

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0046598

(43) 공개일자 2021년04월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/137 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)

A61K 31/496 (2006.01) A61K 31/55 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01) A61P 31/06 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/137 (2013.01)

A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2021-0040216(분할)

(22) 출원일자 2021년03월29일

심사청구일자 2021년03월29일

(62) 원출원 특허 10-2019-0129816

원출원일자 2019년10월18일

심사청구일자 2019년10월18일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

신성재

서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세대학교 의과대학 미생물학교실

심다희

서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세대학교 의과대학 미생물학교실

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

파도특허법인(유한)

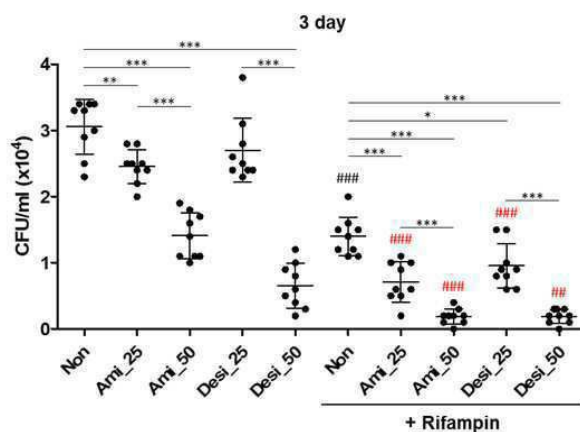
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 결핵 및 비결핵항산균 감염 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 결핵 및 비결핵항산균 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 상기 조성물은 결핵균 및 비결핵항산균, 특히 숙주 세포인 큰포식세포에서 발현되는 IFN- β 의 발현 수준이 증가되는 경우 그 성장 속도가 더욱 증가되는 상기 균주들의 증식 및 성장을 억제하는데 현저한 시너지 효과를 갖는다. 이와 같은 효과를 통하여, 숙주 세포 중에서, 특히 큰포식세포를 주된 숙주 세포로 하는 결핵 및 비결핵항산균 감염 질환을 매우 효과적으로 치료할 수 있다.

대표도 - 도3

Data are presented as average \pm SD.

Group comparisons were accomplished using the Mann-Whitney test with post-test.

(*, P < 0.05; **, P < 0.01; ***, P < 0.001) (#, P < 0.05; ##, P < 0.01; ###, P < 0.001, compared to RIF untreated group)

(52) CPC특허분류

A61K 31/496 (2013.01)

A61K 31/55 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 31/06 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

(72) 발명자

박예은

서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세대학교 의과
대학 미생물학교실

김하규

서울특별시 서대문구 연세로 50-1

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711110143

과제번호 NRF-2019R1A2C2003204

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 중견연구

연구과제명 결핵의 병원 면역대사 조절 이해를 통한 치료 극대화 모색과 혁신적 치료증강제 개

발

기 여 율 1/2

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2020311289

과제번호 HI20C0017020021

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 한국보건사업진흥원

연구사업명 보건의료연구개발사업

연구과제명 MAC 폐질환의 치료향상을 위한 항생제 관용 극복기술 검증과 새로운 치료기법의 적

용근거 확립

기 여 율 1/2

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

데시프라민(desipramine) 및 리팜핀(rifampin)을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 결핵은 마이코박테리움 투베르쿨로시스(M. tuberculosis), 마이코박테리움 보비스(M. bovis), 마이코박테리움 보비스(M. bovis) BCG, 마이코박테리움 아프리카눔(M. africanum), 마이코박테리움 카네티(M. canetti), 마이코박테리움 카프라에(M. caprae), 마이코박테리움 마이크로티(M. microti) 및 K 균주(Mycobacterium tuberculosis K strain)로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 하나의 감염에 의해 유발되는 것인, 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 결핵은 안결핵, 피부 결핵, 부신 결핵, 신장 결핵, 부고환 결핵, 림프선 결핵, 후두 결핵, 중이 결핵, 장 결핵, 다제내성 결핵, 폐결핵, 담결핵, 골결핵, 인후결핵, 임파선 결핵, 폐허증, 유방 결핵 및 척추 결핵으로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

데시프라민(desipramine)을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 비결핵항산균은 마이코박테리움 아비움(Mycobacterium avium), 마이코박테리움 인트라셀룰레어(Mycobacterium intracellulare), 마이코박테리움 칸사시(Mycobacterium kansasii), 마이코박테리움 포푸이툼(Mycobacterium fortuitum) 및 마이코박테리움 압세수스(Mycobacterium abscessus)로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 비결핵항산균 감염질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 4항에 있어서,

상기 비결핵항산균 감염질환은 폐질환, 림프절염, 피부·연조직·골감염증 및 파종성 질환(disseminated disease)으로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 비결핵항산균 감염질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제 4항에 있어서,

상기 조성물은 리팜핀(rifampin), 아이소니아지드(isoniazid), 피라진아마이드(pyrazinamide), 에탐부톨(ethambutol), 스트렙토마이신(streptomycin), 플로퀴논론(fluoroquinolone), 카나마이신(kanamycin), 시클로세린(Cycloserine), 프로치온 아마이드(Prothionamide), 레보플록사신(Levofloxacin), 모ξι플록사신(Moxifloxacin), 오픈플록사신(Ofloxacin), 리파부틴(Rifabutin), 카프레오마이신(Capeomycin), 아미카신(amikacin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 프로티오나마이드(protionamide), 에티오나마이드(ethionamide), 사이클로세린(cycloserine), 티오아세트존(thioacetazone), 클로파지마인(clofazimine), 아목실린/클라불라네이트(amoxicillin/clavulanate), 다이아미노다이페닐설폰의 유도체(derivative of dianomidiphenylsulphone)

및 리네졸리드(Linezolid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 더 포함하는 것인, 비결핵항산균 감염질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

데시프라민(desipramine) 및 리팜핀(rifampin)을 유효성분으로 포함하는 결핵균의 증식 또는 성장 억제용 약학 조성물.

청구항 9

데시프라민(desipramine)을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균의 증식 또는 성장 억제용 약학 조성물.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 조성물은 리팜핀(rifampin), 아이소니아지드(isoniazid), 피라진아마이드(pyrazinamide), 에탐부톨(ethambutol), 스트렙토마이신(streptomycin), 플로퀴논론(fluoroquinolone), 카나마이신(kanamycin), 시클로세린(Cycloserine), 프로치온 아마이드(Prothionamide), 레보플록사신(Levofloxacin), 모시플록사신(Moxifloxacin), 오픈록사신(Ofloxacin), 리파부틴(Rifabutin), 카프레오마이신(Capeomycin), 아미카신(amikacin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 프로티오나미드(protionamide), 에티오나미드(ethionamide), 사이클로세린(cycloserine), 티오아세트존(thioacetazone), 클로파지마인(clofazimine), 아목실린/클라불라네이트(amoxicillin/clavulanate), 다이아미노다이페닐설폰의 유도체(derivative of dianomidiphenylsulphone) 및 리네졸리드(Linezolid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 더 포함하는 것인, 비결핵항산균의 증식 또는 성장 억제용 약학 조성물.

청구항 11

데시프라민(desipramine) 및 리팜핀(rifampin)을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 12

데시프라민(desipramine)을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 조성물은 리팜핀(rifampin), 아이소니아지드(isoniazid), 피라진아마이드(pyrazinamide), 에탐부톨(ethambutol), 스트렙토마이신(streptomycin), 플로퀴논론(fluoroquinolone), 카나마이신(kanamycin), 시클로세린(Cycloserine), 프로치온 아마이드(Prothionamide), 레보플록사신(Levofloxacin), 모시플록사신(Moxifloxacin), 오픈록사신(Ofloxacin), 리파부틴(Rifabutin), 카프레오마이신(Capeomycin), 아미카신(amikacin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 프로티오나미드(protionamide), 에티오나미드(ethionamide), 사이클로세린(cycloserine), 티오아세트존(thioacetazone), 클로파지마인(clofazimine), 아목실린/클라불라네이트(amoxicillin/clavulanate), 다이아미노다이페닐설폰의 유도체(derivative of dianomidiphenylsulphone) 및 리네졸리드(Linezolid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 더 포함하는 것인, 비결핵항산균 감염질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 결핵 및 비결핵항산균 감염 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 마이코박테리움 속 균종은 병원성 정도에 따라 절대병원성균인 결핵균 및 나병균을 포함하는 결핵균군과, 이를 제외한 기회감염성 균종인 비결핵항산균(nontuberculous mycobacteria, NTM)의 두 그룹으로 구분된다.

[0003] 상기 결핵균은 감염 후 일정기간 동안 잠복기를 거친 후 발병되거나 또는 잠복기 없이 급성으로 발병하여 폐의

염증과 천식을 동반하는 합병증을 일으켜 감염자를 결국 사망에 이르게 한다. 특히 결핵균을 단순히 보유하고 있는 보균자의 경우에는 자각증상이 없기 때문에 타인에게 쉽게 결핵균이 전염될 수 있어 결핵의 예방에 어려움이 있다.

[0004] 상기 비결핵항산균은 자연계에 널리 분포하며 균종에 따라 질환을 일으키는 발병력이 달라, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. abscessus* 등은 상대적으로 발병력이 크고, *M. fortuitum*은 상대적으로 발병력이 낮다. 비결핵항산균으로 인한 질환은 폐질환, 림프절염, 피부·연조직·골감염증, 파종성 질환 등 4가지 특징적인 임상 증후를 나타낸다.

[0005] 상기 결핵(TB; Tuberculosis)은 세계보건기구(WHO; World Health Organization)에서 지정한 인류 건강을 위협하는 3대 감염 질병 중 하나이다. 결핵을 발병시키는 주요 원인균으로는 마이코박테리움 투베르쿨로시스(*MTB*; *Mycobacterium tuberculosis*)가 대표적이고, 전 세계 인구 중 3분의 1정도는 감염된 이력이 있다고 보고되고 있다(Global TB reports, WHO, 2017). 2017년 세계보건기구에서 작성한 Global TB report에서는 2016년 기준으로 전 세계에서 새롭게 결핵에 걸린 환자는 약 1,040만명으로 추산하고 있으며 기존의 결핵환자 중 140만명은 결핵으로 인한 사망, 그리고 추가적으로 40만명은 인간 면역결핍 바이러스(HIV; Human Immunodeficiency Virus)와의 동시감염으로 인한 사망이 발생하였다고 보고하고 있다. 그러나 최근 결핵 감염 수는 매년 감소 추세에 이르지만 다제내성(MDR; Multi-drug resistant) 및 광범위 내성(XDR; Extensively-drug resistant)을 지닌 결핵균의 증가로 인하여 결핵 치료가 어려워지고 있다. 이로 인해 결핵의 치료 비용도 증가하였고, 치료 효율마저 낮아져 난치성 결핵으로 발전하는 모습을 보여주고 있다.

[0006] 한편, 비결핵항산균에 의해 유발되는 폐질환에 대한 보고는 2000년 이후 증가하고 있으며, 국내에서 상기 폐질환의 원인균으로 가장 흔한 균은 *M. Avium*이며, 외국에서는 상대적으로 드물지만 국내에서는 두번째로 관찰되는 *M. abscessus*가 원인균으로 보고되고 있다. 상기 *M. abscessus*의 감염에 의해 유발되는 폐질환은 중년 이상의 비흡연자 여성에서 흔히 발생되며, 기침, 발열, 객혈 및 객담과 같은 증상이 나타난다.

[0007] 상기 결핵을 치료할 수 있는 항생제의 경우, 최초로 사용된지 최소 50년 이상된 것으로서, 현재 결핵과 항생제 내성을 갖는 결핵균에 대한 치료제에 대한 신규 약에 대한 연구는 미비한 실정이다. 뿐만 아니라, 상기 비결핵항산균에 의해 유발되는 폐질환은 폐결핵과는 달리 항생제 병합 치료를 실시함에도 불구하고 아직까지 그 치료 효과가 만족스럽지 못하며, 주로 질환이 발생하는 연령대가 중년 이상의 고령의 환자이기 때문에 각종 항생제 및 여러 치료 요법을 시도할 때 수반되는 부작용이 높은 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 비결핵항산균 감염질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 결핵균 또는 비결핵항산균의 증식 또는 성장 억제용 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

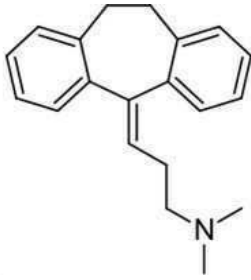
[0012] 본 발명의 일 구현 예에서는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 상기 조성물은 약학 조성물 또는 식품 조성물로 사용될 수 있다.

[0014] 본 발명의 상기 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 아미트립틸린(amitriptyline) 및 데시프라민(despramine) 중 적어도 어느 하나를 유효성분으로 포함한다.

[0015] 본 발명의 상기 "아미트립틸린"은 삼환계 항우울제의 한 종류로, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물이며, 주요 우울장애, 불안장애, 주의력결핍 과다행동장애 및 조울증 등의 치료에 효과가 있는 물질로 알려져 있다. 그러나, 본 발명의 목적상 상기 아미트립틸린은 단독 또는 기존의 항생제와 병용하여 사용됨으로써 숙주 세포인 큰포식 세포에서 발현되는 IFN- β 의 발현 수준이 증가되는 경우 그 성장 속도가 더욱 증가되는 결핵균의 증식 및 성장을 억제할 수 있다:

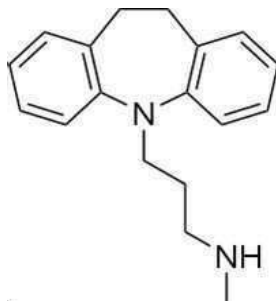
[0016] [화학식 1]



[0017]

[0018] 본 발명의 상기 "테시프라민"은 삼환계 항우울제의 한 종류로, 하기 화학식 2로 표시되는 화합물이며, 세로토닌 재흡수 억제, 항콜린성 효과 등의 효과를 발휘하며 노르에피네프린 재흡수 억제제로서의 역할을 할 수 있다. 이와 같은 화합물은 우울증 및 주의력 결핍 과잉행동장애 등의 치료에 효과가 있는 물질로 알려져있다. 그러나, 본 발명의 목적상 상기 테시프라민은 단독 또는 기존의 항생제와 병용하여 사용됨으로써 숙주 세포인 큰포식세포에서 발현되는 IFN- β 의 발현 수준이 증가되는 경우 그 성장 속도가 더욱 증가되는 결핵균의 증식 및 성장을 억제할 수 있다:

[0019] [화학식 2]



[0020]

[0021] 본 발명의 상기 조성물은 리팜핀(rifampin), 아이소니아지드(isoniazid), 피라진아마이드(pyrazinamide), 에탐부톨(ethambutol), 스트렙토마이신(streptomycin), 플로퀴논론(fluoroquinolone), 카나마이신(kanamycin), 시클로세린 (Cycloserine), 프로치온 아마이드(Prothionamide), 레보플록사신(Levofloxacin), 모시플록사신(Moxifloxacin), 오픈플록사신(Ofloxacin), 리파부틴(Rifabutin), 카프레오마이신(Capeomycin), 아미카신(amikacin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 프로티오나마이드(protionamide), 에티오나마이드(ethionamide), 사이클로세린(cycloserine), 티오아세트azon(thioacetazone), 클로파지마인(clofazimine), 아목실린/클라불라네이트(amoxicillin/clavulanate), 다이아미노다이페닐설폰의 유도체(derivative of dianomidiphenylsulphone) 및 리네졸리드(Linezolid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 더 포함하는 것일 수 있다.

[0022] 본 발명의 상기 유효성분은 단독으로 사용된 경우와 비교하여, 기존의 항생제와 병용하여 사용되었을 때에 결핵균, 특히 숙주 세포인 큰포식세포에서 발현되는 IFN- β 의 발현 수준이 증가되는 경우 그 성장 속도가 더욱 증가되는 결핵균의 증식 및 성장을 억제하는데 현저한 시너지 효과를 갖는다.

[0023] 본 발명의 상기 유효성분은 기존의 항생제와 병용하여 사용되었을 때, 상기 결핵을 유발하는 결핵균에 대하여 항생제에 대한 감수성 또는 민감성을 증진시킴으로써, 단독으로 사용된 경우와 비교하여 결핵균의 증식 및 성장을 더욱 효과적으로 억제할 수 있다.

[0024] 본 발명의 상기 결핵은 당 분야에 알려진 결핵균에 의해 발병되는 결핵을 모두 포함하며, 예를 들면, 마이코박테리움 투베르쿨로시스(M. tuberculosis), 마이코박테리움 보비스(M. bovis), 마이코박테리움 보비스(M. bovis) BCG, 마이코박테리움 아프리카눔(M. africanum), 마이코박테리움 카네티(M. canetti), 마이코박테리움 카프라에(M. caprae), 마이코박테리움 마이크로티(M. microti) 및 K 균주(Mycobacterium tuberculosis K strain)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 감염에 의해 유발되는 것일 수 있다. 본 발명의 실시예에서는 마이코박테리움 투베르쿨로시스가 큰포식세포에 감염되었을 때, 본 발명의 상기 유효성분을 단독으로 사용한 경우뿐만 아니라, 상기 기존의 항생제와 병용하여 사용된 경우 상기 마이코박테리움 투베르쿨로시스의 성장 억제에 시너지 효과가 있는 것을 확인하였다(도 2 및 도 3 참조).

[0025] 상기 "K 균주"란, 한국형 고병원성 결핵균으로, 베이징 패밀리(Beijing family)에 속하는 균주, 즉 표준 균주인

마이코박테리움 투베르쿨로시스에 비하여 병원성이 높고 치료 후, 재발율이 높은 것을 특징으로 한다. 한국의 결핵 환자로부터 분리되는 결핵 균주의 77%는 베이징 패밀리에 속하는 것으로 알려져 있고 중고등학교에서 집단으로 발생하는 결핵균들의 제한효소 절편 다형(restriction fragment length polymorphism; RFLP) 프로파일을 조사한 결과, 약 18.4%에서 독특한 균주 집단이 발견되어 이를 K 균주로 명명하고, 이와 같은 유사한 특징을 갖는 균주들을 K 패밀리로 명명하였다 (Kim SJ, et al. Int. J. Tuberc. Lung Dis.5:824-830, 2001).

- [0026] 본 발명의 목적상 상기 결핵균은 숙주 세포에 감염되는 경우, 특히 큰포식세포의 변화를 유도하여 세포 내 지질이 증가되는 포말 세포를 형성하도록 한 뒤, 이와 같은 포말 세포를 에너지원으로 사용하는 것일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 상기 결핵은 안결핵, 피부 결핵, 부신 결핵, 신장 결핵, 부고환 결핵, 림프선 결핵, 후두 결핵, 중이 결핵, 장결핵, 다제내성 결핵, 폐결핵, 담결핵, 골결핵, 인후결핵, 임파선 결핵, 폐허증, 유방 결핵 및 척추 결핵으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명의 상기 "예방"은 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 결핵으로 인해 발생한 증상을 차단하거나, 그 증상을 억제 또는 지연시키는 모든 행위라면 제한없이 모두 포함될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 상기 "개선" 및 "치료"는 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 결핵으로 인해 발생한 증상이 호전되거나 이롭게 되는 행위라면 제한없이 모두 포함될 수 있다.
- [0030] 본 발명의 상기 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 상기 약학 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사 용액의 형태로 제형화되어 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등이 사용될 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등이 혼합되어 사용될 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수 회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형화할 수 있다.
- [0032] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 향응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 상기 약학 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투여가 바람직하다.
- [0034] 본 발명의 상기 "비경구"란, 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다.
- [0035] 본 발명의 상기 약학 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여 시간, 투여 경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 기간에 따라 다르지만 담당자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 50 mg/kg 또는 0.001 내지 50 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 의약 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형화될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 상기 식품 조성물은 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 과자, 떡, 빵 등의 형태로 제조될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 상기 조성물의 유효성분이 식품 조성물에 포함될 때 그 양은 전체 중량의 0.1 내지 50%의 비율로 첨

가할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0038] 본 발명의 상기 식품 조성물이 음료 형태로 제조되는 경우 지시된 비율로 상기 식품 조성물을 포함하는 것 외에 특별한 제한점은 없으며, 통상의 음료와 같이 다양한 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 구체적으로, 천연 탄수화물로서 포도당 등의 모노사카라이드, 과당 등의 디사카라이드, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜 등을 포함할 수 있다. 상기 향미제로서는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오 시드 A, 글리시리히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등) 등일 수 있다.
- [0039] 본 발명의 상기 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등이 더 포함될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 상기 식품 조성물에 포함되는 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 본 발명의 핵심적인 요소에 해당하지 아니하지만, 본 발명의 식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 50 중량부의 범위에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 다른 구현 예에서는 비결핵항산균 감염질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [0043] 본 발명의 상기 조성물은 약학 조성물 및 식품 조성물로 사용될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 상기 포함하는 비결핵항산균 감염질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 아미트립틸린 및 데시프라민 중 적어도 어느 하나를 유효성분으로 포함한다.
- [0045] 본 발명의 상기 유효성분은 단독으로 사용된 경우뿐만 아니라, 기존의 항생제와 병용하여 사용되었을 때에 결핵균, 특히 숙주 세포인 큰포식세포에서 발현되는 IFN- β 의 발현 수준이 증가되는 경우 그 성장 속도가 더욱 증가되는 결핵균의 증식 및 성장을 억제하는데 현저한 시너지 효과를 갖는다.
- [0046] 본 발명의 상기 비결핵항산균 감염질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에서, 유효성분, 기존 항생제, 예방, 개선, 치료, 약학 조성물 및 식품 조성물과 관련된 내용은 앞서 기재한 바와 동일하여 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해 생략한다.
- [0047] 본 발명의 상기 "비결핵항산균"이란, 결핵균종(*mycobacterium complex*)과 나병균(*M. leprae*)를 제외한 다른 모든 마이코박테리아를 지칭하는 것으로서, 예를 들면, 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*), 마이코박테리움 인트라셀룰레어(*Mycobacterium intracellulare*), 마이코박테리움 칸사시(*Mycobacterium kansasii*), 마이코박테리움 포푸이툼(*Mycobacterium fortuitum*) 및 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명의 목적상 상기 비결핵항산균은 숙주 세포에 감염되는 경우, 그 균주의 종류에 따라 큰포식세포의 변화를 유도하여 세포 내 지질이 증가되는 포말 세포를 형성하도록 한 뒤, 이와 같은 포말 세포를 에너지원으로 사용하는 것일 수 있다.
- [0049] 본 발명의 상기 비결핵항산균 감염 질환은 폐질환, 림프절염, 피부·연조직·골감염증 및 파종성 질환(*disseminated disease*)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 본 발명의 또 다른 구현 예에서는 결핵균 또는 비결핵항산균의 증식 또는 성장 억제용 조성물을 제공한다.
- [0052] 본 발명의 상기 증식 또는 성장 억제용 조성물은 아미트립틸린 및 데시프라민 중 적어도 어느 하나를 포함한다.
- [0053] 본 발명의 상기 아미트립틸린 및 데시프라민은 단독으로 사용된 경우뿐만 아니라, 기존의 항생제와 병용하여 사용되었을 때에 결핵균 및 비결핵항산균, 특히 숙주 세포인 큰포식세포에서 발현되는 IFN- β 의 발현 수준이 증가되는 경우 그 성장 속도가 더욱 증가되는 상기 균주들의 증식 및 성장을 억제하는데 현저한 시너지 효과를 갖는다.
- [0054] 본 발명의 상기 증식 또는 성장 억제용 약학 조성물에서, 유효성분, 기존 항생제, 결핵균, 비결핵항산균, 예방, 개선, 치료 및 조성물과 관련된 내용은 앞서 기재한 바와 동일하여 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해 생략

한다.

발명의 효과

[0055] 본 발명에 따른 조성물은 결핵균 및 비결핵항산균, 특히 숙주 세포인 큰포식세포에서 발현되는 IFN- β 의 발현 수준이 증가되는 경우 그 성장 속도가 더욱 증가되는 상기 균주들의 증식 및 성장을 억제하는데 현저한 시너지 효과를 갖는다. 이와 같은 효과를 통해, 숙주 세포 중에서, 특히 큰포식세포를 주된 숙주 세포로 하는 결핵 및 비결핵항산균 감염 질환을 매우 효과적으로 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0056] 도 1의 A 및 B는 본 발명의 일 실시예에 따른 IFN- β 에 의한 결핵균의 성장 증가와 세라마이드(ceramide) 방출량을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 2의 A 및 B는 본 발명의 일 실시예에 따른 큰포식세포에서 아미트립틸린 및 데시프라민 처리에 의한 결핵균의 성장 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 큰포식세포에서 아미트립틸린 또는 데시프라민과 결핵치료제의 병용처리에 의한 결핵균의 성장 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 큰포식세포에서 아미트립틸린 및 데시프라민 처리에 의한 비결핵항산균의 성장 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0057] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0059] 실시예

[0061] [제조예 1 내지 6] 실시예에서 사용된 배지 제조

[0062] [제조예 1 및 2] cDMEM 배지 및 감염 배지의 제조

[0063] 450 ml의 DMEM 배지에, 50 ml의 열에 의해 불활성화된 우태아혈청(FBS)와 5 ml의 100 X 항생제를 넣고 충분히 섞는 과정을 통해 500 ml의 cDMEM 배지를 제조하였다(제조예 1). 여기서, 감염 배지는 제조예 1과 동일한 조건으로 제조하면서, 5 ml의 항생제는 제외하였다(제조예 2).

[0065] [제조예 3] L929 세포주 배양액(conditioned media) 제조

[0066] 상기 제조예 1의 cDMEM 배지에 L929 세포주를 1×10^5 세포/ml의 농도로 현탁한 뒤, T 175 플라스크에 상기 세포 현탁액을 50 ml의 양으로 분주하고, 5% CO₂ 및 37 °C의 조건에서 7일 동안 배양하였다. 그런 다음, 상기 7일 동안 배양된 배양액을 수득(1차 cDMEM 배양액)하고, 50 ml의 새로운 상기 cDMEM 배지를 상기 7일 배양된 세포주에 넣고 7일 동안(최초 분주일로부터 14일) 추가로 배양하였다. 이후, 최초 분주일로부터 14일이 되는 날, 배양액을 수득하였다(2차 cDMEM 배양액).

[0068] [제조예 4] L929-cDMEM 배지의 제조

[0069] 상기 제조예 1의 cDMEM 배지 90 ml에, 상기 제조예 2의 1차 cDMEM 배양액 및 2차 cDMEM 배양액을 각각 5 ml씩 넣고 잘 섞어, L929-cDMEM 배지를 제조하였다.

- [0071] [제조예 5] L929-감염 배지의 제조
- [0072] 90 ml의 상기 제조예 1의 감염 배지에 상기 제조예 3의 1차 cDMEM 배양액 및 2차 cDMEM 배양액을 각각 5 ml씩 넣고 잘 섞어 L929-감염 배지를 제조하였다.
- [0074] [제조예 6] 7H10 배지 제조
- [0075] 450 ml의 증류수에 9.5 g의 7H10 가루를 넣고, 충분히 섞어준 뒤 121 °C에서 15분 동안 열을 가하는 멸균 과정을 수행하고, 상기 멸균된 배지를 60 °C까지 식힌 뒤에 50 ml의 OADC(Oleic Acid + Albumin + Dextrose + Catalase)를 넣었다. 이후, 상기 OADC가 포함된 배지를 100 파이 배양 접시에 22 ml 정도 붓고, 상온에서 하루 동안 방치하여 충분히 굳힌 뒤 추후 실험에 사용될 때까지 냉장보관 하였다.
- [0077] [실시예 1] 마우스 골수 유래 큰포식세포 분화
- [0078] 7~9 주령의 C57BL/6J 암컷 마우스 또는 7~9 주령의 A/J 암컷 마우스의 대퇴골과 경골에 DMEM을 주사기로 흘려 넣어 골수 세포를 분리하였다. 상기 분리된 골수 세포를 상기 제조예 4에서 제조된 80 ml의 L929-cDMEM을 사용하여 충분히 현탁시켰다. 이후, 상기 골수 세포 현탁액을 100 파이 배양 접시 8개에 10 ml씩 분주하고, 5% CO₂ 37 °C 조건에서 배양하였다. 이렇게 배양한 지 3일 후에 L929-cDMEM을 상기 각각의 배양 접시에 10 ml씩 추가로 넣고, 배양 시작일로부터 7일째에 골수로부터 유래된 큰포식세포를 배양 접시에서 T/E를 이용하여 분리시킨 뒤 세포 개수를 세었다. 이후, 상기 분리된 큰포식세포를 48 웰 플레이트에 1.5×10^5 세포수/0.5 ml의 양만큼 분주하고, 5% CO₂, 37°C 조건에서 밤새도록 배양하여 상기 큰포식세포가 바닥에 충분히 붙을 수 있도록 하였다.
- [0080] [실시예 2] 결핵균 또는 비결핵항산균에 의한 감염 방법
- [0081] 결핵균의 경우 큰포식세포 1개당 2개의 비율, 및 비결핵항산균의 경우 큰포식세포 1개당 3개의 비율에 해당하는 균주가 감염될 수 있도록 계산하여, 계산된 수만큼의 균주를 상기 제조예 1의 감염 배지에 현탁시켰다. 그런 다음, 상기 실시예 1에서 큰포식세포가 분주된 48웰 플레이트를 PBS(phosphate buffered saline)를 이용하여 2차례 씻어준 뒤, 상기 플레이트에 상기 결핵균 또는 비결핵항산균이 현탁된 감염 배지를 0.5ml 넣고, 5% CO₂, 37 °C 조건에서 4시간동안 배양하였다. 이후, PBS를 이용하여 상기 플레이트를 씻어준 뒤에 상기 제조예 5의 L929-감염 배지 0.5 ml를 넣었다.
- [0083] [실시예 3] 단백질 및 약물 처리 방법
- [0084] 상기 실시예 2에서 상기 결핵균 또는 비결핵항산균을 넣고 1일 동안 추가로 배양한 뒤, 상기 L929-감염 배지를 제거하고, 단백질 및 약물이 포함된 감염 배지를 0.5 ml씩 플레이트의 각 웰에 넣었다. 이때, 세포에 처리되는 약물 농도는 IFN- β 의 경우 20 ng/ml로, 아미트립틸린(amitriptyline)의 경우 25 μ M로, 그리고 데시프라민(Desipramine)의 경우 50 μ M의 농도로, 리팜핀(Rifampin)의 경우 10 μ g/ml의 농도로 처리하였다.
- [0086] [실시예 4] 큰포식세포에서 균주의 성장 확인 방법
- [0087] 상기 실시예 3의 세포를 PBS를 이용하여 2회 씻어준 뒤, 플레이트의 각 웰에 0.2 ml의 0.05% 트립톤- \times 100을 넣고 배양하였다. 이후, 결핵균(*Micobacterium tuberculosis*; ATCC)으로 감염시킨 큰포식세포의 경우 0.05% 트립톤- \times 100 용액을 PBS를 1/10으로 2회 희석하여 최종적으로 1/100의 농도로 희석하였다. 또한, 비결핵항산균으로 감염시킨 큰포식세포의 경우 0.05% 트립톤- \times 100 용액을 PBS를 1/10으로 3회 희석하여 최종적으로 1/1000의 농도로 희석하였다. 이후, 이렇게 얻어진 상기 희석액 0.05 ml를 상기 제조예 6의 7H10 배지가 포함된 배양접시에 각각 접종한 뒤, 37 °C에서 10 ~ 14일 동안 배양하였다. 배양이 완료되면 배양 접시에 발생된 콜로니의 개수를 측정하였다.

[0089] **[실시예 5] 큰포식세포에서 IFN-β에 의한 균주의 성장 증가 확인**

[0090] 상기 실시예 3 및 4에 기재된 방법에 따라, C57BL/6J 암컷 마우스로부터 유래된 큰포식세포에 결핵균을 감염시키고, 20 ng/ml의 IFN-β 또는 PBS를 처리한지 5일째에 균주의 콜로니 개수를 확인하고, 상기 IFN-β 또는 PBS를 처리한지 3일째에 질량분석법을 통해 큰포식세포내 존재하는 세라마이드의 양을 측정하여, 도 1의 A 및 B에 나타내었다.

[0091] 도 1의 A에서 보는 바와 같이, PBS를 처리한 경우(Mtb)와 비교하여, IFN-β가 처리되었을 때(Mtb+IFN-β)에 큰포식세포에 감염된 결핵균에서 확인되는 콜로니의 개수가 2배 이상 증가되었다.

[0092] 도 1의 B에서 보는 바와 같이, 결핵균이 감염되지 않은 큰포식세포에 PBS(Ctrl) 및 IFN-β(IFN-β)가 처리된 경우와, 결핵균이 감염된 큰포식세포(Mtb)에서는 세라마이드의 방출량이 100000 정도인 반면, 결핵균이 감염된 큰포식세포에 IFN-β가 처리되었을 때(Mtb+IFN-β)에는 세라마이드의 방출량이 300000로, 3배 증가 되었다.

[0093] 상기 결과를 통해, 큰포식세포에 감염된 결핵균은 IFN-β에 의해 증가되며, 세라마이드의 방출량을 현저히 증가시키는 것을 알 수 있다.

[0095] **[실시예 6] 큰포식세포에서 균주의 성장 억제 효과 확인**

[0096] 상기 실시예 3에 기재된 방법에 따라, C57BL/6J 암컷 마우스 또는 A/J 암컷 마우스로부터 유래된 큰포식세포에 결핵균을 감염시키고, 20 ng/ml의 IFN-β 또는 PBS를 처리한 뒤에 25 μM의 아미트립틸린 또는 50 μM의 데시프라민을 각각 처리한지 5일째에 상기 실시예 4에 기재된 방법을 통해 균주의 콜로니 개수를 확인하여 그 결과를 도 2의 A 및 B에 나타내었다.

[0097] 도 2의 A 및 B에서 보는 바와 같이, C57BL/6J 암컷 마우스 또는 A/J 암컷 마우스로부터 유래된 큰포식세포에 감염된 결핵균에서 IFN-β에 의해 그 콜로니 개수가 증가되었다(Mtb+IFN-β). 반면, 이와 같이 IFN-β에 의해 콜로니 개수가 증가되는 현상은 아미트립틸린(Mtb+IFN-β+Ami) 및 데시프라민(Mtb+IFN-β+Desi)를 처리하였을 때 사라져, 결핵균의 콜로니 개수가 감소되었다(A). 나아가, IFN-β 신호가 많이 유발된다고 알려져 있는 A/J 암컷 마우스로부터 유래된 큰포식세포에서도 아미트립틸린(A/J+Mtb+ Ami) 및 데시프라민(A/J+Mtb+Desi)를 처리하였을 때 결핵균의 콜로니 개수가 감소되었다(B).

[0098] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 삼환계 항우울제들은 IFN-β에 의해 성장이 증가되는 결핵균의 성장을 매우 효과적으로 억제하는 것을 알 수 있다.

[0100] **[실시예 7] 큰포식세포에서 병용투여에 따른 균주의 성장 억제 효과 확인(1)**

[0101] 상기 실시예 3에 기재된 방법에 따라, C57BL/6J 암컷 마우스로부터 유래된 큰포식세포에 결핵균을 감염시키고, 25 μM 또는 50 μM의 아미트립틸린이나, 데시프라민을 처리하면서, 병용투여 효과 확인을 위해 10 μg/ml의 리팜핀을 함께 처리한지 3일째에 상기 실시예 4에 기재된 방법을 통해 균주의 콜로니 개수를 확인하여 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0102] 도 3에서 보는 바와 같이, 아미트립틸린 및 데시프라민을 단독으로 처리한 경우와 비교하여, 결핵 치료제인 리팜핀을 함께 처리하였을 때(+Rifampin) 균주의 콜로니 개수가 더욱 현저하게 감소되었다.

[0103] 상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 아미트립틸린 및 데시프라민은 기존에 사용되고 있는 결핵 치료제와 병용하여 사용되었을 때 결핵균의 성장을 더욱 현저하게 억제함으로써 단독으로 사용된 경우와 비교하여 결핵 치료에 시너지 효과가 발휘되도록 할 수 있음을 알 수 있다.

[0105] **[실시예 8] 큰포식세포에서 비결핵항산균의 성장 억제 효과 확인**

[0106] 상기 실시예 3에 기재된 방법에 따라, C57BL/6J 암컷 마우스로부터 유래된 큰포식세포에 비결핵항산균(Mycobacterium avium)을 감염시키고, 25 μM의 아미트립틸린 또는 50 μM의 데시프라민을 각각 처리한지 5일째에 상기 실시예 4에 기재된 방법을 통해 비결핵항산균의 콜로니 개수를 확인하여 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0107] 도 4에서 보는 바와 같이, 삼환계 항우울제를 처리하지 않은 경우에는 비결핵항산균의 콜로니 개수가 10×10^5

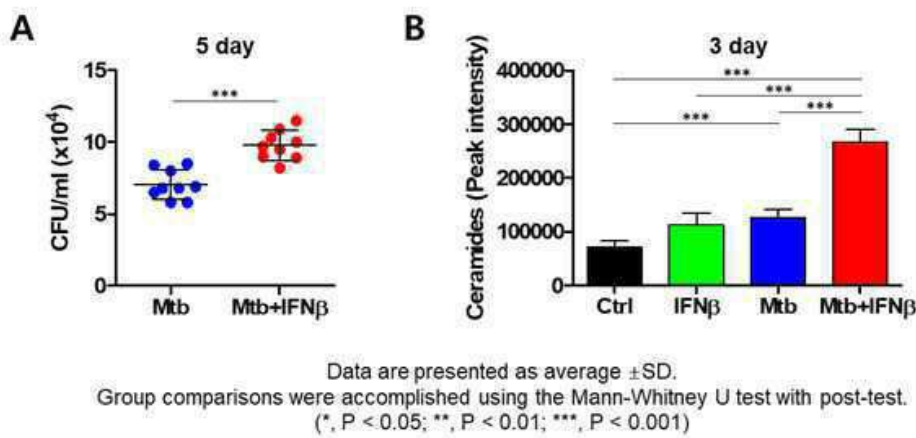
CFU/ml인 반면, 아미트립틸린 및 데시프라민을 처리한 경우(NTM+Ami; NTM+Desi)에는 콜로니 개수가 5×10^5 CFU/ml로 현저하게 감소되었다.

[0108] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 삼환계 항우울제는 결핵균뿐만 아니라, 비결핵항산균에서도 그 자체로서 성장 억제에 현저한 효과를 갖는 것을 알 수 있다. 나아가, 기존의 결핵 치료제와 함께 병용하여 사용되었을 때에 결핵균 및 비결핵항산균 모두에서 그 성장 억제에 현저한 시너지 효과가 발휘될 수 있는 것을 예상할 수 있다.

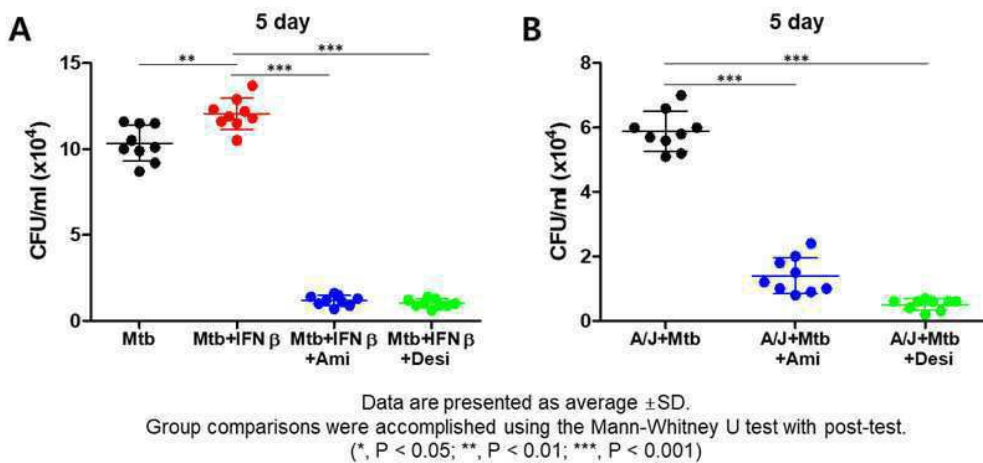
[0110] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

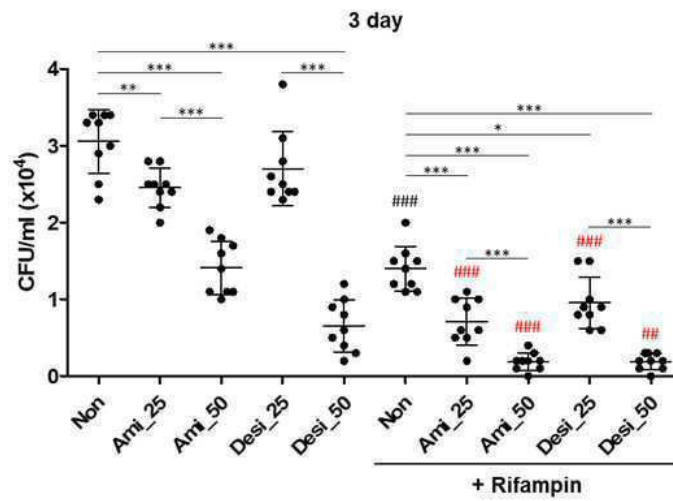
도면1



도면2

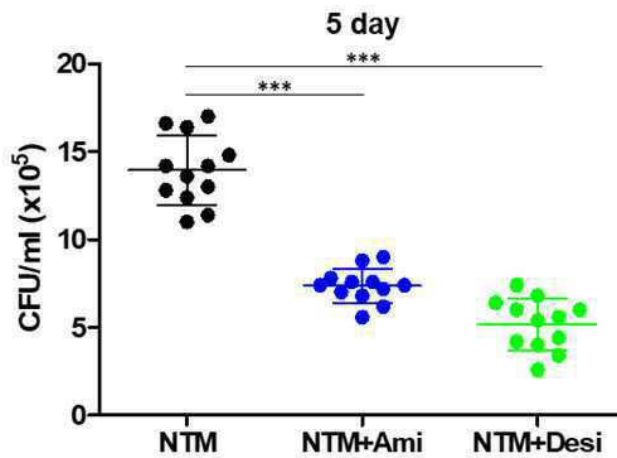


도면3



Data are presented as average \pm SD.
 Group comparisons were accomplished using the Mann-Whitney test with post-test.
 (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$) (#, $P < 0.05$; ##, $P < 0.01$; ###, $P < 0.001$, compared to RIF untreated group)

도면4



Data are presented as average \pm SD.
 Group comparisons were accomplished using the Mann-Whitney U test with post-test.
 (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$)