



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0046520
(43) 공개일자 2015년04월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/34 (2006.01) A61K 31/185 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01) A61P 13/08 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0125839

(22) 출원일자 2013년10월22일

심사청구일자 2013년10월22일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

이효정

서울 성북구 아리랑로5길 85, 102동 501호 (돈암동, 돈암동더샵아파트)

이민호

경기 용인시 수지구 심곡로 16, 509동 1701호 (상현동, 금호베스트빌5차아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

안소영

전체 청구항 수 : 총 7 항

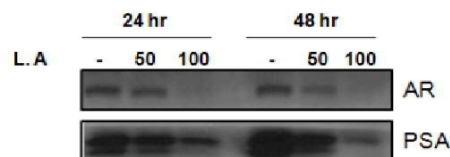
(54) 발명의 명칭 램버티안 산 유도체를 유효성분으로 포함하는 전립선 관련 질환 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 램버티안산(Lambertianic acid) 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 전립선 관련 질환의 예방 또는 치료를 위한 조성물을 제공한다.

본 발명에 따른 조성물은 항안드로겐 효과 또는 전립선 특이항원 억제 효과를 나타내며, 전립선염, 전립선 비대증, 전립선암과 같은 전립선 관련 질환의 개선, 예방 내지 치료에 효과적이다.

대표도 - 도5



(72) 발명자

조선미

서울 동대문구 회기로19길 9, 2층 305호 (회기동)

김성훈

서울 강남구 언주로30길 57, E동 2405호 (도곡동, 타워팰리스)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ009055

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농생명 바이오 식의약 소재개발 사업단

연구사업명 차세대 바이오 그린 21사업

연구과제명 잣잎 추출물을 이용한 개별인정 건강식품 원료 인정을 위한 연구

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2012.05.01 ~ 2014.12.31

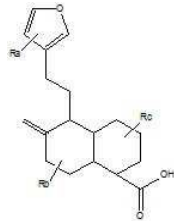
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 램버티안 산(Lambertianic acid) 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 포함하는 전립선 관련 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



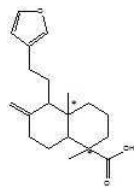
상기 식 중

R_a 내지 R_c는 독립적으로 -H; C₁ 내지 C₃의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬임.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 램버티안 산 유도체는 하기의 화학식 2로 표시되는 화합물인 약학 조성물:

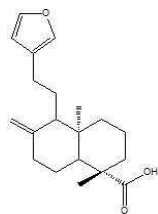
[화학식 2]



청구항 3

제2항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 램버티안 산 유도체가 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물인 약학 조성물:

[화학식 3]



청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 램버티안산 유도체는 잣나무 잎에서 분리된 것인 약학 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 전립선 관련 질환은 전립선염, 전립선암 또는 전립선 비대증 중 선

택되는 어느 하나인 약학 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 램버티안산 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 포함하는 전립선 관련 질환 예방 또는 개선용 건강식품.

청구항 7

제6항에 있어서, 전립선 관련 질환은 전립선염, 전립선암 또는 전립선 비대증 중 선택되는 어느 하나인 전립선 관련 질환 예방 또는 개선용 건강식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 전립선 관련 질환을 예방 또는 치료하는 램버티안 산 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전립선은 남성에게만 있는 장기로서 정액의 일부를 만들고 방광 아래 측에 있으면서 직장에 인접해 있는 장기이다. 전립선에서 발생하는 악성종양인 전립선암은 서양의 경우 남성암 중 가장 흔한 암으로 높은 발생빈도를 보인다. 국내에서도 최근 전립선암의 빈도가 급격하게 증가하고 있다. 지난 20년간 전립선암의 발생은 약 20배가 증가하였으며, 대한비뇨기과학회 통계 자료에 의하면 지난 10년간 전립선암 수술은 약 20배(1.933%)가 증가하였다. 전립선암의 가장 중요한 원인은 연령, 인종, 가족력이다. 유전적 요인 외에도 호르몬, 식이습관, 제조제와 같은 화학약품 등도 발병에 중요한 요인으로 작용한다고 알려져 있다.

[0003] 전립선암의 발암화는 안드로젠 신호전달과 관계되며 이들 안드로젠/안드로젠 수용체 신호전달을 억제하는 약제들은 전립선암의 발병을 지연하거나 차단 할 수 있다. 전립선 비대증은 전립선의 선조직과 기질조직의 성장에 의해 비대해지는 경우를 말하며 전립선 비대증은 50세 이상 성인의 남성에서 자연적으로 발생할 수 있다. 이 연령대의 남성들은 신체의 테스토스테론이 디하이드로테스토스테론으로 변형하여 전립선에 많은 양이 존재하게 되며, 여기에는 첫 번째로 테스토스테론을 디하이드로테스토스테론으로 전환하는 효소인 5-알파 환원효소가 다량으로 생성된다. 전립선 상피세포들에서 디하이드로테스토스테론은 안드로젠 수용체와 결합하는 경향이 있으며, 그 결과로 전립선이 비대해진다. 보통의 경우 성인 남성들에게서 흔히 생기는 현상으로서 수술이 필요가 없으나, 전립선이 너무 비대해져 소변을 보는데 여러 문제가 생기게 되면 수술이 절대적으로 필요하게 된다. 해마다 전립선 비대증 치료를 위해 40만 건의 전립선비대증 수술이 수행되고 있다. 전립선암과 전립선 비대증 치료제의 시장은 점점 더 증가하고 있다. 그러므로 테스토스테론에서 디하이드로테스토스테론의 반응에 관여하는 생체 효소인 5-알파 환원효소의 활성을 저해함으로써 탈모, 여드름, 전립선비대증 등의 남성 호르몬 의존성 질환을 치료할 수 있으므로 원천적인 약리기전으로 5-알파 환원효소의 활성을 저해하는 신규물질 탐색이 활발히 연구되고 있다.

[0004] 전립선암의 치료방법으로는 근치적 수술치료, 방사선치료, 화학요법, 호르몬 치료 등이 사용되고 있다. 전립선 특이항원(PSA)은 전립선 조직에 특이한 당단백질 세린 프로테아제 (glycoprotein serine protease)로 전립선암의 조기진단 및 추적관찰에 유용한 암표지자가 된다. 가장 많이 사용되고 있는 치료방법이 호르몬 치료로 남성 호르몬의 분비를 차단하거나 수술로 호르몬 생성을 억제하는 안드로젠(androgen) 제거 방법이다. 테스토스테론을 디하이드로테스토스테론으로 변환되지 못하도록 막는 5-알파 환원효소 억제제로 플루타마이드(flutamide)나 이것의 유도체인 피나스테리드가 사용되고 있다. 이 방법은 80% 이상의 환자에서 암 증식을 억제하는 일시적인 치료효과를 보인다.

[0005] 일시적인 호르몬 치료법에 좋은 반응을 보인 환자라도 일정 시간이 지나면 대부분 호르몬 저항성 전립선암 (hormone-refractory prostate cancer: HRPC)으로 진전되며 이러한 HRPC 환자의 경우 평균 진단 후 1년 이내에 사망하게 된다. HRPC의 경우 기존의 항암제, 화학요법 또는 방사선 요법도 큰 효과를 나타내지 못하므로 새로운 치료방법이 요구되고 있다 (Fong, L. et al., Induction of tissue-specific autoimmune prostatitis with prostatic acid phosphatase immunization: implications for immunotherapy of prostate cancer. J. Immunol. 159:3113.(1997)). 또한 기존의 전립선염, 전립선암 치료제들은 남성 탈모방지 치료제로 같이 쓰이는 복합적 기능을 보여 특이적이지 않다는 지적이 많으며, 여러 가지 부작용을 낳고 있다.

[0006] 한편, 잣나무는 소나무 과에 속하며(학명은 *Pinus koraiensis* SIEB), 잣나무잎은 잣잎으로도 불려진다. 최근에는 잣잎을 이용한 잣잎차, 잣나무 잎의 성분이 함유된 청결미, 잣잎 국수, 잣잎 식초, 잣잎 전식 등의 제품이 판매되고 있어 잣나무잎의 식용재료로의 확대 이용가능이 제시되고 있다. 잣나무 잎의 성분을 분석한 자료에 의하면 잣나무 잎에는 테르펜(terpene), 페놀화합물(phenolics), 탄닌(tannin) 등의 정유성분과, 엽록소성분, 무기 및 유기성분, 비타민 등의 다양한 성분이 함유되어 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-2011-0132293, 2011.12.07

(특허문헌 0002) KR 10-2011-0056053, 2011.05.26

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 항안드로겐 효과, 전립선 특이 항원 억제 효과, 암세포 성장 억제 효과 등을 가지는 램버티안산(Lambertianic acid) 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 유효성분으로 포함하는 전립선 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

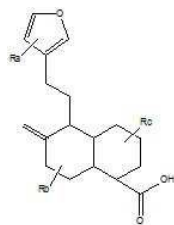
[0009] 본 발명자들은 전립선 관련 질환에 대한 억제 효과를 갖는 조성물을 개발하기 위하여 연구를 진행하던 중, 램버티안 산(Lambertianic acid)이 항안드로겐 효과, 전립선 특이항원 억제 효과, 전립선암세포 성장 억제 효과 등을 보인다는 사실을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

[0010] 본 발명의 램버티안산(Lambertianic acid) 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물은 안전한 천연 제제로부터 분리, 및 화학적 합성이 가능하며, 부작용이 없는 전립선 관련 질환 예방 및 치료제이다.

[0011] 본 발명의 램버티안산(Lambertianic acid) 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 전립선 관련 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 항안드로겐 효과, 전립선 특이항원 억제 효과, 전립선 암세포 성장 억제 효과를 가진다.

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 램버티안 산(Lambertianic acid) 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 이들의 수화물 또는 용매화물을 포함하는 전립선 관련 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0013] [화학식 1]



[0014] [0015] 상기 화학식 1에서,

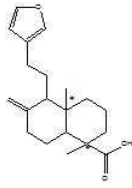
[0016] R_a 내지 R_c 는 독립적으로 $-H$, C_1 내지 C_3 의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬이다.

[0017] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 비대칭탄소를 포함할 수 있다. 이와 같은 경우, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물뿐만 아니라 이의 광학 이성질체까지 모두 포함할 수 있다.

[0018] 본 발명의 바람직한 모습으로써, 상기 화학식 1로 표시되는 램버티안 산(Lambertianic acid) 유도체는 하기의

화학식 2로 표시되는 화합물일 수 있다.

[화학식 2]

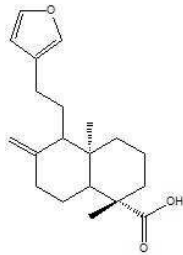


상기 화학식 2에서 *는 비대칭 탄소를 나타낸다.

본 발명은 상기 화학식 2로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 모두 포함할 수 있다.

본 발명의 또 다른 바람직한 모습으로써, 상기 화학식 1로 표시되는 램버티안 산(Lambertianic acid) 유도체는 하기의 화학식 3으로 표시되는 화합물일 수 있다.

[화학식 3]



본 발명은 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 모두 포함할 수 있다.

본 발명의 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 램버티안 산 유도체는 잣나무잎, 측백나무(Thuja orientalis) 잎 등의 추출물로부터 분리하거나, 당업계에 공지된 방법에 따라 합성할 수 있다.

잣나무잎 추출물로부터 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 본 발명 화합물을 분리하기 위해서는, 예를 들어, 잣나무 잎을 에탄올로 추출하여 얻어진 에탄올 추출물을 동일 비율의 에틸 아세테이트와 물로 희석하고 용해시켜 용매 분획한 후, 에틸아세테이트 분획물로부터 실리카겔 흡착 컬럼 크로마토그래피 및 TLC를 이용해 분리할 수 있다.

본 발명에 따른 화합물은 적어도 하나의 비대칭 탄소 중심을 가지며, 본 발명의 화합물은 그에 따라 거울상 이성질체로서 존재할 수 있다. 화합물이 2 이상의 비대칭 탄소 중심을 갖는 경우, 화합물은 추가적으로 부분 입체 이성질체로서 존재할 수 있다.

그러한 이성질체 및 그의 혼합물 모두는 본 발명의 범위 내에 포함되는 것으로 이해된다.

본 발명에 있어서, 화학식 1 내지 화학식 3의 화합물의 염은 약학 또는 생리학적으로 허용되는 모든 염 형태를 포함한다. 예를 들어, 칼슘, 칼륨, 나트륨 및 마그네슘 등으로 제조된 무기이온염, 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산, 주석산 및 황산 등으로 제조된 무기산염, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 구연산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카복산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산, 만델산, 뮤크산, 질산, 파모산, 판토텐산, 숙신산, 타르타르산 등으로 제조된 유기산염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산, 캄포르설폰산, 또는 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염, 글리신, 아르기닌, 라이신 등으로 제조된 아미노산염 및 트리메틸아민, 트리에틸아민, 암모니아, 피리딘, 피콜린 등으로 제조된 아민 염 등이 있으나, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다. 예를 들면, 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 무기산으로서 염산, 유기산으로서 메탄설폰산일 수 있다.

본 발명의 상기 화학식 1 내지 3으로 표시되는 화합물, 약제학적으로 허용 가능한 염의 수화물은 비공유적 분자

간 힘으로 결합되는 화학양론적 또는 비화학양론적 양의 물을 포함할 수 있다.

[0033] 상기 수화물은 1당량 이상, 즉, 1당량 내지 5당량의 물을 함유할 수 있다. 이러한 수화물은 물 또는 물을 함유하는 용매로부터 본 발명의 상기 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 결정화시켜 제조될 수 있다.

[0034] 본 발명의 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염들의 용매화물은 비공유적 분자간 힘으로 결합되는 화학양론적 또는 비화학양론적 양의 용매를 포함할 수 있다. 상기 용매로 바람직한 것은 비휘발성, 비독성 또는 인간에게 투여되기에 적합한 용매들을 들 수 있으며, 예를 들면, 에탄올, 메탄올, 프로판올, 메틸렌클로라이드 등이 있다.

[0035] 본 발명은 화학식 1 내지 화학식 3의 화합물의 전구체를 그의 범위 내에 포함한다. 일반적으로, 그러한 전구체는 생체 내에서 요구되는 화합물로 쉽게 전환될 수 있는 화합물의 기능적 유도체일 것이다. 따라서, 본 발명의 전립선 관련 질환 예방 및 치료 방법에 있어서, 용어 "투여하는"은 구체적으로 개시된 화합물 또는 구체적으로 개시될 수는 없으나 환자에게 투여 후 생체 내에서 구체화된 본 발명 화합물로 전환될 수 있다. 적합한 화합물의 전구체의 선택 및 제조를 위한 통상적인 방법은 예를 들어, "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985에 기술되어 있다. 또한, 본 발명의 화합물, 그의 염, 또는 그의 이성질체는 결정형으로 존재할 수 있다. 또한, 일부 화합물은 물과 함께(즉, 하이드레이트) 또는 통상적인 유기 용매로 용매화합물을 형성할 수 있으며, 그러한 용매화합물은 또한 본 발명의 범위 내에 포함되는 것으로 여겨진다.

[0036] 본 발명의 화학식 1 내지 화학식 3의 화합물은 전립선 관련 질환의 예방 및 치료 효과를 갖는다.

[0037] 예를 들어, 화학식 1 내지 화학식 3의 화합물은 전립선 관련 질환의 증상에 있어서, 항안드로겐 효과, 전립선 특이항원 억제 효과, 전립선 암세포 성장 억제 효과를 통해 예방 및 치료 효과를 가진다.

[0038] 본 발명에서는 상기에서 언급된 전립선 관련 질환은 전립선염, 전립선 비대증 또는 전립선암 등을 말한다.

[0039] 본 발명의 약학 조성물은, 투여를 위해 상기 화학식 1 내지 3으로 표시되는 화합물, 이들의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 이들의 용매화물 외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 더 포함할 수 있다. 상기 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.

[0040] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경 구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용) 할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 투여기간 또는 간격, 배설율, 체질 특이성, 제제의 성질, 성질 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 이들의 용매화물의 일일 투여량은 약 0.01 내지 100mg/kg 이고, 바람직하게는 0.1 내지 20mg/kg 이며, 하루 1회 내지 3회에 나누어 투여하는 것이 더욱 바람직하다.

[0041] 본 발명의 약학 조성물은 투여를 위하여 여러 가지 제제로 제형화될 수 있다. 상기 약학 조성물은 부형제를 첨가하여 다양한 형태로 제형화될 수 있다. 상기 부형제는 비독성이고 불활성인 약제학적으로 적합한 고상, 준고상 또는 액상의 모든 유형의 제형 보조물로서, 예를 들면, 충전제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 분산제, 계면활성제 또는 희석제 등을 들 수 있다.

[0042] 본 발명의 상기 약학 조성물은 투약 단위 형태로 제형화 될 수 있다. 상기 화학식 1 내지 3으로 표시되는 화합물, 이들의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 포함하는 유효 화합물의 상기 제형 당 함량은 개별 투약량의 분율 또는 배수에 해당한다. 예를 들면, 상기 제형화된 투약 단위는 상기 유효 화합물의 1일 개별 투약량의 1, 2, 3 또는 4배로, 또는 1/2, 1/3 또는 1/4배를 포함할 수 있다. 바람직하게는 상기 개별 투약량은 유효 화합물이 1회에 투여되는 양을 함유하며, 이는 통상 1일 투여량의 전부, 1/2, 1/3 또는 1/4배에 해당한다.

[0043] 본 발명의 상기 약학 조성물을 정제, 피복 정제, 캡슐제, 환제, 과립제, 좌약, 액제, 현탁액제 및 에멀전제, 페이스트제(pastes), 연고제, 겔제, 크림제, 로션제, 산제 또는 분무제로 제형화될 수 있다. 예를 들면, 상기 약학 조성물은 경구 투여를 위하여 정제, 환제, 산제, 과립제 또는 캡슐제 등의 고형제제 또는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등의 액상제제로 제형화 될 수 있다. 또는 상기 약학 조성물은 비경구 투여를 위하여 주사제, 현탁제, 유제, 동결건조제 또는 좌제 등으로 제형화될 수 있다. 예를 들어, 상기 약학 조성물을 상기 화학식 1

로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학 적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 이들의 용매화물과 1종 이상의 부형제를 사용하여 미세 캡슐 형태로 제형화될 수 있다.

[0044] 본 발명의 약학 조성물을 정제, 피복정제, 캡슐제, 환제 또는 과립제와 같은 고형제제로 제형화 하는 경우, (a) 전분, 락토오스(lactose), 수크로오스(sucrose), 글루코오스, 만니톨 또는 규산과 같은 충전제 및 중량제, (b) 카르복시메틸 셀룰로오스, 알긴산염, 젤라틴, 폴리에틸렌글리콜, 미세결정성 셀룰로오스, 고분산성 실리카, 천연검, 합성검, 포비돈, 코포비돈, 폴리비닐피롤리돈 또는 젤라틴과 같은 결합제, (c) 글리세롤과 같은 흡습제, (d) 한천, 탄산칼슘 또는 탄산나트륨과 같은 붕해제, (e) 파라핀과 같은 용해 지연제, (f) 4급 암모늄 화합물과 같은 흡수 촉진제, (g) 세틸알코올 또는 글리세롤 모노 스테아레이트와 같은 습윤제, (h) 고령토 또는 벤토나이트 같은 흡착제 또는 (i) 활석, 스테아르산 칼슘, 스테아르산 마그네슘, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 및 고체 폴리에틸렌 글리콜과 같은 윤활제 또는 상기 (a)내지 (i)에서 기재한 물질의 혼합물들을 첨가하여 제형화할 수 있다.

[0045] 상기 약학 조성물을 경구투여용 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등의 액상제제로 제형화하는 경우, 상기 약학 조성물에 물, 리퀴드 파라핀과 같은 단순 희석제, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제, 방부제, 착색제 등과 같은 여러 가지 첨가제를 첨가하여 제형화 할 수 있다. 예를 들면, 상기 약학 조성물에 박하유, 유칼리유 또는 사카린과 같은 감미제를 더 첨가하여 제형화할 수 있다.

[0046] 본 발명의 약학 조성물을 좌제로 제형화하는 경우, 폴리에틸렌글리콜, 카카오 지방 등의 지방, 고급 에스테르 (예: C₁₆ -지방산을 갖는 C₁₄ -알코올), 위텡솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 라우린지 및 글리세롤 젤라틴 또는 이들의 혼합물과 같은 수용성 또는 불용성 부형제를 사용하여 제형화 할 수 있다.

[0047] 본 발명의 약학 조성물을 연고제, 페이스트제, 크림제 또는 젤제 등으로 제형화하는 경우, 동물성 및 식물성 지방, 왁스 파라핀, 전분, 타르가칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 규산, 활석, 산화 아연 또는 이들의 혼합물을 사용하여 제형화 할 수 있다.

[0048] 본 발명의 약학 조성물을 산제 또는 분무제로 제제화하는 경우, 락토오스, 활석, 규산, 수산화 알루미늄, 규산 칼슘, 폴리아미드 분체 또는 이들의 혼합물을 사용하여 제형화 할 수 있다. 또한 상기 분무제로 제형화하는 경우, 클로로플루오로히드로카본과 같은 통상의 포사제를 추가적으로 더 사용할 수 있으며, 피이지-4000과 글리세린을 사용하여 비강분무제로도 제형화할 수 있다.

[0049] 본 발명의 약학 조성물을 비 경구투여용 액제 또는 에멀전제로 제형화하는 경우, 용매, 가용화제 또는 유화제 등을 사용하여 제제화 할 수 있다. 예를 들면 본 발명의 조성물을 물, 에틸알코올, 이소프로필알코올, 에틸카보네이트, 에틸아세테이트, 벤질알코올, 벤질벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 디메틸포름아미드, 면실유, 낙화생유, 옥수수 배종유, 올리브유, 피마자유 또는 참깨유오일과 같은 오일, 글리세롤, 글리세롤 포름알코올, 테트라히드로프루피알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 또는 이들의 혼합물을 사용하여 액제 또는 에멀전제로 제형화할 수 있다. 상기 비경구 투여용 액제 또는 에멀전제는 혈액과 등장성인 멸균 형태로 제형화할 수 있다.

[0050] 본 발명의 약학 조성물을 현탁제로 제형화하는 경우, 물, 에틸알코올 및 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스테르, 미세결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 한천, 트라가칸트, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르, 이들의 혼합물을 사용하여 제형화 될 수 있다.

[0051] 본 발명에 따른 약학 조성물은 담체, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제, 윤활제 및 첨가제를 사용하여 서방성 또는 속방성 제형으로 제제화될 수 있다. 예를 들면, 본 발명에 따른 약학 조성물은 특정 부위에 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물, 이들의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 이들의 용매화물을 방출할 수 있도록 서방성 또는 속방성 제제로 제형화될 수 있다.

[0052] 본 발명에 따른 약학 조성물을 서방성 제제로 제형화하는 경우, 장용성 고분자, 수불용성 중합체, 소수성 화합물 또는 친수성 고분자등의 중합성 물질 또는 왁스와 같은 봉매제 조성물을 사용하여 서방형으로 제형화할 수 있다. 예를 들면, 상기 약학 조성물을 정제, 캡슐제, 환제 또는 과립제로 제형화하는 경우, 외부에 코팅막을 형성하여 서방성으로 제형화할 수 있다.

[0053] 본 발명의 약학 조성물의 제형화에 있어, 첨가되는 담체, 충전제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 분산제, 계면활성제 또는 희석제 등의 부형제 및 첨가제의 함량을 특별히 한정되는 것을 아니며, 통상의 제형화에 사용되

는 함량 범위 내에서 적절하게 조절될 수 있다.

- [0054] 본 발명의 약학 조성물은 본 분야의 적절한 방법을 사용하여 각 질환 또는 성분에 따라 적절한 방법으로 제형화될 수 있다. 예를 들면, 상기 화학식 1 내지 3으로 표시되는 화합물, 이들의 광학이성질체 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 부형제를 혼합하여 원하는 제제로 제형화 할 수 있다.
- [0055] 본 발명의 약학 조성물은 상기 화학식 1 내지 3으로 표시되는 화합물, 이들의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물과 같은 유효 성분을 전체 조성물에 대하여 약 0.1 내지 약 99.5 중량%, 바람직하게는 약 0.5 중량% 내지 약 95 중량%로 포함할 수 있다.
- [0056] 본 발명의 화학식 1 내지 화학식 3의 화합물을 유효 성분으로 포함하는 약학 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 국소, 직장, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- [0057] 아울러, 본 발명은 램버티안 산 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 포함하는 전립선 관련 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0058] 본 발명의 램버티안 산 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0059] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 램버티안 산 유도체를 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0060] 본 발명은 유효성분으로 램버티안 산 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 포함하는 전립선 관련 질환의 치료방법을 제공한다.
- [0061] 본 발명의 치료 방법은 예방적 및 완화적 치료를 포함한다. 상기 방법은 상기 조성물의 유효한 양을 그러한 치료가 필요한 대상에게 투여하는 것을 포함한다. 바람직하게, 상기 방법은 인간을 치료하기 위해 사용된다.
- [0062] 본 발명은 유효성분으로 램버티안 산 유도체, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 수화물 또는 용매화물을 포함하는 전립선 관련 질환 치료 용도를 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0063] 도 1은 잣잎으로부터 램버티안산을 분리하기 위한 fraction 분리 과정을 나타내는 도이다.
- 도 2는 잣잎 추출물로부터 동정된 램버티안산의 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 및 DEPT 결과를 나타내는 도이다.
- 도 3은 안드로젠 호르몬 의존성 전립선암 세포주인 LNCaP에서 램버티안 산을 24, 48시간 처리한 후 세포 성장을 확인한 결과이다.
- 도 4는 전립선암 세포주에서 램버티안 산을 24, 48시간 처리시, 세포외로 배출되는 전립선 특이 항원의 비율을 확인한 결과이다.
- 도 5는 전립선 암세포주에서 램버티안 산을 24, 48시간 처리시 안드로젠 수용체와 전립선 특이항원의 발현양의 변화를 웨스턴 블롯으로 확인한 결과이다.
- 도 6은 단백 동화 스테로이드인 Mibolerone과 램버티안 산을 처리했을 때의 세포외로 배출되는 전립선 특이 항원의 비율을 확인한 결과이다.
- 도 7은 단백 동화 스테로이드인 Mibolerone과 램버티안 산을 처리했을 때의 안드로젠 수용체와 전립선 특이항원의 발현양의 변화를 웨스턴 블롯으로 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0064] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의

지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

<제조예> 램버티안 산 유도체의 분리

1. 원재료의 선정과 전처리

잣나무(*Pinus koraiensis*)의 잎과 지름 1cm만의 어린줄기를 원재료로 정하였으며, 원재료의 추출효율을 높이기 위하여 원재료 식물체를 2~3cm 길이로 절단하였다.

2. 잣잎 추출물의 제조

상기 1.에서 전처리된 원재료 10배 중량의 50% 발효 주정 수용액에 원재료를 침지시켜 추출을 진행하였다. 추출 온도는 45℃에서 10시간동안 환류추출 하며 2회 반복 추출하였다. 1~2회 추출물을 혼합하여 30Brix로 감압 농축 하였으며, 이로부터 잣잎추출물을 제조하였다.

3. 용매극성을 활용한 물질분획

용매가 갖는 극성을 활용하여 잣잎 추출물로부터 극성 분획물을 얻기 위해, 잣잎 추출물을 동일비율의 에틸 아세테이트와 물로 희석시켜 분별 깔때기에 붓고, 두 용매의 층이 분리되도록 하였다. 그리고 에틸아세테이트 층을 모아 잣잎 추출물 제조과정과 동일한 방법으로 감압농축하였다. 물 층에 다시 *n*-부탄올과 물로 희석(용해)시켜 분별깔때기에 붓고, 두 용매의 층이 분리되면 각각을 감압농축하였다. 각 과정을 3~5회 반복하여 용매분획 효율을 높였다. 램버티안 산 분리를 위한 fraction 분리의 전반적인 과정은 도 1에 나타내었다.

4. 에틸아세테이트 분획물로부터 램버티안산의 분리

잣잎 에틸아세테이트 분획물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 세분화하여 단일 분획물(단일물질)들을 얻었다. 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 사용된 실리카겔의 양은 분리할 물질 중량의 약 200배(w/v) 정도를 사용하였다. 또한 용출시킬 용매의 종류와 혼합비율의 선택은 분리할 물질을 박층 크로마토그래피(Thin layer chromatography)에 예상 용매조합과 비율로 미리 전개시키는 과정을 반복하며 결정하였다. 그 결과 헥산과 에틸아세테이트를 9:1 → 5:1 → 3:1 → 1:1 → 1:3 → 1:10 그리고 클로로폼과 메탄올을 15:1 → 10:1 → 5:1로 용매극성 달리하며 물질을 용출시켜 분리하여 총 15개의 분획물을 얻었다. 15개의 분획물을 박층 크로마토그래피로 확인한 결과 6번째 분획물에서 선명하고 명확한 적자색을 나타냈으며 단일물질로 추정되었다. 이 분획물의 물질구조를 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR을 활용하여 확인한 결과 램버티안산으로 구조가 동정되었으며, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 및 DEPT 결과는 도 2에 나타내었다.

<실시예 1> 램버티안 산 유도체의 전립선 암 세포주 성장 억제 확인

램버티안 산 유도체가 전립선 암 세포주의 세포 성장에 영향을 미치는지 확인하기 위하여 전립선 암세포주인 LNCaP에 대하여, XTT assay를 통해 세포 성장에 미치는 영향에 관하여 확인하였다.

전립선암 세포주인 LNCaP 세포를 96well 세포배양접시에 1X10⁴개의 세포를 도말하여 24시간 동안 37℃에서 배양한 후, 상기 제조예에서 분리한 램버티안 산을 농도별(0, 100, 200, 300, 400 uM)로 세포에 처리하여 24시간 또는 48시간 배양하였다. 그 후, XTT (2, 3-bis-2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl-2H-tetrazolium-5carboxanilide)와 PMS(phenazinemethosulfate) 용액을 넣고 3시간 반응시키고 ELISA 리더로 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

그 결과는 도 3에 나타내었다.

도 3에 나타난 바와 같이, 전립선암 세포주에 램버티안 산 처리시 농도 및 시간 의존적으로 세포 성장이 억제되는 것을 확인 할 수 있었다. 즉, 램버티안 산 유도체가 전립선암 세포주의 성장을 특이적으로 억제하여 항암 효과를 나타내는 것을 확인 할 수 있었다.

<실시예 2> 램버티안 산 유도체의 전립선 특이 항원 억제 효과 확인

램버티안 산 유도체의 전립선 특이 항원 억제 효과를 확인하기 위해, 전립선 특이 항원 키트[Prostate Specific Antigen Kit(Alpco, cat#. 25-PSAHU-E01)]를 이용하여 하기 방법으로 실험하였다.

5X10⁵개의 LNCaP세포(ATCC, USA)를 6 well 세포 배양지에 도말하고 24시간 경과 후 0, 50, 100 uM 농도의 상기 제조예에서 분리한 램버티안 산을 각각 24시간, 48시간 처리한 후에 세포 부유물 층을 수거하여 전립선 특이 항

원 키트를 이용하여 키트에서 제시하는 사용설명서에 따라 세포외로 배출된 전립선 특이 항원을 측정하였다.

[0082] 그 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4는 전립선암 세포주에 램버티안 산 처리시, 전립선 특이 항원이 분비되는 세포배양액의 전립선 특이 항원 비율을 나타낸 그래프이다. 도 4에 나타낸 바와 같이, 램버티안 산 처리군에서 농도 의존적으로 전립선 특이 항원의 비율이 크게 감소함을 확인하였다. 상기 결과를 통해서, 램버티안 산 유도체는 전립선 특이 항원 억제에 효과적인 물질인 것을 확인할 수 있었다.

[0083] <실시예 3> 램버티안 산 유도체의 안드로겐 수용체 및 전립선 특이 항원 단백질 발현 억제 효과 확인

[0084] 램버티안 산 유도체의 전립선 특이 항원 억제 효과와 항안드로겐 효과를 확인하기 위해, 웨스턴 블롯법을 이용하여 단백질 발현을 측정하였다.

[0085] 5×10^5 개의 전립선암 세포주 LNCaP세포를 6 well 세포 배양지에 도말하고 24시간 배양 후, 상기 제조예에서 분리한 램버티안산을 0, 50, 100 μ M 농도로 24시간, 48시간 처리한 후에 세포를 수거하였다. 수거한 세포에 RIPA Buffer(50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 300 mM NaCl, 0.5% Triton X-100, 0.1% SDS, 5 mM EDTA, protease inhibitor cocktail)를 처리하고 얼음에 30분간 방치한 후 원심분리기로 14000g의 속도로 30분간 원심 분리하여 단백질을 분리하였다. 분리된 단백질은 Bradford 방법으로 정량을 하였다. 단백질 정량은 단백질 정량 키트(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하였으며, 키트에서 제공하는 실험 사용설명서에 따라 수행하였다. 정량한 단백질의 50ug 농도를 SDS-PAGE 젤에 처리하여 전기영동을 실시한 후, PVDF 멤브레인(Amersham Biosciences, Piscataway, NJ)에 단백질을 옮겨 놓았다. 그 후, PVDF 멤브레인을 5% 무지방 분유에 1시간 동안 담가 두어 멤브레인 표면에 비특이적 결합 단백질을 제거시키고 1차 항체인 안드로겐 수용체[AR(BD Phamingen, cat#554225)], 전립선 특이 항원[PSA(DAKO, cat# A0562)]을 각각 1:1000, 1:1000 으로 희석하여 4℃에서 하루 동안 처리해 둔다. 마지막으로 2차 항체(HRPconjugated secondary antibody- AbD Serotec)를 1시간 동안 상온에서 처리하고 ECL 시스템 키트를 이용하여 키트가 제공하는 사용설명서대로 수행하여 전립선 특이 항원 단백질과 안드로겐 수용체 단백질의 단백질 발현을 확인하였다.

[0086] 그 결과를 도 5에 나타내었다. 도 5는 전립선암 세포주에 램버티안 산 처리 후, 전립선 특이 항원과 안드로겐 수용체 단백질 발현량 변화를 확인한 결과이다. (-)는 미처리 대조군을 의미하고, L.A는 램버티안 산을 의미한다. 또한, AR은 안드로겐 수용체, PSA는 전립선특이항원을 나타낸다.

[0087] 도 5에 나타낸 바와 같이, 램버티안 산을 처리한 군에서는 전립선 특이 항원 단백질과 안드로겐 수용체 단백질 모두 농도 의존적으로 크게 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 상기 결과를 통해서, 램버티안 산 유도체가 전립선 특이 항원 단백질과 안드로겐 수용체 단백질의 발현을 억제함으로써, 전립선 특이 항원의 발현을 억제하고 항안드로겐 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[0088] <실시예 4> Mibolerone 처리시, 램버티안 산 유도체의 전립선 특이 항원 억제 효과 확인

[0089] Mibolerone은 anabolic 스테로이드로써 안드로겐 수용체와 결합력이 좋은 안드로젠 호르몬이며, 자연적 형태의 testosterone 또는 dihydrotestosterone의 합성 형태이다. LNCaP 전립선암세포는 안드로젠 호르몬 의존성 세포로써, 안드로젠 호르몬 처리시 안드로겐 수용체와 반응하여 전립선암세포의 발달을 유리하게 할 수 있는 전달 체계를 보인다. 이러한 안드로젠 호르몬과 수용체 결합에 의해 활성화 될 수 있는 단백질 중 하나가 전립선 특이 항원(prostate specific antigen)이라 할 수 있다. 그러므로 Mibolerone의 전립선암의 처리는 전립선암의 발달을 조금 더 촉진시키는 모델이 되는 것이고 이 과잉된 모델에서 약물 처리시 억제효과를 보인다면, 전립선 관련 질환에 있어 좋은 약물로 사용될 수 있음을 보여주는 것이다.

[0090] 이에 따라 전립선 특이 항원의 분비를 촉진함으로써 전립선암, 전립선 비대증 등을 유발 할 수 있는 단백 동화 스테로이드의 일종인 Mibolerone 처리시 전립선 특이 항원 확인하기 위해, 전립선 특이 항원 키트[Prostate Specific Antigen Kit(Alpco, cat#. 25-PSAHU-E01)]를 이용하여 실시예 2와 같은 방법으로 실험하였다.

[0091] 그 결과를 도 6에 나타내었다. 도 6은 Mibolerone 처리군에 램버티안산을 처리하는 경우 세포배양액의 전립선 특이 항원 비율을 나타낸 그래프이다. 도 6에 나타낸 바와 같이, 전립선암 세포주에 램버티안 산 처리시, Mibolerone 처리에 의한 전립선 특이 항원이 분비를 크게 감소시킴을 확인하였다. 즉, 램버티안 산 유도체의 전립선 비대증, 전립선 암 등의 전립선 관련 질환의 치료 효과를 보여준다.

[0092] <실시예 5> 램버티안 산 유도체와 Mibolerone의 안드로겐 수용체 및 전립선 특이 항원 단백질 발현 억제 효과 확인

[0093]

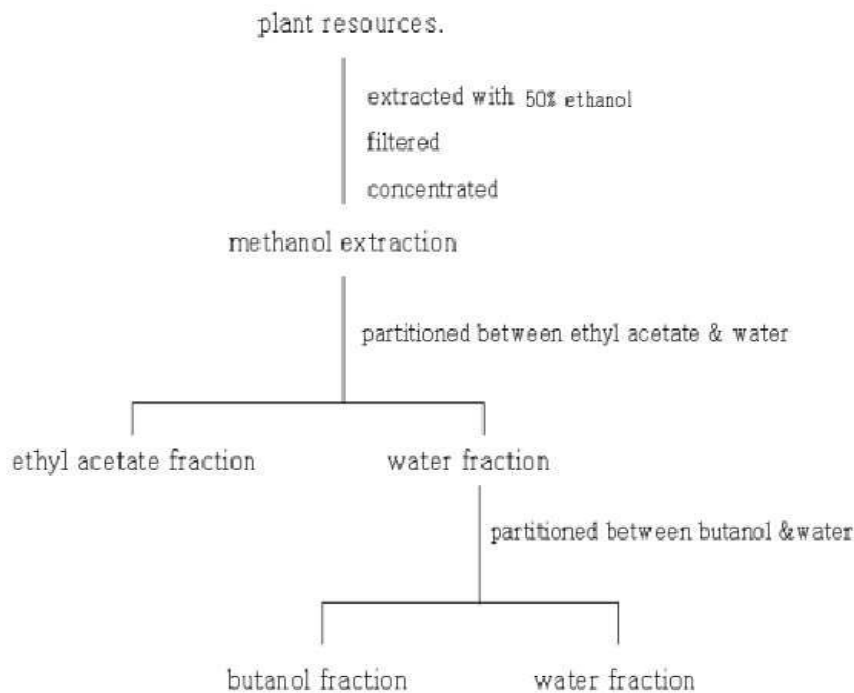
Mibolerone을 처리했을 때 램버티안 산 유도체의 전립선 특이 항원 억제 효과와 항안드로겐 효과를 확인하기 위해, 웨스턴 블롯법을 이용하여 단백질 발현을 측정하였다. 웨스턴 블랏은 실시예 3과 동일하게 수행되었으며, 램버티안산을 100 μ M 농도로 1시간 전 처리 한 후 Mibolerone을 1nM 농도로 24시간 동안 처리하였다. 본 결과는 실시예 3과 동일한 방식으로 웨스턴 블롯법을 통해 단백질 발현을 확인하였다.

[0094]

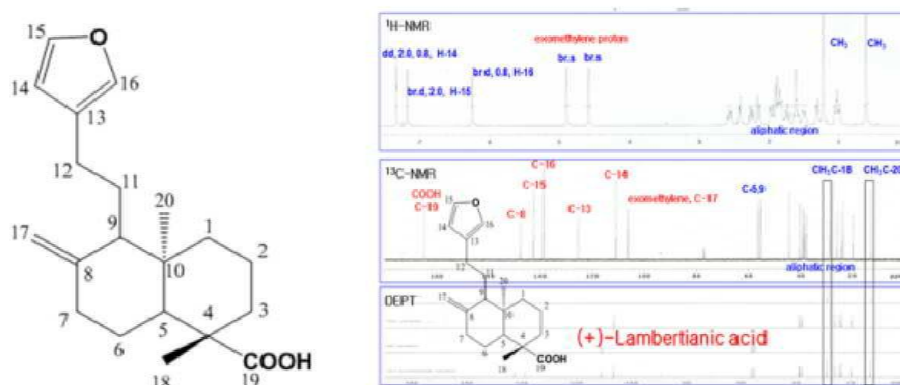
그 결과를 도 7에 나타내었다. 도 7에 나타난 바와 같이, 램버티안 산 처리에 의해 Mibolerone로 증가된 전립선 특이 항원과 안드로겐 수용체 단백질 발현량이 크게 감소되는 것을 확인하였다. 즉, 램버티안 산 유도체의 전립선 비대증, 전립선 암 등의 전립선 관련 질환의 치료 효과를 보여준다.

도면

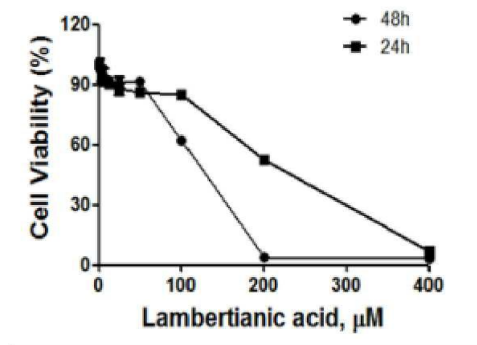
도면1



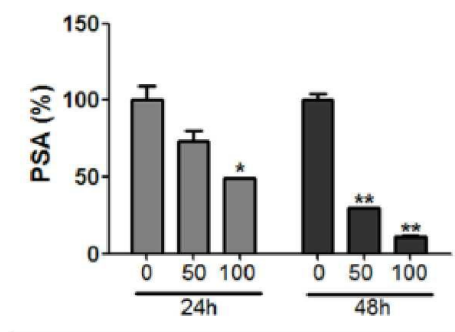
도면2



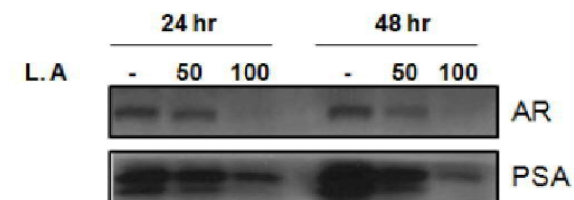
도면3



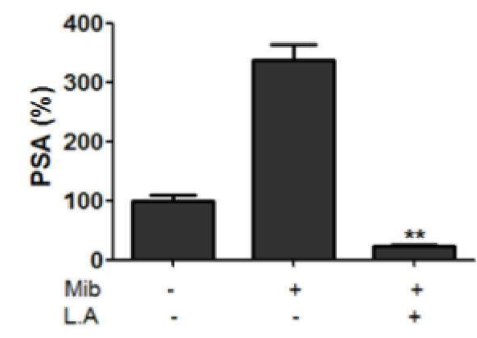
도면4



도면5



도면6



도면7

