(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0083630
(43) 공개일자 2021년07월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/192 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61P 21/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/192 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0176108
(22) 출원일자 2019년12월27일
심사청구일자 2019년12월27일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
엄재영
서울특별시 동대문구 신이문로 9, 103동 301호(이문동, 신이문금호어울림)
박진봉
서울특별시 도봉구 덕릉로 349, 406동 201호(창동,주공4단지아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

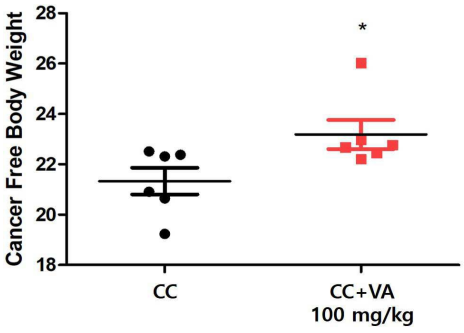
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **바닐릭산을 함유하는 암성 악액질 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 바닐릭산(vanillic acid)을 함유하는 암성 악액질 또는 근손실 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 바닐릭산(vanillic acid)은 대장암 세포주인 CT26을 사타구니에 주입하여 유발한 암성 악액질 마우스 모델에서 체중 감소 개선 효과를 보였으며, IL6, CRP 및 TNF-α의 혈청 농도의 발현을 억제하였고, 근손실을 억제하는 효과를 나타내므로, 암성 악액질 또는 근손실 예방, 개선 또는 치료용 조성물로 유용할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 21/00 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/316 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)

(72) 발명자
정윤우
서울특별시 동대문구 천장산로7길 64-14, 101호(이문동)

안광석
서울특별시 성북구 길음로 33, 809동 1802호(길음동, 길음뉴타운)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711057937
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	원천기술개발사업-바이오·의료기술개발사업
연구과제명	암성 악액질에서 근·지방세포 소실 완화를 위한 한방 치료기술 개발
기 여 율	50/100
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2017.06.30 ~ 2022.06.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345295949
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학개인기초연구지원사업-기본연구
연구과제명	한량 성정 본초의 UCP1 조절을 통한 암 연관 체중감소 개선 한약 발굴
기 여 율	25/100
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2018.06.01 ~ 2020.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345300936
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	학문균형발전지원사업-창의도전연구기반지원사업
연구과제명	간허증(肝虛證) 치법을 활용한 암성 악액질 개선 발굴 연구
기 여 율	25/100
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2019.06.01 ~ 2022.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 악액질은 암에 의해 유발되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 조성물은 식욕 감소, 체중 감소, 피로도 증가, 염증 증가, 근육 손실, 지방 손실 및 조혈 독성으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 증상을 개선하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 시상하부, 혈액 또는 골수에서의 염증성 사이토카인의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 염증성 사이토카인은 CRP, TNF-α, IL-1β, IL-6, 및 IL-17로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 근육 내의 MAFbx, MuRF1 및 Bnip3로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유전자 발현을 억제시키는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 7

바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 악액질은 암에 의해 유발되는 것을 특징으로 하는, 건강기능식품 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 형태의 식품인 것을 특징으로 하는, 건강기능식품 조성물.

청구항 10

바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 악액질은 암에 의해 유발되는 것을 특징으로 하는, 건강식품 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 건강식품은 각종 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스넥류, 면류, 아이스크림, 유제품, 스프, 이온음료, 음료수, 알코올 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 건강식품 조성물.

청구항 13

제1항의 약학적 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 바닐릭산(vanillic acid)을 함유하는 암성 악액질 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 악액질(cachexia)은 암, 심부전증, 만성 폐쇄성 폐 질환, 만성 신장 질환, 에이즈 등의 다양한 질병에 의해 지속적인 근육 손실을 일으키는 복잡한 증후군을 가리킨다. 이 중 암성 악액질(cancer cachexia)은 악성 종양을 수반하는 복합 대사 증후군으로서, 암이 발생하고 6개월 내에 근육과 지방의 손실에 의해 체중의 5% 이상 감소하는 것으로 정의된다. 악액질은 다양한 의학적 상태에서 일어날 수 있으나 암성 악액질은 말기 암과 밀접한 관계를 가지고 있다. 전체 암 환자의 약 50%, 특히 암 말기 환자의 약 80%가 암성 악액질의 영향을 받으며 근육과 지방의 손실로 인한 삶의 저하 및 사망률 증가로 인해 고통 받고 있다. 암성 악액질은 근육량 및 지방조직의 현저한 손실을 통해 체중 감소가 특징이며, 식욕 억제를 통한 근육 및 지방 손실과는 다른 특징을 지니고 있다.

[0003] 암성악액질 진단기준은 체중 감소가 5%이상 감소, 혈청 레벨에서 높은 수준의 염증성 마커 발현 (IL6, CRP1, TNFr), 운동 능력 저하, 식욕 부진 등이 있다. 암성 악액질의 정확한 메커니즘은 밝혀져 있지 않지만, IL-6, TNF-α, CRP1(C-reactive protein 1)과 같은 염증성 사이토카인이 근육 및 지방 감소에 중심적인 역할을 하는 것으로 알려져있다.

[0004] 염증반응에 기인된 골격근 중량 감소 및 근육소모는 유비퀴틴-프로테아좀(ubiquitin-proteasome) 단백질 분해 경로 및 오토파지/리소좀(autophagic/lysosomal) 단백질 분해 경로를 활성화하며 근육의 단백질이 분해된다. 특히 MAFbx/Atrogin-1(muscle atrophy F-Box) 와 MuRF1(muscle RING finger-1)등의 유비퀴틴 리가아제(ubiquitin ligases) 증가, 그리고 Bnip3등의 오토파지(autophagy) 연관 유전자의 발현증가가 근육의 단백질분해에 직접 연관되어 있다.

[0005] 암성악액질의 치료제에는 NSAIDs (non-steroidal anti-inflammatory drugs), β2-adrenergic agonists, corticosteroid, ghrelin 등이 있으며, 현재까지 시판되고 있는 암성 악액질 치료에 가장 많이 사용되는 약물은 COX-2 억제제와 TNF-α 억제제가 있다.

[0006] COX-2 억제제는 암 조직에서 다량 발생되는 염증 물질인 프로스타글란딘(prostaglandins)의 생성에 관여하는 COX-2를 억제하여 골격근의 손실을 감소시키는 약물이다. COX-2 억제제로서 시중에는 셀레콕시브(celecoxib)가 판매되고 있다. 그러나 셀레콕시브(celecoxib)는 빈혈, 위궤양, 알레르기, 심장 마비 및 뇌졸중 등의 부작용이 보고되어 있다.

[0007] TNF-α 억제제는 암성 악액질 환자의 혈정에서 많이 발현되는 TNF-α 의 발현을 감소시켜 암세포를 사멸시키는 약물이다. TNF-α 억제제로서 시중에는 탈리도마이드(Thalidomide)가 판매되고 있다. 그러나 이들 약물은 암성 악액질 치료제로서의 효과가 적으며, 우울증, 심부전, 호흡 곤란, 구토, 발진, 고혈압 및 임신 시 기형아를 낳

게 되는 부작용이 있다.

[0008] 이와 같이 현재까지 개발 중이거나 시판되고 있는 약물은 대부분 부작용이 많이 나타나며, 치료 효과에 대한 근거가 부족하다. 따라서 새로운 기전의 암성 악액질 치료제 개발이 절실한 상황이다.

[0009] 한편, 바닐릭산(vanillic acid, 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid)은 향신료로 이용되는 바닐린의 산화유도체로서 당귀, 올리브, 쌀, 인삼, 아사이를 포함한 다양한 종류의 베리류에 풍부한 것으로 알려져 있다.

[0010] 본 발명자들은 천연물, 특히 식품에서 유래한 성분인 바닐릭산 화합물이 CT26 세포 주입으로 암성 악액질을 유도한 마우스 모델에서 유의성 있는 암성 악액질 개선 효과가 있음을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2019-0103985호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은, 바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은, 바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 및 건강식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 약학적 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0016] 본 발명은, 바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 악액질은 암에 의해 유발되는 것일 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명은, 바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 및 건강식품 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 악액질은 암에 의해 유발되는 것일 수 있다.

[0020] 나아가, 본 발명은, 상기 약학적 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0021] 본 발명의 바닐릭산(vanillic acid)은 대장암 세포주인 CT26을 사타구니에 주입하여 유발한 암성 악액질 마우스 모델에서 유의성 있는 체중 감소 개선 효과를 보였으며, 암성 악액질의 주요 지표 인자로서 작용하는 IL-6, CRP 및 TNF-α의 혈청 농도의 발현을 억제하였고, 암성 악액질에 의한 근손실을 억제하는 효과를 나타내므로, 암성 악액질 또는 근손실 예방, 개선 또는 치료용 조성물로 유용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 바닐릭산의 암성 악액질에 의한 체중 감소에 대한 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 2는 바닐릭산의 암성 악액질에 의한 혈청내 염증성 사이토카인(CRP, TNF-α 및 IL-6) 발현에 대한 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 3은 바닐릭산의 암성 악액질에 의한 근육조직 부피(좌측) 및 무게(우측) 감소에 대한 억제 효과를 나타낸 것

이다.

도 4는 바닐릭산에 의한 암성 악액질 모델의 근육 조직에서의 조직학적 변화(상단) 및 면적 크기(하단)를 헤마톡실린-에오신 염색을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 5는 바닐릭산 처리에 따른 근육 조직 TA(상단) 및 GAS(하단)의 MURf1 및 MAFbx 발현을 면역형광법(IF)을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0025] **악액질 또는 근손실 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

[0026] 본 발명은 바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0028] 본 명세서에 사용된 용어, '악액질(cachexia)'은 암, 결핵, 당뇨병, 후천성면역결핍증(Acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) 등의 말기에서 볼 수 있는 고도의 전신쇠약증세를 말하며, 위암이나 식도암, 췌장암, 대장암 등 소화기암 환자와 폐암 환자에서 자주 나타난다. 식욕 감소, 근육 및 지방 감소에 따른 체중 및 체력의 감소, 빈혈, 무기력, 소화 불량 등의 증상 등을 나타내며, 특히 식욕이 감소하여 정상적인 음식 섭취가 어려운 상태를 보이거나 또는 정상적으로 음식을 섭취하더라도 체중이 감소하는 상태를 나타낸다. 악액질이 발생하면 항암 화학요법이나 방사선 치료에 대해 낮은 반응을 보이므로 환자의 삶의 질이 저하되고, 기대 여명의 단축을 초래하며, 전체 암환자의 10 내지 20%에서 체중 감소로 인한 사망을 유발한다.

[0029] 본 명세서에서 사용된 용어, '근손실(muscle loss)'은 체내 근육이 감소되는 것을 말하며, 예를 들어, 근육을 사용하지 않음으로써 발생하는 근육 조직의 감소, 근육 자체의 병으로 인한 근육 조직의 감소 또는 근육을 지배하는 신경의 손상으로 인한 근육 조직의 감소일 수 있고, 이와 같은 근손실은 예를 들어, 악액질 또는 근위축증(muscular atrophy)에 의하여 발생하는 것일 수 있다.

[0031] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 악액질은 암에 의해 유발되는 것일 수 있다. 본 발명의 일실시예에서는, 상기 암에 의해 유발되는 악액질을 '암성 악액질(cancer cachexia)'이라 표현하였다.

[0032] 본원에서 정의되는 암은 백혈병, 림프종, 골수종, 골수이형성증후군, 유방암, 두경부암, 식도암, 위암, 대장암(=결장암), 직장암, 항문암, 간세포간암, 담관암, 담낭암, 췌장암, 폐암(비소세포성 폐암, 소세포성 폐암), 흉선암, 신장암, 방광암, 전립선암, 고환암, 난소암, 자궁경부암, 육종, 위장관 기질성 종양(GIST, 기스트), 원발부위불명암, 중피종, 흑색종, 신경내분비 종양, 피부암, 혈액암 등을 포함하는 것일 수 있다.

[0034] 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 식욕 감소, 체중 감소, 피로도 증가, 염증 증가, 근육 손실, 지방 손실 및 조혈 독성으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 증상을 개선하는 것일 수 있고, 바람직하게는 체중 감소, 근육 손실 및 지방 손실로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 증상을 개선하는 것일 수 있다.

[0035] 또한, 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 시상하부, 혈액 또는 골수에서의 염증성 사이토카인의 발현을 감소시키는 것일 수 있다. 이때, 상기 염증성 사이토카인은 CRP, TNF-α, IL-1β, IL-6, 및 IL-17로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.

[0036] 또한, 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 근육 내의 MAFbx, MuRF1 및 Bnip3로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유전자 발현을 억제시키는 것일 수 있다.

[0037] 본 발명의 일실시예에 따르면, 바닐릭산(vanillic acid)이 대장암 세포주인 CT26을 사타구니에 주입하여 유발한 암성 악액질 마우스 모델에서 체중 감소 개선 효과를 보였고, 암성 악액질의 주요 지표 인자로서 작용하는 IL6, CRP 및 TNF-α의 혈청 농도의 발현을 억제하는 효과를 나타내었으며, 암성 악액질에 의한 근손실을 감소시키는 효과를 확인하였다(실시예 1 내지 5 참조).

[0039] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 바닐릭산(vanillic acid, 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid)은 당귀, 올리브, 쌀, 인삼 및 아사이로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 천연물로부터 유래된 화합물인 것일 수 있고, 다른 베리류로부터 유래된 화합물인 것일 수 있으며, 또는 상업적으로 입수된 것을 사용할 수도 있다.

[0040] 예를 들어, 상기 바닐릭산은 당귀, 올리브, 쌀, 인삼 및 아사이로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 천연물을 물, C1 내지 C4의 알코올, 에틸아세테이트, 또는 이들의 혼합물로 침지하여 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 추출물로부터 상기 바닐릭산을 분리하는 단계;를 포함하는 방법으로 제조되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 이때, 상기 C1 내지 C4의 알코올은 에탄올, 메탄올, 부탄올, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0041] 상기 "추출물(extract)"은 추출 대상을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다. 상기 바닐릭산은 통상의 기술분야에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.

[0042] 상기 방법은 추출물을 물, C1 내지 C4 알코올, 또는 이들의 조합으로 분획하는 단계를 더 포함할 수있다. 상기 추출물은 물, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 에틸아세테이트, 헥산 또는 이들의 조합으로 분획될 수 있다.

[0043] 상기 방법은 추출물을 농축, 원심분리, 여과, 흡착, 또는 크로마토그래피를 수행하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0045] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 약학적으로 허용가능한 염이란 표현은 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에 기인한 부작용이 바닐릭산의 이로운 효능을 떨어뜨리지 않는 바닐릭산의 어떠한 유기 또는 무기 부가염을 의미한다. 이들 염은 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 질산, 황산, 과염소산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 젖산, 말레산, 푸마린산, 글루콘산, 메탄설폰산, 글리콘산, 숙신산, 타타르산, 갈룩투론산, 엠본산, 글루탐산, 아스파르트산, 옥살산, (D) 또는 (L) 말산, 말레산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 4-톨루엔술폰산, 살리실산, 시트르산, 벤조산 또는 말론산 등을 사용할 수 있다. 또한, 이들 염은 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등) 및 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염 등) 등을 포함한다. 예를 들면, 산부가염으로는 아세테이트, 아스파테이트, 벤즈에이트, 베실레이트, 바이카보네이트/카보네이트, 바이설페이트/설페이트, 보레이트, 캄실레이트, 시트레이트, 에디실레이트, 에실레이트, 포메이트, 퓨마레이트, 글루셉테이트, 글루코네이트, 글루큐로네이트, 헥사플루오로포스페이트, 하이벤제이트, 하이드로클로라이드/클로라이드, 하이드로브로마이드/브로마이드, 하이드로요오디드/요오디드, 이세티오네이트, 락테이트, 말레이트, 말리에이트, 말로네이트, 메실레이트, 메틸설페이트, 나프틸레이트, 2-나프실레이트, 니코티네이트, 나이트레이트, 오로테이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/수소 포스페이트/이수소 포스페이트, 사카레이트, 스테아레이트, 석시네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 트리플루오로아세테이트, 알루미늄, 알기닌, 벤자틴, 칼슘, 콜린, 디에틸아민, 디올아민, 글라이신, 라이신, 마그네슘, 메글루민, 올아민, 칼륨, 나트륨, 트로메타민, 아연염 등이 포함될 수 있다.

[0046] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 바닐릭산을 유기용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세토니트릴 등에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조하여 제조되거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조하거나 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

[0047] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은 염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0048] 나아가, 본 발명은 상기 바닐릭산 및 이의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 가능

한 용매화물, 수화물, 이성질체, 광학 이성질체 등을 모두 포함하는 것일 수 있다.

[0050] 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 경구 투여용, 근육내 투여용, 정맥내 투여용, 복강내 투여용, 피하 투여용, 피내 투여용, 또는 국소 투여용으로 제제화되는 것일 수 있다.

[0051] 본 발명의 바닐릭산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있으며, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.

[0052] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 바닐릭산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0053] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0054] 상기 약학적 조성물은 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 담체, 부형제, 또는 희석제는 예를 들어, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알기네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 또는 광물유를 포함할 수 있다.

[0055] 또한, 상기 약학적 조성물은 암성 악액질 또는 근손실 예방 또는 치료 활성을 갖는 공지의 유효성분을 더 포함할 수 있다.

[0056] 본 발명의 바닐릭산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 인체에 대한 효과적인 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로 약 0.001~100 mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.01~35 mg/kg/일이다. 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.07~7000 mg/일이며, 바람직하게는 0.7~2500 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0058] **악액질 또는 근손실 예방 또는 개선용 건강기능식품 및 건강식품 조성물**

[0059] 또한, 본 발명은 바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0061] 본 발명에서 사용되는 용어 "건강기능식품"이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캡슐제, 환제, 액제, 분말 및 과립 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 말한다. 여기서 '기능성'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 기술분야에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 통상의 기술분야에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 건강기능식품의 제형 또한 건강기능식품으로 인정되는 제형이면 제한없이 제조될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 발명의 건강기능식품은 암성 악액질 치료제 또는 항암제의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0063] 나아가, 본 발명은 바닐릭산(vanillic acid) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 악액질(cachexia) 또는 근손실 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0065] 본 발명에 따른 상기 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물은 암성 악액질을 예방 또는 개선시키기 위한 목적으로 상기 바닐릭산 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 식품, 음료 등의 건강기능식품 또는 건강식품에 첨가할 수 있다.

[0066] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명에 따른 바닐릭산 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소시지, 빵, 비스킷, 떡, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제, 유제품 및 유가공 제품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품 및 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0067] 본 발명에 따른 상기 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 상기 바닐릭산 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 및 건강기능식품 중의 상기 바닐릭산 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 유지를 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0068] 본 발명의 건강식품 및 건강기능식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명에 따른 바닐릭산 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트라이톨 등의 당알코올이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능성 식품 조성물 100 g당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0069] 상기 외에 본 발명에 따른 바닐릭산 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 함유하는 건강식품 및 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강식품 및 건강기능식품 조성물은 천연 과일쥬스 및 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0070] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 이에 제한되지는 않으나, 본 발명의 유효물질을 함유하는 건강식품 및 건강기능식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0072] **항암 보조제 조성물**

[0073] 또한, 본 발명은 상기 약학적 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물을 제공한다.

[0074] 본 발명에서 사용되는 용어 "항암보조제"는 항암 치료 효과를 증대시키고, 항암제의 부작용을 억제하거나 개선시키기 위하여 사용될 수 있으며, 항암제와 병용하여 환자에게 투여될 수 있다.

[0075] 본 발명의 상기 항암 보조제 조성물은, 암에 의해 유발되는 근손실, 체중 감소, 지방 감소, 조혈 도성, 식욕 감소 등의 악액질 증상을 억제하거나 개선시키는 효과를 나타내어 항암제의 항암효과를 증대시키는 것일 수 있다.

[0076] 본원에서 정의되는 기존 항암제는 시클로포스파미드(Cyclophosphamide), 메토트랙세이트 (methotrexate), 5-플루오로우라실(fluorouracil), 독소루비신(Doxorubicin), 무스틴(Mustine), 비크리스틴(vincristine), 프로카바진(procarbazine), 프레드니솔론(prednisolone), 블레오마이신(bleomycin), 빈블라스틴(vinblastine), 다카르

바진(dacarbazine), 에토포시드 (etoposide), 시스플라틴(cisplatin), 에피루비신(Epirubicin), 시스플라틴(cisplatin), 카페시타빈(capecitabine), 옥살리플라틴(oxaliplatin) 등을 포함하는 것일 수 있다.

[0077] 상기 항암 보조제 조성물은 유효성분으로 바닐릭산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 이외에 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 추가로 1종 이상 포함할 수 있다. 상기 항암 보조제는 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며, 비경구 투여 시 복강 내 주사, 직장 내 주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사, 자궁 내 경막주사, 뇌혈관 내 주사 또는 흉부 내 주사에 의해 투여될 수 있고, 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다.

[0078] 상기 항암 보조제는 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다. 상기 항암 보조제의 일일 투여량은 약 0.0001 내지 1000 mg/kg이고, 바람직하게는 1 내지 100 mg/kg이며, 하루 1회 내지 수회 나누어 투여하는 것이 바람직하나 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여 방법, 배설률 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 항암 보조제는 실제 임상 투여 시에 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0080] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0082] **<실시예 1> 암성 악액질 유발 마우스 모델의 준비**

[0083] 암성 악액질을 유발하기 위해 BALB/c 마우스를 3군(각 군당 7마리)으로 나누어 그 중 2군은 CT26 대장암 세포주를 5×10^5 cell을 PBS와 matrigel을 1:1로 혼합하여 총 부피 200 μl을 오른쪽 허벅지 부근에 피하주사로 주입하여 암성 악액질을 유발하였다. 정상대조군에는 아무것도 주입하지 않았다.

[0084] 1주간의 암성 악액질 유발 이후 (가) 추가적인 4주간 PBS를 주입한 정상대조군(NC), (나) 추가적인 4주간 PBS를 주입한 질병대조군(CC) 및 (다) 추가적인 4주간 바닐릭산(100mg/kg/day)을 주입한 실험군(CC+VA)으로 처치를 달리하여 실험을 진행하였다. 이때 바닐릭산은 시그마 알드리치(카탈로그 넘버: 94770)에서 구입하여 사용하였다.

[0086] **<실시예 2> 바닐릭산의 암성 악액질에 의한 체중 감소 개선 효과**

[0087] 암성 악액질의 유발 및 바닐릭산의 개선 효과를 확인하기 위해 상기 실시예 1과 같은 방법으로 총 5주간의 처치 후 마우스들의 체중을 측정하였다. 또한 암조직에 따른 체중의 차이를 보정하기 위해 전체 쥐의 체중에서 암조직의 무게를 제외한 체중(cancer free body weight)을 비교하였다.

[0088] 암성 악액질에 의한 체중 감소 억제에 대한 바닐릭산의 효과를 실험한 결과는 도 1에 나타난 바와 같다.

[0089] 그 결과, 암조직을 제외한 체중(도 1 우, cancer free body weight)의 감소가 개선되는 효과를 보였다. 따라서, 바닐릭산은 질병대조군에 비해 암성 악액질에 의해 유발된 체중 감소를 현저히 억제함을 확인하였다.

[0091] **<실시예 3> 바닐릭산의 암성 악액질 지표 인자에 대한 발현 개선 효과**

[0092] 암성악액질의 지표인자로 밝혀진 염증성 사이토카인인 CRP, IL-6 및 TNF-α의 변화에 대한 바닐릭산의 효과를 혈청을 통해 확인하였다.

[0093] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 총 5주간의 처치 후 마우스들의 혈액을 채취하여 4000 RPM, 4℃, 20분 동안 원심분리기를 이용하여 혈청(serum)을 분리해낸 뒤 IL-6, CRP, TNF-α가 코팅된 Plate에 혈청을 넣고 반응시킨 뒤 2차 항체를 붙여 반응 시킨 후 그 발현량에 따른 색의 차이를 ELISER 분석기(VERSAmax microplate reader,

Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 분석하였다.

[0094] 암성 악액질이 발생하는 과정에서 일어나는 염증성 사이토카인의 변화에 대한 바닐릭산의 효과를 실험한 결과를 도 2에 나타내었다.

[0095] 그 결과, 바닐릭산은 혈청 CRP, 혈청 TNF-α 및 혈청 IL-6에서 모두 암성 악액질로 유발되는 염증성 사이토카인의 변화에 대하여 개선 효과를 보임을 확인하였다.

[0097] **<실시예 4> 바닐릭산의 암성 악액질에 의한 근육조직 감소 억제 효과**

[0098] 암성 악액질의 유발 및 바닐릭산의 개선 효과를 확인하기 위해 상기 실시예 1과 같은 방법으로 총 5주간의 처치 후 마우스들의 장딴지근(GAS; gastrocnemius muscles) 및 전경골근(TA; tibialis anterior muscles) 근육조직의 부피 및 무게를 측정하였다.

[0099] 근육조직의 감소 억제에 대한 바닐릭산의 효과를 실험한 결과를 도 3에 나타내었다.

[0100] 그 결과, 바닐릭산은 근육 조직인 TA와 GAS의 암성 악액질에 의한 감소를 현저히 억제하였으며, 조직의 부피(도 3 좌측)와 무게(도 3 우측) 모두에 대한 개선 효과를 보임을 확인하였다.

[0102] **<실시예 5> 바닐릭산의 암성 악액질 모델의 근육 조직(TA, GAS)에서 조직학적 개선 효과**

[0103] 암성악액질이 발병하는 과정에서 일어나는 조직학적 변화에 대한 바닐릭산의 효과를 확인하기 위하여 헤마톡실린(hematoxilin)-에오신(eosin) 염색 실험을 시행하였다.

[0104] 암성 악액질의 유발 및 바닐릭산의 개선 효과를 확인하기 위해 상기 실시예 1과 같은 방법으로 총 5주간의 처치 후 마우스들의 지방조직(iWAT; inguinal white adipose tissue)을 채취하였다. 색이 없는 조직을 표본으로 만든 뒤, 광학현미경으로 관찰하기 위해 염색을 하는데, 산성 또는 염기성 화합물인 염료는 조직의 이온기와 정전기적 결합(electrostatic or salt linkage)을 이루므로, 헤마톡실린(hematoxcylin)과 에오신(eosin)을 이용하여 염색한다. 헤마톡실린은 세포의 핵, 기타 산성구조(세포질에 있는 RNA가 풍부한 구조와 연골기질)등의 산성과 만나서 청색으로 염색하고, 에오신은 염기성과 만나서 다른 세포질 성분과 아교질(collagen)을 붉은 색으로 염색하게 된다. 염색순서는 먼저 헤마톡실린으로 염색한 다음, 알콜로 씻고 다음 에오신으로 염색하고 마지막으로 자일렌으로 처리하였다.

[0105] 헤마톡실린-에오신 염색을 통해 바닐릭산에 의한 암성 악액질 모델의 근육 조직에서의 조직학적 변화를 확인한 결과를 도 4에 나타내었다.

[0106] 그 결과, 바닐릭산은 암성 악액질로 유발되는 근육 소실에서 조직학적 변화를 개선시키는 효과가 있으며(도 4 상단), 근육의 면적 크기를 증가시키는 효과가 있음을 확인하였다(도 4 하단).

[0108] **<실시예 6> 바닐릭산의 근육 조직에서 MURf1 및 MAFbx 발현 억제 효과**

[0109] 근육 조직(TA, GAS)에서 암성 악액질이 진행되는 과정의 핵심적인 역할을 수행하는 MURf1 및 MAFbx에 대한 바닐릭산의 효과를 확인하기 위해 면역형광(Immunofluorescence, IF) 실험을 시행하였다.

[0110] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 총 5주간의 처치 후 마우스들의 근육 조직(TA, GAS) 표본은 포르말린(formalin) 고정 후 파라핀(parraffin) 조직을 5㎛ 두께의 섹션하여 제조되었다. 분석을 위해 마우스 당 5개의 슬라이드를 준비 하였다. 섹션을 자일렌(xylene)에서 parraffin을 제거하고 일련의 알코올로 함수시켰다. 0.1 % 트립신(trypsin) 작업 용액(trypsin 0.4ml, calcium 0.01g 및 chloride 0.01g D.W. 7ml로 구성)을 15 분 동안 처리한 후, 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS)을 사용하여 절편을 block하였다. IF 분석을 위해, 섹션을 1 차 항체의 1:50 희석과 함께 4℃에서 o/n(over night) 배양 한 다음, 실온에서 Alexa Fluor 633 (Pierce Thermo Scientific, Rockford, IL, USA)의 1:500 희석을 30 분 동안 배양하였다. 그 후, 섹션은 일상적인 방법으로 탈수 및 장착되었다. 각 그룹에 대해 5개의 슬라이드를 무작위로 선택하여 분석하였다. 슬라이드는 Olympus IX71 Research Inverted Phase 현미경(Olympus Co., Tokyo, Japan)을 사용하여 검사하였고, 밀도는 ImageJ 1.47v 소프트웨어(National Institute of Health, Bethesda, MD, USA)로 측정 하였다.

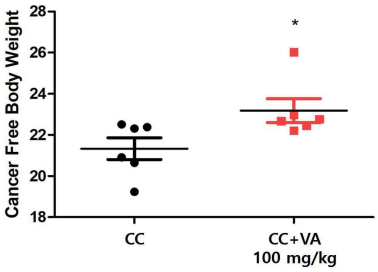
[0111] 바닐릭산 처리에 따른 근육 조직(TA, GAS)의 MURf1 및 MAFbx 발현을 면역형광법(IF)을 통해 확인한 결과는 도 5에 나타내었다.

[0112] 그 결과, 바닐릭산은 근육조직인 TA(도 5 상단)와 GAS(도 5 하단)에서 MURf1 및 MAFbx의 발현을 억제하는 효과를 나타냄을 확인하였다.

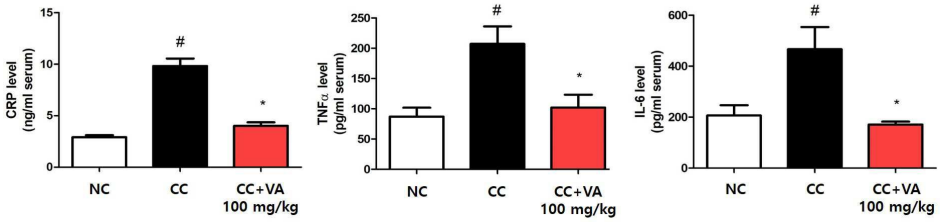
[0114] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

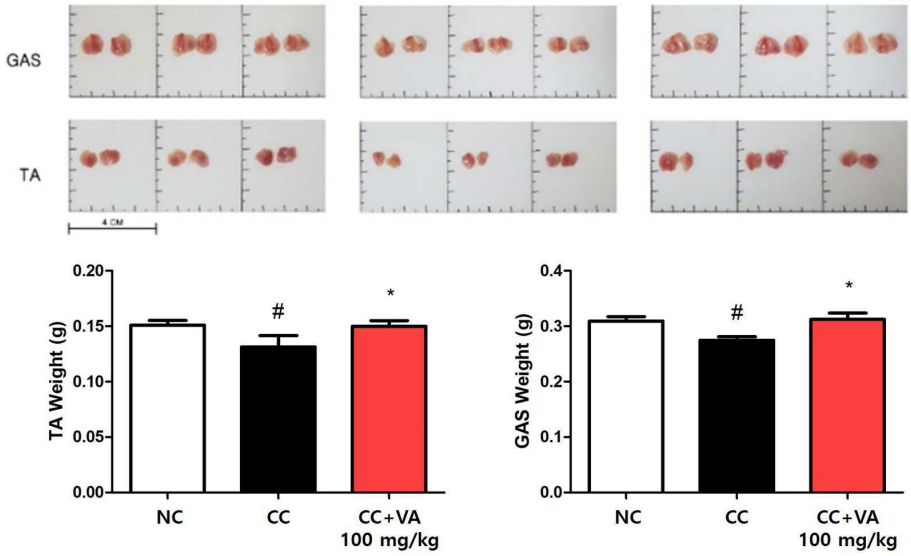
도면1



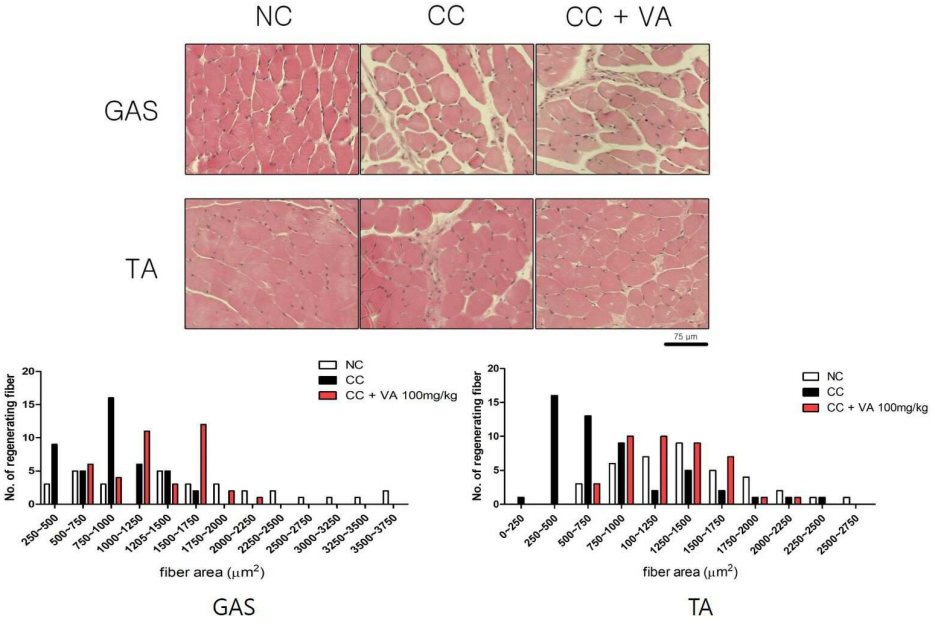
도면2



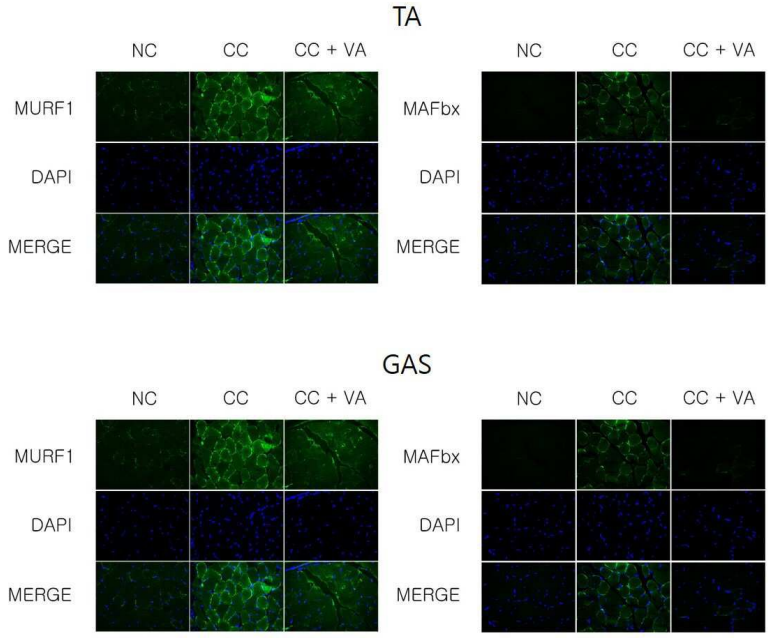
도면3


GAS
TA
4 CM
TA Weight (g)
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
#
*
NC
CC
CC+VA
100 mg/kg
GAS Weight (g)
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
#
*
NC
CC
CC+VA
100 mg/kg

도면4


NC
CC
CC + VA
GAS
TA
75 um
NC
CC
CC + VA 100mg/kg
No. of regenerating fiber
fiber area (μm²)
GAS
NC
CC
CC + VA 100mg/kg
No. of regenerating fiber
fiber area (μm²)
TA

도면5


TA
NC
CC
CC + VA
NC
CC
CC + VA
MURF1
MAFbx
DAPI
DAPI
MERGE
MERGE
GAS
NC
CC
CC + VA
NC
CC
CC + VA
MURF1
MAFbx
DAPI
DAPI
MERGE
MERGE