



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0062926
(43) 공개일자 2022년05월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/742 (2014.01) A61K 31/513 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 35/742 (2013.01)

A61K 31/513 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0148687

(22) 출원일자 2020년11월09일

심사청구일자 2020년11월09일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

충남대학교병원

대전광역시 중구 문화로 282 (대사동)

(72) 발명자

조은경

대전광역시 중구 계백로1716번길 87, 301동 2302호(문화동, 센트럴파크3단지아파트)

박정규

대전광역시 서구 둔산로 223, 8동 103호(둔산동, 청솔아파트)

양미소

대전광역시 유성구 엑스포로123번길 46-15, 501동 2104호(도룡동, 스마트시티)

(74) 대리인

김원준

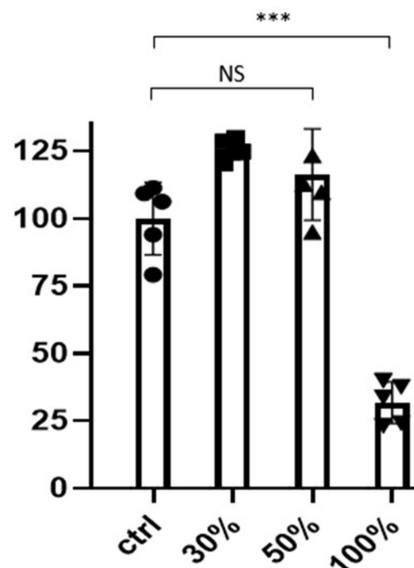
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 바실러스 균주와 5-FU를 유효성분으로 하는 대장암 치료용 항암 보조제

(57) 요약

본 발명은 대장암의 표준 치료제로 사용하는 5-플루오로우라실과 병용하여 대장암 증식 억제에 상승효과를 나타내는 대장암 치료용 약학 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주의 배양액과 5-플루오로우라실을 유효성분으로 함유하는 대장암 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711111501
과제번호	2017R1A5A2015385
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	선도연구센터사업
연구과제명	감염 제어 컨버전스 연구센터
기 여 율	1/2
과제수행기관명	충남대학교
연구기간	2017.06.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465031672
과제번호	HR20C0025040020
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	연구중심병원육성(R&D)
연구과제명	암대사 리프로그래밍 · 유전자 · 면역 치료 플랫폼 구축
기 여 율	1/2
과제수행기관명	충남대학교병원
연구기간	2020.07.16 ~ 2028.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주의 배양액과 5-플루오로우라실을 유효성분으로 함유하는 대장암 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주 그 자체, 상기 균주의 배양액, 상기 배양액의 농축액, 상기 배양액의 건조물 및 상기 배양액의 추출물로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 대장암 치료용 약학 조성물.

청구항 3

바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주를 유효성분으로 함유하는 대장암 치료용 항암 보조제.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주 그 자체, 상기 균주의 배양액, 상기 배양액의 농축액, 상기 배양액의 건조물 및 상기 배양액의 추출물로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 대장암 치료용 항암 보조제.

청구항 5

제 3 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 항암 보조제는 5-플루오로우라실의 효과를 강화시키는 것을 특징으로 하는 대장암 치료용 항암 보조제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 대장암의 표준 치료제로 사용하는 5-플루오로우라실과 병용하여 대장암 증식 억제에 상승효과를 나타내는 대장암 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 근래 생활 수준의 급속한 향상과 식생활의 서구화로 인해 고지방과 고단백질이 함유된 육류와 인스턴트 식품 등의 고칼로리를 가지는 식품의 섭취가 증가된 반면, 야채 등 섬유질 식품섭취의 감소, 스트레스, 잘못된 식생활, 오염된 환경에서의 생활로 대장암의 발생이 증가 추세에 있다. 하제의 오남용과 상습적인 사용에 의해 장기능의 저하와 만성적 변비, 과민성 증후군, 설사, 장염 등 각종 대장 관련 질병 역시 대장암의 원인이 되고 있다. 통계청에 따르면 국내 대장암 사망률은 2001년 10만명당 9.5명에서 2016년 16.5명으로 73%나 증가하였으며, 2016년에는 암 사망률 통계가 시작된 1983년 이후 처음으로 대장암 사망률이 위암 사망률을 앞섰다.

[0003] 대장암은 세계적으로 성인 남녀의 암 발병률과 사망률에 있어 주요 원인을 차지하고 있으며, 대략 10~30%가 유

전적 요인에 의해 발병하지만 과다한 동물성 지방섭취 및 육류섭취와 같은 환경적 요인 역시 대장암의 발생을 촉진한다. 한국인의 대장암 발병률은 10만명당 44.5명으로 세계 2위이며, 전체 암 발병률의 10~15%를 차지한다. 대장암은 결장과 직장에 생기는 악성 종양으로, 대장암이 조기에 진단될 경우에는 항암화학요법 및 방사선 치료 등을 통해 회복될 수 있으나, 일정 수준으로 병증이 악화된 경우에는 수술을 통해 병변을 제거하고 약물치료 및 방사선 치료 등을 통한 치료를 수행하게 된다.

[0004] 과거에는 대장암의 치료에서 항암제를 사용하는 화학치료나 방사선치료는 수술 후 잔여 암세포를 제거하는 보조적인 치료수단으로 여겨져 왔지만, 근래에는 새로운 약제와 치료방식의 개발 및 적용을 통해 수술을 보다 근치적으로 시행할 수 있게 하고, 일부 말기암에서 증상의 경감을 위한 고식적인 목적 이외에도 수술과 함께 근치수단으로 병용하고 있다.

[0005] 1980년대에는 5-Fluorouracil(5-FU)가 유일하게 공인된 대장암 항암제였으나, 1990년대 옥살리플라틴(oxaliplatin)과 이리노테칸(irinotecan)이 추가로 승인되었으며, 최근에는 표적항암제가 확대 적용되고 있다. 화학요법은 대체로 병기에 따라 제2병기에서는 위험군에서 선택적으로 사용하게 되며, 제3병기 및 제4병기에서는 각각 근치수술 후 재발방지와 잔여암의 사멸 및 성장억제 목적으로 사용된다. 그러나 이러한 화학요법은 대략 10~45% 정도의 억제 효과에 그치기 때문에 환자에게 적합한 치료를 수행하기 어렵다. 더구나 이들 약제들은 소화기 장애, 장염, 면역억제, 피부소양증, 탈모, 신경계 독성, 신장 및 간독성과 같은 무시할 수 없는 수준의 부작용을 나타낸다는 단점이 있어, 수술 이후의 치료 성공률이 저조한 실정이다.

[0006] 국립암센터의 주요 암 5년 생존율 자료에 따르면, 대장암 생존율은 1993~1995년 54.8%에서 2012~2016년 75.9%로 향상됐다. 이러한 대장암 생존율의 향상에는 대장암 치료제의 발전 역시 기여하고 있으며, 그 중에서도 5-Fluorouracil과 보강제(adjuvant)의 병합요법은 치유와 생존율을 개선시켜왔다. 이들 병합요법은 세포주기를 멈추게 하거나 세포자멸사(apoptosis)를 유도하여 세포독성효과를 발휘한다. 그러나 항암제에 대한 내성은 여전히 장애물이다. 약제내성은 세포자멸사의 결함, 약물대사의 증가, 약물의 무독화 등이 원인이 된다. 이러한 단점을 극복하기 위하여, 부작용을 줄일 수 있는 복합 천연물로부터 유래된 치료제를 개발하려는 노력이 계속되고 있다. 공개특허 제10-2020-0096141호는 스트렙토니그린 및 옥살리플라틴 또는 5-FU를 포함하는 대장암 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 대해 개시하고 있으며, 등록특허 제10-1361445호는 켈타이드와 5-FU 및 성숙수지 상세포를 포함하는 암 치료용 약학 조성물을 개시한다. 그러나, 식생활의 서구화와 생활방식의 변화로 인하여 국내에서도 2000년대 들어서면서 증가세가 가파라지고 있는 대장암에 대해서 여전히 부작용이 적고 우수한 효과를 나타내는 치료제가 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 공개특허 제10-2020-0096141호

(특허문헌 0002) 등록특허 제10-1361445호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 종래기술의 문제를 해결하기 위한 본 발명은 종래 대장암의 치료에 사용되던 5-플루오로우라실과 병용하는 것에 의해 5-플루오로우라실의 대장암의 증식 억제 효능에 시너지 효과를 나타내는 대장암 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 본 발명은 또한 대장암 치료 시 사용되어 대장암의 치료에 추가적인 효능을 얻을 수 있는 대장암 치료용 항암 보조제를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 전술한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주의 배양액과 5-플루오로우라실을 유효성분으로 함유하는 대장암 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0011] 본 발명에서 상기 조성물에는 바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주가 그 자체로 포함되거나 혹은 상기 균주의 배

양액이나 배양액의 건조물, 상기 배양액의 추출물이 함유될 수 있다.

[0012] 바실러스 아틸로리퀴페시언스 균주는 그 자체로도 대장암의 증식을 억제하는 효과를 나타내지만, 그 자체로는 대장암 증식 억제 효과가 나타나지 않는 낮은 농도의 처리 조건에서도 5-플루오로우라실의 항암 효과에 시너지 효과를 나타내어 대장암 증식을 효과적으로 억제할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0013] 본 발명은 또한 바실러스 아틸로리퀴페시언스 균주를 유효성분으로 함유하는 대장암 치료용 항암 보조제를 제공한다.

[0014] 본 명세서에 있어서, "보조제(adjutant)"란 주 약물, 즉, 항암제의 약효를 보조하여 치료 효과를 개선 및/또는 향상시키거나, 주 약물의 유해한 작용을 막거나 완화시키는 작용을 하는 것을 의미한다. 본 발명의 바실러스 아틸로리퀴페시언스 균주는 청국장 유래의 유익균으로서, 병원성 미생물 또는 장내 유해 미생물의 성장을 억제하며 항산화 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 발명의 항암 보조제는 그 자체로 인체에 부담을 나타내지 않고, 5-플루오로우라실의 항암 효과를 향상시킬 수 있다. 더 나아가 바실러스 아틸로리퀴페시언스 균주의 항산화활성 및 프로바이오틱스 활성으로 5-플루오로우라실에 의해 나타날 수 있는 이상반응인 중증 감염, 급성 췌장염, 폐렴, 간염과 같은 염증 질환과, 장질환을 예방할 수 있을 것으로 기대된다.

[0015] 본 발명의 항암 보조제 역시 상기 약학 조성물과 마찬가지로 바실러스 아틸로리퀴페시언스 균주 그 자체, 상기 균주의 배양액, 상기 배양액의 농축액, 상기 배양액의 건조물 및 상기 배양액의 추출물로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0016] 본 발명의 조성물은 약제로 이용하기 위하여, 약제학적 분야에서 공지 방법에 의하여 제조될 수 있으며, 그 자체 또는 약학적으로 허용되는 담체(carrier), 부형제(forming agent), 희석제 등과 혼합하여 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여용 제제로 제형화하여 대장암의 치료제로 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 유효성분의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 제제의 형태, 환자의 연령, 성별 및 상태, 증상의 정도 등에 따라 적절히 선택될 수 있으며, 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.

[0017] 본 발명의 항암 보조제는 건강기능식품의 형태로도 제공될 수 있다. 상기 항암 보조제가 건강기능식품으로 제공되는 경우, 정제, 분말, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 본 발명의 항암 보조제는 통상의 각종 식품류에 바실러스 아틸로리퀴페시언스를 첨가한 형태로 제공될 수도 있다. 본 발명의 항암 보조제를 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 과자, 주류, 초콜릿, 비타민 복합제 등을 예로 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0018] 이상과 같이 본 발명의 조성물에 의하면 5-플루오로우라실과 바실러스 아틸로리퀴페시언스의 병용 처리에 의해 대장암 성장 억제에 대한 시너지 효과를 나타내어 치료 효과를 향상시킬 수 있어 대장암 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0019] 또한 본 발명의 항암 보조제 조성물은 인체에 추가적인 부담을 주지 않고 대장암 치료에 대한 강화 효과를 나타내는 것에 그치지 않고, 청국장 유래의 유익균으로서 유해 미생물의 성장을 억제하고 항산화활성을 나타내는 추가적인 유용한 효과를 얻을 수 있으면서 항암 효과를 강화하므로 대장암 환자들의 치료 시 환자의 부담을 경감시키는데 효율적으로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 바실러스 아틸로리퀴페시언스의 대장암 증식 억제 효능을 보여주는 그래프.

도 2는 바실러스 아틸로리퀴페시언스 배양액의 대장암 증식 억제 효능을 보여주는 그래프.

도 3은 바실러스 아틸로리퀴페시언스 배양액과 5-플루오로우라실의 병용에 의한 대장암 증식 억제 효능을 보여주는 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하 첨부된 실시예를 들어 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 그러나 이러한 실시예는 본 발명의 기술적 사상의 내용과 범위를 쉽게 설명하기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 한정되거나 변경되는 것

은 아니다. 이러한 예시에 기초하여 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 다양한 변형과 변경이 가능함은 당업자에게는 당연할 것이다.

[실시예]

실시예 1 : 균주의 배양

바실러스 아밀로리퀴페시언스(*Bacillus amyloliquesfaciens*) 균주는 청국장으로부터 J. Bacteriology and Virology 2013. Vol. 43, No. 2 p.120-130에 기재된 방법에 의해 분리하여 사용하였다.

바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주는 LB(Luria-Bertani) 배지에 접종하여 37℃에서 24시간 배양한 후, 새로운 배지에 1:100의 비율로 계대배양하였다. 세균이 정지기에 도달하는 600nm에서 Optical Density (OD)가 1이 될 때까지 배양한 후 4℃에서 3,000rpm으로 30분간 원심분리하여 세균을 수확하였다. 세균은 phosphate buffered saline(PBS)으로 1×10^7 /ml의 농도로 현탁한 후 -80℃에서 보관하며 사용하였다.

실시예 2 : 바실러스 아밀로리퀴페시언스의 대장암 증식 억제 효능 검증

바실러스 아밀로리퀴페시언스의 대장암 세포주 HCT116 p53+, SW480E 및 SW480R에 대한 증식 억제능을 MTT assay를 이용하여 평가하였다. 대조군으로는 사람유래 정상피부세포주 HDF(Human Dermal Fibroblast)를 사용하였다. 96-웰 조직 배양 플레이트(Falcon)에 대장암 세포 또는 HDF 세포를 1×10^5 세포/웰의 농도로 분주하고, 실시예 1의 바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주를 0, 0.1, 1 또는 10 MOI의 농도로 감염시켰다. 균주가 처리된 세포를 5% CO₂, 37℃ 인큐베이터에서 72 시간 동안 배양하였다. 이들 세포를 PBS로 수회 세척하고 MTT(0.5mg/ml) 용액으로 37℃에서 2시간 반응시켰다. 상청액을 제거한 다음 DMSO로 녹이고 570nm의 흡광도로 세포생존율을 측정하여 그 결과를 도 1에 도시하였다.

도 1은 바실러스 아밀로리퀴페시언스 균주는 HDF 세포에는 세포독성을 미치지 않았으나, 대장암 세포에는 선택적인 증식 억제능을 나타냄을 보여준다.

실시예 3 : 바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액의 대장암 증식 억제 효능 검증

바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액의 대장암 세포주 HCT116에 대한 증식 억제능을 MTT assay를 이용하여 평가하였다. 96-웰 조직 배양 플레이트(Falcon)에 HCT116 p53+ 세포를 1×10^5 세포/웰의 농도로 분주하고, 실시예 1의 바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액을 각각 0, 30, 50 및 100 v%의 농도로 처리하였다. 배양액이 처리된 세포를 5% CO₂, 37℃ 인큐베이터에서 72시간 동안 배양하였다. 이들 세포를 PBS로 수회 세척하고 MTT(0.5mg/ml) 용액으로 37℃에서 2시간 반응시켰다. 상청액을 제거한 다음 DMSO로 녹이고 570nm의 흡광도로 세포생존율을 측정하여 그 결과를 도 2에 도시하였다.

도 2에서 바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액은 100% 농도로 처리했을 때에는 대장암 증식을 억제하였으나, 50% 이하의 농도에서는 대장암 증식 억제 효과를 나타내지 않았다.

실시예 4 : 바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액과 5-FU 병용 처리에 의한 대장암 증식 억제 효능 검증

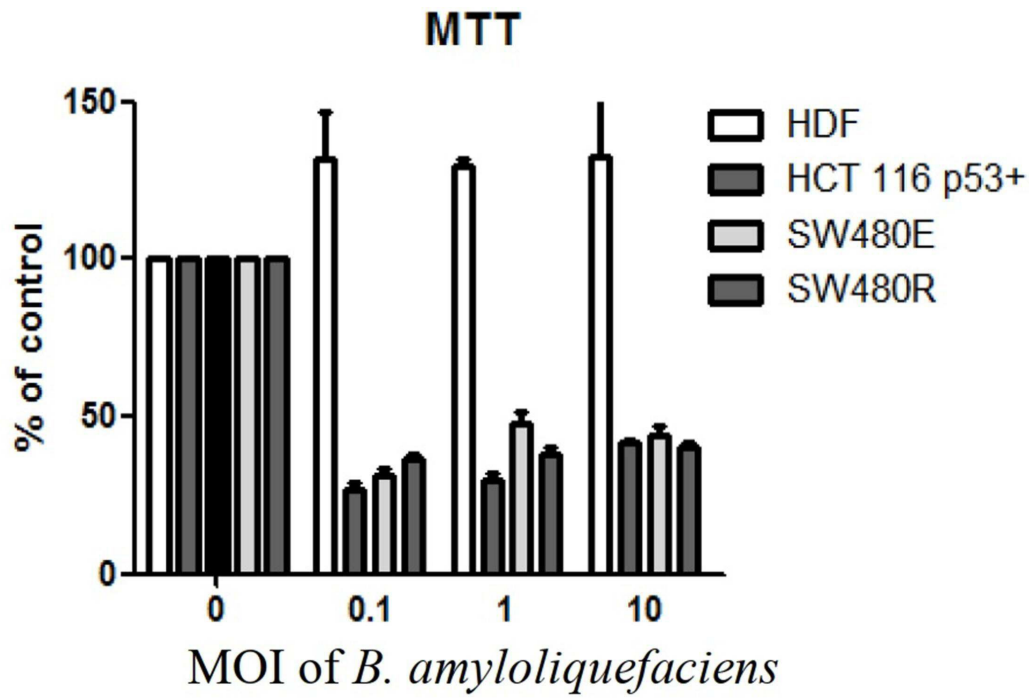
바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액과 5-FU의 병용처리에 의해 대장암 증식 억제에 대한 시너지 효능을 나타낼 수 있는 지 검증하였다.

바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액 대신, 5-FU를 10 μM 또는 20 μM을 단독으로 처리하거나, 혹은 바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액 30 v% 또는 50 v%를 5-FU와 함께 처리한 것을 제외하고는 실시예 2와 동일한 방법에 의해 대장암 증식 억제 효능을 검증하였다.

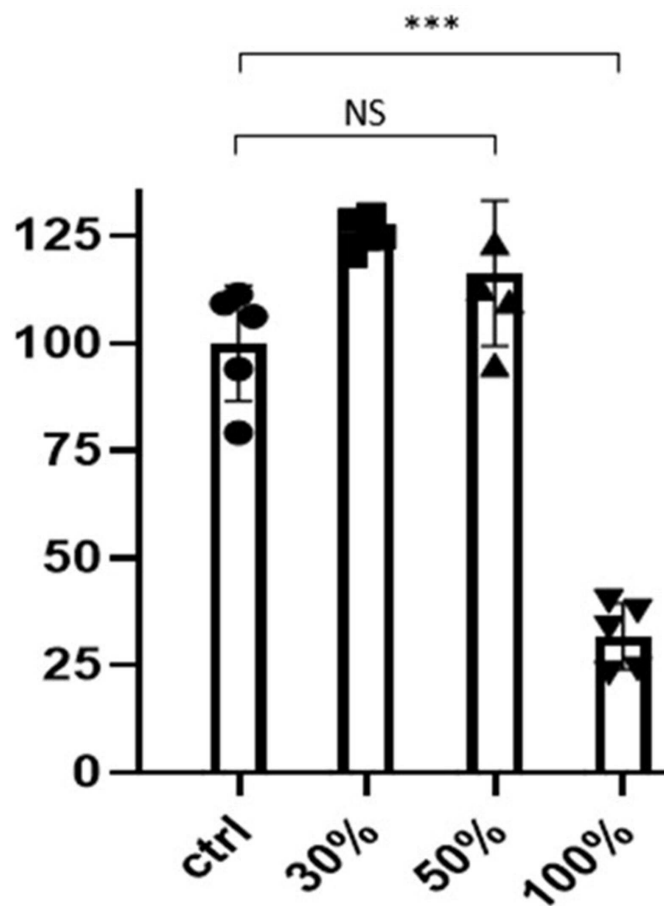
도 3은 그 결과를 나타내는 것으로, 바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액은 50%의 농도로 단독 처리한 경우에는 대장암 억제효능을 나타내지 않았으나, 5-FU와 병용한 경우에는 5-FU의 항암 효능을 현저하게 증가시켰다. 5-FU를 20 μM의 농도로 단독 처리한 경우에는 대장암의 증식이 50% 정도 저해되었으나, 50%의 바실러스 아밀로리퀴페시언스 배양액과 병용 처리한 경우에는 100% 저해됨을 확인할 수 있었다.

도면

도면1



도면2



도면3

