

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2011-0069975 (43) 공개일자 2011년06월24일
(51) Int. Cl. <i>A61K 36/9066</i> (2006.01) <i>A61P 13/08</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2009-0126590 (22) 출원일자 2009년12월18일 심사청구일자 2009년12월18일	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내 (72) 발명자 이병철 서울특별시 강남구 도곡1동 967번지 경남아파트 101동 1101호 이상현 서울특별시 송파구 송파2동 삼익아파트 211동 905호 (74) 대리인 유수미	

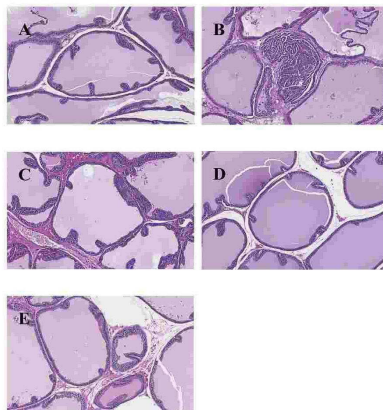
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 강황 추출물을 포함하는 약제학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 강황 추출물을 포함하는 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 강황 추출물은 전립선비대증에 탁월한 효과가 있으면서 고용량 투여시에도 간독성 및 신독성을 나타내지 않아 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

강황 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 강황 추출물이 강황을 알코올, 물, 또는 알코올과 물의 혼합용매로 추출한 것임을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 강황 추출물이 강황을 알코올과 물의 혼합용매로 추출한 것임을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 강황 추출물이 강황을 60 내지 90% 에탄올로 추출한 것임을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 5

(i) 강황을 알코올, 물, 또는 알코올과 물의 혼합용매로 추출하고 여과한 후 여과액을 감압 농축시키고 동결건조시키는 단계; 및

(ii) 동결건조된 추출물을 물로 재추출하고 원심분리하여 상청액을 수득하는 단계를 포함하여 제조된 강황 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 단계 (ii) 이후에 상청액을 여과, 감압 농축 및 건조시키는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 단계 (i) 및 (ii)의 추출이 85 내지 100℃에서 2시간 내지 5시간 동안 환류시켜 수행되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 강황 추출물을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 전립선비대증에 탁월한 효과가 있으면서 고용량 투여시에도 간독성 및 신독성을 나타내지 않는 강황 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 전립선비대증은 40대 남성의 20% 정도가 진단받으나 70대에는 90%까지 유병률이 증가하는 노년기 남성에서 가장 흔한 질환이다. 대표적인 증상으로 지연뇨, 약뇨, 야간뇨, 뇨실금, 반복적인 요로감염 등의 배뇨장애가 대다수이고, 급성 요로폐색 또는 비가역적인 신장 손상 등 심각한 합병증을 야기하는 경우는 매우 드물다. 그러나 고령사회로 진입한 우리나라의 경우, 남성 노인의 삶의 질에 좋지 않은 영향을 미치는 전립선비대증은 중요한 의료문제로 부각되고 있다.

[0003] 전립선비대증은 아직까지 원인이 분명하지 않으나 노화에 따른 성호르몬의 변화로 인한 전립선내 간질세포와 상피세포의 증식이 주된 특징이다. 혈중 테스토스테론(testosterone)의 농도는 노화에 따라 감소하나, 세포 내 5

α -환원효소(5α -reductase)의 활성은 오히려 증가되어 테스토스테론에서 디하이드로테스토스테론(DHT)으로 전환이 증가한다. DHT는 테스토스테론 보다 강력하게 전립선에 작용하여 표피성장인자(epidermal growth factor: EGF)와 섬유모세포성장인자(fibroblastic growth factor: FGF) 등의 성장인자를 통해 전립선 세포의 증식을 유도한다.

[0004] 전립선비대증의 서양의학적 치료는 크게 외과적 수술을 통해 물리적 폐색을 제거하는 방법과 내과적 약물을 통해 방광출구의 긴장도를 낮추어 배뇨증상을 경감시키거나 비대한 전립선을 줄이는 방법으로 구분된다. 전립선비대증의 증상이 개인별로 다양하여 수술이 반드시 필요한 경우는 소수에 지나지 않고, 대개의 환자가 고령이므로 외과적 수술에 대한 부담감이 크다. 한편 가장 많이 처방되는 알파고감신경억제제와 5α -환원효소억제제(5α -reductase inhibitor)인 피나스테라이드(finasteride)는 증상개선을 위해 지속적으로 약물을 복용해야 하고, 고감신경억제로 인한 혈압강하, 현훈감, 빈맥 등의 부작용 및 다양한 성기능 장애가 보고되어 있다. 이처럼 현재 사용되는 약물들은 전립선비대증의 증상을 다소 개선할 뿐 근본적인 전립선비대증의 치료에는 많은 한계가 있다.

[0005] 한의학에서 전립선비대증은 용폐의 범주에 속하는데, 최초로 《소문선명오기편(素問宣明五氣篇)》에서 “방광불리위룡, 불약위유뇨(膀胱不利爲，不約爲遺尿)”로 기술되었고, 발병원인은 폐비신(肺脾腎) 상중하조(上中下焦)의 기화불리(氣化不利)와 요로조색(尿路阻塞) 등이다. 과거와 달리 노년층의 비율이 높아져 발생한 전립선비대증은 기존의 처방된 약물이외에 폭넓은 선행연구를 통해 새로운 한약 활용이 필요하다.

[0006] 한편, 강황(薑黃)은 생강과에 속하는 다년생 숙근(宿根)초본인 커쿠마 롱가 엘.(*Curcuma longa* L.)의 뿌리를 건조한 것으로, 성미(性味)가 신고(辛苦), 온(溫)하여 파혈행기(破血行氣), 통경지통(通經止痛)의 효능이 있다고 알려져 왔다. 주성분인 커큐민(curcumin)은 강황이 노란색을 띠게 하는 물질로 소염작용과 항산화작용을 비롯한 항암효과가 있는 것이 밝혀지면서 많은 연구가 발표되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0007] 본 발명자들은 전립선비대증에 효과가 있으면서 부작용이 없는 새로운 약물을 개발하기 위해 예의 연구 검토한 결과, 강황 추출물이 전립선비대증에 탁월한 효과가 있고 간독성 및 신독성을 나타내지 않음을 알아내고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0008] 따라서, 본 발명의 목적은 강황 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0009] 본 발명은 강황 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0010] 상기 강황 추출물은 강황을 바람직하게는 알코올, 물, 또는 알코올과 물의 혼합용매, 보다 바람직하게는 알코올과 물의 혼합용매, 가장 바람직하게는 60 내지 90% 에탄올로 추출하여 제조할 수 있다.

[0011] 보다 구체적으로, 상기 강황 추출물은

[0012] (i) 강황을 알코올, 물, 또는 알코올과 물의 혼합용매로 추출하고 여과한 후 여과액을 감압 농축시키고 동결건조시키는 단계; 및

[0013] (ii) 동결건조된 추출물을 물로 재추출하고 원심분리하여 상청액을 수득하는 단계를 포함하여 제조할 수 있다.

[0014] 상기 단계 (i)에서 강황은 뿌리를 그대로 사용하거나 세절 또는 분말화하여 사용할 수 있다.

[0015] 상기 단계 (i) 및 (ii)의 추출은 실온 내지 100℃, 바람직하게는 약 85 내지 100℃에서, 1시간 내지 12시간, 바람직하게는 2시간 내지 5시간 동안 환류시켜 수행하는 것이 바람직하다.

[0016] 상기 단계 (ii) 이후에 상청액을 여과, 감압 농축 및 건조시키는 공정을 포함하는 것이 보다 바람직하다.

[0017] 본 명세서에서 알코올은 탄소수 1 내지 4개의 직쇄형 또는 분지형 알코올을 의미하며, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 부탄올 등이 포함되나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0018] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 경구적으로 (예를 들면, 복용 또는 흡입) 또는 비경구적으로 (예를 들면, 주사, 경피흡수, 직장투여) 투여될 수 있으며, 주사는 예를 들면, 정맥주사, 피하주사, 근육내주사 또는 복강내주사일 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 투여 경로에 따라, 정제, 캡슐제, 과립제, 파인 서브틸라(fine subtilae), 분제, 설하 정제, 좌약, 연고, 주사제, 유탁액제, 현탁액제, 시럽제, 분무제 등으로 제형화될 수 있다. 상기 여러 가지 형태의 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 각 제형에 통상적으로 사용되는 약제학적으로 허용되는 담체(carrier)를 사용하여 공지기술에 의해 제조될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체의 예는 부형제, 결합제, 붕해제(disintegrating agent), 윤활제, 방부제, 향산화제, 등장제(isotonic agent), 완충제, 피막제, 감미제, 용해제, 기제(base), 분산제, 습윤제, 현탁화제, 안정제, 착색제 등을 포함한다.

[0019] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 약제의 형태에 따라 다르지만, 본 발명의 추출물을 약 0.01 내지 100 중량%로 포함한다.

[0020] 본 발명의 약제학적 조성물의 구체적인 투여량은 치료되는 사람을 포함한 포유동물의 종류, 체중, 성별, 질환의 정도, 의사의 판단 등에 따라 다를 수 있다. 바람직하게는, 경구투여의 경우에는 하루에 체중 1kg당 활성성분 0.01 내지 1000 mg이 투여되고, 비경구투여의 경우에는 하루에 체중 1kg당 활성성분 0.01 내지 100 mg이 투여된다. 상기 총 일일 투여량은 질환의 정도, 의사의 판단 등에 따라 한번에 또는 수회에 나누어 투여될 수 있다.

효과

[0021] 본 발명에 따른 강황 추출물은 고환절제술 후에 테스토스테론의 투여로 유발된 전립선비대증 동물 모델에서 대조군에 비해 전립선의 부피를 줄이고 체중당 무게 비율을 감소시키며, 선포 세포 및 선포 상피세포의 형태를 정상화시키고 결합조직의 증식 및 섬유화를 감소시킨다. 또한, 강황 추출물은 고용량 투여시에도 간독성 및 신독성을 나타내지 않고, 주성분이 커큐민과 같은 비스테로이드 계열의 약물이므로 기존의 피나스테라이드와 같은 스테로이드 계열의 약물이 가지는 부작용이 없다.

[0022] 따라서, 본 발명에 따른 강황 추출물은 전립선비대증의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물에 효과적으로 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0023] 이하, 실시예에 의해 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오직 본 발명을 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업자에게 있어서 자명하다.

[0024] 실시예 1: 강황 추출물의 제조

[0025] 세절하여 건조한 강황 뿌리 1,000g을 1,500ml의 80% 에탄올에 넣어 2시간 동안 가열 추출하고, 냉각시킨 후 필터로 여과하였다. 여과액을 감압 농축하고 동결 건조시켰다. 동결 건조된 1차 추출물 1g씩을 10ml의 증류수에 용해시킨 후 95℃에서 2시간 동안 재차 가열 추출하였다. 추출물을 모아 14,000rpm에서 20분간 원심분리하여 상청액(上淸液)을 수거한 다음, 이 상청액을 직경 0.2 μ m의 필터로 여과 멸균하고 감압 농축한 후 건조시켜 강황 추출물을 수득하였다. 최종 수율은 49.0%였다.

[0026] 실험예 1:

[0027] 1. 전립선비대증 동물 모델의 제작

[0028] 체중 200 내지 220g의 수컷 스프래그-돌리 래트(Sprague-Dawley rat; 중앙실험동물, Korea)를 구입하여 12시간씩 낮과 밤이 교대되는 환경으로 40 내지 70%의 습도를 유지하며 우리(cage)에서 1주일간 사육하여 적응기를 거쳤으며, 먹이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

[0029] 적응기간을 마친 후 졸레틸(Zoletil 50; Virbac, France)을 1ml/kg의 용량으로 래트의 꼬리정맥(tail vein)을 통해 주사하여 마취시킨 다음, 래트의 음낭피부를 절개한 후 고환 상위부위의 정관(vas deferense), 혈관 및 신경조직을 봉합사로 묶은 후 고환과 부고환을 절제하였다. 고환절제 후 음낭피부를 봉합하고 1일간의 회복기를 거치게 하였다. 고환절제술 후 2일째부터 테스토스테론(Wako, Japan)을 옥수수유와 에탄올(9:1) 혼합액에 희석하여 30일 동안 20mg/kg의 용량으로 실험동물에 피하주사하여 전립선비대증을 유발하였다.

[0030] **2. 실험군 배정 및 실험 스케줄**

[0031] 실험군은 각 군당 6마리씩 정상군(normal group), 대조군(control group), 강황 0.5g 투여군(강황 0.5 군), 강황 1.0g 투여군(강황 1.0 군) 및 양성 대조군인 피나스테라이드 투여군(피나스테라이드군)의 5군으로 나누어 진행하였다.

[0032] 정상군은 가짜 거세(sham-castration)으로 음낭을 절개하여 고환부분을 확인한 후 어떠한 조직의 절제나 결박 없이 그대로 봉합하고, 실험기간 동안 어떤 약물도 투여하지 않았다. 대조군은 고환절제술 후 2일째부터 테스토스테론을 30일간 피하로 주사하면서, 생리식염수 5ml/kg만을 경구투여하였다. 강황 투여군은 고환절제술 후 2일째부터 테스토스테론을 30일간 피하로 주사하면서, 강황을 생리식염수에 현탁하여 0.5g/kg(강황 0.5 군) 및 1.0g/kg(강황 1.0 군)의 용량으로 존데(zonde)를 이용하여 1일 1회 경구로 주입하였다. 양성 대조군인 피나스테라이드 투여군은 고환절제술 후 2일째부터 테스토스테론을 30일간 피하로 주사하면서, 피나스테라이드(Sigma, USA)를 1mg/kg의 용량으로 생리식염수에 현탁하여 경구투여하였다.

[0033] 상술한 실험 스케줄을 하기 표 1에 요약하여 나타내었다.

[0034] 표 1

[0035]

실험군	래트의 수	테스토스테론	피나스테라이드	처리
정상군	6	무	무	비처리
대조군	6	2mg/100g(s.c.)	무	생리식염수 5ml/kg(p.o.)
강황 0.5	6	2mg/100g(s.c.)	무	강황 500mg/kg(p.o.)
강황 1.0	6	2mg/100g(s.c.)	무	강황 1000mg/kg(p.o.)
피나스테라이드	6	2mg/100g(s.c.)	1mg/kg(p.o.)	생리식염수 5ml/kg(p.o.)

[0036] * 각 괄호 안의 내용은 투여 경로를 의미함. s.c.: 피하주사; p.o.: 경구투여

[0037] **3. 전립선의 부피, 무게 및 체중당 무게 비율 측정**

[0038] 마지막 투약 다음날 래트를 희생시켜 전립선을 수술로 절제하였다. 전립선 주변의 지방 및 이물질을 제거한 후 전립선 상하 좌우의 최장길이와 최단길이를 측정하였고, 전립선의 부피는 다음의 공식을 이용하여 계산하였다.

[0039] 전립선의 부피(cm³) = $\frac{1}{2} (a \times b^2)$ (a 및 b는 각각 최장길이 및 최단길이를 나타낸다)

[0040] 전립선의 무게는 전립선의 크기를 측정한 다음 전립선 주위의 습기를 제거한 후 전자저울을 이용하여 측정하였다. 또한 체중당 전립선 무게 비율은 다음의 공식을 이용하여 계산하였다.

[0041] 전립선 무게 비율(mg/체중 100g) = 전립선의 무게(mg) × 100(g) / 체중(g)

[0042] 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0043] 표 2

[0044]

실험군	최단길이(mm)	최장길이(mm)	부피(cm ³)	무게(g)	무게 비율
정상군	1.4±0.1	1.4±0.1	1.30±0.28	1.02±0.14	0.304±0.046
대조군	1.6±0.2	1.7±0.1	2.24±0.56 ^{##}	1.30±0.10 ^{##}	0.396±0.018 ^{##}
강황 0.5	1.2±0.2	1.6±0.1	1.51±0.35 [*]	1.20±0.17	0.419±0.083
강황 1.0	1.2±0.2	1.6±0.1	1.50±0.12 ^{**}	1.18±0.20	0.340±0.054 [*]
피나스테라이드	1.2±0.1	1.4±0.1	1.20±0.17 ^{**}	1.30±0.18	0.419±0.066

[0045] 평균±S.D.; ^{##} p < 0.01 vs. 정상군, ^{*} p < 0.05 vs. 대조군, ^{**} p < 0.01 vs. 대조군.

[0046] 상기 표 2에서, 전립선 부피, 무게, 체중을 고려한 무게 비율 모두 대조군은 정상군에 비해 통계학적으로 유의

하게 증가되었다($p < 0.01$). 전립선 부피의 경우 대조군에 비해서 강황 투여군과 피나스테라이드군 모두 통계학적으로 유의한 감소가 관찰되었다($p < 0.05$). 전립선의 무게에서는 이러한 통계학적으로 유의한 차이가 없었으나, 전체 체중을 고려한 무게 비율에서는 강황 1.0g 투여군만이 대조군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$).

4. 전립선 조직의 조직병리학적 평가

크기와 무게를 측정한 각 전립선을 10% 중성 완충 포르말린 용액에 고정하여 70%, 80%, 95%, 100% 에탄올에 차례로 담가 탈수시킨 후, 파라핀 블록을 만들었다. 이후 마이크로톰(microtome)을 이용하여 4 μ m의 두께로 각 전립선 조직을 관상으로 절편한 다음 젤라틴 코팅 슬라이드에 부착시켰다. 작성된 조직절편들을 조직염색을 위하여 크실렌(xylene)에 담가 파라핀을 제거하고 100%, 95%, 80%, 70% 에탄올, 증류수에 차례로 담가 재수화(rehydration)시켰다. 재수화된 조직을 헤마톡실린-에오신(hematoxyline-eosin: HE)으로 염색하여 광학현미경 하에서 조직학적으로 평가하였다.

그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1에서 정상군(A)은 포상선(acinar gland)이 등근 형태로 위축 없이 잘 유지되고, 선포 상피세포(acinar epithelial cell) 역시 원주형의 정상적인 형태로 유지되며, 결합조직의 증식이나 섬유화는 관찰되지 않았다.

고환절제술 후 테스토스테론을 투여한 대조군(B)에서는 정상군에 비해 광범위한 선조직의 증식이 관찰되었고, 선포 상피세포는 타원형 및 선형의 형태로 확장되어 불규칙하게 분포되어 있으며, 결합조직은 심한 세포증식과 함께 여러 부위에서 섬유성 변성이 관찰되었다.

강황 투여군(C, D)에서는 포상선이 대조군보다 더 등근 형태로 약간의 위축이 관찰되었고, 선포 세포는 대조군보다 비교적 등근 형태로 관찰되었으며, 선포 상피세포는 입방형으로 세포핵과 분비선들의 형태 및 공간이 대조군에 비해 정상적인 형태로 유지되었다. 결합조직은 경도의 증식과 함께 섬유화 역시 대조군에 비해 감소된 양상을 보였다. 이러한 조직학적 변화 양상은 강황 0.5g 투여군(C)보다 강황 1.0g 투여군(D)에서 더욱 뚜렷이 관찰되었다.

피나스테라이드 투여군(F)에서는 포상선이 대조군에 비해 비교적 등근 형태로 정상군에 가까운 형태를 보였고, 선포 상피세포 역시 원주형으로 잘 유지되었으며, 결합조직은 경도의 증식과 섬유화가 관찰되었는데, 강황 1.0g 투여군과 유사한 양상이었다.

따라서 조직학적으로 강황이 피나스테라이드와 유사하게 전립선 선조직과 결합조직의 과증식을 억제함을 확인할 수 있었다.

5. 간 및 신 독성에 대한 생화학적 혈액검사

실험 시작 31일째에 래트의 심장에서 채혈하여 3,000rpm에서 20분간 원심분리한 다음 상청액을 얻어 -40℃에 보관한 후, AST(aspartate transaminase), ALT(alanine transaminase), γ -GTP(γ -glutamyltranspeptidase), BUN(blood urea nitrogen) 및 Cr(creatinine) 등의 생화학적 분석을 시행하였다.

그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

실험군	BUN(mg/dl)	Cr(mg/dl)	AST(U/ℓ)	ALT(U/ℓ)	γ -GTP(U/ℓ)
정상군	19.52 $\pm$ 2.62	0.53 $\pm$ 0.05	165.2 $\pm$ 24.1	52.2 $\pm$ 7.2	1.17 $\pm$ 0.41
대조군	20.15 $\pm$ 2.26	0.51 $\pm$ 0.08	146.0 $\pm$ 16.3	50.0 $\pm$ 6.8	1.38 $\pm$ 0.74
강황 0.5	16.98 $\pm$ 2.06	0.53 $\pm$ 0.08	132.3 $\pm$ 20.7	43.3 $\pm$ 5.3	1.50 $\pm$ 0.55
강황 1.0	20.10 $\pm$ 0.95	0.48 $\pm$ 0.08	129.3 $\pm$ 10.2	42.3 $\pm$ 5.4*	2.17 $\pm$ 0.98
피나스테라이드	19.60 $\pm$ 1.67	0.45 $\pm$ 0.06	114.2 $\pm$ 13.2**	51.0 $\pm$ 5.3	2.17 $\pm$ 0.75

평균 $\pm$ S.D.; * $p < 0.05$ vs. 대조군, ** $p < 0.01$ vs. 대조군

[0060] 상기 표 3에서, 정상군에 비해 대조군에서 통계학적으로 유의한 차이가 없었으며, 대조군과 강황 투여군 및 피나스테라이드 투여군은 AST와 ALT 항목에서 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되었지만 모두 정상 범위 이하였다. 따라서, 강황은 다량 투여시에도 인체내에서 간독성 및 신독성을 유발하지 않을 것으로 여겨진다.

도면의 간단한 설명

[0061] 도 1은 정상군(A), 대조군(B), 강황 0.5g 투여군(C), 강황 1.0g 투여군(D) 및 피나스테라이드 투여군(F)의 전립선 조직을 HE 염색하여 촬영한 광학현미경 사진(400배 확대)이다.

도면

도면1

