(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0096568
(43) 공개일자 2025년06월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2025.01) *A23K 20/153* (2016.01)
A23L 33/13 (2016.01) *A61K 31/7076* (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/127 (2025.01)
A23K 20/153 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2024-0163171
(22) 출원일자 2024년11월15일
심사청구일자 2024년11월15일
(30) 우선권주장
1020230187615 2023년12월20일 대한민국(KR)

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
송창화
대전광역시 중구 충무로107번길 100, 107동 1401호 (대흥동, 센트럴자이)
김재환
대전광역시 중구 보문산로 345-27, 501호 (문화동)
(74) 대리인
최규환

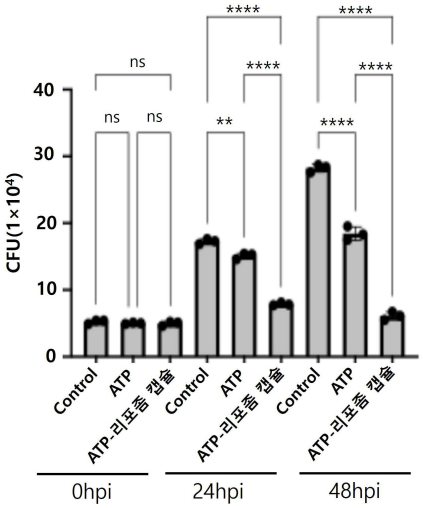
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 결핵균이 감염된 골수 유래 대식세포에, ATP-리포좀 캡슐을 처리함으로써, 감염된 결핵균수가 유의미하게 감소하였을 뿐만 아니라, ATP 대비 ATP-리포좀 캡슐을 처리하는 경우, 감염된 결핵균수가 유의미하게 더 감소하는 효과가 있으므로, ATP-리포좀 캡슐을 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 의약품; 또는 건강기능식품으로 유용하게 사용할 수 있다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A23L 33/13 (2016.08)
A61K 31/7076 (2013.01)
A61P 31/06 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/224 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711180931
과제번호 2020R1A2C2005605
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(1621110150155120012343O1)
연구과제명 큰포식세포 대사전사체에 기반한 결핵균 감염제어기전 연구
과제수행기관명 충남대학교
연구기간 2020.03.01 ~ 2024.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 유효성분은 마이코박테리움 튜베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*) H37Rv에 대한 항균 활성을 가지는 것을 특징으로 하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 6

ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물.

청구항 7

ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 개선용 사료 첨가제.

청구항 8

인간을 제외한 동물에게 ATP-리포좀 캡슐을 투여하여 결핵균의 생장을 억제시키는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 결핵(tuberculosis)은 미코박테리움, 특히 결핵균의 감염에 의해 발생하는 전염성 질환으로, 전 세계 인구의 1/3이 결핵균에 감염되어 있는 것으로 추정되며 매년 약 800만 명의 새로운 환자가 발생한다. 대부분의 감염자는 증상이 없으나, 그 중 1/10 정도가 발병하며, 발병 시 적절한 치료를 하지 않으면 그 중 절반 이상이 사망에 이르게 된다.

[0003] 선진국의 결핵감염률은 0.1% 이하이고, 질병발생률이 25% 이하이다. 우리나라는 활동성 폐결핵 유병률(엑스선 촬영에 의한 유병률)이 1965년 5.1%에서 1995년 1.0%로 감소하였으며, 균 양성 유병률은 0.94%에서 0.22%로, 연간 결핵 감염 위험률은 5.3%에서 0.5%로 감소하였다. 인구 10만 명당 사망률은 1991년 10.4%에서 2001년 6.3명으로 감소하였으나, 아직도 결핵은 10대 사망원인 중의 하나이다.

[0004] 6개월 단기 치료요법은 일차 항결핵제인 리팜피신(rifampicin), 아이소니아지드(isoniazid), 피라진아미드(pyrazinamide) 및 에탐부톨(ethambutol)을 2개월 동안 병용처방하고, 2개월 후 리팜피신(rifampicin), 아이소

니아지드(isoniazid) 및 에탐부톨(ethambutol)의 3제를 4개월 동안 처방하는 것이다. 초기 집중치료 2개월 동안 에탐부톨(ethambutol) 대신에 스트렙토마이신(streptomycin)을 사용할 수도 있다. 이 경우 유지치료는 리팜피신(rifampicin) 및 아이소니아지드(isoniazid)를 투여한다.

[0005] 하지만, 이러한 항생제들은 모두 발명된 지 최소 50년 이상 된 것이고, 새로운 치료제의 개발도 활발하지 않은 상황이다. 더불어 다 약제내성(MDR; Multi-drug resistant) 및 광범위 내성(XDR; Extensively-drug resistant)을 지닌 결핵균까지 나타나고 있어, 종래의 치료제 효율도 점차 감소하는 추세이다. 따라서 새로운 결핵 치료제 또는 기존 결핵 치료제의 감수성을 증진시킬 수 있는 물질에 대한 연구가 요구된다.

[0006] 한편, 한국등록특허 제1539021호에 박테리아 ATP 합성효소 결합 부분에 대하여 개시되어 있고, 한국공개특허 제2022-0079081호에 결핵의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 개시되어 있으나, 아직까지는 본 발명의 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대하여 개시된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하고, 골수 유래 대식세포에 본 발명의 유효성분인 ATP-리포좀 캡슐은 감염된 결핵균수를 유의미하게 감소하였을 뿐만 아니라, ATP 대비 ATP-리포좀 캡슐을 처리하는 경우, 결핵균수를 유의미하게 더 감소시키는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 개선용 사료 첨가제를 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 인간을 제외한 동물에게 ATP-리포좀 캡슐을 투여하여 결핵균의 생장을 억제시키는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 결핵균이 감염된 골수 유래 대식세포에, ATP-리포좀 캡슐을 처리함으로써, 감염된 결핵균수가 유의미하게 감소하였을 뿐만 아니라, ATP 대비 ATP-리포좀 캡슐을 처리하는 경우, 감염된 결핵균수가 유의미하게 더 감소하는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 결핵균 감염이 대식세포의 ATP 양에 미치는 효과 확인한 결과이다. ****은 결핵균이 감염되지 않은 군(UN) 대비 결핵균이 감염된 군(Rv 6 hpi(결핵균 감염 후 6시간째), Rv 12 hpi(결핵균 감염 후 12시간째) 및 Rv 24 hpi(결핵균 감염 후 24시간째))의 ATP 양이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.0001$이다.

도 2는 ATP-리포좀 캡슐을 처리한 대식세포에서, 결핵균 감염에 의한 ATP 감소를 억제하는 효과가 있다는 것을 확인한 결과이다. ***, ****은 비교균 간의 ATP 양의 차이가 통계적으로 유의미하다는 것으로, ***은 $p<0.001$이며, ****은 $p<0.0001$이다.

도 3은 ATP 및 ATP-리포좀 캡슐이 결핵균의 생존에 미치는 효과를 비교한 결과이다. **, ***, ****은 비교군 간의 결핵균 수의 차이가 통계적으로 유의미하다는 것으로, **은 $p<0.01$이고, ***은 $p<0.001$이며, ****은 $p<0.0001$이다. ns는 비교군간의 차이가 통계적으로 유의미하지 않다는 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0016] ATP-리포좀 캡슐은 ATP(Adenosine triphosphate)를 리포좀(liposome)으로 코팅하여 캡슐화한 것으로, 리포좀의 크기 및 리포좀에 함유된 ATP 양을 얼마든지 조절할 수 있으나, 리포좀 당 1~100㎛M의 ATP를 포함하는 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 리포좀 당 5~15㎛M의 ATP를 포함하는 것이며, 가장 바람직하게는 10㎛M의 ATP를 포함하는 것이다. 리포좀의 크기는 10~500nm인 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 50~200nm이고, 더욱더 바람직하게는 100nm 크기인 것이다.

[0017] 리포좀을 구성하는 성분은 포스파티딜콜린(PC), 포스파티딜세린(PS), 포스파티딜에타놀아민(PE), 포스파티딜이노시톨(PI), 포스파티딜글리세롤(PG), 콜레스테롤 및 토코페롤 중에서 선택된 하나 이상인 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 상기 포스파티딜콜린은 디올레오일 포스파티딜콜린(DOPC), 디스테아로일 포스파티딜콜린(PSPC), 디파미토일 포스파티딜콜린(DPPC) 중에서 선택된 어느 하나이며, 상기 포스파티딜세린은 디올레오일 포스파티딜세린(DOPS), 디스테아로일 포스파티딜세린(DSPS) 및 디파미토일 포스파티딜세린(DPPS) 중에서 선택된 어느 하나이고, 포스파티딜에타놀아민은 디올레오일 포스파티딜에타놀아민(DOPE), 디스테아로일 포스파티딜에타놀아민(DSPE) 및 디파미토일 포스파티딜에타놀아민(DPPE) 중에서 선택된 어느 하나이며, 상기 포스파티딜이노시톨은 디올레오일 포스파티딜이노시톨(DOPI), 디스테아로일 포스파티딜이노시톨(DSPI) 및 디파미토일 포스파티딜 이노시톨(DPPI) 중에서 선택된 어느 하나이고, 상기 포스파티딜글리세롤은 디올레오일 포스파티딜글리세롤(DOPG), 디스테아로일 포스파티딜글리세롤(DSPG) 및 디파미토일 포스파티딜글리세롤(DPPG) 중에서 선택된 어느 하나이지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0018] 상기 유효성분은 마이코박테리움 튜베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*) H37Rv에 대한 항균 활성을 가지는 특징이 있다.

[0019] 본 발명의 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0020] 또한, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화 하여 사용될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0022] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0023] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0024] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(Witepsol), 마크로골, 트윈(Tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0025] 본 발명에 따른 약학 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며, 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.

[0026] 또한, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐를 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물에 관

한 것이다.

[0027] 상기 건강기능식품 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것이 바람직하지만 이에 제한하는 것은 아니다.

[0028] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 유효성분을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합 양은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0029] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 유효성분을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합체 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0030] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 건강 음료로 사용할 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능식품 조성물 100g당 일반적으로 약 0.01~0.04g, 바람직하게는 약 0.02~0.03g이다.

[0031] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

[0032] 그 밖에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물은 100 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0033] 또한, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐를 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물에 관한 것이다.

[0034] 본 발명의 수의학적 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 본 발명의 수의학적 조성물에 포함될 수 있는 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 에탄올, 스테아릴알콜, 유동파라핀, 솔비탄모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 메칠파라벤, 프로필파라벤 및 광물유를 들 수 있다.

[0035] 본 발명에 따른 수의학적 조성물은 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향신료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있는데, 본 발명에 따른 수의학적 조성물은 동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있고, 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캅셀, 좌제, 멸균 주사용액, 멸균 외용제 등의 형태일 수 있다.

[0036] 본 발명에 따른 수의학적 조성물의 유효한 양은 동물의 개체에 따라 적절하게 선택할 수 있다. 질환 내지 상태의 중증도, 개체의 연령, 체중, 건강상태 또는 성별에 따른 본 발명의 유효성분에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 기간, 상기 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 다른 조성물을 포함한 요소 및 기타 생리 내지 수의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명은 ATP-리포좀 캡슐을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 개선용 사료 첨가제에 관한 것이다.

[0038] 본 발명의 사료 첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당한다. 본 발명에서 용어 '사료'는 동물이 먹고, 섭취

하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미할 수 있다. 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

[0039] 또한, 본 발명은 인간을 제외한 동물에게 ATP-리포좀 캡슐을 투여하여 결핵균의 생장을 억제시키는 방법에 관한 것이다.

[0040] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[0041] **실시예 1. 결핵균 감염이 대식세포의 ATP 양에 미치는 효과 확인**

[0042] 6주령 C57BL/6 암컷 마우스의 골수에서 추출한 대식세포 (BMDM)에 세포 수를 카운팅하여 MOI = 1이 되도록 병원성 결핵균 H37Rv를 감염시키고, 3시간 후에 배지를 갈아주어 감염되지 않은 결핵균을 제거하였다. 이후 6, 12 및 24시간 동안 배양하여 각 시간대 별로 세포 내 ATP 양을 측정하였다.

[0043] 그 결과, 도 1에 개시한 바와 같이, 결핵균을 감염시키지 않은 군(UN) 대비 결핵균이 감염된 군의 ATP 양이 모든 시간대[6시간째(Rv 6hpi), 12시간째(Rv 12hpi) 및 24시간째(Rv 24hpi)]에 통계적으로 유의미하게 ATP 양이 감소한 것을 확인하였다.

[0044] **실시예 2. ATP-리포좀 캡슐을 처리한 대식세포에서, 결핵균 감염에 의한 ATP 감소를 억제하는 효과 확인**

[0045] 6주령 C57BL/6 암컷 마우스의 골수에서 추출한 대식세포(BMDM)에 10μM의 ATP를 포함하는 100nm 크기의 ATP-리포좀 캡슐(ATPsome; Encapsula NanoScience, APS-208) 10㎕를 처리하였고, 대조군(ATP-리포좀 캡슐, -)은 빈 리포좀(empty liposome; Encapsula NanoScience, APS-Add-On)을 처리하였다.

[0046] 빈 리포좀(empty liposome) 또는 ATP-리포좀 캡슐 처리 1시간 이후, 세포 수를 카운팅하여 MOI = 1이 되도록 병원성 결핵균 H37Rv를 감염시키고, 3시간 후에 배지를 갈아주어 감염되지 않은 결핵균을 제거하였다. 배지를 갈아주고 1시간 이후 동량의 빈 리포좀(empty liposome) 또는 ATP-리포좀 캡슐을 다시 세포에 처리한 후 6, 12, 24시간 동안 배양하여, 각 시간대 별[6시간째(Rv 6hpi), 12시간째(Rv 12hpi) 및 24시간째(Rv 24hpi)]로 세포 내 ATP의 양을 측정하였다.

[0047] 그 결과, 각 시간대[6시간째(Rv 6hpi), 12시간째(Rv 12hpi) 및 24시간째(Rv 24hpi)]에서, ATP가 포함되지 않은 빈 리포좀(empty liposome, -)을 처리한 군과 비교하였을 때, ATP-리포좀 캡슐을 처리한 군(+)의 ATP의 양이 유의미하게 증가하였다(도 2).

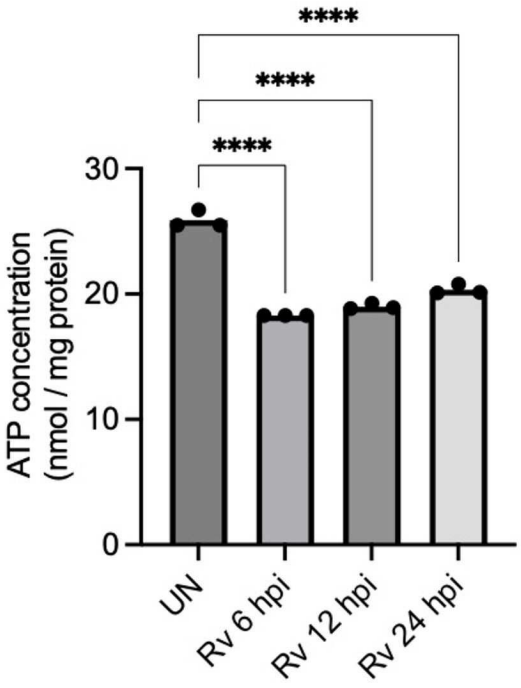
[0048] **실시예 3. ATP-리포좀 캡슐의 결핵균 제어 효과 확인**

[0049] 6주령 C57BL/6 암컷 마우스의 골수에서 추출한 대식세포(BMDM)에 10μM의 ATP를 포함하는 100nm 크기의 ATP-리포좀 캡슐 10㎕를 처리하였고, 대조군(ATP-리포좀 캡슐, -)은 빈 리포좀(empty liposome)을 처리하였으며, 비교군에는 10μM의의 ATP를 처리하였다. 상기 ATP-리포좀 캡슐, 빈 리포좀(empty liposome) 또는 ATP 처리 1시간 이후, 세포수를 카운팅하여 MOI=1이 되도록 병원성 결핵균 H37Rv를 감염시키고, 3시간 후에 배지를 갈아주어 감염되지 않은 결핵균을 제거하였다. 배지를 갈아주고 1시간 이후 동량의 ATP-리포좀 캡슐, 빈 리포좀(empty liposome) 및 ATP를 다시 세포에 각각 처리한 후, 24시간 및 48시간 동안 배양하여, 세포 내 살아있는 결핵균 수를 측정하였다.

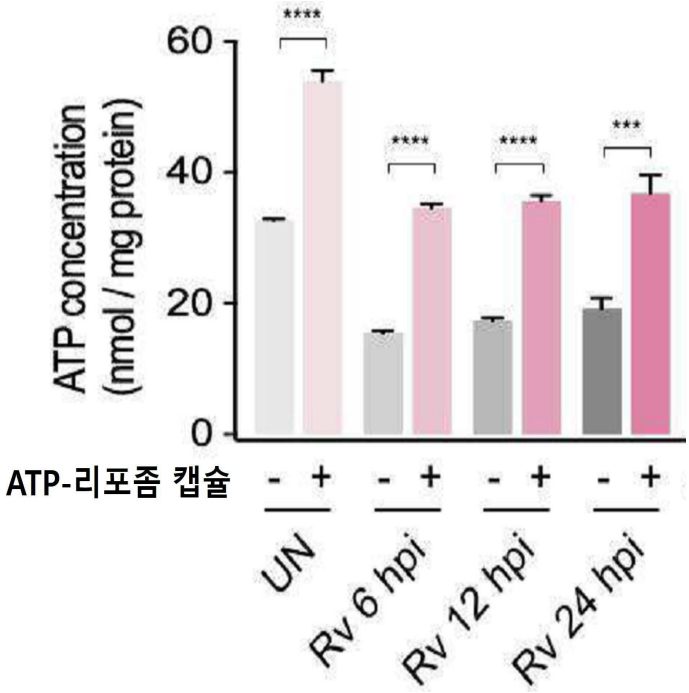
[0050] 그 결과, 빈 리포좀 처리군 대비, ATP 처리군 및 ATP-리포좀 캡슐 처리군의 결핵균 수가 유의미하게 감소된 것을 확인하였고, 상대적으로 ATP 처리군 대비 ATP-리포좀 캡슐 처리군에서 결핵균 수가 유의미하게 더 감소한 것을 확인하였다(도 3).

도면

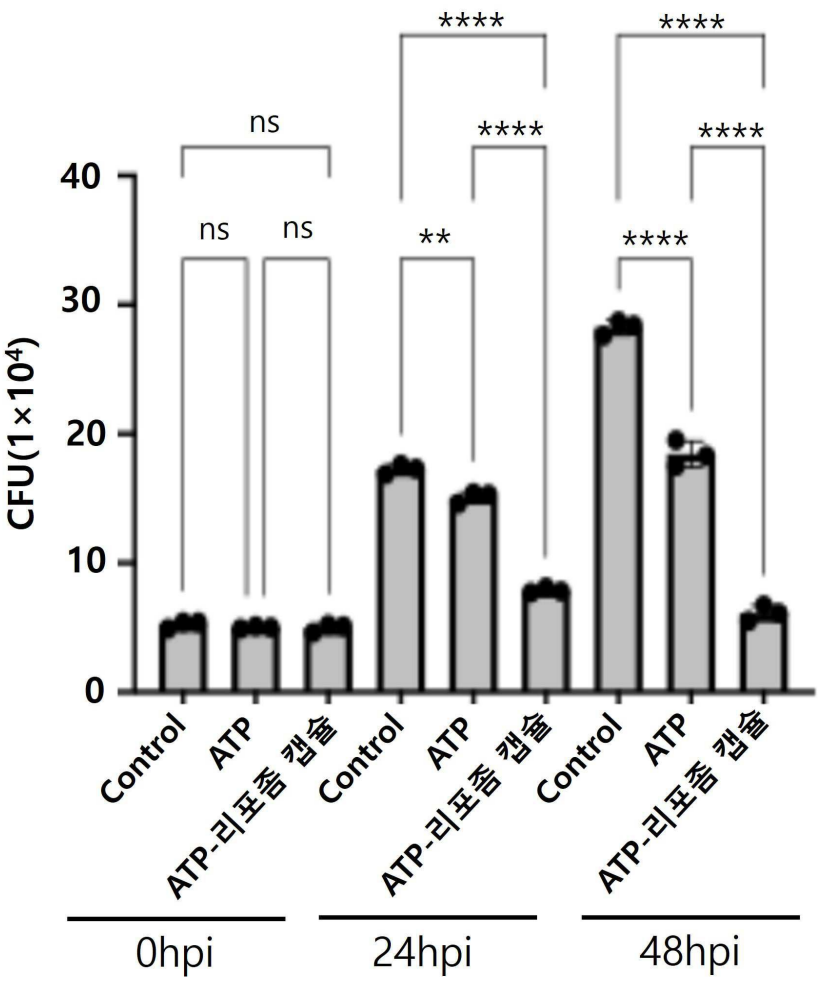
도면1


****
****
****
30
20
10
0
ATP concentration
(nmol / mg protein)
UN
Rv 6 hpi
Rv 12 hpi
Rv 24 hpi

도면2


****
****
****
***
60
40
20
0
ATP concentration
(nmol / mg protein)
ATP-리포좀 캡슐
- + - + - + - +
UN
Rv 6 hpi
Rv 12 hpi
Rv 24 hpi

도면3


****
****
****
****
ns
ns
ns
**
****
40
30
20
10
0
CFU(1×10⁴)
Control
ATP
ATP-리포좀 캡슐
Control
ATP
ATP-리포좀 캡슐
Control
ATP
ATP-리포좀 캡슐
0hpi
24hpi
48hpi