



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0101378
(43) 공개일자 2024년07월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/575 (2006.01) A23L 33/11 (2016.01)
A61K 36/21 (2006.01) A61P 21/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/575 (2013.01)
A23L 33/11 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2023-0176939
(22) 출원일자 2023년12월07일
심사청구일자 2023년12월07일
(30) 우선권주장
1020220183414 2022년12월23일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
(72) 발명자
김현수
서울특별시 노원구 덕릉로86길 29-25(중계동)
심재호
서울특별시 서대문구 증가로20길 68-5, 402호(북
가좌동)
(74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 8 항

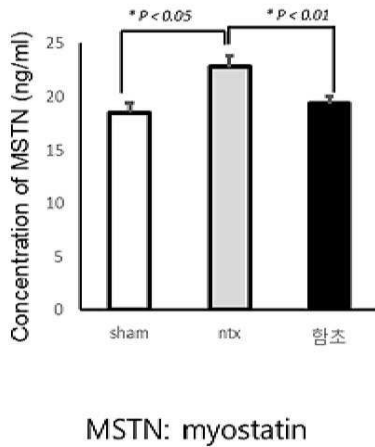
(54) 발명의 명칭 스티그마스테롤을 유효성분으로 포함하는 근육질환 개선, 예방, 또는 치료용 조성물

(57) 요약

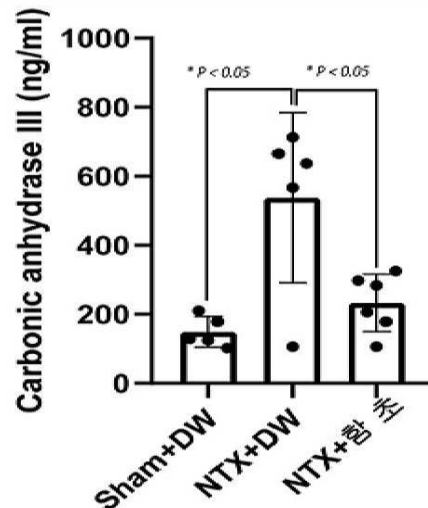
본 발명은 스티그마스테롤(stigmasterol)을 유효성분으로 포함하는 근육 질환의 개선, 예방 또는 치료용 조성물 등에 관한 것으로서, 스티그마스테롤은 골격근의 기능을 향상시키고 근 손실을 유도하는 단백질의 발현을 감소시키는바, 근육 질환의 개선, 예방, 및 치료 효과를 갖는다. 또한, 본 발명의 스티그마스테롤은 오랫동안 높은 안전성이 검증된 함초 유래의 것으로서 사용에 따른 부작용이 매우 적거나 없다는 장점을 가진다. 이에, 본 발명은 근육 질환의 치료 등의 용도 외에도 근 손실을 억제하고 근량을 증가시키며 근육의 기능을 향상시키기 위한 의약품, 의약부외용, 향장조제용, 신체 활력 증진, 기능성 바이오 소재용 및 기능성 식품소재용 등 다양한 방면으로 이용될 것으로 기대된다.

대표도 - 도5

A



B



(52) CPC특허분류

A61K 36/21 (2013.01)

A61P 21/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/316 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525013935
과제번호	20220027
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	해양바이오산업소재국산화기술개발
연구과제명	알긴산 대량생산을 위한 공정표준화 기술 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	경상국립대학교 산학협력단
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525013894
과제번호	202200272
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	해양치유자원효능검증및활용기술개발
연구과제명	해양치유자원의 효능,표준화 기술개발 및 해양치유자원의 생애주기 안전관리방안
기 여 율	1/2
과제수행기관명	한국해양과학기술원
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

스티그마스테롤(stigmasterol)을 유효성분으로 포함하는, 근육 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 스티그마스테롤은 함초 유래인 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 근육 질환은 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증, 암 악액질(cancer cachexia), 경직성 척추 증후군(rigid spinesyndrome), 근위축성 측삭경화증(루게릭병, amyotrophic lateral sclerosis), 경직성 척추 증후군(rigid spinesyndrome), 샤르코-마리-투스병(Charcot-Marie-Tooth disease) 및 근육 감소증(sarcopenia)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 질환인 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현을 억제하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 조성물은 FOXO3의 발현을 억제하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

스티그마스테롤(stigmasterol)을 유효성분으로 포함하는, 근육 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 스티그마스테롤은 함초 유래인 것인, 식품 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 근육 질환은 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증, 암 악액질(cancer cachexia), 경직성 척추 증후군(rigid spinesyndrome), 근위축성 측삭경화증(루게릭병, amyotrophic lateral sclerosis), 경직성 척추 증후군(rigid spinesyndrome), 샤르코-마리-투스병(Charcot-Marie-Tooth disease) 및 근육 감소증(sarcopenia)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 질환인 것인, 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 스티그마스테롤(stigmasterol)을 유효성분으로 포함하는 근육 질환의 개선, 예방 또는 치료용 조성물

[0001]

등에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 근 감소증은 노화와 연관되어 근육량의 감소에 따른 근력의 저하를 의미한다. 여기에서 “근육(muscle)”이란 골격근(skeletal muscle)을 의미하고 평활근(smooth muscle)과는 관계가 없다. 즉, 근감소증은 주로 사지에 분포한 골격근의 감소(loss of skeletal muscle mass)를 의미하며, 악성종양의 말기 등에서 나타나는 현저한 근육 소실 상태인 악액질(cachexia), 독감 등 급성질환으로 인한 근육소모(muscle wasting), 혹은 근육자체의 질병(primary muscle disease)과는 구별된다.
- [0004] 일반적으로 암 환자에서 지속적인 암 환자에서 지속적인 골격근육의 양의 감소, 일반적인 영양공급에 의해 회복되지 않는 상태, 점진적 기능장애를 동반하는 다인성 증후군을 암 악액질 및 식욕부진이라고 한다.
- [0005] 암 악액질(cancer cachexia)은 노화에 의한 근육 감소증이나 일시적인 공복에서 보이는 체중 감소가 나타나기는 하지만 다양한 사이토카인들이 일으키는 염증반응이나 탄수화물, 단백질 그리고 지방 대사 변화로 이화반응이 증가하여 근육 소실이 초래되고 정상적인 음식 섭취에도 불구하고 체중 감소가 나타나는 것이 특징이다. 이런 변화는 항암화학요법이나 방사선치료 또는 수술 등의 치료로 인한 영양섭취 제한 등이 동반되어 치료에 대한 반응율도 낮고 효율적인 치료의 진행도 어려워서 결과적으로 환자의 생존율이나 삶의 질을 저하시키는 주요한 원인이 될 수 있다.
- [0006] 암 악액질에 의한 근 위축은 일반적인 근 위축(muscle atrophy)와 같이 근육세포와 근조직의 크기 및 질량적인 손실에 의한 근력의 약화와 근골격계 퇴화를 증상으로 한다. 그러나, 일반적인 영양 부족에 의한 근위축과 달리 암 악액질은 신체의 대사변화, 사이토카인이나 식욕 기전에 관여하는 다양한 종양 미세환경 등으로 인해 전혀 다른 기전을 거치게 되며 이러한 결과로 나타나는 악액질은 환자의 삶의 질이나 생존율과 예후에 부정적인 영향을 미치게 된다.
- [0007] 악액질의 치료에 다양한 약물들이 연구되었으나 일부약물을 제외하고 아직 만족할 만한 성적을 보이고 있지 않아 향후 보다 많은 환자들을 대상으로 전향적 무작위 연구들이 필요한 상황이다.
- [0008] 악액질은 암의 매우 심각한 합병증으로서 치료 중 체중 감소는 항암제 치료의 부작용 증가, 치료에 대한 반응 감소, 생존율 감소와 관련이 있다. 참고적으로, 암 환자의 20% 이상이 악액질로 인해 사망, 악액질 환자의 50% 이상이 사망하게 된다.
- [0009] 마이오스타틴(myostatin)은 TGF- β 의 superfamily군에 속하는 폴리펩타이드(polypeptide) 성장인자이다. TGF- β 는 다량의 이소폼(isoform)을 가지고 있으며, 이는 세포의 증식(proliferation), 세포사멸(apoptosis), 분화, 뼈의 형성 및 유지에 관여하는 것으로 알려져 있다(Massague & Chen, 2000). 마이오스타틴은 그 중 growth differentiation factor(GDF) 8번에 속하며, 조직의 성장 및 발달에 관여하고, Smad 신호 전달계를 활성화시켜 작용한다. 또한, p21 유전자에 의해 세포주기 및 전구세포의 증식을 억제하여 골 형성 및 재생에도 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다. 마이오스타틴은 주로 골격근세포에서 생성되어 자가분비 방식으로 근육 소실 및 근력 감소를 야기하며, 근 비대에 관여하는 IGF-1이나 Follistatin의 발현을 억제함으로써 근아세포(myoblast)에서의 단백질 합성 및 세포 증식을 억제한다는 것으로 알려져 있다.
- [0010] 또한, 'PI3K/Akt → FOXO 활성화 및 GSK3 불활성화' 기전은 근육의 합성 저해 및 단백질 분해를 야기하여 근 위축을 유도하는데 상기 기전은 근 위축을 유도하는 유전자 atrogene(MuRF-1 등)의 발현 유도의 하위 기전을 통해 ubiquitin-proteasome system으로 대표되는 단백질 분해를 유도하게 된다.
- [0011] 한편, 함초(Salicornia europaea)는 비름과 함초속 한해살이풀로서, 한방적으로론느 몸에 쌓인 독소와 숙변을 없애고, 암, 자궁근종, 축농증, 고혈압, 저혈압, 요통, 당뇨병, 기관지천식, 갑상선 기능저하, 갑상선 기능 항진, 피부병, 관절염 등의 난치병에 탁월한 치료효과를 지니고 있는 것으로 알려져 있다. 아울러, 본 발명자들은 앞선 연구에서 함초에 포함된 라미나린(laminarin)과 후코이단(fucoidan)에서 근 감소 억제 효과를 확인한 바 있다. 본 발명자들은 근 감소증의 예방 및 치료 효과가 있는 함초의 유효성분을 연구하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0013] (특허문헌 0001) KR 10-2021-0183652

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 스티그마스테롤을 근육질환의 개선, 예방, 또는 치료를 위한 유효물질로 제공하는 것이다.

[0015] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 스티그마스테롤(stigmasterol)을 유효성분으로 포함하는 근육 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명은 스티그마스테롤을 유효성분으로 포함하는 근육 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기 스티그마스테롤의 근육 질환 예방 또는 치료용 약제 제조를 위한 용도를 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 스티그마스테롤을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0021] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 스티그마스테롤은 함초 유래의 것일 수 있다.

[0022] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 근육 질환은 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증, 암 악액질(cancer cachexia), 경직성 척추 증후군(rigid spinesyndrome), 근위축성 측삭경화증(루게릭병, amyotrophic lateral sclerosis), 경직성 척추 증후군(rigid spinsesyndrome), 샤르코-마리-투스병(Charcot-Marie-Tooth disease) 및 근육 감소증(sarcopenia)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 질환일 수 있다.

[0023] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 조성물은 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현을 억제하는 것일 수 있다.

[0024] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 조성물은 신경 손상에 의한 근육 손실 및 근력 감소를 억제하는 것일 수 있다.

[0025] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 조성물은 항암제 치료에 의한 근육 손실 및 근력 감소를 억제하는 것일 수 있다.

[0026] 본 발명의 다른 예로서, 상기 조성물은 FOXO3의 발현을 억제하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0028] 본 발명의 조성물은 스티그마스테롤을 포함하여 골격근의 기능을 향상시키고 근 손실을 유도하는 단백질의 발현을 감소시키는데, 근육 질환의 개선, 예방, 및 치료 효과를 갖는다. 또한, 본 발명의 스티그마스테롤은 오랫동안 높은 안전성이 검증된 함초 유래의 것으로서 사용에 따른 부작용이 매우 적거나 없다는 장점을 가진다. 이에, 본 발명은 근육 질환의 치료 등의 용도 외에도 근 손실을 억제하고 근량을 증가시키며 근육의 기능을 향상시키기 위한 의약품, 의약부외용, 향장소재용, 신체 활력 증진, 기능성 바이오 소재용 및 기능성 식품소재용 등 다양한 방면으로 이용될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0030] 도 1은 신경절단 동물모델의 Grip strength 테스트 결과 그래프이다.
- 도 2는 신경절단 동물모델의 Hanging time 테스트 결과 그래프이다.
- 도 3은 신경절단 동물모델의 Lean mass 및 fat mass 측정 결과이다.
- 도 4는 신경절단 동물모델의 마이크로 CT 사진과 CT 검사결과 그래프이다.
- 도 5는 신경절단 동물모델의 마이오스타틴(A) 및 혈중무수화효소(B) 농도 그래프이다.
- 도 6은 독소루비신을 처리한 마이오스타틴 과발현 C2C12 세포주에서 스티그마스테롤 처리에 따른 마이오스타틴 프로모터의 활성 변화를 확인한 결과 그래프이다.
- 도 7은 독소루비신을 처리한 마이오스타틴 과발현 C2C12 세포주에서 스티그마스테롤 처리에 따른 마이오스타틴 발현 수준 변화를 확인한 결과 그래프이다.
- 도 8은 독소루비신을 처리한 마이오스타틴 과발현 C2C12 세포주에서 스티그마스테롤 처리에 따른 FOXO3 발현 수준 변화를 확인한 결과 그래프이다.
- 도 9는 독소루비신을 처리한 마이오스타틴 과발현 C2C12 세포주에서 스티그마스테롤, 베타-시토스테롤 또는 스티그마스테놀 처리에 따른 마이오스타틴 프로모터의 활성 변화를 확인한 결과 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0031] 본 발명자들은 근육 질환의 예방 또는 치료에 적용할 수 있는 천연물 유래 유효물질에 대해 연구하던 중 함초의 스티그마스테롤 성분에서 근육 감소의 억제와 근력의 증가 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.
- [0032] 함초에는 스티그마스테롤과 함께 다양한 플라보노이드 성분 등의 생리활성 물질이 포함되어 있다고 보고되어 있다. 본 발명자들은 함초의 메탄올 추출물을 이용한 LC-MS/MS 분석에서 500ppm(mg/L) 내에 0.83ppm(mg/L)의 스티그마스테롤이 포함됨을 확인하였다. 본 발명의 동물실험에서는 스티그마스테롤이 함유된 함초 추출물을 이용하였으며, 세포 실험에서는 TCI chemical 에서 구입한 스티그마스테롤을 이용하여 이의 근육에서의 활성을 확인하였다.
- [0033] 구체적으로, 좌골신경을 절단하여 종아리 부위 근 감소증을 유도한 마우스에 스티그마스테롤을 투여하고 grip strength과 Hanging time 테스트, 근육 무게 측정, 및 micro CT로 근육 크기 변화 관찰, 및 혈액 분석을 수행하였다. 그 결과, 좌골신경 절단에 의하여 근력의 감소와 근량의 중량과 크기 감소 및 혈중 마이오스타틴과 탄산무수화효소가 증가되었으나, 스티그마스테롤의 투여는 혈중 마이오스타틴 및 탄산무수화 효소를 감소시키고 이를 통해 상기 신경 절단에 의한 증상의 정도를 경감시킴을 확인하였다.
- [0034] 또한, 본 발명자들은 항암제(구체적으로, 독소루비신)를 처리한 골격근 세포에서 마이오스타틴과 FOXO3의 발현이 증가되었으나, 상기 세포에 스티그마스테롤의 처리는 마이오스타틴의 발현을 억제하고 FOXO3 발현 감소를 유도함을 확인할 수 있었다.
- [0035] 상기로부터, 스티그마스테롤은 마이오스타틴의 프로모터 활성을 억제하여 마이오스타틴의 발현을 감소시킴으로써 근육 손실 및 근력 감소를 억제하고, FOXO3의 발현 감소를 통한 근육 합성 저해 및 단백질 분해를 억제하여 근 위축을 예방 및 치료할 수 있음을 확인할 수 있었는바, 본 발명은 스티그마스테롤을 유효성분으로 포함하는 근육 질환, 특히 항암제에 의한 암 악액질의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0036] 또한, 본 발명은 구체적인 실험을 통해서 피토스테롤 중에서도 특히 스티그마스테롤이 근 감소증의 지표인 마이오스타틴의 발현을 효과적으로 억제함을 확인하였다.
- [0037] 본 발명에서 “근육 질환”은 근 기능 저하, 근육 감소, 근육 위축, 근육 소모 또는 근육 퇴화로 인한 근육 질환일 수 있고, 보다 구체적으로 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증, 암 악액질(cancer cachexia), 경직성 척추 증후군(rigid spinesyndrome), 근위축성 측삭경화증(루게릭병, amyotrophic lateral sclerosis), 경직성 척추 증후군(rigid spinesyndrome), 샤르코-마리-투스병(Charcot-Marie-Tooth disease) 및 근육 감소증(sarcopenia)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느

하나 이상일 수 있다.

- [0038] 본 발명자들은 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 근육 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다. 상기 개체는 근 기능 저하, 근육 감소, 근육 위축, 근육 소모, 및/또는 근육 퇴화 증상을 나타내는 환자일 수 있다.
- [0039] 한편, 암 악액질(cancer cachexia)이란 암 환자에서 나타나는 근 위축을 나타내는 것으로서, 정상적인 영양섭취에도 불구하고 종양의 발생과 성장에 의하여 근 위축이 발생하거나 다양한 항암 요법의 처치와 함께 발생하는 근 위축을 의미한다. 상기 근 위축은 근육세포와 근조직의 크기 및 질량적 손실에 의한 근력의 약화와 근골격계 퇴화를 증상으로 한다.
- [0040] 특히, 암 악액질에서 근 위축은 마이오스타틴의 상향 조절과, 단백질 합성 저하 및 단백질 분해 증가의 결합으로 설명될 수 있으며, 골격근의 감소는 암 미세환경과 암 세포 및 정상세포간의 다양한 상호 작용 등의 요인에 의해 매개될 수 있다.
- [0041] 마이오스타틴은 근육량의 음성적 조절을 수행하는 사이토카인으로 TNF- α , IL-6 및 IFN- γ 등의 염증성 사이토카인은 암과 관련된 근육 손실 유도과 관련됨이 알려져 있다.
- [0042] 한편, 암 악액질의 치료 약물은 이외의 근 감소증에서 효과를 나타내지 않는 것이 보고된 바 있는바, 근 감소증의 치료 약물과 암 악액질의 치료 약물이 상호 작용되지 않음을 알 수 있다. 그러나, 본 발명자들은 항암제 처리로 유도된 근 감소에서 스티그마스테롤은 근육의 감소를 억제할 수 있음을 실험적으로 확인하였는 바, 스티그마스테롤은 암 악액질의 예방 및 치료를 위해 적용될 수 있다.
- [0043] 이에, 본 발명은 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암 악액질의 예방 또는 치료 방법을 제공하며, 상기 개체는 암 환자일 수 있다.
- [0044] 본 발명의 약학적 조성물은 약제로 이용되기 위해서 약제학적 분야에서 공지된 방법에 의해 제조될 수 있으며, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제, 안정화제, 방부제 등과 혼합하여 분말, 과립, 정제, 캡슐제, 또는 주사제 등의 제형으로 제조되어 사용될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 활성성분 외에 서방성 목적으로 사용되는 기제를 포함하여 활성성분의 방출이 천천히 일어나도록 서방형 제제로 제조될 수 있다.
- [0045] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 아울러, 펩티드 제제에 대한 경구투여용으로 사용되는 다양한 약물전달물질을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코오스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0046] 상기 희석제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유, 땅콩유와 같은 식물성유 등의 비수성 용매나 염수(바람직하게는 0.8%의 염수), 완충 매질을 포함한 물(바람직하게는 0.05M의 인산염 완충액) 등의 수성 용매 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0047] 상기 부형제로는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 나트륨 클로라이드, 무수 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0048] 상기 안정화제로는 소르비톨, 만니톨, 전분, 수크로스, 텍스트란, 글루타메이트, 글루코스 등의 탄수화물이나 분유, 혈청 알부민, 카제인 등의 동물성, 식물성 또는 미생물성 단백질 등의 단백질을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0049] 상기 방부제로는 티메로살, 메르티올레이트, 젠타마이신, 네오마이신, 니스타틴, 암포테리신 B, 테트라사이클린, 페니실린, 스트렙토마이신, 폴리믹신 B 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0050] 본 발명의 약학적 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있으며, 예를 들어 경구 또는 비경구로 투여될 수 있다. 비경구적인 투여 방법으로는 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니

다.

- [0051] 본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 약학적 조성물의 총 유효량은 단일 투여량 (single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량 (multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 요법에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 이는 제제화 방법, 투여경로 치료횟수 뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 증상, 투여시간 및 방법 등 다양한 요인들을 고려하여 결정될 수 있다. 이러한 점을 고려할 때, 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 본 발명의 조성물의 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 있어 특별히 제한되지 아니한다.
- [0053] 아울러, 본 발명은 스티그마스테롤을 유효성분으로 포함하는 근육질환, 특히 암 악액질의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다. 또한, 스티그마스테롤은 근 기능 저하, 근육 감소, 근육 위축, 근육 소모, 및/또는 근육 퇴화 증상을 방지하거나 지연을 목적으로 식품에 첨가될 수 있다. 스티그마스테롤을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 스티그마스테롤을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 스티그마스테롤은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0054] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.
- [0055] 본 발명에 따른 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 텍스트린 및 시클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL당 일반적으로 약 0.01-0.20g, 바람직하게는 약 0.04-0.10g 이다.
- [0056] 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, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01-0.20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0057] 본 발명에서 사용되는 용어, “예방”이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 근육질환, 특히 암 악액질을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0058] 본 발명에서 사용되는 용어, “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 근육질환, 특히 암 악액질에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0059] 본 발명에서 사용되는 용어, “개선”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 근육질환, 특히 암 악액질과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0061] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0063] <실시예 1. 동물 실험>

[0064] 실험 마우스의 좌골신경(sciatic nerve)를 절단한 후, 종아리 부위 근감소증을 유발시켰다. 비임상 실험으로 근감소증 유도 마우스에 직접 함초 추출물을 복강 투여하여 다양한 실험을 진행하였다. 구체적으로, 근육의 힘 변화를 관찰하기 위한 grip strength와 Hanging time, 근육을 분리하여 무게 측정, 및 micro CT로 근육 크기 변화 관찰, 및 혈액 분석을 진행하였다.

[0066] 1. 근육의 힘 변화 관찰

[0067] 근육의 힘변화를 직접적으로 관찰하기 위하여 grip strength와 Hanging time를 진행하였다.

[0068] 하기의 도 1을 참조할 때, 대조군(sham)에 비해 신경절단 동물(NTX)에서 Grip strength가 감소하였고, 함초 추출물 투여 동물에서 Grip strength 가 증가함을 나타내어, 함초 추출물이 근육의 기능(power) 증가에 기여했음을 확인하였다.

[0069] 하기의 도 2를 참조할 때, 대조군(sham)에 비해 신경절단 동물(NTX)에서 hanging time 가 감소하였고, 함초 추출물 투여 동물에서 유의적으로 hanging time이 증가함을 확인할 수 있었다. 이를 통해, 함초 추출물이 근육의 기능 증가에 관여할 수 있음을 알 수 있다.

[0071] 2. 근육량 시각 관찰

[0072] 근육량을 시각적으로 관찰하기 위해, 종아리의 다양한 근육 분리하였다. 분리한 근육은, 전방경골근(TA: tibialis anterior), 장지지신근(EDLL: extensor digitorum longus), 대퇴사두근(QC: quadriceps), 비복근(GC: gastrocnemius) 이다. 분리한 각 근육의 무게를 측정하고, Lean/fat mass (n=3)측정하였으며, micro CT로 근육의 크기 변화를 관찰하였다.

[0073] 도 3을 참조할 때, 신경절단 동물에서 감소한 lean mass가 함초 추출물 투여 동물에서는 증가하였고, 증가한 fat mass는 함초 추출물 투여 동물에서는 감소하였다. 상기로부터, 함초 추출물이 근육 및 지방 관련 기능 개선에 관여할 수 있음을 확인하였다.

[0074] 도 4를 참조할 때, micro CT 검사에서는 신경절단 동물에서 감소한 hindlimb 면적(붉은 선)이 함초 추출물 투여에 의해 유의한 수준으로 회복됨을 관찰하였다. 이는, 함초 추출물의 근감소 억제 효능이 micro CT 소견에서도 확인됨을 의미한다.

[0076] 3. 혈액 분석

[0077] 근육의 근육세포에서 발현되는 탄산무수화효소(carbonic anhydrase III, CA)는 마이오스타틴 발현 유도과 근감소증을 유발하는 효소이다. 이에, 실험동물의 근육조직 및 근육세포에서 마이오스타틴(myostatin)과 탄산무수화효소(carbonic anhydrase III) 혈중 농도를 관찰하고, pH 조절능을 하기위해 엘리자 테스트를 진행하였다.

[0078] 도 5를 참조할 때, 신경절단 동물에서 증가한 마이오스타틴과 탄산무수화효소의 혈중 농도가 함초 추출물에 의해 유의한 수준으로 감소함을 확인하였다. 이는, 함초 추출물의 근감소 억제 효능이 근육량 조절 표적 단백질인 마이오스타틴을 조절하였음을 의미한다.

[0080] <실시예 2. 세포실험>

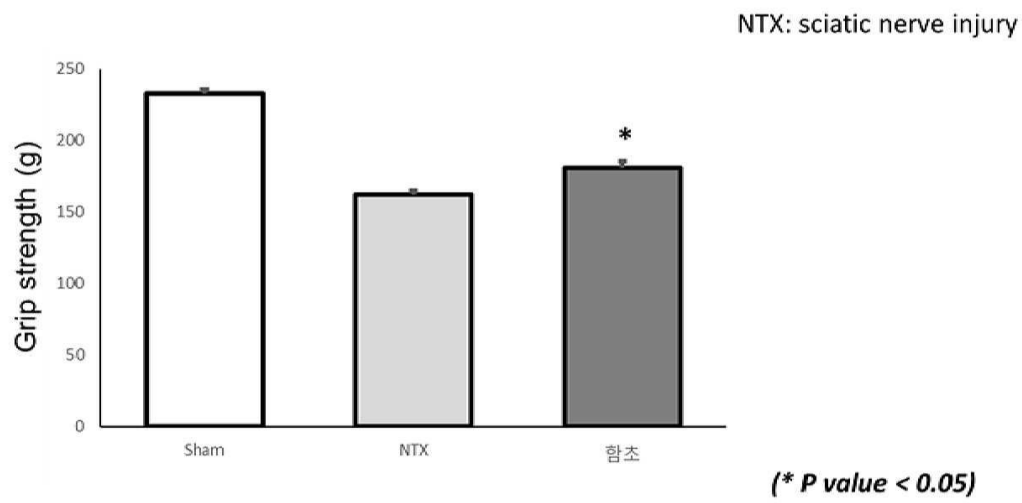
[0081] 독소루비신(doxorubicin)을 처리한 골격근 세포주 C2C12에 스티그마스테롤 처리 후 분석 및 관찰하였다. 스티그마스테롤은 TCI chemical 에서 구입하여 사용하였다.

[0083] 1. 스티그마스테롤의 마이오스타틴 발현 억제 효과 확인

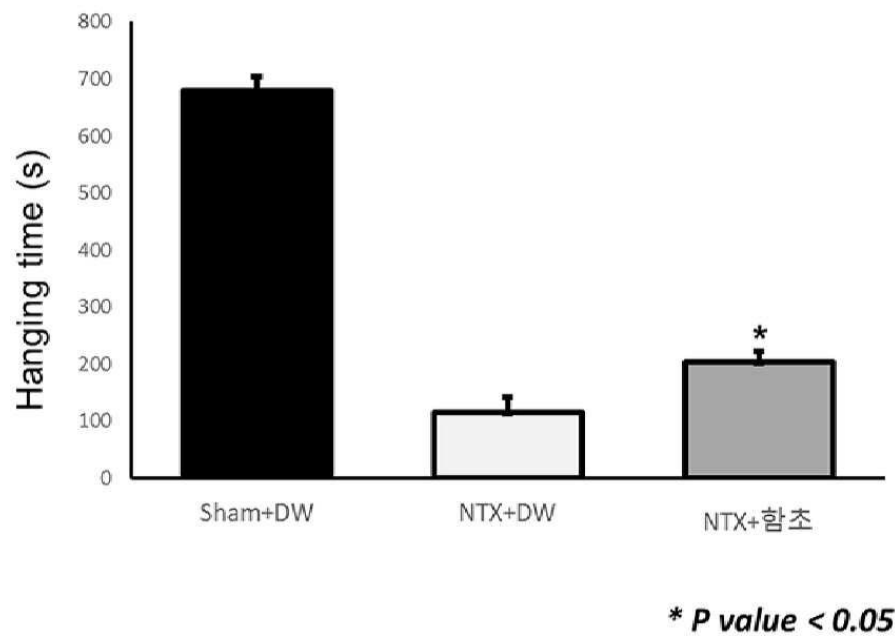
- [0084] 스티그마스테롤을 처리하여 근감소 억제 지표로 마이오스타틴의 발현 수준을 분석하기 위하여 Luciferase assay를 진행하였다. 구체적으로 Myostatin luciferase vector (pMSTN_Luc)로 마이오스타틴이 과발현 되어있는 C2C12 세포주를 사용하였으며, MSTN_Luc-C2C12 세포를 seeding한 후 다음날 스티그마스테롤을 12시간 동안 처리하였다. 이어서, 1X PLB (1X passive lysis buffer)를 배양 배지에 첨가하여 세포를 용해시킨 후 luciferase assay전용 96well plate(white plate)에 세포용해물을 넣고, LAR II시약을 넣은 후 플레이트를 기계 (Multiplate enspire)에 넣어 활성을 측정하고 Bradford 시약을 이용하여 정량하였다.
- [0085] 도 6을 참조할 때, C2C12 세포주에 독소루비신 처리로 마이오스타틴 프로모터의 활성이 급격하게 증가하였으며, 스티그마스테롤의 처리는 독소루비신에 의한 마이오스타틴 프로모터 활성의 증가를 억제하였으며, 상기 활성 억제 효과는 스티그마스테롤 처리 농도에 비례함을 확인하였다.
- [0087] 2. 스티그마스테롤의 FOXO3 발현 억제 효과 확인
- [0088] 근 위축 마커인 MuRF1 및 MAfbx32의 발현은 'PI3K/Akt → FOXO 활성화 및 GSK3 불활성화' 기전에 의해 유도되는데, 독소루비신을 처리한 C2C12 세포주에서 FOXO의 발현 수준과 스티그마스테롤의 처리에 따른 FOXO 발현량의 변화를 확인하였다.
- [0089] 도 7을 참고할 때, C2C12 세포에 독소루비신의 처리에 따라 FOXO의 발현 수준이 크게 증가함을 확인하였으며, 스티그마스테롤의 처리는 독소루비신에 의한 FOXO 발현 증가를 감소시켰으며, 상기 발현 감소 효과는 스티그마스테롤 처리 농도에 비례함을 확인하였고, 스티그마스테롤의 1000uM 처리는 독소루비신을 처리하지 않은 세포주와 동일한 수준으로 FOXO의 발현 수준을 나타내었다. 상기로부터, 스티그마스테롤은 FOXO3의 발현을 억제함으로써 근육 분해를 간접적으로 저해할 수 있음을 알 수 있다.
- [0091] 3. 스티그마스테롤과 β -시토스테롤 및 스티그마스테놀의 효능 비교
- [0092] 스티그마스테롤은 식물성 스테롤인 피토스테롤 (phytosterol)의 일 종으로, 이어서 피토스테롤 중에서 스티그마스테롤의 근 감소 억제 효능을 β -시토스테롤 (β -sitosterol)과 스티그마스테놀(stigmastanol, β -sitostanol)과 비교하였다. 구체적으로 실시예 2-1과 동일하게, 스티그마스테롤, β -시토스테롤, 및 스티그마스테놀 각각의 마이오스타틴 프로모터 활성 감소 효과를 Luciferase assay를 수행하여 확인하였다. 그 결과, 도 9에서 확인할 수 있는 바와 같이, 스티그마스테롤이 β -시토스테롤 및 스티그마스테놀과 비교하여 유의하게 높은 수준으로 마이오스타틴의 발현을 억제할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0094] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.
- [0095] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

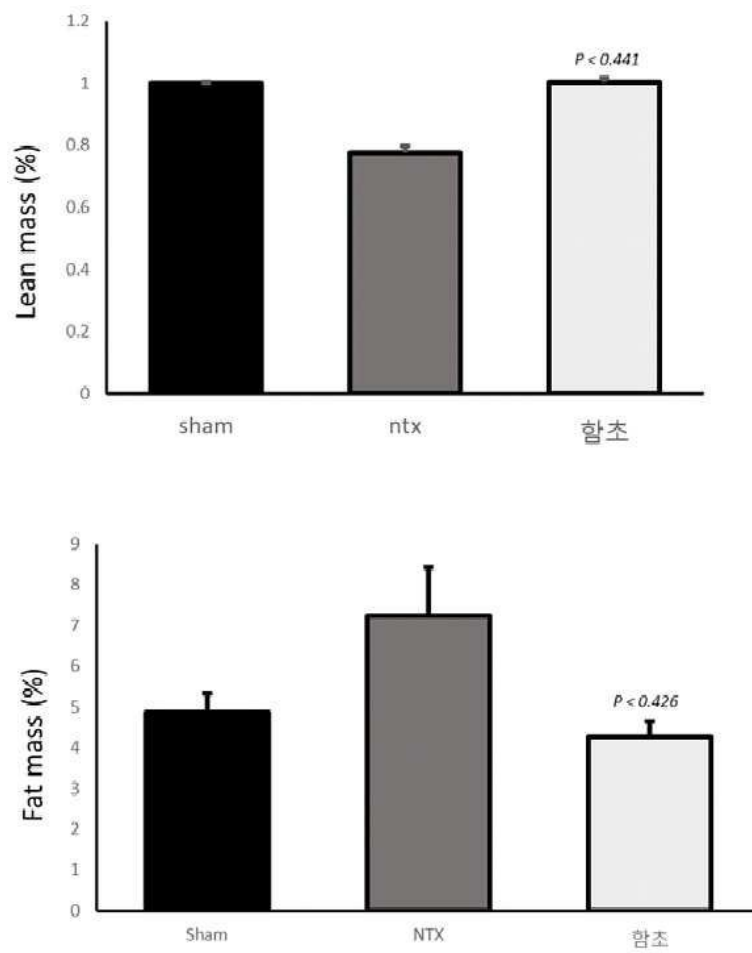
도면1



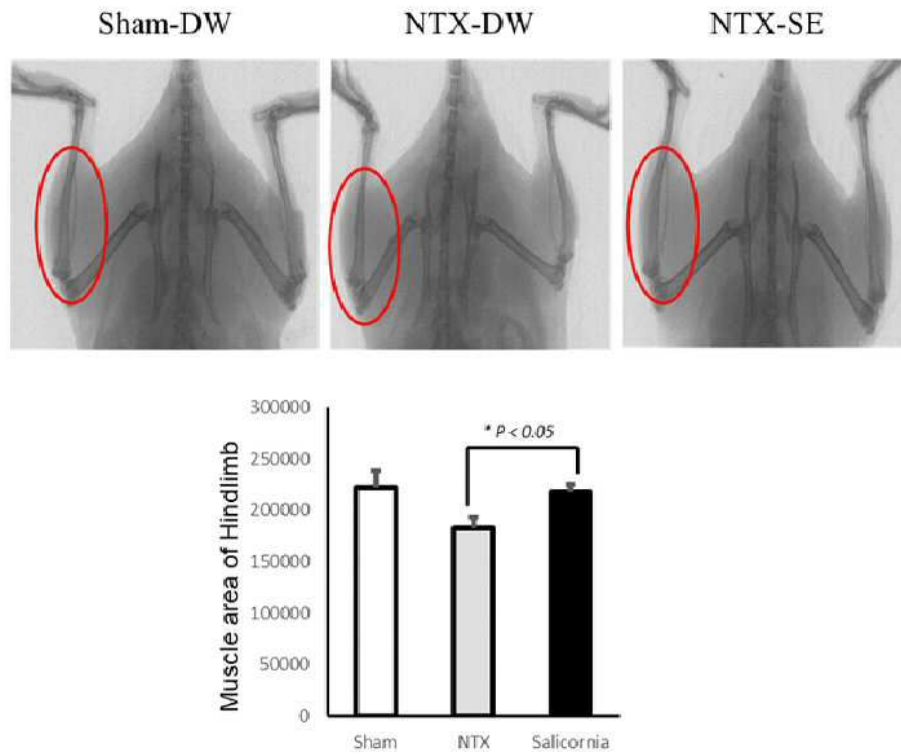
도면2



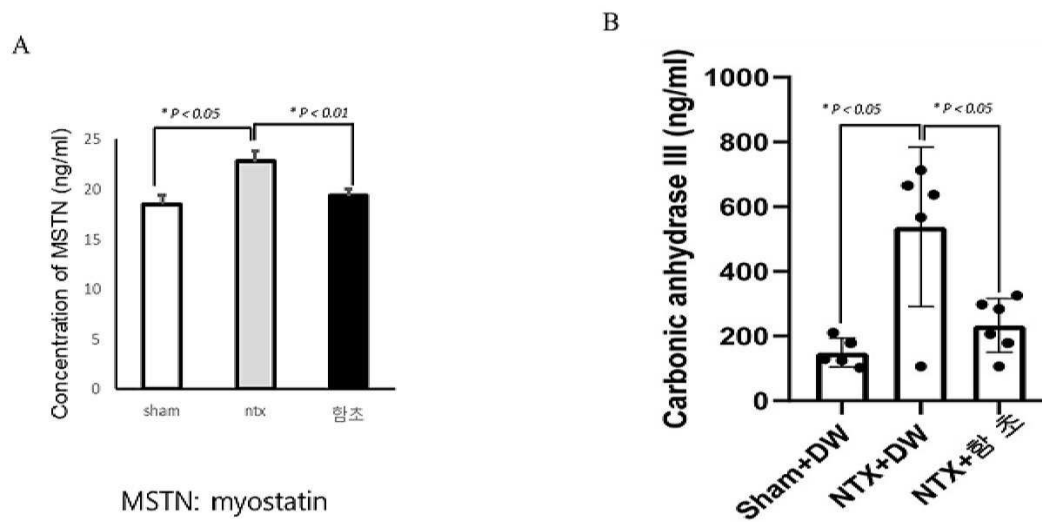
도면3



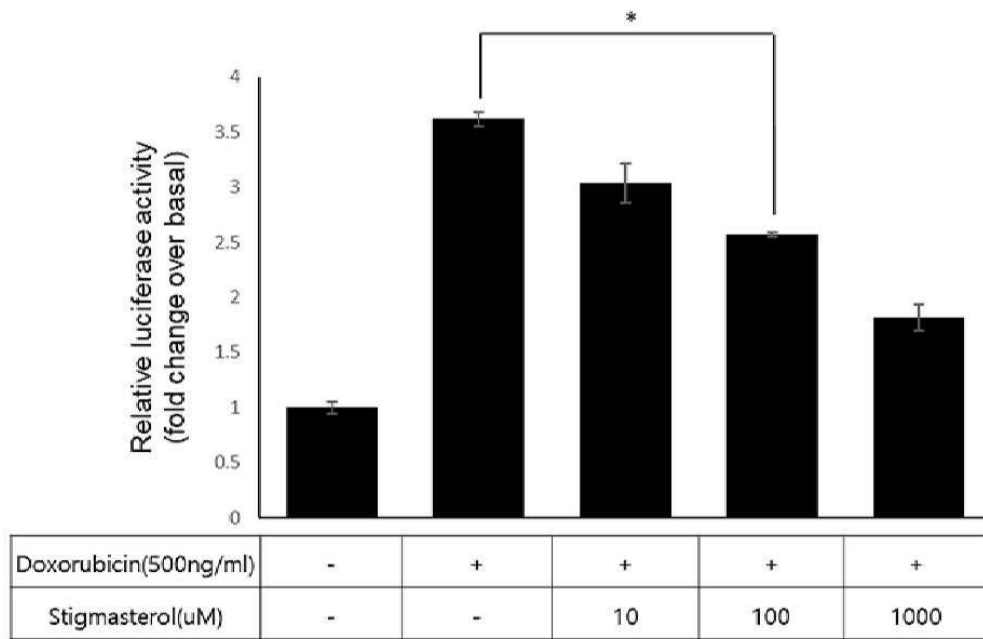
도면4



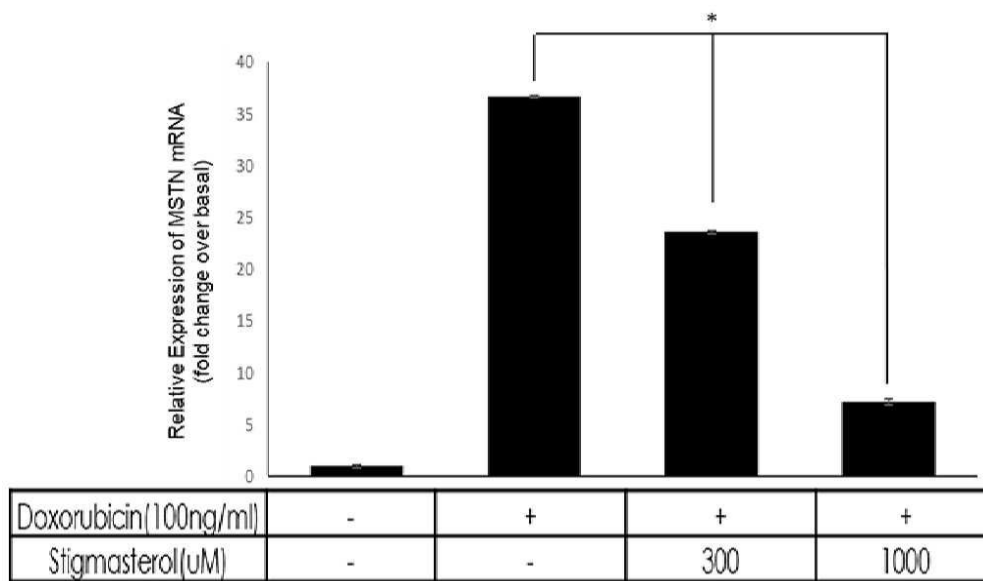
도면5



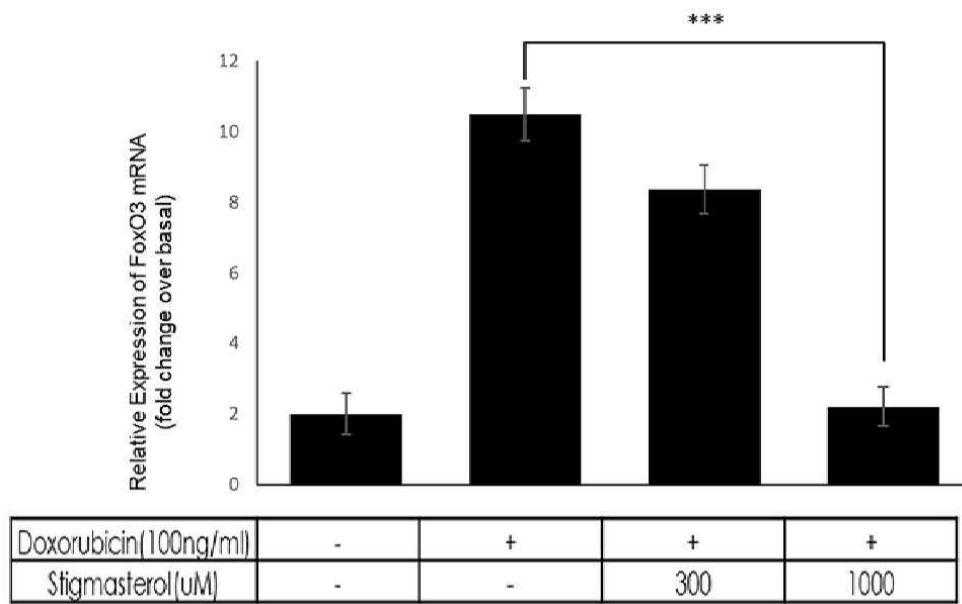
도면6



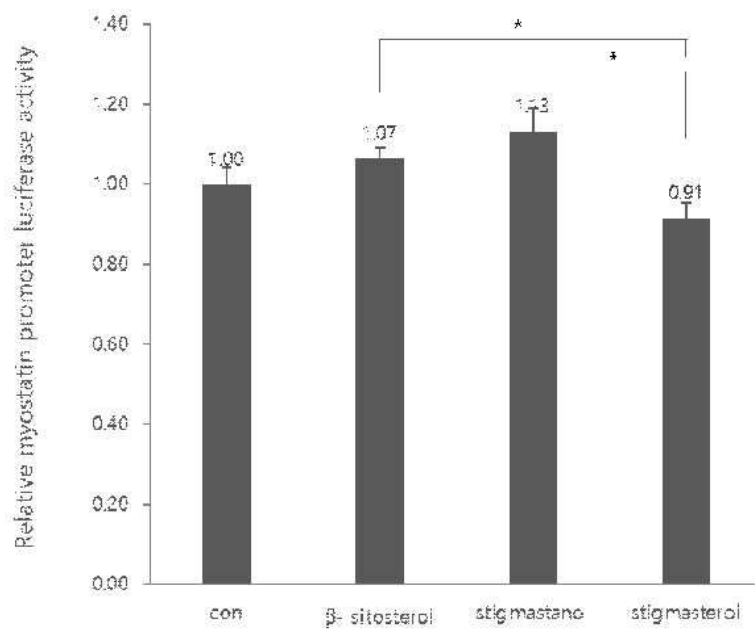
도면7



도면8



도면9



10μM, 21시간 처리

* p-value < 0.05, ** p-value < 0.01, *** p-value < 0.001(n=5)