



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0019511
(43) 공개일자 2014년02월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/44 (2006.01) A61K 31/435 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0085587
(22) 출원일자 2012년08월06일
심사청구일자 2012년08월06일

(71) 출원인
전북대학교산학협력단
전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 (덕진동1가)
전북대학교병원
전라북도 전주시 덕진구 건지로 20, 기획조정실 (금암동, 전북대학교병원)
(72) 발명자
이용철
전북 전주시 덕진구 태진로 101, 106동 403호 (진북동, 우성아파트)
김소리
전북 전주시 덕진구 호성로 132, 110동 602호 (호성동1가, 진흥더블파크1단지)
(74) 대리인
김순용

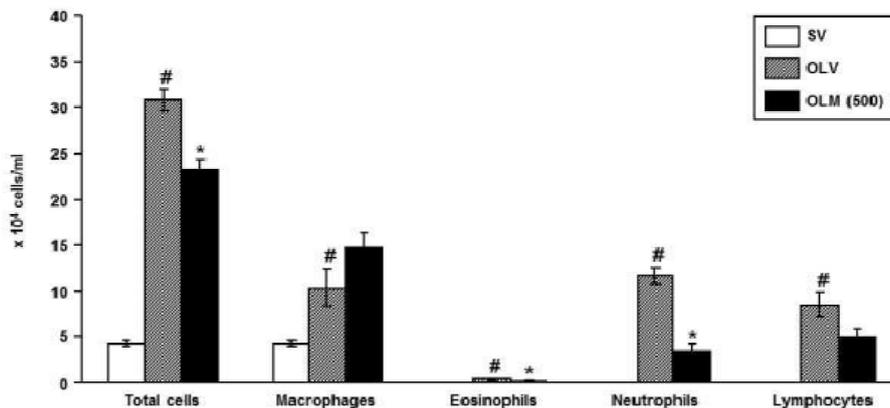
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 Mito-TEMPO를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 Mito-TEMPO를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 Mito-TEMPO는 천식 유발 마우스의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수를 감소시키며, 기도 과민성을 감소시키고, 폐 조직에서 Th2 사이토카인 및 기도 염증 정도를 감소시킴으로써, 기관지 천식의 예방, 개선 또는 치료에 유용한 의약품 및 건강기능식품으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

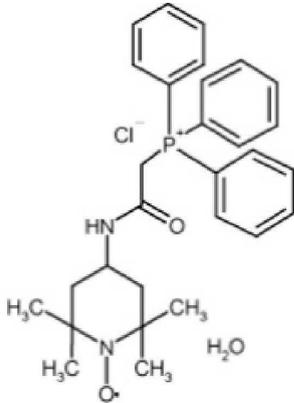
| | |
|--------|---|
| 과제고유번호 | A084144 |
| 부처명 | 보건복지부 |
| 연구사업명 | 보건의료기술연구개발사업 |
| 연구과제명 | 난치성 폐 손상의 신개념 치료제 개발 |
| 기 여 율 | 60/100 |
| 주관기관 | 전북대학교병원 |
| 연구기간 | 2008.11.01 ~ 2013.03.13이 발명을 지원한 국가연구개발사업 |
| 과제고유번호 | A111992 |
| 부처명 | 보건복지부 |
| 연구사업명 | 보건의료연구개발사업 |
| 연구과제명 | ER stress 조절을 통한 난치성 중증 천식 치료 |
| 기 여 율 | 40/100 |
| 주관기관 | 전북대학교병원 |
| 연구기간 | 2011.12.01 ~ 2014.10.31 |

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 Mito-TEMPO [(2-(2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl-4-ylamino)-2-oxoethyl) triphenylphosphonium chloride monohydrate]를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 기관지 천식은 세균성 급성 기관지 천식인 것을 특징으로 하는, 기관지 천식의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 Mito-TEMPO는 세균성 급성 천식 모델의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수를 감소시키는 것을 특징으로 하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

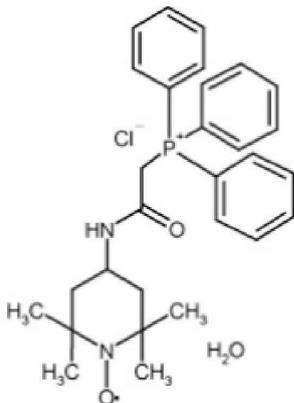
청구항 4

제1항에 있어서, 상기 Mito-TEMPO는 세균성 급성 천식 모델의 폐 조직에서 기관지 주위염 및 혈관주위 염증을 감소시키는 것을 특징으로 하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

하기 화학식 1로 표시되는 Mito-TEMPO를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

[화학식 1]



명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 Mito-TEMPO를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 기관지 천식이란 기도의 만성 염증으로 인하여 기관지가 과민해지고 간헐적인 기도 수축이 발생하여 호흡곤란 증상을 유발하는 만성질환으로서, 아직까지는 그의 완치방법이 없는 것으로 알려져 있다.

[0003] 이러한 기관지 천식은 우리나라를 포함하여 세계적으로 대다수의 국가들에서 전체 인구 중 약 5~10%의 인구가 앓고 있는 것으로 보고될 만큼 매우 흔한 질병으로서, 최근 들어 환경적인 변화에 따라 그 유병률이 세계적으로 더욱 증가되고 있다.

[0004] 기관지 천식 발작을 일으키는 요인들을 기관지 천식 유발인자라고 하는데, 그 예로는 감기, 꽃가루, 집 먼지 진드기, 강아지나 고양이 등의 애완동물의 털, 곰팡이 등의 환경적 요인, 대기 오염, 자극적인 냄새, 또는 담배 연기 등이 있고, 특히 최근에는 세균의 감염으로 인한 기도의 과민성 증가가 천식 악화의 커다란 요인이라고 알려져 있다.

[0005] 이들 기관지 천식 유발인자에 의해 비 점막 또는 기관지 점막이 자극되면, 과도한 면역 반응(알레르기 반응)을 보이고, 기도 점막조직에 염증이 발생하며, 이에 따라 기침, 호기성 천명음, 및 호흡곤란의 3대 기관지 천식 증상이 발생하고, 기관지 천식과 콧물, 재채기, 또는 코 막힘과 같은 비염 증상도 발생하게 된다.

[0006] 기관지 천식의 치료 방법으로는 기관지 천식의 원인물질을 제거하거나 회피하는 회피요법, 약제를 선택하는 약물요법, 또는 소량의 알레르기 항원(allergen)을 주사하여 면역시키는 면역요법 등이 있다.

[0007] 상기 약물요법에 사용되는 기관지 천식 치료제로는 수축된 기도를 넓혀 증상을 호전시키는 기관지 확장제, 스테로이드 제제인 항염증제, 또는 항알레르기 제제 등이 있다.

[0008] 한편, 세포의 대사과정에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 과도하게 생성될 경우, 이로 인한 산화적 스트레스가 폐에서 평활근의 수축, 혈관의 투과성 증가, 약물 반응 수용체의 손상, 점액 분비의 증가, 염증성 매개자의 분비, 기도 상피 세포의 손상 등의 작용을 하여 기관지 천식을 포함한 다양한 폐 손상 질환의 병인에 있어 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

[0009] 그러나, 현재까지 활성산소종의 조절을 통해 폐 손상 질환을 치료하고자 하는 많은 시도가 이루어져 왔음에도 불구하고, 활성산소종 조절 수준에 비해 그 효과가 기대에 미치지 못하거나 생체 내 실험(in vivo)에서의 효과가 일정하지 않았다. 지금까지 시도되었던 대부분의 활성산소종 저해 방식은 NADPH oxidase에 의한 활성산소종의 생성을 표적으로 하였고, 미토콘드리아에서의 활성산소종 생성의 조절은 이루어지지 않았으므로, 이는 미토콘드리아의 활성산소종 생성을 조절하지 못하였기 때문이라는 가설이 대두되었다.

[0010] Mito-TEMPO (2-2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl-4-ylamino)-2-oxoethyl) triphenylphosphonium chloride . monohydrate)는 미토콘드리아에 특이적인 표적항산화제로서, 미토콘드리아의 활성산소종 생성을 저해하여 산화적 스트레스를 억제하는 것으로 알려져 있고, 부분적으로는 SOD1(superoxide dismutase 1)과 함께 MPTP(mitochondrial permeability transition pore)의 개공(opening), 세포괴사 및 미토콘드리아의 아포토시스(apoptosis)의 저해에 효과가 있다는 것이 보고되었다. 그러나, 이러한 Mito-TEMPO의 기관지 천식, 또는 세균에 의해 악화되는 세균성 기관지 천식의 예방 또는 치료 효과에 대해서는 알려져 있지 않으며, 이에 대한 연구도 전무한 상태이다.

[0011] 따라서, 알레르기 유발물질이나 세균으로 인한 기도의 과민성을 감소시키고, 미토콘드리아의 산화적 스트레스를 조절하여 천식을 예방 또는 치료할 수 있는 기관지 천식 치료제에 대한 연구의 필요성이 절실히 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명자들은 Mito-TEMPO의 기관지 천식의 예방 또는 치료 효과에 대해 연구하던 중, Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 유발 마우스의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수를 감소시키며, 기도 과민성을 감소시키고, 폐 조직에서 Th2 사이토카인 및 기관지 염증 정도를 감소시킴을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[0013] 따라서, 본 발명은 Mito-TEMPO를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명은 Mito-TEMPO를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 Mito-TEMPO는 세균성 급성 천식 유발 마우스의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수를 감소시키며, 기도 과민성을 감소시키고, 폐 조직에서 Th2 사이토카인 및 기도 염증 정도를 감소시키는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수에 미치는 영향을 나타낸 도이다.

도 2는 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델에서 기도 과민성에 미치는 영향을 나타낸 도이다.

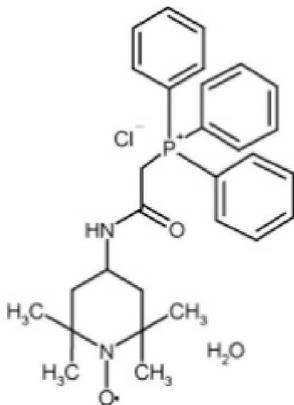
도 3은 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 폐 조직에서 Th2 사이토카인에 미치는 영향을 나타낸 도이다.

도 4는 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 폐 조직에서 기관지 주위염 및 혈관주위 염증에 미치는 영향을 광학 현미경으로 관찰한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 Mito-TEMPO [(2-(2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl-4-ylamino)-2-oxoethyl) triphenylphosphonium chloride monohydrate]를 유효성분으로 함유하는 기관지 천식의 예방, 개선, 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0018] [화학식 1]



[0019]

[0020] 상기 조성물은 약학적 조성물 및 식품 조성물을 포함한다.

- [0021] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
- [0022] 본 발명에 따른 Mito-TEMPO 는 세균성 급성 천식 유발 마우스의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수를 감소시키며, 기도 과민성을 감소시키고, 폐 조직에서 Th2 사이토카인 및 기도 염증 정도를 감소시킨다.
- [0023] 따라서, 본 발명에 따른 Mito-TEMPO는 기관지 천식의 예방, 개선 또는 치료에 유용한 의약품 및 건강기능식품으로 사용될 수 있다.
- [0024] 상기 기관지 천식은 세균성 기관지 급성 천식 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0025] 본 발명의 조성물은 Mito-TEMPO와 함께 기관지 천식의 예방 또는 치료 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당분야의 적절한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 상기 Mito-TEMPO의 일일 투여량은 약 250~1000mg/kg, 바람직하게는 약 500mg/kg이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 바람직하다.
- [0028] 본 발명의 조성물은 세균성 기관지 천식의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 조성물은 기관지 천식의 예방을 목적으로 건강기능식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 Mito-TEMPO를 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 Mito-TEMPO를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 Mito-TEMPO는 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0030] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.
- [0031] 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 텍스트린 및 시클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르트마와 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 0.01~0.20g, 바람직하게는 약 0.04~0.10g 이다.
- [0032] 상기 외에 본 발명의 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, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01~0.20 중량부의 범위에서 선택되는

것이 일반적이다.

- [0033] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [0034] **실시예 1. Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포 수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수에 미치는 영향**
- [0035] 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 유발 마우스 모델의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- [0036] 실험동물은 생후 8주령의 암컷 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오(성남, 한국)로부터 구입하였다. 실험군을 3개 군으로 나누고, 한 군당 C57BL/6 마우스를 5마리씩 할당하였다. 한 개의 실험군의 동물에는 식염수를 흡입시키고 비히클을 처리하였으며, 나머지 2개의 실험군의 동물에는 난황 알부민(ovalbumin, OVA) 및 리포당지질(lipopolysaccharide, LPS)로 감작시킨 후, 난황 알부민을 흡입시켜 천식을 유발시켰다. 천식 유발된 한 개의 실험군에는 첫 번째 난황 알부민의 흡입 1시간 전 및 마지막 난황 알부민의 흡입 6시간 후에 비히클을 처리하였고, 나머지 한 개의 실험군에는 첫 번째 난황 알부민의 흡입 1시간 전 및 마지막 난황 알부민의 흡입 6시간 후에 Mito-TEMPO(Enzo Life Sciences 사, Farmingdale, NY, USA)을 500 μ g/kg으로 정맥 내 투여하였다 [① 마우스에 식염수를 흡입시킨 후 비히클을 처리한 군(SV), ② 마우스에 난황 알부민 및 리포당지질을 감작시키고 흡입시킨 후 비히클을 처리한 군(OLV), ③ 마우스에 난황 알부민을 감작시키고 흡입시킨 후 Mito-TEMPO를 처리한 군(OLM(500))].
- [0037] 상기 3개의 실험군의 마우스의 기도에 관을 삽입하고 0.9% NaCl 용액을 주입하였다가 주사기로 흡입하여 마우스의 기관지 폐포 세척액을 분리하였다. 분리된 마우스의 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수를 확인하였다.
- [0038] 결과는 도 1에 나타내었다.
- [0039] 도 1에 나타난 바와 같이, 세균성 급성 천식 유발 마우스에 Mito-TEMPO를 처리한 경우 기관지 폐포 세척액에서 전체 염증 세포수 및 림프구, 호중구, 호산구의 수가 감소하는 것을 확인하였다.
- [0040] **실시예 2 : Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델에서 기도 과민성에 미치는 영향**
- [0041] 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델에서 기도 과민성에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- [0042] 기도 과민성은 마우스의 기도를 통해 메타콜린을 에어로졸 형태로 투여한 후 기도 기능의 변화를 측정함으로써 평가하였다. 체적변동장비(plethysmography)를 사용하여 수학적으로 계산된 기도의 폐색(閉塞)을 반영하는 수치인 Penh(enhanced pause) 값을 측정하여 측정하였다. 메타콜린을 농도별(1~100mg/ml)로 분무하여 흡입시킨 후 각 실험군의 Penh 값을 계산하였다. 기도 반응성은 각각의 메타콜린 농도에서 측정된 Penh 값 중 최대치를 식염수 대조군에 투여하였을 때의 기저치에 대한 백분율로 평가하였다.
- [0043] 결과는 도 2에 나타내었다.
- [0044] 도 2에 나타난 바와 같이, 세균성 급성 천식 유발 마우스 모델의 기도 저항성 용량 반응 곡선은 식염수만을 흡입시킨 정상 마우스에 비해 왼쪽으로 변위(shifting)되며, 메타콜린 농도가 50mg/ml일 때 Penh 값이 크게 증가하였으나, Mito-TEMPO를 투여한 군에서는 기도 용량 반응 곡선이 난황 알부민 및 리포당지질(OLV)만 처리한 경우보다 오른쪽으로 변위되며 Penh 값 또한 유의하게 감소함을 확인하였다. 따라서, Mito-TEMPO가 난황 알부민 및 리포당지질에 의한 기도 과민성을 감소시킨다는 것을 알 수 있다.
- [0045] **실시예 3 : Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 폐 조직에서 Th2 사이토카인에 미치는 영향**
- [0046] 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 폐 조직에서 Th2 사이토카인에 미치는 영향을 확인하

기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0047] Th2 사이토카인의 정량은 폐 조직에서의 해당 단백질에 대한 웨스턴 블롯팅 방법을 통해 확인하였다. 즉, 균질화된 세균성 급성 천식 유발 마우스의 폐 조직에서 단백질을 추출하여 일정한 농도의 단백질이 유지되도록 시료를 완성하였다. 그 다음, 시료를 SDS-PAGE 겔에 로딩시킨 후, IL-4에 대해서는 항 IL-4 항체(Serotec 사, 영국)를, IL-5에 대해서는 항 IL-5 항체(SantaCruz Biotechnology 사, 미국)를, IL-13에 대해서는 항 IL-13 항체(R&D Systems 사, 미국)를 이용하여 정량하였다.

[0048] 결과는 도 3에 나타내었다.

[0049] 도 3에 나타난 바와 같이, 세균성 급성 천식 유발 마우스에 Mito-TEMPO를 처리한 경우 폐 조직에서 Th2 사이토카인이 감소하는 것을 확인하였다.

[0050] **실시예 4 : Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 폐 조직에서 기관지 주위염 (peribronchitis) 및 혈관주위 염증(perivascular inflammation)에 미치는 영향**

[0051] 본 발명의 Mito-TEMPO가 세균성 급성 천식 마우스 모델의 폐 조직에서 기관지 주위염 및 혈관주위 염증을 미치는 영향을 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0052] 구체적으로는, 암컷 C57BL/6 마우스에 난황 알부민(OVA) 및 리포당지질(LPS)로 감작시킨 다음, 난황 알부민을 흡입시켜 천식을 유발시킨 후 48시간째에 안락사 시켰다. 그 다음, 마우스의 기관과 폐에 고정액 (0.8% 포르말린, 4% 아세트산)을 주입한 후 마우스로부터 폐를 분리해 내어 다시 10% 중성 포르말린을 이용하여 고정하였다. 폐 조직을 탈수시킨 후 파라핀을 이용하여 블록을 만들고, 마이크로 절단기를 이용하여 4 μ m의 두께로 커팅하여 절편을 만들었다. 절편을 글라스 위에 놓고 파라핀을 제거한 다음 H&E(hematoxylin and eosin) 염색을 하고, 광학 현미경을 이용하여 20 배율에서 폐 조직을 관찰하였다.

[0053] 결과는 도 4에 나타내었다.

[0054] 도 4에 나타난 바와 같이, 세균성 급성 천식 유발 마우스에 Mito-TEMPO를 처리한 경우 폐 조직에서 기도 염증 정도가 현저히 감소하는 것을 확인하였다.

[0055] 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

[0056] **제제예 1. 약학적 제제의 제조**

[0057] 1. 산제의 제조

[0058] Mito-TEMPO 200mg

[0059] 유당 100mg

[0060] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0061] 2. 정제의 제조

[0062] Mito-TEMPO 200mg

[0063] 옥수수전분 100mg

[0064] 유당 100mg

[0065] 스테아르산 마그네슘 2mg

[0066] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0067] 3. 캡슐제의 제조

[0068] Mito-TEMPO 200mg

[0069] 옥수수전분 100mg

[0070] 유당 100mg

- [0071] 스테아르산 마그네슘 2mg
- [0072] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- [0073] 4. 주사제의 제조
- [0074] Mito-TEMPO 200mg
- [0075] 만니톨 100mg
- [0076] Na₂HPO₄·12H₂O 2mg
- [0077] 주사용 멸균 증류수 적량
- [0078] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분을 혼합하여 주사제를 제조하였다.

[0079] **제제예 2. 식품의 제조**

- [0080] 본 발명의 Mito-TEMPO를 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.
- [0081] 1. 조리용 양념의 제조
- [0082] Mito-TEMPO 20~95 중량%로 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.
- [0083] 2. 토마토 케찹 및 소스의 제조
- [0084] Mito-TEMPO 0.2~1.0 중량%를 토마토 케찹 또는 소스에 첨가하여 건강 증진용 토마토 케찹 또는 소스를 제조하였다.
- [0085] 3. 밀가루 식품의 제조
- [0086] Mito-TEMPO 0.5~5.0 중량%를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.
- [0087] 4. 스프 및 육즙(gravies)의 제조
- [0088] Mito-TEMPO 0.1~5.0 중량%를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [0089] 5. 그라운드 비프(ground beef)의 제조
- [0090] Mito-TEMPO 10 중량%를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- [0091] 6. 유제품(dairy products)의 제조
- [0092] Mito-TEMPO 5~10 중량%를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0093] **제제예 3. 음료의 제조**

- [0094] 1. 탄산음료의 제조
- [0095] Mito-TEMPO 10~15%, 설탕 5~10%, 구연산 0.05~0.3%, 카라멜 0.005~0.02%, 비타민 C 0.1~1%의 첨가물을 혼합하고, 여기에 75~80%의 정제수를 섞어서 시럽을 만들었다. 상기 시럽을 85~98℃에서 20~180초간 살균하여 냉각수와 1:4의 비율로 혼합한 다음 탄산가스를 0.5~0.82%를 주입하여 Mito-TEMPO를 함유하는 탄산음료를 제조하였다.
- [0096] 2. 건강음료의 제조
- [0097] Mito-TEMPO(고형분 2.5%, 97.16%), 대추 엑기스(65 brix, 2.67%), 과체복합 추출물(고형분 70%, 0.12%), 비타민 C(0.02%), 판토텐산칼슘 (0.02%), 감초 추출물(고형분 65%, 0.01%)을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 건강음료를 제조하였다.
- [0098] 3. 야채주스의 제조

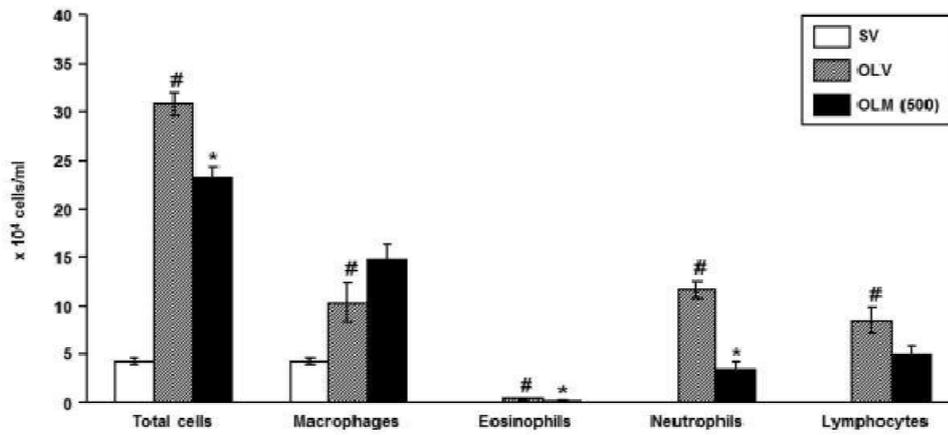
[0099] Mito-TEMPO 0.5g을 토마토 또는 당근 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0100] 4. 과일주스의 제조

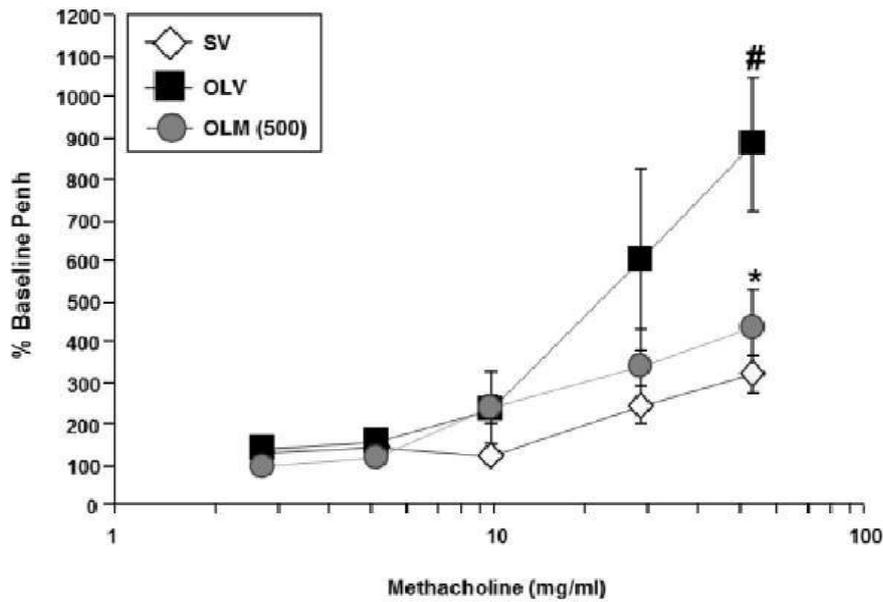
[0101] Mito-TEMPO 0.1g을 사과 또는 포도 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

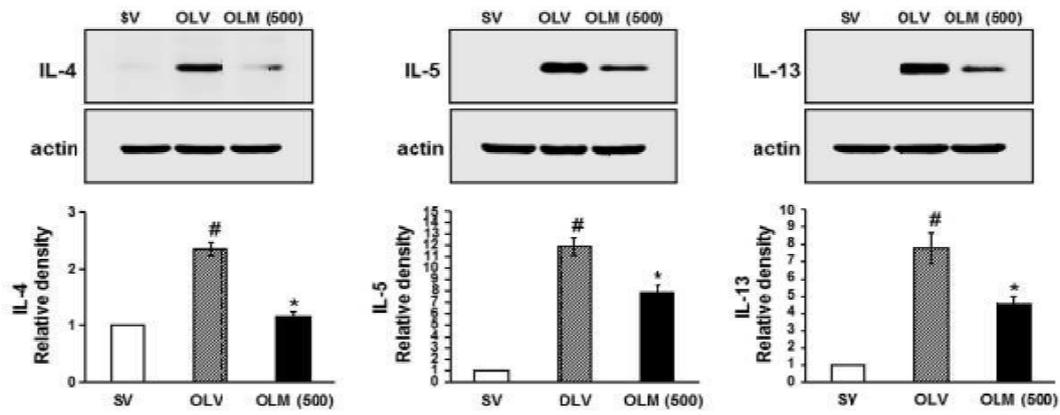
도면1



도면2



도면3



도면4

