



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0032934
(43) 공개일자 2017년03월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/22 (2006.01) A23L 1/305 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/22 (2013.01)

A23L 33/18 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2015-0130387

(22) 출원일자 2015년09월15일

심사청구일자 2015년09월15일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

박희준

서울특별시 강남구 선릉로 423 101동 309호 (역삼동, 동부센트레빌아파트)

김종필

서울특별시 강동구 풍성로 128 203동 2003호 (성내동, 삼성아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

손민

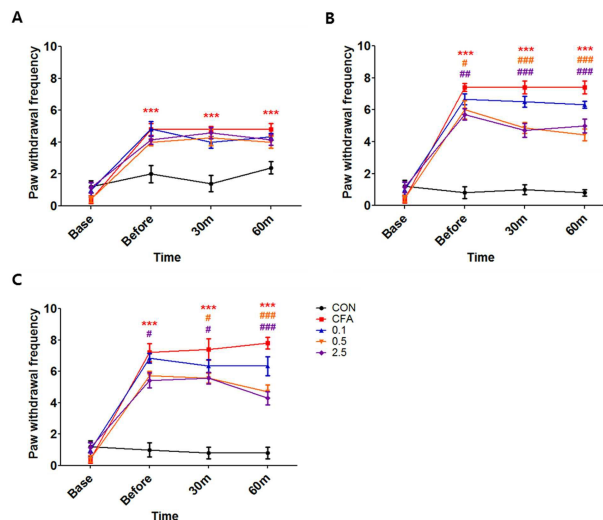
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는 통증 억제용 조성물

(57) 요약

본 발명은 멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone)을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 치료용 약학 조성물 및 통증 억제 또는 개선용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는 조성물은 통증 역치를 증가시켜 통증을 억제하는 효과를 가지며, 진통제와 같은 의약품 등에 적용되어 우수한 진통 효과를 발휘할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 9/0043 (2013.01)

(72) 발명자

전송희

경기도 고양시 일산동구 위시티4로 79 315동 201호
(식사동, 위시티일산블루밍3단지아파트)

장재환

경기도 성남시 분당구 미금로 177 307동 201호 (구
미동, 까치마을신원아파트)

박지연

서울특별시 성북구 종암로23길 35 (종암동, 래미안
세레니티) 201동 605호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI13C0540

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 보건산업진흥원

연구사업명 한양방협력치료기술개발

연구과제명 파킨슨병 환자 삶의 질 개선을 위한 한양방 협력치료의 최적화 조건탐색 및 기초기전연구

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2013.05.15 ~ 2016.05.14

명세서

청구범위

청구항 1

멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone)을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 통증은 기계적 통증, 염증성 통증 또는 열 통증인 것인, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물은 통증의 역치를 증가시키는 것인, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 멜라닌 응집 호르몬에 의한 체중 증가가 일어나지 않는 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 비강 내로 투여되는 것인, 조성물.

청구항 6

멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone)을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 치료용 약학 조성물 및 통증 억제 또는 개선용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 통증은 강한 자극이나 신체 손상으로 인하여 불쾌한 감정을 느끼는 것을 말한다. 통증은 인류의 삶에 수반되는 피할 수 없는 경험 중 하나이다. 특히 피부에 존재하는 감각세포들에서 말초신경 섬유를 통해 척수와 뇌로 전달되는 육체적 통증은 위험으로부터 생명을 지키기 위한 가장 원초적인 반사 현상이다. 이러한 것은 반복을 통해 위험 요소를 미연에 감지하게 학습되고 한 개체의 삶을 지키는 데 매우 중요하게 작용한다. 이처럼 통증의 경험은 감정, 정신적, 인지와 불가피하게 연결되어 있으며, 외상 또는 외상에 의한 정신적 장애가 나타날 수 있으므로, 통증은 삶의 질과 인체의 생리적인 기능에 상당한 영향을 미칠 수 있다.

[0005] 멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone, MCH)은 처음에는 경골어류에서 색변화를 조절하는 인자로 알려졌는데, 어류에서는 17개의 아미노산으로 구성되어 있고, 포유류에서는 19개의 아미노산으로 구성되어 있으며 이들 서열은 설치류와 토끼, 인간 등에서 동일하며, 이러한 멜라닌 응집 호르몬은 GPCR을 통하여 세포내로 신호전달을 하게 되는데, 현재까지 MCH-1(SLC-1, GPR24)과 MCH-2(SLT, GPRv17)의 두가지 종류의 수용체가 보고되어 있다.

[0006] 멜라닌응집호르몬은 주로 측면의 시상하부에서 많이 발현된다. 동물모델을 대상으로 한 멜라닌 응집 호르몬 기능에 관한 연구결과, 멜라닌 응집 호르몬을 투여한 쥐에서는 음식물 섭취량이 증가하게 되고, 멜라닌 응집 호르몬이 결실된 마우스에서는 섭식저하와 대사속도증가에 기인하는 체중감소 현상이 나타났다(D. Qu., et al., Nature, 380(6571), 243-7, 1996). 또한, 멜라닌 응집 호르몬은 항상성, 수면, 인지능력, 감정 등 많은 생리적 기능을 조절하는 데 영향을 끼친다. 그러나 체내의 항상성 조절과 그 외의 여러 생리적 기능을 담당하는 멜라닌 응집 호르몬이 통증질환에 효과가 있다고 규명된 연구는 없으며 그 작용기전 또한 밝혀진 게 없다.

[0008] 통증 완화를 위한 방법으로, 여러 종류의 약물 치료법 (아편계 약물, 신경계 이온통로 활성화 조절 약물, 항경련제 등)과 신경 차단술 등의 침습적 치료법이 응용되고 있으나, 이러한 치료법들은 뚜렷한 통증 감소 효과를 보이지 못하고 있으며, 또한 약물 처치에 따른 내성과 부작용이 존재한다. 따라서 통증 치료에 있어서 부작용이 적고, 치료가 용이한 새로운 치료법의 개발이 절실하다.

[0010] 따라서, 본 발명자들은 멜라닌 응집 호르몬을 이용하여 통증을 억제 또는 치료할 수 있는 조성물을 개발하기 위해 예의 노력한 결과, 멜라닌 응집호르몬이 염증성 모델 및 정상 마우스에서 각각 기계적 통증 및 열 통증에 대한 진통효과를 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 하나의 목적은 멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone)을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 하나의 목적은 멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 하나의 양태로서, 멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone)을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0017] 본 발명에서 사용된 용어, "멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone)"은 19개의 아미노산으로 구성된 고리모양의 펩타이드이고, 주로 측면의 시상하부 (lateral hypothalamus, LH)에서 많이 발현되며, 항상성, 수면, 섭식행동, 인지능력, 감정 등 많은 생리적 기능을 조절한다고 알려져 있다. 본 발명에서는 상기 멜라닌 응집 호르몬의 신규한 용도로서, 진통 효과를 새롭게 밝힌 것이다.

[0019] 본 발명에서 사용된 용어, "통증"은 강한 자극이나 신체 손상으로 인하여 불쾌한 감정을 느끼는 것을 총칭하는 개념이다. 본 발명의 목적상 상기 통증은 신체적인 통증을 의미할 수 있다. 구체적으로, 상기 통증은 기계적 통증, 염증에 의한 통증, 열 통증, 만성 또는 급성 통증 또는 통각과민 통증, 체인성 통증, 신경병성 통증, 심인성 통증, 열 유도된 통증, 물리적 통증, 통각수용, 통각과민, 류마티스성 통증, 두통, 요통, 골반통, 근막동통,

혈관성 통증, 편두통, 상처 연계된 통증, 염증성 통증, 관절염 통증, 당뇨병성 통증, 암 유래의 통증, 신체 내장 통증, 섬유근육통, 수술 후 통증, 환상통, 삼차신경통, 포진 후 신경통, 통증이 있는 당뇨병성 신경병증, 통증이 있는 당뇨병성 말초 신경병증, 당뇨병성 다발성 신경증, 좌골 통증, 신경근병증, 척수 신경근통, 요추 통증일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 보다 구체적으로는 기계적 통증, 염증성 통증 또는 열 통증일 수 있다. 본 발명의 일실시예에서는, 마우스에 대하여 CFA에 의해 염증성 통증을 유발하고, 본 프레이 필라멘트(Von Frey filament) 실험을 수행하여 기계적 통증에 대한 진통 효과를 확인하였으며, 다른 일실시예에서는 열 통증에 대한 진통 효과를 확인하였다.

- [0021] 본 발명에서 사용된 용어 "억제"는 멜라닌 응집 호르몬을 투여 후 통증을 느끼는 횟수를 감소시키거나 통증의 역치를 증가시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0023] 본 발명에서 사용된 용어 "치료"는 멜라닌 응집 호르몬을 투여하여, 상기 통증 관련 질환의 증세를 호전시키거나 또는 이롭게 변경시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0024] 본 발명의 일실시예에서는, 마우스에 대하여 CFA에 의해 염증성 통증을 유발하고, 본 프레이 필라멘트(Von Frey filament) 실험을 수행하여 기계적 통증에 대한 진통 효과를 확인한 결과, 통증 유발 및 멜라닌 응집 호르몬 투여 후 3일 차까지는 유의적인 변화를 관찰하지 못했으나, 5일 차 및 7일 차에 기계적 통증에 대한 역치가 증가함으로써 진통 효과가 나타나는 것을 확인할 수 있었다(도 1 및 도 2). 특히, 멜라닌 응집 호르몬은 반복 처치에 따른 지속 효과가 우수한 것을 확인할 수 있었고, 농도에 따라 진통 효과가 증가함을 알 수 있었다. .
- [0025] 또한, 다른 일실시예에서는, 멜라닌 응집 호르몬의 투여에 따른 열 통증에 대한 역치를 측정하였으며, 그 결과 반복 투여 및 단회 투여 모두에서 열 통증의 역치를 증가시켜 진통 효과가 나타남을 알 수 있었다(도 3 내지 5).
- [0026] 진통 효과가 나타나는 상기 농도는 반복 투여시 0.05 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 이상, 단회 투여시 17.5 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 구체적으로 반복 투여시 0.05 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 내지 2.75 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 이상, 단회 투여시 17.5 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 내지 27.5 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 일 수 있으며, 보다 구체적으로, 반복 투여시 0.1 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 내지 2.5 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$, 단회 투여시 20 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 내지 25 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ 일 수 있다.
- [0027] 따라서, 본 발명에서 상기 통증의 억제 또는 치료 효과는 통증의 역치를 증가시켜 달성되는 것일 수 있다.
- [0029] 또한, 멜라닌 응집 호르몬을 억제하는 억제제는 항비만을 나타낸다고 알려져 있어, 멜라닌 응집 호르몬을 처치하는 경우 체중의 증가가 일어날 수 있다. 그러나, 본 발명에서는 적절한 농도의 멜라닌 응집 호르몬의 투여로 인해 체중 증가 및 섭식량에 대한 부작용이 일어나지 않음을 확인하였다.
- [0031] 본 발명의 멜라닌 응집 호르몬을 포함하는 조성물은 다양한 경로로 투여될 수 있다. 구체적으로, 경구, 피하, 복강 내, 폐 내, 비강 내, 근육 내, 정맥 내 및 동맥 내로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있다.
- [0032] 다만, 상기 멜라닌 응집 호르몬은 혈액-뇌 관문(BBB)를 정상적으로 통과하지 못하여, 비강 내 투여가 바람직할 수 있다. 본 발명의 일실시예에서는 마우스에 대하여 상기 비강 내 투여를 통해 실험을 진행하였다.
- [0034] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0035] 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 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

- [0037] 본 발명의 멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는 통증 억제 또는 치료용 약학 조성물은 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다.
- [0038] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0039] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는, 제형화할 경우 통상 사용하는 충전제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0041] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는, 통증 억제 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0042] 상기 멜라닌 응집 호르몬 및 이의 통증 억제 효과에 대해서는 전술한 바와 같으며, 상기 멜라닌 응집 호르몬은 건강기능식품 조성물에 포함되어 통증 억제 또는 개선 효과를 나타낼 수 있다.
- [0044] 본 발명에서 사용된 용어, '건강기능식품'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, '기능성'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [0045] 상기 건강기능식품은 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0046] 그 밖에 천연 과일주스 및 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또한, 건강기능식품은 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 과자류, 피자, 라면, 껌류, 아이스크림류, 스프, 음료수, 차, 기능수, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 중 어느 하나의 형태일 수 있다.
- [0047] 또한 상기 건강기능식품은 식품첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, '식품첨가물'로서의 적합여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전청에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0048] 상기 '식품첨가물공전'에 기재된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합 제제류들을 들 수 있다.

발명의 효과

[0050] 본 발명의 멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는 조성물은 통증 역치를 증가시켜 통증을 억제하는 효과를 가지며, 진통제와 같은 의약품 등에 적용되어 우수한 진통 효과를 발휘할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0052] 도 1은 CFA로 유도한 염증성 통증 모델에서 MCH의 기계적 통증에 대한 효과를 나타낸 그래프이다. A: 투여 직전 (Before) 결과, B: 30분 후 결과, C: 60분 후 결과.

도 2는 CFA로 유도한 염증성 통증 모델에서 MCH의 기계적 통증에 대한 효과를 나타낸 그래프이다. A: 3일 차 결과, B: 5일 차 결과, C: 7일 차 결과.

도 3은 정상 마우스에서 MCH의 반복 처치에 의한 체중 변화(A) 및 열 통증에 대한 효과(B)를 나타낸 그래프이다. MCH를 5일간 반복 처치하였다.

도 4는 정상 마우스에서 MCH의 단회 처치에 의한 체중 변화(A), 섭식량 변화(B) 및 열 통증에 대한 효과(C)를 나타낸 그래프이다.

도 5는 MCH의 단회 처치에 따른 농도별 MCH의 진통 효과를 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0053] 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구성 및 효과를 더욱 자세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0055] 실시예 1. 실험동물 사육

[0057] 통증에 대한 멜라닌 응집 호르몬의 효과를 알아보기 위해, 실험동물인 마우스를 이용하였다.

[0058] 체중 23~25g 사이의 7~8주령 C57BL/6 (Samtaco, Seoul, Korea) 마우스를 사용하였으며, 동물은 각각의 케이지 (cage)에서 케이지당 3~4마리를 수용하여 관리하였고, 물과 사료는 자율적으로 제공되었다. 동물실의 온도는 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 12시간-12시간 명암 주기(light-dark cycle)로 관리하였다. 모든 실험은 마우스가 각각의 케이지에서 7일간 적응 후 실시되었다.

[0060] 실시예 2. 멜라닌 응집 호르몬(melanin concentrating hormone, MCH)의 비강 내 주입방법

[0062] 멜라닌 응집 호르몬을 마우스의 뇌로 주입하기 위해, 비강 내 주입 방법을 이용하였다.

[0063] 멜라닌 응집 호르몬(Tocris Bioscience, UK, 3806) 약물은 혈액-뇌관문 (Blood-Brain-Barrier, BBB)를 통과하지 못하므로, 일반적으로 뇌 실내의 주입 (intracerebroventricular injection, ICV) 등과 같은 수술적인 방법을 통해서 주입된다. ICV 주입방법은 약물의 특이적인 전달을 위해 일반적으로 많이 사용되고 있는 방법이나, 침습적인 수술 기법을 필요로 하며, 깊은 마취가 요구된다. 그러므로 비침습적이며, 혈액-뇌관문의 투과성과 관계없이 약물을 효과적으로 뇌에 전달 가능한 기법인 비강 내 주입법을 이용하여 약물을 주입하였다.

[0064] 멜라닌 응집 호르몬을 생리 식염수에 희석하여 마련된 다양한 농도의 멜라닌 응집 호르몬(0.5, 2.5, 5, 10, 15, 25 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$) 약물을 비강 내 주입하였다. 주입 시 마우스의 목을 고정하고 비강 내에 한 방울씩 양측 비강에 번갈아 2분간 총 15 μl 를 주입하였으며, 5분간 휴식 후 동일한 방법으로 반복하여 총 2회 주입하였다.

[0066] 실시예 3. 기계적 통증에 대한 멜라닌 응집 호르몬의 효과

[0068] 3-1. 완전 프로인트 항원보강제(Complete Freund's adjuvant, CFA)로 유도한 마우스 통증모델 제작 및 행동 실험

험

[0070] 급만성 염증성 통증을 유발하기 위해, CFA(Sigma-Aldrich, USA, F5581)를 생리 식염수와 1:1로 희석한 후 마우스의 오른쪽 뒷 발바닥에 발바닥 내 주입 (intraplantar injection, i.pl)을 하였다.

[0071] 마우스의 그룹은 생리 식염수를 발바닥 내로 주입하고 비강 내로 주입한 대조군(CON, n=5), CFA를 발바닥 내로 주입하고 식염수를 비강 내로 주입한 실험군 (CFA, n=5), CFA를 발바닥 내로 주입하고 멜라닌 응집 호르몬을 비강 내로 주입한 처리군(MCH 0.1, n=6; MCH 0.5, n=7; MCH 2.5, n=7)으로 나누어, 동물을 무작위로 배정하였다.

[0072] 실험 첫째 날에는 CFA 또는 생리 식염수의 발바닥 내 주입 1시간 후 멜라닌 응집 호르몬 또는 생리 식염수를 비강 내로 주입하였으며, 이후에는 7일간 매일 일정한 시간에 멜라닌 응집 호르몬 또는 생리 식염수를 비강 내로 반복 처치하였다.

[0074] 3-2. 기계적 통증 역치 측정법

[0076] 기계적 통증에 대한 멜라닌 응집 호르몬의 효과를 알아보기 위해, 본 프레이 필라멘트(Von Frey filament) 실험을 수행하였다.

[0077] 모든 마우스를 깨끗한 아크릴 상자 (8 × 10 × 10 cm)에서 CFA 주입 2일 전부터 매일 30분간 적응을 실시하였다. CFA 주입 직전에 베이스(Base)를 측정하였고 CFA 주입일로부터 3, 5, 7일째 되는 날에 Von Frey filament 실험을 진행하였으며 멜라닌 응집 호르몬 또는 생리 식염수의 주입 30, 60분 후에 각각 기계적 통증의 역치를 측정하였다. 기계적 통증 역치 측정 시, 마우스를 깨끗한 아크릴 상자에 넣고 Von Frey filament를 사용하여 마우스의 우측 뒷다리 발바닥에 0.6 g의 힘으로 5초의 간격을 두고 1초간 자극했으며, 5초의 간격을 두고 총 10회를 자극하였다. 총 10회 자극 시 회피 반응 횟수를 측정하여 기계적 통증 역치 변화 정도를 관찰하였다. 그리고 대조를 위하여 동일한 방법으로 좌측 발바닥의 기계적 통증 역치 또한 측정하였다.

[0079] 3-3. CFA로 유도한 염증성 통증 모델에서 멜라닌 응집 호르몬의 진통 효과

[0081] CFA로 유도한 염증성 통증 모델에서 멜라닌 응집 호르몬의 처치로 인한 진통 효과를 확인하고자 하였다.

[0082] 구체적으로, CFA를 주입한 후 3, 5, 7일에 각각의 시간대 별로 Von Frey filament 자극에 의한 기계적 통증 역치를 측정하였으며, 그 효과를 각각의 시간대를 기준으로 날짜 변화에 따른 그래프로 정리하였고(도 1), 반대로 각각의 날짜별 기준으로 시간대 변화에 따른 그래프로 정리하였다(도 2).

[0084] 그 결과, 전체적으로 CFA 주입 3일 차에서는 모델링이 완전하지 못하여 CFA 그룹의 통증 빈도 자체가 낮은 관계로, 멜라닌 응집 호르몬의 처치에도 불구하고 유의적인 차이가 관찰되지는 않았다(도 2의 A).

[0085] 그러나, 5일 차 및 7일 차에서는 멜라닌 응집 호르몬의 처치를 통하여 CFA 그룹과 비교할 때 유의하게 통증의 빈도가 감소한 것을 확인할 수 있었다(도 2의 B 및 C). 구체적으로, 5일 차 및 7일 차에서 0.5 μ g 및 2.5 μ g의 멜라닌 응집 호르몬의 비강 내 주입은 CFA로 유도한 염증성 통증에 대한 매우 우수한 진통효과를 보인 것을 확인할 수 있었으며, 0.1 μ g의 멜라닌 응집 호르몬 역시 그보다는 약한 수준이지만 진통효과를 갖는 것을 확인하였다.

[0086] 특히, 시간대 별로 비교한 결과, 5일 차와 7일 차에서는 멜라닌 응집 호르몬의 당일 처치 전에도 유의하게 통증의 빈도가 감소한 것을 확인할 수 있었으며(도 1의 A, Before 그룹), 이는 이전에 처치된 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치에 따른 진통 효과가 수일간 지속되어 나타나는 효과로 볼 수 있었다.

[0087] 한편, 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치 30분 후 및 60분 후에는 5일 차 및 7일 차 모두 진통효과가 더욱 우수한 것을 확인하였다(도 1의 B 및 C).

[0089] 종합하면, 비록 CFA 주입 및 멜라닌 응집 호르몬 처치 후 3일 차까지는 유의한 결과가 도출되지 않았으나, 그 이후에는 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치 및 지속 효과로 인해, CFA로 유도한 염증성 통증 모델에서 기계적 통증의 역치를 증가시켜 진통 효과가 일어남을 알 수 있었고, 특히 0.1 μg 보다 0.5 μg 및 2.5 μg 등 더 높은 농도를 처치하였을 때, 진통 효과가 우수한 것을 알 수 있었다.

[0091] 실시예 4. 열 통증에 대한 멜라닌 응집 호르몬의 효과

[0093] 4-1. 열 통증 역치 측정법

[0095] 마우스의 열 통증 역치를 측정하기 위해, 핫 플레이트(Hot-plate) 실험을 수행하였다(Yamamoto, Nozaki-Taguchi et al. 2002).

[0096] 각 그룹의 마우스는 52.5 $^{\circ}\text{C}$ 에서 Base를 측정하였다. Base 측정 1시간 후, 멜라닌 응집 호르몬 또는 식염수의 비강 내 주입을 실시하였고, 30, 60, 90, 120분 이후에 각각 52.5 $^{\circ}\text{C}$ 에서 핫-플레이트 실험을 1분간 녹화하였다. 마우스의 조직손상을 방지하기 위해 최대 측정 시간은 1분으로 하였다. 핫-플레이트 상에서 핏거나 점프를 시작하는 시점을 기준으로 하여 레이턴시 타임(Latency time)을 측정하였다.

[0098] 4-2. 정상 마우스에서 열 통증에 대한 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치 효과

[0100] CFA 모델에서 멜라닌 응집 호르몬 0.5 μg 와 2.5 μg 농도의 처치로 기계적 통증 역치가 증가하였으므로, 동일한 주입 방식을 통해 멜라닌 응집 호르몬이 중추에서 작용효과가 있는지 확인하기 위해, 정상 마우스에 멜라닌 응집 호르몬을 반복 처치하여 열 통증에 대한 진통효과가 있는지 확인하였다.

[0101] 마우스의 그룹은 식염수만 비강 내 주입하는 대조군(CON, n=3), 멜라닌 응집 호르몬을 비강 내로 주입하는 실험군(MCH 0.5, n=3; MCH 2.5, n=3)으로 하였으며 마우스는 무작위로 분류하였다. 5일간 매일 멜라닌 응집 호르몬 또는 식염수를 비강 내로 주입하였으며, 5일째 되는 날 열 통증의 역치를 측정하였다.

[0102] 먼저, 멜라닌 응집 호르몬의 과활성은 비만의 원인 중 하나이므로 (Chee, Pissios et al. 2013), 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치로 인하여 체중 증가와 같은 부작용이 나타나는지 확인하였다. 그 결과, 체중의 변화는 CON 과 멜라닌 응집 호르몬 그룹 간 비교에서 차이를 나타내지 않았다(도 3의 A).

[0103] 상기와 같이 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치로 인해 체중 증가의 부작용이 없음을 확인한 후, 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치로 열 통증의 역치가 증가하는지 확인한 결과, 멜라닌 응집 호르몬 0.5 μg 및 2.5 μg 을 5일간 반복 처치하고 5일째 멜라닌 응집 호르몬 처치 30분 후 및 60분 후에 각각 통증의 역치가 CON 그룹에 비해 증가한 것을 확인할 수 있었다(도 4의 B). 특히, 0.5 μg 에 비하여 2.5 μg 처치 그룹에서 훨씬 더 우수한 진통 효과가 나타남을 알 수 있었다.

[0104] 따라서, 정상 마우스에서 멜라닌 응집 호르몬의 5일간 반복 처치는 비만을 발생시키는 부작용을 발생시키지 않았으며, 중추신경계의 조절을 통해 진통 효과를 보이며, 멜라닌 응집 호르몬의 주입 후 30분에서 효과가 가장 크게 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

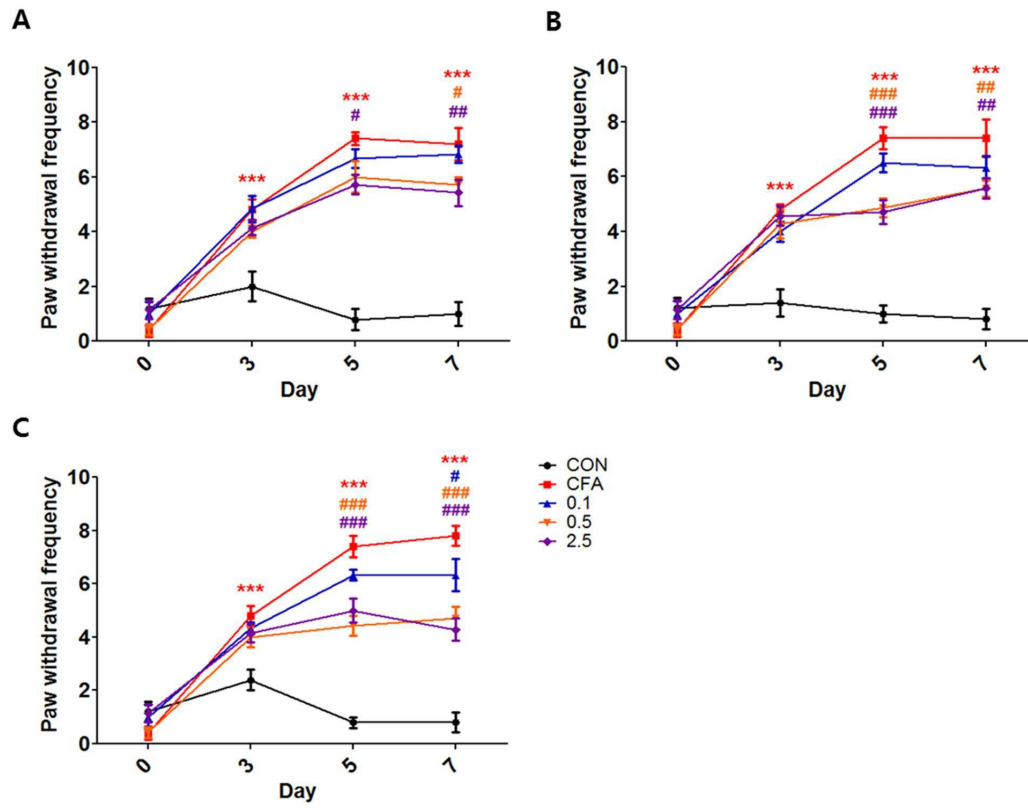
[0106] 4-3. 정상 마우스에서 열 통증에 대한 멜라닌 응집 호르몬의 단회 처치 효과

[0108] 실시예 4-2에서 2.5 μg 멜라닌 응집 호르몬의 5일간 반복 처치로 열 통증 역치를 증가시킨 바와 같이, 상기의 누적 농도를 고려하여 멜라닌 응집 호르몬의 단회 처치의 진통 효과를 확인하기 위해, 약물의 농도를 높여 hot-plate 실험을 실시하였다.

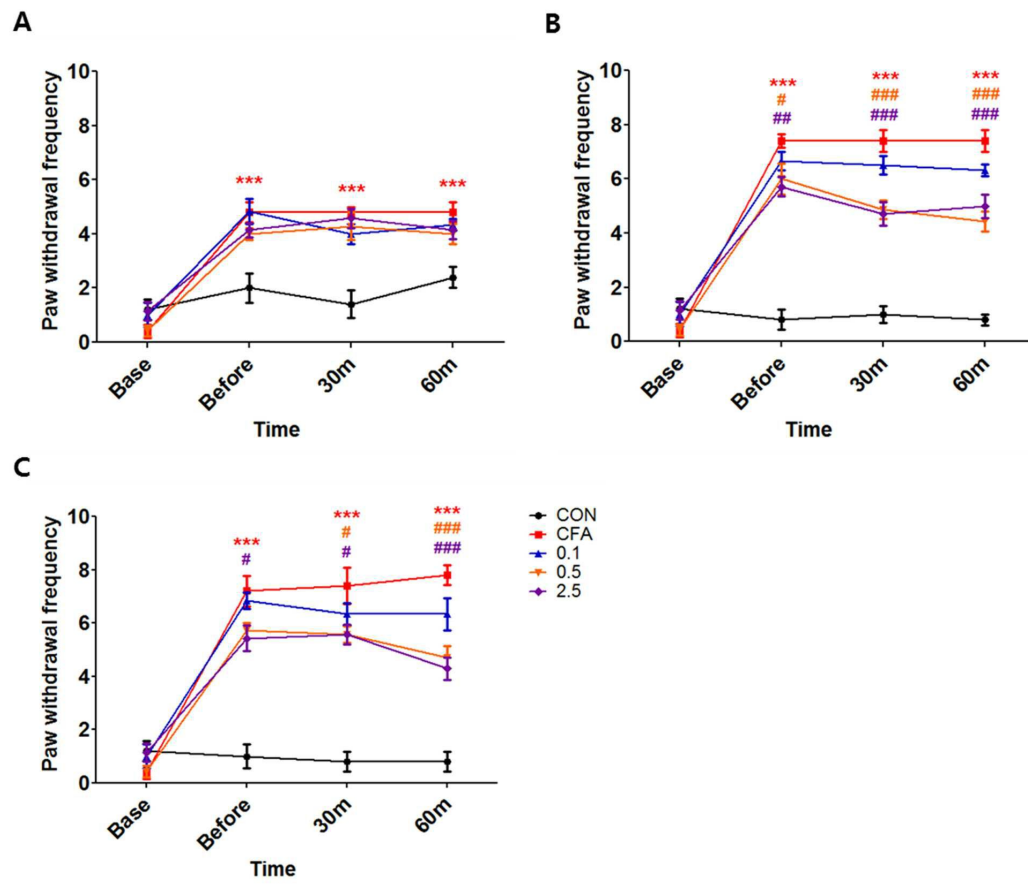
- [0109] 마우스의 그룹은 식염수만 비강 내 주입하는 대조군(CON, n=3), 멜라닌 응집 호르몬을 비강 내로 주입하는 실험군(MCH 0.5, n=2; MCH 2.5, n=3; MCH 5, n=3; MCH 10, n=3; MCH 15, n=3; MCH 25, n=3)로 무작위로 분류하였으며, 멜라닌 응집 호르몬 또는 생리식염수를 비강 내 처치한 당일에 열 통증의 역치를 측정하였다.
- [0110] 먼저, 멜라닌 응집 호르몬의 고농도로 인한 부작용을 확인하기 위하여 10, 15, 25 μg 농도를 선택하여 체중의 변화와 섭식량의 변화를 측정하였다. 그 결과, 멜라닌 응집 호르몬 처치 그룹(10, 15, 25 μg)과 CON 그룹 간의 차이는 없었다 (도 4의 A 및 B).
- [0111] 상기와 같이 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치로 인해 체중 증가의 부작용이 없음을 확인한 후, 멜라닌 응집 호르몬의 단회 처치로 열 통증의 역치가 증가하는지 확인한 결과, 멜라닌 응집 호르몬 처치 30분 후 10, 15, 25 μg 그룹에서 CON 그룹에 비해 모두 유의하게 증가하였으며, 처치 60분까지 진통 효과가 나타났다. 특히, 농도가 증가할수록 더 우수한 진통 효과가 나타남을 알 수 있었다(도 4의 C).
- [0112] 따라서, 멜라닌 응집 호르몬 비강 내 주입의 단회 처치 역시 유의한 진통 효과를 나타내며, 그 진통 효과는 처치 30, 60분에 가장 뚜렷하게 나타나는 것으로 확인되었다.
- [0114] **4-4. 열 통증 역치 변화에 대한 멜라닌 응집 호르몬 단회 투여 농도**
- [0116] 앞선 결과에서 비강 내 멜라닌 응집 호르몬의 반복 처치에 따른 진통 효과를 확인할 수 있었다. 그러므로 멜라닌 응집 호르몬의 반복 투여로 누적된 농도가 단회 처치의 농도와 일치성이 있는지 확인하기 위해, CFA모델에서 반복 투여에 효과가 있던 멜라닌 응집 호르몬의 0.5 μg 와 2.5 μg 을 포함하여 5, 10, 15, 25 μg 를 단회 처리하고 30분 후 hot-plate 실험을 실시하였다.
- [0117] 그 결과, 멜라닌 응집 호르몬의 단회 처치에 따른 진통 효과는 10 μg 농도에서부터 나타났다(도 5). 즉, 반복 처치를 통한 누적 농도와 유사한 농도를 단일 투여했을 때 뚜렷한 진통 효과를 확인할 수 있었다. 다만, 비강 내 주입 방법의 특성 상 고농도의 단회 투여는 저농도의 반복 투여에 비해 약물이 손실될 가능성이 더 높다는 한계가 있다.
- [0119] 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

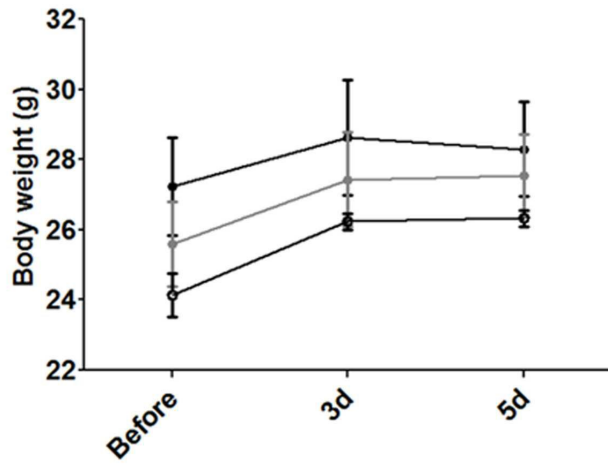


도면2

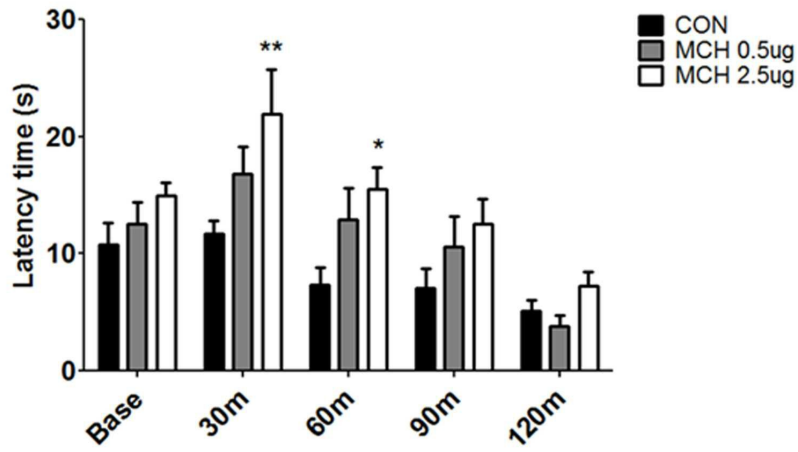


도면3

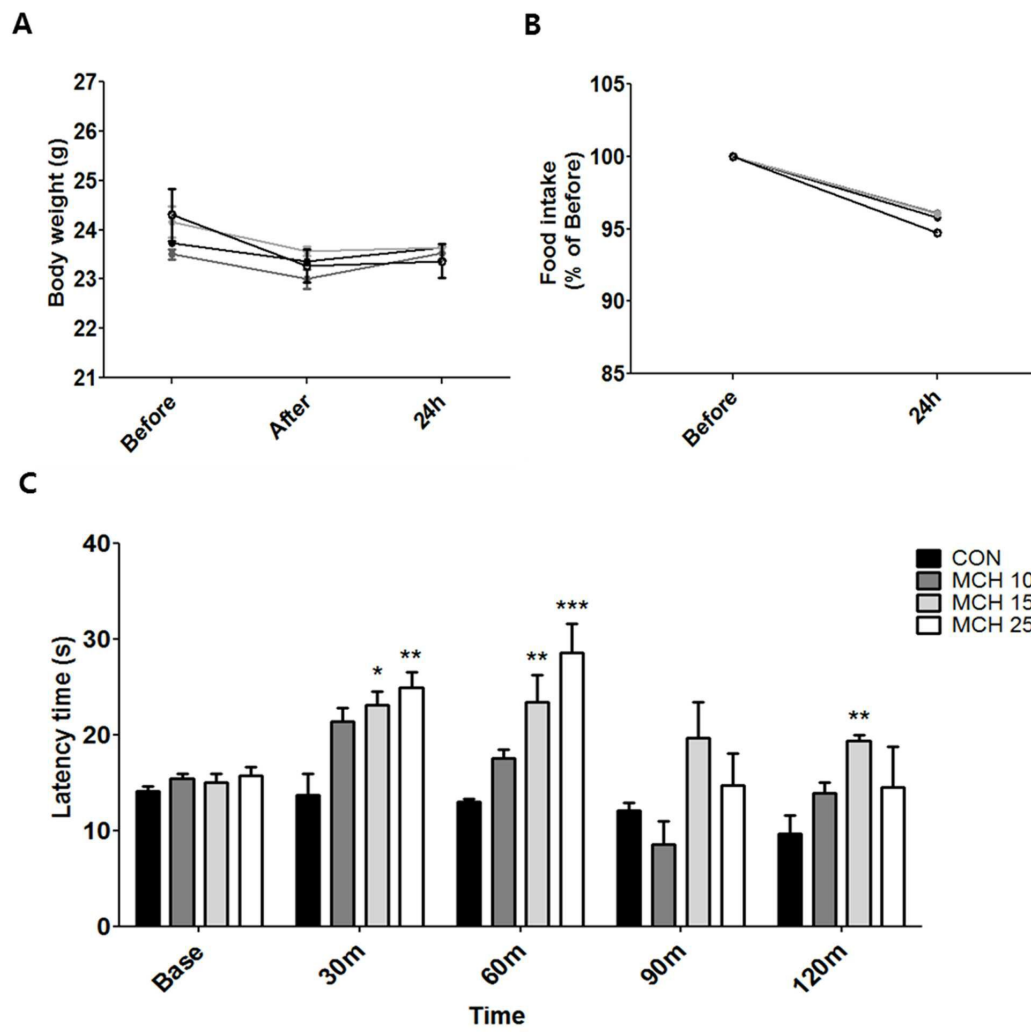
A



B



도면4



도면5

