(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0122453
(43) 공개일자 2019년10월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/704 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A23L 33/125 (2016.01) *A61P 11/00* (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/704 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0046262
(22) 출원일자 2018년04월20일
심사청구일자 2018년06월18일

(71) 출원인
(의료)길의료재단
인천광역시 남동구 남동대로774번길 21 (구월동)
(72) 발명자
김선태
경기도 성남시 분당구 서현동 삼성아파트 132동 1004호
정주현
서울특별시 송파구 방이동 62-5 반석빌딩 5층
김경아
서울특별시 금천구 시흥3동 941-11 지오빌B동 303호
(74) 대리인
손민

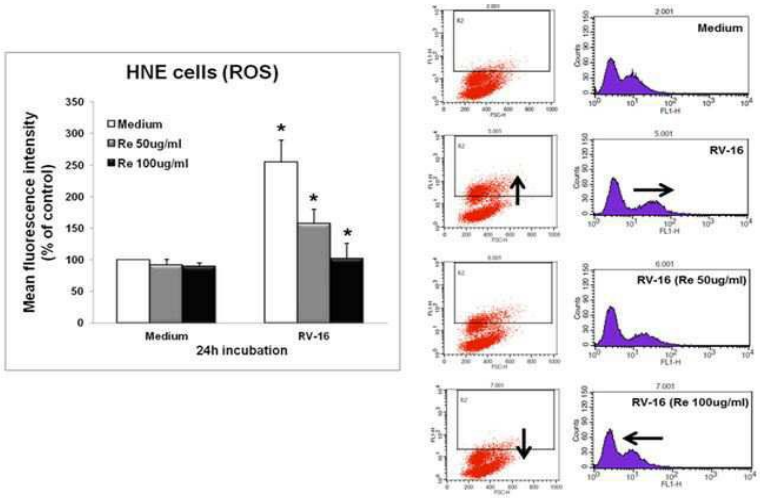
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **진세노사이드 Re를 함유하는 호흡기 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 진세노사이드 Re를 포함하는 호흡기 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 조성물은 라이노바이러스 감염에 의한 호흡기 질환의 증상들을 개선할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 호흡기 질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도9



(52) CPC특허분류
A23L 33/125 (2016.08)
A61P 11/00 (2018.01)
A61P 31/16 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/314 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

진세노사이드 Re를 유효성분으로 포함하는 라이노바이러스에 의해 유발되는 바이러스성 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 호흡기 질환은 감기, 인두염, 후두염을 포함하는 상기도 감염인 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 진세노사이드 Re는 라이노바이러스에 의해 증가된 NOX의 활성을 억제하고 밀착연접의 붕괴를 억제하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 라이노바이러스에 의해 유발되는 바이러스성 호흡기 질환의 예방 또는 치료방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 호흡기 질환은 감기, 인두염, 후두염을 포함하는 상기도 감염인 것인, 호흡기 질환의 예방 또는 치료방법.

청구항 6

진세노사이드 Re를 유효성분으로 포함하는 라이노바이러스에 의해 유발되는 바이러스성 호흡기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 호흡기 질환은 감기, 인두염, 후두염을 포함하는 상기도 감염인 것인, 호흡기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 8

진세노사이드 Re를 유효성분으로 포함하는 밀착연접 붕괴 억제용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 진세노사이드 Re의 호흡기 질환 예방 또는 치료용도에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 진세노사이드 Re를 포함하는 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물; 상기 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 호흡기 질환의 치료 방법; 건강기능식품; 및 밀착연접 붕괴 억제용 조성물에 관한 것이다. 구체적으로는 라이노바이러스 감염에 따른 호흡기 질환에 대한 진세노사이드 Re의 예방 및 치료 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 호흡기 질환은 기체 교환에 관여하는 기관과 조직 그리고 호흡 신경 및 근육에 영향을 주는 병리적 상태를 포함하는 것으로 알려져 있다. 호흡기 질환은 그 종류가 다양하나 그 중 가장 흔하게 발병하는 것은 일상적으로 감기라고 부르는 상기도 감염이다. 호흡기 중 비강, 인두, 후두개 및 후두 부분의 감염을 의미하는 상기도 감염은 그 원인의 80%이상이 바이러스에 의한 감염이며 아데노바이러스, 인플루엔자 바이러스 등에 의한 감염도 존재하나 바이러스에 의한 감염 중 가장 큰 부분을 차지하는 것은 라이노바이러스에 의한 감염으로 알려져 있다.

[0004] 라이노바이러스(Rhinovirus)는 피코르나바이러스(Phcormaviridae)과에 속하는 바이러스로 RNA바이러스이며, 형태는 폴리오바이러스와 유사하며, 부비강염, 중이염, 낭성 섬유종, 기관지염 등을 수반한다. 상술한 바와 같이 바이러스성 호흡기 감염의 가장 큰 원인이기 때문에 라이노바이러스에 대한 문제는 세계적으로 관심을 가지고 있으며, 미국에서도 라이노바이러스 특이적인 항바이러스제를 개발하기 위한 연구가 활발하게 진행중이다.

[0005] 계절의 변화가 뚜렷하여 환절기마다 감기 환자가 급증하는 한국 또한 상기도 감염에 대한 치료 방안이 시급한 상황이며, 이에 따라 많은 연구자들이 상기도 감염의 원인이 되는 라이노바이러스에 대해 연구하고 있으나, 현재 라이노바이러스에 따른 감염 기전은 명확하게 규명되지 않아 라이노바이러스 감염에 따른 치료제의 개발이 용이치 않으며, 화학적인 방법으로 제조된 약제나, 항바이러스제에서 수많은 종류의 바이러스에 대한 약제는 있으나, 부작용이 없으면서 동시에 라이노바이러스에 특이적인 치료제는 알려진 바가 없다.

[0007] 한편, 인삼 내에 포함된 사포닌이며, 인삼(Ginseng)의 배당체(Glycoside)라는 의미를 지닌 진세노사이드(Ginsenoside)는 아글리콘(aglycone)의 구조에 따라 프로토파낙사다이올계(Protopanaxadiol-type, PPD 타입) 진세노사이드, 프로토파낙사트라이올계(Protopanaxatriol-type, PPT 타입) 진세노사이드 및 올레아놀린산계(oleanolic acid 타입) 진세노사이드의 세 가지로 분류될 수 있으며, 현재 진세노사이드는 약 180여종 이상의 진세노사이드들이 분리되었다고 알려져 있다.

[0008] 그 중, 진세노사이드 Re는 담마란(dammarane)계 사포닌 중 프로토파낙사트라이올계(Protopanaxatriol-type, PPT 타입) 진세노사이드로 면역시스템 강화 효과(*Experimental parasitology* 135.2, 2013: 234-239), 심혈관계 보호 효과(*Cardiovascular therapeutics* 30.4, 2012), 항산화 효과(*European journal of pharmacology* 550.1, 2006: 173-179), 당뇨병 및 비만 치료 효과(*Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1740.3, 2005: 319-325)에 대해서 이미 보고된 바 있으나, 진세노사이드 Re의 라이노바이러스 감염 억제 관련 효과에 대해서는 알려진 바가 없다.

[0009] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 라이노바이러스에 따른 호흡기 질환의 치료를 위해 예의 연구 노력한 결과, 라이노바이러스의 감염기전을 규명하였으며, 진세노사이드 Re가 상기 감염기전을 억제하는 것을 확인함으로써 진세노사이드 Re를 통한 호흡기 질환 관련 증상 개선 효과를 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 하나의 목적은, 진세노사이드 Re를 유효성분으로 함유하는 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 하나의 목적은, 상기 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 호흡기 질환의 예방 또는 치료방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은, 진세노사이드 Re를 유효성분으로 함유하는 호흡기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은, 진세노사이드 Re를 유효성분으로 함유하는 밀착연접(tight junction) 붕괴 억제용 조성물을 제공하는 것이다.

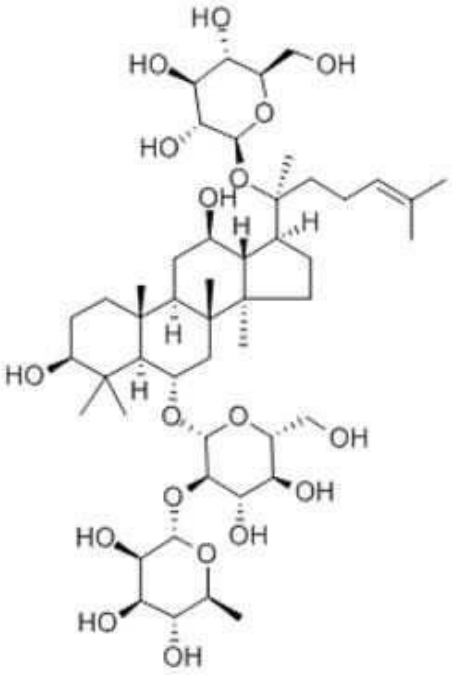
과제의 해결 수단

[0016] 상기의 과제를 해결하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 진세노사이드 Re를 유효성분으로 함유하는 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0017] 이하, 본 발명에서의 진세노사이드 Re를 함유하는 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 구체적으로 설명한다.

[0019] 본 발명에서의 용어, "진세노사이드 Re"는 담마란(dammarane)계 사포닌 중 프로토파낙사트라이올계(Protopanaxatriol-type, PPT 타입) 진세노사이드로, 하기 화학식 1에서 볼 수 있는 바와 같이, PPT 타입의 기본 탄소 골격에서, 6번 탄소에 글루코스와 람노스(Glc-Rha)가 결합되어 있고 20번 탄소에 한 개의 글루코스가 결합되어 있는 형태의 진세노사이드이다.

[0021] [화학식 1]



[0022]

[0024] 상기 진세노사이드는 인삼에 있는 사포닌을 의미한다. 인삼 사포닌은 다른 식물에서 발견되는 사포닌과는 다른 특이한 화학구조인 트리테르펜사포닌(triterpene saponin)을 가지고 있으며, 약리효능도 특이하여 인삼(Ginseng) 배당체(Glycoside)란 의미로 진세노사이드라 불린다.

[0025] 본 발명에서의 용어, “호흡기 질환”은 기체 교환에 관여하는 기관과 조직 그리고 호흡 신경 및 근육에 영향을 주는 병리적 상태를 포함하는 것으로, 이에 한정된 것은 아니나, 구체적으로는 상기도 감염일 수 있고, 보다 구체적으로는 감기, 인두염, 후두염일 수 있다.

[0026] 상기 상기도 감염은 바이러스가 호흡기 중 비강, 인두, 후두개 및 후두 부분을 포함한 상기도 점막에 감염되어 발생하는 염증성 질환을 통칭하는 용어이며 급격한 기온 변화, 감기, 열성질환, 과로 및 허약 체질 등의 원인으로 인해 바이러스를 통해 감염될 수 있고, 여기에서는 구체적으로 라이노바이러스에 의해 유발되는 바이러스성 감염이 주요 감염원일 수 있다.

[0027] 본 발명에서의 용어, “라이노바이러스”는 피코르나바이러스과 라이노바이러스속에 포함된 바이러스를 의미하며, 현재 1(A, B), 2~113까지 100여종의 항원형이 알려져 있다. 감기 바이러스로 잘 알려져 있으며 겨울과 봄에 걸리기 쉽고 2 내지 5일의 잠복기를 가지며 일주일 정도 감기 증상이 지속된다. 치유 후에도 면역의 지속이 짧아 재감염을 일으키기 쉽다는 특징이 있다. 상기 라이노바이러스는, 이에 한정된 것은 아니나, 라이노바이러스 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20일 수 있으며, 보다 구체적으로 라이노바이러스 16일 수 있다.

[0028] 본 발명자들은 상기 라이노바이러스 감염에 의한 호흡기 질환을 치료하기 위해 연구 노력한 결과, 라이노바이러스의 감염 기전을 확인하였으며, 진세노사이드 Re가 상기 감염 기전을 억제하는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0029] 본 발명에서는 라이노바이러스 감염 기전을 확인하기 위해 비점막 상피세포에 라이노바이러스를 감염시킨 후, 밀착연접(tight junction) 단백질 수준과 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성량을 확인하고 NADPH 산화효소(NADPH oxidase, NOX) 억제제를 사용하여 그 변화를 확인하였다.

[0030] 본 발명에서의 용어, “밀착연접(tight junction)”은 주로 상피세포와 내피세포에서 나타나는 세포간 연접장치의 일종으로 격벽 기능을 하여 상피세포 또는 내피세포의 시트를 구성하는 세포 사이를 물질이 누출하는 것을 방지할 수 있고, 울타리 기능을 하여 세포막의 지질에서 끈모양 울타리를 둘러 세포막을 구획하는 기능이며 상피세포나 내피세포의 극성을 유지하는 에 도움을 줄 수 있다.

[0031] 본 발명에서의 용어, “NADPH 산화효소(NADPH oxidase, NOX)”는 막-결합 효소 복합체(membrane-bound enzyme complex)로서 식세포의 세포막 등에 존재하여 초산화물(superoxide)을 생산하고 세균이나 곰팡이 등과 같은 미생물의 분해를 돕는 역할을 한다. NOX에 의해 생성된 초산화물은 과산화수소를 형성하고, 더 나아가 활성산소종을 형성할 수 있다.

[0032] 본 발명에서의 용어, “활성산소종(reactive oxygen species, ROS)”은 보통으로 존재하는 기저상태의 삼중항산소($^3O_2$)보다 반응성이 크고 활성이 풍부한 산소종을 의미한다. 일반적으로 삼중항산소의 단계적 환원으로부터 생성되는 슈퍼옥시드(O^{2-}), 과산화수소(H_2O_2), 히드록시라디칼(OH) 그리고 일중항산소($^1O_2$)를 활성산소종으로 정의하나, 알콕시라디칼(RO·). 퍼옥시라디칼(ROO·) 또는 오존(O_3), 이산화질소(NO_2) 등의 반응성이 높은 산소화합물도 활성산소종에 포함될 수 있다. 활성산소종은 산화력이 강해 주변의 세포막 또는 DNA에 산화작용을 일으키며, 이 과정에서 세포 구조가 손상당할 수 있고, 더 나아가 세포가 기능을 잃거나 변질될 수 있다.

[0033] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 비점막 상피세포에 라이노바이러스를 감염시키고 밀착연접 단백질 수준 및 ROS 생성량을 확인한 결과, 정상군과 비교하여 라이노바이러스 감염군은 밀착연접 단백질이 감소하고 ROS 생성량이 증가하는 것을 확인하였다 (도 1 및 2).

[0034] 또한, 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, ROS를 억제할 수 있는 NOX 억제제인 DPI를 전처리한 비점막 상피세포에 라이노바이러스를 감염시키고 ROS 생성량 및 밀착연접 단백질 수준을 확인한 결과, DPI 비처리 대조군은 밀착연접 단백질 수준이 감소하고 ROS 생성량이 증가한 반면, NOX 억제제 처리군은 단백질 수준이 증가하고 ROS 생성량이 감소한 것을 확인하였다 (도 3 및 4).

[0035] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 진세노사이드 Re를 전처리한 비점막 상피세포에 라이노바이러스를 감염시키고 배양한 후 밀착연접 단백질 수준을 측정한 결과, 진세노사이드 Re를 처리하지 않은 라이노바이러스 감염 대조군에서는 밀착연접 단백질 수준이 감소한 반면, 진세노사이드 Re 처리군에서는 밀착연접 단백질 수준이 증가한 것을 확인하였다 (도 8).

[0036] 본 발명의 일 실시예에서는, 진세노사이드 Re를 전처리한 비점막 상피세포에 라이노바이러스를 감염시키고 배양한 후 ROS의 생성량을 측정한 결과, 진세노사이드 Re를 처리하지 않은 라이노바이러스 감염 대조군에서는 ROS의 생성량이 증가한 반면, 진세노사이드 Re 처리군에서는 ROS의 생성량이 감소한 것을 확인하였다 (도 9).

[0037] 반면, 진세노사이드 Rc 및 Rb1을 전처리한 비점막 상피세포에 라이노바이러스를 감염시키고 배양한 후 밀착연접 단백질 수준 및 ROS 생성량을 측정한 결과, 진세노사이드 Rc 및 Rb1을 처리하지 않은 라이노바이러스 감염 대조군에서 감소한 밀착연접 단백질 수준 및 증가한 ROS 생성량이 진세노사이드 Rc 및 Rb1 처리군에서도 그 차이를 나타내지 않는 것을 확인하였다 (도 11 및 12).

[0038] 이러한 결과는 진세노사이드 Re의 라이노바이러스 감염 억제 효과를 나타내며, 모든 진세노사이드가 라이노바이러스 감염 억제 효과를 나타내지 않음을 의미하는 것이다.

[0040] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"이란, 본 발명에 따른 진세노사이드 Re을 개체에 투여하여 호흡기 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.

[0041] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"란, 본 발명의 상기 조성물을 호흡기 질환 발병 의심 개체에 투여하여 호흡기 질환의 증세가 호전되도록 하거나 이롭게 되도록 하는 모든 행위를 의미할 수 있다.

[0042] 본 발명의 약학 조성물은 단일제제로도 사용할 수 있고, 공인된 호흡기 질환 치료 효과를 가진다고 알려진 약물을 추가로 포함하여 복합제제로 제조하여 사용할 수 있으며, 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.

[0043] 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 허용 가능한 담체"란 생물체를 자극하지 않으면서, 주입되는 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 의미할 수 있다. 본 발명에 사용 가능한 상기 담체의 종류는 특별히 제한되지 아니하며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되고 약학적으로 허용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 상기 담체의 비제한적인 예로는, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사 용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다. 상기 담체는 비자연적 담체 (non-naturally occuring carrier)를 포함할 수 있다.

[0044] 또한, 필요한 경우 항산화제, 완충액 및/또는 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가하여 사용할 수 있으며, 희석제, 분산제, 계면 활성제, 결합제, 윤활제 등을 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제 등으로 제제화하여 사용할 수 있다.

[0045] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양의 진세노사이드 Re를 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 일반적으로 0.001 내지 1000 mg/kg의 양, 바람직하게는 0.05 내지 200 mg/kg, 보다 바람직하게는 0.1 내지 100 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

[0046] 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여할 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용을 유발하지 않으면서 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0047] 본 발명에서의 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.

[0048] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여 방식은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방식에 따를 수 있다. 상기 투여 방식의 비제한적인 예로, 조성물을 경구 투여 또는 비경구 투여 방식으로 투여할 수 있다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 목적하는 투여 방식에 따라 다양한 제형으로 제작될 수 있다.

[0049] 본 발명의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다.

[0050] 본 발명에서의 용어, '약학적으로 허용가능한 염'이란 투여되는 진세노사이드 Re의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는 제형을 의미한다. 상기 약학적으로 허용가능한 염은, 약학적으로 허용되는 음이온을 함유하는 무독성 산부가염을 형성하는 산, 예를 들어, 염산, 황산, 질산, 인산, 브롬화수소산, 요드화수소산 등과 같은 무기산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플로로아세트산, 글루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리신산 등과 같은 유기 카본산, 메탄설폰산, 에탄술폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 등과 같은 설폰산 등에 의해 형성된 산부가염이 포함된다. 예를 들어, 약학적으로 허용되는 카르복실산 염에는, 리튬, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등에 의해 형성된 금속염 또는 알칼리 토금속 염, 라이신, 아르지닌, 구아니딘 등의 아미노산 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸)메틸아민, 디에탄올아민, 콜린 및 트리에틸아민 등과 같은 유기염 등이 포함된다.

[0052] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 진세노사이드 Re를 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 호흡기 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0053] 본 발명에서의 용어, “진세노사이드 Re”, “호흡기 질환”은 상기에서 설명한 바와 같다.

[0054] 본 발명에서의 용어, "개체"란, 호흡기 질환이 발병되었거나 발병할 가능성이 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미할 수 있다. 상기 동물은 인간뿐만 아니라 이와 유사한 증상의 치료를 필요로 하는 소, 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양, 개, 고양이 등의 포유동물일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0055] 본 발명의 상기 예방 또는 치료 방법은 구체적으로, 호흡기 질환이 발병하였거나 발병할 위험이 있는 개체에 상기 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0056] 본 발명에서의 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.

[0058] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 진세노사이드 Re를 유효성분으로 함유하는 호흡기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0059] 본 발명에서의 용어, “진세노사이드 Re”, “호흡기 질환”은 상기에서 설명한 바와 같다.

[0060] 상기 진세노사이드 Re는 천연 물질로서 오랫동안 사용되어 안정성이 입증되었으므로, 상식할 수 있으면서도 호흡기 질환의 예방 또는 개선을 도모할 수 있는 식품의 형태로 제조되어 섭취할 수 있다.

[0061] 건강기능식품(functional food)이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)와 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미하는데, 상기 식품은 호흡기 질환의 예방 또는 개선에 유용한 효과를 얻기 위하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다.

[0062] 본 발명의 식품 조성물은 식품학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0063] 본 발명의 진세노사이드 Re를 포함하는 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 종류에는 별다른 제한이 없으며, 예를 들어 각종 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있다. 상기 식품 조성물에는 호흡기 질환의 예방 또는 개선 효과에 방해가 되지 않는 다른 성분을 추가할 수 있으며, 그 종류는 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 통상의 식품과 같이 여러 가지 생약 추출물, 식품학적으로 허용가능한 식품보조첨가제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0064] 상기 식품보조첨가제는 각 제형의 건강기능식품을 제조하는데 첨가되는 것으로서 당업자가 적절히 선택하여 사용할 수 있다. 예를 들어 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등이 포함되지만, 상기 예들에 의해 그 종류가 제한되는 것은 아니다.

[0065] 이때, 상기 식품에 포함되는 추출물의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 식품 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%, 보다 바람직하게는 1 내지 80 중량%로 포함될 수 있다.

[0066] 식품이 음료인 경우에는 100㎖를 기준으로 1 내지 30g, 바람직하게는 3 내지 20g의 비율로 포함될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨류엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용된다.

[0067] 본 발명의 건강기능성 식품은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조 시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어날 수 있다.

[0069] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 진세노사이드 Re를 유효성분으로 함유하는 밀착연접 붕괴 억제용 조성물을 제공한다.

[0070] 본 발명에서의 용어, “진세노사이드 Re”, “밀착연접”은 상기에서 설명한 바와 같다.

[0071] 본 발명에서의 용어, “붕괴 억제”는 단백질의 결합을 유지하여 분해를 억제하는 것을 의미할 수 있다.

[0072] 본 발명의 일 실시예에서는, 진세노사이드 Re를 전처리한 비점막 상피세포에 라이노바이러스를 감염시키고 밀착연접 단백질 수준을 측정한 결과, 대조군과 비교하여 밀착연접 단백질이 증가한 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명은 진세노사이드 Re를 밀착연접 붕괴 억제용 조성물로 사용가능한 것을 시사할 수 있다.

발명의 효과

[0074] 본 발명에 따른 조성물은 라이노바이러스 감염에 의한 호흡기 질환의 증상들을 개선할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 호흡기 질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0076] 도 1은 비점막 상피세포에 라이노바이러스 감염 후 밀착연접 붕괴를 확인하기 위한 밀착연접 관련 단백질 측정 그래프이다; A. Occludion, B. ZO-1, C. Claudin, D. E-cadherin; RV 24~72h: 라이노바이러스 감염 후 배양 24~72시간.

도 2는 비점막 상피세포에 라이노바이러스 감염 후 ROS의 생성량을 확인하는 그래프이다; MEDIUM: 정상군, RV-16: 라이노바이러스 감염군.

도 3은 NOX 활성 억제제(DPI) 처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 ROS 생산량을 측정한 그래프이다; A. DPI 처리 후 ROS 생성량, B. 로테논 처리 후 ROS 생성량, C. DPI 처리 후 현미경을 이용한 ROS 생산량, MEDIUM: 정상군, RV-16: 라이노바이러스 감염군, DPI 25~50㎛M: DPI 25~50㎛M 처리군, Rotenone 15~30㎛M: 로테논 15~30㎛M 처리군.

도 4는 DPI 처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 밀착연접 단백질 수준을 측정한 그래프이다; A. ZO-1, B. E-cadherin, C. Occludin. D. Claudin; MEDIUM: 정상군, DPI 25~50㎛M: DPI 25~50㎛M 처리군, RV 72h: 라이노바이러스 감염 후 72시간 배양.

도 5는 라이노바이러스 감염에 따른 인산 가수분해 효소 활성 및 인산화 타이로신 단백질 수준을 확인한 그래프이다; A. 인산 가수분해 효소 활성 그래프, B. 인산화 타이로신 단백질 측정 그래프; Medium: 정상군, RV16(48h): 라이노바이러스 감염 후 48시간 배양, RV 24~72h: 라이노바이러스 감염 후 24~72시간 배양, p-tyrosine: 인산화 타이로신.

도 6은 DPI 전처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 인산 가수분해 효소 활성 및 인산화 타이로신 단백질 수준을 나타낸 그래프이다; A. 인산 가수분해 효소 활성 그래프, B. 인산화 타이로신 단백질 측정 그래프; Medium: 정상군, DPI 25~50㎛M: DPI 25~50㎛M 처리군.

도 7은 인산 가수분해 효소 억제제(PAO) 전처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 인산 가수분해 효소 활성 및 밀착연접 단백질 수준을 나타낸 그래프이다; A. 인산 가수분해 효소 활성 그래프, B. 밀착연접 단백질 측정 그래프; PAO 1~500nM: PAO 1~500nM 처리군.

도 8은 진세노사이드 Re 전처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 밀착연접 단백질 수준을 나타낸 그래프이다; Re (50~100㎛g/ml): 진세노사이드 Re 50~100㎛g/ml 처리군.

도 9는 진세노사이드 Re 전처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 ROS 생성량을 나타낸 그래프이다.

도 10은 진세노사이드 Re 전처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 인산 가수분해 효소 활성 및 인산화 타이로신 단백질 수준을 나타낸 그래프이다.

도 11은 진세노사이드 Rc 및 Rb1 각각 전처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 밀착연접 단백질 수준을 나타낸 그래프이다; Rc (50~100㎛g/ml): 진세노사이드 Rc 50~100㎛g/ml 처리군, Rb1 (50~100㎛g/ml): 진세노사이드 Rb1 50~100㎛g/ml 처리군.

도 12는 진세노사이드 Rc 및 Rb1 각각 전처리 후 라이노바이러스 감염에 따른 ROS 생성량을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0079] **실시예 1. 비점막 상피세포 및 라이노바이러스의 준비**

[0080] 비점막 상피세포에서 라이노바이러스 감염에 따른 변화를 확인하기 위해 비점막 상피세포 및 라이노바이러스를 준비하였다. 비점막 상피세포의 경우, 하비갑개 수술을 시행하는 만성 비후성 비염환자로부터 하비갑개(turbinate) 조직과 비용종 (nasal polyp) 조직을 얻은 뒤, 1% 프로나아제 (pronase)를 이용하여 비점막 상피세포를 분리하였다. 라이노바이러스의 경우, 헬라 세포 (HeLa cell)를 라이노바이러스 16 (RV-16)으로 감염시키고 세포병변효과 (CPE)가 형성될 때까지 33℃에서 7 내지 10일 동안 두고 바이러스 역가를 높이기 위해 농축하였다. 농축 후 50%의 헬라 세포를 감염시키기 위해 필요한 시료의 양 (50% tissue culture infection dose, $TCID_{50}$)을 측정하였고 바이러스 역가는 Karber 공식을 이용하여 $TCID_{50}$/ml로 나타내었다.

[0082] **실험예 1. 라이노바이러스 감염에 따른 변화 확인**

[0083] **1-1. 라이노바이러스 감염에 의한 밀착연접 단백질 변화 확인**

[0084] 라이노바이러스 감염에 의한 밀착연접 단백질의 변화를 확인하기 위해 라이노바이러스에 감염시킨 후 37℃, 5% CO_2 조건에서 24 내지 72시간 동안 배양한 비점막 상피세포의 밀착연접 단백질을 추출하여 웨스턴 블롯을 수행하였다.

[0085] 그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 라이노바이러스에 감염 후 시간이 경과함에 따라 밀착연접 단백질이 감소하는 것을 확인하였다. 이로부터, 라이노바이러스는 밀착연접 단백질을 해리시켜 밀착연접 붕괴를 일으키는 것을 확인할 수 있었다.

[0087] **1-2. 라이노바이러스 감염에 의한 활성산소종(ROS) 생산량 측정**

[0088] 라이노바이러스 감염에 의한 ROS 생성량 증가를 확인하기 위해, BEGM 배지에 배양된 비점막 상피세포를 라이노바이러스에 감염시키고 37℃, 5% CO_2 조건에서 24시간 배양한 후 DCFDA 염료를 사용하여 유동세포계수법 및 현미경을 통해 ROS 생산량을 확인하였다.

[0089] 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 24시간 배양 후 세포 내 ROS가 증가하여 라이노바이러스 감염이 ROS의 생산량을 증가시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0091] **실험예 2. 라이노바이러스 감염이 NADPH 산화효소(NADPH oxidase, NOX)에 미치는 영향 확인**

[0092] **2-1. DPI 처리 후 ROS 생산량 변화 측정**

[0093] NOX 억제제를 전처리한 후, 라이노바이러스 감염에 의한 ROS 생산이 억제될 수 잇는지 확인하기 위해, NOX 활성 억제제(DPI) 및 미토콘드리아 전자 전송 억제제인 로테논(rotenone)을 각각 비점막 상피세포에 전처리한 후 라이노바이러스를 감염시켜 37℃, 5% CO_2 조건에서 24시간 배양한 후 저해제에 따른 ROS 생성에 대한 차이를 확인하였다.

[0094] 그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, 저해제를 사용한 경우, 로테논 처리군은 바이러스 감염군과 차이가 없었으나, DPI 처리군은 라이노바이러스에 의해 증가한 ROS가 감소한 것을 확인하여 NOX의 활성이 ROS의 생성과 연관되어 있음을 확인하였다.

[0096] **2-2. NOX 억제제 처리 후 밀착연접 단백질 변화 측정**

[0097] NOX의 억제제를 전처리한 후, 라이노바이러스에 의한 밀착연접 단백질의 감소를 억제할 수 있는지 확인하기 위해, 각각 농도별로 DPI를 전처리한 비점막 상피세포를 RV-16에 감염시킨 후 37℃, 5% CO_2 조건에서 72시간 동안 배양한 뒤 밀착연접 단백질을 추출하여 웨스턴 블롯을 수행하였다.

[0098] 그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, 라이노바이러스 감염시 감소되었던 밀착연접 단백질이 DPI 처리 후 증가하는 것을 확인하여 밀착연접의 붕괴는 NOX의 활성과 연관되어 있음을 확인하였다.

[0100] **실험예 3. 라이노바이러스 감염이 인산 가수분해효소 및 인산화 타이로신 단백질에 미치는 영향 확인**

[0101] **3-1. 라이노바이러스 감염에 의한 인산 가수분해효소 활성 및 인산화 타이로신 단백질 수준 측정**

[0102] 라이노바이러스 감염에 의한 인산 가수분해효소의 활성 및 인산화 타이로신의 단백질 수준을 측정하기 위해, BEGM 배지에 배양된 비점막 상피세포를 라이노바이러스에 감염시키고 37℃, 5% CO_2 조건에서 24 내지 72시간 동안 배양 후 인산 가수분해효소 활성 키트를 이용하여 인산 가수분해효소의 활성을 측정하였으며, 웨스턴 블롯을 이용하여 인산화 타이로신 단백질 수준을 측정하였다.

[0103] 그 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이, 라이노바이러스 감염시 인산 가수분해효소의 활성이 감소한 반면, 인산화 타이로신 단백질은 증가한 것을 확인하였다.

[0105] **3-2. NOX 억제제 처리 후 인산 가수분해효소 활성 및 인산화 타이로신 단백질 수준 측정**

[0106] NOX 억제제를 전처리한 후, 라이노바이러스 감염에 의해 변화한 인산 가수분해 활성 및 인산화 타이로신 단백질 수치에 영향을 주는지 확인하기 위해, 각각 농도별로 DPI를 전처리한 비점막 상피세포를 라이노바이러스에 감염시킨 후 37℃, 5% CO_2 조건에서 72시간 동안 배양한 뒤 인산 가수분해효소 활성 키트를 이용하여 인산 가수분해효소의 활성을 측정하였으며, 웨스턴 블롯을 이용하여 인산화 타이로신 단백질 수준을 측정하였다.

[0107] 그 결과, 도 6에 나타낸 바와 같이, NOX 억제제 처리군은 라이노바이러스 감염에 의해 감소하였던 인산 가수분해효소 활성은 증가하였고, 증가하였던 인산화 타이로신 단백질은 감소한 것을 확인하여 라이노바이러스 감염에 따른 인산 가수분해 효소 및 인산화 타이로신에 미치는 영향이 NOX 활성과 연관이 있음을 확인하였다.

[0109] **3-3. 인산 가수분해효소 억제제 처리 후 인산 가수분해 효소 활성 및 밀착연접 단백질 변화 측정**

[0110] 인산 가수분해효소가 라이노바이러스 감염과 밀착연접 사이에 영향을 주는지 확인하기 위해, BEGM 배지에 배양된 비점막 상피세포에 인산 가수분해효소 저해제를 각 농도별로 전처리한 후, 라이노바이러스에 감염시키고 37℃, 5% CO_2 조건에서 48시간 동안 배양한 후, 인산 가수분해효소의 활성을 측정하고 밀착연접 단백질의 수준을 측정하였다.

[0111] 그 결과, 도 7에 나타낸 바와 같이, 인산 가수분해 효소의 활성은 감소하였으며, 밀착연접 단백질 수준도 감소한 것을 확인하여 라이노바이러스 감염에 따른 밀착연접 붕괴에 인산 가수분해 효소의 활성 또한 연관되어 있음을 확인하였다.

[0113] 실험예 1 내지 3의 내용을 종합하면, 라이노바이러스 감염은 NOX의 활성을 유도하고 이는 ROS의 생성량을 증가시켜 인산 가수분해 효소의 활성을 감소시키며 인산화 타이로신 단백질을 증가시켜 최종적으로 밀착연접의 붕괴를 일으키는 것을 유추할 수 있었다.

[0115] **실험예 4. 진세노사이드 Re에 따른 라이노바이러스 감염 증상 억제 효과 확인**

[0116] **4-1. 진세노사이드 Re 처리 후 밀착연접 단백질 변화 확인**

[0117] 진세노사이드 Re를 전처리한 후, 라이노바이러스에 의한 밀착연접 단백질의 감소를 억제할 수 있는지 확인하기 위해, 각각 농도별로 진세노사이드 Re를 전처리한 비점막 상피세포를 라이노바이러스에 감염시킨 후 37℃, 5% CO_2 조건에서 72시간 동안 배양한 뒤 밀착연접 단백질을 추출하여 웨스턴 블롯을 수행하였다.

[0118] 그 결과, 도 8에 나타낸 바와 같이, 진세노사이드 Re 처리군은 라이노바이러스 감염시 감소되었던 밀착연접 단백질이 증가한 것을 확인하여 진세노사이드 Re가 라이노바이러스에 의한 밀착연접 붕괴를 억제한다는 것을 확인하였다.

[0120] **4-2. 진세노사이드 Re 처리 후 ROS 생성량 변화 확인**

[0121] 진세노사이드 Re를 전처리한 후, 라이노바이러스 감염에 의한 ROS 생산이 억제될 수 있는지 확인하기 위해, 진세노사이드 Re를 비점막 상피세포에 전처리한 후 라이노바이러스를 감염시켜 37℃, 5% CO_2 조건에서 24시간 동안 배양 후 ROS 생성량을 확인하였다.

[0122] 그 결과, 도 9에 나타낸 바와 같이, 라이노바이러스 감염에 의해 증가했던 ROS가 진세노사이드 Re 처리군에서는 감소하는 것을 확인하여 진세노사이드 Re가 라이노바이러스에 의한 ROS 생성량 증가를 억제한다는 것을 확인하였다.

[0124] **4-3. 진세노사이드 Re 처리 후 인산 가수분해효소 활성 및 인산화 타이로신 단백질 변화 확인**

[0125] 진세노사이드 Re를 전처리한 후, 라이노바이러스 감염에 의해 변화한 인산 가수분해 활성 및 인산화 타이로신 단백질 수치에 영향을 주는지 확인하기 위해, 각각 농도별로 진세노사이드Re를 전처리한 비점막 상피세포를 라이노바이러스에 감염시킨 후 37℃, 5% CO_2 조건에서 48 내지 72시간 동안 배양한 뒤 인산 가수분해효소 활성 키트를 이용하여 인산 가수분해효소의 활성을 측정하였으며, 웨스턴 블롯을 이용하여 인산화 타이로신 단백질 수준을 측정하였다.

[0126] 그 결과, 도 10에 나타낸 바와 같이, 진세노사이드 Re 처리군은 라이노바이러스 감염에 의해 감소하였던 인산 가수분해효소 활성은 증가하였고, 증가하였던 인산화 타이로신 단백질은 감소한 것을 확인하여 라이노바이러스에 의한 변화를 억제한 것을 확인하였다.

[0128] 실험예 4의 내용을 종합하면, 진세노사이드 Re의 처리로 인해, 라이노바이러스 감염 증상으로 나타났던 ROS 생성량 증가, 인산 가수분해 효소 활성 감소, 인산화 타이로신 단백질 증가 및 밀착연접 단백질 감소에 대해 개선 효과를 나타내어 진세노사이드 Re가 라이노바이러스 감염 증상 억제 효과를 갖는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 내용은 진세노사이드 Re가 라이노바이러스 감염에 의해 유발되는 호흡기 질환에 대한 예방 또는 치료효과를 가지는 것을 시사한다.

[0130] **비교예 1. 다른 진세노사이드의 라이노바이러스 감염 증상 억제 효과 확인**

[0131] **1-1. 진세노사이드 Rc 및 Rb1 처리 후 밀착연접 단백질 변화 확인**

[0132] 진세노사이드 Rc 및 Rb1를 전처리한 후, 라이노바이러스 감염에 의한 밀착연접 단백질 변화를 확인하기 위해, 각 농도별로 진세노사이드 Rc 및 Rb1을 전처리한 비점막 상피세포를 라이노바이러스에 감염시킨 후 37℃, 5% CO_2 조건에서 72시간 동안 배양한 뒤 밀착연접 단백질을 추출하여 웨스턴 블롯을 수행하였다.

[0133] 그 결과, 도 11에 나타낸 바와 같이, 진세노사이드 Rc 및 Rb1의 처리군은 라이노바이러스 감염에 의해 감소되었던 밀착연접 단백질의 변화가 없는 것을 확인하였다.

[0135] **1-2. 진세노사이드 Rc 및 Rb1 처리 후 ROS 생성량 변화 확인**

[0136] 진세노사이드 Rc 및 Rb1을 전처리한 후, 라이노바이러스 감염에 의한 ROS 생산이 억제될 수 잇는지 확인하기 위해, 진세노사이드 Re를 비점막 상피세포에 전처리한 후 라이노바이러스를 감염시켜 37℃, 5% CO_2 조건에서 24시간 동안 배양 후 ROS 생성량을 확인하였다.

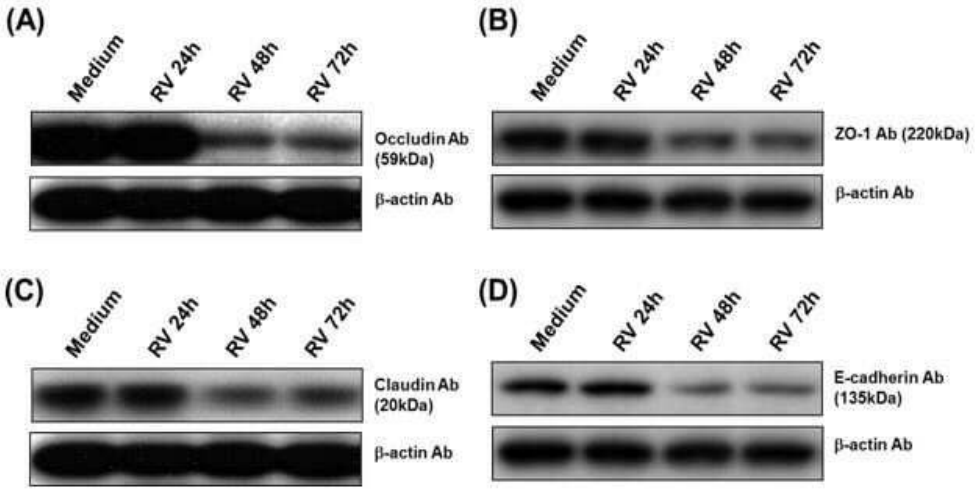
[0137] 그 결과, 도 12에 나타낸 바와 같이, 진세노사이드 Rc 및 Rb1의 처리군은 라이노바이러스 감염에 의해 증가되었던 ROS 생성량의 변화가 없는 것을 확인하였다.

[0139] 이를 종합하면, 진세노사이드 Re는 라이노바이러스 감염 증상 억제 효과를 가져 감기, 인두염, 후두염과 같은 라이노바이러스에 의해 유발되는 호흡기 질환에 대한 예방 또는 치료효과를 가지는 반면, 진세노사이드 Rc 및 Rb1은 영향을 주지 않는 것으로 확인되어 진세노사이드 중에서도 진세노사이드 Re가 특이적으로 라이노바이러스에 의해 유발되는 호흡기 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 사용가능한 것을 확인할 수 있었다.

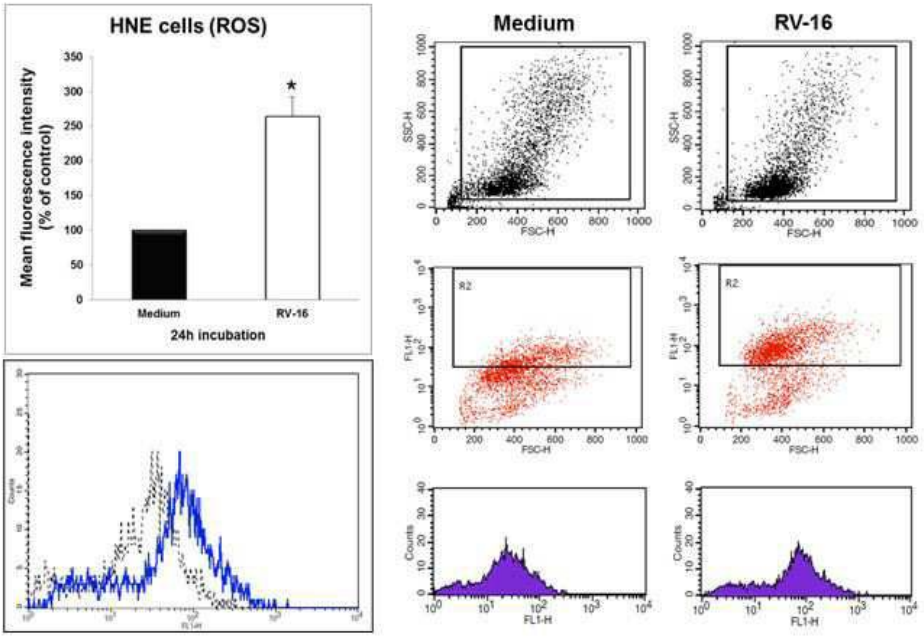
[0141] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

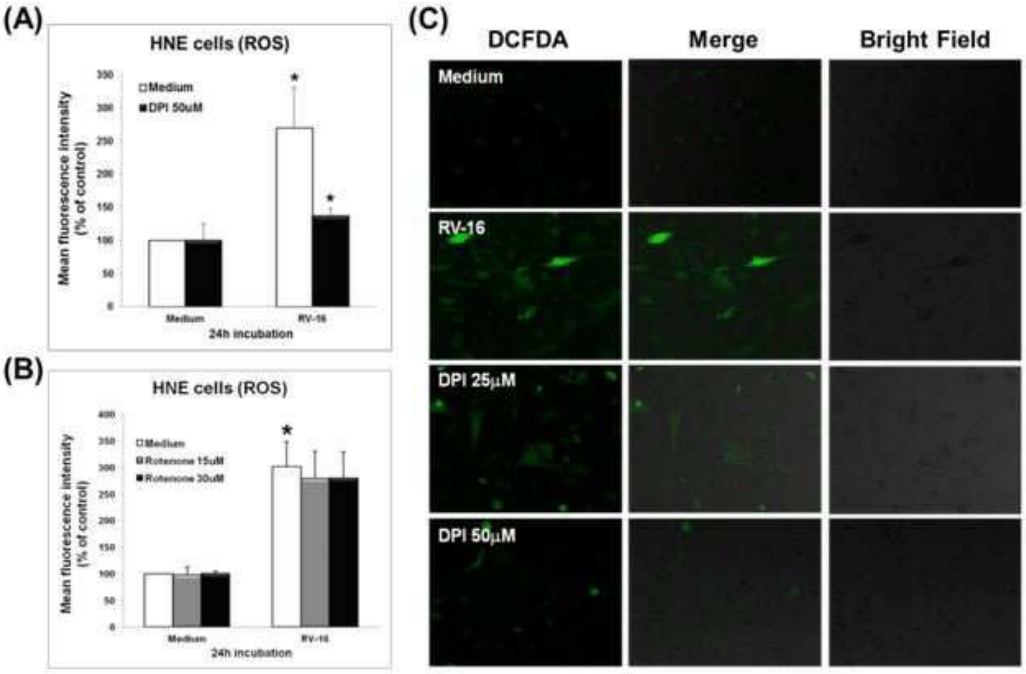
도면1


(A)
Medium
RV 24h
RV 48h
RV 72h
Occludin Ab (59kDa)
β-actin Ab
(B)
Medium
RV 24h
RV 48h
RV 72h
ZO-1 Ab (220kDa)
β-actin Ab
(C)
Medium
RV 24h
RV 48h
RV 72h
Claudin Ab (20kDa)
β-actin Ab
(D)
Medium
RV 24h
RV 48h
RV 72h
E-cadherin Ab (135kDa)
β-actin Ab

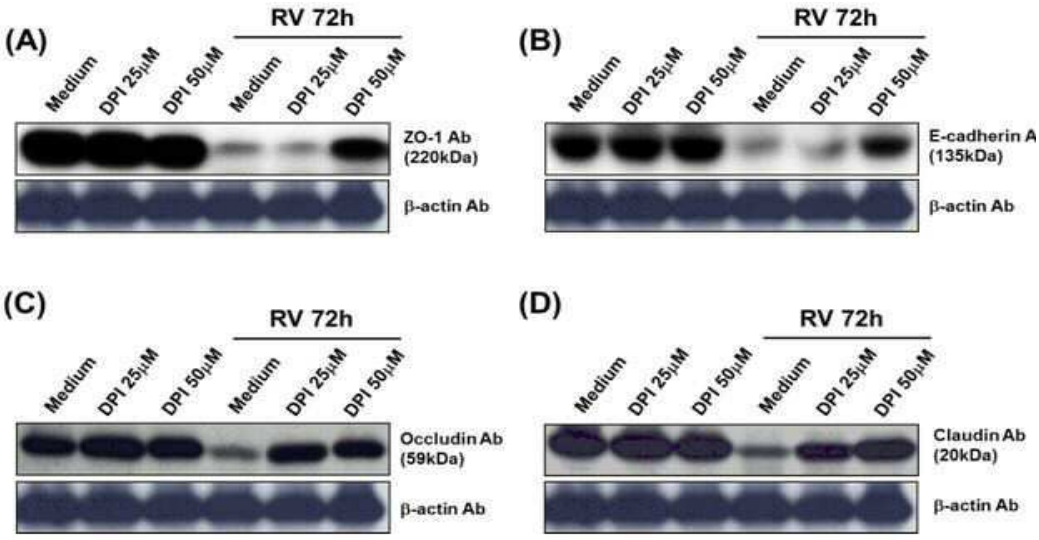
도면2


HNE cells (ROS)
Mean fluorescence intensity (% of control)
Medium
RV-16
24h incubation
Medium
RV-16
SSC-H
FSC-H
R2
FL1-H
Counts

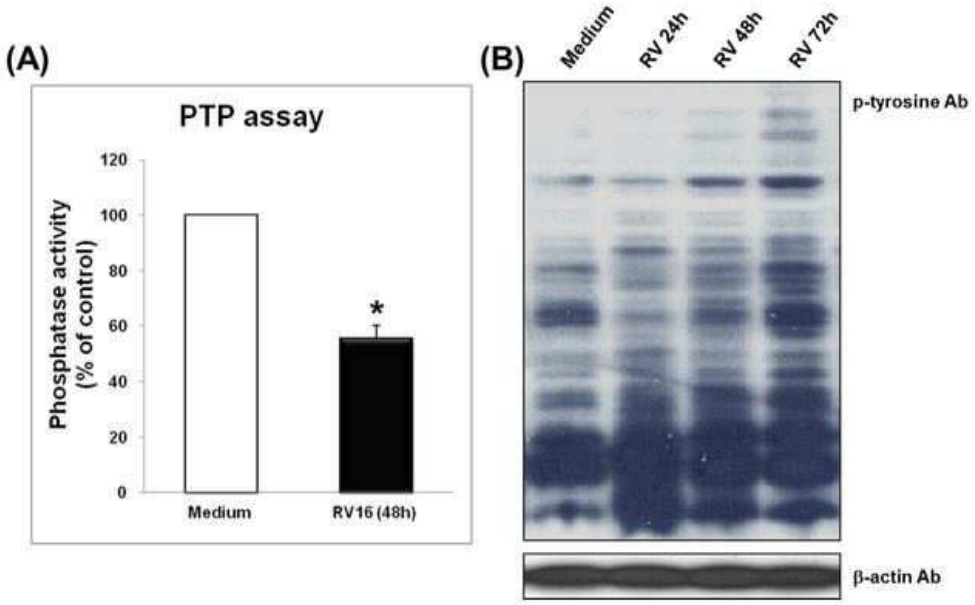
도면3


(A)
HNE cells (ROS)
Medium
DPI 50uM
Mean fluorescence intensity (% of control)
Medium
RV-16
24h incubation
(B)
HNE cells (ROS)
Medium
Rotenone 15uM
Rotenone 30uM
Mean fluorescence intensity (% of control)
Medium
RV-16
24h incubation
(C)
DCFDA
Merge
Bright Field
Medium
RV-16
DPI 25μM
DPI 50μM

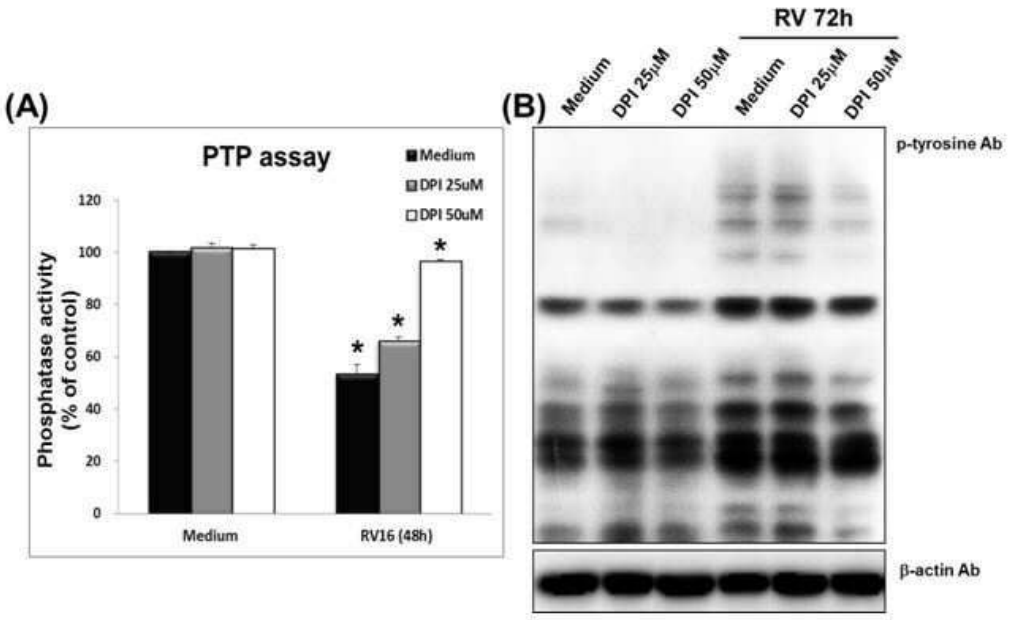
도면4


(A)
RV 72h
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
ZO-1 Ab (220kDa)
β-actin Ab
(B)
RV 72h
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
E-cadherin A (135kDa)
β-actin Ab
(C)
RV 72h
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
Occludin Ab (59kDa)
β-actin Ab
(D)
RV 72h
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
Claudin Ab (20kDa)
β-actin Ab

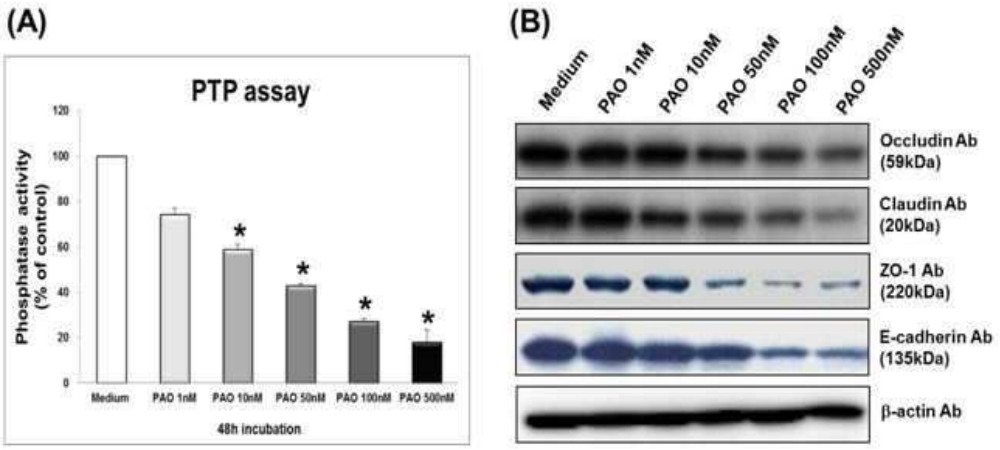
도면5


(A)
PTP assay
Phosphatase activity
(% of control)
120
100
80
60
40
20
0
*
Medium
RV16 (48h)
(B)
Medium
RV 24h
RV 48h
RV 72h
p-tyrosine Ab
β-actin Ab

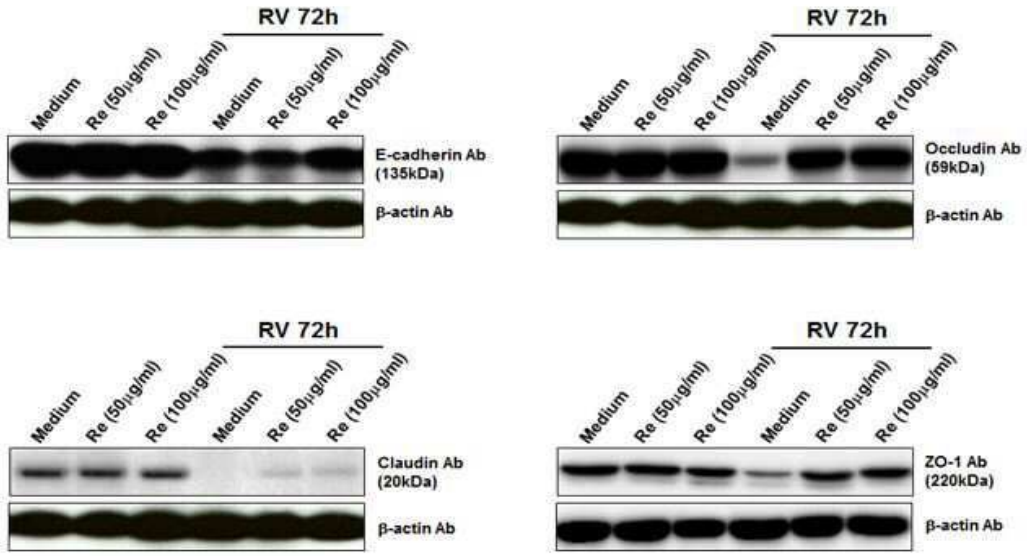
도면6


(A)
PTP assay
Medium
DPI 25uM
DPI 50uM
Phosphatase activity
(% of control)
120
100
80
60
40
20
0
*
*
*
Medium
RV16 (48h)
(B)
RV 72h
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
Medium
DPI 25μM
DPI 50μM
p-tyrosine Ab
β-actin Ab

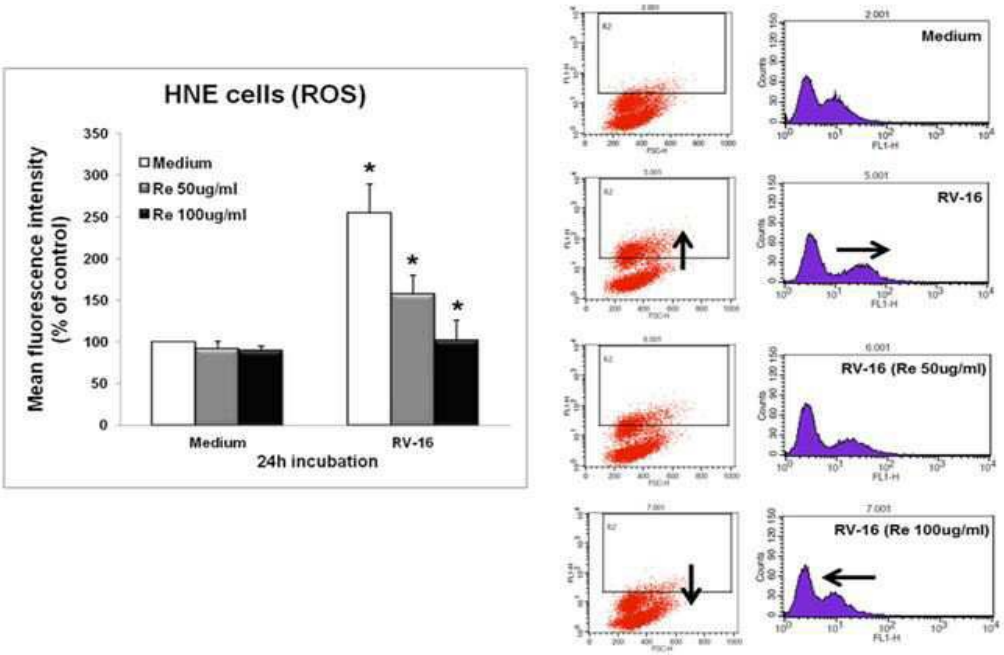
도면7


(A)
PTP assay
Phosphatase activity (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
Medium
PAO 1nM
PAO 10nM
PAO 50nM
PAO 100nM
PAO 500nM
48h incubation
(B)
Medium
PAO 1nM
PAO 10nM
PAO 50nM
PAO 100nM
PAO 500nM
Occludin Ab (59kDa)
Claudin Ab (20kDa)
ZO-1 Ab (220kDa)
E-cadherin Ab (135kDa)
β-actin Ab

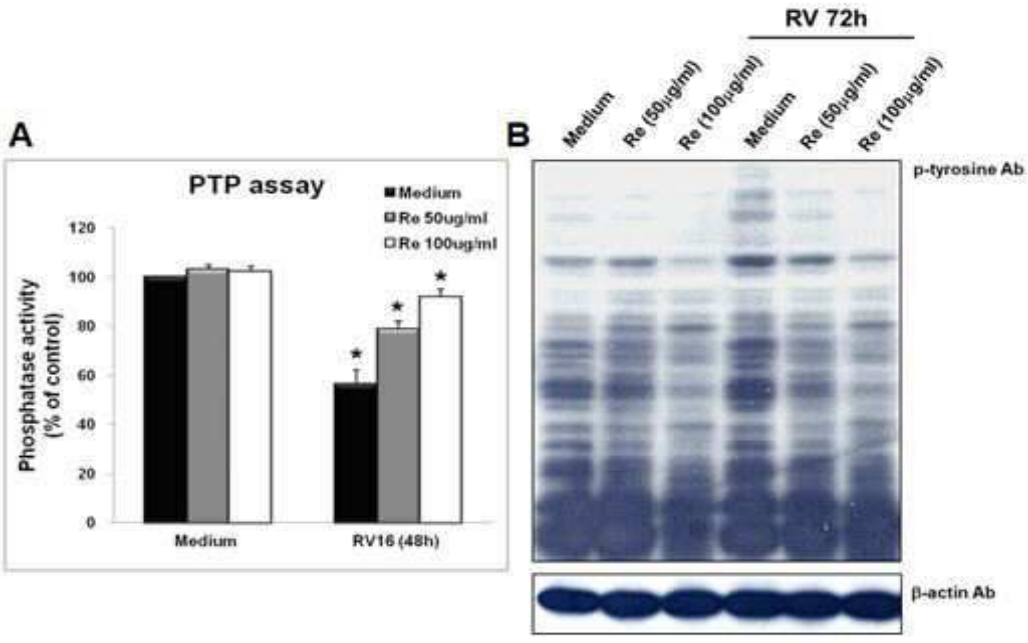
도면8


RV 72h
Medium
Re (50μg/ml)
Re (100μg/ml)
Medium
Re (50μg/ml)
Re (100μg/ml)
E-cadherin Ab (135kDa)
β-actin Ab
RV 72h
Occludin Ab (59kDa)
β-actin Ab
RV 72h
Claudin Ab (20kDa)
β-actin Ab
RV 72h
ZO-1 Ab (220kDa)
β-actin Ab

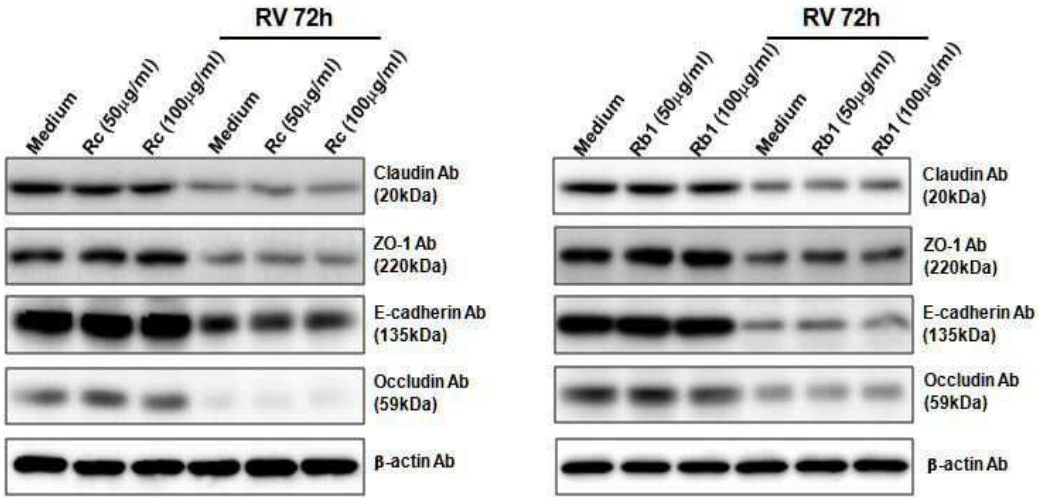
도면9


HNE cells (ROS)
Mean fluorescence intensity (% of control)
Medium
Re 50ug/ml
Re 100ug/ml
Medium
RV-16
24h incubation
Medium
RV-16
RV-16 (Re 50ug/ml)
RV-16 (Re 100ug/ml)

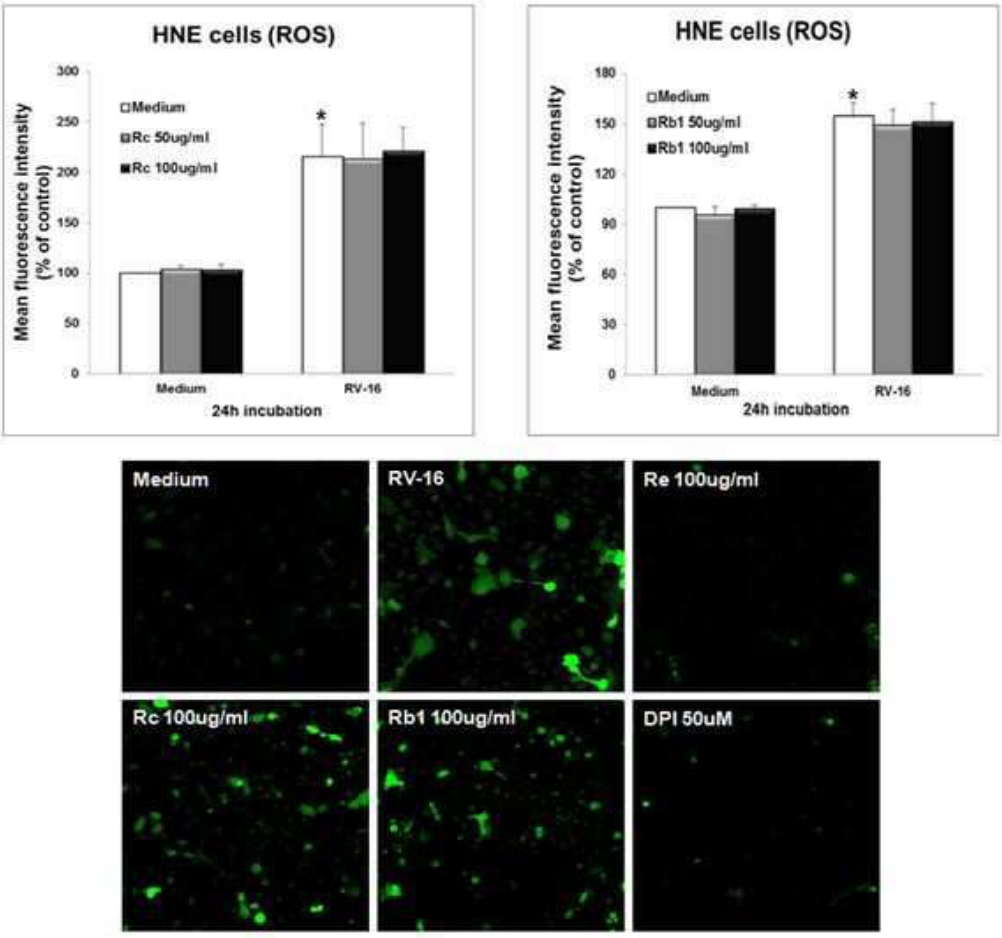
도면10


A
PTP assay
Phosphatase activity (% of control)
Medium
Re 50ug/ml
Re 100ug/ml
Medium
RV16 (48h)
B
RV 72h
Medium
Re (50μg/ml)
Re (100μg/ml)
Medium
Re (50μg/ml)
Re (100μg/ml)
p-tyrosine Ab
β-actin Ab

도면11


RV 72h
Medium
Rc (50μg/ml)
Rc (100μg/ml)
Medium
Rc (50μg/ml)
Rc (100μg/ml)
Claudin Ab (20kDa)
ZO-1 Ab (220kDa)
E-cadherin Ab (135kDa)
Occludin Ab (59kDa)
β-actin Ab
RV 72h
Medium
Rb1 (50μg/ml)
Rb1 (100μg/ml)
Medium
Rb1 (50μg/ml)
Rb1 (100μg/ml)
Claudin Ab (20kDa)
ZO-1 Ab (220kDa)
E-cadherin Ab (135kDa)
Occludin Ab (59kDa)
β-actin Ab

도면12


HNE cells (ROS)
Mean fluorescence intensity (% of control)
Medium
Rc 50ug/ml
Rc 100ug/ml
Medium
RV-16
24h incubation
HNE cells (ROS)
Mean fluorescence intensity (% of control)
Medium
Rb1 50ug/ml
Rb1 100ug/ml
Medium
RV-16
24h incubation
Medium
RV-16
Re 100ug/ml
Rc 100ug/ml
Rb1 100ug/ml
DPI 50uM