

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 2월 13일 (13.02.2020) WIPO | PCT



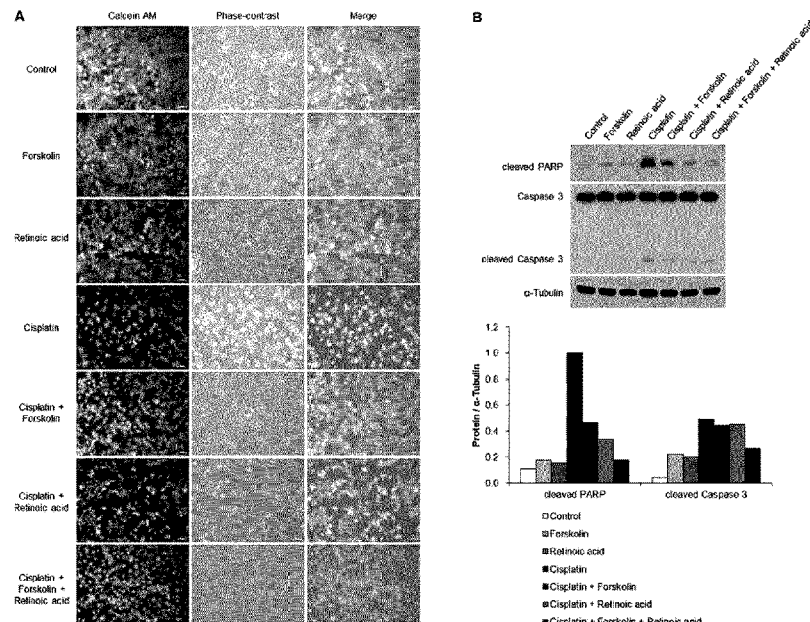
(10) 국제공개번호
WO 2020/032516 A1

- (51) 국제특허분류: *A61K 31/353* (2006.01) *A61P 27/16* (2006.01)
A61K 31/203 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/009759
- (22) 국제출원일: 2019년 8월 6일 (06.08.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2018-0093767 2018년 8월 10일 (10.08.2018) KR
- (71) 출원인: 아주대학교산학협력단 (AJOU UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 16499 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 정연훈 (CHOUNG, Yun-Hoon); 05507 서울시 송파구 올림픽로 435 226-504, Seoul (KR). 김연주 (KIM, Yeon Ju); 16336 경기도 수원시 장안구 이목로 24 101-803, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 이치영 등 (LEE, Cheo Young et al.); 06133 서울시 강남구 테헤란로 123 11층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING SENSORINEURAL HEARING LOSS, CONTAINING FORSKOLIN AND RETINOIC ACID AS ACTIVE INGREDIENTS

(54) 발명의 명칭: 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물

[도6]



(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for preventing or treating sensorineural hearing loss, containing forskolin and retinoic acid as active ingredients. According to the present invention, a pharmaceutical composition containing forskolin and retinoic acid as active ingredients has an excellent effect of preventing, alleviating or treating hearing loss caused by ototoxic drugs during anticancer treatment, and thus is useful as a pharmaceutical composite preparation capable of reducing side effects of anticancer drugs and, additionally, as an agent for preventing or treating sensorineural hearing loss.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(57) 요약서: 본 발명은 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 함유하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 함유하는 약학 조성물은 항암 치료시 이독성 약물에 의해 유발되는 난청을 예방, 개선 또는 치료 효과가 우수하므로, 감각신경성 난청의 예방 또는 치료제 외에도 항암제 부작용을 경감할 수 있는 약제학적 복합제제로 유용하다.

명세서

발명의 명칭: 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 함유하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 항암 치료시 이독성 약물에 의해 유발되는 난청을 예방, 개선 또는 치료하기 위한 조성물에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 청각소실, 즉 난청이란 외이, 중이 또는 내이에 이상이 생겨 소리를 잘 듣지 못하는 현상을 말한다. 난청은 전 인구의 약 15-20%가 가지고 있는 아주 흔한 질환이다. 현대사회의 환경오염과 고령화로 인해 난청인구는 더욱 증가하는 추세이며, 청각 장애는 영구적이므로 발생하기 전에 예방을 하는 것이 매우 중요하다. 난청의 발생은 대부분이 돌발성, 약물성 (아미노글리코시드 등의 항생제, 항암제), 소음성, 외상성, 노인성, 선천성 등의 환경적 요인과 유전적 요인들에 의해 형성되며, 주로 내이 코르티기관 내 청각유모세포 (hair cell) 손상 및 죽음을 특징으로 한다.
- [4] 감각신경성 난청의 치료를 위한 내이유모세포 (inner ear hair cell) 재생, 유모세포의 증식 (proliferation)과 분화 (differentiation)에 관여하는 신호경로 기전들이 많이 밝혀졌으며 유전자 치료 (Gene editing) 혹은 세포이식 (cell transplantation)을 할 수 있는 기술들이 개발되면서 최근 수년간 유모세포재생 연구에 큰 진전을 이루어 내고 있으나, 아직까지 명확한 난청 억제 및 예방에 관한 기전이나 예방 및 치료제 개발은 미미한 실정이다 (Baek MJ *et al.*, *Hanyang Med Rev.* 5:57-65, 2015).
- [5] 이독성 난청 (ototoxicity)은 임상에서 쓰이는 약물 작용에 의하여 청력이나 평형 기능에 장애가 오는 것으로 현재 대표적 이독성 물질은 아미노글리코사이드 (aminoglycoside) 계열의 항생제와 시스플라틴 (cisplatin) 항암제, 이노제 등이 있다. 시스플라틴 항암제 이독성은 사용자의 약 30%에서 청력 기능 감소를 보이며, 소아의 경우 50%로 청력장애 발생 빈도가 더 높은 것으로 보고되었다 (BRIELLE URCIUOLI, 2018). 그럼에도 불구하고 우수한 항암치료 효과로 임상에서 불가피하게 사용되고 있다. 내이 내 청각유모세포 (hair cell)에 주로 손상을 입히는 항생제 이독성과는 다르게, 시스플라틴은 유모세포 뿐만 아니라 지지세포 (supporting cell) 및 나선신경절 세포 (spiral ganglion cell)에도 크게 손상을 준다.
- [6] 시스플라틴 항암제 유도 난청 예방 및 치료를 위해 시도된 연구들은 주로

항산화제를 이용한 것으로, 부시라민 (Bucillamine), 비타민 E, 카페인산 (Caffeic acid), N-아세틸시스테인 (N-acetylcysteine) 등이 시도되어 왔다, (Kim SJ *et al.*, *Exp Mol Med.* 20(47):e142, 2015; Yildirim M *et al.*, *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg.* 20(4):173-83, 2010). 이러한 항산화제에 의해 글루타치온 증가 항산화 유전자 유도, 반응성 산화물 (ROS) 과활성 감소를 통한 이독성 감소 효과를 보인 바 있으나, 아직 뚜렷한 예방 약제가 없다. 난청의 예방 및 치료를 위해 시도된 많은 연구들에도 불구하고, 난청의 명확한 분자기전 및 예방과 치료 방안이 아직까지 제시되고 있지 못하는 실정이다.

- [7] 한편, 포스콜린 (Forskolin)은 열대성 식물 콜레우스 포스콜리 (Coleus Forskolii) 뿌리에 들어있는 성분으로서, 아데닐산 고리화효소를 활성화하는 저분자 화합물이며 세포 내 cAMP를 증가시킨다. 예로부터 월경불순에 사용되었으며, 현재 강력한 체지방 연소 물질로 알려져 체중 조절 성분으로 널리 알려져 있다. 시스플라틴 항암제로 인한 부작용인 신장독성과 관련하여 cAMP 활성을 유도하였을 때, 반응성 산화물 (ROS)와 TNF-alpha 합성 억제 경로를 통해 신장세포에서 시스플라틴 유도 산화 손상이 감소한다는 보고가 있다 (Mishima K *et al.*, *Free Radic Biol Med.* 40(9):1564-77, 2006).
- [8] 레티노산 (Retinoic acid)은 비타민 A (레티놀)가 체내에서 분해될 때 생성되는 산화된 대사산물로, 여러 유전자 발현 조절을 통해, 상피조직의 성장과 분화에 관여하고 중추 신경계와 조혈기능 및 세포 생존/사멸에 주요 역할을 하는 것으로 알려진 중요한 성분이다. 레티노산은 암세포의 분화와 성장을 조절하는 기능이 증명되면서, 유방암, 폐암, 두경부암 등의 여러 암에서 치료효능이 증명되었다. 또한, 내이에서의 레티노산의 역할은 주로 내이 감각세포 생존 및 발달에 관여되는 것으로 보고되었다. 소음성 난청 마우스에서 레티노산 투여에 따른 난청 보호 효과가 보고되었으며, 레티노산 관련 신호는 p27kip과 sox2 억제를 통해 청각 지지세포 재생과 분화에 관여하여 내이 발달 필수적 요소임이 보고되었다.
- [9] 이에, 본 발명자들은 항암 치료시 이독성 약물에 의해 유발되는 난청의 분자기전을 밝히고 난청을 예방 및 치료하고자 예의 노력한 결과, 포스콜린 및 레티노산을 함께 투여한 경우 단독 투여에 비해 현저히 우수한 효과로 난청을 개선하고 청력저하를 억제할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.
- [10]
- [11] **발명의 요약**
- [12] 본 발명의 목적은 항암 치료의 부작용으로 나타날 수 있는 난청을 예방 또는 치료하기 위해 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는데 있다.
- [13] 본 발명의 다른 목적은 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하고 감각신경성 난청을 개선시키는 것을 특징으로 하는 항암용 보조제 및 상기 항암용 보조제와 항암제를 유효성분으로 포함하는 항암용 복합제제를

제공하는데 있다.

[14]

[15] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[16] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하고 감각신경성 난청을 개선시키는 것을 특징으로 하는 항암용 보조제를 제공한다.

[17] 본 발명은 또한, 상기 항암용 보조제 및 항암제를 유효성분으로 포함하고 감각신경성 난청을 개선시키는 것을 특징으로 하는 항암용 복합제제를 제공한다.

[18] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 투여하는 단계를 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[19] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 감각신경성 난청의 예방 또는 치료에 사용하는 용도를 제공한다.

[20] 본 발명은 또한, 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 포스콜린 및 레티노산의 용도를 제공한다.

[21] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 보조제를 투여하는 단계를 포함하는 감각신경성 난청의 개선 방법을 제공한다.

[22] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 복합제제를 투여하는 단계를 포함하는 감각신경성 난청의 개선 방법을 제공한다.

[23] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 보조제를 감각신경성 난청의 개선에 사용하는 용도를 제공한다.

[24] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 복합제제를 감각신경성 난청의 개선에 사용하는 용도를 제공한다.

[25]

도면의 간단한 설명

[26] 도 1은 Balb/c/nu/nu 마우스를 이용하여 종양 유발 모델 제작 및 *in vivo* 실험의 개략도를 나타낸 것이다.

[27] 도 2는 SD-rat 일반 동물 모델을 이용한 *in vivo* 실험의 개략도를 나타낸 것이다.

[28] 도 3은 (A) 종양 유발 모델에서 시스플라틴 처리 전후의 16 및 32 kHz에서 ABR을 측정한 것이고, (B) 달팽이관 기저회전 (basal turn) 및 중간회전 (middle turn) 부위를 H&E 염색한 것이다.

[29] 도 4는 종양 유발 모델에 생리식염수 (Vehicle), 포스콜린, 시스플라틴, 시스플라틴+포스콜린을 각각 투여한 다음 (A) 종양 부피 변화, (B) 체중 변화, (C) 마우스 외형, (D) 분리한 종양 및 (E) 종양의 무게, 신장 무게, 체중을 조사한 것이다.

- [30] 도 5는 (A) SD-rat 일반 동물 모델에서 시스플라틴 투여 전후의 16 및 32 kHz에서 ABR을 측정한 것으로, 오른쪽 귀에 포스콜린 및 왼쪽 귀에 DMSO를 주사하였고, (B) middle turn 및 basal turn을 H&E 염색한 것이다.
- [31] 도 6은 (A) HEI-OC1 청각세포주에서 포스콜린과 레티노산의 시너지 효과를 calcein AM 표지 형광 및 위상차 이미지로 분석한 것이며, (B) cleaved PARP 및 caspase-3의 발현을 웨스턴 블롯으로 분석한 것이다.
- [32]
- [33] **발명의 상세한 설명 및 바람직한 구현예**
- [34] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.
- [35]
- [36] 본 발명에서는 이독성 난청 마우스 모델에서 포스콜린에 의해 청력 감소가 억제 및 개선되고, 청각 유모세포, 지지세포 및 나선신경절 세포의 소실도 보존되는 것을 확인하였다. 또한, 포스콜린은 이독성을 유발하는 항암제 시스플라틴에 의한 항암 효과에는 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다. 더욱이, 청각세포주에 포스콜린과 레티노산을 함께 처리하여, 청각세포주 세포사멸 억제 효과가 현저히 증가하는 것을 확인하였다. 즉, 포스콜린의 난청 치료 효과는 레티노산과 병용투여할 경우 시너지 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.
- [37] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [38] 본 발명에 있어서, 상기 감각신경성 난청은 이독성 약물에 의한 이독성 난청인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [39] 본 발명의 용어 "감각신경성 난청 (sensorineural hearing loss)"은 내이(inner ear)의 성분 또는 동반되는 신경 성분이 영향을 받는 경우에 발생하며, 뇌의 청신경 또는 청신경 경로가 영향을 받는 경우 신경 또는 감각 성분을 포함할 수 있다. 감각성 난청은 유전될 수 있거나, 또는 음향성 외상 (예, 폭발음과 같은 매우 큰 소음), 바이러스 감염, 약물 유도성 또는 메니에르 병이 원인일 수 있다. 신경성 난청은 뇌종양, 감염 또는 각종 뇌 및 신경 장애, 예컨대 뇌졸중으로 인해 생길 수 있다. 일부 유전 질환, 예컨대 레프섬 병 (분지형 지방산의 결함성 축적)도 역시 난청에 영향을 주는 신경성 질환을 일으킬 수 있다. 청각 신경경로는 탈수초성 질환, 예를 들어 특발성 염증성 탈수초성 질환 (다발성 경화증 포함), 횡단성 척수염, 데빅병, 진행성 다병소성 백질뇌증, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증 및 항-MAG 말초 신경병증에 의해 손상을 받는다.
- [40] 본 발명에 있어서, 감각신경성 난청은 이독성 난청인 것이 바람직하나, 이에

한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 감각신경성 난청은 내이의 유모세포 및 주변조직의 손상에 기인한 것을 특징으로 할 수 있다.

[41] 이독성 (耳毒性, Ototoxicity) 약물이란 청각 기능이나 몸의 균형기능에 손상을 일으키는 약물이나 화학약품으로서, 주로 내이 (inner ear)에 손상을 일으킨다. 이러한 이독성 약물은 항생제, 항암제, 이뇨제 (예: 아세트아조아미드, 푸로세미드, 부메타니드, 에타크리닉) 등을 포함하며, 특히, 아미노글리코사이드계 항생제를 포함한다.

[42] 본 발명에 있어서, 상기 이독성 약물은 시스플라틴 (cisplatin), 카르보플라틴 (carboplatin), 아미카신 (amikacin), 아르베카신 (arbakacin), 카나마이신 (kanamycin), 겐타마이신 (gentamicin), 네오마이신 (neomycin), 네틸마이신 (netilmicin), 디베카신 (dibekacin), 시소마이신 (sisomycin), 스트렙토마이신 (streptomycin), 토브라마이신 (tobramycin), 리보도마이신 (livodomycin), 및 파로모마이신 (paromomycin)으로 구성된 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[43] 상기 이독성 약물은 이독성을 유발하는 항암제로 시스플라틴(cisplatin), 카르보플라틴(carboplatin), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 블레오마이신 및 빈크리스틴을 들 수 있으며, 더욱 바람직하게는 시스플라틴 (cisplatin)인 것이나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[44] 본 발명의 시스플라틴 (시스-디아민디클로로플라티늄(II), CDDP)은 유방암, 방광암, 위암, 자궁경부암, 두경부암을 포함하는 다양한 종양을 치료하는데 사용되고 있는 항종양 약물이다. 시스플라틴은 백금을 함유한 중금속 화합물로서 백금 원자를 중심으로 2개의 염소 원자와 2개의 암모니아 분자가 시스(cis) 형으로 결합되어 있으며, DNA 가닥상의 인접한 2개의 구아닌과 결합하여 사슬 내 가교를 형성함으로써 DNA 합성을 억제한다. 즉, 시스플라틴은 암세포의 핵 내에 존재하는 DNA 이중나선 구조에 부착되어 DNA 복제를 저해하고, 이를 통해 암세포 성장 및 증식을 억제하여 항암효과를 나타낸다고 알려져 있다. 하지만, 시스플라틴은 이독성 (ototoxicity) 난청과 같은 심각한 부작용으로 인해 임상적 사용이 제한되고 있다. 실제 시스플라틴으로 치료받은 두경부암 환자의 다수가 이독성 난청을 겪는 것으로 알려져 있다. 이러한 이독성은 초기에는 고주파수 청력 손실을 보이다가 점진적으로 전체 주파수에서 청력 손실을 야기할 뿐만 아니라 평형 이상과 같은 전정기능 감소를 유발한다. 현재 이독성 난청을 예방하기 위해 소듐 티오설페이트와 같은 티올계 약물, N-아세틸시스테인, D- 및 L-메티오닌, 플루나리진 (flunarizin)과 같은 칼슘 채널 차단제, 캐스파아제(caspase) 억제제 등이 연구되고 있으나, 아직 실용화된 약물은 없는 상황이다. 이렇듯 시스플라틴 (cisplatin) 항암제에 대한 이독성 부작용은 이미 알려져 있으나, 우수한 항암 효과로 현재도 사용되고 있으며, 이에 대한 예방 및 치료 약제는 없다. 그러므로, 이독성 약물로 인한 부작용인 이독성 난청을 예방할 수 있는 효과적인 방법 및 약물이 절실히

요구된다.

- [45] 시스플라틴이 이독성 난청을 나타내는 기전으로는 반응성 산소종(ROS)의 증가와 그에 따른 지질의 과산화화 및 DNA의 손상 등이 알려져 있으나, 다양한 기전 이해가 많이 부족하다.
- [46] 세포 간의 정보 교환은 외부 화학물질 (예: 호르몬, 성장인자, 신경전달물질 등)에 의한 신호가 세포막에 존재하는 특이 수용체에 의해 인식되어 야기되며, 이로 인해 다양한 신호가 세포 안으로 전달되고, 이는 이차전령 물질 (second messenger)을 생성하여 매개 및 증폭된다. 대표적 이차전령물질은 cyclic nucleotides (e.g., cAMP and cGMP)와 inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) 이다. 세포 내 cyclic adenosine monophosphate (cAMP) 농도는 아데닐산 고리화효소 (adenylate cyclase)에 의해 ATP가 cAMP로 전환되어 증가하며, 이는 protein kinase (PKA)를 활성화하여 cAMP response element-binding protein (CREB)을 인산화시키고 CREB이 DNA내 cAMP-response element (CRE)에 결합하여 여러 전사인자를 촉진하여 다양한 세포기능을 조절한다.
- [47] 간극연접 (Gap junction)은 이웃한 두 세포 사이에 형성된 막 구조물로 1 kDa 이하의 작은 친수성 물질들의 수동적 확산이 이뤄지는 채널이다. 일반적으로 내이 간극결합은 K⁺ 이온 국소순환에 관여하여 청각기능에 필수적인 세포의 림프액의 고전위를 유지하는데 주 작용을 한다. 뿐만 아니라 독성환경에서 간극연접 조절에 의한 세포 생존 경로가 조절될 수 있다는 것이 관찰되었는데, 이는 아마도 간극연접에 의한 세포간 이온, 이차전령물질 (cAMP, cGMP, IP3, DAG 등) 전달 및 신호에 의한 것으로 예상된다. 유사 연구로, 뼈세포 간 cAMP 물질 상호전달이 osteoblast 분화에 중요하며, 이는 커넥신43에 의해 형성된 간극연접 의존적임을 실험적으로 규명하였다 (Aditi Gupta *et al.*, *Cell Signal.* 28(8):1048-57, 2016). 또한, 시스플라틴 항암제로 인한 신장독성은 AMP 활성을 유도하였을 때, 신장세포에서 시스플라틴 유도 산화 손상이 감소한다는 보고가 있었다 (Mishima K *et al.*, *Free Radic Biol Med.* 40(9):1564-77, 2006). 레티노산은 간극결합 구성단백인 커넥신 단백질 양을 증가시키거나, 커넥신의 탈인산화 (dephosphorylation)를 촉진하여 채널기능을 증가시킨다.
- [48] 이러한 기전을 바탕으로 본 발명에서는 시스플라틴 유도 이독성 난청을 예방 및 치료할 수 있는 이차전령물질 및 이에 대한 효과를 증강시킬 수 있는 약물로 포스콜린 및 레티노산의 난청 예방 또는 치료 효과를 확인하였다.
- [49] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 청각세포의 세포 사멸 (apoptosis)을 저해할 수 있다. 상기 청각유모세포 사멸은 이독성 약물에 의해 유도된 것일 수 있다.
- [50] 본 발명의 용어 "난청" 또는 "청각 손상"은 소리를 인식하는 감각의 손상을 의미하고 그로 인한 소리를 인식하는 능력의 결함을 포함한다. 상기 청각 손상은 청각유모세포 또는 신경세포 손상에 기인할 수 있고, 코르티 기관 또는 와우에 존재하는 세포의 손상을 포함한다. 여기서 손상은 유전적 장애, 소음, 이독성, 또는 임의의 다른 특정한 스트레스 요인에 의해 야기될 수 있다. 상기 청각

손상으로 인한 소리를 인식하는 능력의 결함은 감각신경성 청력 소실, 전도성 청력 소실, 조합 청력 소실, 경증 (25 내지 40 dB), 중간의 (41 내지 55 dB), 중간정도로 심각한 (56 내지 70 dB), 심각한 (71 내지 90 dB), 및 매우 심각한 (90 dB 이상) 청력 소실, 언어사용 전 및 언어사용 후 청력 소실, 단측성 (한쪽 귀에 영향을 미침) 및 양측성 (양쪽 귀에 영향을 미침) 청력 소실, 또는 이들의 임의의 조합, 즉 감각신경성/심각한/언어사용 후/양측성 청력 소실을 포함한다.

- [51] 본 발명의 용어 “와우”는 청력과 관련된 내이 부분이다. 와우는 달팽이를 닮은 형상으로 감겨있는 나선형의 관 유사 구조물이다. 와우의 내부는 3개 영역으로 나뉘어 있고, 전정막과 기저막의 위치에 의해 구분된다. 전정막 위의 부분은 전정계인데, 난원창으로부터 와우의 정점까지 연장되어 있고 칼륨 함량은 낮고 나트륨 함량은 높은 수성 액체인 외림프액을 함유한다. 기저막은 고실계 영역을 한정하는데, 이는 와우의 정점으로부터 정원창으로 연장되어 있고, 역시 외림프액을 함유한다. 기저막은 수많은 강직 섬유를 함유하는데, 이는 정원창으로부터 와우의 정점까지 그 길이가 점차적으로 증가한다. 기저막의 섬유는 소리에 의해 활성화되면 진동된다. 전정계와 고실계 사이에 와우관이 위치하며, 이의 말단은 와우의 정점에서 밀폐 낭으로 되어 있다. 와우관은 내림프액을 함유하는데, 이는 뇌척수액과 유사하고 칼륨 함량이 높다.
- [52] 청각 기관인 “코르티 기관”은 기저막 상에 위치하고 와우관으로 상방으로 연장되어 있다. 코르티 기관은 자유면으로부터 연장되는 털같은 돌출부를 가지는 유모 세포를 함유하며, 덮개막이라고 불리는 젤라틴 표면과 접촉한다. 유모 세포가 축삭을 갖지 않지만, 이들은 전정와우 신경 (뇌신경 VIII)의 와우 가지를 형성하는 감각 신경섬유로 둘러싸여 있다.
- [53] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제, 붕해제, 감미제, 피복제, 팽창제, 율활제, 활택제, 향미제, 향산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 율활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.
- [54] 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며, 본 발명에서 용어, “약학적으로 허용가능한 담체”란 생물체를 상당히 자극하지 않고 투여 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 말한다.
- [55] 구체적으로 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 사용할 수 있으며, 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할

수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 있으며 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[56] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는, 피하주사, 정맥주사 또는 근육내 주사 등의 주사용 형태, 좌제 주입방식 또는 호흡기를 통하여 흡입이 가능하도록 하는 에어로졸제 등 스프레이용으로 제제화 할 수 있다. 주사용 제형으로 제제화하기 위해서는 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여용으로 제제한다. 좌제로 주입하기 위해서는, 코코아버터 또는 다른 글리세라이드 등 통상의 좌약 기재를 포함하는 좌약 또는 재료 관장제와 같은 직장투여용 조성물로 제제화 할 수 있다. 에어로졸제 등 스프레이용으로 제형화하는 경우, 수분산된 농축물 또는 습윤 분말이 분산되도록 추진제 등이 첨가제와 함께 배합될 수 있다.

[57] 본 발명에 있어서, 상기 약학 조성물은 통상적인 방법에 따라 주사제, 과립제, 산제, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 겔, 현탁제, 유제, 점적제 또는 액제로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형을 사용할 수 있다.

[58]

[59] 본 발명은 다른 관점에서, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하고 감각신경성 난청을 개선시키는 것을 특징으로 하는 항암용 보조제에 관한 것이다.

[60] 본 발명은 또 다른 관점에서, 상기 항암용 보조제 및 항암제를 유효성분으로 포함하는 항암용 복합제제에 관한 것이다.

[61] 본 발명의 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물은 항암제에 의해 유발되는 난청을 예방 또는 개선시킬 수 있으므로, 항암제를 장기간 투여하는 것이 불가피한 경우에도 안정적으로 항암제를 투여하여 난청에 대한 부작용 없이 암을 치료할 수 있다.

[62] 또한, 본 발명의 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물은 항암제의 부작용을 경감시킬 수 있는 항암용 약제학적 복합제제로서 제공될 수 있다.

[63] 상기 약제학적 복합제제는 전체 100 중량부에 대하여 포스콜린 및 레티노산을 0.01 내지 90 중량부, 0.1 내지 90 중량부, 1 내지 90 중량부, 또는 10 내지 90 중량부로 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 달라질 수 있다.

- [64] 본 발명에 있어서, 상기 항암용 복합제제의 물비는 포스콜린과 레티노산이 1:0.5 내지 10인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1:1 내지 5인 것이며, 가장 바람직하게는 1:2 내지 3인 것이나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [65]
- [66] 본 발명은 또 다른 관점에서, 포스콜린 및 레티노산을 투여하는 단계를 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.
- [67] 본 발명은 또한, 포스콜린 및 레티노산을 감각신경성 난청의 예방 또는 치료에 사용하는 용도에 관한 것이다.
- [68] 본 발명은 또한, 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 포스콜린 및 레티노산의 용도에 관한 것이다.
- [69] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [70] 경구 투여, 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여, 강내 투여, 복강내 투여 또는 경막내 투여 될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명에 따른 조성물은 항암제와 함께 또는 항암제를 투여하기 전 또는 투여하고 난 후에 일정 시차를 두고 항암제와 별도로 투여될 수 있다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고 수회로 나누어 투여할 수도 있으며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다. 상기 포스콜린 및 레티노산의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질환의 종류 및 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 달라질 수 있으며 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 본 발명의 일실시예에 따르면 이에 제한되는 것은 아니지만 1일 투여량이 0.01 내지 200 mg/kg, 구체적으로는 0.1 내지 200 mg/kg, 보다 구체적으로는 0.1 내지 100 mg/kg 일 수 있다.
- [71] 본 발명의 용어 "예방 또는 치료"에서 '예방'이란 포스콜린 및 레티노산들을 포함하는 약학 조성물을 투여함으로써 청각 손상 또는 난청의 발병을 억제시키거나 발병을 지연하는 모든 행위를 말하며, '치료'란 상기 약학 조성물의 투여로 청각 손상 또는 난청을 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [72]
- [73] 본 발명은 또 다른 관점에서, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 보조제를 투여하는 단계를 포함하는 감각신경성 난청의 개선 방법에 관한 것이다.
- [74] 본 발명은 또 다른 관점에서, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 복합제제를 투여하는 단계를 포함하는 감각신경성 난청의 개선 방법에 관한 것이다.
- [75] 본 발명은 또 다른 관점에서, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 보조제를 감각신경성 난청의 개선에 사용하는 용도에 관한 것이다.

[76] 본 발명은 또 다른 관점에서, 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 항암용 복합제제를 감각신경성 난청의 개선에 사용하는 용도에 관한 것이다.

[77]

[78] 실시예

[79] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[80]

[81] 실시예 1: 종양 유발 이독성 난청 동물 모델을 이용한 인비보 (*in-vivo*) 실험

[82] 선천적 비정상 청력을 가진 마우스를 배제하기 위해, 실험 전 모든 마우스의 사전 청력검사를 시행하였다. 면역 결핍 마우스 Balb/c/nu/nu의 청성뇌간반응 (Auditory brainstem response; ABR) 검사를 시행한 다음, 폐암 세포주 (A549)를 마우스 피하에 이종 이식하여 종양 유발 동물모델을 제작하였다 (도 1).

[83] 제작한 종양 유발 동물모델을 (1) 생리식염수 군 (Vehicle), (2) 포스콜린 투여군 (forskolin), (3) 시스플라틴 투여군 (cisplatin), (4) 시스플라틴 + 포스콜린 투여군 (Cisplatin+forskolin)으로 분류하여 각 약물을 투여하였다. 시스플라틴은 12 mg/kg로 1주에 5회, 포스콜린은 2.5 mg/kg 1주에 6회로 총 2주간 투여하였으며, 모든 투여가 종료된 1주일 후에 다시 동일한 청성뇌간반응 검사를 수행하였고, 조직학적 분석을 위한 헤마톡실린-에오신 (Hematoxylin-Eosin) 염색을 수행하였다. 청성뇌간 유발반응 검사 (Auditory brainstem response; ABR test)는 TDT ABR 기기를 이용하여 16 kHz, 32 kHz의 tone burst음을 주어 최소자극음 크기 (dB)를 청력역치로 판정하는 것이다.

[84] 청성뇌간 유발반응 검사 결과, 시스플라틴 처리군의 경우 16 kHz에서 29 dB, 32 kHz에서 31 dB로 청력역치가 증가하는 결과를 보였다. 시스플라틴 + 포스콜린 투여군의 경우 16 kHz에서 13.3 dB, 32 kHz에서 16.7 dB로 청력역치가 감소되는 난청 예방 효과가 확인되었다 (도 3A).

[85] 또한, 헤마톡실린-에오신 (Hematoxylin-Eosin) 염색으로 달팽이관 기저회전 (basal turn)과 중간회전 (middle turn) 부위 코르티 기관 내 청각 유모세포, 지지세포 및 나선신경절 세포의 소실 및 손상 정도를 평가한 결과, 시스플라틴 투여에 의해 기저회전과 중간회전에서의 청각 외유모세포들의 다수 소실이 관찰되었으나, 포스콜린 투여로 인해 상당히 보존되는 효과가 관찰되었다 (도 3B).

[86]

[87] 실시예 2: 종양 유발 이독성 난청 동물 모델에서 시스플라틴 항암 효과

[88] 실시예 1의 종양 유발 이독성 난청 동물 모델에서 종양이 형성된 후, 마우스를 무작위로 분류한 다음 (1) 생리식염수 (Vehicle), (2) 포스콜린 (Forskolin), (3) 시스플라틴 (Cisplatin), (4) 시스플라틴 + 포스콜린 (Cisplatin+Forskolin)을 5일

동안 복강 내 투여하고, 7일간 쉬었다.

[89] 각 그룹의 평균 종양 부피 및 체중을 1주일 마다 측정하였다 (도 4A 및 4B).

또한, 적출한 종양 및 신장의 무게도 측정하였다 (도 4E).

[90] 그 결과, 대조군에 비해 시스플라틴 단독 투여군 뿐만 아니라 시스플라틴 + 포스콜린 투여군에서 약 50 %의 종양 크기 감소 효과가 관찰되었고, 두 군간의 통계적 유의성은 관찰되지 않았다. 즉, 종양 유발 동물 모델에서 시스플라틴에 의한 항암효과는 포스콜린에 의해 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 포스콜린은 시스플라틴의 항암효과에는 영향을 주지 않으면서, 청각세포 손상을 예방하여 난청 보호 효과를 지니는 것을 확인하였다.

[91]

[92] 실시예 3: 일반 이독성 난청 동물 모델을 이용한 인비보 (*in-vivo*) 실험

[93] 선천적 비정상 청력을 가진 마우스를 배제하기 위해, 실험 전 모든 마우스의 사전 청력검사를 시행하였다. 7주령 SD (Sprague-Dawley)-rat의 청성뇌간반응 (Auditory Brainstem Response; ABR) 검사를 시행한 다음, 시스플라틴 항암제 16 mg/kg/7ml을 1회 복강내로 주입하여 이독성 난청을 유도하였다 (도 2).

[94] 시스플라틴 투여 전 및 후에 포스콜린 (25 μ M, 20 μ L)를 1회씩 총 2회 한쪽 귀 고실 내 주입 (intratympanic injection; IT) 을 시행하였으며, 나머지 한쪽 귀는 대조군으로 DMSO가 첨가된 생리식염수를 주입하였다. 5일 후 청성뇌간 유발반응 검사와 조직학적 검사를 시행하여 이독성 난청에 대한 포스콜린-cAMP 활성화 유도에 대한 예방 효과를 평가하였다.

[95] 그 결과, 시스플라틴을 복강 투여한 그룹의 포스콜린을 주입한 귀에서의 청력 역치 감소가 관찰되었다 (도 5A). 또한, 대조군에서는 시스플라틴 투여 귀에서 와우 내 기저회전 및 중간회전에서의 청각 유모세포의 소실이 다수 관찰되었으나, 시스플라틴 + 포스콜린 투여 귀에서는 외유모세포가 보존되는 효과가 관찰되었다 (도 5B).

[96]

[97] 실시예 4: 청각세포주에서 포스콜린 및 레티노산에 의한 세포사멸 억제

[98] 청각 유전자들을 발현하는 청각세포주 (HEI-OC1; House-Ear Institute-organ of Corti 1)를 사용하였으며, 33°C, 10% CO₂ 조건에서 고농도의 글루타민이 첨가된 DMEM 배지 (Dulbecco's modified Eagle's Medium)에 10% 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS)와 25 U/ml의 인터페론 감마를 첨가하고, HEI-OC1 세포를 배양하였다. 25 μ M 농도의 시스플라틴을 처리하여 시스플라틴 이독성에 의해 세포가 약 40~50% 정도 사멸되는 조건에서 포스콜린 및 레티노산의 효과를 분석하였다.

[99] 이독성에 대한 포스콜린과 레티노산의 효과를 분석하기 위해, (1) 정상, (2) 포스콜린, (3) 레티노산, (4) 시스플라틴, (5) 시스플라틴+포스콜린, (6) 시스플라틴+레티노산, (7) 시스플라틴+포스콜린+레티노산으로 실험군을 분류하였다. 시스플라틴은 25 μ M, 포스콜린은 20 μ M, 레티노산은 50 μ M 농도로

처리하였다. 그 다음, live cell에 적용 가능한 형광염색인 calcein AM을 이용하여 살아있는 세포를 관찰하고, 세포사멸 마커인 cleaved PARP와 caspase 3를 단백질 수준에서 확인하였다.

- [100] 그 결과, calcein 염색과 세포사멸 관련 마커인 cleaved PARP, caspase 3 단백질 발현을 통해 시스플라틴 유도 청각세포주의 세포 사멸이 관찰되었으며, 포스콜린 및 레티노산 각각 단독 처리에 의해 세포 생존률이 증가되는 효과가 관찰되었다 (도 6). 또한, 포스콜린과 레티노산은 각각 단독 처리에 비해 복합 처리한 경우 그 효과가 더욱 상승되는 것을 확인하였다.

- [101] 따라서, 시스플라틴 투여가 불가피한 경우 환자들에게 청력 소실을 예방하기 위해 포스콜린과 레티노산이 유용하게 이용될 수 있다.

[102]

산업상 이용가능성

- [103] 본 발명에 따른 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 항암 치료시 이독성 약물에 의해 유발되는 난청을 예방, 개선 또는 치료 효과가 우수하므로, 감각신경성 난청의 예방 또는 치료제 외에도 항암제 부작용을 경감할 수 있는 약제학적 복합제제로 유용하다.

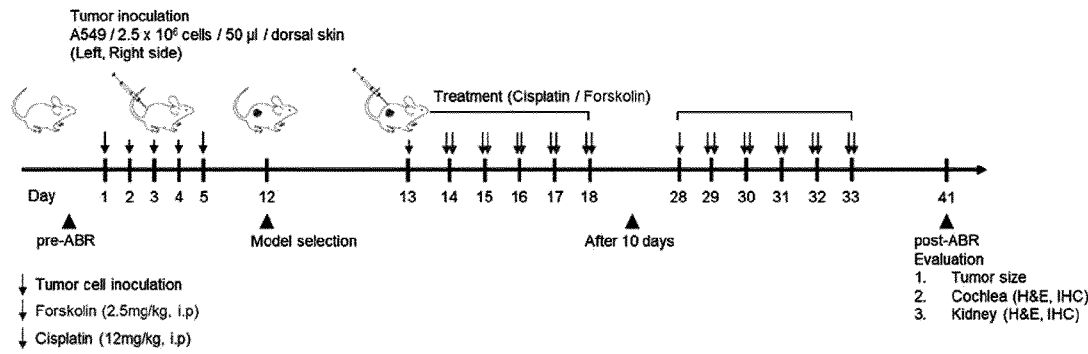
[104]

- [105] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

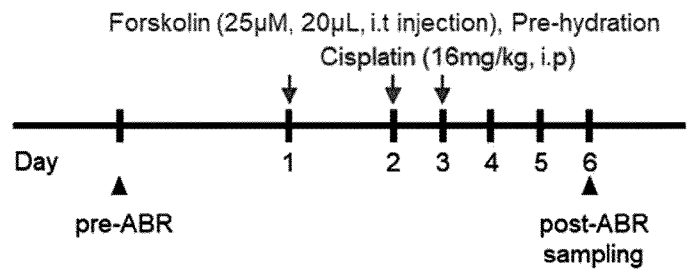
청구범위

- [청구항 1] 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 감각신경성 난청은 이독성 약물에 의한 이독성 난청인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 이독성 약물은 시스플라틴 (cisplatin), 카르보플라틴 (carboplatin), 아미카신 (amikacin), 아르베카신 (arbakacin), 카나마이신 (kanamycin), 겐타마이신 (gentamicin), 네오마이신 (neomycin), 네틸마이신 (netilmicin), 디베카신 (dibekacin), 시소마이신 (sisomycin), 스트렙토마이신 (streptomycin), 토브라마이신 (tobramycin), 리보도마이신 (livodomycin), 및 파로모마이신 (paromomycin)으로 구성된 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 청각세포의 세포사멸을 억제하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 약학적으로 허용되는 첨가제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 첨가제는 부형제, 결합제, 활택제, 윤활제, 붕해제, 감미제, 향미제 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 7] 포스콜린 및 레티노산을 유효성분으로 포함하고 감각신경성 난청을 개선시키는 것을 특징으로 하는 항암용 보조제.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 감각신경성 난청은 이독성 약물에 의한 이독성 난청인 것을 특징으로 하는 항암용 보조제.
- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 이독성 약물은 시스플라틴 (cisplatin), 카르보플라틴 (carboplatin), 아미카신 (amikacin), 아르베카신 (arbakacin), 카나마이신 (kanamycin), 겐타마이신 (gentamicin), 네오마이신 (neomycin), 네틸마이신 (netilmicin), 디베카신 (dibekacin), 시소마이신 (sisomycin), 스트렙토마이신 (streptomycin), 토브라마이신 (tobramycin), 리보도마이신 (livodomycin), 및 파로모마이신 (paromomycin)으로 구성된 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 항암용 보조제.
- [청구항 10] 제7항의 항암용 보조제 및 항암제를 유효성분으로 포함하고 감각신경성 난청을 개선시키는 것을 특징으로 하는 항암용 복합제제.

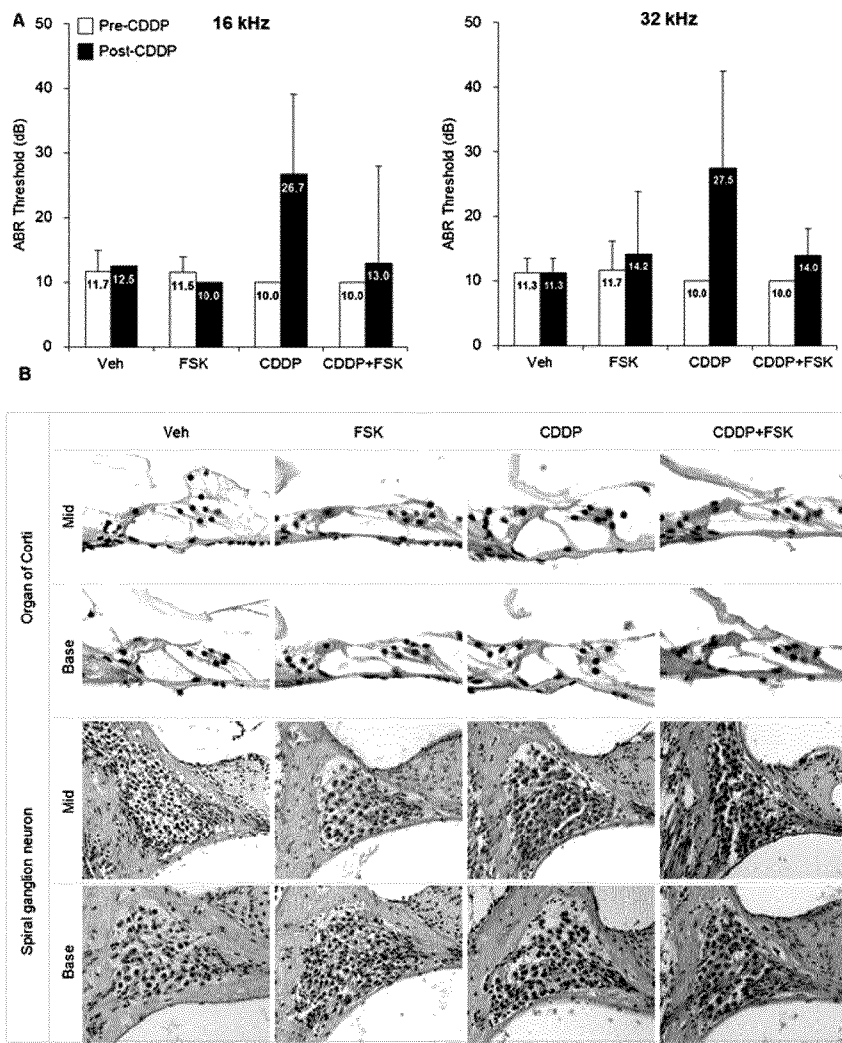
[도1]



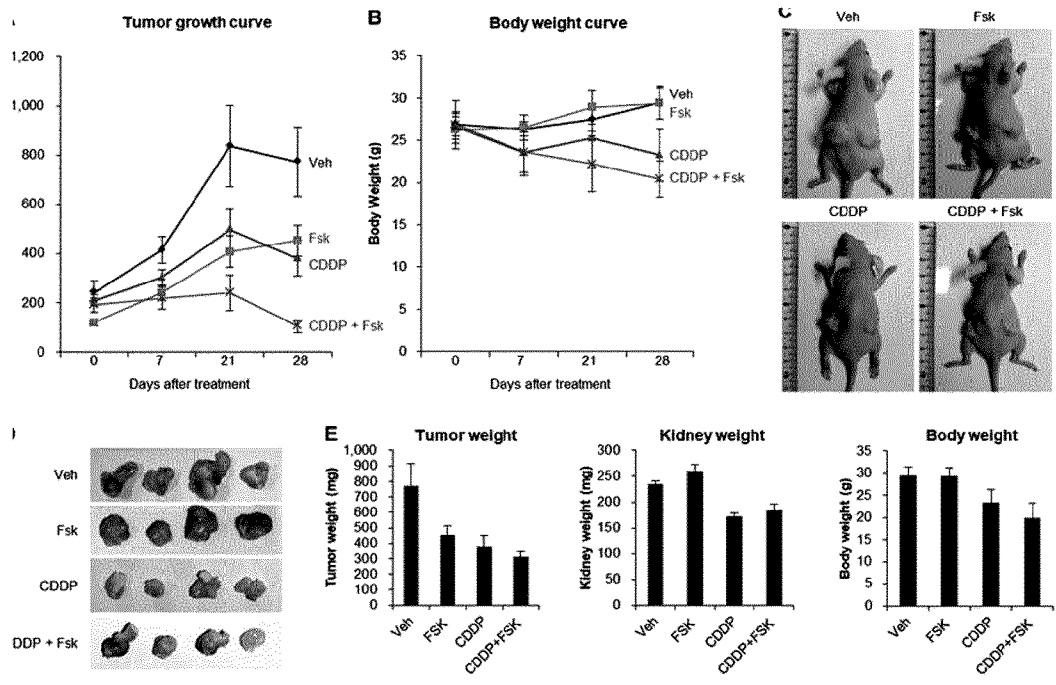
[도2]



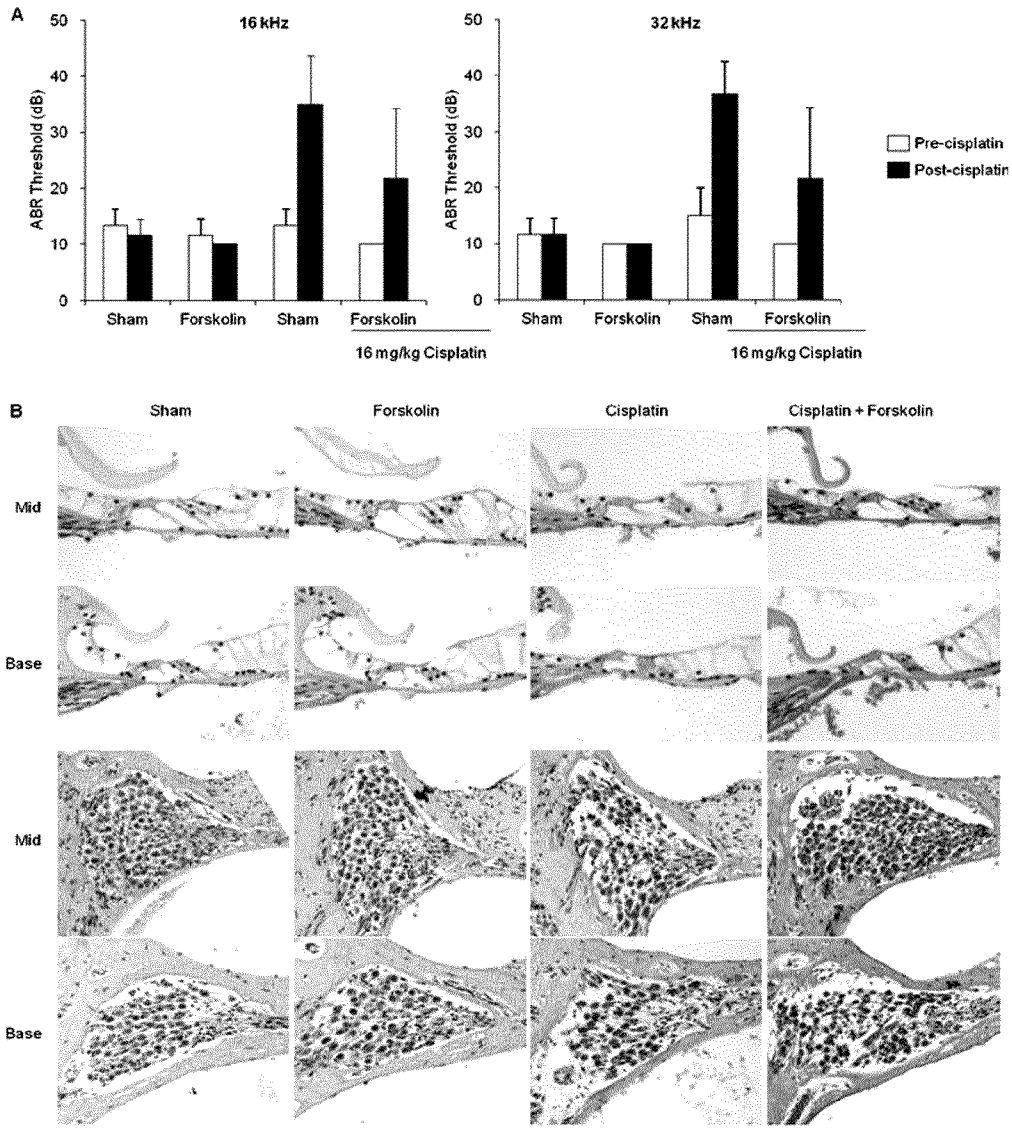
[도3]



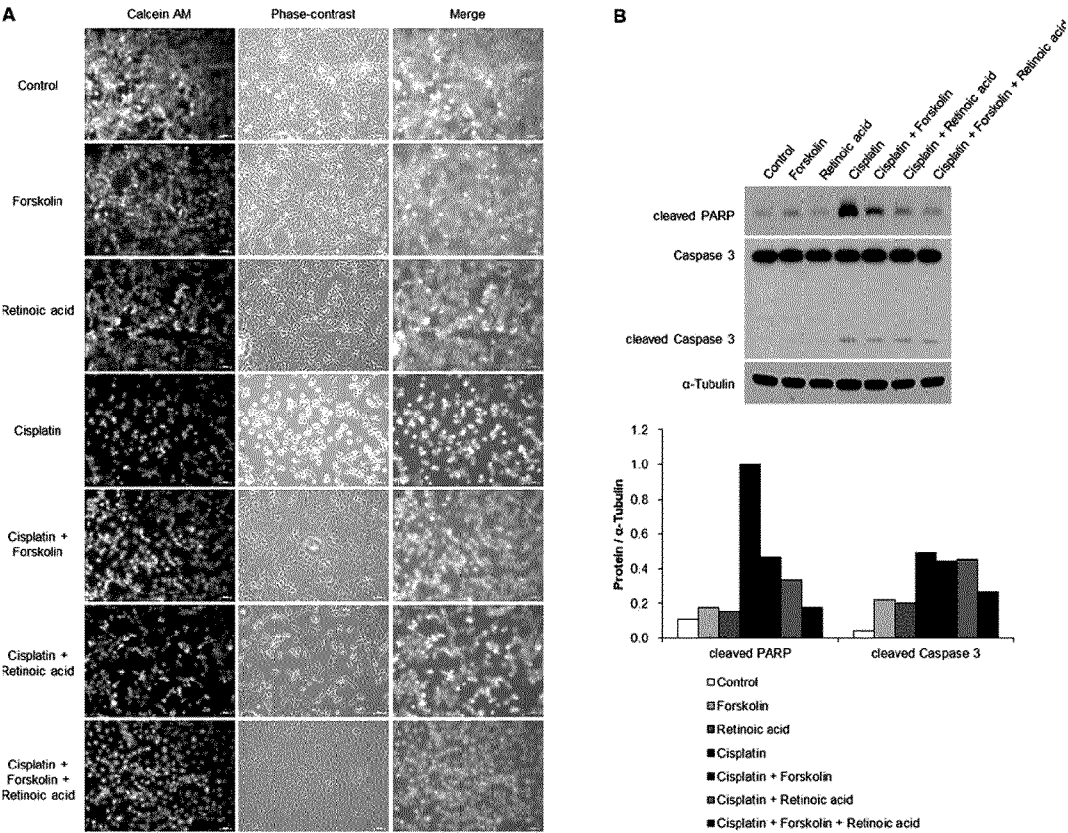
[도4]



[도5]



[도6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/009759

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/353(2006.01)i, A61K 31/203(2006.01)i, A61K 45/06(2006.01)i, A61P 27/16(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/353; A01N 43/04; A61K 31/70; A61K 31/7088; A61K 33/24; A61K 39/395; A61K 31/203; A61K 45/06; A61P 27/16; A61P 35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: forskolin, retinoic acid, sensorineural hearing loss, ototoxicity, cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GUO, X. et al. Forskolin protects against cisplatin-induced ototoxicity by inhibiting apoptosis and ROS production. Biomedicine & Pharmacotherapy. Electronic publication on 20 February 2018, vol. 99, pages 530-536 See abstract; pages 533, 535; figures 1-3, 6.	1-10
Y	US 2002-0176859 A1 (GAO, W.-Q.) 28 November 2002 See abstract; claims 1-3, 9-19; paragraphs [0009], [0172].	1-10
Y	US 6268351 B1 (OBERHOLTZER, J. C. et al.) 31 July 2001 See abstract; claims 1, 4, 6, 9-16; columns 3-4.	1-10
Y	US 9125894 B2 (EDGE, A.) 08 September 2015 See claims 1-10; column 2.	1-10
Y	LEFEBVRE, P. P. et al. Retinoic acid stimulates regeneration of mammalian auditory hair cells. Science. 1993, vol. 260, pages 692-695 See abstract; pages 692-693.	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 NOVEMBER 2019 (08.11.2019)

Date of mailing of the international search report

11 NOVEMBER 2019 (11.11.2019)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/009759

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2002-0176859 A1	28/11/2002	US 2002-0039995 A1 US 6225282 B1 US 6429191 B1	04/04/2002 01/05/2001 06/08/2002
US 6268351 B1	31/07/2001	WO 98-13048 A1	02/04/1998
US 9125894 B2	08/09/2015	US 2013-0236477 A1 US 2016-0031989 A1 WO 2012-047706 A2	12/09/2013 04/02/2016 12/04/2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/353(2006.01)i, A61K 31/203(2006.01)i, A61K 45/06(2006.01)i, A61P 27/16(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/353; A01N 43/04; A61K 31/70; A61K 31/7088; A61K 33/24; A61K 39/395; A61K 31/203; A61K 45/06; A61P 27/16; A61P 35/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 포스콜린(forskolin), 레티노산(retinoic acid), 감각신경성 난청(sensorineural hearing loss), 이독성(ototoxicity), 암(cancer)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	GUO, X. 등, 'Forskolin protects against cisplatin-induced ototoxicity by inhibiting apoptosis and ROS production', Biomedicine & Pharmacotherapy, 전자공개 2018.02.20, 99권, 페이지 530-536 초록; 페이지 533, 535; 도면 1-3, 6 참조.	1-10
Y	US 2002-0176859 A1 (GAO, W.-Q.) 2002.11.28 요약; 청구항 1-3, 9-19; 단락 [0009], [0172] 참조.	1-10
Y	US 6268351 B1 (OBERHOLTZER, J. C. 등) 2001.07.31 요약; 청구항 1, 4, 6, 9-16; 칼럼 3-4 참조.	1-10
Y	US 9125894 B2 (EDGE, A.) 2015.09.08 청구항 1-10; 칼럼 2 참조.	1-10
Y	LEFEBVRE, P. P. 등, 'Retinoic acid stimulates regeneration of mammalian auditory hair cells', Science, 1993, 260권, 페이지 692-695 초록; 페이지 692-693 참조.	1-10

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2019년 11월 08일 (08.11.2019)

국제조사보고서 발송일

2019년 11월 11일 (11.11.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



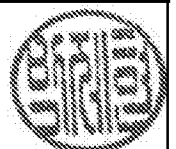
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

박제현

전화번호 +82-42-481-3349



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2002-0176859 A1	2002/11/28	US 2002-0039995 A1 US 6225282 B1 US 6429191 B1	2002/04/04 2001/05/01 2002/08/06
US 6268351 B1	2001/07/31	WO 98-13048 A1	1998/04/02
US 9125894 B2	2015/09/08	US 2013-0236477 A1 US 2016-0031989 A1 WO 2012-047706 A2	2013/09/12 2016/02/04 2012/04/12