



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0152904  
(43) 공개일자 2022년11월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 31/7088 (2006.01) A61K 31/737 (2006.01)  
A61K 35/60 (2015.01) A61K 45/06 (2006.01)  
A61K 9/00 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 31/7088 (2013.01)  
A61K 31/737 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-0120002
- (22) 출원일자 2021년09월08일  
심사청구일자 2021년09월08일
- (30) 우선권주장  
1020210059928 2021년05월10일 대한민국(KR)

- (71) 출원인  
주식회사 휴메딕스  
경기도 성남시 수정구 창업로 17, 에이동 6층 603호
- (72) 발명자  
임채영  
경기도 화성시 동탄반석로 232, 136동 1803호 (석우동, 동탄에당마을 신일유토빌)
- 구분강  
서울특별시 광진구 천호대로 134길 16-1 (구의동, 그린타운) 101  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인 천지

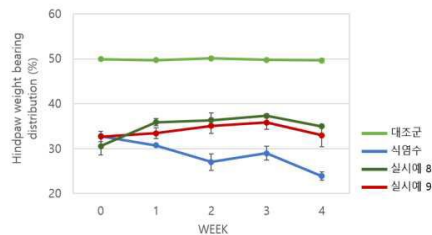
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 DNA 분획물 및 콘드로이틴 설페이트를 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

연어과(Salmonidae) 어류에서 유래한 DNA 단편 및 콘드로이틴 설페이트(Chondroitin sulfate, CS)를 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물은 관절에 주입하기 적합한 유변학적 특성을 가지면서도 우수한 통증 억제 및 연골 재생 효과를 가질 수 있다.

대표도 - 도5



Groups	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4
대조군					
식염수	++	++	++	++	++
실시예 8		**	**	**	**
실시예 9			*	*	*

++ : statistically different form 대조군, P<0.01  
 \* : statistically different form 식염수 투입군, P<0.05  
 \*\* : statistically different form 식염수 투입군, P<0.01

(52) CPC특허분류

*A61K 35/60* (2013.01)  
*A61K 45/06* (2013.01)  
*A61K 9/0019* (2013.01)  
*A61P 19/02* (2018.01)  
*A61K 2300/00* (2013.01)

**이소희**

경기도 고양시 일산동구 일산로 206, 백마마을,  
 309동 801호

(72) 발명자

**육경은**

서울특별시 송파구 백제고분로42길 17-18 (송파동,  
 현진빌리지) 402호

**이은솔**

경기도 성남시 수정구 논골로 23번길 7, 401호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	9991006949
과제번호	202015X12
부처명	다부처
과제관리(전문)기관명	(재)범부처전주기의료기기연구개발사업단
연구사업명	범부처전주기의료기기연구개발사업
연구과제명	생체유래 천연고분자 소재를 활용한 차세대 골관절염 주사제의 국내 임상평가를 통
한안전성/유효성 입증 및 상용화	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	주식회사 휴메딕스
연구기간	2020.11.01 ~ 2022.12.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

연어과(Salmonidae) 어류에서 유래한 DNA 단편 및 콘드로이틴 설페이트(Chondroitin sulfate, CS)를 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,  
상기 DNA 단편의 함량은 상기 콘드로이틴 설페이트의 함량보다 높은,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,  
상기 조성물은 복소점도가 10 내지 20 Pa·s이고, 위상각( $\delta$ )이 2 내지 4도인,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,  
상기 조성물은 상기 DNA 단편을 2 내지 4 %(w/v) 포함하고,  
상기 콘드로이틴 설페이트를 상기 DNA 단편의 1/4 내지 1/3의 양으로 포함하는,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,  
상기 DNA 단편 및 상기 콘드로이틴 설페이트의 중량비는 3:1 내지 4:1인,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,  
상기 DNA 단편의 평균 분자량은 1,000 kDa 내지 3,000 kDa인,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 7

제1항에 있어서,  
상기 DNA 단편은 연어과 어류의 정소 또는 정액에서 분리된 것인,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 8

제1항에 있어서,  
상기 DNA 단편은 폴리뉴클레오티드(PN), 폴리데옥시리보뉴클레오티드(PDRN), 또는 이들의 조합인,

관절염 예방 또는 치료용 조성물.

**청구항 9**

제1항에 있어서,  
상기 콘드로이틴 설페이트의 평균 분자량은 5,000 내지 70,000 Da인,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

**청구항 10**

제1항에 있어서,  
상기 조성물은 NaCl을 더 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물.

**청구항 11**

제10항에 있어서,  
상기 NaCl의 함량은 0.5 내지 1.0 %(w/v)인,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

**청구항 12**

제1항에 있어서,  
상기 조성물은 항류머티즘제, 비-스테로이드성 항-염증성 약물(NSAID), 진통제, 마취제, 국소 마취제, 면역 억제제, 성장 호르몬, 호르몬 대체 약물 및 방사성 약제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 더 포함하는 것인 관절염 예방 또는 치료용 조성물.

**청구항 13**

제1항에 있어서,  
상기 조성물은 주사 제형인,  
관절염 예방 또는 치료용 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 DNA 분획물 및 콘드로이틴 설페이트를 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 흔히 퇴행성 관절염이라고 지칭되는 골관절염은 뼈의 관절면을 감싸고 있는 관절 연골이 마모되어 연골 밑의 뼈가 노출되고, 관절 주변의 활액막에 염증이 생겨서 통증과 변형이 발생하는 질환이다. 골관절염은 관절 질환 중 가장 흔한 만성질환이며, 국내 유병률은 연구방법에 따라 5-30%로 알려져 있고, 연령에 비례하여 증가하는 경향이 있다.

[0003] 골관절염은 뼈와 뼈 사이에서 완충 작용을 하는 부드러운 연골이 손상되어 발생하며, 원인이 명확히 밝혀져 있지 않으나, 관절 연골과 연골 하부의 뼈의 생체역학적인 스트레스, 관절 연골과 활액막에서의 생화학적 변화 및 유전적인 요소들 모두가 병태생리학적으로 중요한 것으로 알려져 있다(이윤종. 골관절염의 치료. 대한내과학회지, 2004, 67.5: 564-567.).

[0004] 골관절염의 가장 흔한 증상은 무릎의 통증으로, 특히 계단을 오르내릴 때 심한 통증이 발생하고, 골관절염이 진행되면 무릎이 붓고 물이 차며 하루종일 통증이 느껴지기도 한다. 통증의 정도는 오전보다 오후에 심해지는 것으로 알려져 있다. 척추에 골관절염이 오는 경우에는 허리에 통증이 생기며, 심한 경우 허리 디스크와 같이 저

릿저릿한 신경 증상이 발생하기도 한다. 또한, 고관절에 골관절염이 발생하는 경우, 통증이 발생하거나 관절 운동 범위에 제약이 생겨 보행이 어색해질 수 있다. 또한, 손가락 마디에 골관절염이 발생하는 경우 통증이 발생하고 손가락 마디가 서서히 굽어지는 현상이 발생한다.

[0005] 골관절염의 통증을 조절하기 위한 방법으로 관절강 내 스테로이드 주사가 처방될 수 있으며, 이는 만성통증보다는 4주 이내에 발생한 통증을 조절하는데 보다 효과적이다. 진통효과는 즉각적으로 나타나고 최대 효과는 1주일 내에 나타나 4주 정도 지속된다. 하지만, 관절강 내 스테로이드 주사를 반복적으로 시행하는 경우 연골 부피가 감소될 수 있어 잦은 처방을 할 수 없다는 단점이 있다(김형영; 성윤경. 골관절염의 약물치료. 대한의사협회지, 2018, 61.10.).

[0006] 또한, 관절강 내 히알루론산 주사는 경구 약제로 통증조절에 실패한 경우 시도해 볼 수 있으며, 관절강 내부로 직접 주입된 고분자 물질은 환자의 관절 운동 시 소실된 연골 조직에 의한 충격을 완화시켜주고 윤활작용을 도와 관절염에 의한 기능 장애 개선 및 통증 억제 기능을 가지는 것으로 알려져 있다. 하지만, 히알루론산 주사제는 진통 효과 발현이 매우 느리고, 관절강 내 주입시 통증으로 인해 환자의 치료만족도가 낮은 단점이 있다.

[0007] 따라서, 우수한 관절염 예방 또는 치료 효과를 가지면서도 통증 완화 효과가 신속하게 나타나며, 관절강 내 주입 시 통증을 경감시켜 환자의 치료만족도를 높일 수 있는 관절염 예방 또는 치료용 조성물의 개발이 필요한 실정이다.

### 선행기술문헌

#### 특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국 등록특허공보 제10-1831168호

#### 비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) 이운중. 골관절염의 치료. 대한내과학회지, 2004, 67.5: 564-567.

(비특허문헌 0002) 김형영; 성윤경. 골관절염의 약물치료. 대한의사협회지, 2018, 61.10.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0011] 일 구체예에 따르면, DNA 분획물(DNA 단편) 및 콘드로이틴 설페이트(Chondroitin sulfate)를 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

#### 과제의 해결 수단

[0012] 일 양상은, 연어과(Salmonidae) 어류에서 유래한 DNA 분획물(DNA 단편) 및 콘드로이틴 설페이트(Chondroitin sulfate)를 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0013] 상기 “DNA 분획물(DNA 단편)”은 핵산을 구성하는 기본 구조인 리보오스(ribose)의 2번 탄소에서 산소원자 하나가 제거된 형태의 핵산인 생체 고분자 DNA(Deoxyribonucleic acid) 단편이 추출된 형태로, 다양한 분자량의 DNA 단편이 혼합하여 존재할 수 있다.

[0014] 상기 연어과(Salmonidae) 어류에서 유래한 DNA 분획물(DNA 단편)은 인간의 염기조성과 유사하여 생체적합성이 우수하고, 세포외 기질(Extracellular Matrix, ECM)의 생성을 촉진시킴으로써 피부 치유 및 조직 재생을 촉진할 수 있고, 손상부위에서 염증을 완화시키고 연골세포의 분화 및 성장을 촉진할 수 있는 것으로 알려져 있다.

[0015] 상기 연어과(Salmonidae) 어류는 연어아과(Salmoninae) 어류일 수 있고, 구체적으로는 연어속(Oncorhynchus), 송어속(Salmo), 곤들매기속(salvelius), 열목어속(brachymystax), 또는 자치속(hucho) 어류일 수 있고, 바람직하게는 연어속 또는 송어속 어류일 수 있다. 연어과 어류로부터 유래한 DNA는 사람의 염기조성과 유사하기 때문

에 다른 어류에서 추출한 폴리디옥시리보뉴클레오티드보다 피부 재생, 성장촉진 등의 효과가 우수하다고 알려져 있다고 알려져 있다.

- [0016] 상기 연어과 어류에서 유래한 DNA 단편은 시판되고 있는 제품을 사용하거나 또는 연어과 어류의 정소 또는 정액 으로부터 통상기술자들에게 알려진 방법으로 추출하여 준비할 수 있다.
- [0017] 본 명세서에서 상기 DNA 분획물은 DNA 단편으로 지칭할 수 있다.
- [0018] 일 구체예에 따르면, 상기 DNA 단편은 폴리뉴클레오티드(Polynucleotide, PN), 폴리데옥시리보뉴클레오티드 (Polydeoxyribonucleotide, PDRN) 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.
- [0019] 상기 폴리뉴클레오티드(PN)과 폴리데옥시리보뉴클레오티드(PDRN)은 추출 부위, 분자량, 또는 길이에 따라 분류 하는 것일 수 있다. 예를 들면 폴리뉴클레오티드는 연어과 어류의 정소(testis)에서 추출한 것일 수 있고, 폴리 데옥시리보뉴클레오티드는 연어과 어류의 정액(semen)에서 추출한 것일 수 있다. 또한 폴리뉴클레오티드는 분자 량이 상대적으로 더 큰 것을 지칭하는 것일 수 있고, 폴리데옥시리보뉴클레오티드는 분자량이 상대적으로 더 작 은 것을 지칭하는 것일 수 있다. 예를 들면 폴리뉴클레오티드는 1500 내지 5000 kDa, 또는 1500 내지 10000 kDa 인 것일 수 있고, 폴리데옥시리보뉴클레오티드는 분자량이 50 내지 1500 kDa인 것일 수 있다.
- [0020] 일 구체예에 따르면, 상기 DNA 단편의 평균 분자량은 1,000 kDa 내지 3,000 kDa, 1,500 kDa 내지 3,000 kDa, 2,000 kDa 내지 3,000 kDa, 2,500 kDa 내지 3,000 kDa, 1,000 kDa 내지 2,800 kDa, 1,500 kDa 내지 2,800 kDa, 2,000 kDa 내지 2,800 kDa, 2,400 kDa 내지 2,800 kDa일 수 있다.
- [0021] 일 구체예에 따르면, 상기 DNA 단편의 평균 길이는 1500 내지 4600 bp일 수 있다.
- [0022] 일 구체예에 따르면, 상기 DNA 단편은 연어과 어류의 정소 또는 정액에서 분리된 것일 수 있다.
- [0023] 상기 “콘드로이틴 설페이트(Chondroitin sulfate, CS)”는 D-glucuronic acid, N-acetyl-D-galactosamine 및 황산으로 구성된 글리코사미노글리칸(Glycosaminoglycan, GAG) 또는 뮤코다당(Mucopolysaccharide)을 의미한다. 상기 콘드로이틴 설페이트는 동물 결합조직의 기질, 장기, 체액 등에 분포하고, 연골의 중요한 구조 적 성분이다. 상기 콘드로이틴 설페이트는 성인병 억제 및 예방, 항산화 효과, 혈액응고작용, 동맥경화 억제 및 예방, 관절조직 보호 및 세균감염 억제작용 등의 효과를 가지는 것으로 알려져 있다.
- [0024] 일 구체예에 따르면, 상기 콘드로이틴 설페이트의 평균 분자량은 5,000 내지 70,000 Da, 15000 내지 60,000 Da, 15000 내지 50,000 Da, 15000 내지 40,000 Da, 또는 15000 내지 30,000 Da 일 수 있으나, 특별히 한정되는 것 은 아니다.
- [0025] 상기 DNA 단편 및 상기 콘드로이틴 설페이트의 엔도톡신(endotoxin)의 함량은 각각 0.025EU/mg이하일 수 있다. 일 실시예에 따르면, 상기 폴리뉴클레오티드의 엔도톡신 함량은 0.005EU/mg 이하이고, 상기 콘드로이틴설페이트 의 엔도톡신 함량은 0.001EU/mg 미만이다.
- [0026] 일 구체예에 따르면, 상기 조성물의 DNA 단편의 함량은 상기 콘드로이틴 설페이트의 함량보다 높은 것일 수 있 다. 본 발명자는 DNA 단편으로 이루어진 조성물에 콘드로이틴 설페이트를 DNA 단편보다 낮은 양으로 첨가하면 관절 투입에 적절한 복소점도, 손실탄성계수, 및 위상각을 가질 수 있음을 확인하였다.
- [0027] 일 구체예에 따르면, 상기 조성물은 상기 DNA 단편을 2.0 내지 4.0 %(w/v), 2.0 내지 3.5 %(w/v), 2.0 내지 3.0 %(w/v), 2.3 내지 2.7 %(w/v), 2.4 내지 2.6%(w/v), 또는 2.5 %(w/v) 포함할 수 있고, 상기 콘드로이틴 설페이트는 상기 DNA 단편의 1/4 내지 1/3의 함량으로 포함할 수 있다.
- [0028] 일 구체예에 따르면, 상기 DNA 단편 및 상기 콘드로이틴 설페이트의 중량비는 4:1 내지 3:1, 3.8:1 내지 3.2:1, 3:7:1 내지 3.3:1, 또는 3.6:1 내지 3.4:1일 수 있다.
- [0029] 일 구체예에 따르면, 상기 조성물의 유변학적 성질은 복소점도(Complex Viscosity)가 10 내지 20 Pa · s이고, 위상각(phase angle,  $\delta$ )이 2 내지 4° 일 수 있고, 손실탄성계수는 10 Pa 이상일 수 있다.
- [0030] 일 실시예에 따르면, 상기 DNA 단편 및 콘드로이틴 설페이트의 함량에 따를 때 관절에 투여하기 적절한 유변학 적 성질을 가짐과 동시에 우수한 치료 효과를 나타낼 수 있다. 상기 복소점도 및 위상각은 회전형 레오미터로 25°C에서 주파수 2.5 Hz의 조건으로 측정된 값일 수 있다.
- [0031] 상기 DNA 단편 및 콘드로이틴 설페이트는 가교되지 않은 것일 수 있다.
- [0032] 일 구체예에 따르면, 상기 조성물은 NaCl을 더 포함할 수 있고, 상기 NaCl의 함량은 0.5 내지 1.0 %(w/v), 0.5

내지 0.9 % (w/v), 0.5 내지 0.8 % (w/v), 0.5 내지 0.7 % (w/v), 0.6 내지 1.0 % (w/v), 0.6 내지 0.9 % (w/v), 0.6 내지 0.8 % (w/v), 또는 0.6 내지 0.7 % (w/v)일 수 있다.

- [0033] 상기 조성물의 pH는 6 내지 8 일 수 있다. 상기 pH 범위를 벗어나는 경우, 조성물이 불안정할 수 있고, 상기 조성물 관절강 내 투여 시 통증, 부종, 염증 등의 부작용을 나타낼 수 있다.
- [0034] 일 구체예에 따르면, 상기 조성물은 조성물의 효과를 저해하거나 부작용을 일으키지 않는 한, 관절염의 예방, 개선 또는 치료 효과를 나타내거나 도움을 줄 수 있는 것으로 당업계에 알려져 있는 약물(또는 활성성분)들을 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 조성물은 항류머티즘제, 비-스테로이드성 항-염증성 약물(NSAID), 진통제, 마취제, 국소 마취제, 면역 억제제, 성장 호르몬, 호르몬 대체 약물 및 방사성 약제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 더 포함할 수 있다.
- [0035] 일 구체예에 따르면, 상기 조성물은 주사 제형일 수 있고, 예를 들면 관절강 내 주사를 위한 용도일 수 있다. 상기 주사 제형은 인장강도계로 측정 시 평균 주사압이 4 내지 28 N, 4 내지 15 N, 4 내지 10 N, 5 내지 10 N, 또는 5 내지 8 N 일 수 있다. 상기 “주사압(injection force)”은 주사형태로 조성물 주입 시 소요되는 힘을 의미한다. 조직수복을 위한 주사제에 있어서, 적절한 점탄성의 확보가 중요하나, 복소점도가 지나치게 높으면 주사압이 높아질 수 있고, 이는 환자의 고통을 증가시키는 원인이 될 수 있다. 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은 종래의 사용되던 주사제보다 평균 주사압이 낮기 때문에 환자의 고통을 최소화하고 시술편의성을 증대시킬 수 있음을 확인하였다.
- [0036] 상기 조성물이 주사용으로 제형화되는 경우, 약학적으로 허용되는 첨가제를 더 포함할 수 있다. 상기 첨가제의 예로서, 용제, 용해보조제, 완충제, 안정제, 항산화제, 무통화제, 현탁화제 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 첨가제의 함량 및 종류는 활성성분의 안정성이나 약효에 영향을 주지 않는 범위 내에서 당업계의 통상의 기술자가 적절하게 선택할 수 있다.
- [0037] 상기 조성물의 삼투압은 270 내지 350 mOsm/kg일 수 있으며, 바람직하게는 290 내지 330 mOsm/kg인 것일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 290 내지 320 mOsm/kg인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 인간의 체내 삼투압은 약 300 mOsm/kg으로, 인체에 주입하기 위한 조성물은 체내 삼투압(또는 삼투질의 농도)의 환경과 유사한 범위의 삼투압을 가지는 것이 이상적이며, 체내 삼투압과 다를 경우 통증, 염증 등의 부작용이 일어날 수 있다. 일 실시예에 따르면, 상기 조성물의 삼투압은 체내 주입하기에 이상적인 삼투압 범위인 270 내지 350 mOsm/kg에 포함되므로 체내 주입하기에 적합함을 확인하였다.
- [0038] 상기 조성물은 관절염 예방, 개선 또는 치료용으로 사용될 수 있다. 상기 “관절염(Arthritis)”은 관절 연골이 파괴되고 관절에 염증성 변화가 일어나는 질환을 의미하며, 예를 들면 골관절염(또는 퇴행성 관절염, Osteoarthritis) 또는 류마티스관절염(Rheumatoid arthritis, RA)일 수 있다.
- [0039] 본 발명에서 “예방”은 본 발명에 따른 조성물의 투여로 질환 또는 이상 증세가 억제 또는 지연되는 모든 행위를 의미하며, “개선”은 본 발명에 따른 조성물의 투여로 질환 또는 이상 증세의 정도가 감소, 호전 또는 진행이 지연되는 모든 행위를 의미하며, “치료”는 본 발명에 따른 조성물의 투여로 질환 또는 이상 증세가 호전되거나 완치되는 모든 행위를 의미한다.
- [0040] 상기 조성물은 조직의 수복 또는 재생을 위한 것일 수 있다. 상기 조직의 수복 또는 재생은 외상이나 염증 등의 원인으로 조직에 괴사, 결손이 생겼을 때, 그 조직을 본래의 상태로 되돌리려고 하는 기전을 의미한다.
- [0041] 상기 조성물의 일일 투여량은 대상체의 연령, 성별, 체중 및 건강상태, 중증도, 발병 시점, 치료 기간, 투여 경로 등의 다양한 인자를 고려하여 당업계의 통상의 기술자 또는 숙련된 의사가 적절히 선택할 수 있다. 상기 “대상체”는 인간, 포유류를 포함한 동물을 의미하며, 바람직하게는 인간을 의미하며, 더욱 바람직하게는 관절염을 앓고 있는 대상체 또는 관절염이 발생할 가능성이 있는 대상체를 의미한다. 본 발명에서 대상체는 환자와 상호교환적으로 사용될 수 있다.
- [0042] 본 발명에 따른 조성물은 i) DNA 분획물, 콘드로이틴설페이트(Chondroitin sulfate) 및 NaCl을 주사용수에 완전히 용해시키는 단계; 및 ii) 제균 여과하는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조될 수 있다.

**발명의 효과**

- [0044] 일 구체예에 따른 관절염 예방 또는 치료용 조성물은 DNA 단편 및 콘드로이틴 설페이트를 포함함으로써 관절염

으로 인한 통증을 신속하게 완화시킬 수 있고 우수한 연골 재생 효과를 가질 수 있다.

- [0045] 일 구체예에 따른 관절염 예방 또는 치료용 조성물은 DNA 단편 및 콘드로이틴 설페이트를 일정 함량비로 포함함으로써 관절에 투여하기 적합한 점탄성 등의 유변학적 성질을 가질 수 있다.
- [0046] 일 구체예에 따른 관절염 예방 또는 치료용 조성물은 관절에 투여하기 적합한 유변학적 성질을 가짐과 동시에 적절한 삼투압 및 주사압을 가짐으로써 관절에 주사 투여 시 환자의 고통을 최소화할 수 있고 시술 편의성이 우수할 수 있다.
- [0047] 일 구체예에 따른 관절염 예방 또는 치료용 조성물은 관절에 투여 후 체내에서 분해됨으로써 인체 내 관절활액과 유사한 점탄성을 가질 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0049] 도 1은 본 발명 조성물의 저장탄성계수(G') 및 손실탄성계수(G'') 측정 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명 조성물의 복소점도(Complex viscosity,  $\eta^*$ ) 측정 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명 조성물의 주사압 측정 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명 조성물의 전기영동 결과를 나타낸 것으로, 콘드로이틴설페이트가 DNA 분획물의 분자량에 영향을 미칠 수 있는지 여부를 확인한 것이다.
- 도 5는 동물효능평가 결과를 나타낸 것으로, 지면장력(weight bearing) 시험 결과를 나타낸 것이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0050] 이하 본 발명을 실시예에 의해 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 명세서에서 특별히 정의되지 않은 용어들에 대해서는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것으로 이해되어야 할 것이다.
- [0052] 실시예: DNA 단편과 콘드로이틴 설페이트를 함유한 조성물 제조
- [0053] 하기 표 1과 같은 조성을 포함하는 실시예 및 비교예의 조성물을 제조하였다.
- [0054] DNA 단편은 HTL biotechnology사의 의료기기 등급의 폴리뉴클레오티드 소듐염(Polynucleotide sodium salt, medical device grade) 제품을 사용하였다. 카탈로그상의 DNA 단편의 평균 분자량이 1000kDa 이상이고, 시험성적서상의 평균 분자량은 2450 kDa이었다. Uracil의 함량은 0.2% 이하의 기준을 충족하였으며, A/T 비율은 0.94 내지 1.10, G/C 비율은 0.85 내지 1.19, (A+G)/(T+C) 비율은 0.92 내지 1.12로서 기준을 충족하였다.
- [0055] 콘드로이틴 설페이트(CS)는 Maruha-nichiro사의 어류 연골에서 유래한 콘드로이틴 설페이트 제품을 사용하였다. 분자량은 5,000 내지 70,000 Da 이었다.

**표 1**

	PN (단위: %(w/v))	CS (단위: %(w/v))	NaCl (단위: %(w/v))
실시예 1	2	0.1	0.63
실시예 2	2	2	0.63
실시예 3	2	5	0.63
실시예 4	0.5	2	0.63
실시예 5	0.5	0.1	0.95
실시예 6	4	0.1	0.63
실시예 7	4	5	0.63
실시예 8	2.5	0.7	0.63
실시예 9	2.5	-	0.63
비교예 1	2	-	0.63
비교예 2	-	2	0.63

비교예 3	BDDE 가교 HA 관절주사제 (2% 히알루론산)
-------	-----------------------------

[0057] (PN: Polynucleotide, CS: Chondroitin sulfate)

[0059] 실험예 1. 점탄성(Viscoelasticity) 특성 확인

[0060] 본 발명 조성물의 유동학적 특성은 점성 및 탄성 변화를 분석하여 확인하였다. 구체적으로 상기 실시예 1 내지 3, 6 내지 8의 조성물을 적정량 취한 후, 회전형 레오미터를 이용하여 저장탄성계수( $G'$ ), 손실탄성계수( $G''$ ), 복소점도(Complex viscosity,  $\eta^*$ ) 및 위상각(Phase angle,  $\delta$ )를 측정하였으며, 결과는 표 2, 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[0062] <분석 조건>

[0063] - 시험장비: 회전형 레오미터(KINEXUS pro, Malvern panalytical 社)

[0064] - 진동수(Frequency): 2.5 Hz

[0065] - 온도: 25°C

[0066] - 전단변형률: shear strain 4

[0067] - 측정간격(gap): 1 mm

[0069] 상기 저장탄성계수는 탄성에 관한 것으로, 높을수록 원래대로 돌아오려는 힘이 크다는 것을 나타내며, 손실탄성계수는 점성에 관한 것으로, shear stress 발생 시 소실된 에너지를 나타낸다. 또한, 복소점도는 점성 및 탄성의 복합작용의 결과로, 실수부와 허수부의 합으로 나타낸 수학적 표현이다.

**표 2**

	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	복소점도(Pa · s)	$\delta$ (°)
실시예 1	170.0	5.877	10.78	1.98
실시예 2	63.09	5.666	4.013	5.13
실시예 3	11.31	3.332	0.747	16.41
실시예 6	861.9	37.95	54.66	2.52
실시예 7	69.14	13.80	4.467	11.29
실시예 8	225.7	13.82	14.33	3.50
실시예 9	282.9	8.199	17.93	1.66
비교예 1	168.1	6.033	10.71	2.06

[0071] PN과 CS의 농도 및 함량비를 변화시켜 10 내지 20 Pa · s의 복소점도 범위를 가지며, 위상각이 2 내지 4° 인 조성물을 탐색하였다.

[0072] 상기 PN 및 CS는 가교되지 않은 상태이므로, 체내 주입 후 분해되는 속도를 고려하여 적절한 복소점도를 일반 관절활액의 복소점도(1 내지 10 Pa · s)보다 높은 10 내지 20 Pa · s로 설정하였다.

[0073] 또한 복소점도의 범위가 10 내지 20 Pa · s에서 52 내지 78세에 정상 관절활액의 평균 손실탄성계수인 10 Pa을 유지하기 위한 위상각이 2 내지 4도이므로, 적절한 위상각의 범위를 2 내지 4로 하였다. (Balazs, E.A. (1974). The physical properties of synovial fluid and the special role of hyaluronic acid. In Disorders of the Knee. (Ed. Helfet, A) pp. 63-75 참고)

[0075] 표 2, 도 1 및 도 2에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실시예 3을 제외한 나머지 실시예들은 모두 정상 관절활액의 최소 복소점도인 약 1 Pa · s 이상의 범위를 나타내었다.

- [0076] 실시예 1 은 PN의 농도를 2%(w/v)로 하고 CS를 0.1%(w/v) 농도로 더 첨가한 것이다. 실시예 1 복소점도는 10.78 Pa · s이고 저장탄성계수는 170.0 Pa, 손실탄성계수는 5.877 Pa인 것으로 나타났다. 실시예 1은 시중에 판매중인 제품인 비교예 1과 비교하면 PN 농도는 2%(w/v)로서 동일하고, CS가 0.1%(w/v) 더 포함되었음에도 복소점도 및 탄성계수가 유사하다.
- [0077] 실시예 2 및 실시예 3은 실시예 1과 동일한 함량의 PN을 포함하고, CS의 함량을 2%(w/v) 및 5%(w/v)로 높였다. 그 결과 위상각은 증가하였으나, 저장탄성계수, 손실탄성계수 및 복소점도가 크게 감소하였다. 특히 실시예 3은 복소점도가 0.747 Pa · s 이므로 정상 관절활액의 복소점도인 1 Pa · s보다 낮았다.
- [0078] 실시예 6은 PN의 농도를 상기 실시예 1 내지 3의 2배인 4%(w/v)로 하고 PN 대비 CS의 함량비를 4:0.1로 혼합한 것이다. 실시예 6은 위상각의 범위는 적절하였으나 저장탄성계수, 손실탄성계수, 및 복소점도가 지나치게 증가하는 문제가 있었다.
- [0079] 실시예 7은 PN의 농도를 상기 실시예 6과 동일한 4%(w/v)로 하고 PN 대비 CS의 함량비를 4:5로 혼합한 것이다. 실시예 7은 복소점도가 지나치게 낮고 위상각이 지나치게 증가하였다.
- [0080] 또한, PN의 농도가 4%(w/v)인 경우 제조 시 용해 시간이 오래 걸리며, 원재료 농도 증가에 따른 제조 원가 상승으로 경제성이 낮은 것으로 판단되었다.
- [0081] 이에 실시예 8은 PN의 농도를 2.5%(w/v)로 하고, PN 대비 CS의 함량비를 2.5:0.7로 혼합하였다. 실시예 8은 복소점도가 14.33Pa · s이고 위상각이 3.5도여서 관절에 주입하기 적절한 물성을 가진 것으로 나타났다.
- [0082] 실시예 9는 실시예 8과 동일한 PN 농도 2.5%(v/v)로 하되 CS를 포함하지 않고 제조하였다. 실시예 9는 복소점도가 17.93Pa · s이고, 위상각이 1.66도였으며, 실시예 8의 물성과 대비하면 손실탄성계수가 낮고 위상각의 범위가 적절하지 않은 것으로 나타났다.
- [0083] 또한, 후술하는 실험예 5의 지면장력검사에 따르면 CS를 함유한 실시예 8은 PN만 함유한 실시예 9보다 더 유의한 통증완화효과가 나타났다. 따라서, 실시예 8의 조성물은 관절주입에 적절한 물성을 가지면서도 관절염 완화 효과가 우수한 것으로 나타났다. (도 5 참고)
- [0085] 실험예 2. 삼투압 특성 조사
- [0086] 본 발명의 조성물이 체내 주입하기에 적합한지 여부는 삼투압을 측정하여 확인하였다.
- [0087] 구체적으로 실시예 2, 4, 5 및 8의 삼투압을 삼투압측정기(OSMOMAT 030-D, Gonotec社)를 이용하여 측정하였으며, 결과는 표 3에 나타내었다.

**표 3**

	삼투압(mOsm/kg)
실시예 2	311
실시예 4	296
실시예 5	321
실시예 8	313

- [0090] 상기 결과에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명의 조성물은 체내 주사제의 이상적인 삼투압 범위인 270 내지 330 mOsm/kg 범위에 포함되어 본 발명 조성물이 체내 주입하기에 적합한 삼투압을 가진다는 점을 확인하였다.
- [0091] 특히 실시예 8은 관절주입에 적절한 복소점도 및 위상각을 가지면서도 체내 주입에 적절한 삼투압을 가짐을 확인하였다.
- [0093] 실험예 3. 주사압 특성 조사
- [0094] 본 발명 조성물이 주사용으로 사용되기에 적합한지 여부는 인장강도계를 통한 주사압(주입력) 분석을 통해 확인

하였으며, 결과는 표 4 및 도 3에 나타내었다.

- [0095] <분석조건>
- [0096] - 기기: 인장강도계(JSV H1000, JISC社)
- [0097] - 측정범위: 10 mm
- [0098] - 시험속도: 30 mm/min
- [0099] - 주사침: 21G

**표 4**

	최대 주사압(단위: N)	평균 주사압(단위: N)
실시예 1	4.90	4.51
실시예 6	14.94	12.77
실시예 8	6.87	6.48
비교예 3	29.73	28.70

[0102] 상기 결과에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명의 조성물은 기준에 사용되고 있는 BDDE로 가교된 히알루론산 관절주사제인 비교예 3과 대비하면 최대 주사압 및 평균 주사압이 낮기 때문에 환자에게 투여 시 통증이 감소하고 시술 편의성이 증가할 수 있다.

[0104] 실험예 4. 전기영동

[0105] 실시예 2 (PN과 CS의 1:1 혼합) 및 비교예 1 (CS 불포함)의 조성물을 물에 용해시켜 PN의 농도가 0.2 mg/ml이 되도록 검액을 제조하였다. 아가로오스겔은 10X TBE 완충액 10 ml를 물 100 ml로 희석한 용액에 아가로오스 0.8 g을 넣어 가열하면서 녹인 후, 아가로오스 용액 100 ml를 식히면서 Gel Red 10  $\mu$ l를 넣어 제조하였다.

[0106] 전기영동 장치(Mupid-exu, Advance社)에 1X TBE 완충액을 넣은 후, 상기 제조한 아가로오스 겔을 위치시키고, 검액(실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2) 10  $\mu$ l를 loading dye 2  $\mu$ l와 균일하게 혼합한 후, 아가로오스겔에 점종하였다.

[0107] DNA ladder 1  $\mu$ l를 다른 칸에 점종한 후, 30분 동안 100V의 전기를 걸어주어 전기영동을 실시하였으며, 전기영동을 완료한 후 160-330 nm의 UV lamp상에서 관찰하였다.

[0108] 도 4의 전기영동 결과에서 확인된 바와 같이, PN을 포함하지 않는 비교예 2는 전기영동 결과에서 PN 밴드가 나타나지 않았으며, 실시예 2 및 비교예 1은 PN standard와 동일한 밴드를 나타냈다. 이는 PN과 CS를 혼합하여도 상호 결합에 의한 분자량 변화가 일어나지 않았으며, 각각의 생리학적 효과가 저하되지 않음을 의미한다. 상기 실험결과를 종합하면, PN과 CS를 적절히 혼합함으로써 물성 측면에서 관절 주입에 적합한 상승 효과를 나타낼 수 있으며, 이와 동시에 생리학적 측면에서 PN과 CS 각각의 생리학적 효과를 발휘할 수 있음을 알 수 있다.

[0110] 실험예 5. 동물효능평가

[0111] (1) 동물모델의 제작

[0112] 7주령 수컷 SD 레트의 오른쪽 무릎 주변을 깨끗하게 제모하고 소독한 후, 0.9 % NaCl에 희석한 MIA(monosodium iodoacetate)를 1 mL 주사기를 이용하여 오른쪽 무릎 관절강 내에 3 mg/50  $\mu$ l씩 투여하고, 1주일 동안 사육하여 관절염을 유발하였다.

[0113] 이후 관절염을 유도시킨 동물모델에 대해 오른쪽 무릎 주변을 제모하고 소독한 후, 주사기를 이용하여 실시예 8의 조성물(CS 첨가군) 또는 실시예 9의 조성물(CS 무첨가군)을 50  $\mu$ l씩 1회 주사하였다. 또한, 비교군으로 식염수를 주사하였으며, 대조군으로 관절염을 유도하지 않은 레트를 이용하였다.

[0115] (2) 지면장력(weight bearing) 검사

[0116] 시험물질 투여 후 1회/주 간격으로 incapacitance tester (Stoelting Co., Wood Dale, IL)를 이용하여 양쪽 뒷다리에 실리는 체중의 무게를 측정함 다음, 하기 계산식에 따라 값을 구하였다. 마리 당 3회 측정하여 각 측정의 평균값을 개체 측정값으로 하였다.

[0117] [계산식]

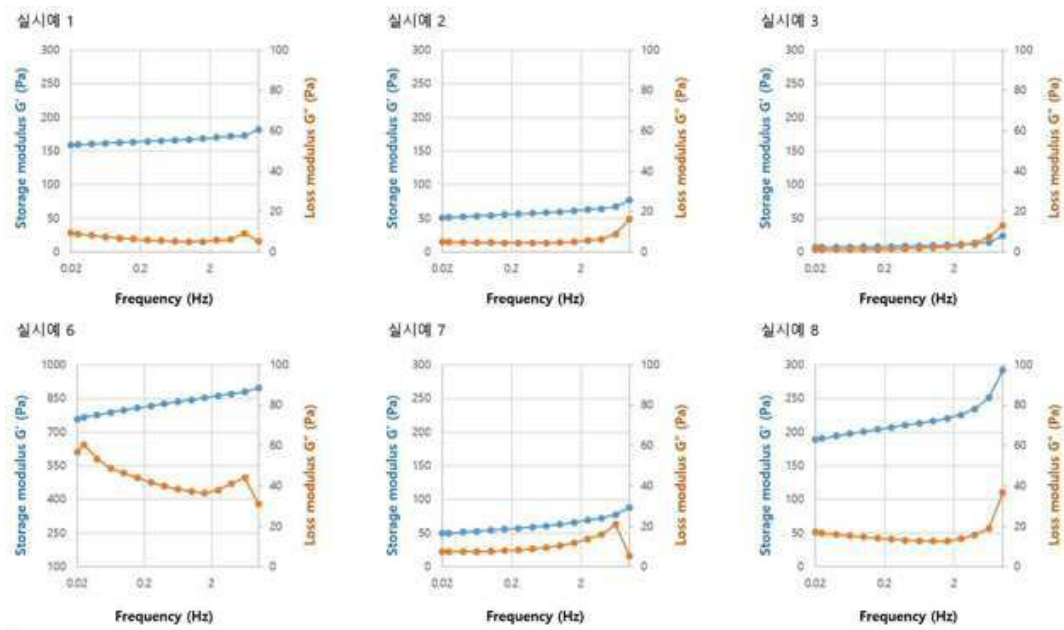
[0118] % 오른쪽 뒷다리 무게 = (오른쪽 뒷다리 무게 / (왼쪽 뒷다리 무게 + 오른쪽 뒷다리 무게)) x 100

[0119] 도 5에 따르면, 실시예 8의 조성물을 투여한 레트는 실시예 9의 조성물을 투여한 레트보다 유의미한 통증완화 효과가 나타났다. 특히 투여 직후부터 일주일까지의 결과를 고려하면 실시예 8의 조성물은 실시예 9의 조성물보다 더 신속한 통증완화 효과가 나타났다.

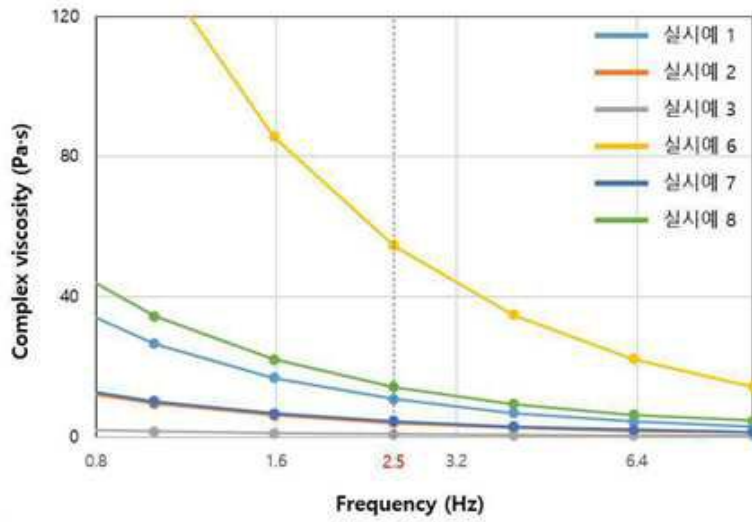
[0120] 상기 실험결과를 종합하면, 본 발명의 조성물은 관절주입에 적합한 복소점도 및 위상각을 가지며, 적절한 삼투압을 가지고, 주사압이 낮아 통증이 낮고 시술 편의성이 높으며, 우수한 관절염 예방 또는 치료 효과를 가진다는 점을 확인하였다.

도면

도면1

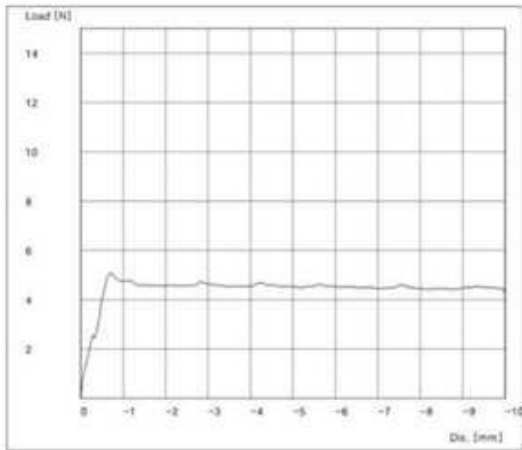


도면2

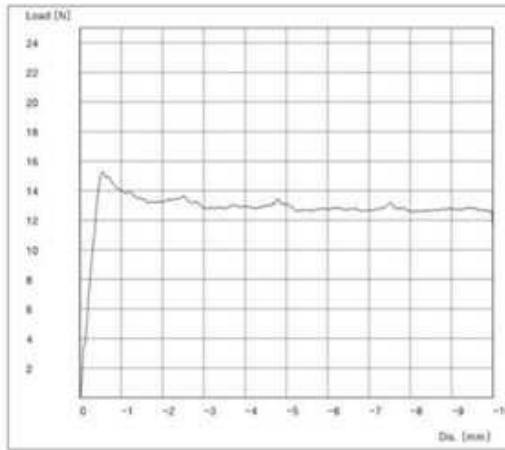


도면3

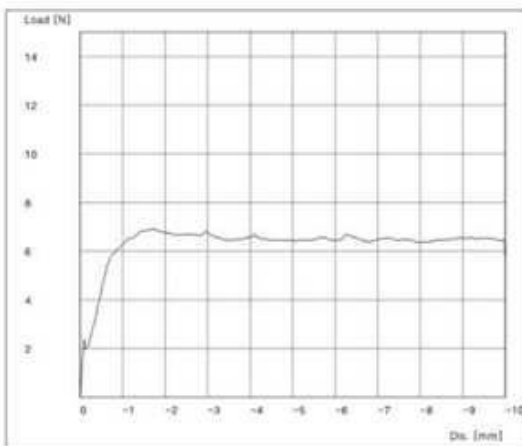
실시예 1



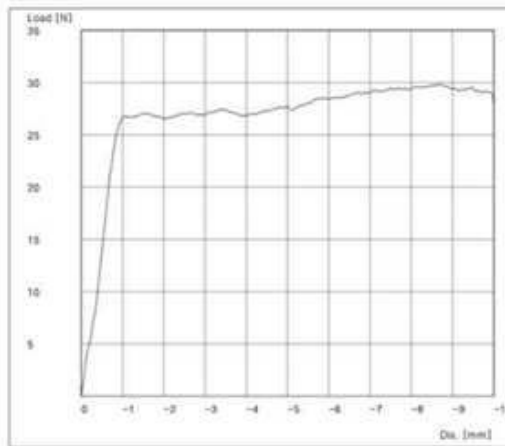
실시예 6



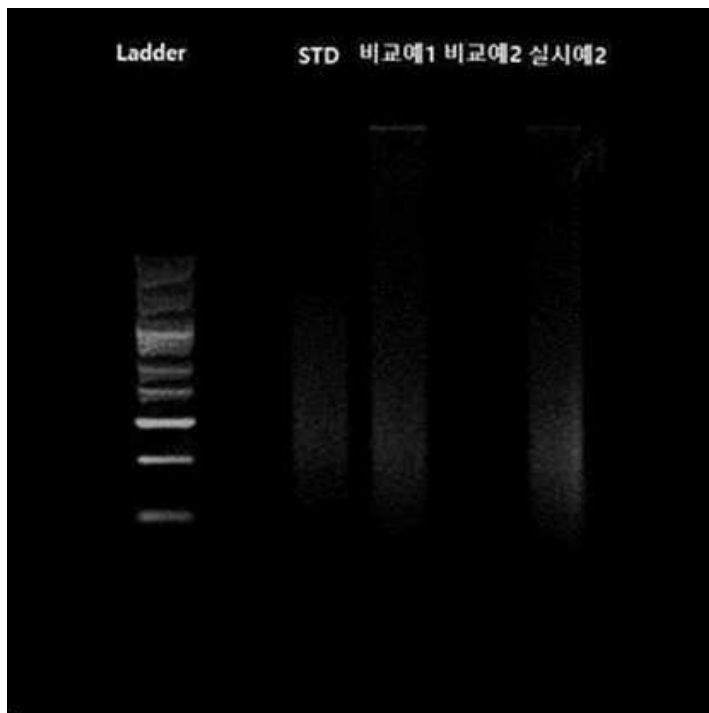
실시예 8



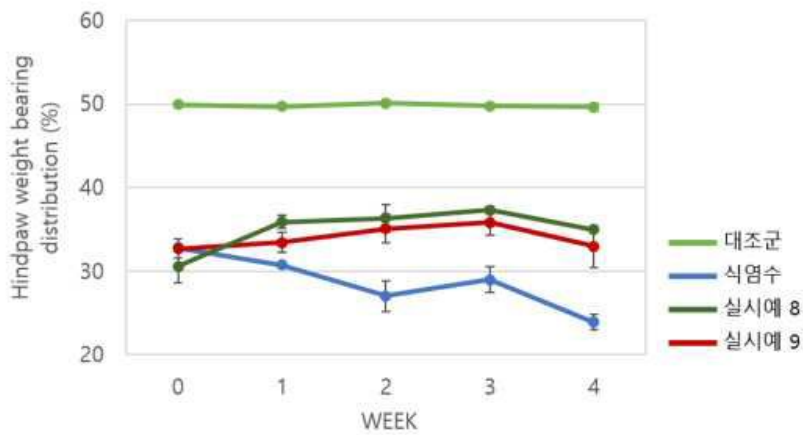
비교예 3



도면4



도면5



Groups	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4
대조군					
식염수	++	++	++	++	++
실시예 8		**	**	**	**
실시예 9			*	*	*

++ : statistically different form 대조군, P<0.01  
 \* : statistically different form 식염수 투입군, P<0.05  
 \*\* : statistically different form 식염수 투입군, P<0.01