

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0070762

(43) 공개일자 2025년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/192 (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)*A61P 11/06* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2023.05)*A23L 33/10* (2022.01)

(21) 출원번호 10-2023-0156975

(22) 출원일자 2023년11월14일

심사청구일자 2023년11월14일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

임동순

서울특별시 광진구 광나루로 410, 1307호 (화양동)

(74) 대리인

특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 10 항

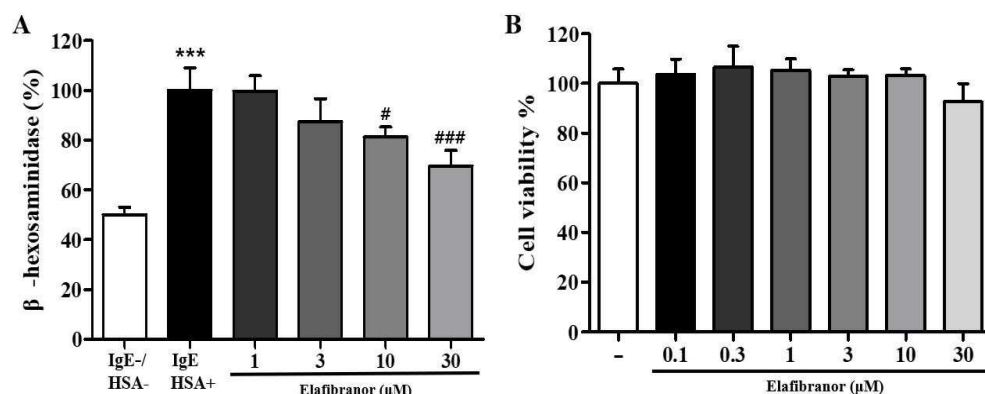
(54) 발명의 명칭 엘라피브라노를 함유하는 천식 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 엘라피브라노(Elafibranor)의 신규한 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 엘라피브라노 또는 이의 약학적/식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 천식 예방, 개선 또는 치료용 약학 조성물 및 건강기능식품 조성물을 제공한다.

상기 조성물은 시험관 내 세포독성 없이 비만 세포에서 항원 유도 탈과립을 억제하고, 난(卵)알부민(OVA)으로 유도된 알레르기성 천식 마우스에서 기도 과민성을 억제하며, 기관지 기도에서 OVA에 의한 폐염증 및 뮤신 과생성을 억제하고, 천식 유발 사이토카인의 발현을 억제하는 바, 이를 이용하여 효과적으로 천식 질환을 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 11/06 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/314 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711184523
과제번호	2023R1A2C2002380
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	류마티스 관절염 치료조절자로서 리피드 G단백질연결수용체와 Th17 분화조절
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은,

비만세포에서 항원 유도 탈과립을 억제하는 것을 특징으로 하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은,

기도 과민성, 폐 염증 또는 무신 과생성을 억제하는 것을 특징으로 하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은,

IL-4, IL-13, IFN- γ 및 IL-17A로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 천식 유발 사이토카인의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은,

혈청 면역글로불린 E (IgE)의 역가를 억제하는 것을 특징으로 하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은,

경구제 또는 비강이나 구강 스프레이 제형인 것을 특징으로 하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 천식 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 기도 과민증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 기도 과민증 예방

또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 10

엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 류신 과분비 억제용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 엘라피브라노의 천식 질환에 대한 치료 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 천식(asthma)이란, 폐 속에 있는 기관지가 아주 예민해진 상태로, 때때로 기관지가 좁아져서 숨이 차고 가랑가랑하는 숨소리가 들리면서 기침을 심하게 하는 증상을 나타내는 병을 말하는데, 기관지의 알레르기 염증 반응 때문에 발생하는 알레르기 질환이다. 이런 증상들은 반복적으로, 발작적으로 나타나며 유전적 요인과 환경적 요인이 합쳐져서 나타난다. 공기가 흐르는 길인 기관지의 염증으로 기관지 점막이 부어오르고 기관지 근육이 경련을 일으키면서 기관지가 막혀서 숨이 차게 된다.

[0003] 선진국에서는 어린이와 청소년의 알레르기성 천식의 유병률이 증가하는 추세이다. 천식은 만성적인 염증과 호흡기의 리모델링의 특징을 가지고 있으며, 이 과정은 천식의 발달에 있어 면역세포에 의해 유발되는 주요한 발병 기전이다. 특히, 천식의 만성기에는 Th2 면역반응 뿐만 아니라 Th1과 Th17 면역반응이 혼재하여 상호 연결되어 있고, 알레르겐 유도 기도 과민반응 (airway hyperreactivity; AHR)과 류신의 과생성에 이어 기도벽 리모델링이 진행된다.

[0004] 현재 치료법은 국소 흡입 스테로이드와 장기간 작용하는 β_2 작용제 및 경구 복용 류코트리엔 경로 차단제를 사용하는 것이다. 하지만, 천식은 만성적이고 재발이 많은 질환이라 꾸준한 치료를 필요로 하고, 중증 천식은 기존 스테로이드계열의 항 천식 치료제에 저항성을 가지고 있기에, 보다 부작용이 적고 보다 효과적인 치료제가 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2015-0000110호 (2015.01.02. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 엘라피브라노의 신규한 용도를 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0008] 본 발명은 엘라피브라노 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 천식 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0009] 본 발명은 엘라피브라노 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 기도 과민증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 본 발명은 엘라피브라노 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 기도 과민증 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 엘라피브라노 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 뮤신 과분비 억제용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명에 따른 엘라피브라노 또는 이의 약학적/식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 조성물은 시험관 내 세포독성 없이 RBL-2H3 비만 세포에서 항원 유도 탈과립을 억제하고, 난(卵)알부민(OVA)으로 유도된 알레르기성 천식 마우스에서 기도 과민성을 억제하며, 기관지 기도에서 OVA에 의한 폐염증 및 뮤신 과생성을 억제하고, 혈청에서 OVA에 의한 면역글로불린 E의 증가와 기관지 폐포 세척액(BALF)에서의 IL-13 등 천식 유발 사이토카인의 발현을 억제하는 바, 천식 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 약학 조성물 또는 건강기능식품 조성물로 활용할 수 있다.

[0013] 더불어, 본 발명에 따른 엘라피브라노 또는 이의 약학적/식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 조성물은 기도 과민성, 뮤신 과생성 억제 효과를 이용한, 이와 관련된 질환의 예방 또는 치료 용도에도 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 엘라피브라노의 RBL-2H3 비만세포 탈과립 억제 효과를 확인한 것으로, (A)는 엘라피브라노의 처리에 따른 베타-헥소사미니다아제의 활성을 나타낸 것이고, (B)는 엘라피브라노 처리에 따른 세포 생존율 분석 결과이며, 이 결과는 세 번의 독립적인 실험의 평균 $\pm$ 표준 오차로 표시하였다 ($\#p < 0.05$, $\#\#p < 0.01$ vs. HSA-처리군).

도 2는 난알부민(OVA) 유발 쥐 천식 모델에서 엘라피브라노 처리에 따른 메타콜린 기도 과민반응을 확인한 것으로, (A)는 실험 시간 과정의 개략도이고, (B)는 엘라피브라노 처리 및 메타콜린 농도 변화에 따른 기도저항증가량 (Penh) 값을 나타낸 것이다 ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$ vs. PBS-처리군, $\#p < 0.05$, $\#\#p < 0.01$ vs. OVA-처리군).

도 3은 엘라피브라노의 OVA 유발로 증가한 기관지 폐포 세척액 (BALF) 면역세포 수 억제 효과를 확인한 것으로, (A)는 OVA 유발 BALF 세포를 염색하여 계수한 것이고, (B)는 BALF의 총 세포수, 호산구 (eosinophils) 및 대식세포 (macrophages)의 변화를 나타낸 그래프, (C)는 BALF의 림프구 변화를 나타낸 그래프이다 ($***p < 0.001$ vs. PBS-처리군, $\#\#p < 0.01$, $###p < 0.001$ vs. OVA-처리군).

도 4는 엘라피브라노의 폐 형태 변화 및 염증 억제 효과를 확인한 것으로, (A)는 폐 조직의 H&E 염색 이미지로, 기관지 주변의 작은 남색 점들로 표시된 호산구가 PBS 군에서는 거의 관찰되지 않은 반면, OVA 군에서는 기관지 주변에 광범위하게 축적됨을 확인할 수 있다 (녹색 화살표). (B)는 폐 조직의 PAS 염색 이미지로, 보라색으로 염색된 뮤신이 OVA 군에서 더 많이 관찰됨을 확인할 수 있다. (C)는 폐 염증을 반정량적으로 평가한 것이고, (D)는 점액 생성을 평가한 것이다 ($***p < 0.001$ vs. PBS-처리군, $\#\#p < 0.01$, $###p < 0.001$ vs. OVA-처리군).

도 5는 엘라피브라노의 BALF 세포에서 사이토카인 발현 억제 효과를 확인한 것으로, (A)는 IL-4, (B)는 IL-13, (C)는 IFN- γ 및 (D)는 IL-17A의 상대적인 mRNA 수준을 나타낸 것이다 ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ vs. the PBS-처리군, $\#p < 0.05$, $\#\#p < 0.01$, $###p < 0.001$ vs. OVA-처리군).

도 6은 엘라피브라노의 BALF 세포에서 IL-13 수준 및 혈청의 IgE 억제 효과를 확인한 것으로, (A)는 BALF 세포의 IL-13, (B)는 혈청의 IgE 단백질 수준을 측정된 결과이다 ($***p < 0.001$ vs. PBS-처리군, $\#p < 0.05$, $\#\#p < 0.001$ vs. OVA-처리군).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 이하, 본 발명을 상세하게 설명하기로 한다.

[0017] 본 발명자는 중래 비만 환자의 비알코올성 지방간의 잠재적 약물 후보 물질이었던 엘라피브라노가 알레르기성 천식 유도 세포 및 동물 실험에서 항 천식 활성을 가짐을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0019] 본 명세서에서, "예방"이란, 본 발명에 따른 약학 조성물, 또는 건강기능식품 조성물의 투여에 의해 천식, 또는 이의 적어도 하나 이상의 증상의 발생을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 또한, 재발을

예방하거나 방지하기 위해 상기 질병에 차도가 있는 대상의 치료를 포함한다.

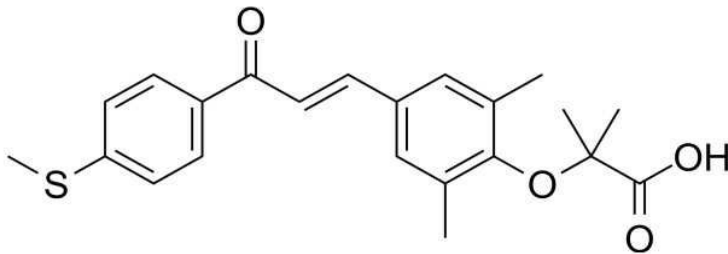
[0020] 본 명세서에서, "치료"란, 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여에 의해 천식, 또는 이의 적어도 하나 이상의 증상을 완화, 감소, 또는 소멸시키는 등 그 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0021] 본 명세서에서, "개선"이란, 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물의 투여에 의해 천식, 또는 이의 적어도 하나 이상의 증상을 완화, 감소, 또는 소멸시키는 등 그 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0023] 본 발명은 엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 천식 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0024] 본 명세서에서, "엘라피브라노(Elafibranor)"는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물로, 당뇨병, 인슐린 저항성, 이상지질혈증 및 비알코올성 지방간 질환(NAFLD)을 포함한 심장 대사 질환 치료의 후보 물질이었으나, 2020년 RESOLVE-IT 연구 중간 데이터에서 1차 목표점을 달성하지 못해 개발이 중단된 실험 약물이다:

[0025] <화학식 1>



[0026]

[0028] 상기 엘라피브라노는 당업계에서 잘 알려진 방법으로 합성될 수 있고, 시판중인 것을 선택하여 사용할 수 있으나, 그 방법 또는 물질은 특별히 한정되지 않는다.

[0030] 상기 엘라피브라노는 이와 동일한 효능을 갖는 범위 내에서 약학적 또는 식품학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있다.

[0031] 본 명세서에서, "약학적 또는 식품학적으로 허용가능한"이란, 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없어, 인간에게 투여하기에 적합한 안전성 및 효능 프로파일을 갖는 염을 의미한다.

[0032] 상기 염은 약학적 또는 식품학적으로 허용가능한 염기성 염 또는 산성염 중 어느 하나의 형태로 사용할 수 있다. 염기성염은 유기 염기염, 무기 염기염 중 어느 하나의 형태로 사용할 수 있으며, 나트륨염, 칼륨염, 칼슘염, 리튬염, 마그네슘염, 세슘염, 아미늄염, 암모늄염, 트리에틸아미늄염 및 피리디늄염으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0033] 산성염은 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 아황산, 인산, 이중 인산, 질산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 말레인산, 말산, 푸마르산, 글루코산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 캄페설폰산, 옥살산, 말론산, 글루타릭산, 아세트산, 글리콘산, 석신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 시트르산, 아스파르탄산, 스테아르산 등을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않고 당업계에서 통상적으로 사용되는 다양한 무기산 및 유기산을 이용하여 형성되는 염이 모두 포함될 수 있다.

[0034] 또한, 상기 엘라피브라노는 상기의 염 뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물, 용매 화물, 유도체 등을 모두 포함할 수 있다. 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있고, 수산화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹여 과량의 유기염기를 가하거나 무기염기의 염기 수용액을 가한 후 침전시키거나 결정화시켜서 제조할 수 있다. 또는 이 혼합물에서 용매나 과량의 염기를 증발시킨 후 건조시켜서 부가염을 얻거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.

- [0036] 본 발명에 따른 조성물은 비만세포에서 항원 유도 탈과립을 억제함으로써 알레르기 매개 물질 방출을 조절할 수 있다.
- [0037] 본 발명에 따른 조성물은 기도 과민성 (airway hyperreactivity; AHR), 폐 염증 또는 류신의 과생성을 억제할 수 있다.
- [0038] 더불어, 본 발명에 따른 조성물은 천식 유발 사이토카인의 발현을 억제할 수 있고, 혈청 면역글로불린 E (IgE) 의 역가를 억제할 수 있다. 상기 천식 유발 사이토카인은 IL-4 및 IL-13의 Th2-염증성 사이토카인 또는 IFN- γ 및 IL-17A의 Th1/Th17 사이토카인을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 상기 엘라피브라노는 상기 조성물 내 1 내지 20 mg/kg 용량으로 포함될 수 있고, 상기 범위로 포함될 때 우수한 항 천식 효과를 나타내는 바, 상기의 범위가 바람직하다.
- [0041] 상기 천식은 기관지성 천식, 알러지성 천식, 아토피형 천식, 비아토피형 천식, 운동유발 천식, 아스피린 천식, 심인성 천식 또는 폐포성 천식일 수 있고, 바람직하게는 알러지성 천식일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 본 명세서에서, "약학 조성물"이란, 특정한 질환의 예방 또는 치료 목적을 위해 투여되는 조성물로, 본 발명의 목적상 천식, 또는 이의 적어도 하나 이상의 증상을 예방하거나 또는 치료하기 위해 투여되는 것을 의미한다
- [0044] 본 발명에 따른 약학 조성물은 약학적 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다. 상기 약학 조성물은 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 적절한 담체와 배합될 수 있고, 필요에 따라, 부형제, 희석제, 분산제, 유화제, 완충제, 안정제, 결합제, 붕해제, 용제 등을 더 포함하여 제조될 수 있다. 상기 적절한 담체 등은 본 발명에 따른 엘라피브라노 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 활성 및 특성을 저해하지 않는 것으로, 투여 형태 및 제형에 따라 달리 선택될 수 있다.
- [0045] 본 발명에 따른 약학 조성물은 어떠한 제형으로도 적용될 수 있고, 보다 상세하게는 통상의 방법에 따라 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 비경구형 제형으로 제형화하여 사용될 수 있고, 바람직하게는 경구형 제형 또는 비강이나 구강 스프레이 제형으로 제형화될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0046] 상기 경구형 제형 중 고형 제형은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등의 형태로, 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스, 락토오스, 솔비톨, 만니톨, 셀룰로오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있고, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 포함될 수 있다. 또한, 캡슐제형의 경우 상기 언급한 물질 외에도 지방유와 같은 액체 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 경구형 제형 중 액상 제형은 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0047] 상기 비경구 제형은 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 이에 제한되지 않고, 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제를 모두 사용 가능하다.
- [0049] 본 발명에 따른 약학 조성물에 있어서, 상기 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다.
- [0050] 본 명세서에서, "약학적으로 유효한 양"이란, 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미한다.
- [0051] 상기 약학 조성물의 유효 용량 수준은 사용 목적, 환자의 연령, 성별, 체중 및 건강 상태, 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 달리 결정될 수 있다. 예를 들어, 일정하지는 않지만, 일반적으로 0.001 내지 1000mg/kg으로, 바람직하게는 0.01 내지 100mg/kg을 일일

1회 내지 수회 투여될 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

- [0053] 본 발명에 따른 약학 조성물은 천식이 발생할 수 있는 임의의 동물에 투여할 수 있고, 상기 동물은 예를 들어, 인간 및 영장류뿐만 아니라 소, 돼지, 말, 개 등의 가축 등을 포함할 수 있다.
- [0054] 본 발명에 따른 약학 조성물은 제제 형태에 따른 적당한 투여 경로로 투여될 수 있고, 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다. 투여 방법은 특히 한정할 필요 없이, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피부 도포, 호흡기내 흡입, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사 등의 통상적인 방법으로 투여될 수 있다.
- [0055] 본 발명에 따른 약학 조성물은 천식의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로 사용될 수 있고, 수술 또는 다른 약물 치료 등과 병용하여 사용될 수 있다.
- [0057] 본 발명은 엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 천식 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0058] 이에 상응하는 특징은 상술한 부분에 대신할 수 있다.
- [0060] 본 명세서에서, "건강기능식품"이란, 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 포함하며, 영양 공급 외에도 본 발명의 목적상 천식, 또는 이의 일 증상의 예방, 생체 방어, 면역, 회복 등의 생체 조절 기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료 효과가 높은 식품을 의미한다.
- [0062] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물에 있어서, 상기 건강기능식품은 천식의 예방 또는 개선 목적으로, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료 등으로 제조될 수 있다. 상기 건강기능식품이 취할 수 있는 형태에는 제한이 없으며, 상기 약학 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가될 수 있다.
- [0063] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물에 있어서, 상기 건강기능식품은 통상적인 의미의 식품을 모두 포함할 수 있다. 예를 들어, 음료 및 각종 드링크, 과일 및 그의 가공식품(과일통조림, 잼 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(햄, 베이컨 등), 빵류 및 면류, 쿠키 및 스낵류, 유제품(버터, 치즈 등) 등이 가능하며, 통상적인 의미에서의 기능성 식품을 모두 포함할 수 있다. 또한, 동물을 위한 사료로 이용되는 식품도 포함할 수 있다.
- [0065] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 식품학적으로 허용 가능한 식품 첨가제(식품 첨가물) 및 적절한 기타 보조 성분을 더 포함하여 제조될 수 있다. 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정할 수 있다. 상기 '식품첨가물공전'에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합 제제류 등을 들 수 있다.
- [0066] 상기 기타 보조 성분은 예를 들어, 향미제, 천연 탄수화물, 감미제, 비타민, 전해질, 착색제, 펙트산, 알긴산, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다. 특히, 상기 천연 탄수화물로는 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜을 사용할 수 있으며, 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.
- [0068] 본 발명에 따른 건강기능식품에 함유된 상기 엘라피브라노의 유효 용량은 천식의 예방 또는 개선 등 그 사용 목

적에 따라 적절하게 조절될 수 있다.

- [0069] 상기 건강기능식품 조성물은 식품을 원료로 하여 일반 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 천식의 예방 또는 개선을 위한 보조제로 섭취될 수 있다.
- [0071] 본 발명은 엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 기도 과민증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0072] 본 발명은 엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 기도 과민증 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0073] 이에 상응하는 특징은 상술한 부분에 대신할 수 있다.
- [0074] 상기 조성물은 기도 과민증 및 이와 관련된 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 용도로 활용될 수 있다.
- [0076] 또한, 본 발명은 엘라피브라노(Elafibranor) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는, 류신 과분비 억제용 조성물을 제공한다.
- [0077] 이에 상응하는 특징은 상술한 부분에 대신할 수 있다.
- [0078] 상기 조성물은 류신 과분비 억제를 위한 약학 조성물, 건강기능식품 또는 건강식품, 시약 조성물 등에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0080] 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.

[0082] <실험방법>

[0083] 1. 재료

- [0084] 엘라피브라노(Elafibranor)는 MedChemExpress (Cat no. HY-16737)로부터 구입하였고, 난(卵)알부민(ovalbumin, OVA)과 명반 (Alum)은 Sigma-Aldrich (St.Louis,MO,USA)로부터 구입하여 사용하였다.

[0086] 2. 세포 배양

- [0087] 랫트(Rat) RBL-2H3 비만세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassa, VA, USA)에서 구입하였다. 세포는 가습 인큐베이터에서 5% CO₂에서 37℃로 배양되었으며, 열불활성화 태아 소 혈청 10% (v/v)와 함께 2 mM 글루타민, 100 U/mL 페니실린, 1 mM 나트륨 피루브산 및 50 µg/mL 스트렙토마이신을 포함하는 Dulbecco의 변형된 Eagle medium (DMEM)-고포도당에서 유지되었다.

[0089] 3. 동물

- [0090] (주) 대한바이오링크 (서울, 대한민국)는 생후 5주 된 암컷 BALB/c 마우스를 제공하였고, 이 마우스는 경희대학교 실험동물시설에 수용되어 물과 먹이를 제공 받았으며, 기관동물관리위원회에서 연구규약 (승인번호, KHSASP-23-420)을 검토하여 승인하였다.

[0092] 4. MTT 어세이

- [0093] 랫트 RBL-2H3 비만 세포에 Thiazolyl blue tetrazolium bromide (Cat no. M2128)를 사용하여 살아있는 세포의 대사 활성과 잠재적 약물 및 독성 물질의 세포 독성을 측정하였다. 흡광도는 570 nm에서 측정되었다.

[0095] 5. 탈과립 (degranulation) 평가

[0096] 배지에서 β -헥소사미니데아제 (β -hexosaminidase) 활성을 측정하여 RBL-2H3 세포의 탈과립을 평가하였고, 마우스의 단일클론 항체 항다이니로페닐 면역글로불린 E (DNP-IgE) 및 디니트로페닐-인간 혈청 알부민 (DNP-HSA)을 이용하여 탈과립을 유도하였다.

[0097] 구체적으로, DNP-IgE로 18시간 동안 감작시킨 후, RBL-2H3 세포에 DNP-HSA를 투여하였고, 항원 공격 30분 전에 다양한 농도의 엘라피브라노를 처리하여 평가하였다.

[0099] 6. 마우스 천식 유발 및 엘라피브라노 투여

[0100] 생후 6주 된 암컷 BALB/c 마우스를 PBS 주입 대조군, OVA 천식군, 엘라피브라노 (3 mg/kg)를 처리한 OVA 천식군, 엘라피브라노 (10 mg/kg)를 처리한 OVA 천식군의 네 가지 그룹 (n=5)으로 나누었다. 감작은 0일(D0)과 D14에 50 μ g OVA와 1mg 수산화알루미늄을 복강 내 주입하여 수행하였고, OVA 노출은 D28, D29, D30 (유발)에 초음파 네블라이저 (필립스)를 사용하여 30분 동안 분무화된 1% OVA 또는 PBS를 투여하여 수행되었다. 엘라피브라노는 OVA 유발 (D28, D29, D30) 30분 전에 복강 내 주입을 통해 투여되었다. 기관지 폐포 세척액 (bronchoalveolar lavage fluid; BALF)은 D32에서 폐에서 채취되었고, 염색 후 BALF 세포의 모집단을 분석하였다.

[0102] 7. BALF 세포 수 계산 및 분석

[0103] BALF 면역세포는 Cellspin® 원심분리기 (Hanil Electric)를 이용하여 유리 슬라이드에 부착시킨 후 MeOH에 30초간 고정시켜 세포를 May-Grünwald 용액으로 8분간 염색한 후 Giemsa 용액으로 12분간 염색하였다.

[0105] 8. 메타콜린 기도 과민반응 측정

[0106] 최종 OVA challenge 다음 날, 비침습 폐기능 측정 모델 PLY-UNR-MS2 (EMKA Technologies, Paris, France)를 사용하여 기도과민반응을 평가하였다. 마우스를 기압골 조영실에 넣은 후, 3분 동안 베이스라인을 기록하고 제조사의 프로토콜을 따라 기도저항증가량 (Enhanced Pause; Penh)을 계산하였다. 결과는 메타콜린 (methacholine) (0, 6.25, 12.5, 25 및 50 mg/mL) 농도가 증가함에 따라 challenge 후 Penh의 백분율 증가로 표시된다.

[0108] 9. 폐의 조직학적 검사

[0109] 폐로부터 준비한 폐 조직 부위를 헤마톡실린과 에오신 (H&E)과 페리오딕 산-시프 (PAS)로 염색해 각각 면역세포 침윤과 점액 생성 세포를 평가하였다.

[0110] 관찰자가 0-3의 주관적 척도로 폐 염증의 정도를 측정하였고 기관지 주위에 PAS로 염색된 뮤신 분비 세포는 마우스 한 마리당 두 개의 폐 부위에서 세어졌다. 점액 생성은 ImageJ 소프트웨어 (National Institute of Health)를 사용하여 기관지 기저층 길이를 측정한 후 기관지 밀리미터당 PAS 양성 세포의 수로 표현되었다.

[0112] 10. 혈청 총 IgE 및 IL-13의 농도 측정

[0113] ELISA 키트 (eBioscience, San Diego, CA)를 사용하여 마우스의 혈청 IgE 및 기관지 폐포 세척액 (BALF) IL-13 수준을 평가하였다. IL-13에 특이적인 포획 및 비오티닐화 검출 항체는 eBioscience (Cat No. 14-7043-68 및 33-7135-68B)로부터 얻었으며, 흡광도는 450 nm에서 측정되었다.

[0115] 11. 통계

[0116] 통계 분석은 그래프패드 프리즘 소프트웨어 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)를 사용하여 수행되

었다. 여러 그룹 간의 차이를 비교하기 위해 일원 분산 분석 (ANOVA)과 Tukey의 다중 비교 검정을 사용하였다. 데이터는 평균 $\pm$ 표준 오차 (SEM)로 표시된다. 차이는 $p < 0.05$ 에서 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다.

[0118] <실험결과>

[0119] 1. 엘라피브라노의 RBL-2H3 비만세포 탈과립 억제 효과 확인

[0120] 항원 감작 후, 비만세포는 순환하는 IgE를 Fc ϵ RI 복합체에 가두고 Fc ϵ RI를 가교시킴으로써 항원에 반응하여 세포의 탈과립을 초래한다. 따라서 탈과립은 히스타민, 류코트리엔 D4, 케모카인, 사이토카인, 중성 단백질 분해효소와 같은 세포에 저장된 알레르기 매개물질을 방출한다. 비만세포 탈과립을 평가하는 가장 일반적인 방법은 인간 혈청 알부민 (human serum albumin; HSA, 항원) 노출 후 RBL-2H3 비만세포에서 베타-헥소사미니다아제 활성을 측정하는 것이다.

[0121] 도 1을 참조하면, 엘라피브라노는 HSA에 의해 유도된 베타-헥소사미니다아제의 배지 내 방출을 농도 의존적으로 억제하였다. 10 과 30 μ M 농도에서 RBL-2H3 세포 탈과립에 대한 엘라피브라노 유도 억제가 유의하게 관찰되었다 (A). 사용된 엘라피브라노의 농도는 MTT 세포 생존율 테스트에서 RBL-2H3 세포에서 최대 30 μ M까지 세포 독성을 보이지 않았다 (B).

[0123] 2. OVA 유도 천식 시 엘라피브라노가 기도 과민반응(AHR)에 미치는 영향 확인

[0124] 생체 내 BALB/c 마우스의 OVA 유도 알레르기 천식 모델에서 RBL-2H3 세포 탈과립에서 관찰된 엘라피브라노의 in vitro 억제 효과를 다음으로 조사하였다.

[0125] 도 2(A)를 참조하면, 엘라피브라노 (3 또는 10 mg/kg)는 OVA challenge 30분 전에 복강 내에 주입되었다. 메타콜린 용량을 증가시켜 Penh 값을 측정하였으며, Penh 값은 AHR의 측정값으로 해석하였다.

[0126] 도 2(B)를 참조하면, OVA에 의한 알레르기 천식 마우스는 메타콜린 용량 (12.5, 25, 50 mg/mL)에서 PBS 처리된 대조군 마우스와 비교하여 유의하게 증가한 Penh 값을 나타냈으며, 이는 천식 유도가 성공적임을 의미한다. 엘라피브라노 처리는 용량 의존적인 방식으로 OVA 유도 마우스에서 증가된 Penh 값을 감소시켰다. 3 mg/kg 엘라피브라노를 처리한 결과, Penh 값이 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 10 mg/kg 엘라피브라노 용량에서 12.5 ~ 50 mg/mL 메타콜린이 PBS 처리된 대조군에 통계적 유의성이 관찰되었다.

[0128] 3. 엘라피브라노의 기관지 폐포 세척액 (BALF) 면역세포 수 증가 억제 효과 확인

[0129] 항원 유도 후 면역세포가 축적되므로 마지막 OVA challenge으로부터 48시간 BALF의 면역세포를 채취하여 분석하였다.

[0130] 도 3(A)를 참조하면, 면역세포는 OVA 처리군의 BALF가 PBS 처리군의 BALF에 비해 증가하였다. 엘라피브라노 투여는 용량 의존적인 방식으로 면역세포 수를 억제하는 것으로 나타났다.

[0131] 총 세포수를 세고 각 집단을 분석하여 엘라피브라노에 의한 억제 효과를 정량적으로 분석한 결과, 도 3(B) 및 (C)를 참조하면, 총 세포 수는 용량 의존적 방식으로 엘라피브라노 처리에 의해 억제되었다. OVA나 엘라피브라노 처리 후 대식세포 수는 변하지 않았지만, 호산구와 림프구 수는 OVA 치료로 크게 증가하였고 용량 의존적으로 억제되었다.

[0133] 4. 엘라피브라노의 폐의 형태학적 변화와 염증 억제 효과 확인

[0134] 천식의 조직학적 변화는 H&E 및 PAS 염색을 이용하여 폐 샘플을 대상으로 평가되었다.

[0135] 도 4(A)를 참조하면, H&E 염색 부분에서 OVA 노출은 PBS 처리 대조군에서 거의 관찰되지 않았던 기관지 주변 부위의 호산구를 중심으로 면역세포를 증가시켰다. 약물 처리군의 H&E 염색 부위에서 면역세포의 축적이 억제되었다.

[0136] 도 4(B)를 참조하면, PAS로 염색된 부분에서 OVA 처리된 그룹은 뮤신 과분비가 증가되었는데, 기관지를 둘러싸

고 있는 보라색의 고블렛 세포로 보여지며, 이는 고블렛 세포의 과형성을 의미한다. PBS 처리군에서 PAS로 염색된 세포는 드물었다. 약물 처리는 용량 의존적인 방식으로 바이올렛상의 어둠을 유의하게 감소시켰다.

[0137] 폐 염증은 주관적 척도 0-3을 이용하여 평가한 결과, 도 4(C)를 참조하면, OVA 처리군의 평균 염증 점수는 약 2.3점으로, 용량 의존적 방식의 엘라피브라노 투여에 의해 유의하게 억제됨을 확인할 수 있다.

[0138] 또한, 기관지내 PAS 양성 세포수를 측정하여 뮤신 생성을 반 정량적으로 분석한 결과, 도 4(D)에 나타난 바와 같이, OVA 처리된 그룹에서 약 115개의 PAS 양성 세포/mm가 있었고, 그 수는 용량 의존적 방식으로 엘라피브라노 처리에 의해 상당히 감소되었다.

[0140] 5. 엘라피브라노의 BALF에서 천식 유발 사이토카인 발현 억제 효과 확인

[0141] 앞서 언급한 바와 같이, 천식의 만성 단계에서 Th2 세포와 Th1/Th17 세포 모두 알레르기 천식에서 핵심적인 역할을 하고 있다. IL-4 및 IL-13의 Th2-염증성 사이토카인 뿐만 아니라 IFN- γ 및 IL-17A의 Th1/Th17 사이토카인도 BALF 세포에서 qPCR로 측정하였다.

[0142] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, BALF 면역세포의 4가지 사이토카인의 mRNA 수준은 OVA 군의 BALF 세포에서 PBS 군에 비해 유의하게 증가하였다. 엘라피브라노의 투여는 두 용량 모두에서 4개의 사이토카인의 증가를 유의하게 억제하였다.

[0144] 6. 엘라피브라노의 BALF IL-13 수준 및 혈청 IgE 역가 억제 효과 확인

[0145] Th2 사이토카인의 mRNA 수준 변화를 증명하기 위해 BALF의 IL-4 및 IL-13 단백질 수준을 ELISA로 평가하였다.

[0146] 도 6(A)를 참조하면, IL-13 수준은 PBS 처리 대조군과 비교하여 OVA 처리군에서 상승하였고, IL-13 수준의 상승은 10 mg/kg 엘라피브라노 처리에 의해 유의하게 감소하였다. IL-4의 단백질 수준은 ELISA의 검출 한계보다 낮았다 (데이터는 표시되지 않음).

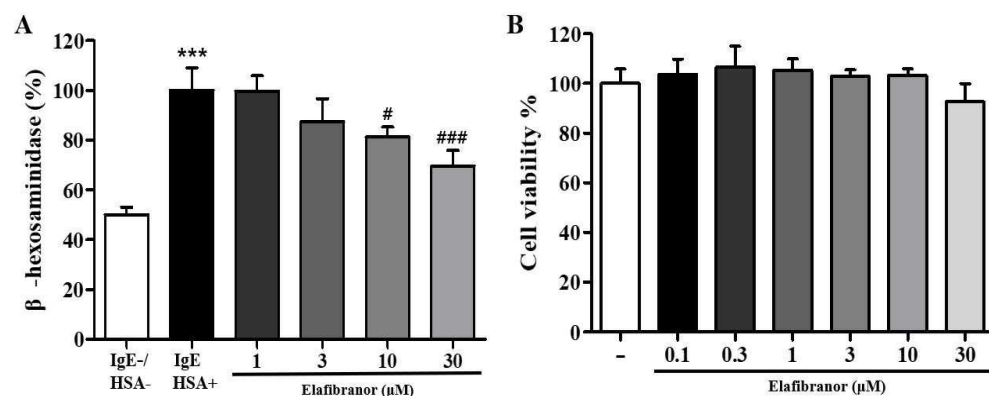
[0147] 천식 환자에서 혈청 IgE 수치가 증가함에 따라 IgE 수치는 혈청에서 측정되었다.

[0148] 도 6(B)를 참조하면, 혈청 IgE 수치는 PBS 투여군에 비해 OVA 투여군에서 유의하게 증가하였다. 그러나 OVA에 의해 유발된 혈청 IgE 농도의 증가는 엘라피브라노 10 mg/kg 처리군에 비해 엘라피브라노 처리군에서 유의하게 억제되었다.

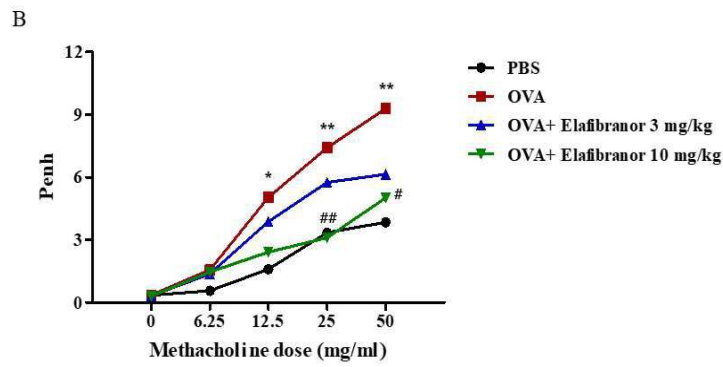
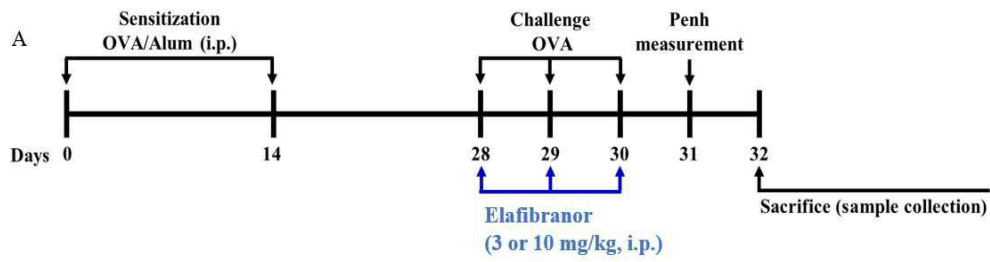
[0150] 이상으로 본 발명 내용의 특징한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

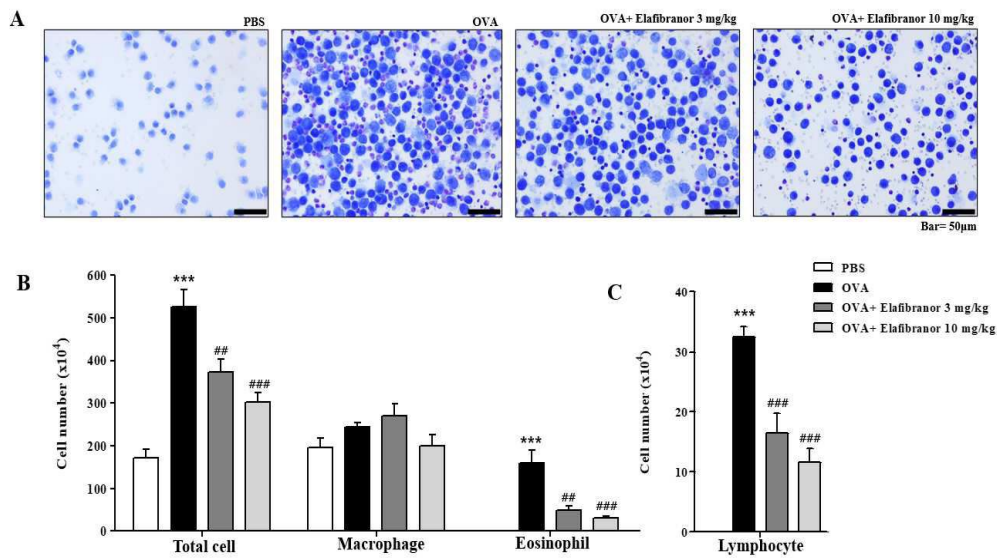
도면1



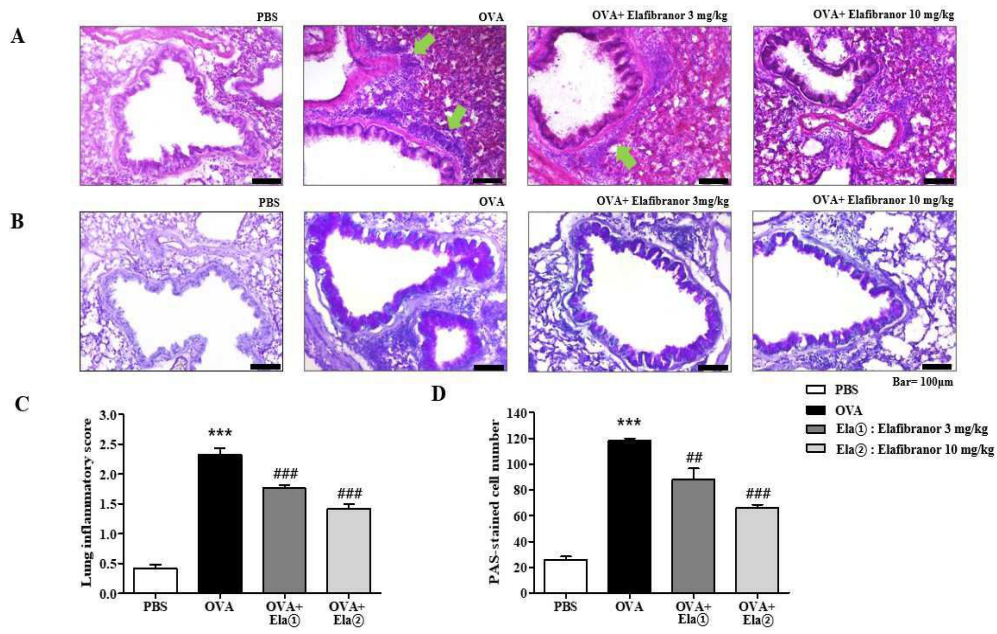
도면2



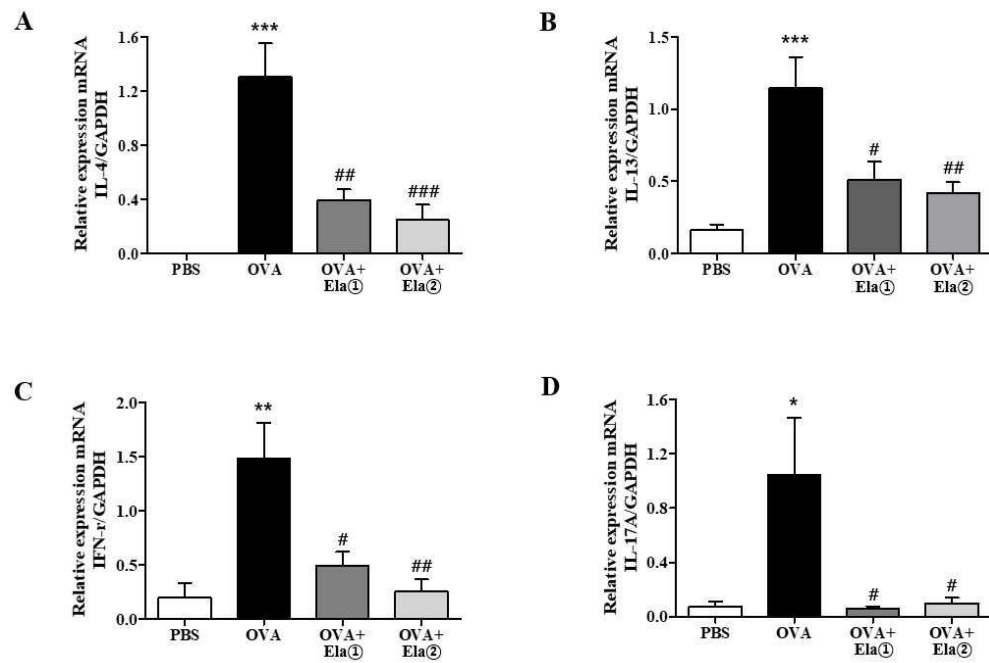
도면3



도면4



도면5



도면6

