



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년09월13일
 (11) 등록번호 10-0758256
 (24) 등록일자 2007년09월06일

(51) Int. Cl.

A61K 36/889(2006.01) *A61P 13/08*(2006.01)

(21) 출원번호 10-2005-7017600
 (22) 출원일자 2005년09월20일
 심사청구일자 2006년03월16일
 번역문제출일자 2005년09월20일
 (65) 공개번호 10-2005-0115920
 공개일자 2005년12월08일
 (86) 국제출원번호 PCT/CU2004/000004
 국제출원일자 2004년03월15일
 (87) 국제공개번호 WO 2004/082696
 국제공개일자 2004년09월30일
 (30) 우선권주장
 2003-0062 2003년03월20일 쿠바(CU)
 (56) 선행기술조사문헌
 CU21519 A1
 (뒷면에 계속)

(73) 특허권자
라보라토리오스 달머 에스. 에이.
 쿠바, 12 100 하바나, 플라야, 레파르토
 쿠바나칸, 엔트리 158 와이 162, 아베니다 25 넘
 버. 15819
 (72) 발명자
라구나 그란자, 아빌리오, 델퀴아데스
 쿠바, 하바나 13 400, 쎬로, 레파르토 카지노 데
 포르티보, 2다넘버 11007 엔트레 9 와이 11
로드리구에즈 레이스, 에두아르도, 안토니오
 쿠바, 하바나 13 800, 10 데 옥투브레, 러톤, 돌
 로레스 넘버 274엔트레 러톤 와이 아마스
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
김학수, 문경진

전체 청구항 수 : 총 10 항

심사관 : 강태현

(54) 로이스토네아 레기아 (대왕 야자) 과일로부터 얻어지는 약제학적 조성물과 상기 약제학적 조성물을 얻는 방법

(57) 요약

본 발명은, 양성 전립선 비대증(BPH), 전립선염뿐만 아니라, 탈모증과 다모증을 예방 및/또는 치료하기 위해 대왕 야자(로이스토네아 레기아) 과일로부터의 신규한 약제학적 조성물과 이를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은, 8개 내지 28개의 탄소 원자, 특히 8개 내지 18개의 탄소 원자 범위 내에서, 유리 지방산 및/또는 그 에스테르 혼합물을 포함하고, 보다 구체적으로, 8, 10, 12, 14, 16 및 18개의 탄소 원자를 갖는 포화 직쇄 유리 지방산과 16:1 및 18:1로 탄소 원자를 갖는 단일 불포화 지방산을 포함한다. 앞에서 명시한 조성물을 제조하는 본 발명의 방법은, 선택적인 염기 가수분해로, 과일을 건조하고 분쇄하는 단계와, 이후 유기 용매에서 선택적으로 추출하는 단계를 포함한다.

(72) 발명자

마스 페레이로, 로자 마리아

쿠바, 하바나 12 100, 플레야, 레파르토 아타베이,
칼레 206 넘버2113 엔트레 23 와이 21

카바잘 키타나, 데이지

쿠바, 하바나 12 100, 플레야, 레파르토 아타베이,
칼레 208 넘버1935 엔트레 19 와이 21에이

아루자자발라 발마나, 마리아 데 로우데스

쿠바, 하바나 10 800, 보이에로스, 알타하바나, 칼
레 에이치 넘버15010 엔트레 7 와이 디

몰리나 쿠에바스, 비비안

쿠바, 하바나 12 100, 레파르토 플로레스, 칼레
170 에디프. 씨-2압토 25 엔트레 1라 와이 5타

곤잘레스 카나발시오로, 빅터, 루이스

쿠바, 하바나 12 100, 플레야, 레파르토 플로레스,
칼레 174에디프. 디비이 2 압토. 4 엔트레 1라 와
이 5타

(56) 선행기술조사문헌

CN1184670 A

Journal of the oil technologists, 11(4),
100(1979)

특허청구의 범위

청구항 1

로이스토네아 레기아(Roystonea regia) 과일의 지질 추출물을 포함하는 전립선 비대증 치료용 약제학적 조성물로서,

카프릴산(caprylic)(C8:0), 카프린산(capric)(C10:0), 라우린산(lauric)(C12:0), 미리스틴산(miristic)(C14:0), 팔미틴산(palmitic)(C16:0), 팔미토레산(palmitoleic)(C16:1), 에스테아린산(estearic)(C18:0) 및 (올레산 자체, 리놀레산 및 리놀렌산을 포함하는) 올레산(oleic)(C18:1)을 포함하는 탄소 원자가 8개 내지 28개인 지방산의 혼합물뿐만 아니라, 상기 지방산의 에스테르의 혼합물을 포함하고,

상기 지방산은 에스테르 가수분해를 통해 증가하는, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 전립선 비대증 치료용 약제학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물은

카프릴산(C8:0) 0을 초과하고 3.0% 미만

카프린산(C10:0) 0을 초과하고 3.0% 미만

라우린산(C12:0) 3.0 - 40.0%

미리스틴산(C14:0) 4.0 - 15.0%

팔미틴산(C16:0) 10.0 - 80.0%

팔미토레산(C16:1) 1.5 - 20.0 %

에스테아린산(C18:0) 0.1 - 5.0%

올레산(C18:1) 3.0 - 50.0%

을 포함하는, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 전립선 비대증 치료용 약제학적 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 기재된 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 약제학적 조성물을 얻는 방법으로서,

로이스토네아 레기아 과일을 건조하는 단계와, 분쇄하는 단계와, 여과하는 단계를 포함하고, 또한, 탄소 원자가 5개 내지 8개인 탄화수소, 탄소 원자가 1개 내지 3개인 알코올 및 이들의 혼합물인 유기 용매에서, 수산화물 또는 알칼리를 사용한 사전 염기 가수분해를 사용해서 또는 사용하지 않고, 고체/액체 추출을 통해 추출물을 추가 분리하는 단계를 포함하는, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 약제학적 조성물을 얻는 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서, 로이스토네아 레기아 과일을 10 내지 100℃의 온도에서 1 내지 1000 시간 동안 건조시키는 단계와, 6000μm 미만의 입자 크기를 얻도록 하는 적절한 분쇄기에서 추가 분쇄하는 단계를 포함하고, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 추출하는 시간은 1 내지 50시간이고, 온도는 0 내지 70℃인, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 약제학적 조성물을 얻는 방법.

청구항 5

제 3항에 있어서, 염기 가수분해를 위해, 알칼리 수산화물, 알칼리 토류 수산화물 및 유기 수산화물을 사용하는 것을 특징으로 하는, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 약제학적 조성물을 얻는 방법.

청구항 6

제 3항에 있어서, 지방산 혼합물을 함유하는 추출물을 얻기 위해 펜탄, 헥산, 헵탄 또는 옥탄인 탄화수소를 사

용하는 것을 특징으로 하는, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 약제학적 조성물을 얻는 방법.

청구항 7

제 3항에 있어서, 지방산 혼합물을 함유하는 추출물을 얻기 위해 메탄올, 에탄올, n-프로판올 또는 2-프로판올인 알코올을 사용하는 것을 특징으로 하는, 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물을 포함하는 약제학적 조성물을 얻는 방법.

청구항 8

제 1항 또는 제 2항에 의한 약제학적 조성물로서,

BPH(양성 전립선 비대증 : Benign Prostatic Hyperplasia), 전립선염, 탈모증과, 다모증 치료 또는 예방에 약물로 사용하는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 9

비누화되거나 비누화되지 않은 제 1항 또는 제 2항에 의한 약제학적 조성물로서,

BPH(양성 전립선 비대증 : Benign Prostatic Hyperplasia), 전립선염, 탈모증과, 다모증 치료 또는 예방에 약물로 사용하는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 10

비누화되거나 비누화되지 않은 제 1항 또는 제 2항에 기재된 약제학적 조성물로서,

BPH(양성 전립선 비대증 : Benign Prostatic Hyperplasia), 전립선염, 탈모증과, 다모증 치료 또는 예방에, 매일 50 내지 1000mg의 투여량으로, 고체 경구 제형(캡슐, 연질 캡슐, 정제) 또는 액체(에멀션), 좌약 또는 국부 작용하는 팅크제(tincture), 로션 또는 샴푸로 투여 사용되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

명세서

기술분야

- <1> 본 발명은, 제약 산업에 관한 것으로, 특히 양성 전립선 비대증(benign prostatic hyperplasia)(BPH) 및 전립선염(prostatitis)을 예방 및/또는 치료하기 위해, 대왕 야자 과일{Royal Palm(Roystonea regia)}로부터의 새로운 약제학적 조성물과 이를 얻는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 유리 지방산들 및/또는 그 에스테르의 혼합물로 구성된다. 지방산들 및/또는 그 에스테르들 모두 8개 내지 28개의 탄소 원자, 특히 8개 내지 18개의 탄소 원자 범위 내에 있다. 보다 특별하게는, 상기 혼합물은 8, 10, 12, 14, 16 및 18개의 탄소 원자들을 갖는 포화 직쇄 지방산들 및 16:1 및 18:1로 탄소 원자들을 갖는 단일불포화 지방산으로 이루어진다. 상기 유리 지방산들은 에스테르 가수분해를 통해 풍부해진다.
- <2> 이 조성물은 초기에 건조 및 분쇄된 대왕 야자 과일로부터 얻어지고, 이 식물성 재료는 비누화 제품을 얻을 때까지 적절한 염기 가수분해를 거치거나, 유기 용매를 이용한 선택적 추출 또는 지방산 혼합물의 선택적 추출을 거친다. 이 두 절차들은 모두 이전의 비누화 없이 얻어진 추출물과 유사한 약리학적 특성을 갖는 조성물을 생성한다.
- <3> 이렇게 얻어진 혼합물은 탈모증 및 다모증과 같은 다른 질병들뿐만 아니라, BPH 및 전립선염의 치료를 위한 다

른 약제학적 제형들에 함유된 활성 성분과 유사하다.

<4> 본 발명은 제약 산업에 관련된 것으로, 이는 얻어진 약제학적 조성물이 약제학적 제형뿐만 아니라, BPH, 전립선염, 탈모증 및 다모증에 사용되는 약품으로 사용될 수 있기 때문이다.

배경 기술

<5> 전립선은 방광 바로 아래에 위치한 글랜드(gland)이며, 전립선 비대증(BPH)은 50세 이상의 성인 남성 50% 이상에 존재하는 질병이다. BPH는 상기 글랜드의 근육 섬유 및 상피 조직의 확대로, 이는 비뇨 장애, 닉츄리아(nycturia) (Madsen and Bruskevitz, Curr Opin Nephrol Hipert 4: 455-459, 1995)와 같은 요폐(urinary retention) 증상을 개선시키기 위하여 빈번한 외과 수술을 요구하는 비뇨 폐색증을 일으킬 수도 있다. 반면, 특히 경요도 절제술(transurethral resection)과 같은, 외과 수술은 이런 질병으로 고생하는 환자들에게 치료의 수단이었으나, 최근에 체외 수술(invasive surgical procedure), 및 5 α -리덕타아제 효소 저해물질(Boyle et al. Urology; 48: 398-405, 1996), 알파-아드레날린성 수용체의 길항제 및 식물요법 추출물(phytotherapy extract)과 같은 다른 약물 치료를 포함한 많은 다른 옵션들이 대두되었다 (Oesterling, New Engl. J. Med 332: 99-109, 1995, Geller et al, J. Clin. Endocrinol Metab. 80, 745-756, 1995).

<6> 남성 호르몬들, 주로 테스토스테론은, 이 질병의 병리학적 원인에서 매우 중요한 역할을 하고, 그 더욱 활성 유도체인 디하이드로테스토스테론(DHT)에서 5 α -리덕타아제를 통해 변환되며, 이는 아드레날린성 수용체에 결합해서, 단백질 합성과 이로 인한 세포 성장을 증진시킨다. 따라서, 이러한 질병으로 고생하는 환자들은 4 내지 6배 증가된 DHT 수준을 나타내기 때문에, 5 α -리덕타아제의 증가된 활성은 BPH를 일으킬 수 있다.

<7> BPH의 정확한 원인은 알려지지 않았지만, 분명히 고환의 존재에 의존하고 나이에 들어감에 따라 그 빈도가 증가한다. 전립선의 성장에 관련된 안드로젠은 DHT로, 이는 테스토스테론으로부터 전립선에 형성되고, 5 α -리덕타아제 효소를 통해 축적 반응을 한다. 수행된 연구는 전립선 성장이 DHT 수준의 증가와 직접적으로 관계가 있다는 것을 입증하였다. 반면, 50세 이상의 남성에게서, 안드로젠과 비교해서 에스트라디올 생성이 증가되며, 이는 에스트로겐이 DHT와 함께 상승작용을 하여 실험 모델에서 전립선 비대증을 유발하는 것으로 밝혀졌다.

<8> BPH의 증상은 환자를 불편하게 하는 요도의 폐색 및 염증과 관련이 있다. 이들 증상 중에는, 야뇨증(nocturia), 배뇨장애(dysuria), 소변의 양과 세기 감소, 잔뇨감(sensation of incomplete emptiness) 및 요폐증(urinary retention)이 포함된다. 이러한 증상 중 대부분은 점진적으로 시작하나, 질병이 진행되면, 증상이 악화되어 약물 요법을 시작하는 것이 필요하다.

<9> 따라서, 알푸조신(alfuzosin), 독사조신(doxazosin), 테라조신(terazosin) 등과 같은 α -아드레날린성 수용체(Chapple, Eur. Urol 29, 129-144, 1996) 및 여러 식물 추출물들은 BPH 치료에 널리 사용되고 있다. 현재, 식물요법 상품들은 유럽 및 미국에서는 BPH의 치료를 위해 처방되는 모든 약품의 80%를 차지할 정도로 일반적이다.

<10> 특히, 톱 야자(Saw palmetto) 과일 (Sabal serrulate, syn. *Serenoa repens*) 및 췌기풀(Urtica dioica) 뿌리의 추출물이 일반적이다. 이중맹검(double-blinded), 조절 임상 시험들은 톱 야자 추출물과 휘나스테라이드(finasteride)의 효과를 비교하기 위해 수행되어 왔고, 5 α -리덕타아제의 잠재 억제제는 6개월 치료 후 상기 두 치료법 사이의 유사한 효능을 보여주었다 (Carraro et al, Prostate 29, 231-240, 1996; Marks et al Journal of Urology 163: 1451-1456, 2000). 반면, 췌기풀의 뿌리로부터의 추출물은 BPH의 치료를 위하여 임상적으로 사용되어 왔다. 일부 조직학적 및 생물학적 데이터는 안드로젠-의존 전립선 세포의 성장에 있어서 상기 뿌리 추출물의 효과를 입증하였다.

<11> 톱 야자의 작용 메커니즘은 전체적으로 명확하지 않으며, 하나 이상의 단일 메커니즘을 포함하고 있는 것으로 알려져 있다. 따라서, 연구는, 이것이 알파 아드레날린성 수용체들의 비경쟁적인 저해(non-competitive inhibition)를 수행할 수 있으며, 이는 탐솔로신과 유사한 메커니즘을 보여준다는 것을 입증했다. 다른 저자는, 톱 야자가 글랜드의 파열(gland rupture)로 인해 상피 수축(epithelial contraction)을 허용하고, 5 α -리덕타아제 효소의 저해를 포함한, 휘나스테라이드와 유사한 메커니즘을 제안하는데, 이는 기본 메커니즘으로 보인다 (Niederprum et al, Annals N.Y. Acad Sci, 768, 227-30, 1995).

<12> 안드로젠 탈모증은 남성 및 여성 모두에게 일반적이며 아드레날린에 의존적인데, 이는 무모증(hairless)이 5 α -리덕타아제 효소의 수준과 직접 관련이 있기 때문으로, 무모증 관련 안드로젠은 이 효소의 작용을 통해 테스토스테론으로부터 생성된 DHT이다. 따라서, 5 α -리덕타아제 효소의 증가된 수준은 대머리 남성의 전두부에서 검출

되는 반면 (Bingham KD et al, J. Endocrinology 57, 111, 1973), 5 α -리덕타아제 효소의 부족 증상을 가진 남성들은 모발 손실을 겪지 않는다 (Ebling FJ, Clin Endocrinol Metab 319, 1986).

- <13> 모발 손실은 사춘기 이후부터 바로 시작될 수 있는 널리 분포되는 특징으로 설명되며, 이것이 남성 및 여성 모두에게서 무모증을 막기 위한 상품의 개발이 요구되는 이유이다.
- <14> 알려진 대로, 톱 야자로부터 추출된 지질은 DHT 호르몬의 생성을 저해하며, 수용체에 대해 DHT의 결합 자리의 50%를 차단하고 전립선 세포의 핵에 대한 그 진입을 차단해서, 5 α -리덕타아제 효소의 활성을 크게 저해한다. 따라서, 이런 종류의 과일 추출물은 탈모증 치료에 사용되었다 (WO 9702041, USA 6,019,976 및 WO 9833472).
- <15> BPH의 치료에 통상적으로 사용되는 톱 야자 추출물은 스테롤 및 고분자량의 알코올들을 함유하고, 보고된 서로 다른 방법에 따라 식물성 과일로부터 얻어진 지방산의 혼합물이다 (EPO 541853, EPO 492305, EPO 250953, USA 특허 6,039,950, Cristoni, Fitoterapia 68, 355, 1997; DeSwaef Nat Prod Letters 7, 223, 1996). 그러나, 빈랑나무과(Arecaceae)의 과일, 본 발명의 경우, 로이스토네아 레기아의 과일을 얻기 위해, 본 발명에 청구된 것과 같이 매우 간단하고 경제적인 방법을 보고하지 못했다.

발명의 상세한 설명

- <16> 본 발명의 조성물을 얻기 위한 방법은, 로이스토네아 레기아의 잘 익은 과일을 건조시키는 것에 기초한다. 건조 과일은 입자 크기가 5000 μ m 미만의 미세한 분말을 얻을 때까지 분쇄된다. 이 분말은, 후에 알칼리, 알칼리 토류 및 유기 수산화물, 특히 저분자량의 수산화물, 보다 특별하게는, 나트륨, 칼륨, 칼슘 또는 암모늄 수산화물로 수행된 염기 가수분해를 거치거나 거치지 않을 수 있고, 다음으로 유기 용매에서 선택 추출되거나 CO₂로 초임계 추출된다.
- <17> 가수분해되거나 되지 않은 식물성 물질은 통상의 고체 액체 추출기에서 추출되고, 여기서 지방산 및/또는 에스테르들은 1개 내지 3개의 탄소 원자로 된 알코올과 5개 내지 8개의 탄소 원자로 된 탄화수소와 같이, 적절한 용매에서 선택 추출을 통해 과일들에 존재하는 다른 성분들로부터 분리된다. 이러한 용매 중에는, 메탄올, 에탄올, 2-프로판올, 헥산, 펜탄, 이소펜탄, 헵탄 및 옥탄 등이 포함된다.
- <18> 얻어진 수율은 5 내지 20%이다. 수득된 산 혼합물의 조성은, 12, 14, 16 및 18개의 탄소 원자의 포화산뿐만 아니라, 16:1 및 18:1 탄소 원자를 갖는 불포화된 산들을 포함하며, 그 정성(qualitative) 및 정량(quantitative) 조성은 표 1에 나타나 있다.

【표 1】

<19> 로이스토네아 레기아의 지질 추출물에 존재하는 지방산의 조성

| 성분 | 산 혼합물에서의 상대 백분율 |
|---------------|-----------------|
| 카프릴산(C8:0) | < 3.0 |
| 카프린산(C10:0) | < 3.0 |
| 라우린산(C12:0) | 3.0 - 40.0 |
| 미리스틴산(C14:0) | 4.0 - 15.0 |
| 팔미틴산(C16:0) | 10.0 - 80.0 |
| 팔미트레산(C16:1) | 0.15 - 20.0 |
| 에스테아린산(C18:0) | 0.1 - 5.0 |
| 올레산(C18:1) | 3.0 - 50.0* |

- <20> *크로마토그래피 피크의 총량으로 정량된 것으로, 올레산은 피크의 60-70%, 리놀레산(linoleic acid)은 피크의 25-40%, 및 리놀렌산(linolenic acid)은 크로마토그래피 피크의 10% 미만으로 용출되었다.
- <21> 본 발명에 따라 로이스토네아 레기아 과일들로부터 얻어진 물질의 전체 평가는, 이러한 조성물이 매우 안전하고, 우수한 내성을 가지며, 관련 이점은 설치류(rodents)에서 수행된 독성 시험의 결과를 통해 지지되고,

이는 물질과 관련된 독성을 나타내지 않았다.

<22> 본 발명의 목적은 아래 언급된 다음 실시예를 참조해서 상세하게 기술되지만, 이에 한정되지 않는다.

실시예

<23> 예 1

<24> 로이스토네아 레기아의 신선한 과일 5kg을 취하여, 45℃로 조절된 오븐에 7일간 두었다. 분쇄기(grinding mill)에서, 건조된 과일을 1500 내지 2000 μ m의 입자 크기로 분쇄하고, 상기 분말로부터 1000g을 취하여 알칼리성 가수분해가 이루어지도록 교반기에 두었다. 후에, 수득된 제품을 10 l의 헥산으로 추출하고, 55℃까지 가열한 후 계속해서 36시간 동안 교반시켰다. 그 후, 제품을 여과시키고 진공을 사용하여 50℃에서 건조 상태가 되도록 증발시켰다. 수득된 추출물의 중량은 98.5g 이었고, 가스 크로마토그래피를 통해 확인된 그 조성은 표 2에 나타나 있다.

【표 2】

<25> 로이스토네아 레기아의 지질 추출물에 존재하는 지방산의 조성

| 성분 | 산 혼합물에서의 상대 백분율 |
|---------------|-----------------|
| 카프릴산(C8:0) | 1.0 |
| 카프린산(C10:0) | 1.0 |
| 라우린산(C12:0) | 5.7 |
| 미리스틴산(C14:0) | 4.4 |
| 팔미틴산(C16:0) | 75.1 |
| 팔미토레산(C16:1) | 1.9 |
| 에스테아린산(C18:0) | 1.9 |
| 올레산(C18:1) | 9.1 |

<26>

<27> 예 2

<28> 로이스토네아 레기아의 신선한 과일 10kg를 45℃로 조절된 오븐에 7일간 두었다. 분쇄기에서, 건조 과일을 1500 μ m 미만의 입자 크기로 분쇄하고, 상기 분말 1500g을 취하여 알칼리성 가수분해를 수행하였다. 후에, 수득된 제품을 10 l의 에탄올이 함유된 속실렛(Soxhlet) 추출기에서 60℃로 48시간 동안 추출하였다. 이후, 유기 용액을 제거, 여과시킨 후, 진공을 사용하여 50℃에서 건조 상태가 되도록 증발시켰다. 수득된 추출물의 중량을 측정하고 가스 크로마토그래피를 이용하여 분석하고, 그 조성을 표 3에 나타내었다.

【표 3】

<29> 로이스토네아 레기아의 지질 추출물에 존재하는 지방산의 조성

| 성분 | 산 혼합물에서의 상대 백분율 |
|---------------|-----------------|
| 카르틸산(C8:0) | 1.0 |
| 카프린산(C10:0) | 1.0 |
| 라우린산(C12:0) | 3.2 |
| 미리스틴산(C14:0) | 5.5 |
| 팔미틴산(C16:0) | 27.1 |
| 팔미토레산(C16:1) | 18.5 |
| 에스테아린산(C18:0) | 0.3 |
| 올레산(C18:1) | 43.4 |

<30> 예 3

<31> 로이스토네아 레기아의 신선한 과일 5kg를 취하여, 45℃로 조절된 오븐에 7일간 두었다. 분쇄기에서, 건조 과일을 1500 내지 1800 μ m 이내의 입자크기로 분쇄하고, 상기 분말 1000g을 취하여 알칼리성 가수분해를 수행하였다. 후에, 수득된 제품을 10 l의 헵탄이 함유된 60℃의 교반기에서, 50시간 동안 지속적인 교반을 행하면서, 추출하였다. 이후, 용액을 제거하고 진공을 사용하여 65℃에서 건조 상태가 되도록 증발시켰다. 수득된 추출물의 중량을 측정하고 가스 크로마토그래피를 이용하여 분석하며, 그 조성을 표 4에 나타내었다.

【표 4】

<32> 로이스토네아 레기아의 지질 추출물에 존재하는 지방산의 조성

| 성분 | 산 혼합물에서의 상대 백분율 |
|---------------|-----------------|
| 카르틸산(C8:0) | 1.0 |
| 카프린산(C10:0) | 1.0 |
| 라우린산(C12:0) | 3.16 |
| 미리스틴산(C14:0) | 12.7 |
| 팔미틴산(C16:0) | 13.0 |
| 팔미토레산(C16:1) | 1.7 |
| 에스테아린산(C18:0) | 2.3 |
| 올레산(C18:1) | 36.6 |

<33>

<34> 예 4

<35> 로이스토네아 레기아의 신선한 과일 5kg를 취하여, 45℃로 조절된 오븐에 7일간 두었다. 분쇄기에서, 건조 과일을 1000 내지 1800 μ m 이내의 입자 크기로 분쇄하고, 상기 분말 1000g을 취하여 모든 분말이 축축해질 때까지 수산화 암모늄을 처리하였다. 후에, 수득된 제품을 10 l의 헵탄이 함유된 55℃의 교반기에서, 36시간 동안 지속적인 교반을 행하면서, 추출하였다. 이후, 용액을 제거하고 진공을 사용하여 50℃에서 건조 상태가 되도록 증발시켰다. 수득된 추출물의 중량을 측정하고 가스 크로마토그래피를 이용하여 분석하고, 그 조성을 표 5에 나타내었다.

【표 5】

<36> 로이스토네아 레기아의 지질 추출물에 존재하는 지방산의 조성

| 성분 | 산 혼합물에서의 상대 백분율 |
|---------------|-----------------|
| 카르틸산(C8:0) | 1.0 |
| 카프린산(C10:0) | 1.0 |
| 라우린산(C12:0) | 19.7 |
| 미리스틴산(C14:0) | 9.7 |
| 팔미틴산(C16:0) | 14.8 |
| 팔미토레산(C16:1) | 0.2 |
| 에스테아린산(C18:0) | 3.8 |
| 올레산(C18:1) | 49.8 |

<37> 예 5

<38> 로이스토네아 레기아 과일로부터 추출한 지질 추출물의 효과를 평가하기 위하여, 30 내지 40g 무게의 OF1 알비노 숫쥐들을 7일 동안 조절된 온도 (25 ± 2℃) 및 습도를 갖는 실험 조건에 적응시켰다. 상기 적응 기간 후에, 동물들을 임의로 다른 시험군들에 분포시켰다. 상기 로이스토네아 레기아 추출물을 Tween-20/H₂O 부형제(vehicle)에 부유시키고 치료제를 경구 투여하였다(5ml/kg). 대조구의 동물들은 상기 부형제로 처리되었다. 테스토스테론 침적물을 식물성유에 용해시켜 근육 내(i.m.) 루트에 의하여 단일 투여량으로 100mg/kg을 주사하였다. 동물들은 임의로 다음의 군들에 분포시켰다: 1) 음성 대조구 (negative control); 2) 양성 대조구 (positive control) (테스토스테론이 주사되고, 상기 부형제가 경구 투여된 동물들); 3, 4 및 5) 테스토스테론이 근육 내(im) 루트를 통해 주사되고, 로이스토네아 레기아 과일의 추출물이 각각 200, 400 및 800 mg/kg씩 경구 처리된 동물들; 및 6) 테스토스테론이 주사되고, 톱 야자 과일의 추출물 400mg/kg이 경구 투여된 동물들.

<39> 일단 복용기간(14일)이 만료된 쥐들은 죽이고, 그들의 복부를 복부 중간선에서 절개술을 통해 개방하여, 전립선들을 분리하고 검량하였다. 처리구와 대조구의 비교는 Mann Whitney U 시험을 통해 수행되었고, 그 결과를 표 6에 나타내었다.

<40> 관찰된 바와 같이, 근육 내로 주사된 테스토스테론 침적물(100 mg/kg)은 음성 대조구 군과 비교해서 전립선 중량 및 전립선 중량:체중 비율이 현저하게 증가되었다.

【표 6】

<41> 전립선 비대증(PH)이 유발된 쥐에서 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물의 효과

| 처리 | 투여량 (mg/kg) | n | BW | PW | PW/BW | %I |
|------------|----------------|----|-----------|-----------------|--------------|------|
| 대조구- | | 10 | 36.0±0.7 | 25.7±3.2 | 0.72±0.09 | - |
| 대조구+ | | 10 | 35.5±0.68 | 54.7±3.8+++ | 1.55±0.12+++ | - |
| 로이스토네아 레기아 | 200 | 10 | 35.4±0.77 | 38.7±2.6**55.1 | 1.09±0.08* | 55.4 |
| 로이스토네아 레기아 | 400 | 9 | 33.7±1.2 | 32.3±1.2**77.2 | 0.96±0.03** | 71.8 |
| 로이스토네아 레기아 | 800 | 11 | 33.6±0.7 | 26.6±1.9***96.6 | 0.78±0.44*** | 92.7 |
| 톱 야자 | 400 | 8 | 34.3±0.84 | 36.6±2.5**62.1 | 1.06±0.06** | 59.0 |

<42> BW 체중(g), PW 전립선 중량(mg), %I 저해 백분율, +++ p < 0.001 Sham vs 대조구, Mann Whitney U 시험, * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 비교구 vs 대조구

<43> 2주간 본 발명의 조성물(200-800mg/kg)을 이용한 경구 치료는, 가장 높은 투여량(800mg/kg)으로 92.7%의 억제율

을 얻는 테스토스테론으로 유도된 전립선 크기의 증가를 현저히 또한 투여량 의존적으로 억제했고, 또한, 800mg/kg으로 96.6%의 억제율에 도달하는 전립선 중량/체중의 비율 증가를 현저히 또한 투여량 의존적으로 억제했다. 이에 반해, 톱 야자의 반복된 투여량(400mg/kg)을 이용한 치료는, 전립선 증가를 62% 저해했고, PW/BW의 비율을 59% 감소시켜, 유사한 투여량으로 각각 77%와 72%의 저해율을 얻는 로이스토네아 리기아 과일의 추출물보다 덜 효과적이다.

<44> 이 시험을 통해 수득된 결과는, 쥐의 PH에서 로이스토네아 리기아 과일의 지질 추출물의 효능을 입증하였고, 전립선 크기의 투여량 의존 감소를 보여주었으며, 400mg/kg에서 96.6%의 저해율을 얻어, 톱 야자의 유사한 투여량으로 유도된 것보다 더 큰 저해율을 얻었다.

<45> 예 6

<46> 로이스토네아 레기아 과일로부터 추출한 지질 추출물의 효과를 평가하기 위하여, 250 내지 270g의 Sparague-Dawley 숫쥐들을 7일 동안, 조절된 온도 (25 ± 2°C) 및 습도를 갖는 실험실 조건에 적응시켰다. 상기 적응 기간 후에, 이 동물을 다른 시험군에 임의로 분포시켰다.

<47> 로이스토네아 레기아 과일 추출물을 Tween-20/H₂O 부형제(vehicle)에 부유시키고 치료제를 경구 투여하였다(5ml/kg). 대조군 동물에 상기 부형제를 투여했다. 테스토스테론 프로피오네이트를 식물성 기름에 용해시키고 피하(sc) 루트를 통해 14일간 4mg/kg을 주사하였다.

<48> 쥐를 6개의 시험군에 임의로 분포시켰다: 1) 음성 대조구 + (식물성유); 2) 양성 대조구(부형제, vehicle) + 테스토스테론; 3, 4 및 5) 테스토스테론이 근육내(im) 주사되고, 각각 50, 200 및 400mg/kg의 로이스토네아 레기아 과일 추출물로 경구 처리된 동물; 6) 테스토스테론이 근육내(im) 주사되고, 400mg/kg의 톱 야자(Saw palmetto) 과일 추출물이 경구 투여된 동물. 일단 투여 기간(2주)이 만료되면 쥐를 죽이고, 과다 출혈시켜, 복부 중간선의 절개를 통해 개복하여, 전립선을 분리하고 중량을 측정하였다. 처리구와 대조구의 비교는 Mann Whitney U 시험을 통해 수행되었고, 그 결과를 표 7에 나타내었다. 관찰된 바와 같이, 근육내 주사된 테스토스테론 침적물(deposit testosterone)(100mg/kg)은 전립선 중량을 크게 증가시켰고 음성 대조구에 비해 체중에 대한 전립선 중량의 비를 크게 증가시켰다.

【표 7】

<49> 전립선 비대증(PH)이 유발된 쥐에서 로이스토네아 레기아 과일에서 얻은 지질 추출물의 효과

| 처리 | 투여량 (mg/kg) | n | BW | PW | % I | PW/BW | % I |
|-------|----------------|----|------------|----------------|-----|-------------|-----|
| 대조구- | 0 | 10 | 354.7±6.9 | 576.03±51.4 | - | 1.6±0.15 | - |
| 대조구+ | 0 | 10 | 339.5±6.5 | 916.07±34.4+++ | - | 2.7±0.12+++ | - |
| R 레기아 | 50 | 9 | 322.5±10.2 | 895.4±34.6 | 6 | 2.7±0.11 | 0 |
| R 레기아 | 200 | 9 | 335.3±6.4 | 838.05±30.9 | 23 | 2.5±0.09 | 19 |
| R 레기아 | 400 | 10 | 342.4±6.4 | 776.01±35.04* | 41 | 2.2±0.11* | 45 |

<50> BW 체중(g), PW 전립선 중량(mg), %I 저해 백분율, +++ p < 0.0001 Sham vs 대조구, * p < 0.05, ** p < 0.01, *** 비교구 vs 대조구, Mann Whitney U 시험

<51> 관찰된 바와 같이, 14일간 4mg/kg의 테스토스테론 피하 주사는, 음성 대조구와 비교해서, 전립선 중량 및 전립선 중량/체중의 비율을 현저하게 증가시켰다. 로이스토네아 리기아와 톱 야자(400mg/kg) 과일 추출물의 2주간 경구 투여는, 테스토스테론의 주입으로 유도된 전립선 크기의 증가를 현저히 저하시켰고, 각각 41 및 58%의 저해율을 얻었다. 400mg/kg에서, 로이스토네아 리기아 과일 추출물은 또한 전립선 중량/체중 비율을 현저하게 감소시켜, 45%의 저해율을 얻었다.

<52> 본 연구에서 수득된 결과는 테스토스테론으로 치료된 쥐에 14일 동안 400mg/kg의 로이스토네아 리기아의 추출물로 행한 치료 효능을 보여주고, 양 치료에 대해 유사한 체중에 대한 전립선 크기 증가의 저해(45%)를 나타내었으며, 대왕 야자 과일 추출물의 잠재적 치료 용도에 유리한 것으로 나타났다.

<53> 예 7

<54> 로이스토네아 레기아 과일 추출물의 효과를 평가하기 위하여, 250 내지 270g의 Sparague-Dawley 숫쥐들을 7일 동안, 조절된 온도 (25 ± 2°C) 및 습도를 갖는 실험실 조건에 적응시켰다. 상기 적응 기간 후에, 동물들을 서로 다른 시험군에 임의로 분포시켰다. 테스토스테론 프로피오네이트를 식물성 기름에 용해시키고 피하 루트를 통해 14일간 3과 4mg/kg의 일일 투여량으로 투여하였다.

<55> 로이스토네아 레기아 과일 추출물을 Tween-20/H₂O 부형제(vehicle)에 부유시키고 치료제를 경구 투여하며(5ml/kg), 대조구의 동물에 상기 부형제가 투여되었다.

<56> 3ml/kg의 테스토스테론으로 처리된 쥐들을 5개의 시험군에 분포시켰다: 1) 음성 대조구 + (식물성유), 2) 양성 대조구(부형제, vehicle) + 테스토스테론, 3,4) 50과 200ml/kg의 로이스토네아 레기아 추출물 + 테스토스테론, 5) 200ml/kg의 톱 야자 + 테스토스테론. 다시, 4ml/kg의 테스토스테론으로 처리된 동물들을 6개의 시험군에 분포시켰다: 1) 음성 대조구 + (식물성유), 2) 양성 대조구(부형제, vehicle) + 테스토스테론, 3, 4, 5) 로이스토네아 레기아 추출물 50, 200 및 400mg/kg + 테스토스테론; 6) 톱 야자 400ml/kg + 테스토스테론. 모든 치료는 14일 동안 수행되었다. 표 8과 9는 이러한 결과를 나타낸다.

【표 8】

<57> 전립선 비대증(PH)이 유발된 쥐에 대한 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물의 효과

| 처리 | 투여량 (mg/kg) | n | BW | PW |
|------------|----------------|----|--------------|------------------------|
| 대조구- | 0 | 9 | 507.0±35 | 1.43±0.09 |
| 대조구+ | 0 | 8 | 886.0±78.8++ | 2.69±0.26+++ |
| 로이스토네아 레기아 | 50 | 10 | 684.8±34.7* | 2.05±0.11* |
| 로이스토네아 레기아 | 200 | 10 | 693.1±36.5* | 2.11±0.13 ^a |
| 톱 야자 | 200 | 10 | 710.0±43.3t | 2.08±0.14 ^a |

<58> BW 체중(g), PW: 전립선 중량(mg), ++ p < 0.01, +++ P < 0.001 비교구 vs Sham; * p < 0.05; ^a: p = 0.05 비교구 vs 대조구 (Mann Whitney U 시험)

【표 9】

<59> 전립선 비대증(PH)이 유발된 쥐에서 로이스토네아 레기아 과일의 지질 추출물의 효과

| 처리 | 투여량 (mg/kg) | n | BW | PW | PW/BW | % I |
|------------|----------------|----|------------|----------------|-------------|------|
| 대조구- | 0 | 10 | 354.7±6.90 | 576.03±51.4 | 1.6±0.15 | - |
| 대조구+ | 0 | 10 | 339.5±6.50 | 916.07±34.4+++ | 2.7±0.12+++ | - |
| 로이스토네아 레기아 | 50 | 9 | 322.5±10.2 | 895.4±34.6 | 2.7±0.11 | 6.0 |
| 로이스토네아 레기아 | 500 | 9 | 335.3±6.40 | 838.05±30.9 | 2.5±0.09 | 22.9 |
| 로이스토네아 레기아 | 400 | 10 | 342.4±6.40 | 776.01±35.4* | 2.2±0.11* | 41.2 |
| 톱 야자 | 400 | 10 | 328.5±6.80 | 720.1±41.8** | 2.2±0.12* | 57.6 |

<60> BW 체중(g), PW 전립선 중량(mg), %I: 저해 백분율, ++ p < 0.01; +++ p < 0.001 비교구 vs Sham; * p < 0.05; ** p < 0.01, t: p = 0.06 비교구 vs 대조구 (Mann Whitney U 시험)

<61> 예 8

<62> 4 내지 5kg의 체중을 갖는 토끼를 본 연구에 사용하였다. 베이스라인에서 로이스토네아 레기아 과일의 추출물로 치료한 후, 각각 토끼의 털 성장을 측정하였다. 로이스토네아 레기아 과일의 추출물로 경구 치료하기 전, 경구 치료 중 및 경구 치료 후에 털을 측정하고, 각 측정간에는 4주간의 간격을 두었다. 각 동물의 진정작용(sedation) 후에, 등 부분의 약 1 평방 인치를 면도하고(shaved) 이 부위의 털의 중량을 측정하였다.

<63> 면도한 토끼들을 각각 5마리씩 4개의 그룹에 분포시키고, 1그룹의 토끼들은 하루에 한 번씩 매일 400mg의 로이

스토네아 레기아 추출물을 투여하였고, 반면에, 2그룹의 토끼들은 하루에 한 번 부형제(vehicle)를 매일 투여하였다. 다시, 3그룹의 토끼들은 200mg씩 2번의 투여량으로 400mg의 로이스토네아 레기아 추출물을 매일 투여하였고, 4그룹의 토끼들은 3그룹과 같이 2번의 투여량으로 분산된 부형제를 투여하였다.

<64> 표시된 부분으로부터 성장하는 털의 중량 변화는, 그룹간 비교를 위해서는 분산 분석(Variance Analysis)을 사용하고, 그룹 내부의 변화를 위해서는 쌍을 이룬 시료(paired samples)에 대해 윌콕슨 시험(Wilcoxon test)을 사용하여 비교되었다. 이러한 변화는 $P < 0.05$ 에 대해서는 전혀 다른 것으로 간주되었다.

<65> 이 연구 결과는, 그룹 1 및 3의 토끼의 털 성장이 그룹 2 및 4의 토끼의 털 성장보다 현저하게 우수하며, 또한 초기 털 중량보다 크다는 것을 입증하였으며, 이는 탈모증의 치료에 로이스토네아 레기아 추출물이 사용될 수 있다는 것을 입증한다.

산업상 이용 가능성

<66> 상술한 바와 같이, 본 발명은, 양성 전립선 비대증(benign prostatic hyperplasia)(BPH) 및 전립선염(prostatitis)을 예방 및/또는 치료하기 위해, 대왕 야자 과일(Royal Palm(Roystonea regia))로부터의 새로운 약제학적 조성물과 이를 얻는 방법에 관한 것이다.