(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년06월19일
(11) 등록번호 10-1748079
(24) 등록일자 2017년06월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/48 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01) *A61K 8/60* (2006.01)
A61K 8/63 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/48861 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0043668
(22) 출원일자 2016년04월08일
심사청구일자 2016년04월08일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020110113228 A*
Sci. Technol. Adv. Mater., 16, 1-11, 2015.
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
양덕춘
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1842 111동 301호 (보라동,현대모닝사이드2차아파트)
김연주
경기도 성남시 분당구 동판교로 275 107동 801호 (삼평동,풍성신미주아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 11 항 심사관 : 이재정

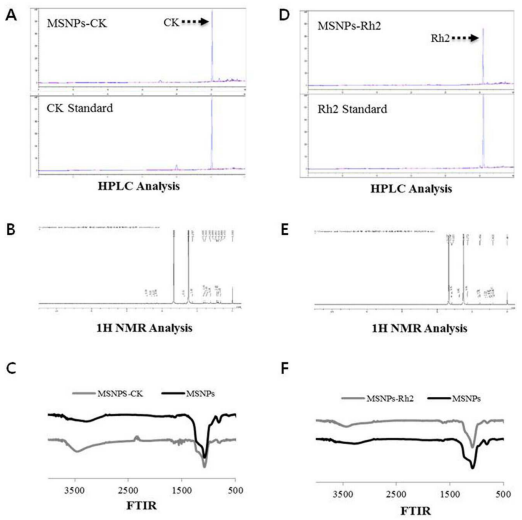
(54) 발명의 명칭 **메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle)와 진세노사이드의 결합체 및 이의 용도**

(57) 요 약

메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle)와 진세노사이드의 결합체 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 메조다공성 실리카 나노입자와 진세노사이드의 결합체, 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 암 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 의약외품 조성물, 화장료 조성물, 상기 약학적 조성물을 이용한 암 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법, 및 상기 결합체의 제조 방법에 관한 것이다.

본 발명의 MSNP와 진세노사이드의 접합체는 암세포에 대한 타겟 능력이 높아 약물로 개발되기에 유리하다. 또한, 상기 접합체는 높은 항암, 항염 활성을 나타내므로 암 및 염증 질환의 예방, 치료에 유용하게 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 31/704 (2013.01)
A61K 47/48015 (2013.01)
A61K 8/60 (2013.01)
A61K 8/63 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/25 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)

(72) 발명자
프리양카, 싱
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 애지원 한방 바이오연구실 (서천동,경희대학교국제캠퍼스)
람야, 마띠야라간
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 애지원 한방 바이오연구실 (서천동,경희대학교국제캠퍼스)
안성은
경기도 수원시 영통구 청명북로 81 409동 1804호 (영통동,청명마을4단지아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 313038-03-3-SB010
부처명 농림축산식품부
연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원
연구사업명 고부가가치 식품개발
연구과제명 한국형 신규 유산균 발굴을 통한 고부가가치 발효 진세노사이드 소재 개발
기 여 율 1/2
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2013.11.20 ~ 2016.11.19
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ0120342016
부처명 농림축산식품부
연구관리전문기관 농촌진흥청
연구사업명 차세대바이오그린
연구과제명 Probiotic 유래 재조합 효소를 이용한 희귀유용사포닌 대량생산 및 ginsenoside nanoconjugate 최적생산 기술 개발
기 여 율 1/2
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2016.01.04 ~ 2017.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle)와 진세노사이드 화합물 K(Compound K)를 APTEOS(3-aminopropyltriethoxy-silane)로 커플링한 결합체.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 결합체는 결합체 1 mg 당 0.05 내지 0.15 mg의 진세노사이드를 포함하는 것인, 결합체.

청구항 4

제1항 또는 제3항의 결합체를 유효성분으로 포함하는 폐암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

제4항의 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 폐암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 7

제1항 또는 제3항의 결합체를 유효성분으로 포함하는 폐암의 개선용 식품 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제3항의 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서, 상기 염증성 질환은 홍반병, 아토피경피증, 다발성 경화증, 백반증, 건선 및 전신성 경피증으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

제8항의 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법.

청구항 11

제1항 또는 제3항의 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 개선용 식품 조성물로서, 상기 염증성 질환은 홍반병, 아토피경피증, 다발성 경화증, 백반증, 건선 및 전신성 경피증으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제3항의 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약외품 조성물로서, 상기 염증성 질환은 홍반병, 아토피경피증, 다발성 경화증, 백반증, 건선 및 전신성 경피증으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 13

제1항 또는 제3항의 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물로서, 상기 염증성 질환은 홍반병, 아토피경피증, 다발성 경화증, 백반증, 건선 및 전신성 경피증으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 14

(a) 메조다공성 실리카 나노입자를 APTEOS(3-aminopropyltriethoxy-silane)의 자유 아민기(amine group)로 기능화하는 단계;

(b) 상기 기능화된 메조다공성 실리카 나노입자에 진세노사이드 화합물 K를 결합시키는 단계를 포함하는, 제1항 또는 제3항의 결합체의 제조 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle)와 진세노사이드의 결합체 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 메조다공성 실리카 나노입자와 진세노사이드의 결합체, 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 암 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 의약외품 조성물, 화장료 조성물, 상기 약학적 조성물을 이용한 암 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법, 및 상기 결합체의 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 현재 사용되고 있는 다양한 항암제는 암 타겟 능력의 부재, 낮은 용해도, 전신 독성 및 짧은 반감기 등의 많은 문제점을 가지고 있음에 따라, 상기와 같은 문제점을 극복하기 위하여 나노운반체를 이용한 약물 전달 시스템의 개발이 활발히 이루어지고 있다. 최근에는 유기적 플랫폼(리포좀, 폴리머 및 덴드리머 등) 및 무기적 시스템(금, 반도체 나노크리스탈, 자성 NP 및 실리카 입자 등) 등을 기반으로 한 여러 나노운반체가 개발되었으며, 이 중에서도 무기물을 기반으로 한 나노운반체인 메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle; MSNP)는 약물 운반체로서의 주목할 만한 특징을 갖는다.

[0003] 구체적으로, 상기 MSNP의 표면을 덮고 있는 많은 실라놀기(silanol groups, Si-OH)는 합성 후 변형을 용이하게 하여 약물 전달의 디자인을 단순화하며, MSNP는 가수분해 및 효소적 분해에 저항성을 보이므로, 약물을 높은 수준으로 적재할 수 있다. 또한, 대부분의 효소 단백질은 상기 MSNP의 나노기공(nanopore)보다 상당히 큰 직경을 가지고 있어, 나노기공의 좁은 경계는 효소의 침입을 저해하는 물리적 장벽을 제공한다. 따라서, MSNP의 내부 벽에 갇히거나 벽에 연결된 약물들은 생체 내 가수분해 및 조기 방출로부터 보호될 수 있다.

[0004] 한편, 진세노사이드는 트리테르펜(triterpene) 사포닌으로, 한국, 중국 및 일본의 전통 의약에서 사용되는 약초인 인삼(*P. ginseng*)의 주된 활성 화합물이다. 진세노사이드는 항종양, 항염, 항비만 활성 및 알츠하이머병에 대한 보호 효과 등의 광대한 범위의 약리 효과를 나타낸다. 이에 따라, 진세노사이드 Rg5를 유효성분으로 함유하는 혈관형성 촉진용 조성물(한국 공개특허 제2016-0018974호), 진세노사이드 F2의 간 질환 예방 또는 치료 용도(한국 공개특허 제2016-0029894호) 등의 치료용 조성물을 비롯하여, 진세노사이드 Rd가 강화된 발효 인삼 또는 홍삼 추출물의 제조방법(한국 공개특허 제2016-0018147호), 녹강균을 이용한 진세노사이드 함량이 증가된 홍삼 제제 및 이의 제조방법(한국 공개특허 제2015-0125785호) 등 진세노사이드 관련 기술의 개발이 활발히 이루어지고 있다. 그러나, 이러한 다양한 약리학적 활성에도 불구하고, 타겟 세포로의 전달 효율이 현저히 떨어지며, 용해도가 낮아 약물로 개발하기에 많은 문제점이 있었다.

[0005] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 암세포에 대한 타겟 능력 및 반감기가 향상된 진세노사이드 약물체를 개발하고자 예의 연구 노력한 결과, MSNP에 진세노사이드가 연결된 결합체는 pH에 따른 선택적인 약물 방출 패턴을 가지며, 높은 항암 및 항염 활성을 가짐을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 하나의 목적은 메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle)와 진세노사이드의 결합

체를 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 암의 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약외품 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 (a) 메조다공성 실리카 나노입자를 자유 아민기(amine group)로 기능화하는 단계; 및(b) 상기 기능화된 메조다공성 실리카 나노입자에 진세노사이드를 결합시키는 단계를 포함하는, 상기 결합체의 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0016] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는 메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle)와 진세노사이드의 결합체를 제공한다.

[0017] 본 발명의 용어, "메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle)"는 실리카의 메조다공성 형태를 나타내면서 1 내지 100 nm의 크기를 갖는 입자를 의미하며, 상기 용어 '메조다공성'(mesoporous)은 지름 2 내지 50 nm의 다수의 기공을 의미한다. 본 발명에서, 상기 메조다공성 실리카 나노입자는 'MSNP'로 혼용되어 명명될 수 있다.

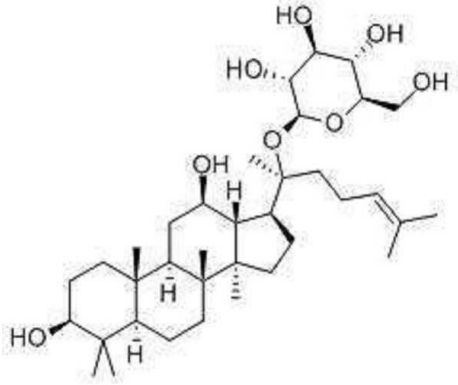
[0018] 본 발명의 용어, "진세노사이드(ginsenosides)"는 인삼에 있는 사포닌을 의미한다. 인삼 사포닌은 다른 식물에서 발견되는 사포닌과는 다른 특이한 화학구조를 가지고 있으며, 약리효능도 특이하여 인삼(Ginseng) 배당체(Glycoside)란 의미로 진세노사이드(ginsenosides)라 불린다.

[0019] 본 발명에서, 상기 진세노사이드는 상업적으로 판매되는 것을 구입하거나 또는 자연계에서 재배 또는 채취한 인삼으로부터 분리된 것을 사용할 수 있으며, 또는 합성방법에 의해 합성된 것을 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명에서, 상기 진세노사이드는 진세노사이드 화합물 K(Compound K) 또는 진세노사이드 Rh2일 수 있다.

[0021] 본 발명의 용어, "진세노사이드 화합물 K(Compound K)"는 인삼 자체에는 존재하지 않으나, 인삼 또는 홍삼에 존재하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd 등의 사포닌이 비피더스 균과 같은 장내 미생물 또는 토양미생물의 작용에 의하여 체내에서 흡수가능한 형태로 전환된 사포닌을 의미하며, 하기 화학식 1로 표시될 수 있다. 본 발명에서, 상기 진세노사이드 화합물 K(Compound K)는 '진세노사이드 CK' 또는 'CK'로 혼용되어 명명될 수 있다.

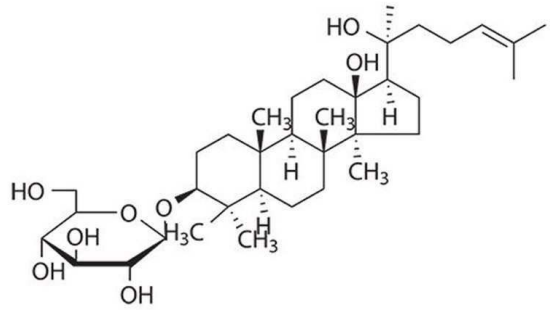
[0022] [화학식 1]



[0023]

[0024] 본 발명의 용어, "진세노사이드 Rh2"는 인삼으로부터 분리된 PPD(protopanaxadiol) 계열 사포닌을 의미한다. 20(S)-protopanaxdiol-3-O-β-D- glucopyranoside라고도 하고, $C_{36}H_{62}O_8$의 화학식으로 표시되며, 하기 화학식 2로 표시될 수 있다. 본 발명에서, 상기 진세노사이드 Rh2는 'Rh2'로 혼용되어 명명될 수 있다.

[0025] [화학식 2]



[0026]

[0027] 지금까지 연구된 바에 의하면 상기 진세노사이드 CK는 비인두암 사멸 작용(Law CK, Chin Med., 2014, 2, 9(1):11.), 항알레르기 작용(Choo MK, et al., Planta Med., 69:518-522, 2003), 신경퇴행성질환 예방작용(Tohda C., et al., Neuropsychopharmacology, 29:860-868, 2004), 피부보호 작용(Shin YW, et al., J. Pharmacol. Sci., 99:83-88, 2005) 등의 효과를 나타내며, 상기 진세노사이드 Rh2는 간암(Xiao-Xi Guo, Int. J. Mol. Sci., 2012, 13, 15523-15535), 췌장암(Xi-Ping Tang, World J Gastroenterol., 2013, 19(10), 1582-1592), 골파괴 억제(He L., Bone., 2012, 50(6), 1207-13.) 등의 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0028] 그러나 상기 진세노사이드 CK 또는 Rh2는 수용성이 떨어지고, 암세포뿐만 아니라 정상 세포에도 독성을 가져 항암제로 사용되는데 한계가 있었다. 따라서 본 발명에서는 진세노사이드의 수용성을 증가시키고, 암세포 특이적 활성을 가지도록 MSNP와의 결합체를 제조하여 본 발명을 완성하였다. 진세노사이드 CK 또는 Rh2는 수용성이 낮고, 암세포 특이성이 없으며, MSNP는 항암 활성이 없으나, 상기 두 화합물의 결합에 의해 이와 같은 단점을 모두 극복한 것이다. 또한, 상기 결합체는 우수한 항암 활성뿐만 아니라, 진세노사이드 CK 또는 Rh2 단독으로부터 유추할 수 없는 우수한 항염 활성을 나타냄을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0029] 본 발명의 용어, "결합체"는 MSNP와 진세노사이드를 화학적으로 연결한 형태를 의미한다.

[0030] 본 발명에서, 상기 결합체는 MSNP와 진세노사이드 CK의 결합체 또는 MSNP와 진세노사이드 Rh2의 결합체일 수 있으며, 상기 결합체는 각각 'MSNP-CK', 'MSNP-CK 결합체'; 또는 'MSNP-Rh2', 'MSNP-Rh2 결합체'로 혼용되어 명명될 수 있다.

[0031] 본 발명에서, 상기 결합체는 결합체 1 mg 당 0.05 내지 0.15 mg의 진세노사이드를 포함할 수 있다.

[0032] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, HPLC를 이용하여 MSNP-CK 또는 MSNP-Rh2 접합체에 적재된 진세노사이드의 양을 계산한 결과, 1 mg의 MSNP-CK에 적재된 CK의 양은 0.087 mg, 1 mg의 MSNP-Rh2에 적재된 Rh2의 양은 0.096 mg임을 확인하였다(도 1의 A 및 D).

[0033] 본 발명의 다른 구체적인 일 실시예에서는, MSNP-CK 또는 MSNP-Rh2 접합체의 특성을 확인하기 위하여 ^{1}H NMR과

FTIR를 이용하여 분석한 결과, 상기 접합체는 진세노사이드 고유의 특징적인 피크를 나타냄을 확인하였고(도 1의 B 및 C; 도 1의 E 및 F), FE-TEM을 이용하여 MSNP-CK 또는 MSNP-Rh2 접합체의 형태를 확인한 결과, 상기 접합체 모두 구의 모양을 나타냄을 확인하였다(도 2의 A 및 B).

[0034] 다른 하나의 양태는 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0035] 이때, 상기 결합체의 정의는 상기에서 설명한 바와 같다.

[0036] 본 발명의 용어, "암"은 생체 조직 안에서 세포가 무제한으로 증식하여 악성 종양을 일으키는 질환을 의미하며, 본 발명의 약학적 조성물에 의하여 증상이 완화, 경감, 개선 또는 치료될 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 구체적인 예로, 폐암일 수 있다.

[0037] 본 발명의 용어, "예방"은 본 발명의 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물의 투여에 의해 질병의 발병을 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 본 발명에서, 상기 '질병'은 암 또는 염증성 질환일 수 있다.

[0038] 본 발명의 용어, "치료"는 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 질병의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다. 본 발명에서, 상기 '질병'은 암 또는 염증성 질환일 수 있다.

[0039] 본 발명의 약학적 조성물은 총 조성물의 중량 대비 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 0.0001 내지 50 중량%로 포함할 수 있으며, 구체적으로 0.01 중량% 내지 10 중량%로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0040] 상기 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있고, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occuring carrier)를 포함할 수 있다.

[0041] 상기 용어, '약학적으로 허용가능한'은 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다.

[0042] 구체적으로, 상기 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명에서, 상기 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. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 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.

[0043] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, MSNP-CK 또는 MSNP-Rh2 접합체는 A549 폐암 세포주에 대하여 높은 세포독성을 나타냄을 확인하였고, 동일한 농도에서 정상 세포주인 각질세포주에는 세포독성을 나타내지 않음을 확인하였다(도 3). 이는, 본 발명의 MSNP와 진세노사이드의 결합체는 정상 세포에는 작용하지 않는 암세포 특이적인 세포독성을 나타내므로, 암의 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 시사하는 것이다.

[0044] 다른 하나의 양태는 상기 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0045] 이때, 상기 약학적 조성물, 암, 예방 및 치료의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0046] 본 발명의 용어, "투여"는 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미한다.

[0047] 본 발명의 용어, "개체"는 질병이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물

을 의미한다. 구체적인 예로, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다. 본 발명에서, 상기 '질병'은 암 또는 염증성 질환일 수 있다.

[0048] 본 발명의 암의 예방 또는 치료 방법은 구체적으로, 인간을 제외한 개체에 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 유효성분으로 포함하는, 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0049] 상기 용어, '약학적으로 유효한 양'은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0050] 구체적으로, 본 발명의 조성물은 고형분을 기준으로 1일 0.0001 내지 100 mg/체중 kg으로, 더욱 구체적으로 0.001 내지 100 mg/체중 kg으로 투여할 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.

[0051] 본 발명의 암의 예방 또는 치료 방법에서, 상기 조성물을 투여하는 투여 경로 및 투여 방식은 특별히 제한되지 않으며, 목적하는 해당 부위에 상기 조성물을 포함하는 조성물이 도달할 수 있는 한 임의의 투여 경로 및 투여 방식에 따를 수 있다. 구체적으로, 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있으며, 그 투여 경로의 비제한적인 예로는, 구강, 직장, 국소, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 경피, 비측내 또는 흡입 등을 통하여 투여되는 것을 들 수 있다.

[0052] 다른 하나의 양태는 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 암의 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0053] 이때, 상기 결합체 및 암의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0054] 본 발명의 용어, "개선"은 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0055] 본 발명의 용어, "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강기능식품 및 건강식품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0056] 상기 건강기능(성)식품(functional food)이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)와 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 "기능(성)"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 발명의 식품은 질병의 예방 또는 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0057] 상기 건강식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)는 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 호용된다.

[0058] 구체적으로, 상기 건강기능식품은 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.

[0059] 본 발명의 식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 암의 예방 또는 개선 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.

[0060] 상기 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.

[0061] 또한, 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예들 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크륨(Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0062] 또한, 상기 조성물은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨류엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0063] 상기 MSNP와 진세노사이드의 결합체는 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 식품 조성물은 식품 또는 음료에 대하여 50 중량부 이하, 구체적으로 20 중량부 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0064] 본 발명의 식품 조성물의 일 예로 건강음료 조성물으로 사용될 수 있으며, 이 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드; 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 구체적으로 약 0.02 ~ 0.03 g이 될 수 있다.

[0065] 상기 외에 건강음료 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0066] 본 발명의 식품 조성물은 암의 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있다면 다양한 중량%로 포함할 수 있으나, 구체적으로 상기 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 식품 조성물의 총 중량 대비 0.00001 내지 100 중량% 또는 0.01 내지 80 중량%로 포함할 수 있다.

[0067] 다른 하나의 양태는 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0068] 이때, 상기 결합체, 예방 및 치료의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0069] 본 발명의 용어, "염증성 질환"은 염증에 의해 야기되는 질환을 의미한다. 상기 염증성 질환은, 본 발명의 약학 조성물에 의하여 증상이 완화, 경감, 개선 또는 치료될 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 구체적인 예로, 크론씨병, 홍반병, 아토피, 류마티스 관절염, 하시모토 갑상선염, 악성빈혈, 에디슨씨 병, 제1형 당뇨, 루프스, 만성피로증후군, 섬유근육통, 갑상선기능저하증과 항진증, 경피증, 베체트병, 염증성 장질환, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 메니에르 증후군(Meniere's syndrome), 길리안-바레 증후군(Guilian-Barre syndrome), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 백반증, 자궁내막증, 건선, 백반증, 전신성 경피증 또는 궤양성 대장염일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0070] 본 발명의 약학적 조성물은 총 조성물의 중량 대비 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 0.0001 내지 50 중량%로 포함할 수 있으며, 구체적으로 0.01 중량% 내지 10 중량%로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0071] 상기 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있고, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occuring carrier)를 포함할 수 있

다.

[0072] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, MSNP-CK 또는 MSNP-Rh2 접합체는 RAW 264.7 대식세포주에 대해서는 심각한 세포독성을 야기하지 않으면서, 낮은 농도에서도 RAW 264.7 대식세포주의 NO 생산은 억제할 수 있음을 확인하였다(도 4). 이는, 본 발명의 MSNP와 진세노사이드의 결합체는 정상 대식세포에 대하여 직접적으로 독성을 나타내지 않으면서 NO 생산만을 선택적으로 억제하므로, 염증성 질환의 치료에 부작용 없이 유용하게 사용될 수 있음을 시사하는 것이다.

[0073] 다른 하나의 양태는 상기 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0074] 이때, 상기 약학적 조성물, 개체, 투여, 염증성 질환, 예방 및 치료의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0075] 본 발명의 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법은 구체적으로, 인간을 제외한 개체에 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 유효성분으로 포함하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 조성물은 고형분을 기준으로 1일 0.0001 내지 100 mg/체중 kg으로, 더욱 구체적으로 0.001 내지 100 mg/체중 kg으로 투여할 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.

[0076] 본 발명의 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법에서, 상기 조성물을 투여하는 투여 경로 및 투여 방식은 특별히 제한되지 않으며, 목적하는 해당 부위에 상기 조성물을 포함하는 조성물이 도달할 수 있는 한 임의의 투여 경로 및 투여 방식에 따를 수 있다. 구체적으로, 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있으며, 그 투여 경로의 비제한적인 예로는, 구강, 직장, 국소, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 경피, 비측내 또는 흡입 등을 통하여 투여되는 것을 들 수 있다.

[0077] 다른 하나의 양태는 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0078] 이때, 상기 결합체, 염증성 질환 및 개선의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0079] 본 발명의 식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 염증성 질환의 예방 또는 개선 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.

[0080] 상기 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.

[0081] 상기 MSNP와 진세노사이드의 결합체는 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 식품 조성물은 식품 또는 음료에 대하여 50 중량부 이하, 구체적으로 20 중량부 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0082] 본 발명의 식품 조성물은 염증성 질환의 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있다면 다양한 중량%로 포함할 수 있으나, 구체적으로 상기 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 식품 조성물의 총 중량 대비 0.00001 내지 100 중량% 또는 0.01 내지 80 중량%로 포함할 수 있다.

[0083] 다른 하나의 양태는 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약외품 조성물을 제공한다.

[0084] 이때, 상기 결합체, 염증성 질환, 예방 및 개선의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0085] 본 발명의 용어, "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니하며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것, 감염 예방을 위하여 살균, 살충 및 이와 유사한 용도로 사용되는 제제 중 하나에 해당하는 물품으로서, 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것 및 사람이나 동물의 구조와 기능에 약리학적 영향을 줄 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것을 제외한 물품을 의미하며, 구체적으로 피부 외용제일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0086] MSNP와 진세노사이드의 결합체를 염증성 질환의 예방 또는 개선을 목적으로 의약외품 조성물에 첨가할 경우, 상기 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정할 수 있다.

[0087] 상기 피부 외용제는 특별히 이에 제한되지 않으나, 예를 들어 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 젤의 형태로 제조되어 사용될 수 있다.

[0088] 본 발명의 의약외품 조성물은 염증성 질환의 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있다면 다양한 중량%로 포함할 수 있으나, 구체적으로 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 의약외품 조성물의 총중량 대비 0.01 내지 100 중량%, 더욱 구체적으로 1 내지 80 중량%로 포함할 수 있다.

[0089] 다른 하나의 양태는 상기 결합체를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0090] 이때, 상기 결합체, 염증성 질환, 예방 및 개선의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0091] 본 발명의 화장료 조성물은 총 조성물의 중량 대비 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 0.0001 내지 50 중량%로 포함할 수 있으며, 구체적으로 0.01 중량% 내지 10 중량%로 포함할 수 있다. 상기 범위 내에서 우수한 염증성 질환의 예방 또는 개선 효과를 나타내는 이점이 있으며, 조성물의 제형이 안정화되는 이점이 있다.

[0092] 상기 화장료 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 이루어진 군으로부터 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0093] 상기 화장료 조성물은 일반 피부 화장료에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 추가로 포함할 수 있으며, 통상의 성분으로 예를 들면 유분, 물, 계면 활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0094] 상기 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.

[0095] 본 발명의 제형이 연고, 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는, 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0096] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리아미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0097] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제 등이 이용될 수 있으며, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일 등이 이용될 수 있고, 특히, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 옥수수 배종 오일, 올리브 오일, 피마자 오일 및 참깨 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0098] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0099] 본 발명의 제형이 비누인 경우에는, 담체 성분으로서 지방산의 알칼리 금속 염, 지방산 헤미에스테르 염, 지방산 단백질 히드롤리제이트, 이세티오네이트, 라놀린 유도체, 지방족 알코올, 식물성 유, 글리세롤, 당 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0100] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는, 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코

올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시테이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 오일, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0101] 다른 하나의 양태는 (a) 메조다공성 실리카 나노입자를 자유 아민기(amine group)로 기능화하는 단계; 및(b) 상기 기능화된 메조다공성 실리카 나노입자에 진세노사이드를 결합시키는 단계를 포함하는, 상기 결합체의 제조방법을 제공한다.

[0102] 이때, 상기 메조다공성 실리카 나노입자, 진세노사이드 및 결합체의 정의는 상기 설명한 바와 같다.

[0103] 상기 (a) 단계는 MSNP가 진세노사이드와 효율적으로 결합하도록 하기 위해 MSNP에 변형을 가하는 단계로서, MSNP의 표면에 아민기를 결합시키는 과정일 수 있다. 특히, 상기 아민화는 수산화암모늄(NH_4OH)을 이용하여 유도된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0104] 상기 (b) 단계는 MSNP를 진세노사이드와 결합시키는 단계로서, MSNP의 아민기가 진세노사이드와 반응하여 공유결합을 형성하는 단계이다. 상기 진세노사이드는 용매에 용해된 상태일 수 있으며, 상기 용매의 종류는 구체적으로 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올이나, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매, 헥산 또는 디크로로메탄의 비극성용매일 수 있고, 더욱 구체적으로 에탄올일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0105] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, MSNP을 NH_4OH를 이용하여 자유 아민기로 기능화하였고, 상기 MSNP에 진세노사이드를 첨가하여 교반함으로써 MSNP와 진세노사이드의 결합체를 제조하였다(실시예 1).

발명의 효과

[0106] 본 발명의 MSNP와 진세노사이드의 접합체는 암세포에 대한 타겟 능력이 높아 약물로 개발되기에 유리하다. 또한, 상기 접합체는 높은 항암, 항염 활성을 나타내므로 암 및 염증 질환의 예방, 치료에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0107] 도 1은 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 합성 결과에 관한 것으로, A 내지 C는 MSNP-CK, 및 D 내지 F는 MSNP-Rh2에 관한 것이다. 구체적으로, A 및 D는 상기 두 접합체의 HPLC 분석 결과, B 및 E는 ^{1}H NMR 스펙트럼, C 및 F는 FTIR 스펙트럼을 보여준다.

도 2는 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 FE-TEM 이미지이며, A는 MSNP-CK, B는 MSNP-Rh2에 관한 것이다.

도 3은 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 A549 폐암 세포 또는 각질세포(keratinocyte)에 대한 세포 독성을 보여주는 그래프이다. A 및 B는 MSNP-CK, C 및 D는 MSNP-Rh2의 결과를 나타낸다. 통계적 유의성은 student's t-test를 이용하여 확인하였다. $P < 0.05$인 경우에 유의하다고 판단하였으며, 별표(*)로 표시하였다.

도 4는 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 항염 활성에 관한 것으로, 쥐 대식세포주 RAW 264.7에 대한 세포 독성 및 LPS-유도 NO 생산 저해 효과를 보여준다. NO 생산 저해 효과 분석에 있어서, 질산 합성효소의 저해제인 L-NMMA(NG-monomethyl L-arginine)이 양성 대조군으로 사용되었다. A 및 B는 MSNP-CK, C 및 D는 MSNP-Rh2의 결과를 나타낸다. 통계적 유의성은 student's t-test를 이용하여 확인하였다. $P < 0.05$인 경우에 유의하다고 판단하였으며, 별표(*)로 표시하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0108] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0109] **제조예 1. MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 합성 방법**

[0110] 진세노사이드 CK 또는 Rh2의 타겟 능력 및 반감기를 향상시키기 위하여, 상기 진세노사이드에 메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle; MSNP)를 결합시킨 MSNP-CK 또는 MSNP-Rh2 접합체를 합성하였다.

[0111] 구체적으로, 접합체를 제조하기 위하여, 다음과 같은 시약을 사용하였다. 메조다공성 실리카 나노입자(Mesoporous silica nanoparticle; MSNP, 200 nm, 4 nm의 기공 크기)는 Sigma Aldrich(St. Louis, MO, USA).

사에서 구입하였다. 실리카의 재료로서 테트라에틸 오소실리케이트(Tetraethyl orthosilicate; TEOS, 98%), 3-아미노프로필트리에톡시-살린(3-aminopropyltriethoxy-silane; APTEOS, 98%)을 커플링(coupling) 물질로 사용하였고, 염색시약인 플루오레세인이소티오시안산염(fluorescein isothiocyanate; FITC)를 Aldrich-Sigma Chemical 사(USA)에서 구입하였다. 진세노사이드 CK 및 Rh2는 인삼소재은행(Kyung Hee University, Yongin, South Korea)에서 구입하였다. 다른 모든 화학물질은 분석 수준의 등급인 것을 사용하였다.

[0112] MSNP-CK의 합성은 다음과 같은 세 단계를 통해 합성하였다. 1단계로서, 먼저 FITC 250 mg과 순수 에탄올 10 ml을 50 mL 부피의 세 개의 목이 긴 병에 첨가하였다. 이후, 물 2.5 ml과 NH_4OH를 첨가하였고, 상온에서 30분 동안 교반하였다. TEOS 15 ml 및 APTMS 200 μL을 상기 혼합 용액에 첨가하였고, 염색 시약의 표백을 방지하기 위하여 암조건에서 12시간 동안 교반하였다. 수득한 FITC/APTMS 접합체는 광표백을 피하기 위하여 빛을 차단한 암조건에서 보관하였다. 상기 제조한 접합체 용액은 사용 전에 에탄올 용매를 제거하기 위하여 증류하였다.

[0113] 2단계로서, 진세노사이드를 효율적으로 결합시키기 위하여, MSNP를 자유 아민기(amine group)로 기능화하였고, 실리카를 FITC 코팅하였다. 구체적으로, MSNP 100 mg을 톨루엔(toluene) 15 ml에 용해하였고, 혼합액을 잘 분산시키고, 교반하였다. 이후, APTMS 10 μl을 드롭 방식으로 첨가하였고, HCl(1M) 1방울을 첨가하였다. 반응 혼합액을 24시간 동안 교반하였고, 물로 여러 번 헹군 뒤, 건조하였다.

[0114] 마지막 3단계로서, 진세노사이드에 MSNP를 결합시키기 위하여, 활성화된 MSNP(100 mg)를 물 5 ml에 첨가하였고, 에탄올 10ml에 용해된 진세노사이드 CK(30 mg)를 드롭 방식으로 첨가하였다. FITC 염색 시약이 코팅된 실리카를 추가로 20 mg 첨가하였고, 이후 48시간 동안 교반하였으며, 수득한 나노입자를 10,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하였다. 이후, 순수 에탄올로 세 번 헹구고, 반응되지 않은 화학물질을 제거하기 위하여 물로 세 번 헹구었고, 건조하였다. 이후, MSNP-CK 및 MSNP-Rh2를 수득하기 위하여, 투석된 용액을 동결건조하였다.

[0115] MSNP-Rh2 접합체도 상기와 같은 방법으로, 진세노사이드 Rh2를 이용하여 합성하였다.

[0116] **실시예 1. MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 합성 결과 분석**

[0117] **실시예 1-1. MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 진세노사이드 양 확인**

[0118] MSNP-CK 또는 MSNP-Rh2 접합체에 적재된 진세노사이드의 양은 HPLC를 이용하여 계산하였다.

[0119] 그 결과, 도 1의 A에서 볼 수 있듯이, MSNP-CK는 CK 단독과 동일한 명확한 피크를 보였고, MSNP-CK에 적재된 CK의 양은 결합체 1 mg 당 0.066 mg임을 확인하였다. 아울러, 도 1의 D에서 볼 수 있듯이, MSNP-Rh2는 단독과 동일한 명확한 피크를 보였고, MSNP-Rh2에 적재된 Rh2의 양은 결합체 1 mg 당 0.072 mg임을 확인하였다.

[0120] **실시예 1-2. MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 진세노사이드 고유 특성 확인**

[0121] 본 발명의 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2 접합체가 잘 제조되었는지 확인하기 위하여, MSNP-CK 및 MSNP-Rh2, 및 이의 중간체의 구조를 ^{1}H NMR과 FT-IR을 이용하여 확인하였다.

[0122] 구체적으로, ^{1}H NMR 스펙트럼은 300 MHz(JEOL, Tokyo, Japan)에서 기록하였고, 샘플은 D_2O 또는 CD_3OD에 용해하였다. FT-IR 스펙트럼은 KBr 펠렛을 이용한 Perkin-Elmer FT-IR 분광광도계를 이용하여 확인하였다.

[0123] 그 결과, 도 1의 B 및 C에서 볼 수 있듯이, MSNP-CK의 ^{1}H NMR 결과와 FTIR의 결과는 CK의 특징적인 피크를 나타냄을 확인하였다. 아울러, 도 1의 E 및 F에서 볼 수 있듯이, MSNP-Rh2의 ^{1}H NMR 결과와 FTIR의 결과는 Rh2의 특징적인 피크를 나타냄을 확인하였다.

[0124] 상기 결과를 통해, MSNP-CK 및 MSNP-Rh2 접합체는 각각 CK 및 Rh2의 고유한 특성을 지니고 있음을 알 수 있었다.

[0125] **실시예 2. MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 형태 분석**

[0126] 본 발명의 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2 접합체의 형태를 확인하기 위하여, 200 kV의 가속 전압으로 작동한 FE-TEM(JEM-2000F, JEOL)을 이용하였다.

[0127] 구체적으로, FE-TEM 샘플을 준비하기 위하여 샘플 용액의 한 방울을 탄소가 코팅된 200-메쉬(mesh) 구리 그리드(grid)에 두어 자연건조하였고, 상기 샘플은 인산염-완충된 살린(PBS, pH 7.4) 또는 아세테이트 버퍼(pH 5.0)에 분산시켰다.

[0128] 그 결과, 도 2의 A 및 B에서 볼 수 있듯이, MSNP-CK 및 MSNP-Rh2는 균일한 크기 분포를 갖는 구의 형태를 가짐을 확인하였다.

[0129] **실시예 3. MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 항암 활성 분석**

[0130] 본 발명의 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2 접합체의 항암 활성을 분석하기 위하여, 폐암 세포에 대한 독성을 하기 실시예 3-1 및 3-2를 통해 확인하였다.

[0131] **실시예 3-1. MSNP-CK의 세포 독성 확인**

[0132] MSNP-CK 접합체의 항암 활성을 분석하기 위하여, 폐암세포에 대한 독성을 확인하였다.

[0133] 먼저, 인간 폐암 세포(A549)를 10% 소 태아 혈청(FBS)과 100 IU/mL 페니실린 및 100 ㎍/mL 스트렙토마이신(Gibco-Brl. Gaithersburg, MD, USA)이 보충된 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 세포를 5% CO_2가 포함된 습윤 대기 조건의 37℃에서 배양하였다.

[0134] 이후, 세포 생존율을 MTT(3, 4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2-5-diphenyletrazolium bromide) 어세이를 이용하여 평가하였다. 구체적으로, 세포를 1 × 10^5 세포/mL의 밀도로 96-웰 플레이트에 분주하였고, 24시간 동안 배양 후, 다양한 농도의 MSNP-Rh2, MSNP-CK, 진세노사이드 CK 또는 Rh2를 세포에 24시간 동안 처리하였다. 지정된 배양시간이 끝난 후, MTT 스톡 용액(5 mg/ml) 10 ㎕를 각 웰에 넣었고, 4시간 동안 배양하였다. 이후, 상층액을 제거하고, DMSO 100 ㎕를 상기 웰에 넣었다. 생존한 세포에 의해 형성되는 포마잔(formazan)의 양을 multi-model 플레이트 리더기를 이용하여 570 nm의 파장에서 측정하였으며, 기준파장은 630 nm로 하였다. 추가로, 각질 세포주(keratinocyte)에 대한 세포독성을 상기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0135] 그 결과, 도 3의 A 및 B에서 볼 수 있듯이, A549 폐암 세포주에 대하여, MSNP-CK 접합체는 1 ㎍/mL의 낮은 농도에서 약 50% 정도의 세포 성장을 저해하는 상당히 높은 세포독성을 나타냄을 확인하였고, 10 ㎍/mL의 농도에서는 약 90% 이상의 세포독성을 나타냄을 확인하였다. 또한, CK 단독에 비하여 월등히 우수한 세포 독성을 나타냄을 확인하였다. 반면, 각질세포주에 대해서는 15 ㎍/mL의 높은 농도에서도 세포독성을 나타내지 않음을 확인하였다.

[0136] 상기 결과를 통해, MSNP-CK는 A549에 대하여 독성을 나타냄으로써 우수한 항암활성을 가짐을 알 수 있었고, 정상 세포에는 작용하지 않는 암세포 특이적인 세포독성을 나타냄을 알 수 있었다.

[0137] **실시예 3-2. MSNP-Rh2의 세포 독성 확인**

[0138] MSNP-Rh2 접합체의 항암 활성을 분석하기 위하여, 폐암세포에 대한 독성을 확인하였다.

[0139] 구체적으로, A549 폐암 세포주의 배양과 세포의 생존율은 상기 실시예 3-1에 따른 방법을 수행하여 확인하였다.

[0140] 그 결과, 도 4의 C 및 D에서 볼 수 있듯이, A549 폐암 세포주에 대하여, MSNP-Rh2 접합체는 1 ㎍/mL의 낮은 농도에서 약 50% 정도의 세포 성장을 저해하는 상당히 높은 세포독성을 나타냄을 확인하였고, 15 ㎍/mL의 농도에서는 약 90% 이상의 세포독성을 나타냄을 확인하였다. 또한, CK 단독에 비하여 월등히 우수한 세포 독성을 나타냄을 확인하였다. 반면, 각질세포주에 대해서는 15 ㎍/mL의 높은 농도에서도 세포독성을 나타내지 않음을 확인하였다.

[0141] 상기 결과를 통해, MSNP-Rh2는 A549에 대하여 독성을 나타냄으로써 우수한 항암활성을 가짐을 알 수 있었고, 정상 세포에는 작용하지 않는 암세포 특이적인 세포독성을 나타냄을 알 수 있었다.

[0142] **실시예 5. MSNP-CK 및 MSNP-Rh2의 항염 활성 분석**

[0143] 본 발명의 MSNP-CK 및 MSNP-Rh2 접합체의 항염 활성을 분석하기 위하여, 대식세포에 대한 독성을 하기 실시예 4-1 및 4-2를 통해 확인하였으며, LPS-유도된 대식세포의 NO 생성 저해 활성을 하기 실시예 4-3 및 4-4를 통해 확인하였다.

[0144] **실시예 5-1. MSNP-CK의 항염 활성 분석**

[0145] **실시예 5-1-1. MSNP-CK의 세포 독성 확인**

[0146] MSNP-CK 접합체의 항염 활성을 분석하기 위하여, 대식세포에 대한 독성을 확인하였다.

[0147] 먼저, 쥐 대식세포주(RAW 264.7)를 5 x 10^3 세포/웰의 밀도로 96-웰 마이크로플레이트에 분주하였다. 이때, 10% 소 태아 혈청(FBS)과 100 IU/mL 페니실린 및 100 ㎍/mL 스트렙토마이신(Gibco-Brl. Gaithersburg, MD, USA)이 보충된 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 5% CO_2가 포함된 습윤 대기 조건의 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 이후, 세포의 생존율을 상기 실시예 3-1에 따른 MTT 어세이 방법으로 측정하였다.

[0148] 그 결과, 도 4의 A에서 볼 수 있듯이, MSNP-CK 접합체는 5 ㎍/mL의 농도에서는 대식세포의 생장을 저해하지 않으며, 10 ㎍/mL의 고농도에서 생장을 저해함을 확인하였다.

[0149] **실시예 5-1-2. MSNP-CK의 NO 생산 억제 활성 확인**

[0150] MSNP-CK 접합체의 항염 활성을 분석하기 위하여, 대식세포의 NO 생산 억제 활성을 확인하였다.

[0151] 구체적으로, 생성된 질산(NO)의 양을 측정하기 위하여, RAW 264.7 세포를 MSNP-Rh2, MSNP-CK, 진세노사이드 CK 단독 또는 Rh2 단독으로 1시간 동안 선처리하였고, 이후 상기 샘플이 존재하는 조건에서 1 ㎍/㎕의 지질다당류(LPS)로 자극하였다. 세포를 24시간 동안 배양한 후, 세포 배양액의 상층액 100 ㎕를 동등한 부피의 그리스 시약(Griess reagent)과 혼합하였고, 마이크로리더기(Bio-Tek Instruments, Inc.)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 질산나트륨 곡선을 각 실험에 포함시켰다.

[0152] 그 결과, 도 4의 B에서 볼 수 있듯이, MSNP-CK 접합체는 세포독성을 나타내지 않은 1 ㎍/mL의 낮은 농도에서 대식세포의 NO 생산을 유의하게 저해함을 확인하였다. 또한, CK 단독에 비하여 근소하지만 더 우수한 정도로 대식세포의 NO 생산을 억제함을 확인하였고, 이러한 효과는 MSNP-CK 접합체의 농도가 높아질수록 향상됨을 확인하였다.

[0153] 상기 결과를 통해, MSNP-CK는 정상 대식세포주 대하여 직접적으로 독성을 나타내지 않으면서 NO 생산만을 선택적으로 억제함으로써, 우수한 항염활성을 나타냄을 알 수 있었다.

[0154] **실시예 5-2. MSNP-Rh2의 항염 활성 분석**

[0155] **실시예 5-2-1. MSNP-Rh2의 세포 독성 확인**

[0156] MSNP-Rh2 접합체의 항염 활성을 분석하기 위하여, 대식세포에 대한 독성을 확인하였다.

[0157] 구체적으로, RAW 264.7의 배양과 세포의 생존율은 상기 실시예 4-1-1에 따른 방법을 수행하여 확인하였다.

[0158] 그 결과, 도 4의 C에서 볼 수 있듯이, MSNP-Rh2 접합체는 5 ㎍/mL의 농도에서는 대식세포의 생장을 저해하지 않으며, 10 ㎍/mL의 고농도에서 생장을 저해함을 확인하였다.

[0159] **실시예 5-2-2. MSNP-Rh2의 NO 생산 억제 활성 확인**

[0160] MSNP-Rh2 접합체의 항염 활성을 분석하기 위하여, 대식세포의 NO 생산 억제 활성을 확인하였다.

[0161] 구체적으로, MSNP-Rh2의 처리에 따른 RAW 264.7의 NO 생산 정도는 상기 실시예 4-1-2에 따른 방법을 수행하여 확인하였다.

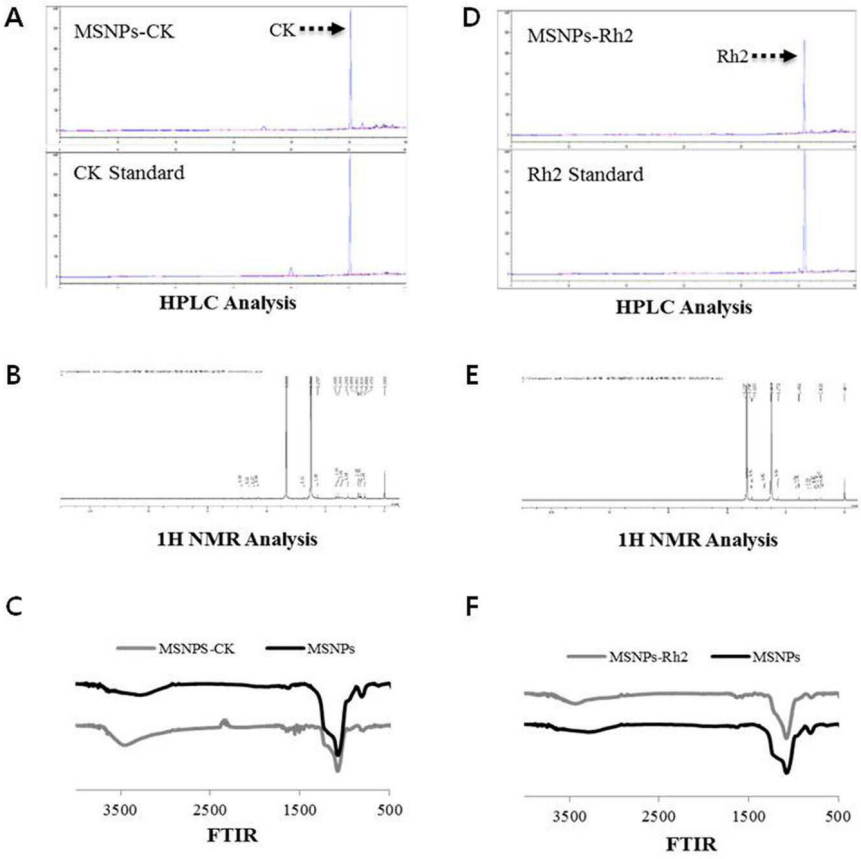
[0162] 그 결과, 도 4의 D에서 볼 수 있듯이, MSNP-Rh2는 세포독성을 나타내지 않은 1 ㎍/mL의 낮은 농도에서 대식세포의 NO 생산을 유의하게 저해함을 확인하였다. 또한, Rh2 단독에 비하여 근소하지만 더 우수한 정도로 대식세포의 NO 생산을 억제함을 확인하였고, 이러한 효과는 MSNP-Rh2 접합체의 농도가 높아질수록 향상됨을 확인하였다.

[0163] 상기 결과를 통해, MSNP-Rh2는 정상 대식세포주에 대하여 직접적으로 독성을 나타내지 않으면서 NO 생산만을 선택적으로 억제함으로써, 우수한 항염활성을 나타냄을 알 수 있었다.

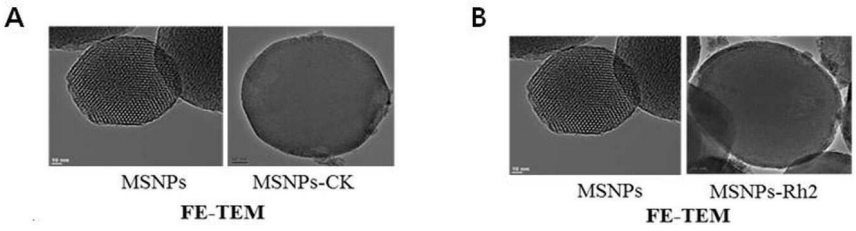
[0164] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

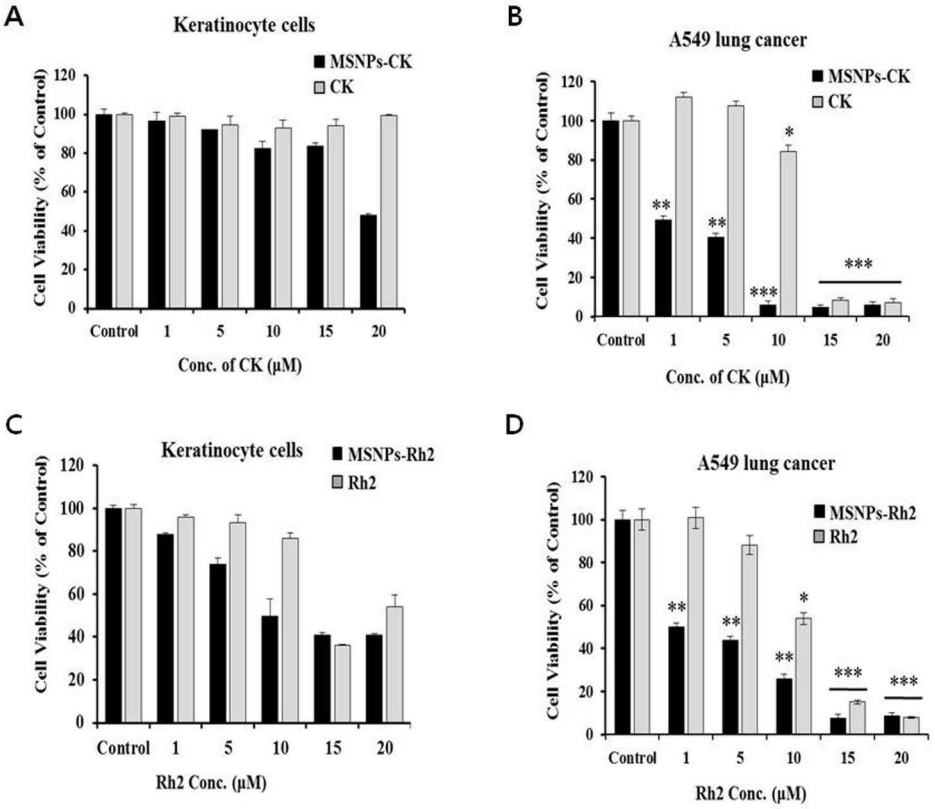
도면1


A
MSNPs-CK
CK
CK Standard
HPLC Analysis
D
MSNPs-Rh2
Rh2
Rh2 Standard
HPLC Analysis
B
1H NMR Analysis
E
1H NMR Analysis
C
MSNPS-CK
MSNPs
3500
2500
1500
500
FTIR
F
MSNPs-Rh2
MSNPs
3500
2500
1500
500
FTIR

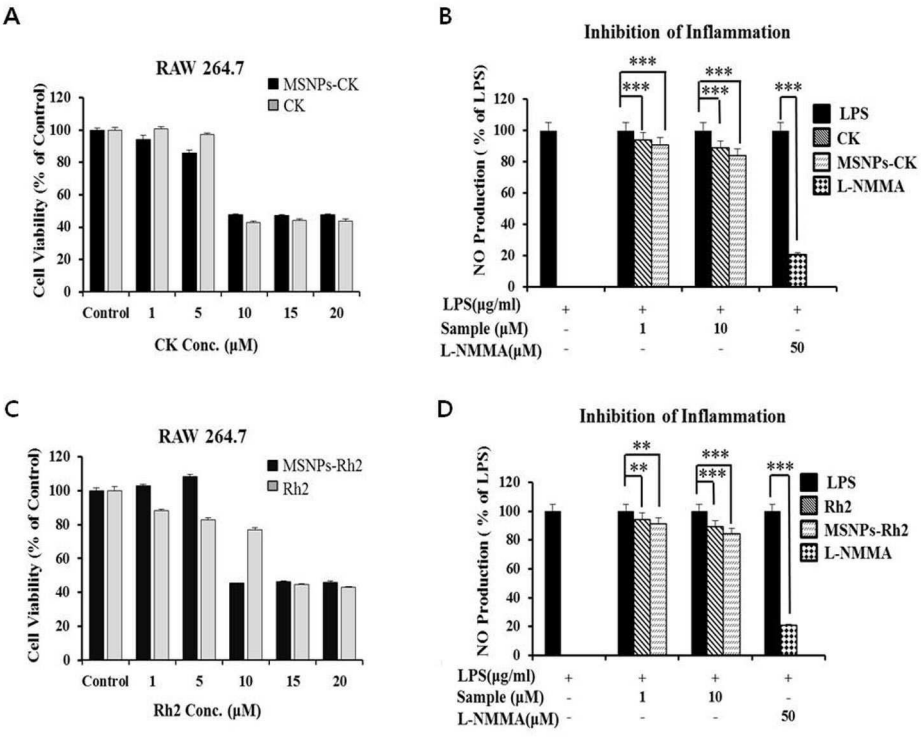
도면2


A
MSNPs
MSNPs-CK
FE-TEM
B
MSNPs
MSNPs-Rh2
FE-TEM

도면3


A
Keratinocyte cells
MSNPs-CK
CK
Cell Viability (% of Control)
Control 1 5 10 15 20
Conc. of CK (μM)
B
A549 lung cancer
MSNPs-CK
CK
Cell Viability (% of Control)
Control 1 5 10 15 20
Conc. of CK (μM)
C
Keratinocyte cells
MSNPs-Rh2
Rh2
Cell Viability (% of Control)
Control 1 5 10 15 20
Rh2 Conc. (μM)
D
A549 lung cancer
MSNPs-Rh2
Rh2
Cell Viability (% of Control)
Control 1 5 10 15 20
Rh2 Conc. (μM)

도면4


A
RAW 264.7
MSNPs-CK
CK
Cell Viability (% of Control)
Control 1 5 10 15 20
CK Conc. (μM)
B
Inhibition of Inflammation
LPS
CK
MSNPs-CK
L-NMMA
NO Production (% of LPS)
LPS(μg/ml) + + + +
Sample (μM) - 1 10 -
L-NMMA(μM) - - - 50
C
RAW 264.7
MSNPs-Rh2
Rh2
Cell Viability (% of Control)
Control 1 5 10 15 20
Rh2 Conc. (μM)
D
Inhibition of Inflammation
LPS
Rh2
MSNPs-Rh2
L-NMMA
NO Production (% of LPS)
LPS(μg/ml) + + + +
Sample (μM) - 1 10 -
L-NMMA(μM) - - - 50