(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0064809
(43) 공개일자 2023년05월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/34 (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)
A61P 25/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/34 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2021-0150313
(22) 출원일자 2021년11월04일
심사청구일자 2021년11월04일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
김선광
서울특별시 동작구 동작대로29길 119, 108동 1506호(사당동, 극동아파트)
장대식
서울특별시 강남구 광평로10길 50, 109동 104호(일원동, 청솔빌리지)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 천지

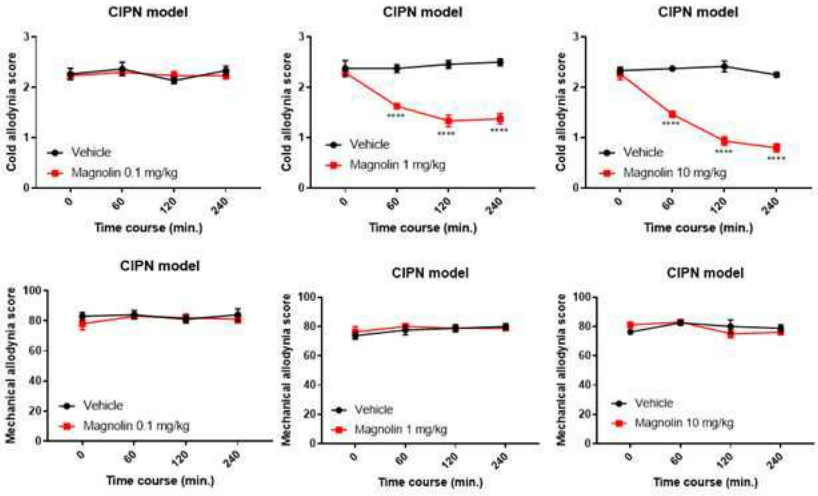
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **마그놀린을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증 치료용 조성물**

(57) 요 약

마그놀린 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 조성물은 일회 또는 다회 투여시 신경병성 통증의 치료 또는 예방 효과가 우수하며, 의약품, 화장품, 건강기능식품으로 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 25/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)
(72) 발명자
정지훈
서울특별시 동대문구 회기로25길 79, 지하 101호(이문동)
손소리
서울특별시 노원구 한글비석로44길 17-4, 401호(상계동, 상계캐슬)
김나리
서울특별시 동대문구 천장산로9길 48, 303호(이문동, 티제이빌)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711133660
과제번호	2017M3A9E4057926
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오.의료기술개발(R&D)
연구과제명	항암제 통증 및 암성 악액질 완화 통합 치료기술 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2021.01.01 ~ 2022.06.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

마그놀린 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 치료 또는 예방용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 마그놀린이 1회 투여용량으로 0.1 mg/kg 내지 600 mg/kg으로 포함되는 것인,

약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 3일 이상의 기간 동안 투여하기 위한 것인,

약학적 조성물.

청구항 4

마그놀린 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 완화 또는 예방용 식품 조성물.

청구항 5

마그놀린 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 완화 또는 예방용 화장료 조성물.

청구항 6

마그놀린 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 완화 또는 예방용 약침 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 마그놀린을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 신경병성 통증은 신경계통 손상 등에 의한 일차적 병변(primary lesion) 또는 신경계 기능 이상(dysfunction in the nerve system)에 의해 초래되는 만성적 통증 질환을 의미한다. 신경병성 통증의 원인으로는 외상, 대사성, 허혈성 또는 혈관성, 독성, 신경압박, 면역매개성, 염증, 및 선천적인 원인 등이 있다.

[0003] 기존 신경병성 통증 치료제는 일부 환자에게만 효과를 나타내거나 부작용이 크다. 마약성 진통제(opioid)는 대부분 급성 통증 억제 효과가 있으나 신경병성 통증과 같은 만성 통증에는 효과가 낮다. Oxycodone, Tramadol, Morphine 등과 같은 일부 마약성 진통제는 단기적으로 신경병성 통증을 억제하는 효과가 있으나 장기적으로는 효과가 낮으며 부작용이 크기 때문에 널리 사용되기 어렵다. amitriptyline, desipramine, nortriptyline 등 일부 삼환식 항우울제(tricyclic antidepressants)는 당뇨병성 신경병성 통증(diabetic neuropathy), 대상포진 후 신경병성 통증(postherpetic neuroalgia)를 경감시키는데 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. gabapentin과

pregabalin 등 항경련성 약물 또한 당뇨병성 신경병성 통증 및 대상포진 후 신경병성 통증에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 상기 약물들은 대부분 일부 원인에 의한 통증 환자에만 적용 가능하며, 적용된 환자에 대해서도 약 50% 정도의 환자에서 약 30 내지 50% 통증이 경감되는 효과를 나타내고 있을 뿐이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 대한민국 공개공보 제 10-2016-0020214호(2016.02.23)

발명의 내용

해결하려는 과제

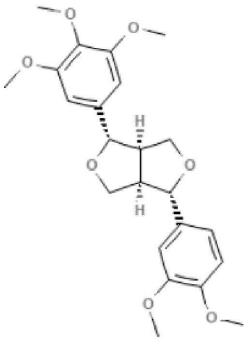
[0005] 일 구체예는 마그놀린을 유효성분으로 포함함으로서 신경병성 통증을 치료 또는 예방할 수 있는 조성물을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0006] 일 양상은 마그놀린(Magnolin)을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공한다.

[0007] 상기 마그놀린은 하기 화학식 1의 구조로 표시되는 화합물로서, IUPAC 명칭은 (3S,3aR,6S,6aR)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[3,4-c]furan이다.

[0008] [화학식 1]



[0009]

[0010] 상기 마그놀린은 판매되는 제품을 구매해 사용할 수 있다.

[0011] 신경병성 통증은 환자에 따라 냉성 이질통(cold allodynia), 기계적 이질통(mechanical allodynia), 온도 과민통(thermal hyperalgesia), 자발적 통증 (spontaneous pain), 또는 이들의 조합 등 여러가지 형태로 나타날 수 있다. 이질통은 정상적으로는 통증을 일으키지 않는 약한 자극에 대해서도 극심한 통증이 나타나는 현상을 의미한다. 기계적 이질통은 가벼운 접촉과 같은 기계적 자극에 대해서 느끼는 이질통을 의미하고, 냉성 이질통은 시원한 온도 자극에 대해 느끼는 이질통을 의미한다. 과민통은 통증을 일으킬 수도 있는 자극을 받았을 때 본래 느껴질 만한 수준보다 증폭된 수준의 통증을 느끼게 되는 것을 말한다. 온도 과민통은 가령 따뜻한 온도에 접촉하였을 때에 뜨거운 열자극으로 데인 것처럼 통증을 느낄 수 있는 현상이다. 자발적 통증은 위와 같은 자극이 없는 상태에서도 자발적으로 통증을 느끼는 것이다. 일 실시예에 따르면, 신경병성 통증 모델에 마그놀린을 1회 투여하면 냉성 이질통을 억제할 수 있으며, 수일에 걸쳐 반복 투여하면 기계적 이질통을 완화시킬 수 있음이 확인되었으므로 신경병성 통증 치료 효과가 있음이 확인되었다.

[0012] 상기 신경병성 통증은 외상, 대사성 질환(예를 들면 당뇨병성 신경병증), 허혈성 또는 혈관성 질환(예를 들면 뇌졸증 후 중추성 통증), 독성(예를 들면 중금속, 항암제, 또는 화학요법), 신경압박(예를 들면 척추협착증 또는 손목터널증후군), 면역매개성(예를 들면 다발성 경화증), 염증(예를 들면 대상포진 후 신경병성 통증), 또는 선천성 원인에 의한 것일 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0013] 용어 "치료"는 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 신경병성 통증에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 것을 의미하며, 본 명세서에서는 치료, 완화, 개선과 혼용될 수 있다. 용어 "예방"은 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 신경병성 통증의 발병을 억제하거나 지연시키는 것을 의미한다.

[0014] 일 구체예에 따르면, 상기 약학적 조성물은 마그놀린이 1회 투여용량으로 0.1 mg/kg 내지 600 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 500 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 400 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 300 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 200 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 60 mg/kg, 1 mg/kg 내지 600 mg/kg, 1 mg/kg 내지 500 mg/kg, 1 mg/kg 내지 400 mg/kg, 1 mg/kg 내지 300 mg/kg, 1 mg/kg 내지 200 mg/kg, 1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 또는 1 mg/kg 내지 60 mg/kg으로 포함되는 것일 수 있다. 상기 투여용량은 투여경로 및 환자의 체중에 따라 적절히 조절될 수 있다.

[0015] 일 구체예에 따르면, 상기 약학적 조성물은 1일 최대 투여용량은 예를 들면 0.1 mg/kg 내지 600 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 500 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 400 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 300 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 200 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 60 mg/kg, 1 mg/kg 내지 600 mg/kg, 1 mg/kg 내지 500 mg/kg, 1 mg/kg 내지 400 mg/kg, 1 mg/kg 내지 300 mg/kg, 1 mg/kg 내지 200 mg/kg, 1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 또는 1 mg/kg 내지 60 mg/kg, 10 mg/kg 내지 600 mg/kg, 10 mg/kg 내지 500 mg/kg, 10 mg/kg 내지 400 mg/kg, 10 mg/kg 내지 300 mg/kg, 10 mg/kg 내지 200 mg/kg, 10 mg/kg 내지 100 mg/kg, 또는 10 mg/kg 내지 60 mg/kg, 60 mg/kg 내지 600 mg/kg, 60 mg/kg 내지 500 mg/kg, 60 mg/kg 내지 400 mg/kg, 60 mg/kg 내지 300 mg/kg, 60 mg/kg 내지 200 mg/kg, 60 mg/kg 내지 100 mg/kg, 또는 60 mg/kg 일 수 있다.

[0016] 일 구체예에 따르면, 상기 약학적 조성물은 1주에 1회 내지 8회 투여되는 것일 수 있다. 예를 들면 4일간 1일 2회 투여하여 총 8회 투여할 수 있다.

[0017] 상기 약학적 조성물은 장기 투여하기 위한 것일 수 있으며, 예를 들면 2일 이상, 3일 이상, 4일 이상, 5일이상, 1주일 이상, 2주일 이상, 3주일 이상, 4주일 이상, 1달 이상, 2달 이상, 3달 이상, 또는 그 이상의 기간 동안 투여하기 위한 것일 수 있다. 상기 투여 기간동안 1일 1회 내지 3회, 1회 내지 2회, 또는 2회 내지 3회 투여할 수 있다. 일 실시예에 따르면, 마그놀린의 1회성 투여에 의해서는 기계적 이질통이 완화되지 않았으나, 장기 투여하면 기계적 이질통이 완화 효과가 나타나는 것으로 확인되었다.

[0018] 상기 약학적으로 허용되는 염은 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염일 수 있다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류 등과 같은 무독성 유기산, 아세테이트, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻을 수 있다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 나이트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸 벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트 등이 포함될 수 있다.

[0019] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻을 수 있다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 적합할 수 있다.

[0020] 상기 조성물은 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테

아레이트 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 주사제의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.

[0022] 상기 약학적 조성물의 적절한 유효량은 치료를 요하는 질환에 대한 생체내(in vivo) 및 시험관내(in vitro) 모델 시스템에서 해당 화합물을 실험함으로써 결정될 수 있다. 상기 유효량(therapeutically effective amount)이란, 치료를 요하는 병의 증상을 경감 또는 줄이거나 예방을 요하는 병의 임상학적 마커 또는 증상의 개시를 줄이거나 지연시키는데 유효한 활성 성분의 양을 의미할 수 있다.

[0023] 상기 약학적 조성물은 경구, 비경구, 국소, 또는 국부적으로 투여될 수 있다. 상기 약학적 조성물의 적절한 투여량, 투여 빈도 및 투여 기간은 제형과 환자의 임상 증상, 연령 및 동반된 의학적인 병태에 따라 적절히 설정될 수 있다. 상기 비경구 투여는 직장, 질, 주입, 근육내, 복막내, 동맥내, 경막내, 기관지내, 조내, 피부, 피하, 피내, 경피, 정맥내, 자궁경관내, 복강내, 두개내, 안내, 폐내, 흉곽내, 기관내, 비내, 협측 및 설하로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 한 곳에 주사 투여하는 것일 수 있다.

[0024] 상기 약학적 조성물은 이를 포함하는 피부 외용제 제조에 이용될 수 있다. 상기 피부 외용제는 지방 물질, 유기용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 성분 등 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다

[0026] 다른 양상은, 마그놀린을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 완화 또는 예방용 식품 조성물을 제공한다.

[0027] 상기 마그놀린의 적절한 투여량, 투여횟수, 용도 등에 대한 내용은 상술한 내용과 동일하다.

[0028] 상기 식품 조성물은 기능성 식품(functional food), 영양 보조제(nutritional supplement), 건강식품(health food) 및 식품 첨가제(food additives) 등 모든 형태의 식품 조성물을 포함할 수 있다. 상기 유형의 식품 조성물은 당해 기술 분야에 공지된 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0029] 상기 식품 조성물은 건강기능식품 형태로 제공될 수 있다. 상기 건강기능식품은 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 의미한다.

[0030] 상기 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의 약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다. 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연 첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.

[0031] 상기 식품 조성물은 다양한 식품 및 음료에 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.

[0033] 또 다른 양상은, 마그놀린 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 완화 또는 예방용 화장료 조성물을 제공한다.

[0034] 상기 마그놀린의 적절한 투여량, 투여횟수, 용도 등에 대한 내용은 상술한 내용과 동일하다.

[0035] 상기 화장료 조성물은 이를 포함하는 기능성 화장품 제조에 사용될 수 있다. 화장품은 마그놀린을 포함하는 것을 제외하면 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다. 적합한 화장품의 제형으로는 예를 들면 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀젼, 현탁액, 마이크로에멀젼, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포좀), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를

더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.

[0036] 또한, 상기 화장품은 본 발명의 추출물의 분획물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.

[0037] 또 다른 양상은, 마그놀린 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 신경병성 통증의 완화 또는 예방용 약침 조성물을 제공한다.

[0038] 상기 약침은 침구치료와 한약치료를 결합한 한방 치료법으로서, 약물자입기 또는 약물을 코팅한 특수침을 이용하여 한약재 등의 약재를 경혈, 아시혈, 경피, 경근, 관절내, 피하내, 혈맥, 종양 등에 주입하는 한방 의료기기이다.

[0039] 상기 약침은 특정 질병을 치료하기 위한 약물을 해당 질병에 가장 효과적으로 작용할 수 있는 경혈에 약침 또는 주사기 등으로 주입하는 것일 수 있다. 상기 약침은 경혈에 약물을 피하(subcutaneous) 또는 진피내(intradermal) 주사로 투여하는 것일 수 있다.

[0040] 또 다른 양상은, 상기 약침 조성물을 포함하는 약침을 제공한다.

발명의 효과

[0041] 일 구체예에 따른 약학적 조성물 또는 식품 조성물은 마그놀린을 유효성분으로 함유함으로써 신경병성 통증에 대한 억제 효과를 가질 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 마그놀린 단회 투여에 의해 화학요법제 유발 말초신경병증 모델의 냉성 이질통을 완화하는 효과를 확인한 결과이다.

도 2는 마그놀린 단회 투여에 의해 좌골신경 손상에 의해 유발된 신경병성 통증 모델의 냉성 이질통을 완화하는 효과를 확인한 결과이다.

도 3은 마그놀린의 1일 2회, 4일 반복 투여에 의해 좌골신경 손상에 의해 유발된 신경병성 통증 모델(PSL)의 냉성 이질통 및 기계적 이질통을 지속적으로 완화하는 효과를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통해 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0045] **실험방법 1: 신경병성 통증 동물모델 준비**

[0046] 화학요법제 유발 말초신경병증 모델 및 부분적 좌골신경 결찰 모델을 준비하였다.

[0047] 1-1. 항암화학요법제 유발 말초신경병증(Chemotherapy-induced peripheral neuropathy, CIPN) 모델

[0048] 실험동물에 파클리탁셀(Paclitaxel)을 반복 투여하여 CIPN을 유발시켰다. 파클리탁셀 25mg을 0.5 ml DMSO에 용해시키고, 0.9% normal saline으로 희석하여 파클리탁셀 2 mg/ml 용액을 준비하였다. 파클리탁셀의 1 회 투여용량은 2mg/kg으로 하였으며, 8주령 C57/BL6 마우스에게 2일 간격으로 총 4회 복강 내 주사하였다. 구체적으로, 최초 주사일을 0 일로 하여, 0, 2, 4, 6 일째에 각각 1회씩 총 4회 복강 내 투여하였다. 이후 CIPN 이 발현되기까지 1주일 이상의 대기 시간을 가졌다.

[0049] 1-2. 부분적 좌골신경 결찰(Partial sciatic nerve ligation, PSL) 모델

[0050] 좌골신경 손상에 의해 유도된 신경병성 통증 모델을 준비하였다. 8주령 C57/BL6 마우스를 2% isoflurane으로 흡입마취하고 복위(prone position)를 취하게 하여 수술대에 위치시켰다. 우측 뒷다리에서 좌골 신경이 통과하는 부위 근처의 피부와 근육을 절개하고 신경을 주변 결합조직으로부터 분리하였다. 8-0 봉합사를 사용하여 좌골

신경의 1/3 정도를 결찰(ligation)하고 수술 부위를 봉합하였다. 실험 동물을 사육 케이지로 돌려보내고 마취에서 각성할 때까지 기다려 운동 기능에 손상이 없는 것을 확인하였다. 이후 약물 실험을 시행하기 전까지 1주일 이상의 대기 시간을 주었다.

[0052] **실험방법 2: 통증 행동 평가**

[0053] 신경병성 통증으로 인해 발생하는 행동 변화를 관찰하기 위하여 아래 두 가지 종류의 행동 실험이 시행되었다.

[0054] 2-1. Acetone test에 의한 냉성 이질통 완화 확인

[0055] 신경병성 통증의 증상 중 하나인 냉성 이질통(cold allodynia) 증상을 측정하기 위하여 하기 방법으로 acetone test를 실시하였다.

[0056] 먼저 실험동물을 격자 구조 바닥으로 된 실험대 위에 대기시키고 최소 20분 이상의 대기 시간을 주었다. 필요한 경우 실험동물의 탐색 행동과 그루밍이 멈출 때까지 추가 대기 시간을 주었다.

[0057] 충분히 안정된 실험 동물의 우측 뒷발 발바닥에 acetone 10 ㎕를 도포하고, 이에 대한 행동 반응(회피, 핥기, 흔들기 등)을 강도별로 점수화하였다. 자극은 5분 간격으로 3차례 반복하였다.

[0059] 2-2. Von Frey test(VFT)에 의한 기계적 이질통 완화 확인

[0060] 신경병성 통증 상태에서 나타나는 대표적 증상인 기계적 이질통(mechanical allodynia) 증상을 측정하기 위하여 von Frey filament를 사용하여 실험동물에 자극을 가하고 그에 대한 회피 반응을 관찰하였다.

[0061] 실험대 위에 충분히 안정된 실험동물의 우측 뒷발 발바닥 가운데 부위에 von Frey filament로 자극을 가하였다.

[0062] CIPN 모델의 기계적 이질통 측정에서는 자극을 위하여 한 종류의 von Frey filament (logarithmic value 3.61)를 사용하였으며, 양발을 각 10회씩 반복 자극하였다. 총 20번의 자극 중 회피 반응을 보였던 시행이 몇번인지 그 비율을 퍼센티지로 계산하여 mechanical allodynia score 로 나타내었다. 이 수치가 높을수록 실험동물의 통증이 더 심한 것으로 이해된다.

[0063] PSL 모델의 기계적 이질통 측정에서는 von Frey filament로 실험동물의 우측 뒷발을 자극하였으며, Dixon (1965)의 up-down method를 사용하였다. 구체적으로, 2.83, 3.22, 3.61, 3.84, 4.08, 4.17의 서로 다른 굵기를 가진 filament들을 사용하고, 특정 굵기의 filament로 자극하여 동물이 행동반응을 보이지 않으면(-로 기록됨) 그보다 더 굵은 filament로 자극(더 강한 자극)을 가하고, 반대로 행동 반응을 보인다면(+로 기록됨) 더 약한 자극을 가하였다.

[0064] 첫번째 방향 변경(-에서 +로, 또는 +에서 -로, 2 회)(교차 반응으로도 지칭됨) 후 4회 추가 자극하여 총 6회의 데이터를 얻었다. 이렇게 얻은 데이터는 Chaplan(1994)의 계산법을 사용하여 역치값으로 변환되었다. 구체적으로, 6회 자극 동안 기록된 반응의 패턴, 사용된 von Frey filament 들의 등급별 차이의 평균, 그리고 최종 사용된 von Frey filament의 값을 사용하여 50% 회피 반응 역치 (50% paw withdrawal threshold)를 계산하였다. 이 수치가 낮을수록 실험동물의 통증이 더 심한 것으로 이해된다.

[0066] **실험방법 3: 마그놀린 준비 과정**

[0067] 마그놀린은 경희대학교 약학대학 장대식 교수 연구실에서 분리정제하였다. 마그놀린 (~30 mg)을 먼저 1ml DMSO에 용해하여 stock solution을 마련하였다. 복강 투여 당일 이 용액 0.1 ml를 0.9 ml의 corn oil에 희석하여, 마그놀린 용액을 제조하였다. 실험군에는 이 희석용액이 사용되었고, 대조군에는 vehicle인 10% DMSO 용액이 사용되었다. 용액은 실험동물에게 복강 내 주사되었다.

[0069] **실시예 1: 마그놀린 단회 투여에 의한 신경병성 통증의 완화 효과**

[0070] CIPN 실험동물은 실험군(마그놀린 투여군) 과 대조군(vehicle 투여군)으로 무작위 배정되었다. 실험군에는 마그놀린(Magnolin)을 0.1 mg/kg (실험군 4마리), 1 mg/kg (실험군 4마리), 또는 10 mg/kg (실험군 5마리) 용량으

로 1회 복강 내 투여하였다. 대조군에는 vehicle을 1회 투여하였다 (그룹별 3~5마리 배정). 투여직전 (0분), 투여 후 60분, 투여 후 120분, 및 투여 후 240분이 경과한 시점에서 냉성 이질통 및 기계적 이질통 억제 효과가 있는지 확인하였다.

[0071] 도 1에 따르면, 마그놀린을 1 mg/kg 또는 10 mg/kg 단회 투여한 CIPN 실험동물은 냉성 이질통이 완화되었다. 그러나 0.1 mg/kg을 투여한 군에서는 냉성 이질통 완화 효과가 없었다. 그리고 모든 투여군에서 기계적 이질통 완화 효과가 나타나지 않았다.

[0072] PSL 실험모델 역시 실험군과 대조군으로 무작위 배정되었다. 실험군 (5마리)에는 마그놀린을 10 mg/kg 용량으로 1회 복강 내 투여하였고, 대조군 (3마리)에는 vehicle을 1회 투여하였다. 투여직전(0분), 투여 후 60분, 투여 후 120분, 및 투여 후 240분이 경과한 시점에서 냉성 이질통 억제 효과가 있는지 확인하였다.

[0073] 도 2에 따르면, 마그놀린을 10 mg/kg 용량으로 1회 투여한 PSL 실험모델은 냉성 이질통이 완화되었다. 기계적 이질통에 대해서는 효과가 없었다.

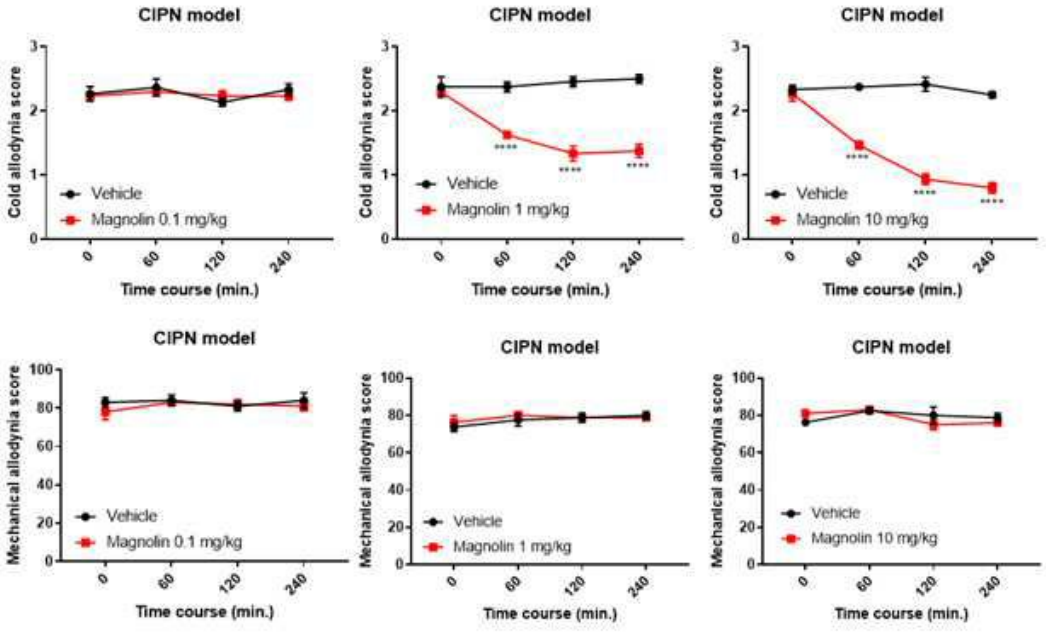
[0075] **실시예 2: 마그놀린 반복 투여에 의한 신경병성 통증의 완화 효과**

[0076] PSL 실험모델 4마리에게 Magnolin 30 mg/kg을 1일 2회, 총 4일간 반복 투여하고, 최종 투여일로부터 1, 4, 8일 후 냉성 이질통 및 기계적 이질통 완화 효과가 있는지 확인하였다.

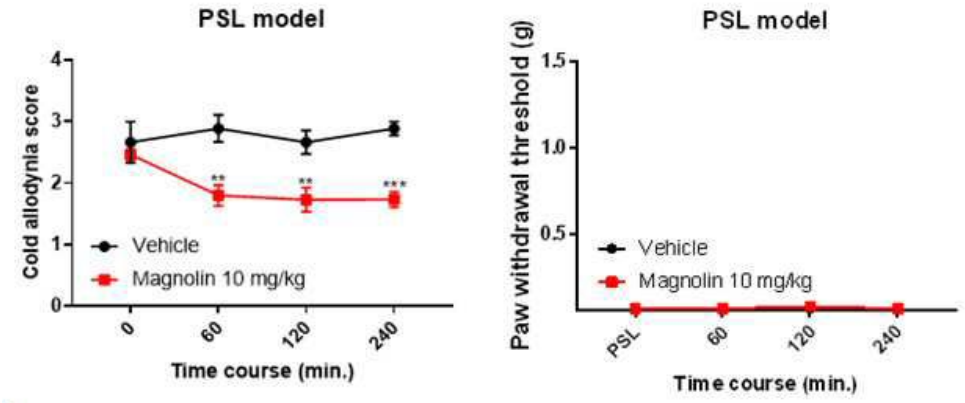
[0077] 도 3에 따르면, 마그놀린의 반복 투여는 좌골신경 손상에 의한 신경병성 통증 실험모델에서 냉성 이질통 및 기계적 이질통을 완화시켰다. 진통 효과는 투여를 완전히 중단한 후에도 4일 이상 안정적으로 지속되며, 개체에 따라서는 8일까지도 진통 효과가 유지되었다.

도면

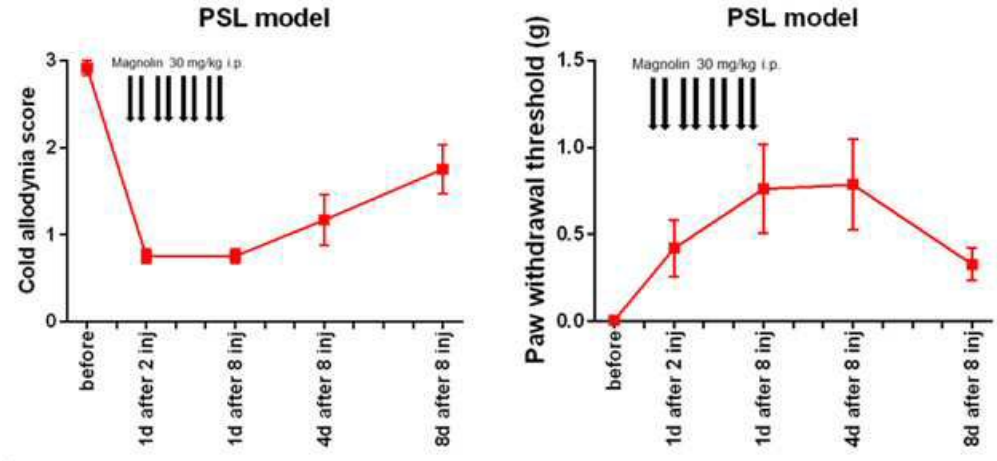
도면1



도면2


PSL model
Cold allodynia score
Vehicle
Magnolin 10 mg/kg
Time course (min.)
PSL model
Paw withdrawal threshold (g)
Vehicle
Magnolin 10 mg/kg
PSL
Time course (min.)

도면3


PSL model
Magnolin 30 mg/kg i.p.
Cold allodynia score
before
1d after 2 inj
1d after 8 inj
4d after 8 inj
8d after 8 inj
PSL model
Magnolin 30 mg/kg i.p.
Paw withdrawal threshold (g)
before
1d after 2 inj
1d after 8 inj
4d after 8 inj
8d after 8 inj