



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0031436  
(43) 공개일자 2020년03월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 31/165 (2006.01) A23K 20/111 (2016.01)  
A23K 20/121 (2016.01) A23L 33/10 (2016.01)  
A61K 31/341 (2006.01) A61P 1/16 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 31/165 (2013.01)  
A23K 20/111 (2016.05)  
(21) 출원번호 10-2018-0110442  
(22) 출원일자 2018년09월14일  
심사청구일자 2018년09월14일

(71) 출원인  
셀라이온바이오메드 주식회사  
대전광역시 유성구 테크노4로 17, 비즈센터 제4층  
제에이407호(관평동)  
(72) 발명자  
서석효  
경기도 고양시 일산동구 위시티4로 45 일산자이아  
파트 406동 804호  
김성진  
대전광역시 유성구 지족로364번길 91, 502호(지족  
동, 경남아너스빌1차)  
(74) 대리인  
특허법인아주

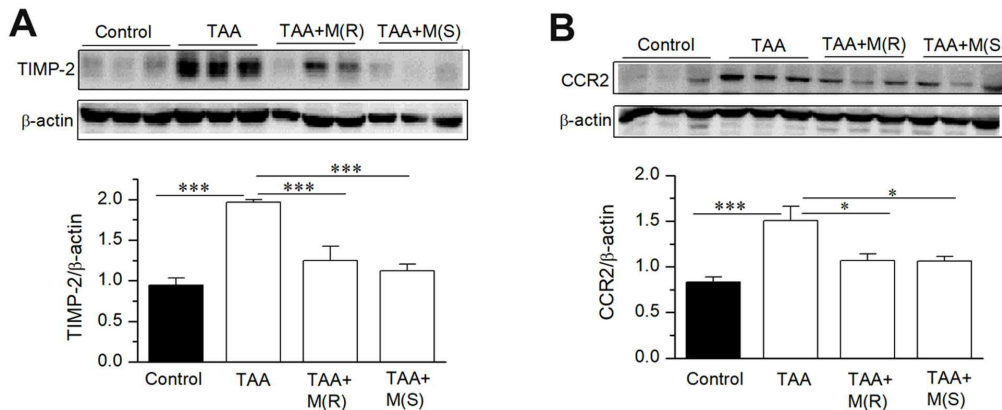
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 벤즈히드릴티오 아세트아미드 화합물을 유효성분으로 포함하는 간 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 모다피닐 또는 이의 유도체를 유효성분으로 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 사료 조성물 및 상기 조성물을 이용한 치료방법에 관한 것으로, 본 발명의 모다피닐 및 이의 유도체는 간 질환에 대한 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물, 예방 또는 개선을 위한 식품 조성물, 사료 조성물 및 예방 또는 치료 방법으로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도5a



(52) CPC특허분류

*A23K 20/121* (2016.05)

*A23L 33/10* (2016.08)

*A61K 31/341* (2013.01)

*A61P 1/16* (2018.01)

*A23V 2002/00* (2013.01)

*A23V 2200/30* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI17C0774

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 보건의료기술연구개발사업-질환극복기술개발

연구과제명 간섭유화/간경변증에서KCa2.3과KCa3.1의 역할과 KCa 하향조절물질의 치료효과규명

기여율 1/1

주관기관 이화여자대학교 산학협력단

연구기간 2017.04.01 ~ 2019.12.31

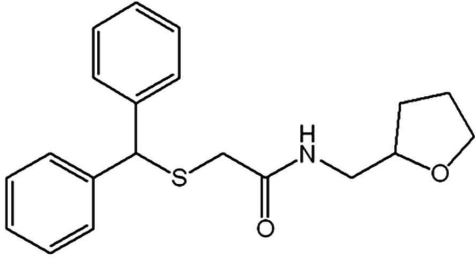
명세서

청구범위

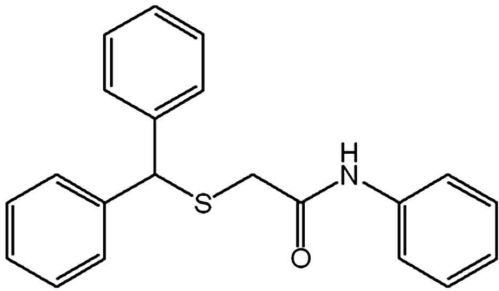
청구항 1

모다피닐, 하기 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

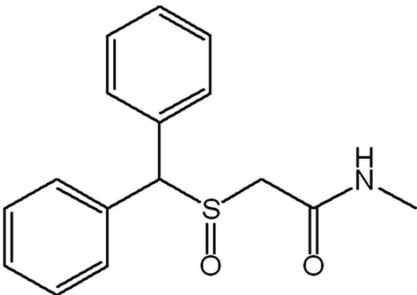
[화학식 2]



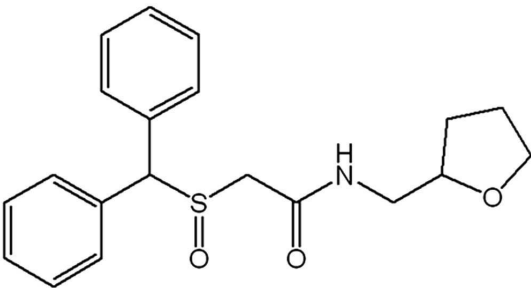
[화학식 3]



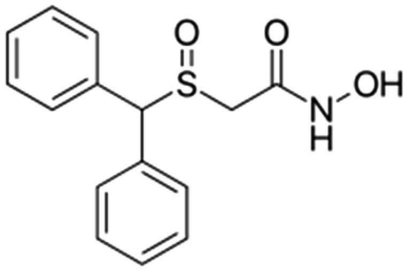
[화학식 4]



[화학식 5]



[화학식 6]



**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 모다피닐은 모다피닐 R-이성질체, 모다피닐 S-이성질체 또는 이들의 혼합물인, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 3**

제1항에 있어서, 상기 간 질환은 간염, 간독성 물질에 의한 간질환, 지방간, 간섬유화, 간경변, 알코올성 간 질환 및 비알코올성 간 질환으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것인, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 4**

제1항에 있어서, 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 상기 조성물은 간세포에서 AST(aspartate aminotransferase) 또는 ALT(alanine aminotransferase)의 혈중 농도 증가를 억제하거나; 염증 유발 사이토카인(Cytokine)의 발현을 감소시키거나; 또는 섬유화 마커의 발현을 감소시키는 것인, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 6**

제5항에 있어서, 상기 염증 유발 사이토카인(Cytokine)은 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha), CCL-2(Chemoattractant protein-1), IL-12(interleukin-12), TGF(Transforming growth factor) IL-1 $\alpha$ (Interleukin-1 $\alpha$ ), IL-6(Interleukin-6) 및 MIP-2(macrophage inflammatory protein-2)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것인, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

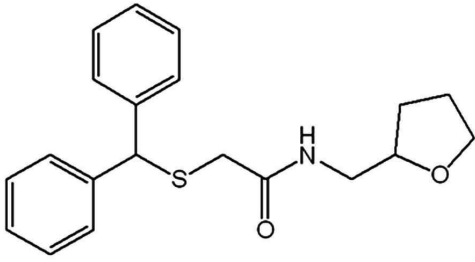
**청구항 7**

제5항에 있어서, 상기 섬유화 마커는 콜라겐-1(collagen-1), 콜라겐-3, 콜라겐-4,  $\alpha$ -SMA( $\alpha$ -smooth muscle actin) 및 TGF $\beta$ 2(transforming growth factor receptor 2)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것인, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

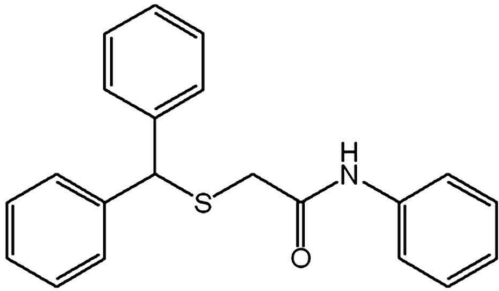
**청구항 8**

모다피닐, 하기 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물:

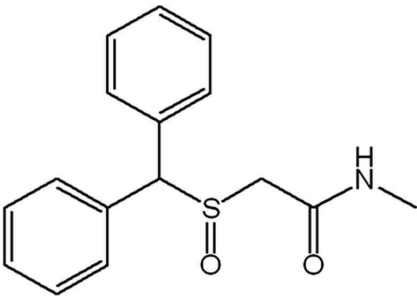
[화학식 2]



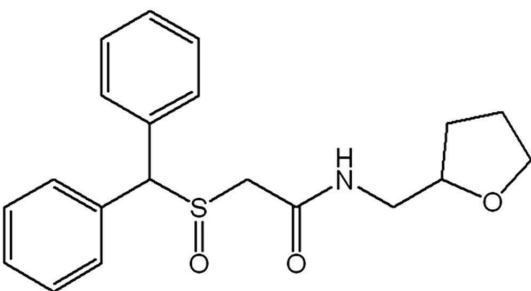
[화학식 3]



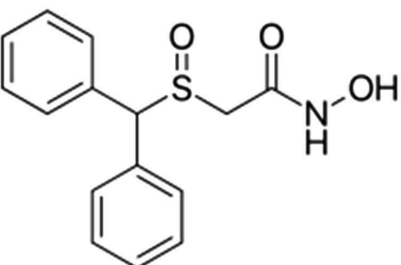
[화학식 4]



[화학식 5]



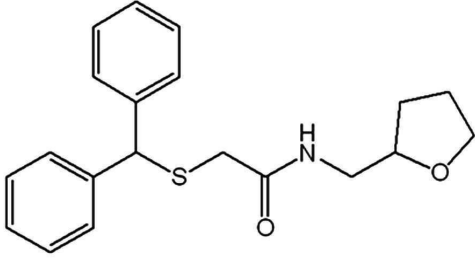
[화학식 6]



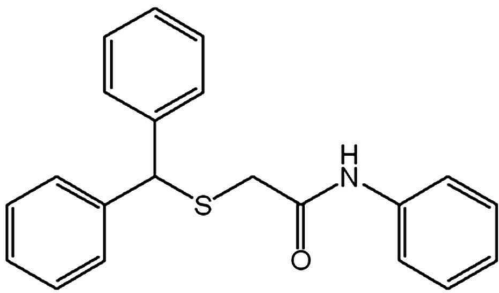
청구항 9

모다피닐, 하기 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물:

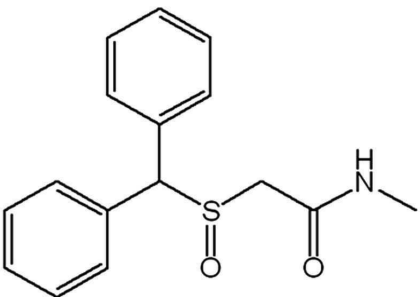
[화학식 2]



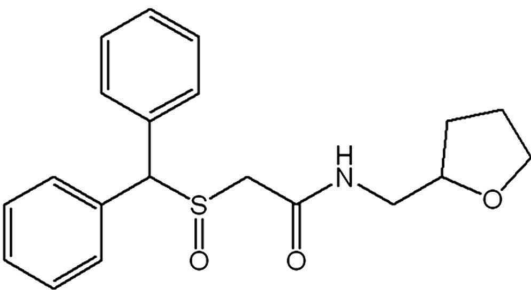
[화학식 3]



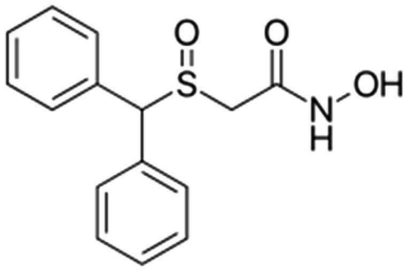
[화학식 4]



[화학식 5]



[화학식 6]



**청구항 10**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 모다피닐 또는 이의 유도체를 유효성분으로 포함하는 간질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 사료 조성물 및 상기 조성물을 이용한 치료방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 간은 약 500종 이상의 화학 공정을 담당하는 화학공장에 비유되는 매우 중요한 기관이다. 에너지 공급 기관으로서 간은 탄수화물, 단백질 및 지질 대사를 관장하여 체내 중요 에너지원인 글루코스를 생성하거나 저장하며, 단백질과 콜레스테롤과 같은 지방을 생성한다. 그리고, 간은 알부민, 면역글로불린, 혈액응고인자들과 같은 혈장 단백질을 생산하여 교질삼투압과 면역 기능 등을 조절하며 담즙을 생산하여 지방 흡수에 기여한다. 그리고 장을 통해 들어온 박테리아 및 독성 물질들을 제거하고 약물대사, 해독 작용 등을 관장하며 체외 배출이 어려운 지용성 물질들을 수용성 물질로 변화시키는 작용 등 다양한 작용을 한다.

[0004] 그런데 간은 각종 독성물질들에 의해 손상 받을 확률이 다른 장기에 비해 높다. 소화기관을 통해 흡수된 물질들은 먼저 간을 통과하기 때문에, 간은 우리가 먹는 음식물에 포함된 독성물질이나 약물들에 의해 손상 받을 가능성이 높다. 그러므로 간은 여러가지 보호 물질을 생성하여 이러한 간 독성 물질로부터 간을 보호하고 있다. 글루타치온과 같은 항산화물질을 생성하거나 글루타치온 S-트랜스퍼라아제(glutathione S-transferase: GST), NADPH, 퀴논 옥시도레덕타아제(quinone oxidoreductase), 알도-케토 리덕타아제(aldo-keto reductase), 감마글루타밀시스테인 합성효소(gammaglutamylcysteine synthetase)등 체내 산화 환원 상태 조절에 관여하는 효소들의 활성을 조절하여 간 세포를 보호한다. 그리고 시토크롬 P450 (cytochrome P450)은 약물대사에 관여하여 이 효소의 활성 변화는 여러 간 질환에서 관찰된다. 그리고 이러한 효소 발현의 변화는 간세포 보호 효능의 지표로 활용되기도 한다.

[0005] 간 질환은 간염, 간섬유화 및 간경변 등을 포함하는 질환인데, 최근 국내통계청이 발표한 사망원인 통계조사에 따르면 40대에서 간 질환으로 인한 사망률이 가장 높은 것으로 나타났다.

[0006] 간염은 간염 바이러스 감염, 간 독성 물질들에 노출 등 여러 가지 원인에 의해 발생하며, 만성 간 염증에 의해 간조직이 파괴되어 흉터 조직으로 대체되면서 간섬유화/간경변이 발생한다. 만성 간염과 간경변이 일어나는 단계는 원인 물질 혹은 세균에 노출되는 단계, 간 염증 유발 단계, 섬유화 단계, 그리고 간경변이 일어나는 단계 등 4단계로 나눌 수 있다. 만성 간 염증을 유발하는 원인질환으로는 B형 혹은 C형 간염바이러스에 의한 만성 바이러스성 간염, 간 독성 물질에 의한 간염 등이 있으며, 드물게 유전질환 및 자가면역성 질환이 있다. 대표적인 간 독성 물질로는 알코올, 해열진통제 (아스피린, 아세트아미노펜, 이브프로펜 등), 결핵약, 할로텐(흡입 마취제), 간에 축적된 지방 등이 있다. 특히 비알코올성 지방성 간염 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)은 일상적인 생검(routine liver biopsy)에서 1.2-9% 정도, 그리고 non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)는

비만한 사람의 80%에서 발견되는 등 발생률이 매우 높다. 현대인들에게 비만은 당뇨병을 비롯한 여러 가지 대사성 질환을 유발하는데, 지방간 및 NASH도 비만에 의해 일어나는 대표적인 질병 중의 하나이다.

[0007] 이러한 간 질환 치료는 원인질환 치료, 원인물질 제거, 그리고 간 질환 (염증 및 섬유화) 치료를 주 목적으로 한다. 이중 원인질환 치료와 원인물질 제거는 여러 가지 방법으로 가능하다. 바이러스성 만성 간염은 간염을 유발하는 원인균(B형, C형 간염바이러스)에 대한 우수한 치료약들이 속속 개발되고 있어 간섬유화/간경변으로 진행을 늦추거나 멈추게 할 수 있다. 그리고 알코올과 같은 원인물질들은 금주 등으로 제거할 수 있으며, NASH와 같이 간에 축적된 지방에 의한 간질환은 식이요법 등을 통해 간에 축적된 지방의 양을 줄여 간염을 호전시킬 수 있다. 그러나 간 염증이나 섬유화 과정을 억제하거나 치료하는 약물들은 아직 개발되지 않아 이를 치료하는 약물을 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 예를 들어, 우수한 다국적 제약회사들은 현재 전세계적으로 유행률이 크게 증가하고 있는 비알코올성 지방성 간염(NASH) 치료약 개발에 힘쓰고 있으며, 한국등록특허 제10-1086040호에는 아시아트산 유도체, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 에스테르를 포함하는 간섬유화 및 간경변증 치료제가 개시되어 있고, 한국등록특허 제10-1135574호에는 N-(2,2-이중치환-2H-크로멘-6-일) 싸이오우레아 유도체를 이용하여 간섬유화, 간경변증 등을 예방 및 치료하는 기술이 개시되어 있으나, 간 질환에 특이적이면서도 부작용이 적은 치료제의 개발이 꾸준히 요구되고 있는 실정이다.

[0008] 한편, "모다피닐"은 현재 기면증 치료제로 사용되고 있다. 모다피닐의 R-이성질체(enantiomer)는 S-이성질체에 비해 FDA 공인 체내 반감기가 3배 이상 길어서 기면증 치료제로서의 효과는 R-이성질체가 S-이성질체에 비해 월등히 좋은 것으로 보고되었다(*J. Clin. Pharmacol.*, 1999;39(1):30-40).

[0010] 이에 본 발명자들은 간 질환 치료제를 개발하기 위해 예의 연구 노력한 결과, 모다피닐 및 이의 유도체가 간세포에서 간 독성 물질에 의한 AST(aspartate aminotransferase) 또는 ALT(alanine aminotransferase)의 혈중 농도 증가를 억제하고, 간 조직내의 염증 유발 사이토카인 및 섬유화 마커의 발현을 감소시켜 간 질환 치료 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0012] 본 발명의 하나의 목적은 모다피닐, 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 모다피닐, 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 모다피닐, 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 약학적 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0017] 이하에서는, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

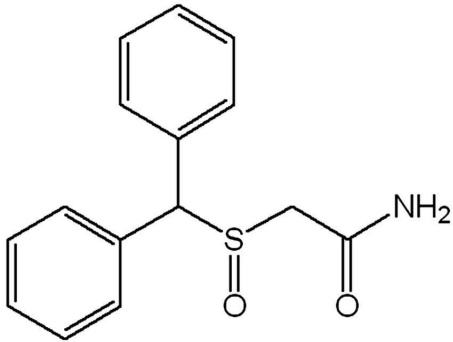
[0018] 한편, 본원에서 개시되는 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술되는 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 할 수 없다.

[0019] 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 출원에 기재된 본 발명의 특정 양태에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.

[0021] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는, 모다피닐, 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0022] 상기 "모다피닐"은 하기의 화학식 1로 표시되는 화합물로, 현재 기면증 치료제로 사용되고 있고 다른 정신과 질환의 치료에 이용하기 위한 임상실험이 진행 중이다. 이와 같이 본 발명의 모다피닐은 이미 상용화되고 있는 제 품으로 인체에 무해함이 입증된 화합물로서, 인간을 포함한 동물의 치료용 또는 약제학적 조성물로 사용할 수 있음은 자명하지만, 아직 간 질환의 예방 또는 치료 효과에 대해서는 알려진 바가 없다.

**화학식 1**

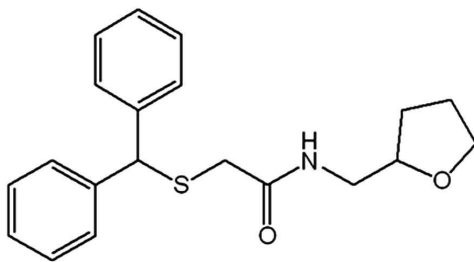


[0023]

[0024] 상기 모다피닐은 2-(벤즈히드릴술틸)아세트아미드로도 불리며, 공지된 방법으로 화학적으로 합성하거나 상용화된 것을 구입하여 사용할 수 있다. 상기 모다피닐은 R-이성질체, S-이성질체 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

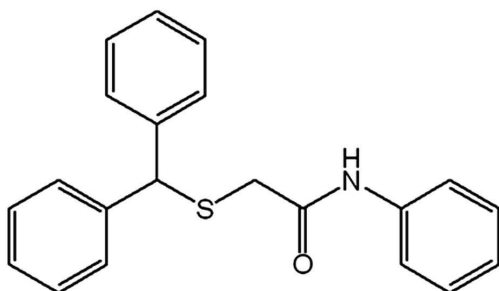
[0025] 상기 "모다피닐 유도체"는 하기 화학식 2 내지 화학식 6으로 표시되는 화합물이다. 이들은 모두 간 질환 치료효과를 갖는다.

**화학식 2**



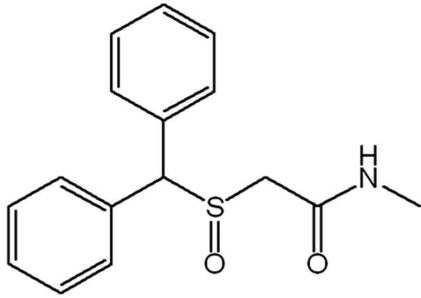
[0026]

**화학식 3**



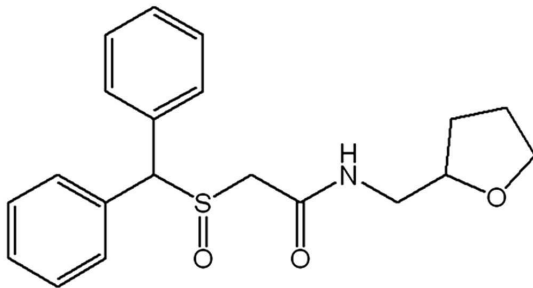
[0028]

화학식 4



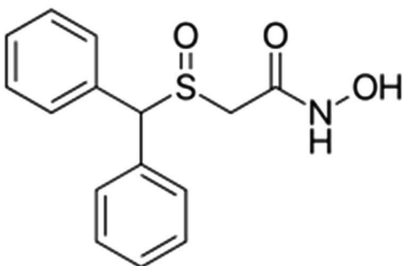
[0030]

화학식 5



[0032]

화학식 6



[0034]

[0035] 화학식 2는 2-(벤즈히드틸티오)-N-((테트라히드로퓨란-2-일)메틸)아세트아미드,

[0036] 화학식 3은 2-(벤즈히드틸티오)-N-페닐아세트아미드,

[0037] 화학식 4는 2-(벤즈히드틸술피닐)-N-메틸아세트아미드,

[0038] 화학식 5는 2-(벤즈히드틸술피닐)-N-((테트라히드로퓨란-2-일)메틸)아세트아미드 이다.

[0039] 상기 유도체 4종은 등록특허공보 제10-1345860호에 개시된 방법에 의해 합성하거나, 상용화된 것을 구입하여 사용할 수 있다.

[0040] 화학식 6으로 표시되는 화합물은 아드라피닐(adrafinil)이고, 이는 체내에서 모다피닐로 대사되어 모다피닐과

동일/유사한 효과를 나타낸다.

- [0042] 본 발명에서 용어 "약학적으로 허용가능한 염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약제학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하는데, 통상적으로 금속염, 유기 염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기 염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될 수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 모다피닐 및 이의 유도체는 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물 및 수화물을 모두 포함하고, 가능한 모든 입체이성체도 포함할 수 있다. 또한 상기 모다피닐 및 이의 유도체의 용매화물, 수화물 및 입체이성체는 통상적인 방법들을 사용하여 제조할 수 있다.
- [0044] 또한, 본 발명의 모다피닐 및 이의 유도체는 결정 형태 또는 비결정 형태로 제조될 수 있으며, 결정 형태로 제조될 경우 임의로 수화되거나 용매화될 수 있다. 본 발명에서는 모다피닐 및 이의 유도체의 화학양론적 수화물뿐만 아니라 다양한 양의 물을 함유하는 화합물이 포함될 수 있다. 본 발명에 따른 모다피닐 및 이의 유도체의 용매화물은 화학양론적 용매화물 및 비화학양론적 용매화물 모두를 포함한다.
- [0046] 본 발명에서 "간 질환"은 본 간이 수행하는 여러 가지 기능 중 한 가지 이상의 기능에 문제가 생겨 정상적으로 대사를 수행할 수 없는 것을 말한다.
- [0047] 알코올 등 간 독성물질들은 아세트 알데하이드 생성, 산화적 스트레스 증가 등의 과정을 통해 종양괴사인자-알파(TNF- $\alpha$ ) 등 염증 유발 인자의 분비를 증가시키며, 이런 과정을 통해 유발된 간 염증에 의해 간세포를 손상시킨다. 간세포가 손상되면 간세포 내에 있는 아미노 전이 효소인 AST (aspartate aminotransferase) 또는 ALT (alanine aminotransferase)의 혈중 농도가 증가하게 된다. 따라서, 상기 ALT 및 AST의 혈중 농도를 측정하여, 간 질환의 예방, 치료 효과 및 간 보호 효과를 확인할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일 실시예에서는 간세포 손상의 지표가 되는 혈중 및 간조직에서의 ALT와 AST 수치를 측정한 결과, 모다피닐 또는 이의 유도체를 투여한 간질환 그룹에서는 상기 약물을 투여하지 않은 간질환 그룹에 비해 ALT 및 AST의 수치가 감소하였음을 확인하여(도 2a 및 도 2b), 모다피닐 및 이의 유도체들의 간 보호 효과를 확인하였다.
- [0049] 본 발명에서, 간 질환은 본 발명의 조성물을 이용하여 치료될 수 있는 것이라면 제한 없이 포함될 수 있으나, 그 예로 간염, 간 독성물질에 의한 간 질환, 지방간, 간섬유화, 간경변증 일 수 있다. 보다 구체적으로 B형 혹은 C형 등 간염 바이러스에 의한 간염, 알코올성 및 비알코올성 간 질환(약물 등 간 독성 물질에 의한 간 질환), 간에 축적된 지방에 의한 간질환 (예를 들어, NASH, NAFLD), 간섬유화, 간경변증 일 수 있다.
- [0050] 본 발명에서 상기 "간염"은 간세포 및 간 조직의 염증으로, 간 독성물질이나 간염 바이러스 등에 의해 간세포의 사멸, 괴사, 염증 반응이 발생하는 질환이다. 알코올성 간염은 지속적인 알코올 섭취로 인해 발생하는 간염의 한 형태로서, 알코올 대사산물인 아세트알데하이드(acetaldehyde) 등에 의해 유발된다. 이외에도 간에 축적된 지방, 간독성이 있는 약물 등에 의해 염증이 유발되면, 이후 세포내의 신호전달 경로에 의해 TNF- $\alpha$  등의 사이토카인이 분비되어 간세포의 사멸(apoptosis), 괴사(necrosis), 염증반응을 일으킨다. 구체적으로, 바이러스성 간염(B형 및 C형 간염바이러스에 의한 간염 등), 알코올성 간염, 지방간염, 간독성 물질들에 의한 간염 등이 있을 수 있다.
- [0051] 상기 "간섬유화"는 지속된 염증 반응에 의해 손상을 받은 간 세포들이 재생되지 않고 콜라겐 등 섬유화 조직 대체되는 질환으로, 간경변증으로 발전할 수 있다. 인체 내에서 간 조직이 여러 가지 스트레스에 의한 손상을 받은 후, 쿠퍼세포(Kupffer cell)로부터 분비된 TGF- $\beta$ (transforming growth factor beta)를 포함한 여러 사이토

카인에 의하여 간성상 세포가 활성화되는데, 분비된 TGF-β는 콜라겐 합성을 촉진시켜 세포의 기질을 축적시켜, 결과적으로 간섬유화를 유발하게 된다. 또한 섬유화로 인해 간의 굴모양혈관 구조가 파괴되면 대사기능이 저하되어 혈중 히알루론산 농도가 상승하게 된다.

- [0052] 본 발명의 일 실시예에서는, 모다피닐 또는 이의 유도체를 간 질환 마우스 모델에 투여하는 경우 간 조직에서 염증세포의 수를 감소시키고, ALT 및 AST 수치를 낮추며 염증 유발 사이토카인 및 섬유화 마커의 발현을 감소시켜 모다피닐 및 이의 유도체가 간 염증 또는 섬유화 질환의 예방 및 치료 효과가 있음을 확인하였다.
- [0053] 상기 "사이토카인"은 신체의 방어체계를 제어하고 자극하는 신호물질로 사용되는 당단백질이며, 주로 면역세포에서 분비된다. 따라서 염증이 유발되면 면역세포의 작용이 활발해짐에 따라 사이토카인의 분비도 증가하게 된다. 상기 사이토카인에는 인터루킨(IL, interleukin), GM-CSF(Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), 종양괴사인자(TNF, Transforming growth factor) 및 인터페론(IFN, interferon)등이 있을 수 있다. 구체적으로 TNF-α(tumor necrosis factor alpha), CCL-2(Chemoattractant protein-1), IL-12(interleukin-12), TGF(Transforming growth factor) 및 IL-1α(Interleukin-1α), IL-6(Interleukin-6), MIP-2(macrophage inflammatory protein-2)일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0054] 상기 "섬유화 마커"는 섬유화 진행 정도를 파악하기 위해 측정되는 마커 일 수 있다. 간세포들이 섬유화 조직으로 대체되면 굴모양 혈관구조 등 정상적인 간 구조가 파괴되며 상기 섬유화 마커의 발현이 증진될 수 있다. 상기 섬유화 마커로는 콜라겐, 히알루론산, 액틴 등이 있을 수 있다. 구체적으로 콜라겐-1(collagen-1), 콜라겐-3, 콜라겐-4 및 α-SMA(α-smooth muscle actin), TGF2(transforming growth factor receptor 2)이나 이에 제한되지 않는다.
- [0056] 상기 "간경변증"은 만성적인 염증으로 인해 정상적인 간 조직이 재생결절(regenerative nodules) 등의 섬유화 조직으로 바뀌어 간의 기능이 저하되는 것을 의미한다. 특히 간경변증은 지속적 또는 반복적인 미만성 간실질 손상, 섬유조직 증가와 간세포 재생에 의해 재생된 간 결절이나 결절로 형성된 병리학적으로 괴사(necrosis), 염증(inflammation) 및 섬유화(fibrosis)가 수반되는 만성질환이며 간경화로 진행된 환자는 액체저류(fluid retention), 근육감소(muscle wasting), 장출혈(intestinal bleeding), 간 기능상실(liver failure) 등의 임상 증상을 보이며 궁극적으로 사망에 이르게 한다고 알려져 있다.
- [0057] 본 발명에서 상기 "알코올성 간 질환"은 과다한 음주로 인해 발생하는 간 질환을 의미하여 무증상 단순 지방간에서부터 알코올성 간염과 간경변 및 이에 의한 말기 간부전에 이르기까지의 다양한 질환군을 일컫는다.
- [0058] 본 발명에서 상기 "비알코올성 간 질환"은 해열진통제 등 간 독성물질이나 간에 축적된 지방 등에 의해 간 질환이 발생하는 질환으로 간염과 간경변 및 이에 의한 말기 간부전에 이르기까지의 다양한 질환군을 일컫는다.
- [0059] 본 발명에서 용어 "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 간염, 간독성 물질에 의한 간질환, 알코올성 간 질환, 비알코올성 간 질환, 지방간, 간섬유화, 간경변 및 간암과 같은 간 질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0060] 또한, 본 발명에서 사용되는 용어 "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 상기 간 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0061] 본 발명의 모다피닐 또는 이의 유도체를 유효성분으로 포함하는 조성물은 상기 성분에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [0062] 본 발명의 약학적 조성물은 간 질환을 예방하고 치료하기 위한 통상의 방법에 따라 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 에어로졸, 멸균 주사용액 등의 형태로 제형화가 가능하다.
- [0063] 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제도 사용될 수 있다.
- [0064] 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 포함되며, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 사용될 수 있다.
- [0065] 비경구투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수용액, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제 등을 포함할 수 있

다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일 등과 같은 식물성 기름, 에틸 올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

- [0066] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 담체, 부형제 또는 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 하이드록시 프로필 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 플로필히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 이산화규소 등의 광물유 등이 사용될 수 있다.
- [0067] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 구체적인 투여량은 제제화 방법, 환자의 상태 및 체중, 환자의 성별, 연령, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간, 배설 속도, 반응 감응성 등과 같은 요인들에 따라 당업자에 의해 다양하게 선택될 수 있으며, 투여량 및 횟수는 어떠한 면에서든 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.
- [0068] 본 발명의 약학적 조성물은 쥐, 마우스, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로를 통해 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있으며, 예를 들어 경구, 정맥, 근육 또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0070] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 다른 하나의 양태는, 모다피닐, 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0071] 상기 모다피닐, 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체, 약학적으로 허용가능한 염, 간 질환, 예방에 대해서는 상기 설명한 바와 같다.
- [0072] 본 발명에서 용어 “개선”은 본 발명의 조성물의 투여로 간 질환이 호전 또는 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0073] 본 발명의 간 질환 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.
- [0074] 본 발명의 간 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물에서 포함할 수 있는 필수 성분으로 상기 모다피닐 또는 모다피닐 유도체를 포함하는 간 질환 예방 및 치료 활성을 갖는 조성물 또는 그의 유효 성분, 또는 그의 생리학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 외에는 다른 성분에는 특별히 제한이 없으며 통상의 식품과 같이 여러 가지 생약 추출물, 식품 보조 첨가제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 포함할 수 있다.
- [0075] 또한, 상기 언급한 바와 같이 식품 보조 첨가제를 추가로 첨가할 수도 있는바 식품 보조 첨가제는 당업계에 통상적인 식품 보조 첨가제, 예를 들어 향미제, 풍미제, 착색제, 증진제, 안정화제 등을 포함한다.
- [0076] 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.
- [0077] 상기 외에 본 발명의 간 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(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 포함할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [0078] 상기 건강보조식품은 건강기능식품 및 건강식품 등을 포함한다.
- [0079] 상기 건강 기능(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 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 뛰어나, 본 발명의 식품 조성물은 간 질환의 예방 또는 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

- [0080] 본 발명의 실시예에서는 모다피닐 또는 이의 유도체를 간 질환 마우스 모델에 투여하는 경우 간 조직에서 염증 세포의 수를 감소시키고, ALT 및 AST 수치를 낮추며 염증 유발 사이토카인 및 섬유화 마커의 발현을 감소시킴을 확인하였다. 따라서 모다피닐 또는 이의 유도체를 포함하는 조성물은 간 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물로 활용할 수 있음을 확인하였다.
- [0082] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 모다피닐, 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 간 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.
- [0083] 상기 모다피닐, 화학식 2 내지 6의 모다피닐 유도체, 약학적으로 허용가능한 염, 간 질환, 예방 및 개선은 상기에서 설명한 바와 같다.
- [0084] 상기 사료용 조성물은 사료 첨가제를 포함할 수 있다. 본 발명의 사료첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당한다.
- [0085] 본 발명에서 용어 "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 또는 상기 한끼식의 성분을 의미할 수 있다.
- [0086] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료;를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.
- [0087] 본 발명의 실시예에서는 모다피닐 또는 이의 유도체를 간 질환 마우스 모델에 투여하는 경우 간 조직에서 염증 세포의 수를 감소시키고, ALT 및 AST 수치를 낮추며 염증 유발 사이토카인 및 섬유화 마커의 발현을 감소시킴을 확인하였다. 따라서 모다피닐 또는 이의 유도체를 포함하는 조성물은 간 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물로 활용할 수 있음을 확인하였다.
- [0089] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 본 발명의 약학적 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0090] 상기 약학적 조성물, 간 질환, 예방 및 치료는 상기에서 설명한 바와 같다.
- [0091] 본 발명에서 사용되는 용어 "개체"는 간 질환이 발병되었거나 발병할 가능성이 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미할 수 있다. 상기 동물은 인간뿐만 아니라 이와 유사한 증상의 치료를 필요로 하는 소, 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양, 개, 고양이 등의 포유동물일 수 있다. 또한 인간을 제외한 동물을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0092] 본 발명에서 사용된 용어 "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 개체에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0093] 본 발명의 상기 예방 또는 치료 방법은 구체적으로, 간 질환이 발병하였거나 발병할 위험이 있는 개체에 상기 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0094] 본 발명의 간 질환 예방 또는 치료용 조성물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적으로 허용되는 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 다른 약학적 활성 화합물과의 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.
- [0095] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강 내 주사, 직장 내 주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사 주입방식을 선택할 수

있다. 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양할 수 있다.

[0096] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 본 발명의 양을 기준으로 0.5 mg/kg 내지 200 mg/kg일 수 있으며, 구체적으로 1 mg/kg 내지 50 mg/kg일 수 있으며, 하루 1회 내지 2회 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0097] 본 발명의 실시예에서는 모다피닐 또는 이의 유도체를 간 질환 마우스 모델에 투여하는 경우 간 조직에서 염증 세포의 수를 감소시키고, ALT 및 AST 수치를 낮추며 염증 유발 사이토카인 및 섬유화 마커의 발현을 감소시킴을 확인하였다. 그리고 모다피닐 유도체들은 LPS 처리 간 세포에서 염증 관련 사이토카인의 발현을 감소시킴을 확인하였다. 따라서 모다피닐 또는 이의 유도체를 포함하는 조성물은 간 질환의 예방 또는 치료 방법으로 활용할 수 있음을 확인하였다.

### 발명의 효과

[0099] 본 발명의 모다피닐 및 이의 유도체는 간 질환에 대한 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물, 예방 또는 개선을 위한 식품 조성물, 사료 조성물 및 예방 또는 치료 방법으로 유용하게 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0101] 도 1a 및 도 1b는 TAA(티오아세트아마이드)에 의해 유발된 간 질환 마우스모델에서 모다피닐의 투여가 간 염증 및 섬유화에 미치는 효과를 나타낸 것이다. 여기서 'TAA'는 TAA 100 mg/kg 처리그룹, 'TAA+modafinil'은 TAA 100 mg/kg 및 모다피닐 50 mg/kg/day 처리그룹을 의미한다. 위 패널에 점선으로 표시한 부분을 확대하여 아래 패널에 나타내었다.

도 1c는 TAA에 의해 유발된 간 질환 마우스모델에서 모다피닐 R-이성질체 또는 모다피닐 S-이성질체의 투여가 간염증에 미치는 효과를 염증마커(CD82)에 대한 조직면역학적 염색으로 살펴본 결과이다. 여기서, 5345는 대조군, 5347은 TAA 투여그룹, 5349는 TAA 및 모다피닐 R-이성질체 투여그룹, 5351은 TAA 및 모다피닐 S-이성질체 투여그룹이다.

도 1d 및 도 1e는 TAA에 의해 유발된 간 질환 마우스모델에서 모다피닐 R-이성질체 또는 모다피닐 S-이성질체의 투여가 간 섬유화에 미치는 효과를 콜라겐 염색(도 1d) 또는 reticulin 섬유 염색(도 1e)으로 살펴본 결과이다. 여기서, 5345는 대조군, 5347은 TAA 투여그룹, 5349는 TAA 및 모다피닐 R-이성질체 투여그룹, 5351은 TAA 및 모다피닐 S-이성질체 투여그룹이다.

도 2a 및 도 2b는 TAA 투여(도 2a) 혹은 서양식이(WD) 투여(도 2b)에 의해 유발된 간 질환 마우스모델에서 모다피닐 처리의 유무에 따른 간 기능 검사 결과를 나타낸 것이다(평균(mean)±SE(standard error)로 표기 n=4-9. ##<0.01(대조군 vs. TAA 처리그룹). \*<0.05, \*\*<0.01(TAA 처리그룹 vs. TAA+모다피닐 또는 이의 유도체 처리그룹)). 여기서 'TAA'는 TAA 100 mg/kg 처리그룹, 'TAA+M' 또는 'TAA+MD'는 TAA 100 mg/kg 및, 모다피닐 또는 모다피닐 유도체 50 mg/kg/day 처리그룹, 그리고 'WD'는 서양식이(Western diet) 처리그룹, 'WD+modafinil'은 서양식이 및 모다피닐 50 mg/kg/day 처리그룹을 의미한다.

도 3a, 도 3b 및 도 3c는 TAA 투여(도 3a 및 도 3b) 또는 서양식이 투여(도 3c)에 의해 유발된 간 질환 마우스 모델에서 모다피닐 또는 이의 유도체 처리의 유무에 따라 염증 유발 사이토카인의 발현 변화를 나타낸 것이다(평균±SE로 표기하였으며, n=8-18. ##<0.01(대조군 vs. TAA 처리그룹). \*<0.05, \*\*<0.01(TAA 처리그룹 vs. TAA+모다피닐 또는 이의 유도체 처리그룹)). 여기서 'TAA'는 TAA 100 mg/kg 처리그룹, 'TAA+M'은 TAA 100 mg/kg 및 모다피닐 50 mg/kg/day 처리그룹, 'TAA+MD'는 TAA 100 mg/kg 및 모다피닐 유도체 50 mg/kg/day 처리 그룹, 그리고 'WD'는 서양식이 처리그룹, 'WD+modafinil'은 서양식이 및 모다피닐 50 mg/kg/day 처리그룹을 의미한다.

도 4는 정상 대조군 및 TAA에 의해 유발된 간 질환 마우스모델에서 모다피닐 처리의 유무에 따라 섬유화 마커의 발현 변화를 나타낸 것이다(평균±SE로 표기하였으며, n=6-18. ##<0.01(대조군 vs. TAA 처리그룹). \*<0.05, \*\*<0.01(TAA 처리그룹 vs. TAA+모다피닐 처리그룹)). 여기서 'TAA'는 TAA 100 mg/kg 처리그룹, 'TAA+M'은 TAA

100 mg/kg 및 모다피닐 50 mg/kg/day 처리그룹을 의미한다.

도 5a 및 도 5b는 간질환 마우스 모델에서 모다피닐 R-이성질체 또는 모다피닐 S-이성질체가 염증 마커(도 5a) 또는 섬유화 마커(도 5b) 단백질의 발현에 미치는 영향을 나타낸 것이다. (평균±SE로 표기하였으며, n=10. \*\*<0.01, \*\*\*<0.005). 여기서 'TAA'는 TAA 처리그룹, 'TAA+M(R)'은 TAA 및 모다피닐 R-이성질체 처리그룹, 'TAA+M(S)'는 TAA 및 모다피닐 S-이성질체 50 mg/kg/day 처리그룹을 의미한다.

도 6은 배양한 마우스 간 세포에 LPS를 처리하여 염증반응이 유발된 모델에서 모다피닐 또는 이의 유도체 처리의 유무에 따라 염증 유발 사이토카인의 발현 변화를 나타낸 것이다(평균±SE로 표기하였으며, n=8. ##<0.01(대조군 vs. LPS 처리그룹). \*\*<0.01(LPS 처리그룹 vs. LPS+모다피닐 유도체 처리그룹)). 여기서 'LPS'는 LPS(리포폴리사카라이드) 1 µg/mL 처리그룹, 'LPS+M'은 LPS 1 µg/mL 및 모다피닐 1uM 처리그룹, 'LPS+MD01' 내지 'LPS+MD04'는 LPS 1 µg/mL 및, MD01 내지 MD04(각각 화학식 2 내지 5의 모다피닐 유도체)중 각각 1uM 처리그룹을 의미한다.

도 7은 배양한 마우스 간세포에서 LPS에 의한 염증반응에 미치는 모다피닐 또는 모다피닐 R-이성질체의 효과를 나타낸 것이다(평균±SE로 표기하였으며, n=8. ##<0.01(대조군 vs. LPS 처리그룹). \*\*<0.01(LPS 처리그룹 vs. LPS+모다피닐 또는 모다피닐 R-이성질체 처리그룹)). 여기서 'LPS'는 LPS 1 µg/mL 처리그룹, 'LPS+M'은 LPS 1 µg/mL 및 모다피닐 1uM 처리그룹, 'LPS+M(R)'은 LPS 1 µg/mL 및 모다피닐 R-이성질체 1uM 처리그룹을 의미한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0102] 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.

**[0104] 실시예 1: 만성 간 질환 마우스모델 구축**

[0105] C57BL/6 자연형 마우스(오리엔탈 바이오에서 구입)에서 모다피닐과 그 유도체의 간 염증 및 섬유화에 미치는 치료 효과를 규명하기 위하여 다음과 같이 3 그룹으로 나누어 실험을 하였다. 생쥐들은 정상 대조군, 만성 간염 증 유발그룹, 모다피닐(라세미체, R-이성질체, S-이성질체, 모다피닐 유도체들) 투여그룹으로 구분하였으며, 만성 간염증은 티오아세트아마이드(TAA) 투여 혹은 서양식을 먹여서 유발하였다. TAA에 의한 간질환에 미치는 모다피닐의 효과를 규명하기 위한 연구에서는 3 그룹 각각 15-60마리의 마우스를, 서양식에 의한 지방간질환에 미치는 모다피닐의 효과를 규명하기 위한 연구에서는 3 그룹 각각 10마리의 마우스를 사용하였다. 각 그룹의 약물 투여 방식은 다음과 같다.

[0106] (1) 대조군: 티오아세트아마이드(TAA) 유발 간질환의 정상 대조군은 TAA 용매(증류수)를 복강 내 주입(TAA 주입 그룹과 동일한 양, 3 번/주)하였으며, 지방성 간질환의 대조군은 정상식으로 사육하였다. 이 경우 모두 모다피닐 용매는 존대(오랄 튜브)를 이용하여 주 5회 투여하였다.

[0107] (2) 간질환 생쥐모델 그룹

[0108] TAA에 의한 간질환 유발그룹: TAA(100 mg/kg, 3번/주)를 12-16주 동안 복강 내 주입하였다.

[0109] 지방성 간질환 유발그룹: 서양 식이(western diet)(45% 포화지방, 0.2% 콜레스테롤, 과당 및 포도당을 함유하는 물)로 16주 사육함.

[0110] (3) 모다피닐(또는 이의 유도체) 투여그룹: 간질환 생쥐모델 그룹에 대한 모다피닐(또는 이의 유도체)의 치료효과를 규명하기 위하여 TAA (100 mg/kg, 3번/주)와 모다피닐(또는 이의 유도체)을 같이 처리하거나, 서양식으로 지방성 간질환을 유도한 생쥐에게 모다피닐을 투여하였다. 모다피닐(또는 이의 유도체, 50mg/kg/day)은 존대(오랄 튜브)를 이용하여 주 5회 투여하였다.

[0111] 약물처리 기간이 지난 후 (TAA를 이용한 실험은 12-16 주 후, 지방성 간질환은 16주 후) 마취제를 과다 투여하여 즉사시킨 후, 간과 혈액을 적출하였다.

**[0113] 실시예 2: 모다피닐이 간세포에 미치는 형태학적 변화 관찰**

- [0115] 2-1. 간조직 파라핀 조직표본 제작
- [0116] 실시예 1을 통해 준비한 간조직을 4 °C에서 페리오데이트(periodate)-리신-2% 파라포름알데하이드 용액 속에 밤새 담아두어 고정시킨 다음, 1 내지 2 mm-두께 슬라이스로 잘랐다. 그런 다음 조직은 파라핀에 포매하였다. 다음, 파라핀에 포매한 조직들을 4 μm 두께로 자른 다음, 자일렌을 이용하여 파라핀을 제거하고, 여러가지 농도의 에탄올로 자일렌을 제거한 다음 약 10분정도 흐르는 수돗물로 세척하였다. 이 조직을 이용하여 헤마톡실린 및 에오신 염색을 하거나, 염증 혹은 섬유화 마커들에 대한 조직면역학적 염색을 하였다. 이를 통해 TAA 투여에 의한 간염증 마우스모델에서 모다피닐의 치료 효과를 조직학적으로 확인하였다.
- [0117] 헤마톡실린-에오신 염색: 구체적으로, 해리스 헤마톡실린 염색용액으로 5분간 핵을 먼저 염색(청색)한 후 에오신 용액으로 대조염색(분홍색)을 실시하였다.
- [0118] 염증 마커들에 대한 조직면역학적 염색(immunohistochemistry): 염증 마커인 CD82를 특이 항체를 이용하여 염색하였는데, lymphoid cell이 갈색으로 염색된다.
- [0119] 섬유화 정도 염색: Masson's trichrome 염색법을 이용하여 콜라겐을 염색하거나, Reticulin 염색법으로 reticulin 섬유를 염색하였다.
- [0121] 간조직의 전체적인 형태는 도 1a 및 도 1b에 나타났다. 위 패널에 점선으로 표시한 부분을 확대하여 아래 패널에 나타내었다. TAA에 의해 중심정맥(central vein, CV)을 중심으로 인근 부위에 염증이 일어나는데, 중심정맥 근처에 많이 모여 있는 핵이 큰 염증 세포들로 이를 확인할 수 있었다(도 1a의 화살표).
- [0122] 특히 대조군(Control)에 비해 TAA 마우스모델에서 염증세포들이 크게 증가하였으며, 모다피닐+TAA 투여 마우스에서 TAA만 주입한 마우스에 비해 염증 세포들의 수가 크게 감소하였다. 따라서 모다피닐이 간 염증을 억제할 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.
- [0123] 또한 간중심정맥(CV)을 중심으로 염증에 의한 섬유화 현상이 나타나고 있음을 확인할 수 있으며 여기에 모다피닐에 의해 감소하는 양상을 보였다(도 1b). 따라서 모다피닐이 섬유화 현상을 억제할 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.
- [0125] 도 1c의 CD82(염증마커) 염색결과를 보면, 대조군(5345)에서는 갈색으로 염색되는 세포가 없어서 lymphoid cell이 없음을 확인하였다. 반면 TAA로 간 염증을 유발한 생쥐의 간 조직(5347)에서는 중심 정맥과 중심 정맥 사이에서 갈색으로 염색되는 세포가 많이 발견되었다. 반면 TAA와 모다피닐 R-이성질체를 같이 투여한 생쥐의 간 조직(5349) 및 TAA와 모다피닐 S-이성질체를 같이 투여한 생쥐의 간 조직 (5351)에서는 갈색으로 염색되는 세포들이 아주 미약하게 관찰되고 있다.
- [0126] 도 1d의 콜라겐 섬유에 대한 Masson's trichrome 염색결과를 보면, 대조군 간 조직 (5345), TAA 처리 생쥐(간염증 생쥐 모델)의 간 조직(5347), TAA와 모다피닐을 같이 처리한 생쥐(간염증 치료 생쥐)의 간 조직(5349, 5351)에서 콜라겐이 청색으로 염색되었다. 대조군은 섬유화가 진행되지 않은 건강한 간조직인 반면, TAA 처리 생쥐의 간 조직(5347)은 중심정맥 주변과 중심정맥과 중심정맥 사이에 청색으로 염색되고 있어 섬유화가 진행되고 있음을 확인하였다. 한편, TAA와 모다피닐 R-이성질체를 같이 투여한 생쥐의 간 조직(5349) 및 TAA와 모다피닐 S-이성질체를 같이 투여한 생쥐의 간 조직 (5351)에서는 아주 경미하게 중심정맥 근처에서 섬유화가 관찰되었다.
- [0127] 도 1e의 Reticulin 섬유 염색결과를 보면, 대조군 간 조직(5345), TAA 처리 생쥐(간염증 생쥐 모델)의 간 조직(5347), TAA와 모다피닐을 같이 처리한 생쥐(간염증 치료 생쥐)의 간 조직(5349, 5351)에서 Reticulin 섬유가 검은 색으로 염색되었다. 대조군은 Reticulin 섬유가 관찰되지 않았고, TAA 처리 생쥐의 간 조직(5347)은 중심정맥 주변과 중심정맥과 중심정맥 사이에서 Reticulin 섬유를 확인할 수 있다. 반면 TAA와 모다피닐 R-이성질체를 같이 투여한 생쥐의 간 조직(5349) 및 TAA와 모다피닐 S-이성질체를 같이 투여한 생쥐의 간 조직 (5351)에서는 Reticulin 섬유가 아주 경미하게 중심정맥 근처에서 관찰되었다.

[0129] **실시예 3: 모다피닐이 간 기능에 미치는 영향**

[0131] 3-1. 간기능 검사

[0132] 실시예 1에서 적출한 혈액을 이용하여 아스파르트산 아미노기 전달효소(AST, GOT)와 알라닌 아미노기 전달효소(ALT, GPT), 전체 빌리루빈, 알부민 농도를 측정하였다. 간기능 검사는 하기의 표 1과 같다.

**표 1**

간기능 검사 방법

검사항목	알부민	AST(SGOT)	ALT(SGPT)	전체 빌리루빈
검사방법	비색법 (BCG 방법)	변형된 IFCC UV (피리독살 포스페이 트 및 샘플 블랭크 없음)	변형된 IFCC UV (피리독살 포스페이 트 및 샘플 블랭크 없음)	비색 분석법
Kit 상품명/ 제조사/ 제조국	ALB2/ 로슈/독일	IFCC에 대한 아스파르트산 아미노 전이효소 / 로슈/독일	IFCC에 대한 알라닌 아미노전이효 소 / 로슈/독일	빌리루빈 전체 Gen.3/ 로슈/독일
분석기 이름 및 모델명/ 제조사/ 제조국	코바스 8000 c702 로슈/독일	코바스 8000 c702 로슈/독일	코바스 8000 c702 로슈/독일	코바스 8000 c702 로슈/독일

[0135] 3-2. 모다피닐(또는 이의 유도체)이 혈중 ALT, AST 수치에 미치는 영향

[0136] 정상 대조군, TAA에 의한 간 질환 마우스모델, 그리고 모다피닐 또는 이의 유도체를 처리한 간질환 마우스모델에서의 간 기능 검사한 결과 정상 대조군, TAA 처리그룹, TAA 및 모다피닐 처리그룹, TAA 및 모다피닐 유도체 1(MD01) 처리그룹, TAA 및 모다피닐 유도체 2(MD02) 처리그룹, TAA 및 모다피닐 유도체 3(MD03) 처리그룹, TAA 및 모다피닐 유도체 4(MD04) 처리그룹에서 ALT(sGPT)은 각각 41.6±7.9 units/L, 209.0±42.4 units/L, 70.3±14.7 units/L, 113.4±7.9 units/L, 103.0±6.9 units/L, 114.1±8.8 units/L, 106.4±12.8 units/L 였으며, AST(sGOT) 혈중 수준은 각각 80.4±7.5 units/L, 211.1±22.4 units/L, 62.7±11.6 units/L, 83.6±14.8 units/L, 73.4±7.4 units/L, 66.6±9.4 units/L, 67.7±10.2 units/L 였다(도 2a).

[0137] 그리고 정상 대조군, 서양식에 의한 지방간 질환 마우스모델, 그리고 모다피닐을 처리한 지방간 질환 마우스 모델에서의 간 기능 검사한 결과, 정상 대조군, 서양식이 처리그룹, 서양식이 및 모다피닐 처리그룹에서 ALT(sGPT)은 각각 38.7±9.7 units/L, 189.8±37.6 units/L, 87.2±24.7 units/L 였으며, AST(sGOT) 혈중 수준은 각각 47.4±18.2 units/L, 173.5±31.5 units/L, 71.4±19.8 units/L 였다(도 2b).

[0138] 즉, TAA 처리그룹 또는 서양식이 처리그룹에서 나빠진 간 기능은 모다피닐(또는 이의 유도체)(50 mg/kg/day) 처리에 의해 회복됨을 알 수 있다. 한편 알부민과 빌리루빈 혈중 농도에는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 따라서 TAA 및 서양식으로 인한 간 질환 마우스 모델에 모다피닐(또는 이의 유도체)을 처리하는 경우, 간기능의 지표가 되는 AST 및 ALT 수치가 모두 낮아짐을 통해 간 질환 치료 효과가 있음을 알 수 있다.

[0140] **실시예 4: 간질환 생쥐모델에서 모다피닐 또는 이의 유도체가 염증 유발 사이토카인 또는 섬유화 인자 발현에 미치는 영향**

[0142] 4-1. Real time PCR을 이용한 염증유발 사이토카인 또는 섬유화 인자 유전자 발현 분석

[0143] 대조군, 간질환 유발그룹, 그리고 모다피닐(또는 이의 유도체)을 처리한 간질환 유발군에서 적출한 간 조직에서

염증인자 혹은 섬유화 인자들의 발현 정도를 real time PCR로 측정하였다. 간 조직의 전체 RNA를 TRIzol 시약 (Molecular Research Center, Cincinnati, OH)으로 제조사의 지침에 따라 분리했다. 총 RNA 샘플을 BcaBEST 중합 효소 (TakaraShuzo)를 사용하여 단일 가닥 cDNA를 합성하였다. Bca- 최적화된 Taq 폴리머라제 (Takara Shuzo)를 사용하여 PCR 반응을 수행하였다.

[0144] PCR 조건은 다음과 같다: 94 °C에서 1 분간의 초기 변성, 35 증폭 사이클 (94 °C에서 1 분, 55 °C에서 1.5 분, 각 사이클 당 72 °C에서 1.5 분), 72 °C에서 10 분, 4 °C로 급속 냉각.

[0145] PCR 산물은 표준으로서 100 bp DNA 사다리 마커 (New England BioLabs, Beverly, MA)를 사용하여 1 % 아가로스 겔에 나타내었다.

[0146] 이때 사용한 염증 유발 사이토카인 및 섬유화 마커의 프라이머 서열(서열번호 1 내지 30)은 하기의 표 2 및 표 3과 같다.

**표 2**

염증 유발 사이토카인 프라이머 서열

[0147]

	센스	서열번호	안티-센스	서열번호
TNF $\alpha$	F-CCCCAAAGGGATGAGAAGTT	1	R-CACTTGGTGGTTGCTACGA	2
CCL2	F-CCCCAAGAAGGAATGGGTCC	3	R-TGCTTGAGGTGTTTGTTGGAA	4
TGF	F-TGGAGCAACATGTGGAACCTC	5	R-TGCCGTACAACCTCCAGTGAC	6
IL1 $\alpha$	F-GAGCCGGGTGACAGTATCAG	7	R-ACTTCTGCCTGACGAGCTTC	8
IL6	F-ACCAGAGGAAATTTCAATAGGC	9	R-TGATGCACTTGACAGAAAACA	10
MIP-2	F-AGACAGAAGTCATAGCCACTCTCAAG	11	R-CCTCCTTCCAGGTCCAGTTAGC	12
IL-12	F-CAGTTGGCCAGGGTCATTC	13	R-GATGTCTTCAGCAGTGCAGG	14
mGAPDH	F-CCGTATTGGGCGCCTGGTCA	15	R-CCGGCCTTCTCCATGGTGGT	16

**표 3**

섬유화 마커 프라이머 서열

[0149]

	센스	서열번호	안티-센스	서열번호
Col1-1	F-ACAGTCCAGTCTTCATTGC	17	R-GCACTCTTCTCCTGGTCTG	18
Col1-3	F-GCACAGCAGTCCAACGTAGA	19	R-TCTCCAAATGGGATCTCTGG	20
Col1-4	F-AACAACGTCTGCAACTTCGC	21	R-ACCGCACACCTGCTAATGAA	22
TGFR1	F-AGCTCCTCATCGTGTGGTG	23	R-TGCAGTGGTCTGATTGCAG	24
TGFR2	F-ACGTTCCEAAGTCGGATGTG	25	R-TGCAGTGGTCTGATTGCAG	26
$\alpha$ -SMA	F-CTGACAGAGGCACCACTGAA	27	R-CATCTCCAGAGTCCAGCACA	28
mGAPDH	F-CCGTATTGGGCGCCTGGTCA	29	R-CCGGCCTTCTCCATGGTGGT	30

[0151] 4-2. 간질환 생쥐모델에서 모다피닐 또는 이의 유도체의 염증 유발 사이토카인 발현에 대한 효과

[0152] 정상 대조군, TAA 처리그룹, TAA 및 모다피닐(또는 이의 유도체) 처리그룹에서 염증 유발 사이토카인 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해 염증이 일어났을 때 증가하는 TNF $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha), CCL2(chemoattractant protein-1), IL12(interleukin-12), TGF(transforming growth factor), IL1 $\alpha$ , IL6, MIP-2(macrophage inflammatory protein-2)의 발현 수준을 실시예 4-1과 같이 실시간 PCR로 측정하였다. 염증 인자들 수준은 TAA 처리그룹에서 대조군에 비해 증가하였으며, TAA+모다피닐(50 mg/kg/day) 처리그룹에서는 TAA 처리그룹에 비해 감소하였다(도 3a). 그리고 TAA+모다피닐 유도체 처리그룹에서도 TAA 처리그룹에 비해 감소하였다(도 3b). 따라서 모다피닐 및 이의 유도체들은 염증 유발 사이토카인의 발현을 감소시켜 TAA에 의한 염증성 간 질환에 치료효과가 있음을 알 수 있다.

[0153] 그리고 정상 대조군, 서양식이 처리그룹, 서양식이 및 모다피닐 처리그룹에서 염증 유발 사이토카인 발현에 미치는 영향을 확인하였다. 염증 유발 사이토카인으로는 CCL2(chemoattractant protein-1), IL6(interleukin-6),

IL1 $\alpha$ 의 발현 수준을 실시간 PCR로 측정하였다. 서양식이 처리그룹(WD)에서 대조군에 비해 염증인자들의 발현 수준이 증가하였으며, 서양식이 및 모다피닐(10 mg/kg/day) 처리그룹(WD+M)에서는 서양식이 처리그룹에 비해 감소하였다(도 3b). 따라서 모다피닐은 염증 유발 사이토카인의 발현을 감소시켜 서양식이에 의한 염증성 간 질환에 치료효과가 있음을 알 수 있다.

[0155]

4-3. 모다피닐의 섬유화 인자에 대한 효과

[0156]

정상 대조군, TAA 처리그룹, TAA 및 모다피닐 처리그룹에서 섬유화 인자 발현을 확인하기 위해 섬유화가 활성화 되면 증가하는 Coll-1(collagen-1), Coll-3, Coll-4,  $\alpha$ -SMA( $\alpha$ -smooth muscle actin), TGF $\beta$ 2(transforming growth factor receptor 2)의 발현 수준을 실시간 PCR로 측정하였다. 상기 마커들은 TAA 처리 마우스 간에서 증가하며 염증 이후 섬유화도 진행이 되고 있음을 알 수 있다. 또한 모다피닐(50 mg/kg/day)의 처리에 의해 섬유화 인자들이 감소함을 확인하였다(도 4). 따라서 모다피닐은 섬유화 인자의 발현을 감소시켜 TAA에 의한 간 섬유화 질환에도 치료효과가 있음을 알 수 있다.

[0159]

실시예 5: 간질환 생쥐모델에서 모다피닐 R-이성질체 또는 모다피닐 S-이성질체의 염증마커 또는 섬유화 마커의 발현에 미치는 영향

[0160]

간질환 생쥐모델에서 모다피닐 R-이성질체 또는 S-이성질체가 염증마커의 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해 웨스턴 블로팅을 수행하였다.

[0161]

구체적으로, 대조군, TAA 처리그룹, TAA 및 모다피닐 R-이성질체 처리그룹, TAA 및 모다피닐 S-이성질체 처리그룹에서 염증마커인 TIMP-2, CCR2에 대해 웨스턴 블로팅을 수행하였다.

[0162]

그 결과, 대조군에 비해 TAA를 주입한 생쥐 간조직에서 TIMP-2과 CCR2의 발현 수준이 크게 증가하여 TAA 투여 생쥐 간에서 염증이 진행되었으나, 이에 반해 모다피닐 R-이성질체 또는 S-이성질체 투여에 의해 TIMP-2과 CCR2의 발현 수준이 크게 감소하여 염증이 억제됨을 확인하였다(도 5a). 이는 모다피닐 R-이성질체, 모다피닐 S-이성질체 모두 간 염증을 억제하는 효과가 있음을 시사한다.

[0163]

또한, 간질환 생쥐모델에서 모다피닐 R-이성질체 또는 S-이성질체가 섬유화 마커의 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해 웨스턴 블로팅을 수행하였다.

[0164]

구체적으로, 대조군, TAA 처리그룹, TAA 및 모다피닐 R-이성질체 처리그룹, TAA 및 모다피닐 S-이성질체 처리그룹에서 섬유화 마커인  $\alpha$ -SMA( $\alpha$ -smooth muscle actin), Coll-1(collagen-1)에 대해 웨스턴 블로팅을 수행하였다.

[0165]

그 결과, 대조군에 비해 TAA를 주입한 생쥐 간조직에서  $\alpha$ -SMA과 Coll-1의 발현수준이 크게 증가하여 TAA 투여 생쥐 간에서 간 염증에 의한 섬유화가 진행되었으나, 이에 반해 모다피닐 R-이성질체 또는 S-이성질체 투여에 의해  $\alpha$ -SMA과 Coll-1의 발현수준이 크게 감소하여 섬유화가 억제됨을 확인하였다(도 5b). 이는, 모다피닐 R-이성질체, 모다피닐 S-이성질체 모두 간 섬유화를 억제하는 효과가 있음을 시사한다.

[0167]

실시예 6: 모다피닐 유도체의 염증 치료효과의 확인

[0169]

6-1. LPS에 의한 염증유발 모델의 구축

[0170]

실시예 1에서 수득한 마우스의 간을 적출하여 간세포를 분리 배양하였다.

[0171]

배양한 간세포를 지질다당류(LPS, 6시간동안 1 $\mu$ g/ml 투여)에 노출시켜 배양한 간세포에 염증을 유발하였다. 그 후 모다피닐 유도체 4종이 LPS에 의한 염증을 억제하는지 규명하기 위해서, LPS 처리에 앞서 모다피닐 또는 이의 유도체 1 $\mu$ M을 6시간 동안 전처리하였다. 대조군(DMSO를 12시간 처리한 그룹), LPS 처리 그룹(DMSO 6시간 처리 후 LPS에 6시간 노출시킨 그룹), LPS 및 모다피닐 또는 이의 유도체 4종 각각의 처리그룹(모다피닐(M) 또는 모다피닐 유도체 4종(MD01, MD02, MD03, MD04) 각각을 6시간 전처리 후 LPS를 6시간 처리한 그룹) 간에 염증인

자들의 발현 수준을 RT-PCR로 비교하였다.

- [0173] 6-2. 모다피닐 유도체 투여에 따른 염증 유발 사이토카인에 대한 영향
- [0174] 대조군, LPS 처리그룹, LPS 및 모다피닐 또는 이의 유도체 4종 각각의 처리그룹에서 염증 유발 사이토카인의 발현 정도를 확인하기 위해 염증이 일어났을 때 증가하는 TNF  $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha), CCL2(chemoattractant protein-1), IL12(interleukin-12), TGF(transforming growth factor), IL1 $\alpha$ , IL6, MIP-2(macrophage inflammatory protein-2)의 발현 수준을 실시예 4-1과 같이 실시간 PCR로 측정하였다.
- [0175] 간세포들을 LPS에 노출시키면, 각종 염증인자들(TNF  $\alpha$ , CCL2, IL12, TGF, IL1 $\alpha$ , IL6)의 mRNA 발현 수준이 증가하여, LPS는 간세포에서 염증 반응을 유발함을 알 수 있었다. LPS에 의해 증가한 염증인자 발현 수준은 모다피닐 또는 이의 유도체 4종(MD01, MD02, MD03, MD04)의 전처리에 의해 유의하게 감소함을 확인하였다(도 6). 따라서 모다피닐 유도체 4종 역시 모다피닐과 같이 간 염증을 억제하여 간 질환에 치료효과가 있음을 알 수 있다.

[0177] 실시예 7: 모다피닐 R-이성질체의 염증 치료효과 확인

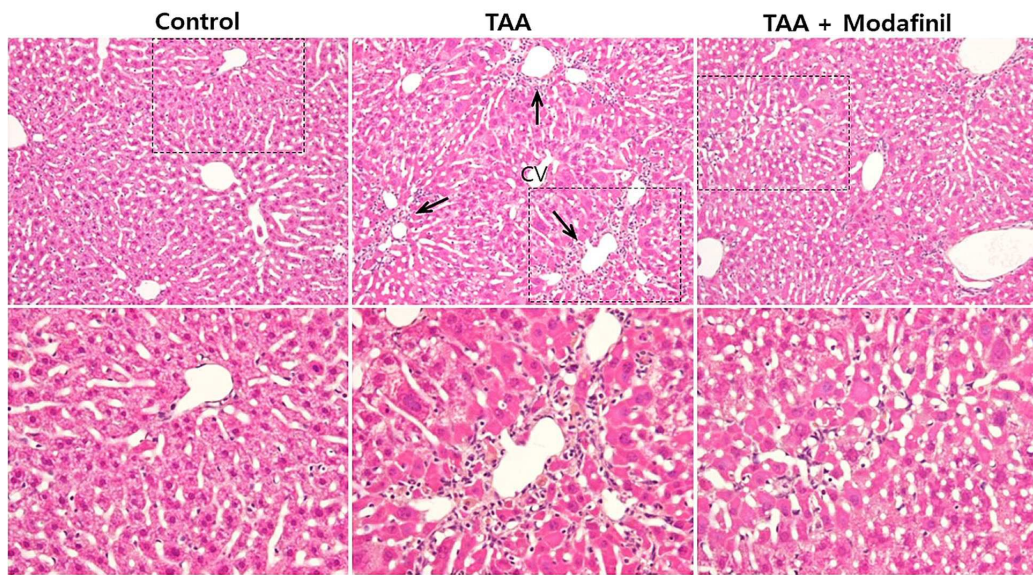
- [0179] 7-1. LPS에 의한 염증유발 모델의 구축
- [0180] 실시예 1에서 수득한 마우스의 간을 적출하여 간세포를 분리 배양하였다.
- [0181] 배양한 간세포를 지질다당류(LPS, 6시간동안 1 $\mu$ g/ml 투여)에 노출시켜 간세포에 염증을 유발하였다. 그 후 모다피닐 R-이성질체가 LPS에 의한 염증을 억제하는지 규명하기 위해서, LPS 처리에 앞서 모다피닐 또는 모다피닐 R-이성질체 1 $\mu$ M을 6시간 동안 전처리 하였다. 대조군(DMSO를 12시간 처리한 그룹, LPS 처리그룹(DMSO 6시간 처리후 LPS에 6시간 노출시킨 그룹), 모다피닐 또는 모다피닐 R-이성질체 처리그룹(모다피닐 또는 모다피닐 R-이성질체를 6시간 전처리 후 LPS를 6시간 처리한 그룹) 간에 염증인자들의 발현 수준을 RT-PCR로 비교하였다.
- [0183] 7-2. 모다피닐 R-이성질체 투여에 따른 염증 유발 사이토카인에 대한 영향
- [0184] 대조군, LPS 처리그룹 및 모다피닐 R-이성질체 처리그룹에서 염증 유발 사이토카인 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해 염증이 일어났을 때 증가하는 TNF  $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha), CCL2(chemoattractant protein-1), IL12(interleukin-12), TGF(transforming growth factor), IL1 $\alpha$ , IL6, MIP-2(macrophage inflammatory protein-2) 사이토카인의 발현 수준을 실시예 4-1과 같이 실시간 PCR로 측정하였다.
- [0185] 간 세포에서 LPS에 의해 증가한 각종 염증인자들(TNF  $\alpha$ , CCL2, IL12, TGF, IL1 $\alpha$ , IL6)의 mRNA 발현 수준은 모다피닐 R-이성질체에 의해 유의하게 감소하였다. 따라서, 모다피닐 R-이성질체 역시 라세미(혼합형) 모다피닐과 같이 간 염증을 억제하여 간질환에 치료효과가 있음을 알 수 있다(도 7).

[0187] 실시예 8: 통계적 분석

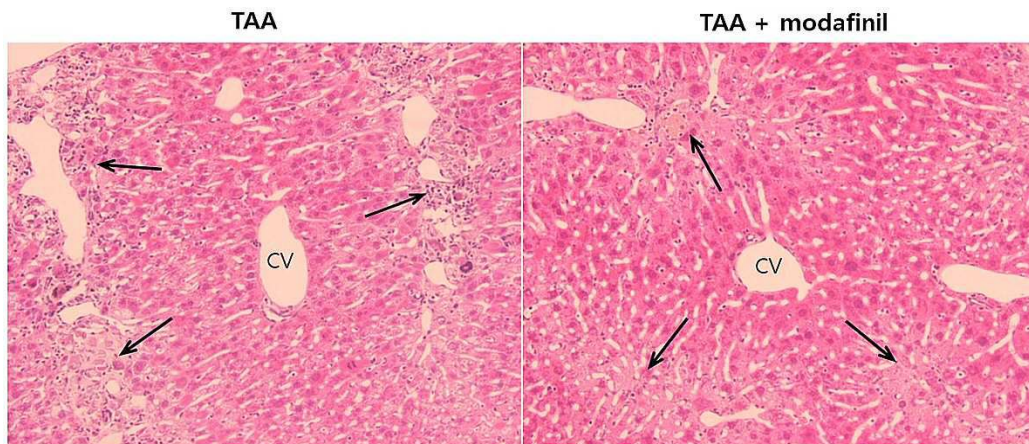
- [0188] 모든 수치는 평균값 $\pm$ 표준오차(S.E.M)로 나타내었다. 평균 값 간의 유의성을 위하여 유의 수준을 0.05로 설정하였고, 분석을 위하여 이용되는 통계적 방법은 Student's t-test에 의하여 분석하였다.
- [0190] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 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

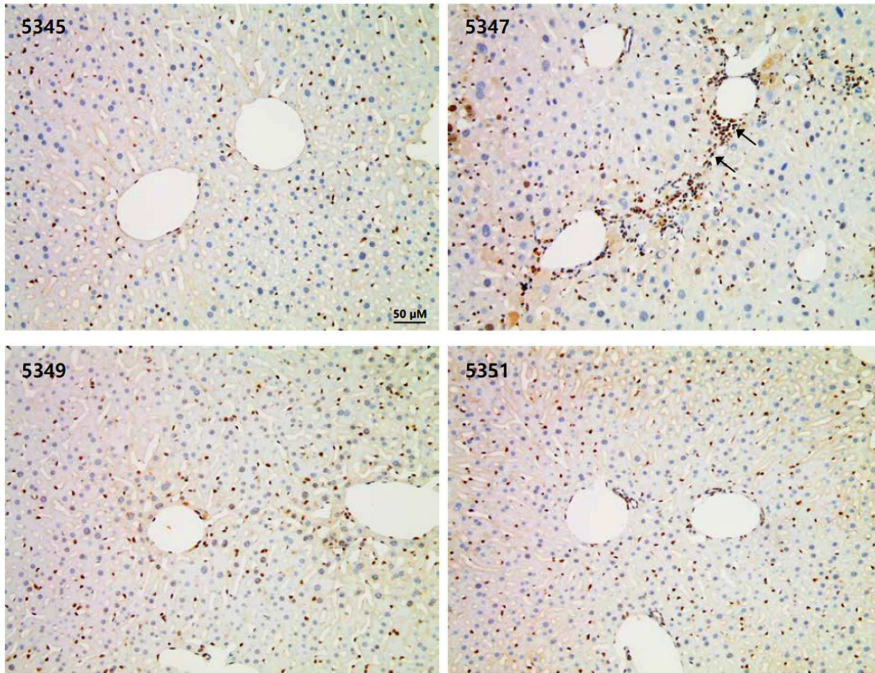
도면1a



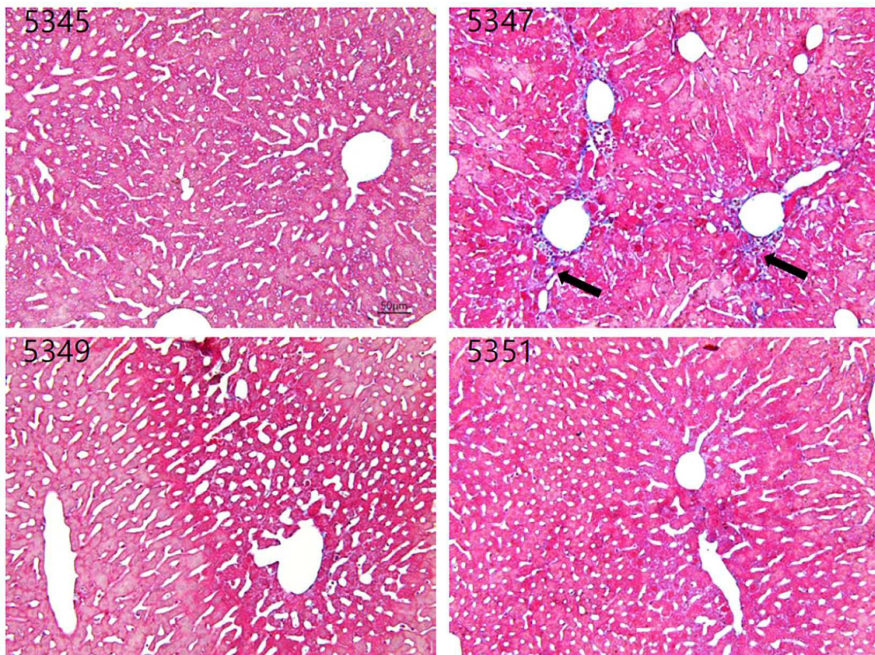
도면1b



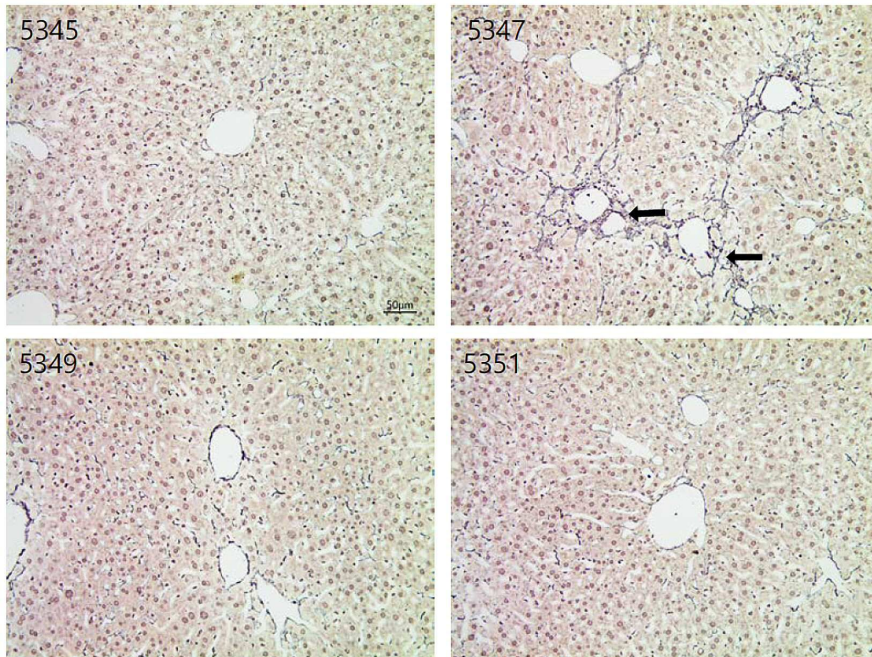
도면1c



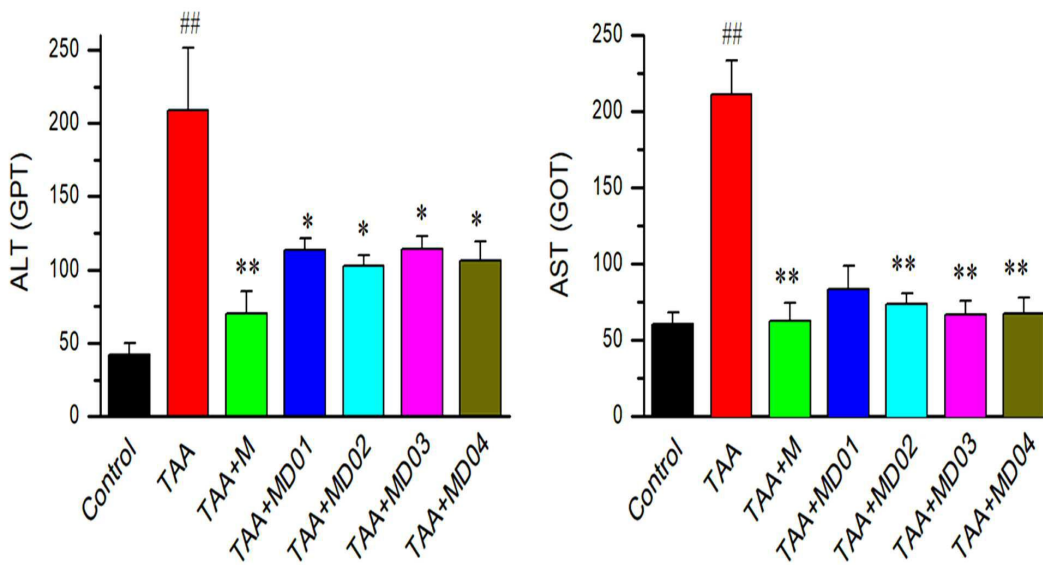
도면1d



도면1e

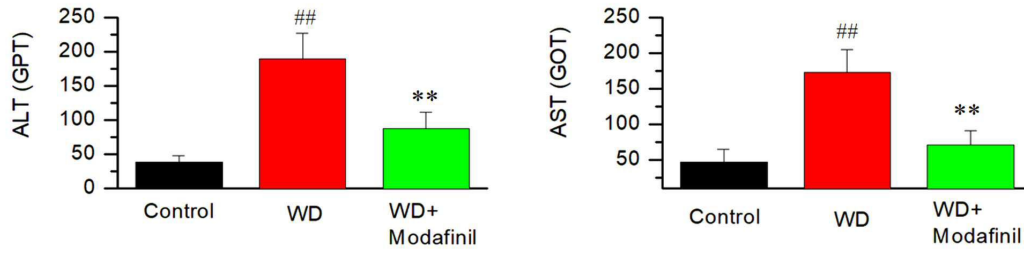


도면2a

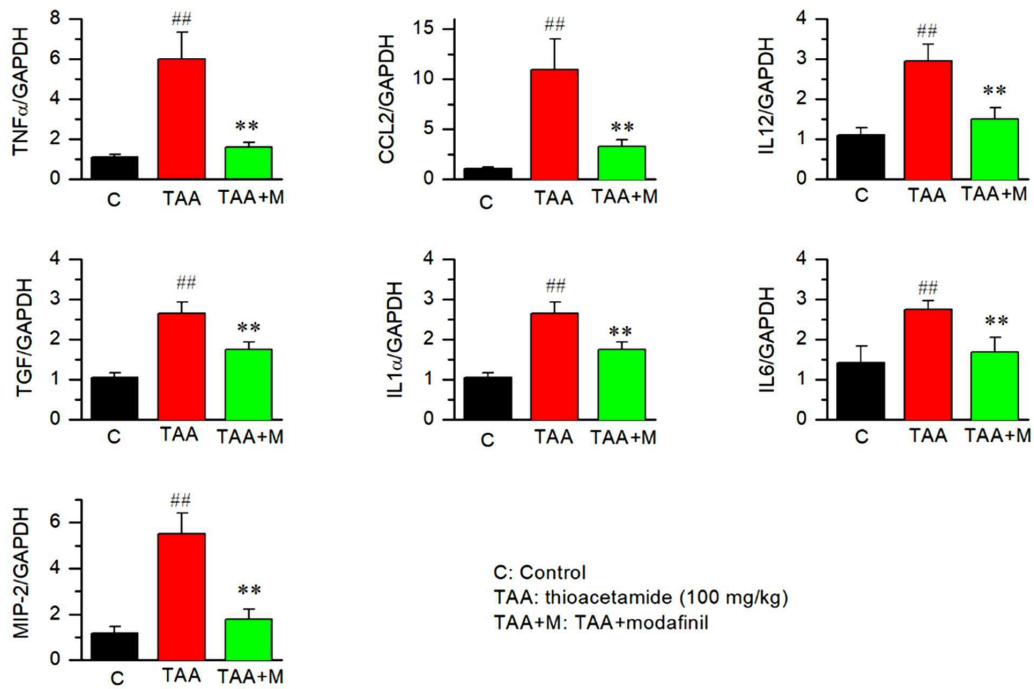


TAA: thioacetamide (100 mg/kg)      M: modafinil  
 MD01: TAA+modafinil derivative 01      MD02: TAA+modafinil derivative 02  
 MD03: TAA+modafinil derivative 03      MD04: TAA+modafinil derivative 04

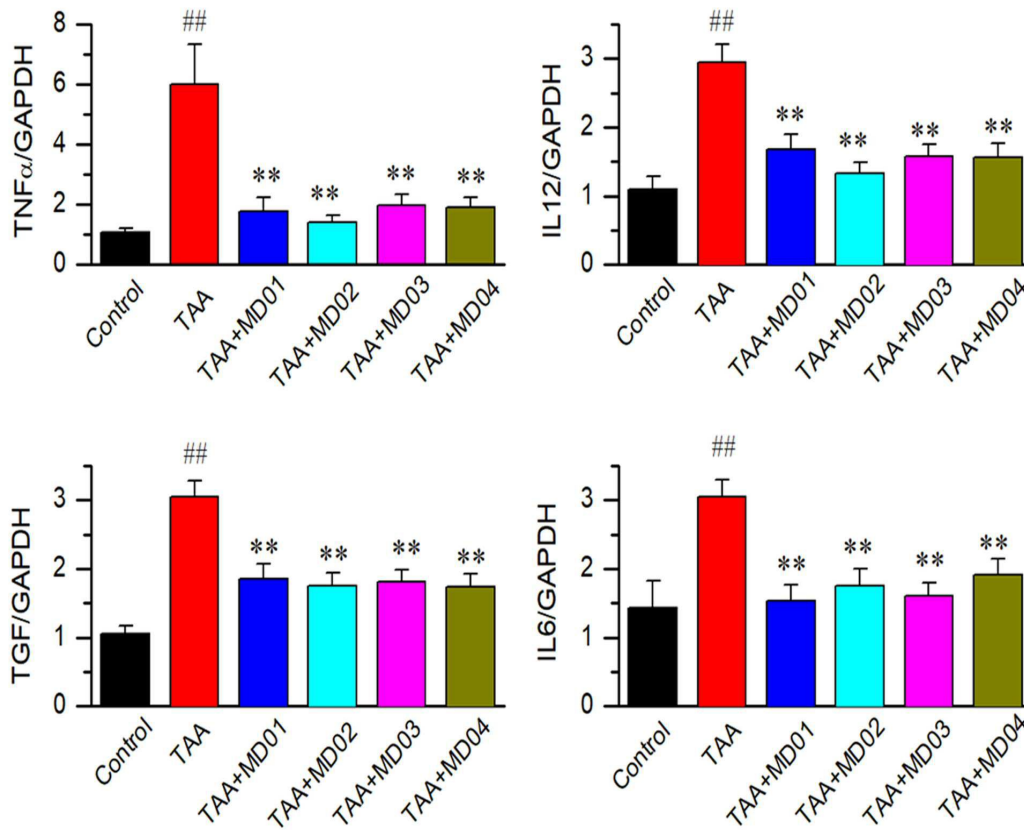
도면2b



도면3a



도면3b



TAA: thioacetamide (100 mg/kg)

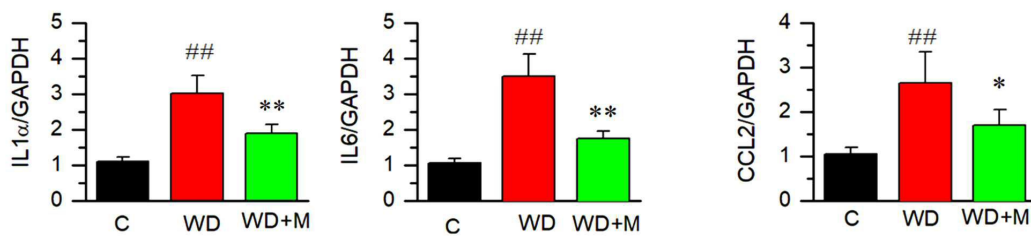
MD01: TAA+modafinil derivative 01

MD03: TAA+modafinil derivative 03

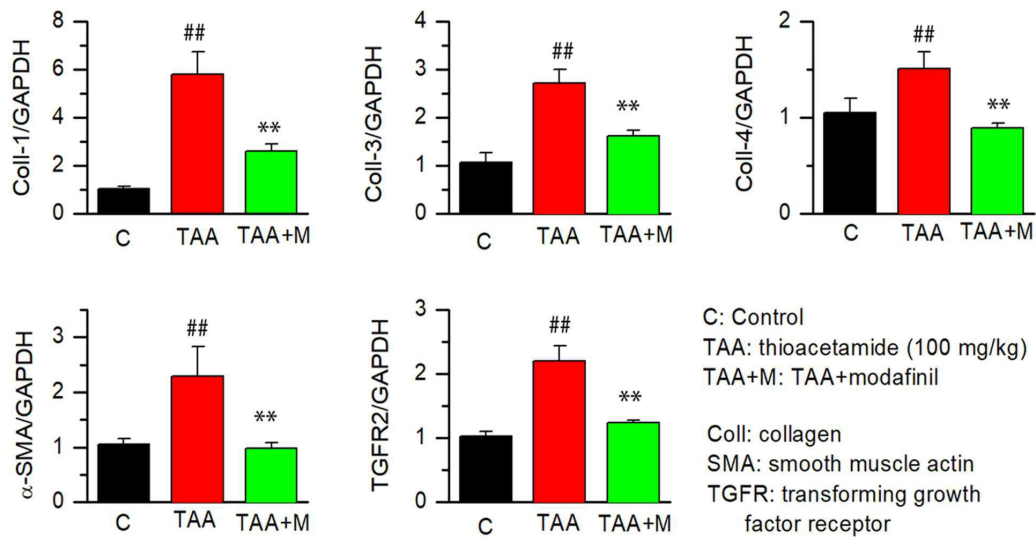
MD02: TAA+modafinil derivative 02

MD04: TAA+modafinil derivative 04

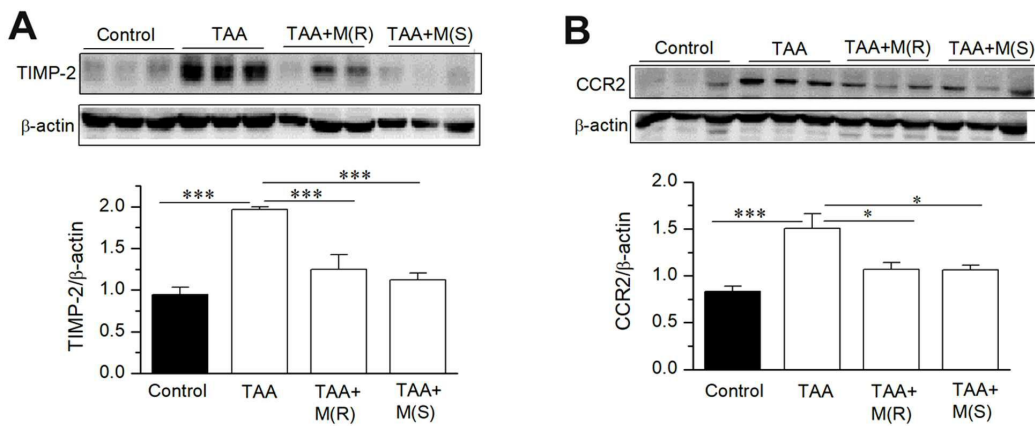
도면3c



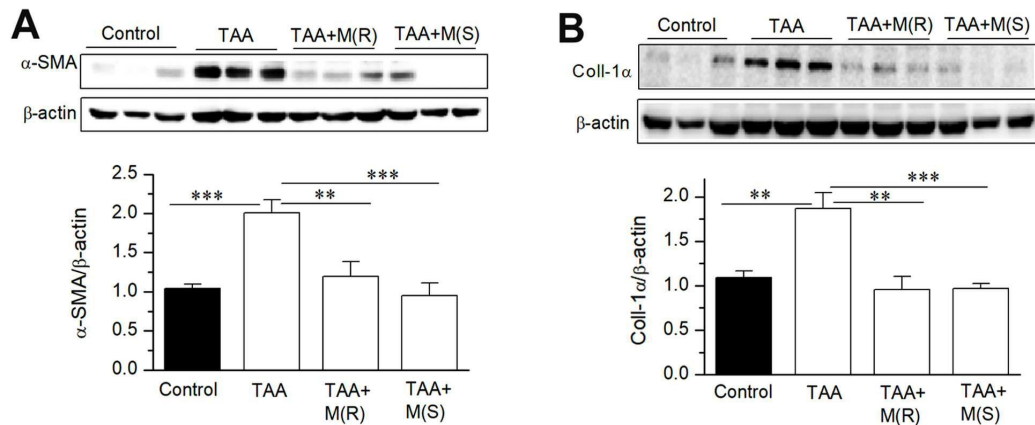
도면4



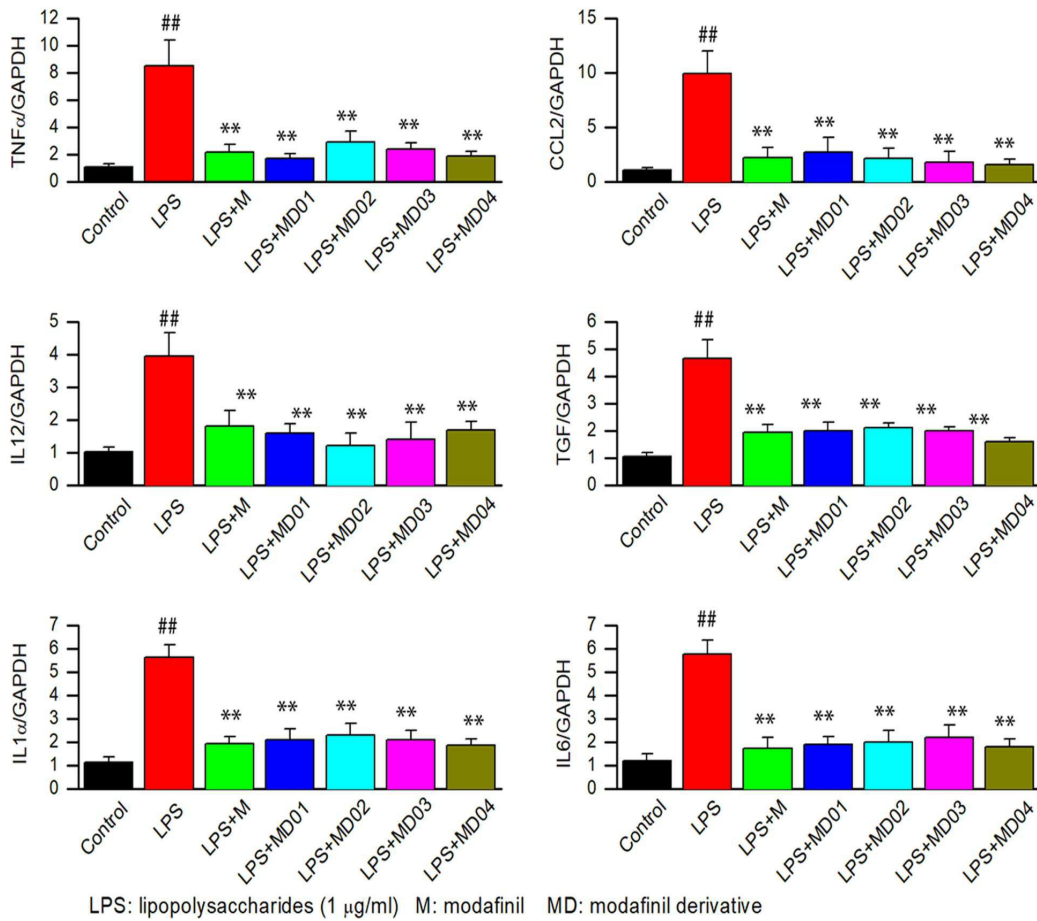
도면5a



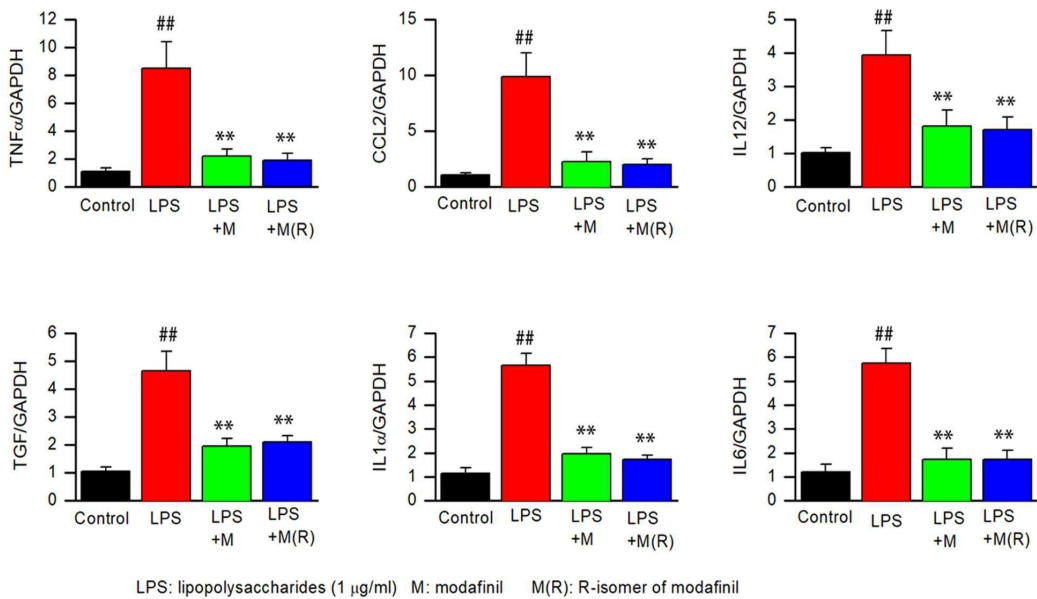
도면5b



도면6



도면7



서열목록

<110> Ewha University - Industry Collaboration Foundation  
Cellionbiomed Inc.

<120> A composition for preventing or treating liver disease comprising  
modafinil or a derivative thereof as an active ingredient

<130> KPA170968-KR

<160> 30

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TNFa Forward Primer

<400> 1

ccccaaaggg atgagaagtt 20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TNFa Reverse Primer

<400> 2

cacttggtgg tttgctacga 20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CCL2 Forward Primer

<400> 3

ccccaaagaag gaatgggtcc 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CCL2 Reverse Primer

<400> 4

tgcttgaggt gtttggtaa 20

<210> 5  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TGF Forward Primer  
 <400> 5  
 tggagcaaca tgtggaactc 20  
 <210> 6  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TGF Reverse Primer  
 <400> 6  
 tgccgtacaa ctccagtgc 20  
 <210> 7  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> IL1a Forward Primer  
 <400>  
 > 7  
 gagccgggtg acagtatcag 20  
 <210> 8  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> IL1a Reverse Primer  
 <400> 8  
 acttctgcct gacgagcttc 20  
 <210> 9  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> IL6 Forward Primer  
 <400> 9

accagaggaa attttcaata ggc	23
<210> 10	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> IL6 Reverse Primer	
<400> 10	
tgatgcactt gcagaaaaca	20
<210> 11	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MIP-2 Forward Primer	
<400> 11	
agacagaagt catagccact ctcaag	26
<210> 12	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MIP-2 Reverse Primer	
<400> 12	
cctcctttcc aggtcagtta gc	22
<210> 13	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> IL-12 Forward Primer	
<400> 13	
cagttggcca gggtcattc	19
<210> 14	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> IL-12 Reverse Primer  
 <400> 14  
 gatgtcttca gcagtgcagg 20  
 <210> 15  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mGAPDH Forward Primer  
  
 <400> 15  
 ccgtattggg cgctgtgtca 20  
 <210> 16  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mGAPDH Reverse Primer  
 <400> 16  
 ccggccttct ccatggtggt 20  
 <210> 17  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Coll-1 Forward Primer  
 <400> 17  
 acagtccagt tcttcattgc 20  
 <210> 18  
  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Coll-1 Reverse Primer  
 <400> 18  
 gcactettct cctggtcctg 20  
 <210> 19  
 <211> 20

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Coll-3 Forward Primer  
 <400> 19  
 gcacagcagt ccaacgtaga 20  
 <210> 20  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Coll-3 Reverse Primer  
 <400>  
 20  
 tctccaaatg ggatctctgg 20  
 <210> 21  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Coll-4 Forward Primer  
 <400> 21  
 aacaacgtct gcaacttcgc 20  
 <210> 22  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Coll-4 Reverse Primer  
 <400> 22  
 accgcacacc tgctaatgaa 20  
 <210> 23  
 <  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TGFR1 Forward Primer  
 <400> 23  
 agtcctcat cgtgttggtg 20

<210> 24  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TGFR1 Reverse Primer  
 <400> 24  
 tgcagtggtc ctgattgcag 20  
 <210> 25  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TGFR2 Forward Primer  
 <400> 25  
 acgttcctcaa gtcggatgtg 20  
 <210> 26  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TGFR2 Reverse Primer  
 <400> 26  
 tgcagtggtc ctgattgcag 20  
 <210> 27  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> a-SMA Forward Primer  
 <400> 27  
 ctgacagagg caccactgaa 20  
 <210> 28  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> a-SMA Reverse Primer

<400> 28  
 catctccaga gtccagcaca 20  
 <210> 29  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mGAPDH Forward Primer  
 <400> 29  
 ccgtattggg cgctgtca 20  
 <210> 30  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mGAPDH Reverse Primer  
 <400> 30  
 ccggccttct ccatggtggt 20