



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0069083
(43) 공개일자 2020년06월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4709 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61P 13/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4709 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0156227
(22) 출원일자 2018년12월06일
심사청구일자 없음
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
최진우
서울특별시 동작구 사당로2가길 102, 101동 302호(사당동, 사당자이아파트)
변미란
서울특별시 성북구 동소문로 89, 1203호(보미리근빌)
이대훈
서울특별시 도봉구 시루봉로 166, 102동 1002호(방학동, 동양크레오아파트)
(74) 대리인
위병갑

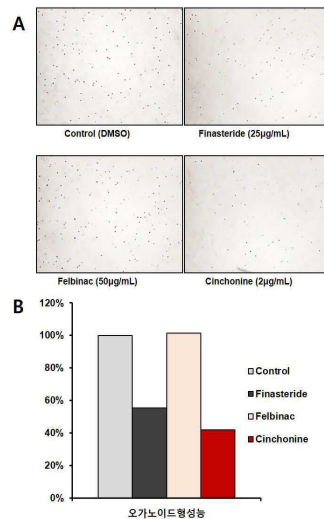
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 신코닌을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 신코닌을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 치료용 조성물과 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 신코닌(Cinchonine)을 유효성분을 환자 조직을 이용한 인간 전립선비대증 오가노이드에 처리 시 종래 전립선비대증 약물의 처리 농도와 비교하여 현저히 낮은 농도로도 효과적으로 오가노이드 형성능을 억제하는 바, 전립선비대증의 예방 및 치료 효과가 우수하여, 관련 산업에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61P 13/08 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20172027

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 국립암센터

연구사업명 암정복추진연구개발사업

연구과제명 신장암 순환종양세포의 생물/유전학적 특성분석(2/5)

기 여 율 1/2

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2017.04.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20181021

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 연구성과실용화진흥원

연구사업명 연구성과사업화지원사업

연구과제명 [연구성과사업화지원사업1/2]노인성 질환 모사 오가노이드 기반 리포지셔닝 약물 적용 기

술

기 여 율 1/2

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2018.04.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

신코닌(Cinchonine) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 전립선비대증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 전립선비대 오가노이드 형성능을 억제하는 것인, 조성물.

청구항 3

신코닌(Cinchonine)을 유효성분으로 포함하는, 전립선 비대증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신코닌을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 치료용 조성물과 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전립선비대증(benign prostatic hyperplasia, BPH)은 전립선이 비대해져 방광 하부의 요로를 막아 소변의 흐름이 감소된 상태로 정의되었으나, 최근에는 남성에서 빈뇨(8회 이상/일), 야간뇨, 긴박뇨(강하고 갑작스런 요의), 절박뇨(소변을 참기 어려움), 지연뇨(소변의 배출이 지연됨), 단절뇨(소변의 흐름이 끊김), 배뇨시 힘을 주어야 하는 현상 등의 방광 배출 장애를 나타내는 증상을 통칭한 하부 요로증상의 호소로 정의되고 있다. 전립선비대증(BPH)은 남성에게서 나타나는 가장 흔한 만성 질환 중 하나로, 나이가 들어감에 따라 그 발병율이 높아지며, 연구대상 및 지역 등에 따라 편차는 있지만 50세 이상의 남성 중 거의 50%가 증상을 나타내는 것으로 보고된 바 있다(McVary KT BPH: epidemiology and comorbidities Am J Manag Care 2006;12(5 Suppl):S122-128).

[0003] 전립선비대증은 전립선의 기질세포(stromal cell) 및 상피세포의 증식과 관련이 있으며, 이에 따라 전립선이 확장되는 증상을 나타낸다(Roehrborn CG Pathology of benign prostatic hyperplasia Int J Impot Res 2008;20 Suppl 3:S11-18) 전립선비대증의 생물학적 기작에 대하여 아직까지 많은 부분이 밝혀져 있지는 않지만, 전립선비대증은 이질적(heterogenous) 질환으로 알려져 있으며, 그 환자들의 조직학적 다양성은 개인맞춤형 치료의 가능성을 시사한다(Nicholson TM, et al Sex steroid receptor expression and localization in benign prostatic hyperplasia varies with tissue compartment Differentiation 2013;85(4-5):140-149).

[0004] 전립선비대증은 조직학적 진단에 의해 알 수 있지만, 하부 요로(lower urinary tract) 증상과 관련이 되면 만성적이 된다. 전립선이 심각하게 확장된 남성의 경우에는 요폐, 잔뇨감, 약뇨 등의 삶의 질을 낮추는 여러 증상들이 나타나며, 전립선비대증을 방치할 경우 더욱 더 심각하게 진전될 수 있다. 또한, 잔뇨로 인해 박테리아가 머물 수 있으며, 요로의 감염 위험이 증가한다. 이러한 전립선비대증 환자들은 수술 또는 약물 치료가 필요하다. 경요도적 절제술(transurethral resection)은 전립선비대증 환자에 대한 가장 흔한 수술방법이나, 출혈, 요도협착, 요실금 등의 부작용이 보고된 바 있다.

[0005] 전립선비대증의 약물 치료제는 크게 알파차단제와 안드로겐억제제(5알파-환원효소 억제제)로 분류된다. 알파차단제는 전립선요도의 압력과 긴장을 낮추어주는 약물로서 시중에서 판매되는 알파차단제로는 테라조신(terazosin)독사조신(doxazosin), 탐스로신(tamsulosin), 알푸조신(alfuzosin) 등이 있다. 그러나 알파차단제는 전립선의 비대된 현상을 줄여주는 효과는 없으므로 일시적인 치료방법일 뿐이며, 어지럼증, 무기력증, 두통, 시야 장애 등의 부작용이 보고된 바 있다. 안드로겐억제제는 전립선의 비대 과정에서 핵심적인 역할을 수행하는 5알파-환원효소를 억제하여 전립선의 비대를 막아주는 약물이다. 5알파-환원효소 억제제로서 시중에는 피나스테리드(finasteride)와 두타스테리드(dutasteride) 등이 판매되고 있다. 그러나 이들 약물은 복용 후 효과가 나타

날 때까지 시간이 오래 걸리며, 성기능 관련 부작용이 보고된 바 있다. 이와 같이 현재까지 시판되거나 개발 중인 약물들은 대부분 여러 부작용을 나타내고 있으므로, 새로운 전립선비대증 치료제를 개발할 필요가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 신코닌(Cinchonine)을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

[0007] 또한 본 발명의 목적은 신코닌을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공할 수 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적의 달성을 위해, 본 발명은 신코닌(Cinchonine)을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0009] 또한 본 발명은 신코닌을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명의 신코닌(Cinchonine)을 유효성분을 환자 조직을 이용한 인간 전립선비대증 오가노이드에 처리 시 종래 전립선비대증 약물의 처리 농도와 비교하여 현저히 낮은 농도로도 효과적으로 오가노이드 형성능을 억제하는 바, 전립선비대증의 예방 및 치료 효과가 우수하여, 관련 산업에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 사람 전립선비대환자의 오가노이드 형성을 나타낸 도이다.

도 2는 대조군, 페나스테리드(Finasteride), 펠비낙(Felbinac) 및 신코닌(Cinchonine)의 각 농도 처리에 따른 오가노이드 형성능을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

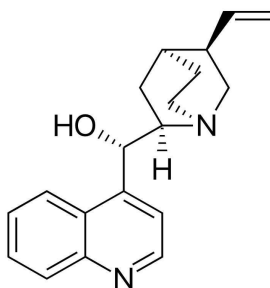
[0012] 본 발명은 신코닌(Cinchonine)을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명은 신코닌(Cinchonine) 또는 펠비낙(Felbinac)을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0014] 본 명세서에서 상기 "예방"이란 상기 약학적 조성물의 투여로 전립선비대증 질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 또한, 상기 "치료"란 상기 약학적 조성물의 투여로 전립선비대증 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0015] 상기 신코닌(Cinchonine)은 하기의 화학식 1로 표시될 수 있고, 상기 신코닌은 유도체를 포함할 수 있으며, 여기에 약학적으로 허용 가능한 염을 더 포함할 수 있다.

[0016] [화학식 1]

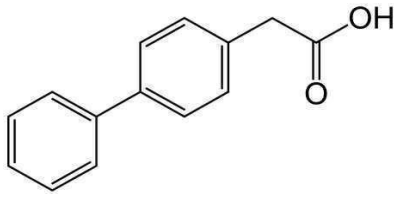


[0017]

[0018] 상기 펠비낙은 하기의 화학식 2로 표시될 수 있고, 상기 펠비낙은 유도체를 포함할 수 있으며, 여기에 약학적으로

로 허용 가능한 염을 더 포함할 수 있다.

[화학적식 2]



상기 신코닌은 꼭두서니과(rubiaceae)에 속하는 여러 식물체에서 생합성되는 알칼로이드 물질로서, 주로 향말라리아제로 이용되었다.

상기 펠비낙은 아세트산 계열의 비스테로이드성 항염제로 이용되는 물질로 이용되었다.

본 발명의 일 실시예에 있어서, Connectivity map 및 Lincscldoud 분석을 통하여 전립선비대증의 증상 개선 예상 약물로 신코닌 또는 펠비낙을 선정하였다. 이를 전립선비대 환자의 질병모델을 반영한 인간 전립선비대 오가노이드에 각각 처리한 결과, 신코닌 또는 펠비낙은 인간 전립선비대 오가노이드 형성능을 억제하였고, 특히, 신코닌은 종래 전립선비대증 약물인 피나스테리드(Finasteride)와 비교하여 현저히 낮은 처리농도에도 오가노이드 형성능을 억제함을 확인하였다.

상기 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 술폰산류와 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, 하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만텔레이트를 포함한다.

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.

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.

제제화할 경우에는 통상 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제에는 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 과립인 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 기제로

는 위텡솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

- [0028] 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.
- [0029] 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 조성물에 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.
- [0031] 또한 본 발명은 신코닌을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0032] 또한 본 발명은 신코닌 또는 펠비낙을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0033] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0034] 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, 글리시리히진 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.
- [0035] 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.
- [0036] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 정제, 캡셀, 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 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 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 압축 성형하거나, 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 전분, 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.

[0038] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0040] <실시예 1> 전립선비대 오가노이드의 확립

[0041] 서울대학교병원 비뇨기과로부터 제공받은 전립선비대 환자조직을 인산완충생리식염수(Phosphate Buffered Saline; PBS, pH 7.2)로 충분하게 세척한 후, 5mL의 DMEM/F-12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12, Thermo Fisher Scientific, USA) 배양 용액에 콜라게네이즈 (Collagenase Type II, 5 mg/mL, Thermo Fisher Scientific, USA)를 희석하여 37℃에서 16시간 배양하였다. 배양 후, 세포 스트레이너 (40 μm cell strainer, Thermo Fisher Scientific, USA)로 여과하고 원심분리기 (1000rpm, 3분)를 통해 세포를 수집하였다. 수집된 세포를 PBS로 3회 세척하여, 도 1과 같이 오가노이드 형성을 위한 사람 전립선비대 세포를 준비하였다.

[0042] 준비된 세포를 200 μL의 매트리지젤 (Matrigel matrix, BD Biosciences, USA)에 희석하여 세포배양판(48 well plate, SPL Life Sciences, Korea)에 25 μL씩 분주하여 37℃ 세포배양기에 넣는다. 20분 후, 매트리지젤이 굳으면 오가노이드 배양용액을 첨가하여 세포배양기에서 배양한다. 배양용액은 1주일에 2번씩 바꾸어주었다. 오가노이드의 배양 용액 조성은 다음과 같다.

표 1

[0043]	B-27 (B27 supplement 50X, Life Technologies, USA)	1X
	N-acetyl-L-cysteine (Sigma-Aldrich, USA)	1.25 mM
	human EGF (PeproTech, USA)	5 ng/mL
	human Noggin (PeproTech, USA)	100 ng/mL
	human R-spondin 1 (PeproTech, USA)	500 ng/mL
	A83-01 (Tocris Bioscience, England)	500 nM
	human FGF10 (PeproTech, USA)	10 ng/mL
	human FGF2 (PeproTech, USA)	5 ng/mL
	Prostaglandin E2 (Tocris Bioscience, England)	1 μM
	Nicotinamide (Sigma-Aldrich, USA)	10 mM
	SB202190 (Sigma-Aldrich, USA)	10 μM
	DHT (Dihydrotestosterone, Sigma-Aldrich, USA)	1 nM
	Y-27632 (Sigma-Aldrich, USA)	10 μM
	DMEM/F-12 (Thermo Fisher Scientific, USA)	

[0045] <실시예 2> 사람 전립선비대 오가노이드의 계대

[0046] 세포배양판에 자라고 있는 오가노이드는 배양액을 제거하고 PBS로 1회 세척한 후, 셀 리커버리솔루션 (Cell Recovery Solution, Corning, USA) 200 μL를 첨가하여 4℃에서 한시간동안 배양하여 매트리지젤을 녹여내었다. 녹아나온 매트리지젤 용액을 15mL 코니컬 튜브(SPL Life Sciences, Korea)에 담아 원심분리기를 이용하여 오가노이드를 분리하였다. 분리된 오가노이드에 트립신(Trypsin-EDTA, 0.025%, Thermo Fisher Scientific, USA)을 1분간 처리하여 하나의 세포(single cell)로 분리한 후, 원심분리기로 세포를 모으고 매트리지젤을 이용하여 분주하여 오가노이드를 계대배양하였다.

[0048] <실시예 3> 사람 전립선비대 오가노이드 형성능 비교

[0049] 대조군으로 현재 전립선비대증의 치료제로 사용되고 있는 피나스테리드(Finasteride)를 사용하였다. 대조군으로 사용된 피나스테리드(Finasteride) 25 μg/mL의 농도에서 사람 전립선비대 오가노이드의 형성능이 저하되는 것을 관찰하여 형성된 오가노이드가 전립선비대환자의 질병모델을 반영할 수 있음을 확인하였다.

[0050] 또한 Connectivity map 및 Lincsccloud 분석을 통해 전립선비대 환자의 증상을 개선시킬 것으로 예상되는 약물

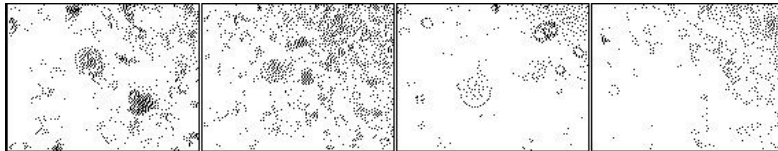
(펠비낙(Felbinac)-항염증제, 신코닌(Cinchonine)-항말라리아제)을 선정하였고, 상기 대조군의 피나스테리드(Finasteride) 25 μ g/mL, 펠비낙(Felbinac) 50 μ g/mL, 신코닌(Cinchonine) 2 μ g/mL의 농도로 처리하였다.

[0051]

도 2에 나타난 바와 같이, 이를 사람 전립선비대 세포 배양액에 처리하여 세포에서 오가노이드의 형성능을 확인한 결과 항말라리아제의 효과가 있는 Cinchonine이 2 μ g/mL의 낮은 농도에서도 전립선비대 오가노이드의 형성능을 저해하는 것을 확인하였다.

도면

도면1



도면2

