

2-([1,1'-바이페닐]-4-일)-N-(5-(1,1-다이옥사이도아이소티아졸리딘-2-일)-1H-인다졸-3-일) 아세트아미드를 유효성분으로 포함하는 자궁근종 예방 또는 치료용 조성물

안전성평가연구소 (49%)

김기석, 박성걸, 이수정, 이향애

계명대학교 산학협력단 (51%)

김신, 이진호, 박종욱, 조치흠

■ 권리사항

출원번호: 10-2015-0081386

출원일: 2015-06-09

■ 적용가능분야 및 목표시장 자궁근종 치료제

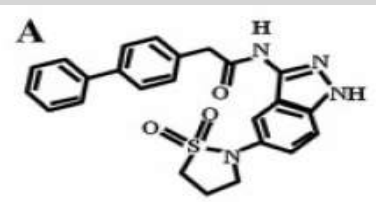
■ 기술 개요

- 본 발명은 BAI, 2-[1,1'-biphenyl]-4-yl-N-[5-(1,1-dioxo-1λ⁶-isothiazolidin-2-yl)-1H-indazol-3-yl]acetamide의 자궁근종의 치료제 용도에 관한 것임.

■ 기술의 특징점

- 본 발명은 항암제 용도로써 알려진 BAI의 자궁근종 치료제 사용 효과를 최초로 확인하여 새로운 용도로 활용 가능성을 도출함.

■ 기술 세부내용

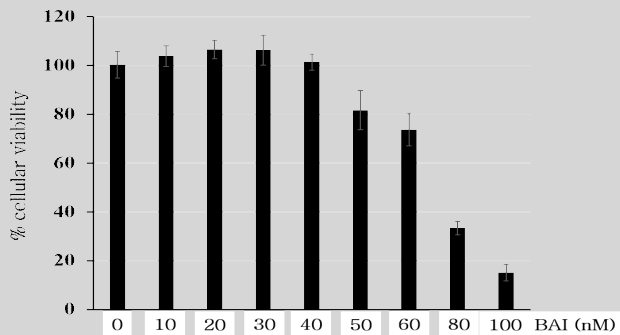


〈그림 1〉 BAI 구조

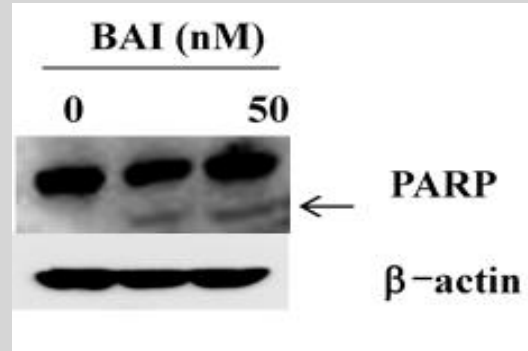
- 본 발명은 그림 1과 같은 구조의 BAI, 2-[1,1'-biphenyl]-4-yl-N-[5-(1,1-dioxo-1λ⁶-isothiazolidin-2-yl)-1H-indazol-3-yl]acetamide의 자궁근종의 치료제 용도에 관한 것임.
- 세포 생존능 검사, Western blotting 분석법, hERG 이온채널(IKr ion channel) 측정, 심전도 측정, 좌심실 수축-이완기 압력 측정을 통해서 본 약물의 유효성, 독성평가를 실시하였음.

〈BAI의 항암제로서의 유효성 평가〉

- 자궁근종에 대한 BAI의 항증식 효과 : 환자에서 분리한 자궁근종 1차 배양세포를 계대 배양한 후, 배양된 자궁근종 세포의 성장에 대한 BAI약물의 효과를 분석하기 위해 세포 모양 변화를 관찰하고, MTT 분석법을 실시 하였을 때, BAI약물의 농도 의존적으로 자궁근종세포의 성장 억제를 확인함 (50, 60, 80, 및 100 nM농도로 BAI약물 처리 시 81%, 74%, 33%, 및 15%로 세포 생존율 감소).
- BAI약물이 자궁근종세포의 PARP단백질에 미치는 영향: 자궁근종 1차 배양세포를 계대 배양한 후, BAI약물을 50 및 80 nM 농도로 처리하고 48시간 배양한 뒤, 세포내 단백질을 수거하여 Western blotting 분석법을 실시하였을 때, 세포자멸사와 관련된 PARP 단백질이 BAI처리군에서 절편화된 것을 확인함.



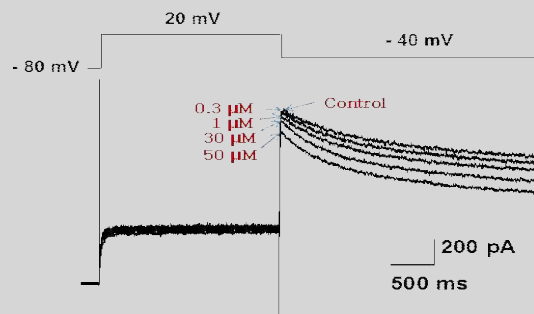
〈그림 2〉 자궁근종세포 증식에 대한 BAI약물의 효과



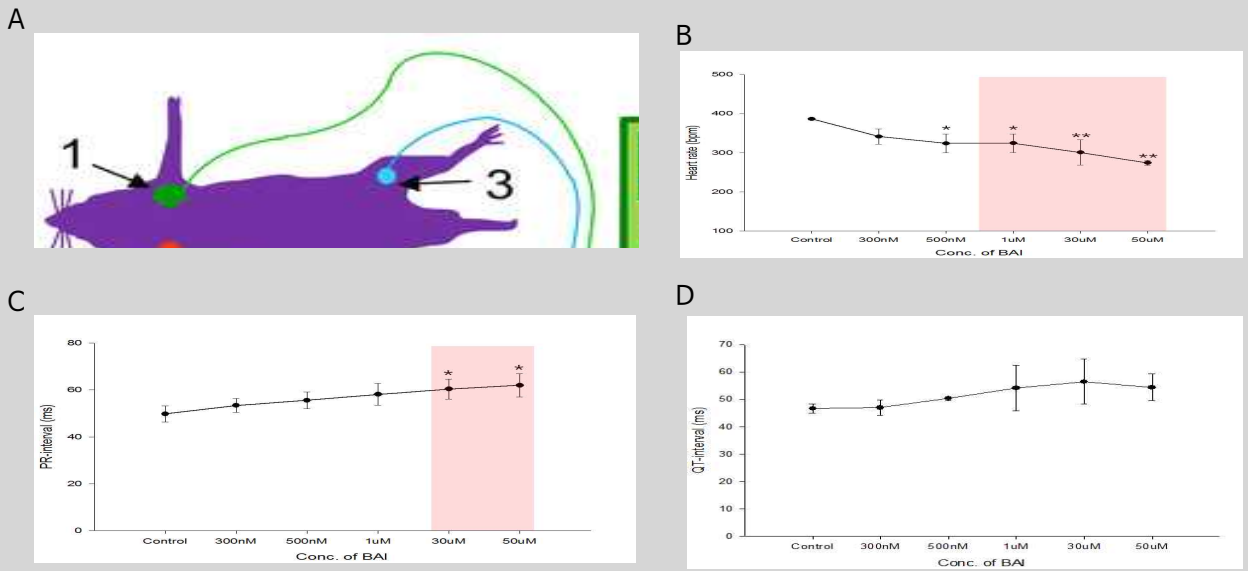
〈그림 3〉 세포자멸사와 관련된 단백질인 PARP단백질에 대한 BAI약물의 효과

〈BAI의 심장독성 평가〉

- BAI약물이 심실재분극에 관여하는 hERG 채널에 미치는 영향 : 0.3, 1, 30, 50 μ M BAI농도에 따른 hERG current의 억제정도를 그래프로 나타내고, hERG current의 최대 억제량의 50%를 야기 시키는 농도인 IC50값을 구하였을 때 1.7 ± 0.06 mM (n =4) 로 100 μ M에서 약 20% 정도의 억제율을 보였음 (그림 4).
- BAI가 랫드의 심전도에 미치는 영향: 300 nM, 500 nM, 1 μ M, 30 μ M, 50 μ M의 BAI를 투여한 후 40분 후의 변화를 측정하였으며, 심박수, PR, QT, TP 간격을 분석하였음. 그 결과, 대조군에 비해 300nM을 제외한 투여군에서 심박수의 유의미한 감소가 나타났지만 500nM까지는 정상 참고치 범위였음. 심방과 심실간의 흥분전도 시간인 PR간격은 30 μ M과 50 μ M에서 유의미한 증가를 나타내었음. 심실의 탈분극개시에서 재분극이 종료되는 시간을 나타내는 QT 간격에서는 유의미한 변화가 나타나지 않았음. T peak to end T 간격에서는 50 μ M에서만 유의미한 변화가 나타났음 (그림 5).
- BAI가 랫드의 좌심실 압력에 미치는 영향: 좌심실 압력의 측정은 BAI투여후 40분 후의 변화를 측정하였으며, 심박수, 좌심실 수축기 및 이완기말 압력, 좌심실수축력 등을 분석하였음. 그 결과, 대조군에 비해 심박수는 300 nM을 제외한 모든 투여군에서 유의미한 감소를 나타내고, 좌심실 수축기말 압력은 대조군에 비해 1 μ M, 30 μ M, 50 μ M에서 유의미한 변화를 보였음. 최대 수축기 압력에서는 30 μ M과 50 μ M에서만 유의미한 감소가 나타났음. 좌심실 이완기말 압력은 대조군에 비해 유의미한 변화가 나타나지 않았으며, 최대 좌심실 수축력에서는 1 μ M, 30 μ M, 50 μ M에서 유의미하게 감소하는 것으로 나타났으며, 최소 좌심실 수축력에서는 30 μ M과 50 μ M에서 유의미하게 증가하는 것으로 나타났음 (그림 6).
- 종합적으로, BAI는 심실의 재분극에 관여하는 hERG채널에 큰 영향을 미치지 않으며, in vivo, ex vivo 동물실험에서는 1 μ M (450 μ g/kg) 이상이 심장의 심전도와 좌심실압력에 유의미한 영향을 미치는 것으로 보임.

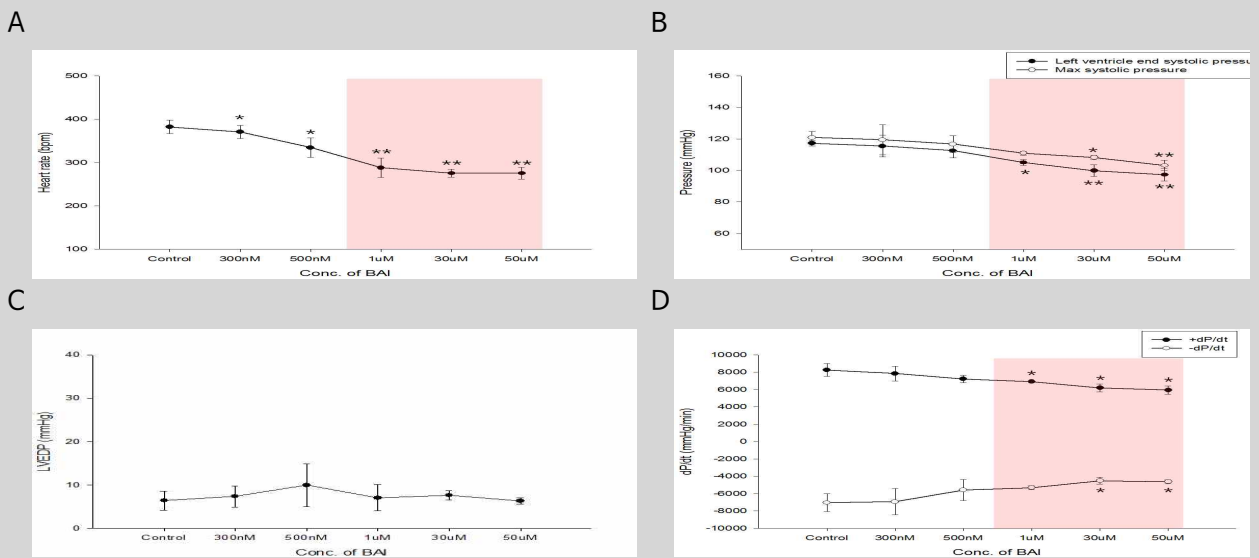


〈그림 4〉 hERG채널에 대한 BAI의 영향평가



〈그림 5〉 랫드의 심전도에 대한 BAI약물의 영향 평가

A 랫드의 사지유도 심전도 측정방법, B 심박수, C PR간격, D QT간격, E Tpeak to end T간격을 나타낸 그래프 (대조군 대비 *P<0.05, **P<0.01)



〈그림 6〉 랫드의 좌심실압력에 대한 BAI약물의 영향평가. A 심전도, B 좌심실수축기말압력과 최대수축기압력 C 좌심실이완기압력, D 심실수축력 (대조군 대비 * P<0.05, **P <0.01)