



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월17일
(11) 등록번호 10-2363895
(24) 등록일자 2022년02월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/045 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)
A61K 31/661 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/045 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2020-0026103
(22) 출원일자 2020년03월02일
심사청구일자 2020년03월02일
(65) 공개번호 10-2021-0111057
(43) 공개일자 2021년09월10일
(56) 선행기술조사문헌
US20020082244 A1*
M. TIMILSHINA et al., CELL REPORTS, 27,
pp.2948-2961, e1-e7, 2019
SONJA M LACHER ET AL, CELL DEATH _ DISEASE,
2017, 8, E2824
KR1020170141914 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
영남대학교 산학협력단
경상북도 경산시 대학로 280 (대동)
(72) 발명자
김중오
대구광역시 수성구 범어천로 200, 204동 406호 (범어동, 범어 월드메르디앙 웨스턴 카운티)
장재훈
대구광역시 수성구 달구벌대로669길 20, 101동 205호 (사월동, 시지동화 아이위시아파트)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 6 항

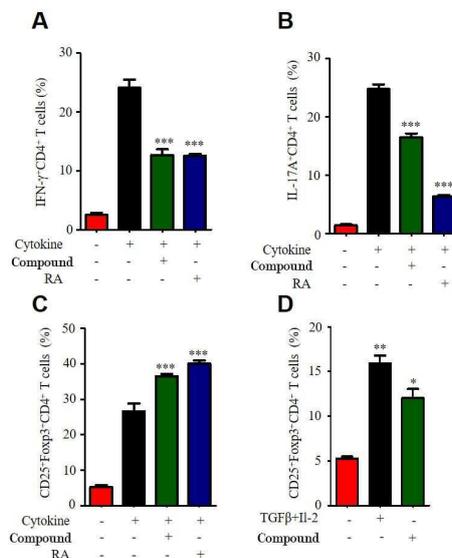
심사관 : 최홍석

(54) 발명의 명칭 **염증 질환 또는 면역 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 제제에 관한 것으로, 화학식 1로 표시되는 화합물이 염증 반응 및 면역 반응을 유도하는 헬퍼 T 세포의 분화를 억제하고, 염증 반응 및 면역 반응을 억제하는 조절 T 세포의 분화를 촉진함으로써, 염증 반응 및 면역 반응을 조절하는 활성이 있다는 것을 세포 및 동물 실험으로 확인함으로써, 이를 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/661 (2013.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2019R1A2C1006387
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	T 세포 활성화에서 LKB1-AMPK에 의한 대사조절 역할 연구
기여율	1/1
과제수행기관명	영남대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2022.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

제라닐제라닐 피로인산(geranylgeranyl pyrophosphate) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서,

상기 염증 질환은 염증성 장질환, 피부염, 알레르기, 아토피, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 강직성 척추염, 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 또는 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome)인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물..

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제라닐제라닐 피로인산(geranylgeranyl pyrophosphate) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 헬퍼 T 세포인 Th1 세포 및 Th17 세포의 분화를 억제하여 염증 반응을 억제하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 제라닐제라닐 피로인산(geranylgeranyl pyrophosphate) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 조절 T 세포의 분화를 촉진하여 염증 반응을 억제하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 항히스타민제, 소염진통제, 항암제 및 항생제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 약제와 함께 제제화하거나 병용하여 사용하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 10

제라닐제라닐 피로인산(geranylgeranyl pyrophosphate) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방 또는 개선용 건강기능 식품 조성물로서,

상기 염증 질환은 염증성 장질환, 피부염, 알레르기, 아토피, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 강직성 척추염, 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 또는 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome)인 것을 특징

으로 하는 건강기능 식품 조성물.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 제제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 박테리아, 곰팡이, 바이러스, 다양한 종류의 알레르기 유발물질과 같은 외부 감염원이 인체에 침입하게 되며, 인체는 이들의 침입을 방지하기 위해 염증 또는 면역과 같은 방어 반응을 유도한다. 구체적으로, 외부 세균이 특정 조직에 침입하여 증식을 하게 되면 생체의 백혈구가 이를 인지하여 증식된 외부 세균을 활발히 공격하게 되는데, 이 과정 중 발생하는 백혈구의 사해가 균에 의하여 침입 받은 조직에 축적됨과 동시에 백혈구에 의하여 사멸된 침입균의 세포 파괴물이 침입 받은 조직 내로 용해되어 농양이 형성된다. 염증에 의한 농양의 치료는 소염작용을 통하여 촉진될 수 있는데, 소염작용이란 항균제를 이용하여 침입균의 증식을 억제하거나 농양중에 축적된 이물질들을 탐식하는 대식세포(macrophage)를 활성화하여 상기 이물질들을 소화 및 배설하는 대식세포의 기능을 향진시키는 등의 염증치료 촉진작용이다.

[0003] 일반적으로 이러한 방어 반응은 생체의 세포나 조직에 기질적 변화를 가져오는 침습으로 인한 손상을 수복 및 재생하기 위한 생체방어 반응과정이고, 이 반응과정에는 국소의 혈관, 체액의 각종 조직세포 및 면역세포 등이 작용한다. 정상적으로 외부 침입균에 의하여 유도되는 방어 반응은 생체를 보호하기 위한 방어 시스템인 반면, 비정상적으로 과도한 방어 반응이 유도되면 다양한 질환들이 나타나게 되는데, 이러한 질환들이 염증 질환 또는 면역 질환이다. 외부자극에 의하여 활성화된 표적세포로부터 분비되는 다양한 염증 매개물질이 염증을 증폭 및 지속시켜 인체의 생명을 위협하는 질환으로서 급성염증, 류마티스 관절염과 같은 관절내에서의 질환, 건선 등의 형태로 나타나는 피부질환 및 기관지 천식 등의 질환 등을 포함한다.

[0004] 특히, 염증성 장질환(Inflammatory bowel disease, IBD)은 임상적으로 유사하면서도, 조직학적 소견과 내시경 및 면역학적 측면에서 서로 다른 궤양성 대장염 및 크론병의 두 가지 질환으로 분류된다. 이러한 IBD는 염증세포의 활성화가 중요한 병인인 것으로 알려져 있다. 장면역계의 지속적이거나 부적절한 활성화는 만성 점막성 염증의 병리생리에 중요한 역할을 하며, 특히 호중구, 대식세포, 림프구 및 비만세포의 침윤에 의해 결국 점막 파괴 및 궤양을 초래한다. 침윤되고 활성화된 호중구는 활성산소종의 중요한 원인이 되며, 이러한 활성종은 세포 독성 물질로서 가교 단백질, 지질 및 핵산에 의해 세포성 산화 스트레스를 유도하고 상피성 기능장애 및 손상을 초래한다.

[0005] 염증성 장질환이 있으면 장관의 점막에서 다양한 염증성 사이토카인들이 분비된다. TNF- α 는 궤양성 대장염 환자의 대장 루멘과 대장 상피세포에서 높게 나타난다. 최근 연구에 의하면, TNF- α 는 궤양성 대장염의 병인으로 중요한 역할을 한다고 알려졌다. 항-TNF- α 항체인 인플릭시맵(infliximab)은 중기의 치료뿐 아니라, 기존에 치료되지 않던 크론병의 치료에 효과적이라고 알려졌다. 그러나, 이러한 치료법은 비용이 많이 들고, 일부 환자에게는 수액 반응 또는 전염성 합병증과 같은 부작용이 야기된다.

[0006] 또한, IBD를 지닌 환자의 점막에서는 유의성 있게 인터루킨-8(IL-8)이 상승하고, 모세혈관 신생을 촉진하는 것으로 알려져 있다. 대장에서의 염증이 심할수록 IL-8의 발현이 증가하며, 설치류를 이용한 동물실험 모델에서 IL-8 특이적 항체가 장염증을 감소시킨다는 것이 알려졌다. 이때, 세포내 Ca²⁺의 변화가 IL-8 유도의 중요한 요소로 작용한다.

- [0007] 현재 염증성 장질환 치료제로는 프로스타글란딘(prostaglandins)의 생성을 차단하는 5-아미노살리실산(5-aminosalicylic acid; 5-ASA) 계통 약물 예를 들어, 설과살라진 등을 이용하거나, 스테로이드류의 면역억제제를 사용하고 있다. 설과살라진은 복부허실(fullness), 두통, 발진, 간질환, 백혈구 감소증, 무과립구증, 남성 불임 등과 같은 부작용 또는 역효과를 일으키기 쉽다. 또한, 설과살라진이 장의 환부를 절개한 환자 또는 차도가 있는 환자에게 충분한 재발 억제 효과가 있는지는 불분명하다.
- [0008] 스테로이드류의 면역억제제는 부신피질 스테로이드로서, 단기적인 효과는 인정받고 있지만, 장기적인 예후를 향상시킬 수는 없다. 또한, 유도된 감염성 질환, 2차 부신피질 부전증, 소화성 궤양, 당뇨병, 정신장애, 스테로이드성 신장병 등과 같은 부작용의 측면에서 단지 급성인 경우에만 사용되어야 하는 한계가 있다. 즉, 아직까지 염증성 장질환에 대해 신뢰할 만한 경우용 치료요법이 없으므로, 이러한 질환에 대해 효과적이고 저비용의 경우용인 치료제의 개발이 요구되고 있다.
- [0009] 한편, 각종 병원체에 대한 생체 방어 시스템인 면역계에서 중심적 역할을 담당하는 세포군의 하나로 T 세포가 있다. T 세포는 인체의 흉선에서 생성되며, 일련의 분화 과정을 거치면서 고유의 특성을 지닌 T 세포로 분화한다. 분화를 완료한 T 세포는 그 기능에 따라 크게 CD8 T 세포 및 CD4 T 세포로 구분된다. 이 중 CD4 T 세포는 환경적인 요인에 따라 세부적으로 분화가 되는데, 가장 대표적인 것이 헬퍼 T 세포 및 조절 T 세포이다.
- [0010] 최근, 헬퍼 T 세포인 Th1 세포와 Th17 세포에 의한 자가면역 질환 연구 결과에 따르면, 이들 세포의 활성을 조절할 수 있는 조절 T 세포(Treg)의 기능의 기작이 알려지면서 이를 이용한 면역질환의 치료에 대한 연구가 대두되고 있다. Treg 세포는 비정상적으로 활성화된 면역세포의 기능을 억제하여 염증 반응을 제어하는 특성을 가진다. Treg 세포의 활성을 증가시키는 작용을 통해 면역질환을 치료하는 실험들이 많이 보고되고 있다. Th1 세포 및 Th17 세포는 면역질환에서 보이는 염증반응의 최전방에서 관여하여 염증 반응의 신호를 최대화하여 질병의 진행을 가속화 시키는 것이 밝혀지고 있다. 그러므로, 자가면역 질환 중 Treg 세포에 의해 제어되지 않는 자가면역 질환의 경우, Th1 및 Th17 세포 활성의 억제를 표적으로 한 자가면역 질환의 치료제 개발이 크게 부각되고 있다.
- [0011] 현재 사용되고 있는 면역질환 치료제로는 T 세포에서의 신호변환 경로를 차단하는 면역 억제제가 가장 많이 사용되고 있는데, 이러한 면역억제제들은 독성, 감염, 임파종, 당뇨병, 진전(tremor), 두통, 설사, 고혈압, 오심 또는 신기능 장애 등의 부작용이 발생하는 문제점이 있다.
- [0012] 또한, T 세포의 활성화를 억제하는 방법을 통해 면역질환을 치료하는 방법 이외에도, 면역 세포로부터 분비되는 사이토카인의 양을 조절하는 치료법, 및 면역 세포로부터 분비되는 사이토카인을 표적으로 하는 항체를 이용한 치료법이 개발 중에 있다. 그러나 이러한 방법은 실제적으로 임상실험을 거쳐 환자들에게 적용하기까지 많은 시간이 소요되어야 한다. 또한 항체를 이용하는 방법은 항체 제작 과정에서 너무 많은 비용이 든다는 문제점이 있다. 따라서 부작용이 없고 저렴하면서도 치료 효과가 우수한 새로운 면역질환 치료제의 개발이 필요한 실정이다.
- [0013] 본 발명자들은 이와 같은 점을 감안하여 대사 산물 중에서 일부 화합물이 염증 반응 또는 면역 반응을 조절하는 효과를 세포 및 동물 모델에서 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

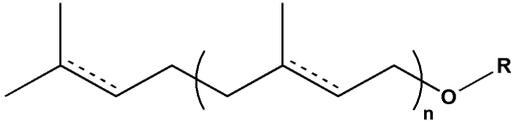
해결하려는 과제

- [0014] 본 발명은 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 제제에 관한 것으로, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물이 염증 반응 및 면역 반응을 유도하는 헬퍼 T 세포의 분화를 억제하고, 염증 반응 및 면역 반응을 억제하는 조절 T 세포의 분화를 촉진함으로써, 염증 반응 및 면역 반응을 조절하는 활성이 있다는 것을 세포 및 동물 실험으로 확인함으로써, 이를 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0016] [화학식 1]



[0017]

[0018] 상기 n은 1-3의 정수이고, R은 수소 또는 $P_2O_6^{3-}$ 중에서 선택되며, 상기 점선을 포함한 결합은 단일결합 또는 이중결합을 나타낸다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방 또는 개선용 건강기능 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명에 따르면, 화학식 1로 표시되는 화합물이 염증 반응 및 면역 반응을 유도하는 헬퍼 T 세포의 분화를 억제하고, 염증 반응 및 면역 반응을 억제하는 조절 T 세포의 분화를 촉진함으로써, 염증 반응 및 면역 반응을 조절하는 활성이 있다는 것을 세포 및 동물 실험으로 확인함으로써, 이를 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물로 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 본 발명에 따른 화합물에 의한 헬퍼 T 세포 및 조절 T 세포의 in vitro 분화에 미치는 영향을 평가한 그래프이다. A는 Th1 세포의 분화 퍼센트이고, B는 Th17 세포의 분화 퍼센트이고, C 및 D는 조절 T 세포의 분화 퍼센트이다. RA는 유사 대조군으로 사용되었다.

도 2는 $CD4^+$ 세포에서 본 발명에 따른 화합물의 농도에 따른 세포 독성 평가를 확인한 결과이다.

도 3은 동물 모델에서 본 발명에 따른 화합물의 투여에 따른 체중 및 혈변 횟수에 미치는 영향을 평가한 그래프이다.

도 4는 동물 모델에서 본 발명에 따른 화합물의 투여에 따른 헬퍼 T 세포 및 조절 T 세포의 수 변화를 평가한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.

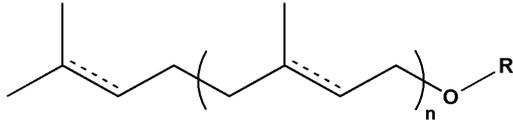
[0023] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0024] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.

[0025] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0026] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0027] [화학식 1]



[0028]

[0029] 상기 n은 1-3의 정수이고, R은 수소 또는 $P_2O_6^{3-}$ 중에서 선택되며, 상기 점선을 포함한 결합은 단일결합 또는 이중결합을 나타낸다.

[0030] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 제라닐제라닐 피로포스페이트염(geranylgeranyl pyrophosphate salt), 파네실 피로포스페이트염(farnesyl pyrophosphate salt), 제라닐제라니올(geranylgeraniol), 파네솔(farnesol) 및 피톨(phytol)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0031] 구체적으로 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 GGPP(geranylgeranyl pyrophosphate)일 수 있으며, GGPP는 제라닐제라닐 피로인산 또는 제라닐제라닐 2인산염(geranylgeranyl diphosphate)이라고 불릴 수 있다.

[0032] 상기 화합물은 다이테르펜 및 다이테르페노이드의 생합성 과정에서의 대사 중간생성물이며, 카로티노이드, 지베렐린, 토코페롤 및 엽록소의 전구물질이기도 하다. 화합물은 사람의 세포에서 중요하게 사용되는 제라닐제라닐화된 단백질의 전구물질이며, 중간장자의 상피세포를 가로질러 생식세포를 이동시키는 화학유인물질로 이용된다. 유인신호는 생식샘 전구세포에서 생산되어 생식세포를 이들 부위로 유도하여, 난자와 정자로 분화되도록 한다.

[0033] 상기 염증 질환은 염증성 장질환, 피부염, 알레르기, 아토피, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 강직성 척추염, 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 견관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 또는 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0034] 상기 면역 질환은 자가면역질환, 이식거부, 또는 이식편대숙주병일 수 있으며, 상기 자가면역질환은 다발성 경화증, 크론씨병, 홍반병, 아토피, 하시모토 갑상선염, 악성빈혈, 에디슨씨 병, 제1형 당뇨, 루프스, 만성피로증후군, 섬유근육통, 갑상선기능저하증과 항진증, 경피증, 베체트병, 염증성 장질환, 중증 근무력증, 메니에르 증후군(Meniere's syndrome), 길리안-바레 증후군(Guillian-Barre syndrome), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 백반증, 자궁내막증, 건선, 백반증, 전신성 경피증, 천식 또는 궤양성 대장염일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 상기 화합물은 헬퍼 T 세포인 Th1 세포 및 Th17 세포의 분화를 억제하여 염증 반응 또는 면역 반응을 억제할 수 있고, 조절 T 세포의 분화를 촉진하여 염증 반응 또는 면역 반응을 억제할 수 있다.

[0036] Th1 세포는 세포 매개성 면역에 관여하고, Th17 세포는 감염 및 염증 질환에 관여하고, 조절 T 세포는 면역을 억제하여 항상성을 유지하게 만들어 준다. 면역계에서 이러한 세포 집단들은 서로 과활성화되지 않도록 서로 견제를 통해 면역계의 균형을 유지하고 있다. 면역질환의 대부분은 이러한 면역 세포 간의 불균형에 기인하는 것으로 볼 수 있다. 예를 들어, Th1 세포와 Th17 세포의 활성이 비정상적으로 증가하는 경우 자가면역 질환이 발생하는 것으로 알려져 있다.

[0037] 상기 약학적 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다.

[0038] 상기 약학적 조성물은 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 외용제 형태로 제형화될 수 있다.

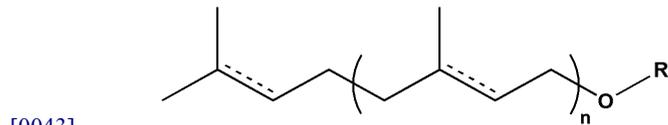
[0039] 본 발명의 약학적 조성물은 제형화를 위해 추가로 있는 약학적으로 허용가능한 담체 및 희석제를 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용가능한 담체 및 희석제는 전분, 당, 및 만니톨과 같은 부형제, 갈슘 포스페이트 등과 같은 충전제 및 증량제, 카르복시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스 유도체, 젤라틴, 알긴산염, 및 폴리비닐 피롤리돈 등과 같은 결합제, 활석, 스테아린산 칼슘, 수소화 피마자유 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 윤활제, 포비돈, 크로스포비돈과 같은 붕해제, 폴리소르베이트, 세틸알코올, 및 글리세롤 등과 같은 계면활성제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 약학적으로 허용가능한 담체 및 희석제는 대상체에게 생물학적 및 생리학적 친화적인 것일 수 있다. 희석제의 예로는 염수, 수용성 완충액, 용매 및/또는

분산제(dispersion media)를 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0040] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여된다. 또한 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 대상체의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설을 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0041] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 질환 또는 면역 질환의 예방 또는 개선용 건강기능 식품 조성물을 제공한다.

[0042] [화학식 1]



[0044] 상기 n은 1-3의 정수이고, R은 수소 또는 $P_2O_6^{3-}$ 중에서 선택되며, 상기 점선을 포함한 결합은 단일결합 또는 이중결합을 나타낸다.

[0045] 본 발명은 통상적으로 이용되는 식품으로써 일반적으로 사용될 수 있다.

[0046] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. 상기 "건강기능 식품"이라 함은 건강기능 식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0047] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0048] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.

[0049] 본 발명의 식품 조성물은 질환의 예방 및/또는 개선을 목적으로, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.

[0050] 예를 들어, 캡슐 형태의 건강기능 식품 중 경질캡슐제는 통상의 경질캡슐에 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합 및 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡슐제는 본 발명에 따른 조성물은 부형제 등의 첨가제와 혼합하고 젤라틴 등 캡슐기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡슐제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0051] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0052] 본 발명에서 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 조성물의 투여로 질환의 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 용어 "치료"는 본 발명에 따른 조성물의 투여로 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 "개선"이란 본 발명의 조성물을 개체에 투여하거나 섭취시켜 질환의 나쁜 상태를 좋게 하는 모든 행위를 의미한다.

[0053] 상기 약학적 조성물은 항히스타민제, 소염진통제, 항암제 및 항생제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 약제와 함께 제제화하거나 병용하여 사용할 수 있다.

[0054] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실험예 및 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실험예 및 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실험예 및 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실험예 및 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

- [0055] 이하, 실시예 등에서 사용한 시약은 시중에서 구할 수 있는 것으로, 최상품을 사용하였으며, 별도의 언급이 없는 한, Sigma-aldrich사에서 구입한 것을 사용하였다.
- [0056] **실시예 1. 본 발명에 따른 화합물의 헬퍼 T 세포 및 조절 T 세포의 분화 억제 효과**
- [0057] 본 발명에 따른 본 발명에 따른 화합물이 염증 반응 및 면역 반응에 영향을 주는 면역세포에 미치는 영향을 평가하기 위해, 동물 모델로부터 염증성 면역 세포인 헬퍼 T 세포 및 조절 T 세포를 분리하였다.
- [0058] B57BL/6 마우스의 비장(spleen)으로부터 CD4 마이크로비드(microbead)를 이용하여 MACS 자성 장비로 CD4 T 세포를 분리하였다. 분리된 CD4 T 세포는 CD3 항체 1 mg/mL로 자극하고 배양 플레이트에 접종한 후, CD28 항체 1 mg/mL로 처리하였다. 배양 배지는 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin (PS))이 포함된 RPMI-1640 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건 하에 배양하였다.
- [0059] 배양된 T 세포는 각각 적합한 분화 요인을 처리하여 Th1 세포, Th17 세포 및 조절 T 세포(regulatory T cells)로 분화하였다. 사이토카인 IL-12 10 ng/mL를 처리하여 Th1 세포로 분화하고, 사이토카인 IL-6 10 ng/mL, TGF-β 1 ng/mL, anti-IFN-γ 항체 5 mg/mL 및 anti-IL-4 항체 5 mg/mL를 처리하여 Th17 세포로 분화하고, 사이토카인 IL-2 10 ng/mL 및 TGF-β 10 ng/mL를 처리하여 조절 T 세포(regulatory T cells)로 분화하였다. 각각의 세포에 대한 적합한 분화 요인들과 함께 화합물 10 μM를 함께 처리하여 분화의 억제/촉진 여부를 확인하였고, 유사 대조군으로 면역 조절 세포의 분화 촉진 물질인 레티노산(Retinoic acid, RA) 1 μM을 사용하였다.
- [0060] 4일 동안 배양한 후, 세포를 PMA/ionomycin 및 golgi stop으로 4시간 동안 자극하고, PBS로 2번 세척하였다. 세척 후 Fix/Perm buffer를 이용하여 세포 표면에 구멍을 내고, PE-anti-IFN-γ 항체를 이용하여 유세포 분석기(flow cytometry)를 통해 세포 분화 정도를 확인하였다. 도 1에 나타난 바와 같이, 화합물은 Th1 세포 및 Th17 세포로 분화되는 것을 억제하는 것으로 나타났으며, 조절 T 세포(CD25+Foxp3+CD4+ T 세포)의 분화를 촉진하는 것으로 나타났다.
- [0061] 상기 결과는 화합물에는 염증 반응 및 면역 반응을 유도하는 헬퍼 T 세포의 분화를 억제하고 염증 반응 및 면역 반응을 억제하는 조절 T 세포의 분화를 촉진하는 활성이 있는 것으로 나타났으며, 상기 화합물이 염증 반응 및 면역 반응을 조절함으로써, 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료 효과가 있다는 것을 입증한다.
- [0062] **실시예 2. 본 발명에 따른 화합물의 세포 독성 평가**
- [0063] 본 발명에 따른 본 발명에 따른 화합물의 세포 독성 여부를 확인하기 위해 CD4 T 세포에서 세포 독성을 평가하였다. CD4 T 세포에 다양한 농도(1 μM, 5 μM, 10 μM 및 20 μM)의 화합물을 처리하여 배양한 후, PI와 Annexin V로 염색하여 죽어가거나 사멸된 세포를 확인하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, 화합물은 모든 농도에서 세포 독성이 나타나지 않았다.
- [0064] **실시예 3. 동물 모델에서 본 발명에 따른 화합물의 효과**
- [0065] 본 발명에 따른 본 발명에 따른 화합물이 염증 질환 또는 면역 질환 동물모델에 미치는 영향을 확인하기 위해, 염증성 장질환 동물모델에 화합물을 투여하였다.
- [0066] 8 내지 12 주령의 B57BL/6 마우스를 사용하였으며, 사육 조건은 사료와 물을 자유로이 공급하였고, 사육실 온도는 25±1°C, 상대습도는 50±10%로 유지하였으며, 자동조명 조절기를 이용하여 12 시간의 명암주기로 점등 관리하였다. 각각의 실험군은 5마리로 하여 난괴법(randomized block design)에 의하여 비투여 대조군, DSS(dioctyl sodium sulfosuccinate)만 단독 투여되는 질환 유도군 및 DSS 및 화합물을 함께 투여하는 군으로 나누어 실험하였다.
- [0067] DSS는 동물모델에 투여되어 염증성 장질환을 유발하였으며, DSS는 2.5% 농도로 정제수에 희석한 후, 6일 동안 일정한 주기로 경구 투여하였고, 화합물은 10mg/kg 용량으로 DSS와 함께 투여하였다. 화합물 투여에 따른 염증성 장질환의 개선 여부는 동물 모델의 체중 변화 및 혈변이 나타나는 정도로 확인하였다.
- [0068] 동물 모델의 체중 변화는 실험 시작 시점부터 DSS 처리전 몸무게를 기준으로 10일 동안 일정시간에 Digital mass meter를 이용하여 동물 모델의 체중 변화를 관찰하였다. 혈변의 정도는 6일 간의 약물 투여 후, 4일이 지난 다음 동물 모델로부터 대장을 적출하여 육안으로 살펴보았다.
- [0069] 도 3에 나타난 바와 같이, DSS를 투여한 동물모델은 3일째부터 몸무게가 현저하게 감소되는 반면, DDS 및 화합물을 함께 투여한 동물모델은 DSS만 투여된 동물모델에 비해 감소되는 정도가 상당히 억제되는 것을

확인하였고, DSS만 투여된 동물모델에 비해 DDS 및 화합물을 함께 투여한 동물모델에서 혈변의 정도가 유의적으로 감소하였다.

[0070] 또한, 상기 동물모델의 림프절에서 면역 세포를 분리하여 헬퍼 T 세포 및 조절 T 세포의 수를 계수하였다. 도 4에 나타난 바와 같이, DSS만 투여된 동물모델에 비해 DDS 및 화합물을 함께 투여한 동물모델에서 Th1 및 Th17 세포수가 유의적으로 감소하였으며, 조절 T 세포수는 현저히 증가한 것으로 나타났다.

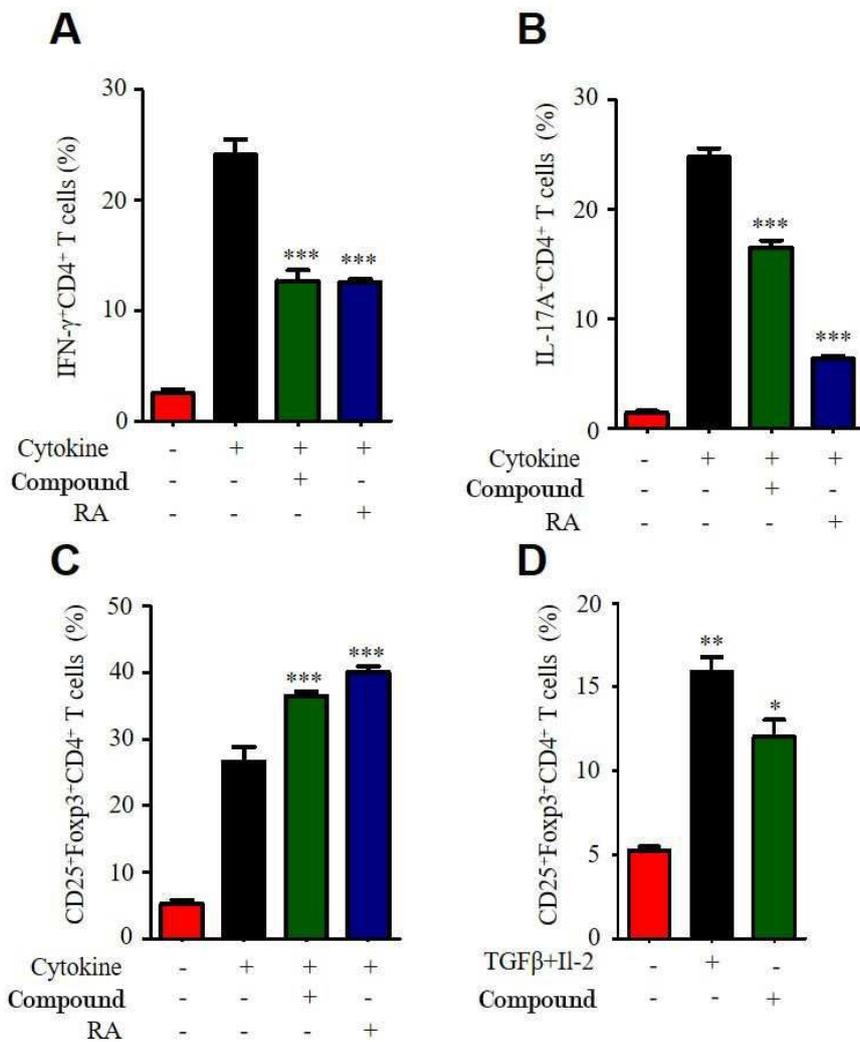
[0071] 상기 결과는 염증성 장질환 동물모델에 화합물을 투여하면 체중 감소 및 혈변과 같은 증상을 개선하는 효과가 있으며, 염증 반응을 유도하는 헬퍼 T 세포의 수가 감소되고, 염증 반응을 억제하는 조절 T 세포 수가 증가하는 효과가 있다는 것을 입증한다.

[0072] 종합하면, 화합물에는 염증 반응 및 면역 반응을 억제하고, 염증 질환 또는 면역 질환의 증상을 개선하는 효과가 in vitro 및 in vivo 실험으로 확인되었으며, 이러한 결과는 화합물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 염증 질환 또는 면역 질환의 예방, 개선 또는 치료용으로 사용될 수 있음을 입증한다.

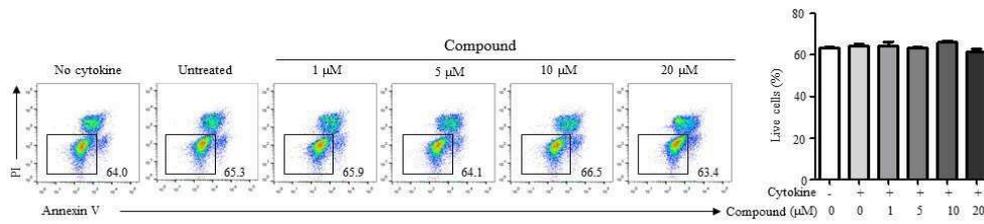
[0073] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

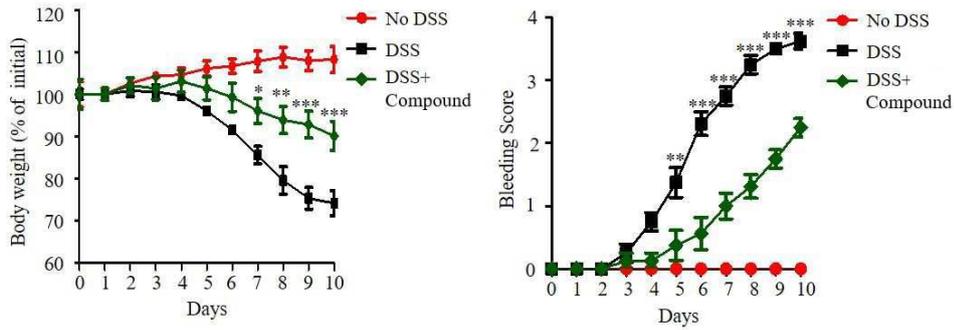
도면1



도면2



도면3



도면4

