명세서

발명의 명칭: PARP 저해제 저항성 암 치료제

기술분야

[1] 본 출원은 2021년 5월 18일자 한국 특허 출원 제 10-2021-0064278호에 기초한 우선권의 이익을 주장하며, 해당 한국 특허 출원의 문헌에 개시된 모든 내용은 본 명세서의 일부로서 포함한다.

[2] 본 발명은 PARP 저해제에 저항성을 지니는 고형암 환자의 치료에 사용될 수 있는 암 치료제에 관한 것이다.

배경기술

[3] 암 발생의 대표적인 원인 중 하나로 DNA 돌연변이의 누적이 알려져 있다. 포유류는 하나의 세포인 수정란으로부터 끊임없는 세포 분열과정을 통해 성장 및 생장하고, 이 과정에서 필연적으로 DNA에 돌연변이(이하 "DNA 손상"이라 함)가 생기지만, 상동 재조합(Homologous Recombination: HR) 또는 비상동말단연결(Non-Homologous End Joining: NHEJ) 등의 다양한 DNA 복구(DNA Repair) 기전에 의해 DNA 손상을 복구하고 있다. 각각의 DNA 복구 기전에는 다양한 종류의 단백질들이 관여하고, 만약 이들 단백질 중 일부에 돌연변이가 발생할 경우, DNA 복구 기전에 문제가 발생하므로 암 발생 확률은 수 배에서 수백 배까지 높아진다. 일반적으로 상동 재조합 기능이 상실되면 유전체가 불안정하게 되고, 이는 다양한 유전적 변화를 유발함으로써 결국 종양이 발생한다.

[4] 손상된 DNA 복구에 관련된 BRCA1/2 유전자는 종양 발생을 억제하는 유전자로서, BRCA1/2 유전자에 돌연변이가 발생하여 기능이 저하되는 경우, 손상된 DNA가 올바르게 복구되지 않아 DNA 손상이 누적적으로 발생함으로써 암을 유발하는 것으로 알려져 있다. 이를 상동 재조합 결핍(Homologous Recombination Deficiency: HRD)이라 일컫는다. 상동 재조합 결핍 종양으로 BRCA1/2 유전자 돌연변이와 관련된 유방암 및 난소암이 잘 알려져 있다. 특히 BRCA1/2 유전자 돌연변이를 가진 여성의 경우 유방암 또는 난소암 발병 확률이 각각 최대 80%, 60% 까지 증대된다는 것이 알려져 있다. 하지만, BRCA1/2 유전자 돌연변이는 앞서 언급한 유방암 및 난소암 뿐만 아니라, 위암, 췌장암, 전립선암, 담낭암, 담도암, 및 대장암과도 관련된 것으로 알려져 있다.

[5]

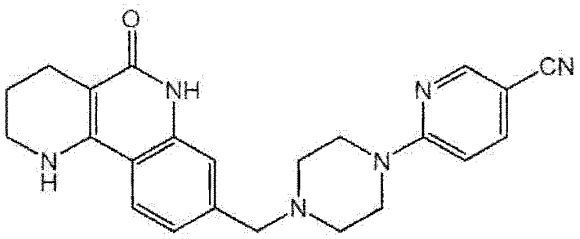
[6] 폴리(ADP-리보스)폴리머라제(Poly(ADP-Ribose) Polymerase: PARP) 단백질은 DNA 복제시 필연적으로 발생되는 에러를 복구하기 위해 필요한 단백질로 핵에서 손상된 DNA를 인지하여 활성화된 후 DNA 복구 관련 단백질들을 post-translation 과정(PARrylation)을 통해 활성화시키는 효소이다. 지금까지 17개의 PARP 패밀리가 알려져 있지만, 오직 PARP1/2만이 폴리(ADP-리보실화)

활성을 지니는 DNA 복구 효소로 밝혀져 있으며, 세포 생존에 반드시 필요한 효소로 알려져 있다.

[7] 상동 재조합 결핍 종양은 PARP 저해제로 인한 DNA 손상에 민감한 반응을 보이는 것으로 알려져 있다. 따라서 PARP 저해제는 암 치료제로서 임상에서 큰 가능성을 가진다. 실제 올라파립(Olaparib; Lynparza™), 루카파립(Rucaparib: Rubraca™), 니라파립(Niraparib: ZEJULA™), 탈라조파립(Talazoparib: Talzenna™)과 같은 PARP 저해제가 유전적으로 BRCA1/2 돌연변이(germ-line mutation)를 가진 난소암, 유방암 또는 전립선암 환자에 처방되고 있고, 특히 니라파립은 백금 기반 항암화학요법에 완전 또는 부분적으로 반응하는 재발성 상피난소암, 고도장액성 난소암(난관암 또는 일차 복막암 포함) 등을 대상으로 한 유지요법제로 사용되고 있다.

[8] PARP 저해제로 개발된 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴은 하기 화학식 1의 구조를 가진다. 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 PARP1/2 뿐만 아니라 탄키라제(tankyrase)1/2에 대해서도 저해능을 보인다. 탄키라제는 Wnt/β-catenin 신호경로, DNA 복구과정 및 세포주기에 관련이 높은 유사분열에 관여하는 것으로 알려져 있다. 또한, 탄키라제 1/2는 TRF-1를 ADP-리보실화하여 종말체(telomere) 길이의 양성 조절인자로서 기능하여, 텔로머라제(telomerase)에 의해 종말체(telomere)의 신장을 허용하게 된다. 또한, 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 백금 기반 항암 화학요법에 완전 또는 부분적으로 반응하는 재발성 상피난소암, 고도장액성 난소암 등에 대한 치료 효과를 기대하고 있다.

[9] <화학식 1>

[10] 

[11] 이와 같이 다양한 PARP 저해제의 암 치료용 표적 치료제로서의 가능성 또는 기대와는 별개로 올라파립을 비롯한 PARP 저해제들은 다른 항암제들과 마찬가지로 선천적/후천적 저항성 또는 불응성 비율이 높다. 상동 재조합 결핍 종양에 대한 약물 저항성 비율이 높아지면서 이에 대한 연구가 이루어지고 있지만, 현재까지 큰 진전은 없다.

[12] 또한, 상기 화학식 1의 화합물이 화학식 1을 제외한 다른 항암제에 저항성을 가지는 고형암, 특히 기존 표준치료에 사용되는 PARP 저해제에 저항성을 지니는 고형암을 치료할 수 있는지 여부에 대해서도 알려진 바 없다.

[13] 이러한 배경하에서, 본 발명의 발명자들은 PARP 저해제에 대한 저항성을 보이는 환자 치료에 사용될 수 있는 항암제를 다각도로 연구한 결과, 본 발명의 화학식 1을 포함하는 화합물이 기존 PARP 저해제(올라파립 등)에 저항성을 가지는 환자의 종양 크기를 줄이는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[14] [선행기술문헌]

[15] [특허문헌]

[16] 1. 대한민국 등록특허 10-1136702(공고일: 2012. 4. 20.)

[17] 2. 대한민국 등록특허 10-1146806(공고일: 2012. 5. 22.)

[18] 3. 대한민국 등록특허 10-1837047(공고일: 2018. 3. 09.)

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[19] 본 발명은 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물을 PARP 저해제에 저항성을 가지는 환자의 고형암 치료용 조성물로 제공하는 것을 목적으로 한다.

[20] 본 발명의 또 다른 목적은 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 PARP 저해제에 대한 저항성을 가지는 개체에 투여하여 개체의 고형암을 치료하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[21] 본 발명은 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 PARP 저해제에 대한 저항성을 가지는 환자의 고형암에 대한 치료 용도로 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

[22] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 PARP 저해제에 대한 저항성을 가지는 환자의 고형암 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[23] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 PARP 저해제는 올라파립, 루카파립, 니라파립, 및 탈라조파립 중 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[24] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가질 수 있다.

[25] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 환자는 생식세포(germline) BRCA1/2 돌연변이를 가질 수 있다.

[26] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 환자는 체세포(somatic) BRCA1/2 돌연변이를 가질 수 있다.

[27] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가지며, 초기에는 PARP 저해제에 반응을 보이다가, 치료 과정에서 저항성을 획득하여 PARP 저해제에 반응을 보이지 않았거나, 암이 재발된 환자일 수 있다.

[28] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가지나, PARP 저해제에 반응을 보이지 않았던 환자일 수 있다.

[29] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 갖지 않으며, 기존에 PARP 저해제에 반응을 보이지 않았거나, 암이 재발된 환자일 수 있다.

[30] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 고형암은 BRCA1/2 돌연변이에 의해 발생할 수 있다고 알려진 난소암, 유방암, 전립선암, 췌장암, 대장암, 담낭암, 담도암, 위암일 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[31] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 고형암은 진행성 고형암, 재발성 고형암 또는 전이성 고형암 형태일 수 있다.

[32] 본 발명의 일 구현예로서, 고형암이 난소암인 경우 진행성 난소암, 재발성 난소암, 고도장액성 난소암(난관암 또는 일차 복막암 포함)일 수 있고, 원발암이 난소암인 전이암의 경우 유방암, 전립선암, 췌장암, 대장암, 담낭암, 담도암, 위암, 간암, 폐암일 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[33] 본 발명의 일 구현예에 따라, 상기 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴의 약학적으로 허용되는 염은 시트르산염일 수 있다.

[34]

[35] 또한, 본 발명은

[36] PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자 치료용 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[37] 또한, 본 발명은

[38] 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효량으로 투여하여 PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자를 치료하는 방법을 제공한다.

[39] 또한, 본 발명은

[40] PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자의 치료용 약제 제조를 위한 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

발명의 효과

[41] 본 발명에 따른

6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물은 PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자에서 종양 크기를 효과적으로 줄일 수 있으므로, PARP 저해제에 저항성을 지니는 고형암 환자의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[42] 도 1은 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물의 항암효과 분석 결과(실시예 2)를 나타낸 그래프이며,

[43] 도 2는 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물의 Wnt 신호전달경로 활성 억제 실험결과(실시예 4)를 나타낸 그래프이며,

[44] 도 3은 Xenograft 모델을 사용하여 평가한 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물의 항암효과(실시예 5)를 나타낸 도면이며,

[45] 도 4는 Xenograft 모델을 사용하여 평가한 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물의 항암효과(실시예 6)를 나타낸 도면이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[46] 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[47] 본 개시내용의 특정의 특성을 기술하고 청구함에 있어서, 다음의 용어는 달리 지정되지 않는 한 이하에 기술된 정의에 따라 사용될 것이다.

[48] 본원에서 어떤 양태들이 "~를 포함하는"이란 용어와 함께 기술되더라도, "~로 구성된" 및/또는 "본질적으로 ~로 구성된"의 관점에서 기술된 다른 유사 양태들도 또한 제공된다는 것이 이해되어야 한다.

[49] 용어 "약학적으로 허용되는"은 조성, 제형, 안전성 등에 대해 약리학적/독성학적 관점으로부터 환자에게 허용되는 물질을 의미하고, "약학적으로 허용되는 담체"는 활성 성분(들)의 생물학적 활성의 효과를 방해하지 않는 매질을 언급하며, 투여시 대상체에 무독성이다.

[50] 용어 "저항성"은 약물에 대하여 원하는 반응(항암 효과)을 가지지 않는 경우를 의미한다. 구체적으로 본 발명에서는 PARP 저해제 표준요법에도 불구하고, 처음부터 약물이 반응하지 않는 경우(불응성), 처음에는 약물에 반응하다가 어느 시점부터 재발하는 경우(처음에는 암 병변이 줄어들다가 재발하여 늘어나는 경우; 획득 저항성)를 모두 포괄하는 의미이다. 본 명세서에서는"저항성" 및 "내성"은 구분되지 않고 사용될 수 있다.

[51] 용어 "환자" 또는 "대상체"또는 "개체"란, 본 발명의 약학적 조성물의 투여에 의해 질환이 치료될 수 있는 병태, 예컨대 고형암을 앓고 있는 유기체를 지칭하며, 인간과 동물 모두를 포함한다. 대상체로서는 포유동물(예컨대, 마우스, 원숭이, 말, 소, 돼지, 개, 고양이 등)을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니며, 바람직하게는 인간이다. 또한, 본 발명에서의 "환자" 또는 "대상체"또는 "개체"는 PARP 저해제에 저항성을 지니는 고형암 환자를 포함한다.

[52] 용어 "BRCA1/2 돌연변이"는 BRCA1 및/또는 BRCA2의 돌연변이를 의미하는 것으로 BRCA1 및 BRCA2 유전자의 하나 이상의 부위에서 자연적으로 발생하는 돌연변이를 의미한다. 따라서, BRCA1 및 BRCA2 유전자 중 선택되는 어느 하나의 유전자에서 돌연변이가 일어나거나, 두 유전자 모두에서 돌연변이가 일어날 수 있고, 상기 돌연변이는 각 유전자의 하나의 부위 또는 둘 이상의 부위에서 일어날 수 있다.

[53] 앞서 언급한 바와 같이 PARP 저해제는 상동 재조합 결핍성 종양의 표적치료제로서 임상에서 큰 가능성을 보였지만, 선천적 또는 후천적 저항성 획득 비율이 높다고 알려져 있다. 그 이유에 대해서는 다양한 설명이 있는데 i) ABC 수용체(ABC transporter) 증가에 의한 약물 유출(drug efflux) 증가, ii) PAR chain의 활성화, iii) 상동 재조합 기전에 작용하는 p53 등의 종양 억제 유전자들의 돌연변이에 의한 상동 재조합 기전의 재활성화, iv) 복제 포크(replication fork) 부분의 안정화 또는 보호, 및 v) Wnt 신호전달 경로의 활성화 등으로 설명하는 기전이 있다.

[54] 상기 iii)의 기전과 관련하여, 상동 재조합 과정에는 다양한 단백질들이 관여하는 것으로 알려져 있고, BRCA1/2 돌연변이가 발견된 암환자에서는 p53, ATM, ATR, p51 등의 상동 재조합 과정에 관여하는 다른 단백질들의 돌연변이도 동시에 발견되고 있으므로, 이들은 PARP 저해제에 대한 저항성 획득과 관련되어 있을 것이라고 설명되고 있다.

[55] PARP 저해제가 상동 재조합 결핍 종양 환자에 특이적인 표적치료제로 작용하기는 하지만, 이들은 저항성을 획득하기 쉬운 특징을 가지므로, PARP 저해제에 저항성을 지니는 환자의 치료에 사용될 수 있는 신규한 항암제에 대한 수요가 증가하고 있다.

[56] 항암 치료의 실패를 초래하는 원인 중에 하나인 다약제내성 (multidrug resistance, MDR)은 항암 치료 분야에서 최근 중요한 문제로 부각되어 왔다. 이런 능력은 암세포에 MDR유전자가 있기 때문인데, MDR1(ABCB1)유전자는 P-당단백질(P-glycoprotein, 이하 P-gp)이라는 물질을 만드는 유전자이다. P-gp는 다양한 종류의 약물들이 세포막을 통과할 수 있게 도와주며, 세포 내에서 밖으로 배출시키는 역할을 하는 효소이다. 많은 항암제들이 지속적으로 환자들에게 투약되게 되면 약물의 내성이 나타나게 되는데, P-gp의 과발현이 내성 기전 중에 하나이다. 따라서 P-gp의 기질이 되는 약물들은 P-gp의 과발현 시 P-gp에 의해 세포 밖으로 배출되어 약효를 나타내지 못하게 된다. 항암제의 사용에 있어서, 이러한 다약제 내성이 중요한 제한요소로 작용되고 있고, 이러한 다약제 내성을 극복하기 위한 연구들이 다양하게 진행되고 있다. 이처럼 P-gp가 과발현이 된 암세포는 P-gp의 기능을 억제 시키거나 P-gp 기질로 이용되지 않는 항암제를 선택하여 내성을 극복할 수 있다.

[57] 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물은 P-gp에 의한 유출률이 기존 PARP 저해제와 비교하여 현저히 낮은 것으로 확인된다. 따라서, PARP 저해제에

저항성을 지니는 환자의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[58]

[59] Wnt 신호전달경로는 배아 발생, 조직 항상성 및 다양한 질병과 연관이 되어 있다. 과활성화된 신호전달은 ß-catenin의 축적을 야기하고 핵내로 이동하여 발암 유전자의 전사 및 세포의 성장을 촉진시킨다. 이에 Wnt 신호경로를 차단하는 치료제를 개발하려는 노력들이 이루어지고 있다.

[60] PARP 저해제의 내성 기전이 Wnt 신호전달경로와 관련되어 있다는 최근 연구들이 보고되고 있다. 즉, PARP 저해제는 Wnt 신호전달경로를 활성화시키며, 이러한 Wnt 신호전달경로의 활성화에 의해 내성이 발생하는 것으로 알려져 있다. 따라서 PARP 저해제에 내성이 획득된 암세포에서 Wnt 신호전달경로를 차단할 수 있는 항암제를 선택하여 PARP 저해제의 내성을 극복할 수 있다.

[61] 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물은 Wnt 신호전달경로를 억제하는 것으로 확인된다. 그러므로, PARP 저해제에 저항성을 지니는 환자의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[62]

[63] 본 발명에서는 PARP 저해제에 저항성을 지니는 고형암 환자에 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴(화학식 1 화합물) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 처리하였을 때, 고형암의 크기가 줄어든다는 것을 발견하였다.

[64] 이러한 사실은, 예를 들어, PARP 저해제(올라파립, 루카파립, 니라파립, 또는 탈라조파립)에 저항성을 지니는 세포주 또는 PARP 저해제에 저항성을 지니는 암(예: 난소암) 환자에게서 분리한 primary 세포(CHA-OVA-13 세포)에 화학식 1 화합물의 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 처리하는 시험을 통하여 확인할 수 있다. 구체적으로는 BRCA 돌연변이 양성 난소암 또는 유방암 세포주로서 HCC1937, SNU-251, BT474 및 SNU-119 등의 세포주 중 PARP 저해제에 저항성을 지니는 세포주(예: IC_{50} 값이 50 uM 이상)를 선별한 후, 세포주에 화학식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 처리하는 시험을 통하여 세포사멸이 일어나는 것을 확인할 수 있다.

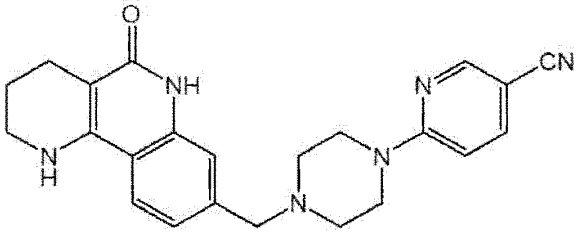
[65] 또한, 화학식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 처리에 의해 세포사멸이 일어나는 PARP 저해제 저항성 세포주에서 pATR, pCHK1, pAKT, 탄키라제, 절단된 caspase 3, 절단된 PARP 단백질 등의 세포사멸, 상동재조합, 및 신호전달 단백질의 발현 정도를 확인하는 실험을 통하여 상기 화학식 1 화합물의 항암활성 메커니즘(기전)을 확인할 수 있다.

[66] 이 같은 기전은 PARP 저해제 저항성 세포주를 이식한 동물모델 및 실제 PARP 저해제 저항성 암환자를 대상으로 하는 임상시험 결과에 의해서도 확인할 수 있다.

[67]

[68] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물인 "6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴" 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물을 PARP 저해제에 대한 저항성을 지니는 환자의 고형암 치료용으로 제공한다.

[69] <화학식 1>

[70] 

[71] 상기 화학식 1의 화합물은 PARP1/2에 저해능을 보이므로, 상동 재조합 결핍 종양 환자의 표적치료제로 사용될 수 있을 뿐 아니라, 탄키라제 1/2를 동시에 저해할 수 있는 항암제이다.

[72] 탄키라제는 텔로미어의 항상성(homeostasis), *Wnt*/β-catenin 신호전달, 당 대사, 세포 주기 진행(cell cycle progression)에 관여한다. 특히, *Wnt*/β-catenin은 암 관련 유전자의 전사 과정에 관련되어 있고, 소화기계 암을 포함하는 다양한 암종에서 *Wnt*/β-catenin의 신호전달 기전이 활성화되어 있으므로, 탄키라제를 저해하는 경우 *Wnt*/β-catenin의 신호전달 억제에 의해 항암 효과가 얻어지는 것으로 보고되고 있다. 실제 탄키라제 저해제를 항암제로 개발하려는 시도가 있어왔다.

[73] 따라서, 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 기존 표준치료로 사용되는 올라파립과 같이 PARP1/2를 저해함과 동시에 추가적으로 탄키라제도 같이 저해할 수 있으므로, 올라파립 등과는 동일하지 않은 기전으로 작용하는 것을 알 수 있다.

[74]

[75] 본 발명에 있어서, 화학식 1의 약학적으로 허용 가능한 염은 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들어 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조한다. 즉, 동일 몰량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알콜(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고, 이어서 상기 혼합물에서 용매를 증발시켜 건조하거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과하여 제조할 수 있다.

[76] 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산(fumaric acid), 만데르산, 프로피온산 (propionic acid), 시트르산(citric acid), 젖산(lactic acid),

글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 히드로아이오딕산 등을 사용할 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[77] 특히, 화학식 1의 시트르산염이 바람직하게 사용될 수 있다.

[78] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 화학식 1의 약학적으로 허용 가능한 염으로는 상기 화학식 1의 시트르산염의 무수물, 1수화물, 또는 2수화물이 사용될 수 있으며, 결정형 또는 무정형, 또는 결정형과 무정형이 혼합된 형태가 사용될 수 있다.

[79] 화학식 1 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염의 다양한 형태는 이 분야에 공지된 방법으로 제조하는 것이 가능하다.

[80]

[81] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 고형암 환자가 저항성을 가지는 PARP 저해제로는 표준치료에 사용되는 항암제인 올라파립, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립 등을 들 수 있으나 이들로 한정되는 것은 아니다.

[82] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 PARP 저해제는 올라파립일 수 있다.

[83] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 고형암 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가지는 상동 재조합 결핍 종양 환자일 수 있다.

[84] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 BRCA1/2 돌연변이는 생식세포(germline) 돌연변이 또는 체세포(somatic) 돌연변이일 수 있다.

[85] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가지며, 초기에는 PARP 저해제에 반응을 보이다가, 치료 과정에서 저항성을 획득하여 PARP 저해제에 반응을 보이지 않았거나, 암이 재발된 환자일 수 있다.

[86] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가지나, PARP 저해제에 반응을 보이지 않았던 환자일 수 있다.

[87] 본 발명의 일 실시예로, 상기 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 갖지 않으며, 기존에 PARP 저해제에 반응을 보이지 않았거나, 암이 재발된 환자일 수 있다.

[88] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 고형암은 진행성 고형암, 재발성 고형암 또는 전이성 고형암일 수 있다.

[89] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 고형암은 유방암, 전립선암, 췌장암, 난소암, 진행성 난소암, 고도장액성 난소암(난관암 또는 일차 복막암 포함), 원발암인 난소암에서 전이된 전이암, 유방암, 전립성암, 췌장암일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[90] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 고형암은 난소암일 수 있고, 원발암인 난소암에서 전이된 암일 수 있다.

[91] 본 발명에 따른 약학적 조성물에는 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 하나 이상의 부형제 및/또는 희석제가 추가로 포함될 수 있다.

[92] 약학적으로 적합한 담체의 예에는 고형물 및/또는 액상물, 예를 들면, 에탄올,

글리세롤, 물 등이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 약학적 조성물 중의 담체의 양은 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 약 5 내지 약 99중량%의 범위일 수 있다. 약학적으로 허용되는 부형제 및 희석제의 종류에는 비독성의 상용성 충진제, 결합제, 붕해제, 완충제, 방부제, 습윤제, 증량제, 산화방지제, 윤활제, 향미제, 점증제, 착색제, 계면활성제, 유화제, 헌탁제 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이러한 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 들 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니며, 다른 약학적으로 허용가능한 모든 담체, 부형제 및 희석제가 사용될 수 있음은 통상의 기술자에게는 자명한 것이다.

[93] 본 발명의 화합물 또는 이의 염을 포함하는 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 정제, 산제, 과립제, 환제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 내용액제, 유제, 시럽 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[94] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액으로서 멸균 주사용 제제의 형태일 수 있다. 이 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제(예, 트윈 80) 및 현탁화제를 사용하여 이 분야에 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 상기 멸균 주사용 제제는 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사용액 또는 현탁액(예, 1,3-부탄디올 중의 용액)일 수 있다. 허용 가능한 비히클 및 용매로는 만니톨, 물, 링겔 용액 또는 등장성 염화나트륨 용액 등을 들 수 있다. 또한, 멸균 불휘발성 오일이 통상적으로 용매 또는 현탁화 매질로서 사용될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 합성 모노 또는 디글리세라이드를 포함하여 자극성이 적은 어떠한 불휘발성 오일도 사용할 수 있다. 올레산 및 이의 글리세라이드 유도체와 같은 지방산이 약학적으로 허용되는 천연 오일(예, 올리브유 또는 피마자유), 특히 이들의 폴리옥시에틸화된 것과 마찬가지로 주사 제제에 유용하게 사용될 수 있다.

[95] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만 캡슐, 정제 및 수성 현탁액 및 용액을 포함하여 경구적으로 허용되는 어떠한 용량으로도 경구 투여될 수 있다

[96] 본 발명의 약학적 조성물의 비경구 투여용 조성물은 직장 투여를 위한 좌제 또는 주사제 형태로 제조될 수 있다. 좌제 조성물의 경우 본 발명의 화합물을, 실온에서 고형이지만 직장 온도에서는 액상인 적합한 비자극성 부형제와 혼합하여 제조할 수 있다. 이러한 물질로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 코코아 버터, 밀랍 및 폴리에틸렌글리콜이 포함될 수 있다.

[97] 주사제 조성물의 경우 본 발명의 화합물을 유효성분으로 통상의 주사제용

부형제가 포함될 수 있고, 투여 경로는 정맥 주사, 근육주사, 피하주사 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[98] 본 발명의 약학적 조성물에 상기한 신규 화합물은 치료학적 유효량 또는 예방학적 유효량으로 함유된다. 본 발명에 따른 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위하여, 본 발명의 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 0.0001~1000㎎, 0.01~500㎎, 0.1~300㎎, 1~200㎎, 또는 50~200㎎의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 조성물 중 상기 화학식 1의 화합물은 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~50중량%의 함량으로 배합될 수 있다.

[99] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 상기 화학식 1 로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체, 이의 라세미체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 외에 동일 또는 유사한 약효를 나타내는 유효성분을 1 종 이상 더 포함할 수 있다.

[100] 또한, 본 발명은 PARP 저해제에 저항성을 지니는 고형암의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 상기 화학식 1 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[101] 약제의 제조를 위한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 약학적으로 허용되는 보조제, 희석제, 담체 등을 혼합할 수 있으며, 기타 활성제제와 함께 복합 제제로 제조되어 상승 작용을 가질 수 있다.

[102] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 유효량을 인간을 포함하는 포유류에 투여하여 PARP 저해제에 저항성을 지니는 고형암을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[103] 본 발명의 예방 또는 치료 방법은 상기 화학식 1 로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여함으로써, 징후의 발현 전에 질병 그 자체를 다룰 뿐만 아니라, 이의 징후를 저해하거나 피하는 것 또한 포함한다. 질환의 관리에 있어서, 특정 활성 성분의 예방적 또는 치료학적 용량은 질병 또는 상태의 본성(nature)과 심각도, 그리고 활성 성분이 투여되는 경로에 따라 다양할 것이다. 용량 및 투여의 빈도는 개별 환자의 연령, 체중 및 반응에 따라 다양할 것이다. 적합한 용량 용법은 이러한 인자를 당연히 고려하는 이 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 쉽게 선택될 수 있다. 또한, 본 발명의 예방 또는 치료 방법은 상기 화학식 1 로 표시되는 화합물과 함께 질환 치료에 도움이 되는 추가적인 활성 제제의 치료학적으로 유효한 양의 투여를 더 포함할 수 있으며, 추가적인 활성제제는 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염과 함께 시너지 효과 또는 상가적 효과를 나타낼 수 있다.

[104] 본 발명의 약학적 조성물, 용도, 치료 방법에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.

[105] 본 발명의 약학적 조성물은 설명서 등을 포함하는 키트 형태로 제공될 수 있다.

[106] 달리 나타내지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 모든 숫자는,

언급되었든지 아니든지, 모든 경우에 용어 "약"에 의해 수식될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 명세서 및 특허청구범위에 사용된 정밀한 수치는 본 개시내용의 추가적인 실시양태를 형성하는 것으로 이해되어야 한다. 실시예에 개시된 수치의 정확성을 보장하기 위해 노력을 기울였다. 그러나, 측정된 모든 수치는 내재적으로 이의 각각의 측정 기법에서 실측된 표준 편차로부터 생성된 특정 오차값을 함유할 수 있다.

발명의 실시를 위한 형태

[107] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[108]

[109] 본 발명에서 화학식 1의 시트르산염은 이 분야에 공지된 방법 또는 한국 출원 제10-2021-0064416호에 개시된 방법 또는 상기 출원을 기초로 한 우선권주장 출원으로서 본 발명과 동일자로 출원된 출원에 개시된 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들어 화학식 1의 시트르산염 제조방법은 다음과 같다.

[110]

[111] **제조예 1:**

6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 시트르산염(화학식 1의 시트르산염)의 제조

[112]

[113] 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴(화학식 1의 화합물, 7.34kg, 18.32mol)에 메탄올(25.7L), 정제수(25.7L)를 가하였다. 시트르산(5.28kg, 27.49mol)을 메탄올과 정제수의 1:1 혼합용액(22L)에 용해시킨 후 첨가하였다. 15~25℃에서 30분 교반 후 60℃로 승온하고, 60~70℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상온으로 냉각 후 여과하여 화학식 1의 시트르산염 1수화물(10.7kg, 95.8%)을 얻었다.

[114] 상기 화학식 1의 시트르산염 1수화물(500g,0.82mol)에 에탄올(2.5L), 아세톤(2.5L), 이소프로판올(2.5L)을 가하고, 정제수(20mL)를 첨가하였다. 55℃로 승온 후 55~75℃에서 4시간 동안 교반하였다. 25℃이하로 냉각 후 30분간 교반하였다. 생성된 고체를 여과하여 화학식 1의 시트르산염(470g, 수율96.7%) 무수물을 얻었다.

[115]

[116] **실시예 1: 화학식 1의 항암효과 분석(in vitro 실험)**

[117] 화학식 1의 화합물인

6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴) 시트르산염의 상동재조합 결핍 종양에 있어서의

항암효과를 분석하기 위해 다양한 세포주를 이용한 세포 분열 분석을 수행하였다.

[118] 본 분석법에 사용된 세포주로는 BRCA 돌연변이 양성 난소암 또는 유방암 세포주로 HCC1937, SNU-251, BT474 및 SNU-119 세포주를 사용하였고, BRCA 돌연변이 양성 난소암의 primary 세포로 실제 BRCA1 돌연변이 양성 난소암 환자로부터 분리된 CHA-OVA-13 세포(올라파립에 획득 내성을 보이는 난소암 primary cell)를 사용하였다.

[119] 우선적으로 각각의 세포들이 올라파립에 내성을 갖는 세포주인지를 IC_{50}을 측정하여 확인한다. 이때 올라파립에 대한 IC_{50}이 50uM 이상인 세포주는 본 연구에 적합한 PARP 저해제 내성 세포주로 선택한다.

[120] 상기 올라파립 내성 세포주에 다양한 PARP 저해제를 이용하여 다음의 실험의 수행한다. 구체적으로 각각의 세포들을 배양 배지에 현탁하여 96 well plate에 분주한 후 5% CO_2, 37℃ 조건에서 24시간 동안 배양한 후, 올라파립, 니라파립, 탈라조파립 및 화학식 1의 시트르산염을 dose dependent하게 처리하여 72시간 후에 MTT 시약을 넣고 3시간 후 stop buffer(10% SDS)를 넣어주었다. 2~4시간 반응 후 595nm에서 흡광도를 측정하였으며 각 약제들이 세포 성장을 50% 억제한 농도로 IC_{50} 값을 산출한다.

[121] 이와 동시에 각각의 약제들이 처리된 세포의 세포사멸 기전 및 항암활성 메커니즘을 분자수준에서 확인하기 위하여 pATR, pCHK1, pAKT, 탄키라제, 절단된 caspase 3, 절단된 PARP 단백질 등의 세포사멸 등에 관련된 단백질의 양을 이뮤노블랏(Immunoblot) 법으로 분석한다.

[122]

[123] **실시예 2: 항암효과 분석(in vitro 실험)**

[124] 화학식 1의 화합물인 (6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 시트르산염의 BRCA 정상 타입(Wild type) 및 돌연변이 타입(Mutation type) 세포에 대한 항암효과를 분석하기 위하여 다양한 세포주를 이용한 세포 분열 분석을 수행하였다.

[125] **(1) 실험방법**

[126] 본 분석법에서는 각각 wild type BRCA 난소암 세포주인 OVCAR-3, OVCAR-5, SKOV3, NCI/ADR-RES, A2780. A2780 CR(carboplatin 저항성 유발 세포주) 및 OVCA433R(올라파립 내성 세포주)와 mutation type BRCA1 난소암 세포주인 SNU-251를 사용하였다. 위의 해당 세포주를 37℃ 5% CO_2 조건 하에 배양액(RPMI-1640 + 10% heat-inactivated FBS + 1% antibiotic-antimycotic)에서 배양한 후, 세포배양접시에서 떼어 6well plate에서 overnight하여 세포를 부착하였다. 화학식 1의 시트르산염 화합물, 올라파립 및 니라파립을 각각 고농도에서 순차적으로 희석해 여러가지 농도를 처리하고 나머지 빈 well 에는 vehicle control을 처리하였다. 이후 14일에 crystal violet을 처리하여 살아있는

세포의 colony를 염색하였다. PBS로 washing하고 실온에서 충분히 건조한 후 염색된 colony의 수를 세고 현미경과 육안을 이용해 기록하였다. IC_{50} 값 산출은 대조군(vehicle control)을 100%로 가정할 때 상대적인 실험군의 colony 수를 %로 환산하여 colony의 형성을 50% 억제할 수 있는 농도(IC_{50}: an inhibitory concentration to achieve 50% colony formation inhibition)를 기준으로 하였다.

[127]

[128] **(2) 실험결과**

[129] 상기 실험결과는 하기 표 1 및 도 1에 나타내었다.

[130] [표1]

IC_{50}([con.], nM)			
세포주 / 약물	화학식 1의 시트르산염 화합물	올라파립	니라파립
SNU-251(mBRCA1)	0.8526 ± 0.19	465.55 ± 35	1147.6 ± 279.17
OVCAR3	2.0845 ± 0.01	2.39 ± 0.09	72.77 ± 11.19
A2780	3.6 ± 0.21	219.15 ± 10.82	158.9 ± 10.61
A2780 CR(Chemo R)	7.4 ± 1.28	540.9 ± 32.81	306.65 ± 69.79
SKOV3	11.92 ± 3.59	1463.5 ± 120.92	1121 ± 16.97
NCl/ADR-RES(Drug R)	25.68 ± 6.02	756.95 ± 347.97	456.95 ± 81.95
OVCAR5	299.55 ± 117.45	1832 ± 12.73	1310.1 ± 681.51
OVCA433R (Ola-R)	11321	53717	ND

[131] 상기 표 1 및 도 1의 그래프에 나타난 바와 같이, 화학식 1의 시트르산염 화합물은 BRCA의 돌연변이 여부에 상관없이 올라파립이나 니라파립보다 현저하게 낮은 농도로도 암세포의 성장을 억제함을 알 수 있다. 특히, drug efflux pump가 과발현되어 약물 저항성을 보이는 NCI/ADR-RES 세포주나 carboplatin 저항성을 유발시킨 A2780-CR 세포주에서 다른 PARP 저해제와 비교하여 현저히 낮은 농도에서 효과적으로 암의 성장을 억제하였다.

[132]

[133] **실시예 3: 화학식 1의 시트르산염 화합물의 P-gp에 의한 유출률 평가**

[134] P-당단백질(P-gp)은 다양한 약물의 흡수와 유출을 결정하는 약물 수송체 중 하나이다. 이러한 약물의 흡수와 유출 과정은 혈장 및 조직에서의 약물 농도와 궁극적으로 약물의 최종 효과에 영향을 미친다.

[135] P-gp 기질 특이성이 큰 화합물은 다제내성 세포에서 약물 축적 감소의 원인이 되며 종종 항암제에 대한 내성 발달을 매개하는 것으로 알려져 있다. PARP

저해제로 알려진 올라파립, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립 등은 모두 P-gp 기질 특이성이 큰 화합물로 알려져 있다.

[136] 본 실험에서 발명자들은 P-gp에서 화학식 1의 시트르산염 화합물의 유출률(efflux ratio)과 대표적인 PARP 저해제인 올라파립의 유출률을 비교 평가함으로써, 화학식 1의 시트르산염 화합물이 PARP 저해제 저항성을 가지는 암 치료에서 우수한 효과를 나타내는 메카니즘을 규명하고자 하였다.

[137] **(1) 실험방법**

[138] 화학식 1의 시트르산염 화합물 및 올라파립(AZD-2281)의 유출률(efflux ratio)을 측정하기 위해 투과도 시험(permeability study)을 진행하였다. 24-웰 플레이트(24-well plate) 내 직경 6.5mm의 트랜스웰 인서트(transwell insert)에 각 인서트 당 $CaCO_2$세포가 $5X10^4$개/well의 개수가 되는 배양액 200μL를 상층부(apical side)에 분주하였다. 웰 플레이트의 기저부(basolateral side)에는 800μL의 배양액을 넣어 인서트의 하부가 잠기도록 하였다. 21일 배양 후 인서트와 플레이트의 배양액을 제거하고, 화학식 1의 시트르산염 화합물을 배양액에 각각 1 μM, 10 μM, 및 50 μM의 농도로 희석하여 준비하고, 올라파립(AZD-2281)을 배양액에 10 μM 농도로 희석하여 준비한 후, 각각의 희석액 250μL를 트랜스웰 인서트의 상층부에 적용하고 약물을 함유하지 않는 배양액을 기저부에 800μL를 넣었다(Papp A→B 측정). P-gp 펌프의 영향을 알아보기 위해 같은 약물의 농도를 함유한 배양액 800μL를 기저부에 적용 하고 약물을 함유하지 않은 배양액을 인서트의 상층부에 넣었다(Papp B→A 측정). 정해진 시간인 0, 30, 60, 120, 180 분에 각 상층부 또는 기저측부에서 100μL씩 취한 샘플을 분석하였다.

[139]

[140] **(2) 실험결과**

[141] 실험결과는 하기 표 2에 나타내었다.

[142] [표2]

약물		Papp A→B ($X10^{-6}$ cm/s)	Papp B→A ($X10^{-6}$ cm/s)	Efflux ratio (B→A / A→B)
올라파립 (10 μM)		1.7	44.8	26.35
화학식 1의 시트르산염 화합물	1 μM	19.8	44.1	2.23
	10 μM	18.1	49.9	2.76
	50 μM	39.7	41.2	1.04

[143] 주) A: 세포 상층부, B:세포 기저부

[144] 상기 표 2에서 확인되는 바와 같이, 화학식 1의 시트르산염의 유출률(efflux rate)은 P-gp 기질의 PARP 저해제인 올라파립과 비교하여 약 1/10 수준인 것으로 확인되었다.

[145]

[146] **(3) 실험결과 평가**

[147] 상기 실험결과로부터, 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물은 P-당단백질(P-gp) 기질이 아님을 알 수 있다.

[148] 이러한 작용 메카니즘으로 화학식 1의 시트르산염 화합물이 P-당단백질(P-gp) 기질로 알려진 PARP 저해제인 올라파립, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립 등과 달리 다약제내성을 극복하여 보다 우수한 항암효과를 나타낼 수 있을 것으로 보인다.

[149] 구체적으로, 상기 실시예 2에서 화학식 1의 시트르산염 화합물은 다양한 종류의 wild type BRCA 난소암 세포주 및 mutation type BRCA 난소암 세포주에 대하여 올라파립이나 니라파립보다 현저하게 낮은 농도로도 암세포의 성장을 억제하였는데, 이러한 우수한 효과는 P-gp 상기 유출률에 의한 작용 메커니즘도 일정 부분 기여한 것으로 보인다. 특히, 상기 실시예 2의 결과에 의하면, drug efflux pump가 과발현되어 약물 저항성을 보이는 NCI/ADR-RES 세포주에서 화학식 1의 시트르산염 화합물은 다른 PARP 저해제들과 비교하여 현저히 낮은 농도에서 효과적으로 암의 성장을 억제하고 있다. 따라서, 이러한 실험결과는 화학식 1 화합물이 P-gp 기질이 아닌 것이 우수한 항암효과에 일정부분 기여하고 있음을 더욱 명확하게 설명하는 것으로 판단된다.

[150]

[151] 더 나아가서, PARP 저해제는 선천적 또는 후천적 저항성 획득 비율이 높은 것으로 알려져 있으며, 이러한 원인을 설명하는 기전으로서 ABC 수용체(ABC transporter) 증가에 의한 약물 유출(drug efflux) 증가 기전이 알려져 있다.

[152] 그러므로, 상기 화학식 1의 시트르산염 화합물의 유출률에 관한 작용 메카니즘은 다른 PARP 저해제인 올라파립, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립 등에 저항성을 가지는 암의 치료에 화학식 1 화합물이 효과적으로 사용될 수 있음을 이론적으로 뒷받침하는 것으로 판단된다. 그리고, 이러한 논리는 하기 실시예 4(항암효과 분석-Xenograft 모델), 실시예 5(항암효과 분석-Xenograft 모델), 및 하기 실시예 6(임상 1상 시험-NOV140201)의 실험결과에 의해 명백히 뒷받침되고 있다.

[153] 결론적으로, 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물은 다른 PARP 저해제인 올라파립, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립 등과 약물의 유출 기전에 있어서, 다른 작용 메카니즘으로우수한 항암효과를 제공하며, 이러한 PARP 저해제에 대하여 저항성을 갖는 암에 대해서도 우수한 효과를 제공한다.

[154]

[155] **실시예 4: 올라파립 내성관련 Wnt 신호전달 활성 억제에 의한 유효성 평가**

[156] **(1)실험방법**

[157] 난소암 세포주인 PEO1 및 올라파립 내성을 획득한 난소암 세포주인 PEO1-OR에서 Wnt 신호전달 활성화 정도를 측정하기 위해 TOP/FOP-flash luciferase

reporter assay를 수행하였다. 올라파립 내성획득주는 PEO1 세포주를 낮은 올라파립 농도(10nM)에서 순차적으로 고농도인 8μM 농도까지 올려 살아남은 세포주를 PEO1-OR이라고 지칭한다. TOP/FOP-flash luciferase reporter assay는 Wnt가 활성화되면 생성되는 β-catenin이 핵안으로 이동해 TCF/LEF 프로모터 자리에서 결합해 Wnt에 의해 영향을 받는 유전자를 전사시키는 원리를 이용하여, 이 유전자를 luciferase로 치환시켜 비발광 기질이 luciferase에 의해 전환되는 발광도를 측정해 Wnt의 활성화의 정도를 측정하는 것이다. TOP-flash는 TCF 프로모터에 β-catenin이 프로모터 자리에 결합할 수 있어 luciferase의 전사가 일어나는 실험군 플라스미드이고, FOP-flash는 만든 TCF 프로모터에 돌연변이를 도입해 β-catenin이 프로모터 자리에 결합할 수 없어 transfection 대조군 플라스미드로 사용되어 형광의 기저수준을 측정하는데 사용된다.

[158] 난소암 세포주인 PEO1 및 올라파립 내성을 획득한 난소암 세포주인 PEO1-OR 세포주에 TOP-flash 또는 FOP-flash 플라스미드를 transfection 시켰다. Transfection된 PEO1 및 PEO1-OR의 세포주를 transfection하는 72시간동안 vehicle 대조군 및 화학식 1의 시트르산염 화합물을 각각 400nM, 10 μM, 및 50μM로 노출시킨후 세포를 lysis 시키고 luciferase substate를 넣어주었다. 기질에서 떨어져 나오는 발광성 정도를 형광리더기를 이용해 계측하여 기록하였다.

[159]

[160] **(2) 실험결과**

[161] 상기 실험결과는 도 2에 나타내었다.

[162] 도 2의 왼쪽 그래프에 나타난 바와 같이, 난소암 세포주인 PEO1과 올라파립 내성을 획득한 난소암 세포주인 PEO1-OR의 TOP 신호전달의 강도를 상대적으로 비교한 결과 올라파립 내성을 획득한 PEO1-OR의 세포주가 그렇지 않은 세포주에 비해 5배 높은 TOP 신호전달 강도를 나타내었다. 이러한 결과는 PEO1-OR 세포주에서 올라파립 내성 획득에 의해 Wnt 신호전달 활성화가 일어났음을 나타낸다.

[163] 또한, 도 2의 오른쪽 그래프로부터 Wnt가 활성화 되어있는 PEO1-OR 세포주에 화학식 1의 시트르산염 화합물을 처리한 경우, 대조군과 비교하여 화학식 1의 시트르산염 화합물의 농도에 비례하여 Wnt 신호전달이 감소된 것을 확인할 수 있다.

[164] 결론적으로, 상기 실험으로부터 PEO1 세포주가 올라파립 저항성을 획득하게 되면 Wnt 신호전달이 증가하게 되며(도 2의 왼쪽 그래프 참조), 이 증가한 신호전달은 화학식 1의 시트르산염 화합물의 탄키레이즈 억제능으로 인해 용량에 비례하여 감소하게 됨을 알수 있다(도 2 오른쪽 그래프 참조).

[165]

[166] **(3) 실험결과 평가**

[167] PARP 저해제의 내성 기전이 Wnt 신호전달경로와 관련되어 있다는 연구들이

최근들어 보고되고 있다. 즉, PARP 저해제에 의한 내성발달의 기전으로 Wnt 신호전달경로가 활성화 되는것으로 알려져 있다. 따라서 PARP 저해제에 내성이 획득된 암세포에서 Wnt 신호전달경로를 차단할 수 있는 항암제를 선택하여 PARP 저해제의 내성을 극복할 수 있다.

[168] 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물은 올라파립과 같은 기존 PARP 저해제와 달리 PARP 및 Tankyrase(TNK)를 이중저해하는 특징을 갖는다. 즉, 기존 PARP 저해제가 내성이 발달함에 있어 Wnt 신호전달경로를 활성화시키는 것으로 알려져 있는데 반해, 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물은 TNK 억제 작용에 의해 Wnt 신호전달을 효과적으로 억제한다.

[169] 그러므로, 이러한 사실로부터 본 발명의 화학식 1의 시트르산염 화합물이 PARP 저해제에 내성이 획득된 암의 치료에 효과적으로 사용될 수 있음을 알 수 있다.

[170]

[171] **실시예 5: 항암효과 분석(Xenograft 모델)**

[172] 화학식 1의 시트르산염 화합물이 실제 PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암의 치료에 사용될 수 있다는 것을 증명하기 위하여, BRCA 돌연변이 양성 난소암에서 유래한 세포를 이용한 xenograft model을 만들어 PARP 저해제(올라파립)와 화학식 1의 시트르산염 화합물의 효과를 비교하였다.

[173] **(1) 실험방법**

[174] PDX-GFTP 1016은 stage IIIC 고도장액성 난소암 환자의 primary tissue에서 유래한 세포로 TP53, BRCA2 돌연변이를 지닌다. 이 암세포의 추적을 용이하게 하기 위해 green fluorescent protein/luciferase를 발현시켜(PDX-1016 GTFP 1016 GFP/luc) intrabursal 사이의 오른쪽 난소에 수술을 통해 주입하였고, 약물처리 전 4주 동안 암세포의 정착여부를 모니터링하였다. 4주 후, 50mg/Kg의 올라파립을 28일 동안 처리한 쥐에서 암세포가 다시 자라는 세포를 올라파립 저항성 PDX-1016 GTFP 1016 GFP/luc(Ola-R-GTFP-1O16)로 정의하였다.

[175] 상기 방법으로 확립된 올라파립 저항성 PDX인 Ola-R-GTFP-1O16의 세포를, 도 3의 A에 모식도로 나타낸 바와 같이, $1x10^6$ 세포수/ml 농도로 수술을 통해 원암과 같은 자리인 오른쪽 난소 위 bursa에 주입하고 4주간 안정화시켰다.

[176] 상기 4주간의 안정화 후, in vivo flux imaging(IVIS spectrum in vivo imaging system, PerkinElmer)을 통해 암이 발현하는 GFP/Luciferase의 빛의 강도 등의 이미지 데이터를 수집한 flux(photons per second)를 바탕으로 암의 분포 및 암의 성장을 관찰하였다.

[177] 이 때, in vivo flux imaging을 이용해 암의 성장속도가 비슷한 이식쥐를 무작위로 대조군(vehicle 처리군) 및 화학식 1의 시트르산염 화합물 25mg/kg 처리군으로 나누어 매일 1회 경구투여를 실시하고, 매 일주일마다 flux의 변화를 기록하고 4주가 지난 후 쥐를 희생시켜 복수의 부피, 복수내 세포의 부피 및 암의 림프로의 전이 수 등을 측정하여 항암능을 측정하였다.

[178]

[179] **(2) 실험결과**

[180] 상기 실험결과는 도 3의 B 내지 E에 나타내었다.

[181] 도 3의 B 이미지에서 배부분의 형광이 강한 스펙트럼의 색으로 보여지는 것은 복수에서 암의 증식이 활발히 일어나고 있다는 것을 나타낸다. 즉, 도 3의 B 이미지는 대조군(vehicle 처리군)과 비교하여 화학식 1의 시트르산염 화합물 처리군에서 암의 증식이 효과적으로 억제되고 있음을 보여준다.

[182] 도 3의 C의 그래프에는 약물 처리 2주후부터 생체내 형광을 기록한 것을 basal 수준의 기준으로 해서 상대적 형광의 변화추이를 약물처리 4주까지 이식쥐의 배부분에서 in vivo imaging을 통해 관찰한 결과를 나타내었다.

[183] 도 3의 C 그래프로부터 화학식 1의 시트르산염 화합물 처리군에서 대조군(vehicle 처리군)보다 암세포의 성장이 현저하게 억제됨 알 수 있다.

[184] 화학식 1의 시트르산염 화합물의 처리가 암의 성장을 대조군보다 효과적으로 억제하는 상관관계가 있음을 뒷받침하는 데이터로 암의 결절 생성수 및 복수의 세포수를 계측하여 암의 전이능에 대해 판단하였다.

[185] 도 3의 D에 나타낸 바와 같이, 암의 결절 생성능은 화학식 1의 시트르산염 화합물 처리군에서 대조군보다 현저하게 감소하였다. 또한, 도 3의 E에 나타낸 바와 같이, 복수에 생성된 전체 세포수도 화학식 1의 시트르산염 화합물 처리군에서 대조군보다 현저하게 감소하였다.

[186] 이러한 결과로부터, 화학식 1의 시트르산염 화합물 처리군은 대조군보다 효과적으로 암의 생성 및 전이능을 억제한다는 것을 확인할 수 있다.

[187]

[188] **실시예 6: 항암효과 분석(xenograft 모델)**

[189] **(1) 실험방법**

[190] CHA-OVA-13은 올라파립 획득내성을 보이는 난소암 환자의 복수세포에서 확립한 primary cell로 BRCA1 돌연변이를 지닌다. 이 CHA-OVA-13을 NOD/SCID 쥐에 주입하여 원암의 크기가 자라도록 한 후, 일정 크기로 자랐을 때 암을 적출해 작게 자른 후 다시 nude mice의 피하층에 종양을 이식하여 마우스모델을 확립하였다. 종양 사이즈가 80mm^3에 다다르면 비슷한 크기의 종양 사이즈를 보유한 마우스를 선택하여 무작위로 올라파립 처리군 및 화학식 1 화합물의 시트레이트염 처리군으로 나누었다.

[191] 이후, 올라파립 처리군의 경우 50mg/kg을 1일 2회 경구 투여하고, 화학식 1 화합물의 시트레이트염 처리군은 50mg/kg으로 1일 1회 경구 투여하여 이틀 간격으로 종양의 크기를 칼리버를 통해 가로 세로를 재고 기록하였다. 종양 부피는 아래의 수학식에 의해 계산하였다.

[192]

$$\text{부피} = (4/3)\Pi \times \left(\frac{\text{길이}}{2}\right)^2 \times \left(\frac{\text{깊이}}{2}\right)$$

[193] 올라파립 처리군 및 화학식 1의 시트르산염 화합물 처리군은 18일간 종양의 크기를 관찰하였고, 상기 올라파립 처리군은 10일간 약물처리 후 두 그룹으로 무작위로 반으로 나눠 한 그룹은 8일간 올라파립을 동일하게 계속 투여하고(올라파립 처리군) 나머지 그룹은 화학식 1의 시트르산염 화합물로 약물을 바꿔서 8일간 50mg/kg으로 하루에 한번 경구 투여하여(올라파립- 화학식 1의 시트르산염 화합물 교체 처리군) 종양의 크기에 미치는 영향을 관찰하였다.

[194]

[195] **(2) 실험결과**

[196] 상기 실험결과를 도 4에 나타내었다. 도 4 (b) 그래프에 나타난 바와 같이, 총 18일 동안의 관찰에서 화학식 1의 시트르산염 화합물 처리군의 종양성장은 올라파립 처리군과 비교하여 확연하게 느려진 것을 확인할 수 있다.

[197] 또한, 올라파립 처리군을 반으로 나눠 10일 시점에서 올라파립을 화학식 1의 시트르산염 화합물로 교체하여 처리한 올라파립-화학식 1의 시트르산염 화합물 교체 처리군의 경우, 종양의 성장속도가 단일 올라파립 처리군에 비해 서서히 느려지며 13일 경부터 화학식 1의 시트르산염 화합물 단일 처리군과 유사한 종양성장억제 효과를 나타내었다.

[198] 이 결과는 올라파립에 저항성을 보이는 환자의 primary cell xenograft에 올라파립을 계속 처리하는 경우 종양의 성장이 억제되지 않으나, 화학식 1의 시트르산염 화합물을 처리하면 종양의 성장이 현저하게 둔화되는 것을 나타낸다.

[199] 즉, 이러한 결과로부터 화학식 1의 시트르산염 화합물은 올라파립 저항성 암조직의 성장억제에 우수한 효과를 제공함을 확인할 수 있다.

[200]

[201] **실시예 7: 임상 1상 시험**

[202] 화학식 1의
화합물(6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴)
(6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴의 시트르산염의 안정성, 내약성 및 약동·약력학적 특성과 유효성을 평가하기 위한 임상 1상 시험을 실시하였다. 환자군은 만 19세 이상의 조직학적(histologically) 또는 세포학적(cytologically)으로 확진된 진행성 고형암 환자로서, 표준치료법에 대해 불응하거나, 표준치료법을 받을 수 없는 상태이다. 예상 생존기간이 12주 이상인, 일반적인 혈액검사 등으로 적절한 혈액학적 기능 및 간 기능이 확인된 환자를 선별하였다.

[203] 선별된 환자는 기관 및 식약처 규정에 따라 서면 동의를 제공했다. 22명의 환자가 용량증강 코호트에 등록하였고, 40명의 환자가 용량확대 코호트(6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴의 시트르산염)에 등록하였다. 용량확대 코호트는

50㎎/day, 100㎎/day, 150㎎/day, 200㎎/day를 투여받았다.

[204] 모든 코호트의 환자는 규정에 따라 안전성 평가, 일정 주기마다의 채혈, 생검을 통한 생체표지자 분석(종양 검체), 유전자 분석(채혈된 PBMC 및 종양 검체) 종양반응(6주마다)을 평가하였다. 또한, 투여 종료 후에도 기관 및 식약처 규정에 따라 추적관찰하였다.

[205] 용량확대 코호트(150㎎/day)에 등록된 환자 중 64세 여성 환자는 최초 진단명은 전이성 난소암(3기)으로 외과적 시술에 의해 난소 등을 포함하는 고형암 조직이 광범위하게 절제된 상태로, germline BRCA1 유전자 돌연변이가 확인된 상동 재조합 결핍 종양 환자이다.

[206] 상기 환자는 젬시타빈을 시작으로 시스플라틴, 파클리탁셀 등 다양한 항암제에 거의 반응을 보이지 않았고, 특히 올라파립 투여 직후 남아 있는 암 조직(Target lesion)의 크기 증가 및 새로운 병변(progressive disease)이 관찰되어 올라파립에 저항성을 갖는 것으로 판단하였고, 이후 시스플라틴 계열인 네오플라틴을 2개월 투여받았으나 불응하였다. 이후 본 임상 시험에 등록하여 화학식 1의 시트르산염을 150㎎/day 단독 복용을 시작하였고, 복용 중 주기적인 CT 검사에 의해 병변 사이즈(간으로 전이된 고형암)가 baseline 대비 30% 이상 감소하는 것을 확인하였다.

[207]

[208] **실시예 8: 임상 2상 시험**

[209] 화학식 1의 화합물(6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴)의 시트르산염의 PARP 저해제에 저항성을 지니는 환자의 치료에 사용될 수 있는지 평가하기 위한 임상 2상 시험을 실시한다 환자군은 만 19세 이상의 조직학적(histologically) 또는 세포학적(cytologically)으로 확진된 고형암 환자로서 종양 상동재조합결핍(HRD, homologous recombination deficiency) 양성이 확인된 자이다. 구체적으로는 고등급(Grade 2 또는 3) 장액성 상피성 난소암, 난관암 또는 일차성 복막암 환자로서, 본 임상 시험 참여 전 종양에 대해 2차수(2 lines) 이상의 항암치료를 받고 재발되거나 진행한 환자이다.

[210] 상기 항암치료는 구체적으로는 젬시타빈, 독소루비신, 토포테칸, 카보플라틴, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 베바시주맙 또는 PARP 저해제 등 중 한 가지 또는 조합의 치료를 의미한다.

[211] 피험자로서 예상 생존기간이 12주 이상인, 일반적인 혈액검사 등으로 적절한 혈액학적 기능, 신장기능 및 간 기능이 확인된 환자를 선별한다.

[212] 선별된 환자는 기관 및 식약처 규정에 따라 서면 동의를 제공한다. 상기 환자에는 이전 치료력에서 백금기반 치료제에 민감성을 보이는 자, 또는 백금기반 치료제에 민감성을 보였으나 올라파립, 니라파립 등과 같은 기존 PARP저해제 의한 치료에 실패한 자가 포함되며, 환자는 약 60여명을 등록하되,

변동가능하다.

[213] 화학식 1의 시트르산염의 투여 용량은 100㎎/day로 투여하고, 경우에 따라 용량조절이 가능하다.

[214] 모든 코호트의 환자는 규정에 따라 안전성 평가, 일정 주기마다의 채혈, 유전자 분석(채혈된 PBMC 및 종양 검체) 및 종양반응(8주마다)을 평가한다. 또한, 투여 종료 후에도 기관 및 식약처 규정에 따라 추적관찰한다.

[215] 본 임상 2상 시험에 의해 유효성, 안전성, 내약성, PK 등을 측정·평가할 수 있다.

[216] 상기 유효성은 '기존 PARP저해제 등에 의한 치료에 실패한 HRD 돌연변이 양성 종양환자'에 대해 '본 발명 화학식1의 시트르산염'이 갖는 치료효과를 포함하며, 보다 구체적으로 본 임상 2상 시험에 의해 기존 PARP저해제 등에 의한 치료에 실패한 환자에서 고형암의 크기를 효과적으로 줄일 수 있을 것이다.

청구범위

[청구항 1] 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자의 암 치료 또는 예방용 약학적 조성물.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 고형암 환자는, 상동 재조합 결핍(Homologous Recombination Deficiency: HRD) 종양을 가지는, 약학적 조성물.

[청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 고형암 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가지는, 약학적 조성물.

[청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 BRCA1/2 돌연변이는 생식세포 돌연변이(germline mutation)인, 약학적 조성물.

[청구항 5] 제3항에 있어서,
상기 BRCA1/2 돌연변이는 체세포 돌연변이(somatic mutation)인, 약학적 조성물.

[청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 고형암 환자는 BRCA1/2 돌연변이를 가지지 않는, 약학적 조성물.

[청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 PARP 저해제는 올라파립, 루카파립, 니라파립, 및 탈라조파립 중 선택되는 하나 이상인, 약학적 조성물.

[청구항 8] 제7항에 있어서,
상기 PARP 저해제는 올라파립인, 약학적 조성물.

[청구항 9] 제1항에 있어서,
상기 고형암은 유방암, 전립선암, 췌장암, 난소암, 진행성 난소암, 고도장액성 난소암(난관암 또는 일차 복막암 포함), 원발암인 난소암에서 전이된 전이암, 중 선택되는 하나 이상인, 약학적 조성물.

[청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 고형암은 난소암인, 약학적 조성물.

[청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 고형암은 원발암인 난소암에서 전이된 전이암인, 약학적 조성물.

[청구항 12] 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,
상기
6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴의 약학적으로 허용되는 염은 시트르산염인, 약학적 조성물.

[청구항 13] 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 추가로 포함하는, 약학적 조성물.

[청구항 14] PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자 치료용 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[청구항 15] 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효량으로 투여하여 PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자를 치료하는 방법.

[청구항 16] PARP 저해제에 저항성을 가지는 고형암 환자의 치료용 약제 제조를 위한 6-{4-[(5-옥소-1,2,3,4,5,6-헥사히드로벤조[h][1,6]나프티리딘-8-일)메틸]피페라진-1-일}니코티노니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 용도.