



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0111069
(43) 공개일자 2023년07월25일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/352 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61K 51/10* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/352 (2023.05)
A61K 39/3955 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-0006826
- (22) 출원일자 2022년01월17일
 심사청구일자 2022년01월17일
- (71) 출원인
 한국원자력의학원
 서울특별시 노원구 노원로 75 (공릉동)
- (72) 발명자
 임일한
 서울특별시 노원구 한글비석로 91, 하계1차청구아파트 109동 1304호
- (74) 대리인
 나가라잔비노드
 서울특별시 노원구 마들로 59, 14동 401호
- (74) 대리인
 특허법인태평양

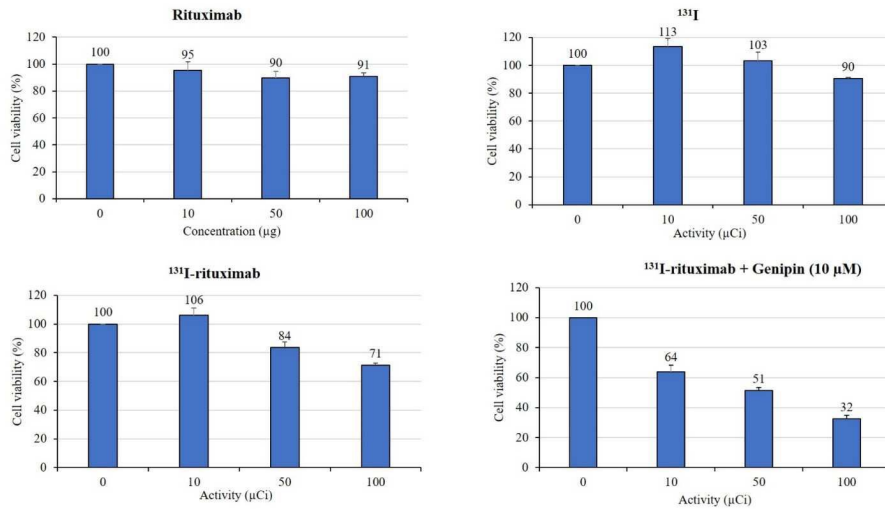
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 제니핀을 포함하는 암의 방사면역치료 보조제

(57) 요약

본 발명은 제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 보조제에 관한 것으로, 방사면역치료제와 제니핀을 함께 병용하여 투여하는 경우 방사면역치료효과를 현저히 향상시키는 효과가 있다. 따라서 본 발명은 정상세포에 주는 영향을 최소화하면서 효과적인 항암치료가 가능하여 혈액암 또는 림프종과 같은 비고형암을 치료하는데 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

- A61K 45/06 (2013.01)
- A61K 51/1027 (2020.05)
- A61K 51/1069 (2020.05)
- A61P 35/00 (2018.01)
- A61P 35/02 (2018.01)
- C07K 16/2887 (2013.01)
- A61K 2039/505 (2013.01)
- A61K 2300/00 (2023.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711139766
과제번호	2020R1A2C2102492
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	I-124 nivolumab 개발을 통한 PD-1 표적 면역관문억제제 치료효과 예측
기 여 율	50/100
과제수행기관명	한국원자력의학원
연구기간	2021.09.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711141097
과제번호	50541-2021
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국원자력의학원
연구사업명	한국원자력의학원연구운영비지원(R&D)(주요사업비)
연구과제명	방사선의학임상연구
기 여 율	50/100
과제수행기관명	한국원자력의학원
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 보조제.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 보조제는 방사면역치료제와 병용 투여되는 것인, 암의 방사면역치료 보조제.

청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 보조제는 방사면역치료제와 동시에, 별도로, 또는 순차적으로 병용 투여되는 것인, 암의 방사면역치료 보조제.

청구항 4

청구항 2에 있어서,

상기 방사면역치료제는 방사성동위원소로 표지된 항체인 것인, 암의 방사면역치료 보조제.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 항체는 항-CD20 항체인 것인, 암의 방사면역치료 보조제.

청구항 6

청구항 4에 있어서,

상기 방사성동위원소는 Cu-67, Y-90, Pb-103, Sn-117m, Ho-166, I-131, Lu-177, Re-188, At-211, Bi-213, Ra-223, Ac-225, Th-227, 및 In-111으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상인, 암의 방사면역치료 보조제.

청구항 7

청구항 1에 있어서,

상기 암은 혈액암 또는 림프종인 것인, 암의 방사면역치료 보조제.

청구항 8

제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 증진용 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 조성물은 방사면역치료제와 병용 투여되는 것인, 암의 방사면역치료 증진용 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서,

상기 방사면역치료제는 방사성동위원소로 표지된 항체인 것인, 암의 방사면역치료 증진용 조성물.

청구항 11

제니핀 및 방사면역치료제를 유효성분으로 포함하는 암의 치료 또는 예방용 약학적 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서,

상기 방사면역치료제는 방사성동위원소로 표지된 항체인 것인, 암의 치료 또는 예방용 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 제니핀(Genipin)을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 보조제 및 방사면역치료 증진용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 암은 생체 조직 안에서 세포가 무제한으로 증식하여 악성 종양을 일으키는 병으로, 결국에는 주위의 조직을 침범하거나 다른 장기에 전이하여 생체를 죽음에 이르게 한다. 유전성 원인파, 이외에도 물리적 자극, 화학적 자극, 바이러스 감염 등이 원인이며 완치 되기 어렵다.

[0004] 암의 치료 방법은 방사선을 이용한 치료, 항암제를 이용한 화학요법 및 종양 특이적 항체와 치료용 방사성 동위원소를 결합한 방사면역치료법 등이 있다. 방사선을 이용한 치료는 부작용의 발생 빈도가 높아, 그 사용이 제한적이라는 문제점이 있다. 특히, 외과적 수술을 통하여 치료하기 어려운 경우 방사선을 이용하여 치료를 진행하게 되는데, 정상적인 장기의 손상을 최소화하고 치료 효과를 높이기 위하여 암의 병기와 발병 위치 등에 따라 방사선을 조절하여야 한다. 암세포에 대한 방사선 치료시 개인별 또는 조직별 감수성의 차이가 존재하지만, 상기 방사선에 대한 감수성을 증진시킬 수 있다면 환자에게 더 적은 양의 방사선을 조사하여 동일한 치료 효과를 얻을 수 있다.

[0005] 방사면역치료(radioimmunotherapy, RIT)는 종양 에피토프에 특이적인 단일클론항체에 베타선을 방출하는 치료용 방사성 동위원소(I-131, Y-90, Lu-177 등)를 표지하여 단일클론항체가 가지는 항암 효과와 세포독성(cytotoxic)을 나타내는 방사선을 조합 사용함으로써 치료 효과를 극대화시킬 수 있는 치료법이다. 방사면역치료법은 종양에 대한 항체의 표적 치료(targeted therapy) 및 방사선에 의한 암 치료 효과에 의한 암 치료의 시너지 효과를 기대할 수 있다. 이에 따라 방사면역치료제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나, 일부 환자나, 암의 종류나 진전 정도에 따라 방사면역치료의 반응성이 낮은 경우도 발생하고 있다.

[0006] 제니핀은 치자나무(Gardenia jasminoides)에 존재하는 제니포사이드(geniposide)로 알려진 이리도이드 배당체(iridoid glycoside)로부터 유래되는 비당질 배당체(aglycone)의 일종으로서, 일반적으로 사용되고 있는 합성

가교제보다 독성이 낮기 때문에 우수한 천연 단백질 가교제로 많이 사용되고 있다. 제니핀은 위산의 분비를 촉진하고 노화 연관 인슐린 저항성을 완화시키는 것으로 알려져 있다. 또한, 제니핀은 간 질환에서는 이담작용에 도움을 주는 것으로도 알려져 있으며, 최근 연구에서는 제니핀이 항염증 및 항혈관형성 억제역할을 가지는 것이 보고되었다(비특허문헌 1 및 비특허문헌 2). 그러나, 제니핀이 방사면역치료제를 이용한 항암 치료에서 치료 효과를 향상시킬 수 있음을 보여주는 문헌은 아직까지 보고된 바가 없다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0008] (비특허문헌 0001) Koo et al., Eur J Pharmacol, 495, 201-208, 2004
- (비특허문헌 0002) Nam et al., Int Immunopharmacol, 10, 493-499, 2010

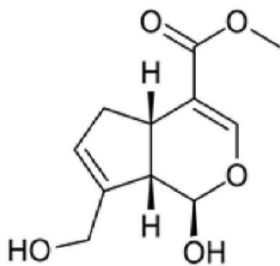
발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명자들은 방사면역치료제의 암 치료효과를 증대시킬 수 있는 병용제를 개발하기 위해 연구 노력한 결과, 제니핀을 방사면역치료제와 함께 병용 사용하는 경우, 방사면역치료제의 치료 효과가 상승적으로 증가됨을 실험적으로 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0010] 따라서, 본 발명은 제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 보조제를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 증진용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 제니핀 및 방사면역치료제를 유효성분으로 포함하는 암의 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명의 일 측면은, 제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 보조제를 제공한다.
- [0014] 상기 제니핀(genipin)은 하기 화학식 1의 구조를 가지며, 천연으로부터 정제하거나, 상업적으로 구입하여 사용하거나 또는 당업계에서 공지된 화학적 합성법으로 제조할 수 있다.
- [0015] [화학식 1]



- [0016]
- [0017] 상기 제니핀은 이리도이드 배당체 계통의 천연 성분인 제니포사이드(geniposide)의 비당부분으로서 치자나무 과실(치자)의 주요 약리 효능을 나타내는 성분이다. 치자는 독성이 전혀 없는 무공해 천연염료 또는 식용색소로 노란색을 내는 등 음식에서 많이 사용되고 있으며 약용으로도 널리 쓰인다. 또한 치자는 한방에서 소염제, 해열제, 이뇨제 및 지혈제로 오랫동안 사용되어 왔다. 이와 같이 제니핀은 천연물인 치자에서 유래한 것으로 안정성이 입증되었다는 장점이 있다.
- [0018] 일 구현예에서, 상기 '암의 방사면역치료 보조제'는 방사면역치료제와 병용 투여될 수 있다. 상기 보조제의 병용 투여는 방사면역치료제와 동시에, 별도로 또는 순차적으로 병용 투여되는 것일 수 있다.
- [0019] 상기 제니핀을 포함하는 보조제는 방사면역치료제와 병용 투여됨으로써 방사면역치료제의 암 치료 또는 예방 효

과를 상승적으로 향상시킬 수 있다.

- [0020] 본 발명의 보조제는 방사면역치료제를 이용한 항암 치료법에 있어서, 방사면역치료제와 상승적(synergistic) 치료 효과를 나타내는 것 또는 암에 대한 방사면역치료제의 항암 효과를 증진시키는 것일 수 있다. 상기 암에 대한 방사면역치료제의 항암 효과 증진은 방사면역치료제의 치료 민감도 또는 방사선 감수성을 향상시키는 것일 수 있다. 방사면역치료제의 치료 민감도 또는 감수성이란 방사선 치료에 대한 치료 반응의 정도를 의미하며, 적은 양의 방사선에 대해 높은 치료 효과를 나타내는 경우에 민감도 또는 감수성이 높은 것으로 설명된다. 본 발명에서 보조제를 방사면역치료제와 병용하는 경우, 보조제를 병용하지 않을 때의 사용량 보다 더 적은 용량의 방사면역치료제를 처리하여도, 더 많은 양의 방사면역치료제를 사용한 경우와 동등한 항암 효과가 나타나는 것을 의미할 수 있다. 또는, 상기 보조제를 방사면역치료제와 병용하는 경우, 동등한 용량의 방사면역치료제를 단독으로 사용하는 것과 대비하여, 더 우수한 항암 효과를 나타내는 것을 의미할 수 있다.
- [0021] 본 발명에서 방사면역치료(radioimmunotherapy, RIT)는 방사성 물질을 면역치료제에 결합시켜 체내에 주입하는 방사선 요법의 일종으로, 암세포 표면에 위치한 표적 항원에 특이적으로 결합될 수 있는 면역치료제(예를 들어, 단일클론항체)에 방사성동위원소를 결합시킨 표적 방사선치료법이다. 방사면역치료는 표적 항원을 가진 암세포를 특이적으로 치료할 수 있어, 정상세포에 미치는 영향을 최소화하고 항암 효과를 높일 수 있는 장점이 있다.
- [0022] 본 발명에서 방사면역치료제는 방사면역치료에 사용하는 약물일 수 있으며, 구체적으로 방사성추적자(radiotracer)라고 불리는 방사성 물질과 짝을 이루는 항체일 수 있으며, 보다 구체적으로는 방사성 동위원소로 표지된 항체일 수 있다.
- [0023] 상기 항체는 항원에 특이적으로 결합하고 인식하는 면역글로불린 유전자 또는 그의 단편으로부터의 골격 영역을 포함하는 폴리펩티드이며, 예를 들어, 단일클론항체, 다클론항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체를 포함한다. 상기 단일클론항체는 단일 B세포 클론으로부터 유도된 항체를 의미하고, 다클론항체는 서로 다른 B세포 클론으로부터 생성분비되는 항체를 의미한다. 상기 키메라 항체는 다른 항원에 대한 2종류의 항체를 처리하여, 1분자에서 두 항원과 결합하도록 인공적으로 형성한 항체 분자를 의미한다. 또한, 상기 인간화 항체는 인간에 대한 면역원성은 낮으면서 비-인간 항체의 반응성을 보유하는 항체이다. 상기 인간화 항체는, 예를 들어 비-인간 CDR 영역을 보유시키고 항체의 나머지 부분들을 그들의 인간 대응물로 치환시킴으로써 수득될 수 있다. 상기 항체는 완전한 항체 형태뿐만 아니라, 항체 분자의 항원 결합 단편(항체 단편)도 포함된다. 완전한 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 구조이며, 각각의 경쇄는 중쇄와 다이설파이드 결합으로 연결되어 있다. 중쇄 불변영역은 감마(γ), 뮤(μ), 알파(α), 델타(δ) 및 엡실론(ϵ) 타입을 가지고 서브클래스로 감마1(γ 1), 감마2(γ 2), 감마3(γ 3), 감마4(γ 4), 알파1(α 1) 및 알파2(α 2)를 가진다. 경쇄의 불변영역은 카파(κ) 및 람다(λ) 타입을 가진다. 항체의 항원 결합 단편 또는 항체 단편이란 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며, Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv 등을 포함한다.
- [0024] 일 구현예에서, 상기 방사면역치료제는 방사성동위원소 표지된 항-CD20 항체일 수 있다. 상기 항-CD20 항체는 면역세포의 표면에 발현된 CD20 항원에 특이적으로 결합하는 항체일 수 있다. 상기 면역세포는 예를 들어 전성숙(pre-mature) 또는 성숙(mature) B 세포(B 림프구)일 수 있다.
- [0025] 상기 항-CD20 항체는 (Rituximab)일 수 있다.
- [0026] 일 구현예에서, 상기 방사면역치료제는 방사성동위원소 표지된 리투시맵(Rituximab)일 수 있다. 상기 리투시맵(상품명: 맵테라(mabthera), 트룩시마(Truxima))은 악성 B세포에 발현되는 CD20 항원을 표적으로 결합하며, 체내 면역 체계가 항체 표지된 B 세포를 용해함으로써 적응증인 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 베게너육아종증, 결절성다발성동맥염, 류마티스관절염에 약리작용을 일으킬 수 있다.
- [0027] 상기 방사성동위원소(radioactive isotope)는 알파입자, 중성자, 베타선, 감마선, 엑스선 등과 같은 방사선을 방출하여 안정된 원소로 붕괴하는 동위원소를 의미한다. 이들 중 알파입자, 베타선, 감마선을 방출하는 동위원소는 투과력이 낮고 세포 이온화 능력이 우수하여 의료용으로 활용될 수 있다. 상기 방사성동위원소는 알파입자 방출 방사성동위원소, 베타선 방출 방사성동위원소 또는 감마선 방출 방사성동위원소일 수 있으며, 예컨대, Cu-67, Y-90, Pb-103, Sn-117m, Ho-166, I-131, Lu-177, Re-188, At-211, Bi-213, Ra-223, Ac-225, Th-227, 또는 In-111일 수 있으며, 구체적으로 I-131(¹³¹I)일 수 있다.
- [0028] 일 구현예에서, 상기 방사성 동위원소 표지된 리투시맵은 ¹³¹I -리투시맵 일 수 있다.
- [0029] 본 발명에서 치료 대상 질환인 암은 일반적으로 비정상적인 세포 성장의 특징을 갖는 포유동물의 생리학적 상태

를 의미하고, 세포의 정상적인 분열, 분화 및 사멸의 조절 기능에 문제가 발생하여 비정상적으로 과다 증식하여 주위 조직 및 장기에 침윤하여 덩어리를 형성하고 기존의 구조를 파괴하거나 변형시키는 상태를 의미한다. 상기 암은 혈액암, 유방암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 자궁경부암, 난소암, 폐암, 방광암, 식도암, 종피종, 신경아세포종, 고환암, 백혈병, 위암, 간암, 대장암, 피부암, 뇌암, 후두암, 전립선암, 갑상선암, 신장암 및 직장암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 암일 수 있다. 구체적으로, 림프조직의 비정상적인 증식이 일어나는 혈액암, 림프종(Lymphoma), 급성골수성백혈병, 급성림프구성백혈병, 만성골수성백혈병, 만성림프구성백혈병, 골수증식성종양, 골수이형성증후군, 다발골수종, 비호지킨림프종, 호지킨림프종, 원발성 중추신경계 림프종, 악성림프종, 임파선암, 전구세포종양, 미만성 전구세포종양, 미만성큰B-세포림프종, 외투막세포림프종, 소포림프종, 결절외변연부세포림프종, 버킷림프종, 결절외NK/T-세포림프종, 주변T-세포림프종, 면역결핍관련림프구성식성질환, 결절림프구성호지킨병, 결절경화고전호지킨병, 림프구과다고전호지킨병, 혼합세포중실성고전호지킨병, 림프구과다고전호지킨병, 버킷림프종일 수 있다.

[0030] 상기 '항암 효과'는 상기 암의 예방 또는 치료를 의미한다. 상기 예방은 암의 발생이나 진행을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, 상기 치료는 암 세포가 사멸하는 것뿐만 아니라 암 세포의 성장의 감소, 증식의 감소, 재발의 감소, 암과 관련된 하나 또는 그 이상의 증상을 어느정도 경감, 암 세포에 대한 면역계 항암 활성화 및 면역 기억 형성 또는 암세포의 침습 감소 등, 암 세포가 더 이상 악화 되지 않는 모든 효과를 의미하며, 이에 한정 되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명의 보조제는 약학 조성물의 형태로 제공될 수 있다. 이 경우, 상기 약학 조성물은 제니핀 외에 항암 활성을 나타내는 유효성분을 더 포함할 수 있다. 상기 약학 조성물은 상기 유효성분 외에, 약학적으로 허용가능한 담체(carrier) 또는 첨가제를 더 포함할 수 있다.

[0032] 상기 '약학적으로 허용가능한'의 의미는 유효성분의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적용 가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다. 상기 담체는 세포 또는 조직 내로의 화합물의 부가를 용이하게 하는 화합물로 정의된다.

[0033] 상기 약학 조성물은 어떤 편리한 담체 등과 함께 혼합하여 투여될 수 있고, 그러한 투여 제형은 단회 투여 또는 반복 투여 제형일 수 있다. 상기 조성물은 고형 제제 또는 액상 제제일 수 있다. 고형 제제는 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 좌제 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 고형 제제에는 담체, 착향제, 결합제, 방부제, 붕해제, 활택제, 충전제 등이 포함될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 액상 제제로는 물, 프로필렌 글리콜 용액 같은 용액제, 현탁액제, 유제 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 적당한 착색제, 착향제, 안정화제, 점성화제 등을 첨가하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 산제는 본 발명의 유효 성분인 제니핀 외에 유당, 전분, 미결정셀룰로오스 등 약제학적으로 허용가능한 적당한 담체를 단순 혼합함으로써 제조될 수 있다. 과립제는 본 발명의 상기 유효성분에, 약학적으로 허용가능한 적당한 담체 및 폴리비닐피롤리돈, 하이드록시프로필셀룰로오스 등의 약학적으로 허용가능한 적당한 결합제를 혼합한 후, 물, 에탄올, 이소프로판올 등의 용매를 이용한 습식과립법 또는 압축력을 이용한 건식과립법을 이용하여 제조될 수 있다. 또한 정제는 상기 과립제를 마그네슘스테아레이트 등의 약학적으로 허용가능한 적당한 활택제와 혼합한 후, 타정기를 이용하여 타정함으로써 제조될 수 있다. 상기 약학 조성물을 주사제로 제제화 시, 당해 기술분야에 공지되어 있는 통상의 주사제 제조방법에 따라 제조될 수 있다. 주사제로 제제화하는 경우 환자에게 투여 시 그대로 이용될 수 있도록 멸균 매질에 분산된 형태일 수도 있으며, 투여 시 주사용 증류수를 가해 적절한 농도로 분산시킨 다음 투여하는 형태일 수도 있다.

[0034] 상기 약학 조성물은 치료해야 할 질환 및 대상의 상태에 따라 주사제(예를 들어, 정맥주사, 근육주사, 복강주사, 주입(infusion), 피하주사, 임플란트), 흡입제, 경구제, 비강투여제, 질제, 직장투여제, 설하제, 트랜스더말제, 토피칼제 등으로 투여될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 투여 경로에 따라 통상적으로 사용되고 비독성인, 약학적으로 허용가능한 운반체, 첨가제, 비히클을 포함하는 적당한 투여 유닛 제형으로 제제화될 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

[0035] 상기 약학 조성물은 매일 약 0.0001 mg/kg(체중) 내지 약 10 g/kg(체중)이 투여될 수 있으며, 약 0.001 mg/kg(체중) 내지 약 1 g/kg(체중)의 1일 투여 용량으로 투여될 수 있다. 상기 약학적 조성물의 치료적 유효량 또는 유효 투여량은 상기 약학적 조성물의 제제화 방법, 투여 방식, 투여 시간 및/또는 투여 경로 등에 의해 다양해질 수 있으며, 상기 조성물의 투여로 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 투여 대상이 되는 개체의 종류, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 질병의 증세나 정도, 성별, 식이, 배설, 해당 개체에 동시 또는 이시에 함께 사

용되는 약물 기타 조성물의 성분 등을 비롯한 여러 인자 및 의약 분야에서 잘 알려진 유사 인자에 따라 다양해질 수 있으며, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 또한 필요에 따라 편리성을 위하여 1일 총 투여량을 하루 동안 여러 번 나누어 투여될 수 있다. 용어 "치료적 유효량(treatment-effective amount)"은 암에 걸린 환자에서, 암 환자의 암의 치료 또는 개선, 항암 치료에 의한 부작용이나 항암제 내성, 상태(예를 들면, 하나 이상의 증상)의 개선, 질병의 진행의 지연 등을 포함한 원하는 효과를 생성하기에 충분한 양을 의미한다.

- [0037] 또한, 본 발명의 다른 측면은 제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 증진용 조성물을 제공한다.
- [0038] 상기 조성물은 방사면역치료제와 병용 투여될 수 있다.
- [0039] 상기 방사면역치료제는 방사성동위원소로 표지된 항체일 수 있다.
- [0040] 또한, 본 발명의 다른 측면은, 제니핀 및 방사면역치료제를 유효성분으로 포함하는 암의 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0041] 상기 방사면역치료제는 방사성동위원소로 표지된 항체일 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 다른 측면은, 제니핀을 방사면역치료제와 병용 투여하여 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0043] 상기 방사면역치료제는 방사성동위원소로 표지된 항체일 수 있다.
- [0045] 상기 본 발명의 다른 측면인 암의 방사면역치료 증진용 조성물, 암의 치료 또는 예방용 약학적 조성물 및 암을 치료하는 방법에서, 병용투여, 제니핀, 방사면역치료, 방사면역치료제, 약학적 조성물, 암 등의 관련된 내용은 상술한 본 발명의 일 측면인 암의 방사면역치료 보조제를 설명하면서 기재된 내용과 동일하며, 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해, 이를 인용하며 중복하여 설명하지 않는다.

발명의 효과

- [0046] 본 발명의 제니핀을 유효성분으로 포함하는 암의 방사면역치료 보조제 또는 암의 방사면역치료 증진용 조성물은 방사면역치료제의 항암 효과를 증진시킬 수 있다. 본 발명에 의하면 방사면역치료제를 감소된 용량으로 사용하더라도 목적하는 치료효과를 얻을 수 있어, 정상세포에 미치는 방사선 영향을 최소화하면서도 암세포에 대한 특이적인 치료 효과를 높일 수 있다. 특히 본 발명의 보조제 또는 조성물은 외과적 수술이나 외부 방사선 치료로 특정 암부위를 제거할 수 없는 혈액암 또는 림프종을 치료하는데 더욱 유용하게 사용될 수 있다.
- [0047] 다만, 본 발명의 효과는 상기에서 언급한 효과로 제한되지 아니하며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 하기의 기재로부터 당업자에게 명확히 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0049] 도 1은 제니핀의 Raji 세포에 대한 항암효과를 보여주는 것으로, 제니핀을 용량별로 처리하였을 때 Raji 세포 생존율을 나타낸 것이다.
- 도 2는 리튬시탐, ¹³¹I, ¹³¹I-리튬시탐 및 ¹³¹I-리튬시탐과 제니핀(10 μM) 병용사용하는 경우, 처리한 약물의 용량별 Raji 세포 생존율을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0050] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되지 아니한다.
- [0051] **[실시예 1]**
- [0052] **세포의 배양**
- [0053] Raji 세포는 10% 소태아혈청 (FBS, Gibco, Thermo Fisher Scientific, Inc., MA, USA) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신 항생제(Gibco, Thermo Fisher Scientific, Inc., MA, USA)가 첨가된 RPMI-1640 배지(Corning, Inc., NY, USA)에서 배양하여 준비하였다. 상기 Raji 세포는 5% CO₂ 배양기로 37℃에서 배양하였다.
- [0055] **[실시예 2]**

[0056] **제니핀의 항암효과 확인**

[0057] 세포생존율은 EZ-Cytox 세포생존율, 증식성, 세포독성 분석 키트(대일랩, 서울, 한국)를 사용하여 측정하였고, 제조사의 프로토콜에 따라 수행하였다. 구체적으로, Raji 세포(2×10^4 cell/0.1 ml/웰)를 96웰 플레이트에 플레이팅하고, 5% CO₂ 분위기의 가습 배양기에서 37° C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 상기 Raji 세포를 각기 다른 농도의 제니핀(0.1-50 μM)으로 처리하고 다시 37° C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 10 μL의 EZ-Cytox 용액을 각 웰에 첨가하고 0.5-4시간 동안 더 배양하였다. 흡광도는 450 nm SpectraMax i3 마이크로플레이트 판독기(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)로 측정하여 정량화하였다. 세포 생존율은 처리된 샘플과 대조군 샘플의 광학 밀도(OD) 비율의 백분율로 계산하였다. 모든 분석은 3회 반복 수행하여 세포생존율을 측정하고, 제니핀이 처리된 Raji 세포에서 세포 사멸 정도를 평가하였다.

[0058] 제니핀(genipin)의 농도를 0.1 - 50 μM 으로 증가시키면서 Raji 세포에 처리하여 EZ-Cytox 분석을 24시간 동안 수행하였다. 12시간 시점에서 측정된 세포 증식 백분율을 제니핀의 농도에 대해 도시하였다(도 1). 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, Raji 세포의 증식 백분율이 6.25-50 μM 범위에서 농도의존적으로 감소하였다. Raji 세포에 높은 농도의 제니핀(50 μM)을 처리한 경우, 세포 증식율이 9%로 가장 크게 감소하였다. 그러나, 낮은 농도의 제니핀(0.1 - 3.13 μM)을 처리한 경우 Raji 세포의 증식율의 차이는 관찰되지 않았다. 제니핀이 Raji 세포에 대하여 항암효과가 있음을 확인하였다.

[0060] **[실시예 3]**

[0061] **방사면역치료제 및 제니핀의 조합 사용시 상승적 효과 확인**

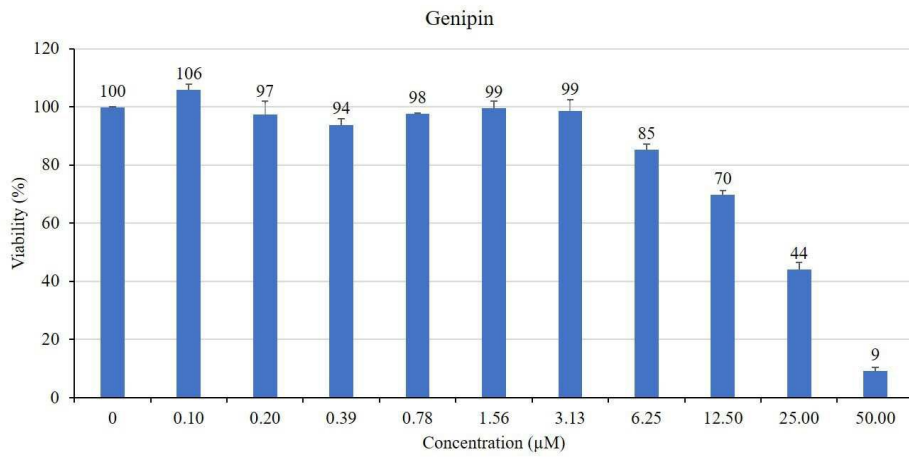
[0062] ¹³¹I-리튬시탐과 제니핀을 병용하여 사용하는 경우, 방사면역치료의 상승적 효과가 있는지 확인하기 위해 실험을 수행하였다.

[0063] 구체적으로, 동일한 수의 Raji 세포(2×10^4 /0.1 ml/웰)를 96-웰 플레이트에 플레이팅하고 24시간 동안 배양하였다. 상기 배양한 세포를 다양한 농도의 리튬시탐(10, 50 및 100 μg), ¹³¹I(10, 50 및 100 μCi), ¹³¹I-리튬시탐(10, 50 및 100 μCi) 또는 ¹³¹I-리튬시탐(10, 50 및 100 μCi)과 제니핀(10 μM)의 조합으로 처리하였다. 이후 세포를 24시간 동안 배양한 다음, 10 μl의 EZ-Cytox 용액을 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 CO₂ 배양기로 3시간 동안 37° C에서 더 배양한 후, 상기 실시예 2와 같은 방법으로 광학 밀도를 측정하여 세포 생존율을 계산하였다. 12시간 배양후 ¹³¹I-리튬시탐(10, 50 및 100 μCi)과 10 μM의 제니핀을 병용하여 처리한 Raji 세포에서 세포 사멸 정도를 평가하였다.

[0064] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, ¹³¹I-리튬시탐과 제니핀을 함께 처리하는 경우(64%, 51%, 및 32%)가, ¹³¹I으로 처리했을 때(113%, 103%, 90%), 리튬시탐으로 처리했을 때(95%, 90%, 91%) 또는 ¹³¹I-리튬시탐으로 처리했을 때(106%, 84%, 71%)와 비교하여 Raji 세포에서 증가된 세포 사멸을 확인할 수 있었다. 또한, 10 μM의 제니핀을 ¹³¹I-리튬시탐(100 μCi)과 함께 조합하였을 때, 제니핀(10 μM)과 ¹³¹I-리튬시탐을 각각 단독으로 처리한 경우를 합한 것보다 더 높은 세포 사멸 효과가 있는 것으로 확인하였다. 특히, 제니핀(10 μM)과 ¹³¹I-리튬시탐(100 μCi)를 함께 처리한 경우 세포생존율은 32%로, 가장 높은 세포 사멸 정도가 확인되었고, 이는 ¹³¹I-리튬시탐(100 μCi) 단독처리군(71%) 대비 2배 이상의 세포 사멸 정도로 확인되었다. 상기 실험결과에 의해, 제니핀과 ¹³¹I-리튬시탐은 병용하여 사용하는 경우 상승적 항암 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

도면

도면1



도면2

