



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0079560
(43) 공개일자 2012년07월13일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/728 (2006.01) A61K 38/47 (2006.01)
A61P 27/04 (2006.01) A61P 27/02 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2011-0000800</p> <p>(22) 출원일자 2011년01월05일
심사청구일자 2011년01월05일</p> | <p>(71) 출원인
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)</p> <p>(72) 발명자
고홍섭
서울특별시 종로구 창경궁로 265, 102동 1501호 (명륜2가, 아남아파트)</p> <p>박문수
강원도 강릉시 원대로128번길 14, 하이빌현대 101동 803호 (교동)</p> <p>(74) 대리인
특허법인다나</p> |
|--|---|

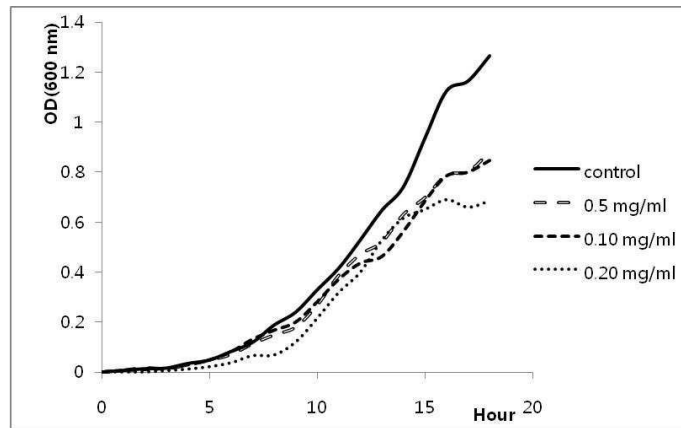
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **히알루론산을 포함하는 인공타액**

(57) 요약

본 발명에 따른 인공 타액은 인체 타액내 생리적 범위 내에 있으며, 적합한 항균 활성을 나타내므로, 구강 건조증 또는 구강 칸디다증의 치료에 사용될 수 있으며, 타액분비 저하로 인한 합병증의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2010-0029478
부처명 교육과학기술부
연구사업명 기초의과학연구센터(MRC)
연구과제명 생화학적 타액연구 및 인공타액
주관기관 서울대학교 산학협력단
연구기간 2010.01.01 ~ 2013.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

0.4~0.6 mg/ml 농도의 히알루론산을 포함하는 인공 타액에 있어서, 히알루론산 100 중량부에 대하여 리소자임 10~12 중량부 및 퍼록시다제 7~9 중량부를 포함하는 인공타액.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 인공 타액에 포함된 리소자임은 전체 인공 타액에 대하여 50~60 $\mu\text{g/ml}$ 농도인 인공타액.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 인공 타액에 포함된 퍼록시다제는 전체 인공 타액에 대하여 36~43 $\mu\text{g/ml}$ 농도인 인공타액.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 히알루론산은 히알루론산 자체, 히알루론산 염, 또는 히알루론산 자체 및 히알루론산 염이며, 상기 히알루론산 염은 히알루론산 나트륨, 히알루론산 칼륨, 히알루론산 산 칼슘, 히알루론산 마그네슘, 히알루론산 아연, 히알루론산 코발트와 같은 무기염과, 히알루론산 테트라부틸암모늄과 같은 유기염인 인공타액.

청구항 5

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 히알루론산의 분자량은 100 kDa 내지 10,000 kDa 인 인공타액.

청구항 6

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 인공 타액은 구강 건조증 또는 구강 칸디다증의 치료용인 인공타액.

청구항 7

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 인공 타액은 타액분비 저하로 인한 합병증의 예방 또는 치료용인 인공타액.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 히알루론산을 포함하는 인공타액에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 히알루론산 (Hyaluronic acid, HA) 은 D-글루쿠론산 및 N-아세틸-D-글루코사민 단위로 이루어진 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan)이다. 글루쿠론산 및 N-아세틸-D-글루코사민은 $\beta(1\rightarrow3)$ 연결되어 있으며, N-아세틸-D-글루코사민 및 글루쿠론산은 $\beta(1\rightarrow4)$ 로 연결되어 있다. HA 는 안구 유리액, 관절의 윤활액 및 세포외 기질(extracellular matrix)에 풍부하다. HA 의 고유의 생체적합성 및 독특한 물리적 특성에 의하여, HA 는 약물 전달, 생체 적합 물질의 제조, 안구 건조 환자를 위한 인공 눈물 및 골관절염의 증상 완화를 위한 물질에 사용된다 (O'Brien and Collum, 2004; Almond, 2007; Fam *et al.* 2007).

[0003] 인체 타액에 HA 의 존재가 알려져 왔으며, 타액의 HA 는 타액의 윤활, 창상 치유 기능 및 구강 점막을 보호하는 역할에 기여할 것이다 (Pogrel *et al.* 1996; Pogrel *et al.* 2003). 또한 HA 는 항칸디다(anti-Candida) 활

성을 나타내는 것이 공지되어 있다. 점탄성의 특성 및 비-면역원성(non-immunogenicity)에 기인하여(Almond, 2007), HA는 구강 건조 환자의 타액 대체품의 후보 물질로 고려될 수 있으며, 특정 농도에서 인체 타액과 유사한 물성적 특성을 나타낸다는 것이 공지되어 있다 (Park *et al.* 2010).

[0004] HA가 타액에서 감소하는 것 및 구강 건조증이 발생하는 것의 관계가 공지되어 있으며(Higuchi *et al.* 2009), 이는 HA가 구강 점막을 보호하고 윤활시키는 역할을 수행하는 것이라 판단된다. 게다가, HA의 상처 치료 활성 및 잠재적 항칸디다 활성 (Abatangelo, 1999; Sakai *et al.* 2007)은 구강 점막 상처 및 칸디다증(candidiasis)에 민감한 건조한 구강을 지닌 환자에게 추가적인 이익을 가져다 줄 수 있다.

[0005] 시판되는 구강 위생 제품에 의하여 타액의 항균 능력을 강화시키거나 회복시키려는 시도가 있어왔다. 상기 제품에 가장 널리 사용되는 항균 단백질은 리소자임(lysozyme) 및 락토퍼록시다제(lactoperoxidase)이다 (Tenovuo, 2002). 상기 항균제는 칸디다증에 민감한 건조한 구강을 지닌 환자의 타액의 항균 능력을 회복시키기 위하여 타액 대체제에 투입되어 왔다(Tenovuo, 2002). 리소자임의 항진균 활성 (Tobgi *et al.* 1988; Wu *et al.* 1999; Lee *et al.* 2010) 및 퍼록시다제(peroxidase) 시스템의 항진균 활성 (Wright *et al.* 1983; Lenander-Lumikari, 1992; Welk *et al.* 2009; Lee *et al.* 2010)은 공지되어 있다. 리소자임 및 퍼록시다제가 동시에 사용되는 것에 의한 칸디다를 죽이는 활성의 향상 효과가 공지되어 있다 (Lee *et al.* 2010). 생체 외 실험 결과가 생체 내에서도 동일하게 적용되는 것에 대한 것은 확실하지 않으나, 상기 항균성 보충물은 구강 건조 환자의 칸디다증 발생을 줄일 것이다.

[0006] 구강은 타액 대체물의 물질 및 타액의 분자가 동시에 존재할 수 있는 환경을 제공한다. 따라서, 타액 대체물의 HA 분자는 또한 인체 타액의 항균성 분자와 상호 작용할 것이다. HA 및 리소자임 간의 복합체 (Van Damme *et al.* 1991; Van Damme *et al.* 1994; Moss *et al.* 1997) 및 HA 및 퍼록시다제 간의 복합체 (Green *et al.* 1990)의 구조는 선행 문헌에서 제안되어 있다.

[0007] 다만, HA가 얼마나 또는 어떻게 HA가 리소자임 및 퍼록시다제의 항칸디다 활성에 영향을 미치는지 알려져 있지 않다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 히알루론산을 포함하는 인공타액을 제공하고자 한다.

[0009] 본 발명은 인공 타액으로서 적합한 히알루론산 농도, 항균첨가물인 리소자임 및 퍼록시다제의 농도를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 0.4~0.6 mg/ml 농도의 히알루론산을 포함하는 인공 타액에 있어서, 히알루론산 100 중량부에 대하여 리소자임 10~12 중량부 및 퍼록시다제 7~9 중량부를 포함하는 인공타액을 제공한다.

[0011] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 인공 타액에 포함된 리소자임이 전체 인공 타액에 대하여 50~60 µg/ml 농도이거나, 또는 상기 인공 타액에 포함된 퍼록시다제가 전체 인공 타액에 대하여 36~43 µg/ml 농도일 수 있다.

[0012] 본 발명의 다른 구체예에서 히알루론산의 분자량은 특별히 제한되는 것은 아니며, 100 kDa 내지 10,000 kDa 일 수 있다.

[0013] 본 발명에 따른 인공 타액은 구강 건조증 또는 구강 칸디다증의 치료에 사용될 수 있으며, 타액분비 저하로 인한 합병증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다. 따라서 본 발명은 히알루론산을 포함하는 구강 건조증 또는 구강 칸디다증의 치료용 인공타액, 또는 타액분비 저하로 인한 합병증의 예방 또는 치료용 인공 타액을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명에 따른 인공 타액은 인체 타액내 생리적 범위 내에 있으며, 적합한 항균 활성을 나타내므로, 구강 건조증 또는 구강 칸디다증의 치료에 사용될 수 있으며, 타액분비 저하로 인한 합병증의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 히알루론산의 *C. albicans* ATCC 10231 성장 저해 효과를 나타낸 그래프이다.
- 도 2는 히알루론산의 *C. albicans* ATCC 18804 성장 저해 효과를 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 히알루론산의 *C. albicans* ATCC 11006 성장 저해 효과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 본 발명은 0.4~0.6 mg/ml 농도의 히알루론산을 포함하는 인공 타액에 있어서, 히알루론산 100 중량부에 대하여 리소자임 10~12 중량부 및 퍼록시다제 7~9 중량부를 포함하는 인공타액을 제공한다.
- [0017] 본 발명에서의 상기 히알루론산은 히알루론산 자체와 그것의 염을 모두 포함하는 개념이므로, 본 발명에서의 용어 "히알루론산" 은 히알루론산, 히알루론산 염, 또는 히알루론산과 히알루론산의 혼합물을 의미한다. 상기 히알루론산 염에는, 히알루론산 나트륨, 히알루론산 칼륨, 히알루론산 칼슘, 히알루론산 마그네슘, 히알루론산 아연, 히알루론산 코발트 등과 같은 무기염과, 히알루론산 테트라부틸암모늄 등과 같은 유기염이 모두 포함된다. 경우에 따라서는, 이들의 둘 또는 그 이상의 조합이 사용될 수도 있다.
- [0018] 리소자임(lysozyme) 은 세균의 세포벽에 있는 다당류 중의 N-아세틸무람산(NAM)과 N-아세틸글루코사민(NAG) 사이의 β-1,4-글리코시드 결합을 가수분해하는 효소로서, 주로 난백, 동물조직, 비점막, 침, 위액, 눈물 등에 함유되어 있으며 살균 및 항균 활성을 갖는다.
- [0019] 퍼록시다제(oxidase) 는 H₂O₂(또는 CH₃OOH)의 존재에서 모노아민류, 폴리아민류, 모노페놀류, 폴리페놀류, 류코색소, 아스코르브산, 시토크롬c, HI 등을 H₂O₂+AH₂ → 2H₂O+A의 반응식으로 나타내도록 산화를 촉매하는 효소를 의미한다.
- [0020] 히알루론산은 타액과 유사한 조성을 가진 완충용액(simulated salivary buffer)에 0.5 mg/ml 농도로 만들었을 경우, 유동학 측면에서 타액대체제로 가장 적합하다. 또한, 항균첨가물인 리소자임은 히알루론산 100 중량부에 대하여 10~12 중량부, 퍼록시다제는 히알루론산 100 중량부에 대하여 7~9 중량부 첨가했을 경우, 인체 타액내 생리적 범위 내에 있으며, 적합한 항균 활성을 나타낸다.
- [0021] 본 발명에 있어서, 중량부는 중량비율을 의미한다.
- [0022] 항균첨가물인 리소자임이 히알루론산 100 중량부에 대하여 10 중량부 미만이거나 또는 퍼록시다제가 히알루론산 100 중량부에 대하여 7 중량부 미만인 경우, 인공타액의 항진균 활성이 충분하지 않을 수 있다.
- [0023] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 인공 타액에 포함된 리소자임이 전체 인공 타액에 대하여 50~60 μg/ml 농도이거나, 또는 상기 인공 타액에 포함된 퍼록시다제가 전체 인공 타액에 대하여 36~43 μg/ml 농도일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 다른 구체예에서 히알루론산의 분자량은 특별히 제한되는 것은 아니며, 100 kDa 내지 10,000 kDa 일 수 있다.
- [0025] 본 발명에 따른 인공 타액은 구강 건조증 또는 구강 칸디다증의 치료에 사용될 수 있으며, 타액분비 저하로 인한 합병증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다. 따라서 본 발명은 히알루론산을 포함하는 구강 건조증 또는 구강 칸디다증의 치료용 인공타액, 또는 타액분비 저하로 인한 합병증의 예방 또는 치료용 인공 타액을 제공한다.
- [0026] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.
- [0027] 하기의 제조예는 본 발명에 따른 실시예에 공통적으로 적용되는 제조예를 제공하기 위한 것이다.

[0028] 제조예 1: 히알루론산 용액

- [0029] 히알루론산 (1,630 kDa, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) 을 타액과 유사한 조성을 가진 완충용액 (stimulated salivary buffer, SSB, 0.021 M Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH 7.0, 36 mM NaCl 및 0.96 mM CaCl₂ 를 포함함) (Bennick and Cannon, 1978) 또는 세가지 다른 농도의 RPMI 1640 미디움 (0.5, 1.0, 및 2.0 mg/ml) 에 용해시켰다.
- [0030] **제조예 2. 리소자임 및 퍼록시다제**
- [0031] 닭 단백질 리소자임 (hen egg-white lysozyme, HEWL) 및 소 락토펙시다제 (bovine lactoperoxidase, bLPO) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) 를 본 발명의 각각 리소자임 및 퍼록시다제로 사용하고, 이를 SSB 에 용해시켰다. 분석에는 30.0 μg/ml HEWL 또는 25.0 μg/ml bLPO 의 농도를 사용하였다.
- [0032] **실시예 1: HA 의 균발육 저지 활성**
- [0033] *Candida albicans* ATCC 10231, 18804 및 11006 을 실험에 사용하였다. 사보로 텍스트로스 아가 (Sabouraud dextrose agar, SDA) 에서 자란 *C. albicans* 의 한 콜로니를 사보로 텍스트로스 배지에 접종하고, 18 h 동안 37°C 에서 교반하여 배양하였다. 세포를 수확 후 세척하고, RPMI 1640 미디움 ml 당 1 x 10⁵ 세포의 농도로 재현탁 하였다. HA 의 균발육 저지 활성을 측정하기 위하여, HA 를 다양한 농도의 *C. albicans* 를 함유하는 100 ml RPMI 1640 미디움에 용해시키고(0.5, 0.1 및 2.0 mg/ml), 상기 배양을 37°C 에서 교반하여 배양하였다. 증식기는 배양의 광학 밀도를 600 nm 에서 1 h 간격으로 측정하여 결정하였으며, HA 가 없는 배양과 비교하였다. 상기 실험을 4 회 반복하였다.
- [0034] HA 는 *C. albicans* 성장에 저해 효과를 나타내었고, 저해 효과는 실험에 사용된 HA 농도에 비례하였다. HA 의 저해 효과는 *C. albicans* ATCC 11006 주에서 제일 컸으며, ATCC 18804 주에서 제일 적었다 (도 1, 2 및 3 참조).
- [0035] **실시예 2: HA 의 칸디다를 죽이는 활성**
- [0036] *C. albicans* ATCC 10231, 18804 및 11006 의 한 콜로니를 10 ml 의 RPMI 1640 미디움에 접종하고, 18 h 동안 37°C 에서 교반하여 배양하였다. 세포를 수확 후 세척하고, SSB 에 ml 당 1 x 10⁵ 세포의 농도로 재현탁 하였다. HA 의 칸디다를 죽이는 활성을 측정하기 위하여, 20 μl 의 세포 현탁액을 다양한 농도에서 40 μl 의 HA 에 첨가하였다(최종 농도 0.5, 1.0 및 2.0 mg/ml). 표본을 37°C 에서 1.5 h 동안 배양하고, 매 15 분마다 혼합시켰다. 배양 마지막에 표본을 10 배 희석하고, 50 μl (167 세포) 의 희석된 세포를 SDA 판에 삼중으로 플레이트하고, 37°C 에서 하룻밤동안 배양하였다. 칸디다를 죽이는 활성을 실험 판 상의 콜로니 개수와 HA 가 없는 대조군 판 상의 콜로니 개수를 비교하여 측정하였다. 세포 생존력의 손실을 (1-대조군 판에 대한 실험 판의 콜로니 개수의 비) 을 또한 계산하였다. 상기 실험을 여섯 번 반복하였다.
- [0037] HA (최종 농도 0.5, 1.0 및 2.0 mg/ml) 는 측정 가능한 칸디다를 죽이는 활성을 나타내지 않았으며, 모든 세주에서 대조군 (HA 없는 군) 과 비교하여 실험 플레이트 상의 콜로니 숫자는 의미있는 차이를 나타내지 않았다.
- [0038] **실시예 3: HA 가 리소자임 및 퍼록시다제의 칸디다를 죽이는 활성에 미치는 영향(HA를 칸디다 세포와 함께 배양하고, 그 후 항균 효소로 처리한 경우)**
- [0039] 상기와 같이 배양된 *C. albicans* 의 세포 현탁액을 SSB 에 ml 당 1 x 10⁵ 세포의 농도로 적용하고, 그 후 20 μl 의 세포 현탁액을 동일한 양의 HA 에 첨가하였다 (최종 농도 0.5, 1.0 및 2.0 mg/ml). 표본을 37°C 에서 1 h 동안 교반하며 배양하였다. 40 μl 의 세포 현탁액을 20 μl 의 HEWL (최종 농도 30 μg/ml) 또는 20 μl 의 퍼록시다제 (최종 농도 25 μg/ml bLPO, 1 mM KSCN 및 100 μM H₂O₂)에 혼합하고, 그 후 37°C 에서 1 h 동안 교반하며 배양하였다. 배양 마지막에 표본을 10 배 희석하고, 50 μl (167 세포) 의 희석된 세포를 SDA 판에 삼중으로 플레이트하고, 37°C 에서 하룻밤동안 배양하였다. 칸디다를 죽이는 활성 및 세포 생존력의 손실

율을 계산하였다. 상기 실험을 여덟 번 반복하였다.

[0040] HA 는 리소자임 및 퍼록시다제 시스템의 칸디다를 죽이는 활성에 대해 저해 효과를 나타내었으며, 상기 저해 효과는 HA 농도에 비례하였다. 저해 정도는 *C. albicans* 주에 따라 달랐으나, 1.0 - 2.0 mg/ml 의 HA 에서 본 실험에 사용된 리소자임 및 퍼록시다제 시스템의 칸디다를 죽이는 활성이 거의 전부 저해되었다 (표 1 및 2 참조).

표 1

[0041]

<i>C. albicans</i> 주	N = 8	대조군 (그룹 I)	HEWL (그룹 II)	HEWL + 0.5 mg/ml HA (그룹 III)	HEWL + 1.0 mg/ml HA (그룹 IV)	HEWL + 2.0 mg/ml HA (그룹 V)
ATCC 10231	CFU	154.5 ± 26.5	106.8 ± 15.6	126.8 ± 27.5	120.4 ± 39.7	144.3 ± 24.6
	% killing	-	28.7 ± 17.3	15.9 ± 22.3	20.5 ± 25.3	5.3 ± 15.8
ATCC 18804	CFU	143.9 ± 18.3	104.8 ± 12.8	138.4 ± 24.6	136.6 ± 27.6	155.1 ± 18.8
	% killing	-	26.9 ± 6.7	3.3 ± 16.2	3.8 ± 23.8	-8.9 ± 16.3
ATCC 11006	CFU	157.9 ± 18.0	105.8 ± 24.9	150.6 ± 21.8	155.1 ± 19.0	161.3 ± 12.7
	% killing	-	32.6 ± 16.2	4.6 ± 9.5	1.4 ± 10.7	-2.8 ± 8.8

[0042] HA 가 리소자임의 칸디다를 죽이는 활성에 미치는 영향 (HA를 칸디다 세포와 함께 배양하고, 그 후 리소자임으로 처리한 경우)

[0043] HEWL, 암탐 난백 리소자임; CFU, 콜로니 형성 숫자

표 2

[0044]

<i>C. albicans</i> 주	N = 8	대조군 (그룹 I)	bLPO 시스템 (그룹 II)	bLPO 시스템 + 0.5 mg/ml HA (그룹 III)	bLPO 시스템 + 1.0 mg/ml HA (그룹 IV)	bLPO 시스템 + 2.0 mg/ml HA (그룹 V)
ATCC 10231	CFU	177.6 ± 54.8	147.3 ± 40.3	162.7 ± 37.7	173.8 ± 64.7	172.9 ± 47.7
	% killing	-	15.9 ± 8.4	6.0 ± 13.9	3.1 ± 15.6	0.9 ± 16.0
ATCC 18804	CFU	163.4 ± 31.3	120.1 ± 16.6	139.1 ± 27.3	160.8 ± 37.7	162.3 ± 29.8
	% killing	-	25.7 ± 7.3	14.1 ± 12.5	2.0 ± 8.5	0.6 ± 1.1
ATCC 11006	CFU	156.9 ± 19.2	97.9 ± 15.2	148.1 ± 23.7	154.7 ± 25.4	151.4 ± 22.8
	% killing	-	37.4 ± 7.7	5.8 ± 6.4	1.4 ± 10.3	2.9 ± 14.7

[0045] HA 가 퍼록시다제의 칸디다를 죽이는 활성에 미치는 영향 (HA를 칸디다 세포와 함께 배양하고, 그 후 퍼록시다제로 처리한 경우)

[0046] bLPO, 소 락토퍼록시다제; CFU, 콜로니 형성 숫자

[0047] 실시예 4: HA 가 리소자임 및 퍼록시다제의 칸디다를 죽이는 활성에 미치는 영향(HA를 항균 효소와 함께 배양하고, 그 후 칸디다 세포로 처리한 경우)

[0048] 20 µl 의 HA 용액 (최종 농도 0.5, 1.0 및 2.0 mg/ml) 을 20 µl 의 HEWL (최종 농도 30 µg/ml) 또는 20 µl 의 퍼록시다제 (최종 농도 25 µg/ml bLPO, 1 mM KSCN 및 100 µM H₂O₂)에 첨가하고, 그 후 37°C 에서 1 h 동안 교반하며 배양하였다. 상기 혼합물을 20 µl 의 세포 현탁액에 첨가하고, 37°C 에서 1 h 동안 교반하며 배양하였다. 배양 마지막에 표본을 10 배 희석하고, 50 µl (167 세포) 의 희석된 세포를 SDA 판에 삼중으로 플레이트하고, 37°C 에서 하룻밤동안 배양하였다. 칸디다를 죽이는 활성 및 세포 생존력의 손실율을 계산하였

다. 상기 실험을 여덟 번 반복하였다.

[0049] HA 이 항균제와 먼저 배양된 경우, HA는 또한 리소자임 및 퍼록시다제 시스템의 칸디다를 죽이는 활성에 대해 비슷한 저해 효과를 나타내었다. 1.0 - 2.0 mg/ml 의 HA 에서 본 실험에 사용된 리소자임 및 퍼록시다제 시스템의 칸디다를 죽이는 활성을 무능력하게 만들었다 (표 3 및 4 참조).

표 3

[0050]

<i>C. albicans</i> 주	N = 8	대조군 (그룹 I)	HEWL (그룹 II)	HEWL + 0.5 mg/ml HA (그룹 III)	HEWL + 1.0 mg/ml HA (그룹 IV)	HEWL + 2.0 mg/ml HA (그룹 V)
ATCC 10231	CFU	160.9 ± 12.1	118.1 ± 16.5	152.4 ± 25.9	161.8 ± 19.4	165.9 ± 24.5
	% killing	-	26.6 ± 8.9	5.3 ± 14.2	-0.5 ± 8.9	-3.1 ± 13.1
ATCC 18804	CFU	143.0 ± 22.7	105.1 ± 26.9	136.2 ± 17.6	143.5 ± 29.4	142.2 ± 22.5
	% killing	-	26.9 ± 11.8	3.4 ± 14.6	-0.5 ± 12.4	0.2 ± 9.6
ATCC 11006	CFU	152.2 ± 20.7	118.3 ± 10.6	148.8 ± 18.9	153.7 ± 19.1	151.9 ± 29.1
	% killing	-	21.5 ± 8.9	1.5 ± 11.3	-1.7 ± 11.6	-0.9 ± 19.7

[0051] HA 가 리소자임의 칸디다를 죽이는 활성에 미치는 영향 (HA를 리소자임과 함께 배양하고, 그 후 칸디다 세포로 처리한 경우)

[0052] HEWL, 암탐 난백 리소자임; CFU, 콜로니 형성 숫자

표 4

[0053]

<i>C. albicans</i> 주	N = 8	대조군 (그룹 I)	bLPO 시스템 (그룹 II)	bLPO 시스템 + 0.5 mg/ml HA (그룹 III)	bLPO 시스템 + 1.0 mg/ml HA (그룹 IV)	bLPO 시스템 + 2.0 mg/ml HA (그룹 V)
ATCC 10231	CFU	155.6 ± 22.9	118.3 ± 19.6	133.0 ± 18.5	144.9 ± 24.7	160.4 ± 16.6
	% killing	-	23.2 ± 13.3	13.0 ± 17.6	6.1 ± 16.0	-4.2 ± 12.8
ATCC 18804	CFU	159.1 ± 5.7	112.6 ± 8.5	139.8 ± 15.2	146.6 ± 13.6	144.8 ± 11.2
	% killing	-	29.2 ± 5.0	12.1 ± 9.8	7.8 ± 8.6	8.9 ± 7.6
ATCC 11006	CFU	154.0 ± 13.6	101.3 ± 18.6	132.1 ± 20.5	134.5 ± 17.4	143.6 ± 12.9
	% killing	-	34.0 ± 11.9	14.1 ± 12.1	12.6 ± 8.4	6.4 ± 9.1

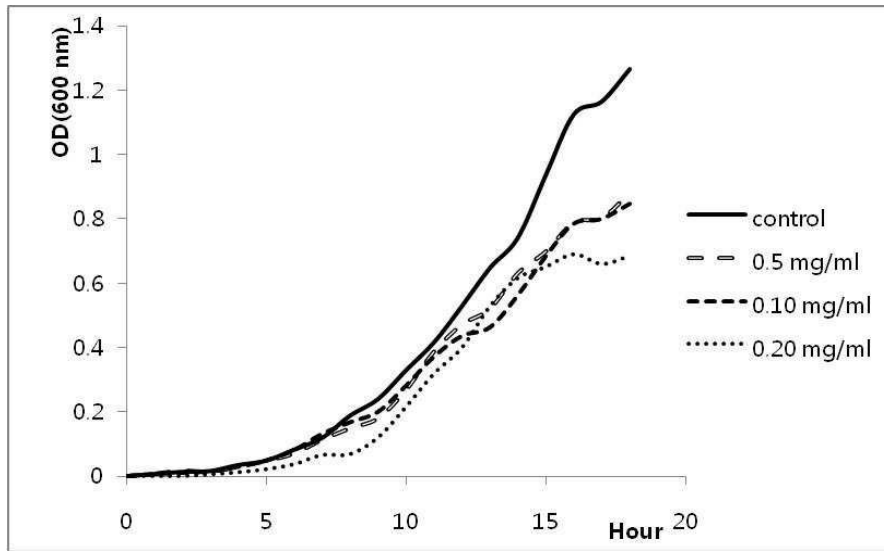
[0054] HA 가 퍼록시다제의 칸디다를 죽이는 활성에 미치는 영향 (HA를 퍼록시다제와 함께 배양하고, 그 후 칸디다 세포로 처리한 경우)

[0055] bLPO, 소 락토퍼록시다제; CFU, 콜로니 형성 숫자

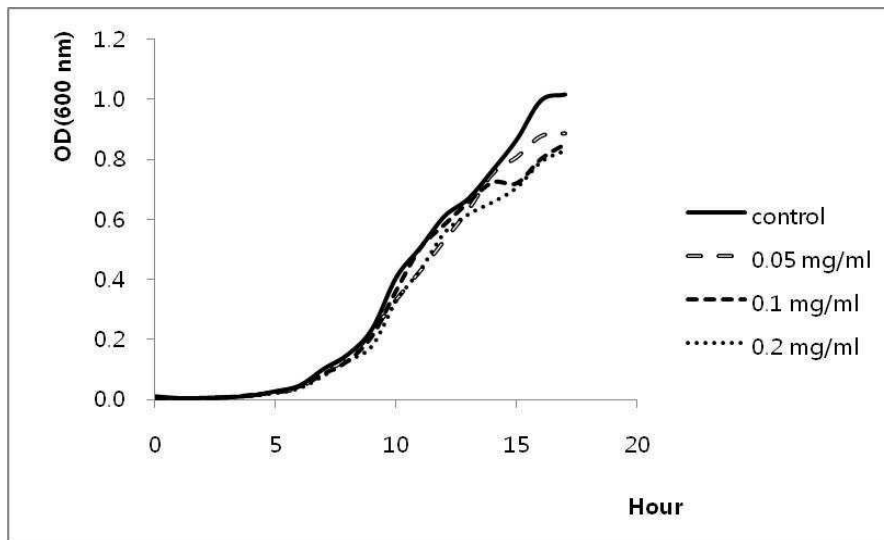
[0056] 히알루론산 0.5 mg/ml는 리소자임의 칸디다를 죽이는 활성을 79.8(+/-)17.7% 저해하고, 퍼록시다제의 칸디다를 죽이는 활성을 58.8(+/-)14.7% 저해하므로, 항진균 작용을 위하여 리소자임은 약 54.0 µg/ml (50-60 µg/ml), 퍼록시다제는 약 39.7 µg/ml (36-43 µg/ml) 농도로 첨가될 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

