

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2022-0025773
(43) 공개일자 2022년03월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/54 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

A61K 31/192 (2006.01) A61P 25/04 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/54 (2013.01)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2022-0019086(분할)

(22) 출원일자 2022년02월14일

심사청구일자 2022년02월14일

(62) 원출원 특허 10-2019-0067538

원출원일자 2019년06월07일

심사청구일자 2019년06월07일

(30) 우선권주장

1020180065562 2018년06월07일 대한민국(KR)

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

김선광

서울특별시 동작구 동작대로29길 119 101동 1302호 (사당동, 극동아파트)

이지환

서울특별시 동대문구 서울시립대로 75, 신성미소지움 104동 1204호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인한얼

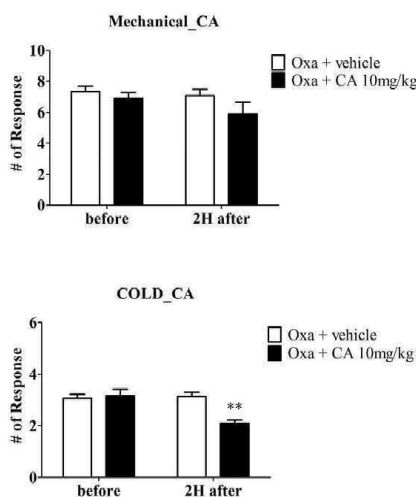
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 신남산(cinnamic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 조성물은 항암제 투여가 예정되거나 항암제가 투여된 개체에 투여되어 이질통을 예방, 개선, 또는 치료할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2013.01)

A61P 25/04 (2018.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/02 (2013.01)

(72) 발명자

장대식

서울특별시 강남구 광평로10길 50 109동 104호(일원동, 청솔빌리지)

김우진

서울특별시 용산구 이촌로65가길 51 216동 1703호

이경진

서울특별시 동대문구 회기로10길 31 동창빌라 B동 101호(청량리동, 동창빌라)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 0309000000

과제번호 HI17C0309

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 보건산업진흥원

연구사업명 한의약선도기술개발(한약제제 개발)

연구과제명 육계를 바탕으로 한 항암제 유발 신경병증성 통증 치료 한약제제 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 경희대학교 산학협력단

연구기간 2017.04.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

신남산(cinnamic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 육계 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 이질통은 냉 이질통 또는 기계적 이질통인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항암제는 타산계 항암제인 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 항암제는 파클리탁셀인 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 50 내지 500 mg/kg의 양으로 경구 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 육계 추출물은 육계 열수 추출물인 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 신남산을 육계 추출물 전체 함량 대비 1 % 내지 3% 포함하는 것이 특징인, 약학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 육계는 베트남 유래인 것인, 약학적 조성물.

청구항 9

신남산 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 육계 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 육계 추출물은 육계 열수 추출물인, 건강기능식품 조성물.

청구항 11

신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 육계 추출물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 육계 추출물은 육계 열수 추출물인 것인, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 조성물은 50 내지 500 mg/kg의 양으로 경구 투여 또는 복강 내 주사되는 것인, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신남산(cinnamic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 인간이 느끼는 통증은 크게 급성통증(acute pain)과 만성통증(chronic pain)으로 구분할 수 있다. 국제통증연구학회에 따르면 통증은 "실제적 또는 잠재적 조직 손상을 동반한 불쾌한 감각적이고 정서적 경험"이라 정의하고, 이 통증 증상을 특징과 기간으로 분류하면 급성과 만성통증으로 나눌 수 있다.

[0004] 급성통증은 질병이나 외상에 의한 조직 손상으로 인해 발생하는 침해성 자극에 의해 발생하는 통증으로, 출산 통증, 수술 후 통증, 조직손상 후 통증 등이 있으며, 일반적으로 3 내지 6개월 이내 소실되며, 여러 약물(마약성 진통제, 비스테로이드성 소염진통제)에 의해 효과적으로 치료가 된다.

[0005] 만성통증은 여러 불분명한 원인에 의해 신경손상과 이에 따른 신경계의 변화에 의해 유발되며, 원인이 된 질환이나 손상의 치유기간보다 길게 지속이 되며, 통증부위의 경계가 불분명하며, 지속적으로 무디고 깊은 통증을 보이며, 6개월 이상 지속되며, 마약성 진통제나 비스테로이드성 소염진통제는 사용이 제한적이다. 예를 들어, 편두통, 류마티스성 통증, 당뇨병성 통증, 및 암성 통증이 있으며, 이러한 통증은 환자의 삶의 질을 급격히 떨어뜨리고, 우울증 등을 수반할 수 있다. 마약성 진통제는 중등도의 효과가 있으나, 그 부작용이 강해 지속적으로 사용하기가 어려우며, 비스테로이드성 소염제는 효과가 미약하다 (Joshi SK et al., Neuroscience. 2006 Dec 1;143(2):587-96; LaBuda CJ et al., J Neurosci Methods. 2005 Jun 15;144(2):175-81). 현재 임상적으로 삼환계 항우울제(Tricyclic antidepressant)나 항경련제(anti-epileptic drug)를 사용하고 있으나, 효과가 미약하다고 알려져 있으며, 따라서 새로운 약물의 개발이 요구된다.

[0006] 만성통증 질환 중 암에 의한 통증(cancer pain)은 종양(tumor) 자체에 의한 통증, 뼈에 전이된 암종에 의한 통증(bone pain), 그리고 치료와 관련된 처치 즉 항암제에 의한 통증으로 나눌 수 있다.

[0007] 이 중에서 항암제에 의한 통증은 신경병성 통증(neuropathic pain)으로서, 신경병성 통증에는 외부의 자극이 없이도 자발적으로 발생하는 자발성 통증(spontaneous pain), 통상적으로 통증을 유발하는 자극에 대해 더 심한 통증을 느끼는 통각과민(hyperalgesia), 또한 정상에서 통증을 유발하지 않는 약한 자극에 대해서도 심한 통증을 일으키는 이질통(allodynia)이 있다.

- [0008] 이질통에는 기계적 자극에 의한 통증(기계적 이질통)과 냉 자극에 의한 통증(냉 이질통) 등 여러 종류가 있다. 항암제에 따라 기계적 이질통과 냉 이질통 등을 유발하는 정도가 상이할 수 있다.
- [0009] 한편, 항암제에 의해 유발되는 이질통은 발생하면 치료가 어렵고, 약물사용을 중단하더라도 몇 주 내지 몇 개월 간 통증이 지속되며, 때로는 몇 년간 지속되는 경우도 있다.
- [0010] 이에 따라, 항암제를 사용하여 암치료시에는, 이질통을 적절하게 억제하는 것이 상기 약물의 강력한 항암효과를 활용하는데 매우 중요한 관점이 되고 있다.
- [0011] 예를 들어, 한국특허등록 제697212호에는 황기 및 당귀의 혼합 생약제 추출물을 유효성분으로 하는, 항암제 투여에 의해 유발되는 부작용 치료용 조혈 촉진제가 개시되어 있고, 한국특허등록 제1133837호에는 백두옹 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암제 투여로 인한 신장독성 억제용 조성물이 개시되어 있으며, 한국특허등록 제1350143호에는 반하 및 황금 생약 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암제로 인한 부작용의 경감용 조성물이 개시되어 있다. 그러나, 이들 대부분의 부작용 억제효과는 항암제의 항암활성에 간섭하여, 상기 항암활성을 일정 부분 감소시킨다는 문제점이 있었다.
- [0013] 한편, 신남산은 계피의 성분 중 하나로서, 신남산 또는 이의 유도체들은 항염증 효과, 항암 효과, 항균 효과, 항바이러스 효과와 같은 생리 효능이 우수한 것으로 알려졌다. 나아가 허혈증, 파킨슨병, 알츠하이머병, 및 헌팅턴병과 같은 중추신경계(CNS, central nervous system)에 작용하는 정신질환에도 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 그러나, 항암제 투여에 의한 이질통 예방, 개선, 또는 치료 용도에 대해서는 알려진 바 없다.
- [0015] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 항암제에 의해 유발되는 이질통을 예방 또는 치료 하여, 보다 안전한 암치료를 도모할 수 있는 방법을 개발하고자 예의 연구 노력한 결과, 신남산이 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0017] 본 발명의 하나의 목적은 신남산(cinnamic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0018] 본 발명의 다른 목적은 신남산 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0019] 본 발명의 또 다른 목적은 육계 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 목적은 육계 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 목적은 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료방법을 제공하는 것이다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 목적은 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 제1조성물; 및 항암제를 유효성분으로 함유하는 제2조성물을 포함하는 암의 예방 또는 치료용 키트를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0024] 이하에서는, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.
- [0025] 한편, 본 발명에서 개시되는 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술되는 구체적인

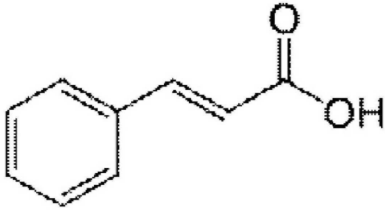
서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 할 수 없다.

[0026] 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 발명에 기재된 본 발명의 특정 양태에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.

[0028] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 하나의 양태로서 본 발명은 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0029] 본 발명에서 '신남산(cinnamic acid)'은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물로서, 계피의 성분 중 하나이다.

[0030] [화학식 1]



[0031]

[0032] 신남산의 원료인 계피는 녹나무과의 육계 또는 기타 등속 근연식물의 나무껍질을 말하며, 전통적으로 한의학에서는 산한해표(散寒解表), 온경통맥(溫經通脈) 및 통양화기(通陽化氣) 등의 효능이 알려져 있다. 이러한 계피를 대상으로 현재까지 신경에 대한 작용, 면역 및 항암작용, 항균작용 등에 대해서 많은 연구가 이루어져있으며, 전통적으로 온경탕(溫經湯), 계지탕(桂枝湯), 계지복령환(桂枝茯苓丸), 소건중탕(小建中湯) 및 소청룡탕(小青龍湯)의 처방으로 사용되어왔다.

[0033] 상기와 같은 특징을 갖고 있는 계피는 널리 사용되는 한약재로서, 인체에 적용하였을 시 부작용이 거의 발생하지 않으며, 계피의 성분인 신남산 역시 부작용 없이 사용될 수 있다.

[0034] 상기 신남산은 이미 상용화된 것을 구입하여 사용할 수 있으며, 당업계에 공지된 방법에 의해 계피 등의 생약으로부터 추출하여 정제하거나, 화학적으로 합성된 것을 사용할 수 있다.

[0035] 본 발명에서 상기 신남산은 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용도를 나타낸다. 상기 용도를 나타내는 신남산은 염, 이성질체, 에스테르, 아마이드, 티오에스테르(thioester) 및 용매화합물(solvates) 등의 약학적으로 허용 가능한 임의의 형태들을 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

[0036] 상기 신남산의 약학적으로 허용 가능한 염은 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 따라 제조된 염을 의미하며, 이러한 제조방법은 당업자에게 공지되어 있다. 구체적으로, 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 약리학적으로 또는 생리학적으로 허용되는 하기 무기산과 유기산 및 염기로부터 유도된 염을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0037] 산부가염은 통상의 방법, 예를 들어 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동 물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고, 이어서 상기 혼합물을 증발시켜 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다. 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산(fumaric acid), 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 요오드화수소산(hydroiodic acid) 등을 사용할 수 있으며, 이들에 제한되지 않는다.

[0038] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속염은, 예를 들어 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해시키고, 비용해 화합물 염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 특히 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하나 이들에 제한되는 것은 아니다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

- [0040] 본 발명에서의 용어 "항암제"는 암의 예방제 및 치료제로써, 항암제의 예는 폐암 (예, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 악성 중피종), 중피종, 췌장암 (예, 췌관암, 췌장 내분비 종양), 인두암, 후두암, 식도암, 위암 (예, 유두 선암, 점액성 선암, 선편평상피암종), 십이지장암, 소장암, 대장암 (예, 결장암, 직장암, 항문암, 가족성 대장암, 유전성 비용종증 대장암, 소화관 간질 종양), 유방암 (예, 침윤성 유관암, 비침윤성 유관암, 염증성 유방암), 난소암 (예, 상피성 난소암종, 고환외 배세포 종양, 난소성 배세포 종양, 난소 저악성도 종양), 고환 종양, 전립선암 (예, 호르몬-의존성 전립선암, 호르몬-비의존성 전립선암), 간암 (예, 간세포암, 원발성간암, 간외 담관암), 갑상선암 (예, 갑상선 수질암종), 신장암 (예, 신세포암종, 신우와 요관의 이행 상피암종), 자궁암 (예, 자궁경부암, 자궁체암, 자궁 육종), 뇌종양 (예, 수모세포종, 신경교종, 송과체 성세포종양, 모양세포성 성세포종, 미만성 성세포종, 퇴행성성 성세포종, 뇌하수체 선종), 망막모세포종, 피부암 (예, 기저세포암, 악성 흑색종), 육종 (예, 횡문근육종, 평활근육종, 연조직 육종), 악성 골종양, 방광암, 혈액암 (예, 다발성 골수종, 백혈병, 악성 림프종, 호지킨병, 만성 골수 증식 질환), 원발 미상 암 등, 말초 신경 장애를 부작용으로서 야기하는 암의 예방제 및 치료제를 포함한다.
- [0041] 그러한 항암제의 예는 타산 항암제 (예, 파클리탁셀 (택솔), 도세탁셀), 일일초 알칼로이드 항암제 (예, 빈크리스틴, 빈블라스틴), 백금계 제제 (예, 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴), 분자 표적 약물 (molecular targeted drug) (예, 보르테조미) 등을 포함한다.
- [0042] 위에서 언급된 항암제 중에서, 파클리탁셀, 빈크리스틴, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴 및 보르테조미는 현저한 부작용으로서 신경성통증인 이질통을 갖는 작용제로서 알려져 있다 (J. Clin Oncol. 24:1633-1642, 2006; Neurotoxicology, 27:992-1002, 2006; British Journal of Haematology, 127, 165-172, 2004).
- [0043] 본 발명에서 사용되는 용어 "이질통(allodynia)"은 정상에서 통증을 유발하지 않는 약한 자극에 대해서도 심한 통증을 일으키는 상태, 증상, 또는 질환을 의미하며, 신경병성 통증 중에 하나이다. 이질통에는 기계적 자극에 의한 통증(기계적 이질통)과 냉 자극에 의한 통증(냉 이질통) 등 여러 종류가 있다.
- [0044] 항암제에 따라 기계적 이질통과 냉 이질통 등을 유발하는 정도가 상이할 수 있다 (J. Immunol. 249:9-17, 2002). 옥살리플라틴은 냉 이질통을 특이적으로 빈도 높게 유발하는 것으로 알려져 있다 (Toxicology 234:176-184, 2007; Cancer Chemother Pharmacol. 25:299-303, 1990).
- [0045] 본 발명의 일 실시예에서는 항암제 투여 동물모델에 신남산을 투여한 결과, 이질통을 완화시킴을 확인함으로써, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료에 효과적으로 사용될 수 있음이 확인되었다.
- [0046] 구체적으로, 신남산을 경구 투여 시, 냉 이질통에 우수한 효과를 나타내는 것이 확인되었으며, 옥살리플라틴 투여 군에서 나타나는 냉 이질통 완화가 특이적으로 강하게 나타남을 확인하였다. 또한, 신남산을 복강 내 주사 시, 옥살리플라틴 투여 군에서 나타나는 냉 이질통 및 기계적 이질통을 완화하는 효과가 우수하였다. 즉, 본 발명의 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 냉 이질통 또는 기계적 이질통을 유발하는 백금계 항암제와 함께 병용되어 통증 완화 효과를 나타낼 수 있다.
- [0047] 한편, 신남산은 상기 이질통을 완화하여 부작용을 최소화할 뿐만 아니라, 항암제와 병용투여되어 항암활성을 극대화할 수 있다. 즉, 항암제의 단독 투여의 경우와 비교하여 항암 활성을 높일 수 있다.
- [0049] 본 발명의 약학적 조성물은 항암제에 의한 이질통의 "예방(prevention)" 및/또는 "치료(treatment)"의 용도를 갖는다. 예방적 용도에 있어, 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명에 기술된 질환, 장애, 또는 상태를 가지고 있거나 발병 위험이 있는 것으로 의심되는 개체에 투여된다. 즉, 항암제 투여가 예정되어 있거나 항암제 투여에 따라 이질통의 발병 위험이 있는 개체에게 투여될 수 있다. 치료적 용도에 있어, 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명에 기술된 장애를 이미 앓고 있는 환자와 같은 개체에 본 발명에 기술된 질병, 장애, 또는 상태의 증상을 치료하거나 적어도 부분적으로 정지시키기 위해 충분한 양으로 투여된다. 이러한 사용에 효과적인 양은 질환, 장애 또는 상태의 심각도 및 경과, 이전의 치료, 개체의 건강 상태와 약물에 대한 반응성, 및 의사 또는 수의사의 판단에 따라 달라질 것이다.
- [0050] 본 발명의 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 이때, 상기 조성물에 포함되는 화합물 1의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 10 중량%로, 바람직하게는 0.001 중량% 내지 1 중량%를 포함할 수 있다.

- [0051] 상기 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결 건조제 및 좌제으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있으며, 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상제제로는 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. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 조성물은 개체에 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다.
- [0053] 본 발명에서 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 조성물은 항암제에 의한 이질통의 예방 또는 치료를 목적으로 하는 개체이면 특별히 한정되지 않고, 어떠한 것이든 적용 가능하다. 투여의 방식은 당업계의 통상적인 방법이라면 제한없이 포함한다. 예를 들어, 경구, 복강, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0054] 본 발명의 약학적 조성물은 5 내지 100 mg/kg의 양으로 경구 투여 또는 복강 내 주사되는 것일 수 있으며, 구체적으로, 10 내지 100 mg/kg의 양으로 경구 투여 또는 10 내지 40 mg/kg의 양으로 복강 내 주사될 수 있으나, 이로 제한되지 않는다. 구체적으로, 본 발명의 일 실시예에 의하면 옥살리플라틴에 의해 이질통이 유도된 실험동물에게 신남산을 10 mg/kg의 양으로 경구 투여한 결과, 옥살리플라틴에 의한 냉 이질통을 완화하는 결과를 확인하였다. 또한, 파클리탁셀 및 빈크리스틴에 의해 이질통이 유도된 실험동물에게 신남산을 100 mg/kg의 양으로 경구 투여한 결과, 파클리탁셀 및 빈크리스틴에 의한 냉 이질통을 완화하는 결과를 확인하였다. 본 발명의 다른 일 실시예에 의하면 옥살리플라틴에 의해 이질통이 유도된 실험동물에게 신남산을 20 mg/kg의 양으로 복강 내 주사한 결과, 옥살리플라틴에 의한 기계적 이질통 및 냉 이질통을 완화하는 결과를 확인하였다.
- [0055] 본 발명의 약학적 조성물은 항암제 투여를 예정하고 있는 개체 또는 항암제 투여가 진행 중인 개체에게 투여되어, 이질통의 발생을 막거나 발생의 정도를 완화할 수 있다.
- [0057] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 다른 하나의 양태로서 본 발명은 신남산 또는 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0058] 여기에서 사용되는 용어는 상기에서 설명한 것과 같다.
- [0059] 본 발명에서 용어, "개선"은 신남산 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물을 이용하여 항암제에 의한 이질통의 의심 및 발명 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 말한다.
- [0060] 본 발명의 식품학적으로 허용 가능한 염은 식품학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성되는 산부가염 또는 염기에 의해 형성되는 금속염이 유용하다. 하나의 예로, 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있다. 무기산으로는 염산, 황산, 브롬산, 아황산 또는 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 말레인산, 푸마산, 글루콘산, 메탄술폰산 등을 사용할 수 있다. 또한, 금속염으로는 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속염, 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 사용할 수 있다. 그러나 반드시 이로 제한되지는 않는다.

- [0061] 본 발명의 항암제에 의한 이질통의 예방 또는 개선용 식품 조성물은 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있다.
- [0062] 본 발명의 식품 조성물에서 포함할 수 있는 필수 성분으로 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별히 제한이 없으며 통상의 식품과 같이 여러 생약추출물, 식품 보조 첨가제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 식품 조성물에서 필수 성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 개선, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0063] 또한, 상기 식품 보조 첨가제는 당업계에 통상적인 식품 보조 첨가제, 예를 들어 향미제, 풍미제, 착색제, 충전제, 안정화제 등을 포함한다.
- [0064] 상기 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외에 향미제로서 천연 향미제(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [0065] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충전제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [0066] 본 발명에서 상기 건강보조식품은 건강기능식품 및 건강식품 등을 포함한다. 상기 건강 기능(성) 식품(functional food)이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 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 식품 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 뛰어나다.
- [0067] 상기 이질통은 냉 이질통 또는 기계적 이질통일 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.
- [0069] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태로서 본 발명은 육계 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0070] 여기에서 사용되는 용어는 상기에서 설명한 것과 같다.
- [0071] 본 발명에서의 용어 “육계(Cinnamomi Cortex)”는 녹나무과 (Lauraceae) 식물인 *Cinnamomum cassia* Presl의 줄기껍질로서 그대로 또는 주피를 약간 제거한 것으로, 특유의 냄새가 있으며 맛이 약간 달고 매운 성질이 있다. 육계는 지역에 따라 그 질이 다를 수 있으며, 베트남, 중국, 인도네시아, 대만, 터키, 태국 등지에서 생산된다. 본 발명에서 상기 용어 “육계”는 용어 “계피”와 혼용하여 사용할 수 있다.
- [0072] 상기 추출물을 제조할 때 사용되는 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.
- [0073] 상기 추출물은 추출용매로 추출하거나 추출용매로 추출하여 제조한 추출물에 분획용매를 가하여 분획함으로써 제조할 수 있다. 상기 추출용매는 이에 제한되지 않으나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매 등을 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 알코올이나, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매, 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 또한, 보다 바람직하게는 열수 추출물일 수 있으나, 이에 한정된 것은 아니다. 상기 추출물은 각각 약학 조성물의 총 중량에 대하여 0.001 내지 100 중량%, 보다 바람직하게는 0.1 내지 80 중량%로 포함될 수 있다.
- [0074] 상기 약학적 조성물은 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 것일 수 있다.

- [0075] 상기 용어 “신남산” 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 상기에서 설명한 것과 같다.
- [0076] 본 발명의 일 실시예에서는 항암제 투여 동물모델에 육계 열수 추출물을 투여한 결과, 이질통을 완화시킴을 확인함으로써, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료에 효과적으로 사용될 수 있음이 확인되었다.
- [0077] 구체적으로, 육계 열수 추출물을 경구 투여 시, 파클리탁셀 투여 군에서 나타나는 냉 이질통 및 기계적 이질통에 우수한 완화 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 즉, 본 발명의 육계 추출물은 냉 이질통 또는 기계적 이질통을 유발하는 탁산계 항암제와 함께 병용되어 통증 완화 효과를 나타낼 수 있다.
- [0078] 한편, 육계 추출물은 상기 이질통을 완화하여 부작용을 최소화할 뿐만 아니라, 항암제와 병용투여되어 항암활성을 극대화할 수 있다. 즉, 항암제의 단독 투여의 경우와 비교하여 항암 활성을 높일 수 있다.
- [0079] 상기 육계 추출물의 효과는 육계 열수 추출물에 함유되어 있는 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염에 의해 발휘되는 효과일 수 있다. 구체적으로, 육계 열수 추출물을 경구 투여 시, 신남산 함유율이 높은 베트남산 육계 열수 추출물에서 신남산 함량이 베트남산보다 적은 중국산 또는 인도네시아산 육계 열수 추출물보다 냉 이질통 및 기계적 이질통에 대한 진통 효과가 우수한 것으로 나타나, 신남산이 항암제에 의해 유도된 이질통의 저감에 있어 중요한 역할을 함을 시사하였다. 즉, 본 발명의 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 이를 함유하는 육계 추출물은 냉 이질통 또는 기계적 이질통을 유발하는 탁산 항암제와 함께 병용되어 통증 완화 효과를 나타낼 수 있다.
- [0080] 상기 약학적 조성물은 50 내지 500 mg/kg의 양으로 경구 투여되는 것일 수 있으며, 구체적으로 200 내지 500 mg/kg의 양으로 경구 투여되는 것일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 의하면 파클리탁셀에 의해 이질통이 유도된 실험동물에게 육계 열수 추출물을 200 mg/kg의 양으로 경구 투여한 결과, 파클리탁셀에 의한 냉 이질통 및 기계적 이질통을 완화하는 결과를 확인하였다.
- [0081] 상기 약학적 조성물은 항암제 투여를 예정하고 있는 개체 또는 항암제 투여가 진행 중인 개체에게 투여되어, 이질통의 발생을 막거나 발생의 정도를 완화할 수 있다.
- [0083] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태로서 본 발명은 육계 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0084] 여기에서 사용되는 용어는 상기에서 설명한 것과 같다.
- [0085] 상기 식품 조성물에서 포함할 수 있는 필수 성분으로 상기 육계 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별히 제한이 없다.
- [0086] 상기 육계 추출물은 신남산 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 것일 수 있다.
- [0087] 상기 육계 추출물은 육계 열수 추출물일 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.
- [0088] 상기 이질통은 냉 이질통 또는 기계적 이질통일 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.
- [0090] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태로서 본 발명은 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 항암제에 의한 이질통 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [0091] 여기에서 사용되는 용어는 상기에서 설명한 것과 같다.
- [0092] 본 발명에서 용어 "개체"는 항암제 투여가 예정되어 있거나, 항암제가 투여되어 이질통이 발병하였거나 발병할 수 있는 모든 동물을 의미하며, 본 발명의 약학적 조성물을 항암제에 의한 이질통의 의심 개체에 투여함으로써, 개체를 효율적으로 치료할 수 있다.
- [0093] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 항암제에 의한 이질통의 의심 개체에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0094] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다.

- [0095] 본 발명에서 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0096] 본 발명의 약학적 조성물은 항암제에 의한 이질통을 예방 또는 치료 목적으로 하는 개체이면 특별히 한정되지 않고, 어떠한 것이든 적용가능하다. 예를 들면, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등과 같은 비인간동물, 조류 및 어류 등 어느 것이나 사용할 수 있으며, 상기 약학적 조성물은 비경구, 피하, 복강 내, 폐 내 및 비강 내로 투여될 수 있고, 국부적 치료를 위해, 필요하다면 병변 내 투여를 포함하는 적합한 방법에 의하여 투여될 수 있다. 본 발명의 상기 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 경구, 복강, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0097] 적합한 총 1일 사용량은 올바른 의학적 판단범위 내에서 처치의에 의해 결정될 수 있으며, 일반적으로 0.001 내지 1000 mg/kg의 양, 구체적으로는 0.05 내지 1000 mg/kg의 양, 보다 구체적으로는 5 내지 내지 500 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.
- [0098] 상기 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 육계 추출물일 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.
- [0099] 상기 육계 추출물은 육계 열수 추출물일 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.
- [0101] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태로서 본 발명은 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 제1조성물; 및 항암제를 유효성분으로 함유하는 제2조성물을 포함하는 암의 예방 또는 치료용 키트를 제공한다.
- [0102] 여기에서 사용되는 용어는 상기에서 설명한 것과 같다.
- [0103] 상기 제1조성물은 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 육계 추출물을 포함할 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.
- [0104] 상기 육계 추출물은 육계 열수 추출물일 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.
- [0105] 본 발명의 키트는 상기 제1조성물 및 제2조성물을 각각 포함하여 암의 예방 또는 치료용으로 사용될 수 있는 도구를 의미한다. 상기 키트는 그 종류가 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 형태의 키트를 사용할 수 있다.
- [0106] 본 발명의 상기 키트는 상기 제1조성물 및 제2조성물이 각각 개별 용기에 담긴 형태, 또는 하나 이상의 구획으로 나누어진 한 개의 용기 내에 담긴 형태로 포장되어 있을 수 있으며, 상기 제1조성물 및 제2조성물은 각각 1회 투여 용량의 단위 용량 형태로 포장되어 있을 수 있다.
- [0107] 상기 키트 내의 상기 제1조성물 및 제2조성물은 투여 대상 개체의 건강 상태 등에 따라 적절한 시기에 개별적으로 병용 투여될 수 있다.
- [0108] 즉, 상기 제1조성물 및 제2조성물의 투여 경로 및 빈도는 각각 독립적인 것일 수 있다.
- [0109] 본 발명의 상기 키트는 상기 제1조성물 및 제2조성물 각각의 투여량, 투여방법과 투여빈도를 기재한 사용설명서를 더 포함할 수 있다.
- [0111] 본 발명의 또 다른 일 양태에 따르면, 상기 키트를 이용하여 암을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0113] 본 발명의 신남산 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 항암제 투여가 예정되거나 항암제가 투여된 개체에 투여되어 이질통을 예방, 개선, 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0115] 도 1은 옥살리플라틴 항암제에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 신남산을 경구 투여한 결과를 나타낸 도이다.

도 2는 파클리탁셀 항암제에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 신남산을 경구 투여하여 나타난 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 빈크리스틴 항암제에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 신남산을 경구 투여하여 나타난 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 단일 옥살리플라틴 주입이 신경병증성 통증 행동 및 척수 뉴런의 과도흥분을 유도한 것을 나타낸 도이다. 옥살리플라틴 1회 주입 후 4 일 뒤 유의미한 이질통이 쥐에서 유도되었다; (A) 냉 이질통; n=34. (B) 기계적 이질통; n=31. (C-F) 5% 글루코오스(대조군, n=7) 또는 옥살리플라틴(n=7) 주입 후 문지름(brush), 압력(press), 꼬집기(pinch) 및 아세톤 강하(acetone drop) 자극에 대한 척수 WDR 뉴런의 흥분 빈도. (G) 대조군 및 옥살리플라틴 군에서 꼬집기 및 아세톤 강하 자극에 대한 WDR 뉴런의 흥분에 대한 전형적인 원자취. 데이터는 평균±S.E.M.으로 나타내었다; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. Before; by paired t-test (A,B) and * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. Control; by unpaired t-test (C-F).

도 5는 신남산의 복강 내 투여가 옥살리플라틴-유도 냉 이질통 및 기계적 이질통을 완화시키는 것을 나타낸 도이다. 옥살리플라틴 처리된 쥐에서 유의미한 이질통 징후가 나타난 4일째(시점 0 분)에 신남산을 세 가지 다른 농도(10, 20, 및 40 mg/kg)로 복강 내 주사하였다. (A) 냉 이질통 및 (B) 기계적 이질통에 대한 행동 테스트는 신남산 주사 전(시점 0) 및 주사 후 30, 60 및 120분 후 수행하였다. Vehicle 군은 대조군으로써 10% DMSO가 투여되었다. 데이터는 평균±S.E.M.으로 나타내었다; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. 0 min; by Bonferroni post-test after one-way ANOVA (A, B).

도 6은 신남알데히드의 복강 내 투여가 옥살리플라틴-유도 냉 이질통 및 기계적 이질통 지연에 영향이 없음을 나타낸 도이다. 옥살리플라틴 처리된 쥐에서 유의미한 이질통 징후가 나타난 4일째에 신남알데히드를 세 가지 다른 농도(10, 20, 및 40 mg/kg)로 복강 내 주사하였다. (A) 냉 이질통 및 (B) 기계적 이질통에 대한 행동 테스트는 신남알데히드 주사 전 및 주사 후 30, 60 및 120분 후 수행하였다. Vehicle 군은 대조군으로써 1% 트윈 20가 투여되었다. 데이터는 평균±S.E.M.으로 나타내었다; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. 0 min; by Bonferroni post-test after one-way ANOVA (A, B).

도 7은 신남산이 옥살리플라틴 처리된 쥐에서 척수 WDR 뉴런의 과도흥분을 억제하는 것을 나타낸 것이다. In vivo 세포외 기록을 통해 옥살리플라틴 처리된 쥐(n=6)에 신남산(20 mg/kg, i.p.) 복강 내 주사 후 냉 이질통 및 기계적 이질통에 대한 WDR 뉴런의 흥분 빈도 변화를 측정하였다. (A) 문지름, (B) 압력, (C) 꼬집기 및 (D) 아세톤 강하 자극에 대한 WDR 뉴런의 흥분 빈도 변화. 대조군 쥐(n=6)는 동일 부피의 10% DMSO가 투여되었다. 데이터는 평균±S.E.M.으로 나타내었다; * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs. time point zero; by Dunnett's multiple comparisons test after two-way ANOVA (A-D), N.S.; non-significant. (E) 신남산 주사 전후 꼬집기 또는 아세톤 강하 자극에 대한 반응에서 WDR 뉴런의 흥분에 대한 전형적인 원자취.

도 8은 파클리탁셀 항암제에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 신남산을 함유하는 산지별 육계 열수 추출물을 경구 투여하여 나타난 결과를 나타낸 도이다. YB1, IN, CN은 각각 베트남, 인도네시아, 중국산 육계이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0116] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0118] 실시예 1 - 신남산을 포함하는 복강 내 투여용 조성물의 준비

[0120] 신남산(Wako)을 Tween 80 용매에 용해하여 2 mg/ml의 농도의 조성물을 준비하였다.

[0122] 실험예 1 - 항암제 통증 모델에서 신남산 투여시 통증 완화 여부 검정

[0124] 동물모델의 준비

[0125] 실험동물로 6주령의 쥐(c57/bl6 mice)를 준비하였다.

[0127] (1) 옥살리플라틴(oxaliplatin) 동물 모델

[0128] 2 mg/ml의 농도로 5% 포도당 용액에 용해된 옥살리플라틴(Oxaliplatin, Sigma Aldrich)을 6mg/kg 양만큼 실험 동물에게 단일로 복강 투여하였다. 복강투여 약 3일 후부터 유의미한 통증이 관찰되었다.

[0130] (2) 파클리탁셀(paclitaxel) 동물 모델

[0131] 크레모포르(Cremophor EL)과 에탄올의 1:1 용액에 6 mg/ml의 농도로 용해된 파클리탁셀(Sigma Aldrich)을 2 mg/ml의 농도로 희석하여 2 mg/kg만큼 4회 복강 주사하였다. 격일 간격으로 0, 2, 4, 및 6 일에 투약하였다. 첫 투약 후 약 10 일 후부터 유의미한 통증이 관찰되었다.

[0133] (3) 빈크리스틴(vincristine) 동물 모델

[0134] 1 mg/ml 농도의 빈크리스틴을 0.1 mg/kg씩 7일 연속 복강 주사하였다. 첫 주사 후 약 10 일 후부터 유의미한 통증이 관찰되었다.

[0136] 냉 이질통 및 기계적 이질통의 평가방법

[0137] (1) 냉 이질통(cold allodynia) 평가 방법

[0138] 실험동물의 양 뒷발바닥에 아세톤 약 20 μ l를 도포하여 나타나는 반응을 약 15 초간 관찰 및 기록하였다.

[0139] 기록 기준이 되는 행동은 회피반응, 발바닥을 떠는 행동, 그리고 발바닥을 빠는 행동이다. 평가를 총 3번 반복 하였으며, 기록된 행동의 횟수의 평균을 확인하였다.

[0141] (2) 기계적 이질통(mechanical allodynia) 평가 방법

[0142] 실험동물의 양 뒷발바닥에 0.4 g 압력의 본 프레이(von Frey) 필라멘트를 이용하여 10 회 자극을 하여 나타나는 반응의 횟수를 기록하였다.

[0143] 기록 기준이 되는 행동은 회피반응 및 발바닥을 빠는 행동이다. 양발의 기록을 평균내어 확인하였다.

[0145] 실험 스케줄

[0146] (1) 옥살리플라틴 투여 군

[0147] 사전 행동실험을 통해 이질통이 유발된 실험동물들을 선별하여 10 mg/kg 만큼의 신남산을 경구 투여 후 2 시간 후에 그 효과를 확인하였다.

- [0149] (2) 파클리탁셀 투여 군
- [0150] 사전 행동실험으로 이질통이 유발된 실험동물들에게 50mg/kg 및 100mg/kg 만큼의 신남산을 경구 투여하여 1 시간 그리고 2 시간 후의 효과를 확인하였다.
- [0152] (3) 빈크리스틴 투여 군
- [0153] 이질통이 유발된 실험동물들을 사전 행동실험으로 선별하여 신남산 50mg/kg 및 100mg/kg을 경구 투여한 후 1 시간과 2 시간 후의 효과를 확인하였다.
- [0155] 실험 결과
- [0156] (1) 옥살리플라틴 투여 군
- [0157] 옥살리플라틴 항암제에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 신남산을 경구 투여한 결과를 도 1에 나타내었다. 기계적 이질통에 대해서는 대조군(vehicle)에 비해 유의성 있는 진통 효과가 관찰되지 않았으나, 냉 이질통에 대해서는 대조군에 비해 투여 2 시간째에도 유의성 있는 진통 효과가 나타났다.
- [0159] (2) 파클리탁셀 투여 군
- [0160] 파클리탁셀 항암제에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 신남산을 경구 투여하여 나타난 결과를 도 2에 나타내었다. 신남산 50 mg/kg을 경구 투여한 결과 기계적 이질통 및 냉 이질통 모두에서 유의성 있는 진통 효과가 관찰되지는 않았다. 신남산 100 mg/kg을 경구 투여한 결과 기계적 이질통에 대해서는 대조군에 비해 유의성 있는 진통 효과가 관찰되지 않았으나, 냉 이질통에 대해서는 대조군에 비해 1 시간 이후 유의성 있는 진통 효과가 나타났다.
- [0162] (3) 빈크리스틴 투여 군
- [0163] 빈크리스틴 항암제에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 신남산을 경구 투여하여 나타난 결과를 도 3에 나타내었다. 신남산 50 mg/kg을 경구 투여한 결과 기계적 이질통 및 냉 이질통 모두에서 유의성 있는 진통 효과가 관찰되지는 않았다. 신남산 100 mg/kg을 경구 투여한 결과 기계적 이질통에 대해서는 대조군에 비해 유의성 있는 진통 효과가 관찰되지 않았으나, 냉 이질통에 대해서는 대조군에 비해 1 시간 이후 유의성 있는 진통 효과가 나타났다.
- [0165] 이와 같이, 3 가지 항암제에 의해 통증이 유도된 동물실험 군에게 신남산을 경구 투여한 결과, 기계적 이질통은 유의성 있게 억제하지 못하는 반면, 냉 이질통에 대해서만 특이적으로 유의성 있는 진통 효과를 나타냄을 알 수 있다.
- [0166] 특히, 옥살리플라틴에 의해 유도된 냉 이질통에 대해서는 저용량(10 mg/kg, p.o.)을 투여해도 투여 후 2 시간까지 진통 효과가 나타나는 반면, 다른 항암제(파클리탁셀 및 빈크리스틴)에 의해 유도된 냉 이질통에 대해 고용량(100 mg/kg, p.o.)을 투여해야 투여 1 시간까지 진통 효과가 나타났다. 즉, 냉 이질통에 대한 진통 효과는 옥살리플라틴 항암제 모델에서 특별히 강하게 나타났고, 다른 항암제(파클리탁셀 및 빈크리스틴)에 의한 냉 이질통 모델에서는 약하게 나타남을 알 수 있다.
- [0168] 실시예 2 - 신남산 또는 신남알데히드를 포함하는 복강 내 투여용 조성물의 준비
- [0170] 신남산(trans-Cinnamic acid, Wako Pure Chemical Industries, 오사카, 일본) 및 신남알데히드

(Cinnamaldehyde, Wako Pure Chemical Industries, 오사카, 일본)는 10% 디메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide, DMSO, Sigma)(2M HCl 및 5M NaOH를 이용해 pH 7로 조정) 및 1% 트윈 20(Tween 20) (Sigma)에 각각 용해시켰다. 실험에 사용된 10% DMSO 및 1% 트윈 20의 최종 부피는 2 L/g rat였다. 다른 농도의 신남산 및 신남알데히드(10, 20, 및 40 mg/kg) (i.p.)가 냉 이질통 및 기계적 이질통을 나타내는 쥐에 투여되었다.

[0172] 실험예 2 - 신경병증성 통증 모델에서 신남산 투여시 통증 완화 여부 검정

[0174] 실험동물

[0175] 7주령 수컷 SD 쥐(Sprague Dawley rats) (180-210 g, 총 95 마리, 영 바이오, 경기, 한국)은 우리에서 사료와 물을 자유롭게 급이하여 사육했다. 실내 온도는 23 ± 2 °C로 유지하고 12-h/12-h 명암 주기를 유지하였다. 본 발명에 설명된 모든 절차는 경희대학교 동물 보호 및 사용 위원회의 승인을 받았고(KHUASP[SE]-18-153), 국제 통증 연구 협회의 지침을 따랐다.

[0177] 행동실험 및 실험 프로토콜

[0178] 냉 이질통(cold allodynia) 및 기계적 이질통(mechanical allodynia)을 측정하기 위해, 이전 방법에 따라(Flatters, S.J.; Bennett, G.J. Ethosuximide reverses paclitaxel-and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. Pain 2004, 109, 150-161.), 아세톤 강하 테스트와 본 프레이 필라멘트 테스트(von Frey filament test(up-down method), Linton Instrumentation, Norfolk, UK)를 각각 수행하였다. 쥐는 실험 시작 전 일주일 동안 손길과 실험 절차에 익숙해지도록 길들였다. 쥐는 옥살리플라틴 및 다른 약물 주입을 인지하지 못한 채로, 철망 바닥이 있는 투명한 플라스틱 상자(20 x 20 x 14 cm) 안에서 테스트 전 30분 동안 안정시켰다.

[0179] 냉 이질통 테스트를 위해 아세톤(10 μ L)를 고무 튜브에 연결된 피펫을 통해 오른쪽 뒷발의 복부 표면에 강하 처리하고 20 초 동안 행동 반응을 모니터링했다. 아세톤은 오른쪽 뒷발에 5회 강하 처리하였고, 발바닥을 빠는 행동(licking) 및 발바닥을 떠는 행동(shaking)의 총 빈도를 1회당 평균으로 측정하였다.

[0180] 기계적 이질통 테스트를 위해 본 프레이 필라멘트를 이용해 오른쪽 뒷발에서 발 움츠림 역치(paw withdrawal thresholds)를 측정하였다. Dixon의 up-down 방법과 Chaplan의 계산 방법이 사용되었고 cut-off 로써 15 g의 움츠림 역치가 측정되었다. 다른 농도에서의 신남알데히드 및 신남산의 시간에 따른 효과를 확인하기 위해 신남산 및 신남알데히드 주입 전(시점 0 분), 주입 후 시점 30, 60, 120 분에서 행동실험이 수행되었다.

[0182] 옥살리플라틴 투여

[0183] 옥살리플라틴(Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)은 2mg/mL의 농도로 5 % 글루코오스(glucose) 용액에 용해시키고 6mg/kg의 용량으로 복강 내 주사 하였다. 대조군에는 같은 부피의 5 % 글루코오스 용액(i.p.)을 투여 하였다.

[0185] in vivo 세포외 기록(Extracellular Recording)

[0186] 냉 이질통 및 기계적 이질통을 나타내는 쥐에 대하여 세포외 기록을 옥살리플라틴 투여 후 4 일째에 수행하였다. 쥐들은 우레탄(urethane, Sigma; 1.5 g/kg, i.p.)으로 마취시키고 스테레오택식 프레임(Stereotaxic frame)에 고정된 척수(spinal cords)는 38 ± 1 °C에서 10-15 mL/min로 흐르는 T13-L2 및 산소화된(95% O₂-5% CO₂ gas) 크랩스 용액(Krebs solution, in mM: 117 NaCl, 3.6 KCl, 2.5 CaCl₂, 1.2 MgCl₂, 1.2 NaH₂PO₄, 11 glucose, 25 NaHCO₃)에 노출되었다. 문지름(brush), 압력, 꼬집기(pinch) 및 아세톤 자극에 대한 반응을 토대로 WDR(Wide Dynamic Range) 신경 세포(뉴런)가 확인되었다. 저-임피던스 절연 텅스텐 마이크로 전극(low-impedance insulated tungsten microelectrode) (임피던스 10 MW, FHC, Bowdoin, ME, USA)을 사용하여 세포외 단일-단위 기록을 만들었다. 기계적 자극은 뒷발의 외측 및 복부 표면에 문지름, 압력 및 꼬집기 자극을 가했다. 문지름 자극은 수용 부위를 낙타 털 솔(camel brush)로 5 회 솔질하여 주어졌다. 압박 자극은 약 0.5 g

의 직경과 약 20 g의 크기를 갖는 낙타 털 솔의 무딘 팁을 사용하여 4 초 동안 수용 부위를 가압함으로써 주어졌다. 꼬집기 자극은 치아 집게(11022-14, 파인 사이언스 툴, 하이델베르크, 독일)를 사용하여 3 초 동안 피부를 꼬집는 것으로 주어졌다. 차가운 자극을 위해, 10 μ L의 아세톤 방울을 수용 부위에 가했다.

[0188] 통계

[0189] 모든 데이터는 평균 $\pm$ S.E.M.(Standard error of the mean)으로 나타내었다. 도 4의 데이터는 paired t-test(도 4A, 4B) 또는 unpaired t-test(도 4C)로 분석했다. 도 5와 6의 데이터는 평균 $\pm$ S.E.M.으로 표시되었으며 그룹 간 통계적 차이를 평가하기 위해 one-way ANOVA 후 Bonferroni post-test로 분석되었다. 도 7A의 데이터는 two-way ANOVA 후 Dunnett's multiple comparisons test를 사용하여 분석되었다. 95 %의 신뢰도가 통계적으로 유의미한 것으로 간주되었다.

[0191] 실험 결과

[0192] (1) 쥐의 옥살리플라틴-유도 신경병증성 통증의 행동 및 전기생리학적 연관성 검증

[0193] 옥살리플라틴(6 mg/kg)의 복강 내 주사는 쥐에게 신경병증성 통증을 유발하였다. 옥살리플라틴 주사 후 3 일에서 7 일까지 유의한 냉 이질통 및 기계 이질통이 관찰되었다. 도 4A, 4B는 옥살리플라틴 주입 전후의 아세톤 강하 및 본 프레이(von Frey) 자극 결과이다. 옥살리플라틴 주사 후 4 일째 냉 이질통과 기계적 이질통 모두 유의하게 유발되었다($p < 0.001$). 신경병증성 통증의 행동 징후가 관찰된 후, in vivo 세포의 기록을 쥐의 척수 신경 세포에서 수행하였다. WDR 뉴런의 기계적(문지름, 압력 및 꼬집기) 및 냉(아세톤 강하) 자극에 대한 스파이크 반응의 수는 옥살리플라틴 주사 후 크게 증가하여 피부 자극에 의한 WDR 뉴런의 과도흥분(Hyperexcitation)을 나타내었다(도 4C-F). 꼬집기와 아세톤 강하에 대한 WDR 뉴런 반응의 전형적인 원자취(raw trace)를 도 4G에 나타내었다. 이러한 행동 및 전기생리학적 결과를 통해 옥살리플라틴 주입 4 일 후 신경병증성 통증이 나타남을 확인하였다.

[0195] (2) 신남산에 의한 옥살리플라틴-유도 냉 이질통 및 기계 이질통 완화 효과 검증

[0196] 신남산이 옥살리플라틴에 의해 유발된 냉 이질통 및 기계 이질통을 감소시킬 수 있는지 확인하기 위해 세 가지 다른 용량의 신남산(10, 20, 40 mg/kg, i.p.)을 사용하여 행동 검사한 결과, 냉 이질통에서 신남산의 세 가지 용량 모두 효과가 있는 것으로 나타났다. 10 mg/kg 신남산의 효과는 120 분 시점에서 그 효과가 사라짐에 따라 20 및 40 mg/kg보다 짧았다. 20 mg/kg과 40 mg/kg에서는 20 mg/kg 신남산의 진통 효과가 40 mg/kg보다 약간 강했다(대조군 vs. 20 mg/kg, $p < 0.001$ 및 40 mg/kg, $p < 0.05$) (도 5A). 기계적 이질통에서 10 mg/kg 신남산은 주사 후 60 분에서 효과가 현저히 나타남으로써 약간의 효과가 있었으나, 20 mg/kg 신남산은 모든 시점에서 3 가지 복용량 중 가장 강력한 항이질통(anti-allodynic) 효과를 보였다(도 5B). 이러한 결과는 신남산의 복강 내 투여가 쥐의 옥살리플라틴에 의한 냉 이질통 및 기계 이질통을 현저히 완화하며, 이의 최적 용량이 20 mg/kg임을 나타내었다.

[0198] (3) 신남알데히드에 의한 옥살리플라틴-유도 냉 이질통 및 기계 이질통 완화 효과 검증

[0199] 계피의 또다른 주요 성분인 신남알데히드에 대해 옥살리플라틴-유도 냉 이질통 및 기계 이질통 완화 효과에 대하여 신남산과 동일하게 실험한 결과, 신남산과는 대조적으로 세 가지 다른 용량의 신남알데히드(10, 20, 40 mg/kg, i.p.) 모두 어떠한 옥살리플라틴-유도 냉 이질통 및 기계 이질통 완화 효과를 나타내지 않았다(도 6).

[0201] (4) 신남산에 의한 척수 WDR 뉴런의 과도흥분 억제 효과 검증

[0202] 신남산이 옥살리플라틴 주사 후 발생하는 WDR 뉴런의 증가된 활동을 감소시킬 수 있는지 확인하기 위해 신경병증성 통증의 행동 및 전기생리학적 상관 관계가 확립된 네 번째 날에 생쥐의 척수에서 생체의 세포 기록을 수행했다(도 4). 신남산은 냉 이질통 및 기계 이질통을 약화시키는 최적 용량인 20 mg/kg의 용량으로 복강 내 투여되었고(도 5), DMSO (10 %, i.p.)를 대조군으로 사용하였다. 신남산 또는 대조군의 투여 전후에 기계적(문지름,

압력 및 꼬집기) 및 냉(아세톤 강하) 자극이 주어졌다. 옥살리플라틴 주사 후 증가된 WDR 뉴런 활동은 20 mg/kg 신남산을 복강 내 투여한 후 유의하게 감소하였다. 그러나, 10 % DMSO는 WDR 뉴런의 증가된 활성을 변화시키지 않았다(도 7A-D). 신남산에 의해 꼬집기 및 아세톤 강하에 대한 WDR 뉴런의 과도흥분이 감소되는 전형적인 원데이터(raw data)가 도 7E에 도시되어 있다. 이러한 결과는 옥살리플라틴에 의한 냉 이질통 및 기계적 이질통을 가진 쥐에서 척수 WDR 뉴런의 과도흥분을 20 mg/kg 신남산의 복강 내 투여가 강력하게 억제한다는 것을 시사하였다.

[0204] 상기 실험에 2의 결과들은 신남산의 복강 내 투여가 쥐의 단일 옥살리플라틴 주사에 의해 유도된 냉 이질통 및 기계적 이질통을 완화시킬 수 있음을 나타내었다. 더욱이, 신남산의 이러한 작용은 옥살리플라틴 치료에 의해 증가된 척수 WDR 뉴런의 과도흥분의 감소와 관련이 있다. 이러한 결과를 바탕으로 신남산은 옥살리플라틴 유발 신경병증성 통증 치료에 사용되는 현재 진통제의 대안이 될 수 있는 가능성을 제시하였다.

[0206] 실시예 3 - 신남산을 포함하는 육계 열수 추출물의 준비

[0208] 베트남산(YB1), 인도네시아산(IN), 중국산(CN) 육계를 각각 증류수로 세척하고 건조시킨 후 분쇄기로 잘게 분쇄하였다. 분쇄된 시료 200 g에 2 L의 증류수를 넣은 후 95~100℃에서 2시간 동안 환류추출을 2회 반복한 후 여과하였다. 여과한 여액을 60 ℃ 이하에서 감압 농축하고 초저온냉동고에서 동결한 후 냉동건조기(freeze dryer)로 동결 건조하여 최종 추출물 YB1 28.44g, IN 23.72g CN 23.7g을 수득하였다.

[0209] 상기 각 산지에 따른 각각의 육계 열수 추출물의 성분을 분석한 결과, 하기 표 1과 같았다.

표 1

Sample	Major Compounds % extract (% material)	
	Cinnamic acid	Cinnamaldehyde
YB1(베트남)	1.53 (0.109)	0.27 (0.019)
IN(인도네시아)	0.64 (0.038)	0.02 (0.0012)
CN(중국)	0.93 (0.055)	0.47 (0.028)

[0212] 실험예 3 - 항암제 통증 모델에서 신남산을 포함하는 육계 열수 추출물 투여시 통증 완화 여부 검증

[0214] 동물모델의 준비

[0215] 실험동물로 6주령의 쥐(c57/bl6 mice)를 준비하고, 실험예 1의 파클리탁셀(paclitaxel) 동물 모델과 같은 방법으로 이질통을 유발시켰다.

[0217] 실험 스케줄

[0218] 파클리탁셀로 유발된 이질통이 유의하게 나타나는 10 일째부터 실시예 3의 각 산지별 열수 추출물을 200 mg/kg 씩 5일 연속으로 경구 투여한 후, 실험예 1의 냉 이질통 및 기계적 이질통의 평가방법에 따라 투여 전(pre) 및 투여 후 2 일째부터 21 일째까지의 이질통 경감 여부를 확인하였다.

[0220] 실험 결과

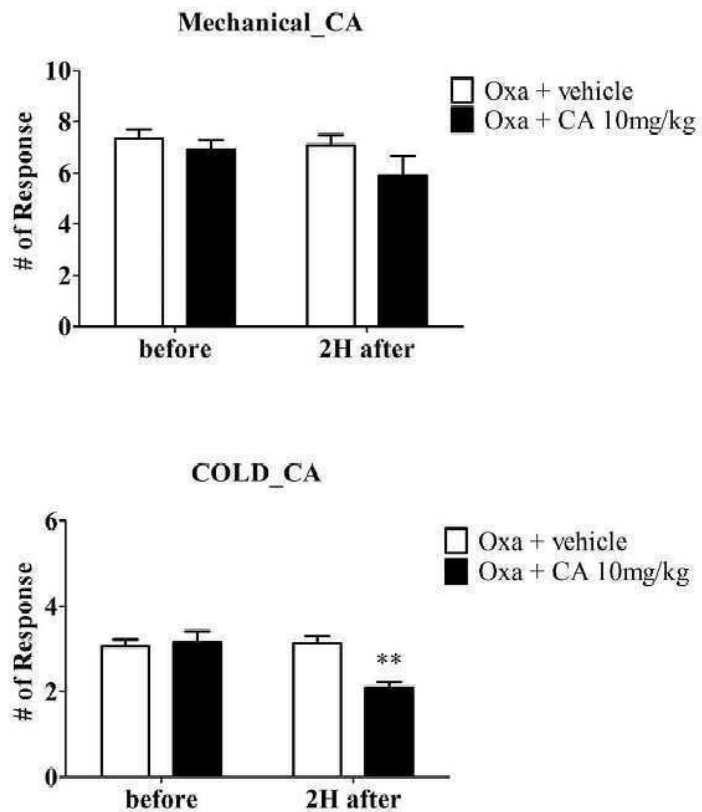
[0221] 파클리탁셀에 의해 신경병증성 통증이 유발된 실험동물 군에게 각 산지별 열수 추출물 200 mg/kg을 경구 투여한 결과, 도 8과 같이 베트남을 원산지로 하는 YB1이 기계적 이질통과 냉 이질통에 대해 강력한 진통 효과를 나타내었으며, 다른 산지의 육계(중국산 CN, 인도네시아산 IN)는 진통 효과가 일시적 또는 미약하게 나타났다.

[0223] 상기 실험예 3의 결과는 신남산 함유율이 높은 베트남산 육계 열수 추출물에서 이보다 신남산 함량이 적은 중국산/인도네시아산 육계 열수 추출물보다 우수한 진통 효과가 나타난 것으로, 신남산이 파클리탁셀에 의해 유도된 기계적 이질통과 냉 이질통의 저감에 있어 중요한 역할을 함을 시사하였다.

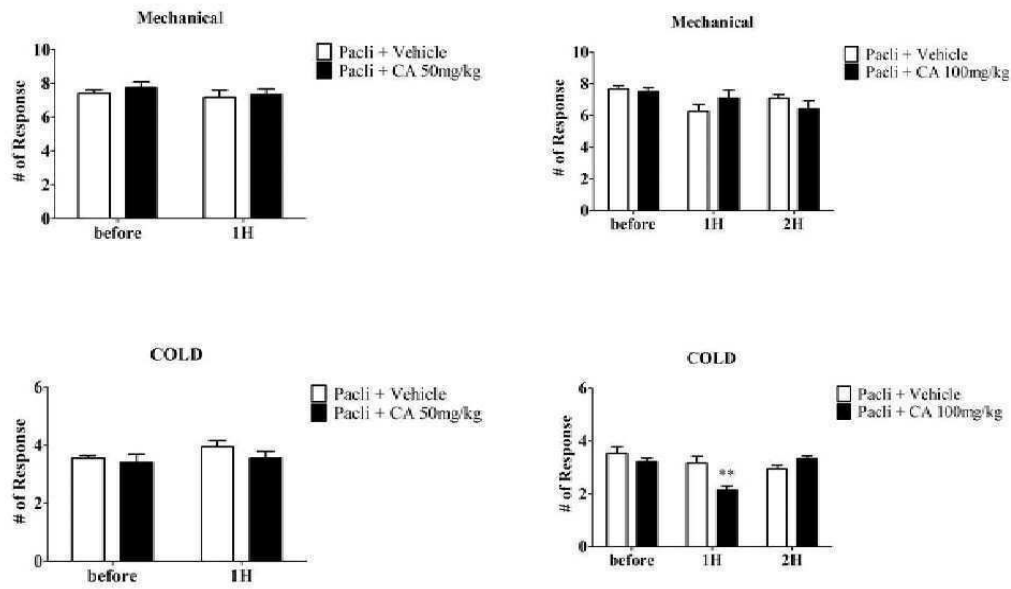
[0225] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

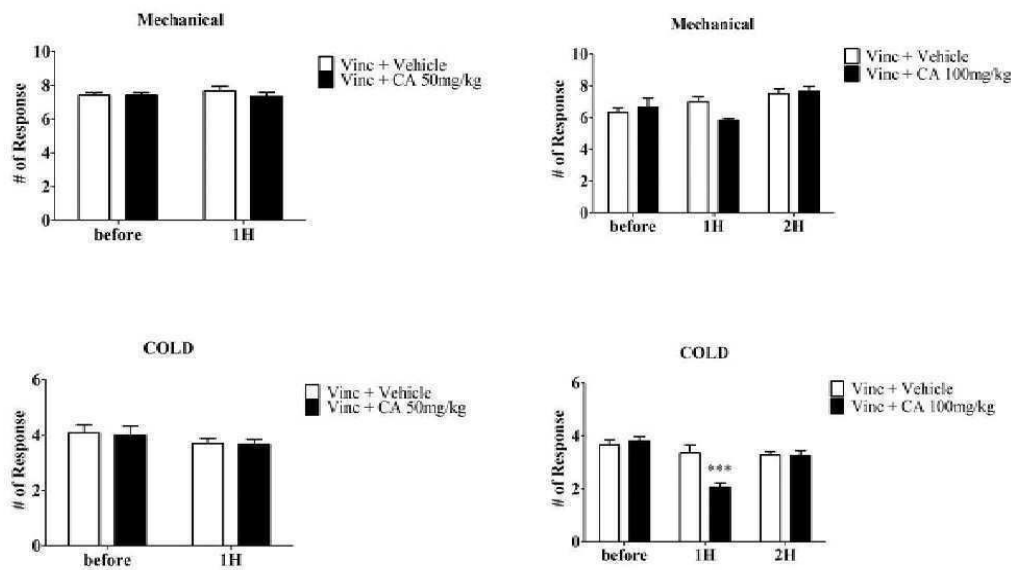
도면1



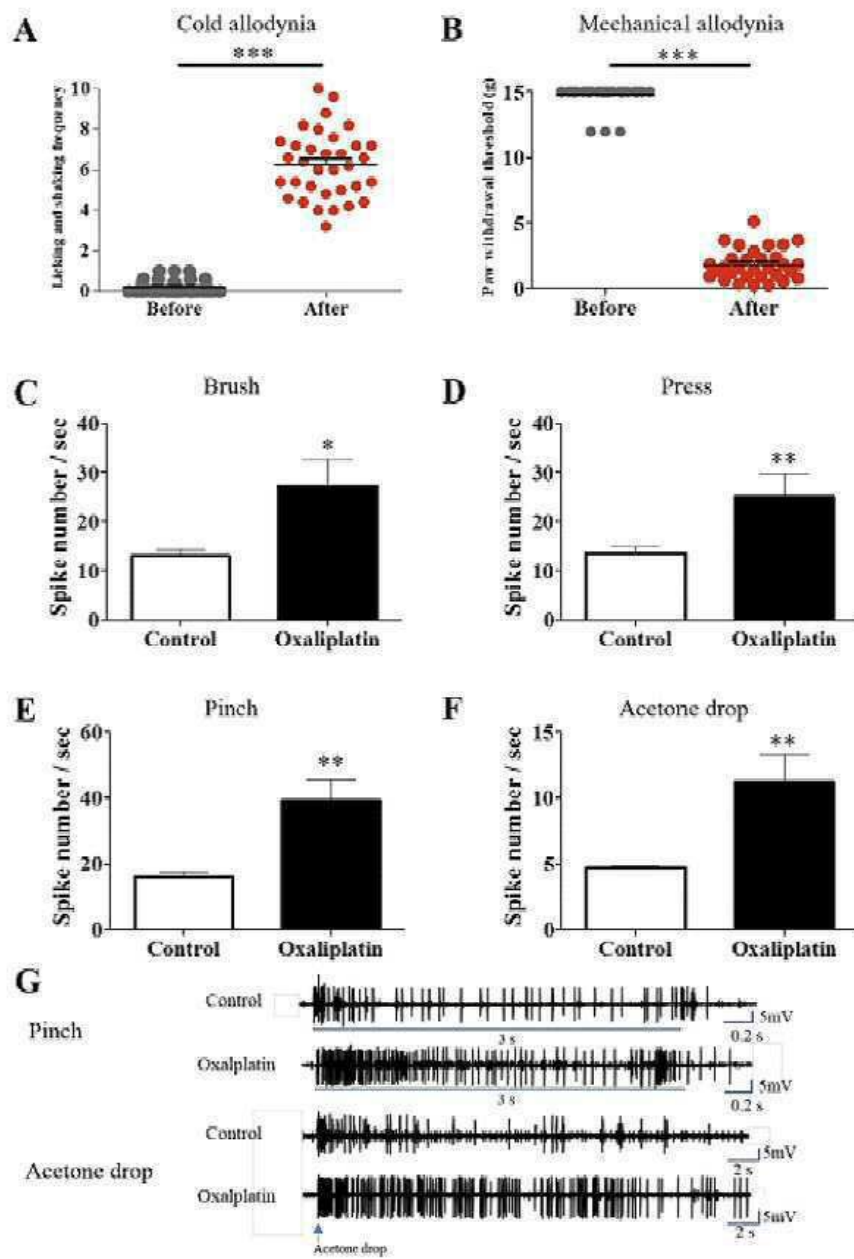
도면2



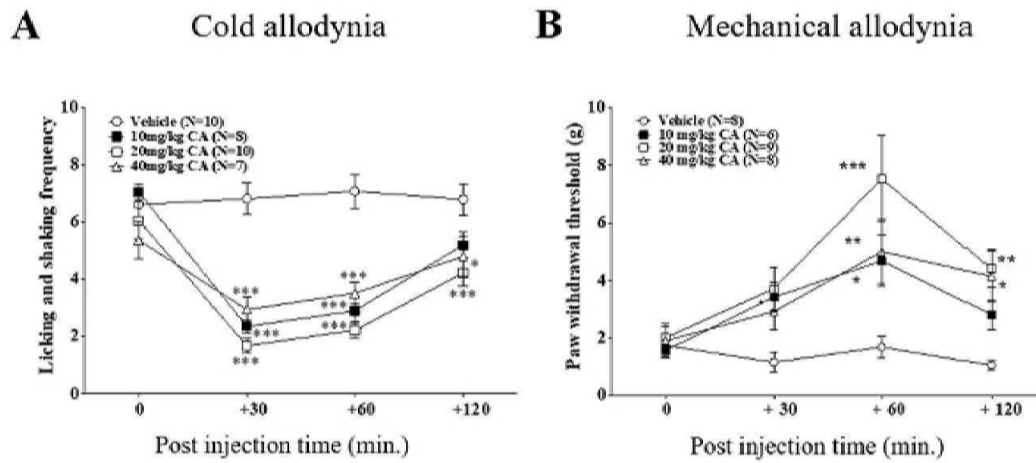
도면3



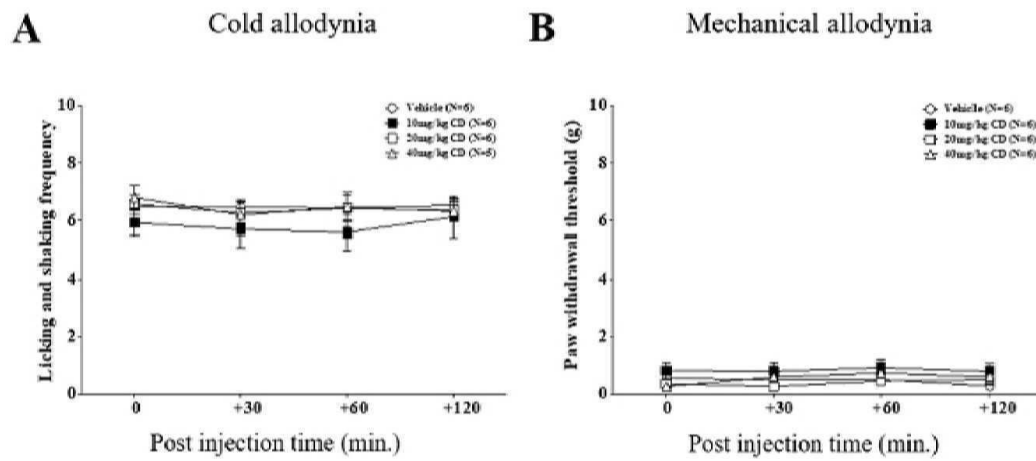
도면4



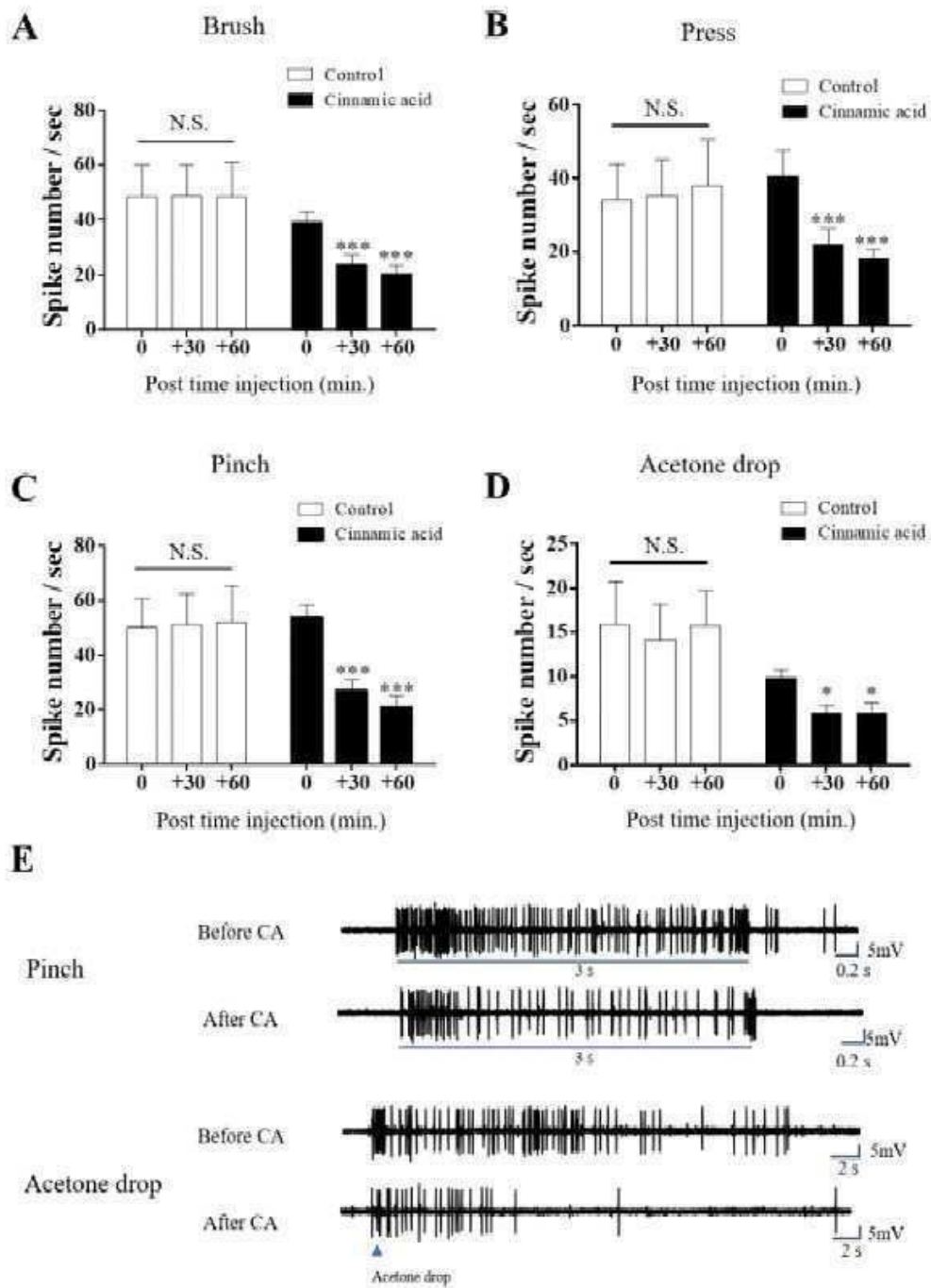
도면5



도면6



도면7



도면8

