



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년01월10일

(11) 등록번호 10-2622654

(24) 등록일자 2024년01월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/353 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)

A61P 19/02 (2006.01) A61P 29/00 (2023.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/353 (2013.01)

A23L 33/10 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2021-0023116

(22) 출원일자 2021년02월22일

심사청구일자 2021년02월22일

(65) 공개번호 10-2022-0119814

(43) 공개일자 2022년08월30일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020130035425 A

W02009064449 A1

US05814651 A

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

이진우

서울특별시 서초구 방배로26길 Elle Ville 402호
박광환서울특별시 서초구 반포대로 310-6, 반포센트럴자
이 102동 1001호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

파도특허법인유한회사, 이재영

전체 청구항 수 : 총 6 항

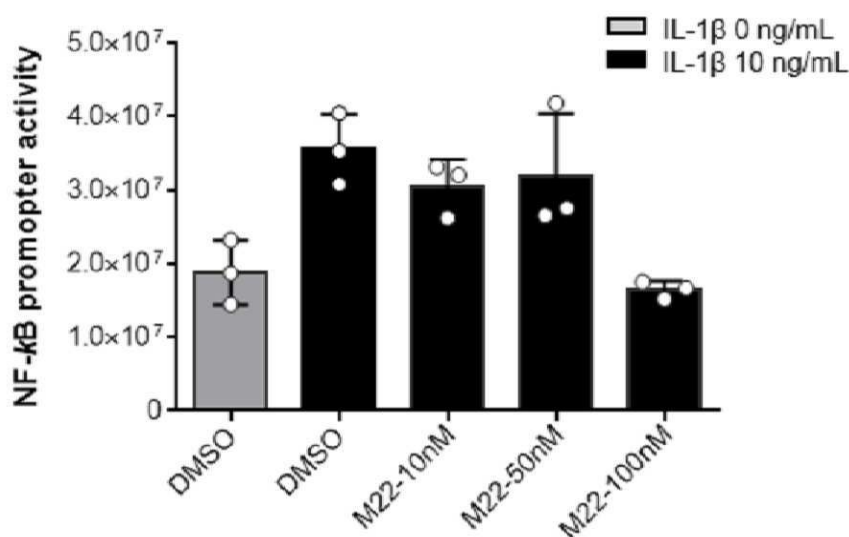
심사관 : 강태현

(54) 발명의 명칭 항염증용 조성물

(57) 요약

본 발명에서 제공하는 화합물은 항염증 효과가 뛰어나며, 더 나아가서는 염증 환경에서 연골 조직의 분해를 억제하여 관절염을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 19/02 (2018.01)

A61P 29/00 (2023.02)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/324 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

(72) 발명자

이경미

경기도 고양시 일산동구 노루목로 80, 315동 402호

고은애

경기도 고양시 일산서구 강선로 70, 805동 104호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711115218
과제번호	2018R1A2B6007376
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구사업(중견)
연구과제명	Pellino-1 조절 화합물의 스트리닝을 통한 난치성 관절염 치료 선도물질 발굴
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2018.03.01 ~ 2021.02.28

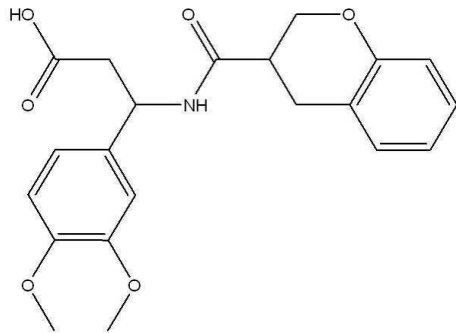
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 3-(크로만-3-카복사미도)-3-(3,4-디메톡시페닐)프로판산(3-(chroman-3-carboxamido)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 항염증용 약학 조성물:

[화학식 1]



청구항 2

삭제

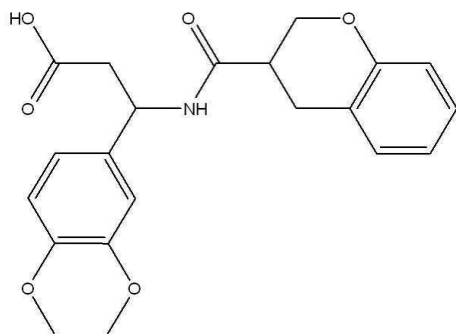
청구항 3

삭제

청구항 4

하기 화학식 1로 표시되는 3-(크로만-3-카복사미도)-3-(3,4-디메톡시페닐)프로판산(3-(chroman-3-carboxamido)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 관절염의 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



청구항 5

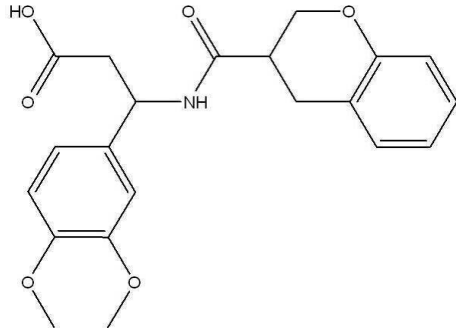
제4항에 있어서,

상기 관절염은 골관절염, 퇴행성 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대 손상, 반월상 연골판 손상, 감염으로 인한 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 류마티스 관절염 및 소아기 류마티스 관절염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 약학 조성물.

청구항 6

하기 화학식 1로 표시되는 3-(크로만-3-카복사미도)-3-(3,4-디메톡시페닐)프로판산(3-(chroman-3-carboxamido)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 항염증용 식품 조성물:

[화학식 1]



청구항 7

삭제

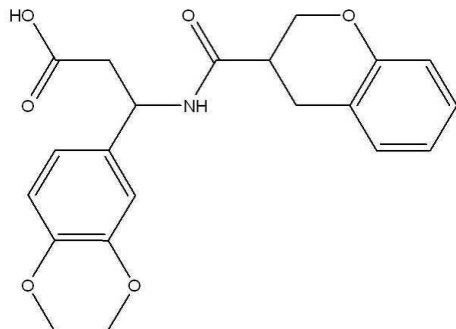
청구항 8

삭제

청구항 9

하기 화학식 1로 표시되는 3-(크로만-3-카복사미도)-3-(3,4-디메톡시페닐)프로판산(3-(chroman-3-carboxamido)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 관절염의 예방 또는 개선용 식품 조성물:

[화학식 1]



청구항 10

제9항에 있어서,

상기 관절염은 골관절염, 퇴행성 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대 손상, 반월상 연골판 손상, 감염으로 인한 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 류마티스 관절염 및 소아기 류마티스 관절염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항염증 효과가 뛰어나 다양한 염증성 질환을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

염증(inflammation)이란 외부 감염원(박테리아, 곰팡이, 바이러스, 다양한 종류의 알레르기 유발물질)의 침입에 의하여 형성되는 농양의 병리적 상태를 뜻한다. 구체적으로, 외부 세균이 특정 조직에 침입하여 증식을 하게 되면 생체의 백혈구가 이를 인지하여 증식된 외부 세균을 활발히 공격하게 되는데, 이 과정 중 발생하는 백혈구의 사멸이 균에 의하여 침입받은 조직에 축적됨과 동시에 백혈구에 의하여 사멸된 침입균의 세포 파괴물이 침입받은 조직 내로 용해되어 농양이 형성된다. 염증에 의한 농양의 치료는 소염작용을 통하여 촉진될 수 있는데, 소염작용이란 항균제를 이용하여 침입균의 증식을 억제하거나 농양 중에 축적된 이물질들을 탐식하는 대식세포(macrophage)를 활성화하여 상기 이물질들을 소화 및 배설하는 대식세포의 기능을 향진시키는 등의 염증치료 촉진작용이다. 일반적으로 염증반응은 생체의 세포나 조직에 기질적 변화를 가져오는 침습으로 인한 손상을 수복 및 재생하기 위한 생체방어 반응과정이고, 이 반응과정에는 국소의 혈관, 체액의 각종 조직세포 및 면역세포 등이 작용한다. 정상적으로 외부 침입균에 의하여 유도되는 염증반응은 생체를 보호하기 위한 이러한 방어 메커니즘은 생존에 필수적이다. 그러나, 시간적 또는 공간적으로 부적합한 염증성 반응은 자가면역 질환, 천식 또는 죽상경화증 같은 명백히 백혈구 성분에 의한 것들뿐 아니라 관절염 또는 알츠하이머 질환 같은 전통적으로 백혈구와 관련되지 않는다고 여겨지는 질환을 포함하여, 넓은 범위의 질병에 큰 역할을 한다. 이러한 염증질환에서 백혈구는 항체가 숙주 단백질을 부주의하게 인지하는 자가면역반응, 또는 영구 세포 사멸체, 세포 외 콜레스테롤 침착물, 또는 폐 안의 입자상 물질과 같은 축적된 조직 손상과 같은 부적합한 촉발에 의해 조직으로 모여들게 된다. 이와 같은 질병은 모여든 백혈구가 촉발자를 처리할 수 없고 (예를 들면, 백혈구는 자가 항원을 발현하는 모든 숙주 세포를 제거 또는 사멸하거나 또는 그 세포에 대해 지나치게 큰 입자들을 함입시킬 수 없다), 따라서 종종 만성화가 되고 계속해서 염증성 사이토카인을 방출하여 추가의 백혈구를 불필요한 장소로 보내 만성 염증이 된다. 이와 같은 염증반응을 통해, 동맥경화, 비만, 인슐린저항성, 류마티스 관절염, 사구체 신염, 암 진행 등과 같은 만성 진행성 질환이 발생하며, 노화의 진행에서도 주된 역할을 한다고 보고된바 있다(Jung KJ et al., *Inflamm Res*, 58:143, 2009).

[0003]

급성 염증 반응을 유발하는 리포폴리사카라이드(lipopolysaccharide, LPS)는 외부로 분비되는 박테리아 독신(toxin)이며, 일산화질소(NO), 사이토카인(cytokine), 종양괴사인자(TNF- α), 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2) 및 염증반응을 촉진하는 아이코사노이드(eicosanoid) 조절물질을 포함하는 여러 가지의 염증조절물질을 분비하게 한다(Chen YC, et al., *Biochem. Pharmacol.*, 61, 1417-1427, 2001). 혈관근육세포(smooth muscle cells), 대식세포(macrophage), 간세포(hepatocyte) 및 성상세포(astrocyte)는 염증 사이토카인과 리포폴리사카라이드 등에 반응하여 유도되며, 일산화질소 합성효소의 활성화는 다양한 염증질환의 질병에서 중요한 역할을 하는, 많은 양의 일산화질소 형성을 촉진한다. 또한, COX-2 및 유도성 일산화질소 합성효소뿐만 아니라, 인터루킨-1, 인터루킨-2, 인터루킨-6 및 종양괴사인자 같은 여러 가지의 염증 전사인자들이 포함된다(Csaba Szabo, et al., *Nature Reviews Drug Discovery*, 6, 662-680, 2007). 특히, 일산화질소(nitric oxide; NO)를 발생시키는 효소인 일산화질소 합성효소(nitric oxide synthase; NOS) 및 프로스타글란딘(prostaglandin)의 생합성과 관련된 효소들은 염증 반응을 매개하는데 있어서 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있으며, L-아르기닌(L-Arginine)으로부터 NO를 생성시키는 효소인 NOS, 또는 아라키돈산(Arachidonic acid)으로부터 프로스타글란딘류를 합성하는데 관련된 효소인 시클로옥시게나제(cyclooxygenase; COX)는 염증을 차단하는데 있어서 주된 목표가 되고 있다. 최근의 연구 결과에 따르면, NOS는 몇 가지 종류가 존재하는데 뇌에 존재하는 뇌 일산화질소 합성효소(brain NOS; bNOS), 신경계에 존재하는 신경 일산화질소 합성효소(neuronal NOS; nNOS) 및 혈관계에 존재하는 내피 일산화질소 합성효소(endothelial NOS; eNOS) 등은 체내에 항상 일정수준으로 발현되고 있으며, 이들에 의해 소량 생성되는 NO는 신경전달이나 혈관확장을 유도하는 등 정상적인 신체의 항상성 유지에 중요한 역할을 하는데 반하여, 각종 사이토카인(cytokines)이나 외부 자극물질에 의해 유도되는 iNOS(induced NOS)에 의해 급격히 과량 발생되는 NO는 세포독성이나 각종 염증반응을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 만성 염증은 iNOS 활성의 증가와 관련 있다는 연구가 있다(Jon O. Lundberg, et al., *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008).

[0004]

이와 같은 염증을 치료하는 것은 수십 년간 전 세계 제약 업계의 가장 중요한 목표였고 수많은 유용한 치료법이 개발되어왔다. 그 예는 코르티코스테로이드(프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 텍사메타손, 베타메타손, 플루티카손 등을 포함하여 코티솔의 효과를 모의하도록 고안된 다양한 범위의 천연, 반합성 및 합성 제제), 사이클로옥시게나제 억제제(인도메타신, 셀파살라진 및 아스피린 같이 비선택성 또는 콕스-1(cox-1) 선택성 및 더 최근의 셀레코시브 같은 콕스-2(cox-2) 선택성, 류코트리엔 차단제(몬테루카스트 같은) 및 TNF 수용체 융합 단백질과 같은 항-TNF(탈리도마이드 같은 저분자 TNF- α 합성 억제제뿐만 아니라 인플릭시마브(RemicadeTM) 및 아달

리무마브(Humira™)를 포함하는 개량 모노클로날 중화 항체, 에타너셉트 '45nbrel™)를 포함한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005]

본 발명의 일 목적은 항염증용 조성물을 제공하고자 한다.

[0006]

본 발명의 다른 목적은 다양한 염증성 질환을 예방, 개선 또는 치료하는 조성물을 제공하고자 한다.

[0007]

그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

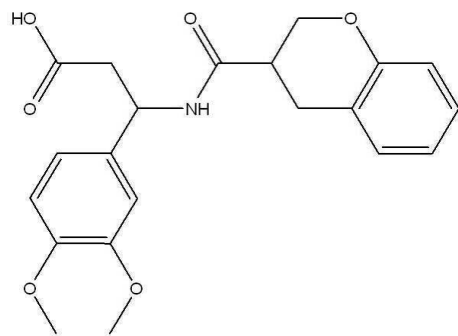
과제의 해결 수단

[0008]

본 발명의 일 구현 예에 따르면, 하기 화학식 1로 표시되는 3-(크로만-3-카복사미도)-3-(3,4-디메톡시페닐)프로판산(3-(chroman-3-carboxamido)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 항염증용 조성물에 관한 것이다:

[0009]

[화학식 1]



[0010]

[0011]

본 발명에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 “AKOS027200780”, “Z224123804” 또는 “1051174-85-6”로도 명명된다.

[0012]

본 발명에서 상기 약학적으로 허용되는 염은, 의학적 적용에 적합한 것으로 당업자에 의해 일반적으로 간주되는 염(예를 들어 이러한 염이 상기 염으로 치료될 수 있는 대상체에게 유해하지 않기 때문임), 또는 각각의 치료 내에서 허용 가능한 부작용을 야기하는 염이다. 일반적으로, 상기 약학적으로 허용되는 염은 미국 식품 의약국(FDA), 유럽 의약청(EMA), 또는 일본 후생성의 의약품 의로기기 종합기구(PMDA)와 같은 규제 당국에 의해 허용되는 것으로 간주되는 염이다. 그러나, 본 발명은 원칙적으로, 예를 들어 본 발명에 따른 화합물 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체의 제조에서의 중간체, 또는 본 발명에 따른 화합물의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체의 제조에서의 중간체로서, 그 자체로는 약학적으로 허용되지 않는 본 발명에 따른 화합물의 염을 또한 포함한다. 상기 염은 수불용성 염을 포함하고, 특히, 수용성 염을 포함한다.

[0013]

각각의 경우에, 당업자는 본 발명에 따른 특정 화합물 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체가 염을 형성할 수 있는지 여부, 즉, 상기 본 발명에 따른 화합물 또는 그의 생리학적으로 작용성인 유도체가, 예를 들어 아미노기, 카르복실산기 등과 같은 전하를 띌 수 있는 기를 가지는지 여부를 쉽게 결정할 수 있다.

[0014]

본 발명의 화합물의 예시적인 염은 산 부가 염 또는 염기와의 염, 특히 약학적으로 허용되는 무기산 및 유기산 부가 염 및 약학에서 통상적으로 사용되는 염기와의 염이며, 이는 수불용성 또는 특히 수용성 산 부가 염이다. 본 발명의 화합물의 치환기에 따라 염기와의 염이 또한 적합할 수 있다. 산 부가 염은, 예를 들어, 본 발명의 화합물의 용액을 염산, 황산, 푸마르산, 말레산, 석신산, 아세트산, 벤조산, 시트르산, 타르타르산, 탄산 또는 인산과 같은 약학적으로 허용되는 산의 용액과 혼합함으로써 형성될 수 있다. 마찬가지로, 약학적으로 허용되는 염기 부가 염은 알칼리 금속염(예를 들어, 나트륨 또는 칼륨 염); 알칼리 토금속 염(예를 들어, 칼슘 또는 마그네슘 염); 및 적합한 유기 리간드로 형성된 염(예를 들어, 할라이드, 하이드록사이드, 카복실레이트, 설페이트, 포스페이트, 니트레이트, 알킬 설포네이트 및 아릴 설포네이트와 같은 반대 음이온을 사용하여 형성된 암모늄, 4차 암모늄 및 아민 양이온)을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 염의 예시적인 예로는 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아르기네이트, 아스코르베이트, 아스파테이트, 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 바이카르보네이트

트, 바이설페이트, 바이타르트레이트, 보레이트, 브로마이드, 부티레이트, 칼슘 에데테이트, 캄포레이트, 캄포 설페이트, 캄실레이트, 카르보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 디글루코네이트, 디하이드로클로라이드, 도테 설페이트, 에데테이트, 에디설페이트, 에탄설페이트, 포르메이트, 푸마레이트, 갈락테이트, 갈락투로네이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 헥실레소르시네이트, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시-에탄설페이트, 하이드록시나프토에이트, 요오다이드, 이소부티레이트, 이소티오네이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 설페이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 만델레이트, 메탄설페이트(메실레이트), 메틸설페이트, 2-나프탈렌설페이트, 니코티네이트, 니트레이트, 올레이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 판토테네이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트/디포스페이트, 프탈레이트, 피크레이트, 피발레이트, 폴리갈락투로네이트, 프로피오네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 설페이트, 수베레이트, 석시네이트, 탄네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 운테카노에이트, 발레레이트 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0015] 본 발명에서 약학적으로 허용되지 않으며, 예를 들어, 산업적 규모로 본 발명에 따른 화합물을 제조하는 동안 공정 생성물로서 수득될 수 있는 염이 또한 본 발명에 포함되고, 요망되는 경우, 이는 당업자에게 알려진 방법에 의해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다.

[0016] 본 발명에서 용어, "염증"은 세포나 조직이 어떠한 원인에 의해 손상을 받으면 그 반응을 최소화하고 손상된 부위를 원상으로 회복시키려는 일련의 방어 목적으로 나타나는 현상으로, 신경 및 혈관, 림프관, 체액 반응, 세포 반응을 일으켜 결과적으로 통증, 부종, 발적, 발열 등을 일으켜 기능장애를 유발한다. 염증을 유발하는 원인으로 외상, 동상, 화상, 방사능 등에 의한 물리적 요인과 산(acid)과 같은 화학물질에 의한 화학적 요인 및 항체 반응에 의한 면역학적 요인들이 있으며, 그 외에 혈관이나 호르몬 불균형에 의해서도 발생된다. 외부 자극으로 손상된 세포들은 염증 유발 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)류, 케모카인(chemokine), 인터루킨(interleukine), 인터페론(interferon) 등의 다양한 생물학적 매개 물질을 분비하여 혈관 확장이 일어나고 투과성이 높아짐에 따라 항체, 보체, 혈장(plasma), 식균 세포들이 염증 부위로 몰려들게 된다. 이러한 현상이 홍반의 원인이 된다.

[0017] 한편, 전사 인자 중 핵 인자- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)와 활성화 단백질-1(activating protein-1, AP-1)은 염증 등의 반응에서 중요한 조절자에 해당하는데, 다양한 세포 자극은 공통의 상위 키나제인 전환 성장인자 β -활성 키나제 1(transforming growth factor- β -activated kinase 1, TAK1)을 통해 이들 신호 경로를 이용하는 것으로 알려져 있다(Sakurai H. Targeting of TAK1 in inflammatory disorders and cancer. Trends Pharmacol Sci. 2012 Oct;33(10):522-30. doi: 10.1016/j.tips.2012.06.007. Epub 2012 Jul 12. PMID: 22795313.). 또한, NF- κ B는 전염증성 사이토카인인 인터루킨 1(interleukin 1; IL-1) 및 종양 괴사 인자 α (tumor necrosis factor α ; TNF α) 등을 활성화시키거나 사이토카인, 케모카인 및 접착 분자 등 다른 전염증성 유전자의 발현을 조절함으로써 염증 반응을 조절하는 것으로 알려져 있다(Lawrence T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2009;1(6):a001651. doi:10.1101/cshperspect.a001651). 따라서, 이러한 TAK1 또는 NF- κ B를 타겟으로 하여 이들 활성 또는 발현을 억제함으로써 염증성 질환을 치료할 수 있다(Giridharan S, Srinivasan M. Mechanisms of NF- κ B p65 and strategies for therapeutic manipulation. J Inflamm Res. 2018;11:407-419https://doi.org/10.2147/JIR.S140188, Sakurai H. Targeting of TAK1 in inflammatory disorders and cancer. Trends Pharmacol Sci. 2012 Oct;33(10):522-30. doi: 10.1016/j.tips.2012.06.007. Epub 2012 Jul 12. PMID: 22795313.)

[0018] 본 발명에서 제공하는 화합물은 NF- κ B 또는 TAK1 단백질의 활성 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현을 억제하거나 염증성 사이토카인(cytokine)의 발현 또는 활성을 억제하여 항염증 효과가 뛰어나다.

[0019] 본 발명에서 용어, "항염증용 조성물(항염증제)"란 염증을 소실시키기 위해 염증원의 제거, 생체 반응 및 증상을 감소시키는 작용을 하는 약물을 의미한다.

[0020] 본 발명에서 상기 항염증용 조성물은 염증성 질환을 예방, 개선 또는 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0021] 본 발명에서 "염증성 질환"이란 외부의 물리·화학적 자극 또는 박테리아, 곰팡이, 바이러스, 각종 알레르기 유발 물질 등 외부 감염원의 감염에 대한 국부적 또는 전신적 생체 방어 반응으로 특징되는 어떠한 상태로서 정의될 수 있다. 이러한 반응은 각종 염증 매개 인자와 면역 세포와 관련된 효소(예컨대 iNOS, COX-2 등) 활성화, 염증 매개 물질의 분비(예컨대, NO, TNF- α , IL-6, IL-1 β , PGE2의 분비), 체액 침윤, 세포 이동, 조직 파괴 등

의 일련의 복합적인 생리적 반응을 수반하며, 홍반, 통증, 부종, 발열, 신체의 특정 기능의 저하 또는 상실 등의 증상에 의해 외적으로 나타난다. 상기 염증성 질환은 급성, 만성, 궤양성, 알레르기성 또는 괴사성을 띌 수 있으므로, 어떠한 질환이 상기와 같은 염증성 질환의 정의에 포함되는 한 그것이 급성이든지, 만성이든지, 궤양성이든지, 알레르기성이든지 또는 괴사성이든지 불문한다. 구체적으로 본 발명에서 상기 염증성 질환에는 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 백내장, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 폐혈증, 위궤양, 위염, 크론병, 치질, 강직성 척추염, 루푸스, 섬유근통, 건선, 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 다발성 경화증, 당뇨병, 피부경화증, 통풍, 퇴행성 신경변성 질환, 신경염증 질환, 규폐증, 죽상동맥경화증 및 허혈 등 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 본 발명의 다른 구현 예에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 3-(크로만-3-카복사미도)-3-(3,4-디메톡시페닐)프로판산(3-(chroman-3-carboxamido)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoic acid) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 관절염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0024] 본 발명에서 상기 "관절염"은 힘줄, 인대 및 근육 등과 같은 관절 주변의 조직뿐만 아니라 신체의 기타 기관 내에서의 관절의 만성 염증을 의미할 수 있고, 바람직하게는 골관절염, 퇴행성 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대 손상, 반월상 연골판 손상, 감염으로 인한 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 류마티스 관절염 및 소아기 류마티스 관절염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0025] 특히 본 발명에 있어서, 상기 퇴행성 관절염은 특발성 퇴행성 관절염 또는 속발성 퇴행성 관절염일 수 있다. "퇴행성 관절염"이란 관절을 보호하고 있는 연골의 점진적인 손상이나 퇴행성 변화로 인해 관절을 이루는 뼈와 인대 등에 손상이 일어나 염증과 통증이 생기는 질환으로 관절염 질환 중 가장 높은 빈도를 보이는 질환이다. 이 중 "특발성 퇴행성 관절염"이란 특별한 기질적 원인 없이, 노화 등에 의하여 발생하는 것이고 이를 일차성 퇴행성 관절염이라고도 한다. "속발성 퇴행성 관절염"이란 관절 연골에 손상을 줄 수 있는 외상, 질병 및 기형이 원인이 되는 것으로 세균성 관절염이나 결핵성 관절염 후 관절 연골이 파괴된 경우 등을 말하며 이차성 퇴행성 관절염이라고도 한다. 본 발명의 약학적 조성물은 특발성 퇴행성 관절염 또는 속발성 퇴행성 관절염에 모두 적용 가능하나, 보다 바람직하게는 노화로 인한 퇴행성 변화가 수반되는 특발성 관절염에 적용할 수 있다.

[0026] 본 발명의 관절염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에서 상기 "약학적으로 허용 가능한 염"의 정의는 앞서 기재된 바와 중복되어 명세서의 과도한 복잡을 피하고자 이하 그 기재를 생략한다.

[0028] 본 발명에서 용어, "예방"은 본 발명의 조성물을 이용하여 각종 질환의 증상을 차단하거나, 질환 증상의 억제 또는 지연시키는 모든 행위라면 제한없이 포함할 수 있다.

[0029] 본 발명에서, "개선" 및 "치료"는 본 발명의 조성물을 이용하여 각종 질환의 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위라면 제한없이 포함할 수 있다.

[0030] 본 발명에서 제공하는 조성물은 약학적 조성물 또는 식품 조성물로도 제공될 수 있다.

[0031] 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학적 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0032] 본 발명의 약학적 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 약제적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형할 수 있다.

[0033] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 항응집제, 윤활

제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

- [0034] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장 투여가 포함된다. 경구 또는 비경구 투여가 바람직하다.
- [0035] 본 발명에서, "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 발명의 약학적 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약학적 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여시간, 투여경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만 담당자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 50mg/kg 또는 0.001 내지 50mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 식품 조성물은 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 파자, 떡, 빵 등의 형태로 제조될 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 독성 및 부작용이 거의 없는 식물추출물로 구성된 것이므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 식품 조성물에 포함될 때 그 양은 전체 중량의 0.1 내지 50%의 비율로 첨가할 수 있다.
- [0039] 여기서, 상기 식품 조성물이 음료 형태로 제조되는 경우 지시된 비율로 상기 식품 조성물을 함유하는 것 외에 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 즉, 천연 탄수화물로서 포도당 등의 모노사카라이드, 과당 등의 디사카라이드, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜 등을 포함할 수 있다. 상기 향미제로서는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등) 등을 들 수 있다.
- [0040] 그 외 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0041] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 50 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

발명의 효과

- [0042] 본 발명의 조성물은 염증 반응의 표지 인자라고 할 수 있는 NF- κ B의 프로모터 활성이나 염증 반응의 활성 인자인 TAK1 단백질의 발현 수준을 감소시킴으로써 항염증 효과가 뛰어나며, 특히 염증 환경에서 연골 조직의 분해를 억제하여 관절염을 포함한 다양한 염증성 질환을 효과적으로 치료할 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0043] 도 1은 실시예 1에서 세포에 IL-1 β 및 M22를 처리한 뒤 NF- κ B 프로모터의 활성 변화를 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 2는 실시예 1에서 세포에 IL-1 β 및 M22를 처리한 뒤 p-P65 및 TAK1의 발현 수준의 변화를 확인한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 3은 실시예 2에서 인간 중간엽 줄기세포를 이용하여 분화 유도된 3D 연골 매트(mass)에 IL-1 β 및 M22를 처리한 뒤 각 염색 후 현미경으로 관찰한 사진을 나타낸 것이다.
- 도 4는 실시예 3에서 연골 매트릭스에 IL-1 β 및 M22를 처리한 뒤 각 염색 후 현미경으로 관찰한 사진을 나타낸 것이다.

도 5는 실시예 4에서 MIA 유도 마우스 관절염 모델에 M22를 처리한 뒤 H&E 염색을 수행한 뒤 현미경으로 관찰한 사진을 나타낸 것이다.

도 6은 실시예 4에서 MIA 유도 마우스 관절염 모델에 M22를 처리한 뒤 사프라닌 O 염색을 수행한 뒤 현미경으로 관찰한 사진을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

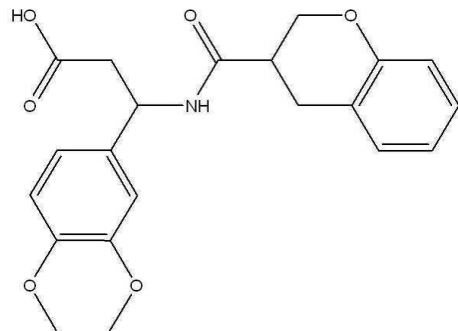
이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

실시예

[준비예 1] 화합물의 준비

하기 화학식 1로 표시되는 3-(크로만-3-카복사미도)-3-(3,4-디메톡시페닐)프로판산(3-(chroman-3-carboxamido)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoic acid)의 화합물을 준비하였다. 이하의 실험에서는 이를 'M22'로 명명하였다:

[화학식 1]



[실시예 1]

HEK 293T 세포에 NF- κ B 프로모터 루시페라제 리포터 플라스미드(luciferase reporter plasmid)를 형질주입 시약(transfection reagent)을 이용하여 일시적 형질주입(transient transfection)을 4시간 동안 수행한 뒤, 여기에 IL-1 β (10 ng/ml) 및 M22 (10 nM, 50 nM, 100 nM)를 처리한 36시간 후, NF- κ B 프로모터의 활성을 측정하여 그 결과를 도 1에 나타내었고, 웨스턴 블롯을 통해 p-P65 및 TAK1 단백질의 발현 수준을 측정하여 그 결과를 도 2에 나타내었다.

도 1에서 보는 바와 같이, 염증 반응의 표지 인자인 p-p65의 프로모터 활성이 IL-1 β 에 의해 증가되었는데, 본 발명의 화합물(M22)을 처리한 결과 농도 의존적으로 그 활성이 감소함을 확인할 수 있었다.

또한, 도 2에서 보는 바와 같이, 염증 반응의 활성 인자인 TAK1 단백질의 발현 수준이 IL-1 β 에 의해 증가되었는데, 본 발명의 화합물(M22)을 처리하자 그 발현 수준이 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[실시예 2]

1. 인간골수유래 중간엽 줄기세포의 배양

인간골수유래 중간엽 줄기세포를 10% 소태아혈청 (FBS; 기코) 및 1% 항생제-항진균제 용액 (기코)을 함유하는 둘베코 변형 이슬 배지-저 글루코스 (DMEM-LG; 기코, 칼스배드, 캘리포니아)에서 배양하였다. 그리고 80% 성장치 (confluence)에서 세포를 0.05% 트립신-EDTA (기코)를 사용하여 수확하였다. 수확된 세포는 원심분리하여 세척하고, 새로운 배지를 이용하여 재부유 (resuspended)시켜 새로운 플레이트에 접종 (seed)하였다. 배지는 2-3일 마다 교체하며 배양하였다.

2. 연골세포로의 분화

1×10^5 /10 μ l개의 인간 골수유래 중간엽 줄기세포를 플레이트에 하나의 드랍으로 형성하는 3D-매쓰(mass) 연골분화법을 통해 14일 간 연골 분화를 유도한 뒤, IL-1 β (10ng/ml)를 5일간 처리하면서 인-비트로(in-vitro) 염증

환경을 유도하는 동안 M22를 처리하였다. 상기 M22의 처리로 인하여 연골 매트릭스의 분해가 억제되는 지 확인하기 위하여 얻어진 연골 조직에 대하여 헤마톡실린&에오신(H&E) 염색을 수행하여 연골세포를 관찰하고, 사프란인 오(Safranin O) 염색 결과를 통해 프로테오글리칸(proteoglycan) 및 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan)의 존재 여부 및 알시안블루(Alcian blue) 염색을 통해 점다당질(GAGs, Glycosaminoglycans)의 존재 여부를 확인하였다. 또한, 형광 염색을 통해, IL-1 β 처리 후 남아있는 COL2A1 단백질과, 연골 매트릭스 분해 단백질인 MMP13의 발현을 비교하였다. 이러한 결과는 도 3에 나타내었다.

[0063] 도 3에서 보는 바와 같이, IL-1 β 처리 시 COL2A1 단백질의 발현이 억제되었으나, 본 발명에 따른 화합물을 처리하자 그 발현 수준이 다시 회복된 것을 확인할 수 있었다. 반면에, MMP13 단백질의 경우 IL-1 β 처리 시 그 발현 수준이 증가하였으나, 본 발명에 따른 화합물 처리 시 증가된 발현 수준이 다시 감소된 것을 확인할 수 있었다.

[0065] [실시예 3]

[0066] 연골치환술을 받는 골관절염 환자로부터 얻은 연골매트릭스 부위를 일정한 크기(5 X 5 X 3mm) 크기로 자른 뒤, 10% 소태아혈청 (FBS; 김코) 및 1% 항생제-항진균제 용액 (김코)을 함유하는 돌베코 변형 이틀 배지-고 글루코스 (DMEM-HG; 김코, 칼스배드, 캘리포니아) 배지가 담긴 6 웰 플레이트에서 IL-1 β 와 함께 2주간 반응시켰다. 배지와 IL-1 β 는 3일에 한번씩 교체 해주었다.

[0067] 도 4에서 보는 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 처리 시 IL-1 β 에 의한 인간 연골 매트릭스의 분해가 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

[0069] [실시예 4]

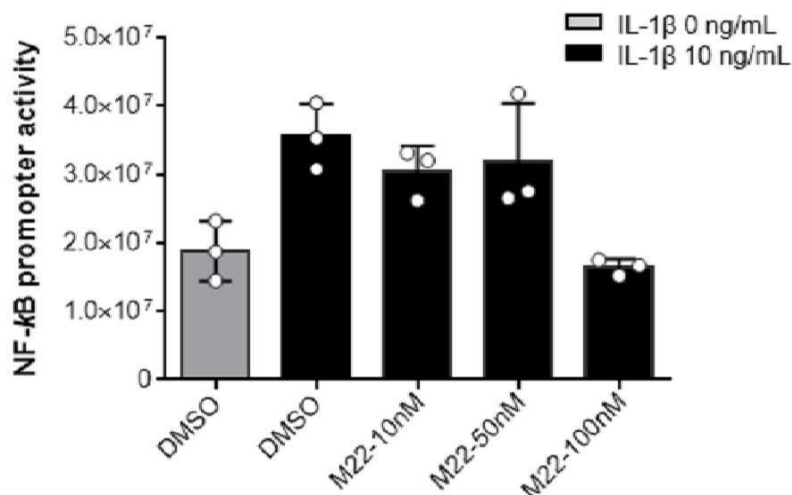
[0070] 마우스 골관절강 내에 MIA (monosodium iodoacetate-1mg)를 주입한 후, 다음날 부터 M22를 15 μ l(100 nM)씩 일주일에 두 번 주입하였다. MIA-유도 2주 및 3주 후 마우스 연골 조직을 취하여 헤마톡실린&에오신(H&E) 염색을 수행하여 연골의 형태학적 분석을 수행하여 연골의 분해 정도를 확인하였고, 사프란인 오(Safranin O) 염색을 수행하여 프로테오글리칸(proteoglycan) 및 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan)의 수준을 확인하였다. 이들 결과는 도 5 및 6에 나타내었다.

[0071] 도 5 및 6에서 보는 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물을 주입한 경우 연골층의 보존 정도가 우수함을 확인할 수 있었다.

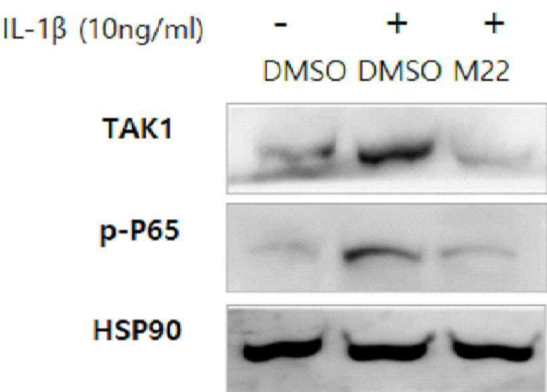
[0073] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

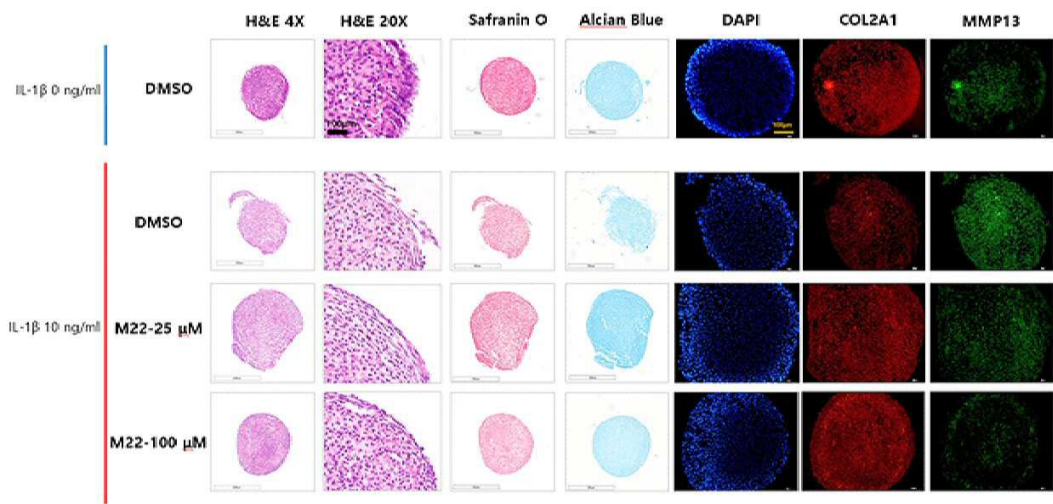
도면1



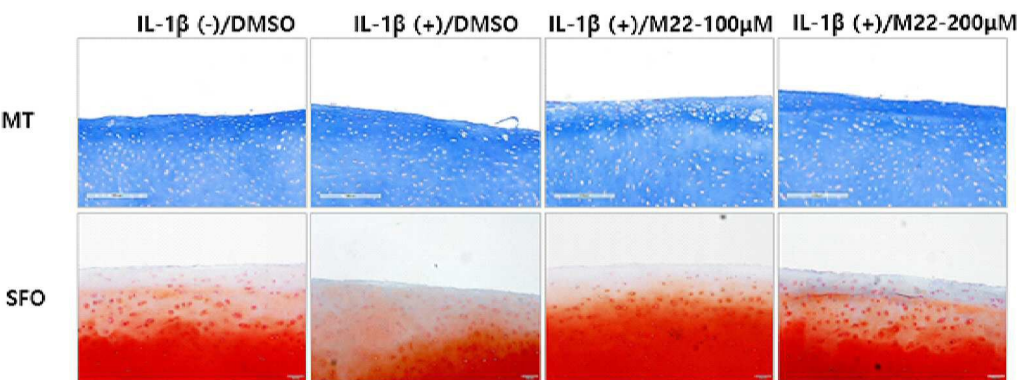
도면2



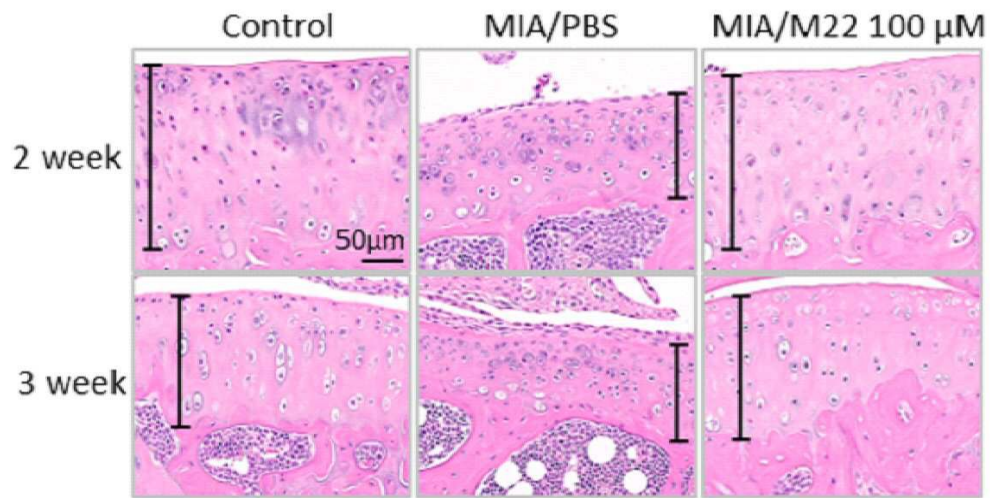
도면3



도면4



도면5



도면6

