(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6652653号
(P6652653)
(45)発行日　令和2年2月26日(2020.2.26)　(24)登録日　令和2年1月27日(2020.1.27)

(51)Int.Cl.　F I
A61K 36/899 (2006.01)　A61K 36/899
A61P 39/02 (2006.01)　A61P 39/02
A61P 7/00 (2006.01)　A61P 7/00
A61P 7/06 (2006.01)　A61P 7/06
A23L 33/105 (2016.01)　A23L 33/105

請求項の数 7　(全 14 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-542160 (P2018-542160)
(86)(22)出願日　平成29年2月17日 (2017.2.17)
(65)公表番号　特表2019-509994 (P2019-509994A)
(43)公表日　平成31年4月11日 (2019.4.11)
(86)国際出願番号　PCT/KR2017/001813
(87)国際公開番号　WO2017/142371
(87)国際公開日　平成29年8月24日 (2017.8.24)
審査請求日　平成30年9月20日 (2018.9.20)
(31)優先権主張番号　10-2016-0019339
(32)優先日　平成28年2月18日 (2016.2.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
韓国 (KR)

(73)特許権者　507367677
コリア　インスティテュート　オブ　オリエンタル　メディシン
大韓民国，３０５－８１１　テジョン，ユソン－グ，ユソン－デロ，１６７２
(74)代理人　110000671
八田国際特許業務法人
(72)発明者　キム，ジニ
大韓民国，テジョン，ユソン－グ，パンソクトン－ロ，３３，５０３－１１０３
(72)発明者　チョ，ウン　サン
大韓民国，テジョン，ソ－グ，シンガルマ－ロ　８６ボン－ギル，１４，２０５－２０３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】芦根抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防、改善または治療用組成物

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
芦根抽出物を有効成分として含む、造血毒性、貧血及び好中球減少症から選択される一つ以上の抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用薬学組成物。
【請求項２】
前記抗癌剤は、抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、またはタキサン系抗癌剤であることを特徴とする請求項１に記載の抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用薬学組成物。
【請求項３】
前記抗腫瘍抗生物質は、アクチノマイシンＤ、硫酸ブレオマイシン、ダウノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、マイトマイシン、マイトマイシン－Ｃ及びミトラマイシンからなる群から選択されるいずれか一つ以上であることを特徴とする請求項２に記載の抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用薬学組成物。
【請求項４】
前記トポイソメラーゼ阻害剤は、イリノテカン、カンプトテシン、ノボビオシン、エピルビシン、ダクチノマイシン、アムサクリン、テニポシド及びエトポシドからなる群から選択されるいずれか一つ以上であることを特徴とする請求項２に記載の抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用薬学組成物。
【請求項５】

前記タキサン系抗癌剤は、パクリタキセル及びドセタキセルから選択されるいずれか一つ以上であることを特徴とする請求項２に記載の抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用薬学組成物。

【請求項６】

芦根抽出物を有効成分として含む、造血毒性、貧血及び好中球減少症から選択される一つ以上の抗癌剤副作用による疾患の予防または改善用の健康機能食品。

【請求項７】

芦根抽出物を有効成分として含む、抗癌剤投与によって引き起こされる造血毒性、貧血及び好中球減少症から選択される一つ以上の抗癌剤副作用による疾患を改善するために用いられる抗癌補助剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、芦根（Ｐｈｒａｇｍｉｔｉｓ　Ｒｈｉｚｏｍａ）抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防、改善または治療用組成物に関する。

【背景技術】

【０００２】

癌は韓国内の死亡原因の１～２位を占めており、韓国内の５０代、６０代の死亡者の３０％が癌で死亡している。このような癌の治療には一般的に外科的手術、放射線療法、化学療法が最も多く活用されている。そのうち、化学療法としての抗癌剤開発は多様な試みが多かったが、現在まで本格的な治療剤としての抗癌剤は開発されていない状態であり、補助治療剤は短期間の生命延長を助ける程度に過ぎない状態である。

【０００３】

化学療法として使われる抗癌剤は、癌細胞の代謝経路に介入してＤＮＡと直接作用してＤＮＡの複製、転写、翻訳過程を遮断するか、または核酸前駆体の合成を妨げ、かつ細胞の分裂を阻害することで細胞に対する細胞毒性を示す。しかし、現在の抗癌剤は癌に対する特異的選択性がなくて治療効果と毒性効果とが同時に現われる特性を示し、抗癌剤投与による毒性は骨髄破壊による白血球、血小板、赤血球などの血球減少症、毛包細胞の破壊による脱毛症状、卵巣及び睾丸に対する副作用として月経不順及び男性不妊の原因、消化器官の粘膜細胞破壊による副作用として口内炎、悪心・嘔吐及び食物の嚥下障害と消化障害、下痢症状、細尿管壊死による腎臓毒性、神経系障害により発生する末梢神経炎と衰弱感、血管痛症及び発疹などの血管障害、皮膚及び爪の変色など多様な副作用が示される。よって、抗癌剤による副作用を最小化しながら抗癌治療効果を高められる薬剤の開発が切実な状況である。

【０００４】

一方、芦根は葦根ともいわれ、米科植物であるヨシ（Ｐｈｒａｇｍｉｔｅｓ　ｃｏｍｍｕｎｉｓ　Ｔｒｉｎ．）の根を乾かしたものである。ヨシは各地の沼、川沿、湿地、海辺岸で育ち、春や秋に根茎を掘ってひげ根を除去した後、水で洗って日差しで乾かす。乾かした芦根は平たくて円柱状に表面に光沢があり、黄白色であり、節の部分は比較的硬くて鮮明な黄紅色をしており、節の間に縦のしわがあり、晩春や初夏または秋に採取して泥やひげ根を除去し、かつ皮膜を除去して新鮮なうちに使うか、または日差しに乾かして使う。

【０００５】

芦根の味は甘くて性質は冷たく、肺経及び胃経に作用すると知られている。芦根は、熱を下げて津液を生じて吐き気を止める効能があり、熱病による嘔吐、食道癌、肺膿瘍を治し、フグ毒を解毒するために使われてきた。また、紫外線遮断作用をし、メラニン細胞の増殖を促進して頭髪を黒くてつややかにさせ、美白クリームとして使えば、皮膚に美白作用及び栄養を供給すると報告されている。芦根の生理活性研究としては、芦根抽出物が血清内のブドウ糖、インシュリン及び脂質合成に影響を及ぼすことも報告されたことがあり、ストレプトゾトシン投与によるランゲルハンス島Ａ細胞内のグルカゴン顆粒の増加を抑

制する作用と、Ｂ細胞内のインシュリン脱顆粒を抑制する効果とが報告されたことがある。また、芦根メタノール抽出物が血中コレステロール及びブドウ糖を低くする効果があるということも知られている。芦根の根茎メタノール抽出物が高中性脂質血症と高コレステロール血症及び糖尿病性高脂血症の白色マウスにおいて中性脂肪の濃度を大幅に低減させ、メタノール抽出物から分離したβ－シトステロール及びｐ－クマル酸が血中脂肪濃度の改善効果があるということが知られている。

【０００６】

芦根抽出物関連の技術としては、韓国登録特許第１０９８８７５号明細書に免疫増強能及び抗癌機能のある芦根抽出物の製造方法について知られており、韓国登録特許第１１５１７１８号明細書に芦根抽出物を有効成分として含む皮膚保湿用、皮膚炎またはアトピー皮膚炎の治療用組成物について開示されているが、本発明の芦根抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防、改善または治療用組成物については開示されていない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

本発明は、前記のような要求に応じて導出されたものであり、本発明は芦根抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防、改善または治療用組成物に係り、さらに詳細には、本発明の芦根抽出物を抗癌剤の投与によって造血幹細胞が減少したマウスの骨髄細胞に処理することで、著しく造血幹細胞の生存を回復させ、抗癌剤を腹腔注射して骨髄抑制を誘導した動物モデルでも抗癌剤による骨髄抑制が著しく回復することを確認した上で、本発明を完成した。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

前記目的を達成するために、本発明は、芦根抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用の薬学組成物を提供する。

【０００９】

また、本発明は、芦根抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防または改善用の健康機能食品を提供する。

【００１０】

また、本発明は、芦根抽出物を有効成分として含む抗癌補助剤を提供する。

【発明の効果】

【００１１】

本発明は、芦根抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用薬学組成物に係り、抗癌剤によって引き起こされた造血幹細胞コロニーの減少を著しく回復させるだけではなく、抗癌剤による骨髄抑制を著しく回復させることができるため、本発明の芦根抽出物を、抗癌剤副作用による疾患の予防及び治療用薬学組成物、健康機能食品または抗癌補助剤として活用できる。

【図面の簡単な説明】

【００１２】

【図１】抗癌剤（ドセタキセル、ドキソルビシン、イリノテカン、パクリタキセルまたはダウノルビシン）の濃度別処理によるマウスの大腿骨から分離した骨髄細胞の成長及び分化に及ぼす影響をＣＦＵ（ｃｏｌｏｎｙ　ｆｏｒｍｉｎｇ　ｕｎｉｔ）アッセイで確認した結果である。＊、＊＊、＊＊＊は抗癌剤を処理していない対照群のＣＦＵに比べて抗癌剤を処理したものが統計的に有意な差があるということを示すものであって、＊は、ｐ値が０．０５未満であり、＊＊は、ｐ値が０．０１未満であり、＊＊＊は、ｐ値が０．００１未満であるということを意味する。

【図２】Ｃ５ＢＬ／６マウスに５０、１００、１５０ｍｇ／ｋｇのドセタキセルを腹腔注射３日後（Ａ）及び７日後（Ｂ）の大腿骨から骨髄細胞の数を確認した結果を示したものである。＊＊、＊＊＊は、ドセタキセルを処理していない対照群（Ｖｅｈ）に比べてドセ

タキセルを処理したものの細胞生存率が統計的に有意な差があるということを示すものであって、＊＊は、ｐ値が０．０１未満であり、＊＊＊は、ｐ値が０．００１未満であるということを意味する。

【図３】抗癌剤（ドセタキセル、ドキソルビシン、イリノテカン、パクリタキセルまたはダウノルビシン）の処理によるマウスの骨髄細胞の減少、及び前記抗癌剤と本発明の２５、５０及び１００μｇ／ｍｌの芦根抽出物とを併用処理して骨髄細胞の減少を抑制する効果を確認した結果である。＃＃、＃＃＃、＃＃＃＃は、抗癌剤を処理していない対照群に比べて抗癌剤を処理したもののＣＦＵが統計的に有意な差があるということを示すものであって、＃＃は、ｐ値が０．０１未満であり、＃＃＃は、ｐ値が０．００１未満であり、＃＃＃＃は、ｐ値が０．０００１未満であることを意味し、＊、＊＊、＊＊＊は、抗癌剤処理群と抗癌剤及び芦根抽出物を併用処理した群のＣＦＵが統計的に有意な差があるということを示すものであって、＊は、ｐ値が０．０５未満であり、＊＊は、ｐ値が０．０１未満であり、＊＊＊は、ｐ値が０．００１未満であるということを意味する。

【図４】ドセタキセルの処理によるマウス体重の減少、及び前記ドセタキセルと本発明の芦根抽出物とを併用処理して体重減少を抑制する効果を確認した結果である。対照群は何も処理しないマウスであり、ドセタキセル＋芦根－１２５及びドセタキセル＋芦根－２５０は、ドセタキセルと１２５及び２５０μｇ／ｍｌの芦根抽出物とを併用投与したマウスを意味する。

【図５】ドセタキセルの処理によるマウスの骨髄細胞の減少、及び前記１５ｎＭのドセタキセルと本発明による１２５μｇ／ｍｌ及び２５０μｇ／ｍｌの芦根抽出物とを併用処理して骨髄細胞の減少を抑制する効果を確認した結果である。対照群は何も処理しない群であり、ドセタキセル＋芦根－１２５及びドセタキセル＋芦根－２５０は、ドセタキセルと１２５及び２５０μｇ／ｍｌの芦根抽出物とを併用投与したことを意味する。＃は、ドセタキセルを処理していない対照群に比べてドセタキセルを処理したものの骨髄細胞の数が統計的に有意な差があるということを示すものであって、ｐ値が０．０５未満であることを意味し、＊、＊＊は、ドセタキセル処理群とドセタキセル及び芦根抽出物とを併用処理した群の骨髄細胞の数が統計的に有意な差があるということを示すものであって、＊は、ｐ値が０．０５未満であり、＊＊は、ｐ値が０．０１未満であるということを意味する。

【図６】ドセタキセルの処理によるマウスの骨髄構造に異常（矢印部分）が発生するが、ドセタキセルと本発明による１２５ｍｇ／ｋｇ（芦根－１２５）及び２５０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物（芦根－２５０）とを併用処理した後で骨髄細胞の異常がほとんど発生しないということをＨ＆Ｅ染色で確認した結果である。

【図７】胸腺の組織病理学的分析結果であって、ドセタキセルの投与による組織収縮及び機能性リンパ器官の消失を確認し（矢印表示）、ドセタキセルと本発明による１２５ｍｇ／ｋｇ（芦根－１２５）及び２５０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物（芦根－２５０）とを併用処理することで組織収縮及び機能性リンパ器官の消失が回復するということが分かった結果である。

【図８】芦根抽出物の抗癌剤誘導骨髄抑制動物モデルでの骨髄抑制の緩和能を確認した結果である。ドセタキセル＋芦根－１２５及びドセタキセル＋芦根－２５０は、ドセタキセルと芦根１２５及び２５０ｍｇ／ｋｇとを併用投与したことを意味する。＊は、ドセタキセル処理群とドセタキセル及び１２５ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物を併用処理した群の免疫増進サイトカイン（ｉｍｍｕｎｅ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｎｇ　ｃｙｔｏｋｉｎｅ）であるＩＬ－３が統計的に有意な差があるということを示すものであって、ｐ値が０．０５未満であるということを意味する。

【図９】マウス脾臓細胞での芦根抽出物の処理による免疫増進サイトカインの発現量変化を確認した結果である。

【発明を実施するための形態】

【００１３】

本発明は、芦根（Ｐｈｒａｇｍｉｔｉｓ　Ｒｈｉｚｏｍａ）抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防または治療用薬学組成物に関する。

【００１４】
前記芦根抽出物は、下記の段階を含む方法によって製造されるものでありうるが、これに限定されるものではない。
１）芦根に抽出溶媒を加えて抽出する段階；
２）段階１）の抽出物をろ過する段階；及び
３）段階２）のろ過した抽出物を減圧濃縮し、乾燥して抽出物を製造する段階。
【００１５】
前記段階１）で抽出溶媒は、水、C_1～C_4の低級アルコールまたはこれらの混合物であることが望ましいが、これに限定されるものではない。
【００１６】
前記製造方法において、芦根抽出物の抽出には、ろ過法、熱水抽出、浸漬抽出、還流冷却抽出及び超音波抽出など当業界で公知のすべての通常の方法を用いることができる。前記抽出溶媒は、乾燥した芦根の体積の１ないし２０倍を添加して抽出することが望ましく、さらに望ましくは３～１０倍添加することである。抽出温度は２０ないし５０℃であることが望ましいが、これに限定されるものではない。また、抽出時間は１０ないし１００時間が望ましく、２４ないし９６時間がさらに望ましく、７２時間が最も望ましいが、これに限定されるものではない。前記方法において、段階３）の減圧濃縮は真空減圧濃縮器または真空回転蒸発器を用いることが望ましいが、これに限定されるものではない。また、乾燥は、減圧乾燥、真空乾燥、沸騰乾燥、噴霧乾燥または凍結乾燥することが望ましいが、これに限定されるものではない。
【００１７】
前記癌は、肺癌、乳癌、肝臓癌、胃癌、大腸癌、結腸癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、甲状腺癌、腎臓癌、線維肉腫、黒色腫及び血液癌から選択されるいずれかであることが望ましいが、これに限定されるものではなく、診断可能な癌であれば制限されない。
【００１８】
前記抗癌剤は、抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、またはタキサン系抗癌剤を含むが、これに限定されず、臨床、薬学、生医学的に使用可能なすべての抗癌剤を含む。
【００１９】
前記抗腫瘍抗生物質は、アクチノマイシンＤ、硫酸ブレオマイシン、ダウノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、マイトマイシン、マイトマイシン－Ｃ及びミトラマイシンからなる群から選択されるいずれか一つ以上であることが望ましいが、これに限定されるものではない。
【００２０】
前記トポイソメラーゼ阻害剤は、イリノテカン、カンプトテシン、ノボビオシン、エピルビシン、ダクチノマイシン、アムサクリン、テニポシド及びエトポシドからなる群から選択されるいずれか一つ以上であることが望ましいが、これに限定されるものではない。
【００２１】
前記タキサン系抗癌剤は、パクリタキセルまたはドセタキセルのうちいずれか一つまたは両方であることが望ましい。
【００２２】
前記副作用による疾患は、造血毒性、貧血及び好中球減少症からなる群から選択されるいずれか一つ以上であることが望ましいが、これに限定されるものではない。
【００２３】
本発明の組成物は、組成物の総重量に対して、本発明の芦根抽出物または分画物の０．１ないし９９．９重量％を有効成分として含み、薬剤学的に許容可能な担体、賦形剤または希釈剤を含むことができる。
【００２４】
本発明の組成物は、経口または非経口の様々な剤形でありうる。製剤化する場合には通常使用される充填剤、増量剤、結合剤、湿潤剤、崩解剤、界面活性剤などの希釈剤または

賦形剤を使って調製される。経口投与のための固形製剤には、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤などが含まれ、これらの固形製剤は、一つ以上の化合物に少なくとも一つ以上の賦形剤、例えば、澱粉、炭酸カルシウム、スクロースまたはラクトース、ゼラチンなどを混合して調製される。また、単純な賦形剤以外にステアリン酸マグネシウム、タルクなどの潤滑剤も使われる。経口投与のための液状製剤としては、懸濁剤、内用液剤、乳剤、シロップ剤などが該当するが、よく使われる単純希釈剤である水、流動パラフィン以外に様々な賦形剤、例えば、湿潤剤、甘味剤、芳香剤、保存剤などが含まれる。非経口投与のための製剤には、滅菌された水溶液、非水性溶剤、懸濁剤、乳剤、凍結乾燥製剤、坐剤が含まれる。非水性溶剤及び懸濁溶剤としてはプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブオイルなどの植物性油、オレイン酸エチルのような注射可能なエステルなどが使われる。坐剤の基剤としては、ウィテップゾール、マクロゴール、ツイーン（ｔｗｅｅｎ）６１、カカオ脂、ラウリン脂、グリセロゼラチンなどが使われる。

【００２５】

本発明の組成物は経口または非経口投与され、非経口投与時に皮膚外用または腹腔内、直腸、静脈、筋肉、皮下、子宮内膜または脳血管内注射方式を選択することが望ましく、最も望ましくは皮膚外用で使う。

【００２６】

本発明による組成物は薬剤学的に有効な量で投与する。本発明において、「薬剤学的に有効な量」は、医学的治療に適用可能な合理的な受恵／リスク比で疾患を治療するために十分な量を意味し、有効用量レベルは患者の疾患の種類、重症度、薬物の活性、薬物に対する敏感度、投与時間、投与経路及び排出速度、治療期間、同時に使われる薬物を含む要素及びその他の医学分野でよく知られている要素に応じて定められる。本発明の組成物は、個別治療剤として投与するか、または他の治療剤と併用して投与でき、従来の治療剤とは順次または同時に投与でき、単一または多重投与できる。前記要素をいずれも考慮して副作用なしに最小限の量で最大効果を得られる量を投与することが重要であり、これは当業者によって容易に定められる。

【００２７】

本発明の組成物の投与量は、患者の体重、年齢、性別、健康状態、食餌、投与時間、投与方法、排泄率及び疾患の重症度によってその範囲が多様であり、一日投与量は芦根抽出物の量を基準として０．０１ないし２，０００ｍｇ／ｋｇであり、望ましくは、３０ないし５００ｍｇ／ｋｇであり、さらに望ましくは、５０ないし３００ｍｇ／ｋｇであり、一日１ないし６回投与される。本発明の組成物は単独でまたは手術、放射線治療、ホルモン治療、化学治療及び生物学的反応調節剤を使う方法と併用して使用できる。

【００２８】

また、本発明は、芦根抽出物を有効成分として含む抗癌剤副作用による疾患の予防または改善用の健康機能食品に関する。前記芦根抽出物の抽出溶媒は、水、C_1～C_4の低級アルコールまたはこれらの混合物であることが望ましいが、これに限定されるものではない。前記抗癌剤は抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤またはタキサン系抗癌剤を含むが、これに限定されず、臨床、薬学、生医学的に使用可能なすべての抗癌剤を含む。前記抗癌剤の副作用による疾患は、造血毒性、貧血及び好中球減少症からなる群から選択されるいずれか一つ以上であることを特徴とする。

【００２９】

本発明の健康食品は、芦根抽出物をそのまま添加するか、または他の食品または食品成分と共に使われ、通常の方法によって適宜使われる。前記健康食品の種類には特に制限はない。前記芦根抽出物を添加できる食品の例としては、肉類、ソーセージ、パン、チョコレート、キャンデー類、スナック類、菓子類、ピザ、ラーメン、その他の麺類、ガム類、アイスクリーム類を含む酪農製品、各種スープ、飲料、茶、ドリンク剤、アルコール飲料及びビタミン複合剤などがあり、通常の意味での健康食品をいずれも含む。　本発明の組成物を含む健康飲料は、通常の飲料のように様々な香味剤または天然炭水化物などを追加成分として含む。前述した天然炭水化物は、ブドウ糖、果糖のような単糖類、マルトース

、スクロースのような二糖類及びデキストリン、シクロデキストリンのような多糖類、キシリトール、ソルビトール、エリスリトールなどの糖アルコールである。　甘味剤としては、ソーマチン、ステビア抽出物のような天然甘味剤やサッカリン、アスパルテームのような合成甘味剤などを使用できる。前記天然炭水化物の割合は、本発明の組成物１００ｇ当たり一般的に約０．０１ないし０．０４ｇ、望ましくは約０．０２ないし０．０３ｇである。

【００３０】

本発明の健康食品は、前記有効成分以外に様々な栄養剤、ビタミン、電解質、風味剤、着色剤、ペクチン酸及びその塩、アルギン酸及びその塩、有機酸、保護性コロイド増粘剤、ｐＨ調節剤、安定化剤、防腐剤、グリセリン、アルコール、炭酸飲料に使われる炭酸化剤などをさらに含むことができる。その他にフルーツジュースまたは野菜飲料の製造のための果肉をさらに含むことができる。これらの成分は独立的にまたは混合して使える。これらの添加剤の割合はあまり重要ではないが、本発明の組成物１００重量部に対して、０．０１ないし２重量部の範囲で選択されることが一般的である。

【００３１】

また、本発明は、芦根抽出物を有効成分として含む抗癌補助剤に関する。前記抗癌補助剤は抗癌剤の投与によって引き起こされる造血毒性、貧血及び好中球減少症から選択される一つ以上の抗癌剤副作用を抑制することを特徴とする。

【００３２】

前記抗癌補助剤は、芦根抽出物にさらに同一または類似した機能を示す有効成分を１種以上を含むことができる。前記抗癌補助剤は、臨床投与時に経口または非経口投与でき、非経口投与としては腹腔内注射、直腸内注射、皮下注射、静脈注射、筋肉内注射、子宮内膜注射、脳血管内注射または胸部内注射によって投与でき、一般的な医薬品製剤の形態で使われる。

【００３３】

前記抗癌補助剤は、単独で、または手術、放射線治療、ホルモン治療、化学治療及び生物学的反応調節剤を使う方法と併用して使用できる。前記抗癌補助剤の一日投与量は約０．０００１ないし１００ｍｇ／ｋｇであり、望ましくは０．００１ないし１０ｍｇ／ｋｇであり、一日１回ないし数回分けて投与することが望ましいが、患者の体重、年齢、性別、健康状態、食餌、投与時間、投与方法、排泄率及び疾患の重症度などによってその範囲が多様である。本発明の抗癌補助剤は、実際の臨床投与時に様々な剤形に非経口投与されるが、製剤化する場合には、通常使用される充填剤、増量剤、結合剤、湿潤剤、崩解剤、界面活性剤などの希釈剤または賦形剤を使って調製される。非経口投与のための製剤には、滅菌された水溶液、非水性溶剤、懸濁剤、乳剤、凍結乾燥製剤、坐剤が含まれる。非水性溶剤、懸濁溶剤としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブオイルなどの植物性油、オレイン酸エチルのような注射可能なエステルなどが使われる。坐剤の基剤としては、ウィテップゾール、マクロゴール、ツイーン６１、カカオ脂、ラウリン脂、グリセロゼラチンなどが使われる。

【実施例】

【００３４】

以下、実施例を用いて本発明をさらに詳細に説明する。これら実施例は単に本発明をさらに具体的に説明するためのものであって、本発明の範囲がこれらによって制限されないということは当業者に明らかである。

【００３５】

＜実施例１＞芦根抽出物の製造

本発明の有効成分である芦根抽出物を製造するために、芦根を光明堂製薬（蔚山、大韓民国）から購入した。前記購入した芦根１００ｇを粉砕した後、水２ｌと共に丸いフラスコに入れて混合した。冷却管の付いている還流抽出装置に連結された恒温水槽を加熱して１回２時間ずつ、計２回繰り返して抽出した。抽出された抽出物をろ過紙（Ｗｈａｔｍａｎ　Ｎｏ．２）及び真空ポンプ（ＧＡＳＴ）を使って減圧ろ過した。回転濃縮器（ＥＹＥ

ＬＡ）を用いてろ過された液状抽出物を減圧濃縮し、濃縮された抽出物を凍結乾燥した後、乳鉢で均質化して芦根抽出物を得た。これは実験の前まで密封プラスチック容器に入れて４℃の低温コンテナに保管した。

【００３６】

＜実施例２＞抗癌剤の造血毒性の確認

現在臨床で用いられている抗癌剤の造血毒性効果を確認するために、抗癌剤濃度によるマウス骨髄細胞での造血幹細胞の成長及び分化に及ぼす影響をｅｘ　ｖｉｖｏ、ｉｎ　ｖｉｖｏ実験を通じて確認した。

【００３７】

１）マウスの骨髄細胞での抗癌剤の造血毒性効果の確認（ｅｘ　ｖｉｖｏ）

マウスの大腿骨から骨髄細胞を分離した。次いで、ドセタキセル、ドキソルビシン、イリノテカン、パクリタキセル及びダウノルビシンが濃度別に添加されたマウス由来の組換え幹細胞因子（ｒｍ　ｓｔｅｍ　ｃｅｌｌ　ｆａｃｔｏｒ）、ｒｍ　ＩＬ－３、ヒト由来の組換えＩＬ－６（ｒｈ　ＩＬ－６）及びｒｈエリスロポエチンを含むメソカルトＧＦ　Ｍ３４３４培地に前記骨髄細胞を７～１０日間培養して造血幹細胞の成長を誘導した。成長した造血幹細胞を収得し、コロニー形成ユニット分析（ＣＦＵ　ａｓｓａｙ）を行って抗癌剤が造血幹細胞の成長及び分化に及ぼす影響を観察した。

【００３８】

その結果、図１に示したように低い濃度でも造血毒性が示され、特に、ドセタキセルは５０ｎＭ以上で、ドキソルビシンは５０μＭ以上で、イリノテカンは５μＭ以上で、パクリタキセルは２５ｎＭ以上で、ダウノルビシンは１００ｎＭ以上で造血毒性が非常に激しいということが分かった。

【００３９】

２）抗癌剤が腹腔注射されたマウスでの造血毒性効果の確認（ｉｎ　ｖｉｖｏ）

Ｃ５７ＢＬ／６マウスに５０、１００及び１５０ｍｇ／ｋｇのドセタキセルを腹腔注射した。３日後及び７日後、マウスの大腿骨から骨髄細胞を分離して計数し、生存率を測定した。

【００４０】

その結果、図２に示したように、５０、１００及び１５０ｍｇ／ｋｇのドセタキセルを注射したすべての場合、３日後及び７日後に分離した骨髄細胞の数が有意に減少することでｉｎ　ｖｉｖｏ動物モデルで造血毒性を示すということが分かった。

【００４１】

＜実施例３＞抗癌剤によって誘導された骨髄毒性に対する芦根抽出物の骨髄毒性を回復する効果の確認

芦根抽出物が骨髄細胞で抗癌剤（１５ｎＭドセタキセル、１００ｎＭドキソルビシン、１００μＭイリノテカン、５０ｎＭパクリタキセル及び１００ｎＭダウノルビシン）によって誘導された造血毒性を緩和する効果があるかどうかを確認するために、１５ｎＭドセタキセル、１００ｎＭドキソルビシン、１００μＭイリノテカン、５０ｎＭパクリタキセルまたは１００ｎＭダウノルビシンと芦根抽出物とを併用処理して骨髄毒性の緩和効果を確認した。

【００４２】

具体的には、マウスの大腿骨から骨髄細胞を分離した後、マウス由来の組換え幹細胞因子、ｒｍ　ＩＬ－３、ヒト由来の組換えＩＬ－６及びｒｈエリスロポエチンを含むメソカルトＧＦ　Ｍ３４３４培地に骨髄細胞の造血毒性を引き起こす１５ｎＭのドセタキセルなどの抗癌剤を処理した。次いで、前記実施例１で製造した２５、５０及び１００μｇ／ｍｌの芦根抽出物をそれぞれ添加し、７日間培養しつつ造血幹細胞の成長を誘導した。７日後、成長した造血幹細胞を収得し、ＣＦＵ分析を行って造血幹細胞の成長を確認した。陰性対照群として、芦根抽出物の代わりに０．５％ＤＭＳＯが含まれたＰＢＳを溶媒として処理し、前記と同じ方法を行った。

【００４３】

その結果、図３に示したように芦根抽出物によってそれぞれの抗癌剤から引き起こされた造血幹細胞コロニーの減少が統計的に有意に回復するということが分かった（図３）。

【００４４】

＜実施例４＞芦根抽出物のドセタキセル誘導骨髄抑制動物モデルでの骨髄抑制緩和能の確認

芦根抽出物が骨髄抑制誘導動物モデルで造血毒性緩和効果を示すかどうかを確認するために、マウスにドセタキセルを腹腔注射して骨髄抑制を誘導した後、芦根抽出物による変化を確認した。

【００４５】

具体的には、Ｃ５７ＢＬ／６マウスを４個のグループに区別したが、グループ１は対照群であって、５％エチルアルコール及び２％ポリソルベート８０を含む塩水を処理した群であり、グループ２は、３０ｍｇ／ｋｇのドセタキセルを３回も腹腔内投与したドセタキセル処理群であり、グループ３は、ドセタキセルを投与する２日前から１２５ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物を１日１回強制投与し、ドセタキセルを投与する３日間にも１日１回芦根抽出物を強制投与したドセタキセル及び１２５ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群であり、グループ４は、前記グループ３と同じ方法で、ドセタキセルを投与する２日前から２５０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物を１日１回投与し、ドセタキセルを投与する３日間にも１日１回２５０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物を強制投与したドセタキセル及び２５０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群である。

【００４６】

以後、前記対照群、ドセタキセル投与群、ドセタキセルと１２５ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物との併用投与群、及びドセタキセルと２５０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物との併用投与群のマウスの体重変化を毎日測定した後、６日目にマウスを解剖して、骨髄内細胞数の変化及び造血作用に重要な役割をする脾臓及び胸腺の重量を測定した。

【００４７】

その結果、図４及び図５に示したようにマウスにドセタキセルを投与した場合、造血毒性及び骨髄抑制と共に体重の有意な減少が誘導されたが、芦根抽出物を併用投与した場合に体重減少が緩和され（図４）、ドセタキセル投与群で対照群と同様に骨髄細胞数が減少し、芦根抽出物を投与した群で骨髄抑制が回復するということが分かった（図５）。

【００４８】

前記各投与群のマウス大腿骨の組織学的分析を行った結果、ドセタキセル単独投与群では造血細胞の減少による低細胞性現象及び骨髄内細胞構造の異常（黄色の矢印表示）が見られたが、芦根抽出物の併用投与群ではこのような現象が減少したということが分かり（図６）、胸腺の組織病理学的分析結果も、ドセタキセル投与による組織収縮及び機能性リンパ器官の消失が芦根の併用投与によって回復することが観察された（図７）。

【００４９】

また、ドセタキセルを投与したマウスの場合、造血作用に関与する体内器官である脾臓及び胸腺の異常をもたらして急激な重量減少による器官インデックスの減少が示されたが、ドセタキセルと芦根抽出物とを併用投与した群では組織インデックスの減少が緩和するということが分かった。

【００５０】

器官インデックス（ｍｇ／ｇ）＝器官の重量（ｍｇ）／個体の重量（ｇ）

ドセタキセル投与群では、造血作用に関与する生体器官である脾臓及び胸腺の収縮及び重量減少が観察され、芦根抽出物投与群ではこのような減少が緩和する効果を確認した（表１）。

【００５１】

【表１】

ドセタキセル投与群、ドセタキセルと芦根抽出物との併用投与群の脾臓及び胸腺の重量変化を確認した器官インデックス

	脾臓インデックス（Ｓｐｌｅｅｎ ｉｎｄｅｘ）（ｍｇ／ｇ）	胸腺インデックス（Ｔｈｙｍｕｓ ｉｎｄｅｘ）（ｍｇ／ｇ）
対照群	３．１１１±０．５８	２．３６０±０．２８
ドセタキセル	２．３６６±０．２２	０．９１１±０．２２
ドセタキセル＋芦根－１２５	３．００４±０．２５	１．７２１±０．０７
ドセタキセル＋芦根－２５０	２．８４２±０．２７	１．８４２±０．４９

【００５２】

一方、マウスの脾臓組織からｍＲＮＡを収得して、造血作用に関与するサイトカインの発現変化を確認した。ドセタキセル投与によって造血作用、特に骨髄性前駆細胞の分化及び増殖に深く関与するＩＬ－３の発現が大きく減少し、ドセタキセルと芦根抽出物とを併用投与する場合、減少したＩＬ－３の発現を回復させることを確認した（図８）。

【００５３】

＜実施例５＞芦根抽出物がマウス脾臓細胞で免疫－増進サイトカインに及ぼす影響の確認（ｉｎ ｖｉｖｏ）

芦根抽出物が骨髄抑制誘導動物モデルで造血作用に関与するサイトカインの発現に及ぼす影響を確認するために、マウスにドセタキセルを腹腔注射して骨髄抑制を誘導した後、芦根抽出物による変化を確認した。

【００５４】

具体的には、Ｃ５７ＢＬ／６マウスを５個のグループに区別したが、グループ１の対照群は、５％エチルアルコール及び２％ポリソルベート８０を含む塩水を処理した群であり、グループ２は、３０ｍｇ／ｋｇのドセタキセルを３回も腹腔内投与したドセタキセル処理群であり、グループ３は、ドセタキセルを投与する２日前から１２５ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物を１日１回強制投与し、ドセタキセルを投与する３日及び以後の３日間にも１日１回芦根抽出物を強制投与したドセタキセル及び１２５ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群であり、グループ４は、前記グループ３と同じ方法のドセタキセル及び２５０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群であり、グループ５も、前記グループ３と同じ方法のドセタキセル及び５００ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群である。

【００５５】

前記動物から脾臓組織を収得してｍＲＮＡを抽出した後、造血作用に関与するサイトカインの発現変化を確認した結果、造血幹細胞の分化及び増殖を促進するサイトカインであるＩＬ－３、ＩＬ－６、ＳＣＦ（ｓｔｅｍ ｃｅｌｌ ｆａｃｔｏｒ）及びＧＭ－ＣＳＦ（Ｇｒａｎｕｌｏｃｙｔｅ－ｍａｃｒｏｐｈａｇｅ ｃｏｌｏｎｙ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｎｇ ｆａｃｔｏｒ）の発現増加を確認した（図９）。

【００５６】

＜実施例６＞芦根抽出物がドセタキセル誘導骨髄抑制動物モデルに及ぼす影響の確認

芦根抽出物が骨髄抑制誘導動物モデルの血液指標に及ぼす影響を確認するために、マウスにドセタキセルを腹腔注射して骨髄抑制を誘導した後、芦根抽出物による変化を確認した。

【００５７】

具体的には、Ｃ５７ＢＬ／６マウスを５個のグループに区別したが、グループ１の対照群は、５％エチルアルコール及び２％ポリソルベート８０を含む塩水を処理した群であり、グループ２は、３０ｍｇ／ｋｇのドセタキセルを３回も腹腔内投与したドセタキセル処理群であり、グループ３は、ドセタキセルを投与する２日前から３０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物を１日１回強制投与し、ドセタキセルを投与する３日及び以後３日間にも１日１回芦根抽出物を強制投与したドセタキセル及び３０ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群であり、

グループ４は、前記グループ３と同じ方法のドセタキセル及び１００ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群、グループ５も、前記グループ３と同じ方法のドセタキセル及び３００ｍｇ／ｋｇの芦根抽出物の投与群である。

【００５８】

前記動物から血液を採取して血球細胞数の変化を確認した結果、ドセタキセル投与群では白血球、好中球、リンパ球及び赤血球の減少が確認され、芦根抽出物の併用投与群ではその回復が観察された。

【００５９】

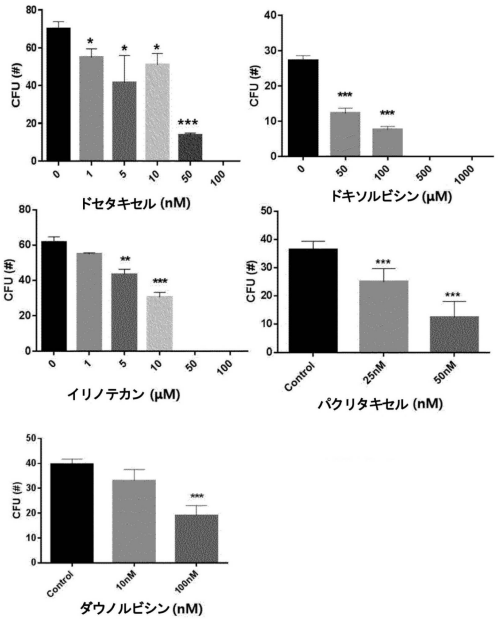
【表２】

	白血球（ＷＢＣｓ）	好中球	リンパ球	赤血球（ＲＢＣｓ）
対照群	3.44±0.24	0.48±0.02	2.88±0.23	9.11±0.18
ドセタキセル群	2.09±0.19	0.30±0.01	1.56±0.22	7.72±0.15
ドセタキセル＋芦根（３０ｍｇ／ｋｇ）	2.52±0.15	0.47±0.06##	1.83±0.10	8.04±0.13
ドセタキセル＋芦根（１００ｍｇ／ｋｇ）	2.59±0.13#	0.41±0.06	2.09±0.10#	7.88±0.13
ドセタキセル＋芦根（３００ｍｇ／ｋｇ）	2.84±0.30	0.42±0.07	2.22±0.25	8.11±0.18

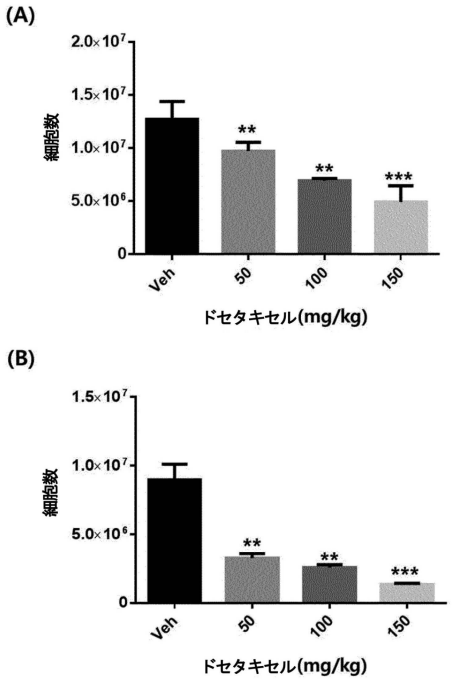
【００６０】

前記表２のデータは、１０匹のマウスからの獲得値の平均±標準誤差（ＳＥＭ）を示し、＃は、ｐ＜０．０５、＃＃は、ｐ＜０．０１ｖｓ．ドセタキセル処理群を意味する。

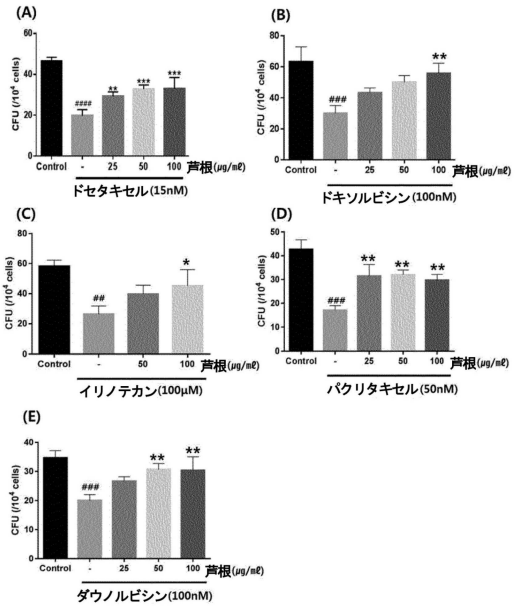
【図１】



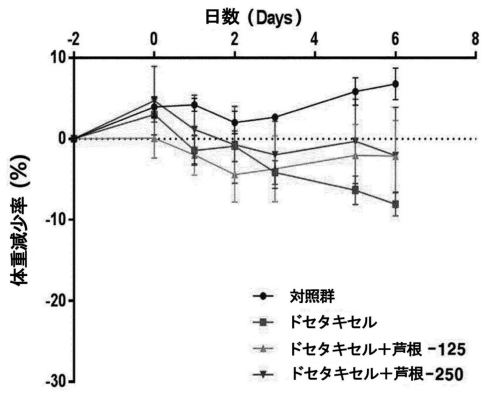
【図２】



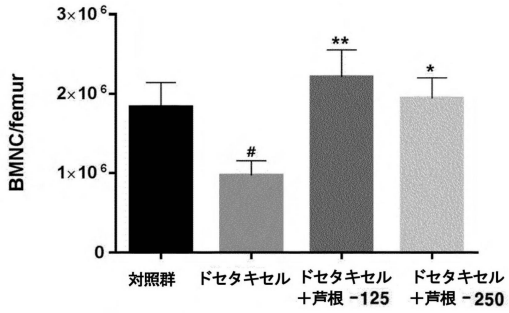
【図３】


(A)
CFU (/10⁴ cells)
Control
芦根(μg/mℓ)
ドセタキセル(15nM)
(B)
ドキソルビシン(100nM)
(C)
イリノテカン(100μM)
(D)
パクリタキセル(50nM)
(E)
ダウノルビシン(100nM)

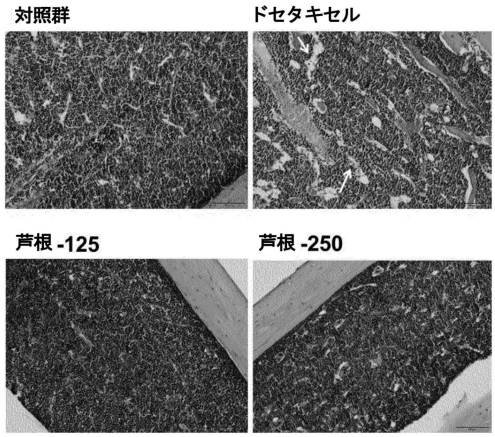
【図４】


日数（Days）
体重減少率（%）
対照群
ドセタキセル
ドセタキセル＋芦根 −125
ドセタキセル＋芦根−250

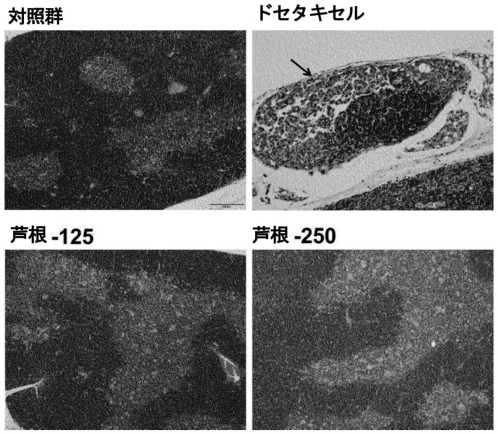
【図５】


BMNC/femur
対照群
ドセタキセル
ドセタキセル
＋芦根 −125
ドセタキセル
＋芦根 −250

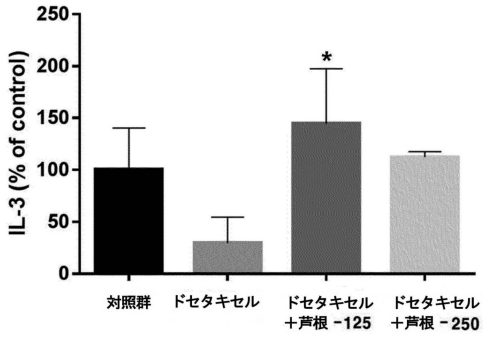
【図６】


対照群
ドセタキセル
芦根 -125
芦根 -250

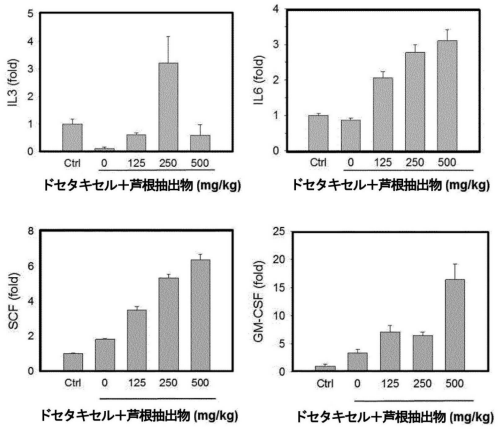
【図７】


対照群
ドセタキセル
芦根 -125
芦根 -250

【図８】


IL-3 (% of control)
250
200
150
100
50
0
*
対照群
ドセタキセル
ドセタキセル
＋芦根 −125
ドセタキセル
＋芦根 −250

【図９】


IL3 (fold)
Ctrl
0
125
250
500
ドセタキセル＋芦根抽出物 (mg/kg)
IL6 (fold)
Ctrl
0
125
250
500
ドセタキセル＋芦根抽出物 (mg/kg)
SCF (fold)
Ctrl
0
125
250
500
ドセタキセル＋芦根抽出物 (mg/kg)
GM-CSF (fold)
Ctrl
0
125
250
500
ドセタキセル＋芦根抽出物 (mg/kg)

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
Ａ６１Ｋ 125/00 (2006.01) Ａ６１Ｋ 125:00

(72)発明者 キム，ノ ソ
大韓民国，テジョン，ユソン－グ，チョンミン－ロ，７１，１１３－８０１
(72)発明者 バン，オクースン
大韓民国，テジョン，ユソン－グ，ペウル ２－ロ，１３４，１０３－１０３
(72)発明者 イ，ユ チン
大韓民国，テジョン，トン－グ，シンギ－ロ，１０３，ルーム ４０１
(72)発明者 キム，ヨン－ア
大韓民国，テグ，チュン－グ，ミョンニュン－ロ １２－ギル，６６，エー－５０３
(72)発明者 ホ，ウナ
大韓民国，キョンギード，キムポ－シ，キムポハンガン ２－ロ，１０３，５０８－２０１

審査官 原口 美和

(56)参考文献 中国特許出願公開第１０３２３９６３６（ＣＮ，Ａ）
韓国公開特許第１０－２０１１－０１２６３８４（ＫＲ，Ａ）
韓国公開特許第１０－２０１２－０１２１９１３（ＫＲ，Ａ）
特表２０１５－５２０２２８（ＪＰ，Ａ）
中国特許出願公開第１５１８９９４（ＣＮ，Ａ）
中国特許出願公開第１０１６４７９６１（ＣＮ，Ａ）
中薬大辞典，１９９８年，初版第３刷，pp. 2796-2798，5715「ロコン」の項

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３６／８９９
Ａ２３Ｌ ３３／１０５
Ａ６１Ｐ ７／００
Ａ６１Ｐ ７／０６
Ａ６１Ｐ ３９／０２
Ａ６１Ｋ １２５／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）