



등록특허 10-2773006



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년02월24일
(11) 등록번호 10-2773006
(24) 등록일자 2025년02월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/60 (2015.01) *A61K 33/04* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 35/60 (2013.01)
A61K 33/04 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7000881
- (22) 출원일자(국제) 2018년06월13일
심사청구일자 2021년06월09일
- (85) 번역문제출일자 2020년01월10일
- (65) 공개번호 10-2020-0078468
- (43) 공개일자 2020년07월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/037268
- (87) 국제공개번호 WO 2018/231938
국제공개일자 2018년12월20일

(30) 우선권주장
62/519,090 2017년06월13일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현
US20110195093 A1*
WO2012018597 A2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 정혜진

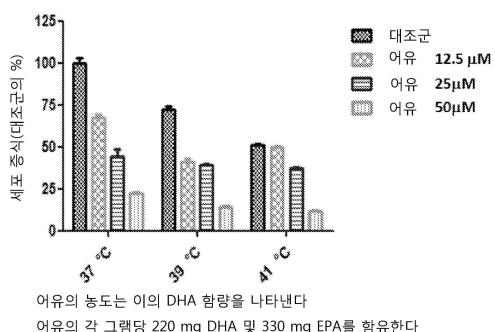
(54) 발명의 명칭 온열 요법을 강화시키기 위한 조성물 및 방법

(57) 요 약

암 세포 증식을 감소시키는 방법은 감작제를 투여하는 단계를 포함한다. 감작제는 암 세포에 대한 셀레늄, 어유 및 셀레늄과 어유의 조합물을 포함할 수 있다. 방법은 셀레늄 및 어유가 암 세포의 감작성을 각각 증가시키기에 효과적인 양으로 투여되며, 셀레늄과 어유의 조합물의 투여는 단독의 셀레늄 또는 어유보다 암 세포의 감작도를 상승적으로 증가시키는데 효과적인 양으로 투여됨을 고려한다. 방법은 37°C를 초과하는 온도로 암 세포를 추가로 노출시킨다.

대 표 도 - 도1

39°C 또는 41°C 2 h에서 MDA-MB-231 유방암 세포 온열요법
→ CO₂ 인큐베이터 72h → 세포 증식 체크



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

명세서

청구범위

청구항 1

암의 온열 요법의 효과를 보강하기 위한 감작제로서,

감작제가 셀레늄과 어유의 조합물을 포함하며,

상기 셀레늄 및 어유를 온열에 대한 암 세포의 감작성을 각각 증가시키는데 효과적인 양으로 제공하도록 의약이 제형화되며,

상기 셀레늄과 어유를 단독의 상기 셀레늄 또는 어유보다 온열에 대한 암 세포의 감작성을 상승적으로 증가시키는데 효과적인 양으로 제공하도록 의약이 제형화되며, 상기 양은 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 및 $12.5 \mu\text{M}$ 내지 $25 \mu\text{M}$ 농도의 어유이고, 온열 온도가 39°C 및 43°C 사이의 온도인 감작제.

청구항 2

제1항에 있어서, 암 세포가 유방암 세포, 방광암 세포, 또는 폐암 세포이며, 셀레늄은 셀레늄 효모 또는 셀레늄 효모로부터 유래된 펩티드 형태로 존재하는 감작제.

청구항 3

제1항에 있어서, 감작제가 하기에 제시된 복수의 성분을 포함하는 감작제:

성분	최소	최대	단위
말토덱스트린	10000	50000	mg
유장 단백질 분리물	5000	60000	mg
유장 단백질 농축물	1000	50000	mg
프룩토올리고당류/이눌린	40	15000	mg
과립화된 꿀	1000	9000	mg
귀리 섬유	500	15000	mg
천연 프렌치 바닐라 향료	500	20000	mg
대두 단백질	500	50000	mg
갈색화 분말 흑설탕	500	10000	mg
천연 바닐라 마스킹 향료	500	5000	mg
레시틴	200	10000	mg
우유, 무지방	50	5000	mg
쌀 단백질 분말	50	5000	mg
칼슘 카세이네이트	50	2000	mg
오일			
아마인유	100	7000	mg
카놀라유	100	7000	mg
보리지 오일	100	7000	mg
올리브유	100	7000	mg
순수 레몬 오일	100	1000	mg
순수 오렌지 오일	50	1000	mg
혼합 토코페롤	0.5	200	mg
비타민/무기질			
포타슘 포스페이트	200	1500	mg
칼슘 카르보네이트	100	5000	mg
콜린 바이타르트레이트	150	2500	mg
소듐 클로라이드	100	2000	mg
칼슘 포스페이트 트리베이직	100	2000	mg
아스코르브산	50	3000	mg

포타슘 클로라이드	50	2000	mg
마그네슘 옥사이드	50	500	mg
크롬 효모	30	3000	mcg
몰리브덴 효모	30	2000	mcg
이노시톨	10	5000	mg
아연 설페이트 모노하이드레이트	5	200	mg
건조 비타민 E 아세테이트	5	2000	IU
나아신아미드	5	500	mg
페릭 오르쏘포스페이트	3	100	mg
칼슘 판토테네이트	3	200	mg
망간 설페이트 모노하이드레이트	3	100	mg
베타 카로틴	1	100	mg
구리 글루코네이트	1	15	mg
비타민 D3	25	5000	IU
비타민 K2	2	1000	mcg
피리독신 HCl	0.5	200	mg
포타슘 아이오다이드	0.5	1500	mg
리보플라빈	0.5	1000	mg
티아민 하이드로클로라이드	0.5	2500	mg
건조 비타민 K1	1	500	mcg
비타민 A 아세테이트	500	100000	IU
엽산	100	10000	mcg
d-비오틴	10	10000	mcg
비타민 B12	1	3000	mcg
아미노산			
L-카르니틴	300	30000	mg
L-글루타민	500	60000	mg
L-아르기닌 염기	500	30000	mg
타우린	50	2000	mg
L-리신	50	2000	mg
알파 리포산	10	1000	mg
레스베라톨	15	1500	mg
코-엔자임 Q10	10	5000	mg
글리신	5	1000	mg

프롤린	5	1000	mg
박테리아 배양물			
락트. 아시도필루스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
비피도 비피дум (총 약 100억개)	2	500	mg
락트. 불가리쿠스 (총 약 100억개)	2	500	mg
비피도. 룽굼 (총 약 100억개)	2	500	mg
스트렙트. 써모필루스 (총 약 100억개)	2	500	mg
효소			
파파인	5	100	mg
펩신	5	100	mg
리파제	5	100	mg
브로멜라인	5	100	mg
판크레아틴 4X	0.5	100	mg
락타제	1	100	mg
베타인 HCl	3	100	mg
식물 생성물			
파인애플 주스 분말	2	500	mg
파파야 열매 분말	2	500	mg
케르세틴	30	3000	mg
EGCG	25	600	mg
OPC	15	500	mg
안토시아닌	15	5000	mg
엘라그산	10	300	mg
아스타잔틴	2	90	mg
푸코이단	20	1500	mg
버섯 제조물			
코르디셉스	5	6000	mg
가노더마 루시듐	15	10000	mg
시이타케	40	15000	mg
마이타케	30	15000	mg
터키 테일	30	15000	mg

청구항 4

pAMPK α 또는 COX-2 을 발현하는 암 세포를 조절하기 위한 감작제로서, 감작제가 셀레늄 및 어유의 조합물을 포함하는 감작제.

청구항 5

제4항에 있어서, 암 세포의 pAMPK α 함량이 증가되는 감작제.

청구항 6

제4항에 있어서, 암 세포의 COX-2 함량이 감소되는 감작제.

청구항 7

제4항에 있어서, 성분이 청구항 제3항에 제시된 양을 반영하도록 감작제가 제형화되는 감작제.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2017년 6월 13일에 출원된 미국 가출원 번호 62/519,090에 대한 우선권을 주장한다. 이들 및 모든 다른 참조된 외부 자료는 이들의 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다. 참조로서 포함되는 참고문헌에서의 용어의 정의 또는 사용이 본원에 제공된 상기 용어의 정의와 불일치하거나 상반되는 경우, 본원에 제공된 상기 용어

의 정의가 우선하는 것으로 간주된다.

배경기술

발명의 분야

[0003] 본 발명의 분야는 온열을 이용한 암 치료이다.

배경

[0005] 배경 설명은 본 발명의 이해에 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 본원에 제공된 임의의 정보가 선행 기술이거나 본원에 청구된 발명과 관련이 있거나, 구체적 또는 암시적으로 언급된 임의의 간행물이 선행 기술임을 인정하는 것은 아니다.

[0006] 온열(즉, 정상 체온을 초과하는 온도에 노출)은 다양한 암을 치료하는데 이용되었다. 어떤 경우에는 온열은 암 세포가 화학요법제 또는 방사선에 더욱 감작화되도록 하는데 사용되며, 이러한 치료법의 부속 역할을 한다. 다른 경우에는 온열은 암 세포를 완전히 사멸시키거나 손상시키는데 이용될 수 있으며, 그러나, 이러한 경우 사용된 온도는 정상 세포에 손상을 줄 위험이 있다.

[0007] 온열은 국소적, 영역적 또는 전신에 적용될 수 있다. 국소적 온열은 종양 부위로 제한되어 열 절제(thermal ablation)를 발생시키는 매우 높은 온도를 생성하는데 빈번하게 사용된다. 이는 전형적으로 얇은 바늘 또는 프로브에 접근가능하거나 신체 표면에 노출된 국소화된 종양으로 제한된다. 이러한 방식으로 치료될 수 있는 종양 크기가 또한 제한된다(일반적으로 약 2인치 이하로 제한됨). 영역적 온열은 특정 신체 영역, 예컨대 사지, 장기 또는 체강에 열을 제공한다. 이는 분리 관류(즉, 외부 장치를 사용하여 혈액을 가열하고 이를 영역 공급 순환계로 향하게 함) 또는 RF 또는 마이크로파 에너지의 적용을 통해 달성될 수 있다. 영역적 온열에 이용되는 온도는 너무 낮아서 단독으로 암 세포를 사멸시킬 수 없으며, 따라서, 이러한 기법은 화학요법 및/또는 방사선요법에 대한 부속으로서 일반적으로 사용된다.

[0008] 전신 온열에서, 환자의 체온은 (예를 들어, 가열된 블랑켓 또는 온수로의 침수를 이용한) 열의 적용에 의해 고열 수준으로 상승된다. 107°F 만큼 높은 온도가 이용된다. 이는 열을 모방하고, 특정 면역 세포의 단기 활성화를 제공한다는 이론이 있지만, 전신 온열은 화학요법에 대한 부속으로서 현재 사용되고 있다.

[0009] 다양한 감작제의 사용을 통해 온열의 성능을 개선시키고자 하는 시도가 있었다. 예를 들어, 감작화 화합물(예컨대, 화학요법제)을 트랜스페린에 컨쥬케이션시켜 암 세포에 국소화시키는 경향이 있는 전달 컨쥬케이트를 형성하는 것이 미국 출원 60/290681(Faulk)에 기술되어 있다. 그러나, 이러한 표적화를 특정화하는 방법, 달성되는 감작화 정도, 또는 단백질 컨쥬케이트 약물에 의해 생성되는 부작용은 분명하지 않다. 본원의 모든 간행물은 각각의 개별적 간행물 또는 특히 출원이 구체적 및 개별적으로 참조로서 포함되는 것으로 지정되는 것과 동일한 정도로 참조로서 포함된다. 포함된 참고문헌에서의 용어의 정의 또는 사용이 본원에 제공된 상기 용어의 정의와 불일치하거나 상반되는 경우, 본원에 제공된 상기 용어의 정의가 적용되며, 참고문헌에서의 상기 용어의 정의는 적용되지 않는다.

[0010] 또 다른 접근법이 미국 특허 출원 2004/0072775(Sobel and Gjerset)에 제안되어 있다. 이 특허 출원은 온열요법을 포함하여, 다양한 암 치료에 대한 감작성을 제공하는 변이된 유전자(특히, p53)의 기능을 재확립하기 위한 암 세포의 유전자 변형을 교시한다. 그러나, 이러한 선택적인 유전자 변형이 임상 환경에서 어떻게 달성되는지 또는 온열요법 단독에 대한 암 세포의 감작성을 증가시키는데 어느 정도로 효과가 있는지는 분명하지 않다.

[0011] 국제 특허 출원 공개 WO 2014/054884(Cheon et al.)는 온열 요법에서 자성 나노입자의 사용을 제안한다. 이러한 자성 나노입자는 고주파 자기장의 적용을 통해 감작 효과 및 열원 둘 모두를 제공하는 것으로 여겨진다. 종양 부위에서 이러한 입자의 국소화 필요성은 이러한 접근법의 활용성을 제한한다. 또한, 이러한 자성 나노입자의 도입의 부작용(특히, 반복적 또는 장기간)은 명확하지 않다.

[0012] 미국 특허 출원 공개 번호 US 12/833207(Lamb et al.)은 종양에 근접한 장소에 위치한 전도성 "버튼"의 사용을 제안한다. 전도성 버튼은 금속, 예컨대 금, 은, 알루미늄, 구리 또는 합금으로부터 제조될 수 있으며, 다양한 형상 및 크기로 실행될 수 있다. 천(Cheon) 등과 같이, 종양 부위에서 전도성 버튼의 국소화 필요성 및 전도성 버튼의 통한 열의 표적화된 적용은 이러한 접근법의 활용을 제한한다.

[0013] 추가의 또 다른 접근법에서, 미국 특허 공개 US 5,810,888(Fenn et al.)은 감열성 약물-함유 리포좀을 활성화시키기 위해 방사선 전달 시스템을 사용하여 방사선을 집중시켜 치료 부위를 가열시키는 열역학적 요법 시스템의

사용을 제안한다. 그러나, 이러한 접근법은 감열성 약물-함유 리포좀에 의해 전달된 특정 약물 또는 애주번트를 기재하지 않는다.

[0014] 따라서, 부가적 화학요법 및/또는 방사선요법의 사용 없이 온열요법을 사용하여 암 세포의 사멸을 초래하는데 효과적인 내약성이 우수하고/거나 비독성인 감작제가 여전히 요구되고 있다.

발명의 내용

발명의 개요

본 발명의 내용은 셀레늄, 어유 및/또는 어유와 조합된 셀레늄이 종양 세포의 증식을 감소시키는데 있어서 온열요법의 효과를 향상시키거나 보강하는 조성물 및 방법을 제공한다. 바람직한 구현예에서, 셀레늄은 셀레늄 효모, 셀레늄 효모로부터 유래된 아미노산 및/또는 셀레늄 효모로부터 유래된 펩티드 형태로 존재한다.

[0017] 본 발명의 내용은 암 세포에 셀레늄, 어유, 및 셀레늄과 어유의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 감작제를 투여하는 것을 고려한다. 셀레늄, 어유 또는 셀레늄과 어유의 조합물은 온열요법에 대한 표적 암세포의 감작성을 증가시키기 위해 적용에 따라 충분히 고용량으로 투여되는 것으로 고려된다. 바람직한 구현예에서, 셀레늄 및 어유 둘 모두는 단독의 어유 또는 셀레늄보다 열요법에 대한 암 세포의 감작성을 유리하게 더욱 증가시키기 위해 투여된다.

[0018] 본 발명의 개념의 한 구현예는 표 1에 열거된 바와 같은 제형화된 어유를 투여하고, 환자에서 온열을 유도하는 것을 포함하는 암 세포를 치료하는 방법으로서, 어유는 암 세포 증식을 감소시키는데 있어서 상승적 효과를 제공하는 양으로 제공되는 방법이다. 바람직한 구체예에서, 어유는 열요법의 개시 전에 환자에 제공된다. 다른 구현예에서, 어유는 열요법과 동시에 투여될 수 있다.

[0019] 본 발명의 개념의 또 다른 구현예는 표 1에 열거된 바와 같이 제형화된 셀레늄 효모 형태의 셀레늄을 투여하고, 환자에서 온열을 유도하는 것을 포함하는 암 세포를 치료하는 방법으로서, 셀레늄은 암 세포 증식을 감소시키는데 있어서 상승적 효과를 제공하는 양으로 제공되는 방법이다. 바람직한 구현예에서, 셀레늄은 열요법의 개시 전에 환자에 제공된다. 다른 구현예에서, 셀레늄은 열요법과 동시에 투여될 수 있다.

[0020] 본 발명의 개념의 바람직한 구현예는 표 1에 열거된 바와 같이 제형화된 셀레늄 효모 형태의 셀레늄과 어유 둘 모두를 투여하고, 환자에서 온열을 유도하는 것을 포함하는 암 세포를 치료하는 방법으로서, 어유 및 셀레늄은 암 세포 증식을 감소시키는데 있어서 상승적 효과를 제공하는 양으로 제공되는 방법이다. 바람직한 구체예에서, 어유 및 셀레늄은 열요법의 개시 전에 환자에 제공된다. 다른 구현예에서, 어유 및 셀레늄은 열요법과 동시에 투여될 수 있다.

[0021] 열요법은 체조직 온도를 정상 체온을 초과하게 증가시키는 임의의 온도에서 가해질 수 있음이 고려되며, 이는 산소 및 의약에 의한 암 세포의 더욱 우수한 관류를 허용함으로써 암 세포 증식을 감소시키는데 효과적이다. 그러나, 본 발명은 열요법이 37°C 내지 44°C 사이의 임의의 온도 또는 온도 조합(예를 들어, 가변 온도 온열 세션)에서 가해질 수 있음을 고려한다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 온열 상태에 대한 MDA-MB-231 유방암 세포의 감작에 대한 어유의 효과를 나타내는 막대 그래프이다.

도 2는 온열 온도에 대한 HT-29 결장암 세포의 감작에 대한 독립적인 및 조합된 어유 및 셀레늄의 효과를 나타내는 막대 그래프이다.

도 3은 온열 온도에 대한 BFTC-905 방광암의 감작화에 대한 독립적인 및 조합된 어유 및 셀레늄의 효과를 나타내는 막대 그래프이다.

도 4는 A549 폐암 세포의 증식의 셀레늄, 어유 및 셀레늄/어유 조합물의 효과를 나타내는 선 그래프이다.

도 5는 셀레늄 효모 및 어유에 의한 pAMPK α 및 COX-2 농도의 조절을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

[0023] 온열은 암 세포의 성장을 감소시키거나, 억제하거나 역행시키기 위해 종양과 같은 암-침범 조직에서 일반적으로

유발된다. 종종, 온열 요법은 항암 치료의 효능을 최대화시키기 위해 방사선요법과 화학요법을 수반한다. 그러나, 통상적인 온열 요법은 암 세포의 증식을 감소시키는데 있어서 온열의 효능을 향상시키기 위해 아주번트의 사용을 포함하지 않는다. 독립적인 또는 조합된 어유 및 셀레늄을 사용하는 온열 요법의 항암 효과를 향상시키기 위한 방법 및 조성물이 본원에 기재된다. 이러한 셀레늄은 셀레늄 효모, 셀레늄 효모로부터 유래된 아미노산 및/또는 셀레늄 효모로부터 유래된 웨티드 형태로 존재할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 약은 언급된 값의 ±5%로서 정의된다.

[0025] 본원에 사용된 바와 같은, 어유는 약 220 mg 도코사헥사엔산(DHA) 및 약 330 mg 에이코사펜타엔산(EPA)을 함유 할 수 있으며, 이는 몸체에서 염증을 감소시킬 수 있는 특정 에이코사노이드의 전구체이다. 바람직한 구체예에서, 어유는 약 110 mg 내지 약 330 mg의 DHA 및 약 160 mg 내지 약 500 mg의 EPA를 함유한다. 조합된 DHA 및 EPA는 바람직하게는, 24시간에 걸쳐 투여된 총 3그램을 초과하지 않음이 고려된다. 그러나, 또한, DHA 및 EPA는 열요법과 함께 사용되는 경우 암 세포의 증식을 감소시키기에 효과적인 임의의 양으로 존재할 수 있음이 고려된다.

[0026] DHA와 EPA의 조합물이 다양한 인자, 예컨대 오메가-3 지방산의 공급원, 오일 처리 및 오일 중 다른 성분의 양에 따라 약 8% 내지 약 80%의 어유 함량을 포함할 수 있음이 고려된다. 어유 공급원은 "기름진" 어류를 포함한다. 예를 들어, 청어, 스페인 고등어, 연어, 헬리엇, 참치, 멸치 및 정어리가 오메가-3 지방산의 농축된 공급원일 수 있다. 그러나, 임의의 해양 공급원이 오메가-3 지방산을 함유하는 어유의 공급원으로서 사용될 수 있음이 또한 고려된다. 일부 구현예에서, 어유는 예를 들어, 대구, 넙치 및 도미를 포함하는, 이들 조직에서 더 낮은 농도의 오메가-3 지방산을 갖는 어유로부터 공급될 수 있다. 일부 구현예에서, 오메가-3 지방산을 포함하는 어유 등가물이 기름진 어유 대신 직접적으로 해양 조류로부터 공급될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 개념의 제형에 사용하기에 적합한 EPA 및/또는 DHA를 포함하는 어유 등가물은 비-해양 공급원으로부터 수득될 수 있다. 예를 들어, EPA 및 DHA의 비-해양 공급원은 아마씨, 치아시드, 대마씨, 호두 및 대두를 포함할 수 있다.

[0027] 본원에 사용된 바와 같이, 셀레늄은 약 500 ng/ml 내지 약 1500 ng/ml의 농도로 투여되는 것이 고려된다. 셀레늄 염은 직접 투여되는 경우 독성일 수 있다. 본 발명의 내용은 셀레늄 효모로부터 셀레늄이 공급되는 것을 고려하며, 이는 셀레늄 풍부 배지에서 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*) 또는 또 다른 적합한 효모를 배양함으로써 생성된다. 셀레늄 풍부 배지에서 효모를 배양함으로써, 셀레늄은 특정 아미노산(예를 들어, 메티오닌, 시스테인)에서 황을 대체하여 셀레늄의 비독성 공급원을 제공할 수 있다. 동물 공급원으로부터의 셀레늄은 셀레노메티오닌, 셀레노시스테인 및/또는 메틸셀레노시스테인은 물론 이러한 아미노산이 혼입된 단백질 및 웨티드의 형태로 존재할 수 있는 것으로 고려된다.

[0028] 일부 구현예에서, 셀레늄은 또한 식물로부터 공급될 수 있다. 예를 들어, 생물농축 셀레늄은 식물로부터 공급될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 토양에서 발견된 가용성 셀레늄(예를 들어, 셀레네이트)은 셀레늄의 공급원일 수 있다. 추가의 다른 구체예에서, 셀레늄은 바닷물로부터 공급될 수 있다.

[0029] 놀랍게도, 본 발명자는 어유 및/또는 셀레늄 효모의 사용이 암 세포에 대한 온열의 효과를 보완할 수 있으며, 상승적(즉, 부가보다 더 큰) 방식으로 작용할 수 있음을 발견하였다. 도 1은 온열 상태에 대한 MDA-MB-231 유방암("BC") 세포의 감작에 대한 어유의 효과를 나타내는 막대 그래프이다. 유방암("BC") 세포는 대조군(37°C) 또는 온열(39°C, 41°C) 온도로 처리될 수 있다. 각 온도에서, 각 세트의 BC 세포를 (1) 0 μM (대조군 37°C), 12.5 μM, 25 μM, 및 50 μM의 농도의 어유에 노출시키고, (2) 2시간 동안 37°C, 39°C 또는 41°C로 유지시키고, (3) 72시간 동안 CO₂ 인큐베이터에서 유지시키고, (4) 대조군 BC 세포(대조군 온도 및 0 μM 어유 농도의 세포)의 세포 증식의 백분율로서 세포 증식에 대해 체크하였다. 비-대조군 농축 BC 세포 배양물에 투여된 어유는 그램 당 220 mg 도코사헥사엔산(DHA) 및 330 mg의 에이코사펜타엔산(EPA)을 함유하였다.

[0030] 37°C 초과의 온도에서 2시간 동안 유지시키고 어유를 투여하지 않은 BC 세포는 대조군 BC 세포 배양물의 백분율로서 세포 증식에서 뚜렷한 감소를 보였다. 39°C에서 대조군 BC 세포 배양물 대비 BC 세포 증식의 적어도 25%의 감소가 관찰되었다. 41°C에서, 대조군 BC 세포 배양물 대비 BC 세포 증식의 약 50%의 추가 감소가 관찰되었다.

[0031] 모든 시험 온도에서 2시간 동안 유지시키고, 12.5 μM 농도의 어유를 투여한 BC 세포는 다양한 온도에서 혼합된 결과를 갖는 BC 세포 증식의 전반적인 감소를 보였다. 37°C에서, BC 대조군 대비 약 30%의 감소가 관찰되었다. 39°C에서 BC 대조군 대비 약 60%의 감소가 관찰되었으며, 이는 상승적 효과를 나타낸다. 41°C에서, BC 대조군 대비 BC 세포 증식의 약 50%의 감소가 관찰되었다.

[0032] 모든 시험 온도에서 2시간 동안 유지시키고, 25 μM 농도의 어유를 투여한 BC 세포는 다양한 온도에서 혼합된

결과를 갖는 BC 세포 증식의 전반적인 감소를 보였다. 37°C에서, 대조군 BC 세포 배양물 대비 약 60%의 감소가 관찰되었다. 39°C에서 대조군 BC 세포 배양물 대비 약 65%의 감소가 관찰되었다. 41°C에서 대조군 BC 세포 배양물 대비 BC 세포 증식의 약 65%의 감소가 관찰되었다.

[0033] 모든 시험 온도에서 2시간 동안 유지시키고, 50 μM 농도의 어유를 투여한 BC 세포는 다양한 온도에서 혼합된 결과를 갖는 BC 세포 증식의 전반적인 감소를 보였다. 37°C에서, 대조군 BC 세포 배양물 대비 75% 초과의 감소가 관찰되었다. 39°C에서 대조군 BC 세포 배양물 대비 약 80%의 감소가 관찰되었다. 41°C에서 대조군 BC 세포 배양물 대비 BC 세포 증식의 약 85%의 감소가 관찰되었다.

[0034] 온열 상태(예를 들어, 39°C 또는 41°C) 단독으로의 MDA-MB-231 유방암 세포의 노출은 37°C 대조군 대비 세포 증식에서 중간의 감소를 발생시킨다. 제시된 바와 같이, 온열의 효과는 용량-의존적 방식으로 어유에 동시 노출됨으로써 뚜렷이 항상되었다(일부 경우에, 상승적 방식으로). 이용된 온도는 온수에서의 침수 및/또는 가열된 블랑켓 사용과 같은 통상적이며 비교적 단순한 수단에 의해 인체에서 안전하게 유도될 수 있는 온도 범위내에 있음을 이해해야 한다. 이들 온도는 온열요법에 사용될 수 있는 극한보다 훨씬 낮음을 이해해야 한다.

[0035] 이론으로 국한되지 않으면서, 본 출원인은 암 세포의 세포 증식을 감소시키는 어유의 효과가 적어도 부분적으로 상승된 온도와 조합되는 경우 특정 농도의 어유가 갖는 암 세포의 세포 주기에 대해 효과로 인한 것으로 여긴다.

[0036] 도 2는 온열 온도에 대한 HT-29 결장암 세포("HT 세포")의 감작에 대한 어유 및 셀레늄 단독의 및 조합된 효과를 나타내는 막대 그래프이다. 셀레늄, 어유 및 조합된 셀레늄과 어유의 감작화 효과는 온열 온도에 노출된 HT-29 결장 암 세포에서 분명하다.

[0037] HT 세포를 37°C(대조군) 또는 온열 온도(39°C 및 41°C)로 처리하였다. 각 온도에서, 각 세트의 HT 세포는 (1) 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 25 μM 농도의 어유, 또는 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 및 25 μM 농도의 어유 둘 모두로 처리하고, (2) 2시간 동안 37°C, 39°C 또는 41°C에서 유지시키고, (3) 72시간 동안 CO₂ 인큐베이터에서 유지시키고, (4) 대조군 HT 세포 배양물의 백분율로서 세포 증식에 대해 체크하였다. 셀레늄은 셀레늄 효모 형태로 투여하였다. 셀레늄의 공급원은 셀레늄 효모로만 제한되지 않으며, 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 투여될 수 있는 것으로 고려된다. 셀레늄 및/또는 어유의 부재하에, 39°C에서의 인큐베이션은 증식을 대조군 HT 세포 대비 약 20% 감소시켰으며, 41°C에서의 인큐베이션은 증식을 대조군 HT 세포 대비 약 45% 감소시켰다.

[0038] 모든 시험한 온도에서 2시간 동안 유지되고, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 25 μM 어유 농축물, 또는 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄과 25 μM 어유 둘 모두로 처리한 HT 세포는 HT 세포 증식에서 대조군 HT 세포 배양물 대비 전반적인 감소를 보였다.

[0039] 37°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄으로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 대비 약 10% 증식 감소를 발생시켰다. 39°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄으로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 대비 약 20% 증식 감소를 발생시켰다. 41°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄으로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 배양물 대비 약 60% 감소를 발생시켰다.

[0040] 37°C에서 25 μM 농도의 어유로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 대비 약 25% 증식 감소를 발생시켰다. 39°C에서 25 μM 농도의 어유로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 대비 약 35% 증식 감소를 발생시켰다. 41°C에서 25 μM 농도의 어유로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 대비 약 60% 증식 감소를 발생시켰다.

[0041] 37°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄과 25 μM 농도의 어유의 조합물로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 대비 약 30% 증식 감소를 발생시켰다. 39°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄과 25 μM 농도의 어유로의 HT 세포의 처리는 대조군 HT 세포 대비 약 35% 증식 감소를 발생시켰으며, 이는 상승적 효과를 나타낸다. 41°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 및 25 μM 농축물에의 노출은 대조군 HT 세포 대비 약 60% 증식 감소를 발생시켰다.

[0042] 도 2에 나타낸 결과는 세포를 어유와 셀레늄 둘 모두에 노출시킬 경우 HT 세포의 세포 증식을 감소시킨다는 놀라운 결과를 보여준다. 각각의 잇따른 상승된 온도에서, 전반적인 세포 증식이 감소된다. 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 또는 25 μM 농도의 어유와 조합되는 경우, 각각 세포 증식은 대조군 대비 감소된다. 놀랍게도, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 및 25 μM 농도의 어유 둘 모두의 조합물은 단독의 어유 또는 셀레늄보다 세포 증식을 더욱 많이 감소시킴으로써 상승적 효과를 보인다.

[0043] 도 3은 온열 온도에 대한 BFTC-905 방광암 세포(BFTC 세포)의 감작화에 대한 개별적인 및 조합된 어유 및 셀레늄의 효과를 나타내는 막대 그래프이다. 셀레늄, 어유 및 조합된 셀레늄과 어유의 감작화 효과는 온열 온도에 노출된 BFTC 세포에서 분명하다.

- [0044] BFTC 세포를 대조군(37°C) 또는 온열 온도(39°C 및 41°C)로 처리하였다. 각 온도에서, 각 세트의 BFTC 세포는 (1) 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 12.5 μM 농도의 어유, 또는 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 및 12.5 μM 농도의 어유 둘 모두로 처리하고, (2) 2시간 동안 37°C, 39°C 또는 41°C에서 유지시키고, (3) 72시간 동안 CO_2 인큐베이터에서 유지시키고, (4) BFTC 대조군의 백분율로서 세포 증식에 대해 평가하였다. 셀레늄은 셀레늄 효모 형태로 투여하였다. 또한, 셀레늄의 공급원은 셀레늄 효모로만 제한되지 않으며, 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 투여될 수 있는 것으로 고려된다.
- [0045] 모든 시험한 온도에서 2시간 동안 유지되고, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 12.5 μM 어유 농축물, 또는 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄과 12.5 μM 농도의 어유 둘 모두에 노출시킨 BFTC 세포는 BFTC 대조군 대비 BFTC 세포 증식에서 전반적인 감소를 보였다. 셀레늄 및/또는 어유의 부재하에, 39°C에서의 인큐베이션은 대조군 BFTC 세포 대비 증식을 약 13% 감소시켰으며, 41°C에서의 인큐베이션은 대조군 BFTC 세포 대비 약 28% 증식을 감소시켰다.
- [0046] 37°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄으로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 10% 증식 감소를 발생시켰다. 39°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄으로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 15% 증식 감소를 발생시켰다. 41°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄으로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 30% 증식 감소를 발생시켰다.
- [0047] 37°C에서 12.5 μM 농도의 어유로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 30% 증식 감소를 발생시켰다. 39°C에서 12.5 μM 농도의 어유로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 35% 증식 감소를 발생시켰다. 41°C에서 12.5 μM 농도의 어유로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 45% 증식 감소를 발생시켰다.
- [0048] 37°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄과 12.5 μM 농도의 어유로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 15% 증식 감소를 발생시켰다. 39°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄과 12.5 μM 농도의 어유로의 BFTC 세포의 처리는 BFTC 대조군 대비 약 35% 증식 감소를 발생시켰다. 41°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 및 12.5 μM 농도로의 노출은 BFTC 대조군 대비 약 50% 증식 감소를 발생시켰다.
- [0049] 도 3에 나타낸 결과는 세포를 어유와 셀레늄 둘 모두에 노출시킬 경우 BFTC 세포의 세포 증식을 감소시킨다는 놀라운 결과를 보여준다. 각각의 잇따른 상승된 온도에서, 전반적인 세포 증식이 감소된다. 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 또는 25 μM 농도의 어유와 조합되는 경우, 각각 세포 증식은 대조군 대비 감소된다. 37°C에서 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄 및 12.5 μM 농도의 어유로 처리된 BFTC 세포 배양물을 제외하고, 셀레늄과 어유의 혼합물을 어유 또는 셀레늄 단독보다 더 크게 세포 증식을 감소시킴으로써 상승적 효과를 보인다.
- [0050] 도 4는 A549 폐암 세포(A549 세포)의 증식의 셀레늄, 어유 및 셀레늄/어유 조합물의 효과를 나타내는 선 그래프이다.
- [0051] A549 세포를 0 μM (PBS), 25 μM , 50 μM , 또는 100 μM 어유에 노출시켰다. 각 농도의 어유에서, 각 세트의 A5 세포는 (1) 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄, 또는 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄에 노출시키고, (2) 2시간 동안 37°C, 39°C 또는 41°C에서 유지시키고, (3) 72시간 동안 CO_2 인큐베이터에서 유지시키고, (4) PBS의 백분율로서 세포 증식에 대해 체크하였다. 셀레늄은 셀레늄 효모 형태로 투여하였다. 또한, 셀레늄의 공급원은 셀레늄 효모로만 제한되지 않으며, 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 투여될 수 있는 것으로 고려된다.
- [0052] PBS보다 높은 농도의 어유에서 2시간 동안 유지시킨 각 세트의 A549 세포는 PBS 대비 A549 세포 증식의 전반적인 감소를 발생시켰다. 추가로, A549 세포에 대한 어유의 효과에 더하여, 증가 농도(즉, 0.5-4 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 셀레늄으로의 세포 배양물 처리는 셀레늄 농도가 증가함에 따라 대조군(PBS 단독) A549 세포 대비 세포 증식에 대한 효과를 보인다. 상승적 효과는 높은 어유 농도에서 특히 주목할만하며, 여기에서 심지어 낮은 농도의 셀레늄의 첨가도 (개별적인 또는 추가적인) 어유 또는 셀레늄 대비 세포 증식의 현저한 감소를 발생시킨다.
- [0053] 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄에서, A549 세포 배양물 각각의 세포 증식은 PBS의 약 20%로 감소되었다. 그러나, 0 내지 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 셀레늄에서, 각 증가하는 양의 어유 및 셀레늄에 대한 노출은 항-증식 효과를 입증하며, 더 높은 어유 및 셀레늄 농도가 더 낮은 어유 및 셀레늄 농도보다 세포 증식을 더 많이 감소시킨다.
- [0054] 표 1은 39°C 및 41°C에서 MDA-MB 유방암 세포(MDA-MB 세포)의 세포 주기 분포에 대한 어유 및 셀레늄의 효과를 보여준다.

	subG1	G0/G1	S	G2/M
대조군(39°C)	2.1%	66.24%	16.2%	17.55%
대조군(41°C)	4.8%	55.91%	22.07%	22.01%
셀레늄 1000 ng/ml (41°C)	13.9%	59.15%	24.36%	16.5%
어유 25 μM (41°C)	13.3%	52.55%	22.37%	20.08%
셀레늄 1000 ng/ml + 어유 25 μM (41°C)	28.94%	56.78%	22.13%	21.09%

[0055]

표 1

[0056]

어유의 농도는 이의 DHA 함량을 나타낸다. 각 그램의 어유는 220 mg DHA 및 330 mg EPA를 함유한다. 세포를 2시간 동안 온열 온도에서 인큐베이션시킨 후, 세포 주기 분석을 수행하기 전 72시간 동안 CO2 인큐베이터에 위치시켰다. 셀레늄은 셀레늄 효모 형태로 투여하였다. 제시된 바와 같이, 셀레늄, 어유 및 조합된 셀레늄과 어유의 사용은 온열 상태하에 이를 세포의 세포 주기 점유의 현저한 재분배로 이어진다. 구체적으로, 하위G1 상(이는 아폽토시스와 관련됨)의 세포 백분율은 증가된다.

[0057]

세포 주기 점유를 조절하는 것 이외에, 셀레늄, 어유 및 조합된 셀레늄과 어유는 암 세포에서 특정 단백질의 농도를 조절할 수 있다.

[0058]

도 5는 셀레늄 효모 및 어유에 의한 pAMPK α 및 COX-2 농도의 조절을 나타낸다. 증가된 AMPK 신호전달은 종양 세포에서 증식 및 전이를 예방하는 것으로 생각된다. COX-2는 고형 종양에서 세포 증식 및 아폽토시스를 조절하는 것으로 생각되며, COX-2 억제는 치료 모드로 조사되고 있다. 놀랍게도, 본 발명자는 셀레늄, 어유, 및 셀레늄/어유 조합물이 A549 폐암 세포에서 증가된 수준의 pAMPK α 및 감소된 수준의 COX-2를 발생시킴을 발견하였다 (GAPDH는 대조군으로서 포함됨). 이러한 효과는 온열과 조합되어 사용되는 경우 관찰된 보강 및/또는 상승적 효과에 기여할 수 있다.

[0059]

어유 및 셀레늄 효모를 포함하는 적합한 제형은 표 2에 제공된 영양 보충제 제형을 포함하며, 이는 다른 영양 성분과 함께 어유 및 셀레늄 효모 성분을 포함한다. 이러한 영양 보충제는 높은 수준의 허용도를 가지며, 통상적인 치료법과 조합되어 예상치 못한 유익한 항-종양 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 이와 같이, 본 출원인은 이러한 영양 보충제의 사용이 온열 요법의 유익한 향상을 제공할 수 있으며, 통상적인 접근법을 이용하여 용이하게 달성 가능하며 환자 사용에 안전한 비교적 안전한 더 낮은 온도에서 수행될 수 있다. 체온 및 국소 온도에 관한 이러한 안전 마진의 제공은 더 폭 넓은 허용성 및 이러한 비-독성 치료 모드의 사용으로 이어질 수 있다.

성분	최소	최대	단위
말토 텍스트린	10000	50000	mg
유장 단백질 분리물	5000	60000	mg
유장 단백질 농축물	1000	50000	mg
프룩토올리고당류/이눌린	40	15000	mg
과립화된 꿀	1000	9000	mg
귀리 섬유	500	15000	mg
천연 프렌치 바닐라 향료	500	20000	mg
대두 단백질	500	50000	mg
갈색화 분말 흑설탕	500	10000	mg
천연 바닐라 마스킹 향료	500	5000	mg
레시틴	200	10000	mg
우유, 무지방	50	5000	mg
쌀 단백질 분말	50	5000	mg
칼슘 카세이네이트	50	2000	mg
오일			
아마인유	100	7000	mg
카놀라유	100	7000	mg
보리지 오일	100	7000	mg
올리브유	100	7000	mg
어유	150	10,000	mg
순수 레몬 오일	100	1000	mg
순수 오렌지 오일	50	1000	mg
혼합 토코페롤	0.5	200	mg
비타민/무기질			
포타슘 포스페이트	200	1500	mg
칼슘 카르보네이트	100	5000	mg
콜린 바이타르트레이트	150	2500	mg
소듐 클로라이드	100	2000	mg
칼슘 포스페이트 트리베이직	100	2000	mg
아스코르브산	50	3000	mg

[0061]

포타슘 클로라이드	50	2000	mg
마그네슘 옥사이드	50	500	mg
셀레늄 효모	30	4000	mcg
크롬 효모	30	3000	mcg
몰리브덴 효모	30	2000	mcg
이노시톨	10	5000	mg
아연 설페이트 모노하이드레이트	5	200	mg
건조 비타민 E 아세테이트	5	2000	IU
나아신아미드	5	500	mg
페릭 오르쏘포스페이트	3	100	mg
칼슘 판토데네이트	3	200	mg
망간 설페이트 모노하이드레이트	3	100	mg
베타 카로틴	1	100	mg
구리 글루코네이트	1	15	mg
비타민 D3	25	5000	IU
비타민 K2	2	1000	mcg
피리독신 HCl	0.5	200	mg
포타슘 아이오다이드	0.5	1500	mg
리보플라빈	0.5	1000	mg
티아민 하이드로클로라이드	0.5	2500	mg
건조 비타민 K1	1	500	mcg
비타민 A 아세테이트	500	100000	IU
엽산	100	10000	mcg
d-비오틴	10	10000	mcg
비타민 B12	1	3000	mcg
아미노산			
L-카르니틴	300	30000	mg
L-글루타민	500	60000	mg
L-아르기닌 염기	500	30000	mg
타우린	50	2000	mg
L-리신	50	2000	mg
알파 리포산	10	1000	mg
레스베라톨	15	1500	mg
코-엔자임 Q10	10	5000	mg
글리신	5	1000	mg

[0062]

프롤린	5	1000	mg
박테리아 배양물			
락트. 아시도필루스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
비피도 비피дум (총 약 100억개)	2	500	mg
락트. 불가리쿠스 (총 약 100억개)	2	500	mg
비피도. 룽굼 (총 약 100억개)	2	500	mg
스트렙트. 써모필루스 (총 약 100억개)	2	500	mg
효소			
파파인	5	100	mg
펩신	5	100	mg
리파제	5	100	mg
브로멜라인	5	100	mg
판크레아틴 4X	0.5	100	mg
락타제	1	100	mg
베타인 HCl	3	100	mg
식물 생성물			
파인애플 주스 분말	2	500	mg
파파야 열매 분말	2	500	mg
케르세틴	30	3000	mg
EGCG	25	600	mg
OPC	15	500	mg
안토시아닌	15	5000	mg
엘라그산	10	300	mg
아스타잔틴	2	90	mg
푸코이단	20	1500	mg
버섯 제조물			
코르디셉스	5	6000	mg
가노더마 루시듐	15	10000	mg
시이타케	40	15000	mg
마이타케	30	15000	mg
터키 테일	30	15000	mg

[0063]

표 2

[0064]

표 2에 제시된 조성물은 항-염증 활성, 혈당 수준 저하, 콜레스테롤 저하, 및 항-종양 활성을 포함하는 다양한 생리학적 및 생화학 효과를 갖는 성분을 포함한다. 다른 성분은 상승된 수준으로 필요한 비타민, 무기질, 및 아미노산의 보충을 제공한다. 다른 성분(예를 들어, 효소, 레시틴)은 조성물의 성분의 소화 및 흡수에 도움을 준다. 이러한 조합은 개별 성분의 간단한 부가 효과를 초과하는 상승적 효과를 제공한다. 표 2에 제시된 조성물이 또한 맛좋음 및 수용성을 개선시키는 역할을 하는 특정 착향제(예를 들어, 흑설탕, 꿀, 바닐라 향료 및/또는 마스킹 제제)를 포함함이 인지되어야 한다. 특정 성분(예를 들어, 꿀, 흑설탕, 우유, 쌀 단백질, 카세인)은 향 및 칼로리 에너지 둘 모두를 제공할 수 있다. 본 발명자는 상기 기재된 착향제의 조합이 유효량의 영양 보충물의 섭취와의 순응을 제공하는데 효과적임을 발견하였다. 일부 구현예에서, 상기 착향제는 영양 보충물의 효과에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 배제될 수 있으며, 따라서 필수 성분만을 포함하는 기능성 영양 보충물을 제공할 수 있다.

[0066]

본 발명의 개념의 영양 보충물의 성분은 분말, 과립, 액체, 혼탁액, 및/또는 에멀젼으로 제공될 수 있음이 인지되어야 한다. 바람직한 구현예에서, 영양 보충물의 성분은 분말 및/또는 과립으로 제공된다. 유사하게, 본 발명의 개념의 바람직한 구현예에서, 영양 보충물의 성분은 표 2에 나타낸 바와 같은 상대량으로 제공된다. 일부 구현예에서, 영양 보충물의 성분은 단일한 혼합된 제형으로 제공된다. 다른 구현예에서, 영양 보충물의 성분은 별도로 분리되거나 패키징된(예를 들어, 성분 안정성에 도움이 되는 상이한 저장 조건을 제공하기 위함) 제형의 상이한 성분을 함유하는 키트 또는 유사한 어셈블리로 제공될 수 있다.

[0067]

표 2에 제시된 성분은 단일 제형(예를 들어, 환약, 정제, 캡슐, 분말, 액체, 혼탁액 등)으로서 제공될 수 있거

나, 상이한 제형(예를 들어, 환약, 정제, 캡슐, 분말, 액체, 혼탁액 또는 이의 조합물)으로 분리될 수 있다. 표 2에 제시된 양은 예시적이며, 보통 신장 및 다른 정상적인 건강한 성인에게 제공되는 전형적인 1일 투여량을 나타낸다. 이를 양은 체질량, 성별, 의학 상태 등의 차이를 고려하여 조정될 수 있다. 예를 들어, 40 킬로 이하의 비교적 작은 환자는 제공된 범위의 하한 이하로 제공되는 투여량으로부터 이득을 얻을 수 있으며, 반면 100 킬로그램 이상 체중의 비교적 큰 환자는 언급된 범위의 상한(또는 그 이상)으로 제공된 투여량을 필요로 할 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 1일 용량은 하루 전반에 걸쳐 다중 용량으로 분배될 수 있다. 이러한 구현예의 일부에서, 이러한 분배된 용량 각각의 조성은 동일할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 이러한 분배된 용량의 조성은 상이할 수 있으며, 단 이러한 용량의 총체는 필요한 보충을 제공한다.

[0068] 제형에서 발견되는 오일(예를 들어, 아마인유, 카놀라유, 보리지 오일(Borage Oil), 올리브유, 어유, 순수한 레몬 오일, 순수한 오렌지 오일, 혼합 토포페롤)은 적어도 소비자 등급이며, 바람직하게는 고도로 정제(95% 초과 순도)되는 것이 인지되어야 한다. 무기질 성분(예를 들어, 포타슘, 칼슘, 소듐, 마그네슘 절, 망간)이 임의의 안전하고 흡수 가능한 염(예를 들어, 할라이드 염, 포스페이트 염, 카르보네이트 염, 세페이트 염), 옥사이드, 또는 유기 복합체(예를 들어, 글루코네이트)로 제공될 수 있음이 또한 인지되어야 한다. 특정 금속(예를 들어, 크롬, 몰리브덴, 셀레늄)이 효모-함유 분말 또는 혼탁액 및/또는 효모에 의한 상기 금속의 대사의 결과로서 펩티드 또는 아미노산과의 복합체로의 공급을 포함할 수 있는 효모 성분의 형태로 공급되는 것이 또한 인지되어야 한다. 유사하게, 다양한 비-효모 진균(예를 들어, 코르디셉스(Cordyceps), 가노더마 루시둠(Ganoderma Lucidum), 시이타케(Shiitake), 마이타케(Maitake), 터키 테일(Turkey Tail))의 제조물이 상기 진균의 건조/동결건조된 자실체로부터 유래된 분말화 또는 과립 제조물을 포함할 수 있음이 인지되어야 한다.

[0069] 본 발명의 개념의 영양 보충물은 단위 용량으로서 약 1 mg/kg 체중 내지 약 100 g/kg 체중 범위의 양으로 제공될 수 있다. 상기 단위 용량은 1일 4회 내지 주 당 1회 범위의 스케줄로 제공될 수 있다. 영양 보충물은 하나 이상의 환약 또는 캡슐로 제공될 수 있다. 대안적으로, 영양 보충물은 섭취 전에 음식 또는 음료에 첨가되는 분말, 과립, 및/또는 액체 제형으로 제공될 수 있다. 일부 구현예에서, 영양 보충물은 음식 품목, 예를 들어, 음식 또는 캔디 바로 제공될 수 있다. 다른 구현예에서, 영양 보충물은 경구 섭취 및/또는 튜브 공급에 의한 공급에 적합한 용액, 혼탁액, 또는 음료로 제공될 수 있다.

[0070] 빛, 습기, 및/또는 산소를 배제하는 패키징이 영양 보충물의 유통 기한을 연장시키기 위해 사용될 수 있음이 인지되어야 한다. 유사하게, 본 발명의 개념의 영양 보충물은 유통 기한을 연장시키기 위해 흡습제(예를 들어, 실리카겔), 비-반응성 가스(예를 들어, N₂ 또는 희귀 가스)와 함께, 및/또는 진공하에서 패키징될 수 있다. 예를 들어, 상기 패키징은 단일 단위 용량으로 본 발명의 개념의 영양 보충물을 제공할 수 있고, 추가로 제조 및/또는 투여 빙도에 대한 지침을 제공할 수 있다.

[0071] 본 발명은 다양한 농도의 어유 및 셀레늄을 갖는 영양 보충제와 함께 고열을 이용하는 것을 고려한다. 온열요법은 암 세포를 치료 방법에 대해 감작화시키거나 암 세포를 직접적으로 사멸시키기 위해 초-정상 체온으로 체조직을 가열시키는 것으로 구성된다. 예를 들어, 온열요법은 4-12개 세션에 걸쳐 45-60분 동안 가해질 수 있다. 온열요법은 국소적으로, 영역적으로 또는 전신에 적용될 수 있으며, 마이크로파 에너지, 고주파 에너지, 초음파 에너지, 또는 초-정상 온도로 조직을 가열시키기에 충분한 에너지의 임의의 다른 공급원으로부터 공급될 수 있다. 일부 구현예에서, 열은 예를 들어, 종양 내부에 가열된 프로브를 삽입하는 등에 의해 암성 조직에 직접적으로 적용될 수 있다.

[0072] 일 구현예에서, 25 μM 농도의 어유를 함유하는 영양 보충물은 경구 섭취되도록 환자에 투여된다. 어유가 혈류 내로 흡수되게 하기에 충분한 시간을 기다린 후(예를 들어, 2시간에 걸쳐), 열을 암성 조직에 가하여 45분 기간 동안 초-정상 수준으로 조직의 온도를 증가시킨다. 예를 들어, 마이크로파 가열 요소가 종양 위 환자의 피부 표면에 국소적으로 적용될 수 있다. 또 다른 예에서, 프로브는 종양 내로 삽입되어 가열될 수 있다. 추가의 또 다른 예에서, 환자에게 전신 슈트를 입도록 지시할 수 있으며, 환자 몸은 39°C까지 가열될 수 있다.

[0073] 또 다른 구현예에서, 셀레늄 효모 형태의 1000 ng/ml의 셀레늄을 함유하는 영양 보충물은 환자에게 경구로 섭취하도록 투여될 수 있다. 셀레늄이 혈류 내로 흡수되게 하기에 충분한 시간을 기다린 후(예를 들어, 2시간에 걸쳐), 열을 암성 조직에 가하여 60분 기간 동안 초-정상 수준으로 조직의 온도를 증가시킨다. 선행 구현예에서와 같이, 마이크로파 가열 요소는 종양 위 환자의 피부 표면에 국소적으로 적용될 수 있다. 또 다른 예에서, 프로브는 종양 내로 삽입되어 가열될 수 있다. 추가의 또 다른 예에서, 환자에게 전신 슈트를 입게 지시할 수 있으며, 환자 몸은 39°C까지 가열될 수 있다.

[0074] 바람직한 구현예에서, 25 μM 농도의 어유 및 셀레늄 효모 형태의 1000 ng/ml의 셀레늄을 함유하는 영양 보충물

이 환자에게 경구로 섭취하도록 투여될 수 있다. 셀레늄이 혈류 내로 흡수되게 하기에 충분한 시간을 기다린 후 (예를 들어, 2시간에 걸쳐), 열을 암성 조직에 가하여 55분 기간 동안 초-정상 수준의 온도로 조직의 온도를 증가시킨다. 선행 구현예에서와 같이, 마이크로파 가열 요소는 종양 위 환자의 피부 표면에 국소적으로 적용될 수 있다. 또 다른 예에서, 프로브는 종양 내로 삽입되어 가열될 수 있다. 추가의 또 다른 예에서, 환자에게 전신 슈트를 입게 지시할 수 있으며, 환자 몸은 39°C까지 가열될 수 있다.

[0075] 개별적인 또는 조합된 어유 및 셀레늄은 임의의 각각의 농도로 암 세포를 어유 및/또는 셀레늄에 노출시키는데 효과적인 임의의 방법을 이용하여 투여될 수 있는 것으로 고려된다. 예를 들어, 어유 및 셀레늄은 암성 조직에 직접적으로 주입될 수 있다. 또 다른 예에서, 어유 및 셀레늄은 국소적으로 피부 또는 기관의 가장 바깥쪽 조직에 적용되어 암성 조직내로 흡수될 수 있다.

[0076] 또한, 열이 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 암성 조직에 적용될 수 있음이 고려된다. 예를 들어, 가열된 요소는 암성 조직 또는 암성 조직을 둘러싸는 조직에 직접적으로 적용되어 전도를 통해 열을 전달할 수 있다. 또 다른 예에서, 예를 들어, 적외선 가열 소자를 포함하는, 전자기 에너지 파동을 제공하는 가열 소자는 열을 전달하는데 사용될 수 있다.

[0077] 기재된 기법이 방사선 및/또는 화학요법제의 사용 없이 내약성이 우수한 물질을 사용하여 온열의 효과에 종양 세포를 감작화시키는 것을 포함하는 많은 유리한 기술적 효과를 제공한다는 것을 인지해야 한다.

[0078] 본원의 본 발명의 내용의 설명은 본 발명의 이해에 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 본원에 제공된 임의의 정보가 선행 기술이거나 본원에 청구된 발명과 관련이 있거나, 구체적 또는 암시적으로 언급된 임의의 간행물이 선행 기술임을 인정하는 것은 아니다.

[0079] 본원에 기재된 본 발명의 대안적 요소 또는 구현예의 그룹화는 제한으로서 해석되어서는 안된다. 각 그룹 구성원은 개별적으로 또는 그룹의 다른 구성원 또는 본원에서 발견된 다른 요소와의 임의의 조합으로 언급되고 청구될 수 있다. 그룹의 하나 이상의 구성원은 편의성 및/또는 특허성의 이유로 그룹에 포함되거나 그룹으로부터 삭제될 수 있다. 임의의 이러한 포함 또는 결실이 발생하는 경우, 본원에서 본 명세서는 변형된 그룹을 함유하는 것으로 간주되어 첨부된 청구범위에 사용된 모든 마커쉬 그룹의 서면 설명을 충족시키는 것으로 간주된다.

[0080] 하기 논의는 본 발명의 주제의 많은 예시적 구현예를 제공한다. 각각의 구현예가 본 발명의 요소의 단일 조합을 나타내지만, 본 발명의 내용은 개시된 요소의 모든 가능한 조합을 포함하는 것으로 고려된다. 따라서, 하나의 구현예가 요소 A, B, 및 C를 포함하고, 제2의 구현예가 요소 B 및 D를 포함하는 경우, 본 발명의 내용은 비록 명백히 개시되지 않더라도 A, B, C, 또는 D의 다른 나머지 조합을 포함하는 것으로 또한 간주된다.

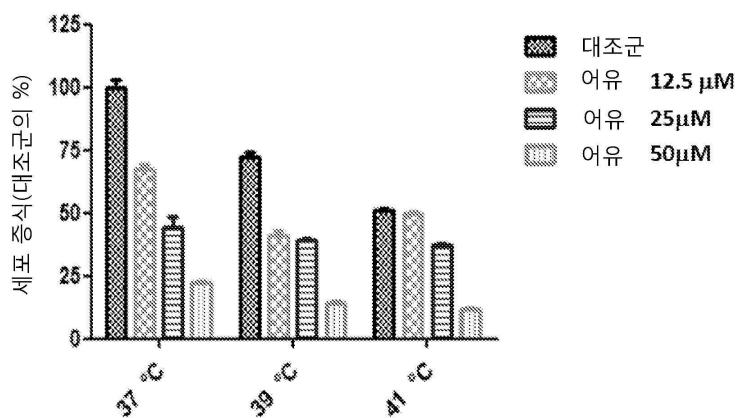
[0081] 이미 기재된 것 이외에 더 많은 변형이 본원의 본 발명의 개념을 벗어남이 없이 가능함이 당업자에게 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 내용은 첨부된 청구범위의 사상을 제외하고는 제한되지 않는다. 또한, 명세서 및 청구범위 둘 모두를 해석함에 있어서, 모든 용어는 문맥과 일치하는 가능한 가장 넓은 방식으로 해석되어야 한다. 특히, 용어 "포함하다" 및 "포함하는"은 배타적이지 않은 방식으로 요소, 성분 또는 단계를 언급하는 것으로 해석되어야 하며, 이는 언급된 요소, 성분 또는 단계가 명백히 언급되지 않은 다른 요소, 성분 또는 단계와 함께 존재하거나, 이용되거나, 조합될 수 있음을 나타낸다. 본 명세서의 청구범위가 A, B, C.... 및 N으로 구성된 군으로부터 선택되는 것 중 적어도 하나를 나타내는 경우, 상기 원문은 A + N, 또는 B + N 등이 아니라 상기 군으로부터 단지 하나의 요소를 필요로 해석되어야 한다.

도면

도면1

39°C 또는 41°C 2 h에서 MDA-MB-231 유방암 세포 온열요법

→ CO₂ 인큐베이터 72h → 세포 증식 체크



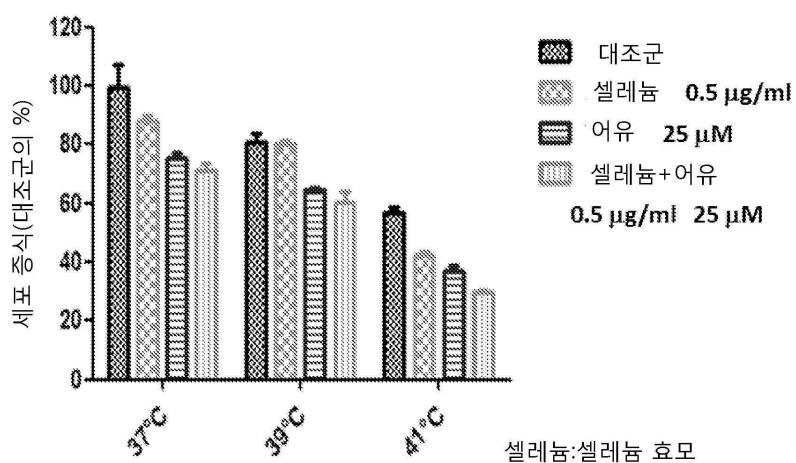
어유의 농도는 이의 DHA 함량을 나타낸다

어유의 각 그램당 220 mg DHA 및 330 mg EPA를 함유한다

도면2

39°C 또는 41°C 2 h에서 HT-29 결장암 세포 온열요법

→ CO₂ 인큐ベ이터 72h → 세포 증식 체크



셀레늄:셀레늄 효모

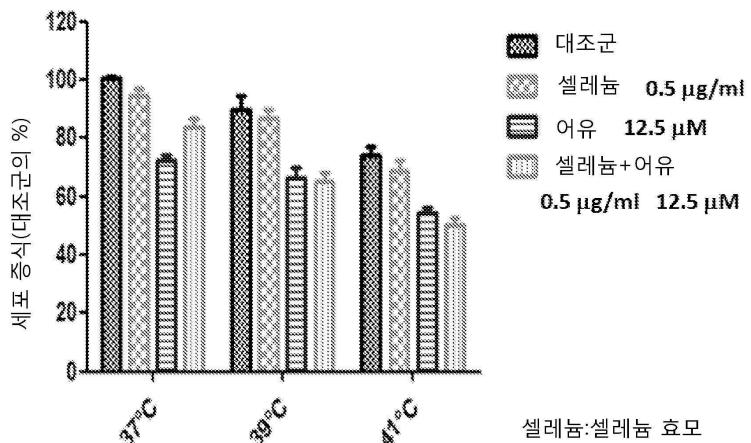
어유의 농도는 이의 DHA 함량을 나타낸다

어유의 각 그램당 220 mg DHA 및 330 mg EPA를 함유한다

도면3

39°C 또는 41°C 2 h에서 BFTC-905 방광암 세포 온열요법

→ CO₂ 인큐베이터 72h → 세포 증식 체크

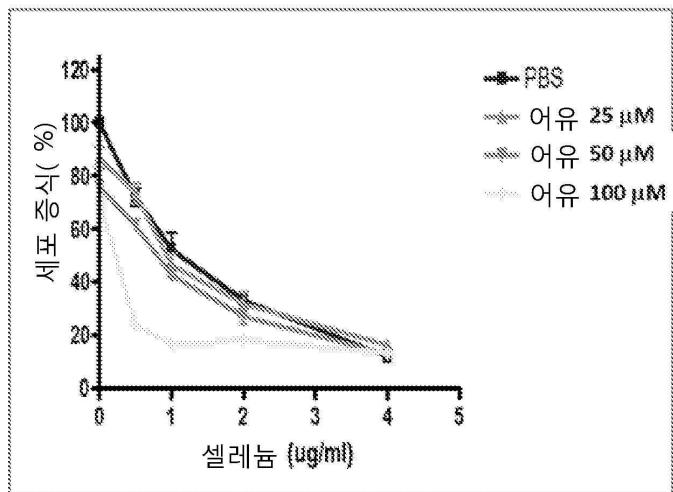


어유의 농도는 이의 DHA 함량을 나타낸다

어유의 각 그램당 220 mg DHA 및 330 mg EPA를 함유한다

도면4

72h 동안 셀레늄 및 어유로 처리된 A549 폐암 세포

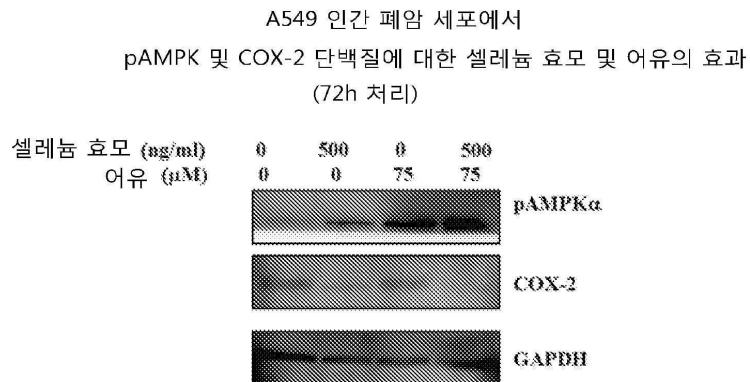


셀레늄·셀레늄 효모

어유의 농도는 이의 DHA 함량을 나타낸다

어유의 각 그램당 220 mg DHA 및 330 mg EPA를 함유한다

도면5



어유의 농도는 이의 DHA 함량을 나타낸다
어유의 각 그램당 220 mg DHA 및 330 mg EPA를 함유한다