



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0091748
(43) 공개일자 2022년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/05 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/05 (2013.01)

A61P 29/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2020-0182767

(22) 출원일자 2020년12월24일

심사청구일자 2020년12월24일

(71) 출원인

경상국립대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

이창섭

경상남도 진주시 새평거리 30, 109동 1701호(평거동, 엠코타운더프라하)

안미정

경상남도 진주시 초장로14번길 29, 204동 702호(초전동, 진주초전푸르지오2단지)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최규환

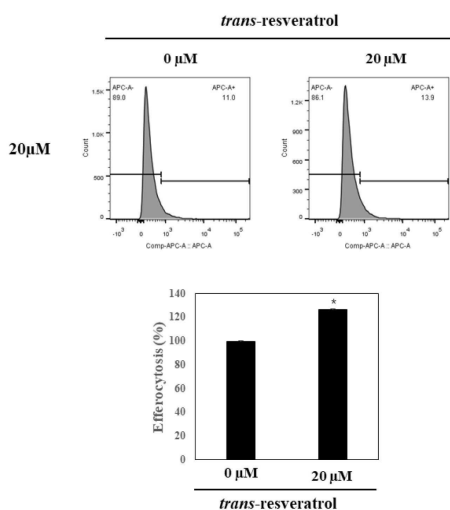
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 트랜스-레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스 조절용 조성물

(57) 요약

본 발명은 트랜스-레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스 조절용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 트랜스-레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스(efferocytosis) 조절용 조성물은 에페로사이토시스 활성을 조절할 수 있으므로 면역 질환의 예방 또는 치료를 위해 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 37/02 (2018.01)

(72) 발명자

신성아

경상남도 진주시 새평거로 30, 111동 1703호(평거동, 엠코타운더프라하)

이준섭

경상남도 진주시 진주대로568번길 12, 301동 805호(가좌동, 주공3차아파트)

류경아

경상북도 김천시 무실7길 45, 106동 703호(덕곡동, 코아루푸르나임)

한민주

경상남도 진주시 내동로348번길 10, 110동 406호(가좌동, 가좌그린빌주공아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395063646
과제번호	PJ013273022020
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	차세대바이오그린21(R&D)
연구과제명	대사체 분석을 통한 생체시계와 환경스트레스 조절 연구
기 여 율	9/10
과제수행기관명	경상대학교
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711116246
과제번호	2017R1A2B4008859
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	들메나무의 천연물의약소재 표준화 기반연구
기 여 율	1/10
과제수행기관명	경상대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

트랜스-레스베라트롤(trans-resveratrol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스(efferocytosis) 조절용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 트랜스-레스베라트롤은 식세포(phagocytic cell)에서 에페로사이토시스 활성을 증가시키는 것을 특징으로 하는 에페로사이토시스 조절용 조성물.

청구항 3

트랜스-레스베라트롤(trans-resveratrol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 개체의 에페로사이토시스 활성을 조절하는 방법.

청구항 4

제1항의 에페로사이토시스 조절용 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 개체의 염증성 질환 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 트랜스-레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스(efferocytosis) 조절용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포사멸(apoptosis)은 비정상 세포, 손상된 세포, 노화된 세포 등이 스스로 죽는 자연적인 메커니즘을 말한다. 우리 몸에서는 하루에 수천억개 이상의 세포들이 세포사멸에 의해 죽고, 이로 인해 수많은 자가사멸세포(apoptosis cell)가 생성되고 있지만 실제로 자가사멸세포를 관찰하기 매우 어렵다. 이는 우리 몸에서 자가사멸 세포를 매우 신속하고 효율적으로 제거할 수 있는 기전이 존재하기 때문인데, 이러한 자가사멸세포 제거 과정을 에페로사이토시스(efferocytosis)라고 한다. 다세포 생물(multicellular organisms)에서 자가사멸세포 제거는 단순히 죽은 세포를 제거하는 현상이 아니라 염증 발생, 면역 반응 및 항상성 유지에 관여하는 중요한 생리현상으로, 자가사멸세포 제거에 결함이 있을 시 각종 자가면역 질병들을 유발하는 것으로 보고되고 있다. 최근 면역 조절에 있어서 자가사멸세포 제거 작용의 중요성이 대두되고 있으나, 정확한 기전에 대해서는 많이 밝혀지고 있지 않다. 따라서, 에페로사이토시스 활성을 조절한다면 염증 또는 면역 반응과 관련된 질환을 효율적으로 예방 및 치료할 수 있을 것이다.

[0003] 한편, 한국등록특허 제1857246호에는 사멸세포 제거를 위한 '인공 사멸세포 수용체 및 이의 용도'가 개시되어 있으나, 본 발명의 트랜스-레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스 조절용 조성물에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 건조된 호장근(*Polygonum cuspidatum*) 뿌리를 분쇄하고, 70% 에탄올 수용액을 이용하여 호장근 에탄올 추출물을 제조한 후 에틸아세테이트로 용매분획하여 호장근 추출물의 에틸아세테이트 분획물을 수득하였다. 상기 호장근 추출물의 에틸아세테이트 분획물을 대상으로 실리카겔 컬럼크로마토그래피(silica gel column chromatography)를 수행하여 트랜스-레스베라트롤

(trans-resveratrol) 화합물을 분리한 후, 상기 화합물의 사멸세포 제거 작용(efferocytosis)을 분석한 결과, 트랜스-레스베라트롤 처리구에서 사멸세포 제거 작용이 증가하는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0005] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 트랜스-레스베라트롤(trans-resveratrol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스(efferocytosis) 조절용 조성물을 제공한다.
- [0006] 또한, 본 발명은 트랜스-레스베라트롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 개체의 에페로사이토시스 활성을 조절하는 방법을 제공한다.
- [0007] 또한, 본 발명은 상기 에페로사이토시스 조절용 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 개체의 염증성 질환 치료 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0008] 본 발명의 트랜스-레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스(efferocytosis) 조절용 조성물은 에페로사이토시스(사멸세포 제거 작용) 활성을 조절할 수 있으므로, 면역 질환의 예방 또는 치료를 위해 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0009] 도 1은 트랜스-레스베라트롤(trans-resveratrol)을 이용하여 에페로사이토시스(efferocytosis) 활성을 측정하는 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0010] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 트랜스-레스베라트롤(trans-resveratrol) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스(efferocytosis) 조절용 조성물을 제공한다.
- [0011] 본 발명에서, 용어 '에페로사이토시스'는 식세포에서 의해 자가사멸세포(apoptotic cell)가 제거되는 과정을 의미한다. 에페로사이토시스의 활성이 증가하면 식세포에 의해 자가사멸세포가 신속히 제거되어 죽은 세포로부터의 세포독성(cytotoxic) 및 항원성(antigenic) 물질에 노출되는 것을 저해하여 염증 반응을 억제시킬 수 있으므로, 항염 효과가 있다.
- [0012] 본 발명에서 "약학적으로 허용가능한 염"은 본 발명의 화합물의 생물학적 특성을 유지하면서 독성을 나타내지 않거나 제약 용도로 부적절하지 않은 임의의 본 발명의 화합물의 염을 나타낸다. 이러한 염은 당업계에 공지된 다양한 유기 및 무기 반대이온으로부터 유래할 수 있으며, 이들을 포함한다. 이러한 염으로는 유기 또는 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산, 술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 트리클로로아세트산, 프로피온산, 헥산산, 시클로 펜틸프로피온산, 글리콜산, 글루타르산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 소르브산, 아스코르브산, 말산, 말레인산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-히드록시벤조일)벤조산, 크르산, 신남산, 만델산, 프탈산, 라우르산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 1,2-에탄-디술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 벤젠 술폰산, 4-클로로벤젠술폰산, 2-나프탈렌술폰산, 4-톨루엔술폰산, 캄포르산, 캄포르술폰산, 4-메틸비시클로 [2.2.2]-옥트-2-엔-1-카르복실산, 글루코헵톤산, 3-페닐프로피온산, 트리메틸아세트산, 테르트-부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 벤조산, 글루탐산, 히드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산, 시클로헥실술폰산, 퀴산 또는 묶은산 등과 형성된 산 부가염; 또는 모 화합물에 존재하는 산성 양성자가 금속 이온(예를 들면, 알칼리 금속 이온, 알칼리 토금속 이온 또는 알루미늄 이온), 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속수산화물(예컨대, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 알루미늄, 리튬, 아연 및 바륨 수산화물), 암모니아로 치환되거나, 또는 유기 염기, 예컨대 지방족, 지환족 또는 방향족 유기 아민, 예를 들면 암모니아, 메틸아민, 디메틸아민, 디에틸아민, 피콜린, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 에틸렌디아민, 리신, 아르기닌, 오르니틴, 콜린, N,N'-디벤질에틸렌-디아민, 클로로프로카인, 디에탄올아민, 프로카인, N-벤질페네틸아민, N-메틸글루카민 피페라진, 트리스(히드록시메틸)-아미노메탄 또는 테트라메틸암모늄 히드록시드와 배위 결합한 경우에 형성된 염 등을 포함할 수 있다.
- [0013] 또한, 염의 예로는 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄 또는 테트라알킬암모늄 염 등이 있으며, 화합물이 염 기성 관능기를 함유하는 경우에는 비독성유기산 또는 무기산과의 염, 예컨대 히드로할라이드(예를 들면, 히드로클로라이드 또는 히드로브로마이드), 술페이트, 포스페이트, 술포메이트, 니트레이트, 아세테이트, 트리플루오

로아세테이트, 트리클로로아세테이트, 프로피오네이트, 헥사노에이트, 시클로펜틸프로피오네이트, 글리콜레이트, 글루타레이트, 루베이트, 락테이트, 말로네이트, 숙시네이트, 소르베이트, 아스코르베이트, 말레이트, 말레에이트, 푸마레이트, 타르타레이트, 시트레이트, 벤조에이트, 3-(4-히드록시벤조일)푸마레이트, 타르타레이트, 시트레이트, 벤조에이트, 3-(4-히드록시벤조일)벤조에이트, 피크레이트, 신나메이트, 만델레이트, 프탈레이트, 라우레이트, 메탄술포네이트 메실레이트), 에탄술포네이트, 1,2-에탄-디술포네이트, 2-히드록시에탄술포네이트, 벤젠술포네이트(베실레이트), 4-클로로벤젠술포네이트, 2-나프탈렌술포네이트, 4-톨루엔술포네이트, 캄포레이트, 캄포르술포네이트, 4-메틸비시클로[2.2.2]-옥트-2-엔-1-카르복실레이트, 글루코헵토네이트, 3-페닐프로피오네이트, 트리메틸아세테이트, 테르트-부틸아세테이트, 라우릴 술페이트, 글루코네이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 히드록시나프토에이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 시클로헥실술포네이트, 퀴네이트 또는 뮤코네이트 염 등을 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명의 조성물에 있어서, 상기 트랜스-레스베라트롤은 식세포(phagocytic cell)의 에페로사이토시스 활성을 조절하는 것일 수 있고, 바람직하게는 트랜스-레스베라트롤이 식세포의 에페로사이토시스 활성을 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0015] 본 발명은 또한, 트랜스-레스베라트롤 또는 이의 염을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 개체의 에페로사이토시스 활성을 조절하는 방법을 제공한다.

[0016] 본 발명의 일 구현 예에 따른 방법에 있어서, 상기 트랜스-레스베라트롤은 식세포의 에페로사이토시스 활성을 조절하는 것일 수 있고, 바람직하게는 트랜스-레스베라트롤이 식세포의 에페로사이토시스 활성을 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0017] 본 발명은 또한, 상기 트랜스-레스베라트롤 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 에페로사이토시스 조절용 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 개체의 염증성 질환 치료 방법을 제공한다.

[0018] 본 발명에서 상기 개체는 염증성 질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 포유 동물을 의미하며, 본 발명의 포르모노네틴을 포함하는 약제학적 조성물을 염증성 질환 의심 개체에 투여함으로써, 개체를 효율적으로 치료할 수 있다.

[0019] 상기 염증성 질환은 부종, 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 치질, 통풍, 간직성 척추염, 류마티스 열, 루푸스, 섬유근통(fibromyalgia), 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome) 또는 다발성 경화증일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0021] 이하, 본 발명의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0023] 재료 및 방법

[0024] 1. 호장근 추출물 및 이의 분획물 제조

[0025] 건조된 호장근 뿌리를 곱게 분쇄하고 70% 에탄올 수용액을 이용하여 추출하고, 상기 추출된 호장근 추출물을 진공감압농축기로 농축시킨 다음 증류수로 현탁시켜 노르말 헥산(Normal hexane), 염화메틸렌(Methylene chloride), 에틸아세테이트(Ethyl acetate) 및 부탄올(Butanol)로 순차적 용매 분획한 후 감압농축하여 호장근 추출물의 분획물을 수득하였다.

[0027] 2. 호장근 추출물의 분획물로부터 트랜스-레스베라트롤의 분리

[0028] 호장근 에탄올 추출물의 분획물 중에서 에틸아세테이트 분획물에 대하여 헥산, 메틸렌클로라이드(Methylene chloride) 및 메탄올을 혼합전개용매로 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(silica gel column chromatography)를 실시하여 7개의 소분획물을 수득한 후, 이 중 다섯번째 소분획물(fr. 5)에 대하여 메틸렌클로라이드와 메탄올을 전개용매로 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 3개의 소분획물을 수득하였으며, 이

중 첫번째 소분획물(fr. 5a)로부터 화합물을 분리하였다. 상기 분리된 화합물의 UV, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 및 MS 데이터를 기반으로 하여 분리된 화합물의 화학구조를 트랜스-레스베라트롤(trans-resveratrol)로 동정하였다.

[0030]

3. 에페로사이토시스(efferocytosis) 활성 측정

[0031]

Jurkat T 세포에 UVC(150 mJ)를 조사하여 37℃에서 2시간 동안 세포사멸(apoptosis)을 유도한 후 CypHer dye(1 μM)로 세포사멸이 유도된 Jurkat T 세포(apoptotic cell)를 라벨링하였다. 또한, 24웰 플레이트의 각 웰에 LR73 세포(phagocytic cell, a cell line derived from CHO fibroblasts; 광주과학기술원 박대호 교수님 제공)를 5×10^4 의 세포수로 분주하고 37℃에서 24시간 동안 배양한 후 LR73 세포가 배양된 플레이트에 트랜스-레스베라트롤(20 μM)을 1시간 동안 전처리한 다음 상기 CypHer dye로 라벨링된 Jurkat T 세포(1×10^6)를 넣어주고 37℃에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 유세포 분석기를 이용하여 식세포인 LR73 세포의 사멸세포에 대한 탐식(engulfment) 정도를 분석하였다. 에페로사이토시스의 결과값들은 student t-Test($p < 0.05$)를 통하여 분석하였다.

[0033]

실시예 1. 에페로사이토시스 활성 분석

[0034]

호장근 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물에서 분리된 트랜스-레스베라트롤을 이용하여 식세포인 LR73에서 에페로사이토시스 활성을 측정한 결과, 트랜스-레스베라트롤 20 μM 처리구의 에페로사이토시스 활성은 대조구(트랜스-레스베라트롤 무처리)에 비해 증가한 것을 확인하였다(도 1). 이를 통해 트랜스-레스베라트롤은 에페로사이토시스 활성 증가에 의해 항염에 효과가 있을 것으로 예측되었다.

도면

도면1

