



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0057999
(43) 공개일자 2019년05월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/365 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/365 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0155559
(22) 출원일자 2017년11월21일
심사청구일자 2017년11월21일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
최정혜
서울특별시 성동구 독서당로 175, 104동 1902호 (옥수동, 극동그린아파트)
장대식
서울특별시 강남구 광평로10길 50, 106동 103호 (일원동, 청솔빌리지)
우정화
서울특별시 동대문구 이문로34길 16, 4/4 (이문동)
(74) 대리인
특허법인 하나

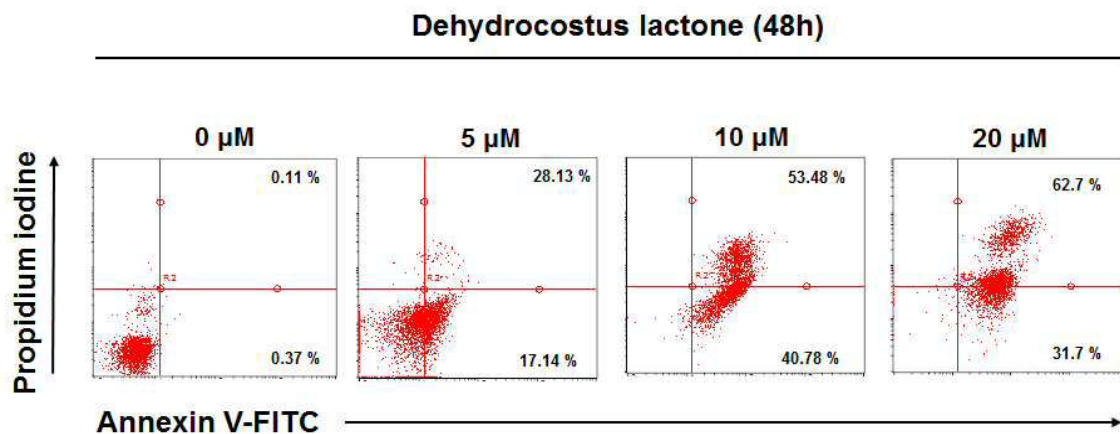
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 데하이드로코스트루스 락톤을 포함하는 자궁세포 이상증식 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 데하이드로코스트루스 락톤(dehydrocostus lactone) 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 자궁세포 이상증식 질환의 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물과 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명의 데하이드로코스트루스 락톤은 아포토시스를 유도하고 케모카인의 발현을 억제하며, VEGF, MMP-2 및 MMP-9와 같은 질환 세포 또는 조직에 대한 악성화 인자의 발현을 억제하는 효과가 탁월하여, 자궁내막증을 포함하는 자궁세포 이상증식 질환을 효과적으로 예방, 개선 및 치료하는 효능이 있다. 또한, 본 발명의 데하이드로코스트루스 락톤은 천연 유래의 화합물로서 부작용이 없어 약학적 조성물, 건강기능식품 등으로 다양하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI14C2416

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 질병중심중개연구

연구과제명 자궁내막증의 염증성 미세환경 제어 연구

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2014.12.01 ~ 2017.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

데하이드로코스투스 락톤(dehydrocostus lactone) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 자궁세포 이상증식 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 데하이드로코스투스 락톤은 MCP-1 또는 RANTES의 발현을 억제하는 효능을 갖는 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 데하이드로코스투스 락톤은 VEGF, MMP-2 또는 MMP-9의 발현을 억제하는 효능을 갖는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 자궁세포 이상증식 질환은 자궁 근종, 자궁 선근증, 자궁 내막증, 자궁 육종, 자궁 섬유화증, 자궁 비대증, 자궁경부염, 자궁경부 이형성증, 자궁경부 상피내 종양, 자궁 경부암 자궁내막암 및 자궁체부암으로 이루어진 군에서 선택되는 질환인 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 자궁세포 이상증식 질환은 자궁내막증인 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

데하이드로코스투스 락톤(dehydrocostus lactone) 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 자궁세포 이상증식 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 데하이드로코스투스 락톤은 MCP-1 또는 RANTES의 발현을 억제하는 효능을 갖는 것인, 건강기능식품.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 데하이드로코스투스 락톤은 VEGF, MMP-2 또는 MMP-9의 발현을 억제하는 효능을 갖는 것인, 건강기능식품.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 자궁세포 이상증식 질환은 자궁 근종, 자궁 선근증, 자궁 내막증, 자궁 육종, 자궁 섬유화증, 자궁 비대증, 자궁경부염, 자궁경부 이형성증, 자궁경부 상피내 종양, 자궁 경부암 자궁내막암 및 자궁체부암으로 이루어진 군에서 선택되는 질환인 것인, 건강기능식품.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 자궁세포 이상증식 질환은 자궁내막증인 것인, 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 데하이드로코스투스 락톤(dehydrocostus lactone) 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 자궁세포

이상증식 질환의 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물과 건강기능식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 자궁은 주로 섬유근육층으로 구성된 기관으로 배아가 착상하며 태반이 부착되고 태아가 성장하는 기관이다. 전체적인 모양은 서양배를 거꾸로 한 모양으로, 위쪽의 자궁몸통(자궁 체부)과 아래쪽의 자궁목(자궁 경부)으로 나누어진다. 자궁의 단면은 배아가 착상하는 자궁내막, 민무늬근(평활근) 세포로 구성된 자궁근육층(자궁 근층, 자궁근막), 그리고 바깥쪽의 자궁바깥막(자궁 외막)으로 나눌 수 있다. 자궁내막은 자궁의 가장 안쪽에 위치하며 수정란이 착상되는 조직으로 호르몬의 변화에 의해 생리 주기에 따라 증식, 탈락을 반복한다. 여기서 탈락된 자궁내막조직이 월경혈에 해당한다.

[0003] 자궁 질환 중 자궁내막증(endometriosis)은 자궁 안에 있어야 할 자궁내막 조직이 자궁 밖의 복강 내에 존재하는 것으로, 가임기 여성의 약 10~15%에서 발생하는 흔한 질환으로 알려져 있다. 자궁내막증은 월경을 하는 여성, 즉 초경에서부터 폐경에 이르기까지 모든 연령대에서 생길 수 있으며, 관련된 주요 증상으로는 심한 월경통과 하복부 통증, 불임 등이 있다. 자궁내막증은 그 빈도가 매우 높은 질환임에도 불구하고 수술 전 정확한 진단이 어려운 경우가 많으며, 재발을 잘하고 계속 진행되는 특성을 보여 치료에 있어서도 매우 까다로운 것으로 알려져 있다. 이에 자궁내막증 진단 방법을 비롯하여 치료 방법, 치료제에 관한 연구들이 이루어져 왔으나(대한민국공개특허공보 A 제10-2006-0002708호, 제10-2006-0112709호 등) 임상적으로 우수한 효과를 나타내면서 인체 적용 시 안정성이 보장되는 치료제에 관한 연구 개발은 아직 미흡한 실정이다.

[0004] 데하이드로코스투스 락톤(dehydrocostus lactone)은 세스퀴테르펜 락톤(sesquiterpene lactone)의 일종으로, 국화과 다년생 초본인 목향(*Saussurea lappa* Clarke)의 뿌리에 존재하는 화합물로 알려져 있다. 데하이드로코스투스 락톤의 효능으로는 콜라겐 및 히알루론산 생산 촉진 효능(대한민국공개특허공보 A 제10-2013-0040262호)에 관한 보고가 있으며, 목향 추출물에 대하여 비만 치료 효능, 염증성 장질환 치료 효능 등에 관한 보고가 있으나, 데하이드로코스투스 락톤의 자궁 관련 질환에 대한 치료 효능에 관하여는 알려진 바가 없으며, 특히 자궁내막증 치료 효능에 관하여는 전혀 연구되고 보고된 바가 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국공개특허공보 A 제10-2006-0002708호
(특허문헌 0002) 대한민국공개특허공보 A 제10-2006-0112709호
(특허문헌 0003) 대한민국공개특허공보 A 제10-2013-0040262호

발명의 내용

해결하려는 과제

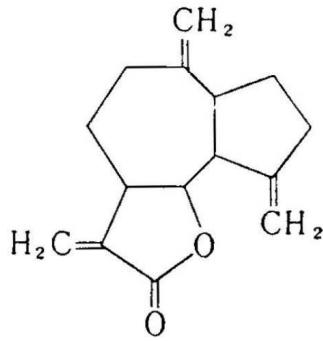
[0006] 본 발명은 데하이드로코스투스 락톤(dehydrocostus lactone) 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 자궁세포 이상증식 질환의 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물과 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 데하이드로코스투스 락톤(dehydrocostus lactone) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 자궁세포 이상증식 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0008] 본 발명의 데하이드로코스투스 락톤은 천연 유래의 세스퀴테르펜 락톤(sesquiterpene lactone)의 일종으로, 국화과 다년생 초본인 목향(*Saussurea lappa* Clarke)의 뿌리에 존재하는 화합물로 알려져 있다. 데하이드로코스투스 락톤의 구체적인 구조는 하기 화학식 1과 같다.

[0009] [화학식 1]



[0010]

[0011] 본 발명의 데하이드로코스트루스 락톤은 화학적으로 합성하거나 천연 물질로부터 분리할 수 있으며, 국내외에서 시판되는 것을 구입하여 사용할 수도 있다.

[0012] 본 발명에서 사용되는 용어, "MCP-1"은 "monocyte chemoattractant protein-1"의 약어로서, 단구, 혈관내피, 신경교종세포주 등을 생산하는 단구주화성 인자의 하나이다. MCP-1은 C-C 케모카인(chemokine)의 일종이며, 분자량은 약 8,000 ~ 18,000 이다.

[0013] 본 발명에서 사용되는 용어, "RANTES"는 "regulated on activation, normal T cell expressed and secreted"의 약어로서, CCL5라고도 불리며, MCP-1과 함께 대표적인 C-C 케모카인의 일종이다. RANTES는 T세포, 단구, 호염기구, 호산구 등에 대하여 유주활성을 나타내며, 백혈구를 염증 부위로 이동시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0014] 본 발명에서 사용되는 용어, "VEGF"는 혈관내피성장인자(vascular endothelial growth factor)의 약어로서, 혈관내피세포에 특이적으로 작용하여 세포 증식이나 혈관신생을 촉진하는 당단백질을 의미한다.

[0015] 본 발명에서 사용되는 용어, "MMP-2"는 "matrix metalloproteinase-2"의 약어로서, 젤라티나아제 A (gelatinase A)라고도 불리는 IV형 콜라게나아제의 일종을 의미한다.

[0016] 본 발명에서 사용되는 용어, "MMP-9"는 "matrix metalloproteinase-9"의 약어로서, 젤라티나아제 B (gelatinase B)라고도 불린다. MMP-9는 IV형 콜라게나아제의 일종이며 아연-금속 단백질 분해 효소군에 속한다.

[0017] 본 발명에서 사용되는 용어, "Trem-2"는 "triggering receptor expressed on myeloid cells 2"의 약어로서, 대식세포가 M2로 분극화 되었을때 증가되는 마커에 해당한다.

[0018] 본 발명자들은 본 발명의 데하이드로코스트루스 락톤이 아픔토시스를 유도하고 MCP-1, RANTES와 같은 케모카인의 발현을 억제하며, VEGF, MMP-2, MMP-9와 같은 자궁 질환 세포 또는 조직의 악성화 인자의 발현을 억제하는 것을 최초로 규명하였으며, 이로써 데하이드로코스트루스 락톤의 자궁세포 이상증식 질환에 대한 예방, 개선 또는 치료 용도를 최초로 규명하였다.

[0019] 구체적으로, 본 발명의 실시예들에서 12Z 자궁내막증 세포에 데하이드로코스트루스 락톤을 처리한 경우, 아픔토시스가 유도되어 자궁내막증 세포의 성장이 효과적으로 억제되는 것으로 확인되었으며(도 1), 케모카인의 일종인 MCP-1과 RANTES의 발현이 효과적으로 억제되는 것을 확인하여(도 2), 대식세포(macrophage)가 자궁내막증 세포 주변으로 이동하는 것이 억제되는 것으로 확인되었다. 또한, 다른 실시예들에서 자궁내막증 세포에 데하이드로코스트루스 락톤을 처리한 경우, 자궁내막증 관련 대식세포(endometriosis-associated macrophage; EAM)의 M2 분극화가 효과적으로 억제되어(도 3) 자궁내막증의 악성화가 억제됨을 확인하였으며, 자궁내막증 악성화 인자에 해당하는 VEGF, MMP-2 및 MMP-9의 발현이 효과적으로 억제되어 자궁내막증의 악성화가 억제됨을 확인하였다(도 4). 나아가, 자궁내막증 세포가 분비하는 통증 관련 두뇌자극호르몬(neurotrophine)인 BDNF(Brain-derived neurotrophic factor) 및 NGF(Nerve Growth Factor)의 발현 및 분비가 감소되는 것을 확인하였다(도 5).

[0020] 본 발명의 예방, 개선 또는 치료 대상 질환은 의학적으로 자궁세포 이상증식 관련 질환의 범주에 해당하는 한 구체적인 질환명이 특별히 제한되지 않으나, 보다 우수한 효능 발휘를 위하여 바람직하게는 자궁 근종, 자궁 선근증, 자궁내막증, 자궁 육종, 자궁 섬유화증, 자궁 비대증, 자궁경부염, 자궁경부 이형성증, 자궁경부 상피내종양, 자궁경부암, 자궁내막암 및 자궁체부암으로 이루어진 군에서 선택되는 질환일 수 있으며, 보다 바람직하게는 자궁내막증일 수 있다.

- [0021] 본 발명에서 사용되는 용어, “약학적으로 허용되는 염”은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약제학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 통상적으로 금속염, 유기 염기와 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등; 유기 염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.
- [0022] 본 발명의 약학적 조성물은 테하이드로코스트스 락톤 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효 성분으로 포함하는 것 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다.
- [0023] 본 발명에서 사용될 수 있는 담체의 종류는 특별히 제한되지 아니하며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 상기 담체의 비제한적인 예로는, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사 용액, 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 말토 텍스트린, 글리세롤, 에탄올 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 필요한 경우, 부형제, 희석제, 항산화제, 완충액 또는 정균제 등 기타 약학적으로 허용 가능한 첨가제들을 첨가하여 사용할 수 있으며, 충전제, 증량제, 습윤제, 봉해제, 분산제, 계면 활성제, 결합제 또는 윤활제 등을 부가적으로 첨가하여 사용할 수 있다.
- [0025] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 테하이드로코스트스 락톤 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 약학적 조성물의 전체의 중량을 기준으로 0.00001 중량% 내지 99.99 중량%로 포함될 수 있으며, 바람직하게는 0.1 중량% 내지 90 중량%, 보다 바람직하게는 0.1 중량% 내지 70 중량%, 더욱 바람직하게는 0.1 중량% 내지 50중량%로 포함될 수 있으나, 이에 한정되지 않으며 투여 대상의 상태, 구체적인 병증의 종류, 진행 정도 등에 따라 다양하게 변경될 수 있다. 필요한 경우, 약학적 조성물의 전체 함량으로도 포함될 수 있다.
- [0026] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여를 위한 적합하고 다양한 제형으로 제제화되어 사용될 수 있다.
- [0027] 본 발명의 약학적 조성물을 이용한 경구 투여용 제제의 비제한적인 예로는, 트로키제(troches), 로젠지(lozenge), 정제, 수용성 현탁액, 유성 현탁액, 조제 분말, 과립, 에멀전, 하드 캡슐, 소프트 캡슐, 시럽 또는 엘릭시르제 등을 들 수 있다.
- [0028] 본 발명의 약학적 조성물을 경구 투여용으로 제제화하기 위하여, 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 또는 젤라틴 등과 같은 결합제; 디칼슘 포스페이트 등과 같은 부형제; 옥수수 전분 또는 고구마 전분 등과 같은 봉해제; 스테아르산 마그네슘, 스테아르산 칼슘, 스테아릴 푸마르산 나트륨 또는 폴리에틸렌 글리콜 왁스 등과 같은 윤활유 등을 사용할 수 있으며, 감미제, 방향제, 시럽제 등도 사용할 수 있다. 나아가 캡슐제의 경우에는 상기 언급한 물질 외에도 지방유와 같은 액체 담체 등을 추가로 사용할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 약학적 조성물을 이용한 비경구용 제제의 비제한적인 예로는, 주사액, 좌제, 호흡기 흡입용 분말, 스프레이용 에어로졸제, 연고, 도포용 파우더, 오일, 크림 등을 들 수 있다.
- [0030] 본 발명의 약학적 조성물을 비경구 투여용으로 제제화하기 위하여, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결 건조 제제, 외용제 등을 사용할 수 있으며, 상기 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [0031] 본 발명의 약학적 조성물을 주사액으로 제제화하는 경우, 본 발명의 약학적 조성물을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고 이를 앰플(ampoule) 또는 바이알(vial)의 단위 투여용으로 제제화할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 약학적 조성물을 에어로졸제로 제제화하는 경우, 수분산된 농축물 또는 습윤 분말이 분산되도록 추진제 등이 첨가제와 함께 배합할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 약학적 조성물을 연고, 크림, 도포용 파우더, 오일, 피부 외용제 등으로 제제화하는 경우에는, 동물

성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등을 담체로 사용하여 제제화할 수 있다.

- [0034] 본 발명의 약학적 조성물의 약학적 유효량, 유효 투여량은 약학적 조성물의 제제화 방법, 투여 방식, 투여 시간 및/또는 투여 경로 등에 의해 다양해질 수 있으며, 약학 조성물의 투여로 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 투여 대상이 되는 개체의 종류, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 질병의 증세나 정도, 성별, 식이, 배설, 해당 개체에 동시 또는 이시에 함께 사용되는 약물 기타 조성물의 성분 등을 비롯한 여러 인자 및 의학 분야에서 잘 알려진 유사 인자에 따라 다양해질 수 있으며, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 약학적 조성물의 투여는 하루에 1회 투여될 수 있고, 수회에 나누어 투여될 수도 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양으로 투여할 수 있으며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 데하이드로코스투스 락톤은 천연물로부터 유래된 화합물로서 독성 및 부작용이 없어 질환의 예방, 개선 또는 치료 목적으로 장기간 투여 시에도 안전하게 사용할 수 있다.
- [0037] 본 발명의 약학적 조성물의 투여 경로 및 투여 방식은 각각 독립적일 수 있으며, 목적하는 해당 부위에 상기 약학적 조성물이 도달할 수 있는 한, 특별한 제한 없이 임의의 투여 경로 및 투여 방식에 따를 수 있다. 상기 약학적 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여 방식으로 투여할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 약학적 조성물의 비경구 투여 방법으로는, 정맥 내 투여, 복강 내 투여, 근육 내 투여, 경피 투여 또는 피하 투여 등을 이용할 수 있으며, 상기 조성물을 질환 부위에 도포하거나 분무, 흡입하는 방법 또한 이용할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0039] 본 발명의 약학적 조성물은 단독으로 사용하여도 우수한 효과를 발휘할 수 있으나, 치료 효율을 증가시키기 위하여 추가적으로 호르몬 치료 요법, 화학 요법, 타 약물 병용 요법 등의 다양한 치료 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0040] 본 발명은 데하이드로코스투스 락톤 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 자궁세포 이상증식 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0041] 본 발명에서 사용되는 용어, “식품학적으로 허용되는 염”은, 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 식품학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 그 종류에 대한 구체적인 예는 상술한 “약학적으로 허용되는 염”의 예를 포함한다.
- [0042] 본 발명에서 사용되는 용어, “건강식품(health food)”은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강 보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 기능성식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용된다. 상기 식품은 유용한 효과를 얻기 위하여 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다.
- [0043] 본 발명에서 사용되는 용어, “기능식품(functional food)”은 특정보건의 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다.
- [0044] 본 발명자들은 본 발명의 데하이드로코스투스 락톤이 아포토시스를 유도하고 MCP-1, RANTES와 같은 케모카인의 발현을 억제하며, 또한, 자궁내막증 관련 대식세포의 M2 분극화를 억제하고, VEGF, MMP-2, MMP-9와 같은 자궁 질환 세포 또는 조직의 악성화 인자의 발현을 억제할 뿐만 아니라, 자궁내막증 세포가 분비하는 통증 관련 두뇌 자극호르몬(neurotrophine)인 BDNF(Brain-derived neurotrophic factor) 및 NGF(Nerve Growth Factor)의 발현 및 분비를 감소시키는 것을 최초로 규명하였으며, 이로써 데하이드로코스투스 락톤의 자궁세포 이상증식 질환에 대한 예방, 개선 또는 치료 용도를 최초로 규명하였다.
- [0045] 본 발명의 건강기능식품의 예방 또는 개선 대상 질환은 의학적으로 자궁세포 이상증식 관련 질환의 범주에 해당하는 한 구체적인 질환명이 특별히 제한되지 않으나, 보다 우수한 효능 발휘를 위하여 바람직하게는 자궁 근종, 자궁 선근증, 자궁내막증, 자궁 육종, 자궁 섬유화증, 자궁 비대증, 자궁경부염, 자궁경부 이형성증, 자궁경부 상피내 종양, 자궁경부암, 자궁내막암 및 자궁체부암으로 이루어진 군에서 선택되는 질환일 수 있으며, 보다 바

람직하게는 자궁내막증일 수 있다.

[0046] 본 발명의 건강기능식품은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 디히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(돌신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0047] 본 발명의 건강기능식품을 식품 첨가물로 사용할 경우, 이를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0048] 본 발명의 건강기능식품에 있어서, 데하이드로코스트루스 락톤 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염의 함량은 특별히 제한되지 않으며, 투여 대상의 상태, 구체적인 병증의 종류, 진행 정도 등에 따라 다양하게 변경될 수 있다. 필요한 경우, 식품의 전체 함량으로도 포함될 수 있다.

발명의 효과

[0049] 본 발명의 데하이드로코스트루스 락톤은 아포토시스를 유도하고 케모카인의 발현을 억제하며, VEGF, MMP-2 및 MMP-9와 같은 질환 세포 또는 조직에 대한 악성화 인자의 발현을 억제하는 효과가 탁월하여, 자궁내막증을 포함하는 자궁세포 이상증식 질환을 효과적으로 예방, 개선 및 치료하는 효능이 있다.

[0050] 또한, 본 발명의 데하이드로코스트루스 락톤은 천연 유래의 화합물로서 부작용이 없어 약학적 조성물, 건강기능식품 등으로 다양하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0051] 도 1은 데하이드로코스트루스 락톤(dehydrocostus lactone)의 처리에 따른 12Z 세포의 아포토시스(apoptosis) 유도 효능을 확인한 그래프이다.

도 2는 데하이드로코스트루스 락톤의 처리에 따른 12Z 세포의 MCP-1 및 RANTES 발현 억제 효능을 확인한 그래프이다.

도 3은 데하이드로코스트루스 락톤의 처리에 따른 THP-1 대식세포에서의 CD206 및 Trem-2 발현 억제 효능을 확인한 그래프이다.

도 4는 데하이드로코스트루스 락톤의 처리에 따른 THP-1 대식세포에서의 VEGF, MMP-2 및 MMP-9의 발현 억제 효능을 확인한 그래프이다.

도 5는 데하이드로코스트루스 락톤의 처리에 따른 12Z 세포에서의 BDNF 및 NGF 발현 및 분비 감소 효능을 확인한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0052] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0054] 실시예 1: 데하이드로코스트루스 락톤 처리에 따른 아포토시스(apoptosis) 유도 효능 확인

[0055] 12Z 자궁내막증 세포에 데하이드로코스트루스 락톤을 처리하여 세포 생존 능력이 억제된 세포를 거두어들이고 일음으로 냉각시킨 인산 완충 식염수(PBS)로 2회 세척하였다. 아포토시스 분석을 위한 아넥신 V 및 PI 이중 염색은 다음과 같은 방법으로 수행하였다.

[0056] 아넥신 V 및 PI 이중 염색을 위해, 세포를 100 μ L의 바인딩 버퍼(10mM HEPES/NaOH, 140 mM NaCl, 2.5 mM CaCl₂, pH 7.4)로 현탁시키고, 1.25 μ L의 FITC-결합된 아넥신 V 및 PI (50 mg/ml)로 염색 하였다. 상기 혼합물을 암실에서 실온에서 15분 동안 배양하고 FACS 카터-플러스 유동 세포 계측기로 분석하였다.

[0057] 실험 결과, 자궁내막증 세포에 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 경우, 아포토시스가 유도되어 자궁내막증 세포의 성장이 효과적으로 억제되는 것으로 확인되었다(도 1).

[0059] 실시예 2: 데하이드로코스투스 락톤 처리에 따른 케모카인(chemokine) 발현 억제 효능 확인

[0060] RNA 분리 및 실시간 RT-PCR 분석을 다음과 같은 방법으로 수행하였다.

[0061] 이지 블루(Easy Blue[®]) 키트 (인트론 바이오테크놀로지, 서울, 대한민국)를 사용하여 제조사의 지침에 따라, 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 12Z 세포의 RNA를 추출하였다. 총 RNA를 제1 가닥 cDNA (아머샴 파마시아 바이오텍(Amersham Pharmacia Biotech), 오크빌, 온타리오, 캐나다)로 제조사의 절차에 따라 역전사 시켰다. 합성된 cDNA를 중합 효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) 증폭의 주형으로 사용하였다. 실시간 PCR은 열순환기 다이스 실시간 PCR 시스템(Thermal Cycler Dice Real Time PCR System) (타카라(Takara), 도쿄, 일본)을 사용하여 수행하였다. SYBR Green 실시간 RT-PCR에 사용된 프라이머는 다음 [표 1]과 같다:

[0062] [표 1]

	센스	안티센스
MCP-1	5'-GCT CAT AGC AGC CAC CTT CA 3' (서열번호 1)	5'-GGA CAC TTG CTG CTG GTG AT-3' (서열번호 2)
RANTES	5'-CCT CAT TGC TAG GCC CTC T-3' (서열번호 3)	5'-GGT GTG GTG TCC CGA GGA AT-3' (서열번호 4)
GAPDH	5'-GAG TCA ACG GAT TTG GTC GT-3' (서열번호 5)	5'-TTG ATT TTG GAG GGA TCT CG-3' (서열번호 6)

[0063]

[0064] 해리 곡선 분석은 단일 피크를 나타내었으며, PCR은 다음 [표 2]와 같은 조건을 이용하여 50회 수행하였다:

[0065] [표 2]

단계	조건
1	95°C에서 5초간 변성
2	57°C에서 10초간 어닐링
3	72°C에서 20초간 신장

[0066]

[0067] 대상 유전자의 평균 주기 역치 (cycle threshold;Ct)는 3회 측정으로부터 계산하였고 대조군 유전자인 GAPDH의 평균 Ct로 정규화 하였다.

[0068] 실험 결과, 자궁내막증 세포에 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 경우, 케모카인의 일종인 MCP-1과 RANTES의 발현이 효과적으로 억제되는 것으로 확인되었다(도 2). 이는 데하이드로코스투스 락톤의 처리에 의해 케모카인의 발현이 억제되고, 결과적으로 대식세포(macrophage)가 자궁내막증 세포 주변으로 이동하는 것을 억제할 수 있음을 의미하는 것이다.

[0070] 실시예 3: 데하이드로코스투스 락톤 처리에 따른 자궁내막증 관련 대식세포(EAM)의 M2 분극화 억제 효능 확인

[0071] 데하이드로코스투스 락톤과 12Z 자궁내막증 세포를 키운 배지로 자극된 THP-1 대식세포 (12Z- 관련 대식세포:12Z-AM)에서 이지 블루 키트E를 사용하여 제조사의 지침에 따라, RNA를 추출하였다. 이후의 구체적인 실험방법은 실시예 2와 동일하며, RT-PCR에 사용된 프라이머는 다음 [표 3]과 같다:

[0072] [표 3]

	센스	안티센스
CD206	5'-ACC TCA CAA GTA TCC ACA CCA TC-3' (서열번호 7)	5'-CTT TCA TCA CCA CAC AAT CCT C-3' (서열번호 8)
Trem-2	5'-TTG CCC CTA TGA CTC CAT GA-3' (서열번호 9)	5'-CGC AGC GTA ATG GTG AGA GT-3' (서열번호 10)

[0073]

[0074] 실험 결과, 자궁내막증 세포에 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 경우, CD206 및 Trem-2가 억제되는 것을 확인할 수 있다(도 3). CD206 및 Trem-2는 대식세포가 M2로 분극화 될 때 발현이 증가하는 마커이며, 따라서 데하이드로코스투스 락톤에 의해 EAM의 M2 분극화가 억제되는 것을 알 수 있다. 이는 데하이드로코스투스 락톤의 처리에 의해 자궁내막증의 악성화가 억제될 수 있음을 의미하는 것이다.

[0076] **실시예 4: 데하이드로코스투스 락톤 처리에 따른 VEGF, MMP-2 및 MMP-9의 발현 억제 효능 확인**

[0077] 데하이드로코스투스 락톤과 12Z 자궁내막증 세포를 키운 배지로 자극된 THP-1 대식세포 (12Z- 관련 대식세포:12Z-AM)에서 이지 블루 키트를 사용하여 제조사의 지침에 따라, RNA를 추출하였다. 이후의 구체적인 실험방법은 실시예 2와 동일하며, RT-PCR에 사용된 프라이머는 다음 [표 4]와 같다:

[0078] [표 4]

	센스	안티센스
MMP-2	5'-ACC GCG ACA AGA AGT ATG GC-3' (서열번호 11)	5'-CCA CTT GCG GTC ATC ATC GT-3' (서열번호 12)
MMP-9	5'-CGA TGA CGA GTT GTG GTC CC-3' (서열번호 13)	5'-TCG TAG TTG GCC GTG GTA CT-3' (서열번호 14)
VEGF	5'-ATG GCA GAA GGA GGA GGG CA-3' (서열번호 15)	5'-ATC GCA TCA GGG GCA CAC AG-3' (서열번호 16)

[0079]

[0080] 실험 결과, 자궁내막증 세포에 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 경우, VEGF, MMP-2 및 MMP-9의 발현이 효과적으로 억제되는 것으로 확인되었다(도 4). VEGF, MMP-2 및 MMP-9는 자궁내막증 악성화 인자들로서, 상기 결과는 데하이드로코스투스 락톤의 처리에 의해 자궁내막증의 악성화가 억제될 수 있음을 의미하는 것이다.

[0082] **실시예 5: 데하이드로코스투스 락톤 처리에 따른 통증 관련 두뇌자극호르몬(neurotrophine)의 발현 및 분비 감소 확인**

[0083] 를 사용하여 제조사의 지침에 따라, 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 12Z 세포의 RNA를 추출하였다. 이후의 구체적인 실험방법은 실시예 2와 동일하며, RT-PCR에 사용된 프라이머는 다음 [표 5]와 같다:

[0084] [표 5]

	센스	안티센스
BDNF	5'-TGC CTT GCT CAA TGG AAG AG-3' (서열번호 17)	5'-GGG GAT CCA TTT TTC CAA GA-3' (서열번호 18)
NGF	5'-ACA TTA ACA ACA GTG TAT TCA AAC AGT AST TT-3' (서열번호 19)	5'-CGG CAC CCG CTG TCA-3' (서열번호 20)

[0085]

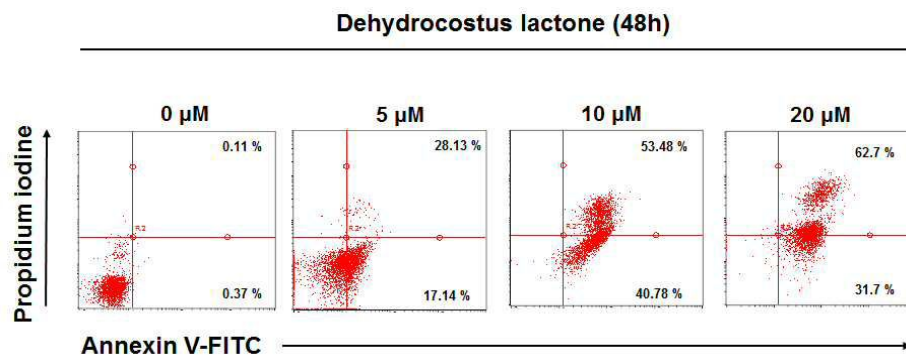
[0086] BDNF와 NGF의 분비량은 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 자궁내막증 세포를 키운 배지에서 인간 멀티-뉴트로핀 래피드(Human Multi-Neurotrophin Rapid™) ELISA 키트(바이오센시스(biosensis®))를 제조사의 지침에 따라서 측정하였다. 구체적으로, 코팅처리된 96 웰에 100μl의 스탠다드(BDNF 및 NGF)와 샘플을 분주하고, 90분동안 실온에서 배양시킨 후, 5회 세척하였다. 탐지 항체(Detection antibody)(BDNF 및 NGF)를 각 웰에 100μl씩 분주하고, 30분동안 실온에서 배양시킨 후, 5회 세척하였다. 1X 스트렙타비딘(streptavidin)-HRP 컨쥬게이트를 각 웰에 100μl씩 분주하고 30분동안 실온에서 배양시킨 후, 다시 세척하였다. 각 웰에 TMB(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) 기질(substrate)을 100μl씩 분주하고 빛을 차단시킨 상태로 10분 정도 배양시킨 후, TMB 정지액을 100μl씩 분주하였다. BDNF와 NGF의 분비량은 마이크로플레이트 분광 광도계(Spectra Max; Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 450 nm에서 측정하였다.

[0087] 실험 결과, 자궁내막증 세포에 데하이드로코스투스 락톤을 처리한 경우, 자궁내막증 세포가 분비하는 통증 관련 두뇌자극호르몬인 BDNF 및 NGF의 발현 및 분비가 감소되는 것으로 확인되었다(도 5).

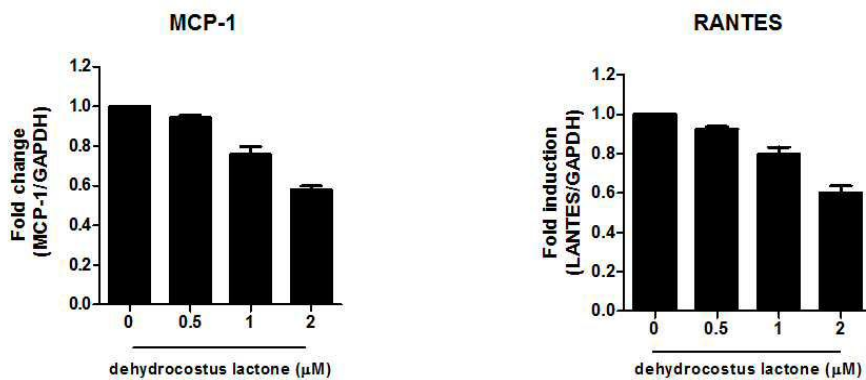
[0088] 본 명세서에는 본 발명의 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자이면 충분히 인식하고 유추할 수 있는 내용은 그 상세한 기재를 생략하였으며, 본 명세서에 기재된 구체적인 예시들 이외에 본 발명의 기술적 사상이나 필수적 구성을 변경하지 않는 범위 내에서 보다 다양한 변형이 가능하다. 따라서 본 발명은 본 명세서에서 구체적으로 설명하고 예시한 것과 다른 방식으로 실시될 수 있으며, 이는 본 발명의 기술 분야에 통상의 지식을 가진 자이면 이해할 수 있는 사항이다.

도면

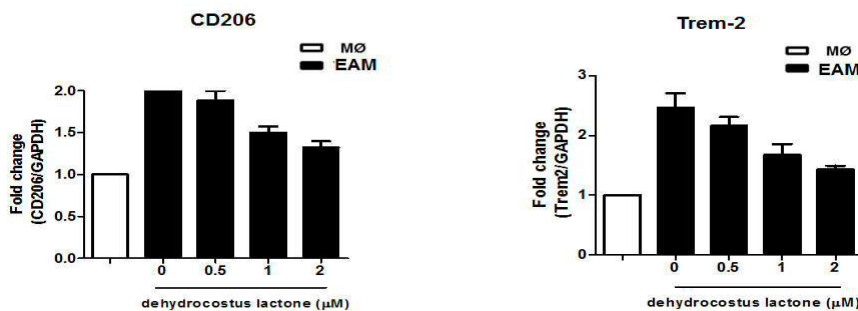
도면1



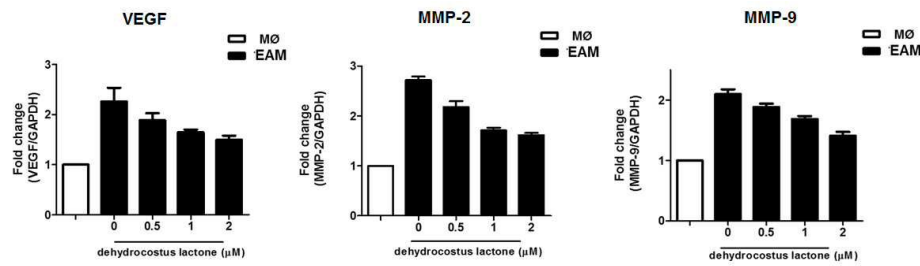
도면2



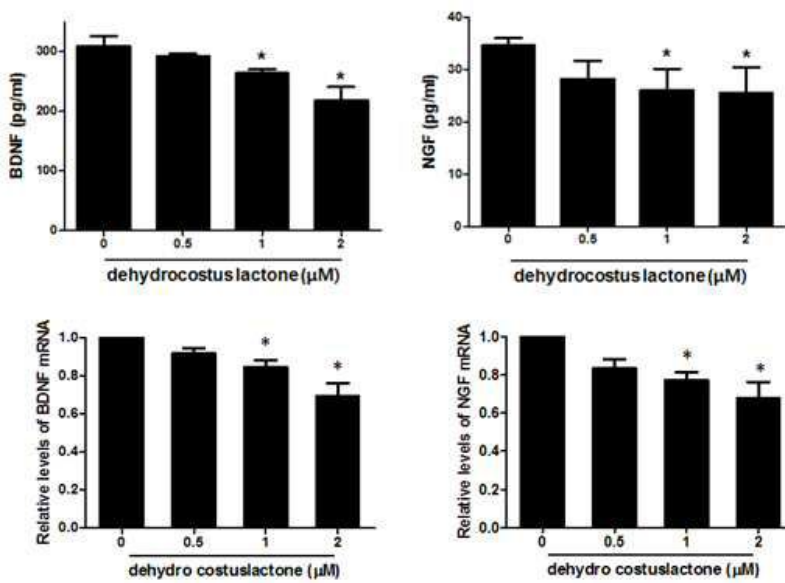
도면3



도면4



도면5



서열 목록

- <110> UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY
- <120> Composition for preventing, improving or treating uterine cell hyperplasia disease comprising dehydrocostus lactone
- <130> P17-153-KHU
- <160> 20
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 20
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> sense primer of MCP-1
- <400> 1
- gctcatagca gccaccttca
- <210> 2

<211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antisense primer of MCP-1

<400> 2

ggacacttgc tgctggatg 20

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sense primer of RANTES

<400> 3

cctcattgct aggcctct 19

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antisense primer of RANTES

<400> 4

ggtgtggtgt cccgaggaat 20

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sense primer of GAPDH

<400> 5

gagtcaacgg atttggcgt 20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antisense primer of GAPDH

<400> 6

ttgatttttg aggatctcg	20
<210> 7	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sense primer of CD206	
<400> 7	
acctcacaag tatccacacc atc	23
<210> 8	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> antisense primer of CD206	
<400> 8	
ctttcatcac cacacaatcc tc	22
<210> 9	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sense primer of Trem-2	
<400> 9	
ttgccctat gactccatga	20
<210> 10	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> antisense primer of Trem-2	
<400> 10	
cgcagcgtaa tggtagaggt	20
<210> 11	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> sense primer of MMP-2

<400> 11

accgcgacaa gaagtatggc 20

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antisense primer of MMP-2

<400> 12

ccacttgccg tcatcatcgt 20

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sense primer of MMP-9

<400> 13

cgatgacgag ttgtggtccc 20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antisense primer of MMP-9

<400> 14

tcgtagttgg ccgtggtact 20

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sense primer of VEGF

<400> 15

atggcagaag gaggaggcca 20

<210> 16

<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> antisense primer of VEGF
 <400> 16
 atcgcatcag gggcacacag 20
 <210> 17
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sense primer of BDNF
 <400>
 > 17
 tgccttgctc aatggaagag 20
 <210> 18
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> antisense primer of BDNF
 <400> 18
 ggggatccat tttccaaga 20
 <210> 19
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sense primer of NGF
 <400> 19
 acattaacaa cagtgtattc aaacagtast tt 32
 <210> 20

 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> antisense primer of NGF
 <400> 20
 cggcacccgc tgtca 15