

 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0095170 (43) 공개일자 2012년08월28일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>A61K 31/216</i> (2006.01) <i>A61K 31/215</i> (2006.01) <i>A61P 31/00</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2011-0014674 (22) 출원일자 2011년02월18일 심사청구일자 2011년02월18일	(71) 출원인 충남대학교산학협력단 대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교) (72) 발명자 조은경 대전광역시 서구 둔산북로 160, 108동 1304호 (둔산동, 한마루아파트) 최홍식 광주광역시 북구 용봉로 77, 호르몬연구센터 707호 (용봉동, 전남대학교) 육재민 대전광역시 대덕구 대화13길 16, 전원주택 다동 103호 (대화동) (74) 대리인 김원준

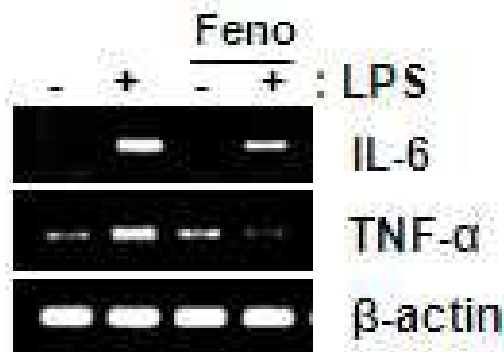
전체 청구항 수 : 총 2 항

(54) 발명의 명칭 **페노피브레이트를 함유하는 패혈증 예방용 약학 조성물**

(57) 요약

본 발명은 고지혈증 치료제로 이용되고 있는 페노피브레이트(fenofibrate)를 유효성분으로 하는 패혈증 예방용 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 약학 조성물은 패혈증에 의한 사이토카인의 분비를 억제하고 생존율을 현저하게 증가시켜 패혈증의 예방에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2010-001286
부처명	과학기술부
연구사업명	감염신호네트워크응용센터
연구과제명	기초의과학연구센터(MRC)
주관기관	과학기술부
연구기간	2007.05.01 ~ 2016.02.28이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	A100588
부처명	보건복지부
연구사업명	염증신호 조절을 이용한 당뇨병 전환 제어 타겟 발굴 및 임상 적용
연구과제명	보건의료기술연구개발사업
주관기관	보건복지부
연구기간	2010.05.01 ~ 2015.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

페노피브레이트를 유효성분으로 함유하는 패혈증 치료 및 예방용 약학 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 패혈증은 그람음성 박테리아의 감염에 의한 것을 특징으로 하는 패혈증 치료 및 예방용 약학 조성물.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 패혈증 예방용 조성물에 관한 것으로 보다 상세하게는 고지혈증 치료제로 이용되고 있는 페노피브레이트(fenofibrate)를 유효성분으로 하는 패혈증 예방용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 패혈증은 세균 감염이나 외상적 충격 등으로 인체 면역시스템이 교란되어 지나칠 정도로 강한 면역 비상체제를 가동함으로써 생기는 일종의 '과다면역반응'이다. 흔히 패혈증은 패혈성 쇼크(Septic shock)로 발전하게 되는데 이는 감염을 동반하는 전신성 염증반응증후군(systemic inflammatory response syndrome)으로 정의된다(비특허문헌 1). 특히, 패혈증 쇼크는 치사율이 45%에 이르러 중환자실에 입원한 환자들의 생명을 위협하는 가장 흔한 원인이 되기도 한다.

[0003] 패혈증은 면역억제를 유도하는 치료제의 투여 및 화상 혹은 내장 파열 등으로 박테리아가 혈관 또는 세포의 내부로 침투하여 일어나는 일련의 임상적 병리현상으로(비특허문헌 2), 그람양성 박테리아와 그람음성 박테리아에 의해서 유도될 수 있다. 그람 양성 패혈증의 경우 박테리아가 계속 생존하면서 세포 내부에서 증식하는 것과는 달리, 그람 음성 패혈증은 그람음성 박테리아 또는 그의 세포벽 구성성분의 일종인 엔도톡신이 1차의 감염소에서 혈중에 과도하게 침입하여 순환기계를 통해서 전신으로 퍼짐으로 인해서 발생하게 된다. 혈류로 침입한 엔도톡신은 우선 엔도톡신 접착단백질(endotoxin binding protein)과 결합한 다음에, 생체내의 대식세포, 호중구, 임파구 등의 염증세포 및 혈관내피세포를 자극하여 종양괴사인자(tumor necrosis factor)를 포함하는 다양한 염증성 사이토카인을 생성시킨다. 그람음성 패혈증의 임상적 발현으로는 현저한 사이토카인의 증가로 인해서 다장기장애(multiple organ dysfunction syndrome: MODS)를 일으키고 그 결과 사망을 초래하게 된다.

[0004] 페노피브레이트는 피브레이트 계열의 의약품으로 콜레스테롤을 낮추기 위한 용도로 주로 사용된다. PPARs(peroxisome proliferator-activated receptor)는 핵에 존재하는 호르몬 수용체의 일종으로 지방산의 물질대사를 조절하는데 중요한 역할을 담당하고 있으며, PPAR α , PPAR β , PPAR γ 가 알려져 있다. 페노피브레이트는 PPAR α 의 활성을 촉진시켜서 중성지방을 감소시키는 반면 고밀도지단백 콜레스테롤은 증가시키는 역할을 수행한다. PPAR α 가 결핍된 생쥐의 경우, 페노피브레이트와 반응하지 못하고 그로인해 target 유전자들이 발현이 저해됨으로서 결국 비만을 유발하게 된다는 보고가 있다(비특허문헌 3). 이밖에도 당뇨병, 비만, 인슐린 저항성을 가진 실험동물과 고지방 식이를 섭취한 C57BL/6 생쥐에 페노피브레이트를 처리했을 때 몸무게가 감소했다는 보고를 통해서 체지방 감소효과들을 확인 할 수 있었다(비특허문헌 4). 그러나 아직까지 페노피브레이트가 패혈증의 예방에 효과가 있다는 것은 보고된 바 없다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0005] (비특허문헌 0001) Bone RC. The pathogenesis of sepsis. Ann. Intern. Med. 1991; 115: 457.
- (비특허문헌 0002) Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. Nature. 2002; 420: 885-91.
- (비특허문헌 0003) Costet P, Legendre C, More J, Edgar A, Galtier P, Pineau T. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-isoform deficiency leads to progressive dyslipidemia with sexually dimorphic obesity and steatosis. J Biol Chem 1998, 273:29577-29585.
- (비특허문헌 0004) Guerre-Millo M, Gervois P, Raspe E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, Herbert JM, Winegar DA, Willson TM, Fruchart JC, Berge RK, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. J Biol Chem 2000, 275:16638-16642.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 고지혈증 치료제로서 이용되고 있는 페노피브레이트(fenofibrate)의 패혈증 치료제로서의 새로운 용도를 제공하고자 하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 진술한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 페노피브레이트를 유효성분으로 함유하는 패혈증 예방용 약학 조성물에 관한 것이다. 특히 본 발명에서 상기 패혈증은 그람 음성 박테리아의 감염에 의한 패혈증에 그 효과가 높다.
- [0008] 하기 실시예에 기재된 바와 같이 리포다당류에 의해 유도된 패혈증 모델에서 페노피브레이트는 시험관 내 (*in-vitro*) 및 생체 (*in-vivo*) 실험 모두 전염증 사이토카인의 발현 및 분비를 억제하는 효과가 있음을 확인하였다. 더 나아가, 쥐를 대상으로 한 패혈증에 의한 생존율 측정에서 페노피브레이트를 처리하지 않은 군의 경우 생존율이 33%에 불과하였으나, 페노피브레이트를 처리한 경우에는 생존율이 93%로 크게 향상되었다. 이로서, 패혈증 쇼크로 인한 치사율을 크게 감소시킬 수 있을 것으로 기대된다.
- [0009] 페노피브레이트는 콜레스테롤을 낮추기 위한 용도로 이미 널리 사용되고 있는 의약품으로 Tricor, Trilipix (Abbott Labs), Lifibra (Teva) 등 정제나 캡슐의 형태로 여러 가지 상표로 출시되고 있다. 그러나, 제형이 이에 한정되는 것은 아니며 약제학적 분야에서 공지된 방법에 의하여, 그 자체 또는 약학적 허용되는 담체(carrier), 부형제(forming agent), 희석제 등과 혼합하여 분말, 과립, 정제, 캡슐제 또는 주사제 등의 제형으로 제조되어 사용될 수 있다.
- [0010] 본 발명에 따른 유효성분의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 물활성화율 및 배설속도, 환자의 연령, 성별 및 상태, 치료할 질병의 중증정도 등에 따라 적절히 선택되나, 일반적으로 성인에게 1일에 체중 1kg 당 상기 화합물을 1~100mg의 양으로 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.

발명의 효과

- [0011] 이상과 같이 본 발명의 페노피브레이트를 유효성분으로 함유하는 조성물은 패혈증에 의한 사이토카인의 분비를 억제하고 생존율을 현저하게 증가시켜 패혈증의 예방에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0012] 도 1은 대식세포 내에서 리포다당류 자극에 의한 전염증성 사이토카인 mRNA의 발현에 대한 페노피브레이트

의 영향을 보여주는 그래프.

도 2는 대식세포 내에서 리포다당류 자극에 의한 전염증성 사이토카인의 분비에 대한 페노피브레이트의 영향을 보여주는 그래프.

도 3은 패혈증 유발 쥐의 생존율에 대한 페노피브레이트의 영향을 보여주는 그래프.

도 4는 리포다당류에 의한 패혈증 유발 쥐의 혈중 사이토카인 농도에 대한 페노피브레이트의 영향을 보여주는 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명의 기술적 사상의 내용과 범위를 쉽게 설명하기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 한정되거나 변경되는 것은 아니다. 또한 이러한 예시에 기초하여 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 다양한 변형과 변경이 가능함은 당업자에게는 당연할 것이다.

실시예 1

[0014] 세포내(*in vitro*) 페노피브레이트의 효과

[0015] 1) 생쥐의 골수 유래 대식세포의 준비

[0016] 8주령의 야생형 C57BL/7 생쥐는 코아텍(평택, 한국)으로부터 구입하였으며, 물과 사료를 충분히 공급하면서 12시간 주기로 명암을 주는 표준실험실 조건에서 사육하였다. 실험 동물의 절차는 충남대학교의 Institutional Animal Care and Use Committee(IACUC)의 지침에 따랐다. 생쥐의 골수로부터 대식세포를 채취하여 세포 배지에 대식세포 집락 인자 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)를 25 ng/ml의 농도로 첨가하여 4일 동안 37°C, 5% CO₂ 조건에서 대식세포로 분화시켰다. 분화된 대식세포가 아닌 림프구들은 기계적인 파괴로 제거하였다.

[0017] 2) 리포 다당류로 자극된 골수 유래 대식세포에서 전염증성 사이토카인의 mRNA의 활성 및 분비에 대한 페노피브레이트의 영향

[0018] 리포 다당류로 자극된 골수 유래 대식세포에서 리포 다당류에 의해서 유도되는 전염증성 사이토카인들의 mRNA 활성과 분비에 대한 페노피브레이트의 영향을 조사하였다.

[0019] 우선 염증성 사이토카인들의 mRNA 활성 여부를 확인하기 위해서 1)에서 준비한 대식세포에 50 μM의 페노피브레이트를 2시간 전처리 후, 100ng/ml의 리포 다당류 (시그마, 미국)를 자극하였다. 6시간 후, 대식세포를 수집하여 Easy-Blue™ Total RNA Extraction Kit(인트론, 한국)를 이용해 RNA를 분리하였다.

[0020] 도 1에서 확인할 수 있듯이 리포다당류에 의해 대식세포 내 종양괴사인자-α (TNF-α)와 인터루킨-6(IL-6)의 mRNA 발현은 증가하였으나, 페노피브레이트를 전처리한 경우(Feno)에는 그 발현량이 모두 유의하게 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0021] 상기 방법에 의해 리포 다당류를 자극한 후 18시간 후에 세포 배양 상층액을 취하여 분리된 종양괴사인자-α와 인터루킨-6의 양을 PharMingen사의 DuoSet antibody pairs를 이용하여 ELISA 방법에 근거해서 측정하고 그 결과를 도 2에 도시하였다. 도 2로부터 전염증성 사이토카인인 종양괴사인자-α와 인터루킨-6의 분비량이 페노피브레이트의 전처리에 의해 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었다.

실시예 2

[0022] 페노피브레이트 효능에 관한 생체 실험 (*in vivo* test)

[0023] 1) 생쥐의 패혈증 모델에서 페노피브레이트 투여에 의한 생존율 비교

[0024] 실험 동물로는 몸무게 20 g의 C57BL/7 생쥐를 코아텍(평택, 한국)으로부터 구입하여, 15마리씩 3개의 군으로 나누었다. 실험군 가군은 일주일동안 corn oil을 100 μ l 씩 경구투여 하였다. 나군은 4일 동안 corn oil 100 μ l 씩을 그리고 나머지 3일 동안은 페노피브레이트를 100mg/kg의 비율로 경구투여 하였다. 다군은 7일동안 페노피브레이트를 100mg/kg의 비율로 경구투여 하였다.

[0025] 이 후, 3개의 실험군에 대장균으로부터 추출한 리포 다당류(시그마, 미국)를 생리식염수 1ml 당 40mg의 비율로 희석하여 40mg/kg의 투여량으로 복강 내 주사하여 인위적으로 패혈증을 유발시키고 12시간 간격으로 생존률을 비교하여 도 3에 도시하였다. 도 3에서 확인할 수 있듯이, 리포 다당류를 투여한 뒤 72시간이 경과된 시점에서 가군의 경우 15마리 중 5마리가, 나군의 경우 8마리가 그리고 다군의 경우 14마리가 생존하여 페노피브레이트가 패혈증에 의한 생쥐의 사망률을 감소시키는 것을 확인 할 수 있었다.

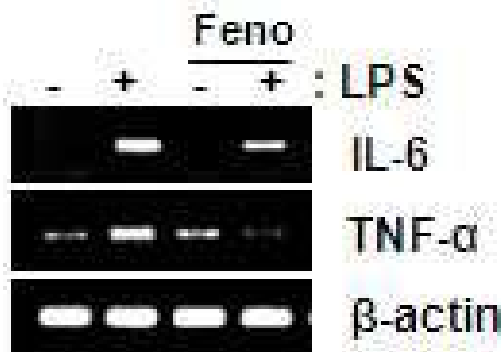
[0026] 2) 페노피브레이트를 투여한 생쥐의 혈중 사이토카인 비교

[0027] 1)의 가군과 다군의 실험군의 생쥐로부터 리포 다당류의 주사로부터 24시간 뒤에 혈액을 채취한 후 혈청중 종양괴사인자- α 와 인터루킨-6의 농도를 효소면역검사법(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)을 이용하여 측정하고 그 결과를 도 4에 도시하였다.

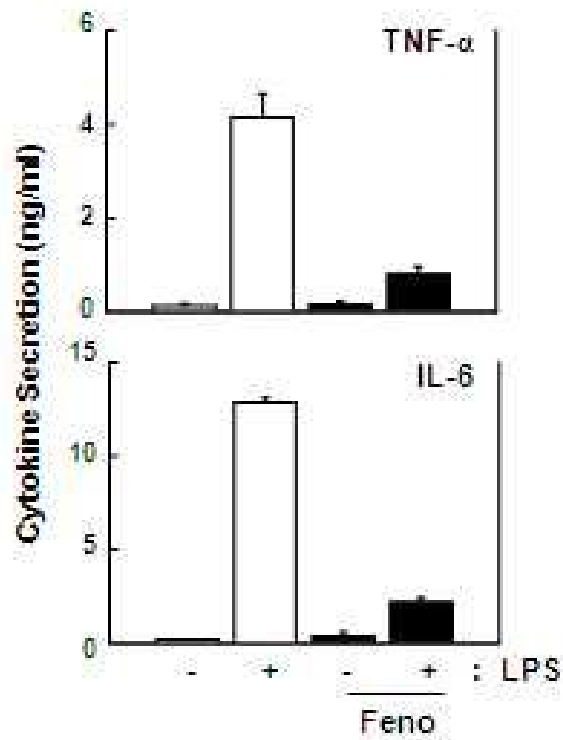
[0028] 도 4에서 확인 할 수 있듯이, corn oil을 투여한 가군 생쥐(SC)에 비해서 페노피브레이트가 투여된 다군 생쥐(Feno)의 혈청 중 종양괴사인자- α 와 인터루킨-6의 농도가 유의하게 감소되어 있는 것을 알 수 있었다. 위 결과를 토대로 리포 다당류에 의해서 증가된 염증성 사이토카인의 분비가 페노피브레이트에 의해서 조절되는 것을 확인할 수 있었다.

도면

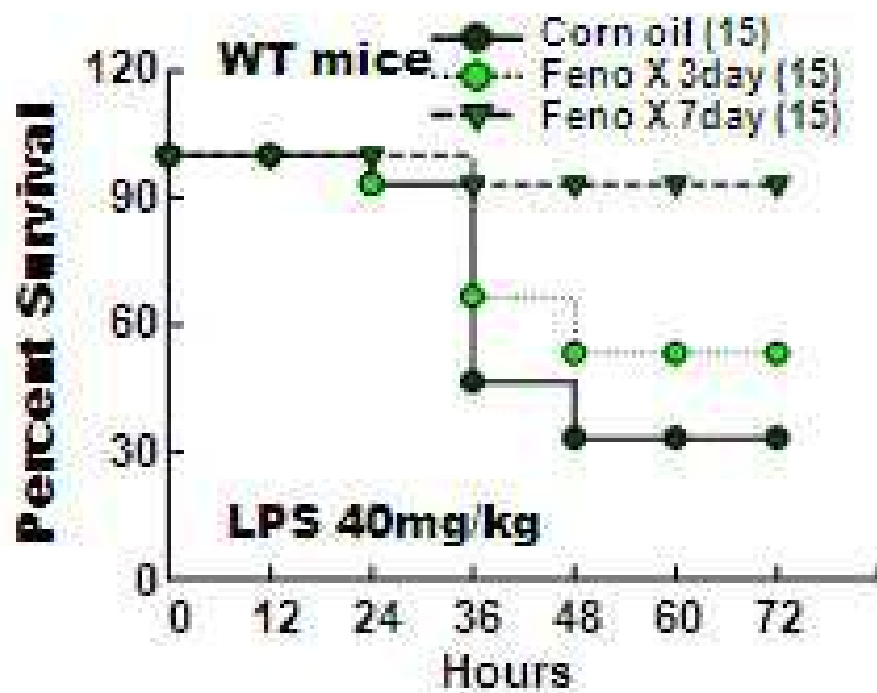
도면1



도면2



도면3



도면4

