



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0029566
(43) 공개일자 2018년03월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 33/00 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01) A61K 33/44 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 33/00 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2016-0117786

(22) 출원일자 2016년09월13일

심사청구일자 2017년08월31일

(71) 출원인

울산대학교 산학협력단

울산광역시 남구 대학로 93(무거동)

(72) 발명자

정현택

울산광역시 울주군 범서읍 장검길 88, 109동 180
1호 (울산 문수산 더샵)

조연수

울산광역시 울주군 언양읍 북문11길 9, 107동
1301호 (신울산 경남아너스빌)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 9 항

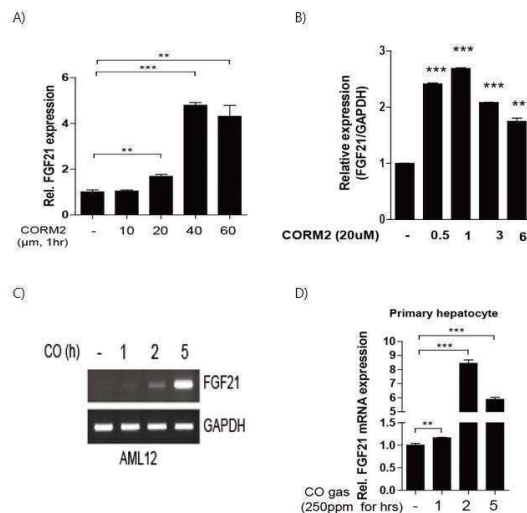
(54) 발명의 명칭 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 질환 또는 치매의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명의 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK(ER stress sensor) 신호전달 경로를 통해 FGF21(fibroblast growth factor 21) 및 sestrin2의 발현을 증가시킴으로써 비만 및 비알콜성 지방간 질환을 개선시킬 수 있으며, 치매 동물모델에서 BACE1(Beta-secretase 1) 발현, 및 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42의 분비를 감소시켜 기억 인지능력을 향상시킬 수 있다.

따라서, 상기와 같은 효과를 갖는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 33/06 (2013.01)

A61K 33/44 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2200/328 (2013.01)

A23V 2200/332 (2013.01)

Y10S 514/866 (2013.01)

Y10S 514/909 (2013.01)

(72) 발명자

김효정

울산광역시 울주군 범서읍 대리로 15-12, 107동
303호 (호반베르디움)

김세나

경상남도 창원시 마산합포구 무학로 214, 1602호
(월영동, 월영동성아파트)

진영경

울산광역시 중구 화합로 407, 신울산고시텔 404호

박정민

울산광역시 남구 수암로 315-2

박혁준

경상남도 창원시 마산회원구 회원동29길 34

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016-0657

부처명 미래부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 바이오의료기술개발사업

연구과제명 바이오활성가스를 이용한 염증성 대사질환제어 원천기술 개발(3)

기 여 율 1/1

주관기관 울산대학교

연구기간 2016.09.01 ~ 2017.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀; manganese decacarbonyl), CORM-2(Ru(CO)₃Cl₂; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3(Ru(CO)₃Cl(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1(Na₂(H₃BCO₂); sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소는 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 발생하는 것을 특징으로 하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK(ER stress sensor) 신호전달 경로를 통해 FGF21(fibroblast growth factor 21) 및 sestrin2의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 BACE1(Beta-secretase 1) 발현, 및 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42의 분비를 감소시키는 것을 특징으로 하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 대사성 증후군은 비만, 비알콜성 간질환, 내당장애, 과인슐린혈증, 과혈당증, 제 1형 및 제 2형 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 및 고지혈증인 것을 특징으로 하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 치매는 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 파킨슨 질환(Parkinson's disease), 크루즈펠트-야콥 질환(Creutzfeldt-Jacob disease), 찰스 보넷 증후군, 루이 소체 치매(Lewy body dementia) 및 혈관성 치매(vascular dementia)인 것을 특징으로 하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀; manganese decacarbonyl), CORM-2(Ru(CO)₃Cl₂; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3(Ru(CO)₃Cl(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1(Na₂(H₃BCO₂); sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 대사성 증후군은 비만, 비알콜성 간질환, 내당장애, 과인슐린혈증, 과혈당증, 제 1형 및 제 2형 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 및 고지혈증인 것을 특징으로 하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개

선용 건강식품 조성물.

청구항 9

제 7항에 있어서, 상기 치매는 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 파킨슨 질환(Parkinson's disease), 크루츠펬트-야콥 질환(Creutzfeldt-Jacob disease), 찰스 보닛 증후군, 루이 소체 치매(Lewy body dementia) 및 혈관성 치매(vascular dementia)인 것을 특징으로 하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 질환 또는 치매의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인간 적혈구의 수명은 약 120일(생쥐 60일)로 전 적혈구의 약 0.8%가 매일 사라진다. 노후된 적혈구는 비장, 간장 및 골수의 세망내피계세포나 마크로파지에 의해서 제거되는데, 이때 헤모글로빈은 글로빈과 색소 부분인 헴으로 나누어지고 헴은 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 분해된다. 헴 옥시게나제-1은 산화에 의하여 b-형 헴 분자의 α-메소 탄소 가교를 절단하여 동일 몰량의 빌리베르딘 IXa, 일산화탄소(CO) 및 유리 철을 생성시킨다. 이후, 빌리베르딘은 빌리베르딘 리덕타제에 의해 빌리루빈(bilirubin)으로 전환되어 담즙으로 배설되고, 유리 철은 페리틴(ferritin) 내로 격리된다는 이론이 1940년에 확립되었다.

[0003] 헴은 붉은 색, 빌리베르딘은 녹색, 빌리루빈은 노란색을 띠고 있어 타박상으로부터 생기는 멍이 처음에는 붉은 색을 띠다가 점점 푸른색, 담황색으로 변하는 것을 관찰할 수 있다. 이는 헴의 분해로 인해 색이 변화됨으로써 나타나는 현상이다.

[0004] 헴 옥시게나제-1에 의해 발생하는 일산화탄소는 생체 내에서 중요한 신호 분자로서 밝혀진 바 있으며, 특히, 일산화탄소는 뇌 뉴런의 메신저 분자로서, 시상하부 내의 신경-내분비 조절인자로서 작용한다는 내용이 보고된 바 있다. 또한, 일산화탄소는 평활근 이완제로 작용하고, 혈소판 응집을 억제하는 활성이 있으며, 저농도의 일산화탄소 흡입은 항산화 및 항염증에 효과가 있는 것이 보고된 바 있다. 또한, 최근에는 당 혹은 지방대사에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으나, 아직까지 정확한 기전은 밝혀진 바 없다.

[0005] 간 세포에서 많이 발현되는 섬유아세포 성장인자 21(fibroblast growth factor 21, FGF21)은 대사성 호르몬으로 비만을 조절하는 것으로 알려져 있다. FGF21의 비만 조절 기전으로 열로 에너지 소비에 큰 역할을 하는 갈색 지방(brown fat)의 유도가 중요하다. 또한, 항산화 역할을 하는 sestrin2는 mTOR(mechanistic target of rapamycin) 신호전달에 중요한 역할을 하는 단백질이며, 신진대사의 항상성에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0006] 치매(dementia) 신경세포의 손상 및 손실로 기억력, 집중력, 언어 및 인지 등에 심한 장애가 오랜 시간 점진적으로 진행되어 궁극적으로 정신능력과 사회적 활동 능력의 소실에 이르게 하는 증후군으로서, 대표적인 질환은 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)이다. 알츠하이머 질환을 유발시키는 다양한 기전 중 하나로, Tau 단백질이 인산화되어 미세소관(microtubule)에 축적되어 뇌 손상을 일으키거나 아밀로이드 β(amyloid β)가 제대로 분해되지 못하고 축적되어 플라크(plaque)를 형성하여 뇌 손상을 일으킴으로써 치매를 유발한다고 알려져 있다. 아밀로이드 전구체 단백질은 α-세크레타아제(α-secretase)에 의하여 정확한 위치에서 분해되어 대사되거나 혹은 β-세크레타아제(BACE-1)에 의하여 다른 위치에서 잘림으로써 아밀로이드 β 40, 아밀로이드 β 42를 축적시켜 프라크를 형성하여 뇌 손상을 일으킨다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제 10-1398368호 (2014.05.15 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 데에 있다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀; manganese decacarbonyl), CORM-2(Ru(CO)₃Cl₂; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3(Ru(CO)₃Cl(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1(Na₂(H₃BCO₂); sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀; manganese decacarbonyl), CORM-2(Ru(CO)₃Cl₂; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3(Ru(CO)₃Cl(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1(Na₂(H₃BCO₂); sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명의 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK(ER stress sensor) 신호전달 경로를 통해 FGF21(fibroblast growth factor 21) 및 sestrin2의 발현을 증가시킴으로써 비만 및 비알콜성 지방간 질환을 개선시킬 수 있으며, 치매 동물모델에서 BACE1(Beta-secretase 1) 발현, 및 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42의 분비를 감소시켜 기억 인지능력을 향상시킬 수 있다.
- [0013] 따라서, 상기와 같은 효과를 갖는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1은 마우스 간 세포주인 AML12 세포 또는 일차 간 세포(primary hepatocyte)에서 CORM-2 또는 일산화탄소에 의한 FGF21 발현 증가를 중합효소 연쇄 반응으로 확인한 것이다.
- 도 2는 PERK 야생형, PERK 녹-아웃 또는 PERK siRNA를 이용하여 벡터를 제조하고 형질전환 시킨 세포에서 CORM-2에 의한 FGF21 발현 증가를 웨스턴 블랏으로 확인한 것이다.
- 도 3은 PERK 야생형 또는 PERK 녹-아웃 마우스를 이용한 동물실험에서 고지방식이에 의한 체중 증가 및 간 손상에 대한 일산화탄소의 회복 효과를 확인한 것이다.
- 도 4는 마우스 간 세포주인 AML12 세포 또는 일차 간 세포에서 CORM-2 또는 일산화탄소에 의한 sestrin2의 mRNA 발현 증가를 중합효소 연쇄 반응으로 확인한 것이다.
- 도 5는 메티오닌-콜린 결핍 식이를 이용한 비알콜성 지방간 질환 동물모델에서 간 손상에 대한 일산화탄소의 회복 효과를 확인한 것이다.
- 도 6은 PERK 야생형 또는 PERK siRNA를 이용하여 벡터를 제조하고 형질전환 시킨 세포에서 일산화탄소에 의한 sestrin2의 mRNA 발현 증가를 중합효소 연쇄반응으로 확인한 것이다.
- 도 7은 치매 동물모델에서 일산화탄소에 의한 기억 인지능력 향상 효과를 확인한 것이다.
- 도 8은 신경세포주 SH-SY5Y에서 CORM-2에 의한 BACE1 발현 감소를 중합효소 연쇄 반응 및 웨스턴 블랏으로 확인

한 것이다.

도 9는 신경세포주 SH-SY5Y에서 CORM-2에 의한 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42 분비의 감소를 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 본 발명에서 발명자들은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체가 PERK 신호전달 경로를 통해 FGF21 및 sestrin2의 발현을 증가시켜 비만 및 비알콜성 지방간 질환을 개선시키는 것을 확인하였고, 치매 동물모델에서 BACE1의 발현, 및 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42의 분비를 감소시켜 기억 인지능력을 향상시키는 것을 확인하며 본 발명을 완성하였다.
- [0017] 본 발명에서 사용된 용어 “예방”은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체에 의해 대사성 증후군 또는 치매를 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0018] 본 발명에서 사용된 용어 “치료”는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체에 의해 대사성 증후군 또는 치매의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [0019] 본 발명에서 사용된 용어 “일산화탄소(CO)”는 액체 형태로 압출된 또는 수용액에 용해된 기체상인 분자 일산화탄소로 정의할 수 있으며, “일산화탄소를 포함하는 조성물”은 이를 필요로 하는 개체에 처리 또는 투여될 수 있는 일산화탄소를 함유하는 기체 또는 액체 조성물을 의미한다.
- [0020] 본 발명에서 사용된 용어 “형질전환”은 어떤 생물이 원래는 지니고 있지 않은 외부 유전자를 염색체상에 인위적으로 삽입하거나, 원래 지니고 있는 유전자를 제거하여 그 생물의 유전적 형질 일부를 변화시키는 것이다. 형질전환의 방법은 여러 가지가 있으나 가장 많이 사용되는 방법으로는 지질 매개 유전자 도입(lipid mediated gene transfer), 정자 매개 유전자 도입(sperm mediated gene transfer), 전기천공법(electroporation), 상동성 재조합(homologous recombination), 미세주입법 등이 대표적이다.
- [0021] 본 발명에서 사용된 용어 “벡터(vector)”는 외래 유전자를 숙주세포 내로 안정적으로 운반할 수 있는 운반체로서의 DNA 분자를 말한다. 유용한 벡터가 되기 위해서는 복제될 수 있어야 하며, 숙주세포 내로 유입될 수 있어야 하고, 자신의 존재를 검출할 수 있는 수단을 구비하여야 한다. 상기 벡터에 의하여 특정 유전자에 외래 유전자를 삽입시키거나 특정 유전자 형질발현을 붕괴(knock-out)시킬 수 있다.
- [0023] 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1($\text{Mn}_2\text{CO}_{10}$; manganese decacarbonyl), CORM-2($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glycinate})$; tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($\text{Na}_2(\text{H}_3\text{BCO}_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0024] 바람직하게는, 상기 일산화탄소는 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 발생하는 것일 수 있다.
- [0025] 바람직하게는, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK(ER stress sensor) 신호전달 경로를 통해 FGF21(fibroblast growth factor 21) 및 sestrin2의 발현을 증가시킬 수 있다.
- [0026] 바람직하게는, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 BACE1(Beta-secretase 1) 발현, 및 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42의 분비를 감소시킬 수 있다.
- [0027] 바람직하게는, 상기 대사성 증후군은 비만, 비알콜성 간질환, 내당장애, 과인슐린혈증, 과혈당증, 제 1형 및 제 2형 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 및 고지혈증일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0028] 바람직하게는, 상기 치매는 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 파킨슨 질환(Parkinson's disease), 크루즈펠트-야콥 질환(Creutzfeldt-Jacob disease), 찰스 보넷 증후군, 루이 소체 치매(Lewy body dementia) 및 혈관성 치매(vascular dementia)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

- [0030] 본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있는데, 이러한 약제학적으로 허용되는 담체는 약품 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 약학 조성물은 첨가제 및 보조제로서 충전제, 중량제, 결합제, 윤활제, 습윤제, 붕해제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 방향제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0031] 상기 약학 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수용액, 유제, 동결건조제, 좌제 및 멸균 주사용액으로 제형화할 수 있다.
- [0032] 상기 약학 조성물은 증상 정도에 따라 투여 방법이 결정되는데, 정맥내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여, 근육내 투여, 흉골내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 안구내 투여, 직장 내 투여, 국소 투여, 경구 투여 및 흡입을 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- [0033] 상기 약학 조성물의 유효성분의 유효량은 질환의 예방 또는 치료 요구되는 양을 의미한다. 따라서, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0035] 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀; manganese decacarbonyl), CORM-2(Ru(CO)₃Cl₂; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3(Ru(CO)₃Cl(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1(Na₂(H₃BCO₂); sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 대사성 증후군 또는 치매의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0036] 바람직하게는, 상기 대사성 증후군은 비만, 비알콜성 간질환, 내당장애, 과인슐린혈증, 과혈당증, 제 1형 및 제 2형 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 및 고지혈증일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0037] 바람직하게는, 상기 치매는 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 파킨슨 질환(Parkinson's disease), 크루츠펠트-야콥 질환(Creutzfeldt-Jacob disease), 찰스 보닛 증후군, 루이 소체 치매(Lewy body dementia) 및 혈관성 치매(vascular dementia)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0039] 상기 건강식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강식품 조성물은 상기 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0040] 상기 건강식품 조성물에 함유된 상기 유효성분의 유효용량은 상기 약학 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.
- [0041] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.
- [0043] 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

- [0045] 실시예 1 : 일산화탄소 방출분자-2(CO releasing molecule-2, CORM-2) 또는 일산화탄소(CO)에 의한 FGF21 발현 증가
- [0046] 마우스 간 세포주인 AML(alpha mouse liver 12) 또는 일차 간 세포(primary hepatocytes)에 일산화탄소 공급체(CORM-2) 또는 일산화탄소를 농도 별로 처리하고 배양한 후, 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여 FGF21의 mRNA 발현을 측정하였다.
- [0047] 그 결과, 도 1을 참조하여 보면, (A) 및 (C)는 마우스 간 세포주인 AML12 에 CORM-2 또는 일산화탄소를 각각 처리한 것으로, 대조군에 비해 FGF21의 mRNA 발현이 증가하는 것을 확인하였다. 또한, (B) 및 (D)는 일차 간 세포에 CORM-2 또는 일산화탄소를 각각 처리한 것으로, 대조군에 비해 FGF21의 mRNA 발현이 증가하는 것을 확인하였다.
- [0048] 따라서, 일산화탄소 또는 CORM-2는 비만을 억제하는 물질인 FGF21의 생성을 유도하는 것을 확인하였다.
- [0050] 실시예 2 : PERK 신호전달 경로를 통한 일산화탄소 유도 FGF21의 발현 증가
- [0051] 일산화탄소 또는 CORM-2에 의한 FGF21 발현의 증가가 PERK 신호전달 경로에 의존적으로 일어나는지를 확인하기 위하여, PERK가 녹아웃(knock-out)된 마우스에서 분리한 세포와 PERK siRNA(small interfering RNA)를 이용하여 백터를 제조하고 형질전환(transfection) 시켜 PERK의 발현을 억제한 세포에서 CORM-2를 처리한 후 FGF21 발현을 웨스턴 블랏으로 측정하였다.
- [0052] 그 결과, 도 2를 참조하여 보면, PERK가 정상적으로 발현되는 세포에서는 CORM-2를 처리하였을 때, FGF21의 발현이 증가하는 것이 관찰하였으나 PERK가 녹아웃된 마우스에서 분리한 세포 또는 PERK siRNA를 형질전환시켜 PERK의 발현을 억제한 세포에서는 CORM-2를 처리하였을 때, FGF21의 발현에 변화가 없는 것을 관찰하였다.
- [0053] 따라서, 일산화탄소에 의해 증가된 FGF21의 발현은 PERK 신호전달 경로에 의존적으로 일어나는 것을 확인하였다.
- [0055] 실시예 3 : 고지방식이(high fat diet, HFD)에 의해 유도된 체중 증가 및 간 손상에서 일산화 탄소 및 FGF21의 효과
- [0056] FGF21 야생형 마우스 또는 FGF21 녹아웃 마우스를 이용하여 고지방식으로 인한 체중 증가에 있어서 일산화탄소 및 FGF21의 효과를 관찰하였다.
- [0057] 그 결과, 도 3A를 참조하여 보면, FGF21 야생형 마우스에 고지방식이의 제공은 마우스의 체중을 증가시켰으나 고지방식이에 일산화탄소를 함께 처리하였을 때 체중이 감소하는 것을 확인하였다. 그러나, FGF21 녹아웃 마우스에 고지방식이의 제공은 마우스의 체중을 증가시켰으나 고지방식이에 일산화탄소를 함께 처리하였을 때 체중의 변화를 관찰할 수 없었다.
- [0058] 따라서, 고지방식으로 인한 체중 증가가 일산화탄소에 의해 감소하는 것이 일산화탄소에 의해 증가된 FGF21에 의한 것임을 확인할 수 있었다.
- [0059] 또한, 도 3B를 참조하여 보면, FGF21 야생형 마우스에서 고지방식이의 제공은 간 손상을 발생시켜 간 손상 지수인 ALT를 증가시켰으나 고지방식이에 일산화탄소를 함께 처리하였을 때 ALT가 감소하는 것을 확인하였다. 그러나, FGF21 녹아웃 마우스에서는 일산화탄소 처리에도 불구하고 ALT의 변화를 관찰할 수 없었다.
- [0060] 따라서, 고지방식으로 인한 ALT의 증가가 일산화탄소에 의해 감소하는 것이 일산화탄소에 의해 증가된 FGF21에 의한 것임을 확인할 수 있었다.
- [0062] 실시예 4 : CORM-2 또는 일산화탄소에 의한 sestrin2 발현 증가
- [0063] 항산화 역할을 하는 sestrin2는 mTOR(mechanistic target of rapamycin) 신호전달에 중요한 역할을 하는 단백질이며, 신진대사의 항상성에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다.
- [0064] 마우스 간 세포주인 AML12, 일차 간 세포 또는 마우스 간 조직에 CORM-2 또는 일산화탄소를 농도 별로 처리하고 배양한 후, 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여 sestrin2의 mRNA 발현을 측정하

였다.

[0065] 그 결과, 도 4를 참조하여 보면, (A), (B) 및 (C)는 AML12 세포주에 CORM-2 또는 일산화탄소를 각각 처리한 것으로 대조군에 비해 sestrin2의 mRNA 발현이 증가하는 것을 확인하였다. 또한, (D)는 일차 간 세포에 일산화탄소를 처리한 것으로 대조군에 비해 sestrin2의 mRNA 발현이 증가하는 것을 확인하였으며, (E)는 마우스 간 조직에 일산화탄소를 처리한 것으로 대조군에 비해 sestrin2의 mRNA 발현이 증가하는 것을 확인하였다.

[0066] 따라서, 일산화탄소 또는 CORM-2는 비만을 억제하는 물질인 sestrin2의 생성을 유도하는 것을 확인하였다.

[0068] **실시예 5 : 비알콜성 지방간 질환(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)에 있어서 일산화탄소 유도 sestrin2의 효과**

[0069] 메티오닌-콜린 결핍 식이(methionine choline deficient diet, MCD)를 마우스에 2주 정도 제공하면 비알콜성 지방간 질환이 발생하게 된다. 비알콜성 지방간 질환 동물모델에서 일산화탄소에 의해 유도되는 sestrin2의 효과를 관찰하였다.

[0070] 그 결과, 도 5(A)를 참조하여 보면, 메티오닌-콜린 결핍 식이에 의해 마우스의 간에 트라이글리세라이드(triglyceride, TG)가 축적되고 간 손상의 지수인 ALT 및 AST가 증가하는 것을 확인하였다. 그러나 메티오닌-콜린 결핍 식이와 함께 일산화탄소를 처리하면 트라이글리세라이드, ALT 및 AST가 감소하는 것을 확인하였다.

[0071] 또한, 도 5(B) 및 도 5(C)를 참조하여 보면, 메티오닌-콜린 결핍 식이와 일산화탄소를 함께 처리한 간 조직에서 sestrin2의 mRNA 발현 및 단백질 발현이 증가하는 것을 확인하였다.

[0072] 따라서, 일산화탄소에 의해 증가된 sestrin2는 비알콜성 간질환 치료에 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

[0074] **실시예 6 : PERK 신호전달 경로를 통한 일산화탄소 유도 sestrin2의 발현 증가**

[0075] 일산화탄소에 의한 sestrin2 발현의 증가가 PERK 신호전달 경로에 의존적으로 일어나는지를 확인하기 위하여, PERK siRNA를 이용하여 벡터를 제조하고 형질전환 시켜 PERK의 발현을 억제한 세포에서 일산화탄소를 처리한 후 sestrin2의 mRNA 발현을 중합효소 연쇄 반응을 이용하여 측정하였다.

[0076] 그 결과, 도 6을 참조하여 보면, PERK가 정상적으로 발현되는 세포에서는 일산화탄소를 처리하였을 때, sestrin2의 mRNA 발현이 증가하는 것을 관찰하였으나 PERK siRNA를 이용하여 벡터를 제조하고 형질전환 시켜 PERK의 발현을 억제한 세포에서 일산화탄소를 처리하였을 때, sestrin2의 mRNA 발현에 변화가 없는 것을 관찰하였다.

[0077] 따라서, 일산화탄소에 의해 증가된 sestrin2의 발현은 PERK 신호전달 경로에 의존적으로 일어나는 것을 확인하였다.

[0079] **실시예 7 : 치매 동물모델에서 일산화탄소에 의한 기억 인지능력 향상 효과**

[0080] 뇌 손상으로 치매를 유발시킨 동물모델을 이용하여 water maze 실험을 통해 일산화탄소에 의한 기억 인지능력 효과를 관찰하였다.

[0081] 그 결과, 도 7을 참조하여 보면, CORM-2의 처리는 농도의존적으로 기억 인지능력을 향상시키는 것을 확인하였다.

[0083] **실시예 8 : 일산화탄소에 의한 BACE1 발현 감소**

[0084] BACE1 발현에 있어서 일산화탄소의 효과를 확인하기 위해, 신경세포주(Neuroblastoma cell line)인 SH-SY5Y 세포주에 CORM-2를 농도 별로 처리하고 배양한 후, 중합효소 연쇄 반응 및 웨스턴 블랏을 수행하여 BACE1의 발현을 측정하였다. 그 결과, 도 8(A)를 참조하여 보면, SH-SY5Y 세포주에 CORM-2를 처리하면 BACE1의 발현이 감소하는 것을 확인하였다.

[0085] 도 8(B) 및 도 8(C)는 고지방 고콜레스테롤(High fat High cholesterol, HFC)을 이용한 치매 동물모델에서 뇌

피질(cortex) 조직을 채취한 후, 피질 조직 시료에서 일산화탄소에 의한 BACE1의 발현 조절을 관찰한 결과로, 고지방 고콜레스테롤은 BACE1의 mRNA 발현 및 단백질 발현을 증가시켰으나 일산화탄소 처리에 의하여 감소하는 것을 확인하였다.

[0087] 실시예 9 : 일산화탄소에 의한 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42의 감소

[0088] SH-SY5Y 세포주에 CORM-2를 농도 별로 처리하고 배양한 후, 치매를 유발시키는 아밀로이드 β 40 또는 아밀로이드 β 42의 분비를 측정하였다.

[0089] 그 결과, 도 9를 참조하여 보면, CORM-2의 처리는 농도의존적으로 아밀로이드 β 40 및 아밀로이드 β 42의 분비를 감소시키는 것을 확인하였다.

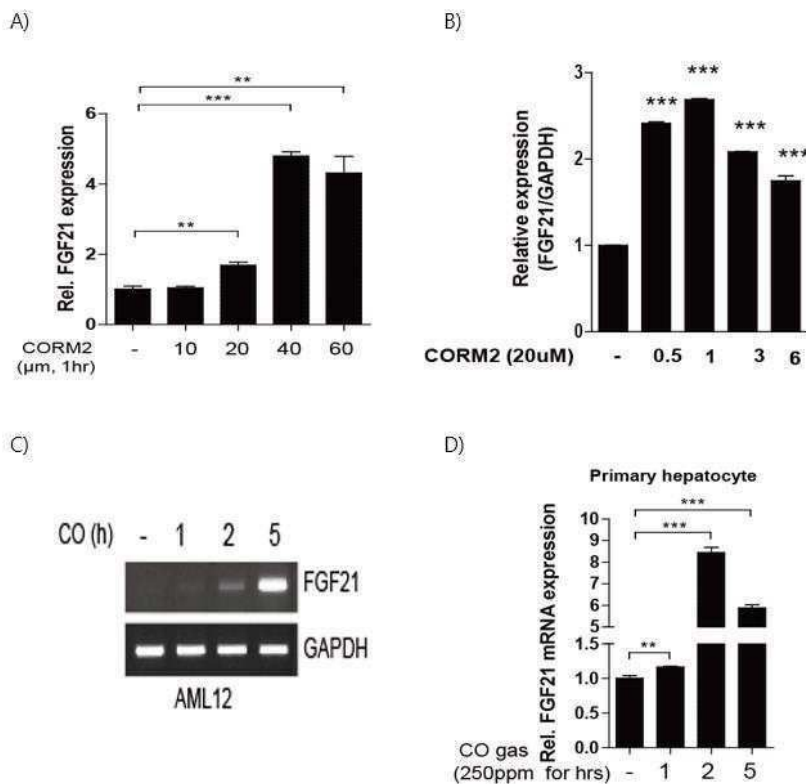
[0091] 따라서, 치매 동물모델 결과에서 일산화탄소의 처리는 BACE1의 발현을 감소시키고, 기억 인지능력을 향상시켰으며, 아밀로이드 β 40, 42를 감소시킴으로써, 일산화탄소가 치매 치료에 부작용 없이 활용이 가능할 것으로 사료된다.

[0093] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술한 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0094] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

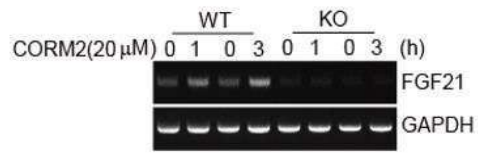
도면

도면1



도면2

A)

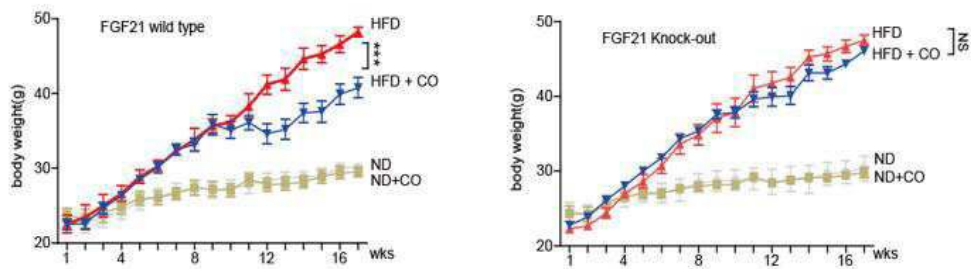


B)

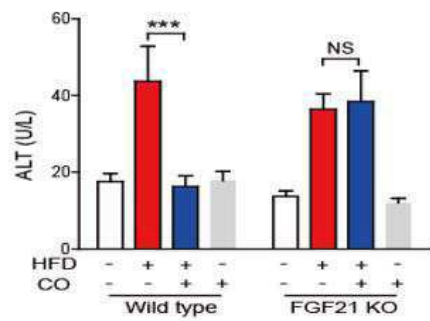


도면3

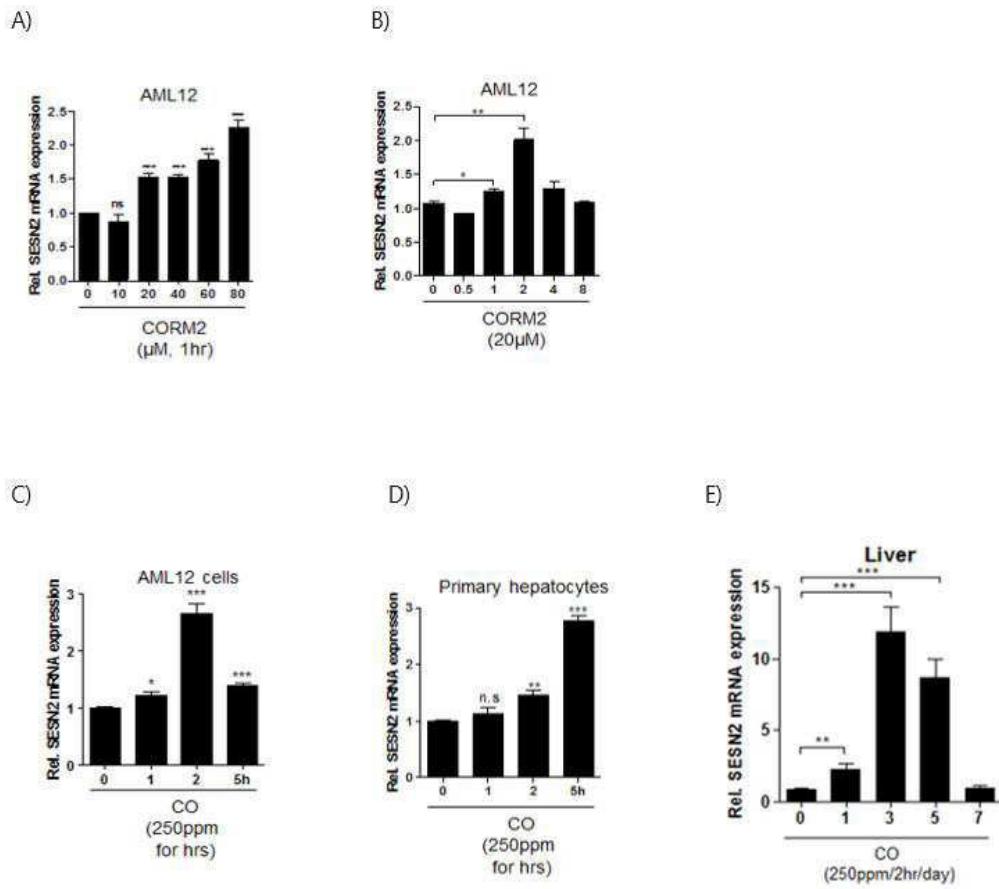
A)



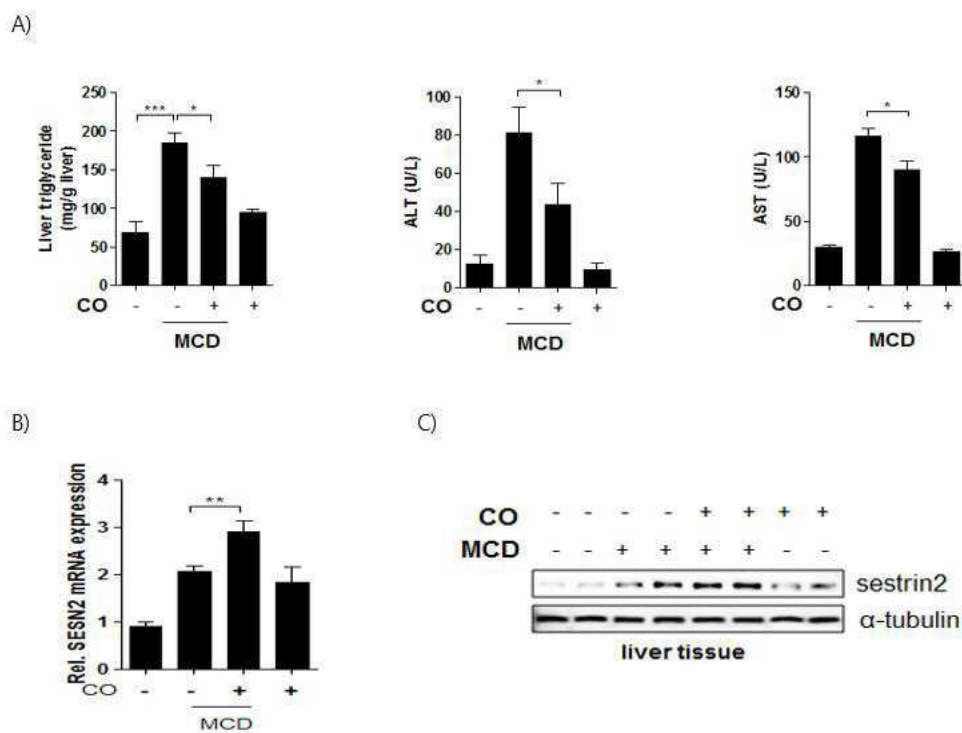
B)



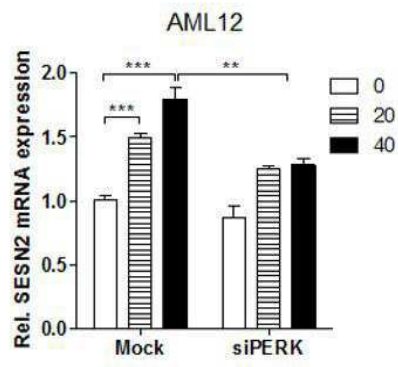
도면4



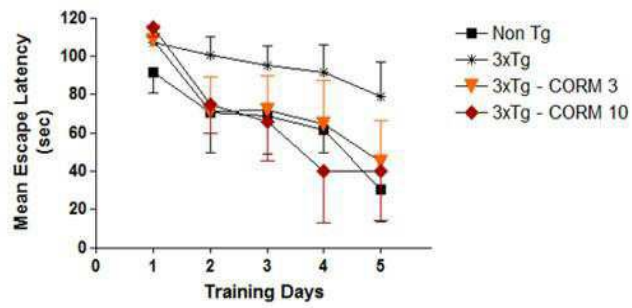
도면5



도면6

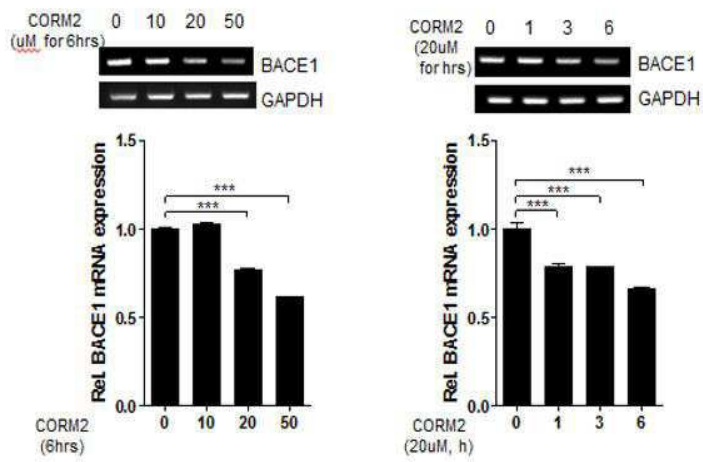


도면7

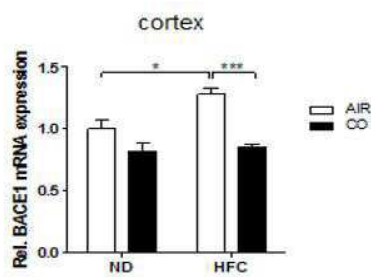


도면8

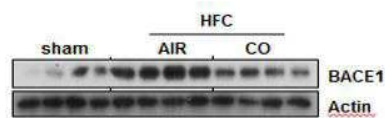
A)



B)

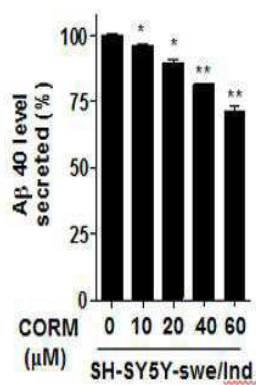


C)



도면9

A)



B)

