



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년03월16일
(11) 등록번호 10-1502392
(24) 등록일자 2015년03월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/34 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
A61K 36/535 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0067331

(22) 출원일자 2013년06월12일

심사청구일자 2013년06월12일

(65) 공개번호 10-2014-0145002

(43) 공개일자 2014년12월22일

(56) 선행기술조사문헌

KR100654903 B1

KR100703180B1

KR1020120053415A

(73) 특허권자

한국원자력연구원

대전광역시 유성구 대덕대로989번길 111(덕진동)

(72) 발명자

정일윤

전라북도 정읍시 학산로 89-25, 102동 1402호 (상동, 엘드수목토)

진창현

전라북도 정읍시 학산로 89-25, 102동 804호 (상동, 엘드수목토)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

박장원

전체 청구항 수 : 총 8 항

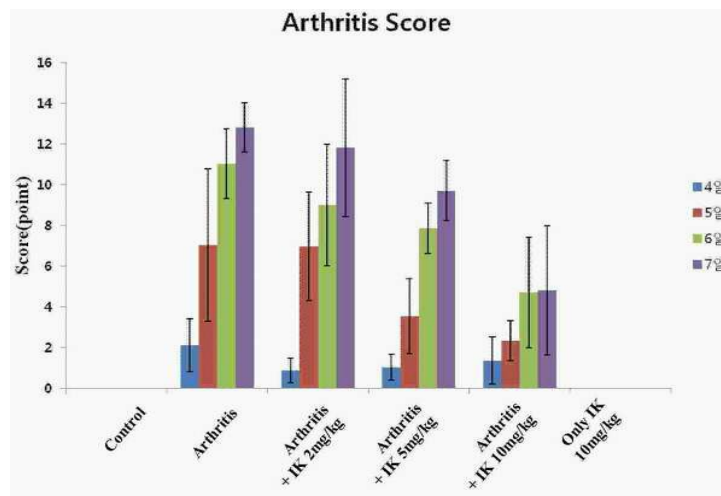
심사관 : 박제현

(54) 발명의 명칭 이소에고마케톤을 포함하는 염증질환의 예방 또는 치료를 위한 경구투여용 약학 제형

(57) 요약

본 발명은 이소에고마케톤을 포함하는 경구투여용 약학 제형에 관한 것이다. 본 발명의 약학 제형은 이소에고마케톤을 효과적으로 가용화하고 안정화하며, 우수한 장 상피세포 투과성을 확보하여, 복강 투여와 같은 침습적 과정을 거치지 않고, 경구 투여 경로로 통하여 염증질환을 효과적으로 치료할 수 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

강시용

대전광역시 유성구 어은로 57, 110동 605호 (어은동, 한빛아파트)

김동섭

광주광역시 광산구 왕버들로132번길 22, 203동 2301호 (수완동, 수완2차우미린아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 57173-13

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 원자력연구개발사업

연구과제명 방사선 식물자원의 천연물 대사체 규명 및 기능성 소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한국원자력연구원

연구기간 2013.03.01 ~ 2014.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

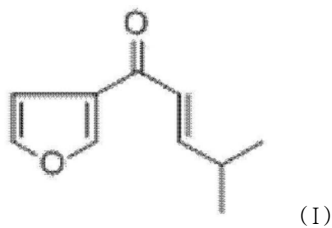
활성 성분으로서 이소에고마케톤(isoegomaketone) 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염; 및 폴리소르베이트를 포함하는 염증질환 예방 또는 치료를 위한 경구투여용 약학 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 이소에고마케톤은 들깨(*Perilla frutescens* (L.) Britt.)로부터 분리된 것을 특징으로 하는 약학 제형.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 활성 성분은 하기 화학식 (I)으로 표시되는 것인 약학 제형:



청구항 4

제1항에 있어서, 상기 제형은 액상인 것을 특징으로 하는 약학 제형.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 염증질환은 골관절염 또는 류마티스 관절염인 것인 약학 제형.

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 제형은 비스테로이드성 소염제, 비마약성 진통제 또는 영양제를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 제형.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 제형은 완충용액을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 제형.

청구항 9

폴리소르베이트를 함유하는 완충용액을 준비하는 단계; 및

상기 완충용액에 이소에고마케톤을 첨가하고, 초음파로 상기 용액을 혼합하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 제1항에 따른 약학 제형을 제조하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 이소에고마케톤을 포함하는 염증질환의 예방 또는 치료를 위한 경구투여용 약학 제형에 관한 것이다.

배경기술

[0002] LPS(Lipopolysaccharide)는 그람 음성 박테리아 세포벽의 주요 구성 성분으로서, 면역 시스템을 효과적으로 활성화시킨다. LPS 작용의 주요 세포 표적은 대식세포이다. LPS는 산화질소(NO)의 생성을 유도하고, 대식세포 중에서 인터루킨-6(IL-6), 종양 괴사인자-R(TNF-R) 및 인터루킨-1β(IL-1β)와 같은 많은 예비 염증 사이토카인의 생성을 촉진시킨다. NO는 아테롬성 동맥경화증, 염증, 발암, 고혈압, 비만 및 당뇨병과 같은 많은 질병과 관련하여 중요한 역할을 한다. NO는 산화질소 신타제(NOS)에 의하여 생성되는데, 이는 eNOS(endothelial NOS), nNOS(neuronal NOS) 및 iNOS(inducible NOS)의 세가지 이소 형태로서 존재한다. iNOS는 LPS에 반응하여 발현되고, 염증 과정 동안 과도한 NO의 생성에 관여한다. 따라서, iNOS 발현 억제를 통한 NO 생성의 억제는 류마티스 관절염과 같은 염증질환의 치료에 효과적인 전략이 될 수 있을 것이다.

[0003] 험 옥시게나제-1(HO-1)은 험이 담록소, 철 및 일산화탄소 성분으로 분해되는 것을 촉진하는 험 옥시게나제로부터 유도된 이소 형태인데, 이는 효과적인 항염증, 항산화 및 항증식 효과를 가지는 신규한 효소이다. HO-1는 LPS-유도성 NO 생산의 억제에 관여한다. 이러한 HO-1의 생리적 기능은 담록소 및 일산화탄소를 포함하는 험 대사체의 합동 작용에 의하여 매개되는 것으로 보인다. HO-1 유전자의 유도는 주로 전사 수준에서 조절되며, 전사인자 Nrf2(nuclear factor E2-related factor 2)와 관련되어 있다. 정상 조건하에서 Nrf2는 keap1과 결합하여 세포질 내에 숨어 있다가, 자극을 받으면 keap1로부터 분리되어 핵 속으로 이동하여 항산화 반응을 촉진한다.

[0004] 들깨(*Perilla frutescens* (L.) Britt.)는 라미메이씨(Lamiaceae) 족에 속하는 1년생 허브 식물로서, 그 잎은 아시아 지역에서 음식의 조리에 사용되고, 씨앗은 한국에서 식용 오일을 생산하는데 사용된다. 들깨는 또한 중국에서 전통 약초로서 사용되기도 한다. 들깨의 약리학적 활성에 대한 많은 연구가 수행되어 왔으며, 로즈마린산, 루테올린, 아피게닌, 페룰린산, (+)-카테킨 및 카페인산과 같은 많은 화합물이 분리되었다. 흥미롭게도 로즈마린산과 루테올린의 생물학적 활성에 관한 많은 보고가 있다. 들깨는 또한 이소에고마케톤(isoegomaketone, IK)을 포함하는 다수의 필수 오일 성분을 포함하며, 시트랄(C) 및 페닐프로파노이드(PP)와 같은 필수 오일의 항염증 활성이 보고된 바 있다.

[0005] 본 발명자들은 종전 연구에서, 들깨로부터 IK를 분리하고 그 생물학적 활성을 연구한 결과, IK가 RAW 264.7 대식 세포 중에서 LPS에 의하여 유도된 NO 형성을 억제한다는 사실을 밝혀내었다. 더 나아가, 본 발명자들은 IK가 RAW 264.7 대식 세포 중에서 LPS에 의하여 유도된 IFN-β-STAT-1 경로의 활성을 차단하고, HO-1 발현을 유도한다는 것을 밝혀내어, IK가 잠재적인 항염증 활성을 가짐을 기술한 바 있다.

[0006] 한편, 의약품 제제의 개발은 경구용 제제로부터 시작이 되었다고 해도 과언이 아닐 만큼 경구투여용 제제의 역사는 매우 길다. 경구투여 제제가 선호되는 이유는 비침습성 및 투여의 간편성에 있다. 즉, 환자들은 약을 삼키기만 하는 것으로 약을 투여할 수 있다. 비록 경구투여된 약물은 흡수되기까지 제제로부터 용출되거나 방출되어야 하기 때문에 경우에 따라서는 주약성분이 흡수되기까지 다소 시간이 걸릴 수도 있지만 경구투여의 장점은 이러한 염려를 상쇄하고도 남는다.

[0007] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의

내용이 보다 명확하게 설명된다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0008] (비특허문헌 0001) Jin et al., Isoegomaketone Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production in RAW 264.7 Macrophages through the Heme Oxygenase-1 Induction and Inhibition of the Interferon-β-STAT-1 Pathway, J. Agric. Food Chem., (2010)58:860-867

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명의 목적은 이소에고마케톤의 경구투여용 약학 제형을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 다른 목적은 독성 등의 부작용을 나타내지 않고 효과적으로 염증질환을 예방 또는 치료할 수 있는 이소에고마케톤의 경구투여용 약학 제형을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

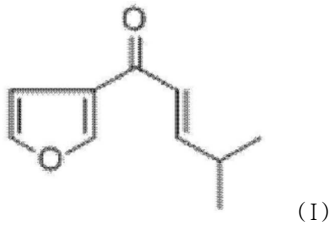
과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명은 이소에고마케톤(isoegomaketone) 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염을 활성 성분으로 포함하는 염증질환의 예방 또는 치료를 위한 경구투여용 약학 제형을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 약학 제형에서 활성 성분으로 포함되는 이소에고마케톤(isoegomaketone)이 인 비트로 실험에서 항염증 활성을 가진다는 것은 종래에 확인된 바 있었으나, 경구 투여 경로를 통하여 이를 인 비보 시스템으로 효과적으로 전달할 수 있는 제형은 알려진 바 없었다.
- [0014] 약물의 경구전달시스템을 효과적으로 설계하기 위해서는 약물의 가용성, 용출, 흡수, 장기이행, 대사, 배설 및 축적 문제를 모두 고려하여야 한다. 제제화에 있어서 용해도의 문제는 중요하다. 불용성 약물의 경구투여 액상 제형 개발을 위해서는 우선 약물을 안정적으로 가용화하는 기법을 설계하는 것이 우선적으로 요구되는데, 일반적으로 물에서 10 mg/ml 이하의 낮은 용해도를 갖는 경우에는 만족할 만한 흡수와 용해도를 확보하여, 약물이 소화관 내에서 효과적으로 흡수하는 것을 담보하여야 한다. 또한, 비록 약물이 소화관에서 골고루 흡수된다고 가정하더라도 위장관에서 약물이 흡수되기 전에 분해되면 흡수장에서 처음에 의도한 약물의 흡수를 기대하기 어렵게 되므로, 약물의 성공적인 경구 투여를 위해서는 용액 중 약물의 화학적 안정성을 확보하는 것은 매우 중요한데, 어떠한 약물이 어떠한 용액 중에서 37°C, pH 1~11의 범위 내에서 충분한 안정성을 확보할 수 있는지 예측하기는 매우 어려운 문제이다. 낮은 pH에 대한 민감도는 위 내에서 분해될 가능성을 시사한다.
- [0015] 경구투여를 위해서는 물에 대한 충분한 용해성, 화학적 안정성(낮은 pH에서의 안정성 포함), 장 상피세포 투과성, 작용 부위에 대한 좋은 접근성, 초기 대사에 대한 저항성, 수시간의 혈중 반감기 및 충분한 치료역의 요건을 모두 구비하여야 하는 것이며, 따라서 어떠한 약물이 경구 투여시 본래의 생물학적 활성을 나타낼 수 있을지 예측하는 것은 불가능에 가깝다.
- [0016] 본 발명의 약학 제형은 일반적으로 물에 불용성인 이소에고마케톤을 효과적으로 가용화하고 안정화하며, 우수한 장 상피세포 투과성을 확보하여 복강 투여와 같은 침습적 과정을 거치지 않고, 경구 경로로 약물을 투여하여 관절염과 같은 염증질환을 효과적으로 치료할 수 있는 것을 특징으로 한다.
- [0017] 본 발명의 약학 제형은 항 염증 작용을 가지므로, 다양한 염증 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는데, 염증질환의 대표적인 예로는 암, 알레르기, 피부염, 아토피, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 통풍, 강직성 척추염, 류마티스 열, 건선, 루푸스, 섬유근통

(fibromyalgia), 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome), 다발성 경화증, 및 급성 및 만성 염증 질환, 베체트 병, 경피증, 아프타 구내염, 길리안바레 증후군, 원형탈 모증, 궤양성 대장염, 결정성 다발 동맥염, 재발성 다발 연골염, 자가면역 혈소판 감소증, 원발성 담즙성 간경변, 실리코시스, 자가면역성 용혈성 빈혈, 뇌척수염, 중증 근무력증, 그레이브씨 질환, 섬유조직염, 전신성 홍반성 낭창, 인슐린 의존성 당뇨병, 측두 동맥염, 혈청 음성 척추관절병증, 라이터 증후군, 건선성 관절염, 혼합결합조직병, 만성 라임 관절염, 스틸 병, 만성 심마진 등이 있으나 반드시 이에 제한되는 것은 아니다.

[0018] 일 구현예에서, 상기 이소에고마케톤은 화학적으로 합성한 것을 사용하거나 또는 들깨(*Perilla frutescens* (L.) Britt.)와 같은 천연 원료로부터 분리된 것을 사용할 수도 있다.

[0019] 본 발명의 약학 제형에 포함되는 상기 활성 성분은 하기 화학식 (I)으로 표시되는 이소에고마케톤일 수 있다.



[0020]

[0021] 일 구현예에 따르면, 본 발명의 약학 제형은 폴리소르베이트를 포함하는 것일 수 있으며 바람직하게는 완충용액을 더 포함할 수도 있다.

[0022] 본 발명의 약학 제형을 액상으로 제제화하는 경우에는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 알부민, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액 및 글리세롤 등으로부터 선택되는 1 성분 이상을 추가적으로 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.

[0023] 본 발명의 약학 제형은 상기 성분 외에도 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 포함할 수 있으며, 이러한 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 또는 가용화제 등이 있다.

[0024] 본 발명의 염증질환 치료용 경구 투여용 약학 제형은 상기 활성 성분 이외에도, 염증 치료를 더욱 효과적으로 하기 위한 성분을 포함할 수 있는데, 예컨대 비스테로이드성 소염제, 비마약성 진통제 또는 영양제 등을 추가적으로 포함할 수 있으나 반드시 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 비스테로이드성 소염제란 소염 또는 진통 효과를 모두 가지는 것으로서, 본 발명의 약학 제형에 보조 수단으로서 추가될 수도 있으며, 염증부위에 진통이 있는 경우에는 비마약성 진통제로서 아세트 아미노펜과 같은 성분을 추가할 수도 있다.

[0026] 일 구현예에서, 본 발명의 염증질환 치료용 경구 투여용 약학 제형은 폴리소르베이트를 함유하는 완충용액을 준비하는 단계 및 상기 완충용액에 이소에고마케톤을 첨가하고, 초음파로 상기 용액을 혼합하는 단계를 포함하는 것에 의하여 제조될 수 있으며, 여기서 초음파를 이용하는 경우, 활성성분인 IK의 파괴를 일으키지 아니하면서 균일하고 안정된 가용화를 달성할 수 있다.

발명의 효과

[0027] 본 발명의 약학 제형은 이소에고마케톤을 효과적으로 가용화하고 안정화하며, 우수한 장 상피세포 투과성을 확보하여, 복강 투여와 같은 침습적 과정을 거치지 않고, 경구 투여 경로로 통하여 염증질환을 효과적으로 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은 IK를 관절염 유발 마우스 모델에 복강투여하고 얻은 혈청 시료로부터 아질산염/질산염 농도를 측정된 결과를 나타낸다.
- 도 2는 실시예 4에서 경구투여실험을 수행한 과정을 도식화한 것이다.
- 도 3은 실시예 4에서 경구투여실험을 수행한 후, 마우스 뒷다리 부종 변화를 육안으로 관찰한 결과를 나타낸다.
- 도 4는 실시예 4에서 경구투여실험을 수행한 후, 관절염 스코어를 산정한 결과를 나타낸다.
- 도 5는 실시예 4에서 경구투여실험을 수행한 후, 뒷다리의 두께를 측정된 결과를 나타낸다.
- 도 6은 실시예 4에서 경구투여실험을 수행한 후, 뒷다리의 부피를 측정된 결과를 나타낸다.
- 도 7은 실시예 4에서 경구투여실험을 수행한 후, 마우스 체중을 측정된 결과를 나타낸다.
- 도 8은 실시예 4에서 경구투여실험을 수행한 후, 마우스 체중 변화를 기록한 결과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명 하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0030] **실시예**

[0031] **실시예 1: IK의 분리**

- [0032] 이소에고마케톤(isoegomaketone, IK)은 들깨(*Perilla frutescens* (L.) Britt.)로부터 분리하였다. 구체적으로, 건조된 들깨초의 지상부(3 kg)를 95% 메탄올 10 L에 3일간 방치하고 여과지로 여과하였다. 이 용액을 감압하에서 농축하여 농축액(45.6 g)을 얻었다. 이후, 얻은 추출물을 물 400 ml에 현탁시키고, 에틸아세테이트 400 ml로 분획하여 에틸아세테이트 분획물 17g을 얻었다. 얻은 파우더 17 g을 클로로포름을 이동상으로 사용하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(실리카겔: Merk, Art 9385, 컬럼크기: $\phi 7 \times 40$ cm)를 실시하여 분획물 1-6을 획득하였다. 상기 얻어진 1번 분획물(3 g)을 에틸아세테이트 헥산의 혼합 용매를 이동상으로 사용하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(실리카겔: Merk, Art 9385, 컬럼크기: $\phi 7 \times 40$ cm)를 실시하여 활성물질인 IK 화합물들을 10 mg 얻었으며, 분리된 이소에고마케톤을 분광분석으로 확인하였다.

[0033] **실시예 2: 마우스 모델을 사용한 IK 복강투여 실험**

- [0034] 관절염 유도 동물 모델을 제조하기 위한 관절염 유도 항체 카테일로서, ArthritoMab™은 제조사(mdbioproducts)에서 10mg/mL 농도의 용액 형태로 제공하였다. LPS(Kit에서 제공함)는 PBS 완충액에 0.5mg/mL 농도로 용해시켜 준비하였으며, 복강투여에 사용하기 위한 활성성분으로는 상기 실시예 1에서 분리된 IK를 멸균된 DMSO에 용해시켜 준비하였다.

- [0035] 실험 동물의 보호 및 사용에 관한 가이드라인에 따라 실험동물을 유지하였다. 연구 시작 1주 전부터, 4주령의 자성 BALB/c 마우스(Orient Bio Inc. Korea)를 약 23°C의 온도와 55%의 상대습도에서 유지시켜 주위 환경에 적응시켰다.

- [0036] 상기 마우스를 다음의 6개의 투여군으로 나누어 실험을 진행하였다: (1) 염수 투여(i.p., n=5), (2) LPS 투여(10 mg/kg i.p., n=5), (3) LPS 및 IK 투여(5 mg/kg i.p., n=5), (4) LPS 및 IK 투여(10 mg/kg i.p., n=5), (5) LPS 및 IK 투여(20 mg/kg i.p., n=5), 및 (6) IK 투여(20 mg/kg i.p., n=5).

- [0037] 여기서, IK는 LPS를 투여하기 한 시간 전에 투여하였다(i.p.). LPS 처리 8시간 후에 마우스를 에테르로 마취시키고, 심장 천공으로 전혈 시료를 채취하여 분석하였다. 제조사 프로토콜에 따라 NO 분석 키트를 사용하여 혈청

아질산염/질산염 농도를 측정하고, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0038] 실험 결과, 염수만을 투여한 경우(9.85±1.17 μM)와 IK 20 mg/kg만을 투여한 경우(16.86±1.82 μM)와 비교하여, LPS만을 투여한 군의 경우, 아질산염 및 질산염(NOx)의 레벨이 현저하게 증가하였으며(63.90±5.40 μM), 이러한 증가는 IK를 함께 투여한 경우에 감소하는 것으로 확인되었다(도 1).

[0039] **실시에 3: IK를 포함하는 다양한 제제의 경구투여 실험**

[0040] 제제 1: 상기 실시예 1에서 분리된 IK를 폴리소르베이트 20(Sigma Aldrich Korea)이 0.5% 농도로 혼합된 PBS 완충액과 혼합한 뒤 Ultra S.Homogenizer(제조사:TAITEC, 모델명:VP-15S)로 얼음 위에서 40초간 반응하여 경구 투여용 액상 제형을 제조하였다.

[0041] 제제 2: 상기 실시예 1에서 분리된 IK를 0.1% DMSO 용액에 2.0mg/mL의 농도로 용해하여 경구투여용 액상 제형을 준비하였다.

[0042] 제제 3: 상기 실시예 1에서 분리된 IK 및 락토오스를 2:1의 중량비로 레시틴이 0.5% 농도로 혼합된 PBS 완충액에 혼합하여 IK 2.0mg/mL 및 락토오스 1.0 mg/ml를 포함하는 액상 제형을 준비하였다.

[0043] 제제 4: 상기 실시예 1에서 분리된 IK, 옥수수전분, 텍스트로스를 각각 2.0 mg/mL로 PBS 완충액에 혼합하고, 여기에 스테아린산 마그네슘(Magnesium Stearate)을 미량 첨가하여 준비하였다.

[0044] Balb/c 수컷 7주령을 48마리 구입하여 동물실험실(온도: 23±2℃, 습도: 55±2%)에서 일주일간 순화한 뒤 8주 부터 실험을 시작하였다. 관절염 유도는 mdbioproducts사의 ArthritoMab™ 관절염 유도 항체 카테일을 사용하였다. 항체 카테일을 마리당 0.2 ml(농도 10mg/mL)씩 I.V.로 주입한 뒤 3일 뒤에 LPS용액(0.5 mg/mL)을 마리당 0.1 mL씩 I.P.로 주입하여 관절염을 유발시켰다.

[0045] 상기 관절염이 유발된 48마리의 마우스를 임의로 4개의 군으로 나누고, LPS 용액을 주입한 날부터 상기 준비한 실시예 1 및 비교예 1 내지 3의 IK 액상제형을 0.1 mL씩 하루에 한번, 총4번에 걸쳐 경구 투여하였다.

[0046] 투여 종료 후 마우스의 임상적 증상 및 뒷다리 부종의 변화를 육안으로 관찰하고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

	제제 1	제제 2	제제 3	제제 4
뒷다리 부종 변화	육안으로도 부종이 확연하게 호전됨	호전 없음	호전 없음	호전 없음
독성 등 부작용	없음	떨림 및 가려움이 관찰됨	없음	없음

[0048] 상기 결과로부터 제제1의 경우 IK의 안정적인 가용화에 그치지 않고, 위장관 내에서의 IK의 효과적인 보호, 장 상피세포 투과성 및 IK의 초기 대사에 대한 저항성을 모두 담보하는 것으로 여겨진다.

[0049] **실시에 4: 제제 1을 이용한 마우스 모델 IK 경구투여실험**

[0050] 실시예 3에서 기술한 바와 동일한 방법으로 관절염 유발 마우스 모델을 제조하고, LPS 용액을 주입한 날부터 IK 액상 제형인 제제 1을 0.1 mL씩 하루에 한번, 총4번에 걸쳐 경구 투여하였다. 7일째 되는 날 마우스를 에테르로 마취시킨 뒤 부검하였다(도 3).

[0051] 각 발의 측정부위는 발목관절(ankle joint), 중간발(midfoot, 발꿈치와 발가락 사이), 중족골 관절(metatarsal joint, 발목과 발가락 사이의 관절) 및 발가락(digit)의 4 부위로 하고, 아래 기준을 적용하여 각 발마다 4점,

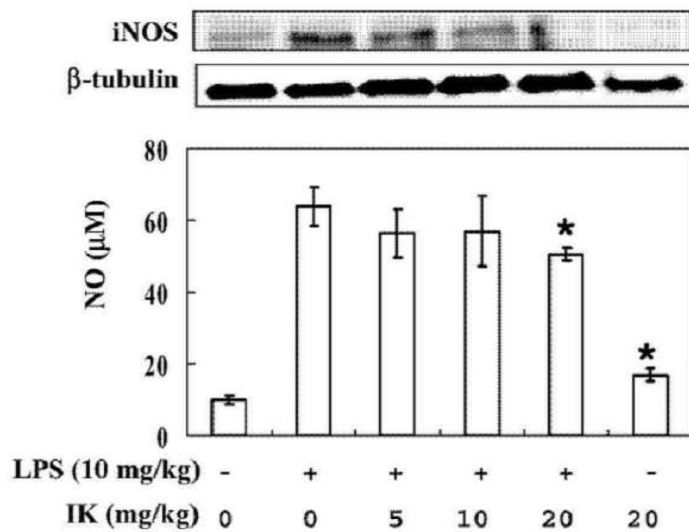
마리당 16점으로, 관절염 스코어를 측정하였다.

- [0052] 0 - 정상
- [0053] 1 - 발목관절 또는 중간발에 한정된 홍반 및 가벼운 부종
- [0054] 2 - 발목부터 중간발까지 이르는 홍반 및 가벼운 부종
- [0055] 3 - 발목관절부터 중족골 관절까지 이르는 홍반 및 중간정도의 부종
- [0056] 4 - 발목부터 발가락까지 이르는 홍반 및 심각한 부종

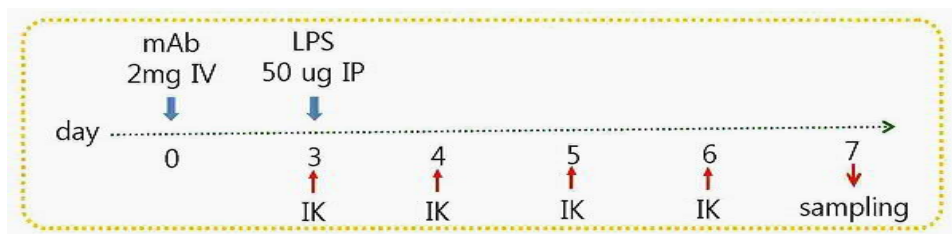
[0057] 위의 기준으로 연구원 3명이 각각의 주관으로 측정된 결과를 평균값으로 구하여, 관절염 스코어를 산정하고, 그 결과를 도 4에 나타내었다. 또한, 디지털 캘리퍼스를 이용하여 뒷다리의 두께를 측정하였고, 플레티스모그램(이태리 UgoBasile 사)를 이용하여 뒷다리 부피를 측정하였으며, 그 결과를 각각 도 5 및 도 6에 나타내었다. 실험 결과, 상기 IK 액상 경구 투여 제형은 마우스에게 잘 관용되었으며, 독성 등의 부작용없이 인 비보 마우스 모델에서 관절부위에 발생한 염증을 효과적으로 완화시키는 것으로 확인되었다.

도면

도면1



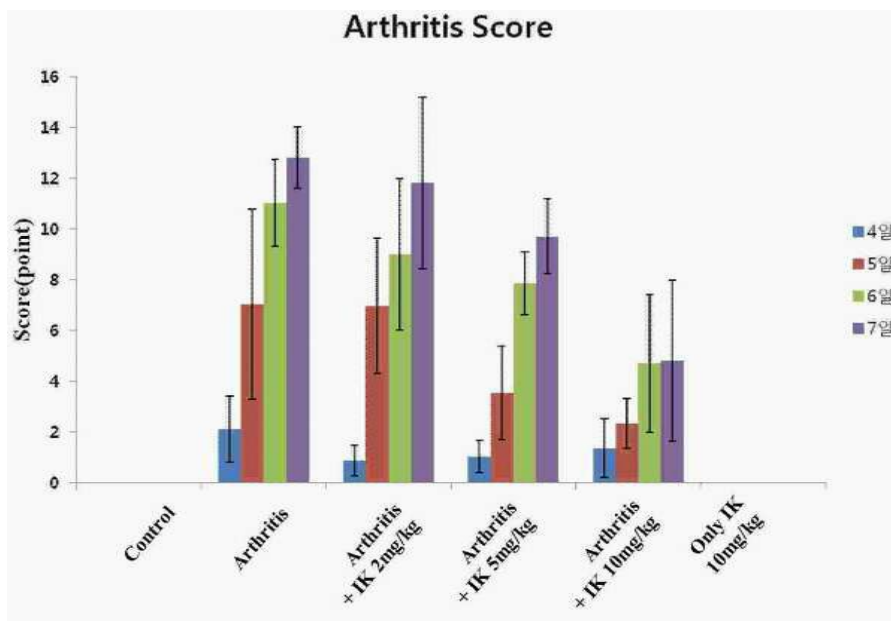
도면2



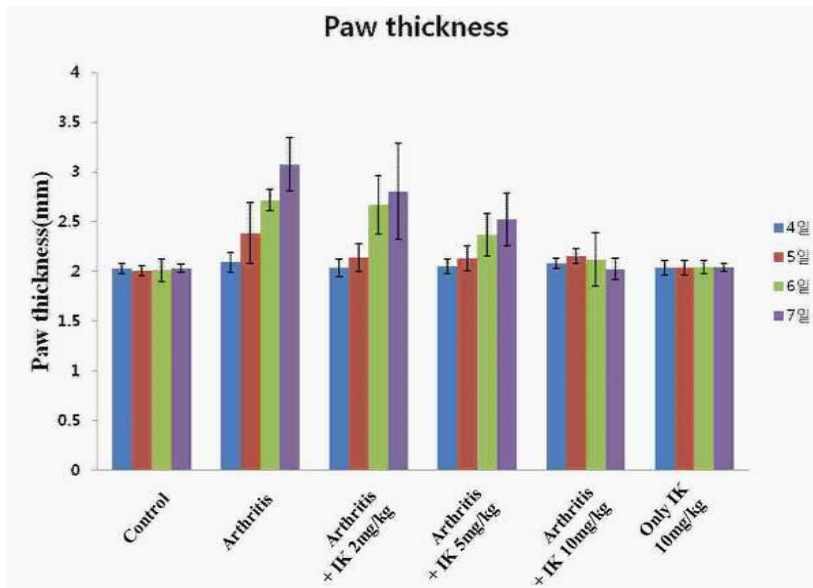
도면3



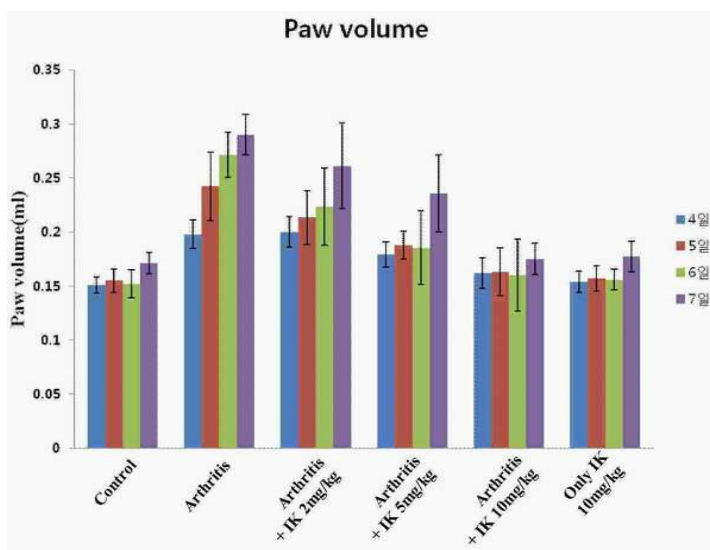
도면4



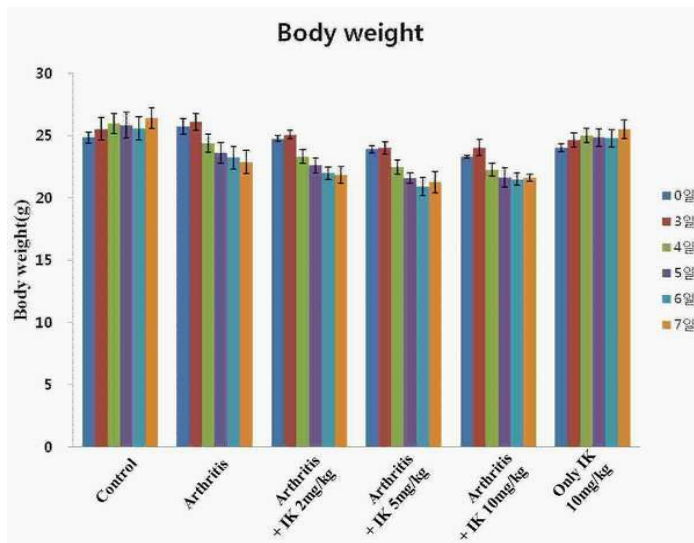
도면5



도면6



도면7



도면8

