



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0143477
(43) 공개일자 2023년10월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 33/10 (2022.01) A23L 29/00 (2016.01)
A61K 31/352 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/10 (2022.01)
A23L 29/035 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2022-0042421

(22) 출원일자 2022년04월05일

심사청구일자 2022년04월05일

기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

김봉이

서울특별시 강동구

조용민

서울특별시 강서구 등촌로13나길 16(등촌동)

(74) 대리인

위병갑

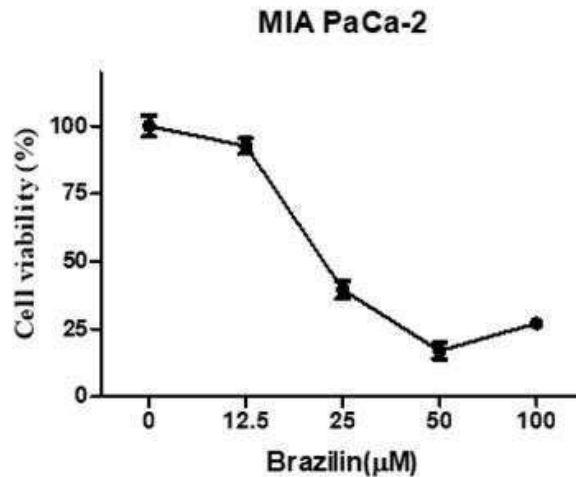
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 브라질린을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 브라질린을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 브라질린(brazilin)은 췌장암 세포주인 MIA PaCa-2 세포주에 처리되면, 농도의존적으로 췌장암 세포주를 사멸시키는 것을 확인하였다. 또한, 췌장암 세포주에서 세포자멸사 절단되어 발현이 확인되는 Caspase-3 및 PARP 단백질의 발현이 증가하는 것을 확인하여, 췌장암 세포주의 세포자멸사를 유도하는 것을 확인하였다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/352 (2023.05)

A61P 35/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/308 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345332202
과제번호	2020R1I1A2066868
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	학문균형발전지원(보호연구)
연구과제명	[보호,2/7] 한약물의 장내 미생물 조절을 통한 췌장암 억제 연구
기 여 율	50/100
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2020.06.01 ~ 2026.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711119405
과제번호	2020R1A5A2019413
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	기초의과학분야(MRC)
연구과제명	[한의대MRC 1단계 2/4] 한약물 재해석 암 연구 센터
기 여 율	5/100
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2020.07.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465031726
과제번호	HF20C0116000020
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	혁신형 한의중개연구분야
연구과제명	[보산원2/3]BK002 (우슬, 왕불류행)와 enzalutamide 및 abiraterone acetate 복합투
여의 거세 저항성 전립선암에서 상승적 항암효과 및 기전연구	
기 여 율	45/100
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2020.08.03 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

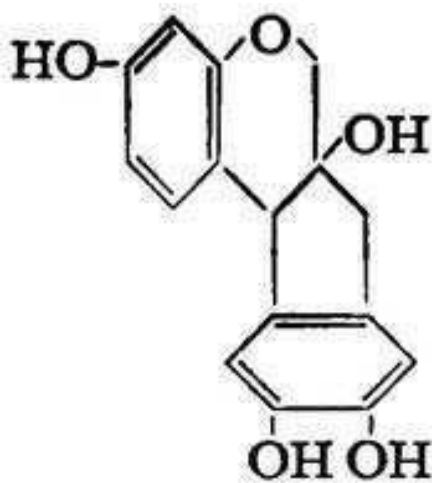
브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 브라질린은 하기 화학식 1로 표시되는 것인, 식품조성물

[화학식 1]



청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 브라질린은 암세포의 생존율을 감소시키는 것인, 식품조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 브라질린은 세포사멸(apoptosis) 단백질인 caspase-3 또는 PARP(poly(ADP-ribose) polymerase)의 발현을 증가시키는 것인, 식품조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 암은 췌장암, 위암, 결장암, 직장암, 항문부근암, 골암, 뇌척수종양, 두경부암, 흉선종, 중피종, 식도암, 담도암, 방광암, 고환암, 소장암, 생식세포종, 자궁 내막암, 나팔관암종, 질암종, 음문암종, 다발성 골수종, 육종, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 방광암, 요도암, 뇌하수체 선종, 신장골반 암종, 척수 종양, 다발성 골수종, 신경교종양, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 조혈종양, 섬유육종, 신경아세포종, 성상세포종, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 전립선암, 신장암, 간암, 뇌암, 폐암, 림프종, 백혈병, 악성 흑색종 및 피부암으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 식품조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 암은 췌장암인 것인, 식품조성물.

청구항 7

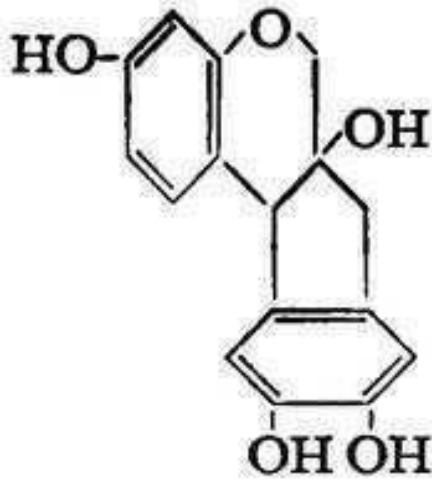
브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 항암 보조제.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 브라질린은 하기 화학식 1로 표시되는 것인, 항암 보조제

[화학식 1]



청구항 9

제 7항에 있어서,

상기 암은 췌장암, 위암, 결장암, 직장암, 항문부근암, 골암, 뇌척수종양, 두경부암, 흉선종, 중피종, 식도암, 담도암, 방광암, 고환암, 소장암, 생식세포종, 자궁 내막암, 나팔관암종, 질암종, 음문암종, 다발성 골수종, 육종, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 방광암, 요도암, 뇌하수체 선종, 신장골반 암종, 척수 종양, 다발성 골수종, 신경교종양, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 조혈종양, 섬유육종, 신경아세포종, 성상세포종, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 전립선암, 신장암, 간암, 뇌암, 폐암, 림프종, 백혈병, 악성 흑색종 및 피부암으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 항암 보조제.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 암은 췌장암인 것인, 항암보조제.

청구항 11

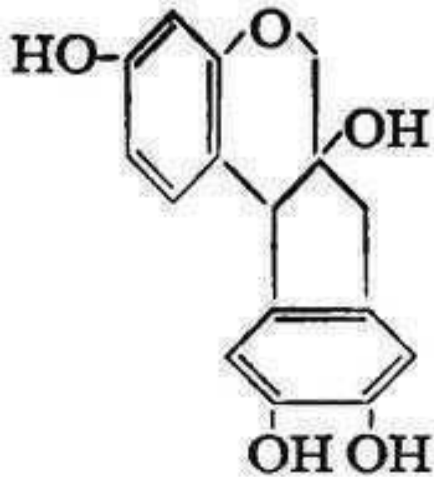
브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 브라질린은 하기 화학식 1로 표시되는 것인, 조성물

[화학식 1]



청구항 13

제 11항에 있어서,

상기 암은 췌장암, 위암, 결장암, 직장암, 항문부근암, 골암, 뇌척수종양, 두경부암, 흉선종, 중피종, 식도암, 담도암, 방광암, 고환암, 소장암, 생식세포종, 자궁 내막암, 나팔관암종, 질암종, 음문암종, 다발성 골수종, 육종, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 방광암, 요도암, 뇌하수체 선종, 신장골반 암종, 척수 종양, 다발성 골수종, 신경교종양, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 조혈종양, 섬유육종, 신경아세포종, 성상세포종, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 전립선암, 신장암, 간암, 뇌암, 폐암, 림프종, 백혈병, 악성 흑색종 및 피부암으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 조성물.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 암은 췌장암인 것인, 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 브라질린을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 2020년 중앙암등록본부의 자료에 따르면 췌장암은 전체 암 발생 중에서 8위를 차지하였다. 췌장암은 조기 진단이 어렵고 다른 장기로 전이가 잘 되어 예후가 좋지 않은 암으로 알려져 있다. 또한 위암, 대장암, 유방암의 5년 생존율이 각각 76.5%, 75%, 93%인 것에 비하여 췌장암은 약 12%로 현저히 낮은 수준이다. 췌장암은 미국에서 매년 43,000명이 새로이 확진되고 있으며, 비슷한 숫자가 매년 사망하는 것으로 알려져 있는 미국 내에서 암 중 네 번째로 치사율이 높은 암으로 알려져 있다. 특히 췌장암은 종종 암이 상당히 진행된 이후에 발견되고, 진행이 빠르며, 또한 기존의 항암제에 대한 내성이 있는 경우가 많아서 새로운 치료제 및 치료법에 대한 최근의 활발한 시도에도 불구하고, 췌장암은 여전히 가장 치료가 어려운 암 중 하나이며, 5년 생존율이 5% 미만이다.

[0003] 췌장암이 초기에 발견되는 경우에는 외과 절제술이 사용될 수 있다. 특히 초기에 수술을 받을 경우 생존율은 향상되지만, 췌장암은 대부분 초기 단계에서는 자각 증상이 없어, 많은 췌장암 환자들은 대부분 암이 상당히 진행되거나 이미 전이된 상태에서 진단받는 경우가 많다. 현재까지 외과적인 종양의 절제술은 췌장암 치료를 위한 가장 최선의 치료법으로 알려져 있다. 하지만, 외과적 절제술이 시행된 이후에도, 여전히 전이는 발생할 수가 있으며, 재발의 증거 없이 평균 생존 기간은 절제술 후 약 21.2개월로 알려져 있다. 특히 췌장암은 상당히 암이 진행된 이후에 진단되는 경우가 많으며, 화학 요법이나 방사선 요법이 효과가 없는 경우 역시 많다.

[0004] 췌장암에서 현재 사용되고 있는 항암요법으로는 젬시타빈(gemcitabine)과 5-Fluorouracil (5-FU) 같은 항암제와 방사선치료가 사용되고 있다. 젬시타빈은 1997년 FDA에서 승인되었으며 췌장암의 치료를 위해 치료 초기에 적용

될 수 있는 항암제이다. 젬시타빈은 뉴클레오시드 유사체로, DNA 복제 과정에서 사이티딘(cytidine)을 대체하여 정상적인 복제를 방해함으로써 암 치료효과를 나타낸다. 그러나, 이러한 치료는 혈관계, 신경계, 혈액계, 피부 등에서 다양한 부작용을 초래할 수 있기 때문에 이를 최소화하고 보다 나은 치료효과를 갖는 새로운 치료제가 필요한 상황이다.

[0005] 항암제의 주요한 기작 중 하나는, 암세포의 세포사멸을 유도하는 것이며, 세포사멸 (apoptosis)는, 세포고사 또는 세포자멸이라고도 불리며 항암제 작용의 주요 기전으로 꼽힌다. 세포 사멸은 초기에 세포막 인지질 이중층에서 세포질과 맞닿아있는 phosphatidyl serin (PS)가 세포 밖으로 노출되며 이후 핵이 응축되는 pyknosis와 핵의 분절화 과정인 karyorrhexis를 거쳐 DNA의 분절화와 apoptotic body를 형성하게 된다. 이러한 과정에서 여러 caspase 단백질의 연쇄적 활성화 (caspase cascade)와 PARP 단백질의 형태 변화가 수반된다.

[0006] 한편, 소목은 콩과에 속하는 상록교목인 *Caesalpinia sappan* L.의 심재이며, 일명 Sappan Wood라고 한다. 소목은 한방에서 소방목(蘇枋木)·적목(赤木)·홍자(紅紫)라고도 하며, 열대지방에서 자라는 식물로, 높이 5 내지 9 m 정도로 자라며, 수간에 작은 가시가 있는 식물이다. 한방에서는 행혈(行血)·지혈·구어혈(驅瘀血)·진통·소종(消腫)의 효능이 있는 것으로 알려져 있으며, 혈심복통, 경폐, 산후어혈복통, 파상풍, 용종 등의 증상에 사용되는 약재이다.

[0007] 소목의 주요성분으로는 헤마톡실린(hematoxylin)과 플라보노이드(flavonoid) 구조를 갖는 무색의 원색소인 브라질린(brazilin)이 알려져 있으며, 브라질린은 공기 중에 산화되어 브라질레인(brazilein) (Moon, C. K. et al., Arch. Pharm. Res. 11(2), pp149-154, 1988)이 된다. 소목의 주성분인 브라질린은 고혈압 (Moon, C. K., et al., Drug Chem. Toxicol. 15(1), pp81, 1992), 혈소판에서의 칼슘 농도 조절 (Hwang, G. S. et al., Arch. Pharm. Res. 21(6), pp774-778, 1998) 및 혈액에서의 혈당 저하 작용 (Kim, S. G., et al., Arch. Pharm. Res. 21(2), pp140-146, 1998)등이 보고되었다. 또한, 소목의 성분 중 하나인 사판칼콘(sappanchalcone)은 혈소판 응고를 억제한다는 보고가 있다 (Morota, T. et al., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, pp6, 1990). 그러나, 소목의 유효성분인 브라질린의 체장암에 대한 항암효과에 대하여는 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 항암 보조제를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품조성물을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 항암 보조제를 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 브라질린(brazilin)은 체장암 세포주인 MIA PaCa-2 세포주에 처리되면, 농도의존적으로 체장암 세포주를 사멸시키는 것을 확인하였다. 또한, 체장암 세포주에서, 세포자멸시 절단되어 발현이 확인되는 Caspase-3 및 PARP 단백질의 발현이 증가하는 것을 확인하여, 체장암 세포주의 세포자멸사를 유도하는 것을 확인하여, 암 치료 분야에 유용하게 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 본 발명의 브라질린(brazilin)을 체장암 세포주인 MIA PaCa-2 세포주에 처리하여, 세포 생존율을 확인한

도이다.

도 2는 본 발명의 브라질린(brazilin)을 채장암 세포주인 MIA PaCa-2 세포주에 처리하여, 세포사멸과 관련된 단백질의 발현을 웨스턴블랏으로 확인한 도이다.

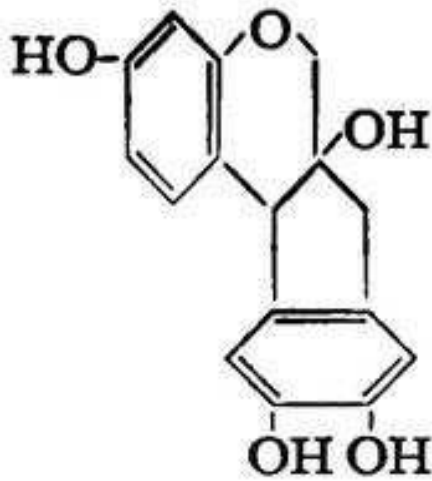
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 상세히 설명한다. 이하의 설명에 있어, 당업자에게 주지 지명된 기술에 대해서는 그 상세한 설명을 생략할 수 있다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다.
- [0017] 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0018] 본 발명은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 “브라질린(brazilin)”은 콩과의 *Caesalpinia sappan* L., *C. crista* L., *C. braziliensis* L.의 심재인 소목에 포함되어 있는 화합물이다. 본 발명의 브라질린은 상기의 콩과 식물 중 *Caesalpinia sappan* L. 유래의 생약인 소목 유래의 브라질린인 것이나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0020] 본 발명에서 사용되는 용어 “예방”은 본 발명의 조성물의 투여로 특정 질환의 증상을 억제하거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미하며, 바람직하게는 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 암의 발생, 확산 및 재발을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0021] 본 발명에서 사용되는 용어 “개선”은 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0022] 본 발명의 식품 조성물은 본 발명의 유효성분을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0023] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.
- [0024] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0025] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 암의 예방 또는 치료 목적으로, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본 발명에서 '건강기능성 식품 조성물'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고

량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다. 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형 하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 진분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다. 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분의 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0026] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 브라질린은 하기 화학식 1로 표시되는 것일 수 있다.

화학식 1



[0027]

[0028] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 브라질린은 암세포의 생존율을 감소시키는 것일 수 있다.

[0029] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 브라질린은 세포사멸(apoptosis) 단백질인 caspase-3 또는 PARP(poly(ADP-ribose) polymerase)의 발현을 증가시키는 것일 수 있다.

[0030] 본 발명에서 사용되는 용어, "세포사멸(apoptosis)"은 아포토시스 또는 세포자멸사라고도 하며, 일종의 계획된 세포 죽음(programmed cell death; PCD)으로서, 우리 몸 안에 입력되어 있는 생체 프로그램에 의해 비정상 세포, 손상된 세포, 노화된 세포가 스스로 자살해 사멸함으로써 전체적인 신체 건강을 유지하도록 하는 메커니즘이다.

[0031] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 암은 췌장암, 위암, 결장암, 직장암, 항문부근암, 골암, 뇌척수종양, 두경부암, 흉선종, 중피종, 식도암, 담도암, 방광암, 고환암, 소장암, 생식세포종, 자궁 내막암, 나팔관암종, 질암종, 음문암종, 다발성 골수종, 육종, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 방광암, 요도암, 뇌하수체 선종, 신장골반 암종, 척수 종양, 다발성 골수종, 신경교종암, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 조혈종양, 섬유육종, 신경아세포종, 성상세포종, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 전립선암, 신장암, 간암, 뇌암, 폐암, 림프종, 백혈병, 악성 흑색종 및 피부암으로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있고, 바람직하게는 췌장암이나 이에 제한되지는 않는다.

[0032] 본 발명의 “췌장암”은 췌장에 생긴 암세포로 이루어진 종양 덩어리를 뜻하며, 췌관세포에서 발생한 췌관선암종을 일반적으로 의미하나, 그 외의 췌장에 발생하는 낭종성암(낭선암), 신경내분비종양을 모두 포함한다. 췌장암은 비특이적으로, 여러 가지 췌장 질환에서 나타나는 증상이 수반되며, 복통, 식욕부진, 체중감소, 황달 등이 가장 흔한 증상이다. 또한, 종양의 위치와 크기, 전이 정도에 따라, 상기의 증상이 다르게 나타나며, 췌장암 환

자의 대부분에서 복통과 체중 감소가 나타나도, 췌두부암 환자의 대부분에서는 황달이 나타난다. 또한, 췌장의 체부와 비부에 발생하는 암은 초기에 거의 증상이 나타나지 않아, 암의 후기에 발견되는 경우가 많은 암종이다.

[0033] 또한, 상기의 췌장암은 악성 췌장 종양, 췌관선암 (Pancreatic ductal adenocarcinoma), 신경 내분비 종양 (Neuroendocrine tumor), 낭종성 췌장 종양, 점액성 낭성 종양(mucinous cystic neoplasm), 췌관내 유두상 점액종양(intraductal papillary mucinous neoplasm), 고형 가유두상 종양(solid pseudopapillary neoplasm)으로 이루어진 군에서 선택된 췌장암일 수 있으며, 바람직하게는 췌장선암이나, 이에 제한되지는 않는다.

[0035] 또한, 본 발명은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 항암 보조제를 제공한다.

[0036] 본 발명의 용어 "항암보조제"란, 항암제의 항암효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있는 제제를 의미한다.

[0037] 일례로서, 그 자체로는 항암활성을 나타내지 않으나, 항암제와 함께 사용될 경우, 상기 항암제의 항암효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있는 제제를 항암보조제로서 사용할 수 있다.

[0038] 다른 예로서, 농도의존적인 항암활성을 나타내는 제제를 그 자체로는 항암활성을 나타내지 않은 수준으로 항암제와 함께 사용할 경우, 상기 항암제의 항암효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있는 항암보조제로서 사용할 수 있다. 이 경우, 상기 항암보조제는 처리농도에 따라 항암제 또는 항암보조제로서 사용할 수 있으며, 그 자체로는 항암활성을 나타내지 않는 처리농도 범위에서 항암보조제로 사용할 수 있다.

[0039] 본 발명의 항암보조제는 항암제의 항암효과를 증대시키기 위해 항암활성을 나타내는 항암제 또는 항암보조제와 병용 투여될 수 있다. 일례로서, 본 발명의 항암보조제는 공지된 항암제와 함께 병용 투여될 수 있는데, 본 발명의 항암보조제와 함께 상기의 항암제를 투여하면, 통상적인 항암제의 투여량보다 낮은 수준의 투여량으로 항암제를 투여하더라도 동등한 수준의 항암치료효과를 나타낼 수 있으므로, 보다 안전한 항암치료를 수행할 수 있다.

[0040] 본 발명의 항암보조제와 병용할 수 있는 항암제는, 공지된 항암제라면 제한되지 않으며, 일례로서, DNA 알킬화제(DNA alkylating agents), 로메클로에타민(mechloethamine), 클로람부(chlorambucil)페닐알라닌(phenylalanine), 무스타드(mustard), 사이클로포스파미드(cyclophosphamide), 이포스파미드(ifosfamide), 카르무스틴(carmustine: BCNU), 로무스틴(lomustine: CCNU), 스트렙토조토신(streptozotocin), 부술피판(busulfan), 티오테파(thiotepa), 시스플라틴(cisplatin) 및 카보플라틴(carboplatin); 항암 항생제(anti-cancer antibiotics)로 닥티노마이신(dactinomycin: actinomycin D), 독소루비신(doxorubicin: adriamycin), 다우노루비신(daunorubicin), 이다루비신(idarubicin), 미토크산트론(mitoxantrone), 플리카마이신(plicamycin), 마이토마이신 C(mitomycin C) 및 블레오마이신(bleomycin); 및 식물 알칼로이드(plant alkaloids)로 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel), 에토포시드(etoposide), 테니포시드(teniposide), 토포테칸(topotecan) 및 이리도테칸(iridotecan) 등이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0041] 상기 항암보조제의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 본 발명의 항암보조제는 목적하는 바에 따라 복강 내 투여, 정맥 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 비 내 투여, 폐 내 투여, 직장 내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 상기 항암보조제는 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[0043] 또한, 본 발명은 브라질린(brazilin)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0044] 본 발명에서 사용되는 용어 “치료”는 본 발명의 조성물의 투여로 특정 질환의 증상을 호전 또는 이롭게 변경시키는 모든 행위를 의미하며, 바람직하게는 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 암의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0045] 본 발명에서 사용되는 용어 "치료"란 본 발명의 브라질린 (brazilin)을 포함하는 조성물의 투여로 암세포의 사멸 또는 암의 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 대한의학협회 등에서 제시된 자료를 참조하여 본원의 조성물이 효과가 있는 질환의 정확한 기준을 알고, 개선, 향상 및 치료된 정도를 판단할 수 있을 것이다.

- [0046] 본 발명에서 “약학적으로 허용가능한”이란 생물체를 상당히 자극하지 않고 투여 활성 물질의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 것을 의미한다.
- [0047] 본 발명에서 “약학적으로 유효한 양”이란 대상 질환을 예방 또는 치료하는데 유효한 유효성분의 양을 의미하며, 본 발명의 조성물의 치료적으로 유효한 양은 여러 요소, 예를 들면 투여방법, 목적부위, 환자의 상태 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 인체에 사용 시 투여량은 안전성 및 효율성을 함께 고려하여 적정량으로 결정되어야 한다. 동물실험을 통해 결정한 유효량으로부터 인간에 사용되는 양을 추정하는 것도 가능하다. 유효한 양의 결정시 고려할 이러한 사항은, 예를 들면 Hardman and Limbird, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed.(2001), Pergamon Press; 및 E.W. Martin ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed.(1990), Mack Publishing Co.에 기술되어있다.
- [0048] 본 발명의 약학 조성물에는 유효성분 이외에 보조제(adjutant)를 추가로 포함할 수 있다. 상기 보조제는 당해 기술분야에 알려진 것이라면 어느 것이나 제한 없이 사용할 수 있으나, 예를 들어 프로인트(Freund)의 완전 보조제 또는 불완전 보조제를 더 포함하여 그 효과를 증가시킬 수 있다.
- [0049] 본 발명에 따른 약학 조성물은 유효성분을 약학적으로 허용된 담체에 혼입시킨 형태로 제조될 수 있다. 여기서, 약학적으로 허용된 담체는 제약 분야에서 통상 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 포함한다. 본 발명의 약학 조성물에 이용할 수 있는 약학적으로 허용된 담체는 이들로 제한되는 것은 아니지만, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0050] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0051] 제제화할 경우에는 통상 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 그러한 고형 제제는 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카르보네이트, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 일반적으로 사용되는 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함된다. 비수용성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유와 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0052] 본 발명에 따른 약학 조성물은 개체에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식이 예상될 수 있는데, 예를 들면 경구, 정맥, 근육, 피하, 복강내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0053] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여량은 개체의 연령, 체중, 성별, 신체 상태 등을 고려하여 선택된다. 상기 약학 조성물 중 포함되는 유효성분의 농도는 대상에 따라 다양하게 선택할 수 있음은 자명하며, 바람직하게는 약학 조성물에서 0.01 ~ 5,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 포함되는 것이다. 그 농도가 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 미만일 경우에는 약학 활성이 나타나지 않을 수 있고, 5,000 $\mu\text{g/ml}$ 를 초과할 경우에는 인체에 독성을 나타낼 수 있다.
- [0055] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0057] <실시예 1> 브라질린의 암세포 사멸 효과 확인
- [0058] 본 발명의 유효성분인 브라질린(brazilin)이, 암세포를 사멸시키는지 확인하였다. 구체적으로, 췌장암(췌관선암) 세포주인 MIA PaCa-2 세포주(한국세포주은행)를 1×10^4 세포/웰의 농도로 96 well plate에 분주한 후, 10% 비활성 우태아 혈청(inactivated fetal bovine serum) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신

(penicillin-streptomycin)이 첨가된 DMEM high glucose 배지에서, 37℃ 5% CO₂ 인큐베이터(MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)로 배양하였다. 배양된 세포에서, 배지를 제거하고, 브라질린(brazilin)을 0, 12.5, 25, 50 및 100 μM의 농도로 각각 100 μl씩 처리한 뒤, 24시간 동안 배양하였다. 배양 종료 후 세포에 EZ-Cytox 시약(DoGen)을 10 μl를 처리하고 30분 내지 4시간동안 반응시켰다. 반응 종료 후 마이크로플레이트 리더기(Bio-rad Model 680)를 이용하여 450nm 파장대에서 흡광도를 측정하여, 세포 생존율을 확인하였다.

[0060] 그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 브라질린은 농도 의존적으로, 췌장암 세포주인 MIA PaCa-2를 사멸시키는 것을 확인하였다.

[0062] <실시예 2> 세포자멸사(apoptosis) 단백질 발현 확인

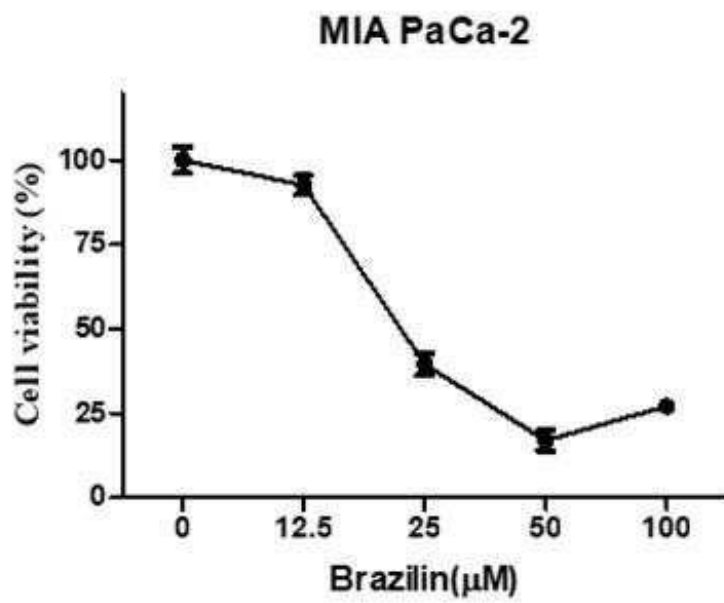
[0063] 본 발명의 유효성분인 브라질린(brazilin)이 세포자멸사와 관련된 단백질의 발현을 조절시키는지 확인하였다. 구체적으로, 세포자멸사 절단되는 것으로 알려진 Caspase-3와 PARP(poly(ADP-ribose) polymerase)의 발현 정도를 웨스턴블랏으로 확인하였으며, 췌장암 세포주인 MIA PaCa-2 세포주에 브라질린(brazilin)을 0, 7.5 및 15 μg/ml의 농도로 각각 처리하고, 24시간 동안 37℃ 5% CO₂ 인큐베이터로 배양하였다. 배양 종료 후 세포를 수득하여 PBS로 세척하고, 세포 파쇄 버퍼인 CETI Lysis Buffer with Inhibitor(TransLab, Korea)를 첨가하여 30분간 4℃에서 세포를 파쇄하였다. 그 후 세포 파쇄물을 13,000 RPM에서 10분간 원심 분리하여 세포막 성분 등을 제거한 후, RC DC™ Protein Assay Kit II(protein assay kit) (Bio-rad, USA)를 사용하여 단백질을 정량하여, 각 샘플별(브라질린 0, 7.5 및 15 μg/ml 처리군)로 동일한 단백질의 양이 포함되도록 조절하였다. 준비된 단백질 샘플에, 5x 로딩다이(loading dye)를 첨가하여 5분간 95℃로 가열하여 단백질을 변성시켰다. 그 후 10~15% SDS-PAGE 겔에 샘플을 로딩하여 100V로 1시간 40분 까지 전기영동 하였다. 그 후 겔 위에서 분리된 단백질을 300 mA로 2시간동안 멤브레인으로 트랜스퍼하였다. 그 후 단백질이 트랜스퍼된 멤브레인을 5% 탈지유가 포함된 TBST(tris buffered saline, pH 7.5) 용액으로 상온에서 1시간 동안 블로킹한 뒤 1차 항-Caspase-3 및 항-PARP 항체를 각각 1:1,000으로 희석하여 블로킹한 멤브레인과 4℃에서 18시간 반응 시켰다. 반응 종료 후 멤브레인을 TBST로 3회 세척한 뒤 horseradish peroxidase가 결합된 항-rabbit IgG를 각각 1:3,000 으로 희석하여 상온에서 멤브레인과 2시간 동안 반응시킨 다음 TBST로 3회 세척하였으며, 세척 후 chemiluminescent reagent와 3분간 반응시킨 후 Western blot imager (davinch K)를 통해 단백질 밴드를 가시화하였다.

[0065] 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 브라질린이 처리되지 않은 세포주에서는 Caspase-3 및 PARP 단백질이 발현되지 않았으나, 브라질린을 처리하면, 농도 의존적으로 Caspase-3 및 PARP 단백질이 절단되는 것을 확인하여, 본 발명의 브라질린이 세포자멸사를 유도하는 것을 확인하였다.

[0067] 따라서, 본 발명의 브라질린(brazilin)은 췌장암 세포주인 MIA PaCa-2 세포주에 처리되면, 농도 의존적으로 췌장암 세포주를 사멸시키는 것을 확인하였다. 또한, 췌장암 세포주에서, 세포자멸사 절단되어 발현이 확인되는 Caspase-3 및 PARP 단백질의 발현이 증가하는 것을 확인하여, 췌장암 세포주의 세포자멸사를 유도하는 것을 확인하였다.

도면

도면1



도면2

