN-611에 비하여 보다 유의적인 종양 억제 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[190]

[191] [실시예 3]

[192] 세포독성 확인

[193] N-페닐말레이미드(N-Phenyl maleimide, 20 μ M) 및/또는 오메프라졸(omeprazole, 200 μ M)의 정상 세포에 대한 세포독성을 SRB 분석 및 ATP 수준으로 확인하고자

하였다. Lung primary cell는 폐(Lung), human uterine fibroblast는 자궁(Uterine), HEK293는 배아 신장(embryonic kidney), HaCaT는 각질형성세포(keratinocyte) 및 IMR90는 폐 섬유아세포(Lung fibroblast)이다.

[194] 그 결과, [도 7] 및 [도 8]에서 나타나는 바와 같이 N-페닐말레이미드 및/또는 오메프라졸은 정상 세포에 대하여 세포독성을 나타내지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[195]

[196] **[실시예 4]**

[197] **MAS 및/또는 CAC 억제에 따른 암세포주 성장 억제 효과 확인**

[198] 암세포주에 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제 및/또는 카르니틴 아실카르니틴 운반자(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle; CAC) 억제제를 처리하는 경우 그 성장이 유의적으로 억제되는지 여부를 확인하기 위하여 술포로다민 B 분석(Sulforhodamine B assay) 방법을 이용하였다.

[199]

[200] <4-1> MAS 억제제 또는 CAC 억제제 단독

[201] MAS 억제제 또는 CAC 억제제 단독의 농도별 암세포주 증식 억제 효과를 확인하고자 하였다. 구체적으로, 오메프라졸(omeprazole), N-페닐말레이미드(N-Phenyl maleimide) 또는 N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid)의 최장암 세포주 내지 여러 암세포주(신장암, 간암, 전립선암, 유방암, 대장암, 위암, 흑색종, 난소암 또는 최장암)에 대한 증식 억제 효과를 확인하였다.

[202] 구체적으로, 상기 <실시예 1>에서 준비한 여러 암세포주(100 μ l)를 각각 배증시간(doubling time)에 따라 5,000 내지 20,000 세포(cell)/웰(well)의 밀도 범위에서 96 웰 마이크로플레이트에 접종한 후 각 마이크로플레이트들은 약물 첨가에 앞서 24시간 동안 배양하였다. 대조군 배지(Contorl)에는 비히클(0.1% DMSO)을 처리한 후 50 μ l 10% (w/v) TCA를 처리하여 고정한 후 4°C의 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 각 약물에 대한 실험군 배지들은, 오메프라졸 0, 10, 100 또는 200 μ M, N-페닐말레이미드 0, 10, 20, 30, 40 또는 50 μ M, N-페닐말레아믹산 0, 10 μ M, 100 μ M, 500 μ M, 1mM, 2mM 또는 5mM 을 각 웰에 각각 총 100 μ l 씩 처리한 후 48시간 뒤에 50 μ l 10% (w/v) TCA를 처리하여 고정한 후 4°C의 CO₂ 배양기에서 60분 동안 배양하였다. 모든 배지들은 수돗물(tap water)로 5회 세척한 후 공기 중에 건조하였다. 1% 아세트산에 대하여 0.4% (w/v) 술포로다민 B(Sulforhodamine B; SRB) 용액(100 μ l)을 각각 첨가한 웰을 5분 동안 상온에서 보관하였다. SRB로 염색한 후에 플레이트들은 1% 아세트산으로 5회 세척하여 결합하지 않은 염색료를 제거한 후 공기 중에 건조하였다. 결합된 염색료들은 515nm에서의 OD 값 결정을 위해 10mM의 트리스 염기(Tris base)로 녹였다. 세포 증식은 대조군 플레이트 값에서 측정된 값을 빼고 백분율(%)로 계산하였다.

[203] 그 결과, [도 9] 내지 [도 11]에서 나타나는 바와 같이 오메프라졸 및

N-페닐말레이미드는 농도의존적으로 췌장암 세포주의 성장을 억제하였으며, [도 12]에서 나타나는 바와 같이 N-페닐말레이미드는 농도의존적으로 다양한 암 세포주의 성장을 억제하였다.

[204]

[205] <4-2> MAS 억제제 및 CAC 억제제 병용

[206] MAS 억제제 또는 CAC 억제제 단독의 농도별 암세포주 증식 억제 효과를 확인하고자 하였다. 구체적으로, 오메프라졸(omeprazole) 및

N-페닐말레이미드(N-Phenyl maleimide),

N-(1-프레닐)말리마이드(N-(1-Pyrenyl)maleimide) 또는

N-페닐말레아믹산(N-phenyl maleamic acid)의 췌장암 세포주 내지 여러

암세포주에 대한 증식 억제 효과를 상기 실시예 <4-1>과 동일한 방법으로 또는

ATP 생성 억제 효과를 확인하였다. 오메프라졸은 200 μ M, N-페닐말레이미드는 20, 25 또는 30 μ M, N-(1-프레닐)말리마이드는 25 μ M, N-페닐말레아믹산은 1 또는 2 mM으로 처리하였다.

[207]

그 결과, [도 13] 내지 [도 26]에서 나타나는 바와 같이 오메프라졸, N-페닐말레이미드, N-(1-프레닐)말리마이드 또는 N-페닐말레아믹산을 각각 단독으로 사용하는 경우에 비하여 오메프라졸과 N-페닐말레이미드, N-(1-프레닐)말리마이드 또는 N-페닐말레아믹산을 병용하는 경우 암세포주 증식 억제 효과 내지 ATP 생성 억제효과가 유의적으로 증가하였다.

[208]

[209] **[실시예 5]**[210] **MAS 및/또는 CAC 억제에 따른 암세포주 성장 억제 효과 확인**

[211] 암세포주에 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle; MAS) 억제제 및/또는 카르니틴 아실카르니틴 운반자(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle; CAC) 억제제를 처리하는 경우 그 성장이 유의적으로 억제되는지 여부를 췌장암(MIA PaCa-2), 신장암(ACHN/ATCC), 흑색종(UACC62), 간암(SK-HEP-1), 뇌암(교모세포종, U87)), 위암(SNU-638), 대장암(HCT-116) 및 난소암(OVCAR-8)의 종양 이종이식 마우스 모델을 제작하여 확인하고자 하였다.

[212]

구체적으로, Balb/c-nu 마우스(OrientBio. Animal, Korea)는 흑색종(melanoma) 종양 유도 전 6~8 주령이었다. 각 종양 세포(1×10^7)를 1 ml 주사기를 사용하여 마우스 피하로 접종하고, 2 주 후 종양의 부피가 130 mm³에 도달했을 때 해당 마우스를 4 가지 그룹, 즉 용매 대조군(5 % DMSO, 10 % Cremophor, 85 % PBS), 오메프라졸 75mg/kg 및/또는 N-페닐말레이미드(췌장암: 40mg/kg, 신장암, 흑색종, 간암, 뇌암, 위암, 대장암, 난소암: 20mg/kg) 그룹으로 나누었다. 비히클 단독 또는 약물을 하루에 한 번, 5 일/주(췌장암, 대장암: 7 주, 신장암, 흑색종, 간암, 뇌암: 6 주, 위암, 난소암: 3 주)로 경구 투여 하였다. 캘리퍼를 사용하여 1 주마다 1 차 종양 크기를 측정하였다. 종양 부피는 $V = (A \times B^2)/2$ 공식을

사용하여 계산되었으며, 여기서 V는 부피(mm³), A는 긴 직경, B는 짧은 직경이다. 상기 방법은 국립 암센터 연구소의 기관 동물 관리 및 사용위원회 (IACUC)에 의해 검토 및 승인되었다.

- [213] 그 결과, [도 17] 내지 [도 24] 와 같은 결과를 얻을 수 있었으며, 오메프라졸 또는 N-페닐말레이미드 단독으로서도 각 암종에 대하여 종양 억제 효과를 나타내었으나, 오메프라졸 및 N-페닐말레이미드를 병용하여 처리하는 경우 시너지 효과가 발생하여 유의적으로 상승한 종양 억제 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[214]

산업상 이용가능성

- [215] 본 발명에서 제공하는 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제; 를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 상기 억제제들을 각각 단독으로 사용하는 경우에 비하여 이들을 병용함으로써 유의적으로 상승한 항암효과를 제공할 수 있으므로, 산업상 이용가능성이 크다.

[216]

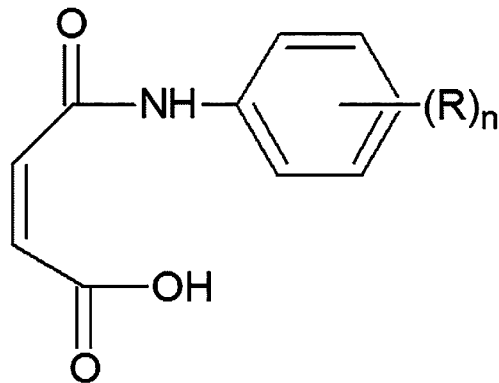
청구범위

- [청구항 1] 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제; 를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제는 페닐숙신산(Phenyl Succinic Acid), 메틸말론산(Methyl Malonic Acid), 부틸말론산(Butyl malonic acid), 말레이미드(Maleimide), N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide), N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide), N-페닐말레이믹산(N-phenyl maleamic acid), 에오신-5-말레이미드(eosin-5-maleimide), 프탈로닉산(Phthalonic Acid), 메틸3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)-프로판아미도)벤조에이트(Methyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)-propanamido)benzoate), 3-[[2-[4-(1-아드만틸)페녹시]아세틸]아미노]-4-하이드록시벤조에이트(Methyl 3-[[2-[4-(1-adamantyl)phenoxy]acetyl]amino]-4-hydroxybenzoate), 2-테노일-트리플루오르아세트(2-Thenoyl-trifluoroacetone), 클로로트리신(chlorothricin), 아미노옥시아세트산(aminooxyacetic acid, AOA), 히드라지노숙신산(hydrazinosuccinate), 2-아미노-3-부테노익산(2-amino-3-butenic acid) 및 비스-2-(5-페닐아세트아미도-1,3,4-티아디아졸-2-일)에틸 숄파이드(Bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide, BPTES) 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 오메프라졸(Omeprazole), 트라이메트아지딘(Trimetazidine), 퍼헥실린(perhexiline), 에토목시르(etomoxir), 멜도늄(meldonium), 펜포르민(phenformin), 이들의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 50:1 내지 1:50 의 몰농도비로 포함되는 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 6] 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및

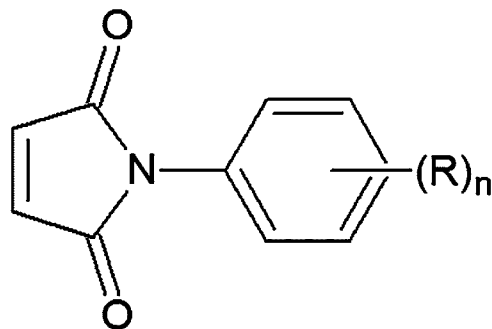
카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제; 를 포함하는 항암보조제.

[청구항 7] 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서;

[화학식 1]



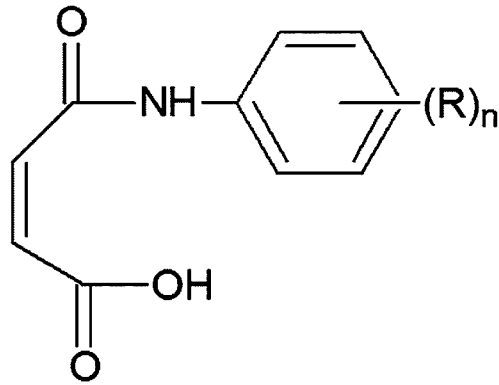
[화학식 2]



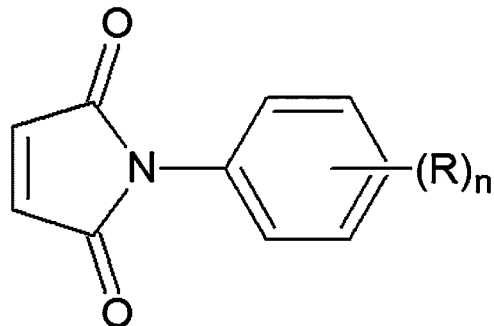
상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고,
상기 n는 1 내지 5의 정수이다.

[청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[청구항 9] 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 항암보조제로서;
[화학식 1]



[화학식 2]



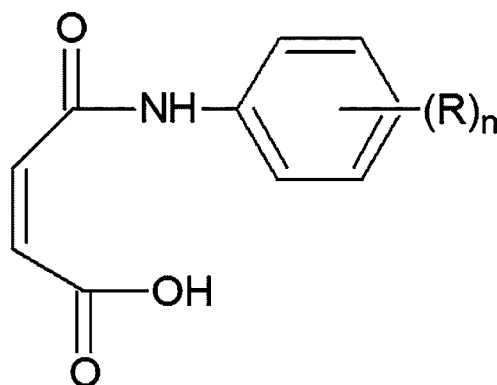
상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고, 상기 n는 1 내지 5이다.

[청구항 10] 말산-아스파르트산 왕복수송(Malate Aspartate Shuttle) 억제제; 및 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송(Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle) 억제제를 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료방법.

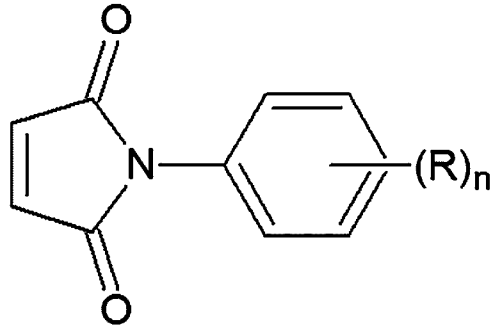
[청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제는 페닐숙신산(Phenyl Succinic Acid), 메틸말론산(Methyl Malonic Acid), 부틸말론산(Butyl malonic acid), 말레이미드(Maleimide), N-페닐말레이미드(N-phenyl maleimide), N-(1-피레닐)말레이미드(N-(1-pyrenyl)maleimide), N-페닐말레이믹산(N-phenyl maleamic acid), 에오신-5-말레이미드(eosin-5-maleimide), 프탈로닉산(Phthalonic Acid), 메틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)-프로판아미도)벤조에이트(Methyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)-propanamido)benzoate), 3-[[2-[4-(1-아드만틸)페녹시]아세틸]아미노]-4-하이드록시벤조에이트(Methyl 3-[[2-[4-(1-adamantyl)phenoxy]acetyl]amino]-4-hydroxybenzoate), 2-테노일-트리플루오르아세톤(2-Thenoyl-trifluoroacetone), 클로로트리신(chlorothricin), 아미노옥시아세트산(aminooxyacetic acid, AOA), 히드라지노숙신산(hydrazinosuccinate),

2-아미노-3-부테노익산(2-amino-3-butenic acid) 및
비스-2-(5-페닐아세타미도-1,3,4-티아디아졸-2-일)에틸
설파이드(Bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide,
BPTES) 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을
특징으로 하는 암 예방 또는 치료방법.

- [청구항 12] 제10항에 있어서, 상기 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 억제제는
오메프라졸(Omeprazole), 트라이메트아지딘(Trimetazidine),
퍼헥실린(perhexiline), 에토목시르(etomoxir), 멜도늄(meldonium),
펜포르민(phenformin), 이들의 약학적으로 허용가능한 염, 전구체, 수화물,
용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로 이루어진 군에서 선택되는 어느
하나 이상인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료방법.
- [청구항 13] 제10항에 있어서, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴
아실카르니틴 운반자 수송 억제제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는
것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료방법.
- [청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 말산-아스파르트산 왕복수송 억제제 및 카르니틴
아실카르니틴 운반자 수송 억제제는 20:1 내지 1:20 의 mg/kg(mpk) 비율로
투여되는 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료방법.
- [청구항 15] 제10항에 있어서, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종,
전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서
선택되는 어느 하나 이상의 암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는
치료방법.
- [청구항 16] 하기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로
허용가능한 염, 전구체, 수화물, 용매화물, 유도체 및 생물학적 등가물로
이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 암 환자에게 투여하는
단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법으로서;
[화학식 1]



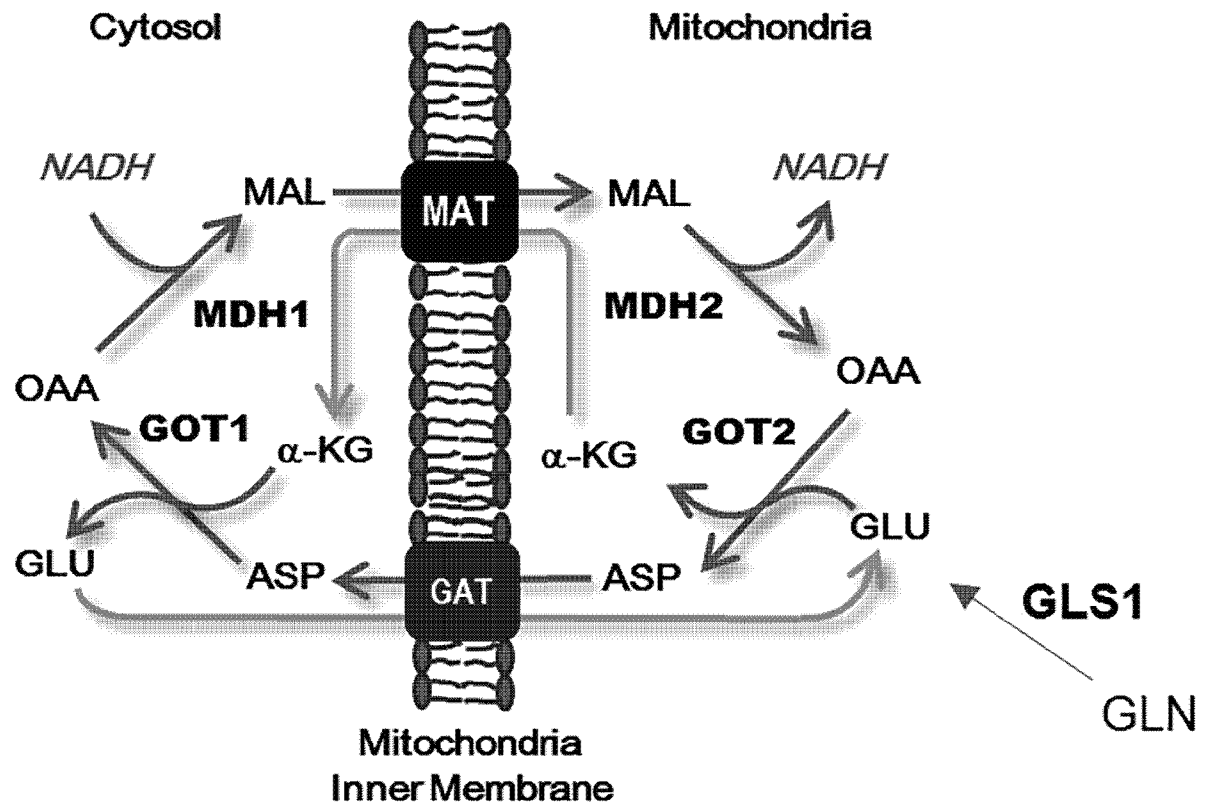
[화학식 2]



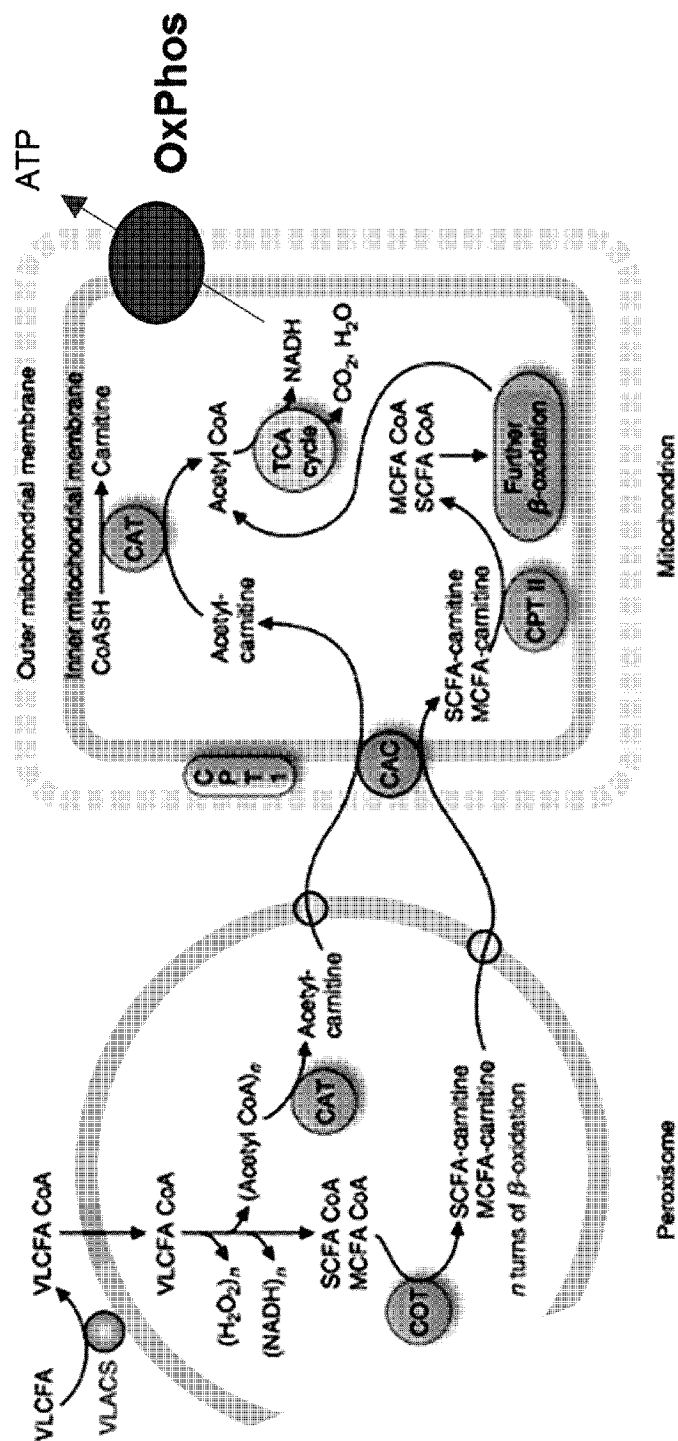
상기 R은 수소, 할로젠 및 C1 내지 C5의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고,
상기 n는 1 내지 5의 정수이다.

[청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 뇌암, 흑색종, 전립선암, 난소암, 신장암, 췌장암 및 간암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료방법.

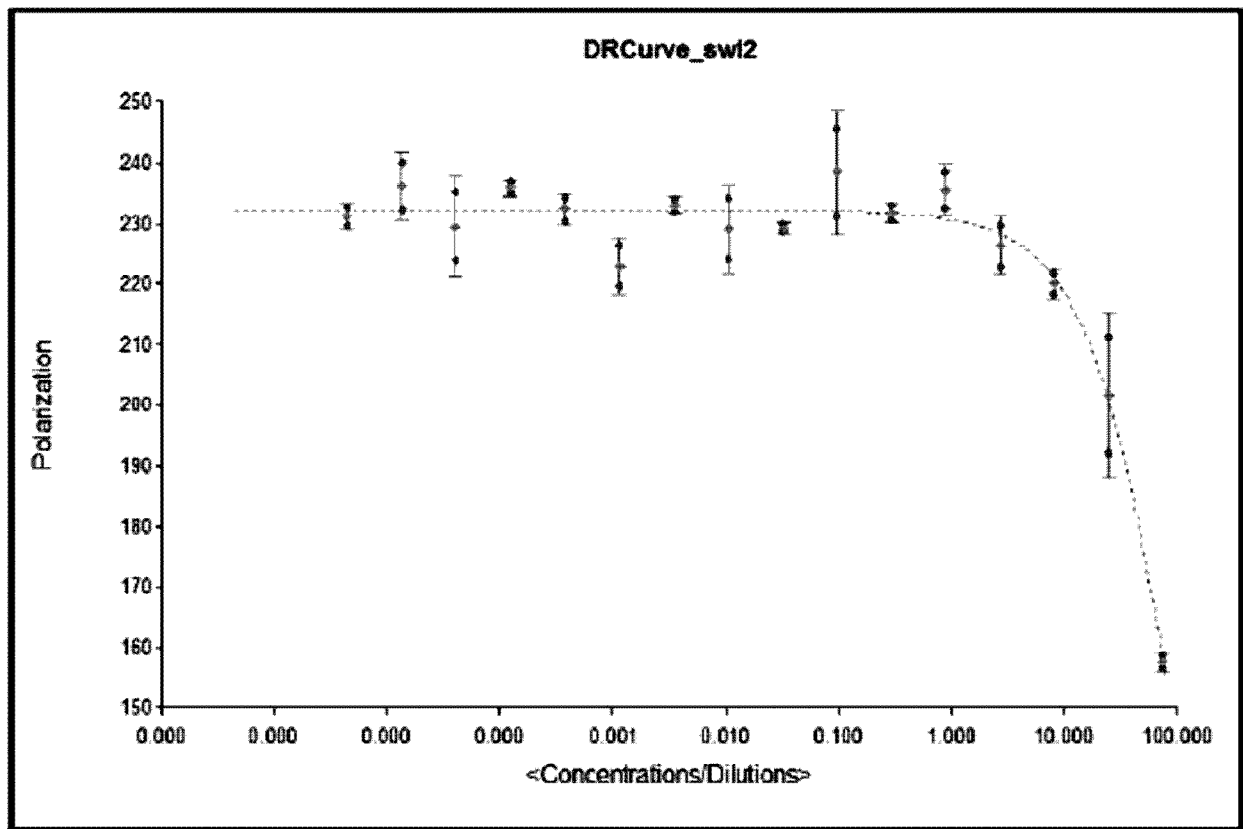
[도1]



[도2]

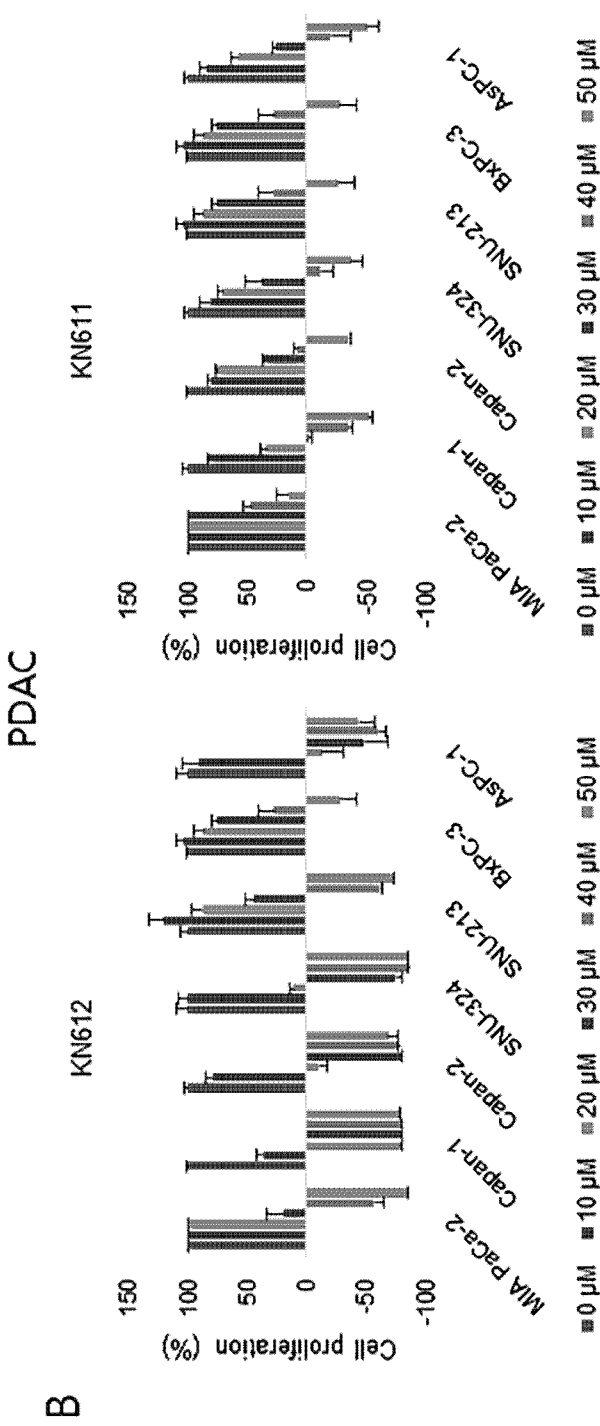
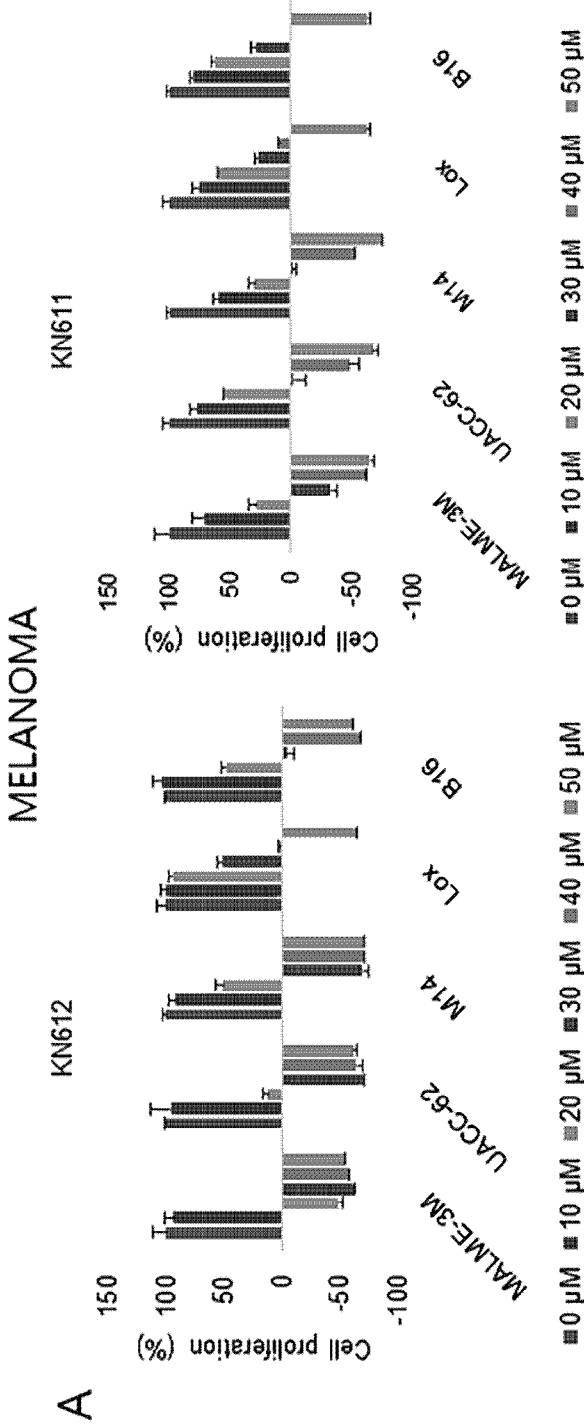


[도3]



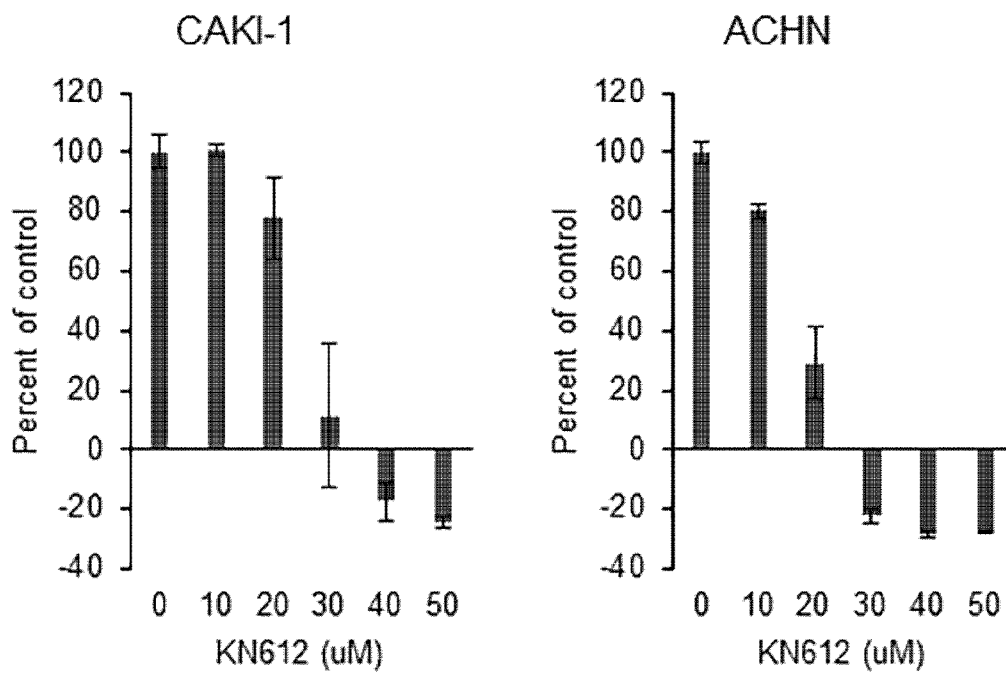
[KN612]

[도4]

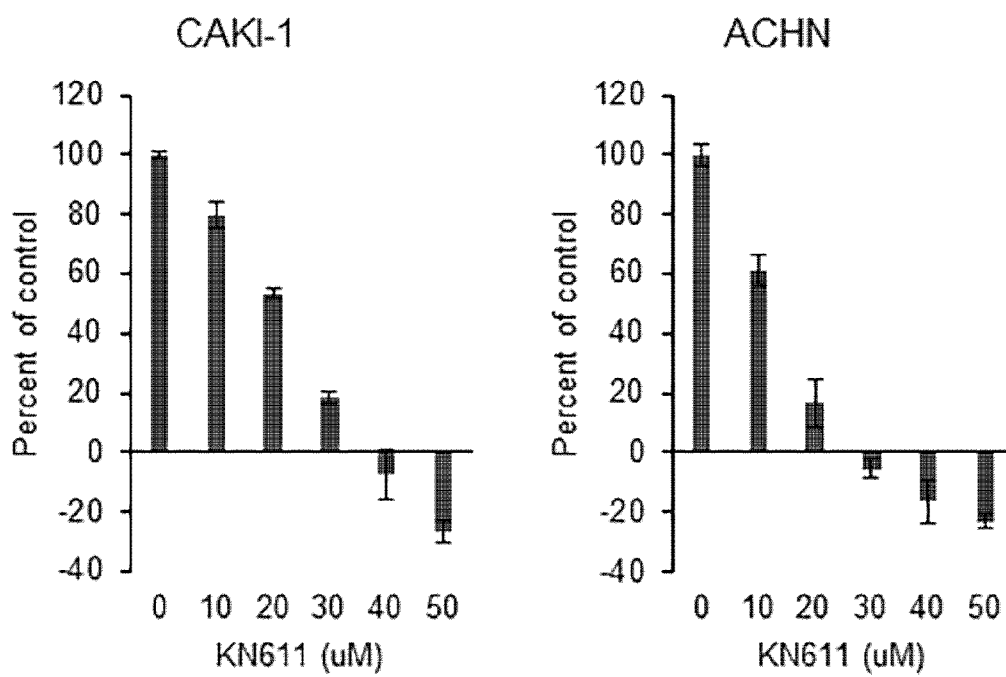


[도5]

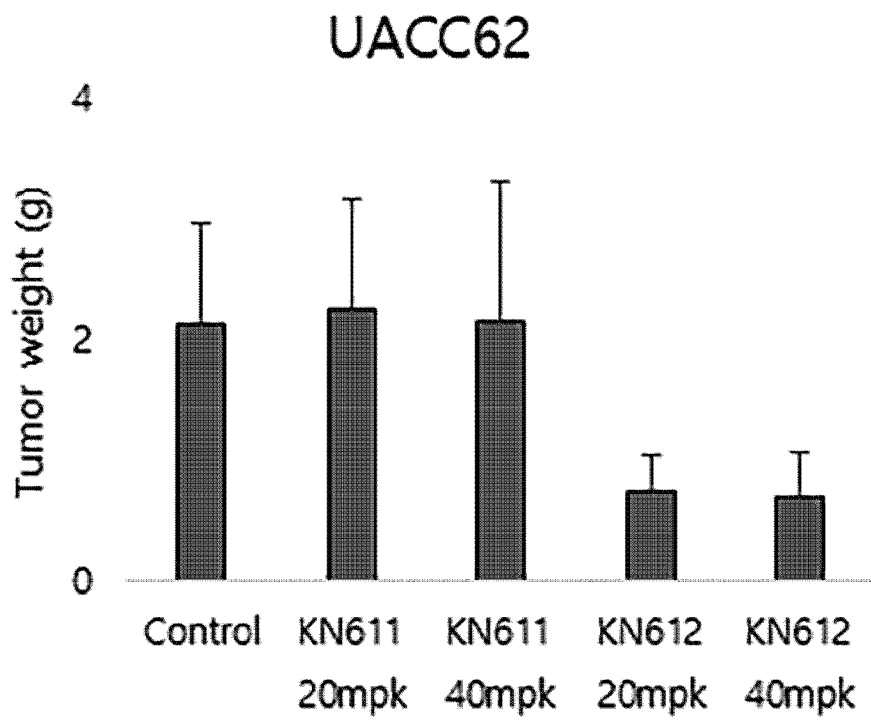
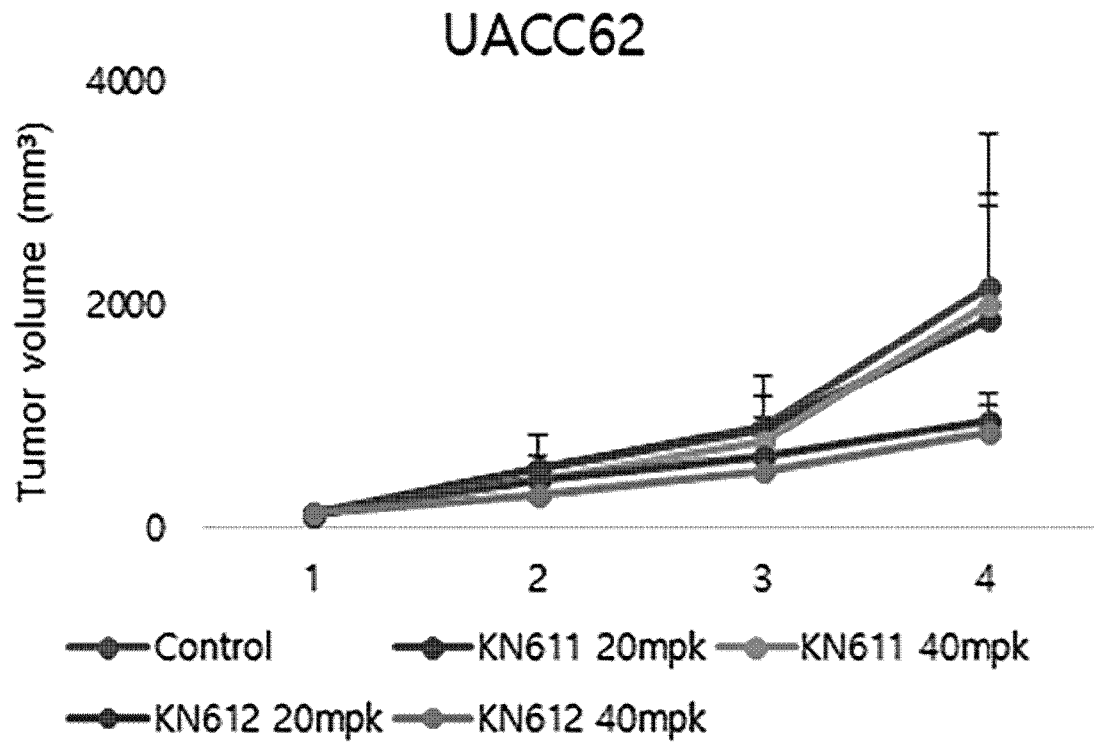
A



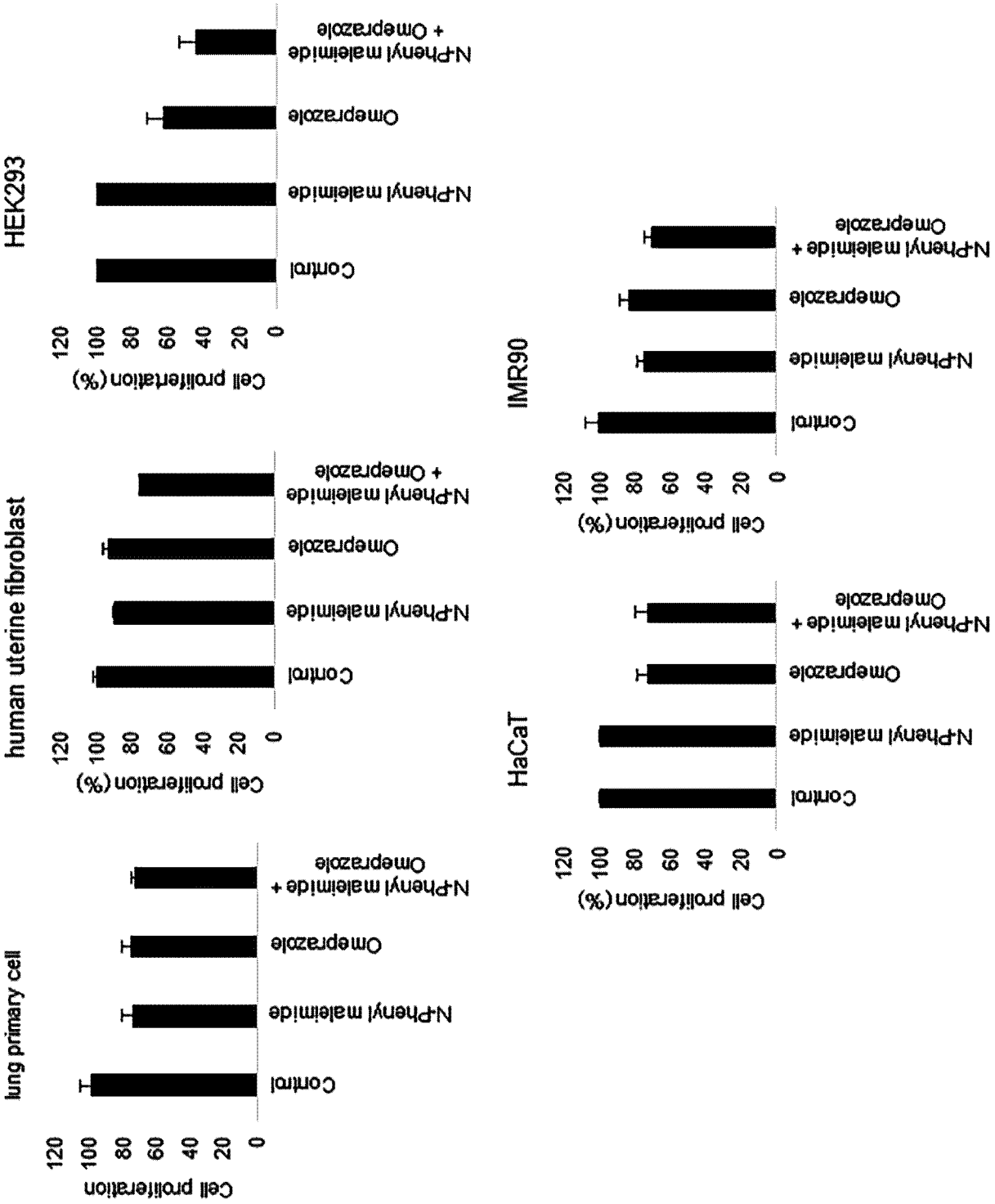
B



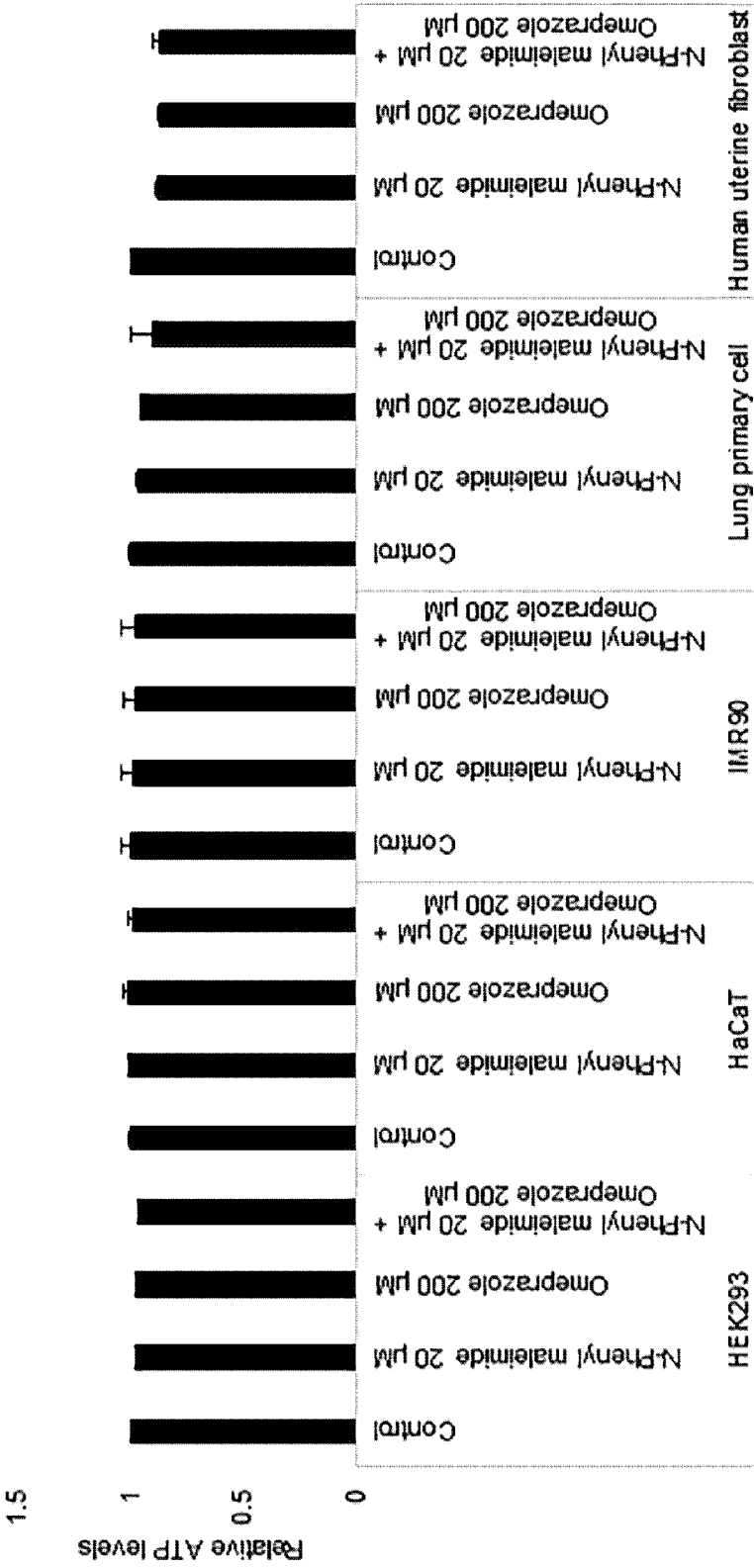
[도6]



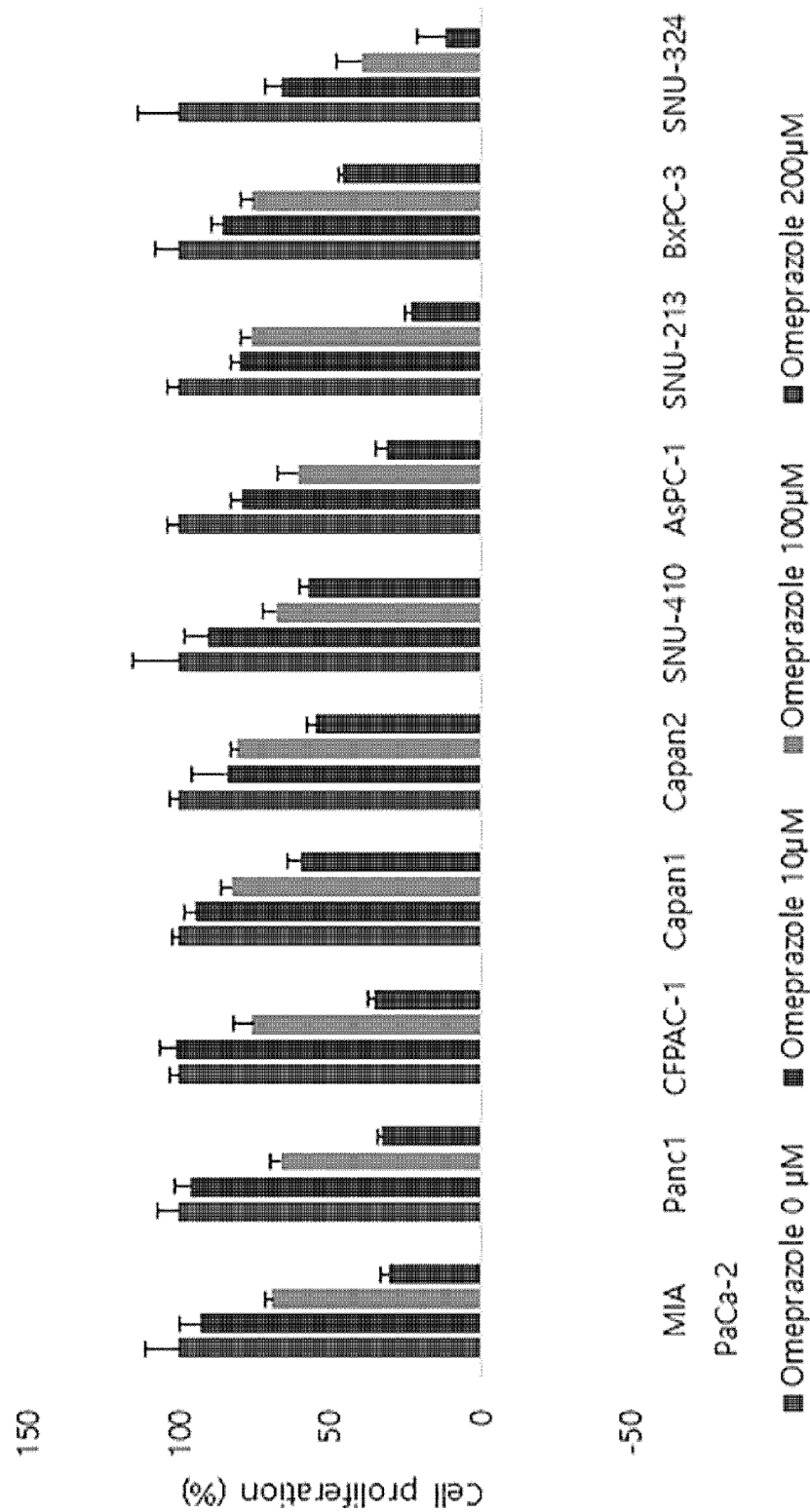
[도7]



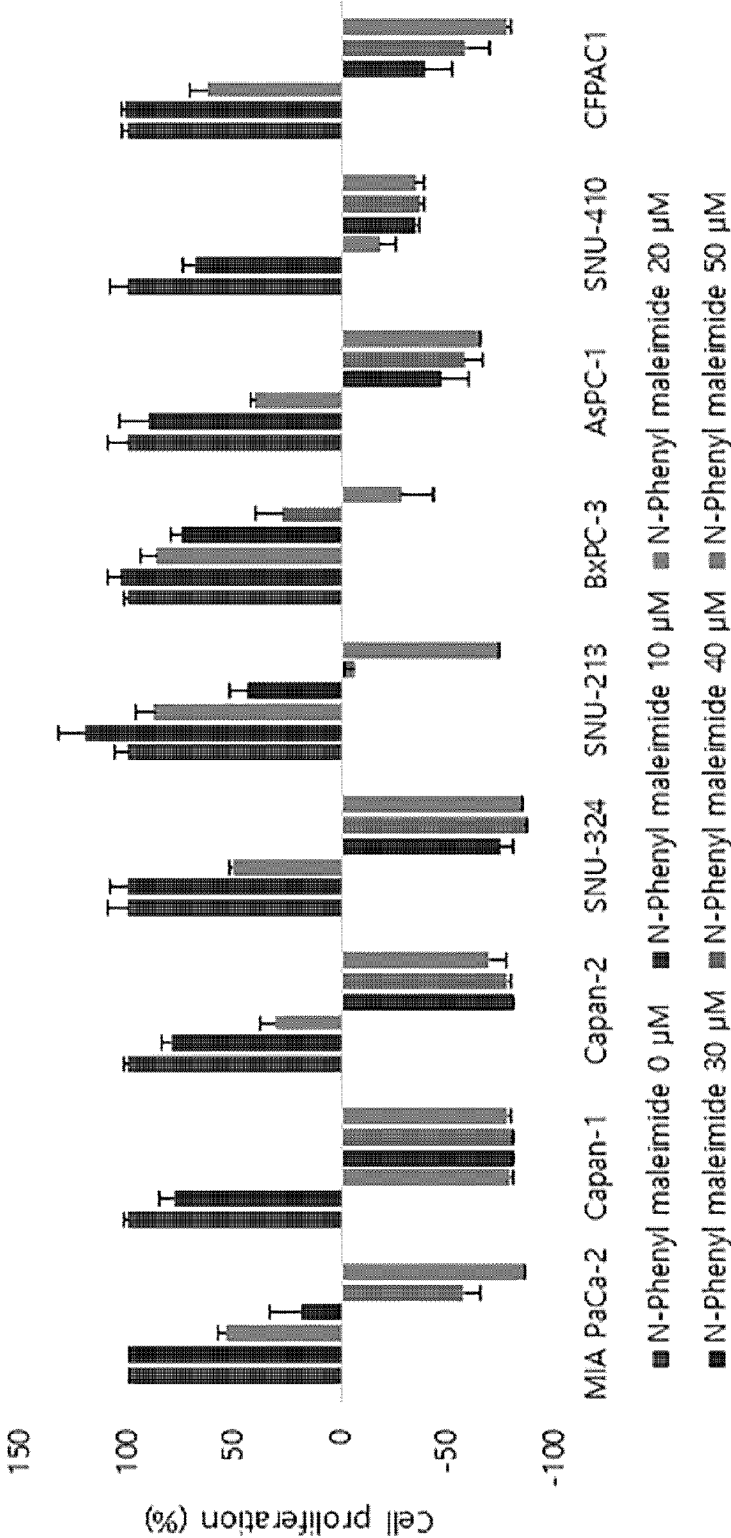
[8도]



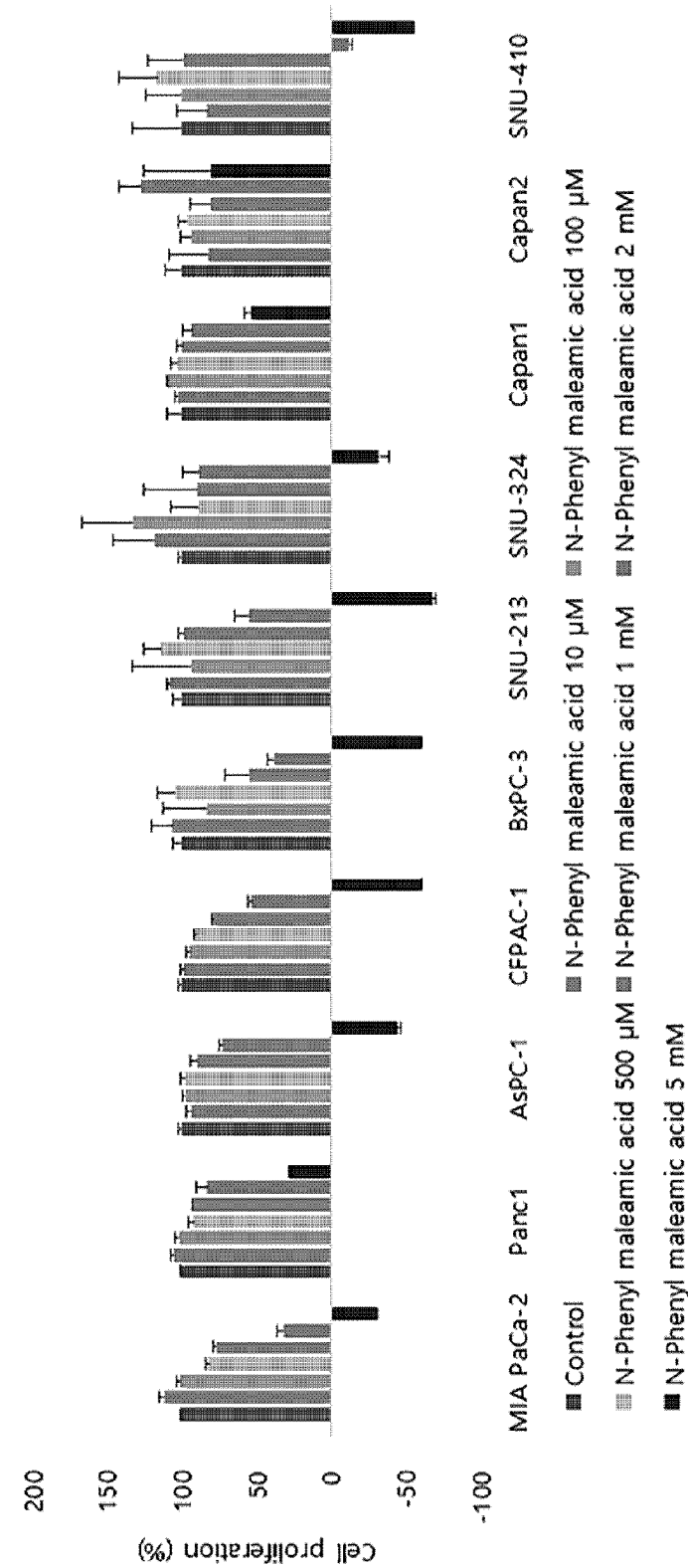
[도9]



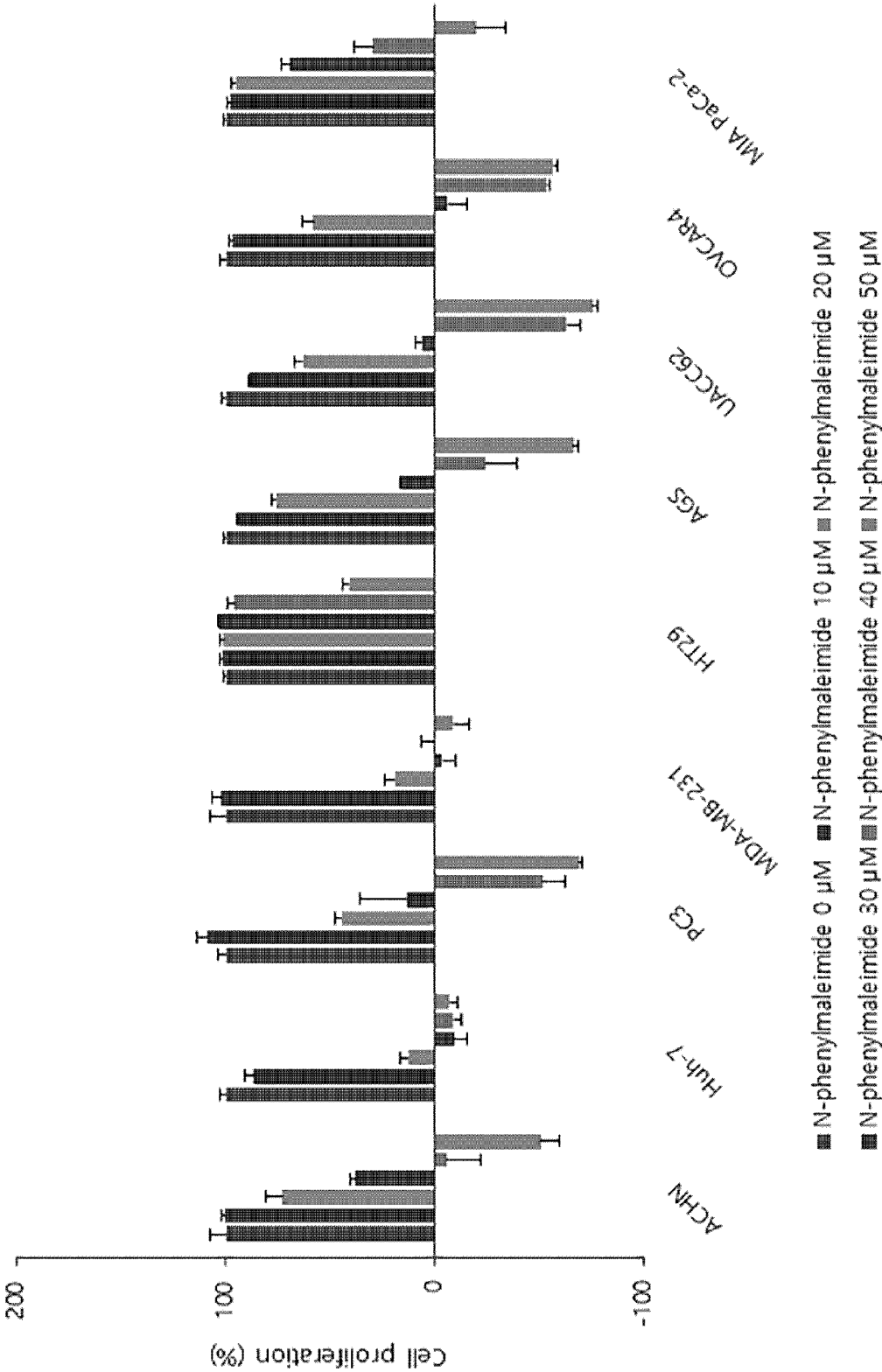
[도10]



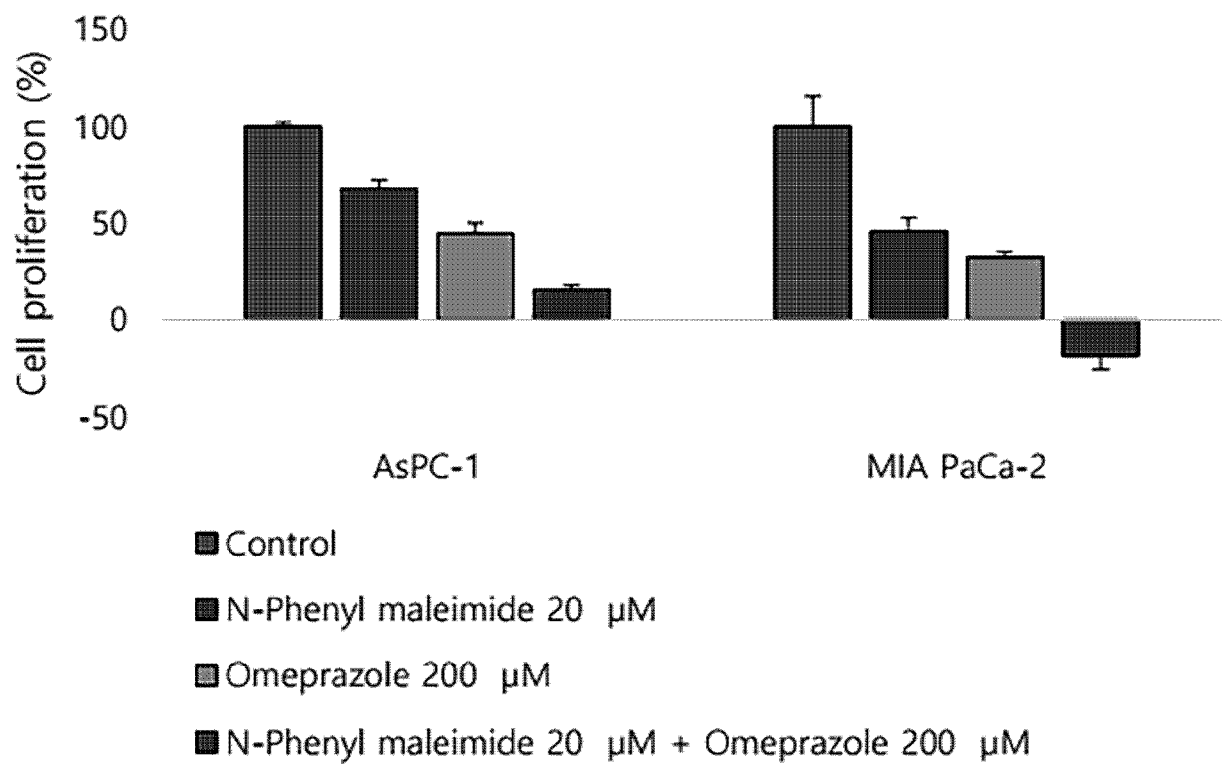
[도 11]



[도 12]

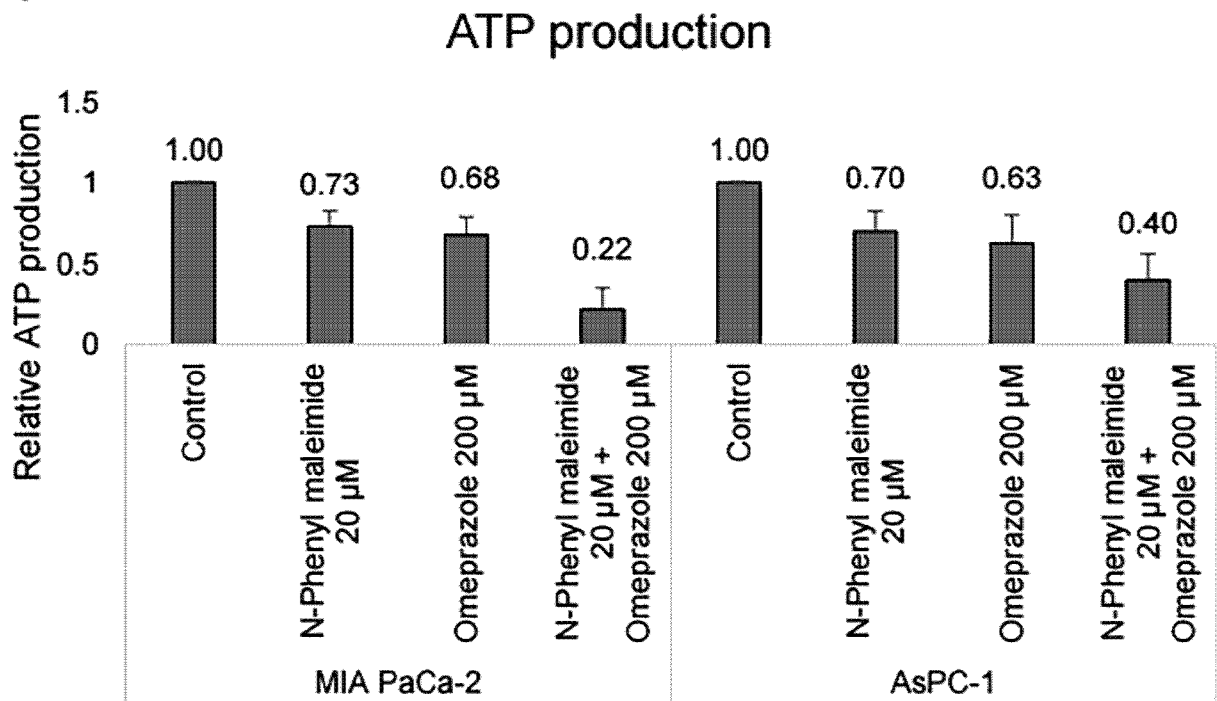


[도13]

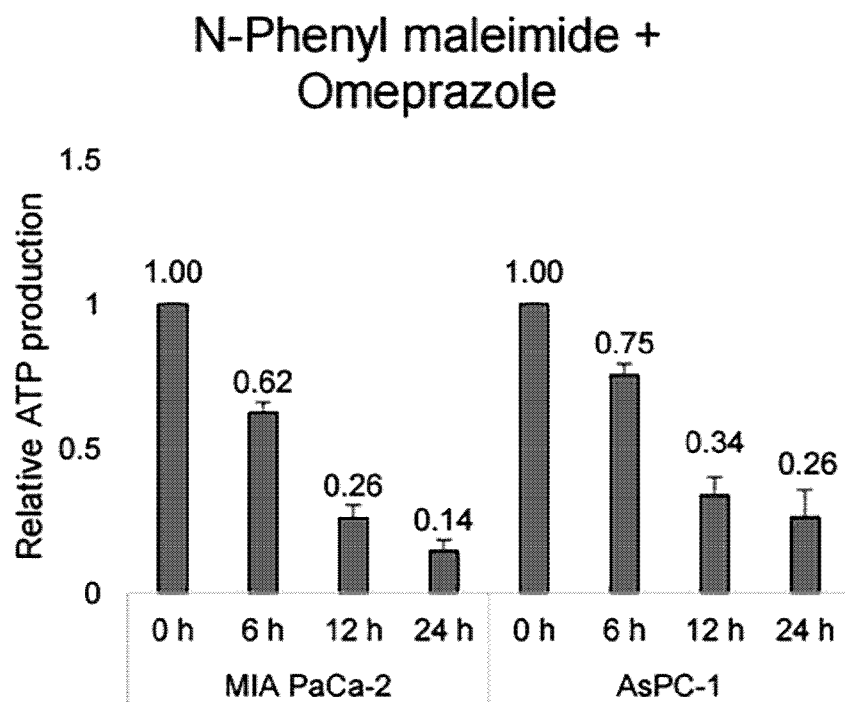


[도14]

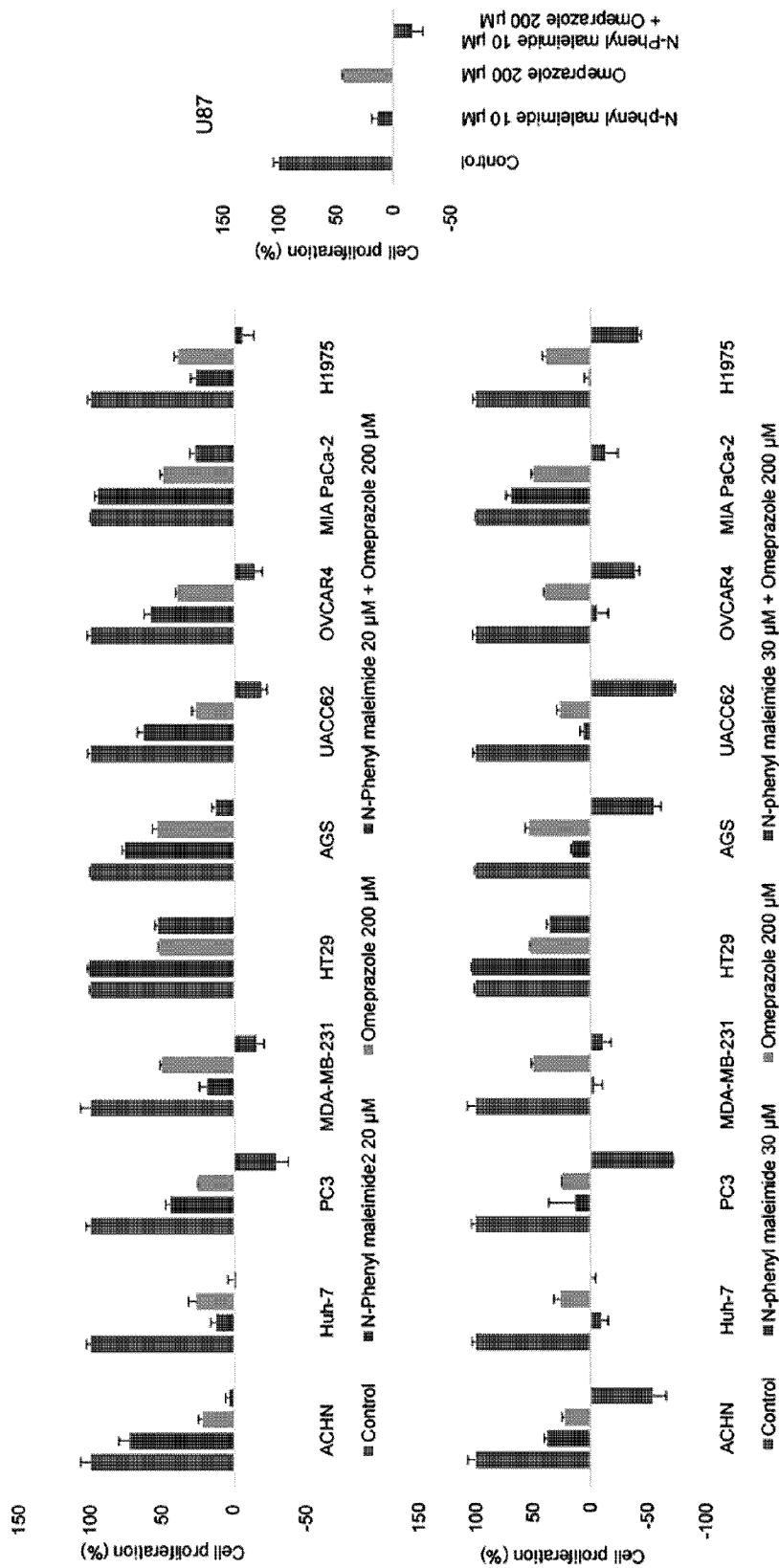
A



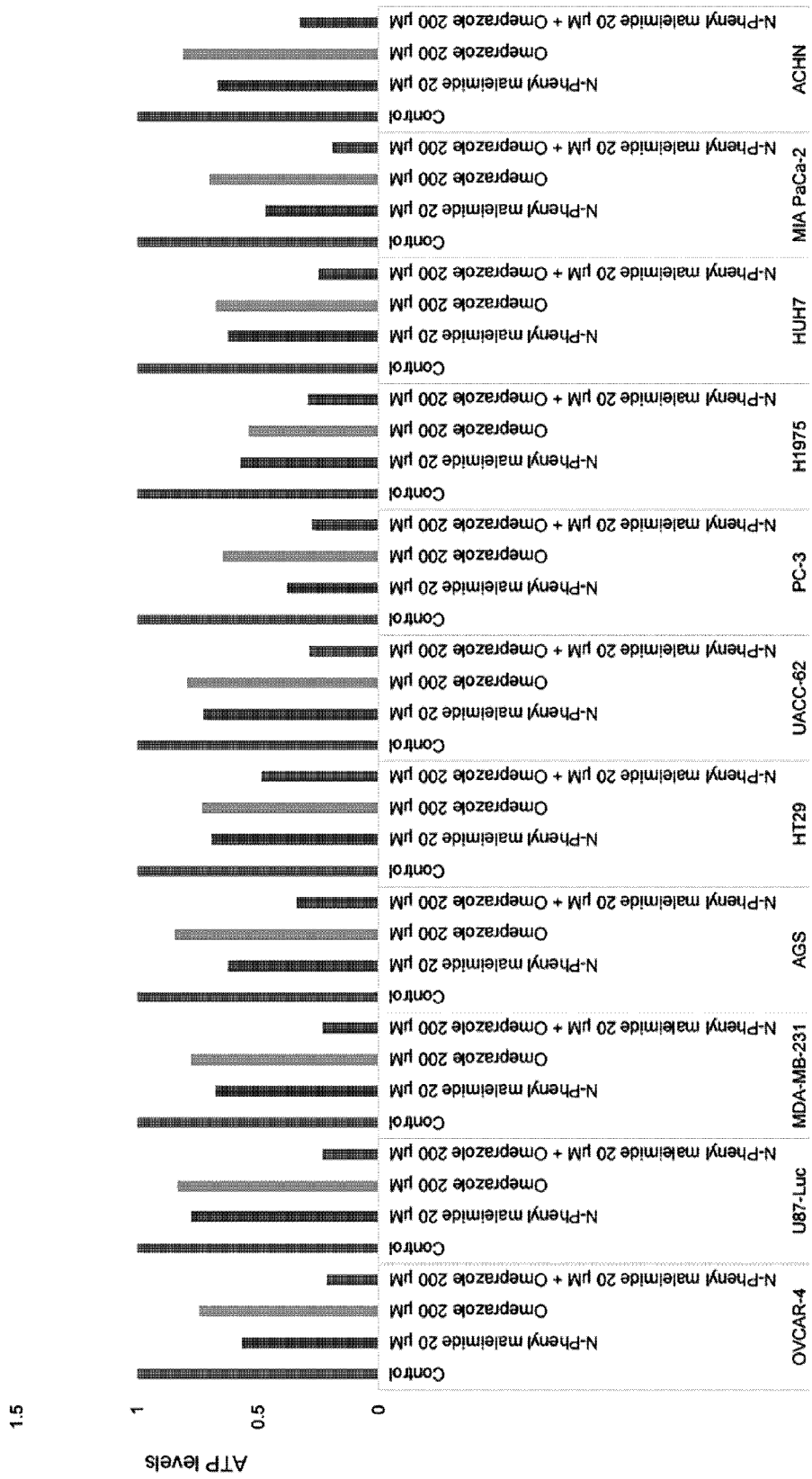
B



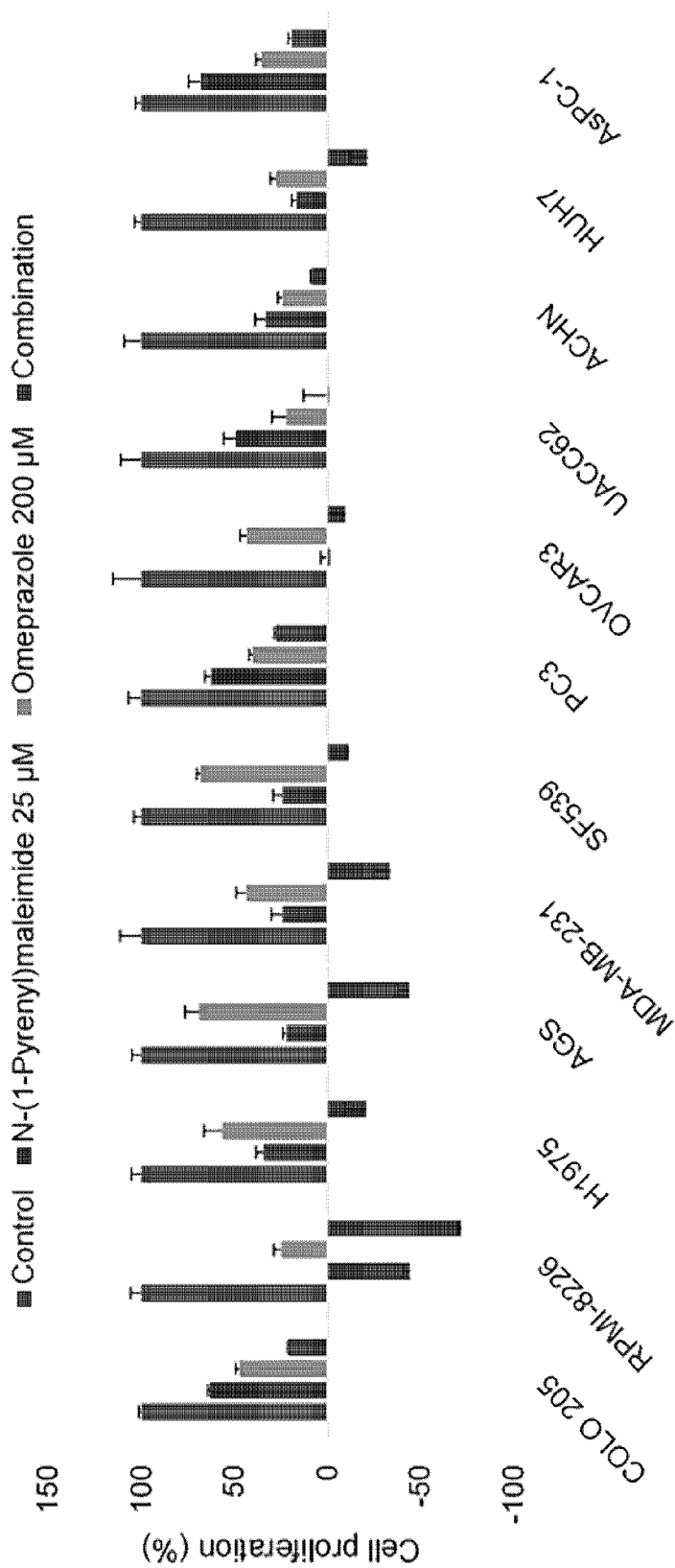
[도 15]



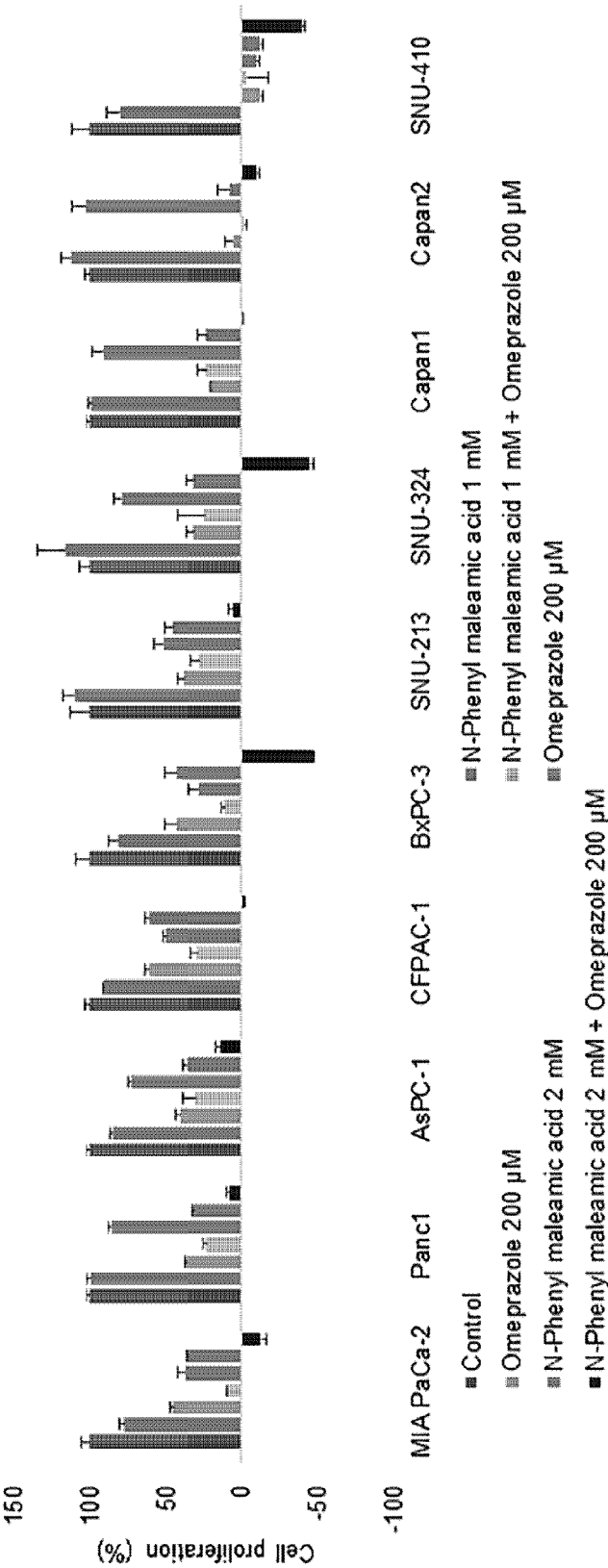
[도16]



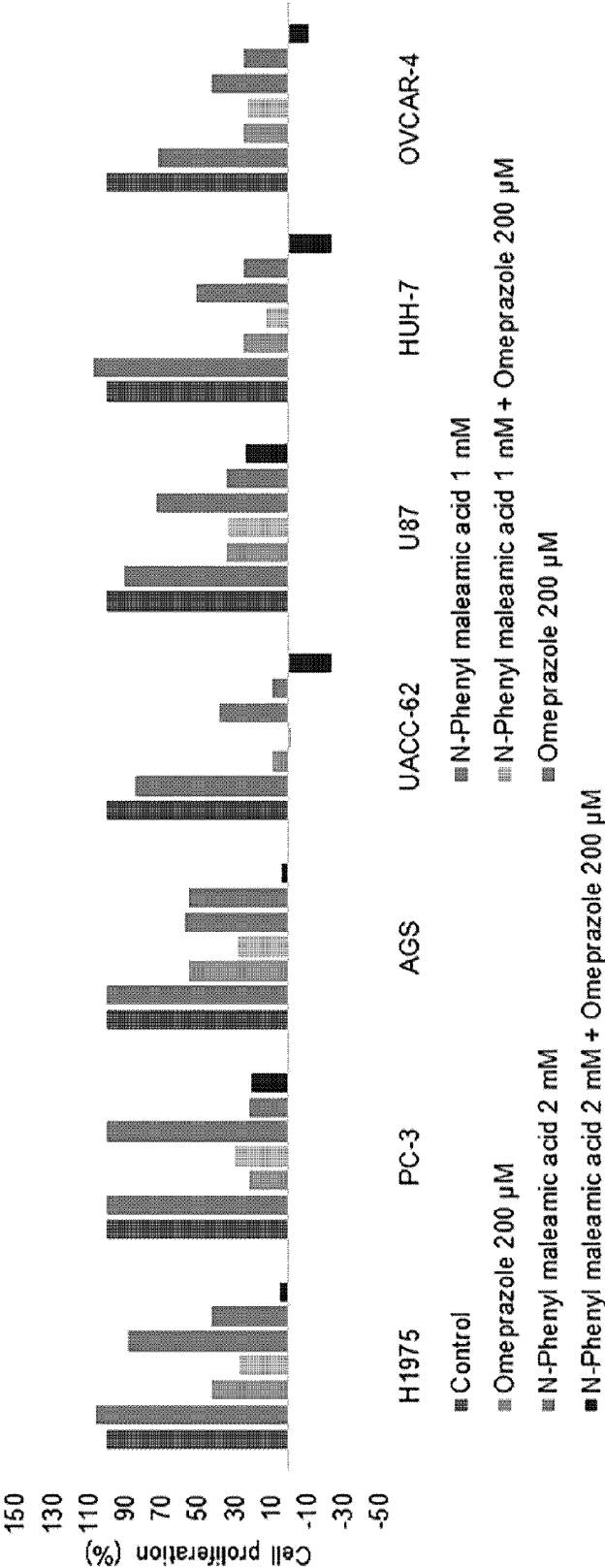
[도17]



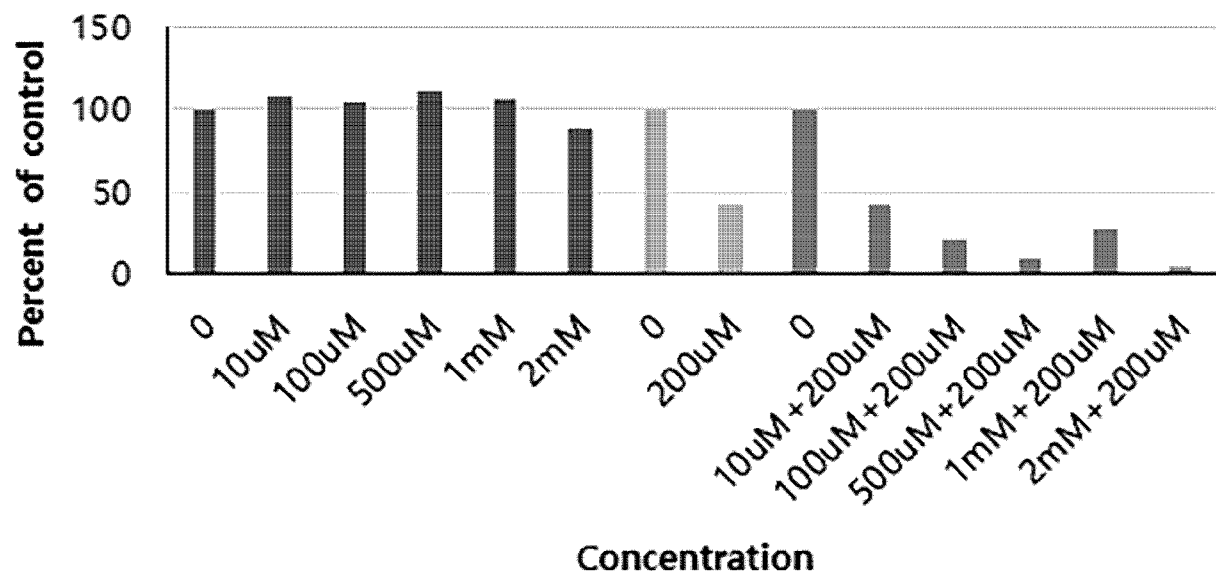
[도 18]



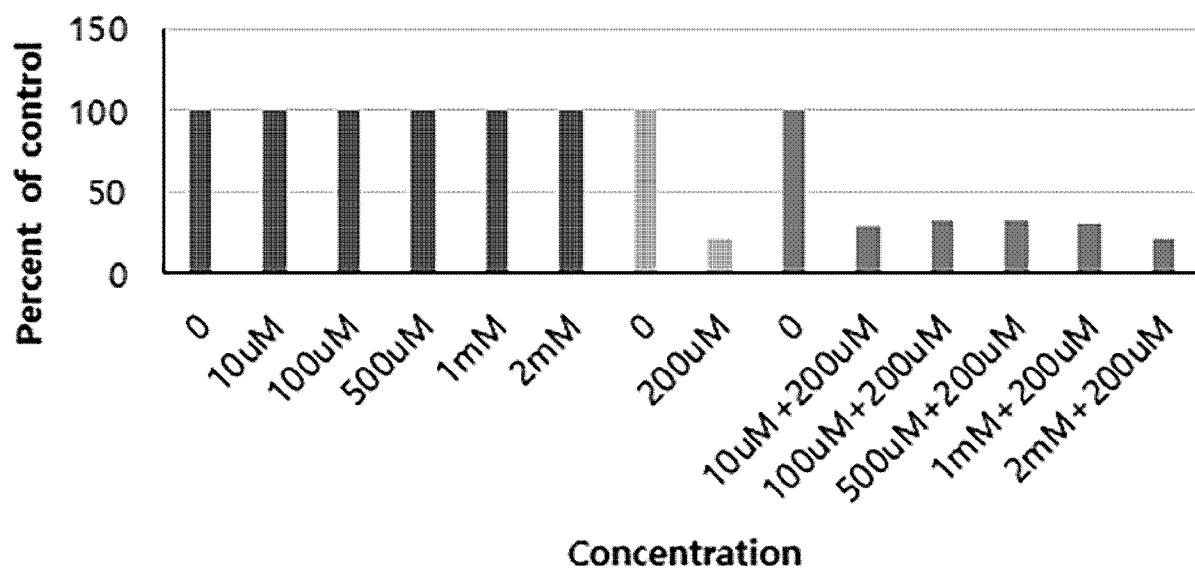
[도 19]



[도20]

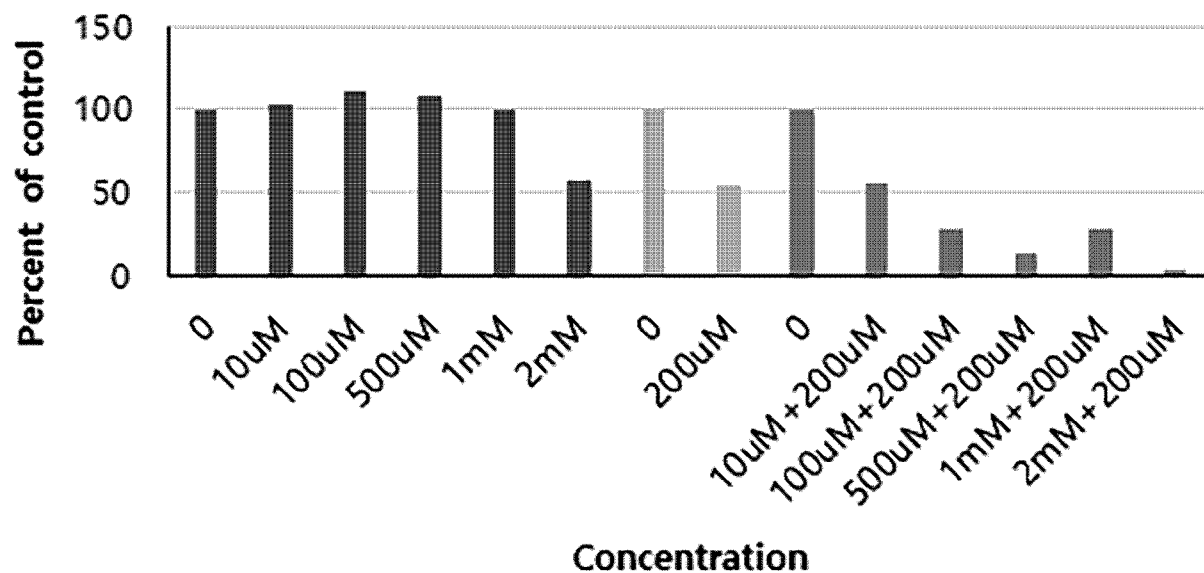
H1975

[도21]

PC-3

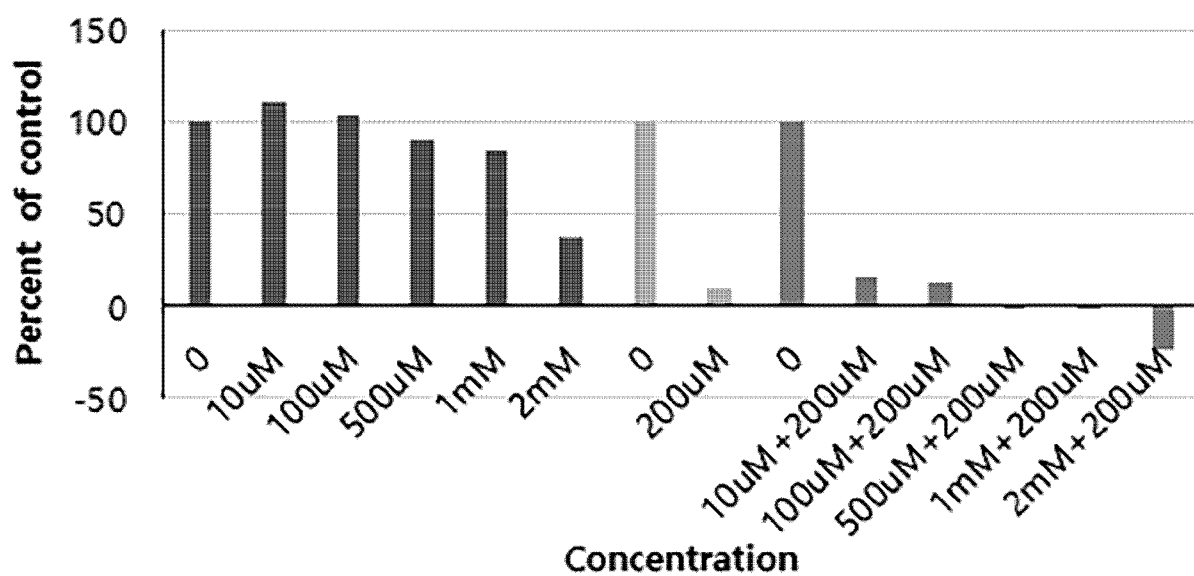
[도22]

Ags



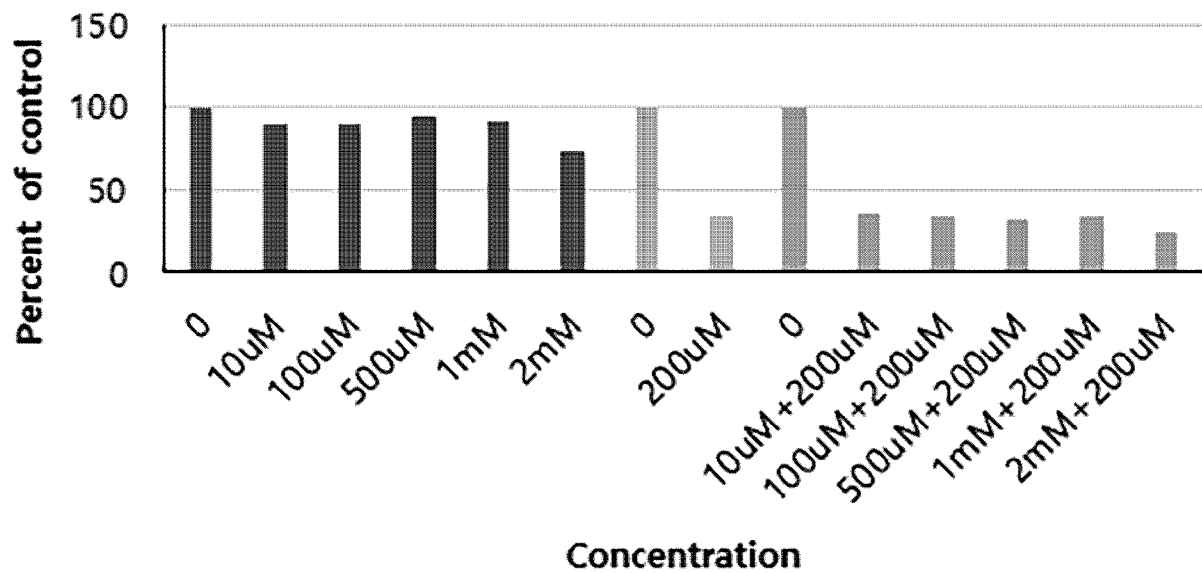
[도23]

UACC-62



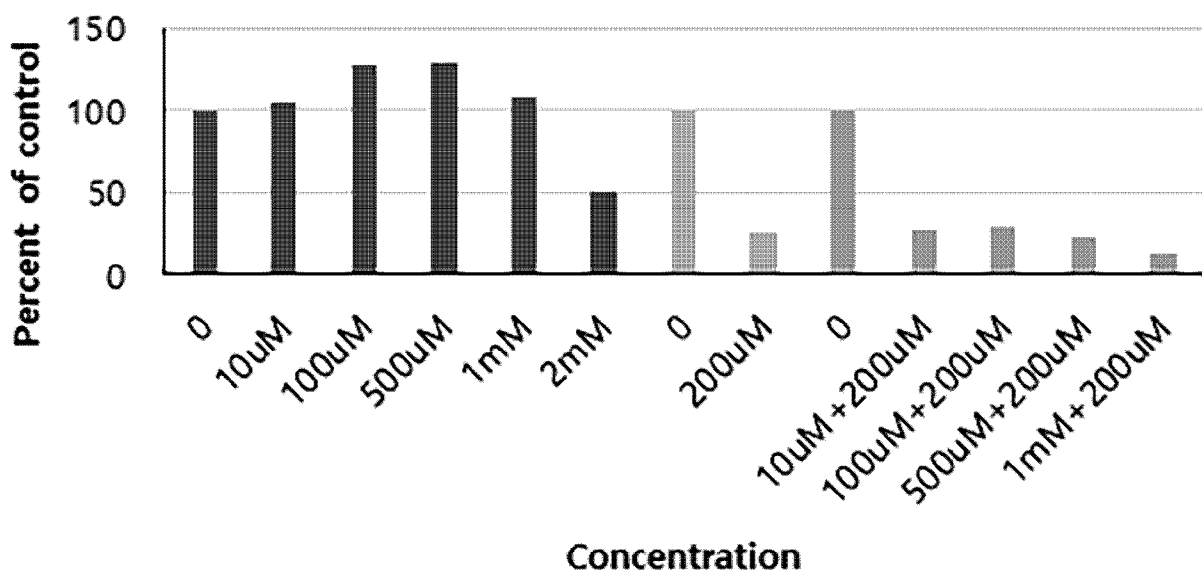
[도24]

U87



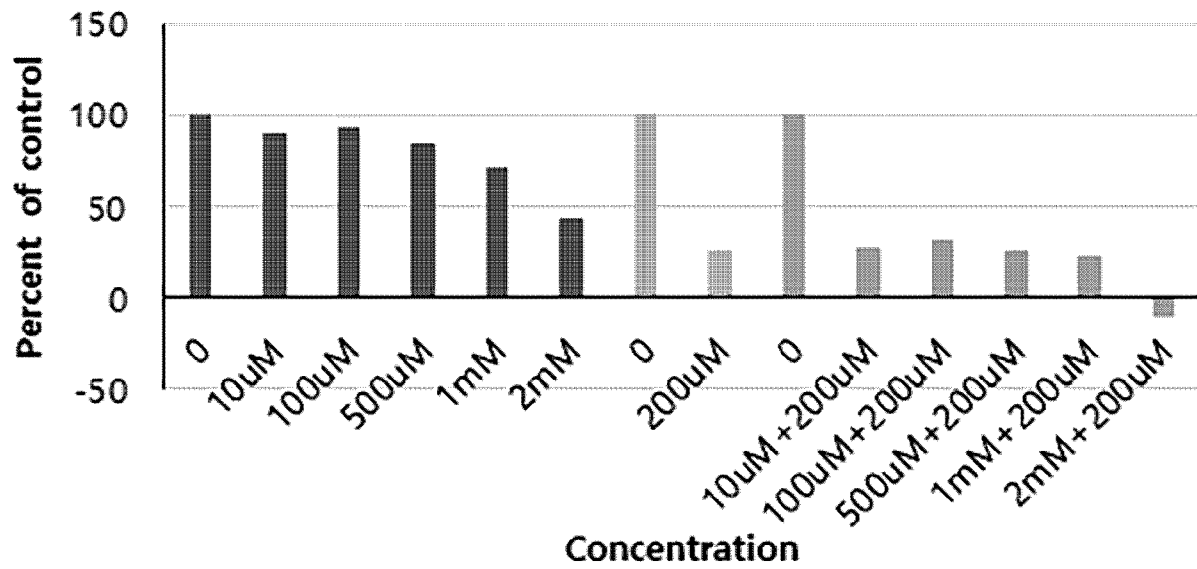
[도25]

Huh7

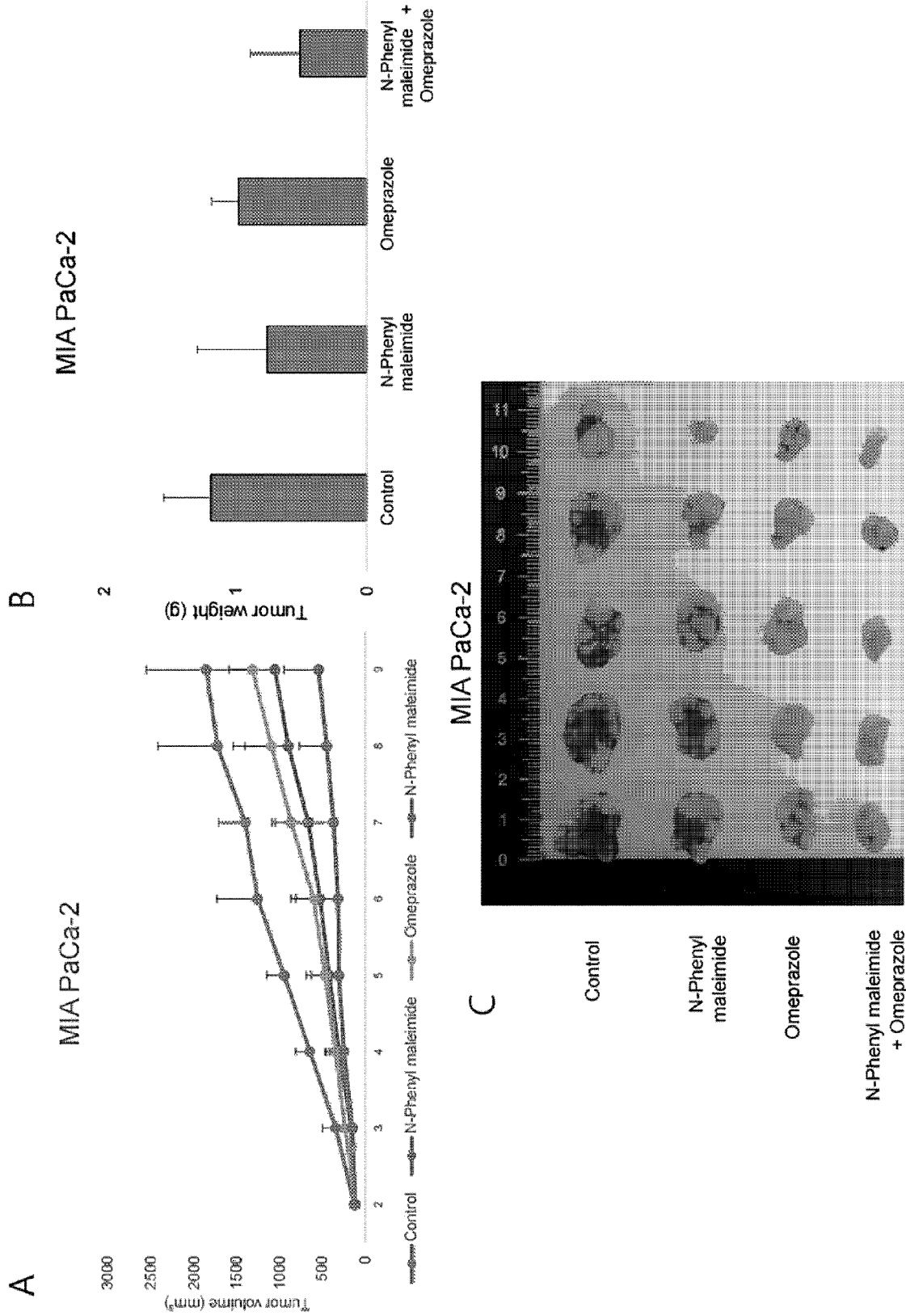


[도26]

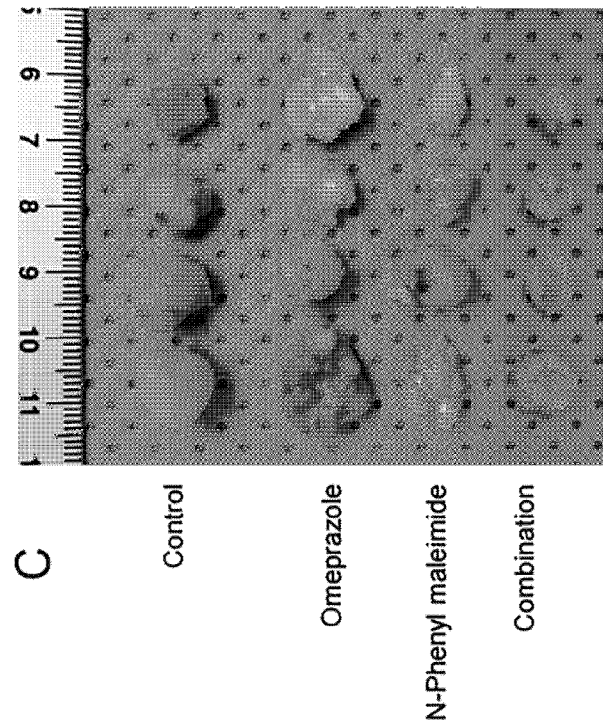
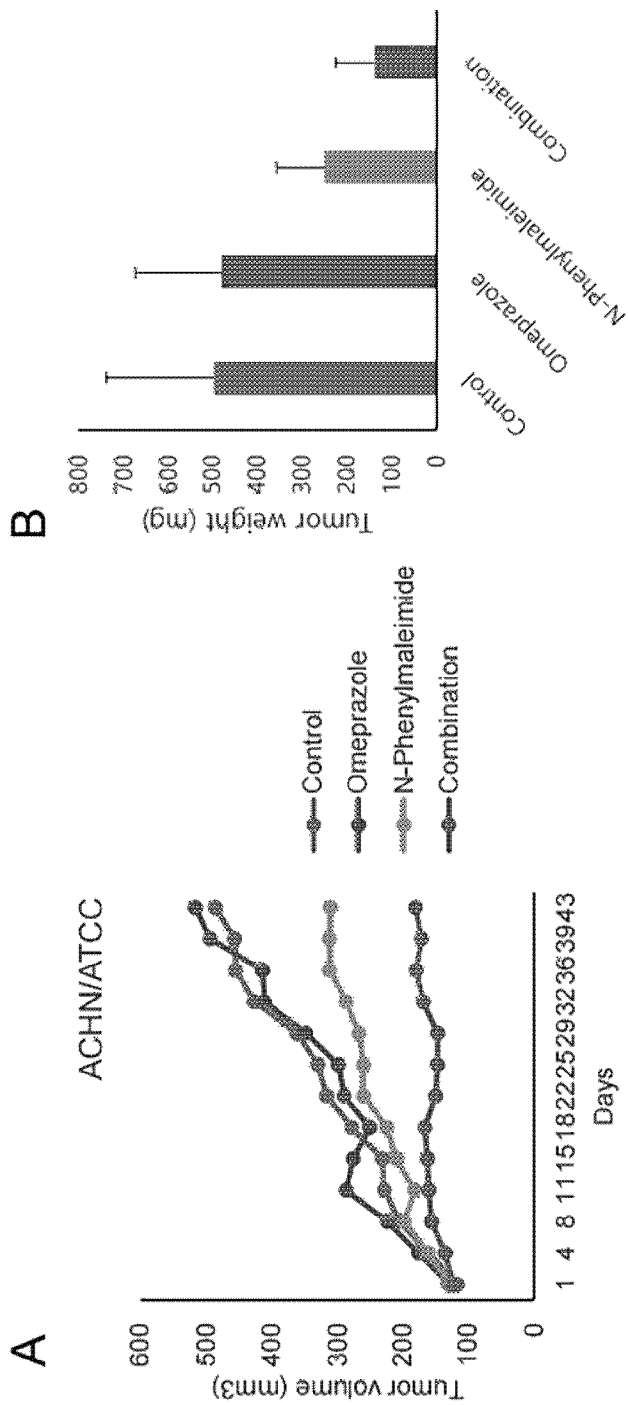
OVACR-4



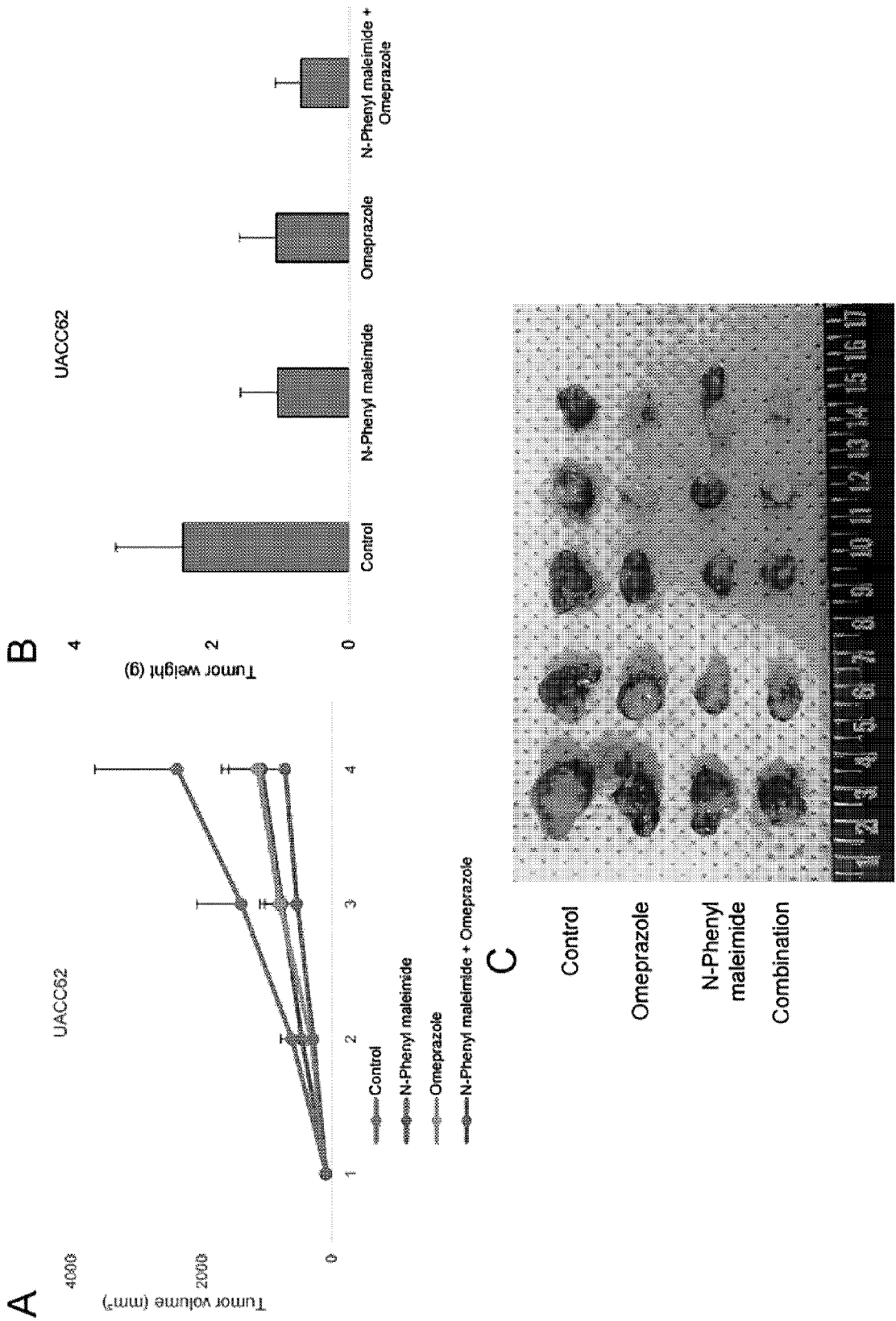
[도27]



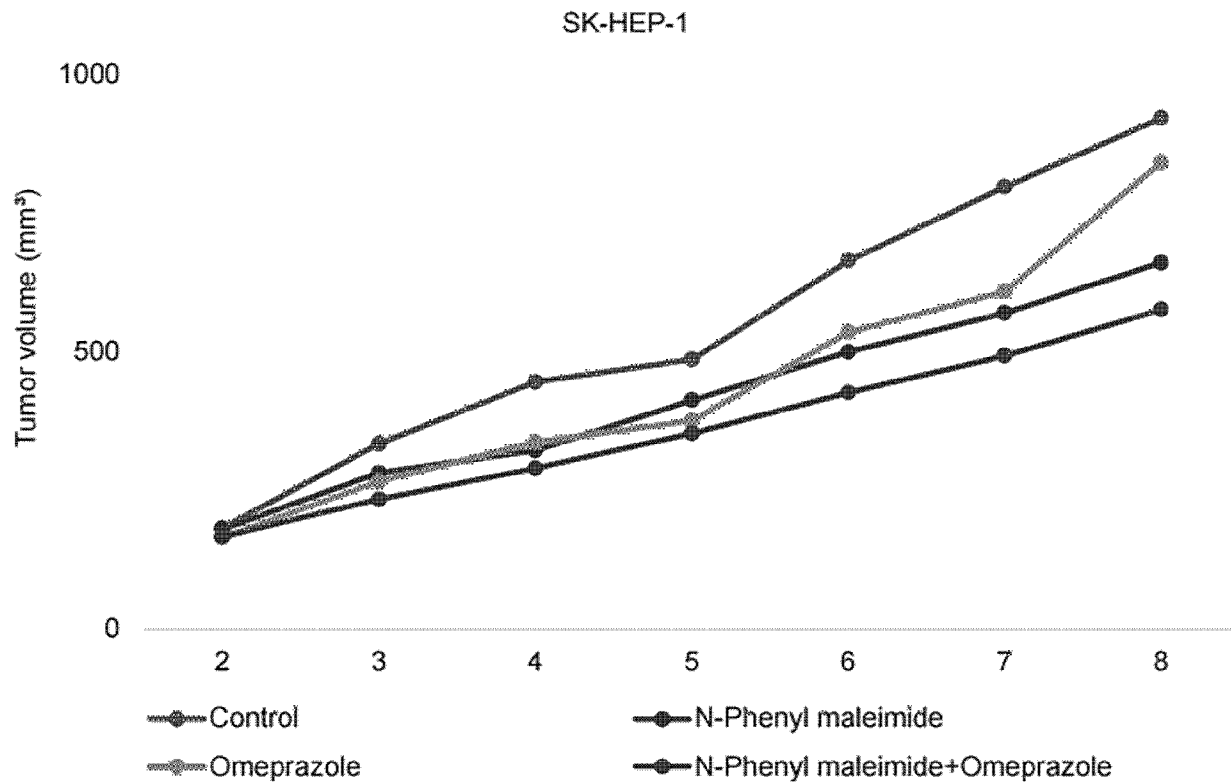
[도28]



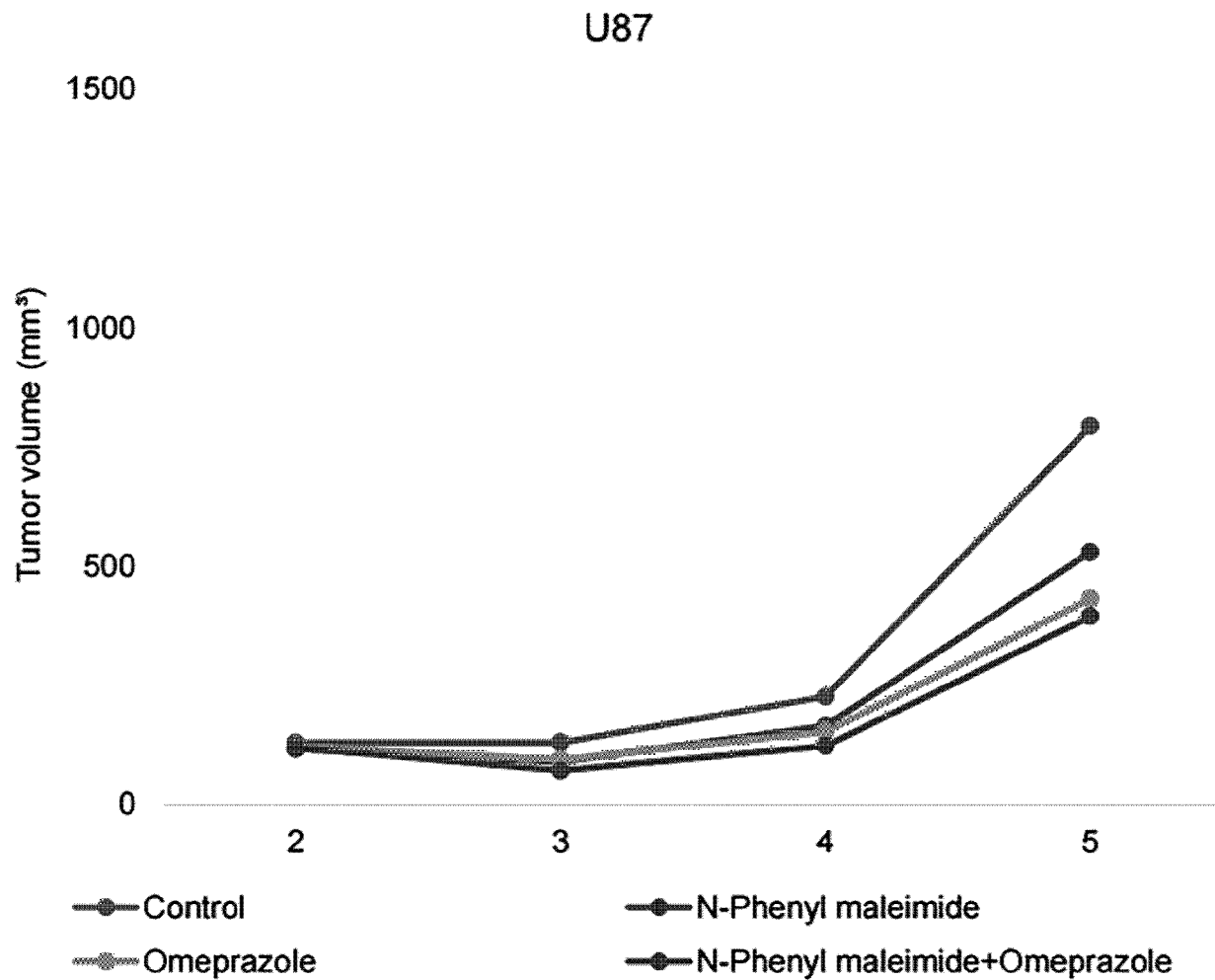
[도29]



[도30]

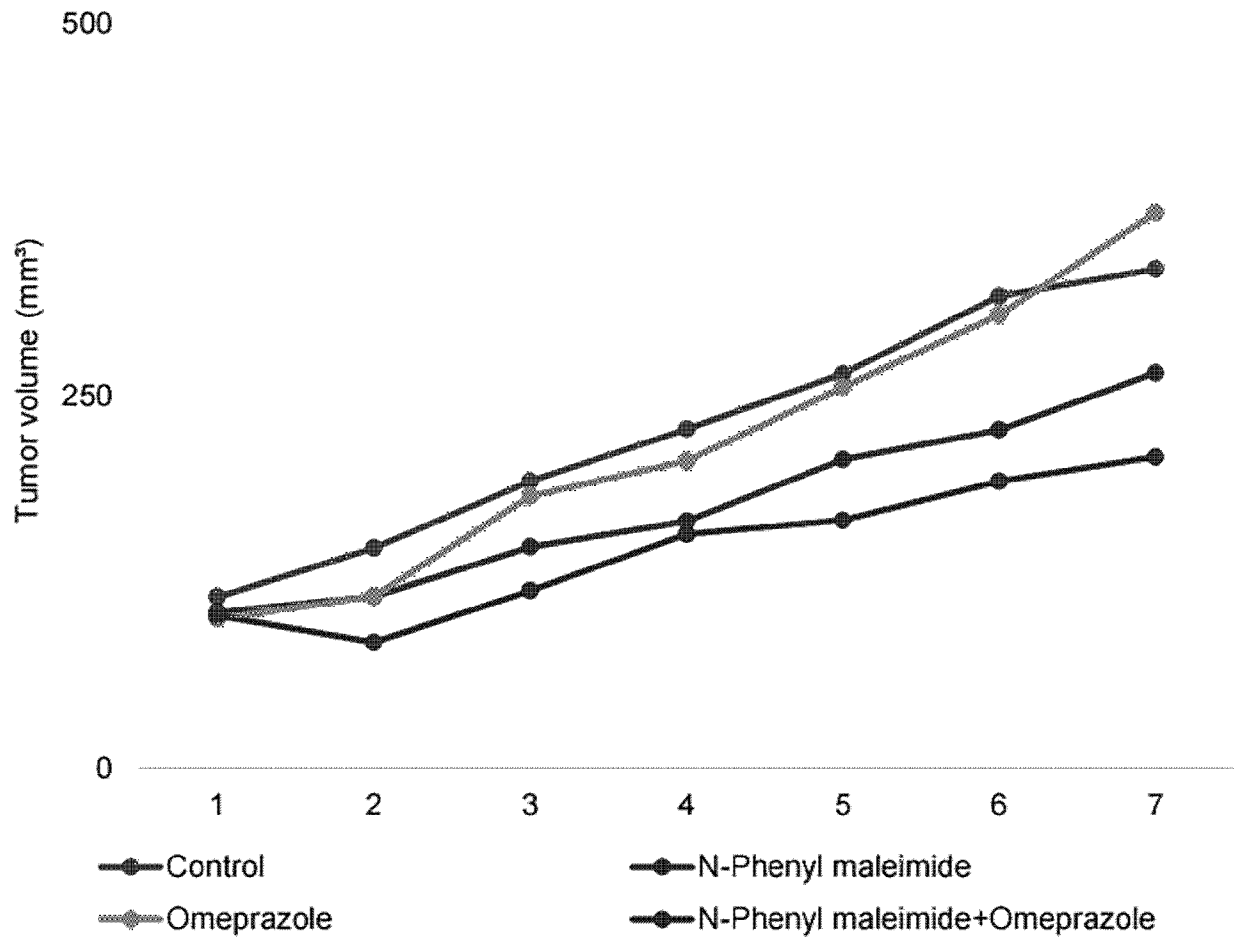


[도31]



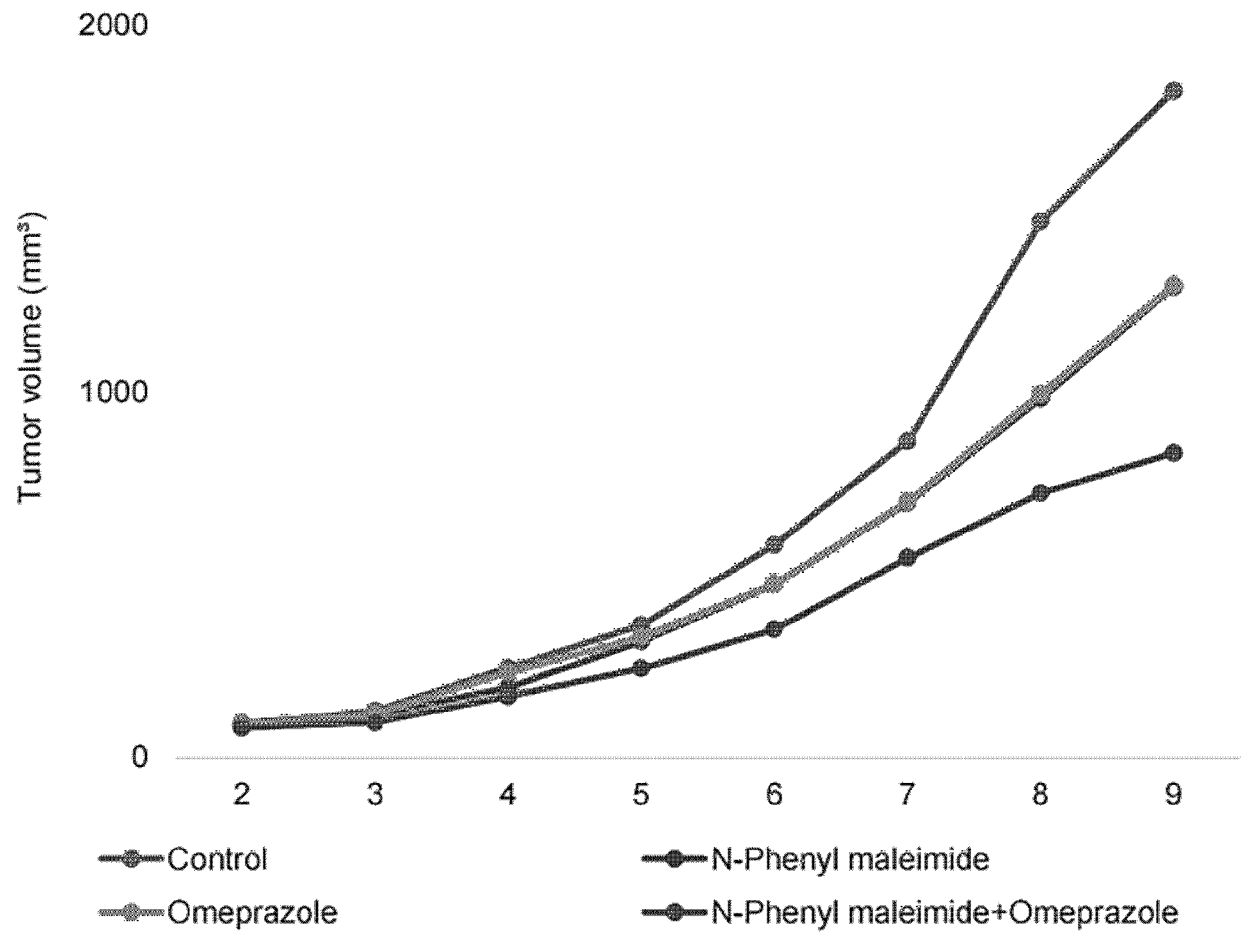
[도32]

SNU-638



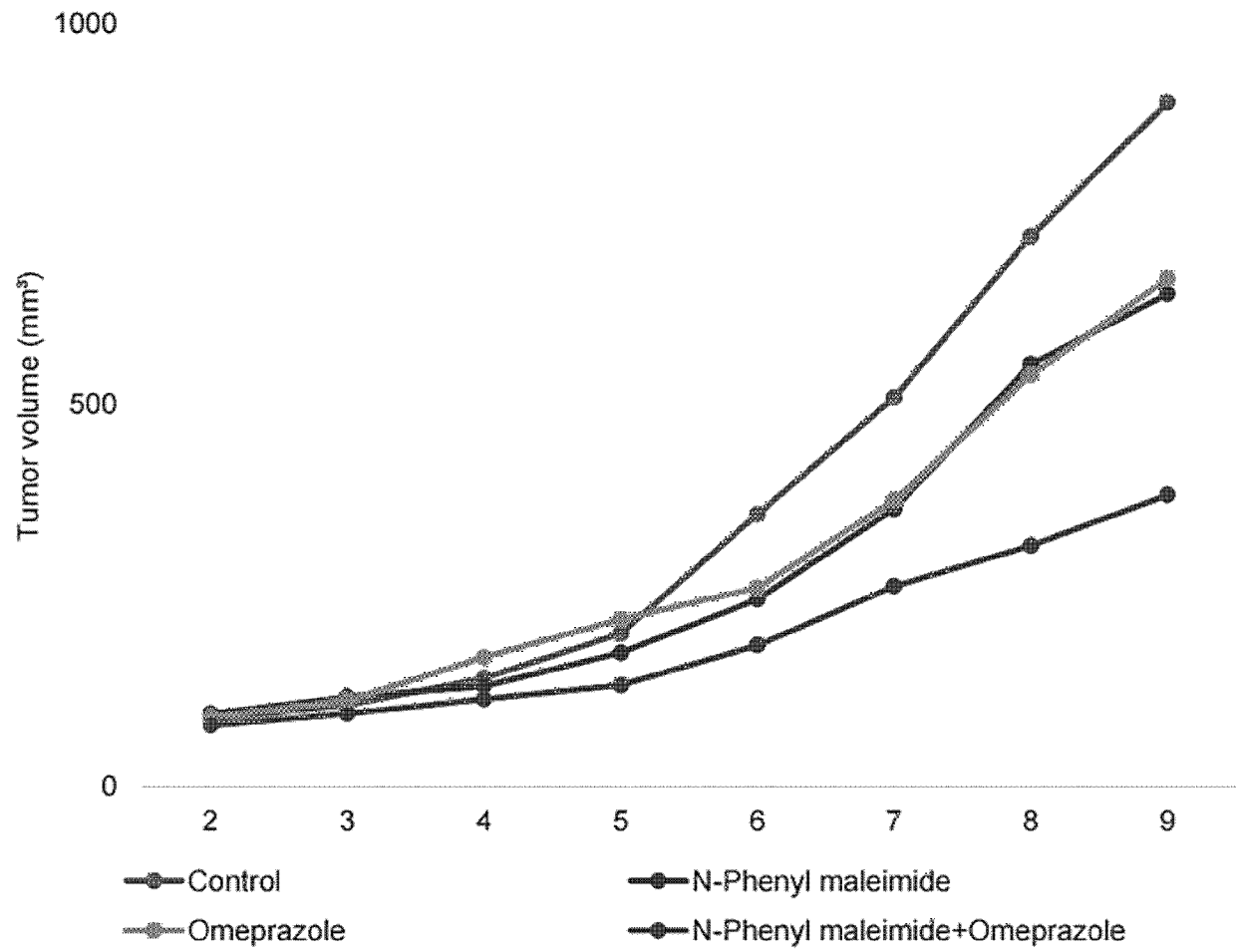
[도33]

HCT-116



[도34]

OVCAR-8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/013369

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/194(2006.01)i, A61K 31/4439(2006.01)i, A61K 31/495(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/194; A61K 31/11; A61K 31/277; A61P 35/00; A61K 31/4439; A61K 31/495

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), STN (Registry, Caplus), Google & Keywords: Malate Aspartate Shuttle, Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle, Cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CORBET, C. et al. Acidosis drives the reprogramming of fatty acid metabolism in cancer cells through changes in mitochondrial and histone acetylation. <i>Cell Metabolism</i> . 2016, vol. 24, pages 311-323 See abstract; page 317; figure 6.	1-6
A		7-9
X	US 2013-0023587 A1 (SCHROEDER, T. et al.) 24 January 2013 See claims 11-16.	7-9
X	ROSOLEN, D. et al. N-phenylmaleimides affect adipogenesis and present antitumor activity through reduction of FASN expression. <i>Chemico-Biological Interactions</i> . 2016, vol. 258, pages 10-20 See abstract; figure 1.	7-9
X	MATUSZAK, N. et al. Dual inhibition of MAGL and type II topoisomerase by N-phenylmaleimides as a potential strategy to reduce neuroblastoma cell growth. <i>European Journal of Pharmaceutical Sciences</i> . 2012, vol. 45, pages 263-271 See abstract; table 1; figure 4.	7-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 JANUARY 2020 (29.01.2020)

Date of mailing of the international search report

29 JANUARY 2020 (29.01.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/013369

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ELGOGARY, A. et al. Combination therapy with BPTES nanoparticles and metformin targets the metabolic heterogeneity of pancreatic cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2016, vol. 113, pages E5328-E5336 See abstract; page E5333, right column, paragraph [1].	1-6
PX	WO 2018-190676 A1 (NATIONAL CANCER CENTER) 18 October 2018 See claims 1-15.	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/013369

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **10-17**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 10-17 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, (as well as a diagnostic method) (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv)).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/013369

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2013-0023587 A1	24/01/2013	WO 2011-123788 A1	06/10/2011
WO 2018-190676 A1	18/10/2018	KR 10-2018-0116160 A	24/10/2018
		KR 10-2041042 B1	05/11/2019

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/194(2006.01)i, A61K 31/4439(2006.01)i, A61K 31/495(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/194; A61K 31/11; A61K 31/277; A61P 35/00; A61K 31/4439; A61K 31/495

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부검색 시스템), STN (Registry, Caplus), Google & 키워드: 말산-아스파르트산 왕복수송 (Malate Aspartate Shuttle), 카르니틴 아실카르니틴 운반자 수송 (Carnitine Acylcarnitine Carrier Shuttle), 암 (cancer)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	CORBET, C. 등, "Acidosis drives the reprogramming of fatty acid metabolism in cancer cells through changes in mitochondrial and histone acetylation", Cell Metabolism, 2016, 24권, 페이지 311-323 초록; 페이지 317; 도면 6	1-6
A		7-9
X	US 2013-0023587 A1 (SCHROEDER, T. 등) 2013.01.24 청구항 11-16	7-9
X	ROSOLEN, D. 등, "N-Phenylmaleimides affect adipogenesis and present antitumor activity through reduction of FASN expression", Chemico-Biological Interactions, 2016, 258권, 페이지 10-20 초록; 도면 1	7-9
X	MATUSZAK, N. 등, "Dual inhibition of MAGL and type II topoisomerase by N-phenylmaleimides as a potential strategy to reduce neuroblastoma cell growth", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2012, 45권, 페이지 263-271 초록; 표 1; 도면 4	7-9

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 "X"에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 01월 29일 (29.01.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 01월 29일 (29.01.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



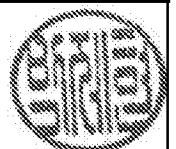
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

박제현

전화번호 +82-42-481-3349



C (계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	ELGOGARY, A. 등, “Combination therapy with BPTES nanoparticles and metformin targets the metabolic heterogeneity of pancreatic cancer” , Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016, 113권, 페이지 E5328-E5336 초록; 페이지 E5333, 우컬럼, 단락 1	1-6
PX	WO 2018-190676 A1 (NATIONAL CANCER CENTER) 2018.10.18 청구항 1-15	1-9

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 10-17
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 10-17은 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료방법 및 (진단방법)에 관한 것입니다 (PCT 제 17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)).
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

US 2013-0023587 A1

2013/01/24

WO 2011-123788 A1

2011/10/06

WO 2018-190676 A1

2018/10/18

KR 10-2018-0116160 A

2018/10/24

KR 10-2041042 B1

2019/11/05