



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0127898
(43) 공개일자 2020년11월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/06 (2006.01) A61K 38/08 (2019.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 7/06 (2013.01)
A61K 38/08 (2019.01)
(21) 출원번호 10-2020-0052724
(22) 출원일자 2020년04월29일
심사청구일자 2020년04월29일
(30) 우선권주장
62/842,155 2019년05월02일 미국(US)

(71) 출원인
주식회사 엘베이스
서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲엠타워)
(72) 발명자
전도용
서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲 M타워)
이상혁
서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲 M타워)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이명진

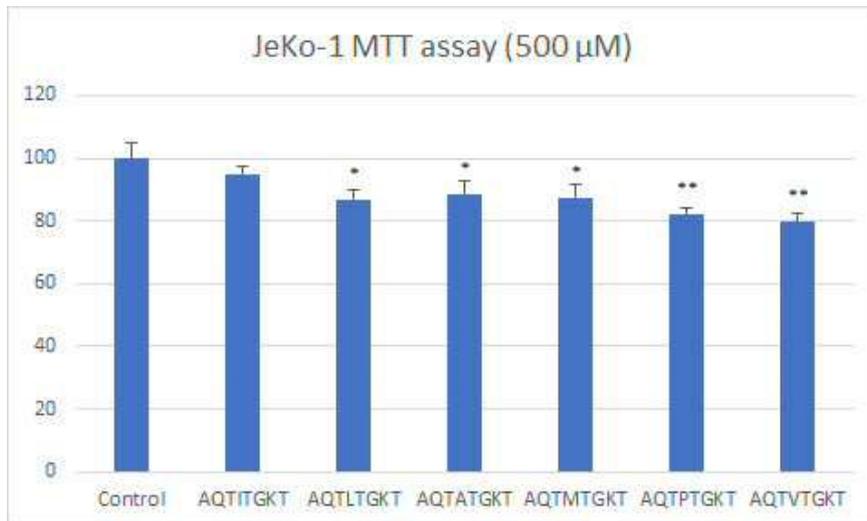
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 신규한 올리고펩티드 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 신규한 올리고펩티드 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 올리고펩티드는 항체에 비해 분자량이 작아 면역반응의 우려가 적고, 조직 내에 침투가 용이하다는 장점이 있으며, 암 세포 또는 암 조직에 선택적으로 작용하여 악성 종양의 증식 억제 효과를 나타낼 수 있다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

문창훈

서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲 M타워)

정지은

서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲 M타워)

신현희

서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲 M타워)

이혜림

서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲 M타워)

이지영

서울특별시 성동구 뚝섬로1길 31, 301호(성수동1가, 서울숲 M타워)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드(oligopeptide):

[일반식]

A-Q-T-X-T-G-K-T

상기 일반식에 있어서,

A는 알라닌(alanine)이고; Q는 글루타민(glutamine)이고; T는 트레오닌(threonine)이고; G는 글라이신(glycine)이고; K는 라이신(lysine)이고;

X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.

청구항 2

하기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[일반식]

A-Q-T-X-T-G-K-T

상기 일반식에 있어서,

A는 알라닌(alanine)이고; Q는 글루타민(glutamine)이고; T는 트레오닌(threonine)이고; G는 글라이신(glycine)이고; K는 라이신(lysine)이고;

X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 암은 폐암, 유방암, 혈액암, 대장암, 췌장암 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 암인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 폐암은 비소세포폐암(non-small cell lung cancer)인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 유방암은 삼중음성유방암(Triple negative breast cancer)인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 6

제3항에 있어서,

상기 혈액암은 백혈병, 림프종, 다발성 골수종 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 혈액암인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 7

제2항에 있어서,

상기 X는 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고, 상기 암은 폐암인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 8

제2항에 있어서,

상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고, 상기 암은 유방암인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 9

제2항에 있어서,

상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고, 상기 암은 혈액암인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 올리고펩티드, 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 현재 암의 조기 진단법의 개발 및 새로운 항암 요법의 지속적인 개발로 인하여 암의 치료 효과가 향상되고 있음에도 불구하고, 암은 아직도 우리나라 사망 원인 중 제1, 2위를 다투는 중요한 질환이다. 현재 사용되고 있는 항암제의 대부분은 화학요법에 의한 것으로 암의 종류에 따라 약리작용이 다양하고, 독성에 의한 부작용이 다양하게 나타나기 때문에 암 치료의 문제점으로 지적되고 있다.

[0004] 기존의 항암제는 암 세포뿐만 아니라, 정상 조직에도 침투하여 정상 세포의 기능 및 활성에 손상을 입히기 때문에, 골수 기능 저하, 위장장애, 탈모증 등의 부작용을 유발하기도 하고, 장기간 화학 요법에 따른 항암제에 대한 다약제 저항성을 보이는 등 암 치료의 커다란 문제점을 보인다. 따라서, 기존 항암제의 이러한 심각한 문제점을 해결할 수 있는 혁신적인 항암제의 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0005] 한편, 종양 세포의 특이적 종양 항원을 표적으로 하는 항체의 개발이 이루어지고 있으나, 항체의 경우 면역반응의 우려 및 조직 내 침투의 낮은 효율성 등의 문제점이 있다. 반면, 펩티드(peptide)의 경우 분자량이 작아 항체와는 다르게 면역반응 우려가 적고, 조직 내 침투가 용이한 장점이 있으며, 종양 항원을 표적으로 하는 펩티드 기반 항암제는 종양에 선택적으로 작용할 수 있기 때문에 정상세포에 손상을 입히는 등의 부작용이 거의 없을 것으로 기대되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-2073144 B1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상술한 바와 같은 종래 기술상의 문제점을 해결하기 위하여 안출된 것으로, 공통 서열을 갖는 6종의 올리고펩티드(oligopeptides)가 암 세포의 증식을 억제하고 세포사멸을 유도함으로써 효과적으로 암을 치료할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서 본 발명의 목적은 하기의 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 제공하는 것이다:

[0010] [일반식]

[0011] A-Q-T-X-T-G-K-T

[0012] 상기 일반식에 있어서,

[0013] A는 알라닌(alanine)이고; Q는 글루타민(glutamine)이고; T는 트레오닌(threonine)이고; G는 글라이신(glycine)이고; K는 라이신(lysine)이고;

[0014] X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.

[0015] 본 발명의 다른 목적은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0017] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 일반식으로 표시되는 하기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드(oligopeptide)를 제공한다:

[0020] [일반식]

[0021] A-Q-T-X-T-G-K-T

[0022] 상기 일반식에 있어서,

[0023] A는 알라닌(alanine)이고; Q는 글루타민(glutamine)이고; T는 트레오닌(threonine)이고; G는 글라이신(glycine)이고; K는 라이신(lysine)이고;

[0024] X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.

[0025] 또한, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다:

[0026] [일반식]

- [0027] A-Q-T-X-T-G-K-T
- [0028] 상기 일반식에 있어서,
- [0029] A는 알라닌(alanine)이고; Q는 글루타민(glutamine)이고; T는 트레오닌(threonine)이고; G는 글라이신(glycine)이고; K는 라이신(lysine)이고;
- [0030] X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.
- [0031] 또한, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0032] 또한, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는, 항암제의 활성 증진용 조성물을 제공한다.
- [0033] 또한, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 항암제의 활성 증진 방법을 제공한다.
- [0034] 뿐만 아니라, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드의, 암의 예방, 개선 또는 치료 용도를 제공한다.
- [0035] 더욱이, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드의 암에 이용되는 약제를 생산하기 위한 용도를 제공한다.
- [0036] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 암은 폐암, 유방암, 혈액암, 대장암, 췌장암 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명의 다른 구현예에 있어서, 상기 폐암은 비소세포폐암(non-small cell lung cancer)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 유방암은 삼중음성유방암(Triple negative breast cancer)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 혈액암은 백혈병, 림프종, 다발성 골수종 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 혈액암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 X는 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고, 상기 암은 폐암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고, 상기 암은 유방암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고, 상기 암은 혈액암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0044] 본 발명은 신규한 올리고펩티드 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로서, 상기 약학적 조성물은 암세포의 증식을 억제하고, 세포사멸을 유도하는 효과를 나타내므로 암을 치료하는데 유용한 항암제로 사용할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 6종의 올리고펩티드 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는데, 올리고펩티드는 항체에 비해 분자량이 작아 면역반응의 우려가 적고, 조직 내에 침투가 용이하다는 장점이 있으며, 암세포 또는 암조직에 선택적으로 작용할 수 있어 기존 항암제의 부작용 문제를 효과적으로 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0046] 도 1은 본 발명에 따른 올리고펩티드에 의한 폐암 세포주 A549의 증식 억제 효과를 보여주는 MTT 분석 결과이다 (* p<0.05).
- 도 2는 본 발명에 따른 올리고펩티드에 의한 폐암 세포주 H1650의 증식 억제 효과를 보여주는 MTT 분석 결과이다(* p<0.05).
- 도 3은 본 발명에 따른 올리고펩티드에 의한 폐암 세포주 H1975의 군체 형성 억제 효과를 보여주는 집락형성 분석(clonogenic assay) 결과이다(** p<0.01).
- 도 4는 본 발명에 따른 올리고펩티드에 의한 유방암 세포주 MDA-MB-231의 군체 형성 억제 효과를 보여주는 집락형성 분석 결과이다.
- 도 5는 본 발명에 따른 올리고펩티드에 의한 유방암 세포주 HCC70의 세포 활성 억제 효과를 보여주는 CTG(CellTiter-Glo Luminescent) 분석 결과이다(* p<0.05).
- 도 6은 본 발명에 따른 올리고펩티드에 의한 혈액암 세포주 JeKo-1의 증식 억제 효과를 보여주는 MTT 분석 결과이다(* p <0.05, ** p <0.01).
- 도 7은 본 발명에 따른 올리고펩티드에 의한 혈액암 세포주 Z-138의 증식 억제 효과를 보여주는 MTT 분석 결과이다(* p <0.05, ** p <0.01).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0047] 본 발명자들은 A-Q-T-X-T-G-K-T의 공통 아미노산 서열을 가지는 올리고펩티드(oligopeptide) 6종을 새롭게 합성하고, 상기 올리고펩티드가 폐암, 유방암, 혈액암, 대장암 및 췌장암에서 우수한 항암 효과를 나타낸다는 사실을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [0048] 이에 본 발명은 하기의 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 제공할 수 있다:
- [0049] [일반식]
- [0050] A-Q-T-X-T-G-K-T
- [0051] 상기 일반식에 있어서,
- [0052] A는 알라닌(alanine)이고; Q는 글루타민(glutamine)이고; T는 트레오닌(threonine)이고; G는 글라이신(glycine)이고; K는 라이신(lysine)이고;
- [0053] X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.
- [0054] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 하기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다:
- [0055] [일반식]
- [0056] A-Q-T-X-T-G-K-T
- [0057] 상기 일반식에 있어서,
- [0058] A는 알라닌(alanine)이고; Q는 글루타민(glutamine)이고; T는 트레오닌(threonine)이고; G는 글라이신(glycine)이고; K는 라이신(lysine)이고;
- [0059] X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.
- [0060] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법을 제공할 수 있다.

- [0061] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 일반적으로 표시되는 올리고펩티드의, 암의 예방, 개선 또는 치료 용도를 제공할 수 있다.
- [0062] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 일반적으로 표시되는 올리고펩티드의 암에 이용되는 약제를 생산 하기 위한 용도를 제공할 수 있다.
- [0063] 본 명세서에서 사용된 용어, “예방”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 암에 의한 증상을 차단하거나, 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0064] 본 명세서에서 사용된 용어, “치료”란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 암에 의한 증세가 호전되거나 이 룩게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0065] 본 명세서에서 사용된 용어, “개체”란 질병의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상을 의미한다. 예를 들어, 상 기 개체는 인간, 또는 비-인간인 영장류, 생쥐, 개, 고양이, 말, 양 및 소를 포함하는 포유류일 수 있다.
- [0066] 본 명세서에서 사용된 용어, “올리고펩티드”는 펩티드 결합에 의해 아미노산 잔기들이 서로 결합되어 형성된 선형(linear)의 분자를 의미한다. 본 발명의 올리고펩티드는 분자·생물학적인 방법과 함께 당업계에 공지된 화 학적 합성 방법(예를 들어, 고상 합성 기술(solid-phase synthesis techniques))에 따라 제조될 수 있다 (Merrifield, J. Amer. Chem. Soc. 85: 2149-54(1963); Stewart, et al., Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd. ed., Pierce Chem. Co.: Rockford, 111(1984)).
- [0067] 본 발명에 따른 화합물의 범위에는 이의 약학적으로 허용 가능한 염도 포함될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어, “약학적으로 허용 가능한”이라는 용어는 과도한 독성, 자극, 알러지 반응 또는 기타 문제점이나 합병증 없이 이득/위험 비가 합리적이어서 대상체(예: 인간)의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하며, 건전한 의학적 판단의 범위 이내인 화합물을 의미한다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염은, 예를 들어 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염 및 약학적으로 허용 가능한 금속염을 포함한다.
- [0068] 또한, 본 발명에 따른 화합물의 범위에는 본 발명의 화합물과 균등한 생물학적 활성을 발휘하는 아미노산 서열 의 변이를 갖는 생물학적 기능 균등물이 포함될 수 있다. 이러한 아미노산 서열의 변이는 아미노산 결사슬 치환 체의 상대적 유사성, 예컨대, 소수성, 친수성, 전하 및 크기 등에 기초하여 이루어질 수 있다. 아미노산 결사슬 치환체의 크기, 모양 및 종류에 대한 분석에 의하여, 알라닌과 글라이신은 유사한 크기를 가지고; 라이신은 양 전하를 띤 잔기이며; 글루타민과 트레오닌은 전하를 띠지 않는다는 것을 알 수 있다. 따라서, 이러한 고려 사항 에 기초하여, 알라닌과 글라이신; 그리고 글루타민과 트레오닌은 생물학적으로 기능 균등물이라 할 수 있다.
- [0069] 변이를 도입하는 데 있어서, 아미노산의 소수성 인덱스(hydrophobic index)가 고려될 수 있다. 각각의 아미노산 은 소수성과 전하에 따라 다음과 같이 소수성 인덱스가 부여되어 있다: 아이소류신 (+4.5); 발린 (+4.2); 류신 (+3.8); 페닐알라닌(+2.8); 시스테인 (+2.5); 메티오닌 (+1.9); 알라닌 (+1.8); 글라이신 (-0.4); 트레오닌 (- 0.7); 세린 (-0.8); 트립토판 (-0.9); 타이로신 (-1.3); 프롤린 (-1.6); 히스티딘 (-3.2); 글루탐산 (-3.5); 글루타민 (-3.5); 아스파르트산 (-3.5); 아스파라진 (-3.5); 라이신 (-3.9); 및 아르기닌 (-4.5).
- [0070] 단백질의 상호적인 생물학적 기능(interactive biological function)을 부여하는 데 있어서 소수성 아미노산 인 텍스는 매우 중요하다. 유사한 소수성 인덱스를 가지는 아미노산으로 치환하여야 유사한 생물학적 활성을 보유 할 수 있다는 것은 공지된 사실이다. 소수성 인덱스를 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는 ± 2 이 내, 보다 바람직하게는 ± 1 이내, 보다 더 바람직하게는 ± 0.5 이내의 소수성 인덱스 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.
- [0071] 한편, 유사한 친수성 값(hydrophilicity value)을 가지는 아미노산 사이의 치환이 균등한 생물학적 활성을 갖는 단백질을 초래한다는 것도 잘 알려져 있다. 미국 특허 제4,554,101호에 개시된 바와 같이, 다음의 친수성 값이 각각의 아미노산 잔기에 부여되어 있다: 아르기닌 (+3.0); 라이신 (+3.0); 아스파르트산(+3.0 \pm 1); 글루탐산 (+3.0 \pm 1); 세린 (+0.3); 아스파라진 (+0.2); 글루타민 (+0.2); 글라이신 (0); 트레오닌 (-0.4); 프롤린 (-0.5 \pm 1); 알라닌 (-0.5); 히스티딘 (-0.5); 시스테인 (-1.0); 메티오닌 (-1.3); 발린 (-1.5); 류신 (-1.8); 아이 소류신 (-1.8); 타이로신 (-2.3); 페닐알라닌 (-2.5); 트립토판 (-3.4).
- [0072] 친수성 값을 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는 ± 2 이내, 보다 바람직하게는 ± 1 이내, 보다 더 바람직하게는 ± 0.5 이내의 친수성 값 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.
- [0073] 분자의 활성을 전체적으로 변경시키지 않는 단백질에서의 아미노산 교환은 당해 분야에 공지되어 있다(H. Neurath, R.L.Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979). 가장 통상적으로 일어나는 교환은 아미

노산 잔기 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly 간의 교환이다.

- [0074] 상술한 생물학적 균등 활성을 갖는 변이를 고려한다면, 본 발명의 상기 일반식(AQXTXGKT)으로 표시되는 아미노산 서열의 올리고펩티드는 이와 실질적인 동일성(substantial identity)을 나타내는 서열도 포함하는 것으로 해석된다. 상기의 실질적인 동일성은, 상기한 본 발명의 서열과 임의의 다른 서열을 최대한 대응되도록 얼라인(align)하고, 당업계에서 통상적으로 이용되는 알고리즘을 이용하여 얼라인된 서열을 분석한 경우에, 최소 62.5%의 상동성, 보다 바람직하게는 75% 이상의 상동성, 가장 바람직하게는 87.5% 이상의 상동성을 나타내는 서열을 의미한다. 서열비교를 위한 얼라인먼트 방법은 당업계에 공지되어 있다.
- [0075] 본 발명의 약학적 조성물은 암의 예방 또는 치료에 사용된다. 본 발명의 약학적 조성물이 사용 가능한 암은 폐암, 유방암, 혈액암, 대장암, 췌장암 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0076] 본 발명에 있어서, 상기 폐암은 비소세포폐암(non-small cell lung cancer)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0077] 또한, 상기 유방암은 삼중음성유방암(Triple negative breast cancer)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0078] 또한, 상기 혈액암은 백혈병, 림프종, 다발성 골수종 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 혈액암일 수 있으나, 상기 림프종은 예를 들어 비호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0079] 본 발명의 일 실시예에서는 본 발명에 따른 약학적 조성물이 폐암, 유방암 및 혈액암에 대하여 우수한 항암 활성을 나타내는 것을 확인하였다(실시예 2 참조).
- [0080] 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물이 폐암의 예방 또는 치료에 사용되는 경우, 일반식 AQXTXGKT로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하고, 이때 상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0081] 또한, 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물이 폐암의 예방 또는 치료에 사용되는 경우, 일반식 AQXTXGKT로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하고, 이때 상기 X는 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0082] 또한, 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물이 유방암의 예방 또는 치료에 사용되는 경우, 일반식 AQXTXGKT로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하고, 이때 상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0083] 또한, 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물이 유방암의 예방 또는 치료에 사용되는 경우, 일반식 AQXTXGKT로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하고, 이때 상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0084] 또한, 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물이 혈액암의 예방 또는 치료에 사용되는 경우, 일반식 AQXTXGKT로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하고, 이때 상기 X는 이소류신(isoleucine), 류신(leucine), 알라닌(alanine), 메티오닌(methionine), 프롤린(proline) 및 발린(valine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0085] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 항암제의 활성 증진 방법을 제공할 수 있다.
- [0086] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 암 조직 또는 암 세포의 항암제에 대한 저항성 또는 내성을 감소시킴으로써 항암제의 항암 활성을 증진시킬 수 있다. 따라서 본 발명은 상기 일반식으로 표시되는 올리고펩티드를 유효성분으로 포함하는, 항암제의 활성 증진용 조성물을 제공할 수 있다.

- [0087] 한편, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 유효성분 이외에 약학적 조성물로 제조하기 위하여 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및/또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0088] 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 및 광물유 등이 있다. 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있다.
- [0089] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여된다. 본 발명에 있어서, “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 바람직한 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 선택될 수 있다. 구체적인 예로, 상기 약학적 조성물은 0.001 내지 1000 mg/kg, 0.01 내지 100 mg/kg, 0.01 내지 10 mg/kg, 0.1 내지 10 mg/kg 또는 0.1 내지 1 mg/kg의 양을 1일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.
- [0090] 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 결정될 수 있다. 구체적으로, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성을 및 배설속도, 질병종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있다.
- [0091] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 예를 들면, 경구 투여, 비강 내 투여, 경기관지 투여, 동맥 주사, 정맥 주사, 피하 주사, 근육 주사 또는 복강 내 주사에 의해 투여될 수 있다. 일일 투여량은 하루 1회 내지 수회 나누어 투여할 수 있다.
- [0093] 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.
- [0095] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0097] **[실시예]**

[0098] **실험 방법**

[0099] **1. CTG(CellTiter-Glo Luminescent) 분석**

[0100] 본 발명에 따른 6종의 올리고펩티드 AQTITGKT, AQTLTGKT, AQTATGKT, AQMTGKT, AQTPTGKT 및 AQTVTGKT를 암 세포주에 처리한 후 CTG 분석을 통해 세포의 증식 정도를 측정하였다.

[0101] 구체적으로, 96-well 플레이트에 각 well 당 $5 \times 10^3/100 \mu\text{l}$ 세포를 시딩(seeding)하고, 24시간 동안 배양한 후 본 발명에 따른 올리고펩티드 6종을 각각 트랜스펙션(transfection) 하였다. 대조군(control)으로는 올리고펩티드를 트랜스펙션 하지 않은 세포를 동일 조건에서 배양하였다. 72시간 경과 후 CellTiter-Glo®(Promega Co., 미국) 시약을 세포 배양액과 동일한 양으로 섞고 2분간 회전 교반기(orbital shaker)에서 반응시켰다. 실온에서 10분간 반응시킨 후 루미노미터(luminometer; GloMax®Promega)를 사용하여 발광 신호를 측정하였다.

[0103] **2. 집락형성 분석(Clonogenic assay)**

[0104] 집락형성 분석을 위해, 기존에 계대배양하고 있던 암 세포주가 배양접시에서 80~90% 정도로 자라면, 트립신/EDTA를 사용하여 배양접시로부터 떼어내었다. 떼어낸 세포를 50ml 튜브에 현탁하여 잘 섞은 후 트리판블루 (trypan blue)로 2배 희석하여 세포를 계수하였다. 이를 6-well 플레이트(SPL #30006, flat bottom)에 각 well 당 1.7×10^5 개/2ml 세포가 되도록 시딩하였다. 24시간 동안 배양한 후 본 발명에 따른 올리고펩티드 6종을 각각 트랜스펙션 하였다. 대조군(control)으로는 올리고펩티드를 트랜스펙션 하지 않은 세포를 동일 조건에서 배양하였다.

[0105] 보다 구체적으로, 상기 올리고펩티드를 100 μ M 농도가 되도록 jetPriem 버퍼 200 μ l에 첨가하여 잘 섞어준 후 스피ندا운(spin down) 하였다. 상온에서 10분 동안 반응시킨 후 상기 배양한 세포에 각 well 당 200 μ l씩 첨가하고 5% CO₂, 37°C에서 배양하였다. 24시간이 경과한 후에 각 well에 1×10^3 개/ml의 세포를 첨가하고 트랜스펙션 후 14일이 경과한 시점에서 세포를 염색하여 관찰하였다.

[0107] **3. MTT(tetrazolium) 분석**

[0108] 본 발명에 따른 올리고펩티드 6종을 암 세포주에 처리한 후 MTT 분석을 통해 세포의 증식 정도를 측정하였다. 구체적으로, 96-well 플레이트에 각 well 당 5×10^3 /100 μ l 세포를 분주하고, 24시간 동안 배양한 후 본 발명에 따른 올리고펩티드 AQTITGKT, AQILTGKT, AQTATGKT, AQTMTGKT, AQIPTGKT 및 AQTVTGKT를 각각 도입하였다. 대조군(control)으로는 올리고펩티드를 트랜스펙션 하지 않은 세포를 동일 조건에서 배양하였다. 72시간 경과 후 CellTiter-96®Promega Co., 미국) 시약을 각 well 당 10 μ l씩 첨가하고 5% CO₂, 37°C에서 반응시켰다. 3시간 경과 후 분광광도계(spectrophotometer; SPECTROstar^{Nano}, BMG)를 사용하여 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0110] **실시예 1: 올리고펩티드의 제조**

[0111] **1.1. 반응 일반**

[0112] 모든 반응은 달리 언급되지 않는 한 추가 반응 없이 상업적으로 판매되는 물질 및 시약을 사용하여 수행하였다. 모든 올리고펩티드 생성물은 LC-MS/MS (Liquid chromatography tandem-mass spectrometry), HPLC(High Performance Liquid Chromatography), 및/또는 시퀀싱(sequencing)을 사용하여 특정하였다.

[0113] 구체적으로, LC-MS/MS 및 서열 분석(de novo sequencing)은 LTQ XL MS/MSn 스펙트로미터(Thermo Fisher Scientific, 미국) 및 Proteome Discoverer 2.3(Thermo Fisher Scientific) 사용하여 수행되었다. HPLC는 Agilent 1100 HPLC 시스템(Agilent Technologies, 미국)을 사용하여 수행되었다(디텍터, VWD detector, 220 nm; 컬럼, Waters XBridge[®] C18, 4.6 mm i.d. X 250 mm, 5 μ m; A, 0.1% TFA in Water; B, 0.1% TFA in ACN, v/v; flow rate, 1 mL/min; Gradient, B: 5% - 35%, 5분 이내, B: 35% - 65%, 15분 이내). 모든 분석은 (주)세원생명공학에 의뢰하여 수행되었다.

[0115] **1.2. 올리고펩티드 6종의 합성 및 확인**

[0116] 하기 표 1과 같은 아미노산 서열 및 구조를 가지는 올리고펩티드를 합성하였다. 올리고펩티드는 (주)세원생명공학에 의뢰하여 합성하였으며, LC-MS/MS법과 아미노산 서열분석을 통해 합성된 올리고펩티드를 동정하였고, HPLC법으로 순도 95% 이상임을 확인하였다(하기 표 2 참조).

표 1

서열번호	아미노산 서열	화학 구조
서열번호 1 (올리고펩티드 #1)	AQTITGKT	
서열번호 2 (올리고펩티드 #2)	AQTLTGKT	
서열번호 3 (올리고펩티드 #3)	AQTATGKT	
서열번호 4 (올리고펩티드 #4)	AQTM TGKT	
서열번호 5 (올리고펩티드 #5)	AQTPTGKT	
서열번호 6 (올리고펩티드 #6)	AQTVT GKT	

표 2

올리고펩티드	순도 (purity; by analytic HPLC)	동일성 (identity; by LC-MS/MS and Sequence Analysis)
AQTITGKT (서열번호 1)	97.6 %	100 %
AQTLTGKT (서열번호 2)	97.36 %	100 %
AQTATGKT (서열번호 3)	97.8 %	100 %
AQTM TGKT (서열번호 4)	96.5 %	100 %
AQTPTGKT (서열번호 5)	97.6 %	100 %

[0117]

[0119]

AQTVTGTKT (서열번호 6)	97.6 %	100 %
--------------------	--------	-------

[0121] 구체적으로, 상기 서열번호 1 내지 서열번호 6의 올리고펩티드는 Fmoc(Fluorenylmethylcarbonyl)/t-Bu을 이용한 고체상 합성법에 의해 합성되었다. 올리고펩티드 합성은 24열 펩티드 자동합성기 Syro-I(Biotage, 스웨덴)을 이용하여 수행하였으며, 2-클로로트리틸 레진(2-chlorotriethyl resin)을 사용하였다. C-말단의 첫번째 아미노산은 별도로 도입하여 합성기에 장착하였다.

[0122] Fmoc-아미노산의 도입은 DIC/HOBT/DIPEA(Diisopropylcarbodiimide/1-Hydroxybenzotriazole/Diisopropylethylamine) 조건을 사용하였으며, N-아미노기의 보호기 Fmoc의 제거는 20% 피페리딘-DMF 용액으로 수행하였다.

[0123] 레진으로부터의 펩티드 분리는 TFA(Trifluoroacetic acid) 기반의 용액 [TFA : TIS(Triisopropylsilane) : 물 = 95 : 2.5 : 2.5]으로 처리한 다음, 과량의 디에틸에터(diethyl ether)를 사용하여 침전으로 펩티드 혼합물을 얻었다.

[0124] 펩티드 혼합물의 분석은 HPLC(Agilent1100, 미국)와 LC/MS(Thermo Scientific™ LTQ XL™ IonTrap Mass Spectrometer, 미국)로, 정제는 prep-HPLC(waters 2998, 미국)로 수행하였으며, 정제된 펩티드 용액은 동결건조기로 농축하였다. 초산염으로의 전환은 동결건조한 펩티드를 초산용액에 녹여 음이온 교환수지(Dowex 1X8 chloride form, 100-200 mesh)를 통과시켜 수행하였으며, 동결건조기로 최종 건조하여 펩티드 분말을 수득하였다.

[0125] 펩티드의 순도 분석은 HPLC로, 질량 분석은 LC/MS로, 그리고 서열분석은 Thermo Xcalibur Qual Browser 프로그램을 이용한 de Novo 서열 분석방법으로 진행하였다.

[0127] **실시예 2: 올리고펩티드의 항암 효과 확인**

[0128] **2.1. 폐암 세포의 증식 억제 및 군체 형성 억제 효과**

[0129] 상기 실험 방법에서 기술한 MTT 분석 및 집락형성 분석(Clonogenic assay)에 따라 비소세포폐암(non-small cell lung cancer) 세포주 A549, H1650 및 H1975에 각각 본 발명에 따른 올리고펩티드 AQITGKT, AQTLGKT, AQTATGKT, AQTMGKT, AQTPTGKT 또는 AQTVTGTKT를 100 μM 또는 500 μM 농도로 처리한 후 암 세포의 군체(colony) 형성 정도를 측정하거나 세포 독성을 비교하였다.

[0130] 그 결과 도 1 내지 도 3 에 나타난 바와 같이 AQTATGKT, AQTMGKT, AQTPTGKT 또는 AQTVTGTKT를 처리한 경우, 대조군(control)과 비교하여 통계적으로 유의한 세포 독성 및 군체 형성 억제 효과가 관찰되었다. 이러한 결과는 본 발명에 따른 올리고펩티드가 폐암 세포의 성장 및 증식을 억제할 수 있는 항암 능력이 있음을 시사하는 것이다.

[0132] **2.2. 유방암 세포의 증식능 억제 및 활성 억제 효과**

[0133] 상기 실험 방법에서 기술한 집락형성 분석 및 CTG 분석에 따라 유방암 세포주 MDA-MB-231 및 HCC70에 각각 본 발명에 따른 올리고펩티드 AQITGKT, AQTLGKT, AQTATGKT, AQTMGKT, AQTPTGKT 또는 AQTVTGTKT를 100 μM 또는 500 μM 농도로 처리한 후 암 세포의 군체(colony) 형성 정도를 측정하거나 세포 내의 ATP 양을 측정함으로써 세포의 활성을 비교함으로써 항암 효과를 비교 분석하였다.

[0134] 그 결과 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이 AQITGKT, AQTLGKT, AQTATGKT 또는 AQTVTGTKT를 처리한 경우, 대조군(control)과 비교하여 통계적으로 유의한 세포 군체 형성 억제 효과 및 암 세포의 활성 억제 효과가 관찰되었다. 이러한 결과는 본 발명에 따른 올리고펩티드가 유방암 세포의 성장 및 증식을 억제할 수 있는 항암 능력이 있음을 시사하는 것이다.

[0136] **2.3. 혈액암 세포의 성장 및 증식능 억제 효과**

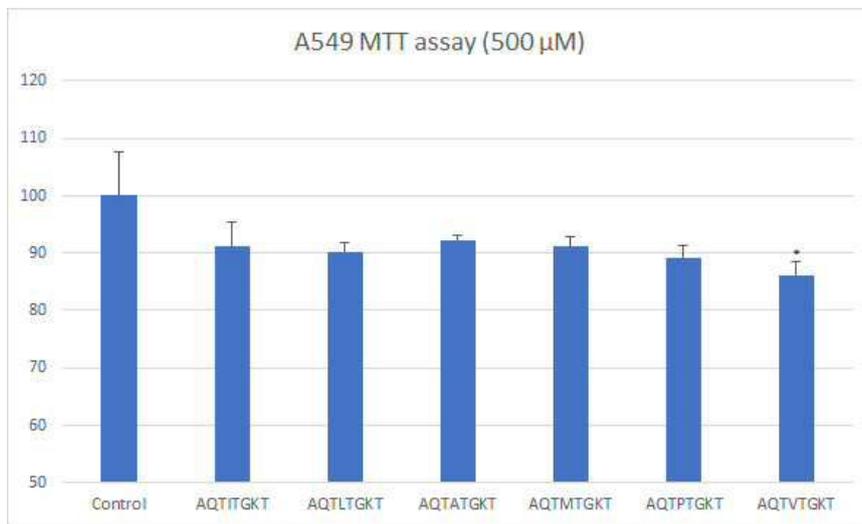
[0137] 상기 실험 방법에서 기술한 MTT 분석 방법에 따라 혈액암 세포주 Z-128 및 JeKo-1에 각각 본 발명에 따른 올리고펩티드 AQTITGKT, AQLLTGKT, AQTATGKT, AQTMTGKT, AQTPTGKT 또는 AQTVTGKT를 100 μ M 또는 500 μ M 농도로 처리하여 세포 독성을 비교하였다.

[0138] 그 결과 도 6 및 도 7에 나타난 바와 같이 6종의 올리고펩티드 모두에서 세포 독성 효과를 보였다. 상기와 같은 결과는 본 발명에 따른 올리고펩티드가 특히 혈액암 세포에 대한 뛰어난 항암 효과가 있음을 보여주는 것이다.

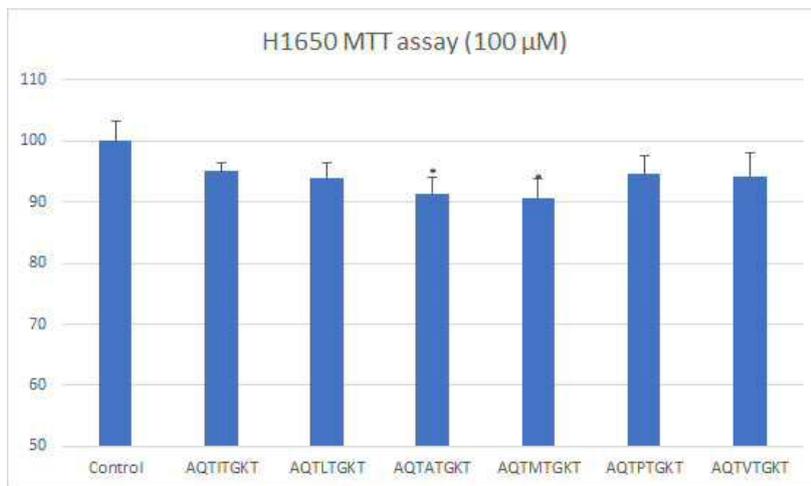
[0140] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

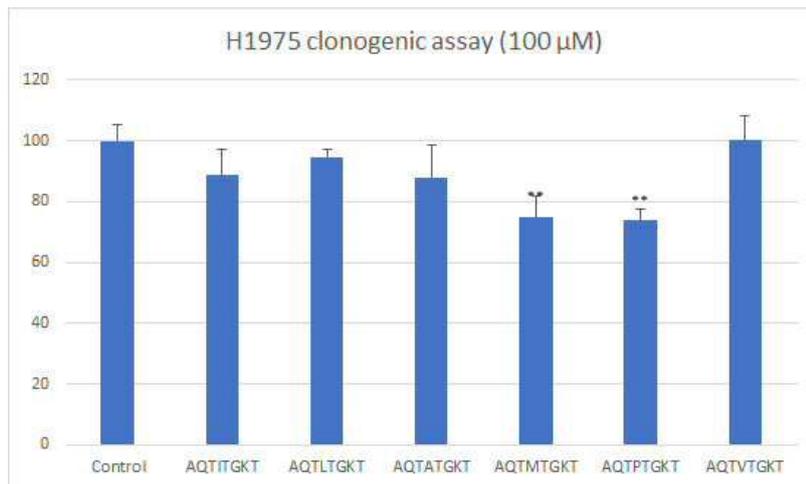
도면1



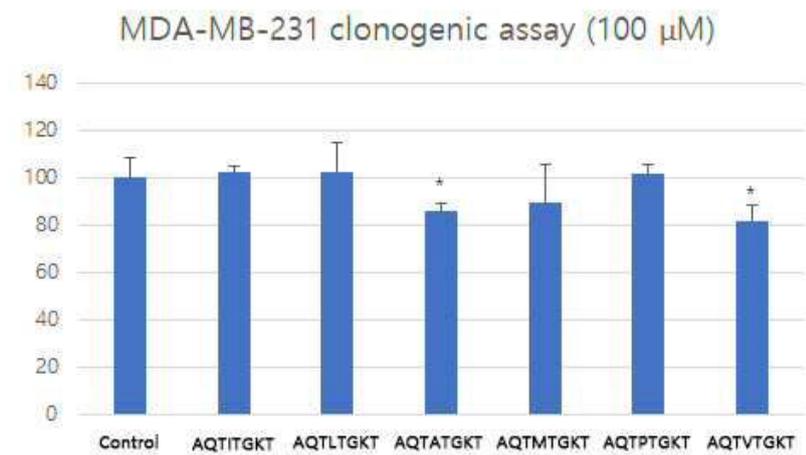
도면2



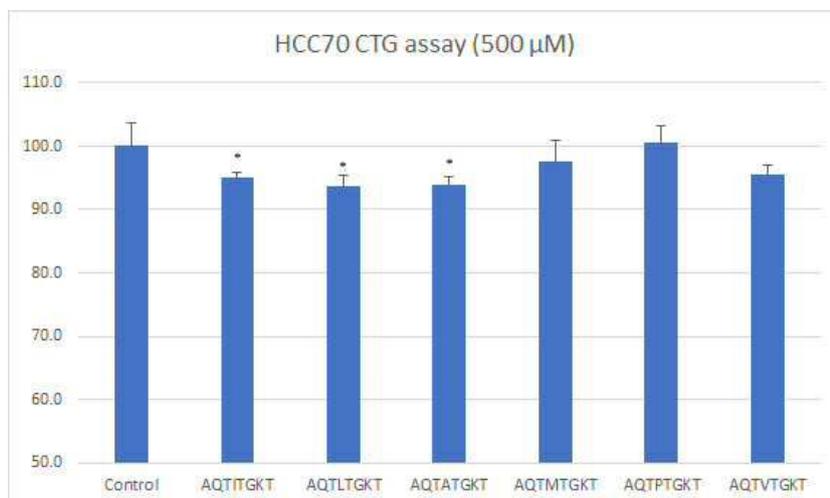
도면3



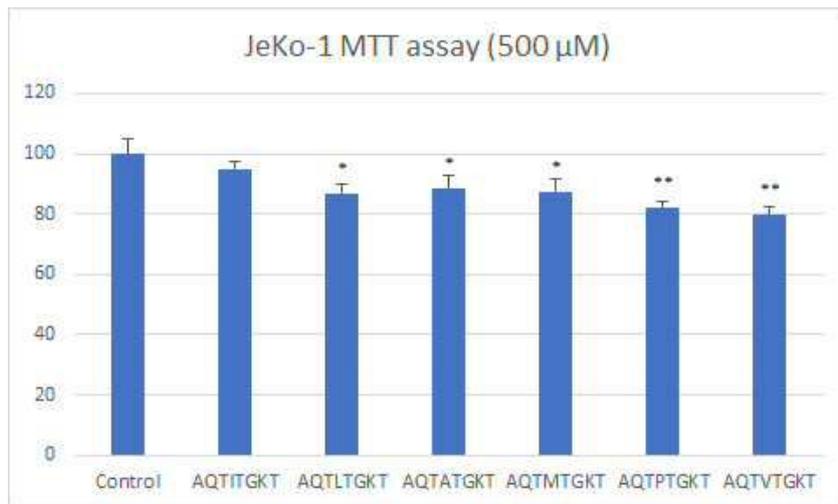
도면4



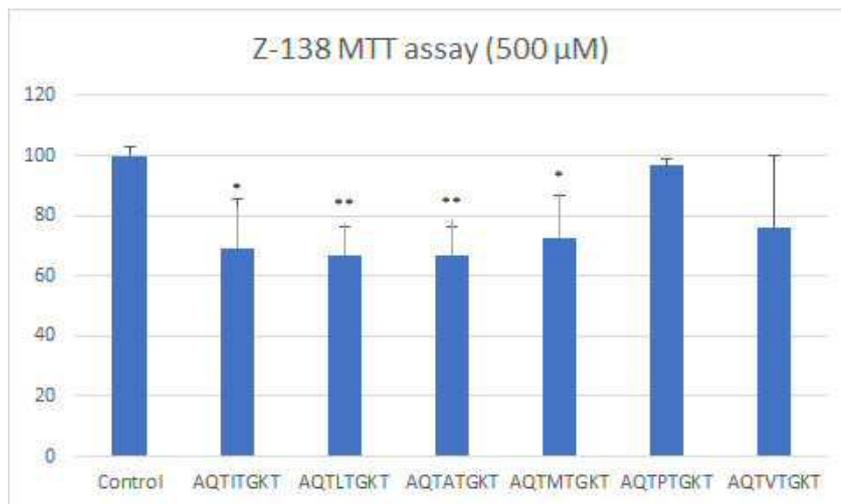
도면5



도면6



도면7



서열 목록

- <110> L-Base Co., Ltd.
- <120> Novel oligopeptides and pharmaceutical composition for preventing or treating cancer comprising the same as an active ingredient
- <130> MP20-074
- <150> US 62/842,155
- <151> 2019-05-02
- <160> 6
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 8

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Oligopeptide #1 AQTITGKT
<400> 1
Ala Gln Thr Ile Thr Gly Lys Thr
1 5
<210> 2
<211> 8
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Oligopeptide #2 AQTLTGKT
<400> 2
Ala Gln Thr Leu Thr Gly Lys Thr
1 5
<210> 3
<211> 8
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Oligopeptide #3 AQTATGKT
<400> 3
Ala Gln Thr Ala Thr Gly Lys Thr
1 5
<210> 4
<211> 8
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Oligopeptide #4 AQTMTGKT
<400> 4
Ala Gln Thr Met Thr Gly Lys Thr
1 5

<210> 5
<211> 8
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligopeptide #5 AQTPTGKT

<400> 5

Ala Gln Thr Pro Thr Gly Lys Thr

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligopeptide #6 AQTVTGKT

<400> 6

Ala Gln Thr Val Thr Gly Lys Thr

1 5