(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0079376
(43) 공개일자 2021년06월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7016 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61K 8/14 (2006.01) *A61K 8/60* (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01) *A61K 9/51* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01) *C07H 13/02* (2006.01)
C07H 3/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/7016 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2021-7017487(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년01월13일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2018-7023369
원출원일자(국제) 2017년01월13일
심사청구일자 2018년10월11일
(85) 번역문제출일자 2021년06월07일
(86) 국제출원번호 PCT/KR2017/000505
(87) 국제공개번호 WO 2017/123066
국제공개일자 2017년07월20일
(30) 우선권주장
1020160004383 2016년01월13일 대한민국(KR)

(71) 출원인
주식회사 베네비오
서울특별시 마포구 월드컵북로 402, 케이지아이티 상암센터 1단지 911호 923호 (상암동)
(72) 발명자
강승우
서울시 마포구 성암로7길 3, 202동 1203호
(74) 대리인
공병옥

전체 청구항 수 : 총 66 항

(54) 발명의 명칭 **PGC-1알파의 발현을 증가시키는 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 유효성분으로서 다음 일반식 I로 표시되는 화합물, 그의 염, 또는 용매화물을 포함하는, 퍼옥시좀 증식촉진자-활성화된 수용체 조활성인자 1-알파(peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1-alpha: PGC-1α)의 발현 감소와 연관된 질병 또는 증상을 예방 또는 치료하기 위한 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61K 8/14 (2013.01)
A61K 8/60 (2013.01)
A61K 9/127 (2013.01)
A61K 9/51 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
C07H 13/02 (2013.01)
C07H 3/04 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

유효성분으로서 다음 일반식 I로 표시되는 화합물, 그의 염, 수화물 또는 용매화물을 포함하는, 퍼옥시좀 증식 촉진자-활성화된 수용체 조활성인자 1-알파(peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1-alpha: PGC-1α)의 발현 감소와 연관된 질병 또는 증상을 예방 또는 치료하기 위한 조성물:

일반식 I: S-(MS)p-(MS)q,

상기 일반식에서, S는 시알산이고, (MS)p 및 (MS)q는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, PGC-1α의 발현 감소와 연관된 질병 또는 증상은 퇴행성 신경질환, 대사성 질환, 국소지방제거 및 지질 대사 관련 질환, 노화 및 노화에 기인한 질병, 근육감소(Sarcopenia, cachexia) 및 근육감소에 기인한 질병으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 화합물은 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc인 것인 조성물.

청구항 4

제 2 항에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머질병(Alzheimer's disease (AD)), 근위축성 측색 경화증, 루게릭병(amyotrophic lateral sclerosis (ALS)), 듀켄근이영양증(Duchenne muscular dystrophy), 파킨슨질병(Parkinson's disease (PD)), 헌팅턴질병(Huntington's disease (HD)), 픽병(Pick's disease), 커프병(Kuf's disease), 모르-트라네브야르그 증후군(Mohr-Tranebjaerg syndrome), 윌슨병, 산발성 알츠하이머병, 산발성 근위축성 측상 경화증, 산발성 파킨슨병, 자율기능 변화, 수면 장애, 신경정신병학적 장애, 우울, 정신분열증, 분열정동 장애, 코르사코프 정신증, 조증, 불안 장애, 공포 장애, 학습 또는 기억 장애, 기억상실증 또는 연령 관련 기억 손실, 주의력 결핍 장애, 기분저하 장애, 주요 우울 장애, 강박인격 장애, 정신활성 물질 사용으로 인한 장애, 공황 장애, 양극성 정동장애, 편두통, 과잉행동 장애 및 운동 장애에 의해 형성된 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 급성, 아급성 또는 만성 신경변성 질환을 포함하는 것인 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 급성 신경변성 질환은 뇌졸중, 뇌경색, 뇌출혈, 두부손상 또는 척수손상을 포함하며, 상기 아급성 신경변성 질환은 탈수초성 질환, 신경계 부종양증후군, 아급성 연합 변성(subacute combined degeneration), 아급성 괴사성 뇌염(subacute necrotizing encephalitis), 또는 아급성 경화성 범뇌염(subacute sclerosing encephalitis)을 포함하는 것인 조성물.

청구항 7

제 5 항에 있어서, 상기 만성 신경변성 질환은 노인성 치매, 혈관 치매, 미만성(diffuse) 백질 질환(빈스완거 질환), 내분비 또는 대사 기원 치매, 두부외상 및 미만성 뇌손상으로 인한 치매, 권투선수치매 및 전두엽 치매를 포함하는 기억 상실증, 알츠하이머 질환, 픽 질환, 미만성 루이소체 질환, 진행성 핵상 마비(스틸-리차드슨 증후군), 다계통위축증(multiple system degeneration), 신경변성과 관련된 만성 간질 상태, 근위축성측 삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis), 조화운동불능, 피질 기저 변성, ALS-파킨슨-치매 복합증 (ALS Parkinson's- Dementia complex of Guam), 아급성 경화 범뇌염, 헌팅톤 질환, 파킨슨 질환, 시뉴클레이노패씨(synucleinopathies), 일차 진행성 실어증 (primary progressive aphasia), 선조흑질 변성, 마카도-조셉 질환/척수소뇌성 실조증, 올리브교 변성을 포함하는 운동 신경세포 질환, 질 드 라 뚜렛 질환, 연수 및 거짓연수 마비, 척수 및 척수연수 근육 위축 (케네디 질환), 다발경화증, 원발 측삭 경화증, 유전성 연축성 대마비, 베르드

니히-호프만 질환, 쿠겔베르그-웰란더 질환, 테이-삭스 질환, 샌드호프 질환, 유전성 강직성 질환, 올파르트-쿠겔베르그-웰란더 (Wohlfart-Kugelberg-Welander) 질환, 강직성 하반신마비, 진행성다초점백질뇌증, 유전성 자율신경 실조증 (릴리-데이 증후군), 크로이츠펠트-야콥, 게르스트만-스트라우슬러-샤인커 질환, 쿠루병 및 치명적 유전성 불면증을 포함하는 프리온 질환, 또는 뇌성마비를 포함하는 것인 조성물.

청구항 8

제 2 항에 있어서, 상기 대사성 질환, 지질 대사 관련 질환, 노화 및 노화에 기인한 질병, 근육감소(Sarcopenia, cachexia) 및 근육감소에 기인한 질병에는, 글루코스신생에 대한 변화, 연조직염, 여성유방증, 가성여성유방증, 지방이영양증, 노화, 광노화, 피부 외상, 상해의 재상피화, 피부의 탈수, 건조증, 각질화 장애, 굳은살(callous), 딱딱한 피부, 편평태선, 루푸스와 관련된 피부 병변, 지루성 피부염, 노인성피부염, 비듬, 유아 지방관(cradle cap), 지루, 여드름의 과다지루, 일광성 피부염, 지루성 각화증, 노인성 각화증, 광선 각화증, 광유도 각화증, 모낭 각화증, 보통 여드름, 모반, 섬유아세포의 기능 변화, 결절근막염, 경피증, 듀피트렌 구축(Dupuytren's contracture), 피지선의 장애, 여드름 장미증, 다형성 여드름, 면포, 다형증, 장미증, 결정낭성 여드름, 응괴성 여드름, 노인성 여드름, 어린선, 다리어병(Darier’s disease), 수장족저 각피증, 백판증, 점막 태선, 피부 태선, 습진, 심상성 사마귀, 편평 사마귀, 사마귀양 표피이형성증, 구강 유두종증, 홍반성 루푸스, 수포성 질환, 수포성 유천포창, 경피증, 광선 각화증, 색소침착 장애, 백반증, 원형 탈모증, 루이소체 질환(Lewy Body disease), 신경섬유 농축체, 로젠탈 섬유(Rosenthal fiber), 말로리 초자체(Mallory’s hyaline), 중증근육무력증, 질 드 라 뚜렛 증후군, 다발성 경화증, 근위축성 축색 경화증, 진행성 핵상 마비, 간질, 크로이츠펠트-야콥병, 난청-근육긴장이상 증후군, 라이병(Leigh’s disease), 레버 유전성 시신경병증(Leber's hereditary optic neuropathy), 근육긴장이상, 운동 신경원 질환, 신경병증 증후군, 운동실조증 및 망막색소변성증, 모계 유전 라이병, 프리드리히 운동실조증, 유전성 강직성 대마비에 의해 형성된 군으로부터 선택되는 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 용액, 현탁액, 시럽제, 에멀젼, 리포좀, 산제, 분말제, 과립제, 정제, 서방형 제제 및 캡슐제로 구성된 군으로부터 선택된 제형인 것인 조성물.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 상기 조성물은 경구 투여용 조성물이고 리포좀을 포함한 약물 전달체 또는 서방형제제의 제형인 것인 조성물.

청구항 11

제 9 항에 있어서, 상기 조성물은 비경구 투여용 조성물이고 리포좀 및 초음파 조영제(ultrasound contast agent)를 포함한 약물전달체 또는 서방형제제의 제형인 것인 조성물.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 약제학적 조성물, 기능성 화장품학적 조성물, 기능성 식품(nutraceutical) 조성물 또는 식품 조성물인 것인 조성물.

청구항 13

제 1 항에 있어서, 상기 염은 약학적으로 허용가능한, 화장품학적으로 허용가능한, 또는 식품학적으로 허용가능한 염인 것인 조성물.

청구항 14

제 12 항에 있어서, 상기 조성물은 리포솜, 혼합 리포솜, 올레오솜, 니오솜, 에토솜, 밀리캡슐, 마이크로캡슐, 나노캡슐, 나노구조화된 지질 담체, 스폰지, 사이클로덱스트린, 소포 (vesicle), 미셀 (micelle), 계면활성제의 혼합 미셀, 계면활성제-인지질 혼합 미셀, 밀리스피어, 마이크로스피어, 나노스피어, 리포스피어, 마이크로에멀젼, 나노에멀젼, 미니입자, 밀리입자, 마이크로입자, 나노입자 및 고체 지질 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택되는 식품학적, 화장품학적 또는 약제학적 전달 시스템 또는 지속 방출 시스템 내로 혼입되어 있는 것인 조성물.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 상기 나노캡슐은 마이크로에멀젼을 함유하는 것인 조성물.

청구항 16

제 14 항에 있어서, 국소, 경구 또는 비경구 적용에 의해 사용하기 위한 것인 조성물.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 국소 적용은 이온영동법, 초음파영동법, 전기천공법, 기계적 압력, 삼투압 구배, 폐색 관리(occlusive cure), 미세주사법, 압력에 의한 무바늘 주사, 미세전기 패치 이용, 안면 마스크 이용 또는 이들의 임의의 조합에 의해 수행되는 것인 조성물.

청구항 18

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 PGC-1α의 발현을 증가시키는 것인 조성물.

청구항 19

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 피부의 치료 및/또는 관리에 사용하기 위한 것인 조성물.

청구항 20

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 지방 조직의 부피를 감소시키는데 사용하기 위한 것인 조성물.

청구항 21

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 지방 조직의 트리글리세라이드 함량을 감소시키는데 사용하기 위한 것인 조성물.

청구항 22

제 20 항 또는 제 21 항에 있어서, 상기 지방 조직은 피하 지방 조직인, 조성물.

청구항 23

제 22 항에 있어서, 상기 피하 지방 조직은 대퇴부, 가슴, 목의 아랫부분, 목선(neckline), 둔부, 얼굴, 입술, 뺨, 눈꺼풀 및/또는 손의 피하 지방 조직인, 조성물.

청구항 24

제 20 항 또는 제 21 항에 있어서, 상기 지방 조직은 지방색전증(fat embolism)에 의해 형성된 지방조직을 포함한 신체 내에 발생할 수 있는 모든 지방조직인, 조성물.

청구항 25

제 19 항에 있어서, 상기 치료 및/또는 관리는 노화 및/또는 광노화의 징후를 감소, 지연 및/또는 예방하는 것인 조성물.

청구항 26

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 피부의 온도를 증가시키는데 사용하기 위한 것인 조성물.

청구항 27

고체상(solid phase) 또는 용액 중에서 반응시키는 단계를 포함하는, 다음 일반식 I로 나타낸 화합물, 이의 식품학적으로, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 염, 또는 이들의 혼합물의 제조 방법.

일반식 I: S-(MS)p-(MS)q,

상기 일반식에서, S는 시알산이고, (MS)p 및 (MS)q는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

청구항 28

제 12 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 따른 적어도 하나의 일반식 I, 허용되는 염의 식품, 화장품학적 또는 약제학적 유효량, 및 적어도 하나의 식품, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 보조제를 포함하는 식품, 화장품학적 또는 약제학적 조성물.

청구항 29

제 12 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, 일반식 I, 이들의 혼합물 및/또는 이의 식품, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 염은 활석, 벤토나이트, 실리카, 전분 및 말토덱스트린에 의해 형성된 식품학적으로, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 고체 유기 중합체 또는 고체 광물 지지체 상에 흡착된 상태로 확인되는 것인 조성물.

청구항 30

제 12 항 내지 제 26 항, 제 28 항 및 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 크림, 다중 에멀젼, 무수 조성물, 수성 분산액, 오일, 밀크, 발삼, 폼, 로션, 젤, 크림 젤, 함수알코올(hydroalcoholic) 용액, 히드로글리콜 용액, 히드로젤, 도찰제(liniment), 세라, 비누, 샴푸, 컨디셔너, 세럼, 연고, 무스, 포마드, 파우더, 바, 펜슬, 스프레이, 에어로졸, 캡슐, 젤라틴 캡슐, 연질 캡슐, 경질 캡슐, 정제, 당의정, 과립, 츄잉검, 용액, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 엘릭서제, 다당류 필름, 젤리 및 젤라틴에 의해 형성된 군으로부터 선택되는 제형으로 제공되는 것인 조성물.

청구항 31

제 12 항 내지 제 26 항, 제 28 항 및 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 언더아이 컨실러, 메이크업 파운데이션, 메이크업 제거 로션, 메이크업 제거 밀크, 아이 섀도우, 립스틱, 립 글로스, 입술 보호제 및 파우더로 이루어진 군으로부터 선택되는 제품 내로 혼입된 상태로 확인되는 것인 조성물.

청구항 32

제 12 항 내지 제 26 항, 제 28 항 및 제 29 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서, 일반식 I, 이들의 혼합물 및/또는 이의 식품, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 염은 직물, 부직포 또는 의료 장치 내로 혼입되어 있는 것인 조성물.

청구항 33

제 33 항에 있어서, 상기 직물, 부직포 또는 의료 장치는 붕대, 거즈, 티셔츠, 타이츠, 양말, 언더웨어, 거들, 장갑, 기저귀, 생리대, 드레싱, 베드스프레드, 물수건(wipe), 접착 패치, 비접착 패치, 폐색 패치, 미세전기 패치 및 안면 마스크로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 34

제 12 항 내지 제 26 항, 제 28 항 및 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서,상기 조성물은 기타 다른 PGC-1α 조절제, 기타 다른 PPARγ 조절제, 지방세포의 트리글리세라이드 함량을 감소시키는 제제, 지방세포 분화를 지연시키는 제제, 지방분해제 또는 지방분해 자극제, 항셀룰라이트제, 지방생성제, 아세틸콜린-수용체 응집 억제제, 근육 수축 억제제, 항콜린성 제제, 엘라스타아제 억제제, 기질 금속단백질 분해효소 억제제, 멜라닌합성 자극제 또는 억제제 또는 탈색제(depigmenting agent), 전구색소침착제(propigmenting agent), 자가 태닝제, 노화방지제, NO-합성효소 억제제, 5α-환원효소 억제제, 리실-하이드록실라아제 및/또는 프롤릴-하이드록실라아제 억제제, 항산화제, 자유 라디칼 포착제 및/또는 대기오염에 대한 제제, 반응성 카보닐종 포착제, 당화방지제(anti-glycation agent), 항히스타민제, 항바이러스제, 항기생충제, 유화제, 연화제(emollient), 유기 용매, 액체 추진제, 피부 컨디셔너, 습윤제, 수분 보유 물질, 알파 하이드록시산, 베타 하이드록시산, 보습제, 표피 가수분해효소, 비타민, 아미노산, 단백질, 색소 또는 착색제, 염료, 생체고분자, 젤화폴리머, 증점제, 계면활성제, 유연제, 유화제, 결합제, 방부제, 주름방지제, 눈밑 처진 살을 감소 또는 치료할 수 있는 제제, 피부박리제(exfoliating agent), 각질박리제(desquamating agent), 각질용해제(keratolyticagent), 항균제, 항진균제, 정진균제(fungistatic agent), 살균제, 정균제(bacteriostatic agent), 진피 또는 자극제, 엘라스틴 합성 자극제, 데코린 합성 자극제, 라미닌 합성 자극제, 데펜신 합성 자극제, 샤페론 합성자극제, cAMP 합성 자극제,

열충격 단백질, HSP70 합성 자극제, 열충격 단백질 합성 자극제, 아쿠아포린 합성자극제, 히알루론산 합성 자극제, 피브로넥틴 합성 자극제, 시르투인(sirtuin) 합성 자극제, 각질층의 성분 및 지질의 합성 자극제, 세라마이드, 지방산, 콜라겐 분해 억제제, 엘라스틴 분해 억제제, 세린 단백질 분해효소억제제, 섬유아세포 증식 자극제, 각질세포 증식 자극제, 멜라닌세포 증식 자극제, 각질세포 분화 자극제, 아세틸콜린에스테라제 억제제, 피부 이완제, 글리코사미노글리칸 합성 자극제, 과다각화증 방지제, 면포용해제(comedolytic agent), DNA 수복제, DNA 보호제, 안정화제, 항소양제, 민감성 피부의 치료 및/또는 관리를 위한 제제, 퍼밍제(firming agent), 재치밀화제(redensifying agent), 재구조화제, 임신선 방지제, 결합제, 피지 생성 조절제, 항발한제, 치유 자극제, 치유 공보조제(coadjuvant healing agent), 재상피화 자극제, 재상피화 공보조제(coadjuvant re-epithelialization agent), 사이토카인 성장 인자, 진정제, 항염증제, 마취제, 모세혈관 순환 및/또는 미세순환에 작용하는 제제, 혈관 투과성 억제제, 정맥긴장제(venotonic agent), 세포 대사에 작용하는 제제, 진피-표피 결합을 개선하기 위한 제제, 모발 성장 유도제, 또는 지연제, 방향제, 킬레이트화제, 식물 추출물, 에센셜 오일, 해양성 추출물, 생물발효 공정으로부터 수득되는 제제, 광물염(mineral salt), 세포 추출물, 선스크린 및 자외선 A 및/또는 B에 대해 활성을 갖는 유기 또는 광물 광보호제 또는 이들의 혼합물에 의해 형성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 보조제의 식품, 화장품학적 또는 약제학적 유효량을 추가로 포함하는 것인 조성물.

청구항 35

제 34 항에 있어서, 상기 보조제는 합성 기원이거나 식물 추출물이거나 생물발효 공정으로부터 또는 합성 및 바이오기술 공정의 조합으로부터 유래하는 것인 조성물.

청구항 36

제 34 항 또는 제 35 항에 있어서, 상기 조성물은 적어도 하나의 항당뇨병제의 약제학적 유효량을 추가적으로 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 37

제 35 항 또는 제 36 항에 있어서, 상기 보조제는 지방 조직의 트리글리세라이드 함량을 증가 또는 감소시키는 제제, 지방세포 분화를 증가 또는 지연시키는 제제, 지방분해제 및/또는 정맥긴장제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 38

제 37 항에 있어서, 상기 지방 조직의 트리글리세라이드 함량을 증가 또는 감소시키는 제제, 지방세포 분화를 지연시키는 제제, 항셀룰라이트제, 지방분해제 및/또는 정맥긴장제는 포스콜린, 카페인, 에스신(escin), 카르니틴, 코엔자임 A, 리파제, 글라우신, 에스쿨린, 비스나딘, 사르사사포게닌, 코페아 아라비카(Coffea arabica)의 추출물, 콜레우스 포스콜리(Coleus forskohlii)의 추출물, 아네마레나 아프쇼델로이데스(Anemarrhena apshodeloides)의 추출물, 및 물, 글리세린, 레시틴, 카페인, 나도죽백(Butcher's broom; 루스쿠스 아쿨레아투스(Ruscus Aculeatus))의 추출물, 말토덱스트린, 실리카, 트리에탄올아민 히드로요오다이드, 프로필렌 글리콜, 아이비(헤데라 헬릭스(Hedera Helix))의 추출물, 카르니틴, 에스신, 트리펩티드-1, 잔탄 검, 카라기난(콘드루스 크리스푸스(Chondrus crispus)) 및 이나트륨 EDTA의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 39

제 38 항에 있어서, 상기 보조제는 퍼밍제, 재치밀화제 및 재구조화제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 40

제 39 항에 있어서, 상기 퍼밍제, 재치밀화제 및 재구조화제는 슈도알테로모나스(Pseudoalteromonas) 발효 추출물, 트리펩티드-10 시트룰린, 아세틸아르기닐트립토필 디페닐글리신, 헥사펩티드-10, 및 슈도알테로모나스 발효 추출물, 가수분해된 밀 단백질, 가수분해된 대두 단백질, 트리펩티드-10 시트룰린 및 트리펩티드-1의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 41

제 39 항 또는 제 40 항에 있어서, 상기 보조제는 임신선 방지제로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 42

제 41 항에 있어서, 상기 임신선 방지제는 센텔라 아시아티카(Centella Asiatica)의 추출물, 로사 카니나(Rosa canina)의 추출물, 로사 모샤타(Rosa moschata)의 추출물, 로사 루비기노사(Rosa rubiginosa)의 추출물, 및 물, 카프릴릴/카프릴 글루코사이드, 레시틴, 글리세린, 슈도알테로모나스 발효 추출물, 아세틸트리펩티드-30 시트룰린, 펜타펩티드-18, 잔탄 검 및 카프릴릴 글리콜의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 43

제 41 항 또는 제 42 항에 있어서, 상기 보조제는 주름방지제 또는 노화방지제로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 44

제 43 항에 있어서, 상기 주름방지제 또는 노화방지제는 아세틸 헥사펩티드-8, 아세틸 헵타펩티드-4, 아세틸 옥타펩티드-3, 펜타펩티드-18, 아세틸 헥사펩티드-30, 가수분해된 밀 단백질과 가수분해된 대두 단백질과 트리펩티드-1의 혼합물, 디아미노프로피오노일 트리펩티드-33, 트리펩티드-10 시트룰린, 슈도알테로모나스 발효 추출물과 가수분해된 밀 단백질과 가수분해된 대두 단백질과 트리펩티드-10 시트룰린과 트리펩티드-1의 혼합물, 아세틸 테트라펩티드-5, 아세틸 트리펩티드-30 시트룰린, 아세틸아르기닐트립토필 디페닐글리신, 아세틸 테트라펩티드-22, 디메틸메톡시 크로만올, 디메틸메톡시 크로마닐 팔미테이트, 슈도알테로모나스 발효 추출물, 리신 HCl과 레시틴과 트리펩티드-9 시트룰린의 혼합물 및 리신 HCl과 레시틴과 트리펩티드10 시트룰린의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 45

유효성분으로서 다음 일반식 I로 표시되는 화합물을 포함하는 체지방 분해용 조성물:

일반식 I: $S-(MS)_p-(MS)_q$

상기 일반식에서, S는 시알산, $(MS)_p$ 및 $(MS)_q$는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

청구항 46

제 45 항에 있어서, 상기 일반식 I에서, $(MS)_p$는 갈락토오스이고, $(MS)_q$는 글루코오스인 것인 조성물.

청구항 47

제 46 항에 있어서, 상기 일반식 I의 화합물은 시알릴락토오스인 것인 조성물.

청구항 48

제 46 항에 있어서, 상기 시알릴락토오스는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc인 것인 조성물.

청구항 49

제 48 항에 있어서, 상기 시알릴락토오스는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc인 것인 조성물.

청구항 50

제 45 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인 것인 조성물.

청구항 51

제 45 항에 있어서, 상기 조성물은 용액, 현탁액, 시럽제, 에멀젼, 리포좀, 산제, 분말제, 과립제, 정제, 서방형제제 및 캡슐제로 구성된 군으로부터 선택된 제형인 것인 조성물.

청구항 52

제 51 항에 있어서, 상기 조성물은 비경구 투여용 조성물이고 리포좀 또는 서방형제제의 제형인 것인 조성물.

청구항 53

제 51 항에 있어서, 상기 조성물은 경구투여용 조성물이고 리포좀 또는 서방형제제의 제형인 것인 조성물.

청구항 54

제 45 항에 있어서, 상기 조성물은 기능성 식품(nutraceutical) 조성물 또는 식품 조성물인 것인 조성물.

청구항 55

제 1 항 내지 제 44 항 중 어느 한 항의 조성물을 이를 필요로 하는 객체(aibject)에 투여하는 단계;를 포함하는, 객체에서 PGC-1α의 발현 감소와 연관된 질병 또는 증상을 예방 또는 치료하는 방법.

청구항 56

제 55 항에 있어서, 상기 투여하는 단계 전에, 객체로부터 분리된 시료로부터 세포 중 PGC-1α의 발현 수준을 측정하는 단계를 추가적으로 더 포함하는, 방법.

청구항 57

제 56 항에 있어서, 상기 PGC-1α의 발현 수준이 정상 대조군 대비 감소되어 있는지 여부를 관찰하고, 감소된 경우 상기 객체에 대하여 상기 투여하는 단계를 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 58

제 57 항에 있어서, 상기 정상 대조군은 정상인 또는 PGC-1α의 발현 수준의 감소와 연관된 질환 또는 증상을 보이지 않는 객체로부터 얻어진 세포인 것인 방법.

청구항 59

제 56 항에 있어서, 상기 시료는 특정 조직 또는 기관으로부터 얻어진 것인 방법.

청구항 60

제 55 항에 있어서, 상기 투여는 상기 측정된 PGC-1α의 발현 수준이 대조군 대비 감소된 특정 조직에 국소적으로 투여하는 것인 방법.

청구항 61

제 45 항 내지 제 54 항 중 어느 한 항의 조성물을 이를 필요로하는 객체에 투여하는 단계;를 포함하는, 객체에서 체지방을 분해시키는 방법.

청구항 62

제 61 항에 있어서, 상기 투여하는 단계 전에, 객체로부터 분리된 시료로부터 세포 중 PGC-1α의 발현 수준을 측정하는 단계를 추가적으로 더 포함하는, 방법.

청구항 63

제 62 항에 있어서, 상기 PGC-1α의 발현 수준이 정상 대조군 대비 감소되어 있는지 여부를 관찰하고, 감소된 경우 상기 객체에 대하여 상기 투여하는 단계를 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 64

제 63 항에 있어서,상기 정상 대조군은 정상인 또는 PGC-1α의 발현 수준의 감소와 연관된 질환 또는 증상을 보이지 않는 객체로부터 얻어진 세포인 것인 방법.

청구항 65

제 62 항에 있어서, 상기 시료는 특정 조직 또는 기관으로부터 얻어진 것인 방법.

청구항 66

제 61 항에 있어서, 상기 투여는 상기 측정된 PGC-1α의 발현 수준이 대조군 대비 감소된 특정 조직에 국소적으로 투여하는 것인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 특허출원은 2016년 1월 13일에 대한민국 특허청에 제출된 대한민국 특허출원 제10-2016-0004383호에 대하여 우선권을 주장하며, 상기 특허출원의 개시 사항은 본 명세서에 참조로서 삽입된다.

[0002] 본 발명은 PGC-1α 발현 감소에 따른 미토콘드리아 기능저하에 의한 다양한 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

배 경 기 술

[0003] 세포의 운명은 세포생존을 유지하려는 요소와 사멸시키려는 요소와의 균형과 조합에 의하여 조절된다. 세포 사멸을 촉진하는 요소의 신호가 전달된다면 여러 정해진 루트를 통하여 세포사멸의 과정이 시작되는데 그 대표적 과정이 apoptosis이다. 크로마틴의 응축과 핵분열의 뚜렷한 형태의 변화 과정이 특징인 apoptosis의 사멸과정은 미토콘드리아 내막에서 분비되는 사멸촉진 요소의 분비로 인한 카스파제 (caspase) 효소의 활성을 통하여 이루어지는데 이 과정은 미토콘드리아 외막이 투과가 되기 시작하며 이루어진다 (Galluzzi et al., 2007; Kroemer et al., 2009)[1] (Chipuk et al., 2010; Youle and Strasser, 2008)[2]. 이러한 미토콘드리아를 통한 세포사멸은 발생학적 프로그램, DNA 손상, 성장요소와 영양분의 부족, 바이러스 감염, 산화 스트레스 등 다양한 자극에 의하여 시작된다(Youle and Strasser, 2008)[3]. 그러나 비정상적으로 세포 사멸을 유도하는 과정은 분명한 질병의 근원이 된다. 예를 들어 비정상적인 세포사멸을 유도하게 되면 신경퇴화, 허혈성재관류 손상 (ischemia reperfusion injury), 자가면역질병 등을 유발하게 된다 (Fadeel and Orrenius, 2005)[4]. 이에 관하여 최근의 연구 결과는 세포의 사멸과 생존에 있어서 PGC-1a의 기능과 PGC-1α의 조절장애가 초래할 수 있는 각종 질병에 관하여 확인하게 되었다.

[0004] 1. 신경퇴행성 질병

[0005] 알츠하이머 (AD), 파킨슨질병 (PD), 헌팅턴질병 (HD), 루게릭병 (amynotophic lateral sclerosis; ALS)과 같은 신경퇴행성 질환은 신경세포들의 점진적 기능 상실과 세포사멸에 의한 것이다 (Jones et al., 2012)[5]. 이들 질병의 전체적 징후는 특정 부분의 신경세포의 손실에 기인한다. PGC-1α knock-out 마우스에서 볼 수 있는 신경퇴화로 인한 과다한 활동항진 (hyperactivity)과 대뇌피질부위에 적게 나타난 손상부위와 달리 뇌선상체에 두드러지게 나타난 손상부위로 이러한 신경퇴행성 질병에 PGC-1α가 직접적으로 관련이 있다는 사실을 알 수 있다 (Lin et al., 2004)[6]. 또한 이러한 발견과 더불어 PGC-1α knock-out 마우스의 중추신경계에 나타난 액포손상 (vacuolar lesion)을 확인함으로서 PGC-1α가 신경세포 기능을 유지하는데 중요한 역할을 함을 알 수 있다 (Leone et al., 2005)[7].

[0006] AD 환자 뇌의 미토콘드리아의 산화 기능장애, 생성저하, 뇌기능 저하 등 AD의 병리 생리학 현상은 미토콘드리아 기능 손상으로부터 기인한다 (Chaturvedi & Flint, 2013)[8]. 특히 AD 환자의 뇌의 PGC-1α 발현양이 줄어 있으며 이는 감소된 미토콘드리아의 생성과 기능 그리고 증가된 산화적 스트레스로 인한 신경세포 사멸의 결과를 유발한다 (Katsouri ey al., 2011; Qin et al., 2009)[9, 10]. PGC-1α의 발현 감소는 AD를 유발하는 아밀로이드의 전구 단백질을 분해절단하여 베타 아밀로이드를 생성하는 BACE1의 발현을 증가시키며 따라서 베타 아밀로이드의 양을 증가시켜 미토콘드리아의 기능 저하와 세포 사멸을 유발한다 (Wang et al., 2013)[11].

[0007] PGC-1α의 유전자 (PPARGC1A)의 단일 염기 변이는 PD와 HD에 걸릴 위험요소의 증가와 상당한 연관관계가 있다 (Clark et al., 2011; Weydt et al., 2009)[12, 13]. 마우스 HD 모델에서 뿐만 아니라 AD, PD, HD환자의 PGC-1α유전자 발현이 감소한다 (Cui et al., 2006; Qin et al., 2009; Ranganathan et al., 2009; Weydt et al., 2006; Xiang et al., 2011; Zheng et al., 2010)[14-19]. 따라서 HD 모델 세포배양에서 인위적인 PGC-1α의 발현은 신경세포의 사멸을 상당히 감소시킨다(Chaturvedi et al., 2009)[20]. 또한 PGC-1α의 과다발현은 ALS모델 마우스의 운동뉴론을 통한 운동기능을 향상시킨다 (Zhao et al., 2011)[21]. 이와 같은 신경퇴행성 질병들과

밀접한 연관을 가진 PGC-1α의 기능으로 인하여 PGC-1α를 약리적으로 활성화시키는 기작을 다양한 신경퇴행성 질병을 치유하는 새로운 방법으로 대두되고 있다.

[0008] 2. 활성산소군(ROS)에 의한 노화현상

[0009] PGC1-산화적 스트레스 상황에서 방어기작을 시작하는데 중요한 역할을 한다(Chaturvedi & Flint, 2013)[22]. 이는 신경퇴행성 질병에서의 기능과 맞물리는 것으로서 미토콘드리아의 호흡기작관련 복합체와 uncoupling 단백질(UCP)의 양이 PGC1-α 과다발현에 의하여 증가한다(St-Pierre et al., 2003)[23]. 이러한 증가는 미토콘드리아와 세포질내의 활성산소군(ROS)을 해독시키는 단백질군의 발현의 증가와 같이 이루어진다(Cowell et al., 2009)[24]. ROS 대사에서 PGC-1α의 역할을 밝힌 최초의 연구는 PGC-1α를 근육세포에서 다른 위치(ectopic) 발현시키면 superoxide를 제거하는 superoxide dismutase 2 (SOD2)와 hydrogen peroxide를 제거하는 glutathione peroxidase 1 (GPX1)의 발현이 증가한다는 것을 보고한 논문이다(St-Pierre *et al.*, 2003)[23]. 그 이후 진전된 연구를 통해 미토콘드리아, 세포질, 퍼옥시좀 등 다양한 세포 내 기관에 존재하는 모든 종류의 ROX 해독효소가 PGC-1α에 의해 조절되는지 조사되었다 (St-Pierre *et al.*, 2006; Valle *et al.*, 2005)[25, 26]. 이들 연구 또한 PGC-1α가 조절하는 ROS 대사 프로그램의 생리학적 중요성을 밝혔다. 한편, PGC-1α의 발현을 막을 경우 ROS 해독 단백질군의 증가를 막기 때문에 산화적 스트레스 상황에서는 PGC-1α가 세포보호 기능을 수행함을 알 수 있다 (St-Pierre et al., 2006)[25].

[0010] 또한 세포의 노화 또는 생명체의 노화현상은 노화관련 만성질병들, 예를 들면, 퇴행성뇌질환, 대사관련질환, 심혈관질환이 선행하게 된다. 이들 질병은 활성산소군에 의한 스트레스, 비세균성 염증(sterile inflammation), 미토콘드리아 기능부전, DNA 손상, 그리고 텔로메어(telomere) 기능부전과 길이가 짧아지는 현상이 증가하게 된다. 이제까지는 이러한 현상들의 공통적 메커니즘에 대한 이해가 불완전했으나 최근 PGC-1α를 제거하면 텔로메어의 길이가 짧아지고 DNA의 손상이 일어나 혈관의 노화 및 아테롬성 동맥경화증을 일으킨다는 것을 보여준 논문이 발표된 바 있다 (Xiong, S 2015)[27]. 이 논문에 의하면 PGC-1α를 제거하면 텔로메어의 길이를 유지하는 telomere reverse transcriptase(TERT)의 활성 및 발현량이 감소하고, p53의 발현량 및 활성은 증가했다. 이 연구는 PGC-1α가 노화 및 그에 따른 만성질환을 개선하는 데 있어서 중요한 역할을 한다는 것을 보여주고 있다.

[0011] 3. 심혈관질환 또는 심장근육 관련

[0012] PGC-1α의 항산화 기능은 혈관내피 세포의 보호와도 연결된다. 신경모델에서와 마찬가지로 인간 혈관 내피 세포내의 PGC-1α 발현을 증가시킬 경우 미토콘드리아의 생성과 활성 산소군 해독 효소군의 증가가 이루어진다 (Valle et al., 2005)[26]. ROS를 소의 내피세포에 가할 경우 PGC-1α의 증가와 세포내 항산화 기능의 증가가 이루어진다 (Borniquel et al., 2006)[28]. 인간혈관 내피 세포에서 PGC-1α를 과발현시킨 후 인위적인 산화적 스트레스를 가할 경우 세포내 ROS의 증가가 감소하고 caspase 3의 활성이 방해된다 (Valle et al., 2005)[26]. 마우스 PGC-1α와 PGC-1β double knock-out 모델에서는 생후 주요 사망원인이 심부전으로 나타나며(Lai et al., 2008)[29] 충혈성 심부전 (congestive heart failure) 마우스 모델에서는 PGC-1α의 감소가 스트레스성 심부전과 심근세포 사멸과 연결된다 (Garnier et al., 2003)[30]. 이와 같이 PGC-1α는 심근세포의 대사와 성장에 있어서 중요한 역할을 한다.

[0013] 4. 근육손실 및 관련질환

[0014] PGC-1α의 항산화 기능은 근육의 유지강화 기능과도 연결된다. 근육의 양이 줄어들고, 기능이 떨어지면 (노인성 근육손실증, Sarcopenia, 또는 근육기능부전증), 호르몬관련 질병부터 세포내 항상성 유지에 이르기까지 매우 넓은 범위에 악영향을 준다. 신경모델에서와 마찬가지로 근육세포에서 PGC-1α의 발현이 증가하면(운동 또는 유전자발현), 근육손실의 원인이 되는 미토콘드리아 기능부전이 해소되어 근육을 유지할 수 있다는 것이 여러 연구에 의해 밝혀진 바 있다[31-38].

[0015] 5. 지방제거 및 체온유지

[0016] PGC-1α가 결실된 마우스에서는 미토콘드리아 유전자의 발현이 감소하였는데, 이들 안에는 전자전달계(ETC)의 부품역할을 하는 다양한 유전자가 포함되어 있어, 호흡을 낮추었다 (Lin *et al.*, 2004; Leone *et al.*, 2005)[6, 7]. 이 감소한 미토콘드리아 기능은 미토콘드리아의 대사과정에 의존하는 생리학적 과정들에 손상을 주었다. 실제로 이 PGC-1α가 결실된 마우스는 추위에 노출되었을 때 발현이 증가되는 UCP1의 발현을 증가시킬 수 없어, 추위에 민감한 반응을 보였다 (Lin *et al.*, 2004; Leone *et al.*, 2005)[6, 7]. 이들 마우스는 정상쥐와 비교해 볼 때, 운동능력도 감소했다 (Leone *et al.*, 2005)[7]. 이 PGC-1α가 결실된 마우스와는 대조적으

로, 심장과 근육에서 PGC-1α 이 과발현되는 트렌스제닉 마우스의 경우, 미토콘드리아 생성이 증가하였고, 미토콘드리아 유전자의 발현도 증가했다(Lehman *et al.*, 2000; Lin *et al.*, 2002b; Wende *et al.*, 2007). 이들 연구는 생체 내에서 PGC-1α가 있고 없음에 따라 미토콘드리아의 생리에 중요한 영향을 미친다는 것을 보여주고 있다. 또한 유사 갈색 지방전구세포 (Beige 또는 brite preadipocytes)에서 PGC-1α가 증가하면 유사갈색지방세포는 갈색지방세포로 분화되어 지방산을 산화시켜 ATP를 생성하는 것이 아니라 몸에서 열로 발산하는 기능을 증가시킨다. 또한 지방도 제거하는 기능을 하게 된다[39-42].

[0017] 주지된 바와 같이 피하지방은 셀룰라이트(cellulite)로 둘러싸인 과립층으로 구성되어 있다. 이러한 피하지방은 운동을 통해 잘 분해되지 않는 특성이 있다. 이는 체내의 지방분해 효소가 상기한 셀룰라이트에 의해 차단되기 때문이다. 따라서 종래에는 침 바늘로 일컬어지는 카데타를 삽입하여 물리적으로 지방세포를 흡입하는 시술이 성행하였는데, 이러한 시술법은 피시술자에게 고통을 수반하기 때문에 대개 전신 마취를 선행한다. 그러나 전신 마취는 피시술자에게 위험 요소로 작용할 수 있음을 배제할 수 없으며, 카데타가 삽입되는 경우 내부 출혈 및 그에 따른 조직의 회복 기간이 길어지는 것은 불가피하다.

[0018] 주사를 이용한 지방분해(Injection lipolysis)는 지방을 분해할 수 있는 약물을 지방부위에 직접 피하주사하여 지방을 녹여 배출하게 하는 방법으로서 대표적인 제품으로는 PPC 주사로 알려진 Lipostabil®, Lipodissolve, Lipo-zap, Flab-Jab 이 있다. 이들 PPC 주사제는 phosphatidylcholine과 이를 액상으로 유지시켜주는 deoxycholic acid로 구성되어 있으며, 간경변으로 혼수상태에 빠진 환자를 위해 간성혼수 치료 보조제로 최초 허가를 받은 전문의약품이다. 그러나, PPC 주사가 살이 많은 부위에 주사하면 지방세포를 분해해 살을 빼준다고 알려지면서 허가받지 않은 지방제거제로 오용되고 있다. Phosphatidylcholine은 세포막을 구성하는 주요 물질이며, 혈액에서 지방성분이 잘 용해되어 있게 만드는 효과가 있고, 지방 조직의 지방세포를 녹여서 이 안에 들어있는 지방을 세포 밖으로 배출시키는 효과가 있다고 생각되어 사용되었다. 이론적으로 생각할 때, PPC 주사는 국소적으로 한정된 적은 양의 피하지방제거, 셀룰라이트 제거에 사용될 수 있으나, PPC 주사 자체가 지방을 제거하는 것은 아니다. 또한 PPC 주사의 작용기전은 밝혀지지 않았다. PPC 주사에 대한 연구 결과들이 대부분 환자의 주관적인 평가에 의존하고 있으며, 피하지방량의 변화를 객관적으로 나타내는 연구결과는 없다, 미국 FDA는 PPC 주사의 효능과 안전성에 대한 자료가 부족하기 때문에 phosphatidylcholine을 피하지방 감소에 사용하는 것에 대해 허가하고 있지 않으며, 이의 무분별한 사용을 경고하고 있다. 또한 지방간염, 피부 및 호흡기계에 대한 부작용을 보고하는 문헌이 있다.

[0019] 이에, 본 발명자들은 이와 같이 의약품의 부작용과 만성질환의 문제점을 극복하고자 안전하게 체지방을 분해할 수 있는 물질을 개발하고자 노력하였다.

[0020] 6. 노화관련

[0021] 노화는 시간이 흐르면서 일어난 몇몇 변화를 아우르는, 복잡하고 서로 다른 종류로 이루어진(heterogeneous) 상태다. 실제로, 왕성한 요구(energetic demands)에 부응하지 못하는 경우, 몇몇 생리적 과정에서의 기능부전, 그리고 증가한 스트레스가 노화라는 상태에 기여한다. 미토콘드리아는 오랜 동안 노화설의 중심에 있어왔는데, 미토콘드리아의 기능이 노화에 따라 일반적으로 줄어들기 때문이다(Quinlan *et al.*, 2011)[43]. 예를 들어, 미토콘드리아 기능은 PGC-1α와 PGC1b와 함께, telomere의 기능부전 동안 감소하는데, 이 상황은 노화와 관련되어 있다(Sahin *et al.*, 2011)[44].

[0022] 노화연구에서 가장 눈에 띄는 가설은 "노화의 자유 라디컬 가설"('free radical theory of ageing')인데, 미토콘드리아에 의한 ROS의 생성 증가와 이로 인한 산화적 손상이 노화를 결정하는 인자라는 설이다(Quinlan *et al.*, 2011)[43]. 특히 미토콘드리아 DNA(mtDNA)의 돌연변이는 노화와 연계된 미토콘드리아 기능의 저하에서 중심적인 역할을 하는 것으로 생각된다. 미토콘드리아 polymerase c (POLG) 마우스 모델(Kujoth *et al.*, 2005; Trifunovic *et al.*, 2004)[45, 46]은 노화에 있어서 미토콘드리아의 중요성을 부각시키는데 도움을 주어왔다. POLG는 미토콘드리아에 위치하고 있는 DNA polymerase인데, 미토콘드리아 DNA의 복제(replication) 및 DNA 복구(repair)에 관여한다. POLG에 돌연변이를 지닌 마우스는 미토콘드리아 DNA에 돌연변이가 증가하고 탈모현상을 보이며(alopecia (hair loss)), 골다공증 및 심근증(cardiomyopathy)을 일으키는데, 이러한 증상들은 노화와 연계된 것이다(Kujoth *et al.*, 2005; Trifunovic *et al.*, 2004)[45, 46]. PGC-1α 발현을 통한 미토콘드리아의 증가가 POLG 마우스의 외적 형질(phenotype)을 개선할 수 있는 지를 시험하기 위해, 이 마우스를 MCK-PGC-1α Tg 마우스와 교배했다(Lin *et al.*, 2002b)[47]. 돌연변이 POLG와 PGC-1α를 같이 발현하는 마우스는 심장과 골격근에서 미토콘드리아 활성이 증가되었는데, 이런 작용은 돌연변이 GOLG만을 발현하고 있는 쥐와 비교해서 이들 조직 기능의 개선을 가져왔다(Dillon *et al.*, 2012)[48]. 이들 데이터는 상승한 미토콘드리아 기능이 미토콘

드리아 DNA의 돌연변이와는 무관하게 유익한 영향을 지니고 있다는 점을 부각하고 있다. 중요하게도 PGC-1α의 발현이 일생 동안 상승되어 있으면 근육량감소(sarcopenia (loss of muscle mass))와 같은 노화와 연관된 증상들의 시작이 지연된다(Wenz *et al*., 2009)[49]. 이들 개선된 기능들은 나이에 따른 산화적 손상의 축적과 미토콘드리아 기능 저하를 낮춘 것에 기인한다(Wenz *et al*., 2009)[49]. 종합적으로 이들 연구는 PGC-1α가 노화와 연관된 증상의 시작을 지연시키고 생겨난 산화적 손상의 영향을 누그러뜨린다는 것을 보여주고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0023] 본 발명자는 하기 일반식 1로 표시되는 유효성분을 함유하는 PGC-1α 발현 감소에 따른 미토콘드리아 기능저하에 의한 다양한 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

[0024] 일반식 I: S-(MS)p-(MS)q

[0025] 상기 일반식에서, S는 시알산, (MS)p 및 (MS)q는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

[0026] 본 발명의 실시예에 따른 목적은 PGC-1α 등과 같은 미토콘드리아 관련 효소의 활성 및 생성을 증가시키고, 결과적으로 미토콘드리아의 활성 및 생성을 증가시킴으로써 예방 또는 개선, 치료되는 퇴행성 신경질환, 대사성 질환, 국소지방제거 및 지질 대사 관련 질환, 노화 및 노화에 기인한 질병, 근육감소(Sarcopenia, cachexia) 및 근육감소에 기인한 질병을 포함하는 병태, 장애 및/또는 질환의 치료 및/또는 관리를 위한 조성물을 제공하는 것이다.

[0027] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

과제의 해결 수단

[0028] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 유효성분으로서 다음 일반식 I로 표시되는 화합물, 그의 염, 수화물 또는 용매화물을 포함하는, 퍼옥시좀 증식촉진자-활성화된 수용체 조활성인자 1-알파(peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1-alpha: PGC-1α)의 발현 감소와 연관된 질병 또는 증상을 예방 또는 치료하기 위한 조성물을 제공한다:

[0029] 일반식 I: S-(MS)p-(MS)q

[0030] 상기 일반식에서, S는 시알산이고, (MS)p 및 (MS)q는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

[0031] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 유효성분으로서 일반식I로 표시되는 화합물을 포함하는 PGC-1α 발현 감소에 따른 미토콘드리아 기능저하에 따른, 전사 조(助)활성인자인 peroxisome proliferator-activated receptor c coactivator 1-alpha (PGC-1α)의 발현을 증가시키는 것에 의해 예방 또는 개선, 치료되는 퇴행성 신경질환, 대사성 질환, 국소지방제거 및 지질 대사 관련 질환, 노화 및 노화에 기인한 질병, 근육감소(Sarcopenia, cachexia) 및 근육감소에 기인한 질병을 포함하는 병태, 장애 및/또는 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0032] 이러한 목적을 달성하기 위한 본 발명에 따른 미토콘드리아 기능저하에 의한 다양한 질환의 예방 또는 치료를 위한 조성물은 다음 일반식 I으로 표시되는 화합물을 유효 성분으로 함유한다.

[0033] 일반식 I: S-(MS)p-(MS)q

[0034] 상기 일반식에서, S는 시알산, (MS)p 및 (MS)q는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

[0035] 본 발명자는 다양한 질병의 근본인 PGC-1α 발현 감소와 이에 따른 미토콘드리아의 기능 저하를 막아주는 물질을 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 시알릴올리고당이 퇴행성 신경질환 모델 마우스에서 PGC-1α 발현과 미토콘드리아의 기능을 증가를 유발하여 퇴행성 신경질환에 따른 행동의 향상을 유발하고, PGC-1α 발현 감소와 미토콘드리아 기능 저하로 인한 퇴행성 신경질환, 근육손실 및 이에 따른 질환, 심혈관 질환, 노화 및 노화에 기인한 질병의 예방 또는 치료할 수 있음을 확인하였다.

[0036] 본 발명의 조성물에 있어서, 유효성분은 일반식 I의 화합물, 이의 염, 수화물 또는 용매화물이다. 일반식 I에서, S는 시알산을 나타낸다. 시알산은 다양한 방식으로, (MS)p에 결합되어 있을 수 있으나, α2,3 결합 또는

α2,6 결합으로 단당류 화합물 (MS)p에 결합된다. S에는 시알산 이외에, 변형된(modified) 시알산이 위치할 수 있다. 예를 들어, 시알산의 4번 탄소에 있는 -OH 기 중 H가 다른 치환기 또는 OH가 다른 치환기로 치환된 것이 S에 위치할 수 있다. 상기 치환은 (예컨대, H가 C1-C4 알킬기)로 치환된 것일 수 있다. 상기 C1-C4 알킬기는 메틸, 에틸, 프로필, 또는 부틸일 수 있다. 가장 바람직하게는, 변형되지 않는 시알산이 S에 위치한다.

[0037] (MS)p 및 (MS)q에 해당하는 단당류 화합물은 당업계에 공지된 어떠한 단당류 화합물도 해당될 수 있으며, 예를 들어, 4탄당(예컨대, 에리트로스 및 트레오오스), 5탄당(예컨대, 리보오스, 아라비노스, 자일로스 및 라이소오스) 및 6탄당(알로오스, 알트로오스, 글루코오스, 만노오스, 굴로오스, 이도오스, 갈락토오스 및 탈로오스)을 포함한다. 바람직하게는, (MS)p 및 (MS)q에 위치하는 단당류 화합물은 5탄당 또는 6탄당이며, 보다 바람직하게는 6탄당이고, 보다 더 바람직하게는, 글루코오스, 만노오스 또는 갈락토오스이며, 가장 바람직하게는 글루코오스 또는 갈락토오스이다. (MS)p 및 (MS)q에 해당하는 단당류 화합물은 D- 또는 L-형태의 입체이성질체가 될 수 있고, 가장 바람직하게는 D-형태의 입체이성질체이다.

[0038] (MS)p 및 (MS)q에는 동일한 또는 서로 다른 단당류 화합물이 결합될 수 있으며, 바람직하게는 서로 다른 단당류 화합물이 결합된다.

[0039] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, (MS)p는 갈락토오스 또는 글루코오스이고, (MS)q는 글루코오스 또는 갈락토오스이며, 가장 바람직하게는 (MS)p는 갈락토오스, (MS)q는 글루코오스이다. (MS)p가 갈락토오스, (MS)q가 글루코오스인 경우, 이당류 화합물, 락토오스가 형성된다.

[0040] (MS)p 및 (MS)q에 위치하는 단당류 화합물은 변형되거나 또는 변형되지 않은 것이다. 예를 들어, 변형된 단당류 화합물의 경우, -OH 기 중 H가 아세틸기 또는 -OH가 N-아세틸기로 치환될 수 있다. 바람직하게는, (MS)p 및 (MS)q에 위치하는 단당류 화합물은 변형되지 않는 단당류 화합물이다.

[0041] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 유효성분으로 이용되는 일반식 I의 화합물은 시알릴락토오스이다. 본발명에서 유효성분으로 이용되는 시알릴락토오스는 시알산에 갈락토오스와 글루코오스가 순차적으로 결합되어 이루어진 화합물이다.

[0042] 시알산은 다양한 방식으로, 갈락토오스에 결합되어 있을 수 있으며, 예컨대 α2,3 또는 α2,6 결합으로 결합된다. 시알산은 변형될 수 있으며, 예를 들어, 시알산의 4번 탄소에 있는 -OH 기 중 H가 다른 치환기 또는 OH가 다른 치환기로 치환된 것이 S에 위치할 수 있다. 상기 치환은 (예컨대, H가 C1-C4 알킬기로 치환)된 것일 수 있다. 상기 C1-C4 알킬기는 메틸, 에틸, 프로필, 또는 부틸일 수 있다.

[0043] 시알릴락토오스에 있는 갈락토오스와 글루코오스는 D- 또는 L-형태의 입체이성질체를 가질 수 있고, 가장 바람직하게는 D-형태의 입체이성질체이다. 시알릴락토오스에 있는 갈락토오스와 글루코오스는 변형되거나 또는 변형되지 않은 것이다. 예를 들어, 변형된 단당류 화합물의 경우, -OH 기 중 H가 아세틸기 또는 OH가 N-아세틸기로 치환될 수 있다. 바람직하게는, 시알릴락토오스에 있는 갈락토오스와 글루코오스는 변형되지 않는 단당류 화합물이다.

[0044] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에서 유효성분으로 이용되는 시알릴락토오스는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc이다[NeuNAc: N-Acetylneuraminyl, Gal:Galactose, Glc: Glucose]. α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc는 GM3 강글리오시드에서 발견되는 물질이며, α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc는 상기 물질의 이성질체이다.

[0045] 보다 바람직하게는, 본 발명에서 유효성분으로 이용되는 시알릴락토오스는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc이다. 하기의 실시예에서 입증한 바와 같이, α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc보다 효능이 우수하다.

[0046] 본 발명의 조성물에서 유효 성분으로 이용되는 것은 상기 화합물 자체뿐만 아니라, 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 수화물 또는 용매화물이다.

[0047] 용어,"약제학적으로 허용 가능한 염"은 소망하는 약리학적 효과, 즉 PGC-1α의 발현과 미토콘드리아의 기능을 증가시키는 상기 화합물의 염을 나타낸다. 이러한 염은 히드로클로라이드, 히드로브로마이드 및 히드로요오다이드와 같은 무기산, 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠술포네이트, p-톨루엔설포네이트, 비설페이트, 설파메이트, 설페이트, 나프틸레이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 푸마레이트, 글루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 2-히드록시에탄설페이트, 락테이

트, 말리에이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 토실레이트 및 운데카노에이트와 같은 유기산을 이용하여 형성된다.

[0048] 용어, "약제학적으로 허용 가능한 수화물"은 소망하는 약리학적 효과를 갖는 상기 화합물의 수화물을 나타낸다. 용어, "약제학적으로 허용 가능한 용매화물"은 소망하는 약리학적 효과를 갖는 상기 화합물의 용매화물을 나타낸다. 상기 수화물 및 용매화물도 상기한 산을 이용하여 제조될 수 있다.

[0049] 상술한 일반식 Ⅰ의 화합물, 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 수화물 또는 용매화물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 PGC-1α의 발현과 미토콘드리아의 기능 증가를 초래하여, 궁극적으로 퇴행성 신경질환, 심혈관 질환, 노화 예방 또는 치료 활성을 나타낸다.

[0050] 본 명세서에서 사용되는 용어 "퇴행성 신경 질환(neurodegenerative Disease)"은 뇌와 척수의 특정 뇌세포 군이 서서히 그 기능을 잃고 뇌세포의 수가 감소하는 질환을 총칭한다. 뇌와 척수의 신경세포들은 그 위치에 따라 매우 다양한 기능을 하고 있기 때문에, 어느 부위의 신경세포들이 먼저 손상되고 기능을 잃어가는가에 따라, 또 이러한 기능장애가 어떤 형태로 진행되는 가에 따라 매우 다양한 임상 양상을 보이게 된다.

[0051] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 퇴행성 신경질환은 알츠하이머질병(Alzheimer's disease (AD)), 근위축성 측색 경화증, 루게릭병(amyotrophic lateral sclerosis (ALS)), 듀켄근이영양증(Duchenne muscular dystrophy), 파킨슨질병(Parkinson's disease (PD)), 헌팅턴질병(Huntington's disease (HD)), 픽병(Pick's disease), 커프병(Kuf's disease), 모르-트라네브야르그 증후군(Mohr-Tranebjaerg syndrome), 윌슨병, 산발성 알츠하이머병, 산발성 근위축성 측상 경화증, 산발성 파킨슨병, 자율기능 변화, 수면 장애, 신경정신병학적 장애, 우울, 정신분열증, 분열정동 장애, 코르사코프 정신증, 조증, 불안 장애, 공포 장애, 학습 또는 기억 장애, 기억상실증 또는 연령 관련 기억 손실, 주의력 결핍 장애, 기분저하 장애, 주요 우울 장애, 강박인격 장애, 정신활성 물질 사용으로 인한 장애, 공황 장애, 양극성 정동장애, 편두통, 과잉행동 장애 및 운동 장애로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.

[0052] 보다 구체적으로 예를 들면, 본 발명의 퇴행성 신경질환은 급성, 아급성 또는 만성 신경변성 질환을 포함한다.

[0053] 본 발명의 급성 신경변성 질환은 뇌졸중, 뇌경색, 뇌출혈, 두부손상 또는 척수손상을 포함하며, 상기 아급성 신경변성 질환은 탈수초성 질환, 신경계 부종양증후군, 아급성 연합 변성(subacute combined degeneration), 아급성 괴사성 뇌염(subacute necrotizing encephalitis), 또는 아급성 경화성 범뇌염(subacute sclerosing encephalitis)을 포함한다. 본 발명의 만성 신경변성 질환은 노인성 치매, 혈관 치매, 미만성(diffuse) 백질 질환(빈스완거 질환), 내분비 또는 대사 기원 치매, 두부외상 및 미만성 뇌손상으로 인한 치매, 권투선수치매 및 전두엽 치매를 포함하는 기억 상실증, 알츠하이머 질환, 픽 질환, 미만성 루이소체 질환, 진행성 핵상 마비(스틸-리차드슨 증후군), 다계통위축증(multiple system degeneration), 신경변성과 관련된 만성 간질 상태, 근위축성측 삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis), 조화운동불능, 피질 기저 변성, ALS-파킨슨-치매 복합증(ALS Parkinson's- Dementia complex of Guam), 아급성 경화 범뇌염, 헌팅톤 질환, 파킨슨 질환, 시뉴클레이노패씨 (synucleinopathies), 일차 진행성 실어증 (primary progressive aphasia), 선조흑질 변성, 마카도-조셉 질환/척수소뇌성 실조증, 올리브교 변성을 포함하는 운동 신경세포 질환, 질 드 라 뚜렛 질환, 연수 및 거짓연수 마비, 척수 및 척수연수 근육 위축 (케네디 질환), 다발경화증, 원발 측삭 경화증, 유전성 연축성 대마비, 베르드니히-호프만 질환, 쿠겔베르그-웰란더 질환, 테이-삭스 질환, 샌드호프 질환, 유전성 강직성 질환, 올파르트-쿠겔베르그-웰란더 (Wohlfart-Kugelberg-Welander) 질환, 강직성 하반신마비, 진행성다초점백질뇌증, 유전성 자율신경 실조증 (릴리-데이 증후군), 크로이츠펠트-야콥, 게르스트만-스트라우슬러-샤인커 질환, 쿠루병 및 치명적 유전성 불면증을 포함하는 프리온 질환, 또는 뇌성마비를 포함한다.

[0054] 본 발명의 대사성 질환, 지질 대사 관련 질환, 노화 및 노화에 기인한 질병, 근육감소(Sarcopenia, cachexia) 및 근육감소에 기인한 질병에는, 글루코스신생에 대한 변화, 연조직염, 여성유방증, 가성여성유방증, 지방이영양증, 노화, 광노화, 피부 외상, 상해의 재상피화, 피부의 탈수, 건조증, 각질화 장애, 굳은살(callous), 딱딱한 피부, 편평태선, 루푸스와 관련된 피부 병변, 지루성 피부염, 노인성피부염, 비듬, 유아 지방관(cradle cap), 지루, 여드름의 과다지루, 일광성 피부염, 지루성 각화증, 노인성 각화증, 광선 각화증, 광유도 각화증, 모낭 각화증, 보통 여드름, 모반, 섬유아세포의 기능 변화, 결절근막염, 경피증, 듀피트렌 구축(Dupuytren's contracture), 피지선의 장애, 여드름 장미증, 다형성 여드름, 면포, 다형증, 장미증, 결정낭성 여드름, 응괴성 여드름, 노인성 여드름, 어린선, 다리어병(Darier’s disease), 수장족저 각피증, 백판증, 점막 태선, 피부 태선, 습진, 심상성 사마귀, 편평 사마귀, 사마귀양 표피이형성증, 구강 유두종증, 홍반성 루푸스, 수포성 질환, 수포성 유천포창, 경피증, 광선 각화증, 색소침착 장애, 백반증, 원형 탈모증, 루이 소체 질환(Lewy Body

disease), 신경섬유 농축체, 로젠탈 섬유(Rosenthal fiber), 말로리 초자체(Mallory's hyaline), 중증근육무력증, 질 드 라 뚜렛 증후군, 다발성 경화증, 근위축성 축색 경화증, 진행성 핵상 마비, 간질, 크로이츠펠트-야콥병, 난청-근육긴장이상 증후군, 라이병(Leigh's disease), 레버 유전성 시신경병증(Leber's hereditary optic neuropathy), 근육긴장이상, 운동 신경원 질환, 신경병증 증후군, 운동실조증 및 망막색소변성증, 모계 유전 라이병, 프리드리히 운동실조증, 유전성 강직성 대마비에 의해 형성된 군으로부터 선택된다.

[0055] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 용액, 현탁액, 시럽제, 에멀젼, 리포좀, 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제, 서방형제제 및 캡슐제로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0056] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 경구 투여용 조성물이고 리포좀을 포함한 약물 전달체 또는 서방형제제의 제형이다.

[0057] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물이 비경구 투여용 조성물인 경우 리포좀 및 초음파 조영제(ultrasound contast agent)를 포함한 약물전달체 또는 서방형제제의 제형일 수 있다.

[0058] 본 발명의 조성물은 약제학적 조성물, 화장품 및 기능성 식품(nutraceutical) 조성물 또는 식품 조성물로 제조될 수 있다.

[0059] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 (a) 상술한 본 발명의 일반식 I의 화합물의 약제학적 유효량; 및 (b) 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이다.

[0060] 본 명세서에서 용어 "약제학적 유효량"은 상술한 일반식 I의 화합물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다.

[0061] 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제조되는 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 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 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

[0062] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여, 점막 투여 및 점안 투여 등으로 투여할 수 있다.

[0063] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 약제학적 조성물의 투여량은 성인 기준으로 1일 당 0.0001-1000 mg/kg(체중)이고, 예를 들면, 0.001-800 mg/kg(체중), 또는 0.001-600 mg/kg(체중)이다. 또한, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0064] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.

[0065] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물의 제형은 용액, 현탁액, 시럽제, 에멀젼, 리포좀, 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제, 서방형제제 및 캡슐제이고, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0066] 구체적으로 투여경로에 따라, 경구 투여용 고체 제형으로는 캡슐제, 정제, 환제, 산제 및 과립제가 포함된다.이러한 고체 제형에서, 활성 화합물은 하나 이상의 불활성 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체(예, 나트륨 시트레이트 또는 인산이칼슘) 및/또는 a) 충진제 또는 증량제(예, 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및 규산), b) 결합제(예, 카복시메틸셀룰로스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스 및 아라비아고무), c) 보습제(예, 글리세롤), d) 붕해제(예, 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염 및 탄산나트륨), e) 액상지연제(예, 파라핀), f) 흡수 촉진제(예, 사급 암모늄 화합물), g) 습윤제(예, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트), h) 흡수제(예, 카올린 및 벤토나이트 점토) 및 i)윤활제(예, 탈크, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 라우릴 설페이트 및 이들의

혼합물)와 혼합될 수 있다. 캡슐제, 정제 및 환제의 경우에 제형은 또한 완충제를 포함할 수 있다.

[0067] 또한, 락토스 또는 밀크 슈가와 같은 부형제뿐만 아니라 고분자량의 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용한 연질 및 경질 젤라틴 캡슐에 충진제로서 사용될 수 있다.

[0068] 정제, 당의정, 캡슐제, 환제 및 과립제의 고체 투여형은 장용피 및 기타 약제 분야에 잘 알려진 피복과 같은 피복물 및 쉘로 제조될 수 있다. 이들은 임의로 혼탁화제를 함유할 수 있으며, 또한 이들이 장관의 특정 부위에서 임의로 지연된 방식으로 활성 성분만을 방출하거나 활성 성분을 우선적으로 방출하도록 조성될 수 있다. 또한 필요한 경우 활성 화합물은 하나 이상의 상기된 부형제와 미세 캡슐 형태로 존재할 수 있다.

[0069] 경구 투여용 액체 제형으로는 약제학적으로 허용되는 에멀젼, 용제, 현탁제, 시럽제 및 엘릭서제가 포함된다. 활성 화합물 이외에, 액체 제형은 물 또는 다른 용매, 가용화제 및 유화제(예, 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸 포름아미드, 오일(특히, 면실유, 땅콩, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참깨유), 글리세롤, 테트라히드로푸릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 솔비탄의 지방산 에스테르 및 이들의 혼합물과 같이 본 분야에 흔히 사용되는 불활성 희석제를 함유할 수 있다. 불활성 희석제 이외에, 경구 조성물은 또한 습윤제, 유화제, 현탁화제, 감미제, 풍미제 및 방향제와 같은 보조제를 함유할 수 있다.

[0070] 직장 또는 질내 투여용 제형은 바람직하게는 본 발명의 화합물을, 실온에서 고체이나 체온에서는 액체여서 직장 또는 질에서 녹아 활성 화합물을 방출하는 적합한 비자극성 보조제 또는 담체(예, 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌제용 왁스)와 혼합하여 제조할 수 있는 좌제이다.

[0071] 비경구 주사를 위해 적합한 제형은 생리학적으로 허용되는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 현탁액 또는 에멀젼, 및 멸균 주사 용액 또는 분산액으로 재구성하기 위한 멸균 분말을 포함할 수 있다. 적합한 수성 및 비수성 담체, 희석제, 용매 또는 비히클의 예로는 물, 에탄올, 폴리올(프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 글리세롤 등), 식물성 기름(올리브유), 주사용 유기 에스테르(예, 에틸 올레에이트) 및 이들의 적합한 혼합물이 포함된다.

[0072] 또한, 본 발명의 조성물은 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제와 같은 보조제를 함유할 수 있다. 각종 항균제 및 항진균제(예, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 솔브산 등)에 의해 미생물의 작용을 억제할 수 있다. 또한 당, 염화나트륨 등과 같은 삼투압조절제를 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 흡수 지연제(예, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴)를 사용하여 주사용 약제의 흡수를 지연시킬 수 있다.

[0073] 현탁제는 활성 화합물 이외에 현탁화제(예, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 솔비톨 및 솔비탄 에스테르, 미세결정 셀룰로스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 한천-한천 및 트라가칸트 또는 이들의 혼합물 등)를 함유할 수 있다.

[0074] 일부 경우에 약물의 효과를 지속시키기 위해, 피하 또는 근육내 주사로부터 약물의 흡수를 서서히 하는 것이 바람직할 수 있다. 이는 수용성이 낮은 결정형 또는 비결정형 물질의 액체 현탁액을 사용함으로써 달성될 수 있다. 이때 약물의 흡수 속도는 용해 속도에 좌우되며, 용해 속도는 결정 크기 및 결정 형태에 좌우된다. 한편, 비경구 투여된 약물 형태의 지연된 흡수는 약물을 오일 비히클 내에 용해시키거나 현탁시킴으로써 달성된다.

[0075] 주사용 데포우 형태는 약물의 미세캡슐 매트릭스를 폴리락티드-폴리글리콜라이드와 같은 생체분해성 중합체로 형성함으로써 제조된다. 약물 대 중합체의 비율 및 사용된 특정 중합체의 성질에 따라, 약물의 방출 속도를 조절할 수 있다.

[0076] 다른 생체분해성 중합체의 예로는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(무수물)이 포함된다. 또한, 데포우 주사용 제형은 약물을 체조직 적합성인 리포좀 또는 마이크로에멀젼내에 포획시킴으로써 제조된다.

[0077] 주사용 제형은 예를 들면 세균-보유 필터를 통해 여과하거나, 멸균화제를 사용직전에 멸균수 또는 다른 멸균 주사용 매질중에 용해시키거나 분산될 수 있는 멸균 고체 조성물의 형태로 혼입시킴으로써 멸균시킬 수 있다.

[0078] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 경구 투여용 조성물이고 리포좀 또는 서방형제제의 제형이다.

[0079] 본 발명의 다른 바람직한 구현예 따르면, 본 발명의 조성물은 비경구 투여용 조성물이고 리포좀 또는 서방형제제의 제형이다.

[0080] 본 발명의 약제학적 조성물이 경구투여 제형뿐만 아니라 비경구투여(바람직하게는 정맥 투여)제형으로 제조되는

경우, 그 제형은 리포좀 또는 서방형 제제이다.

[0081] 본 발명의 약제학적 조성물을 리포좀에 내포(encapsulation)시켜 약물 전달을 위한 제형의 안정성을 제공할 수 있다. 본 발명에 이용되는 리포좀은 폴리올, 계면활성제, 인지질, 지방산 및 물을 포함하는 혼합물에 의해 제조될 수 있다(Prescott, Ed., Methods in Cell Biology, (XIV),p.33et seq.(1976)).

[0082] 리포좀에 이용되는 폴리올은 특히 제한되지 않으며, 바람직하게는 프로필렌글리콜, 디프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 글리세린, 메틸프로판디올, 이소프렌글리콜, 펜틸렌글리콜, 에리스리톨, 자이리톨 및 솔비톨을 포함하며, 가장 바람직하게는 프로필렌 글리콜이다.

[0083] 리포좀의 제조에 이용되는 계면활성제는 당업계에 공지된 어떠한 것도 사용할 수 있으며, 예를 들어, 음이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 양성 계면활성제 및 비이온성 계면활성제가 사용될 수 있고, 바람직하게는 음이온성 계면활성제 및 비이온성 계면활성제가 사용된다. 음이온성 계면활성제의 구체적인 예는 알킬아실글루타메이트, 알킬포스페이트, 알킬락틸레이트, 디알킬포스페이트 및 트리알킬포스페이트를 포함한다. 비이온성 계면활성제의 구체적인 예는 알콕시레이티드알킬에테르, 알콕시레이티드알킬에스테르, 알킬폴리글리코사이드, 폴리글리세릴에스테르 및 슈가에스테르를 포함한다. 가장 바람직하게는, 비이온성 계면활성제에 속하는 폴리솔베이트류가 이용된다.

[0084] 리포좀의 제조에 이용되는 또 다른 성분인 인지질은 양쪽친화성 지질로 이용된 것으로서, 천연 인지질 (예: 난황 레시틴 또는 대두 레시틴, 스핑고마이엘린) 및 합성 인지질 (예: 디팔미토일포스파티딜콜린 또는 수첨 레시틴)을 포함하며, 바람직하게는 레시틴이다. 보다 바람직하게는, 상기 레시틴은 대두 또는 난황에서 추출한 천연 유래의 불포화 레시틴 또는 포화 레시틴이다. 통상적으로 천연 유래의 레시틴은 포스파티딜 콜린의 양이 23-95%, 그리고 포스파디딜에탄올아민의 양이 20% 이하이다.

[0085] 리포좀 제조에 이용되는 지방산은 고급 지방산으로서, 바람직하게는 C12-22 알킬 체인의 포화 또는 불포화 지방산으로서, 예컨대, 라우린산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아린산, 올레산 및 리놀레산을 포함한다. 리포좀의 제조에 이용되는 물은 일반적으로 탈이온화된 증류수이다.

[0086] 리포좀의 제조는 당업계에 공지된 다양한 방법을 통해 이루어질 수 있으나, 가장 바람직하게는 상기 성분들을 포함하는 혼합물을 고압 호모게나이저에 적용하여 제조된다.

[0087] 이렇게 제조된 리포좀 시스템은 여러 종류의 난용성 물질을 녹임과 동시에 불안정한 물질을 안정화시켜 약물 전달을 극대화 하는 장점을 가지고 있다.

[0088] 본 발명의 약제학적 조성물은 지속적으로 유효성분의 유효 혈중농도를 유지함으로써 약제의 복용횟수를 줄여 복약순응도를 높일 수 있도록 서방형 제제로 제조될 수 있다.

[0089] 서방형제제는 본 발명의 유효성분 이외에 서방화 담체 및 기타 보조제를 포함하여 제제화된다. 본 발명에서 사용되는 서방화 담체는 당업계에 공지된 다양한 서방화 담체를 이용할 수 있으나, 바림직하게는 폴리에틸렌옥시드이다.

[0090] 또한, 기타보조제로서 약제학적 분야에서 통상적으로 사용되는 희석 담체가 포함될 수 있다. 이러한 목적으로 사용되는 희석 담체의 예로는 락토오스, 덱스트린, 전분, 미세결정성 셀룰로오스, 인산일수소칼슘, 탄산칼슘, 당류 및 이산화규소 등이 있으며, 그밖에 유동성을 증가시키기 위해 스테아린산 아연 또는 마그네슘과 같은 활택제나 제약분야에서 사용가능한 다른 보조제를 포함시킬 수도 있다.

[0091] 본 발명의 약제학적 조성물은 단독으로 이용될 수 있으나, 본 기술에서 언급한 신경질환, 심혈관질환, 노화, 근육손실에 사용되는 통상적인 유효성분을 추가로 포함할 수 있으며, 이러한 경우 시너지 효과에 의해 보다 효과적인 조성물로 이용될 수 있다.

[0092] 본 발명의 조성물은 화장품학적 조성물의 형태로 제조될 수 있다. 본 발명의 화장품학적 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 로션, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 포옴, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0093] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림, 로션, 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라

퓐, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0094] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0095] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0096] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0097] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0098] 본 발명의 화장품학적 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분과 담체 성분 이외에, 화장품학적 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

[0099] 본 발명의 조성물이 식품 조성물(또는 기능성 식품 조성물)로 제조되는 경우, 유효성분으로서 일반식 I의 화합물뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카리드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카리드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카리드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등]) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.

[0100] 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 일반식 I의 화합물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액, 감초 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0101] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 리포솜, 혼합 리포솜, 올레오솜, 니오솜, 에토솜, 밀리캡슐, 마이크로캡슐, 나노캡슐, 나노구조화된 지질 담체, 스폰지, 사이클로덱스트린, 소포 (vesicle), 미셀(micelle), 계면활성제의 혼합 미셀, 계면활성제-인지질 혼합 미셀, 밀리스피어, 마이크로스피어, 나노스피어, 리포스피어, 마이크로에멀젼, 나노에멀젼, 미니입자, 밀리입자, 마이크로입자, 나노입자 및 고체 지질 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택되는 식품학적, 화장품학적 또는 약제학적 전달 시스템 또는 지속 방출 시스템 내로 혼입되어 있는 것이다.

[0102] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 나노캡슐은 마이크로에멀젼을 함유한다.

[0103] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 국소, 경구 또는 비경구 적용에 의해 사용하기 위한 것이다. 본 발명의 국소 투여는 구체적으로 예를 들면 경피 투여를 포함한다.

[0104] 본 발명의 국소 적용, 구체적으로 예를 들어 경피 투여는 이온영동법, 초음파영동법, 전기천공법, 기계적 압력, 삼투압 구배, 폐색 관리(occlusive cure), 미세주사법, 압력에 의한 무바늘 주사, 미세전기 패치 이용, 안면 마스크 이용 또는 이들의 임의의 조합에 의해 수행될 수 있고, 이에 특별히 제한되지 않는다.

[0105] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 PGC-1α의 발현을 증가시킨다. 이에 의해 PGC-1α 감소와 관련된 증상 또는 질병을 예방, 개선 또는 치료하는 데 이용할 수 있다.

[0106] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 피부의 치료 및/또는 관리에 사용하기 위한 것이다. 보다

구체적으로 상기 피부의 치료 및/또는 관리는 노화 및/또는 광노화의 징후를 감소, 지연 및/또는 예방하는 것이다.

[0107] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 지방 조직의 부피를 감소시키는데 사용하기 위한 것이다.

[0108] 본 발명의 다른 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 지방 조직의 트리글리세라이드 함량을 감소시키는데 사용하기 위한 것이다.

[0109] 보다 구체적으로 예를 들면, 본 발명의 지방 조직은 피하 지방 조직이다.

[0110] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 본 발명의 피하 지방 조직은 대퇴부, 가슴, 목의 아랫부분, 목선(neckline), 둔부, 얼굴, 입술, 뺨, 눈꺼풀 및/또는 손의 피하 지방 조직이다.

[0111] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 본 발명의 지방 조직은 지방색전증(fat embolism)에 의해 형성된 지방조직을 포함한 신체 내에 발생할 수 있는 모든 지방조직이다.

[0112] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 피부의 온도를 증가시키는데 사용하기 위한 것이다.

[0113] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명의 다른 양태들에 따른 적어도 하나의 일반식 I, 허용되는 염의 식품, 화장품학적 또는 약제학적 유효량, 및 적어도 하나의 식품, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 보조제를 포함하는 식품, 화장품학적 또는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0114] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 일반식 I, 이들의 혼합물 및/또는 이의 식품, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 염은 활석, 벤토나이트, 실리카, 전분 및 말토덱스트린에 의해 형성된 식품학적으로, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 고체 유기 중합체 또는 고체 광물 지지체 상에 흡착된 상태로 확인되는 것인 조성물이다.

[0115] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 크림, 다중 에멀젼, 무수 조성물, 수성 분산액, 오일, 밀크, 발삼, 폼, 로션, 젤, 크림 젤, 함수알코올(hydroalcoholic) 용액, 히드로글리콜 용액, 히드로젤, 도찰제(liniment), 세라, 비누, 샴푸, 컨디셔너, 세럼, 연고, 무스, 포마드, 파우더, 바, 펜슬, 스프레이, 에어로졸, 캡슐, 젤라틴 캡슐, 연질 캡슐, 경질 캡슐, 정제, 당의정, 과립, 츄잉검, 용액, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 엘릭서제, 다당류 필름, 젤리 및 젤라틴에 의해 형성된 군으로부터 선택되는 제형으로 제공된다.

[0116] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 언더아이 컨실러, 메이크업 파운데이션, 메이크업 제거 로션, 메이크업 제거 밀크, 아이 섀도우, 립스틱, 립 글로스, 입술 보호제 및 파우더로 이루어진 군으로부터 선택되는 제품 내로 혼입된 상태로 확인되는 것이다.

[0117] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 일반식 I, 이들의 혼합물 및/또는 이의 식품, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 염은 직물, 부직포 또는 의료 장치 내로 혼입되어 있는 것이다.

[0118] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 직물, 부직포 또는 의료 장치는 붕대, 거즈, 티셔츠, 타이츠, 양말, 언더웨어, 거들, 장갑, 기저귀, 생리대, 드레싱, 베드스프레드, 물수건(wipe), 접착 패치, 비접착 패치, 폐색 패치, 미세전기 패치 및 안면 마스크로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이다.

[0119] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 기타 다른 PGC-1α 조절제, 기타 다른 PPARγ 조절제, 지방세포의 트리글리세라이드 함량을 감소시키는 제제, 지방세포 분화를 지연시키는 제제, 지방분해제 또는 지방분해 자극제, 항셀룰라이트제, 지방생성제, 아세틸콜린-수용체 응집 억제제, 근육 수축 억제제, 항콜린성 제제, 엘라스타아제 억제제, 기질 금속단백질 분해효소 억제제, 멜라닌합성 자극제 또는 억제제 또는 탈색제(depigmenting agent), 전구색소침착제(propigmenting agent), 자가 태닝제, 노화방지제, NO-합성효소 억제제, 5α-환원효소 억제제, 리실-하이드록실라아제 및/또는 프롤릴-하이드록실라아제 억제제, 항산화제, 자유 라디칼 포착제 및/또는 대기오염에 대한 제제, 반응성 카보닐종 포착제, 당화방지제(anti-glycation agent), 항히스타민제, 항바이러스제, 항기생충제, 유화제, 연화제(emollient), 유기 용매, 액체 추진제, 피부 컨디셔너, 습윤제, 수분 보유 물질, 알파 하이드록시산, 베타 하이드록시산, 보습제, 표피 가수분해 효소, 비타민, 아미노산, 단백질, 색소 또는 착색제, 염료, 생체고분자, 젤화폴리머, 증점제, 계면활성제, 유연제, 유화제, 결합제, 방부제, 주름방지제, 눈밑 처진 살을 감소 또는 치료할 수 있는 제제, 피부박리제(exfoliating agent), 각질박리제(desquamating agent), 각질용해제(keratolyticagent), 항균제, 항진균제, 정진균제(fungistatic agent), 살균제, 정균제(bacteriostatic agent), 진피 또는 자극제, 엘라스틴 합성 자극제, 데코린 합성 자극제, 라미닌 합성 자극제, 데펜신 합성 자극제, 샤페론 합성자극제, cAMP 합성 자극제, 열충격 단백질, HSP70 합성 자극제,

열충격 단백질 합성 자극제, 아쿠아포린 합성자극제, 히알루론산 합성 자극제, 피브로넥틴 합성 자극제, 시르투인(sirtuin) 합성 자극제, 각질층의 성분 및 지질의 합성 자극제, 세라마이드, 지방산, 콜라겐 분해 억제제, 엘라스틴 분해 억제제, 세린 단백질 분해효소억제제, 섬유아세포 증식 자극제, 각질세포 증식 자극제, 멜라닌세포 증식 자극제, 각질세포 분화 자극제, 아세틸콜린에스테라제 억제제, 피부 이완제, 글리코사미노글리칸 합성 자극제, 과다각화증 방지제, 면포용해제(comedolytic agent), DNA 수복제, DNA 보호제, 안정화제, 항소양제, 민감성 피부의 치료 및/또는 관리를 위한 제제, 퍼밍제(firming agent), 재치밀화제(redensifying agent), 재구조화제, 임신선 방지제, 결합제, 피지 생성 조절제, 항발한제, 치유 자극제, 치유 공보조제(coadjuvant healing agent), 재상피화 자극제, 재상피화 공보조제(coadjuvant re-epithelialization agent), 사이토카인 성장인자, 진정제, 항염증제, 마취제, 모세혈관 순환 및/또는 미세순환에 작용하는 제제, 혈관 투과성 억제제, 정맥긴장제(venotonic agent), 세포 대사에 작용하는 제제, 진피-표피 결합을 개선하기 위한 제제, 모발 성장 유도제, 또는 지연제, 방향제, 킬레이트화제, 식물 추출물, 에센셜 오일, 해양성 추출물, 생물발효 공정로부터 수득되는 제제, 광물염(mineral salt), 세포 추출물, 선스크린 및 자외선 A 및/또는 B에 대해 활성을 갖는 유기 또는 광물 광보호제 또는 이들의 혼합물에 의해 형성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 보조제의 식품, 화장품학적 또는 약제학적 유효량을 추가로 포함하는 것이다.

[0120] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 보조제는 합성 기원이거나 식물 추출물이거나 생물발효 공정으로부터 또는 합성 및 바이오기술 공정의 조합으로부터 유래하는 것이다.

[0121] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 적어도 하나의 항당뇨병제의 약제학적 유효량을 추가적으로 더 포함한다.

[0122] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 보조제는 지방 조직의 트리글리세라이드 함량을 증가 또는 감소시키는 제제, 지방세포 분화를 증가 또는 지연시키는 제제, 지방분해제 및/또는 정맥긴장제로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0123] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 지방 조직의 트리글리세라이드 함량을 증가 또는 감소시키는 제제, 지방세포 분화를 지연시키는 제제, 항셀룰라이트제, 지방분해제 및/또는 정맥긴장제는 포스콜린, 카페인, 에스신(escin), 카르니틴, 코엔자임 A, 리파제, 글라우신, 에스쿨린, 비스나딘, 사르사사포게닌, 코페아 아라비카(Coffea arabica)의 추출물, 콜레우스 포스콜리(Coleus forskohlii)의 추출물, 아네마레나 아프쇼델로이데스(Anemarrhena apshodeloides)의 추출물, 및 물, 글리세린, 레시틴, 카페인, 나도죽백(Butcher's broom; 루스쿠스 아쿨레아투스(Ruscus Aculeatus))의 추출물, 말토덱스트린, 실리카, 트리에탄올아민 히드로요오다이드, 프로필렌 글리콜, 아이비(헤데라 헬릭스(Hedera Helix))의 추출물, 카르니틴, 에스신, 트리펩티드-1, 잔탄 검, 카라기난(콘드루스 크리스푸스(Chondrus crispus)) 및 이나트륨 EDTA의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0124] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 보조제는 퍼밍제, 재치밀화제 및 재구조화제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이다.

[0125] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 퍼밍제, 재치밀화제 및 재구조화제는 슈도알테로모나스(Pseudoalteromonas) 발효 추출물, 트리펩티드-10 시트룰린, 아세틸아르기닐트립토필 디페닐글리신, 헥사펩티드-10, 및 슈도알테로모나스 발효 추출물, 가수분해된 밀 단백질, 가수분해된 대두 단백질, 트리펩티드-10 시트룰린 및 트리펩티드-1의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0126] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 보조제는 임신선 방지제로부터 선택된다. 보다 구체적으로 예를 들면, 본 발명의 임신선 방지제는 센텔라 아시아티카(Centella Asiatica)의 추출물, 로사 카니나(Rosa canina)의 추출물, 로사 모샤타(Rosa moschata)의 추출물, 로사 루비기노사(Rosa rubiginosa)의 추출물, 및 물, 카프릴릴/카프릴 글루코사이드, 레시틴, 글리세린, 슈도알테로모나스 발효 추출물, 아세틸트리펩티드-30 시트룰린, 펜타펩티드-18, 잔탄 검 및 카프릴릴 글리콜의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0127] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 보조제는 주름방지제 및 노화방지제로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0128] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 주름방지제 또는 노화방지제는 아세틸 헥사펩티드-8, 아세틸 헵타펩티드-4, 아세틸 옥타펩티드-3, 펜타펩티드-18, 아세틸 헥사펩티드-30, 가수분해된 밀 단백질과 가수분해된 대두 단백질과 트리펩티드-1의 혼합물, 디아미노프로피오노일 트리펩티드-33, 트리펩티드-10 시트룰린, 슈도알테로모나스 발효 추출물과 가수분해된 밀 단백질과 가수분해된 대두 단백질과 트리펩티드-10 시트룰린과 트리펩티드-1의 혼합물, 아세틸 테트라펩티드-5, 아세틸 트리펩티드-30 시트룰린, 아세틸아르기닐트립토필 디페닐글리신, 아

세틸 테트라펩티드-22, 디메틸메톡시 크로만올, 디메틸메톡시 크로마닐 팔미테이트, 슈도알테로모나스 발효 추출물, 리신 HCl과 레시틴과 트리펩티드-9 시트룰린의 혼합물 및 리신 HCl과 레시틴과 트리펩티드10 시트룰린의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0129] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 고체상(solid phase) 또는 용액 중에서 반응시키는 단계를 포함하는, 다음 일반식 I로 나타낸 화합물, 이의 식품학적으로, 화장품학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 염, 또는 이들의 혼합물의 제조 방법을 제공한다:

[0130] 일반식 I: S-(MS)p-(MS)q,

[0131] 상기 일반식에서, S는 시알산이고, (MS)p 및 (MS)q는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

[0132] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 유효성분으로서 다음 일반식 I로 표시되는 화합물을 포함하는 체지방 분해용 조성물을 제공한다:

[0133] 일반식 I: $S-(MS)_p-(MS)_q$

[0134] 상기 일반식에서, S는 시알산, $(MS)_p$ 및 $(MS)_q$는 서로 독립적으로 단당류 잔기이다.

[0135] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 일반식 I에서, $(MS)_p$는 갈락토오스이고, $(MS)_q$는 글루코오스이다.

[0136] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 일반식 I의 화합물은 시알릴락토오스이다.

[0137] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 시알릴락토오스는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc이다.

[0138] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 본 발명의 시알릴락토오스는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc이다.

[0139] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 약제학적 조성물이다.

[0140] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 용액, 현탁액, 시럽제, 에멀젼, 리포좀, 산제, 분말제, 과립제, 정제, 서방형제제 및 캡슐제로 구성된 군으로부터 선택된 제형이다.

[0141] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 비경구 투여용 조성물이고 리포좀 또는 서방형제제의 제형이다.

[0142] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 경구투여용 조성물이고 리포좀 또는 서방형제제의 제형이다.

[0143] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 조성물은 기능성 식품(nutraceutical) 조성물 또는 식품 조성물이다.

[0144] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명의 다른 일 양태 중 어느 하나에 따른 조성물을 이를 필요로 하는 객체(aibject)에 투여하는 단계;를 포함하는, 객체에서 PGC-1α의 발현 감소와 연관된 질병 또는 증상을 예방 또는 치료 방법을 제공한다. PGC-1α의 발현 감소와 연관된 질병 또는 증상은 본 발명의 다른 일 양태들에서 설명한 바와 같다.

[0145] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 치료 방법은 상기 투여하는 단계 전에 객체로부터 분리된 시료로부터 세포 중 PGC-1α의 발현 수준을 측정하는 단계를 추가적으로 더 포함한다. 본 발명의 PGC-1α의 발현 수준 측정은 종래 알려진 방법을 제한없이 이용하여 측정가능하다. 본 발명의 객체로부터 분리된 시료는 PGC-1α를 발현하는 세포를 포함하는 객체로부터 분리된 시료를 의미하고, 특별한 제한은 없다.

[0146] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 PGC-1α의 발현 수준이 정상 대조군 대비 감소되어 있는지 여부를 관찰하고, 감소된 경우 상기 객체에 대하여 상기 투여하는 단계를 수행한다.

[0147] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 정상 대조군은 정상인 또는 PGC-1α의 발현 수준의 감소와 연관된 질환 또는 증상을 보이지 않는 객체로부터 얻어진 세포이다.

[0148] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 시료는 특정 조직 또는 기관으로부터 얻어진 것이다. 본 발명의 특정 조직 또는 기관은 PGC-1α의 발현 수준의 감소와 연관된 질환 또는 증상과 관련된 조직 또는 기관을 의미하고, 상기 질환 또는 증상에 따라 적절하게 선택될 수 있다.

[0149] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 투여는 상기 측정된 PGC-1α의 발현 수준이 대조군 대비 감소된 특정

조직에 국소적으로 투여하는 것을 의미한다.

[0150] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명의 다른 일 양태 중 어느 하나에 따른 조성물을 이를 필요로 하는 객체(aibject)에 투여하는 단계;를 포함하는, 객체에서 체지방을 분해시키는 방법을 제공한다.

[0151] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 방법은 상기 투여하는 단계 전에 객체로부터 분리된 시료로부터 세포 중 PGC-1α의 발현 수준을 측정하는 단계를 추가적으로 더 포함한다. 본 발명의 PGC-1α의 발현 수준 측정은 종래 알려진 방법을 제한없이 이용하여 측정가능하다. 본 발명의 객체로부터 분리된 시료는 PGC-1α를 발현하는 세포를 포함하는 객체로부터 분리된 시료를 의미하고, 특별한 제한은 없다.

[0152] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 PGC-1α의 발현 수준이 평균 체중군의 평균 PGC-1α 발현량 대비 감소되어 있는지 여부를 관찰하고, 감소된 경우 상기 객체에 대하여 상기 투여하는 단계를 수행한다.

[0153] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 평균 체중군은 대상 객체와 동일 신장을 갖는 인구들의 평균 체중과 동일한 체중을 갖는 인구들의 집합을 의미하고, 평균 체중군의 체중을 측정하기 위한 표본 집단은 바람직하게 객체와 동일한 인종, 민족에 속한 인구에서 무작위 선택될 수 있고, 적어도 10인 이상, 바람직하게는 50인 이상, 더 바람직하게는 100인 이상일 수 있으며, 이들의 평균 체중을 측정하여 평균 체중군 선정을 위한 평균 체중으로 이용할 수 있다. 또한 대안적으로 종래 알려진 통계 수치를 이용하는 것이 가능하다.

[0154] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 세포는 상술한 평균 체중군에 속한 객체로부터 얻어진 세포이다.

[0155] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 시료는 특정 조직 또는 기관으로부터 얻어진 것이다. 본 발명의 특정 조직 또는 기관은 평균 체중군의 평균 체형과 비교하여, 지방 함유량이 높은 부위로부터 적절하게 선택이 가능하다.

[0156] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 투여는 상기 측정된 PGC-1α의 발현 수준이 대조군 대비 감소된 특정 조직에 국소적으로 투여하는 것을 의미한다.

발명의 효과

[0157] 본 발명에 따른 조성물은 각 질병 모델에 사용된 동물에서 독성을 나타내지 않을 뿐만 아니라 다양한 뇌질환 (AD, PD, HD 등), 뇌졸중, 노화촉진, 피부실험 동물 모델 시험군 및 정상 동물 시험군에 주입시켰을 경우, 뇌와 해마를 포함한 다양한 장기에서 미토콘드리아의 기능과 관련된 PGC-1α와 그외의 관련 유전자들 (Fndc5 (Fibronectin type III domain containing 5), Erra (estrogen-related receptor alpha, UCP-1 (uncoupling protein 1), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), SOD2 (superoxide dismutase 2), GPX1 (glutathione peroxidase 1)의 발현을 대조군과 비교하여 보다 현저하게 증가시킴과 동시에 각종 뇌질환 (AD, PD, HD등)들의 기본 행동 테스트에서도 향상된 행동을 보여, PGC-1α 관련 퇴행성 신경질환, 대사성 질환, 국소지방제거 및 지질 대사 관련 질환, 노화 및 노화에 기인한 질병, 근육감소(Sarcopenia, cachexia) 및 근육감소에 기인한 질병을 포함하는 병태, 장애 및/또는 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0158] 도 1a, 도 1b 및 도 1c는 정상 쥐 모델에서의 6′ -SL(sialyllactoase) 조성물 처리에 의한 장기 (도 1a), 골격근 (도1b) 및 복부지방 (도1c)의 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 도 1d, 도 1e 및 도 1f는 정상 쥐 모델에서의 3′ -SL 조성물 처리에 의한 장기 (도 1d), 골격근 (도1e) 및 복부지방 (도1f)의 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 2a 및 도 2b는 뇌와 해마에서의 PGC-1α 단백질 발현 변화를 수치 (도 2a)와 웨스턴블럿 (도 2b)으로 나타낸 도면이다.

도 3은 신경 세포에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타내는 도면이다.

도 4는 C2C12 미성숙 근육세포에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타내는 도면이다.

도 5a 및 도 5b는 대조군 대비 뇌 혹은 해마의 상대적인 유전자 발현 변화는 각 장기들에서 ((알츠하이머 질환 모델)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양), ((알츠하이머 질환 모델+3′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)과 ((알츠하이머 질환 모델+6′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)을 수치로 나타낸

것이다.

도 6은 대조군, (알츠하이머 질환 모델)군, (알츠하이머 질환 모델+3′ -SL) 그리고 (알츠하이머 질환 모델+6′ -SL)군에 대하여 인지능력 테스트 (Morris water maze) 실험을 7일간 하여 인지 능력 테스트에서의 탈출 시간을 수치로 나타낸 것이다.

도 7a 및 도 7b는 파킨슨 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL)조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 8은 파킨슨병 동물 모델에 대한 행동 실험 결과를 나타낸 도면이다.

도 9a 및 도 9b는 간질/경련 뇌질환 모델에서의 SL 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 10a 및 도 10b는 헌팅톤 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 11은 헌팅턴 질환 모델에 대한 로타로드 주행 실험의 결과를 나타낸 도면이다.

도 12는 허혈 모델에서의 허혈 부피를 관찰한 결과를 나타낸 도면이다.

도 13은 ICH 유도 후 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 처리에 의한 MLPT 시험 점수 변화를 나타낸 도면이다.

도 14는 쥐 모델에서의 SL 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 15는 쥐 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 국소 투여한 경우 피하 지방 감소 효과를 보여주는 도면이다.

도 16a 및 16b는 노화촉진 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 17a와 17b는 세포내 H_2O_2 측정 (ROS 수치)(도 17a) 및 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산 측정(도 17b)을 나타낸 도면이다.

도 18a 및 18b는 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 투여에 의한 텔로메라아제 활동성을 측정한 결과를 나타낸다.

도 19a 및 19b는 세포내 H_2O_2 측정 (ROS 수치)(도 19a) 및 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산 측정(도 19b)의 결과를 나타낸 도면이다.

도 20a 및 20b은 SL (3′ -SL & 6′ -SL)를 동맥경화증 모델 ($ApoE^{-/-}$; 도20a)과 MASMs (도 20b)들에 처리하여 텔로메라아제 활동성을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 21a 및 21b는 피부실험 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 22a 및 도 22b는 분화된 지방세포에서 6'-시알릴락토오스 (도 22a)와 3'-시알릴락토오스 (도 22b)가 투여된 경우 세포내 지방의 변화를 나타낸 도면이다.

도 23a 및 도 23b는 분화된 지방세포에서 6'-시알릴락토오스 (도 23a)와 3'-시알릴락토오스 (도 23b)가 투여된 경우 세포내 지방의 변화를 나타내는 세포의 광학 현미경 사진이다.

도 24는 분화된 지방세포에서 세포의 생존률에 미치는 6'-시알릴락토오스의 영향을 나타낸 도면이다.

도 25는 분화된 지방세포에서 시알릴락토오스에 의한 glycerol 분비의 변화를 나타낸 도면이다.

도 26a 및 26b는 시알릴락토오스 피하주사에 의한 고지방식이 마우스의 피부변화를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0159] 이하, 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.

[0160] **실시예 1. 정상쥐 모델에서의 SL(3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 촉진 평가**

[0161] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여 전 대비 장기별 상대적인 유전자 발현 변화를 보기 위하여, 4 주령 C57BL/6 마우스를 Dooyeul biotech (대한민국)으로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 2주일 동안 공급하였다. 6주령에서 마우스(초기체중 평균 21.4±1.1 g)를 다음과 같이 3개의 군(각 군은 8 마리의 마우스로 구성됨)으로 무작위로 나누고 10주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 24 마리 동물):

[0162] -대조군: 정상 식이 마우스 군

[0163] -3′ -SL 투여군: 정상 식이군에 더하여 3′ -시알릴락토오스(3′ -SL, Sigma)를 별도로 투여 (마우스 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여)

[0164] -6′ -SL 투여군: 정상 식이군에 더하여 6′ -시알릴락토오스(6′ -SL, Sigma) 를 별도로 투여 (마우스 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여).

[0165] 시알릴락토오스 또는 증류수(Deionized Water)를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. 마우스를 10 주 동안 동물실에 보관하였고, 12 시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3’ -시알릴락토오스(3′ -N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6’ -시알릴락토오스(6′ -N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0166] 상기와 같은 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 투여에 의한 유전자 발현 변화를, 8가지 주요 장기 (심장, 해마, 뇌, 척수, 폐, 간, 비장, 및 신장)와 3가지 골격근 그리고 복부지방 등에서 정량 비교를 하였다. 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX 1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0167] 도 1에서, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여 전 대비 장기별 상대적인 유전자 발현 변화는 각 장기들에서 (SL 투여군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)을 수치로 나타낸 것이다. 6′ -SL의 경우, 대부분의 장기 (도 1a), 골격근 (도 1b) 그리고 복부지방 (도 1c)에서 알 수 있는 바와 같이, 여러 신체 부위들에서 6′ -SL 투여군은 음성 대조군에 비해 PGC-1α을 포함한 여러 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, 및 UCP1)의 발현 정도가 매우 높았다. 즉, 6′ -SL이 정상 쥐의 여러 장기, 근육과 지방에서 PGC-1α와 관련된 유전자들의 발현을 촉진시키는 것을 확인할 수 있었다. 3′ -SL의 경우, 대부분의 장기 (도 1d), 골격근 (도 1e) 그리고 복부지방 (도 1f)에서 알 수 있는 바와 같이, 여러 신체 부위들에서 3′ -SL 투여군은 음성 대조군에 비해 여러 분석 대상의 발현 정도가 약간 증가하긴 하였지만, 6′ -SL에 비하여 그 효과가 적었다.

[0168] 도 1a, 도 1b 및 도 1c는 정상 쥐 모델에서의 6′ -SL 조성물 처리에 의한 장기 (도 1a), 골격근 (도 1b) 및 복부지방 (도 1c)의 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 도 1d, 도 1e 및 도 1f는 정상 쥐 모델에서의 3′ -SL 조성물 처리에 의한 장기 (도 1d), 골격근 (도 1e) 및 복부지방 (도 1f)의 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 도 1a 내지 도 1f에서 세로축은 대조군 대비 상대적인 유전자 발현비를 나타낸다.

[0169] **실시예 2. 노령 쥐모델의 뇌와 해마에서의 SL(3'-SL & 6'-SL) 조성물 처리에 의한 PGC-1α 단백질 발현 촉진 평가**

[0170] SL (3'-SL & 6'-SL) 투여 전 대비 뇌에서의 상대적인 단백질 발현을 보기 위하여, 4 주령 ICR 마우스를 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 2주일 동안 공급하였다. 6주령에서 마우스(초기체중 평균 20.3±1.5 g)를 다음과 같이 3개의 군(각 군은 8 마리의 마우스로 구성됨)으로 무작위로 나누고 42주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 24 마리 동물):

[0171] -대조군: 정상 식이 마우스군

[0172] -3'-SL 투여군: 정상 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여)

[0173] -6'-SL 투여군: 정상 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여)

[0174] 시알릴락토오스 또는 DW를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. 마우스를 42 주 동안 동물실에 보관하였고, 12 시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3'-시알릴락토오스(3′-N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′-Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6'-시알릴락토오스(6′-N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′-Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0175] 도 2는 뇌와 해마에서의 PGC-1α 단백질 발현 변화를 수치 (도 2a)와 웨스턴블럿 (도 2b)으로 나타낸 도면이다. 도 2b에서 BB1 6'은 6′-SL이다. 각 부위들에서 'PGC-1α 단백질 발현양'과 'GAPDH 단백질 발현양'을 정량해서 그 값의 상대적인 비 (PGC-1α 단백질 발현양)/(GAPDH 단백질 발현양)를 대조군, 3′-SL 투여군, 6′-SL 투여군에 대해서 수치로 나타내었다. 뇌와 해마 모두에서 6′-SL 투여군은 음성 대조군에 비해 PGC-1α 발현 정도가 매우 높았다. 즉, 6′-SL이 정상 쥐의 뇌의 여러 부분에서 PGC-1α 단백질의 발현을 촉진시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0176] 도 2는 노화 쥐 모델에서의 SL 조성물 투여에 의한 뇌와 해마 부분의 PGC-1α 단백질 발현 변화를 나타내다. 생후 6주 수컷 ICR 마우스에게 군당 8 마리로 하여 대조군과 6′-SL 투여군을 만들어 42주간 식이 조절 실험을 하였고, 마우스를 희생시켜 뇌와 해마를 적출하였다. 뇌는 대뇌 피질을 적출하였다. 적출된 뇌와 해마에서의 PGC-1α 단백질 발현 변화를 수치 (도 2a)와 웨스턴블럿 (도 2b)으로 나타내었다.

[0177] **실시예 3. 신경 세포 실험에서의 SL(3′-SL & 6′-SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 촉진 평가**

[0178] SL (3′-SL & 6′-SL)이 신경 세포에서도 PGC-1α 유전자와 관련 유전자들의 발현을 촉진하는 효과가 있는지를 알아보기 위해, 다음과 같은 시험을 수행하였다.

[0179] 뉴로블라스트 (Neuro-2a, American Type Culture Collection, USA)는 6-웰 플레이트의 웰 중 10% 소태아혈청, 100U 페니실린 및 0.1mg/mL의 스트렙토미신을 포함하는 DMEM 배지에서 37℃, 5% CO_2/95% 대기 조건에서 배양하였다. Neuro-2a 세포는 빠르게 자라는 생쥐 신경아세포종 세포주(neuroblastoma cell line)이다. 웰 당 6000개의 밀도로 시딩 후에, Neuro-2a 세포가 $5x10^6$ cells/ml 정도의 컨플루언시를 보이는 웰 중에 SL을 0.1mg/ml의 농도로 첨가하고 동일한 조건에서 24시간 배양하였다. SL(3'-SL 또는 6'-SL)은 실시예1에 기재된 것과 동일한 것을 사용하였다. 이하 달리 언급이 없으면, SL (3'-SL 또는 6'-SL) 및 그 사용 농도는 실시예1에 기재된 것과 동일한 것으로 이해된다. 음성 대조군은 생리식염수를 배지 부피의 1/1000로 처리하였다. 각 샘플을 처리한 세포들을 37℃에서 24시간 배양한 후, 차가운 식염수로 2회 세척하고, 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대해 미리 디자인된 프라이머(Primer)와 프로브(probe)(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_g1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0180] 도 3은 신경 세포에서의 SL (3′-SL & 6′-SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타내는 도면이다. 도 3에 나타낸 바와 같이, Neuro-2a 세포에 SL (3′-SL & 6′-SL)을 24시간 처리한 투여군과 처리하지 않은 대조군과 비교한 결과, SL (3′-SL & 6′-SL) 투여군은 음성 대조군에 비해 PGC-1α을 포함한 여러 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대하여 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다. 6′-SL이 신경 세포에서 PGC-1α와 관련된 유전자들의 발현을 매우 촉진시켰고, 3′-SL은 촉진 효과가 6′-SL보다 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.

[0181] **실시예 4. 근육 세포 실험에서의 SL(3′-SL & 6′-SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 촉진 평가**

[0182] SL이 실제 근육세포에서 PGC-1α 유전자의 발현을 촉진하는 효과가 있는지를 알아보기 위해, 다음과 같은 시험을 수행하였다.

[0183] C2C12 미성숙 근육세포를 ATCC(American Tissue Culture Collection, 미국)로부터 구입하여 준비하였으며, 10% FBS(Fetal Bovine Serum, Gibco, 미국)가 포함된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's Medium, 지브코, 미국) 배지에서 이틀에 한번씩 배지를 교환하면서 70% 융합(confluent) 할 때까지 37℃, 5% CO_2 배양기에서 배양하였다. 근육 세포로의 분화는 2% HS(Horse Serum, 지브코, 미국)를 포함한 배지에서 배양하여 유도하였다. 2% HS를 포함한 배지에서 4일 동안 배양한 근육 세포에 다양한 농도의 SL을 처리하였다. 음성 대조군은 생리식염수를 배지 부피의 1/1000로 처리하였다. 각 샘플을 처리한 세포들을 37℃에서 24시간 배양한 후, 차가운 식염수로 2회 세척하고, 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 1㎍/㎕의

RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다.

[0184] 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0185] 도 4는 C2C12 미성숙 근육세포에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타내는 도면이다. C2C12 미성숙 근육세포에 SL (3′ -SL & 6′ -SL)을 24시간 처리한 투여군과 처리하지 않은 대조군과 비교한 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여군은 음성 대조군에 비해 PGC-1α을 포함한 여러 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대하여 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다. 6′ -SL이 C2C12 미성숙 근육세포에서 PGC-1α와 관련된 유전자들의 발현을 매우 촉진시켰고, 3′ -SL은 촉진 효과가 6′ -SL보다 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.

[0186] **실시예 5. 알츠하이머 뇌질환 모델에서의 SL(3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 촉진 평가 및 인지능력 테스트 개선 평가**

[0187] 알츠하이머 뇌질환 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 및 인지능력 테스트 변화를 보기 위하여, 6주령 마우스를 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 2주일 동안 공급하였다. 8주령에서 마우스를 다음과 같이 3개의 군(각 군은 8 마리의 마우스로 구성됨)으로 분류하였다: 생후 8주 수컷 c57/BL6 마우스 (정상쥐; 초기체중 평균 35.6±3.3g)에게 정상 식이 처리한 군 8마리를 대조군으로 하고, 생후 8주 수컷 알츠하이머 질환 모델 마우스 (3xTg; 초기체중 평균 33.9±2.8g)에게 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고 10주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 32 마리 동물):

[0188] -대조군: SL이 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 정상쥐 (8마리)

[0189] -(알츠하이머 질환 모델)군: SL이 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 알츠하이머 모델 (8마리)

[0190] -(알츠하이머 질환 모델+3'-SL)군: 정상 식이군에 더하여 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma)를 별도로 투여하(쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 알츠하이머 모델 (8마리)

[0191] -(알츠하이머 질환 모델+6'-SL)군: 정상 식이군에 더하여 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma)를 별도로 투여한(쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 알츠하이머 모델 (8마리)

[0192] 시알릴락토오스 또는 DW를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. 마우스를 10 주 동안 동물실에 보관하였고, 12 시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3’ -시알릴락토오스(3′ -N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6’ -시알릴락토오스(6′ -N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0193] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를, 뇌질환 관련 2가지 주요 장기 (해마 및 뇌)들에서 정량 비교를 하였다. 뇌는 대뇌 피질이다. 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0194] 도 5는 알츠하이머 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타내는 도면이다. 도 5에서, 대조군 대비 뇌 혹은 해마의 상대적인 유전자 발현 변화는 각 장기들에서 ((알츠하이머 질환 모델)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양), ((알츠하이머 질환 모델+3′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)과 ((알츠하이머 질환 모델+6′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)의 수치로 나타낸 것이다. 생후 8주 수컷 알츠하이머 모델 (3xTg) 마우스에게 군당 8 마리로 하여 SL 투여한 군과 투여하지 않은 군을 만들어 10주간 식이 조절 실험하여 정상식이 정상쥐 (c57/BL6)의 유전자 발현 양과 비교하였다. 도 5에 나타낸 바와 같이, 정상식이의 정상쥐 대조군을 기준으로 했을 때, 6′ -SL이 투여된 (알츠하이머 질환 모델+6′ -SL)군은 정상 대조군에 비해서는 뇌 (도 5a)와 해마 (도 5b)에서 PGC-1α을 포함한 여러 분석 대상(Fndc5,

Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)의 발현 정도가 약간 떨어지지만, SL이 투여되지 않은 (알츠하이머 질환 모델)군에 비해 발현 정도가 매우 높았다. 3′ -SL은 관련 유전자 발현 촉진 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다. 즉, 6′ -SL이 알츠하이머 질환 모델 쥐의 뇌와 해마에서 PGC-1α와 관련된 유전자들(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대하여 가장 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다.

[0195] 도 6은 대조군, (알츠하이머 질환 모델)군, (알츠하이머 질환 모델+3′ -SL) 그리고 (알츠하이머 질환 모델+6′ -SL)군에 대하여 인지능력 테스트 (Morris water maze) 실험을 7일간 하여 인지 능력 테스트에서의 탈출 시간을 수치로 나타낸 것이다. SL이 투여되지 않은 (알츠하이머 질환 모델)군은 실험시간이 지나도 인지능력 테스트 탈출시간이 거의 개선 되지 않고 일정한데 반하여, 6′ -SL이 투여된 (알츠하이머 질환 모델+6′ -SL)군은 테스트 탈출시간이 확연히 빨라지고, 정상식이의 정상쥐 대조군보다 약간 떨어짐을 알 수 있다. 3′ -SL은 인지능력 개선 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다. 즉, 6′ -SL이 알츠하이머 질환 모델 쥐에서 가장 잘 인지능력을 개선시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0196] **실시예 6. 파킨슨 뇌질환 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 촉진 평가 및 행동실험 개선 평가**

[0197] 파킨슨 뇌질환 모델에서의 SL (3'-SL & 6'-SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 및 행동실험 개선 변화를 보기 위하여, 13 주령 정상 SD rat 및 파킨슨 뇌질환 모델을 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 일주일 동안 공급하였다. 14주령에서 SD rat을 다음과 같이 4개의 군(각 군은 8 마리로 구성됨)으로 분류하였다: 생후 14주 수컷 SD rat (정상쥐; 초기체중 평균 355.6±32.3g)에게 정상 식이 처리한 군 8마리를 대조군으로 하고, 생후 8주령에 6-hydroxydopamine (6-OHDA) 투여하여 13주령에 공급된 6-OHDA induced SD rat 파킨슨 질환 모델에 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고 14주령(초기체중 평균 363.6±29.8g)부터 10주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 32 마리 동물):

[0198] -대조군: SL가 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 정상쥐 (8마리)

[0199] -(파킨슨 질환 모델)군: SL가 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 파킨슨 모델 (8마리)

[0200] -(파킨슨 질환 모델+3'-SL)군: 정상 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 파킨슨 모델 (8마리)

[0201] -(파킨슨 질환 모델+6'-SL)군: 정상 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 파킨슨 모델 (8마리)

[0202] 시알릴락토오스 또는 DW를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. Rat을 10 주 동안 동물실에 보관하였고, 12 시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3’ -시알릴락토오스(3′ -N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6’ -시알릴락토오스(6′ -N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0203] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를, 뇌질환 관련 2가지 주요 장기 (해마, 뇌)들에서 정량 비교를 하였다. 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상 (Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 7a 및 도 7b에 나타내었다.

[0204] 도 7a 및 도 7b는 파킨슨 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL)조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 생후 8주령에 6-OHDA 투여하여 13주령에 공급된 6-OHDA induced SD rat 파킨슨 질환 모델에게 군당 8 마리로 하여 SL (3′ -SL & 6′ -SL)을 투여한 군과 투여하지 않은 군을 만들어 8주간 식이 조절 실험하여, 생후 13주 수컷 SD rat (정상쥐)에게 정상 식이 처리한 대조군의 유전자 발현 양과 비교하였다. 도 7a 및 도 7b에서, 뇌 혹은 해마의 정상쥐 대비 유전자 발현 변화는 각 장기들에서 ((파킨슨 질환 모델)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양), ((파킨슨 질환 모델+3′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양) 그리고 ((파킨슨 질환 모델+6′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)의 수치로 나타내었다. 그 결과, 도 7a 및 도 7b에 나타낸 바와 같이, 정상식이의 정상쥐 대조군을 기준으로 했을 때, 6′ -SL이 투여된 (파킨슨 질환 모델+6′ -SL)군은

정상 대조군에 비해서 뇌 (도7a)와 해마 (도 7b)에서 PGC-1α을 포함한 여러 분석 대상 (Fndc5, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)의 발현 정도가 약간 떨어지지만, SL이 투여되지 않은 (파킨슨 모델)군에 비해 발현 정도가 매우 우수하였다. 3′ -SL은 유전자 발현 촉진 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다. 즉, 6′ -SL이 파킨슨 질환 모델 쥐의 뇌와 해마에서 PGC-1α와 관련된 유전자들에 대하여 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다.

[0205] 도 8은 파킨슨병 동물 모델에 대한 행동 실험 결과를 나타낸 도면이다. 도 8에서, 세로축은 대조군, (파킨슨 질환 모델)군, (파킨슨 질환 모델+3′ -SL)군 그리고 (파킨슨 질환 모델+6′ -SL)군에 대하여 수직의 쇠창살 기구를 이용하여 행동 능력 실험(코너 돌기 & 내려가기)을 한 결과, 코너 돌기 시간과 내려가기 시간의 수치이다. 수직의 쇠창살 기구는 5cm X 55cm X 8cm의 열린 상자 형태이며, 앞면은 0.8cm X 0.8cm의 와이어이고, 나머지 면은 검은색의 플렉시글라스이며, 안전성을 위하여 바닥은 5cm 길게 제작되었다. 실험시, 마우스는 기기 꼭대기에서 3cm 떨어진 위치에 위를 향하는 방향으로 놓여졌고, 시험하기 전에 2일간 3번 기기에 순응시켰다. 쥐가 60초 안에 내려오지 못하면 다시 반복했었다. 코너 돌기 시간은 위로 향하던 쥐가 아랫 방향으로 향하게 돌아서는데 걸리는 시간이며, 내려가기 시간은 쥐가 코너를 돌아서 바닥에 내려온 전체 실험시간에서 코너 돌기 시간을 뺀 시간이었다.

[0206] 도 8에 나타낸 바와 같이, 정상식이의 정상쥐 대조군에 비하여, SL이 투여되지 않은 (파킨슨 질환 모델)군은 코너 돌기 시간과 내려가기 시간이 2~3배 이상 오래 걸린데 비해서, 6′ -SL이 투여된 (파킨슨 질환 모델+SL)군은 코너 돌기 시간과 내려가기 시간이 대조군과 거의 비슷했었다. 즉, 6′ -SL이 파킨슨 질환 모델 쥐에서 행동 능력 (코너 돌기 혹은 내려가기)을 개선시키는 것을 확인할 수 있었다. 3′ -SL은 행동 능력 개선 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다.

[0207] **실시예 7. 간질/경련 뇌질환 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 촉진 평가**

[0208] 간질/경련 뇌질환 모델에서의 SL (3'-SL & 6'-SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 보기 위하여, 생후 4주령 정상 SD rat 및 간질/경련 뇌질환 모델 (NER (Noda Epileptic Rat)을 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 2주일 동안 공급하였다. 6주령에서 SD rat을 다음과 같이 4개의 군(각 군은 8 마리로 구성됨)으로 분류하였다: 생후 6주 수컷 SD rat (정상쥐; 초기체중 평균 176.3±13.3g)에게 정상 식이 처리한 군 8마리를 대조군으로 하고, 생후 6주령 간질/경련 뇌질환 모델(초기체중 평균 181.8±11.3g)에 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고 6주령부터 10주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 32 마리 동물):

[0209] -대조군: SL가 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 정상쥐 (8마리)

[0210] -(간질/경련 뇌질환 모델)군: SL가 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 간질/경련 뇌질환 모델 (8마리)

[0211] -(간질/경련 뇌질환 모델+3'-SL)군: 정상 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 간질/경련 뇌질환 모델 (8마리)

[0212] -(간질/경련 뇌질환 모델+6'-SL)군: 정상 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 간질/경련 뇌질환 모델 (8마리)

[0213] 시알릴락토오스 또는 DW를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. Rat을 10 주 동안 동물실에 보관하였고, 12시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3’ -시알릴락토오스(3′ -N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6’ -시알릴락토오스(6′ -N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0214] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를, 뇌질환 관련 2가지 주요 장기 (해마, 뇌)들에서 정량 비교를 하였다. 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, 999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[0215] 도 9a 및 도 9b는 간질/경련 뇌질환 모델에서의 SL 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다.

도 9a 및 도 9b에서, 세로축은 대조군 대비 뇌 혹은 해마의 상대적인 유전자 발현 변화는 각 장기들에서 ((간질/경련 뇌질환 모델)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양), ((간질/경련 뇌질환 모델+3′ -SL) 과 ((간질/경련 뇌질환 모델+6′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)의 수치이다. 생후 6주령 간질/경련 질환 모델에게 군당 8 마리로 하여 SL 투여한 군과 투여하지 않은 군을 만들어 10주간 식이 조절 실험하여, 생후 6주 수컷 SD rat (정상쥐)에게 정상 식이 처리한 대조군의 유전자 발현 양과 비교하였다. 그 결과, 도 9a 및 도 9b에 나타낸 바와 같이, 정상 식이의 정상쥐 대조군을 기준으로 했을 때, SL이 투여된 (간질/경련 질환 모델+SL)군은 정상 대조군에 비해서는 뇌 (도 9a)와 해마 (도 9b)에서 PGC-1α을 포함한 여러 분석 대상(Fndc5, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)의 발현 정도가 약간 떨어지지만, SL이 투여되지 않은 (간질/경련 모델)군에 비해 발현 정도가 매우 우수하였다. 즉, 6′ -SL이 간질/경련 질환 모델 쥐의 뇌와 해마에서 PGC-1α와 관련된 유전자들에 대하여 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다. 3′ -SL은 유전자 발현 촉진 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다.

[0216] **실시예 8. 헌팅톤 뇌질환 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 촉진 평가 및 로타로드 주행시간 개선 평가**

[0217] 헌팅톤 뇌질환 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 및 인지능력 테스트 변화를 보기 위하여, 4 주령 마우스를 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 일주일 동안 공급하였다. 5주령에서 마우스를 다음과 같이 3개의 군(각 군은 8 마리의 마우스로 구성됨)으로 분류하였다: 생후 5주 수컷 c57/BL6 마우스 (정상쥐; 초기체중 평균 25.3±4.3g)에게 정상 식이 처리한 군 8마리를 대조군으로 하고, 생후 5주 수컷 헌팅톤 질환 모델 마우스 (R6/2 계열 (B6CBATg(HDexon1)62Gpb/3J, 111 CAGs)의 트렌스제닉 HD 마우스; 초기체중 평균 26.9±4.8g)에게 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고 10주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 32 마리 동물):

[0218] -대조군: SL가 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 정상쥐 (8마리)

[0219] -(헌팅톤 질환 모델)군: SL가 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 헌팅톤 모델 (8마리)

[0220] -(헌팅톤 질환 모델+3'-SL)군: 정상 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 헌팅톤 모델 (8마리)

[0221] -(헌팅톤 질환 모델+6'-SL)군: 정상 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 헌팅톤 모델 (8마리)

[0222] 시알릴락토오스 또는 DW를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. 마우스를 10 주 동안 동물실에 보관하였고, 12 시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3’-시알릴락토오스(3′ -N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6’-시알릴락토오스(6′ -N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0223] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를, 뇌질환 관련 2가지 주요 장기 (해마, 뇌)들에서 정량 비교를 하였다. 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, BDNF, SOD2, 및 GPX1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 10에 나타내었다.

[0224] 도 10a 및 도 10b는 헌팅톤 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 도 10a 및 도 10b에서 세로축은 정상쥐 대조군 대비 뇌 혹은 해마의 유전자 발현 변화는 각 장기들에서 ((헌팅톤 질환 모델)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양), ((헌팅톤 질환 모델+3′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양) 그리고 ((헌팅톤 질환 모델+6′ -SL)군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)의 수치이다. 생후 5주 수컷 헌팅톤 모델 마우스에게 군당 8 마리로 하여 SL (3′ -SL & 6′ -SL)을 투여한 군과 투여하지 않은 군을 만들어 10주간 식이 조절 실험하여 정상식이 정상쥐 (c57/BL6)의 유전자 발현 양과 비교하였다. 그 결과, 도 10a 및 도 10b에 나타낸 바와 같이, 정상식이의 정상쥐 대조군을 기준으로 했을 때, 6′ -SL이 투여된 (헌팅톤 질환 모델+6′ -SL)군은 정상 대조군에 비해서는 뇌 (도 10a)와 해마 (도 10b)에서 PGC-1α을 포

함한 여러 분석 대상 (Fndc5, Erra, UCP1, BNDF, SOD2, 및 GPX1)의 발현 정도가 약간 떨어지지만, SL이 투여되지 않은 (헌팅톤 질환 모델)군에 비해 발현 정도가 매우 높았다. 즉, SL이 헌팅톤 질환 모델 쥐의 뇌와 해마에서 PGC-1α와 관련된 유전자들에 대하여 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다. 3′ -SL은 유전자 발현 촉진 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다.

[0225] 또한, 정상식이의 정상쥐 대조군 대비 (헌팅톤 질환 모델)군, (헌팅톤 질환 모델+3′ -SL)군 그리고 (헌팅톤 질환 모델+6′ -SL)군의 로타로드 주행 시간 변화를 통해 행동개선을 평가하였다. 로타로드 주행실험은 ((헌팅톤 질환 모델)군의 로타로드 주행시간)/(대조군 로타로드 주행시간)과 ((헌팅톤 질환 모델+3′ -SL)군의 로타로드 주행시간)/(대조군 로타로드 주행시간) 그리고 ((헌팅톤 질환 모델+6′ -SL)군의 로타로드 주행시간)/(대조군 로타로드 주행시간)의 수치들의 변화를 확인하는 실험이다. 로타로드 주행시간은 로타로드 장치 (3분의 시간에 걸쳐 4 내지 40 rpm의 회전 스피드로 가속하는 로드; Jungdo Instruments, Korea)를 이용하여 측정하였다. 4주령 쥐에 로타로드 시험 연습을 한 뒤, 5주령부터 로타로드 시험을 수행하여, 떨어질 때까지 평균 시간을 측정하였다.

[0226] 도 11은 헌팅턴 질환 모델에 대한 로타로드 주행 실험의 결과를 나타낸 도면이다. 도 11에서, 세로축은 ((헌팅톤 질환 모델)군의 로타로드 주행시간)/(대조군 로타로드 주행시간)과 ((헌팅톤 질환 모델+3′ -SL)군의 로타로드 주행시간)/(대조군 로타로드 주행시간) 그리고 ((헌팅톤 질환 모델+6′ -SL)군의 로타로드 주행시간)/(대조군 로타로드 주행시간)의 수치를 나타낸다. 그 결과, 도 11에 나타낸 바와 같이, 정상식이의 정상쥐 대조군과 비교하여, (헌팅톤 질환 모델)군, (헌팅톤 질환 모델+3′ -SL)군 그리고 (헌팅톤 질환 모델+6′ -SL)군에 대하여 로타로드 주행 실험을 비교했을 때, 6′ -SL이 투여된 (헌팅톤 질환 모델+6′ -SL)군은 SL이 투여되지 않은 (헌팅톤 질환 모델)군에 비해서 로타로드 주행시간이 증가한 것으로 나타났고, 3′ -SL의 주행시간 증가 효과는 6′ -SL에 비해서 적었다. 즉, 6′ -SL이 헌팅톤 질환 모델에서 행동개선을 가장 잘 촉진시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0227] **실시예 9. 뇌졸중 모델에서의 SL(3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 허혈부피 및 MLPT 점수 변화**

[0228] 뇌졸중 모델에서 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 허혈부피 및 MLPT(Modified limb placing test) 점수 변화를 보기 위하여, 4 주령 마우스를 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 일주일 동안 공급하였다. 임시 및 영구 MCA(middle cerebral artery) 폐색 및 뇌내출혈 (intracerebral hemorrhage: ICH)을 포함하는 뇌졸중 모델은 6주령 수컷 Sprague-Dawley rat(체중 평균 185.3±15.8g) 및 수컷 BALB/c 마우스(체중 평균 24.6±3.8 g)를 사용하여 제조되었다. SL 투여 효과를 비교하기 위하여, 뇌졸증 유발 후 1시간에 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 복강 투여군으로 무작위로 나누고 (전체 24 마리 동물) 복강 투여하였다:

[0229] - 대조군: 용해 완충액 대조군 매체 복강 투여군 (8마리)

[0230] - 3′ -SL 처리: 3′ -SL 용해 완충액 매체 복강 투여군 (8마리)

[0231] - 6′ -SL 처리: 6′ -SL 용해 완충액 매체 복강 투여군 (8마리)

[0232] 국소대뇌경색 마우스모델은 추가적인 뇌경색 모델로 활용되었으며, 이 모델에서는 뇌경색 유발 후 3시간에 SL (3′ -SL & 6′ -SL)을 복강 투여하였다.

[0233] - 대조군: 용해 완충액 대조군 매체 복강 투여군 (8마리)

[0234] - 3′ -SL 처리: 3′ -SL 용해 완충액 매체 복강 투여군 (8마리)

[0235] - 6′ -SL 처리: 6′ -SL 용해 완충액 매체 복강 투여군 (8마리)

[0236] 허혈 부피 측정은 허혈유도 24시간 경과 후에 허혈부피 (경색 및 경계영역)의 부피를 TTC (2,3,7-triphenyltetrazolium chloride)를 이용하여 아래와 같이 수행하였다. 뇌를 적출한 다음에 전두팁을 1mm 두께로 자르고 2% TCC 용액에 침지하였다. 이어 염색된 절편을 PBS-4% 파라 포름알데히드로 고정한 후 각 절편의 허혈발생부위 및 반구 영역을 이미지 분석 시스템으로 측정하였다. 뇌 부종으로 인한 값을 아래와 같이 보정하였다: 교정된 허혈부피값: 측정된 허혈면적 × 1-{[(ipsilateral hemisphere area-contralateral hemisphere area)/contralateral hemisphere]}. 허혈부피는 총 반구부피에 대한 백분율로 나타냈다.

[0237] 도 12는 허혈 모델에서의 허혈 부피를 관찰한 결과를 나타낸 도면이다. 도 12의 결과는 3′ 또는 6′ -SL을 임시 또는 영구의 MCA (middle cerebral artery) 폐색이 가해진 마우스 모델에 처리했을 때, 인비보에서 SL에 의한 허혈성 신경 손상에 보호효과를 관찰한 결과이다. 도 12에 나타낸 바와 같이, 6′ -SL 처리에 의한 허혈부피 감

소가 국소 소뇌 영구 허혈 모델 (50%), 국소 소뇌 임시 허혈 모델 (60%) 및 국소 대뇌 영구 폐색 모델 (40%) 모두에서 절반 정도가 되었다. 3′ -SL의 허혈성 신경 손상에 보호효과는 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다.

[0238] 또한, ICH 모델에서 SL (3′ -SL & 6′ -SL)에 의한 신경 퇴행 억제를 보기 위해서, MLPT 테스트를 수행하였다. MLPT 테스트는 ICH 유도 하루 전, 하루 후 및 3일 후에 다음과 같이 수행되었다. 모델을 테이블에서 10cm 떨어진 곳에 매단 후 테이블로의 앞다리의 스트레치 정도를 평가하였다 (정상 0점, 비정상적 구부림 1점). 이어 모델의 앞발이 가장자리를 거쳐 움직이도록 하고, 각 앞 다리를 부드럽게 아래로 잡아당기고, 회수 정도를 평가하였다 (두 번째 실험: 앞 다리; 세 번째 실험: 뒷 다리). 마지막으로 래트를 테이블의 가장자리에 두고 앞다리를 옆으로 위치하는 것에 대하여 평가하였다. 3회의 평가 결과에 대하여 다음과 같이 점수를 매겼다: 정상, 0 점; 지연 (적어도 2초) 및/또는 불완전 수행, 1 점; 수행하지 못함, 2 점. 총 7점이 최대의 신경성 결핍을 나타내고, 0점은 정상을 나타낸다.

[0239] 도 13은 ICH 유도 후 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 처리에 의한 MLPT 시험 점수 변화를 나타낸 도면이다. 도 13에 나타낸 바와 같이, ICH 모델에서 6′ -SL 처리를 하였을 때, ICH 모델 유도 후 1일째와 3일째 결과에서 보듯이, 대조군보다 MLPT 테스트 점수가 낮아졌다. 즉 6′ -SL처리에 의한 신경 퇴행 억제효과가 있는 것이다. 3′ -SL의 신경 퇴행 억제 효과는 6′ -SL에 비해서 상대적으로 떨어짐을 알 수 있었다.

[0240] **실시예 10. SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 복부지방 유전자 발현 변화 및 국소 지방 제거 평가**

[0241] 쥐 모델에서 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화 및 국소 지방 제거 효과를 보기 위하여, 4 주령 수컷 ob 마우스 (C57BL/6J-ob/ob) 모델을 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 고지방 사료 (Rodent Diet with 60kcal% fat)를 2주일 동안 공급하였다. 생후 6주 수컷 ob 마우스 (C57BL/6J-ob/ob) 모델 (초기체중 평균 34.2±3.7g)에게 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고, 10주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 24마리 동물):

[0242] -대조군: SL가 처리되지 않은 고지방 사료 (Rodent Diet with 60kcal% fat) 식이를 먹은 모델 (8마리)

[0243] -3'-SL 투여군: 고지방 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구투여) 모델 (8마리)

[0244] -6'-SL 투여군: 고지방 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구투여) 모델 (8마리)

[0245] 시알릴락토오스 또는 DW를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. 마우스를 10 주 동안 동물실에 보관하였고, 12 시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3’-시알릴락토오스(3′ -N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6’-시알릴락토오스(6′ -N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0246] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를, 복부에서 정량 비교를 하였다. 트리졸 시약 (TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX 1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템 (Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 14에 나타내었다.

[0247] 도 14는 쥐 모델에서의 SL 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 도 14에서 세로축은 고지방 사료 식이를 먹는 모델에서 SL 투여 전 대비 복부지방 유전자 발현비로서, 복부지방에서 (3′ -SL 투여군의 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)과 (6′ -SL 투여군의 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)의 수치이다. 생후 6주 수컷 마우스에게 군당 8 마리로 하여 대조군과 SL 투여군을 만들어 10주간 고지방 식이 조절 실험을 하였다. 그 결과, 도 14에 나타낸 바와 같이, 6′ -SL 투여된 실험군은 음성 대조군에 비해 여러 분석 대상 (Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX1)에 대하여 2배정도의 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다. 3′ -SL은 PGC-1α와 관련된 유전자들의 발현 촉진 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 약간 떨어짐을 알 수 있었다.

[0248] 또한, SL을 처리되지 않은 고지방 사료 식이를 먹는 상기 ob 마우스 (C57BL/6J-ob/ob) 모델 쥐에서, 매조 롤러

(0.5mm, 인투엠알, (주)인투메디)를 이용하고 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여에 의한 국소 지방 제거 효과를 확인하였다. 구체적으로, 쥐의 등쪽에 있는 털을 잘라내고 노출 피부에 대하여 식염수 버퍼 중 0.1 M 농도의 SL를 피부에 바른 후 상기 매조 롤러를 마찰시켜 피부를 통하여 흡수하게 하였다. 대조군은 SL이 없는 상기 버퍼를 사용한 것을 제외하고 동일하였다. 그 결과를 도 15에 나타내었다. 도 15는 쥐 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 국소 투여한 경우 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 도 15에서, 3'-SL, 6'-SL, 및 CTL은 각각 3'-SL 투여군, 6'-SL 투여군 및 대조군으로서, 10주간 고지방 식이를 먹인 후 매조 롤러를 사용하여 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 0일과 4일에 국소 투여한 후, 7일에 더모스코피(Dermoscopy)로 관찰한 결과이다.

[0249] 그 결과, 도 15에 나타낸 바와 같이, 메조 롤러에 의하여 6′ -SL이 투여된 부분은 투여되지 않은 음성 대조 부분에 비해 국소 지방이 제거됨을 확인할 수 있었다. 3′ -S은 국소 지방 제거 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 약간 떨어짐을 알 수 있었다.

[0250] **실시예 11. 노화촉진 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 신체 부위별 유전자 발현 변화와 telomere 기능과 ROS 조절에 의한 노화 관련 만성질환 방지 효과**

[0251] 노화촉진 모델에서 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 신체 부위별 유전자 발현 변화를 보기 위하여, 생후 4주 수컷 노화촉진 모델 마우스 (SAM P1/Sku Slc)를 중앙실험동물 (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판 중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 일주일 동안 공급하였다. 생후 6주 수컷 노화촉진 모델 마우스 (초기체중 평균 28.8±2.3g)에게 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고, 12주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 24 마리 동물):

[0252] -대조군: SL가 투여되지 않은 정상 식이를 먹은 정상쥐 (8마리)

[0253] -3'-SL 투여군: 정상 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 노화 촉진 모델 (8마리)

[0254] -6'-SL 투여군: 정상 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 노화 촉진 모델 (8마리)

[0255] 시알릴락토오스 또는 DW를 매일 경구투여 방식으로 투여해 주었다. 마우스를 14 주 동안 동물실에 보관하였고, 12 시간 절식한 다음 희생시켰다. 식이 섭취량 및 체중 변화량은 각각 5일 마다 측정하였다. 3’ -시알릴락토오스(3′ -N-Acetylneuraminyl-D-lactose, 3′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→3)-β-D-Gal-(1→4)-DGlc) 또는 6’ -시알릴락토오스(6′ -N-Acetylneuraminyl-lactose, 6′ -Sialyl-D-lactose 또는 α-NeuNAc-(2→6)-β-D-Gal-(1→4)-D-Glc)는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0256] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를, 8가지 주요 장기 (심장, 해마, 뇌, 척수, 폐, 간, 비장, 신장)과 3가지 골격근 (가자미근, 대퇴사두근, 장딴지근) 등에서 정량 비교를 하였다. 트리졸 시약 (TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX 1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_q1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템 (Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 16에 나타내었다.

[0257] 도 16a 및 16b는 노화촉진 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 생후 6주 수컷 노화촉진 모델 마우스 (SAM P1/Sku Slc)에게 군당 8 마리로 하여 대조군, 3′ -SL 투여군 그리고 6′ -SL 투여군을 만들어 12주간 식이 조절 실험하였다. 도 16a 및 16b에서 세로축은 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여 전 대비 신체 부위별 상대적인 유전자 발현 변화로서, 각 신체 부위들에서 (3′ -SL 투여군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)와 (6′ -SL 투여군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)의 수치이다. 그 결과, 도 16a 및 16b에 나타낸 바와 같이, 3′ -SL (도 16a)와 6′ -SL (도 16b) 모두 대부분의 장기와 골격근에서 여러 분석 대상 (Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX1)에 대하여 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었고, 다만 3′ -SL는 분석 대상의 유전자 발현 촉진 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 약간 떨어짐을 알 수 있었다.

[0258] 또한, 세포차원의 실험을 위해서, SL이 투여되지 않은 고지방 사료 (Rodent Diet with 60kcal% fat) 식이를 먹은 대조군에서, MASMs (mouse 대동맥 평활근 세포들)들을 분리하였고 (Griendling et al., 1991), SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 배양액에 첨가하고 배양하고, 세포내 H_2O_2 측정 (ROS 수치)을 위해서, 0.1% 송아지 혈청에 잠긴 12-well 배양 플레이트에서 1일 배양하였다. 세포내 ROS 수치들은 H2DCFDA를 이용해서 측정되었다. 어세이

를 위하여, 세포들은 HBSS 버퍼속에서 H2DCFDA와 함께 30분간 배양되었다. 세포들을 트립신 처리하고 세척해서 HBSS에 녹였다. 형광값이 CytoFluor 플레이트 리더에 의해 즉시 측정되었다 (도 17a).

[0259] 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산 측정을 위해서, 미토콘드리아의 ROS는 MitoSOX Red (미토콘드리아 초산화물 형광 표지자)를 이용해 측정되었다. MASMs을 추출해서 MitoSOX (4 μM)와 함께 암실에서 37도에서 20분간 배양하였다. MitoSOX 형광은 형광 플레이트 리더를 이용하여 나온 세포의 형광세기에 의해 정량되었다 (480 nm 흥분 / 580 nm 방출) (도 17b).

[0260] 도 17a와 17b에서, MASMs을 노화촉진 모델 마우스 대조군에서 추출해서, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 배양액에 넣어서 비교하였다. 세포내 H_2O_2 (ROS 수치)를 측정하기 위해서 H2DCFDA와 함께 배양했고 (도 17a), 미토콘드리아의 ROS를 측정하기 위해서 MitoSOX Red (미토콘드리아 초산화물 형광 표지자) (도 17a)를 함께 배양하였다. 세포내 H_2O_2와 미토콘드리아 superoxide 생산은 형광 플레이트 리더로 정량 되었다. 조성물이 ROS 수치를 떨어뜨리고, 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산을 억제함을 알 수 있었다.

[0261] 도 17a와 17b는 세포내 H_2O_2 측정 (ROS 수치)(도 17a) 및 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산 측정(도 17b)을 나타낸 도면이다. MASMs을 노화촉진 모델 마우스 (SAM P1/Sku Slc)에서 추출해서, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 배양액에 넣어서 비교하였다. 세포내 H_2O_2를 측정하기 위해서 H2DCFDA와 함께 배양했고 (도 17a), 미토콘드리아의 ROS를 측정하기 위해서 MitoSOX Red (미토콘드리아 초산화물 형광 표지자) (도 17a)와 배양하였다. 세포내 H_2O_2와 미토콘드리아 superoxide 생산은 형광 플레이트 리더로 정량 되었다. SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물이 ROS 수치를 떨어뜨리고, 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산을 억제함을 알 수 있었다.

[0262] 도 18a 및 18b에서, 텔로메라아제 활동성의 측정은 TRAP 프로토콜 (Wright et al., 1995)로 측정된다. 요약하면, 세포 펠렛을 CHAPS 분해 용매 (ribonuclease 억제제 포함)에 녹인 뒤에 4도에서 30분간 배양한다. 세포 추출물 (1mg)을 TRAPeze 반응 믹스 (텔로메라아제 기질 (TS) 프라이머, 형광-라벨의 RP (reverse) 프라이머, 대조 표준 원형, 그리고 sulforhodamine-라벨의 대조 표준 K2 프라이머)와 혼합한다. TS 프라이머는 30도에서 30분간 연장된 후, PCR을 실행한다. 이렇게 나온 TRAP 생성물은 형광 플레이트 리더기로 형광을 측정하여 텔로메라아제 활동성을 정량한다. 상대적인 텔로메라아제 활동성은 sulforhodamine (내부 대조 표준) 대비 순 플루오레세인의 비율에 의해 정규화시켜지고, 퍼센티지로 표현된다. Fluorescein (M0250)은 Marker Gene Technologies, Inc에서 구입하였다. H2-dichlorofluorescin diacetate (DCFDA)는 from Molecular Probes에서 구입하였다. MitoSOXTM Red, MitoTracker Green FM, 그리고 MitoTracker® Orange CMTMRos (MTO)는 Invitrogen에서 구입하였다. 10,000x SYBR® Gold dye 는 Molecular Probes, Inc.에서 구입하였다. Nuclear/Cytosol fractionation kit (K266-100)는 BioVision에서 구입하였다. TRAPeze® XL telomerase detection kit (S7707)는 MILLIPORE에서 구입하였다. Telomere PNA FISH Kit/Cy3 (K5326)는 Dako에서 구입하였다.

[0263] 도 18a 및 18b는 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 투여에 의한 텔로메라아제 활동성을 측정한 결과를 나타낸다. 이 수치를 통해 TERT와 ARE/ERE (antioxidant/electrophile-responsive element) 신호 경로 활성화를 추론할 수 있었다 (Xiong et al., 2015, Cell Reports 12, 1391-1399). SL (3′ -SL & 6′ -SL)를 노화 촉진 모델 (도 18a)과 MASMs (도 18b)들에 처리하여 텔로메라아제 활동성을 분석하였다. 도 18a은 대조군, 3′ -SL 투여군 그리고 6′ -SL 투여군에서 추출된 대동맥 샘플로 텔로메라아제 활동성을 in vivo로 분석한 데이터이다. 도 18b 는 대조군의 평활근 세포들을 분리하여 (Griendling et al., 1991), MASMs들을 SL (3′ -SL & 6′ -SL)가 처리된 12-well 배양 플레이트에서 1일 배양하여 텔로메라아제 활동성을 in vitro로 분석하였다. 실험 결과 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 투여가 텔로메라아제 활동성 증가를 보여주었다. 이러한 결과는 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물이 PGC-1α 증가에 의하여 TERT 기능이상 및 DNA 손상 복구귀 (텔로메라아제 활동성 증가-TERT 발현)과 관련될 수 있음을 추론할 수 있는 근거를 주었다.

[0264] **실시예 12. 동맥경화증 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 telomere 기능과 ROS 조절에 의한 노화 관련 만성질환 방지 효과**

[0265] 최근에 PGC-1α 유전자가 제거되면, 혈관노화, 아테로마성 동맥경화증, telomere 기능장애와 길이 감소, DNA 손상, TERT (telomerase reverse transcriptase)의 발현 및 활동성 감소, 그리고 p53 증가로 발생한다는 논문이 발표되었다 (Xiong et al., 2015, Cell Reports 12, 1391-1399).

[0266] 일반적으로 $ApoE^{-/-}$ 쥐가, 산화성 스트레스와 염증에 대한 민감성을 증가시키고, 사람들에서 관찰되는 죽상경화증

상처를 빠르게 발달시키기 때문에, 동맥경화증의 대표적인 모델로 사용되므로 (Weiss et al., 2001), $ApoE^{-/-}$ 쥐 (C57BL/6 기반)를 Jackson Laboratory에서 구매하였다. 유전자형은 tail DNA를 이용한 PCR로 확인되었다.

[0267] 동맥경화증 노화 모델에서 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 telomere 기능과 DNA 손상 조절에 의한 노화 관련 만성질환 방지 효과를 보기 위하여, 2가지의 생후 24주 수컷 모델 마우스 ($PGC\text{-}1\alpha^{+/+}ApoE^{-/-}$)에게 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고, 6 주 동안 이들 식이를 유지하였다 (전체 24 마리 동물):

[0268] -대조군: 고지방 사료 (Rodent Diet with 60kcal% fat) 식이를 먹은 동맥경화증 모델 (8마리)

[0269] -3'-SL 투여군: 고지방 사료 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 동맥경화증 모델 (8마리)

[0270] -6'-SL 투여군: 고지방 사료 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구 투여) 동맥경화증 모델 (8마리)

[0271] 세포차원의 실험을 위하여서, SL이 투여되지 않은 고지방 사료 (Rodent Diet with 60kcal% fat) 식이를 먹은 대조군에서, MASMs (mouse 대동맥 평활근 세포들)들을 분리하였고 (Griendling et al., 1991), SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 배양액에 처리하여 비교하였다. 세포내 H_2O_2 측정 (ROS 수치)을 위해서, 0.1% 송아지 혈청에 잠긴 12-well 배양 플레이트에서 1일 배양하였다. 세포내 ROS 수치들은 H2DCFDA를 이용해서 측정되었다. 어세이를 위하여, 세포들은 HBSS 버퍼속에서 H2DCFDA 와 함께 30분간 배양되었다. 세포들을 트립신 처리하고 세척해서 HBSS에 녹였다. 형광값이 CytoFluor 플레이트 리더에 의해 즉시 측정되었다 (도 19a).

[0272] 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산 측정을 위해서, 미토콘드리아의 ROS 는 MitoSOX Red (미토콘드리아 초산화물 형광 표지자)를 이용해 측정되었다. MASMs을 추출해서 MitoSOX (4 μM)와 함께 암실에서 37도에서 20분간 배양하였다. MitoSOX 형광은 형광 플레이트 리더를 이용하여 나온 세포의 형광세기에 의해 정량되었다 (480 nm 흥분 / 580 nm 방출) (도 19b).

[0273] 도 19a와 19b에서, MASMs을 모델 마우스 ($PGC\text{-}1\alpha^{+/+}ApoE^{-/-}$) 대조군에서 추출해서, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 배양액에 넣어서 비교하였다. 세포내 H_2O_2 (ROS 수치)를 측정하기 위해서 H2DCFDA와 함께 배양했고 (도 19a), 미토콘드리아의 ROS를 측정하기 위해서 MitoSOX Red (미토콘드리아 초산화물 형광 표지자) (도 19a)를 함께 배양하였다. 세포내 H_2O_2와 미토콘드리아 superoxide 생산은 형광 플레이트 리더로 정량 되었다. 조성물이 ROS 수치를 떨어뜨리고, 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산을 억제함을 알 수 있었다.

[0274] 도 19a 및 19b는 세포내 H_2O_2 측정 (ROS 수치)(도 19a) 및 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산 측정(도 19b)의 결과를 나타낸 도면이다. MASMs을 모델 마우스 ($PGC\text{-}1\alpha^{+/+}ApoE^{-/-}$)에서 추출해서, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물을 배양액에 넣어서 비교하였다. 세포내 H_2O_2를 측정하기 위해서 H2DCFDA와 함께 배양했고 (도 19a), 미토콘드리아의 ROS를 측정하기 위해서 MitoSOX Red (미토콘드리아 초산화물 형광 표지자) (도 19a)와 배양하였다. 세포내 H_2O_2와 미토콘드리아 superoxide 생산은 형광 플레이트 리더로 정량되었다. SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물이 ROS 수치를 떨어뜨리고, 미토콘드리아의 초산화물 (Superoxide) 생산을 억제함을 알 수 있었다.

[0275] 도 20에서, 텔로메라아제 활동성의 측정은 TRAP 프로토콜 (Wright et al., 1995)로 측정된다. 요약하면, 세포 펠렛을 CHAPS 분해 용매 (ribonuclease 억제제 포함)에 녹인 뒤에 4도에서 30분간 배양한다. 세포 추출물 (1mg)을 TRAPeze 반응 믹스 (텔로메라아제 기질 (TS) 프라이머, 형광-라벨의 RP (reverse) 프라이머, 대조 표준 원형, 그리고 sulforhodamine-라벨의 대조 표준 K2 프라이머)와 혼합한다. TS 프라이머는 30도에서 30분간 연장된 후, PCR을 실행한다. 이렇게 나온 TRAP 생성물은 형광 플레이트 리더기로 형광을 측정하여 텔로메라아제 활동성을 정량한다. 상대적인 텔로메라아제 활동성은 sulforhodamine (내부 대조 표준) 대비 순 플루오레세인의 비율에 의해 정규화시켜지고, 퍼센티지로 표현된다. Fluorescein (M0250) 은 Marker Gene Technologies, Inc에서 구입하였다. H2-dichlorofluorescin diacetate (DCFDA)는 from Molecular Probes.에서 구입하였다. MitoSOXTM Red, MitoTracker Green FM, 그리고 MitoTracker® Orange CMTMRos (MTO)는 Invitrogen에서 구입하였다. 10,000x SYBR® Gold dye 는 Molecular Probes, Inc.에서 구입하였다. Nuclear/Cytosol fractionation kit (K266-100)는 BioVision에서 구입하였다. TRAPeze® XL telomerase detection kit (S7707)는 MILLIPORE에서 구입하였다. Telomere PNA FISH Kit/Cy3 (K5326)는 Dako에서 구입하였다.

[0276] 도 20a 및 20b에서, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 투여에 의한 텔로메라아제 활동성을 측정하였다. 이 수치를 통해 TERT와 ARE/ERE (antioxidant/electrophile-responsive element) 신호 경로 활성화를 추론할 수 있었다 (Xiong et al., 2015, Cell Reports 12, 1391-1399).

[0277] 도 20a 및 20b은 SL (3′ -SL & 6′ -SL)를 동맥경화증 모델 ($ApoE^{-/-}$; 도20a)과 MASMs (도 20b)들에 처리하여 텔로메라아제 활동성을 분석한 결과를 나타낸 도면이다. 도 20a에서 대조군, 3′ -SL 투여군 그리고 6′ -SL 투여군에서 추출된 대동맥 샘플로 텔로메라아제 활동성을 in vivo로 분석하였다. 도 20b에서 대조군의 평활근 세포들을 분리하여 (Griendling et al., 1991), MASMs들을 SL (3′ -SL & 6′ -SL)가 처리된 12-well 배양 플레이트에서 1일 배양하여 텔로메라아제 활동성을 in vitro로 분석하였다. 실험 결과 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 투여가 텔로메라아제 활동성 증가를 보여주었다. 이러한 결과는 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물이 PGC-1α 증가에 의하여 TERT 기능이상 및 DNA 손상 복귀 (텔로메라아제 활동성 증가- TERT 발현)과 관련될 수 있음을 추론할 수 있는 근거를 주었다.

[0278] **실시예 13. 피부실험에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 신체 부위별 유전자 발현 변화**

[0279] 피부실험 모델에서 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 신체 부위별 유전자 발현 변화를 보기 위하여, 생후 6주 수컷 피부실험 모델 (HRM2) 마우스 (멜라닌 포함한 Hairless의 외관)에게 군당 8 마리로 하기 3개의 상이한 식이 처리군으로 무작위로 나누고 (전체 24 마리 동물) 10주 동안 이들 식이 (AIN-76A 미국 Dyets社)를 유지하며 휴대용 색차계 (CR-10 일본 Minolta社)등을 이용하여 자외선조사 (검버섯, 주름 실험), 피부감수성 실험, 피부자극성 실험, 피하흡수 실험 등을 하였다:

[0280] - 대조군: 정상 식이를 먹은 군 (8마리)

[0281] - 3′ -SL 투여군: 정상 식이군에 3'-시알릴락토오스(3'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구투여) 모델 (8마리)

[0282] - 6′ -SL 투여군: 정상 식이군에 6'-시알릴락토오스(6'-SL, Sigma) 처리된 (쥐 무게 kg 당 1일 당 0.1mg 경구투여) 모델 (8마리)

[0283] SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여군이 대조군에 비하여 자외선조사 (검버섯, 주름 실험), 피부감수성 실험, 피부자극성 실험, 피하흡수 실험 등에서 피부가 훨씬 개선되어있음을 알 수 있었다. 또한SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를, 8가지 주요 장기 (심장, 해마, 뇌, 척수, 폐, 간, 비장, 신장)과 3가지 골격근 (가자미근, 대퇴사두근, 장딴지근) 등에서 정량 비교를 하였다. 트리졸 시약(TRIzol agent, Invitrogen)으로 RNA를 추출하였다. 상기에서 추출하여 정량한 RNA와 역전사 시스템(Promega, 미국)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 및 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX1)에 대해 미리 디자인된 프라이머와 프로브(Applied biosystems; PGC-1α, Mm00447181_m1, GAPDH, 및 Mm99999915_g1)를 이용하여 PGC-1α들의 발현 양상을 측정하였다. PCR 반응과 분석은 로터-유전자 3000 시스템(Rotor-Gene 3000 system)(Corbett Research, 시드니, 호주)을 이용하였고 그 결과를 도 21a 및 21b에 나타내었다.

[0284] 도 21a 및 21b에서, SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여 전 대비 신체 부위별 상대적인 유전자 발현 변화는 각 신체 부위들에서 (3′ -SL 투여군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)와 (6′ -SL 투여군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)을 수치로 나타낸 것이다. 여러 신체 부위들에서 6′ -SL 투여군은 음성 대조군에 비해 PGC-1α을 포함한 여러 분석 대상(Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX1)의 발현 정도가 매우 우수하였다. 즉, 6′ -SL이 정상 쥐의 여러 장기와 근육에서 PGC-1α와 관련된 유전자들의 발현을 촉진시키는 것을 확인할 수 있었다. 3′ -SL는 분석 대상의 유전자 발현 촉진 효과가 6′ -SL에 비해서 상대적으로 약간 떨어짐을 알 수 있었다

[0285] 도 21a 및 21b는 피부실험 모델에서의 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 처리에 의한 유전자 발현 변화를 나타낸 도면이다. 생후 6주 수컷 피부실험 모델 (HRM2) 마우스 에게 군당 8 마리로 하여 대조군과 SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여군을 만들어 10주간 식이 조절 실험하였다. SL (3′ -SL & 6′ -SL) 투여 전 대비 상대적인 유전자 발현 변화는 각 신체 부위들에서 'SL 투여군 유전자 발현양'과 '대조군 유전자 발현양'을 정량해서 그 값의 상대적인 비 (3′ -SL 투여군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)와 (6′ -SL 투여군 유전자 발현양)/(대조군 유전자 발현양)를 수치로 나타낸 것이다. 대부분의 장기와 골격근에서 여러 분석 대상 (Fndc5, PGC-1α, Erra, UCP1, SOD2, 및 GPX1)에 대하여 유의성 있는 발현양 증가를 보여주었다. 3′ -SL (도 21a)는 분석 대상의 유전자 발현 촉진 효과가 6′ -SL (도 21b)에 비해서 상대적으로 약간 떨어짐을 알 수 있었다.

[0286] **실시예 14. 시알릴락토오스 (3′-SL & 6′-SL) 조성물이 분화된 지방세포(adipocyte)에 미치는 영향**

[0287] **(1) 3T3-L1 세포배양 및 분화**

[0288] 3T3-L1 지방세포를 한국세포주은행으로부터 구입하여 사용하였다. 3T3-L1 지방세포의 배양과 유지는 10% bovine calf serum(FCS, 웰진, 한국)을 넣은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, 웰진, 한국) 배지로 5% CO2, 37℃에서 계대배양 하였다. 3T3-L1 지방세포를 다음과 같이 여섯 개의 군으로 분류하였다: NT; 정상 분화 세포군(대조군), 시알릴락토오스 실험군; 시알릴락토오스(SL, Sigma-Aldrich, 미국)가 처리된 실험군으로서 1, 10, 100, 1000, 및 10000㎛M 실험군. 세포분화는 6-well plate에 웰 당 $2x10^5$cells 을 분주하여 세포가 100% 밀집되게 배양하였다. 2일 후 10% fetal bovine serum(FBS, 웰진, 한국)와 MDI solution(0.5 mM isobutylmethylxanthine(IBMX, Sigma-Aldrich, 미국), 1 ㎛M dexamethasone (Sigma-Aldrich, 미국), 1 ㎍/mL insulin(Sigma-Aldrich, 미국))을 포함한 DMEM 배지를 실험군에 2일동안 처리하였고 다시 10% FBS와 1 ㎍/mL insulin,을 포함한 DMEM으로 2일동안 처리하였다. 그 후 10% FBS와 가 첨부된 DMEM 배지로 2일마다 배지를 교체하며 지방세포로 분화시켰다. 분화가 끝난 시점에 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지에 3’-시알릴락토오스 또는 6’-시알릴락토오스를 0, 0.01, 0.1, 1, 및 10mM 농도로 10일간 처리하였다

[0289] **(2) Oil-Red O 염색**

[0290] 6-well pleat에서 분화된 후, 3’-시알릴락토오스 또는 6’-시알릴락토오스가 처리되된 3T3-L1 지방세포를 PBS로 2회 세척 후 2ml의 10% formalin(Sigma-Aldrich, 미국)을 넣고 10분간 상온에서 고정시킨다. 고정된 세포를 건조시킨 후 1ml Oil Red O 염색시약(Sigma-Aldrich, 미국)을 세포에 20분간 처리한 후 증류수로로 Oil Red O 염색시약을 4번에 걸쳐 충분히 세척한 후 1ml의 100% isopropanol(Sigma-Aldrich, 미국)을 넣어 염색된 지방구를 유출 시킨 후 500nm에서의 흡광도를 이용하여 축적된 지방의 양을 측정하였다.

[0291] **(3) Free glycerol의 측정**

[0292] 6-well pleat에서 분화된 3T3-L1 지방세포에 6’-시알릴락토오스을 0, 0.01, 0.1, 1, 및 10mM 농도로 처리하여 10일동안 배양 한 배지를 eppendorf tube에 샘플링 한 후 glycerol cell-based assay kit(cayman, 10011725, 미국)을 사용하여 free glycerol을 분석하였다. 25ul 배지에 free glycerol reagent 100uL을 첨가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0293] **(4) 세포 생존률(cell viability) 측정**

[0294] 분화된 후 6’-시알릴락토오스가 처리된 3T3-L1 지방세포를 cell counting kit-8(Dojindo Molecular Technologies, Inc. 미국)를 이용하여 세포 생존률을 측정하였다. 약물 처리 후 CCK-8 reagent 10uL을 첨가하여 2시간 동안 배양한 후 450nm에서 흡광도를 측정하였다

[0295] 도 22와 도 23에서 확인할 수 있듯이, 분화된 지방세포에서 시알릴락토오스를 첨가에 의해 세포내 지방이 감소하였고, 특히 6’-시알릴락토오스를 첨가한 실험군에서 세포내 지방이 크게 감소하였다.

[0296] 도 22a 및 도 22b는 분화된 지방세포에서 6'-시알릴락토오스 (도 22a)와 3'-시알릴락토오스 (도 22b)가 투여된 경우 세포내 지방의 변화를 나타낸 도면이다. NT는 대조군이며, 0.01, 0.1, 1, 및 10mM은 6'-시알릴락토오스 (도 22a)와 3'-시알릴락토오스 (도 22b)를 각각 0.01, 0.1, 1, 10mM 실험군을 나타낸다.

[0297] 도 23a 및 도 23b는 분화된 지방세포에서 6'-시알릴락토오스 (도 23a)와 3'-시알릴락토오스 (도 23b)가 투여된 경우 세포내 지방의 변화를 나타내는 세포의 광학 현미경 사진(Oil red O 실험)이다. 도면에서, NT는 대조군이며, 0.01, 0.1, 1, 및 10mM은 6'-시알릴락토오스 (도 23a)와 3'-시알릴락토오스 (도 23b)를 0.01, 0.1, 1, 및 10mM 실험군을 나타낸다.

[0298] 한편, 도 24에서 확인할 수 있듯이, 시알릴락토오스는 분화된 지방세포에 10mM까지 세포 생존률(cell viability)에 영향을 주지 않았다.

[0299] 도 24는 분화된 지방세포에서 세포의 생존률에 미치는 6'-시알릴락토오스의 영향을 나타낸 도면이다. NT는 대조군이며, 0.01, 0.1, 1, 10, 및 100mM은 6'-시알릴락토오스를 각각 0.01, 0.1, 1, 10, 및 100mM 실험군을 나타낸다.

[0300] 또한 도 25에서 확인할 수 있듯이 시알릴락토오스는 지방세포의 glycerol 분비를 농도의존적으로 증가시켜 세포내 지방을 감소시켰다

[0301] 시알릴락토오스는 분화된 지방세포(adipocyte)에서 세포 생존률에 영향없이 glycerol 분비를 촉진하여 세포내 지방을 감소시켰으며, 특히 6' -시알릴락토오스가 크게 세포내 지방을 감소시켰다.

[0302] 도 25는 분화된 지방세포에서 시알릴락토오스에 의한 glycerol 분비의 변화를 나타낸 도면이다. 도면에서, NT는 대조군이며, 0.01, 0.1, 1, 및 10mM은 3'-시알릴락토오스를 각각 0.01, 0.1, 1, 및 10mM 실험군을 나타낸다.

[0303] **실시예 15. 시알릴락토오스 (3′ -SL & 6′ -SL) 조성물 피하주사에 의한 고지방식이 마우스의 피하지방 변화**

[0304] **(1) 고지방 식이 마우스**

[0305] 4 주령 C56BL/6 마우스를 Dooyeul biotech (대한민국)로부터 구입하였다. 물은 자유로이 공급하여 주었고, 시판중인 펠릿 먹이(Dooyeul biotech, 대한민국)를 일주일 동안 공급하였다. 28일간 Research Diets 사(New Brunswick, U.S.A)로부터 구입한 고지방(60% 지방) 식이를 공급하여 지방이 축적된 생쥐를 구축하였다.

[0306] **(2) 시알릴락토오스 피하주사**

[0307] 인산완충용액에 녹인 100mM 3'-시알릴락토오스 또는 6'-시알릴락토오스 0.5ml을 고지방 식이로 지방축적을 유도한 마우스의 등 4~5곳에 2회(0, 4일) 피하주사하여 4일, 및 7일에 피부를 육안과 dermoscopy로 관찰하였다. 대조군(CTL)으로 인산완충용액을 사용하였다.

[0308] 도 26a 및 26b에서 확인할 수 있듯이 시알릴락토오스 피하주사는 고지방식이 마우스의 피하 지방을 감소시켜 피부 표면의 주름을 유도하였다. 특히 6' -시알릴락토오스가 크게 피하 지방을 감소시켰다.

[0309] 도 26a 및 26b는 시알릴락토오스 피하주사에 의한 고지방식이 마우스의 피부변화를 나타낸 도면이다. 피부변화를 육안 및 dermoscopy (도 26a 및 26b)로 확인한 사진이다. CTL은 대조군이며 3'-시알릴락토오스(3'-SL), 6'-시알릴락토오스(6'-SL)은 실험군을 나타낸다.

[0310] **참고문헌**

[0311] 1. Galluzzi, L., Maiuri, M.C., Vitale, I., Zischka, H., Castedo, M., Zitvogel, L., Kroemer, G., 2007. Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. Cell Death Differ. 14, 1237-1243.

[0312] 2. Chipuk, J.E., Moldoveanu, T., Llambi, F., Parsons, M.J., Green, D.R., 2010. The BCL-2 family reunion. Mol. Cell 37, 299-310.

[0313] 3. Youle, R.J., Strasser, A., 2008. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 9, 47-59.

[0314] 4. Fadeel, B., Orrenius, S., 2005. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in human disease. J. Intern. Med. 258, 479-517.

[0315] 5. Aleck W.E. Jones, Zhi Yao, Jose Miguel Vicencio, Agnieszka Karkucinska-Wieckowska, Gyorgy Szabadkai, 2012. PGC-1 family coactivators and cell fate: Roles in cancer, neurodegeneration, cardiovascular disease and retrograde mitochondria-nucleus signaling. Mitochondrion. 12, 86-99.

[0316] 6. Lin, J. et al. Spiegelman, B.M., 2004. Defects in adaptive energy metabolism with CNS-linked hyperactivity in PGC-1alpha null mice. Cell 119, 121-135.

[0317] 7. Leone, T.C., Lehman, J.J., Finck, B.N., Schaeffer, P.J., Wende, A.R., Boudina, S., Courtois, M., Wozniak, D.F., Sambandam, N., Bernal-Mizrachi, C., Chen, Z., Holloszy, J.O., Medeiros, D.M., Schmidt, R.E., Saffitz, J.E., Abel, E.D., Semenkovich, C.F., Kelly, D.P., 2005. PGC-1alpha deficiency causes multi-system energy metabolic derangements: muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis. PLoS Biol. 3, e101.

[0318] 8. Chaturvedi RK & Flint Beal M (2013) Mitochondrial diseases of the brain. Free Radic Biol Med 63, 1-29.

[0319] 9. Katsouri L, Parr C, Bogdanovic N, Willem M & Sastre M (2011) PPARgamma co-activator-1alpha (PGC-1alpha) reduces amyloid-beta generation through a PPARgamma-dependent mechanism. J Alzheimers Dis 25, 151-162.

[0320] 10. Qin W, Haroutunian V, Katsel P, Cardozo CP, Ho L, Buxbaum JD & Pasinetti GM (2009) PGC-1alpha expression decreases in the Alzheimer disease brain as a function of dementia. Arch Neurol 66, 352-361.

[0321] 11. Wang R, Li JJ, Diao S, Kwak YD, Liu L, Zhi L, Bueler H, Bhat NR, Williams RW, Park EA et al. (2013) Metabolic stress modulates Alzheimer's beta secretase gene transcription via SIRT1-PPARgamma-PGC-1 in neurons. Cell Metab 17, 685-694.

[0322] 12. Clark, J., Reddy, S., Zheng, K., Betensky, R., Simon, D., 2011. Association of PGC-1alpha polymorphisms with age of onset and risk of Parkinson's disease. BMC Med. Genet. 12, 69.

[0323] 13. Weydt, P., Soyal, S., Gellera, C., DiDonato, S., Weidinger, C., Oberkofler, H., Landwehrmeyer, G.B., Patsch, W., 2009. The gene coding for PGC-1alpha modifies age at onset in Huntington's Disease. Mol. Neurodegener. 4, 3.

[0324] 14. Cui, L., Jeong, H., Borovecki, F., Parkhurst, C.N., Tanese, N., Krainc, D., 2006. Transcriptional repression of PGC-1alpha by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. Cell 127, 59-69.

[0325] 15. Qin W, Haroutunian V, Katsel P, Cardozo CP, Ho L, Buxbaum JD & Pasinetti GM (2009) PGC-1alpha expression decreases in the Alzheimer disease brain as a function of dementia. Arch Neurol 66, 352-361.

[0326] 16. Ranganathan, S., Harmison, G.G., Meyertholen, K., Pennuto, M., Burnett, B.G., Fischbeck, K.H., 2009. Mitochondrial abnormalities in spinal and bulbar muscular atrophy. Hum. Mol. Genet. 18, 27-42.

[0327] 17. Weydt, P., Pineda, V.V., Torrence, A.E., Libby, R.T., Satterfield, T.F., Lazarowski, E.R., Gilbert, M.L., Morton, G.J., Bammler, T.K., Strand, A.D., Cui, L., Beyer, R.P., Easley, C.N., Smith, A.C., Krainc, D., Luquet, S., Sweet, I.R., Schwartz, M.W., La Spada, A.R., 2006. Thermoregulatory and metabolic defects in Huntington's disease transgenic mice implicate PGC-1alpha in Huntington's disease neurodegeneration. Cell Metab. 4, 349-362.

[0328] 18. Xiang, Z., Valenza, M., Cui, L., Leoni, V., Jeong, H.-K., Brilli, E., Zhang, J., Peng, Q., Duan, W., Reeves, S.A., Cattaneo, E., Krainc, D., 2011. Peroxisome-proliferator-activated receptor gamma coactivator 1α contributes to dysmyelination in experimental models of Huntington's disease. J. Neurosci. 31, 9544-9553.

[0329] 19. Zheng, B., Liao, Z., Locascio, J. J., Lesniak, K. A., Roderick, S. S., Watt, M. L., Eklund, A. C., Zhang-James, Y., Kim, P. D., Hauser, M. A. et al. (2010). PGC-1a, a potential therapeutic target for early intervention in Parkinson's disease. Sci. Transl. Med. 2, 52ra73.

[0330] 20. Chaturvedi, R.K., Adhihetty, P., Shukla, S., Hennessy, T., Calingasan, N., Yang, L., Starkov, A., Kiaei, M., Cannella, M., Sassone, J., Ciammola, A., Squitieri, F., Beal, M.F., 2009. Impaired PGC-1alpha function in muscle in Huntington's disease. Hum. Mol. Genet. 18, 3048-3065.

[0331] 21. Zhao, W., Varghese, M., Yemul, S., Pan, Y., Cheng, A., Marano, P., Hassan, S., Vempati, P., Chen, F., Qian, X., Pasinetti, G., 2011. Peroxisome proliferator activator receptor gamma coactivator-1alpha (PGC-1alpha) improves motor performance and survival in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. Mol. Neurodegener. 6, 51.

[0332] 22. Chaturvedi RK & Flint Beal M (2013) Mitochondrial diseases of the brain. Free Radic Biol Med 63, 1-29.

[0333] 23. St-Pierre, J., Lin, J., Krauss, S., Tarr, P.T., Yang, R., Newgard, C.B., Spiegelman, B.M., 2003. Bioenergetic analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivators 1alpha and 1beta (PGC-1alpha and PGC-1beta) in muscle cells. J. Biol.Chem. 278, 26597-26603.

[0334] 24. Cowell, R.M., Talati, P., Blake, K.R., Meador-Woodruff, J.H., Russell, J.W., 2009. Identification of novel targets for PGC-1alpha and histone deacetylase inhibitors in neuroblastoma cells. Biochem.

Biophys. Res. Commun. 379, 578-582.

[0335] 25. St-Pierre, J., Drori, S., Uldry, M., Silvaggi, J.M., Rhee, J., Jager, S., Handschin, C., Zheng, K., Lin, J., Yang, W., Simon, D.K., Bachoo, R., Spiegelman, B.M., 2006. Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. Cell 127, 397-408.

[0336] 26. Valle, I., Alvarez-Barrientos, A., Arza, E., Lamas, S., Monsalve, M., 2005. PGC-1alpha regulates the mitochondrial antioxidant defense system in vascular endothelial cells. Cardiovasc. Res. 66, 562-573.

[0337] 27. Xiong, S., Patrushev N., Forouuzandeh, F., Hilenski, L., Alexander, R.W., 2015. PGC-1a modulates telomere function and DNA damage inprotecting against age-related chronic diseases. Cell Report 12, 1391-1399.

[0338] 28. Borniquel, S., Valle, I., Cadenas, S., Lamas, S., Monsalve, M., 2006. Nitric oxide regulates mitochondrial oxidative stress protection via the transcriptional coactivator PGC-1alpha. The FASEB journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 20, pp. 1889-1891.

[0339] 29. Lai, L., Leone, T.C., Zechner, C., Schaeffer, P.J., Kelly, S.M., Flanagan, D.P., Medeiros, D.M., Kovacs, A., Kelly, D.P., 2008. Transcriptional coactivators PGC-1alpha and PGC-1beta control overlapping programs required for perinatal maturation of the heart. Genes Dev. 22, 1948-1961.

[0340] 30. Garnier, A., Fortin, D., Delomenie, C., Momken, I., Veksler, V., Ventura-Clapier, R., 2003. Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity in rat failing cardiac and skeletal muscles. J. Physiol. 551, 491-501.

[0341] 31. Ljubicic V, Joseph A, Saleem A, et al: Transcriptional and post-transcriptional regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle: effects of exercise and aging. Biochim Biophys Acta 2010;1800:223-234.

[0342] 32. Gouspillou G, Picard M, Godin R, Burelle Y, Hepple R: Role of peroxisome proliferative activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α) in denervation-induced atrophy in aged muscle: facts and hypotheses. Longev Healthspan 2013;2:13.

[0343] 33. Johnson ML, Robinson MM, Nair KS: Skeletal muscle aging and the mitochondrion. Trends Endocrin Met 2013;24:247-256.

[0344] 34. Marzetti E, Calvani R, Cesari M, et al: Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials. Int J Biochem Cell Biol 2013;45:2288-2301.

[0345] 35. Calvani R, Joseph A, Adhihetty PJ, et al: Mitochondrial pathways in sarcopenia of aging and disuse muscle atrophy. Biol Chem 2013; 394:393-414.

[0346] 36. Wallace DC: A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. Annu Rev Genet 2005;39:359.

[0347] 37. Finck BN, Kelly DP: PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. J Clin Invest 2006;116: 615-622

[0348] 38. Tina Wenz, Susana G. Rossi, Richard L. Rotundo, Bruce M. Spiegelman, and Carlos T. Moraes. 2009, Increased muscle PGC-1a expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging, PNAS106, 20405-20410.

[0349] 39. Rolfe, D. F. and Brown, G. C. (1997). Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. Physiol. Rev. 77, 731-758.

[0350] 40. Jastroch, M., Divakaruni, A. S., Mookerjee, S., Treberg, J. R. and Brand, M. D. (2010). Mitochondrial proton and electron leaks. Essays Biochem. 47, 53-67.

[0351] 41. Fukui Y, Masui S, Osada S, Umesono K, Motojima K. 2000. A new thiazolidinedione, NC-2100, which is

a weak PPAR-g activator, exhibits potent antidiabetic effects and induces uncoupling protein 1 in white adipose tissue of KKAy obese mice. *Diabetes 49*: 759-767

[0352] 42. Wilson-Fritch L, Nicoloro S, Chouinard M, Lazar MA, Chui PC, Leszyk J, Straubhaar J, Czech MP, Corvera S. 2004. Mitochondrial remodeling in adipose tissue associated with obesity and treatment with rosiglitazone. *J Clin Invest 114*: 1281-1289.

[0353] 43. Quinlan, C. L., Treberg, J. R. and Brand, M. D. (2011). Mechanisms of mitochondrial free radical production and their relationship to the aging process. In Handbook of the Biology of Aging (Seventh Edition) (ed. J. M. Edward and N. A. Steven), pp. 47-61. San Diego, CA: Academic Press.

[0354] 44. Sahin, E., Colla, S., Liesa, M., Moslehi, J., Mu¨ller, F. L., Guo, M., Cooper, M., Kotton, D., Fabian, A. J., Walkey, C. et al. (2011). Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. Nature 470, 359-365.

[0355] 45. Kujoth, G. C., Hiona, A., Pugh, T. D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S. E., Hofer, T., Seo, A. Y., Sullivan, R., Jobling, W. A. et al. (2005). Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. Science 309, 481-484.

[0356] 46. Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A. T., Bruder, C. E., Bohlooly-Y, M., Gidlo¨f, S., Oldfors, A., Wibom, R. et al. (2004). Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. Nature 429, 417-423.

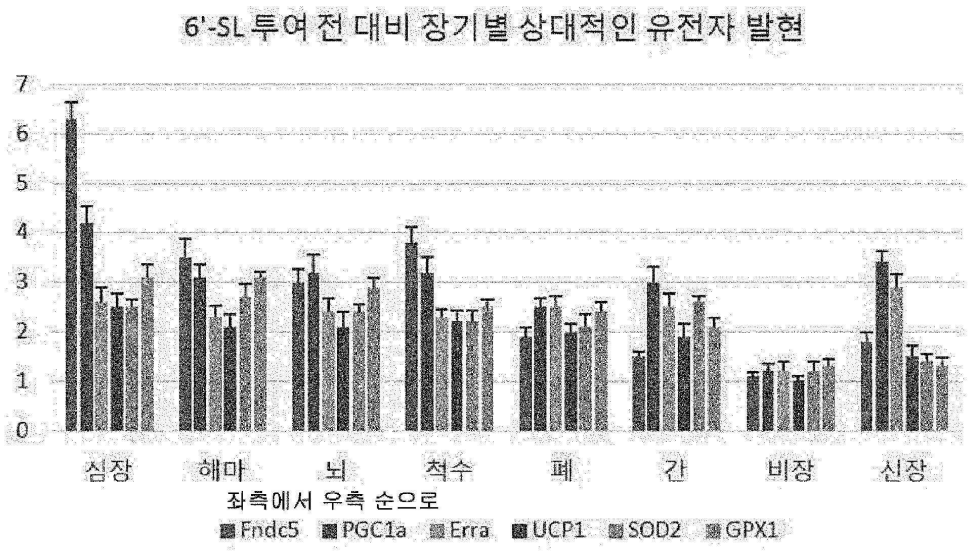
[0357] 47. Lin, J., Wu, H., Tarr, P. T., Zhang, C. Y., Wu, Z., Boss, O., Michael, L. F., Puigserver, P., Isotani, E., Olson, E. N. et al. (2002b). Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. Nature 418, 797-801.

[0358] 48. Dillon, L. M., Williams, S. L., Hida, A., Peacock, J. D., Prolla, T. A., Lincoln, J. and Moraes, C. T. (2012). Increased mitochondrial biogenesis in muscle improves aging phenotypes in the mtDNA mutator mouse. Hum. Mol. Genet. 21, 2288-2297.

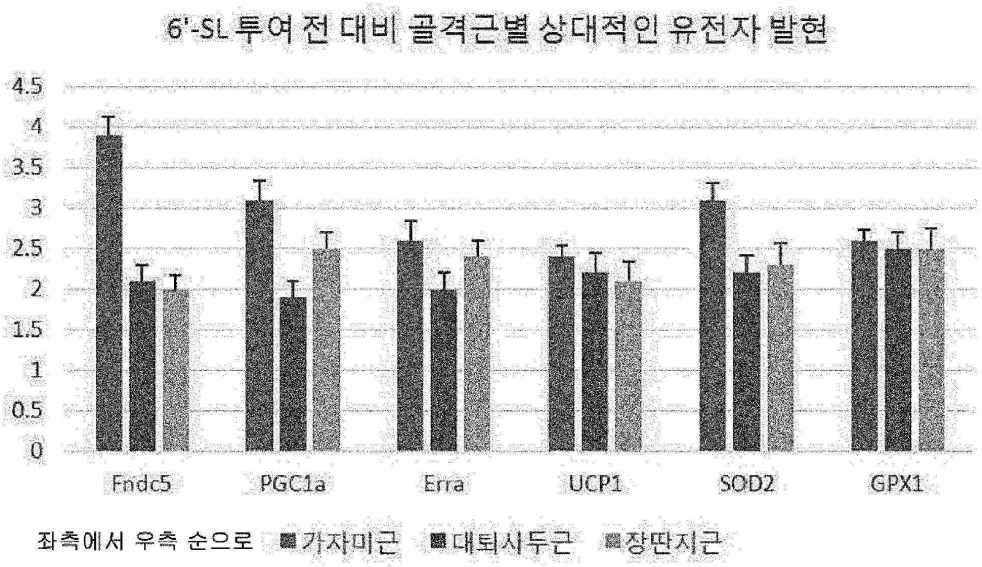
[0359] 49. Wenz, T., Rossi, S. G., Rotundo, R. L., Spiegelman, B. M. and Moraes, C. T. (2009). Increased muscle PGC-1alpha expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 20405-20410.

도면

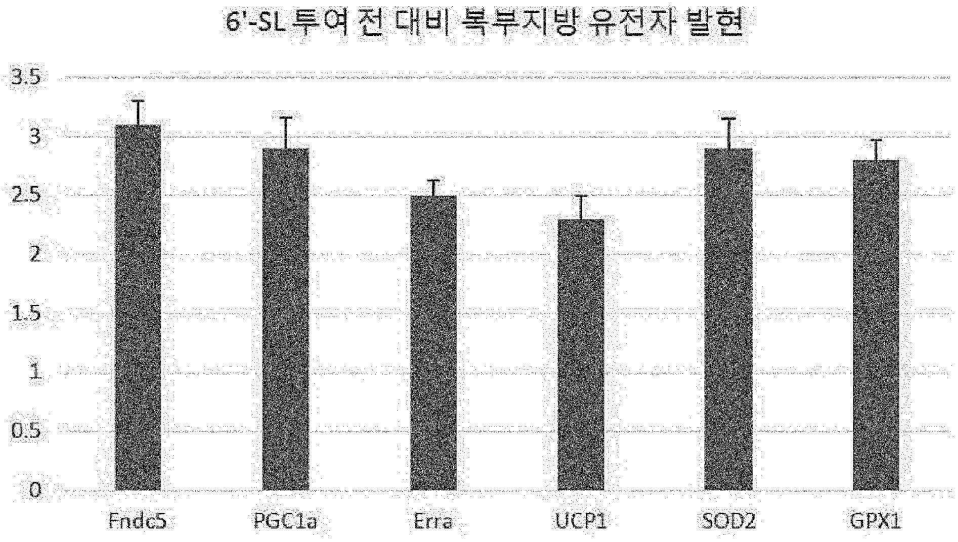
도면1a



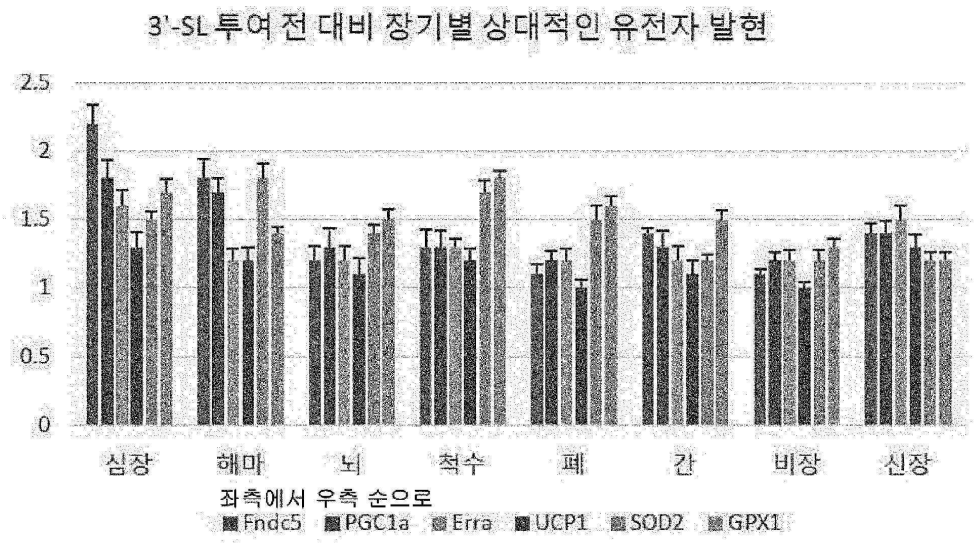
도면1b


6'-SL 투여 전 대비 골격근별 상대적인 유전자 발현
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로 가자미근 대퇴사두근 장딴지근

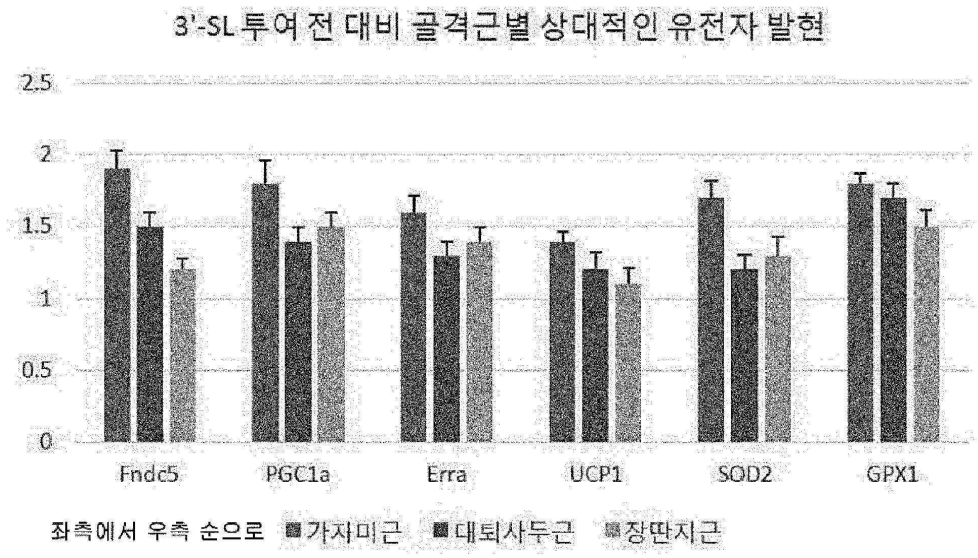
도면1c


6'-SL 투여 전 대비 복부지방 유전자 발현
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
SOD2
GPX1

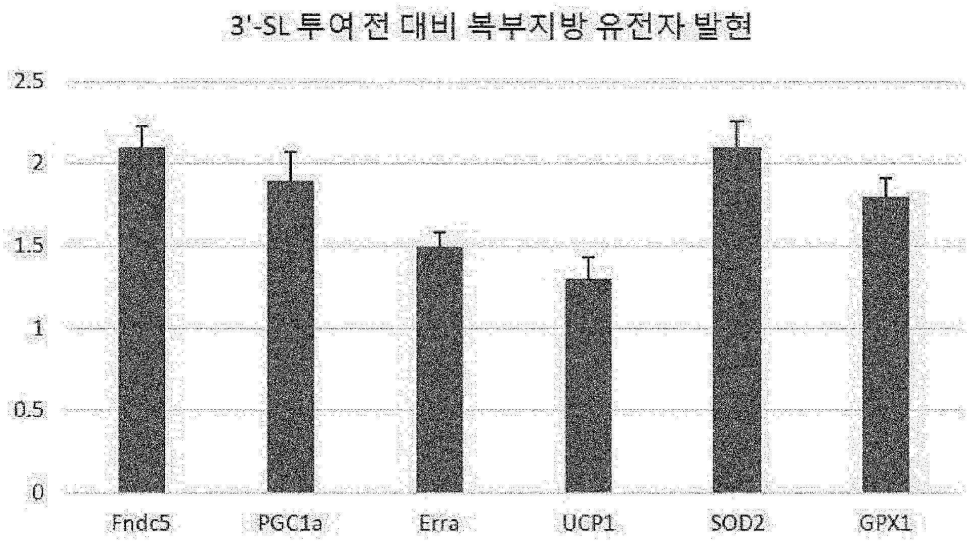
도면1d


3'-SL 투여 전 대비 장기별 상대적인 유전자 발현
2.5
2
1.5
1
0.5
0
심장
해마
뇌
척수
폐
간
비장
신장
좌측에서 우측 순으로
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
SOD2
GPX1

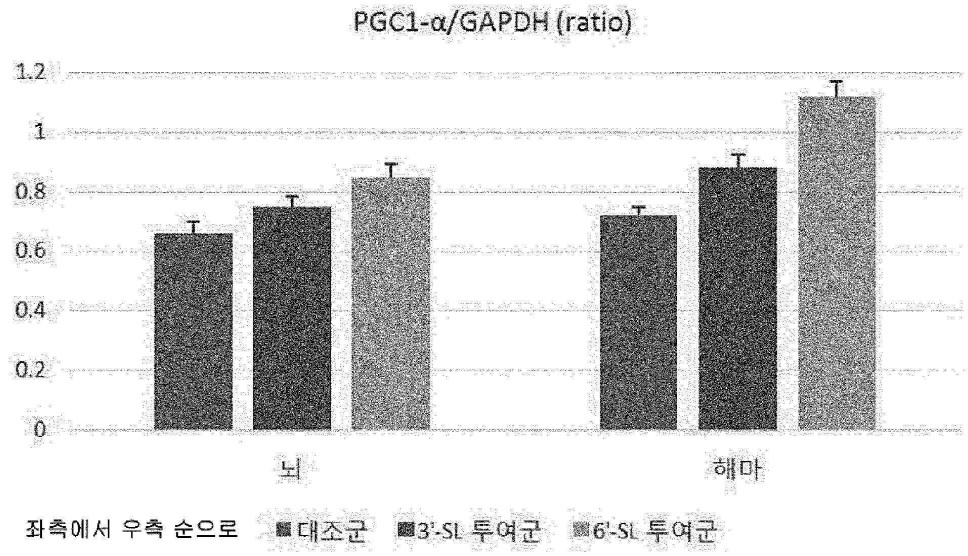
도면1e


3'-SL 투여 전 대비 골격근별 상대적인 유전자 발현
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
가자미근
대퇴사두근
장딴지근

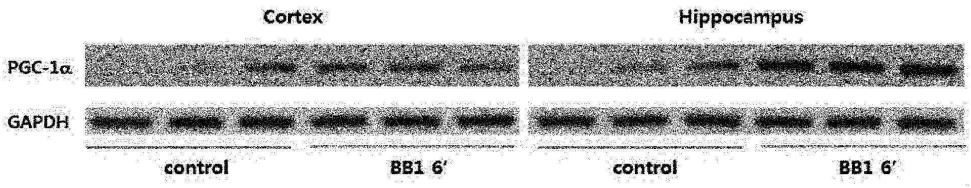
도면1f



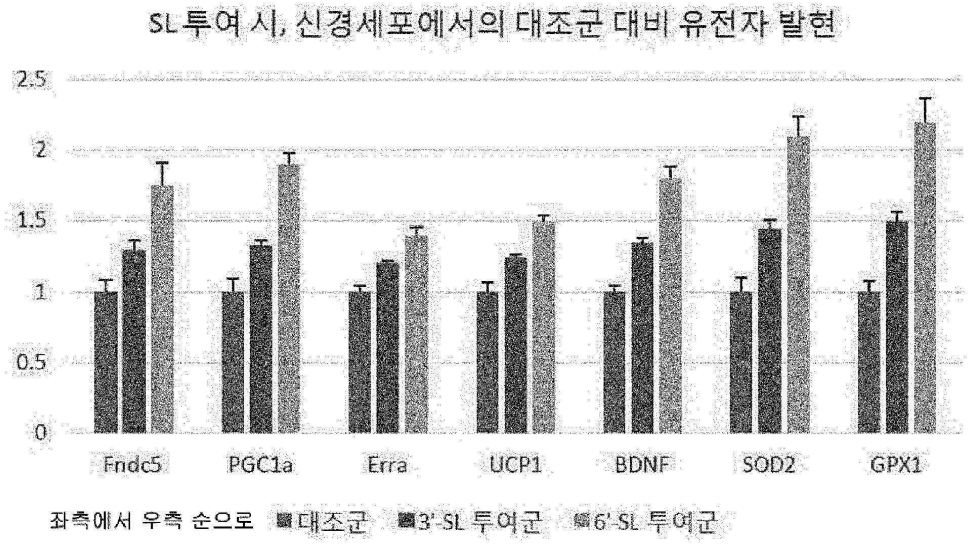
도면2a



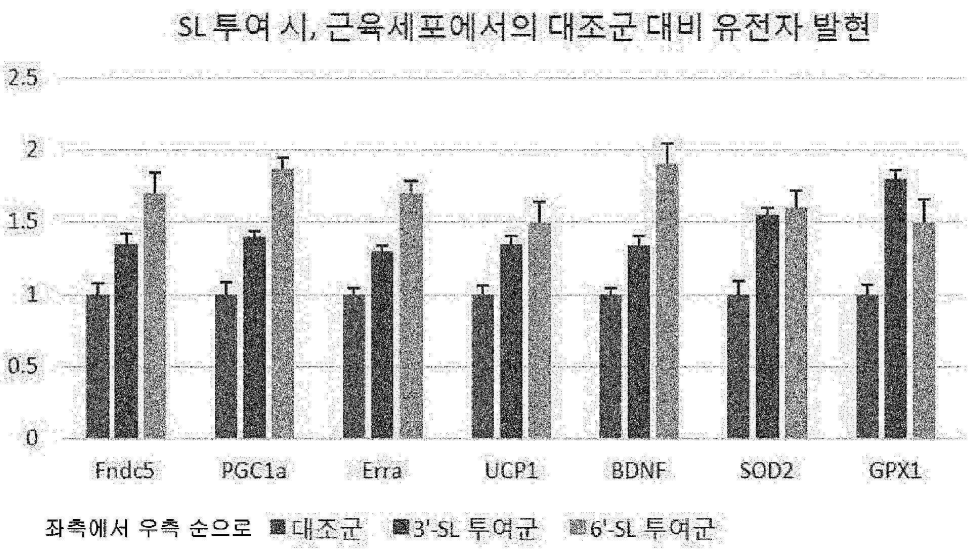
도면2b



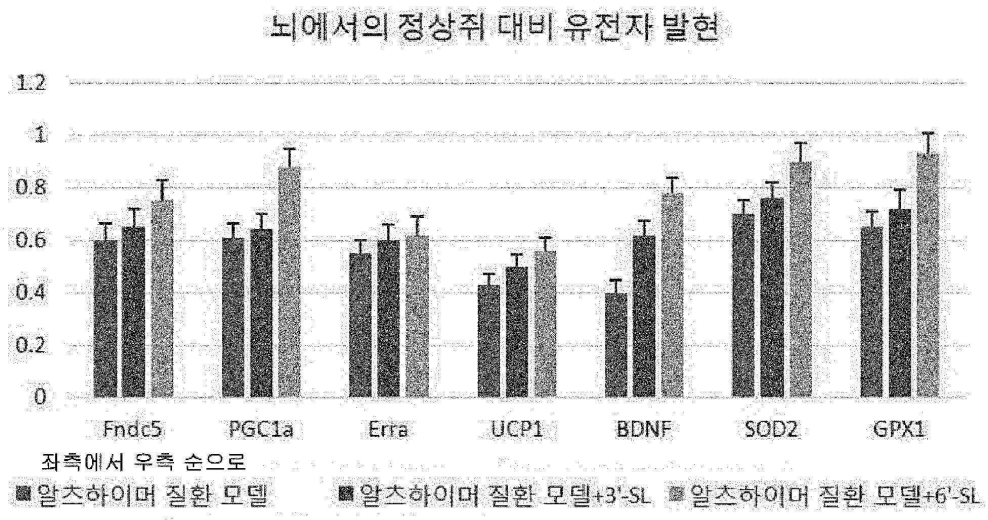
도면3


SL 투여 시, 신경세포에서의 대조군 대비 유전자 발현
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로 대조군 3'-SL 투여군 6'-SL 투여군

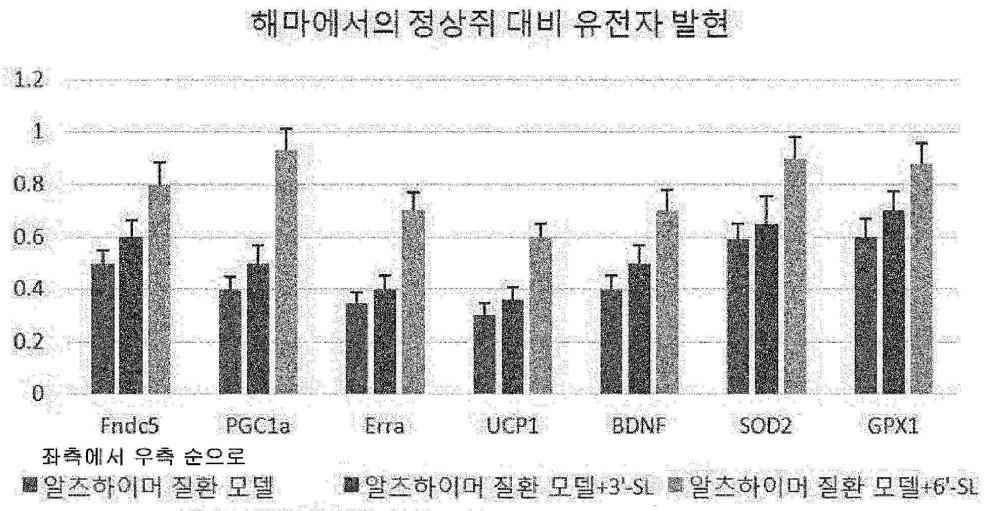
도면4


SL 투여 시, 근육세포에서의 대조군 대비 유전자 발현
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로 대조군 3'-SL 투여군 6'-SL 투여군

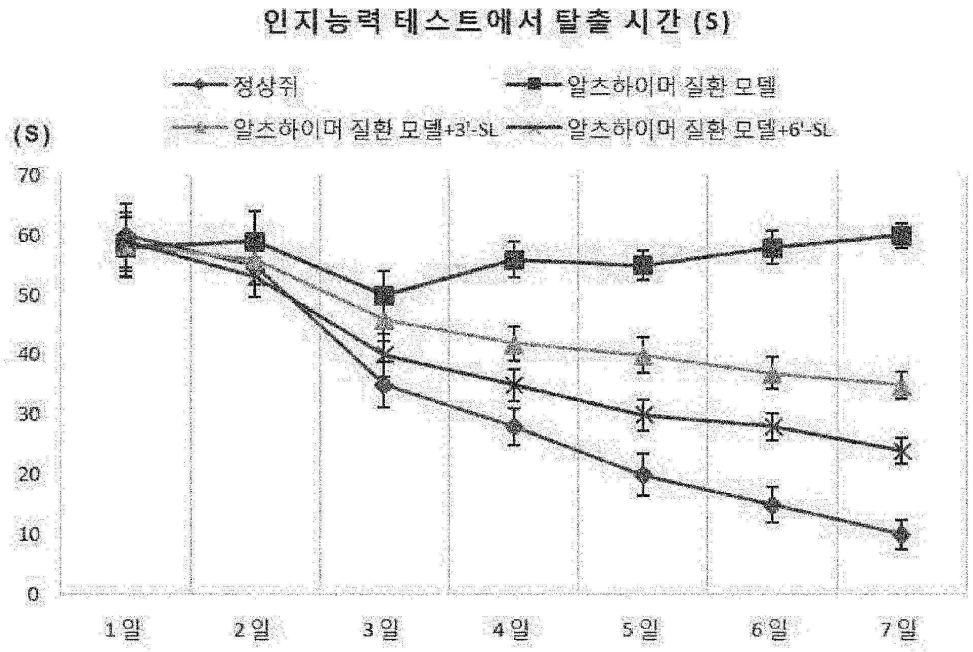
도면5a


뇌에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
알츠하이머 질환 모델
알츠하이머 질환 모델+3'-SL
알츠하이머 질환 모델+6'-SL

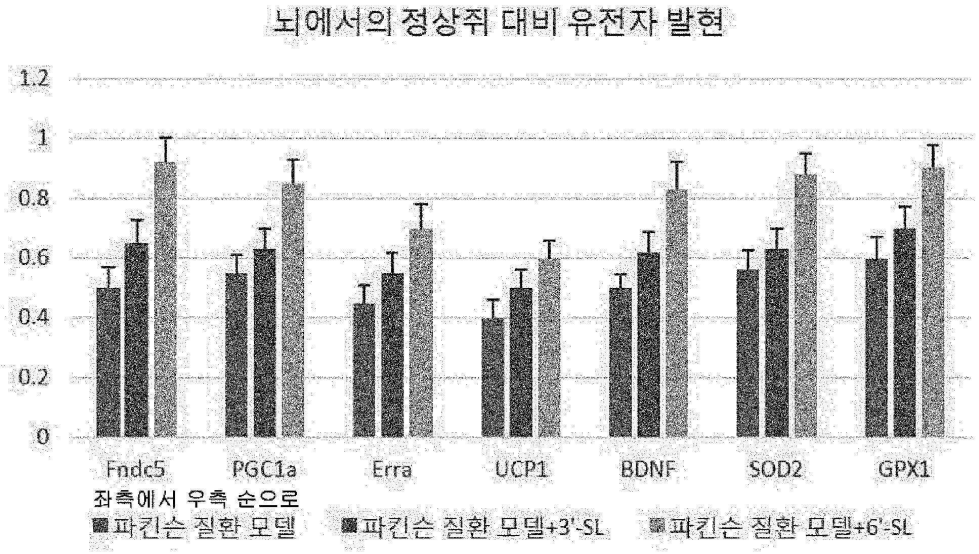
도면5b


해마에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
알츠하이머 질환 모델
알츠하이머 질환 모델+3'-SL
알츠하이머 질환 모델+6'-SL

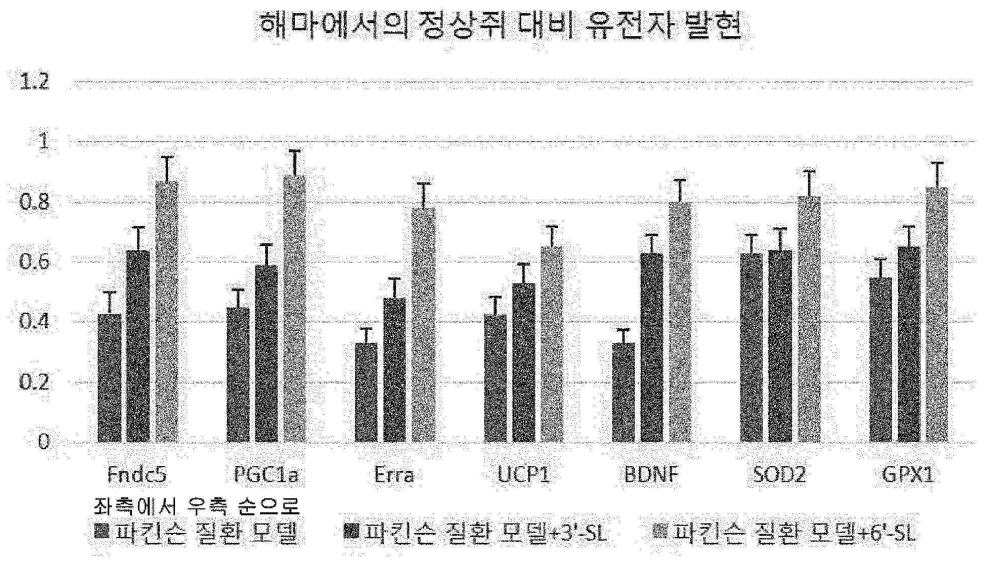
도면6


인지능력 테스트에서 탈출 시간 (S)
정상쥐
알츠하이머 질환 모델
알츠하이머 질환 모델+3'-SL
알츠하이머 질환 모델+6'-SL
(S)
70
60
50
40
30
20
10
0
1 일
2 일
3 일
4 일
5 일
6 일
7 일

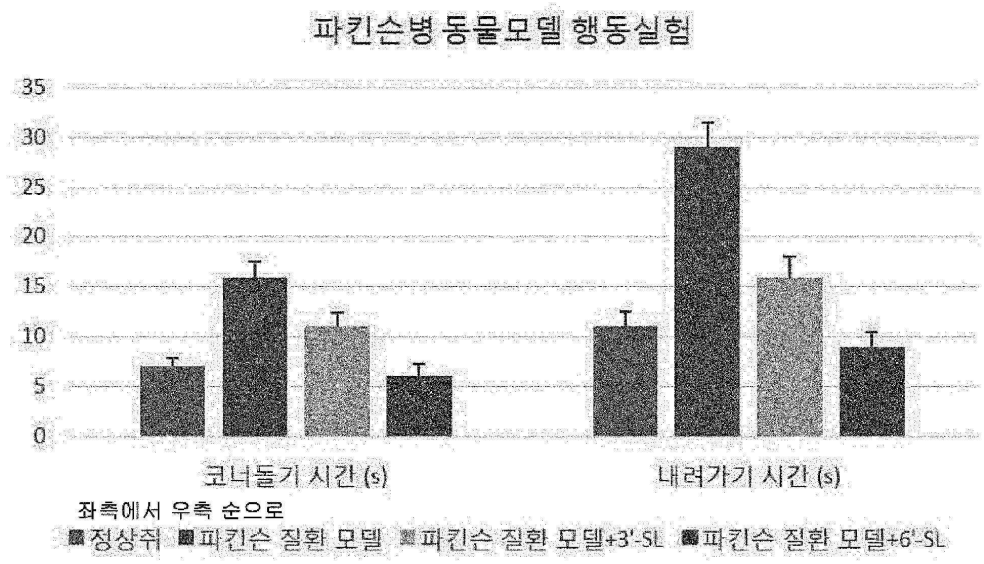
도면7a


뇌에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
파킨슨 질환 모델
파킨슨 질환 모델+3'-SL
파킨슨 질환 모델+6'-SL

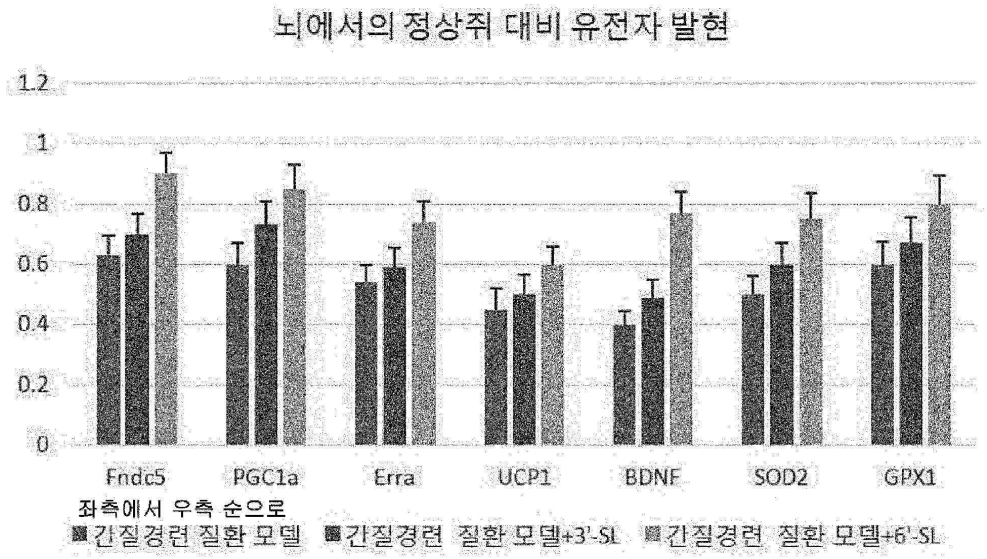
도면7b


해마에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
파킨슨 질환 모델
파킨슨 질환 모델+3'-SL
파킨슨 질환 모델+6'-SL

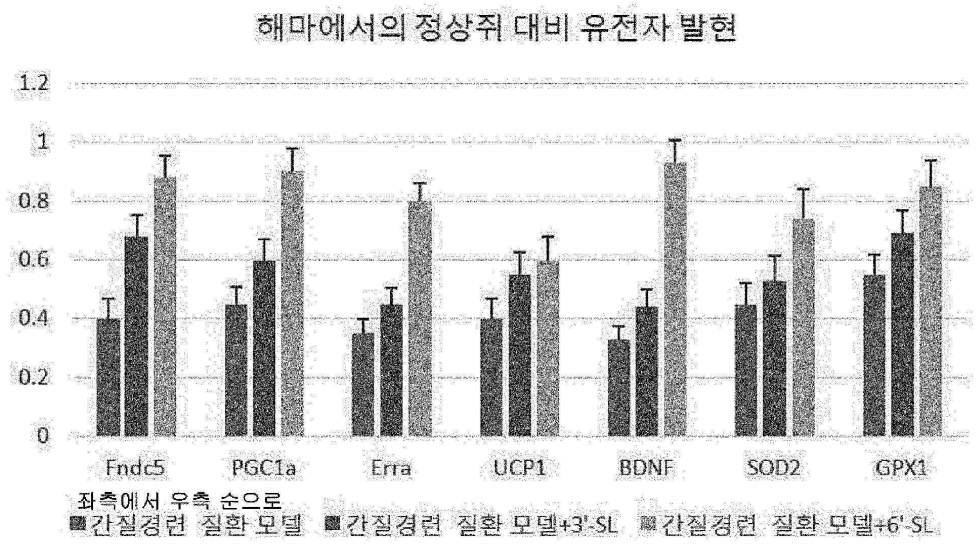
도면8


파킨슨병 동물모델 행동실험
35
30
25
20
15
10
5
0
코너돌기 시간 (s)
내려가기 시간 (s)
좌측에서 우측 순으로
정상쥐
파킨슨 질환 모델
파킨슨 질환 모델+3'-SL
파킨슨 질환 모델+6'-SL

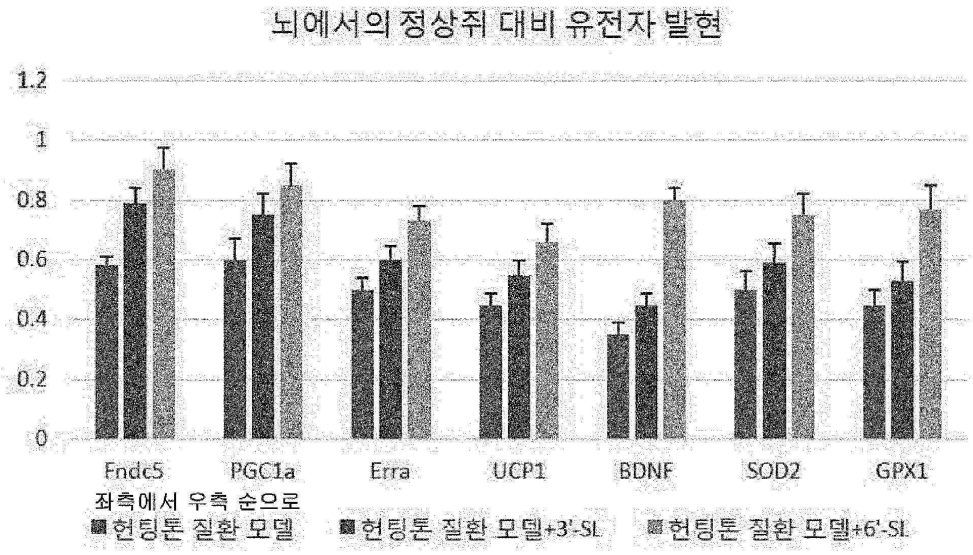
도면9a


뇌에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
간질경련 질환 모델
간질경련 질환 모델+3'-SL
간질경련 질환 모델+6'-SL

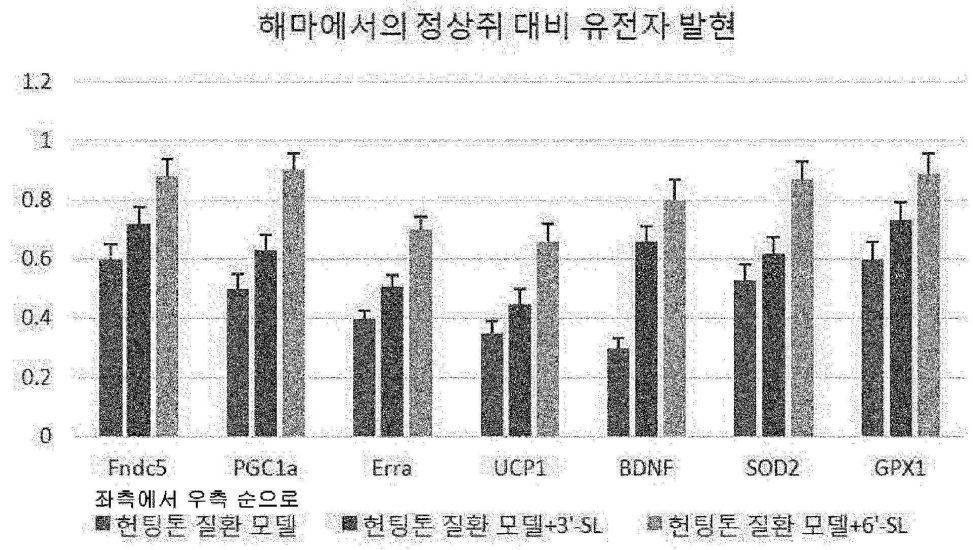
도면9b


해마에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
간질경련 질환 모델
간질경련 질환 모델+3'-SL
간질경련 질환 모델+6'-SL

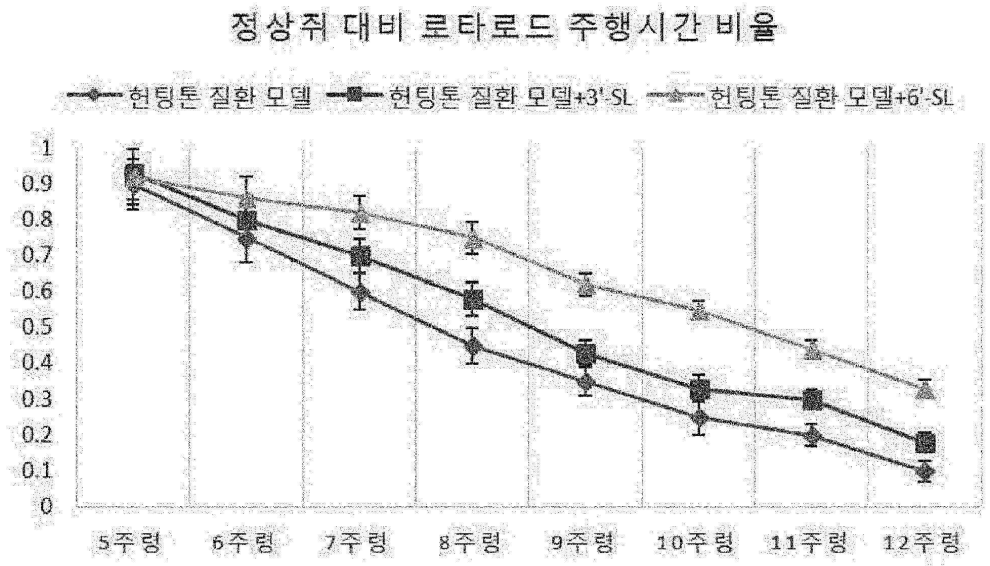
도면10a


뇌에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
헌팅톤 질환 모델
헌팅톤 질환 모델+3'-SL
헌팅톤 질환 모델+6'-SL

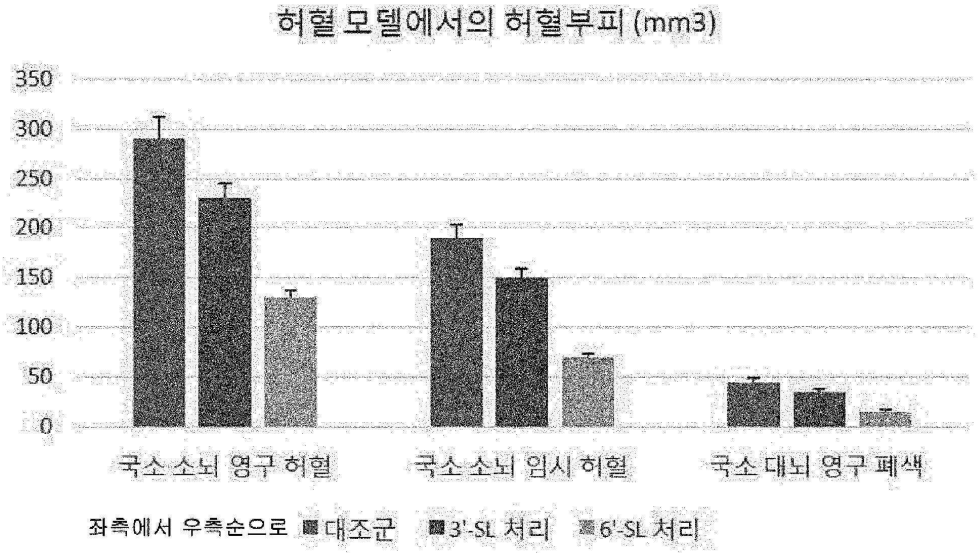
도면10b


해마에서의 정상쥐 대비 유전자 발현
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
BDNF
SOD2
GPX1
좌측에서 우측 순으로
헌팅톤 질환 모델
헌팅톤 질환 모델+3'-SL
헌팅톤 질환 모델+6'-SL

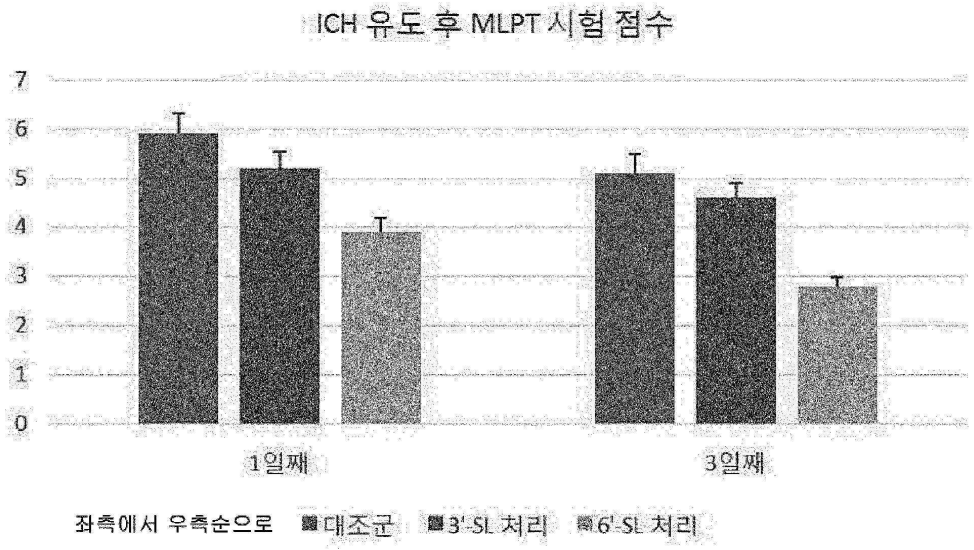
도면11


정상쥐 대비 로타로드 주행시간 비율
헌팅톤 질환 모델
헌팅톤 질환 모델+3'-SL
헌팅톤 질환 모델+6'-SL
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
5주령
6주령
7주령
8주령
9주령
10주령
11주령
12주령

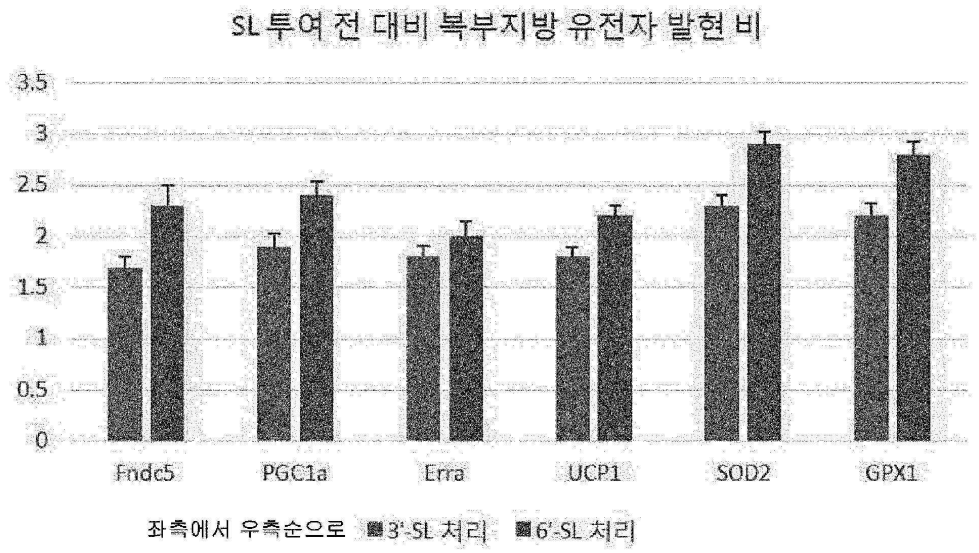
도면12


허혈 모델에서의 허혈부피 (mm3)
350
300
250
200
150
100
50
0
국소 소뇌 영구 허혈
국소 소뇌 임시 허혈
국소 대뇌 영구 폐색
좌측에서 우측순으로 대조군 3'-SL 처리 6'-SL 처리

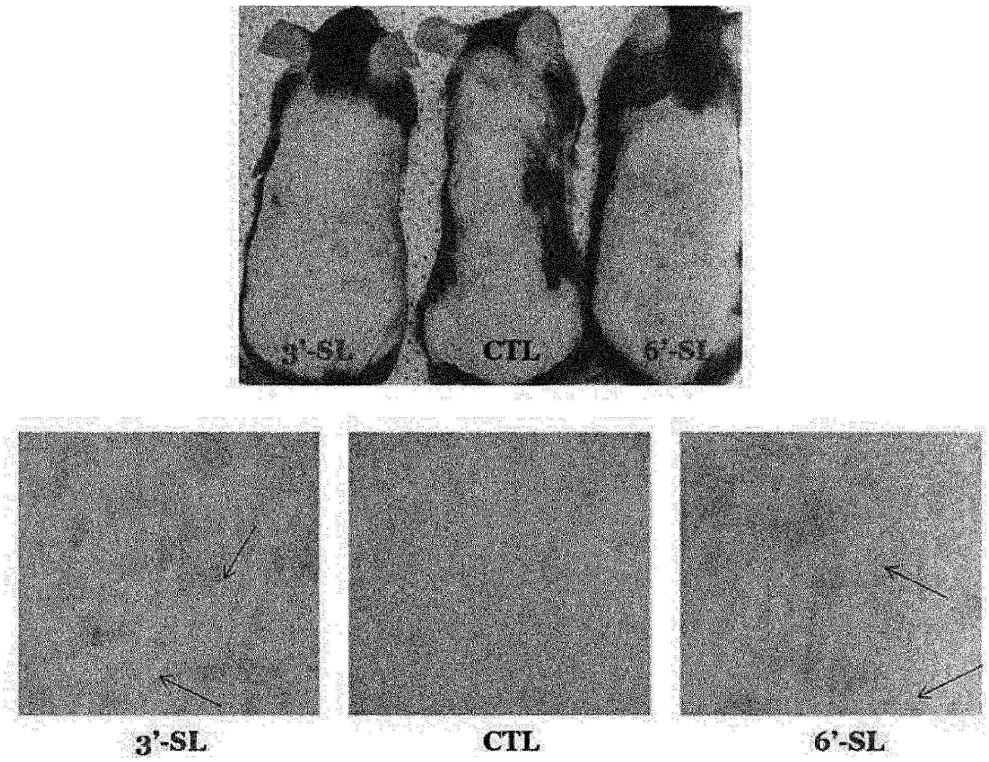
도면13


ICH 유도 후 MLPT 시험 점수
7
6
5
4
3
2
1
0
1일째
3일째
좌측에서 우측순으로 대조군 3'-SL 처리 6'-SL 처리

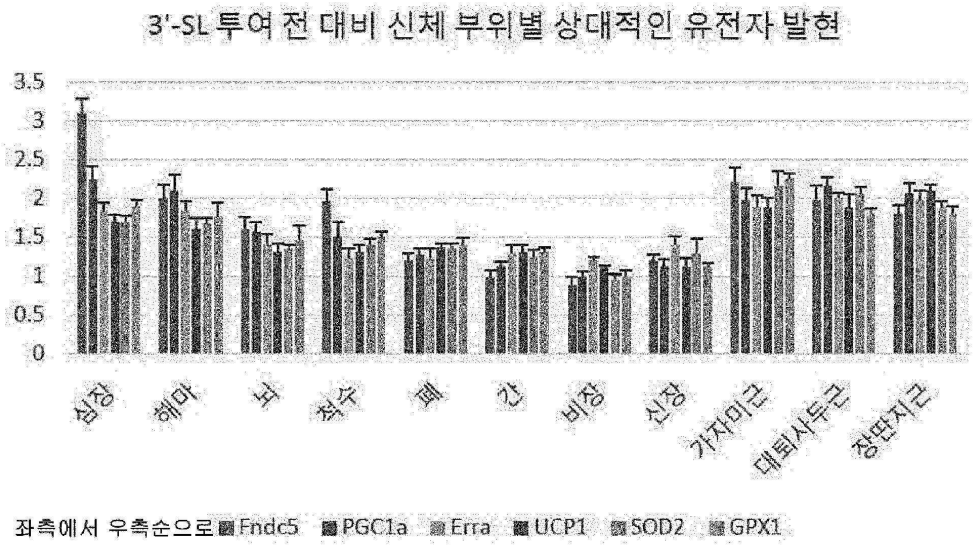
도면14


SL 투여 전 대비 복부지방 유전자 발현 비
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Fndc5
PGC1a
Erra
UCP1
SOD2
GPX1
좌측에서 우측순으로 3'-SL 처리 6'-SL 처리

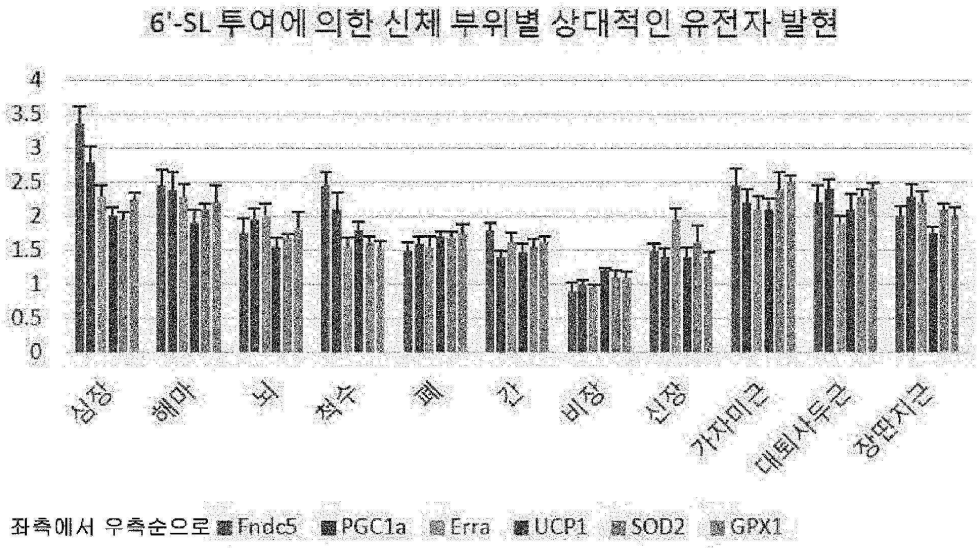
도면15


3'-SL
CTL
6'-SL
3'-SL
CTL
6'-SL

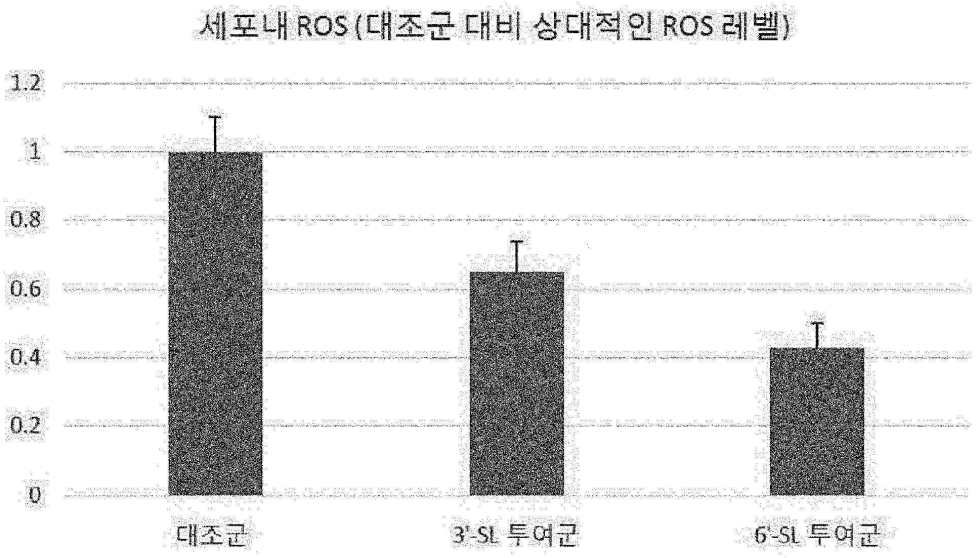
도면16a


3'-SL 투여 전 대비 신체 부위별 상대적인 유전자 발현
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
심장
해마
뇌
척수
폐
간
비장
신장
가자미근
대퇴사두근
장딴지근
좌측에서 우측순으로 Fndc5 PGC1a Erra UCP1 SOD2 GPX1

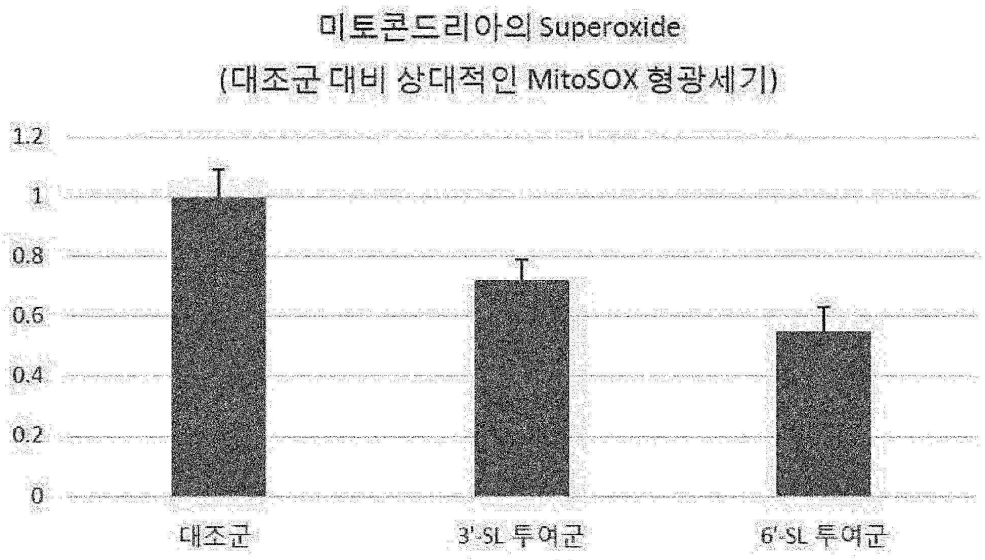
도면16b


6'-SL 투여에 의한 신체 부위별 상대적인 유전자 발현
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
심장
해마
뇌
척수
폐
간
비장
신장
기자미근
대퇴사두근
장딴지근
좌측에서 우측순으로 Fndc5 PGC1a Erra UCP1 SOD2 GPX1

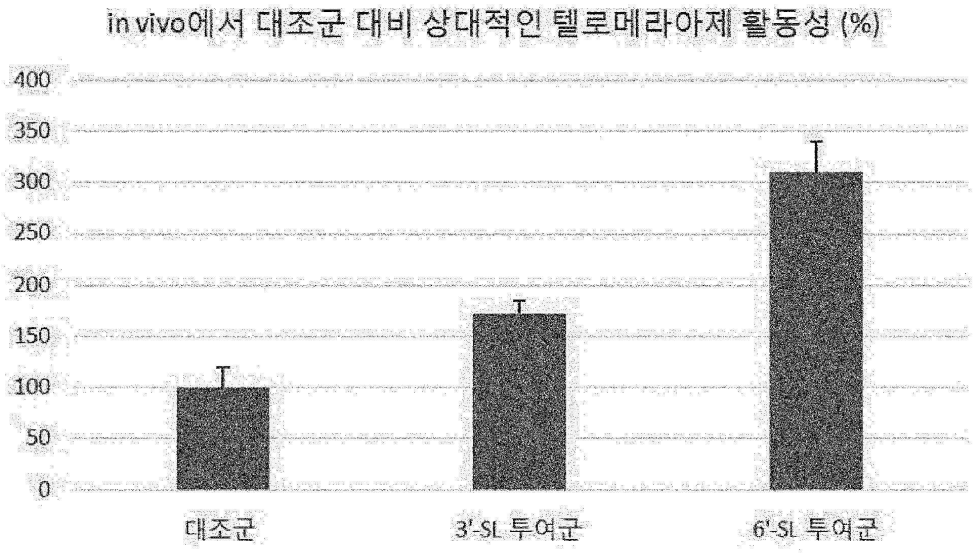
도면17a


세포내 ROS (대조군 대비 상대적인 ROS 레벨)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

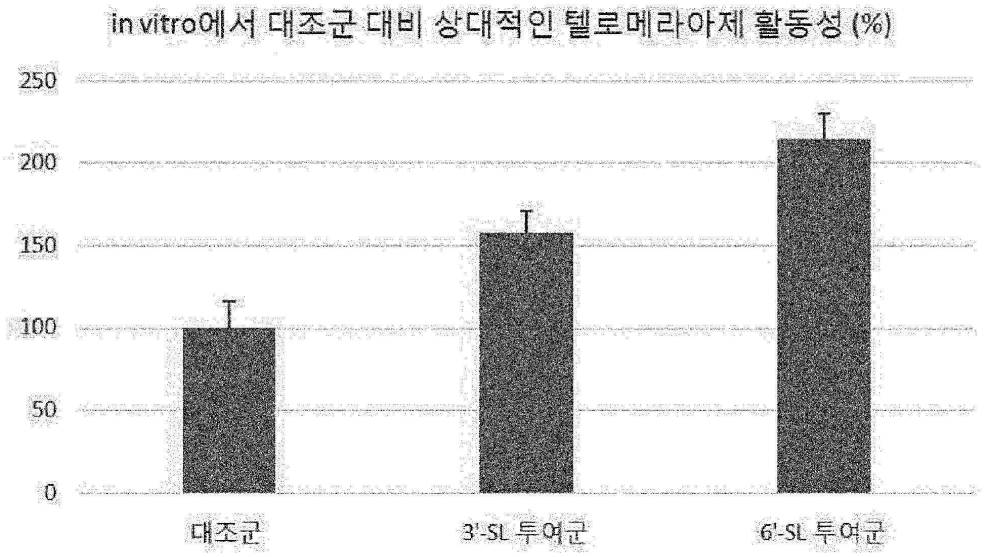
도면17b


미토콘드리아의 Superoxide
(대조군 대비 상대적인 MitoSOX 형광세기)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

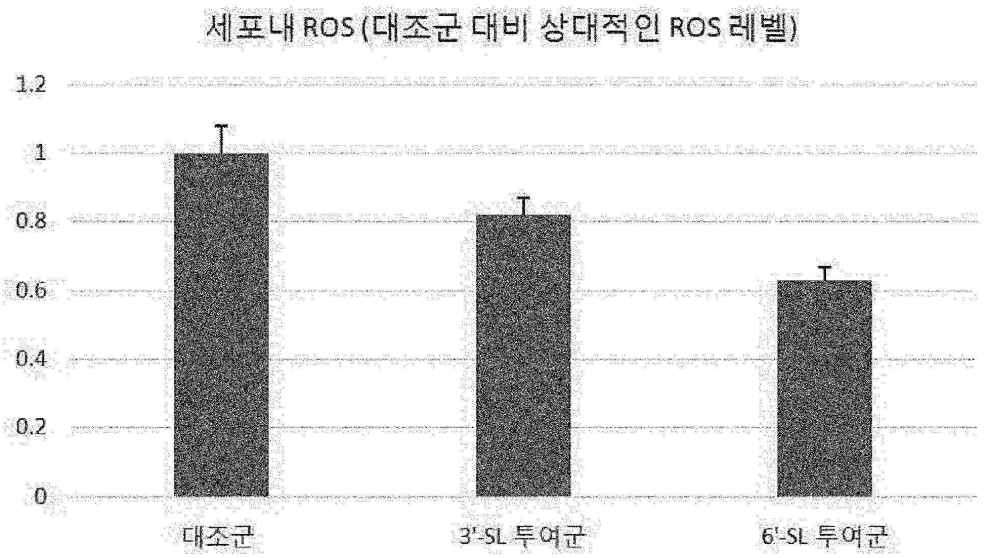
도면18a


in vivo에서 대조군 대비 상대적인 텔로메라아제 활동성 (%)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

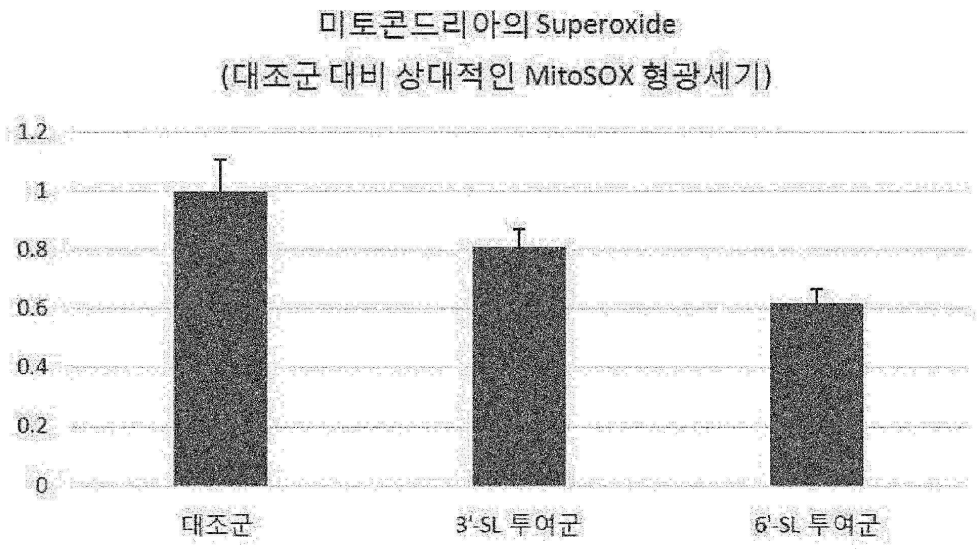
도면18b


in vitro에서 대조군 대비 상대적인 텔로메라아제 활동성 (%)
250
200
150
100
50
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

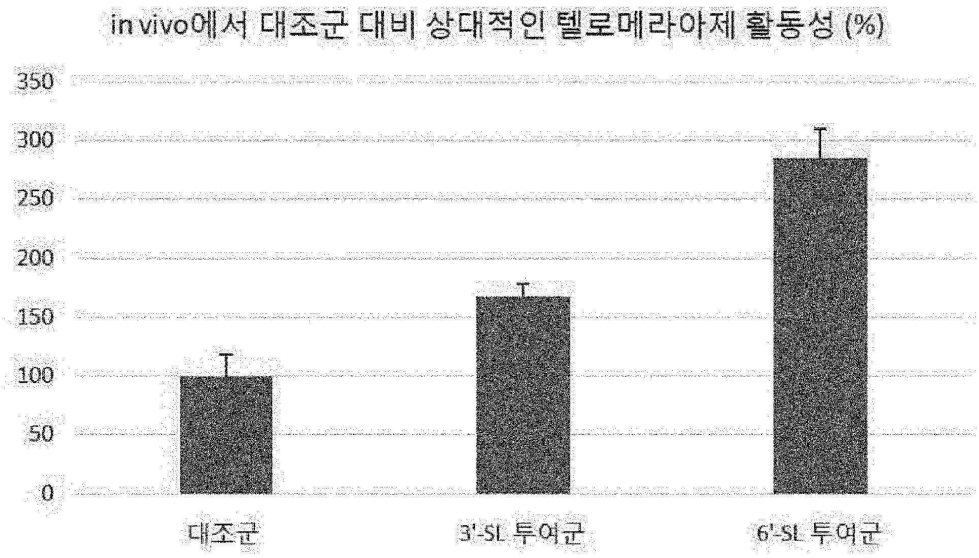
도면19a


세포내 ROS (대조군 대비 상대적인 ROS 레벨)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

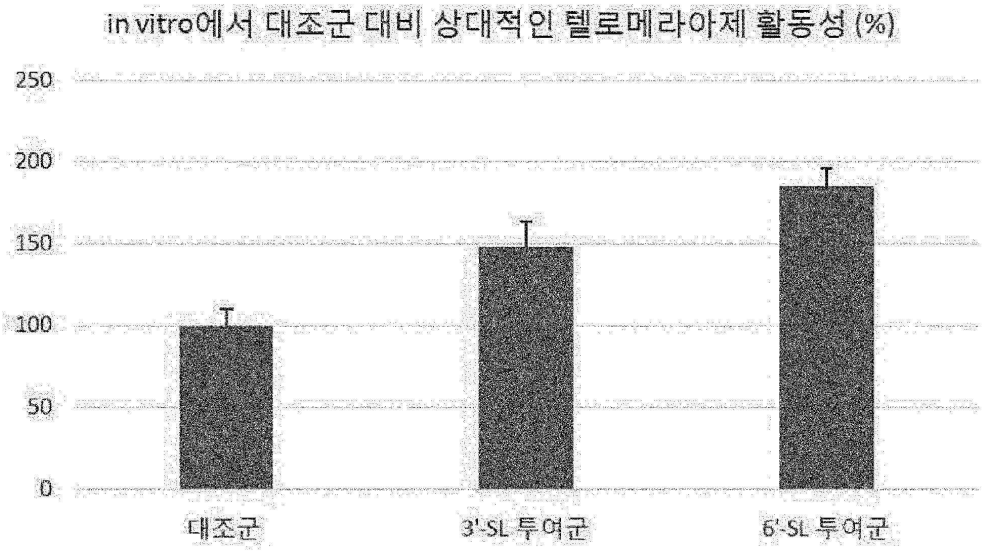
도면19b


미토콘드리아의 Superoxide
(대조군 대비 상대적인 MitoSOX 형광세기)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

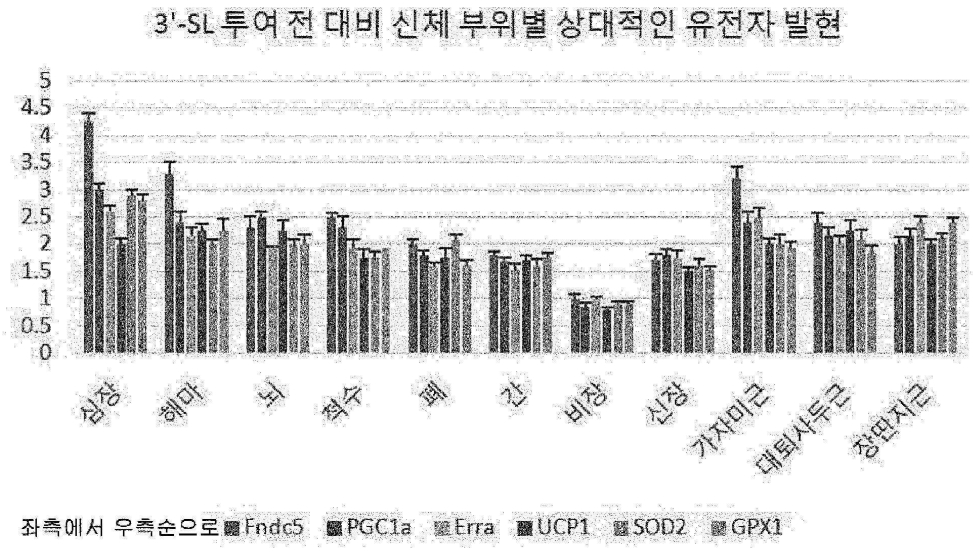
도면20a


in vivo에서 대조군 대비 상대적인 텔로메라아제 활동성 (%)
350
300
250
200
150
100
50
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

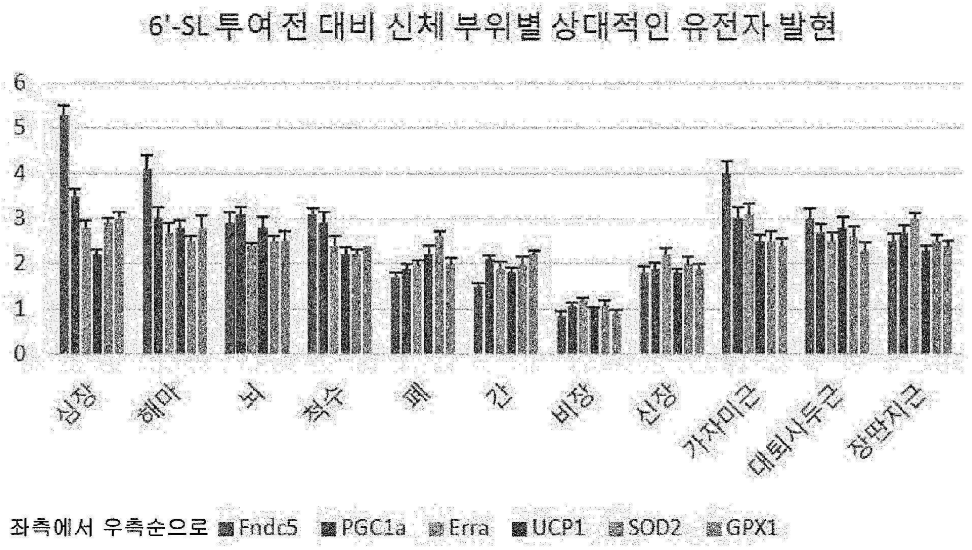
도면20b


in vitro에서 대조군 대비 상대적인 텔로메라아제 활동성 (%)
250
200
150
100
50
0
대조군
3'-SL 투여군
6'-SL 투여군

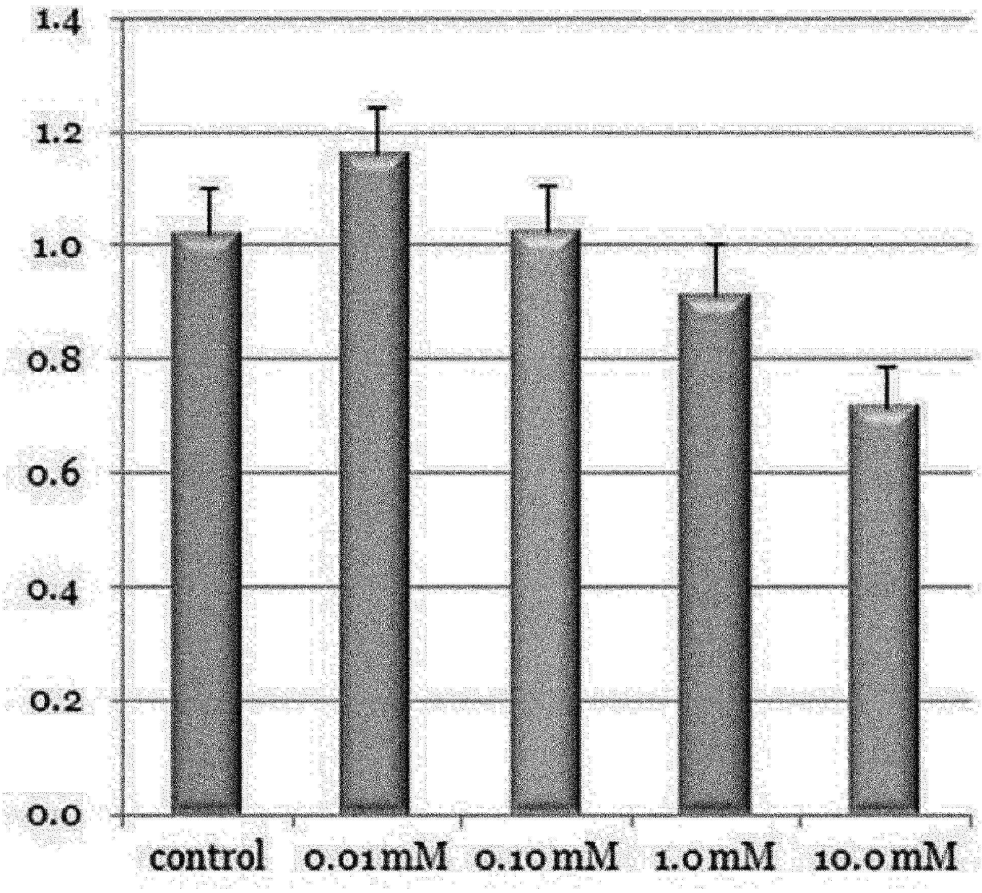
도면21a


3'-SL 투여 전 대비 신체 부위별 상대적인 유전자 발현
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
심장
혀마
뇌
척수
폐
간
비장
신장
거자미근
대퇴사두근
장딴지근
좌측에서 우측순으로 Fndc5 PGC1a Erra UCP1 SOD2 GPX1

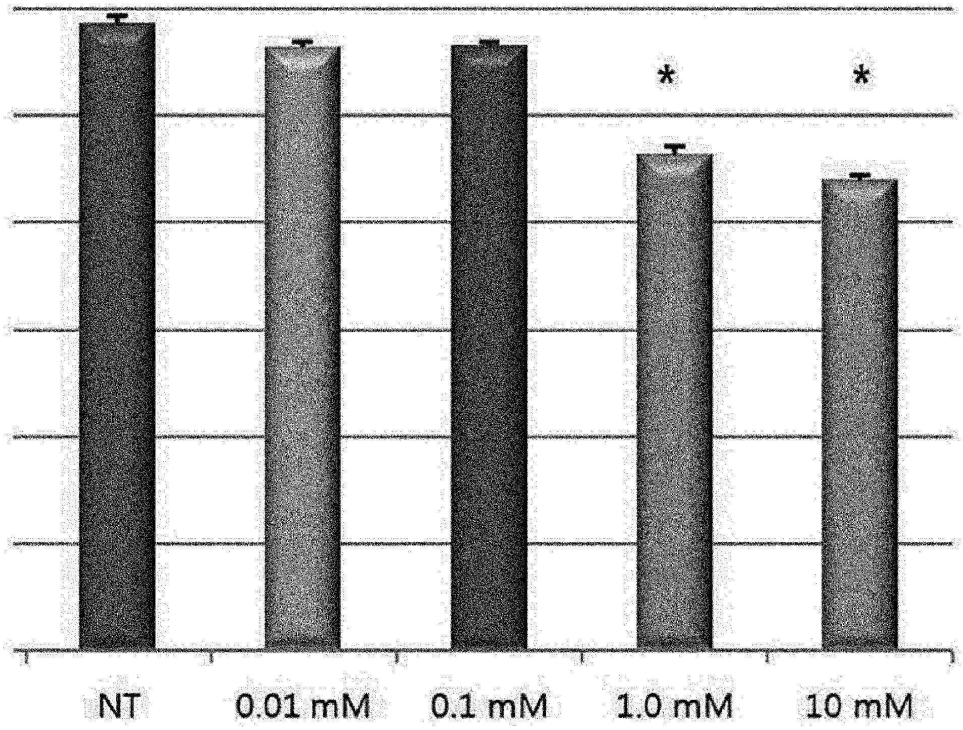
도면21b


6'-SL 투여 전 대비 신체 부위별 상대적인 유전자 발현
6
5
4
3
2
1
0
심장
해마
뇌
척수
폐
간
비장
신장
가자미근
대퇴사두근
장딴지근
좌측에서 우측순으로 Fndc5 PGC1a Erra UCP1 SOD2 GPX1

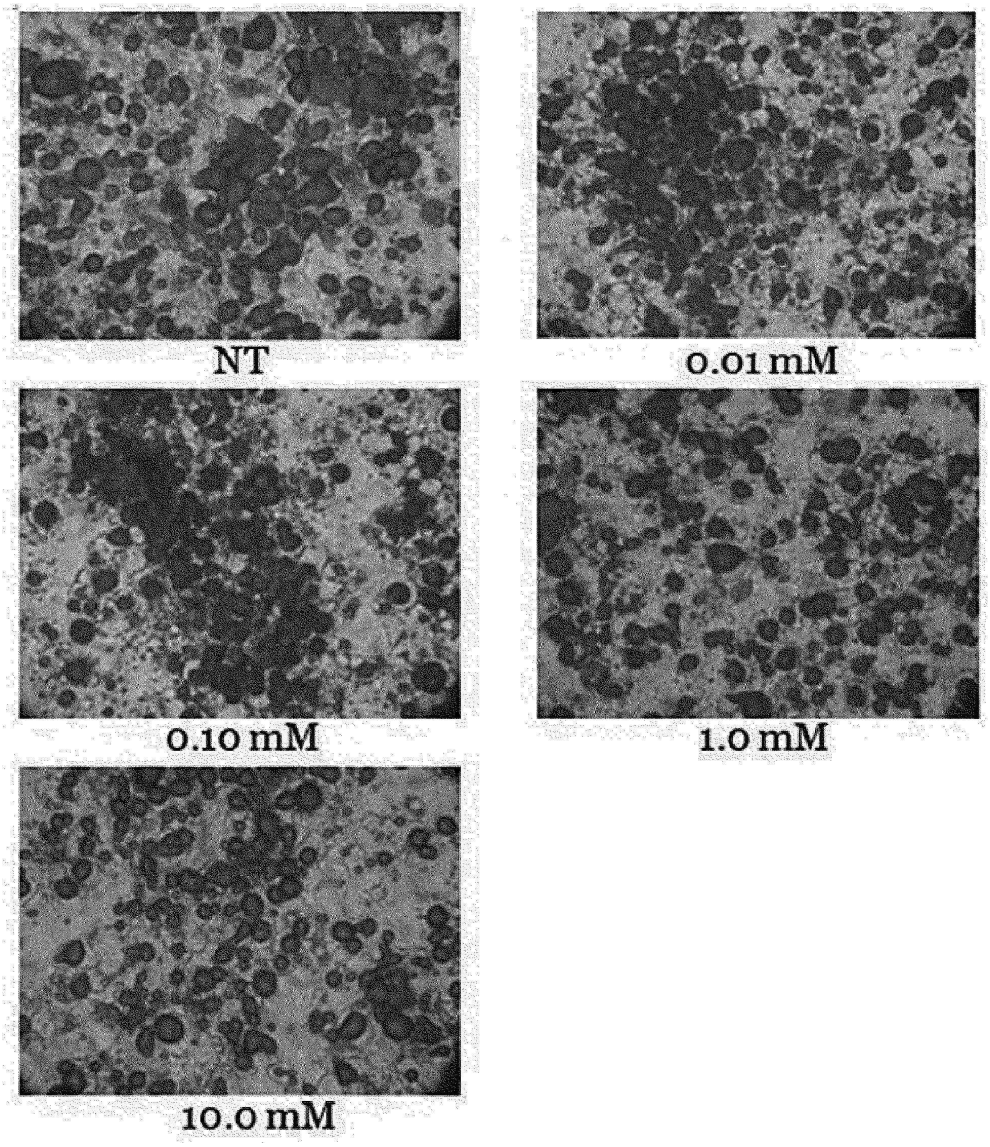
도면22a


1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
control
0.01mM
0.10mM
1.0mM
10.0mM

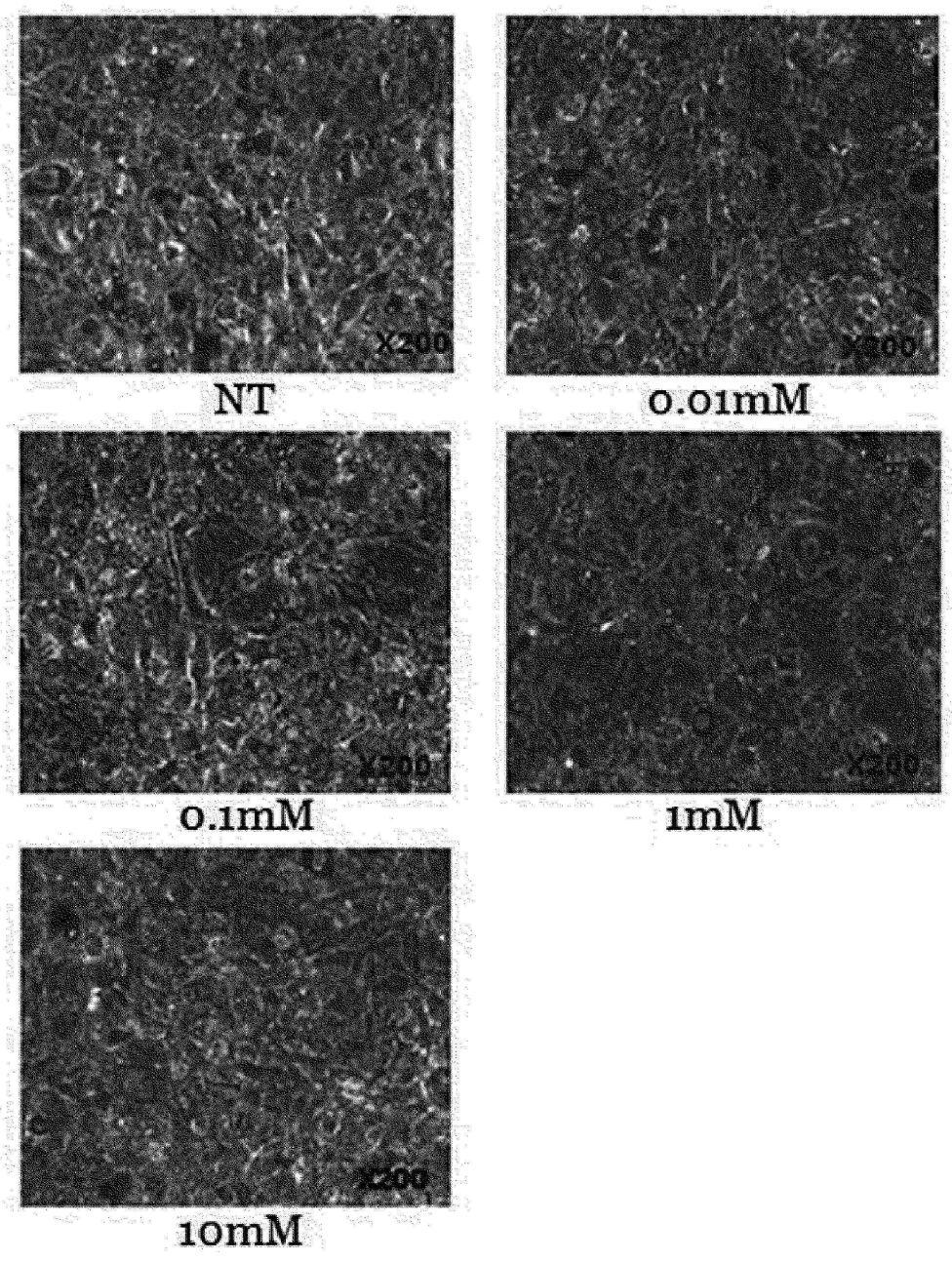
도면22b



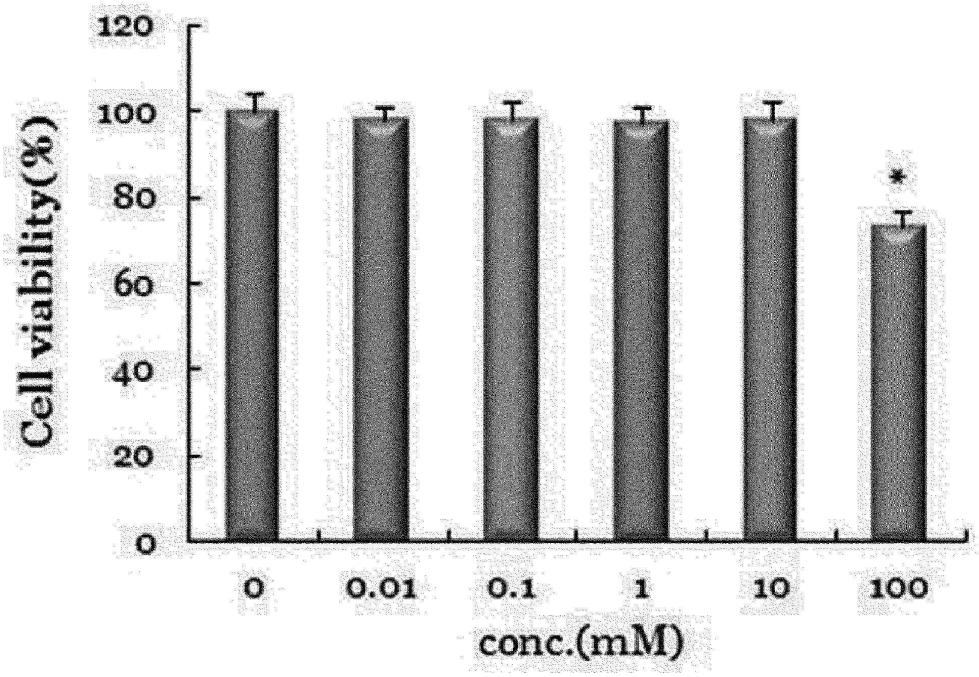
도면23a



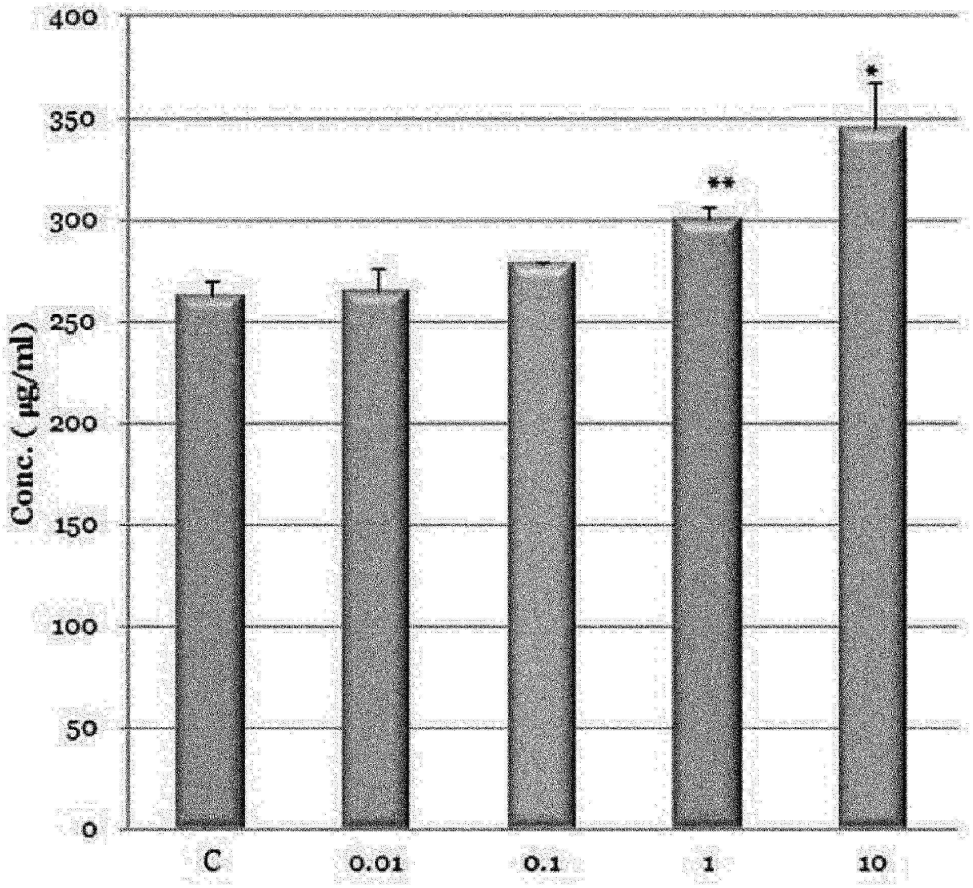
도면23b



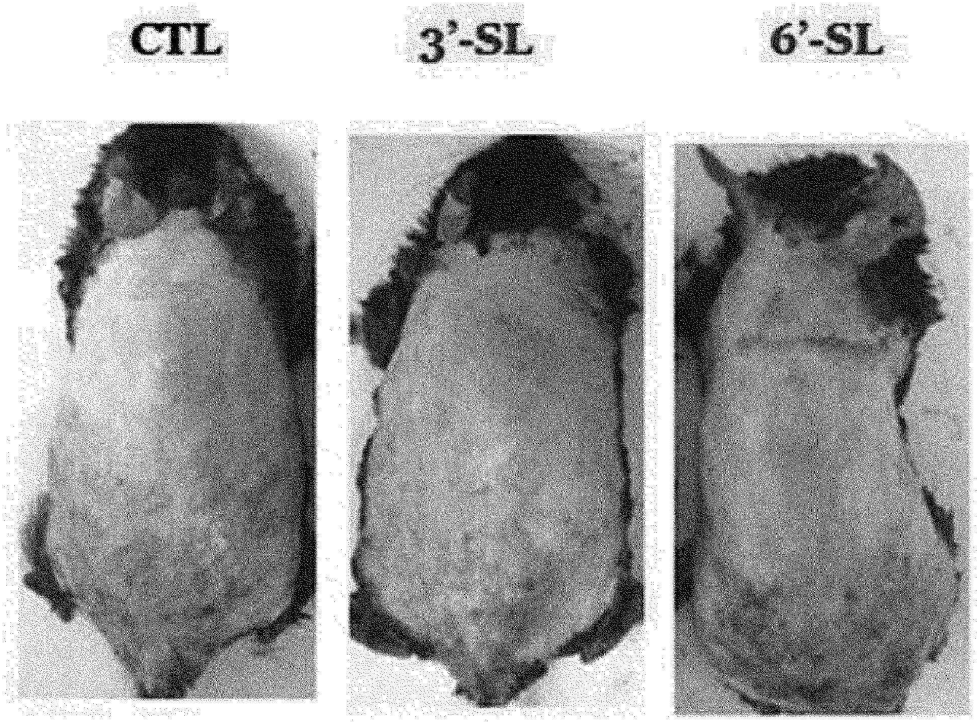
도면24


Cell viability(%)
120
100
80
60
40
20
0
*
0
0.01
0.1
1
10
100
conc.(mM)

도면25


Conc. (μg/ml)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
**
*
C
0.01
0.1
1
10

도면26a



도면26b

