

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구

국제사무국

(43) 국제공개일

2018년 2월 8일 (08.02.2018)



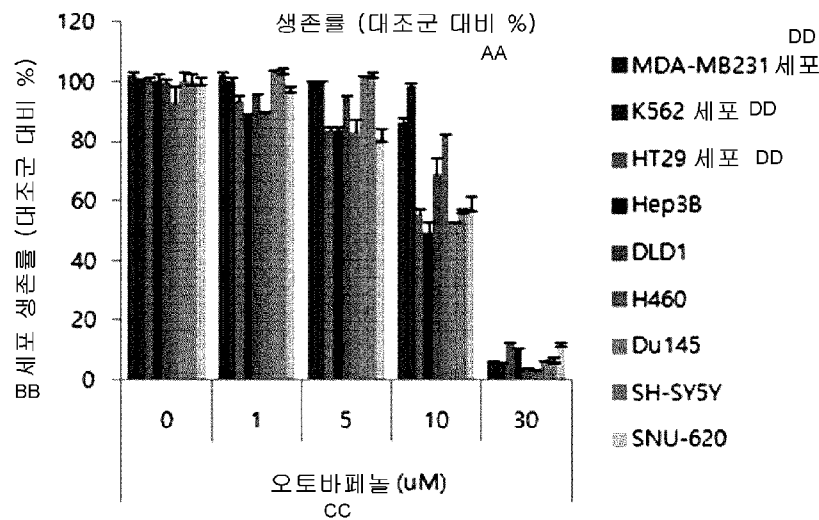
(10) 국제공개번호

WO 2018/026210 A1

- (51) 국제특허분류: *A61K 31/36* (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2017/008396
- (22) 국제출원일: 2017년 8월 3일 (03.08.2017)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2016-0099630 2016년 8월 4일 (04.08.2016) KR
- (71) 출원인: 부산대학교 산학협력단 (PUSAN NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 46241 부산시 금정구 부산대학로 63번길 2 (부산대학교), Busan (KR). 한약진흥재단 (NATIONAL DEVELOPMENT INSTITUTE OF KOREAN MEDICINE) [KR/KR]; 38540 경상북도 경산시 화랑로 94, Gyeongsangbuk-do (KR).
- (72) 발명자: 하기태 (HA, Ki Tae); 50609 경상남도 양산시 물금읍 범어로 33, 104동 1103호, Gyeongsangnam-do (KR). 정태욱 (CHUNG, Tae Wook); 50610 경상남도 양산시 물금읍 화합2길 9, 301호, Gyeongsangnam-do (KR). 소재현 (SO, Jai Hyun); 42803 대구시 달서구 송현로 7길 9, 2105동 401호, Daegu (KR). 이한나 (LEE, Han Na); 42057 대구시 수성구 만촌로3길 6-2, Daegu (KR).
- (74) 대리인: 김순웅 (KIM, Soon Woong); 08380 서울시 구로구 디지털로 31길 20 (구로동) 601호, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING CANCER, AND CONTAINING OTOBAPHENOL AS ACTIVE COMPONENT

(54) 발명의 명칭: 오토바페놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 조성물



AA ... Viability (% of control group)
BB ... Cell viability (% of control group)
CC ... Otopaphenol (uM)
DD ... Cell

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing or treating cancer, and containing otopaphenol as an active component, wherein the otopaphenol according to the present invention inhibits the activity of pyruvate dehydrogenase kinase and is highly effective in suppressing cancer cell growth, and thus, may be usefully used for preventing, mitigating, or treating cancer.

(57) 요약서: 본 발명은 오토바페놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 오토바페놀은 피루브산 탈수소효소 키나아제의 활성을 억제하고, 암세포 성장을 억제하는 효과가 우수하여, 암의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[다음 쪽 계속]



SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 오토바폐놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 오토바폐놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 보통 '종양(tumor)'이라 하면 신체 조직의 자율적인 과잉 성장에 의해 비정상적으로 자라난 덩어리를 의미하며, 양성종양(benign tumor)과 악성종양(malignant tumor)으로 구분할 수 있다. 양성종양이 비교적 성장 속도가 느리고 전이(metastasis; 종양이 원래 발생한 곳에서 멀리 떨어진 곳으로 이동함)되지 않는 것에 반해 악성종양은 주위 조직에 침윤하면서 빠르게 성장하고 신체 각 부위에 확산되거나 전이되어 생명을 위협하게 된다. 따라서 악성종양을 암과 동일한 의미로 생각할 수 있다.
- [3] 신체를 구성하는 가장 작은 단위인 세포(cell)는 정상적으로는 세포 자체의 조절 기능에 의해 분열 및 성장하고, 수명이 다하거나 손상되면 스스로 사멸(죽어 없어짐)하여 전반적인 수의 균형을 유지한다. 그러나 여러 가지 원인에 의해 이러한 세포 자체의 조절 기능에 문제가 생기면 정상적으로는 사멸해야 할 비정상 세포들이 과다 증식하게 되며, 경우에 따라 주위 조직 및 장기에 침입하여 종괴(덩어리)를 형성하고 기존의 구조를 파괴하거나 변형시키는데, 이러한 상태를 암(cancer)으로 정의할 수 있다.
- [4] 정상적인 세포가 TCA cycle을 통해서 에너지원인 ATP를 생성하는데 비하여 암세포는 TCA cycle을 거치지 않고 주로 해당과정을 이용하여 저산소 상태에서 대량의 ATP를 생성하는 특이적 대사과정을 가진 것으로 알려져 있으며, 이러한 암세포 특이적 대사과정은 호기성 상태뿐만 아니라 척박한 산소 결핍 상태에서도 암세포의 성장을 이롭게 한다(Tennant et al. Nat Rev Cancer. 2010). 또한 암세포는 이러한 특이적 대사과정을 통하여 해당과정을 통해 만들어진 피루브산(pyruvate)을 젖산 발효를 통하여 다량의 젖산(lactate)을 생성함으로써 암세포 주위의 조직을 산성화시켜 암세포에 이로운 환경을 만드는 것으로 제시되고 있으며, 특히 암세포 주변으로 배출된 젖산은 암세포의 중요한 특성인 침윤, 이동에 필요한 세포외 기질 분해 유도 그리고 면역세포 활성화 억제 즉, NK 세포(natural killer cell)의 활성을 저해하고, 세포독성 T 림프구(cytotoxic T lymphocyte, CTL)의 증식 및 사이토카인 생성 그리고 활성을 억제한다. 또한 저산소 유도 인자(hypoxia-inducible factor, HIF)를 활성화하여 암전이와 혈관신생을 증진시켜 악성종양의 특성을 지니게 한다. 암대사의 과정 중 피루브산은 암과 정상세포의 대사를 구분하는 관문의 역할을 하기 때문에,

피루브산의 대사에 핵심적인 피루브산 탈수소효소(pyruvate dehydrogenase, PDH)의 기능 저하가 암대사에 중요한 생화학적 핵심으로 알려져 있다. 피루브산 탈수소효소 인산화효소(pyruvate dehydrogenase kinase, PDHK)는 피루브산 탈수소효소를 인산화시킴으로써 효소로서의 기능을 저하시키며, 결과적으로 피루브산이 TCA cycle로 유입되는 것을 방해하여 호기성 상태에서도 젖산 발효를 통하여 다량의 젖산을 생성하는데 핵심적 효소가 되고 있다. 따라서 피루브산 탈수소효소 인산화효소의 기능을 저해함으로써 암세포를 굶겨 죽이는 새로운 개념의 암치료제를 개발하려는 연구가 최근 활발히 진행되고 있다(Le et al. Clin Cancer Res. 2012).

- [5] 한편, 오토바페놀(otobaphenol)은 육두구(*Myristica fragrans* Houtt.)에서 처음 분리된 리그난의 일종으로(Phytother Res. 2006, 20(8):680), bulls blood (*Iryanthera juruensis* Warb.; Rev. Bol. Quim 2006, 23(1)), 장경남오미자(*Kadsura longipedunculata* FINET et GAGNEP)와 같은 식물에서 주요 성분으로 확인되었다(Chem. Pharm. Bull. 2008, 56(8):1143). 알려진 생리활성으로는 항산화활성(Antioxid Redox Signal. 2003, 5(3):281), 단백질 티로신 탈인산화효소 1B의 억제(Phytother Res. 2006, 20(8):680), 리슈만편모충에 대한 항기생충 작용(Nat Prod Commun. 2011, 6(2):231) 등이 보고되어 있으나, 암세포의 억제와 관련된 오토바페놀의 기능과 관련한 보고는 현재까지 없는 실정이다.

- [6] 본 발명자들은 효과적으로 암세포 증식을 막고 세포사멸을 촉진시킬 수 있는 방법에 대해 연구하던 중, 오토바페놀이 피루브산 탈수소효소 키나아제의 활성을 억제하고, 암세포 성장을 억제하는 효과가 우수함을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명의 목적은 오토바페놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [8] 또한, 본 발명의 목적은 오토바페놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [9] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 오토바페놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 오토바페놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [11] 본 발명에 따른 오토바페놀은 피루브산 탈수소효소 키나아제의 활성을 억제하고, 암세포 성장을 억제하는 효과가 우수하여, 암의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

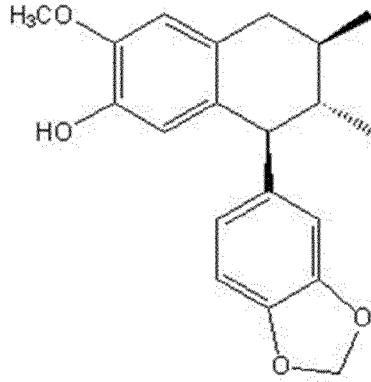
도면의 간단한 설명

- [12] 도 1은 본 발명의 오토바페놀 처리 후 피루브산 탈수소효소 A의 인산화 정도를 시험관 내에서 웨스턴 블랏을 통해 확인한 결과를 나타낸 도이다.
- [13] 도 2는 본 발명의 오토바페놀 처리 후 피루브산 탈수소효소 A의 인산화 정도를 세포 내에서 웨스턴 블랏을 통해 확인한 결과를 나타낸 도이다.
- [14] 도 3은 본 발명의 오토바페놀 처리 후 암세포 성장 억제 효과를 세포 생존률을 통해 확인한 결과를 나타낸 도이다.
- [15] 도 4a는 본 발명의 오토바페놀 및 육두구 추출물을 각각 처리한 후 유방암 세포주(MDA-MB231) 성장 억제 효과를 세포 생존률을 통해 확인 및 비교한 결과를 나타낸 도이다.
- [16] 도 4b는 본 발명의 오토바페놀 및 육두구 추출물을 각각 처리한 후 백혈병 세포주(K462) 성장 억제 효과를 세포 생존률을 통해 확인 및 비교한 결과를 나타낸 도이다.
- [17] 도 4c는 본 발명의 오토바페놀 및 육두구 추출물을 각각 처리한 후 대장암 세포주(HT29) 성장 억제 효과를 세포 생존률을 통해 확인 및 비교한 결과를 나타낸 도이다.
- [18] 도 4d는 본 발명의 오토바페놀 및 육두구 추출물을 각각 처리한 후 간암 세포주(Hep3B) 성장 억제 효과를 세포 생존률을 통해 확인 및 비교한 결과를 나타낸 도이다.
- [19] 도 4e는 본 발명의 오토바페놀 및 육두구 추출물을 각각 처리한 후 대장암 세포주(DLD1) 성장 억제 효과를 세포 생존률을 통해 확인 및 비교한 결과를 나타낸 도이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [20] 본 발명은 오토바페놀(otobaphenol)을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [21] 상기 조성물은 약학적 조성물 또는 식품 조성물을 포함한다.
- [22] 이하 본 발명에 관하여 상세히 설명한다.
- [23] 본 발명의 유효성분인 오토바페놀은 천연물로부터 통상적인 추출 및 분획 방법에 의해 얻을 수 있고, 또는 유기 합성적인 방법으로 합성하거나 시판되는 시약을 구입하여 사용할 수도 있다.
- [24] 본 발명의 오토바페놀은 리그난의 일종인 $C_{19}H_{20}O_4$ ((8R,8'R,7R)-4'-hydroxy-5'-methoxy-3,4-methylenedioxy-2',7,8,8'-neolignan)로, 하기 화학식 1로 표시될 수 있다.
- [25] [화학식 1]

[26]



- [27] 상기 오토바페놀은 피루브산 탈수소효소 키나아제의 기능을 저해함으로써 피루브산 탈수소효소 인산화를 억제한다.
- [28] 피루브산 탈수소효소 키나아제의 인산화는 암의 당대사에 중요한 역할을 하는 것으로, 암세포는 피루브산 탈수소효소 키나아제의 활성 향진에 의해 피루브산 탈수소효소의 활성이 억제되어 있다. 피루브산 탈수소효소 카이나제 1(PDHK-1)의 발현은 MYC나 HIF-1과 같은 전사조절 단백질에 의해 증가하고 피루브산 탈수소효소의 세린 잔기를 인산화시킴으로써 피루브산 탈수소효소 복합체가 비활성화된다고 알려져 있다.
- [29] 상기 암의 종류로는 뇌종양, 양성성상세포종, 악성성상세포종, 뇌하수체 선종, 뇌수막종, 뇌림프종, 췌장교종, 두개내인종, 상의세포종, 뇌간종양, 두경부 종양, 후두암, 구인두암, 비강암, 부비동암, 비인두암, 침샘암, 하인두암, 갑상선암, 흉부종양, 소세포성 폐암, 비소세포성 폐암, 흉선암, 종격동 종양, 식도암, 유방암, 남성유방암, 복부종양, 위암, 간암, 담낭암, 담도암, 췌장암, 소장암, 대장암, 항문암, 방광암, 신장암, 남성생식기종양, 음경암, 요도암, 전립선암, 여성생식기종양, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 자궁육종, 질암, 여성외부생식기암, 여성요도암, 피부암, 골수종, 백혈병 및 악성림프종 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [30] 본 발명의 조성물은 오토바페놀과 함께 항암 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [31] 본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 본 발명에서 사용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등을 들 수 있다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 제제화할 경우에는

보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물은 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 사용하여 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제 등도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등의 제형으로 제제화할 수 있고, 여기에는 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 더 나아가 당분야의 적절한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

- [32] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [33] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설을 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 상기 오토바페놀의 투여량은 0.1 내지 100 mg/m²/day이다. 이를 주 2회 1~4 주기로 투여하는 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.
- [34] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [35] 본 발명의 조성물은 암의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [36] 본 발명의 유효성분은 암의 예방 또는 개선을 목적으로 건강기능식품에 첨가될 수 있다. 본 발명에서, '건강기능식품'이란 질병의 예방 및 개선, 생체방어, 면역, 병후의 회복, 노화 억제 등 생체조절기능을 가지는 식품을 말하는 것으로, 장기적으로 복용하였을 때 인체에 무해하여야 한다.
- [37] 본 발명의 오토바페놀을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 오토바페놀을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 유효성분은 원료에 대하여 15중량 % 이하, 바람직하게는 10 중량 % 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는

상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[38] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[39] 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 0.01 내지 10 g, 바람직하게는 약 0.01 내지 0.1 g 이다.

[40] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[41]

[42] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실험예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[43]

[44] 실험예 1. 오토바페놀의 피루브산 탈수소효소 키나아제의 활성 억제 효과 확인

[45] 1-1. 시험관 내에서 확인

[46] 오토바페놀이 피루브산 탈수소효소 인산화효소의 활성을 저해하는지를 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[47] 먼저, 시험관 내에 완충용액에 용해된 피루브산 탈수소효소 인산화효소(PDHK)에 그 기질인 피루브산 탈수소효소 A(PDHA) 및 아데노신 트리포스페이트(ATP)를 첨가하고, 오토바페놀을 농도별로 처리하였으며, 30°C의 항온수조에서 30분간 반응시켰다. 그 후 피루브산 탈수소효소 키나아제의 기질인 피루브산 탈수소효소 A의 인산화 정도를 웨스턴 블랏을 통해 확인하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[48] 도 1에 나타낸 바와 같이, 오토바페놀은 약 300 μ M의 농도에서부터 효과적으로

피루브산 탈수소효소 인산화효소의 활성을 억제함을 확인하였다.

[49]

[50] **1-2. 세포 내에서 확인**

[51] 오토바페놀이 실제 세포 내에서도 피루브산 탈수소효소 인산화효소의 활성을 저해하는지를 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[52] 먼저, 인간 대장암 세포인 DLD1을 배양한 후 오토바페놀을 농도별로 처리하고 4시간을 배양하였다. 그 후 세포를 파쇄하여 단백질을 추출하고, 피루브산 탈수소효소 A의 인산화 정도를 웨스턴 블랏을 통해 확인하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[53] 도 2에 나타낸 바와 같이, 오토바페놀은 10 μ M의 농도에서부터 효과적으로 피루브산 탈수소효소 인산화효소의 활성을 억제함을 확인하였다.

[54]

[55] **실험예 2. 오토바페놀의 암세포에 대한 세포성장 억제 효과**

[56] 오토바페놀의 암세포에 대한 세포성장 억제 효과를 확인하기 위하여, 유방암 세포주(MDA-MB231), 백혈병 세포주(K562), 대장암 세포주(HT29), 간암 세포주(Hep3B), 대장암 세포주(DLD1), 폐암 세포주(H460), 전립선암 세포주(DU145), 신경아세포종 (SH-SY5Y) 및 위암 세포주(SNU-620)를 96 웰 플레이트에 접종하고, 오토바페놀을 농도별로 처리하였다. 그 후 세포 생존율을 측정하고 이를 분석하였으며, 그 결과를 도 3 및 표 1에 나타내었다.

[57] [표1]

세포 화학 약품	IC50(μ M)								
	MDA-MB231	k562	HT29	Hep3B	DLD1	H460	DU145	SH-SY5Y	SNU-620
오토바페놀	20	22	12	10	15	16	13	15	12

[58] 도 3 및 표 1에 나타낸 바와 같이, 유방암 세포주(MDA-MB231), 백혈병 세포주(K562), 대장암 세포주(HT29), 간암 세포주(Hep3B), 대장암 세포주(DLD1), 폐암 세포주(H460), 전립선암 세포주(DU145), 신경아세포종 (SH-SY5Y) 및 위암 세포주(SNU-620) 등 다양한 암세포의 성장을 10 내지 30 μ M의 농도에서 효과적으로 억제함을 확인하였다.

[59]

[60] **실험예 3. 오토바페놀의 암세포에 대한 세포성장 억제 효과 비교**

[61] 상기 실험예 2에서 확인한, 오토바페놀의 항암 효과를 유사 화학 구조의 활성 물질과 비교하기 위하여, 유방암 세포주(MDA-MB231), 백혈병 세포주(K562), 대장암 세포주(HT29), 간암 세포주(Hep3B) 및 대장암 세포주(DLD1)를 96 웰 플레이트에 접종하고, 오토바페놀을 농도별로 처리하였다. 대조군으로는 오토바페놀과 유사한 화학 구조의 활성물질을 포함하며 항암 효과가 공지된 옥두구 추출물을 처리하였다. 그 후 세포 생존율을 측정하고 이를 대조군과

비교하였으며, 그 결과를 도 4a 내지 4e에 나타내었다.

- [62] 도 4a 내지 4e에 나타낸 바와 같이, 유방암 세포주(도 4a, MDA-MB231), 백혈병 세포주(도 4b, K562), 대장암 세포주(도 4c, HT29), 간암 세포주(도 4d, Hep3B) 및 대장암 세포주(도 4e, DLD1)에서 모두 오토바페놀 처리시 육두구 추출물에 비해 세포 생존률이 현저히 낮으며 표 2와 같이 IC50 값이 낮게 나타나, 오토바페놀이 유방암 세포주(MDA-MB231), 백혈병 세포주(K562), 대장암 세포주(HT29), 간암 세포주(Hep3B) 및 대장암 세포주(DLD1)의 성장을 효과적으로 억제하는 등 유사한 화학 물질을 포함하는 육두구 추출물에 비해 항암 효과가 현저하게 우수함을 확인하였다.

- [63] [표2]

세 포 화 학 약 품	IC50($\mu\text{g}/\text{mL}$)				
	MDA-MB231	K562	HT29	Hep3B	DLD1
오토바페놀	20	22	12	10	15

- [64]

- [65] 이상의 실험 결과를 통하여, 본 발명에 따른 오토바페놀이 피루브산 탈수소효소 키나아제의 활성을 억제하고, 암세포 성장을 억제하는 효과가 우수함을 확인하였다.

- [66]

- [67] 이하 본 발명의 상기 조성물을 포함하는 약학적 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

- [68]

- [69] 제제예 1. 약학적 제제의 제조

- [70] 1-1. 정제의 제조

- [71] 오토바페놀 3.5mg

- [72] 아로디핀 4mg

- [73] 옥수수전분 100mg

- [74] 유 당 100mg

- [75] 스테아르산 마그네슘 2mg

- [76] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조하였다.

- [77]

- [78] 1-2. 캡슐제의 제조

- [79] 오토바페놀 3.5mg

- [80] 아로디핀 4mg

- [81] 옥수수전분 50mg

- [82] 유 당 50mg
- [83] 스테아르산 마그네슘 2mg
- [84] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[85]

[86] **1-3. 주사제의 제조**

- [87] 오토바페놀 3.5mg
- [88] 암로디핀 4mg
- [89] 소듐 메타비설파이트 3.0mg
- [90] 메틸파라벤 0.8mg
- [91] 프로필파라벤 0.1mg
- [92] 주사용 멸균 증류수 적량
- [93] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분을 혼합하여 주사제를 제조하였다.

[94]

[95] **제제예 2. 식품 제제의 제조**

[96] **2-1. 건강식품의 제조**

- [97] 오토바페놀 100 mg
- [98] 비타민 혼합물 적량
- [99] 비타민 A 아세테이트 70 g
- [100] 비타민 E 1.0 mg
- [101] 비타민 B1 0.13 mg
- [102] 비타민 B2 0.15 mg
- [103] 비타민 B6 0.5 mg
- [104] 비타민 B12 0.2 g
- [105] 비타민 C 10 mg
- [106] 비오틴 10 g
- [107] 니코틴산아미드 1.7 mg
- [108] 엽산 50 g
- [109] 판토텐산 칼슘 0.5 mg
- [110] 무기질 혼합물 적량
- [111] 황산제1철 1.75 mg
- [112] 산화아연 0.82 mg
- [113] 탄산마그네슘 25.3 mg
- [114] 제1인산칼륨 15 mg
- [115] 제2인산칼슘 55 mg
- [116] 구연산칼륨 90 mg
- [117] 탄산칼슘 100 mg

[118] 염화마그네슘 24.8 mg

[119]

[120] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[121]

[122] **2-2. 건강음료의 제조**

[123] 오토바페놀 100 mg

[124] 비타민 C 15 g

[125] 비타민 E(분말) 100 g

[126] 젖산철 19.75 g

[127] 산화아연 3.5 g

[128] 니코틴산아미드 3.5 g

[129] 비타민 A 0.2 g

[130] 비타민 B1 0.25 g

[131] 비타민 B2 0.3g

[132] 물 정량

[133]

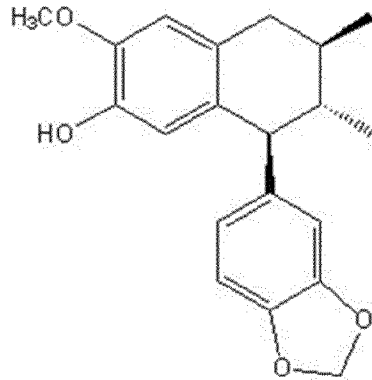
[134] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85°C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

[135] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

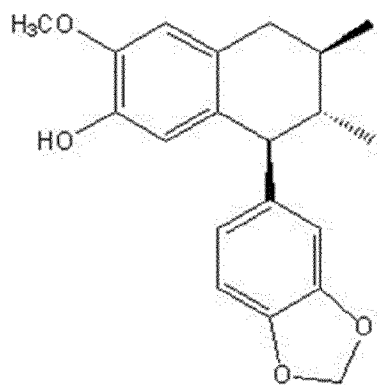
청구범위

- [청구항 1] 오토바페놀(otobaphenol)을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 오토바페놀은 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

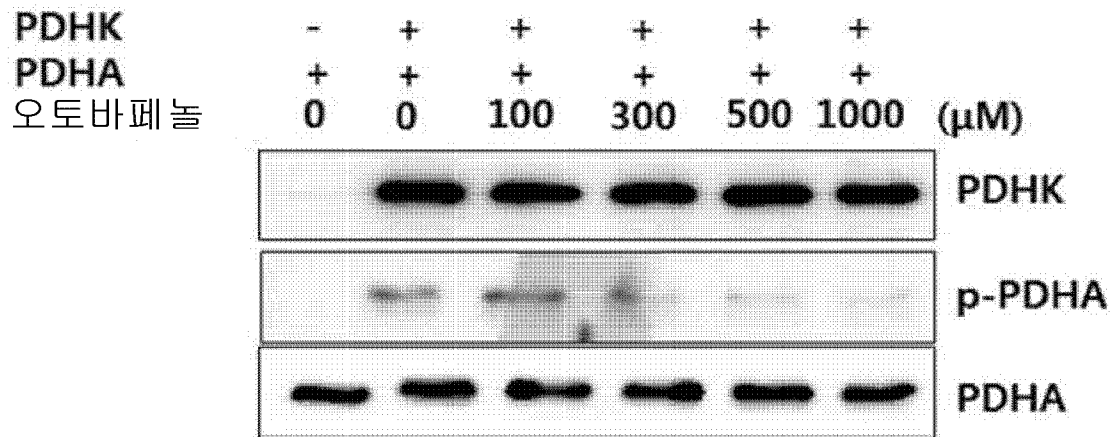
[화학식 1]



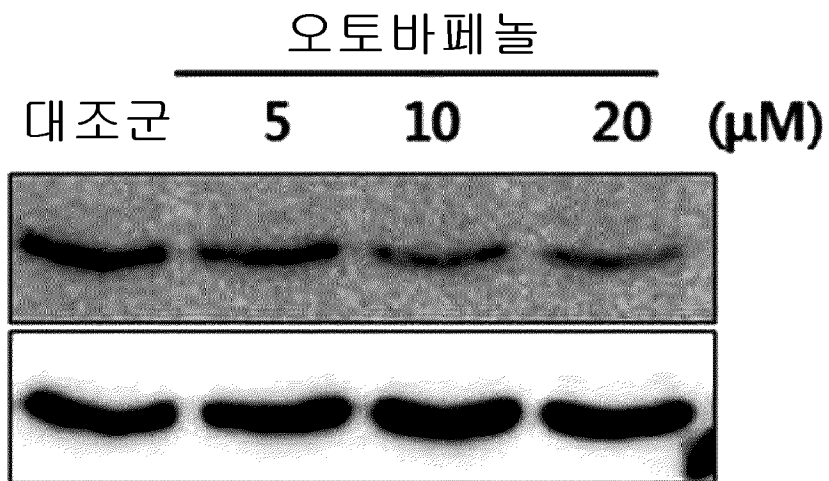
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 암은 뇌종양, 양성성상세포종, 악성성상세포종, 뇌하수체 선종, 뇌수막종, 뇌림프종, 췌장교종, 두개내인종, 상의세포종, 뇌간종양, 두경부 종양, 후두암, 구인두암, 비강암, 부비동암, 비인두암, 침샘암, 하인두암, 갑상선암, 흉부종양, 소세포성 폐암, 비소세포성 폐암, 흉선암, 종격동 종양, 식도암, 유방암, 남성유방암, 복부종양, 위암, 간암, 담낭암, 담도암, 췌장암, 소장암, 대장암, 항문암, 방광암, 신장암, 남성생식기종양, 음경암, 요도암, 전립선암, 여성생식기종양, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 자궁육종, 질암, 여성외부생식기암, 여성요도암, 피부암, 골수종, 백혈병 및 악성림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서 상기 오토바페놀은 피루브산 탈수소효소 키나아제의 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 5] 오토바페놀을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 오토바페놀은 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [화학식 1]



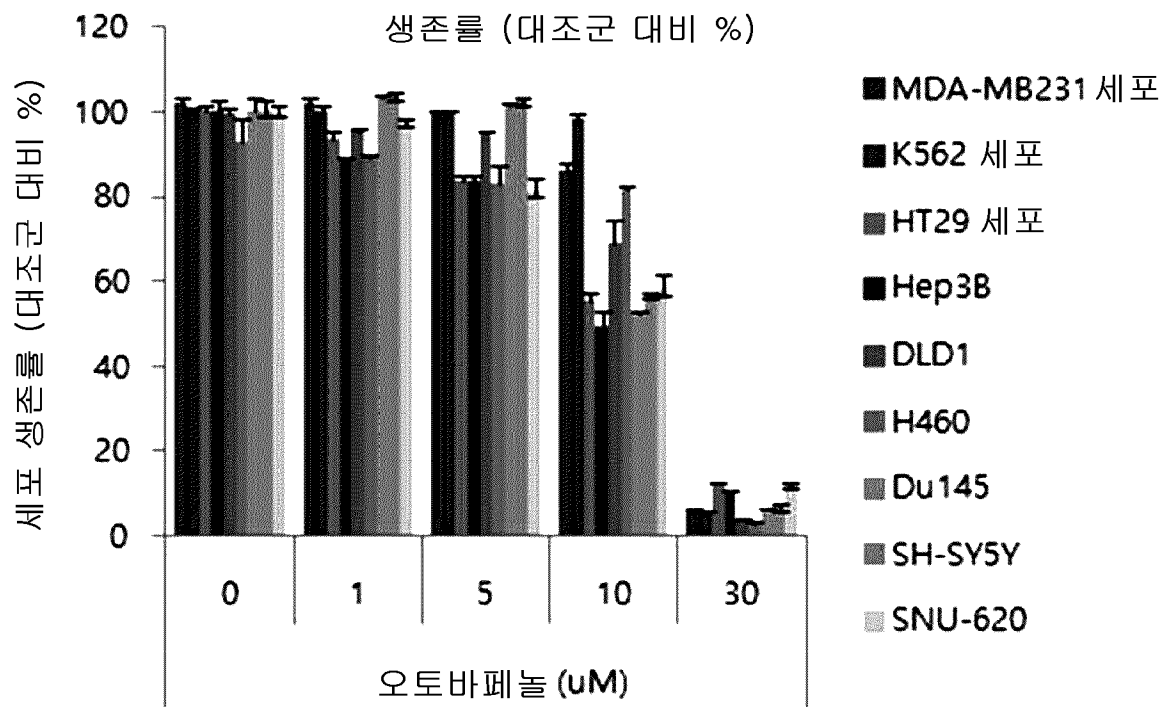
[도1]



[도2]

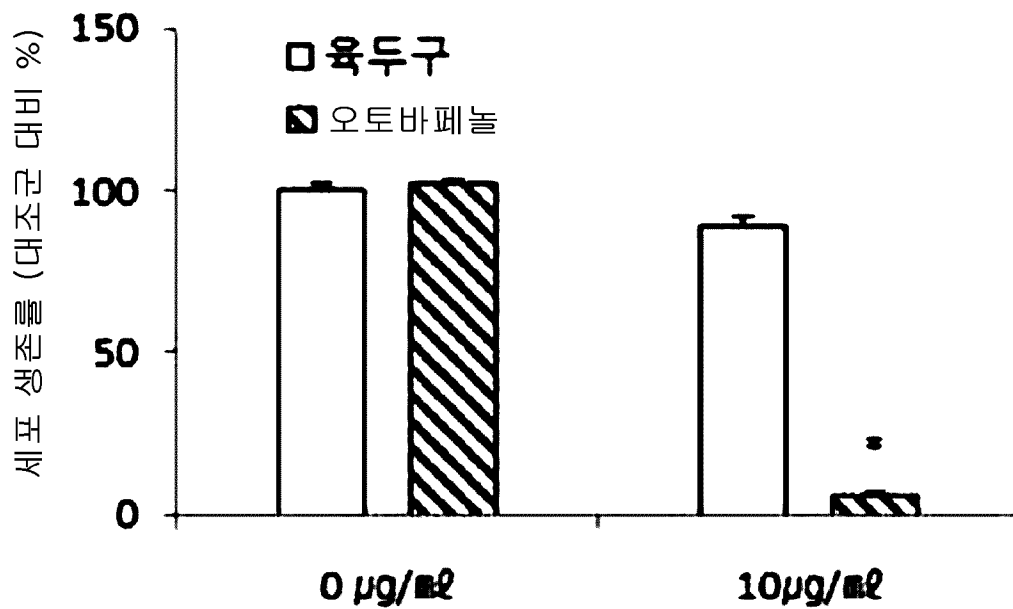


[도3]

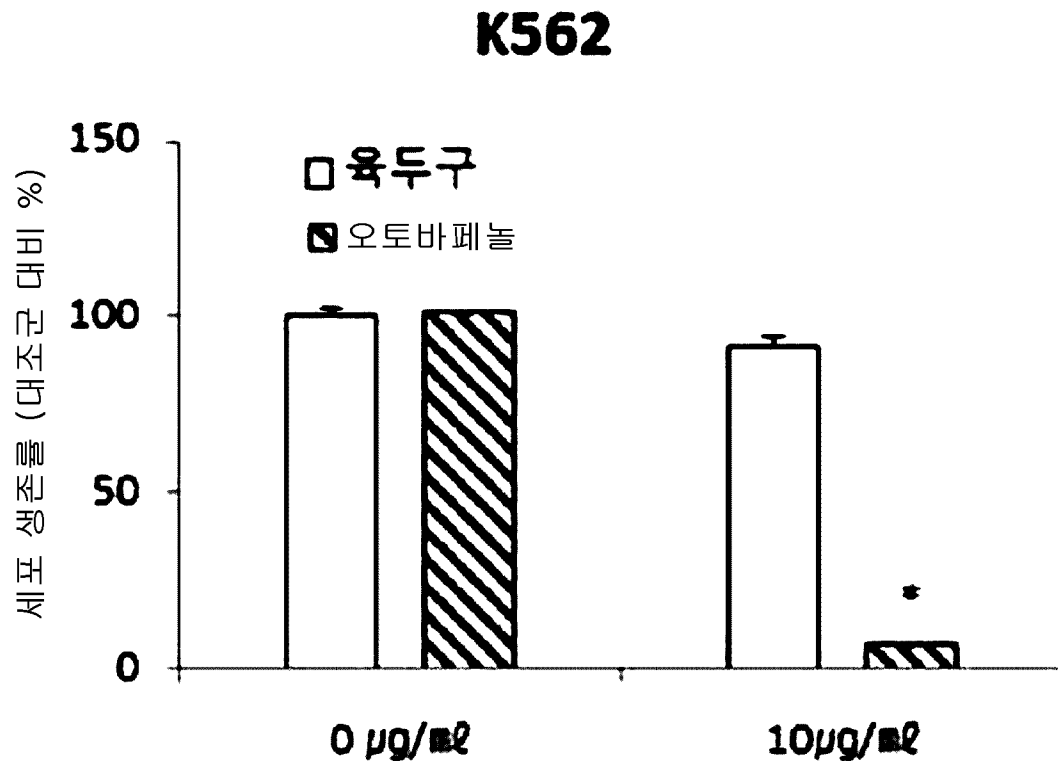


[도4a]

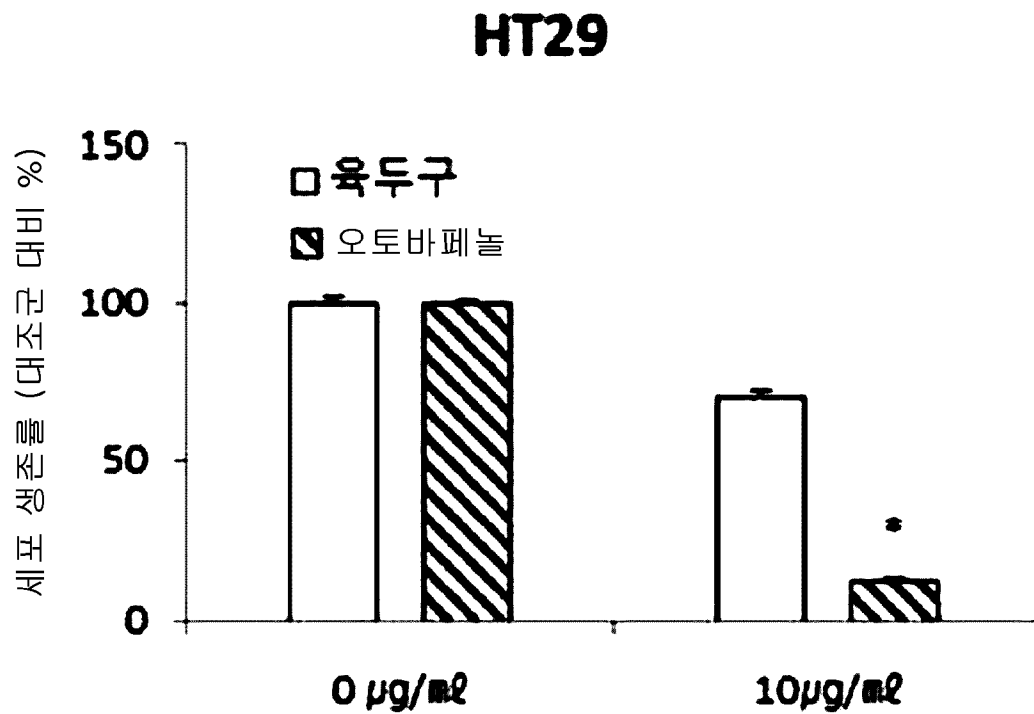
MDA-MB231



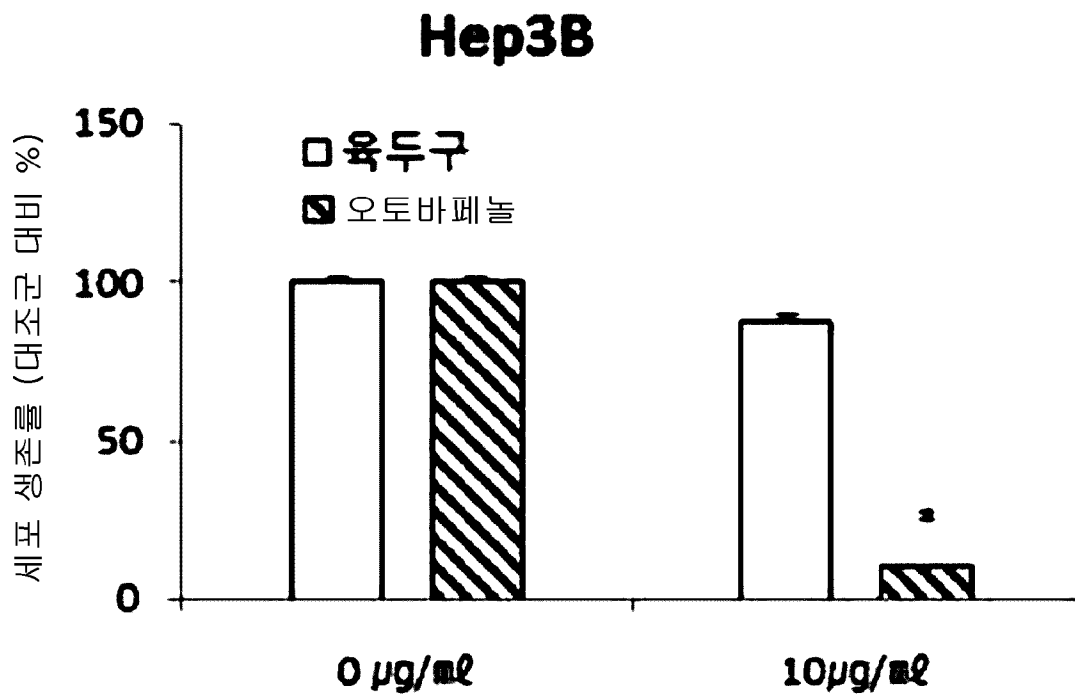
[도4b]



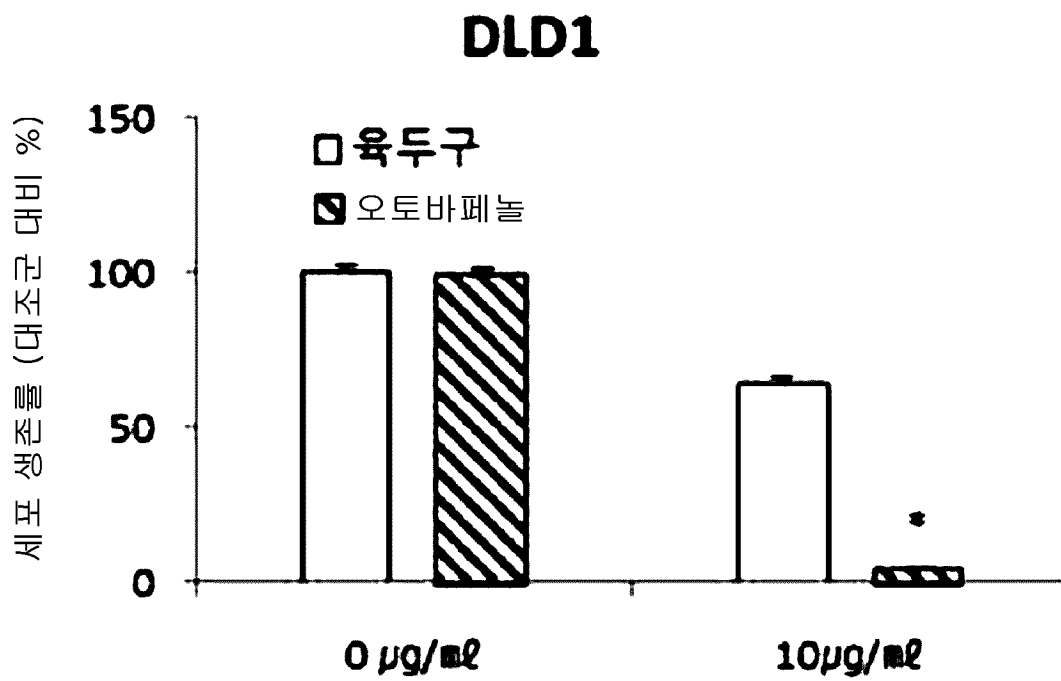
[도4c]



[도4d]



[도4e]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/008396

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/36(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/36; A23L 33/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: otobaphenol, anticancer, pyruvate dehydrogenase kinase

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LEMESHKO, V. V. et al., The Natural Antioxidant Otobaphenol Delays the Permeability Transition of Mitochondria and Induces Their Aggregation., Antioxidants and Redox Signaling, 2003, vol. 5, no. 3, pages 281-290 See abstract.	1-6
A	GUO, Y. et al., Advances in Studies on Chemical Constituents in Kadsura Longipedunculata and Their Pharmacological Activities., Modern Chinese Medicine, 2015, no. 12, pages 1350-1358 See abstract.	1-6
A	WU, N. et al., The Blood-brain Barrier Permeability of Lignans and Malabaricones from the Seeds of Myristica Fragrans in the MDCK-pHaMDR Cell Monolayer Model., Molecules, 2016 (Publication date 22 January 2016), vol. 21, no. 134, internal pages 1-10 See the entire document.	1-6
A	QIANG, F. et al., Enhanced Cellular Uptake of Paclitaxel in the Presence of Macelignan, a Phytoestrogen and Its Implication in Cancer Chemotherapy., Planta Medica, 2010, vol. 76, no. 12, page 285 See abstract.	1-6



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

27 OCTOBER 2017 (27.10.2017)

Date of mailing of the international search report

27 OCTOBER 2017 (27.10.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/008396

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LI, W.-Y. et al., Correlation between Antioxidative Power and Anticancer Activity in Herbs from Traditional Chinese Medicine Formulae with Anticancer Therapeutic Effect, Pharmaceutical Biology, 2007, vol. 45, no. 7, pages 541-546 See the entire document.	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/008396

Patent document
cited in search report

Publication
date

Patent family
member

Publication
date

NONE

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/36(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/36; A23L 33/10

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 오토바페놀, 향암, 피루브산 탈수소효소 키나아제

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	LEMESHKO, V. V. 등, The natural antioxidant otobaphenol delays the permeability transition of mitochondria and induces their aggregation. Antioxidants and Redox Signaling, 2003, 5권, 3호, 페이지 281-290 초록 참조.	1-6
A	GUO, Y. 등, Advances in studies on chemical constituents in Kadsura longipedunculata and their pharmacological activities. Modern Chinese Medicine, 2015, 12호, 페이지 1350-1358 초록 참조.	1-6
A	WU, N. 등, The blood-brain barrier permeability of lignans and malabaricones from the seeds of Myristica fragrans in the MDCK-pHaMDR cell monolayer model. Molecules, 2016 (공개일 2016.01.22), 21권, 134호, 내부페이지 1-10 전체 문헌 참조.	1-6
A	QIANG, F. 등, Enhanced cellular uptake of paclitaxel in the presence of macelignan, a phytoestrogen and its implication in cancer chemotherapy. Planta Medica, 2010, 76권, 12호, 페이지 285 초록 참조.	1-6

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 10월 27일 (27.10.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 10월 27일 (27.10.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이기철

전화번호 +82-42-481-3353



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	LI, W.-Y. 등, Correlation between antioxidative power and anticancer activity in herbs from traditional Chinese medicine formulae with anticancer therapeutic effect. Pharmaceutical Biology, 2007, 45권, 7호, 페이지 541-546 전체 문헌 참조.	1-6

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

없음