



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0018143
(43) 공개일자 2023년02월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/49 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

A61K 49/00 (2006.01) A61P 17/16 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/49 (2013.01)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2021-0099951

(22) 출원일자 2021년07월29일

심사청구일자 2022년01월21일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

임채홍

서울특별시 마포구 연남로 30, 105동 1204호(연남동, 코오롱하늘채아파트)

(74) 대리인

위병갑

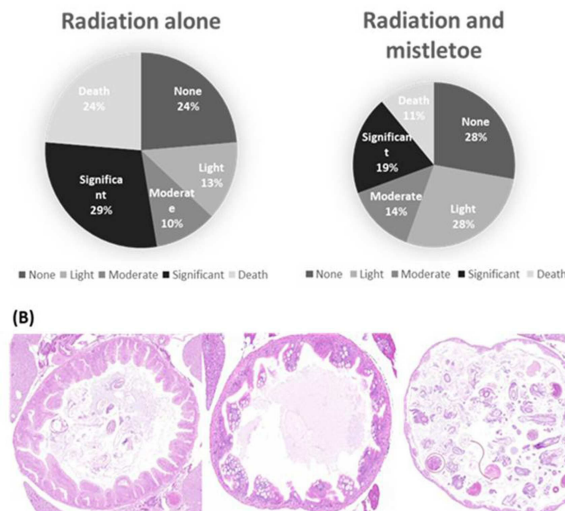
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **미슬토 추출물을 포함하는 방사선 독성 보호용 조성물 및 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제 스크리닝 방법**

(57) 요약

본 발명은 미슬토 추출물을 유효성분으로 포함하는 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 미슬토 추출물은 방사선 조사에 의해 유발된 창자 독성 및 창자 손상을 유의미하게 보호할 수 있는 효과가 있다. 또한, 별도의 임상 적용 검증 없이 제브라피쉬 성체의 특정 장기인 창자의 방사선 독성에 대한 후보 약물의 보호 효과를 확인하였으므로, 이러한 정보를 제공하는 제브라피쉬 성체를 방사선 보호제 스크리닝에 유용하게 이용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 49/0008 (2013.01)

A61P 17/16 (2018.01)

A61P 39/00 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711132350
과제번호	2019M2D2A1A01031560
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	원자력기초연구지원사업(도전창의 개인기초 중견연구자)
연구과제명	제브라피쉬 성체 모델을 이용한 미슬토 추출물의 장상피 (intestinal epithelium)에
대한 방사선 보호력 검증	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

미슬토(mistletoe) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 미슬토는 참나무속(Quercus) 나무를 숙주나무로 기생하는 미슬토인, 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 방사선 유발 독성 또는 손상은 방사선 조사에 의해 유발되는 창자 독성 또는 창자 손상인 것인, 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은, 방사선 치료시 방사선 피폭 전에 투여되는 것인, 약학 조성물.

청구항 5

제1항의 약학 조성물을 포함하는, 방사선 보호제.

청구항 6

제1항의 약학 조성물을 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화 방법.

청구항 7

미슬토 추출물을 유효성분으로 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 식품 조성물.

청구항 8

제브라피쉬에 후보 약물을 투여하는 단계;

제브라피쉬에 방사선을 조사하는 단계; 및

제브라피쉬 창자의 독성 또는 손상 수준을 평가하는 단계;를 포함하는, 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제의 스크리닝 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 제브라피쉬는 성체인 것인, 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제의 스크리닝 방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 방사선은 45 내지 55Gy의 방사선량으로 조사하는 것인, 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제의 스크리닝 방법.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 방사선 보호제는 방사선 조사에 의해 유발되는 창자 독성 또는 창자 손상을 보호 또는 완화하는 효과를 갖는 것인, 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미슬토 추출물을 유효성분으로 포함하는 방사선 유발 창자 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 조성물 및 제브라피쉬 성체를 이용하여 방사선으로 유발된 창자 독성에 대한 방사선 보호제를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 방사선을 다루는 산업현장에서의 방사선 노출사고 및 방사선 치료시 생기는 정상조직에 대한 부작용 등 방사선 피폭에 의한 생체 손상의 사례는 다양하다. 방사선은 암세포를 제거하거나 이의 성장을 저해하여 여러 조직의 암 치료와 암환자의 삶을 연장하는 목적 등으로 널리 사용되고 있으나, 장기 암 생존자들의 정상 조직에 손상을 유발하여 2차 암으로 발전될 수 있다. 방사선은 직접적인 조직 손상과 생체 물질의 이온화 현상에 의한 간접 손상을 유발하게 되며, 방사선에 의해 생성된 활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 간접적으로 DNA, 단백질 및 세포막 등의 세포손상과 세포사멸을 유도한다. 또한, 방사선이 조사될 경우 지질과산화에 의한 MDA(malondialdehyde) 형성 및 단백질 변형에 의해 간 및 신장과 같은 장기가 크게 손상될 수 있는 문제가 발생하게 된다.

[0003] 이에, 방사선 노출 시 손상 측정, 진단, 또는 치료를 위한 새로운 효율적인 의학적 기술을 개발하고, 방사선 치료 시 정상조직 손상보호를 통한 치료효율 증진기술에 이용하고자 연구가 진행되고 있으며, 방사선 피폭에 대한 약제로는 방사선 피폭 전에 적용하는 방사선 보호제(radioprotectants); 방사선 피폭이 진행되는 동안 혹은 피폭 후 단기간 안에 분명한 징후가 나타나기 전 적용되는 방사선 완화제(radiomitigators); 및 방사선 피폭에 의해 분명한 징후가 나타난 후 적용되는 방사선 치료제(therapeutic agent)로 구분된다.

[0004] 이론적으로, 방사선 치료의 선량을 무한히 증가시키면 모든 암이 치료 가능하나, 주변 정상장기의 부작용을 피할 수 없으므로 선량의 증가는 한계가 있다. 따라서, 암 치료를 저해하지 않으면서 정상장기의 부작용을 감소시키는 방사선보호제(radioprotectants)가 존재한다면 치료 효율을 비약적으로 증가시키고 난치, 불치의 암도 치료 가능하나, 대부분의 방사선보호제는 활성화기를 무력화시키는 것을 주요 기전으로 하기 때문에, 암 치료를 저해할 가능성이 있어 임상적으로 널리 사용되지 않는다.

[0005] 방사선 보호제의 대표적인 예로서 아미노티올(aminothiols) 유도체인 아미포스틴(Amifostine; Ethiol R)이 있다. 아미노티올은 시스테인(cysteine)의 화학 유사체로서 자유라디칼 소거제(free radical scavenger) 역할을 하는 방사선 보호제이다. 그 중 1969년에 알려진 아미포스틴(amifostine)(WR-2721)은 The Walter Reed Army Institute of Research program에 의해 개발되었고, 현재까지 4,000개가 넘는 아미노티올 유도체 화합물들이 개발되고 테스트되고 있다.

[0006] 아미포스틴은 정상조직은 방사선으로부터 보호하고, 고형암(solid tumors)은 보호하지 않기 때문에 종양 방사선 치료에 사용되고 있다. 또한, 두경부암 치료 시 가장 빈번하게 발생하는 방사선 치료 부작용인 구강건조증의 치료제로서 아미포스틴은 최초로 FDA 승인을 받은 약물이다. 현재 항암치료 후 많은 환자들에게 사용되고 있으나, 항산화 효과에 의한 효능이 약하고, 메스꺼움, 구토 및 저혈압증 등 부작용이 나타나 한정적으로 사용되고 있다.

[0007] 한편, 제브라피쉬(zebrafish)는 열대성 어류의 한 종류로 실험 동물모델로 널리 이용되고 있다. 제브라피쉬는 척추동물로 쥐, 랫트와 같은 동물모델을 대체할 수 있음은 물론 이들 동물에 비해 치어(배아, embryo)가 투명하고 48시간의 짧은 발생기간을 가져 실시간 관찰이 가능하다. 특히, 기관 특이적으로 형광단백질과 같은 생물표지자를 발현시키면 생체에서 실시간으로 특정기관의 관찰이 가능하고 배아 단계에서는 세포 수준의 추적이 가능한 장점이 있다. 더불어, 체외수정을 하기 때문에 수정란의 난황으로 손쉽게 유전 물질을 주입하여 유전자를 조작하는 것이 용이하다. 이러한 치어는 생장력이 뛰어나고 약 및 방사선에 감수성이 매우 높으므로 후보약물을

일차적으로 선별하는데는 유의하나, 실제 임상에서 사용되려면 특정 장기의 방사선독성을 보호할 수 있는지의 여부를 별도로 검증해야 할 필요가 있다.

- [0008] 본 발명자들은 복강 내 암 항암방사선치료시 발생할 수 있는 창자 손상을 줄여 줄 수 있는 물질을 연구한 결과, 제브라피쉬 성체를 이용하여 방사선에 대한 창자 독성 여부 및 방사선 보호 물질의 효과를 검증할 수 있음을 확인하였으며, 미슬토 Q의 추출물이 방사선에 의한 창자 독성을 보호하는 우수한 방사선 보호 효과가 있음을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0010] (특허문헌 0001) 공개특허 10-2021-0062399

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명의 목적은 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 다른 목적은 방사선 보호제를 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화 방법을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 목적은 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 목적은 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 상기 목적을 달성하기 위하여,
- [0017] 본 발명은 미슬토(mistletoe) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 약학 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 미슬토는 참나무속(Quercus) 나무를 숙주나무로 기생하는 미슬토일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 방사선 유발 독성 또는 손상은 방사선 조사에 의해 유발되는 창자 독성 또는 창자 손상인 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 조성물은, 방사선 치료시 방사선 피폭 전에 투여되는 것일 수 있다.
- [0021] 나아가, 본 발명은 미슬토(Abnoba viscum) 추출물을 유효성분으로 포함하는 방사선 보호제를 제공한다.
- [0022] 더 나아가, 본 발명은 상기 약학 조성물을 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화 방법을 제공한다.
- [0023] 또한, 본 발명은 미슬토 추출물을 유효성분으로 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 식품 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한, 본 발명은 제브라피쉬에 후보 약물을 투여하는 단계; 제브라피쉬에 방사선을 조사하는 단계; 및 제브라피쉬 창자의 독성 또는 손상 수준을 평가하는 단계;를 포함하는, 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0025] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 제브라피쉬는 성체인 것일 수 있다.
- [0026] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 방사선은 45 내지 55Gy의 방사선량으로 조사하는 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 방사선 보호제는 방사선 조사에 의해 유발되는 창자 독성 또는 창자 손상을 보호 또는 완화하는 효과를 갖는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0029] 본 발명의 미슬토 추출물은 방사선 조사에 의해 유발된 창자 독성 및 창자 손상을 유의미하게 보호할 수 있는 효과가 있으며, 본 발명의 스크리닝 방법은 제브라피쉬 성체를 이용함으로써 별도의 임상 적용 검증 없이 특정 장기인 창자의 방사선 독성에 대한 보호 효과를 갖는 후보약물의 선별 및 검증이 가능한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1A는 제브라피쉬 성체 모델을 이용하여, 방사선단독군(Radiation alone) 및 미슬토처리군(방사선과 미슬토 추출물 처리군, Radiation and mistletoe)의 방사선에 의한 창자 독성 정도를 확인한 결과를 분류하여 비율로 나타낸 그래프이다.

도 1B는 제브라피쉬 성체 모델의 방사선에 의한 창자 독성 정도의 분류에 따른 제브라피쉬 성체모델의 창자 조직 형태를 H&E 염색을 수행하여 촬영한 이미지이다: 좌측부터 light (경도), moderate (중등도), significant (심각한) 한 창자 독성.

도 2는 제브라피쉬 성체 모델을 이용하여, 방사선단독군(Group 1) 및 미슬토처리군(Group 2)에서 방사선에 의한 심각한 창자 독성 또는 사망의 비율을 카플란-마이어 추정방법을 통해 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0033] 본 발명에서 사용되는 모든 용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료 등이 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다.

[0034] 본 명세서에서 “방사선 보호(radioprotection)”란 방사선 피폭 전에 생체에 적용하여 방사선 피폭에 의해 유발되는 임의의 방사선 유발 독성 또는 손상을 억제 또는 경감하는 것을 의미한다.

[0035] 본 명세서에서 “방사선 완화(radiomitigation)”란 방사선 피폭의 분명한 징후가 나타나기 전에 방사선 피폭후 단기간 내에 생체에 적용하여 방사선 피폭에 의해 유발되는 임의의 방사선 유발 독성 또는 손상을 억제 또는 경감하는 것을 의미한다.

[0036] 상기 “단기간 내”란 방사선 피폭에 의한 분명한 손상 징후가 나타나기 전에 적용하여 임의의 방사선 유발 손상을 억제 또는 경감할 수 있는 정도의 기간을 의미한다. 일 구체예에서, 상기 단기간 내는 방사선 조사 후 36 시간 이내, 또는 24시간 이내, 또는 12시간 이내이며, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0037] 상기 “방사선 유발 독성 또는 손상”은 방사선 피폭에 의해 유발되는 임의의 생체 내 독성 또는 생체 손상을 의미하며, 예를 들면 방사선 피폭에 의한 혈관 독성, 혈관 손상, 피부 독성, 피부 손상, 위장관 독성, 위장관 손상, 조직 염증, 조직 섬유화 등을 포함하며, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 창자 독성 또는 손상을 의미하는 것일 수 있다. 방사선 유발 독성 또는 손상은 방사선 피폭, 흡연 또는 분진이 많은 작업환경 등에 의해 유발된 것일 수 있고, 암에 대한 방사선 치료 시, 정상조직까지 피폭되어 발생된 방사선 치료 부작용이거나 항암치료를 위한 약물요법의 부작용일 수 있다.

[0039] 본 발명자들은 미슬토 추출물이 창자에 대한 방사선 유발 독성을 줄일 수 있는 방사선 보호(radioprotective) 효과가 있음을 최초로 밝히었으며, 또한, 제브라피쉬 성체(adult) 창자의 방사선에 대한 반응 및 방사선보호제의 효과에 대한 정보를 최초로 상당량 제공함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0041] 일 측면에서, 본 발명은 미슬토(mistletoe) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대

한 보호 또는 완화용 약학 조성물에 관한 것이다.

- [0042] 미슬토(mistletoe, 학명: *Viscum album*)는 다양한 종류의 숙주나무에 반기생하는 식물이며, 숙주나무의 종류에 따라 Abnoba Viscum A(전나무), M(사과나무), F(서양물푸레나무), Q(떡갈나무)로 나뉜다. 우리나라에서는 '겨우살이'라고 하며, 한방에서는 '상기생'이라고도 불린다.
- [0043] 본 발명의 약학 조성물에 있어서, 상기 미슬토는 참나무속(*Quercus*) 나무를 숙주나무로 기생하는 미슬토일 수 있다.
- [0044] 미슬토 추출물은 항암제치료 부작용보호제로 사용되는 민간약제이나, 방사선치료 보호능력이나 특히 특정 장기 에 대한 보호능력에 관한 효능은 보고된 바 없다. 본 발명자들은 국내에 시판되는 미슬토 추출물 4종(Abnoba Viscum A, F, M, Q) 중 특히 Q가 미국 FDA에 승인된 방사선보호제인 아미포스틴(amifostine)보다 더 뛰어난 방사선독성 보호 능력을 보임을 제브라피쉬를 이용해 검증하였다. 본 발명의 일실시예에서는 미슬토 추출물 (Abnoba Viscum Q 20mg)이 제브라피쉬 성체모델에서 방사선 창자 독성을 유의미하게 보호할 수 있는 능력이 있음을 확인하였다(실시예 2 참조).
- [0045] 본 발명에서, 상기 '추출물(extract)'은 추출 대상을 적절한 침출액 또는 추출용매로 짜내고 침출액 또는 추출 용매를 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 시중에 판매중인 미슬토 추출물(Abnoba viscum Q)을 중개회사(한국아브노바 (주))로부터 기증받아 사용하였다.
- [0046] 본 발명의 약학 조성물에 있어서, 상기 방사선 유발 독성 또는 손상은 방사선 조사에 의해 유발되는 창자 독성 또는 창자 손상인 것일 수 있다. 상기 창자는 소장을 의미하는 것일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 약학 조성물에 있어서, 상기 조성물은, 방사선 치료시 방사선 피폭 전에 투여되는 것일 수 있다.
- [0048] 본 발명에 따른 약학 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다. 상기에서 "약학적으로 허용 되는"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 약학적으로 허용되는 담체로는 예를 들면, 락토스, 진분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등과 같은 경구 투여용 담체 및 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등과 같은 비경구 투여용 담체 등이 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. 그 밖의 약 학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).
- [0049] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 약학적으로 허용 되는 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 적합한 형태로 제형화 될 수 있다. 즉, 본 발명의 약학적 조성물은 공지의 방법에 따라 다양한 비경구 또는 경구 투여용 형태로 제조될 수 있으며, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것으로는 주사용 제형으로 등장성 수 용액 또는 현탁액이 바람직하다. 주사용 제형은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 예를 들면, 각 성분을 식염수 또는 완충액에 용해시켜 주사용으로 제형화 될 수 있다. 또한, 경구 투여용 제형으로는, 이에 한정되지는 않으나, 분말, 과립, 정제, 환약 및 캡슐 등이 있다.
- [0050] 상기와 같은 방법으로 제형화된 약학적 조성물은 유효량으로 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있는데, 상기 "투여"란 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 물질의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0051] 또한, 상기에서 "유효량"이란 환자에게 투여하였을 때, 목적 효과를 나타내는 양을 말한다. 본 발명에 따른 약 학적 조성물의 투여량은 환자의 질환 종류 및 중증도, 연령, 성별, 체중, 약물에 대한 민감도, 현재 치료법의 종류, 투여방법, 표적 세포 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있으며, 당 분야의 전문가들에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 종래의 방사선 보호제 또는 항암제와 병용하여 투여될 수 있고, 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 바람직하게는 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 1~100,000 μ g/체중kg/day, 더욱더 바람직하게는 0.1~100mg/체중kg/day의 유효용량으로 하루에 수회 반복 투여될 수 있다. 인간 이외의 동물에 대해서도, kg당 인간과 동일한 투여량으로 하거나, 또는 예를 들면 목적의 동물과

인간과의 무게 비율 또는 허혈기관(심장 등)의 용적비(예를 들면, 평균값) 등으로 상기의 투여량을 환산한 양을 투여할 수 있다. 본 발명에 따른 투여 대상동물로서는, 인간 및 그 밖의 목적으로 하는 포유동물을 예로 들 수 있고, 구체적으로는 인간, 유인원, 원숭이, 소, 개, 돼지, 말, 양, 고양이, 마우스, 래트, 기니아 피그, 토끼, 닭, 곤충, 어류 등이 포함된다.

- [0053] 일 측면에서, 본 발명은 상기 약학 조성물을 포함하는 방사선 보호제에 관한 것이다.
- [0054] 상기 방사선 보호제는 미슬토 추출물을 유효성분으로 포함하는 것일 수 있다.
- [0055] 본 발명의 미슬토 추출물은 항암제 치료 부작용 감소가 가능하며, 기존 연구에서 알려진 바와 같이, 다양한 암 세포주에 대한 성장 저해 효과가 있어 결과적으로 암 치료효율을 증가시킬 수 있으므로, 기존의 방사선 보호제의 암 치료 효율을 저해하는 문제점 없이, 방사선 보호제로서 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.
- [0057] 일 측면에서, 본 발명은 상기 약학 조성물을 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화 방법에 관한 것이다.
- [0058] 상기 대상체는 인간, 유인원, 원숭이, 소, 개, 돼지, 말, 양, 고양이, 마우스, 래트, 기니아 피그, 토끼, 닭, 곤충, 어류 등을 포함하여 치료가 요구되는 임의의 단일 개체를 의미한다. 또한, 임의의 질병 임상 소견을 보이지 않는 임상 연구 시험에 참여한 임의의 대상 또는 역학 연구에 참여한 대상 또는 대조군으로 사용된 대상이 대상에 포함된다.
- [0060] 일 측면에서, 본 발명은 미슬토(*Abnoba viscum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 방사선 유발 독성 또는 손상에 대한 보호 또는 완화용 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0061] 상기 "식품"이란, 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 기능성식품 및 음료를 모두 포함하는 것을 말한다.
- [0062] 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다.
- [0063] 상기 식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합체, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 빵류, 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 캔디류, 초코렛류, 껌류, 아이스크림류, 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과실음료, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0064] 본 발명에서 상기 "기능성 식품"또는 "건강기능성 식품"이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물 공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체내조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 구체적으로는 건강기능성 식품일 수 있다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0065] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 향미제, 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, 천연 탄수화물 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.
- [0066] 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, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0067] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품 또는 건강기능성 식품 조성물로서 제공될 수 있고, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환, 음료 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다.

[0068] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 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 관정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 수제된 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, 봉해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캡슐 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, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 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, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0070] 일 측면에서, 본 발명은 제브라피쉬에 후보 약물을 투여하는 단계; 제브라피쉬에 방사선을 조사하는 단계; 및 제브라피쉬 창자의 독성 또는 손상 수준을 평가하는 단계;를 포함하는, 제브라피쉬를 이용한 방사선 보호제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

[0071] 본 발명의 스크리닝 방법에 있어서, 상기 제브라피쉬는 성체인 것일 수 있다.

[0072] 기존 연구에서, 제브라피쉬 치어(배아, embryo)를 방사선 보호제 후보약물을 선별 및 검증하는데 사용 가능성이 보고된 바 있으며, 치어는 생장력이 뛰어나고 약 및 방사선에 감수성이 매우 높으므로 방사선 보호제 등의 후보약물을 일차적으로 선별하는데는 유의하나, 선별된 후보약물이 실제 임상에서 사용되려면 이차적으로 특정 장기의 방사선독성을 보호할 수 있는지의 여부에 대한 별도의 검증이 필요하다는 한계점이 있다.

[0073] 본 발명자들은 복강 내 암 항암방사선치료시 발생할 수 있는 창자손상을 줄여 줄 수 있는 후보물질을 스크리닝하는데 있어, 제브라피쉬 성체 창자의 방사선에 대한 반응 및 방사선보호제의 효과에 대한 정보를 이용하여, 후보약물의 방사선보호 효과 검증이 가능함을 최초로 확인하였다.

[0074] 본 발명의 스크리닝 방법은 치어가 아닌 성체를 이용함으로써, 후보 약물의 실제 임상 적용을 위한 이차적 검증 필요 없이, 특정 장기인 창자의 방사선 독성에 대한 보호 효과를 갖는 후보약물 선별 및 임상 적용 가능성 검증이 가능한 효과가 있다. 본 발명에서 채택한 제브라피쉬 성체는 인간에서와 같은 효과를 예측할 수 있으며, 쉽게 만들 수 있고, 재현성이 높다는 장점이 있다.

[0075] 본 발명의 스크리닝 방법에 있어서, 상기 방사선은 45 내지 55Gy의 방사선량으로 조사하는 것일 수 있다. 방사선량 60Gy 이상에서는 제브라피쉬 개체의 사망율이 높아지는 문제가 있으며, 40Gy이하에서는 창자 독성이 일관되게 나타나지 않아 방사선 보호제 스크리닝에 적합하지 않는 문제가 발생할 수 있다. 바람직하게는, 45 내지 50Gy의 방사선량으로 조사하는 것일 수 있다.

[0076] 본 발명의 스크리닝 방법에 있어서, 상기 방사선 보호제는 방사선 조사에 의해 유발되는 창자 독성 또는 창자 손상을 보호 또는 완화하는 효과를 갖는 것일 수 있다.

[0077] 본 발명의 스크리닝 방법에 있어서, 상기 제브라피쉬 창자의 독성 또는 손상 수준을 평가하는 단계는 창자의 독성 또는 손상 수준에 대한 측정 결과를 정량적 또는 정성적으로 분석하여 후보 약물을 처리한 제브라피쉬 모델과 후보 약물을 처리하지 않은 대조군의 창자의 독성 또는 손상 정도 비교를 통해 대조군에 비해 손상 정도가

감소된 후보 약물을 선별하는 것일 수 있다.

[0078] 상기 창자의 독성 또는 손상 수준에 대한 측정은 현미경을 통한 형태 관찰과 각종 에세이 등을 포함하는 방법으로 측정하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 창자 조직을 면역 염색 또는 헤마톡실린&에오신 염색을 통해 관찰하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0079] 본 발명에서 분석하고자 하는 후보 약물은 다양한 물질을 포함한다. 예를 들어, 상기 후보 약물은 방사선 조사에 의해 유발되는 창자 독성 또는 창자 손상을 보호 또는 완화하는데 효과가 있는지 여부를 확인하기 위해 처리하는 물질로서, 화학물질, 단백질, 펩타이드, 항체, 핵산 및 천연 추출물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게, 상기 후보 약물은 단일 화합물 또는 화합물들의 혼합물(예컨대, 천연 추출물 또는 세포 또는 조직 배양물)일 수 있다.

[0081] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0083] 실시예 1. 제브라피쉬 성체 모델을 이용한 방사선에 의한 창자 독성 여부 분석

[0084] 제브라피쉬 성체는 유전자변형이 없는 야생 제브라피쉬(치어)의 성체를 사용하였다.

[0085] 방사선처리(방사선치료)는 9-MeV의 e-beam irradiation을 이용하여 0.6Gy/minute의 선량률로 실온(room temperature)에서 실제 항암방사선치료에 사용하는 방사선치료기(Rapidarc, Palo Alto, CA, US)를 사용하여 조사하였다. 방사선량을 30-60Gy으로 하여, 제브라피쉬 성체의 반응을 확인하였다.

[0086] 그 결과, 60Gy에서는 너무 많은 개체가 추적관찰 중 사망하였고, 40Gy이하에서는 창자 독성이 일관되게 나타나지 않았다. 이러한 결과로부터 45 내지 50Gy의 방사선량이 제브라피쉬 성체를 이용하여 창자의 방사선에 대한 독성 반응 및 방사선보호제의 효과에 대한 정보를 확인하는데 적절한 조건임을 확인하였다.

[0088] 실시예 2. 제브라피쉬 성체 모델을 이용한 미슬토 추출물의 방사선에 의한 창자 독성 보호 효과 분석

[0089] 제브라피쉬 성체는 유전자변형이 없는 야생 제브라피쉬(치어)의 성체를 사용하였으며, 실험은 7번의 세트(set)로 나누어져 진행되었으며, 세트를 모두 합산하였을 때 총 84마리의 제브라피쉬 가운데 절반씩(실험군당 각 6마리) 42마리는 방사선단독군(방사선만 처리한 군), 42마리는 미슬토처리군(방사선 및 미슬토 추출물을 처리한 군)으로 분류되었다. 21마리(실험당 3마리)는 대조군으로 분류되어 방사선도 약품도 처리하지 않았다.

[0090] 미슬토(*Abnoba viscum* Q) 추출물은 시판되는 약제 중 20mg/ml 농도의 약의 추천 처방용량을 인체의 무게와 제브라피쉬 무게를 비교하여 사용하였으며, *Abnoba Viscum* Q 20mg 약제 5 μ l를 물고기 구강으로 방사선조사 1시간 전 주입하였다. 해당 약제는 *Abnoba GmbH*, *Pforzheim*, *Germany*에서 생산되었으며 국내 중개업체인 한국아브노바(주)로부터 기증받아 사용하였다.

[0091] 방사선처리(방사선치료)는 9-MeV의 e-beam irradiation을 이용하여 0.6Gy/minute의 선량률로 실온(room temperature)에서 실제 항암방사선치료에 사용하는 방사선치료기(Rapidarc, Palo Alto, CA, US)를 사용하여 조사하였다. 조사한 선량은 실험 set 6개중 3개에서는 50Gy, 3개에서는 45Gy 였다.

[0092] 창자 독성의 정도는 다음과 같이 분류하되, 2명 이상의 임상의학자가 함께 관찰하고 판단하였다: Light (경도: 용모에 crack이 있고 30%가량 길이 감축); Moderate (중등도: 30-50% 가량의 길이 감축); Significant (심각: 상당부분의 용모가 70%이상 감축하거나, basal layer 가 노출되거나, villi의 구조가 와해됨).

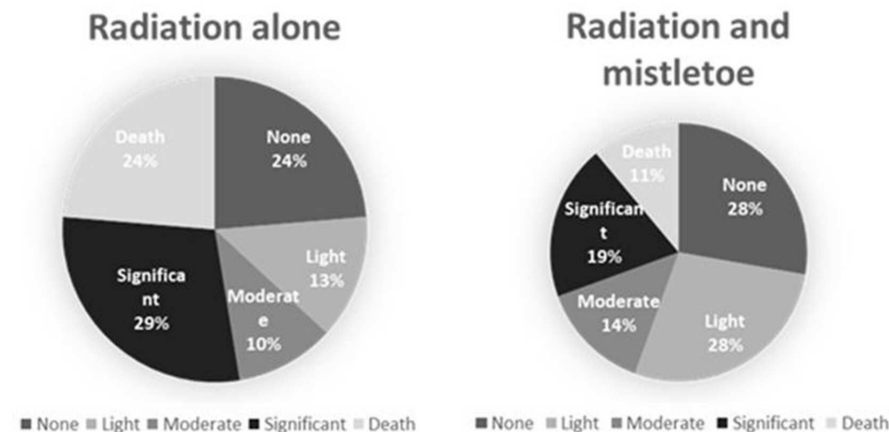
[0093] 창자 조직은 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)로 고정하고 4mm 슬라이스(slice)로 절단(sectioning)하였다. 헤마톡실린&에오신(Hematoxylin and eosin; H&E) 염색을 수행하였고 slide scanner (3DHISTECH/panoramic scan)를 이용하여 이미지를 얻었다.

[0094] 평균 추적관찰 기간은 방사선 및 약품(미슬토 추출물) 처리 후 10일(범위: 7-11일)이었다. 방사선 및 약품 처리 후 24시간내에 사망한 개체 10마리(방사선단독군 4마리, 방사선&미슬토처리군 6마리)는 intervention자체에 의한 사망으로 사료되어 연구 결과 계상에 산입하지 않았다.

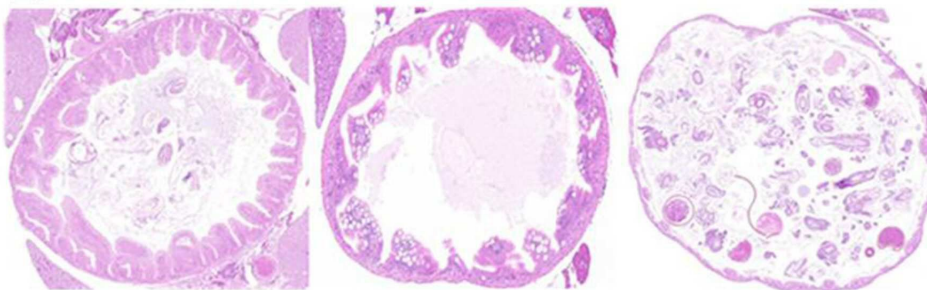
- [0095] 관찰하고자 한 주요 결과는 심각한 수준의 창자 독성 혹은 추적관찰 중 개체의 사망(significant intestinal toxicity + death after 24hours)이었다.
- [0096] 분석 결과, 제브라피쉬에 방사선 처리만 시행한 방사선단독군보다 방사선과 미슬토 추출물(Abnoba viscum Q)을 함께 처리한 미슬토처리군에서 개체사망이나 심각한 수준의 창자 독성이 적게 나타났다. 심각한 창자 독성 혹은 사망률(Significant+Death)은 방사선단독군과 미슬토처리군에서 각 53% 대 30%로 나타났다(도 1).
- [0097] 카플란-마이어 추정방법을 이용하여 Log-rank test를 수행한 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 연구 후 10일차에서 심각한 장독성 혹은 사망의 분율은 방사선단독군에서 55.3%, 방사선 및 미슬토처리군에서 31.6% 였으며, 이는 통계적으로 유의하였다($p=0.046$).
- [0098] 결과적으로, 미슬토 추출물 처리에 의해, 방사선에 의한 창자 독성을 20%이상 억제할 수 있음을 확인하여, 미슬토추출물이 방사선보호 효과를 가짐을 확인하였다.
- [0100] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시 예들을 중심으로 살펴보았다.
- [0101] 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시 예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구 범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1



(B)



도면2

