(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0082724
(43) 공개일자 2020년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7028 (2006.01) *A61K 38/19* (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/7028 (2013.01)
A61K 38/191 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0173590
(22) 출원일자 2018년12월31일
심사청구일자 2018년12월31일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
정대균
경기도 용인시 수지구 이종무로169번길 11-12(고기동)
김한근
경기도 수원시 권선구 입북로 50, 109동 1204호(입북동, 서수원 자이아파트)
전보람
경기도 화성시 병점2로 141, 601동 1504호(병점동, 안화동마을주공6단지)
(74) 대리인
위병갑

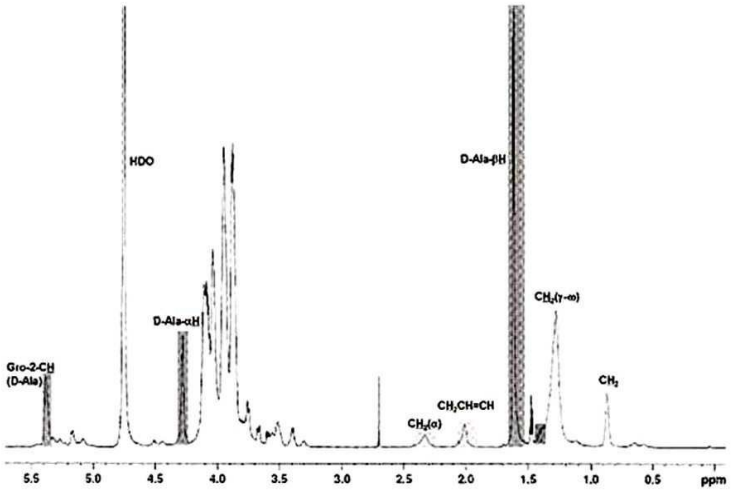
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **리포테이코익산 유래 당지질을 포함하는 암 예방 및 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 그람양성 세균의 세포벽 성분인 리포테이코익산으로부터 분리 정제한 당지질과 TNF-alpha, IFN-gamma를 유효성분으로 포함하는 항암 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 항암용 조성물은 리포테이코익산 유래 당지질, TNF-α 및 IFN-γ이 타겟 세포에 작용함으로써, 암세포 특이적으로 자가사멸과 관련된 신호전달 체계를 활성화하기 때문에 기존의 항암제보다 부작용이 적으며, 리포테이코익산의 활성 부위에 대한 유도체를 합성하여 항암 효과의 효율성을 높일 뿐만 아니라, 24시간 이내에 암세포가 사멸하기 때문에 항암 효과가 매우 뛰어나다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 38/217 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2016R1A2B1009889
부처명 과학기술정보통신부(미래창조과학부)
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 개인연구지원사업(중견연구)
연구과제명 유산균 리포테이코익산과 사이토카인을 이용한 대장암 세포의 자가사멸 유도 및 재조합 유산균 배송 체계를 이용한 새로운 대장암 치료 기술 개발
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교(국제캠퍼스) 산학협력단
연구기간 2016.06.01 ~ 2019.05.31

명 세 서

청구범위

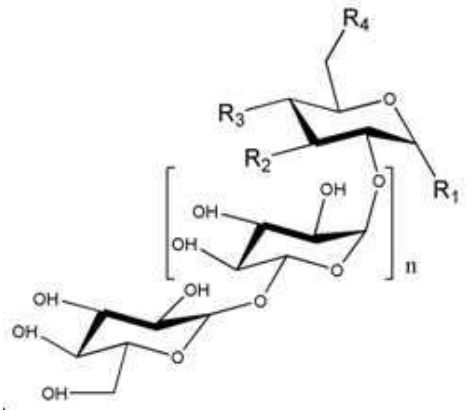
청구항 1

알파 결합으로 연결된 이중 또는 삼중 헥소스의 C_1, C_3, C_4 및 C_6번 위치 중 어느 한 곳 이상에 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 2 내지 6개의 아실 사슬이 결합되어 있는 당지질을 포함하는 암 예방 및 치료용 약학적 조성물.

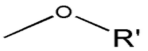
청구항 2

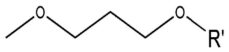
제 1항에 있어서, 상기 당지질은 하기 화학식 I의 구조를 갖는 조성물

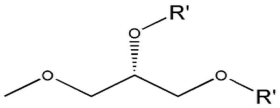
[화학식 I]

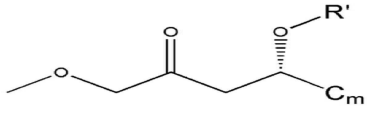


상기 식에서,

R_1 내지 R_4는 각각 독립적으로 하이드록시, 

, 

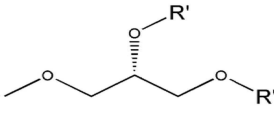
, 

, 또는 

이고,

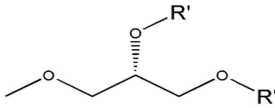
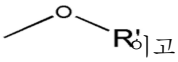
이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬이며, n은 0또는 1이고, Cm은 C_4 내지 C_{30}의 알킬이며, 상기 당지질 내 아실 사슬의 총수는 2 내지 6이다.

청구항 3

제 2항에 있어서, R_1은 

이고, 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬이며, R_2 내지 R_4는 하이드록시이고, n은 1이며, 1 내지 14개의 이중결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함하는 조성물.

청구항 4

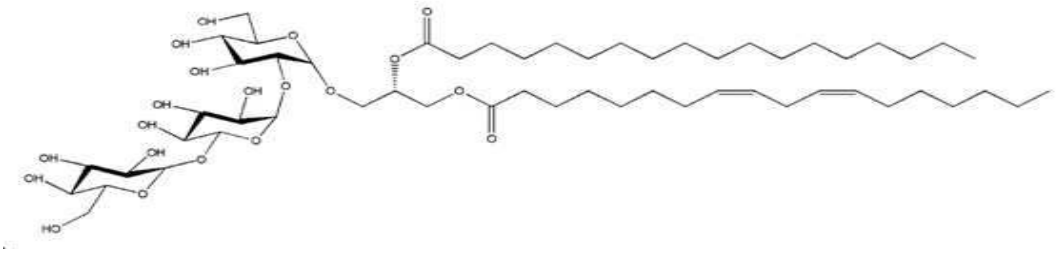
제 2항에 있어서, R_1은  이고, R_2, R_3 또는 R_4 중 어느 하나는 이고, 나머지는 하이드록시이며, 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬이고, n은 1이며, 1 내지 14개의 이중 결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함하는 조성물.

청구항 5

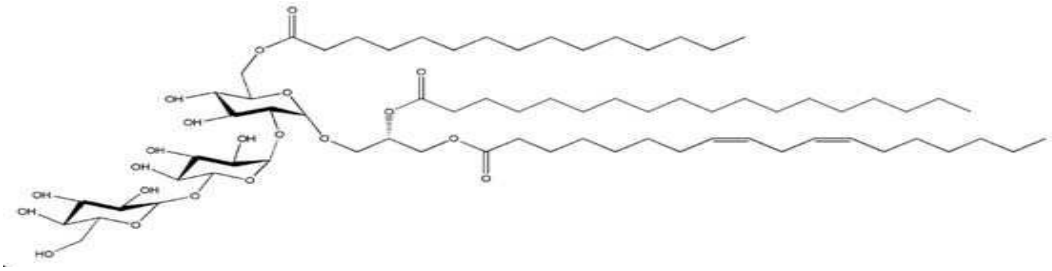
제 2항에 있어서,

상기 화학식 I은 하기 화학식 I-1 또는 화학식 I-2인 것을 특징으로 하는 조성물:

[화학식 I-1]



[화학식 I-2]



청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 당지질은 그람양성 세균 유래인 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 그람양성 세균은 유산균 락토바실러스, 비피도박테리움,스트랩토코커스 또는 락토코커스 속인 조성물.

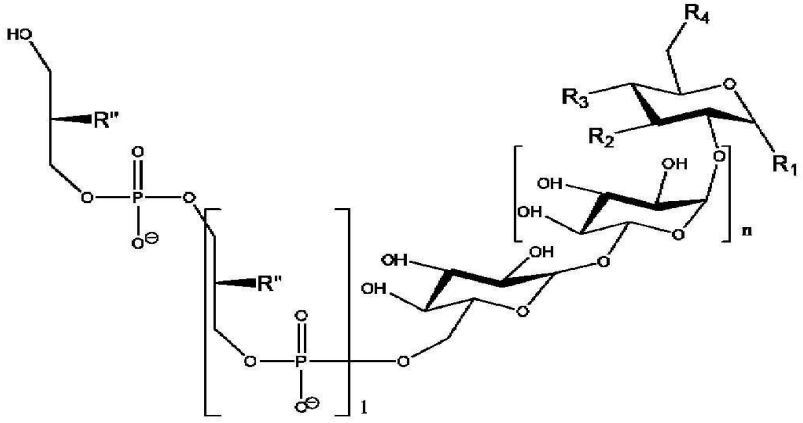
청구항 8

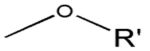
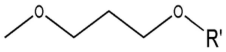
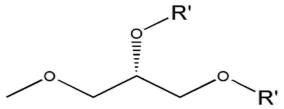
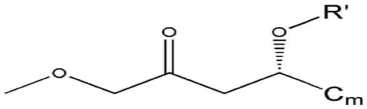
제 1항에 있어서, 아실 사슬이 결합되니 않은 헥소스의 C_6 위치에 폴리인산글리세롤이 추가로 결합된 당지질을 포함하는 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 당지질은 하기 화학식 II의 구조를 갖는 조성물:

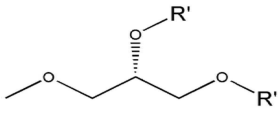
[화학식 II]



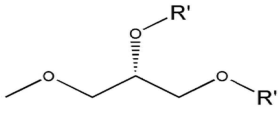
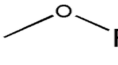
상기 식에서, R_1 내지 R_4는 각각 독립적으로 하이드록시, , , , 또는 이고,

이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬이며, R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시이고, n은 0 또는 1이고, Cm은 C_4 내지 C_{30}의 알킬이며, I는 0 내지 80이며, 상기 당지질 내 아실 사슬의 총수는 2 내지 6이다.

청구항 10

제 9항에 있어서, R_1은 이고,이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬이며, R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시이고, R_2 내지 R_4는 하이드록시이고, n은 1이며, I는 0 내지 80이며, 1 내지 14개의 이중결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함하는 조성물.

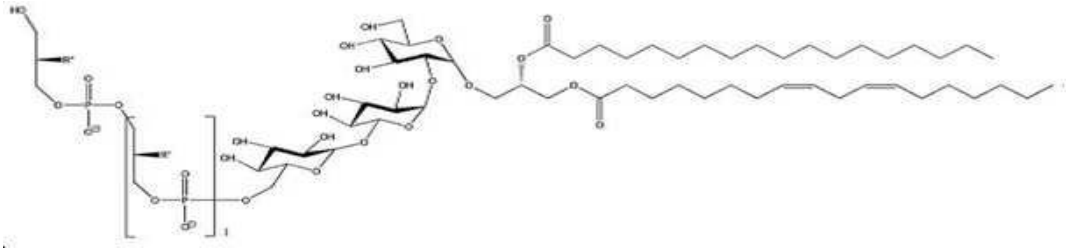
청구항 11

제 9항에 있어서, R_1은 이고, R_2, R_3 또는 R_4 중 어느 하나는 이고, 나머지는 하이드록시이며, 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬이고, R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시이고, n은 1이며, I는 0 내지 80이며, 1 내지 14개의 이중 결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함하는 조성물.

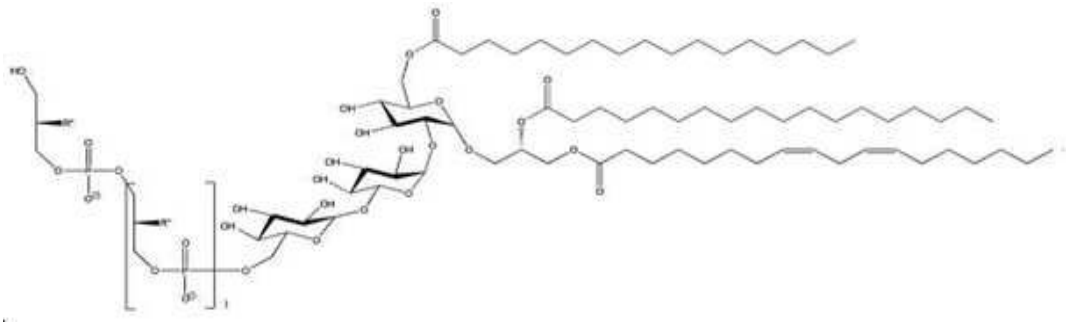
청구항 12

제 9항에 있어서, 상기 화학식 II는 하기 화학식 II-1 또는 II-2인 것을 특징으로 하는 조성물:

[화학식 II-1]



[화학식 II-2]



상기 식에서, R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시이고, I는 0 내지 80이다.

청구항 13

제 8항에 있어서, 상기 당지질은 그람양성 세균 유래의 리포테이코익산인 조성물.

청구항 14

제 13항에 있어서, 상기 그람양성 세균은 유산균 락토바실러스, 비피도박테리움, 스트랩토코커스 또는 락토코커스 속인 조성물.

청구항 15

제 1항의 조성물에 TNF-α 및 IFN-γ를 추가적으로 포함하는 암 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 암은 대장암, 간암, 위암, 폐암, 유방암, 직장암, 췌장암 및 혈액암으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 조성물.

청구항 17

제 1항의 조성물에 TNF-α 및 IFN-γ를 추가적으로 포함하는 항암 보조제.

청구항 18

제 1항의 조성물에 TNF-α 및 IFN-γ를 추가적으로 포함하는 암 예방 및 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 리포테이코익산 유래의 당지질과 TNF-α 및 IFN-γ를 유효성분으로 포함하는 암세포 특이적 자가사멸 유도를 위한 항암용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 리포테이코익산 (Lipoteichoic Acid, LTA)은 그람양성세균의 세포벽 성분 중 하나이다. 리포테이코익산은 일반적으로 글루코스 또는 D-알라닌 치환체를 갖는 폴리인산글리세롤 및 당 단위와 지방산 사슬을 포함하는 당지질의 두 개의 구조체로 구분되는데, 이 중 폴리인산글리세롤의 D-알라닌 함량에 따라서 TNF-α와 같은 염증성 사이토카인의 발현이 조절된다고 알려져있다.

[0003] 특히, 리포테이코익산은 면역세포의 표면에 발현되는 Toll-like Receptor2에 의해 인지되어 NF-κB/MAPK의 활성을 증가시킴으로써 염증성 사이토카인의 발현을 유도시킨다. 반면 리포테이코익산을 면역세포에 전 처리한 후 내독소 (Lipopolysaccharide, LPS)로 세포를 자극하면, 내독소만의 자극에 의해 증가되는 염증성 사이토카인에 비해 발현을 크게 감소시키는 작용 (내성, tolerance)을 가지고 있다고 알려져있다.

[0004] 면역세포에서 염증성 사이토카인의 발현을 증가 또는 억제 시키는데 중요한 역할을 하는 것이 리포테이코익산의 D-알라닌 함량이 아닌 acyl chain인 것을 실험적으로 확인할 수 있었으며, 리포테이코익산의 당지질은 acyl chain을 포함하는 구조로써 TNF-α 및 IFN-γ 함께 대장암 세포의 사멸을 유도한다.

[0005] 대장암은 결장과 직장에 생기는 악성 종양을 말하며, 세계적으로 2000년 발생률(945,000명 신규 발생, 세계 전체 암의 9.4%)과 사망률(492,000명 사망, 전체 암중 7.9%) 이 모든 암 중 세번째로 높고, 성별로 비교해보면 남자와 여자에게서 비슷한 비율로 발생한다(남:여 1.1:1). 대장암의 경우 혈관을 중심으로 많은 수의 세포들이 서로 덩어리진 형태로 성장하는 대표적인 고형암 세포로서 치료 방법이 극히 제한적으로 완치가 어려운 암 중 하나이다. 즉, 덩어리진 대장암 세포의 중심부까지 약물이 제대로 투과하지 못하기 때문에 대장암 세포를 완전히 제거하기란 쉬운 일이 아니다. 현재 약물로써 대장암을 치료할 수 있는 방법은 거의 없는 실정이고, 수술 요법이나 방사선 요법 등과 같은 외과적인 치료만이 대장암을 치료하는 제한적인 방법이며, 또한 이러한 치료법으로는 대장암의 완치가 어렵다. 따라서 많은 연구자가 대장암 세포의 성장을 효과적으로 억제할 수 있는 방법을 개발함으로써 대장암 세포뿐만 아니라 대부분의 암세포의 성장을 효과적으로 억제하기 위해서 많은 연구를 수행하고있다.

[0006] 자가사멸(apoptosis)은 대부분의 항암제가 암세포의 증식 억제효과를 나타내는 중요한 작용기작으로, 세포 내부에 프로그램된 신호를 따라 여러 유전자 및 단백질들의 발현과 활성이 조절되어 일어나는 능동적인 죽음이다. 개체를 구성하는 각세포의 자가사멸은 유전적으로 손상을 입은 세포나 분화자극제에 의해 부적절한 분화의 유도에 의한 종양의 발달을 막기 위해 이들 비정상적인 세포를 개체에서 제거하기 여러 수단, 즉 회복 불가능한 유전적 상처를 지닌 세포들을 개체에서 제거하기 위한 일반적인 수단이다. 이 개념은 일반적으로 사용되는 항암제가 암세포의 증식억제와 연관된 자가사멸 과정을 통해 암세포 사멸을 유도한다는 사실에 의해 뒷받침 되고있다. 따라서 자가사멸과정의 교란은 손상되거나 손상이 시작된 세포의 생존과 그들 세포의 성장을 유도하기 때문에 자가사멸의 억제는 암화 과정에서 중요한 역할을 한다. 아울러 암 예방 효과가 있는 물질들은 이러한 비정상적인 세포의 자가사멸을 유도하며, 이들에 의한 자가사멸의 유발은 최소한 그들의 암 예방 활성과 연관되어 있음이 보고되었다.

[0007] 종래의 대장암 치료제로는 카페시타빈(Capecitabine), 루코보린(Leucovorin)및 이리노테칸(Irinotecan)이 알려져 있으나, 이들은 간부전, 위청공, 피부손상등의 부작용이 발생 될 수 있다. 또한, 대장암의 치료 방법으로, 세포의 자가사멸에서 중요한 역할을 수행하는 유전자들 즉, Bcl-2 family, p53, Inhibitory apoptosis proteins(IAPs), caspases에 대한 치료용 약물 및 유전자치료가 수행되나, 이러한 방법은 암세포뿐만 아니라 정상세포에도 영향을 주는 문제가 있다. 또한, 현재연구되고 있는 물질들은 항암제와의 콤비네이션테라피로 사용되고 있는데 이는 치료효과를 증진시키는 결과를 보여주었지만 동시에 항암제에 대한 내성 발생 및 정상세포사멸 등에 대한 문제점이 지적되고 있다. 따라서 암세포 특이적인 사멸유도와 즉각적인 효과를 확인할 수 있는 새로운 방식의 치료방법의 개발이 시급하다.

[0008] 이와 같이, 암세포에 특이적으로 작용하는 항암제의 개발이 대두되는 가운데, 본 발명자들은 그람양성세균에서 유래한 리포테이코익산(Lipoteichoic acid) 유래 당지질, TNF-α 및 IFN-γ를 혼합한 조성물이 정상세포에 영향을 주지 않고, 암세포의 자가사멸을 유도하는 데에 주목하여, 이를 항암제의 소재로 활용하고자 하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) (0001) 한국등록특허 KR10-1242669

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 기존의 항암제가 암세포뿐만 아니라 정상세포 사멸도 유도하는 문제를 해결하기 위해서, 암세포만 특이적으로 사멸하는 항암용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 알파 결합으로 연결된 이중 또는 삼중 헥소스의 C_1, C_3, C_4 및 C_6번 위치 중 어느 한 곳 이상에 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 2 내지 6개의 아실 사슬이 결합되어 있는 당지질을 포함하는 암 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 당지질에 TNF-α 및 IFN-γ를 추가적으로 포함하는 암 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 본 발명은 상기 당지질에 TNF-α 및 IFN-γ를 추가적으로 포함하는 항암 보조제를 제공한다.

[0014] 아울러 본 발명은 본 발명은 상기 당지질에 TNF-α 및 IFN-γ를 추가적으로 포함하는 암 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 항암용 조성물은 리포테이코익산 유래 당지질, TNF-α 및 IFN-γ이 타겟 세포에 작용함으로써, 암세포 특이적으로 자가사멸과 관련된 신호전달 체계를 활성화하기 때문에 기존의 항암제보다 부작용이 적으며, 리포테이코익산의 활성 부위에 대한 유도체를 합성하여 항암 효과의 효율성을 높일 뿐만 아니라, 24시간 이내에 암세포가 사멸하기 때문에 항암 효과가 매우 뛰어나다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 *L. plantarum* LTA의 ^{1}H, ^{13}C 및 2D-NMR 스펙트럼을 나타낸다.

도 2는 *L. plantarum* LTA의 COSY 스펙트럼을 나타낸다.

도 3은 *L. plantarum* LTA의 HMQC 스펙트럼을 나타낸다. (A: 올레핀 탄소에 연결된 α-메틸렌과 메틸렌, B: α-D-갈락토스와 α-D-글루코스의 아노머 양성자)

도 4는 LTA 가수분해물의 GC/MS 분석결과를 나타낸다.

도 5는 LTA 당지질의 MALDI-TOF MS 스펙트럼을 나타낸다. (A: S aureus, B: L. plantarum)

도 6은 (A) aLTA 및 (B) pLTA의 intact 당지질 및 O-아세틸화된 당지질의 MALDI-TOF MS 스펙트럼을 나타낸다.

도 7은 pLTA의 당지질의 구조를 나타낸다.

도 8은 pLTA 당지질의 질량을 분석한 표를 나타낸다.

도 9는 (A) aLTA 당지질 및 (B) pLTA 당지질의 LTQ-Orbitrap FTMS 스펙트럼을 나타낸다.

도 10은 LTA 당지질의 음이온 CID 스펙트럼을 나타낸다. (A: 다이헥소실-다이아실-글리세롤, B: 트리헥소실-다이아실-글리세롤)

도 11은 aLTA 당지질의 질량을 분석한 표를 나타낸다.

도 12는 aLTA의 탈아실화된 당지질의 MALDI-TOF MS 스펙트럼을 나타낸다.

(a: intact 당지질, b: NaOH 처리한 당지질, c: $Ca(OH)_2$ 처리한 당지질)

도 13은 pLTA, dLTA, rLTA 및 sLTA의 당지질 부위에 대한 MALDI-TOF 분석 결과를 나타낸다.

도 14는 리포테이코익산 유래 당지질에 의한 대장암 세포의 자가 사멸유도 분석한 결과를 나타낸다:

TI only: TNF-α+IFN-γ

Intact pLTA: 리포테이코익산에 변형을 주지 않은 것

phosphate chain: NaOH를 처리한 후 분리한 것

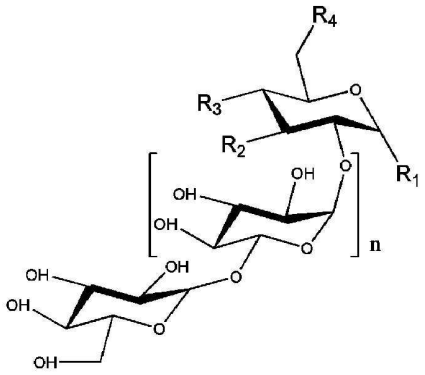
glycolipid: Tris HCl pH 8.0으로 처리한 후 분리한 당지질.

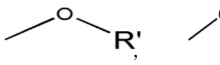
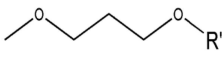
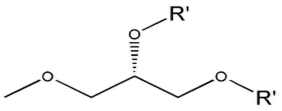
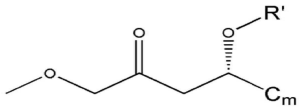
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

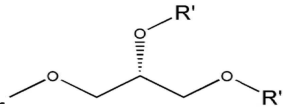
[0017] 그람양성세균 유래의 리포테이코익산은 TNF-α 및 IFN-γ와 함께 처리시 대장암 세포의 자가 사멸을 유도한다. 본 발명자들은 본 발명을 통해 리포테이코익산의 당지질이 TNF-α 및 IFN-γ와 함께 항암 효능을 준다는 것을 확인하였으며, 또한 유산균 락토바실러스 플랜타룸 리포테이코익산의 당지질 구조를 분석하였다. 따라서 분석된 당지질 구조를 기초로 하여 이와 유사한 다양한 당지질 변이체들을 제조함으로써 항암 효과를 갖는 다양한 당지질 변이체들을 효과적으로 활용할 수 있다.

[0018] 본 발명은 알파 결합으로 연결된 이중 또는 삼중 헥소스의 C_1, C_3, C_4 및 C_6번 위치 중 어느 한 곳 이상에 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 2 내지 6개의 아실 사슬이 결합되어 있는 당지질을 제공한다. 이때 상기 헥소스는 글루코스, 갈락토스, 마노스 또는 프룩토스일 수 있으며, 바람직하게는 글루코스 또는 갈락토스일 수 있다. 또한 상기 당지질은 하나 이상의 불포화된 아실 사슬을 포함하는 것이 바람직하다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 당지질은 하기 화학식 I의 구조를 갖는 당지질일 수 있다.

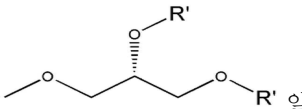
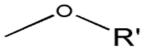
[0019] [화학식 I]

[0020] 

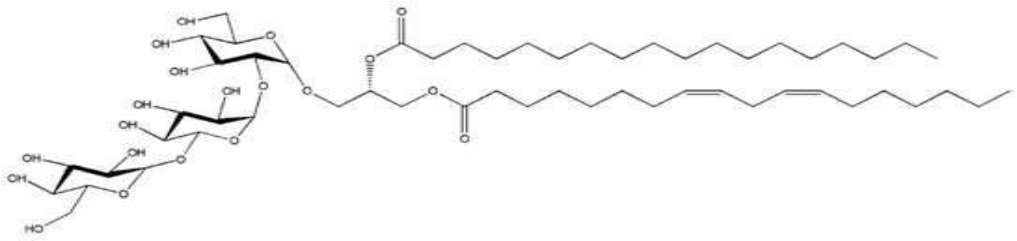
[0021] 상기식에서, R_1 내지 R_4는 각각 독립적으로 하이드록시, , , , 또는 일 수 있다. 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬일 수 있으며, 구체적으로는 C_{14} 내지 C_{26}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{24}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{22}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{16} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 또는 C_{16} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬일 수 있다. n은 0 또는 1일 수 있으며, Cm은 C_4 내지 C_{30}의 알킬, 구체적으로는 C_6 내지 C_{26}의 알킬 또는 C_{10} 내지 C_{24}의 알킬일 수 있고, 상기 당지질 내 아실 사슬의 총수는 2 내지 6, 구체적으로는 2 내지 4 또는 2 내지 3일 수 있다.

[0022] 더욱 구체적으로, 상기 화학식 I에서 R_1은  사슬, 구체적으로는 C_{14} 내지 C_{26}의 포화 또는

불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{24}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{22}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{16} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 또는 C_{16} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬일 수 있으며, R_2 내지 R_4는 하이드록시일 수 있고, n은 1이며, 1 내지 14개의 이중결합, 구체적으로는 1 내지 10개의 이중결합, 1 내지 8개의 이중결합, 1 내지 6개의 이중결합, 1 내지 4개의 이중결합, 1 내지 3개의 이중결합 또는 1 내지 2개의 이중결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함할 수 있다.

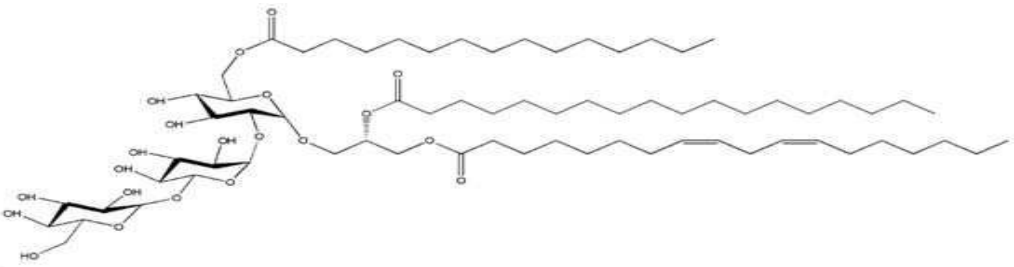
[0023] 또한 구체적으로, 상기 화학식 I에서 R_1은  일 수 있고,이때 R_2, R_3 또는 R_4 중 어느 하나는  이고, 나머지는 하이드록시일 수 있다. 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 구체적으로는 C_{14} 내지 C_{26}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{24}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{22}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{16} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 또는 C_{16} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬일 수 있으며, n은 1이고, 1 내지 14개의 이중결합, 구체적으로는 1 내지 10개의 이중결합, 1 내지 8개의 이중결합, 1 내지 6개의 이중결합, 1 내지 4개의 이중결합, 1 내지 3개의 이중결합 또는 1 내지 2개의 이중결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 화학식 I의 당지질은 하기 화학식 I-1 또는 화학식 I-2의 구조를 갖는 당지질일 수 있다.

[0024] [화학식 I-1]



[0025]

[0026] [화학식 I-2]



[0027]

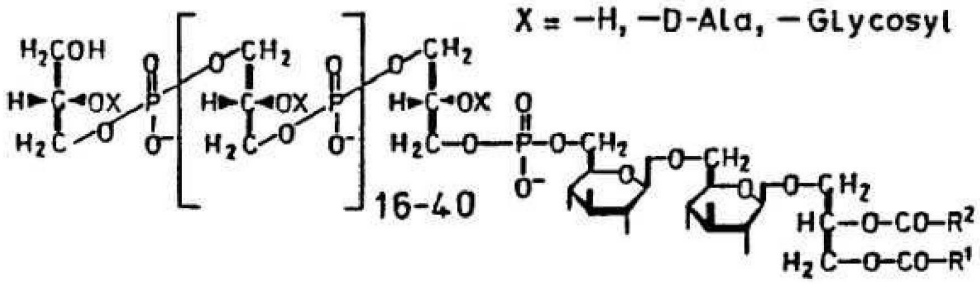
[0029] 이때 상기 화학식 I-1 또는 화학식 I-2에 나타난 이중결합의 위치는 달라질 수 있다.

[0030] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 당지질은 그람양성세균 유래의 당지질이며, 대표적인 그람양성세균은 유산균으로써, 상기 유산균은 이에 제한되는 것은 아니지만 락토바실러스 (Lactobacillus), 비피도박테리움(Bifidobacterium), 스트렙토코커스(streptococcus) 또는 락토코커스 (Lactococcus) 속일 수 있다. 락토바실러스는 예를 들어 락토바실러스 플랜타륨(Lactobacillus plantarum), 락토바실러스 람노서스 (Lactobacillus rhamnosus), 락토바실러스 델브르키(Lactobacillus delbrueckii), 락토바실러스 엑시도필러스(Lactobacillus acidophilus), 락토바실러스 가세리(Lactobacillus gasseri), 락토바실러스 존스니(Lactoacillus johnsonni), 락토바실러스 헬베티쿠스(Lactobacillus helveticus), 락토바실러스 카세이(Lactobacillus casei)일 수 있으며, 비피도박테리움은 예를 들어 비피도박테리움 비피도(Bifidobacterium bifido), 비피도박테리움 롱검

(Bifidobacterium longum), 비피도 박테리움 인판티스(Bifidobacterium infantis), 비피도박테리움 아니말리스(bifidobacterium animalis)일 수 있고, 스트렙토코커스는 예를 들어 스트렙토코커스 써모필러스(Streptococcus thermophilus)일 수 있으며, 락토코커스는 예를 들어 락토코커스 락티스 (Lactococcus lactis)일 수 있다.

[0031] 리포테이코익산 중 구조가 자장 잘 밝혀진 것은 스트렙토코커스 아우레우스 (*S. aureus*)의 리포테이코익산으로, 상기 균주 유래 당지질 또한 TNF-α 및 IFN-γ와 함께 항암 효능을 유도한다. 병원성 미생물인 *S. aureus* 유래의 리포테이코익산은 면역증강활성을 유도하여 염증성 사이토카인의 발현을 증가시킨다. 하기 화학식 III에 나타나듯이, *S. aureus*의 리포테이코익산의 백본은 두 개의 글루코스가 베타 결합으로 연결되어 있는 겐티오비오스 [β→연결]로 알려져 있으며, 글루코스의 C_6 와 1,3-포스포디에스테르 결합된 폴리인산글리세롤 사슬이 연결되어 있다. 또한 평균 15개의 탄소를 갖는 두 개의 포화 지방산 사슬(C15:0) 이 에스테르 결합에 의하여 글루코스의 C_1에 연결되어 있다.

[0033] [화학식 III]



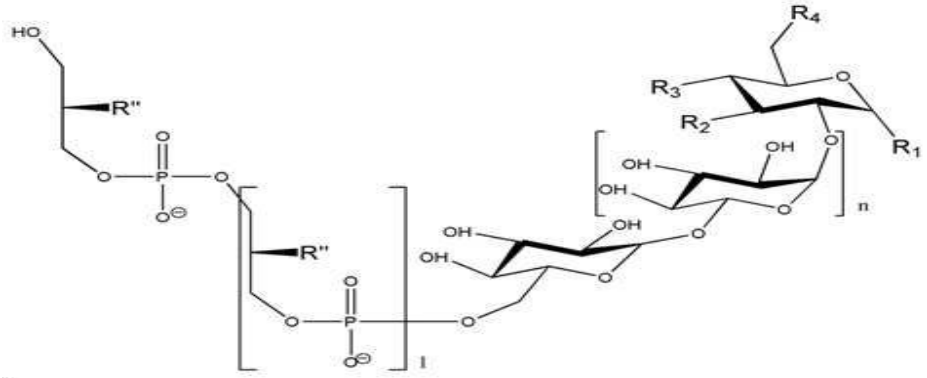
[0034]

[0035] 반면 유산균 락토바실러스 플랜타룸리포테이코익산 유래의 당지질의 구조는 알파 결합으로 연결된 세 개의 헥소스를 백본으로 가지며, 지방산 아실 사슬이 결합되어 있는 헥소스의 반대쪽 말단 헥소스의 C_6 위치에 1,3-포스포디에스테르 결합된 폴리인산글리세롤 사슬이 연결되어 있는 것을 특징으로 한다. 또한 락토바실러스 플랜타룸 리포테이코익산의 당지질은 첫번째 헥소스의 C_1 또는 C_6 위치에 두 개 또는 세 개의 지방산 아실 사슬이 에스테르 결합에 의하여 연결되어 있는 것을 특징으로 한다. 락토바실러스 플랜타룸 리포테이코익산 유래의 당지질은 구체적으로는 화학식 I-1 또는 화학식 I-2의 구조를 가질 수 있으며, 다만 상기 화학식에서 이중 결합의 위치는 달라질 수 있다. 화학식 I-1 은 헥소스의 C_1 위치에 탄소수 18의 포화 지방산 아실 사슬과 (C_{18}:0) 탄소수 18의 불포화 지방산 아실 사슬(C_{18}:2)이 결합되어 있는 락토바실러스 플랜타룸 리포테이코익산의 그룹 I 당지질을 나타낸다. 화학식 I-2는 상기 화학식 I-1의 당지질의 헥소스의 C_6 위치에 탄소수 16의 포화 지방산 사슬(C_{16}:0)을 추가로 포함하는 것으로서, 락토바실러스 플랜타룸 리포테이코익산의 그룹 II 당지질을 나타낸다. 헥소스의 결합, 지방산 사슬의 수, 이들의 결합 위치, 탄소수, 및 불포화 지방산의 유무는 TLR2가 리포테이코익산을 인지하는데 있어서 중요한 역할을 하며, 따라서 이러한 구조적 특성이 리포테이코익산의 항암 활성을 유도하는 중요한 요인이 된다.

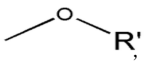
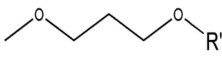
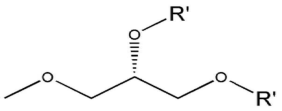
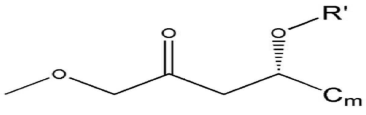
[0036] 또한, 본 발명은 아실 사슬이 결합되어 있는 헥소스의 반대쪽 말단 헥소스의 C_6 위치에 폴리인산글리세롤이 추가로 결합된 당지질을 제공한다.

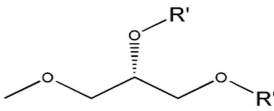
[0037] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 당지질은 하기 화학식 II의 구조를 갖는 당지질일 수 있다.

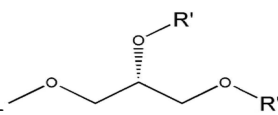
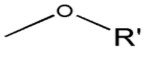
[0038] [화학식 II]



[0039]

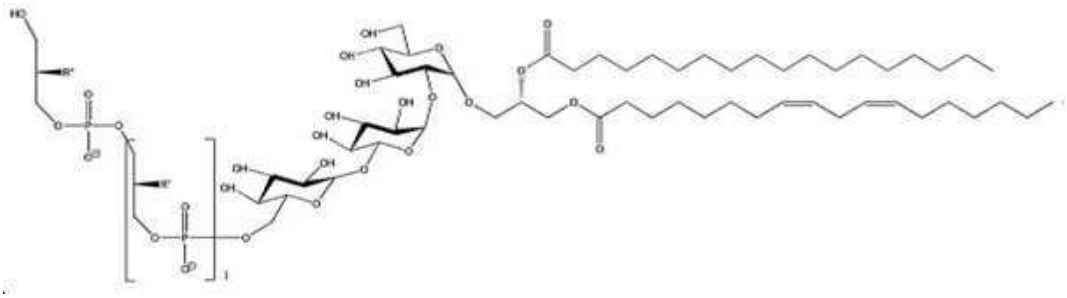
[0041] 상기 식에서, R_1 내지 R_4는 각각 독립적으로 하이드록시, , , , 또는  일 수 있다. 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬 일 수 있으며, 구체적으로는 C_{14} 내지 C_{26}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{24}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{22}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{16} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 또는 C_{16} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬일 수 있다. R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시일 수 있다. n은 0 또는 1이고, Cm은 C_4 내지 C_{30}의 알킬, 구체적으로는 C_6 내지 C_{26}의 알킬 또는 C_{10} 내지 C_{24}의 알킬일 수 있으며, l 은 0 내지 80, 구체적으로는 0 내지 60, 0 내지 40, 또는 0 내지 20일 수 있다. 상기 당지질 내 아실 사슬의 총수는 2 내지 6, 구체적으로는 2 내지 4, 또는 2 내지 3일 수 있다.

[0042] 구체적으로, 상기 화학식 II에 있어서, R_1은  일 수 있다. 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 구체적으로는 C_{14} 내지 C_{26}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{24}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{22}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{16} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 또는 C_{16} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬일 수 있으며, R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시일 수 있고, R_2 내지 R_4는 하이드록시일 수 있다. n은 1이고, l은 0 내지 80, 구체적으로는 0 내지 60, 0 내지 40, 또는 0 내지 20일 수 있으며, 1 내지 14개의 이중결합, 구체적으로는 1 내지 10개의 이중결합, 1 내지 8개의 이중결합, 1 내지 6개의 이중결합, 1 내지 4개의 이중결합, 1 내지 3개의 이중결합 또는 1 내지 2개의 이중결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함할 수 있다.

[0043] 또한, 구체적으로, 상기 화학식 II에 있어서, R_1은  일 수 있고, 이때 R_2, R_3 또는 R_4 중 어느 하나는  이고, 나머지는 하이드록시일 수 있다. 이때 R'는 각각 독립적으로 C_{10} 내지 C_{30}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 구체적으로는 C_{14} 내지 C_{26}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{24}의 포화

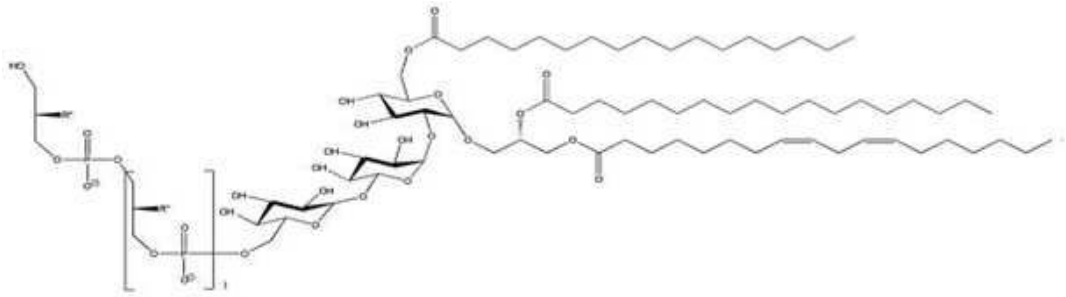
또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{22}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{14} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, C_{16} 내지 C_{20}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬, 또는 C_{16} 내지 C_{18}의 포화 또는 불포화된 아실 사슬일 수 있으며, R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시일 수 있다. n은 1이고, l은 0 내지 80, 구체적으로는 0 내지 60, 0 내지 40, 또는 0 내지 20일 수 있으며, 1 내지 14개의 이중결합, 구체적으로는 1 내지 10개의 이중결합, 1 내지 8개의 이중결합, 1 내지 6개의 이중결합, 1 내지 4개의 이중결합, 1 내지 3개의 이중결합 또는 1 내지 2개의 이중결합을 갖는 아실 사슬을 하나 이상 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 화학식 II는 하기 화학식 II-1 또는 화학식 II-2일 수 있다.

[0044] [화학식 II-1]



[0045]

[0046] [화학식 II-2]



[0047]

[0049] 상기 식에서, R''는 각각 독립적으로 N-아세틸글루코사민, D-알라닌 또는 하이드록시일 수 있고, l은 0 내지 80, 구체적으로는 0 내지 60, 0 내지 40 또는 0 내지 20일 수 있다. 또한 상기 화학식 II-1 또는 화학식 II-2에 나타난 이중결합의 위치는 달라질 수 있다.

[0050] 본 발명의 한 구체예에서, 폴리인산글리세롤이 추가로 결합된 당지질은 유산균 유래의 리포테이코익산일 수 있으며, 상기 유산균은 이에 제한되는 것은 아니지만 락토바실러스 (*Lactobacillus*), 비피도박테리움 (*Bifidobacterium*), 스트렙토코커스 (*streptococcus*) 또는 락토코커스 (*Lactococcus*) 속일 수 있다. 락토바실러스는 예를 들어 락토바실러스 플랜타륨(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 람노서스 (*Lactobacillus rhamnosus*), 락토바실러스 델브르키 (*Lactobacillus delbrueckii*), 락토바실러스 엑시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 가세리 (*Lactobacillus gasseri*), 락토바실러스 존스니(*Lactoacillus johnsonni*), 락토바실러스 헬베티쿠스 (*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*)일 수 있으며, 비피도박테리움은 예를들어 비피도박테리움 비피도(*Bifidobacterium bifido*), 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 비피도박테리움 인판티스(*Bifidobacterium infantis*), 비피도박테리움 아니말리스(*bifidobacterium animalis*)일 수 있고, 스트렙토코커스는 예를 들어 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*)일 수 있으며, 락토코커스는 예를 들어 락토코커스 락티스 (*Lactococcus lactis*)일 수 있다.

[0052] 또한, 본 발명은 상기 당지질로 이루어지거나 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0053] 본 발명에 따른 당지질은 하기 실시예를 통하여 알 수 있듯이, TNF-α+IFN-γ와 함께 처리함으로서 대장암 세포의 자가 사멸을 유도할 수 있다.

[0054] 본 발명의 일 측면에 따르면, 당지질, TNF-α 및 IFN-γ를 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물이 제공되고, 본 발명의 다른 측면에 따르면, 당지질, TNF-α 및 IFN-γ를 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법이 제공된다.

[0055] 상기 "유효성분으로 포함하는"은 항암 효과를 나타낼 수 있는 것으로, 암세포의 성장을 감소하는 정도의 유효량을 함유하는 것을 의미할 수 있다. 상기 항암 효과는 본 발명의 조성물에 의해 암세포의 자가사멸을 유도하는 것이다. 상기 당지질과 사이토카인 TNF-α 및 IFN-γ는 세포 표면의 수용체에 결합한 후 신호전달과정을 조절함으로써 24 내지 72시간 내에 암세포의 자가사멸을 유도할 수 있다. 상기 항암 효과는 특정 유전자에 대한 결핍(knock out)을 필요로 하지 않기 때문에 부작용이 종래의 항암제에 비해 적으며, 암 치료 기간을 단축 시킬 수 있다.

[0056] 또한, 상기 당지질과 사이토카인 TNF-α 및 IFN-γ은 정상 세포(primary cells)에서는 자가사멸을 유도하지 않기 때문에 종래의 항암제에 비해 부작용이 적다.

[0057] 상기 암은 간암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 직장암, 췌장암 및 혈액암으로 이루어진 군에서 하나 이상일 수 있으나, 이에제한되는것은아니다.

[0058] 상기 당지질은 그람 양성 세균의 세포벽 성분인 리포테이코익산에서 유래될 수 있고, 그람양성세균은 유산균, 병원균 내지 중간균을 포함한다. 특히, 상기 유산균은 락토바실러스 (*Lactobacillus*), 비피도박테리움(*Bifidobacterium*), 스트렙토코커스 (*Streptococcus*), 락토코커스 (*Lactococcus*)속일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0059] 상기 TNF-α 및 IFN-γ는 면역세포에서 분비되는 사이토카인이다. 상기 IFN-γ는암세포의자가사멸에필요한 caspase 유전자의 발현을 증가시키고, 상기 TNF-α는 caspase 단백질의 연속적인 활성을 유도한다. 종래의 연구에서 상기 TNF-α와 IFN-γ처리에도불구하고완전한세포 사멸을 보이지 않았는데, 이는 Bcl2와 같은 anti-apoptotic factor가 암세포의 자가사멸을 억제하기 때문이다. 그러나 본 발명에서 상기 당지질은 anti-apoptotic factors의 발현 억제를 유도하여 TNF-α와 IFN-γ에의한세포의자가사멸을유도시킬수 있다. 상기 당지질에 의한 Bcl2의 발현억제는 primary 세포주인 CCD18co에서는 발생하지 않으며, 그 결과 당지질과, TNF-α 및 IFN-γ 조합에의한 세포 사멸이 정상세포에서는 발생하지 않는다.

[0060] 상기 TNF-α 및 IFN-γ의 농도는 각각 1ng/mL 이상일 수 있고, 바람직하게는 상기항암용 조성물이 상기 당지질 100 μg/mL 이상, 상기 TNF-α5 ng/mL 이상, 및 IFN-γ 5 ng/mL 이상을 포함할 수 있다. 상기 TNF-α 및 IFN-γ의 농도가 각각 1ng/mL 미만인 경우 암세포의 자가사멸을 억제하는 효과가 구현되지 않을 수 있고,대상체의 특성이나 건강 상태를 고려하여 각 성분의 농도 상한선을 결정할 수 있다.

[0061] 상기 당지질, TNF-α 및 IFN-γ은 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여될 수 있고, 상기 당지질, TNF-α 및 IFN-γ은 체내에서 공동 작용을 통해 항암 활성을 나타낼 수 있다.

[0062] 통상적으로 상기 당지질, TNF-α 및 IFN-γ은 조성물로서 동시에 투여되는 것이 일반적일 것이나, 시차를 두고 상기 각 유효성분이 인체에 투여되더라도 개별적으로 투여된 각 유효성분이 체내에서 동시에 작용함으로써 동등한 수준의 암 예방 및 치료용 약학 조성물이 제공된다.

[0063] 상기 "예방"은 병리학적 현상의 발생 빈도 또는 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다. 예방은 완전할 수 있으며 또는 부분적일 수도 있다. 이 경우에는 개체내의 발암 증상이 상기 조성물을 사용하지 않은 경우와 비교하여 감소하는 현상을 의미할 수 있다.

[0064] 상기 "치료"는 치료하고자 하는 대상 또는 세포의 천연 과정을 변경시키기 위하여 임상적으로 개입하는 모든 행위를 의미하며, 임상병리 상태가 진행되는 동안 또는 이를 예방하기 위하여 수행할 수 있다.

[0065] 목적하는 치료 효과는 질병의 발생 또는 재발을 예방하거나, 증상을 완화시키거나, 질병에 따른 모든 직접 또는 간접적인 병리학적 결과를 저하시키거나, 전이를 예방하거나, 질병 진행 속도를 감소시키거나, 질병 상태를 경감 또는 일시적 완화시키거나, 예후를 개선시키는 것을 포함할 수 있다.

[0066] 상기 조성물은 경구적 전달, 비경구적 전달의 형태로 투여될 수 있다. 상기 조성물은 전신 또는 국소투여 될 수 있으며, 상기 투여는 경구 투여 및 비경구 투여를 포함할 수 있다. 상기 조성물은 적절한 투여 형태를 제공하도록 적합한 양의 약학적으로 허용되는 비히클 또는 담체와 함께 제형화될 수 있다.

[0067] 상기 조성물은 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형

제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘포스페이트, 칼슘실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘스테아레이트 또는 광물유를들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0068] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제및멸균주사용액의형태로제제화하여사용할수 있다.

[0069] 경구투여를 위한 고형제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 사용될 수 있고, 상기 고형제제는 상기 화합물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제, 예컨대, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스, 락토오스, 또는 젤라틴등을 혼합하여 조제할 수 있다. 또한, 상기 부형제 이외에 마그네슘스티레이트, 탈크같은 윤활제가 사용될 수 있다.

[0070] 경구투여를 위한 액상제제는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제등이 사용될 수있고, 단순 희석 제인물, 리퀴드파라핀 외에 여러가지 부형제, 예컨대 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제등이 사용될 수 있다.

[0071] 비 경구투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 사용될 수 있다. 상기 비수성용제, 현탁제는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과같은 식물성기름, 에틸올레이트와같은 주사 가능한 에스테르가 사용될 수 있다. 상기 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이사용될 수 있다.

[0072] 상기 조성물은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험비율로 질환을 치료하기에 충분한 약학적으로 유효한 양이 투여될 수 있으며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0073] 상기 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수있고 종래의 치료제와 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0074] 상기 암의 예방 또는 치료를 목적으로 하는 개체이면 특별히 한정되지 않고, 어떠한 개체이든 적용가능하다. 예컨대, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등과 같은 비인간 동물 및 인간 등 어느 개체에나 적용할 수 있으며, 투여의방식은당업계의통상적인방법이라면제한없이포함한다.

[0075] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 암 예방 및 개선용 건강기능식품이 제공된다.

[0076] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.

[0077] 상기 건강기능식품은 통상의 식품첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의 약품안정처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반 시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다.

[0078] 상기 식품첨가물공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가 알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제등의 혼합제제류를 들 수 있다.

[0079] 상기 건강기능식품은 암의 예방 또는 개선을 위한 식품 및 음료 등에 이용할 수 있다. 예컨대, 각종식품류, 음료, 껌, 차, 비타민복합제, 건강기능성보조식품, 식품첨가제등에사용될수 있다.

[0080] 상기 건강기능식품은 암의 예방 또는 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캅셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.

[0081] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 상기화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.

[0082] 상기 캅셀 형태의 건강기능식품 중 경질캅셀제는 통상의 경질캅셀에 상기 화합물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질캅셀제는 상기 화합물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴등 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨등의 가소제, 착색제, 보존제등을 함유할 수 있다.

[0083] 상기 환형태의 건강기능식품은 상기화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수 도있다.

[0084] 상기 과립형태의 건강기능식품은 상기 화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제등을 함유할 수 있다.

[0085] 또한, 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.

[0086] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물이 제공된다.

[0087] 상기 "항암 보조제"는 항암제의 항암 효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있는 제제를 의미한다. 예컨대, 상기 항암 보조제는 항암제와 함께 사용될 경우, 상기 항암제의 항암 효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있다.

[0088] 다른 예로서, 농도의존적인 항암 활성을 나타내는 제제를 그 자체로는 항암 활성을 나타내지 않은 수준으로 항암제와 함께 사용할 경우, 상기 항암제의 항암 효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있는 항암 보조제로서 사용할 수 있다.

[0089] 상기 항암보조제는 처리 농도에 따라 항암제 또는 항암보조제로서 사용할 수있으며, 그 자체로는 항암 활성을 나타내지 않는 처리 농도 범위에서 항암 보조제로 사용할 수 있다.

[0090] 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자라면 본 발명의 기재 내용에 기초하여 각구성의 도입 비율 등을 변화시켜 적용할 수 있을 것이며, 상기 변형에도 불구하고 동등한 기술적 효과가 구현되는 경우라면, 본 발명의 기술적 사상에 포괄된다고 할 것이다.

[0092] 이하 실시예를 통해, 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.

[0094] **<실험예>**

[0095] 하기의 실험예는 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는 실험예를 제공하기 위한 것이다.

[0097] **LTA 및 LTA 유래 당지질과 폴리인산글리세롤의 분리·정제**

[0098] LTA의 분리는 기존에 보고된 (Morath, S., A. Geyer, et al. 2001. Structure-function relationship of cytokine induction by lipoteichoic acid from Staphylococcus aureus. J. Exp. Med. 193(3):393-7.) 방법을 참고하여 수행하였다. 100g의 세포 (wet weight)를 0.1 M 구연산나트륨 버퍼 (pH 4.7) 400 ml로 현탁 시킨 후 초음파 처리하여 세포를 파쇄하였다. 동량의 n-부탄올을 첨가하여 30분간 섞어준 후 원심분리를 통하여 LTA가 포함된 수용층을 분리하였다. 15% n-프로판올과 0.1 M 구연산나트륨 버퍼 (pH 4.7)를 첨가하여 LTA 절편을 분리한 후 반투과막을 이용하여 투석하였다. 이후 옥틸-세파로즈 컬럼 CL-4B (2.5 cm x 10 cm)을 이용한 소수성 상호작용 크로마토그래피를 수행하였다. 15% n-프로판올과 0.1 M 아세트산나트륨 버퍼 (pH 4.7)가 포함된 버퍼 200 ml을 이용하여 컬럼을 세척한 후 300 ml의 용출 버퍼 (35% n-프로판올, 0.1 M 아세트산나트륨, pH 4.7)를 이용하여 LTA를 채집하였다. LTA가 포함된 절편은 다시 DEAE-세파로즈 이온교환크로마토그래피(1.5 cm x 10 cm)를 위하여 평형 버퍼 (30% n-프로판올, 0.1 M 아세테이트 버퍼, pH 4.7)를 첨가한 후 컬럼에 충전하였다.

[0099] 300 ml의 일련의 NaCl (0~1 M)이 포함된 평형 버퍼를 이용하여 LTA를 채집하였다. LTA 유래 당지질의 분리는 30 mg의 intact LTA를 500㎖의 98% (v/v) 아세트산 수용액에 녹인 후 30분간 초음파 처리하고 100℃에서 3시간 동안 가열함으로써 수행하였다. vacuum을 이용하여 용매를 제거시킨 후 클로로폼/메탄올/물 (1:1:0.9, v/v/v)을 이용하여 당지질을 분리하였다. 당지질은 유기층에서 추출하였으며, 폴리인산글리세롤은 용매층에서

추출하였다.

[0101] **핵자기공명(NMR) 분광법**

[0102] NMR 실험은 x,y,z-shielded gradient triple resonance 프로브 또는 z-shielded gradient triple resonance cryo 프로브를 갖추고 있는 Avance-600 MHz 와 Avance-800 MHz 고해상도 NMR 분광기를 사용하였다. 10 mg의 LTA를 0.5 ml의 $^{2}H_2O$ 용액에 녹였다. $^{2}H_2O$는 기준 신호(4.75 ppm, ^{1}H)로 사용하였다. Homonuclear assignment는 correlation spectroscopy (COSY), double-quantum filtered correlation spectroscopy (DQF-COSY), total correlation spectroscopy (TOCSY), rotating frame Overhauser enhancement spectroscopy (ROSEY) 스펙트럼으로부터 얻었다. ^{13}C assignment는 heteronuclear multiple-quantum correlation (HMQC)와 heteronuclear multiple-bond correlation (HMBC) 실험에 기초하였다. 모든 스펙트럼은 300K에서 기록하였으며, NMR 데이터는 programs NMRPipe28을 이용하여 처리하였고 Sparky를 사용하여 시각화하였다.

[0104] **당지질의 마일드 알칼리 가수분해(Mild alkaline hydrolysis)**

[0105] 당지질의 mild alkali-labile component를 결정하기 위하여 50 μg의 시료를 200 μl의 0.5 M NaOH을 이용하여 56℃에서 60분간 용해시켰다. 이후 3 N HCl을 이용하여 산성화를 시킨 후 헥산(hexane)과 섞었다. 지방산이 포함되어 있는 상층액을 제거시킨 후 염을 제거하기 위하여 하층액을 건조시켰다. 잔기를 클로로폼/메탄올/물 (8:4:3, v/v) 용액으로 구획시킨 후 원심분리를 통하여 층을 분리하고 상층액을 제거하였다. 다시 염을 제거하기 위하여 하층액을 건조시킨 후 잔기를 클로로폼/메탄올 (1:1, v/v) 용액에 녹인 후 MALDI-TOF MS 분석에 사용하였다.

[0107] **엑소글리코시다아제(Exoglycosidase) 처리**

[0108] 당지질을 0.1% 소듐 타우로데옥시콜레이트를 포함하는 50 μl의 50 mM NH4HCO3 버퍼로 현탁한 후 α-글루코시다아제 (Saccharomyces cerevisiae), β글루코시다아제 (아몬드), α-갈락토시다아제 (커피 생두), 또는 β갈락토시다아제 (E. coli)를 첨가하여 37℃에서 48시간 동안 처리하였다. 이후 클로로폼:메탄올 (1:1, v/v) 1.35 ml과 100 μl의 DW를 첨가하여 층을 분리하고, 하층을 건조 시켜 연계 분석(linkage analysis) 하였다.

[0110] **MALDI-TOF MS**

[0111] 0.5 μl의 당지질 용액을 매트리스 용액(2,5-디하이드록시벤조산 용액, 30 mg/ml in 70% 아세토니트릴/30% 물 [v/v], 0.5 μl)에 첨가한 후 MALDI 프로브에 적용하였다. 정제된 당지질을 직접 또는 O-아세틸레이션 후 MALDI-TOF MS를 통하여 분석하였다. 정제된 당지질을 80℃에서 2시간 동안 피리딘:아세트산무수물 (1:1, v/v) 200 μl로 O-아세틸레이션시켰다. 이후 용매를 제거시킨 후 MALDI-TOF MS로 분석을 수행하였다.

[0113] **플루오린화수소산을 이용한 LTA의 부분적 가수분해**

[0114] 폴리인산글리세롤 백본의 부분적 또는 완벽한 가수분해를 위하여, 1 mg의 LTA를 100 μl의 48% 플루오린화수소산(HF)에 첨가 후 4℃에서 5~48시간 동안 처리하였다. 이후 포화된 리튬 하이드록사이드(LiOH)로 중화시킨 후 원심분리 (12,000 x g, 10 min)를 통하여 침전물을 제거하였다. 상층액을 수집하여 TLC 및 ESI-LIT MS 분석에 사용하였다.

[0116] **가스 크로마토그래피/질량분석법(GC/MS)**

[0117] LTA 가수분해물로부터 단당류 구성을 분석하기 위하여 GC/MS 분석을 수행하였다. Authentic reference compound (갈락토스, 글루코스, 만노스, N-아세틸글루코사민) 또는 LTA 가수분해물 시료를 피리딘에 녹인 후 상온에서 48시간 동안 방치하였다. 50 μl의 트리메틸실릴이미다졸을 첨가한 후 67℃에서 30분간 가열을 하였다.

시료를 200 μl의 클로로폼으로 녹인 후 Finnigan MAT system (가스 크로마토그래피 모델 GCQ, HP19091J- 433)에 적용하였다. 시료를 nonplar capillary column (5% phenyl methyl siloxane capillary 30 m x 250 μm i.d., 0.25 μm film thickness, HP-5)에 적용하였다. 컬럼을 100℃에서 2분간 놓아둔 후 분당 4℃의 속도로 220℃까지 증가시켜 5분간 유지하였다. 이후 분당 15℃의 속도로 300℃까지 증가시켜 5분간 유지하였다. 질량분석계는 85℃의 ion 시료 온도, 65 eV의 전자 에너지, 300 mA의 emission current를 갖는 positive ion chemical ionization mode 하에서 사용되었다. 메탄은 분석 기체(analyte gas)로 사용되었으며 0.5 torr를 유지하였다. 당지질의 지방산구성은 0.1 μg의 트리데칸산을 200 μg의 LTA 시료에 첨가 한 다음 4 N KOH (100℃4 h)로 가수분해시킴으로써 결정하였다. 가수분해물의 pH를 1에 가깝게 만든 후 자유지방산을 클로로폼 (3 times, 1 ml)으로 extract 시킨 다음 N2 gas로 건조시켰다. 건조된 지방산을 아세토나이트릴 (30 μl)로 녹인 후 35% 펜타플루오로벤질 브로마이드 (in 아세토나이트릴) 10 μl와 다이이소프로필에틸아민 (10 μl)로 처리하였다. 용액을 40℃에서 20분간 가열한 후 N2 기체로 건조시켰다. 결과물인 펜타플루오로벤질에스터를 N,O-비스(트리메틸실릴)-트리플루오로아세틸아마이드로 O/N처리하였다. 컬럼은 85℃를 유지하였으며 분당 7℃의 속도로 265℃까지 온도를 상승시킨 후 10분간 유지하였다. 하시드록시 지방산의 양은 베이스 피크 이온의 선택이온검출 방법을 사용하여 결정하였으며 트리데칸산 내위 표준 방법을 사용하여 추출물 손실을 보정하였다.

[0119] **박층크로마토그래피 (TLC)**

[0120] 당지질 분석을 위하여, pre-coated silica gel HPTLC 플레이트 상에서 클로로폼-메탄올-아세트산-물 (100:20:12:5, v/v/v/v)을 이용하여 수행하였다. TLC 상의 당지질은 5% 황산을 처리 후 120℃에서 가열함으로써 검출하였다.

[0121] 인산글리세롤 분석을 위하여, n-부탄올-피리딘-물 (15:30:20, v/v/v)를 이용하여 TLC를 수행하였다. TLC 상에서 알라닌과 당 치환체를 검출하기 위하여 0.5% 닌하이드린 (in 부탄올)과 5% 황산 (in 메탄올)를 각각 사용하였다. 이후 인산글리세롤을 120℃에서 가열함으로써 시각화시켰다. TLC 플레이트로부터 시각화된 spot을 모은 후 메탄올을 사용하여 실리카겔 파우더로부터 시료를 추출하여 MS 분석에 사용하였다.

[0123] **ESI-LIT MS**

[0124] Ultimate 3000 nano LC coupled to a LTQ-Orbitrap hybride linear ion trap 질량 분석계를 이용하여 액체 크로마토그래피-이중질량분석을 수행하였다. 5 μl의 시료를 주입한 후 Ultimate 3000 nano LC를 이용하여 Zorbax 300 Extended-C18 컬럼 (3.5 μm, 0.3 mm i.d x 150 length)에 주입하였다. 이동상 A는 0.1%의 포름산을 포함하는 100% 물이고 이동상 B는 0.1% 포름산을 포함하고 있는 100% 아세토나이트릴이다. 분리는 C_{18} 컬럼을 사용하였다. LC 시스템으로부터 분리된 시료는 electrospray ionization (ESI) technique을 사용하여 분석하였다. 시료 용액은 고압 (5 kV 인산글리세롤 및 4.5 kV 당지질)에서 metal capillary를 통하여 분당 3 μl의 속도로 ion source안으로 주입하였다. Capillary는 180℃를 유지하였으며 sheath gas (at a flow rate of 8 arbitrary)로써 nitrogen을 사용하였다. 분석기기는 negative ion mode에서 작동되었다. ion entrance capillary voltage와 tube lens offset은 -45와 -206 V이다. MSn fragmentation을 위하여 35~37%의normalized collision energy 와 2.5~3 Da의 isolation width를 사용하였다. maximum ion collection 시간은 50 ms로 설정하였으며, 3개의 마이크로스캔을 이용하여 평균값을 구하였다.

[0126] **<실시예 1> LTA 및 LTA 당지질의 구조 분석**

[0127] 리포테이코익산 및 리포테이코익산 당지질의 구조를 분석하기 위하여, ^{1}H, ^{13}C 및 2D-NMR 스펙트럼에 의한 pLTA의 전체적인 구조 규명하였다

[0128] 그 결과, pLTA의 ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 α-D-N-아리틸글루코사민 (GlcNAc)의 아세틸기의 공명 신호(resonance signal)가 chemical shift (δ_H) 2.1인 것으로 보고되었다. 그러나 pLTA의 ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 chemical shift (δ_H) 2.1에서의 피크 모양이 aLTA과는 다르게 나타났다. pLTA의 공진 모양은 aLTA에 비하여보다 넓게 분포하며 자유 아세틸기 (δ_H) 1.9로부터의 신호를 보이지 않았다 (도 1).

[0129] COSY 스펙트럼을 이용하여 분석한 결과 (δ_H) 2.01이 (ɣ-ω)-메틸렌-($-CH_2-$; δ_H 1.28)과 올레핀 양성자(-CH=CH-; δ_H 5.38)와 관련이 있는 것을 확인하였다(도 2).

[0130] 또한, HMQC 스펙트럼 분석 결과 δ_H 2.1에서의 양성자들이 메틸렌(CH_2; δ_C 27)으로부터 할당되었다는 것을 확인하였다(도 3A).

[0131] COSY와 HMQC 스펙트럼 분석에 기초할 때, chemical shift (δ_H) 2.01은 지방산에 있는 알케닐탄소 ($-CH_2-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-$)에 붙어있는 메틸렌의 신호인 것을 확인하였다. 결과적으로 pLTA는 어떠한 GlcNAc 치환체도 인산글리세롤 백본에 가지고 있지 않음을 알 수 있다.

[0132] 불포화 지방산의 존재 역시 δ_H 2.01 ($CH_2-CH=CH$)와 δ_H 5.38 (CH=CH)의 신호의 상호관계를 통하여 규명하였다(도 2). 또한, ^{1}H 및 ^{13}C NMR 스펙트럼의 두 개의 아노머 양성자 신호[δ_H5.08 (d, J=Hz) 및 5.17 (d, J=3 Hz)]와 두 개의 아노머 탄소 신호 [δ_C 96.5 and 97.7 ppm)를 통하여 당지질에 두 개의 당 단위가 존재하는 것을 확인하였다. 당의 측정은 리포테이코익산 가수 분해물의 GC/MS 분석을 통하여 수행하였으며 (도 4) pLTA의 당지질이 글루코스와 갈락토스와 같은 당으로 치환되어져 있는 것을 확인하였다.

[0133] 마지막으로 두 개의 당 단위의 아노머의 J값(J value)은 D-피라노스의 아노머 중심이 α 방향임을 보여주며, δ_H 5.08과 5.17의 신호는 각각 δ_C 96.5와 97.7에서 공명하는 아노머 탄소에 상응하는 α-D-글루코스와 α-D-갈락토스의 아노머 양성자임을 확인하였다(도 3B). 이를 통하여 pLTA의 당지질의 헥소스가 알파 결합으로 연결되어 있음을 알 수 있다.

[0135] **pLTA의 당지질 구조 분석**

[0136] 리포테이코익산의 당지질 시료를 MALDI-TOF MS 방법을 통하여 분석하였다.

[0137] 그 결과, pLTA의 당지질의 질량 스펙트럼은 두 개의 그룹으로 나뉜다 (도 5B). 그룹 I의 이온 신호는 m/z 1103에서 m/z 1227의 범위로 나타났으며, 그룹 II에서는 m/z 1368에서 m/z 1464의 범위에서 나타났다. 그룹 I에 속하는 당지질은 트리헥소실-디아실-글리세롤(Hex3-DAG)로 판명되었는데 C16에서 C22의 아실 사슬을 가지고 있다. 그룹 II의 당지질은 추가적인 헥소스 잔기 또는 아실 사슬을 가지고 있는 것으로 나타났다.

[0138] 또한, 추가적인 헥소스 잔기는 당지질의 O-아세틸화를 통하여 확인하였다 (도 6A). 하이드록실 잔기의 아세틸화는 42 질량 단위의 증가를 유발한다. L. plantarum 리포테이코익산의 그룹 I 당지질은 420 질량 단위 (10 하이드록실 잔기)의 증가를 보였으며 트리헥소스 그룹인 것으로 판명되었다 (도 6B).

[0139] 또한, 그룹 II에 있는 대부분의 당지질이 378 질량 단위 (9 하이드록실 잔기)만큼 증가하였다. O-아세틸화 분석에 따르면, 그룹 II의 당지질은 헥소스 잔기에 추가적인 아실 사슬을 갖는 것을 알 수 있다(도 7).

[0141] 추가적으로, 스펙트럼에서 12 질량 단위의 차이를 보였는데, 이것은 알케닐 탄소의 추가 또는 감소를 의미하는 것으로써 당지질이 불포화 지방산 사슬을 가지고 있다는 것으로 판단할 수 있다. 이러한 가능성은 COSY NMR을 통하여 확인하였다(도 2).

[0142] 따라서, pLTA 당지질의 분자구성에 대한 예측을 표시하였다(도 8). 다음으로 이중 MS 분석을 위하여 ESI-FT MS (음이온 모드)를 이용하여 당지질을 분석하였고(도 9), 이로부터 대표적인 피크를 선택, 분석하여 아실 사슬 분포를 결정하였다(도 10A 및 B).

[0143] 결과적으로, pLTA의 당지질의 구조는 도 9에 나타난 바와 같이 세 개의 헥소스 백본을 가지고 있으며, 불포화 지방산을 포함하는 트리헥소실-다이아실글리세롤(그룹 I)과 트리헥소실-트리아실글리세롤(그룹 II)로 되어 있고, 아실 사슬들은 평균 18개의 탄소수를 갖는 것을 알 수 있다.

[0145] **aLTA의 당지질 구조 분석**

[0146] aLTA의 경우 당지질의 질량 대 전하 (m/z) 비율이 C15에서 C21의 사슬 길이를 갖는 지방산인 것을 확인하였다

(도 5A, 도 11). aLTA의 당지질에서 거의 모든 m/z 신호는 294 질량 단위가 증가되었다. 이것은 7개의 하이드록실 그룹의 아세틸화가 발생하였음을 의미하는 것이고 두 개의 헥소스에 해당한다.

[0147] 결과적으로, aLTA의 당지질은 다이헥소실 그룹을 가지고 있는 것으로 판명되었다. 또한 당지질의 지방산 아실 사슬의 존재는 마일드 알칼리 가수분해를 통하여 확인할 수 있었다(도 12).

[0149] **dLTA, rLTA 및 sLTA의 당지질 구조 분석**

[0150] dLTA, rLTA 및 sLTA의 당지질 부위의 구조 분석을 위하여 MALDI-TOF 분석을 수행하였다. dLTA는 락토바실러스델브르키(*L. delbreukii*), rLTA는 락토바실러스 람노서스 (*L. rhamnosus*), sLTA는 락토바실러스 사케이(*L. sakei*) 유래의 LTA를 각각 나타낸다.

[0151] 그 결과, dLTA 유래 당지질은 pLTA과 마찬가지로 트리헥소실-다이아실글리세롤과 트리헥소실-트리아실글리세롤을 갖는 두 그룹으로 나누어지며, 이외에도 네 개의 아실 사슬을 갖는 세 번째 그룹이 존재하는 것으로 관찰되었고, 아실 사슬의 평균 탄소수는 18개인 것으로 관찰되었다(도 13).

[0152] 또한, rLTA 유래 당지질은 pLTA보다 전체적으로 분자량이 작은 두 그룹으로 관찰되었으며, 당 하나의 분자량이 160 Da이므로 세 개의 헥소스가 아닌 두 개의 헥소스 백본으로 이루어진 다이헥소실-다이아실글리세롤과 다이헥소실-트리아실글리세롤을 갖는 것으로 관찰되었고, 아실 사슬의 평균 탄소수는 15개인 것으로 관찰되었다. sLTA 유래 당지질도 다이헥소실-다이아실글리세롤과 다이섹소실-트리아실글리세롤로서 평균 탄소수가 18개로 아실 사슬의 길이가 rLTA보다 긴 것으로 관찰되었다(도 13).

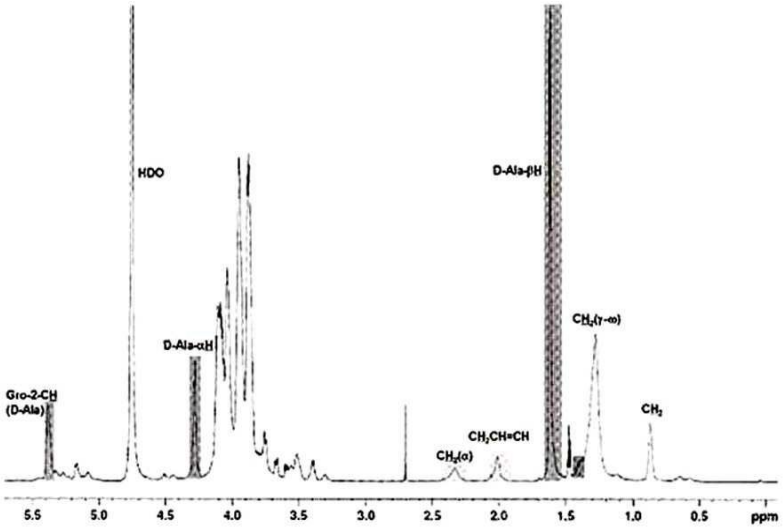
[0154] **<실시예 2> 리포테이코익산 유래 당지질에 의한 대장암 세포의 자가 사멸유도 분석 결과**

[0155] 리포테이코익산은 일반적으로 2~3개의 glucose units을 바탕으로 phosphate chain과 fatty acid chain으로 구성되어 있다. 본 발명에서는 리포테이코익산의 구성 성분 중 어느 부분이 세포의 사멸을 유도하는지에 대한 연구를 수행하였다. 먼저 HT-29 세포(대장암 세포)를 TNF-α+IFN-γ로 처리한 실험군(TI only)과 리포테이코익산에 변형을 주지 않은 LTA를 전 처리한 실험군(intact LTA), 그리고 Tris HCl pH 8.0으로 처리한 후 분리한 당지질을 전 처리한 실험군(glycolipids), 그리고 NaOH를 처리한 후 분리한 phosphate chain을 전 처리한 실험군 간의 세포 사멸 정도를 측정하였다.

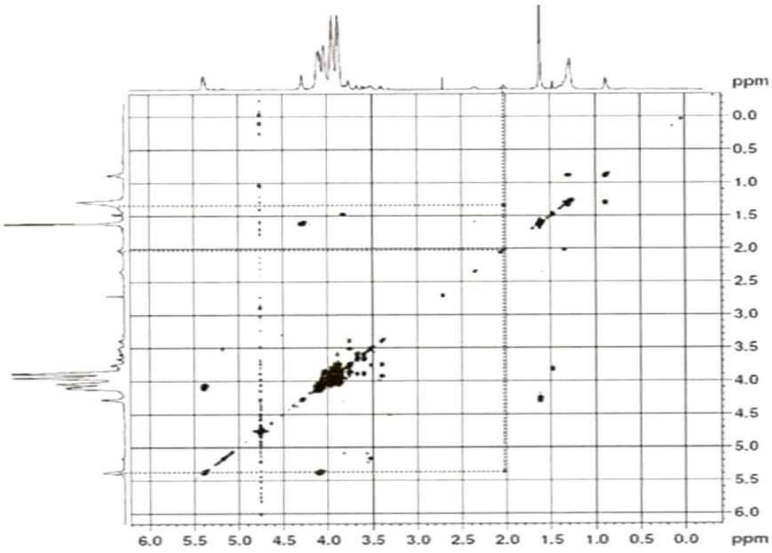
[0156] 그 결과, 실험결과 변형을 가하지 않은 리포테이코익산(intact LTA)의 경우 TNF-α+IFN-γ 대비 세포의 생존율이 크게 감소한 것을 볼 수 있다. 이러한 세포의 사멸은 리포테이코익산의 구성성분 중 당지질 부분이 비슷한 결과를 유도했으며, intact LTA에 비해 항암효능이 더욱 뛰어난 것으로 나타났다. 반면, phosphate chains의 경우 세포의 사멸을 유도하지 못하였다(도 14). 이러한 결과는 리포테이코익산에서 당지질 부분이 암세포의 자가사멸을 유도하는데 있어 중요한 역할을 한다는 것을 의미하며, 한편 이와 유사한 합성 유도체를 개발함으로써 그람양성세균에서 분리하는 리포테이코익산을 대체할 수 있다는 것을 보여준다.

도면

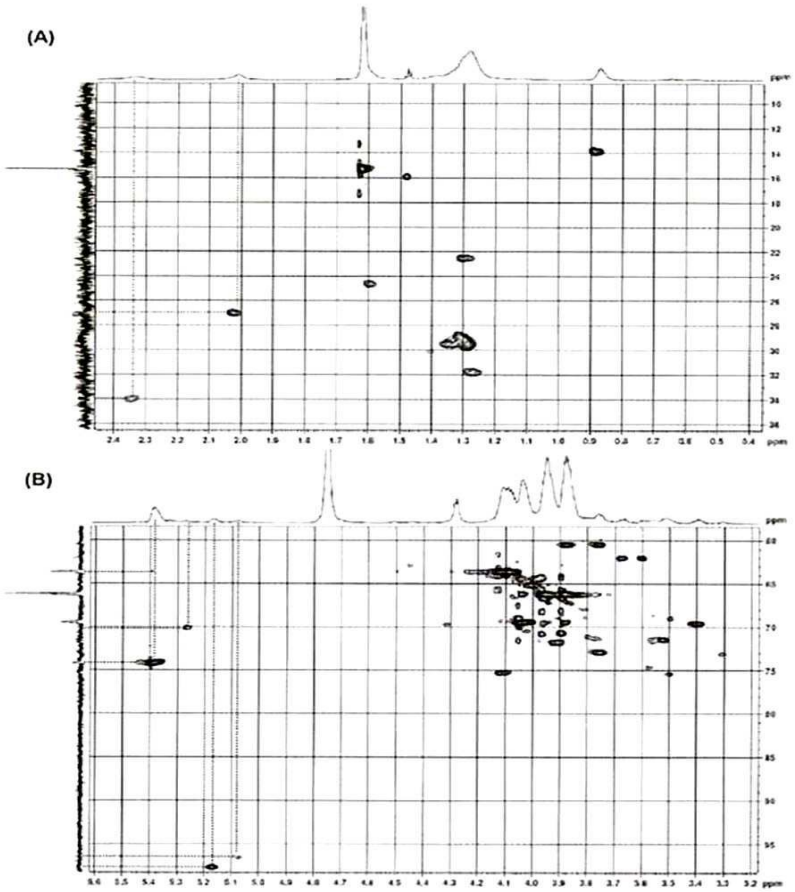
도면1


HDO
D-Ala-βH
D-Ala-αH
Gro-2-CH
(D-Ala)
CH2(γ-ω)
CH2
CH2CH=CH
CH2(ω)
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
ppm

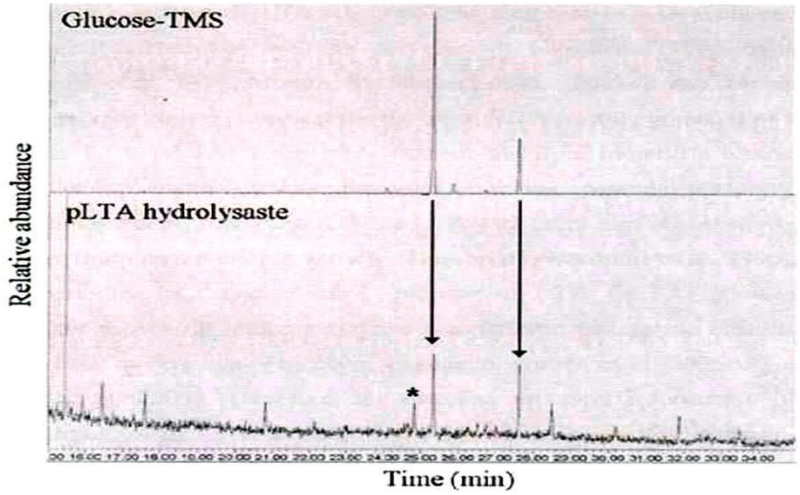
도면2


ppm
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
4.5
5.0
5.5
6.0
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
ppm

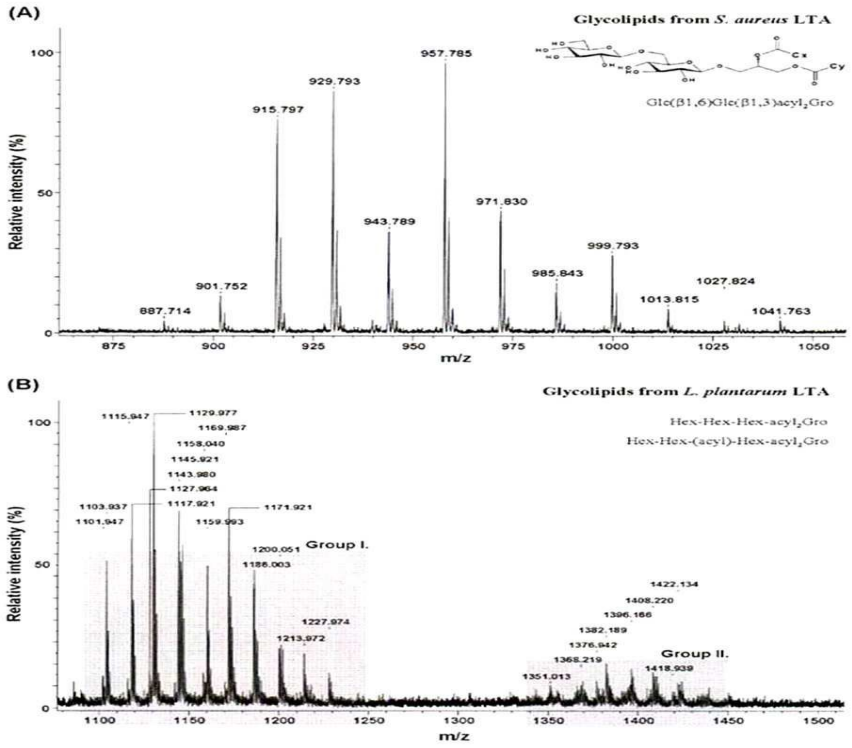
도면3


(A)
(B)

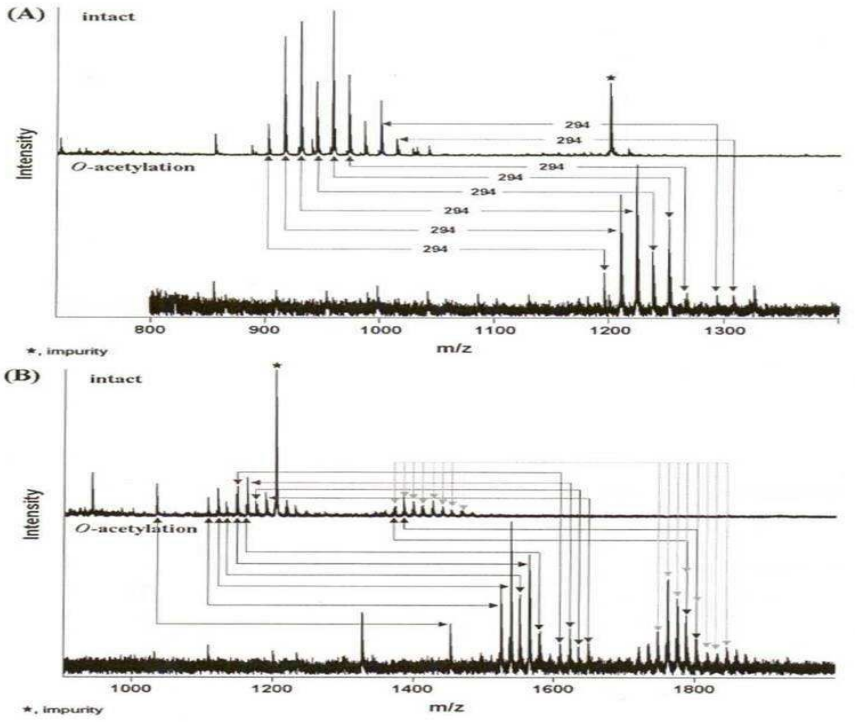
도면4


Glucose-TMS
pLTA hydrolysaste
Relative abundance
Time (min)

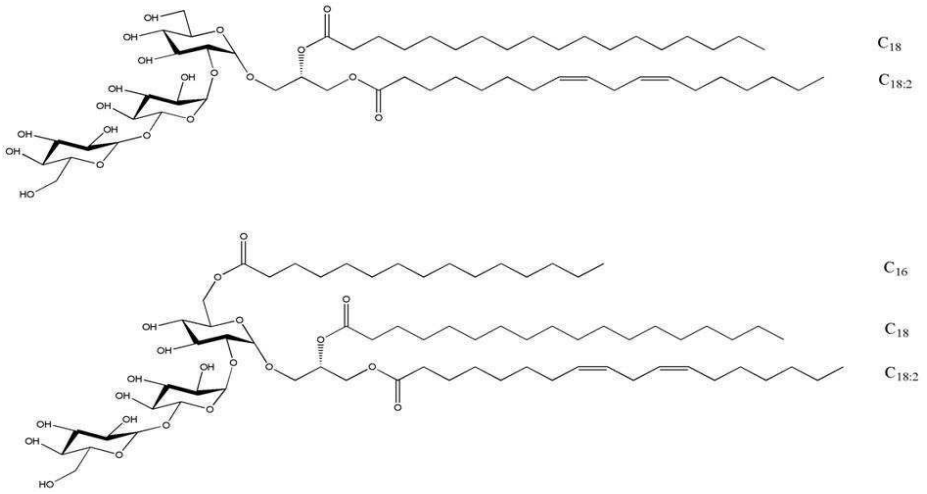
도면5


(A)
Glycolipids from S. aureus LTA
Glc(β1,6)Glc(β1,3)acyl2Gro
Relative intensity (%)
m/z
(B)
Glycolipids from L. plantarum LTA
Hex-Hex-Hex-acyl2Gro
Hex-Hex-(acyl)-Hex-acyl2Gro
Group I.
Group II.
Relative intensity (%)
m/z

도면6


(A)
intact
O-acetylation
294
Intensity
m/z
*, impurity
(B)
intact
O-acetylation
Intensity
m/z
*, impurity

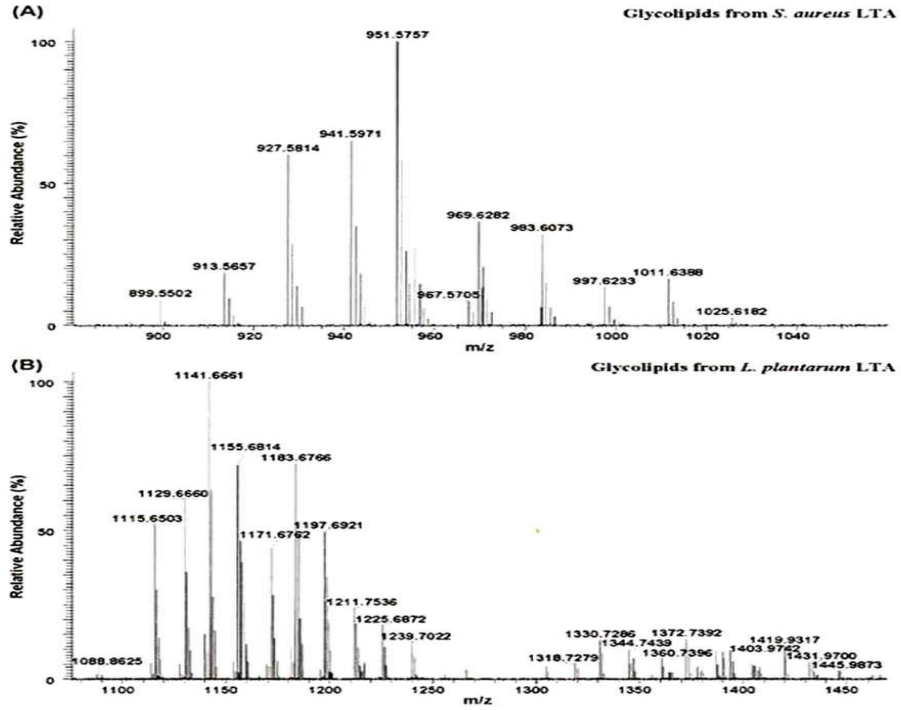
도면7



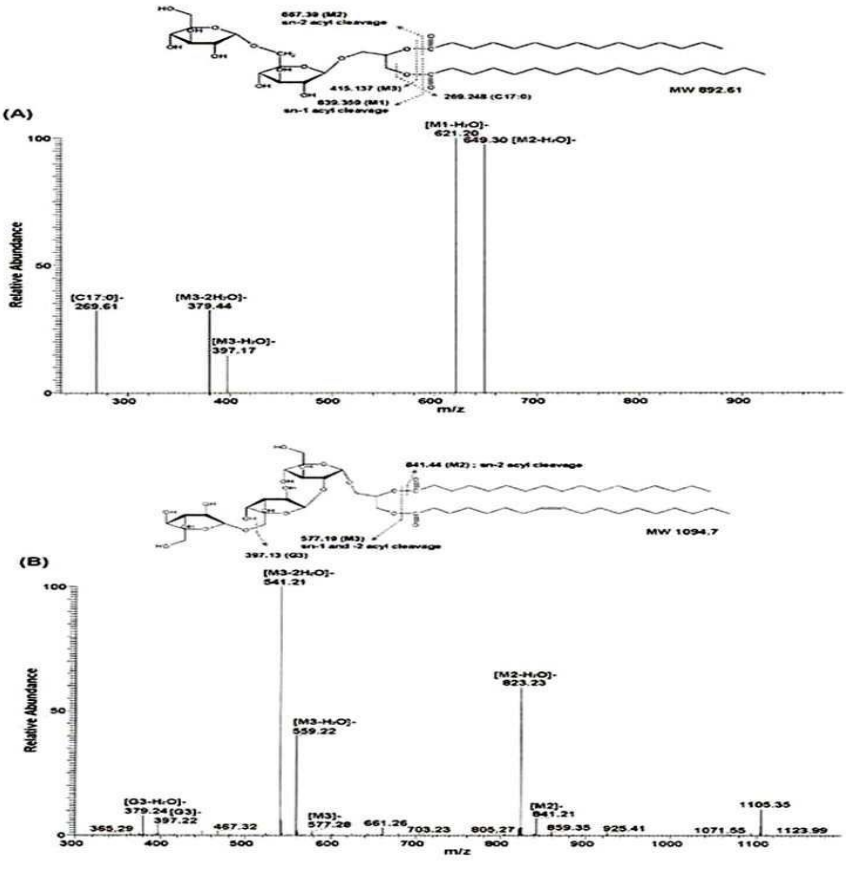
도면8

Calculated molecular mass	Observed molecular mass	Chemical formula	Deduced composition	Possible fatty acid chain length	Mass error (Da)
1103.67	1103.937	$C_{55}H_{100}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{16}/C_{18:1}$	0.267
1117.69	1117.921	$C_{56}H_{102}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{17}/C_{18:1}$	0.231
1129.69	1129.977	$C_{57}H_{102}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{18}/C_{18:2}$	0.287
1143.70	1143.980	$C_{58}H_{104}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{18}/C_{19:2}$	0.280
1145.72	1145.921	$C_{58}H_{106}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{18}/C_{19:1}$	0.201
1157.72	1157.981	$C_{59}H_{106}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{18}/C_{20:2}$	0.261
1159.73	1159.993	$C_{59}H_{108}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{18}/C_{20:1}$	0.263
1171.73	1171.921	$C_{60}H_{108}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{18}/C_{21:2}$	0.191
1185.75	1186.003	$C_{61}H_{110}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{19}/C_{21:2}$	0.253
1199.76	1199.992	$C_{62}H_{112}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{20}/C_{21:2}$	0.232
1213.78	1213.972	$C_{63}H_{114}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{21}/C_{21:2}$	0.192
1215.80	1216.0	$C_{63}H_{116}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{21}/C_{21:1}$	
1227.80	1227.974	$C_{64}H_{116}NaO_{20}$	Hex_3DAG	$C_{21}/C_{22:2}$	0.174
1367.88	1368.124	$C_{72}H_{128}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{18}/C_{18:2}/C_{15:1}$	0.244
1369.90	1370.1	$C_{72}H_{130}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{18}/C_{18:1}/C_{15:1}$	
1381.90	1382.189	$C_{73}H_{130}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{18}/C_{19:2}/C_{15:1}$	0.289
1393.90	1394.2	$C_{74}H_{130}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{18}/C_{20:2}/C_{15:2}$	
1395.91	1396.166	$C_{74}H_{132}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{18}/C_{20:2}/C_{15:1}$	0.256
1407.91	1408.220	$C_{75}H_{132}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{19}/C_{20:2}/C_{15:2}$	0.310
1409.93	1410.3	$C_{75}H_{134}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{19}/C_{20:2}/C_{15:1}$	
1421.93	1422.134	$C_{76}H_{134}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{20}/C_{20:2}/C_{15:2}$	0.204
1423.93	1424.3	$C_{76}H_{136}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{20}/C_{20:2}/C_{15:1}$	
1435.94	1436.3	$C_{77}H_{136}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{20}/C_{21:2}/C_{15:2}$	
1437.96	1438.3	$C_{77}H_{138}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{20}/C_{21:2}/C_{15:1}$	
1449.96	1450.3	$C_{78}H_{138}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{20}/C_{22:2}/C_{15:2}$	
1463.97	1464.3	$C_{79}H_{140}NaO_{22}$	Hex_3TAG	$C_{21}/C_{22:2}/C_{15:2}$	

도면9


(A)
Glycolipids from S. aureus LTA
Relative Abundance (%)
m/z
951.5757
941.5971
927.5814
969.6282
983.6073
913.5657
997.6233
1011.6388
899.5502
967.5705
1025.6182
(B)
Glycolipids from L. plantarum LTA
Relative Abundance (%)
m/z
1141.6661
1155.6814
1183.6766
1129.6660
1115.6503
1197.6921
1171.6762
1211.7536
1225.6872
1239.7022
1088.8625
1330.7286
1372.7392
1344.7439
1419.9317
1403.9762
1318.7279
1360.7396
1431.9700
1445.9873

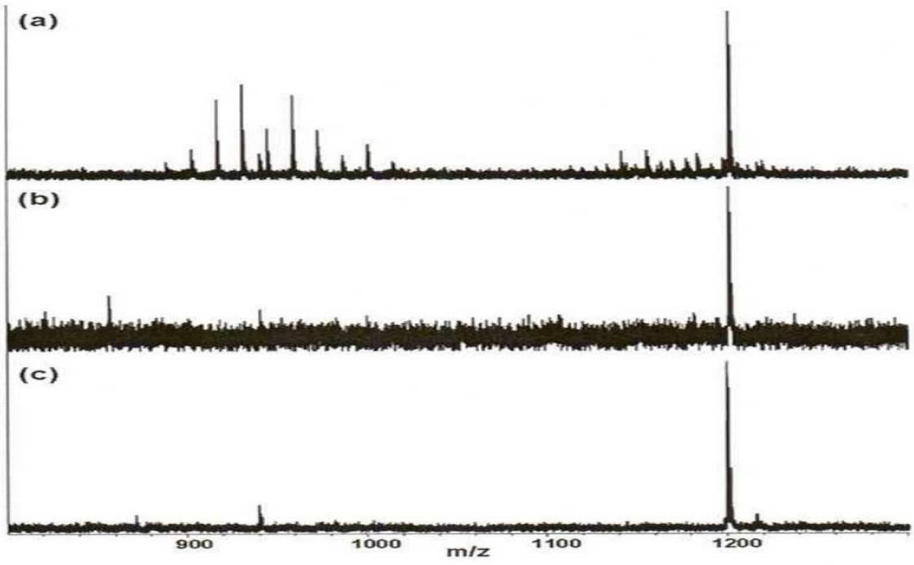
도면10


MW 892.61
(A)
Relative Abundance
m/z
[M1-H2O]-
621.20
649.30 [M2-H2O]-
[C17:0]-
269.61
[M3-2H2O]-
379.44
[M3-H2O]-
397.17
MW 1094.7
(B)
Relative Abundance
m/z
[M3-2H2O]-
541.21
[M2-H2O]-
823.23
[M3-H2O]-
559.22
[M2]-
841.21
1105.35

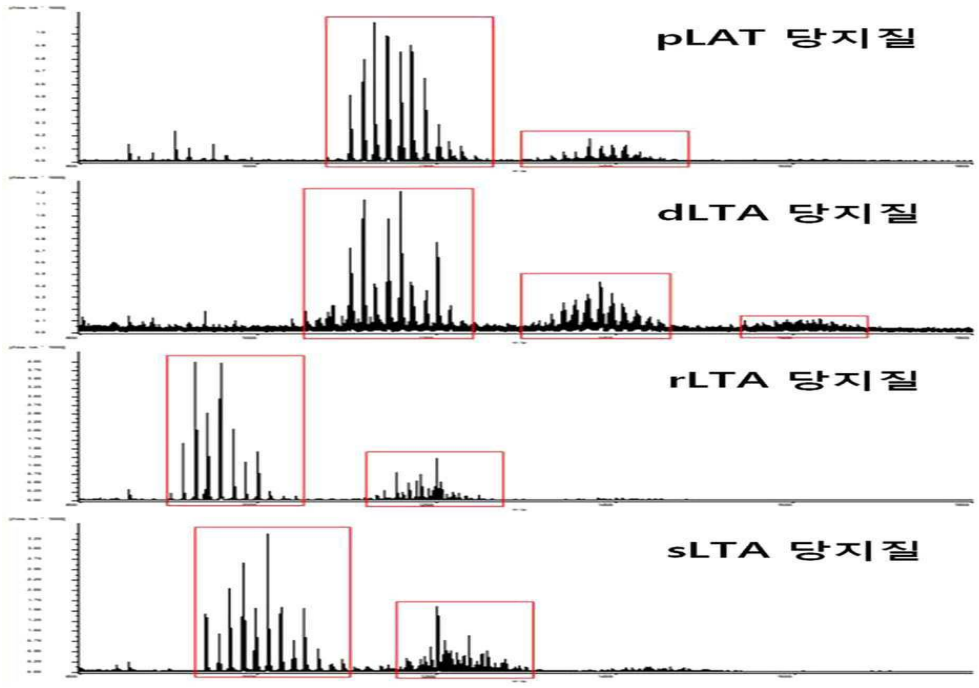
도면11

Calculated molecular mass	Observed molecular mass	Chemical formula	Deduced composition	Possible fatty acid chain length	Mass error (Da)
887.57	887.714	$C_{45}H_{84}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{15}/C_{15}	0.144
901.59	901.752	$C_{46}H_{86}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{15}/C_{16}	0.162
915.60	915.797	$C_{47}H_{88}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{15}/C_{17}	0.197
929.62	929.793	$C_{48}H_{90}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{15}/C_{18}	0.173
943.63	943.789	$C_{49}H_{92}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{16}/C_{18}	0.159
957.65	957.785	$C_{50}H_{94}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{17}/C_{18}	0.135
971.66	971.830	$C_{51}H_{96}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{18}/C_{18}	0.170
985.68	985.843	$C_{52}H_{98}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{18}/C_{19}	0.163
999.70	999.793	$C_{53}H_{100}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{18}/C_{20}	0.093
1013.71	1013.815	$C_{54}H_{102}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{19}/C_{20}	0.105
1027.73	1027.824	$C_{55}H_{104}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{20}/C_{20}	0.094
1041.74	1041.818	$C_{56}H_{106}NaO_{15}$	Hex_2DAG	C_{20}/C_{21}	0.078

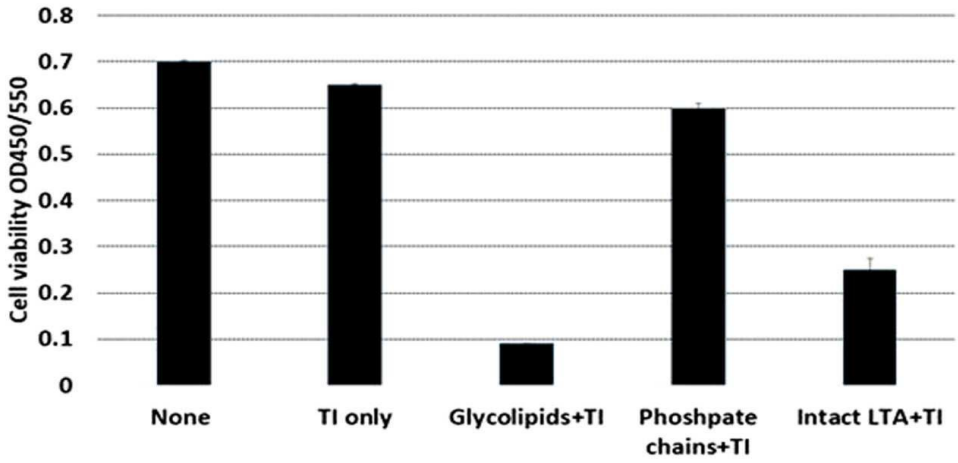
도면12



도면13


pLAT 당지질
dLTA 당지질
rLTA 당지질
sLTA 당지질

도면14


Cell viability OD450/550
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
None
TI only
Glycolipids+TI
Phoshpate chains+TI
Intact LTA+TI