



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0107930
(43) 공개일자 2016년09월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/352 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01) A61K 9/107 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/352 (2013.01)
A61K 31/353 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0031537
(22) 출원일자 2015년03월06일
심사청구일자 2015년03월06일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
이흥만
서울특별시 강남구 삼성로 150, 107동 1307호 (대치동, 미도아파트)
(74) 대리인
이처영, 장제환

전체 청구항 수 : 총 7 항

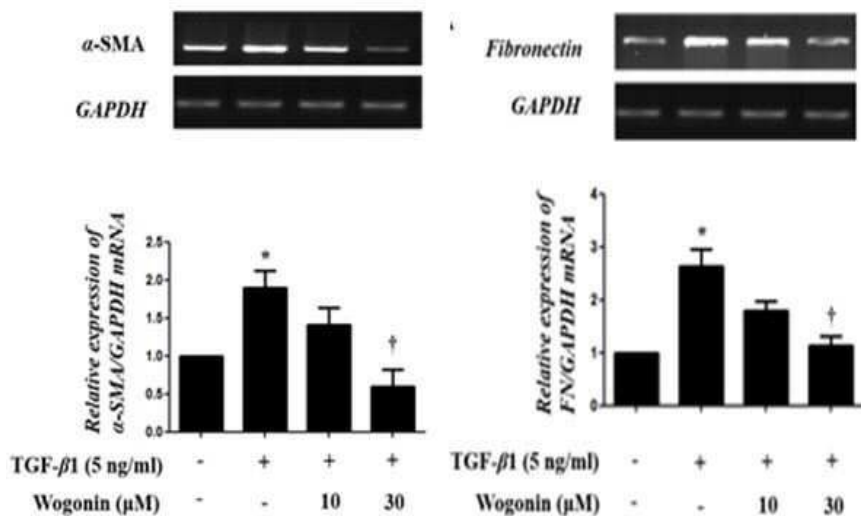
(54) 발명의 명칭 우고닌을 유효성분으로 함유하는 비용의 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 우고닌을 유효성분으로 함유하는 비용(nasal polyposis)의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 만성 비부비동염과 동반되는 비용의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 우고닌을 유효성분으로 함유하는 비용의 예방 및 치료용 조성물은 TGF- β 발현 억제를 통하여, 섬유세포에서 근섬유세포로의 분화 및 세포외물질 침착을 감소시키는 효과가 있으므로, 비용의 예방 및 치료를 위한 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 9/0014 (2013.01)

A61K 9/06 (2013.01)

A61K 9/107 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

우고닌(wogonin)을 유효성분으로 함유하는 비용(nasal polyposis)의 예방 및 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 비용(nasal polyposis)은 만성 비부비동염과 동반되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 하기 특성 중 하나 이상을 가지는 것을 특징으로 하는 조성물:

- 1) 세포내 TGF- β 의 발현을 억제;
- 2) 피브로넥틴 및 알파-평활근 액틴의 발현을 억제;
- 3) 콜라겐 생성을 억제;
- 4) p38과 c-Fos의 인산화를 억제;
- 5) 섬유모세포의 근섬유모세포로의 분화를 억제; 및
- 6) 섬유모세포에 세포외기질 침착을 억제.

청구항 4

제1항에 있어서, 국소 적용(topical application) 제형인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 국소 적용(topical application) 제형은 용액, 크림, 로션, 겔, 에멀전, 연고, 페이스트 또는 스프레이인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 보존제, 착색제, 침투 촉진제, 풍미제 또는 희석제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 조성물을 함유하는 비강용 스텐트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 우고닌을 유효성분으로 함유하는 비용(nasal polyposis)의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 만성 비부비동염과 동반되는 비용의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 비용(nasal polyposis)이란, 물혹 또는 코버섯이라고도 하며 코 안에 발생하는 양성종양의 일종으로 정확한 발병 원인은 밝혀지지 않았으나 염증 또는 알레르기와 연관이 높은 것으로 알려져 있다. 크기가 작은 경우 증상이 없을 수도 있으나 점점 크기가 증가하면서 코막힘과 같은 주증상이 나타나며 이로 인해 냄새를 잘 맡지 못하고 누런 콧물, 코가래, 두통, 코맹맹이 소리, 코골이 등의 증상이 동반된다. 물혹을 장기간 방치하면 콧구멍 밖으로 나오기도 하고 비중격이나 콧등이 넓어지는 변형을 초래하기도 하여 육안으로 확인할 수 있지만 작은 경우에는 내시경으로 확인하여야 한다.

[0003] 비용은 하나의 독립된 질환이라기보다는 비강 내에 국한해 발생하는 만성 부비동염뿐만 아니라 천식, 알레르기 비염, 유전성 원발성 섬모운동이상증 등 전신질환에 동반되어 나타나는 경우가 흔하다. 최근에는 내시경의 도입으로 비용의 진단이 늘었고 수술적 치료에도 불구하고 완전히 치유되지 않고 자주 재발하는 경향이 있다.

[0004] 비용의 재발을 방지하거나 억제하기 위하여 경구 스테로이드 요법 등이 효과를 보여 시행되고 있으나 스테로이드의 부작용 논란 때문에 적극적인 사용이 어려운 실정이다.

[0005] 한편 우고닌은 한약 및 생약의 재료인 황금(黃芩, *Scutellaria radix*)의 뿌리에서 추출한 대표적인 플라보노이드로 항암, 항섬유화, 항염증 효과가 있는 것으로 알려져 있고(You KM, Jong HG, Kim HP *et al.*, *Inhibition of cyclooxygenase/lipoxygenase from human platelets by polyhydroxylated /methoxylated flavonoids isolated from medicinal plants. Arch Pharm Res.* 22(1):18-24, 1999), 전염증 사이토카인(TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-10 등)의 분비를 억제한다. 이를 토대로 우고닌의 효과에 대한 다양한 임상시험 및 연구가 진행되고 있다.

[0006] 하지만, 우고닌이 비용의 예방이나 치료 효과에 대해서는 알려진 바가 없다.

[0007] 이에 본 발명자들은, 우고닌이 비용에서 유래한 섬유모세포의 근섬유모세포로의 분화, 세포외기질 형성 및 콜라겐 생성을 억제하는 효과를 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 비용의 예방 및 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 우고닌(wogonin)을 유효성분으로 함유하는 비용(nasal polyposis)의 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명에 따른 우고닌을 유효성분으로 함유하는 비용의 예방 및 치료용 조성물은 TGF- β 발현 억제를 통하여, 섬유세포에서 근섬유모세포로의 분화 및 세포외물질 침착을 감소시키는 효과가 있으므로, 비용의 예방 및 치료를 위한 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0011] 도 1은 비용 유래 섬유모세포에서 우고닌(wogonin)의 독성 정도를 확인한 결과이다.
- 도 2는 우고닌에 의한 알파-평활근 액틴 및 피브로넥틴의 발현 억제를 유전자 수준에서 확인한 결과이다.
- 도 3은 우고닌에 의한 알파-평활근 액틴 및 피브로넥틴의 발현 억제를 단백질 수준에서 확인한 결과이다.
- 도 4는 우고닌에 의한 콜라겐의 발현 억제를 단백질 수준에서 확인한 결과이다.
- 도 5는 우고닌 및 억제제에 의한 p38, c-Fos, 알파-평활근 액틴, 피브로넥틴 및 콜라겐의 발현 억제를 단백질 수준에서 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] 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.
- [0013] 비용(nasal polyposis)은 TGF- β 발현이 증가되어, 섬유모세포에서 근섬유모세포로의 분화와 세포외기질의 침착 및 축적을 특징으로 한다. 이에, 본 발명자들은 TGF- β 의 발현이 증가된 섬유모세포에서 우고닌에 의한 근섬유모세포로의 분화와 세포외기질의 침착을 억제하는 신호전달 기전을 확인하였다.
- [0014] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, 우고닌(wogonin)을 유효성분으로 함유하는 비용(nasal polyposis)의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0015] 본 발명에서, 우고닌(wogonin)은 한약 및 생약의 재료인 황금(黃芩, *Scutellaria radix*)의 뿌리에서 추출한 대표적인 플라보노이드로 항암, 항섬유화, 항염증 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 전염증 사이토카인(TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-10 등)의 분비를 억제한다.
- [0016] 본 발명에 있어서, 상기 비용(nasal polyposis)은 만성 비부비동염과 동반되는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0017] 본 발명의 조성물은 하기 특성 중 하나 이상을 갖는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0018] 1) 세포내 TGF- β 의 발현을 억제;
- [0019] 2) 피브로넥틴 및 알파-평활근 액틴의 발현을 억제;
- [0020] 3) 콜라겐 생성을 억제;
- [0021] 4) p38과 c-Fos의 인산화를 억제;
- [0022] 5) 섬유모세포의 근섬유모세포로의 분화를 억제; 및
- [0023] 6) 섬유모세포에 세포외기질 침착을 억제.
- [0024] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 국소 적용(topical application) 제형인 것을 특징으로 할 수 있지만, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명에 있어서, 상기 국소 적용 제형은 용액, 크림, 로션, 젤, 에멀전, 연고, 페이스트 또는 스프레이인 것을 특징으로 할 수 있으며, 바람직하게는 비강 스프레이 형태인 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0026] 본 발명에서, 국소 적용은 일반적으로 주위에 노출된 신체상의 표면에 대한 투여를 포함하는, 이의 가장 넓은 개념으로 사용되며, 비강 및 구강 통로뿐만 아니라 피부를 포함한다. 따라서, 국소 적용은 비강 통로에 대한 적용, 구강(상부 목 포함)에 대한 적용 및 피부에 대한 적용을 포함할 수 있다.
- [0027] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 보존제, 착색제, 침투 촉진제, 풍미제 또는 희석제 등의 추가적인 성분을 포함할 수 있다.
- [0028] 본 발명에서, 의약 조성물에 사용된 담체는 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 및 비히클을 포함하며 총괄적으로 "약제학적으로 허용되는 담체" 라고 한다. 본 발명의 의약 조성물에 사용될 수 있는 약제학적으로 허용되는 담체로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 이온 교환, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질(예, 사람 혈청 알부민), 완충 물질(예, 여러 인산염, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방

산의 부분적인 글리세라이드 혼합물), 물, 염 또는 전해질(예, 프로타민 설페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소 칼륨, 염화나트륨 및 아연 염), 교질성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로즈-계 기질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로즈, 폴리아릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-차단 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양모지 등이 포함된다. 특정 환자에 대한 특정 유효량은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 규정식, 투여시간, 투여경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 변할 수 있음은 이해될 것이다.

[0029] 본 발명은 다른 관점에서, 상기 조성물을 함유하는 비강용 스텐트에 관한 것이다.

[0030] 본 발명에서, 스텐트는 의료용 금속으로 제작된 작은 그물망으로, 내시경 수술을 통해 부비동의 자연공을 넓혀 공간을 확보하는 동시에, 스텐트 내에 함유된 우고닌을 포함한 물질이 분출되어 비염을 예방하는 방법으로 기구를 적용할 수 있다.

[0031] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0032] 실시예 1: 섬유모세포의 분리 배양 및 우고닌의 독성 확인

[0033] 수술과정에서 채취된 비염 조직의 epithelium은 제거하고 subepithelial 부위를 취한 후, 1 mm³ 크기로 절단하여 Dulbecco's Modified Eagle's medium(DMEM)과 10% fetal bovine serum(FBS), 100 units/mL 페니실린, 100 µg/mL 스트렙토마이신을 첨가한 배지와 함께 배양하였다. 배양용 접시에 조직이 유착된 후, 단층을 형성하면 배양액을 제거하고 phosphate buffered saline (PBS)로 세척하고 0.05% trypsin-EDTA로 37°C에서 5분간 처리하여 세포들을 분리하였다. 분리된 세포를 얻어 다시 10% FBS와 DMEM액이 포함된 배지에서 계대배양하였다.

[0034] 배양된 세포에 우고닌을 농도별 (0-120 µM)로 처리하여 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay를 통해 비염 유래 섬유모세포에 대한 우고닌의 세포독성 테스트를 실시한 후 세포독성을 미치지 않는 범위의 농도를 선정하였다.

[0035] 그 결과, 우고닌 60 µM의 농도까지 세포독성은 나타나지 않았다(도 1).

[0036] 실시예 2: 근섬유모세포로의 분화 및 세포외기질 축적 억제 효과를 유전자 수준에서 확인

[0037] 비염 유래 섬유모세포에 TGF-β (5 ng/ml)을 단독으로 처리하여 양성 대조군으로 사용하고, TGF-β (5 ng/ml)와 함께 우고닌(500 µg/ml)을 24시간 처리한 후, TGF-β에 의해 유도된 근섬유모세포(myofibroblast)로의 분화표지자인 α-SMA(alpha-smooth muscle actin, 알파-평활근 액틴)와 세포외기질 중 하나인 피브로넥틴의 발현양을 유전자 수준(mRNA level)에서 RT-PCR을 통해서 확인하였다.

[0038] 그 결과, 알파-평활근 액틴과 피브로넥틴의 mRNA 발현이 우고닌에 의해 억제되는 것을 확인할 수 있었다(도 2).

[0039] 실시예 3: 근섬유모세포로의 분화 및 세포외기질 축적 억제 효과를 단백질 수준에서 확인

[0040] 비염 유래 섬유모세포에 TGF-β (5 ng/ml)을 단독으로 처리하여 양성 대조군으로 사용하고, TGF-β (5 ng/ml)와 함께 우고닌(500 µg/ml)을 48시간 처리한 후, TGF-β에 의해 유도된 근섬유모세포(myofibroblast)로의 분화표지자인 α-SMA(alpha-smooth muscle actin, 알파-평활근 액틴)와 세포외기질 중 하나인 피브로넥틴의 발현양을 단백질 수준(protein level)에서 웨스턴 블롯팅을 통해서 확인하였다.

[0041] 그 결과, 알파-평활근 액틴과 피브로넥틴의 단백질 발현이 우고닌에 의해 억제되는 것을 확인할 수 있었다(도 3).

[0042] 실시예 4: 섬유모세포에서 콜라겐 생성 억제 효과를 단백질 수준에서 확인

[0043] 비용 유래 섬유모세포에 TGF- β (5 ng/ml)을 단독으로 처리하여 양성 대조군으로 사용하고, TGF- β (5 ng/ml)와 함께 우고닌(500 ug/ml)을 72시간 처리한 후, TGF- β 에 의해 유도된 세포외기질 중 하나인 콜라겐의 발현량을 단백질 수준(protein level)에서 시르콜 콜라겐 어레이(sircol collagen assay)를 통해서 확인하였다.

[0044] 그 결과, 콜라겐의 단백질 발현이 우고닌에 의해 억제되는 것을 확인할 수 있었다(도 4).

[0045] 실시예 5: 근섬유모세포로의 분화 및 세포외기질 축적 억제 기전을 단백질 수준에서 확인

[0046] 우고닌이 TGF- β 에 의해 활성화되는 p38/AP-1 신호전달 경로를 방해하여 근섬유모세포로의 분화 및 세포외기질 축적을 억제하는 효과를 확인하기 위해, TGF- β 키나아제, p38 및 AP-1의 억제제와 우고닌의 효과를 비교하는 실험을 진행하였다.

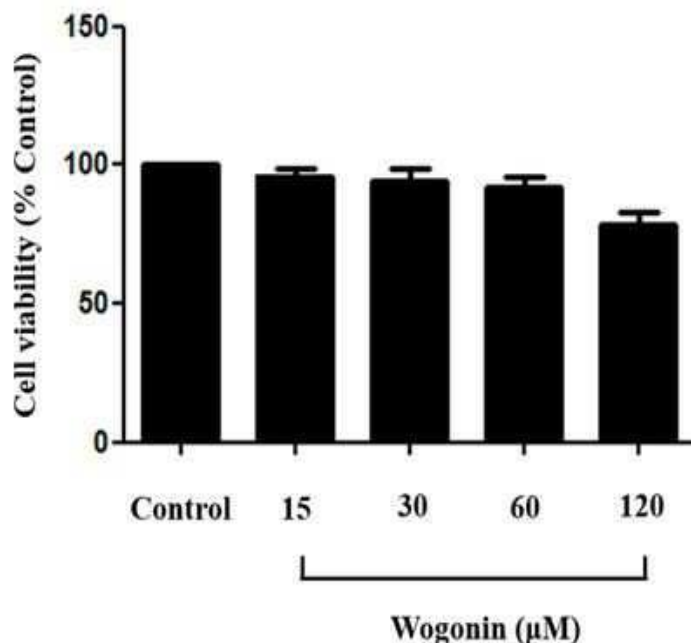
[0047] 비용 유래 섬유모세포에 TGF- β (5 ng/ml)을 단독으로 처리하여 양성 대조군으로 사용하고, TGF- β (5 ng/ml)와 함께 우고닌(500 ug/ml)을 60분 처리한 후, TGF- β 에 의해 활성화되는 p38과 c-Fos의 인산화 억제 효과와 알파-평활근 액틴, 피브로넥틴 및 콜라겐 생성 억제 효과를 각각 TGF- β 키나아제, p38 및 AP-1의 억제제(SB431542, SB203580, SR11302)를 이용하여 단백질 수준(protein level)에서 웨스턴 블롯팅과 시르콜 콜라겐 어레이를 통해서 확인하였다. c-Fos는 c-Jun과 함께 AP-1복합체를 형성한다.

[0048] 그 결과, p38과 c-Fos의 단백질 발현이 우고닌에 의해 억제되는 것을 확인할 수 있었고, 이는 억제제를 처리했을 때와 같은 결과를 보였다(도 4의 A). 알파-평활근 액틴과 피브로넥틴 및 콜라겐도 우고닌과 억제제에 의해 모두 생성이 억제되는 결과를 확인할 수 있었다(도 4의 B ~ D). 이를 통해 p38/AP-1 신호 전달 경로가 우고닌 효과의 주요한 과정임을 확인할 수 있었다.

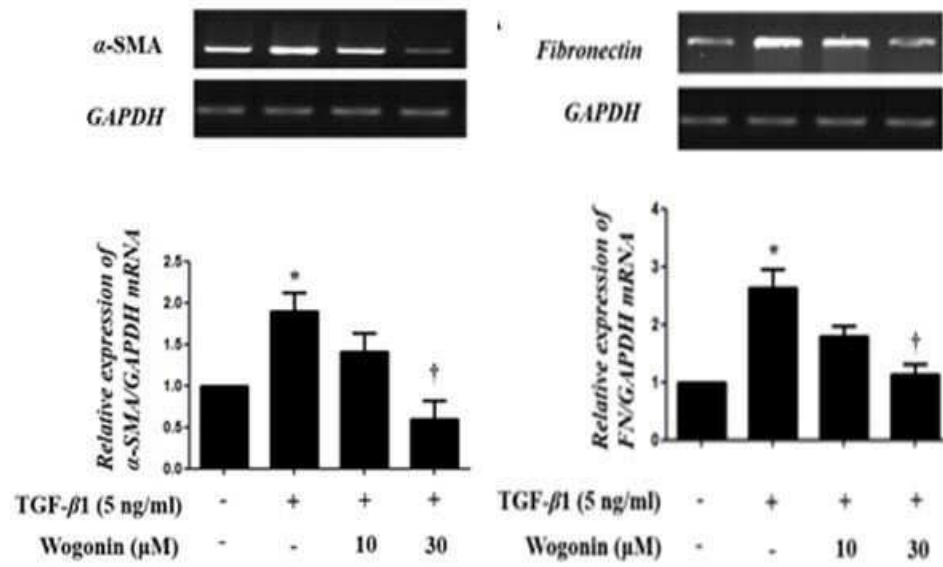
[0049] 이상으로, 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

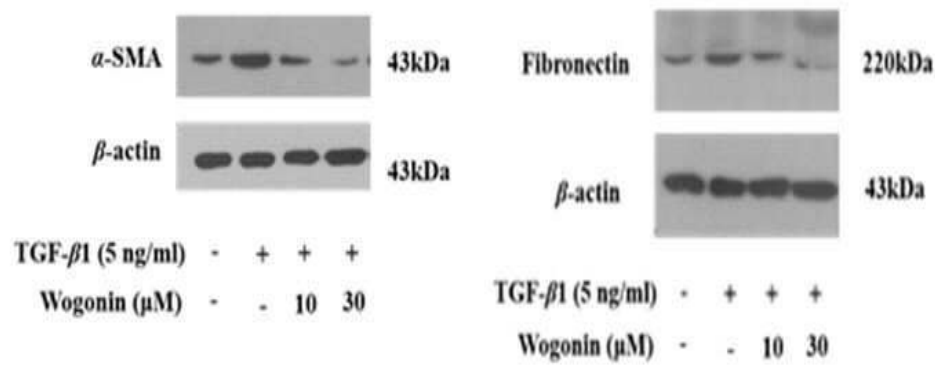
도면1



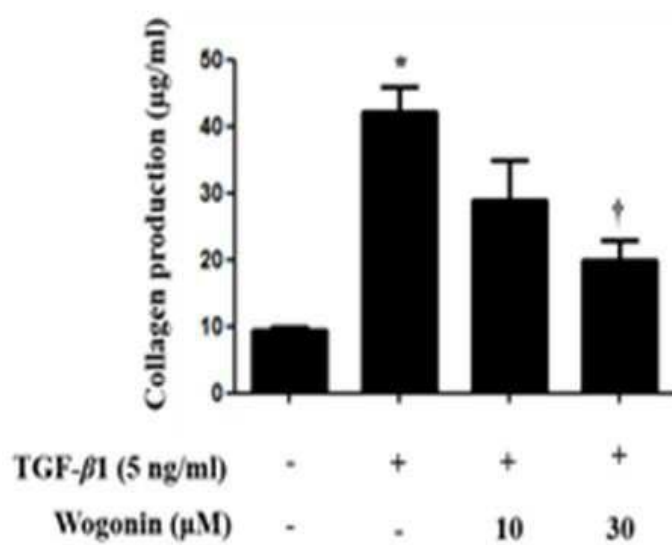
도면2



도면3



도면4



도면5

