



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0147092
(43) 공개일자 2024년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/436 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)
A61P 25/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/436 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2023-0042578
(22) 출원일자 2023년03월31일
심사청구일자 2023년03월31일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
(72) 발명자
서상원
강원도 춘천시 충열로 32, 103동 703호(우두동,
동부아파트)
고재영
서울특별시 강남구 광평로 51길 22 한아름아파트
102동 1206호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인본

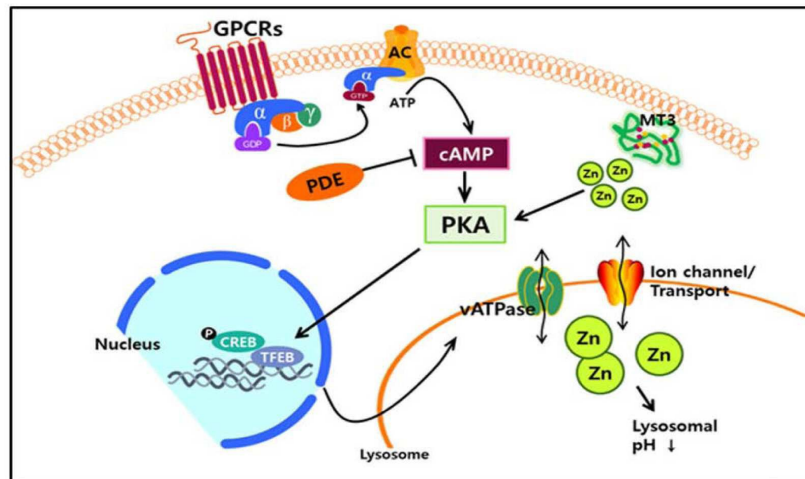
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 신경질환으로 인한 뇌손상 예방 또는 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 신경질환으로 인한 뇌손상 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 암렉사노스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 25/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/322 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)

김하나

서울특별시 강동구 올림픽로 91길 30, 105동 1003호

(72) 발명자

최보영

강원도 춘천시 동면 만천로 242, 105동 602호 (춘천아이파크아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465037842
과제번호	HU20C0206010022
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	치매극복연구개발사업(복지부)
연구과제명	혈관성 치매의 발병과 증상 발현에서 뇌내 아연 항상성 이상의 다면적 역할 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	한림대학교산학협력단
연구기간	2022.04.01 ~ 2023.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 포스포디에스테라제(phosphodiesterase)를 억제하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 라이소좀 내 아연의 양을 증가시키는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 활성산소종에 의한 세포사멸을 억제하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 정상세포의 활성을 억제하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 조성물 총량에 대해 $0.01\mu\text{M}$ 이상 $10.0\mu\text{M}$ 미만의 농도로 포함되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 뇌손상은 신경질환에 의한 것인, 약학적 조성물.

청구항 8

암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 포스포디에스테라제(phosphodiesterase)를 억제하는 것인, 식품 조성물.

청구항 10

암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 11

암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 라이소좀 내 아연의 농도 증가 유도용 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 포스포디에스테라제(phosphodiesterase)를 억제하는 것인, 라이소좀 내 아연의 농도 증가 유도용 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 암렉사녹스는 라이소좀의 산성화를 유도하는 것인, 라이소좀 내 아연의 농도 증가 유도용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신경질환으로 인한 뇌손상 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 뇌내 아연은 시냅스 기능, 세포내 신호 전달, 다양한 유전자의 조절 (zinc finger transcription factors), 자식작용, 라이소좀 기능, 신경세포생성 등 다양한 생리적 작용을 하고 있고, 따라서 아연 항상성은 뇌의 정상 기능을 유지함에 있어서 필수적이다.

[0003] 뇌내 아연 중 일부는 아연 운반체인 zinc transporter 3 (ZnT3)에 의해 시냅스 소포체 내에 축적되어 있으며, 흥분성 시냅스 말단으로부터 시냅스 활성 동안에 방출된다. 아연은 해마, 대뇌피질, 척수 등을 포함하는 포유류의 중추신경계 도처에 있는 glutamatergic 축삭 말단들의 종말 부분에 존재한다(Danscher et al., 1985; Frederickson, 1989).

[0004] 간질 (Frederickson et al., 1988; Suh et al., 2001), 뇌허혈 (Tonder et al., 1990; Koh et al., 1996), 외상성 뇌손상 (Suh et al., 2000b), 저혈당증 (Suh et al., 2004; Suh et al., 2007; Suh et al., 2008)과 같은 몇몇 질병 상태에서 아연의 분비 및 축적이 신경세포 사멸에 기여한다고 알려져 있다. 특히 아연은 아밀로이드 베타 펩티드와 결합하여 치매 발병에 기여하는 것으로 알려져 있다(Bush et al., 1994; Suh et al., 2000a; Cherny et al., 2001). 이런 현상은 세포내 아연의 결핍을 유도, 치매의 증상을 악화시킨다고 알려져 있다.

[0005] 더구나 노인 인구에서 아연 결핍이 빈발하고, 이는 자식작용, 라이소좀의 기능 저하를 초래하여 노폐물 축적, 뇌의 노화의 원인이 될 수 있으므로, 아연의 항상성을 정상화하는 것이 라이소좀 기능 정상화를 통하여 노화를 지연시키는 데 도움을 줄 것으로 기대된다.

[0006] 혈관성 치매의 근본적 원인도 혈관 내피세포, 주변세포 등의 노화와 자식작용 저하, 지질 노폐물 축적, 그로 인한 염증 반응, BBB 깨짐 등을 수반하므로 역시 이런 세포들에서의 아연 항상성 유지가 도움을 줄 것으로 생각된다.

[0007] 알츠하이머 치매의 경우도 Abeta의 축적, 그리고 이 후 p-tau의 축적이 라이소좀 기능 저하와 관련이 있어 라이소좀 내 아연 증가를 유도하는 방법이 독성 단백질을 줄이는 치료법으로 도움이 될 가능성이 있다

[0008] 이 외에도 간접적으로 시냅스 아연의 결핍이 신경세포 간 BDNF/Trk 신호 전달을 저하시켜, 치매에서의 인지 기능 저하에 기여할 가능성이 있어, 시냅스 아연의 정상화를 통한 인지기능 개선법이 도움이 될 가능성이 있다.

[0009] 대부분의 중추신경세포는 세포분열이 끝난 세포이고 따라서 인간의 경우 적어도 수십 년 동안 살아남아 기능을 유지해야 한다. 혈액 세포 등 분열 가능한 세포에서는 축적된 독성 노폐물을 세포 분열과 세포고사를 통하여 처리할 수 있지만, 오래 유지되는 신경세포는 독성 노폐물의 축적에 취약할 수밖에 없다. 즉 노폐물을 제거하는 가장 중요한 소기관인 라이소좀 기능 저하가 일어나면 가장 타격을 받는 곳이 중추신경계이다.

[0010] 중추신경계에는 신경세포뿐 아니라 astrocyte, microglia, oligodendrocyte 등 여러 종류의 “보조세포” (supportive cell)들이 존재한다. 이런 세포들도 독성 노폐물에 의하여 영향을 받을 뿐 아니라 신경세포에서 방출된 독성 노폐물을 흡수 제거하는 역할을 수행한다. 하지만 독성 노폐물에 과다 노출되면 염증 반응에 관련되어 신경세포를 손상시키는데 기여하기도 한다. 예를 들어, astrocyte는 최근 신경세포를 손상시키는 type 1 astrocyte 로 변화한다는 것이 알려져 그 역할 규명이 필요하다. Microglia도 탐식 기능을 가지고 있어 노폐물

제거에 기여하지만, 활성화되면 염증을 일으키고 싸이토카인을 분비하여 역시 신경세포에 손상을 가져올 수 있다. 이 외에 혈관세포들(endocytes, pericytes), CSF 대사 관련 세포들 (ependymal cells, arachnoid granulation cells) 등도 기능 저하가 일어나고 이에 따라 간접적으로 신경세포 손상에 기여한다고 여겨진다.

[0011] 세포에서 독성 노폐물이 생성되는 기전은 다양하다. 예를 들면, 유전자 손상으로 변형 단백질이 생성되는 경우, ER stress에 의하여 단백질 접힘이 잘 못 되는 경우, ubiquitin/proteasome 기능 저하, 금속 대사 이상, 산화성 손상 등 다양한 경로로 독성 단백질 또는 노폐물이 생긴다. 하지만 라이소좀의 기능이 정상적인 경우 이를 처리하는 것이 가능하다. 문제는 신경세포 같이 오래 지속되는 세포에서는 노폐물의 효과가 장기적으로 축적되어 라이소좀의 기능저하로 이어진다는 사실이다. 특히 독성 단백질 대부분은 라이소좀의 pH를 알칼리화하여 막 순환의 고리를 만든다. 따라서 라이소좀의 기능을 향진하는 방법, 특히 라이소좀을 산성화시키는 v-ATPase 기능이 저하된 상태에서 효과가 있는 방법을 개발하면 독성 노폐물의 축적을 줄이는 것과 동시에 신경질환으로 인해 발생하는 뇌손상의 근본적인 치료제 개발 방법의 활용이 가능할 것이다. 나아가 혈관성 치매에서도 p-tau의 축적이 발생하고, 이를 제거하기 위한 라이소좀 기능 향진이 혈관성 치매의 치료에 효과적일 가능성이 존재한다.

[0012] 점차 길어지는 인간 수명 전체에 걸쳐 중추신경계의 건강을 유지하려면 신경세포 내 노폐물을 효과적, 지속적으로 제거하는 것이 매우 중요하다. 그러나 아직 이를 효과적으로 축진하는 약물이나 방법은 없으며, 특히 노폐물 제거의 주 소기관인 라이소좀의 기능을 효과적으로 증진시키는 약물은 아직 없다.

[0013] 본 발명자들은 라이소좀 내 아연이 신경세포, 성상세포에서 라이소좀의 기능을 증진시키는 것을 발견하였다. 따라서 신경계 아연 대사를 적절히 조절하면 라이소좀 기능 향진을 통한 신경계 내의 독성 노폐물 제거를 촉진할 가능성이 있다. 이런 전략은 라이소좀 기능 저하를 수반하는 알츠하이머 및 혈관성 치매를 예방, 치료하는데 이용할 수 있을 것으로 기대된다(도 1).

[0014] 아직까지 신경세포 내 노폐물 제거 증가를 타겟으로 하는 신경질환 치료제는 개발되지 않았다. 더욱이 신경계 아연 대사를 조절하여 이를 달성하려는 전략은 아직 시도되지 않았다. 세포내 아연 농도 조절 및 PDE 억제를 통한 라이소좀 기능 향진 기전을 통해 뇌손상을 억제할 수 있는 약물을 개발할 필요가 있다.

선행기술문헌

[0015] 공개특허공보 제10-2022-0018552호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본 발명은 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0017] 본 발명은 또한 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0018] 본 발명은 또한 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0019] 본 발명은 또한 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 라이소좀 내 아연의 농도 증가 유도용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0020] 본 개시의 목적들은 이상에서 언급한 목적으로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 본 개시의 다른 목적 및 장점들은 하기의 설명에 의해서 이해될 수 있고, 본 개시의 실시 예에 의해 보다 분명하게 이해될 것이다. 또한, 본 개시의 목적 및 장점들은 특허 청구 범위에 나타난 수단 및 그 조합에 의해 실현될 수 있음을 쉽게 알 수 있을 것이다.

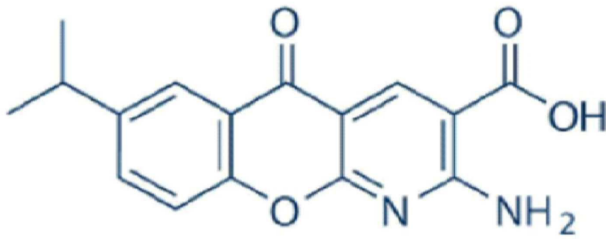
과제의 해결 수단

[0021] 본 발명은 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0022] 상기 암렉사녹스의 화학식은 2-amino-7-isopropyl-5-oxo-5H-[1]benzopyrano[2,3-b] pyridine-3-carboxylic

acid이고, 분자식은 $C_{16}H_{14}N_2O_4$ 이며, 분자량은 298.30이다. 암렉사녹스는 냄새가 없고 황백색의 흰색 결정성 분말을 가지며, 구조식은 다음과 같다.

[구조식 1]



상기 암렉사녹스는 포스포디에스테라제(phosphodiesterase)를 억제하는 것이다.

상기 암렉사녹스는 라이소좀 내 아연의 양을 증가시키는 것이다.

상기 암렉사녹스는 활성산소종에 의한 세포사멸을 억제하는 것이다.

상기 암렉사녹스는 정상세포의 활성을 억제하는 것이다.

상기 암렉사녹스는 조성물 총량에 대해 $0.01\mu\text{M}$ 이상 $10.0\mu\text{M}$ 미만의 농도로 포함되는 것이다.

상기 뇌손상은 신경질환에 의한 것이다.

본 발명은 또한, 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

상기 암렉사녹스는 포스포디에스테라제(phosphodiesterase)를 억제하는 것이다.

본 발명은 또한, 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

본 발명은 또한, 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 라이소좀 내 아연의 농도 증가 유도용 조성물을 제공한다.

상기 암렉사녹스는 포스포디에스테라제(phosphodiesterase)를 억제하는 것이다.

상기 암렉사녹스는 라이소좀의 산성화를 유도하는 것이다.

발명의 효과

본 발명은 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

본 발명은 또한 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공할 수 있다.

본 발명은 또한 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 뇌손상의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공할 수 있다.

본 발명은 또한 암렉사녹스(amlexanox)를 포함하는 라이소좀 내 아연의 농도 증가 유도용 조성물을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 신경퇴행성 뇌질환에 있어서 라이소좀의 기능 이상과 아연의 생리학적 메커니즘을 나타낸다.

도 2는, 암렉사녹스의 포스포디에스테라제 억제 실험 결과를 나타낸다.

도 3은, 암렉사녹스 처리에 의한 세포내 아연 농도 변화를 측정된 결과를 나타낸다.

도 4는, 암렉사녹스 처리에 의한 라이소좀의 pH 변화 및 cathepsin 활성 변화를 나타낸다.

도 5는, 암렉사녹스 처리에 의한 세포 사멸 억제 효과를 나타낸다.

도 6은, 암렉사녹스가 외상성 뇌손상으로 인한 신경학적 장애 및 신경손상에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 7은, 암렉사녹스 처리에 의해 마우스 모델의 운동 신경 회복 여부를 확인한 결과이다.

도 8은, 암렉사녹스 처리에 의한 뇌손상 후 미세아교세포의 활성 억제 여부를 관찰한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0043] 본 발명에서 사용된 용어 "치료"는 유익하거나 바람직한 임상 결과를 얻기 위한 접근법으로서, 본 발명의 목적을 위해 유익하거나 바람직한 임상적 결과를 감지 가능하거나 가능하지 않거나를 불문하고, 또한 부분적이든 전체적이든 상관없이 증상의 완화, 질환 정도의 감소, 질환의 안정화된(즉, 더 나빠지지 않는) 상태, 질환 진행의 지연 또는 속도감소, 질환 상태의 개선 또는 일시적 완화 및 경감을 포함한다. 본 발명에서 사용된 용어 "예방"은 상기 약학적 조성물을 이용하여 질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 따라서, 본 발명은 치료법적 치료 및 예방적인 차원의 것들 모두를 가리킨다.
- [0044] 본 발명의 약학적 조성물은 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적인 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양, 즉 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양인 치료상 유효량으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 통상의 기술자에게 자명하다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 통상의 기술자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다.
- [0045] 본 발명에서 용어, "식품 조성물"은 그를 섭취하는 대상체에 제공되는 영양소에 관계없이, 그 생물의 하나 이상의 기능에 유리하게 작용하여 보다 나은 건강 상태를 제공하는 식품을 의미한다. 결과적으로, 상기 식품 조성물은 질병 또는 질병-유발 인자의 예방, 개선 또는 치료를 위해 사용될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 식품 조성물은 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 식품학적으로 허용 가능하거나 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 식품 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0047] 본 발명에서, "건강기능식품"이란, 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 포함하며, 영양 공급 외에도 본 발명의 목적상 뇌손상의 예방, 생체 방어, 면역, 회복 등의 생체 조절 기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료 효과가 높은 식품을 의미한다.
- [0048] 암렉사녹스 혼합액은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 변경될 수 있음은 물론이며, 상기 암렉사녹스는 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01~95중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1~80중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.01중량% 미만일 경우에는 복용 효용성이 떨어질 수 있으며, 95중량%를 초과할 경우에는 제형화의 어려움이 있을 수 있다.
- [0049] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 목이버섯 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료, 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0050] 본 발명의 암렉사녹스 조성물이 건강기능식품으로서 사용되는 경우, 암렉사녹스의 뇌손상 개선 또는 예방 효과에 유해한 영향을 미치지 않는 추가 성분을 추가로 포함할 수 있다.
- [0052] 이하, 실시예를 통해 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.

[0054] 시험예

[0055] 1. 암렉사녹스의 포스포디에스테라제(phosphodiesterase) 억제 효과 확인

[0056] 다양한 포스포디에스테라제 이성질체에 대하여 암렉사녹스 (10uM)농도에 따른 상대적 활성(% activity)를 확인하여, 암렉사녹스의 포스포디에스테라제 억제 실험을 진행하였고, 그 결과를 도 2에 나타낸다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 암렉사녹스가 PDE3를 포함한 전체 isoform에서 억제 효과가 뛰어난 것을 확인하였다. 또한, PDE inhibition으로 인해 세포 내 cAMP가 증가되는 현상을 직접적으로 확인하기 위해 태어난 지 3일째 되는 마우스의 성상교세포 (astrocyte)를 배양한 뒤 약 2주째 되는 세포에 암렉사녹스를 처리하였다. astrocyte에 AMX를 처

리하고 세포 내 cAMP 변화를 측정된 결과 cAMP 레벨이 현저히 증가함을 확인하였다. 또한, 세포내 soluble amyloid beta를 주입하고, Tau와 SOD1 독성 단백질을 과주입하여 AD와 ALS in vitro system을 구성한 후, 암렉사녹스에 의한 독성 단백질 변화를 확인한 결과, 모든 세포 질환 모델에서 독성 단백질이 감소되는 현상을 확인하였다.

[0057] 2. 암렉사녹스 처리에 의한 세포내 아연 농도 증가 확인

[0058] 암렉사녹스를 처리하고 세포내 아연 농도 변화를 측정된 결과를 도 3에 나타낸다. 태어난지 3일째 되는 마우스 성상교세포를 PLL coating glass에 2주간 배양한 뒤, 아연 염색 시료인 FluoZin-3AM, Zinpyr-1과 라이소좀 염색시료인 LysoTracker로 30분간 염색하고 암렉사녹스를 처리한 결과, 세포내, 특히 라이소좀 내 아연 변화를 Confocal microscopy를 이용하여 확인하였다. 그 결과, 아연의 증가가 라이소좀에 위치함을 관찰하였다.

[0060] 3. 암렉사녹스 처리에 의한 라이소좀의 pH 변화 확인

[0061] 태어난 지 3일째 되는 마우스 성상교세포를 PLL coating glass위에 2주간 배양한 뒤, 라이소좀의 pH 변화를 확인할 수 있는 LysoSensor DND189와 라이소좀 내 단백질로 알려진 Cathepsin L을 염색한 뒤, AMX를 처리하여 그 변화를 확인하였고, 그 결과를 도 4에 나타낸다. Bafilomycin A1을 처리하면 라이소좀의 pH가 올라가고 라이소좀 특이 단백질의 활성이 떨어지는데 여기에 AMX를 처리하면 pH가 산성화됨과 동시에 라이소좀 특이 단백질의 활성이 올라가는 현상을 관찰하였다.

[0063] 4. 암렉사녹스 처리에 의한 세포 사멸 억제 효과 확인

[0064] 태어난 지 3일째 되는 마우스 성상교세포를 2주간 배양한 뒤, H₂O₂를 처리하여 세포 사멸을 유도한 뒤 암렉사녹스에 의한 억제 효능을 LDH assay를 통해 관찰하고, 그 결과를 도 5에 나타내었다. 암렉사녹스가 활성산소종에 의한 세포사멸을 억제하는 결과를 확인하였다.

[0066] 5. 암렉사녹스 처리에 의한 외상성 뇌손상으로 인한 신경학적 장애 개선 확인

[0067] 도 6 및 7에 나타난 바와 같이, 암렉사녹스가 혈관성 치매 동물모델 중 하나인 외상성 뇌손상으로 인한 신경학적 장애 및 신경손상에 미치는 영향을 알아보기 위해 손상 유도 후 하루에 한 번씩 암렉사녹스 (5mg/kg)을 일주일 동안 투여하였다(도 6의 B). 손상 후 발생하는 신경학적 장애를 검사하기 위해 neurological severity score (NSS) test를 실시하여 관찰하였다. NSS는 신경학적 손상을 치료에 관여하지 않은 연구자에 의하여 18점의 점수로 측정하는 것이며, 반사능력, 유연함, 운동 및 조정능력을 평가한다. 1점은 특정 임무를 수행하지 못했을 때이며 점수가 높을수록 더 심한 손상을 의미하고, 반면 0점으로 갈수록 건강함을 나타낸다. 그 결과 외상성 뇌손상 후 vehicle 투여한 그룹에 비해 암렉사녹스를 투여한 그룹에서 NSS 점수가 낮은 것을 확인하였다(도 6의 C 및 D). 또한 외상성 뇌손상 후 1주일에 해마의 CA1과 DG의 GCL와 Hilus 모두에서 성상세포의 활성 및 신경세포의 수가 상당히 감소되었으며 신규 PDE 억제제를 투여한 실험군에서는 이러한 성상세포의 활성 및 신경세포의 감소가 억제됨을 알 수 있었음 (도 6의 E). 또한, 암렉사녹스를 투여한 마우스 모델에서 운동 신경이 회복된 것을 확인하였다(도 7). 이는 암렉사녹스의 투여가 외상성 뇌손상 후에 일어나는 신경학적 장애를 개선시키며 성상세포의 활성 및 신경세포 사멸 또한 억제함을 나타낸다.

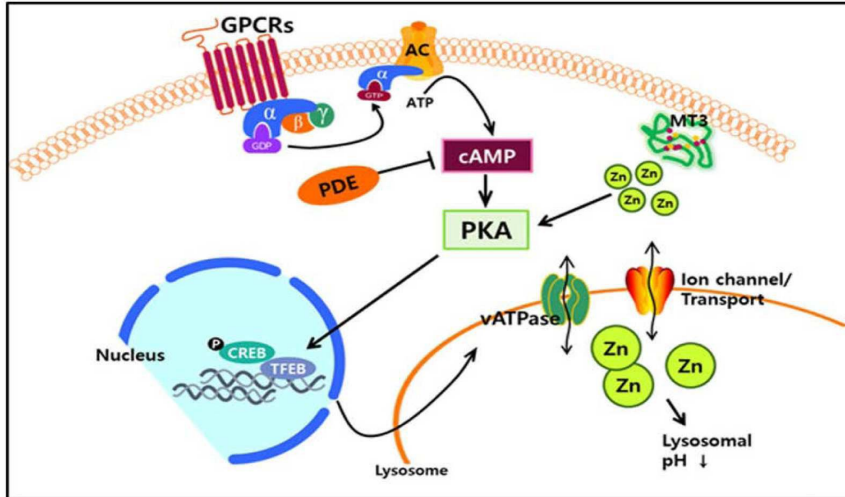
[0069] 6. 암렉사녹스 처리에 의한 뇌손상 후 미세아교세포의 활성 억제 확인

[0070] 암렉사녹스 처리에 의한 뇌손상 후 미세아교세포의 활성 억제 여부를 관찰하였으며, 그 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8에 나타난 바와 같이, 암렉사녹스 처리에 의해 외상성 뇌손상 후 발생하는 미세아교세포 (microglia)의 활성을 억제하였으며 염증성 표현형인 M1 미세아교세포의 활성을 현저하게 억제함을 관찰하였다.

[0072] 위의 실험 결과들로부터, 암렉사녹스가 신경아교세포의 활성 제어 및 신경보호효과를 지님을 나타내며 더 나아가 혈관성 치매로 인한 신경손상 및 인지기능 장애를 극복할 수 있는 가능성이 있다고 판단된다.

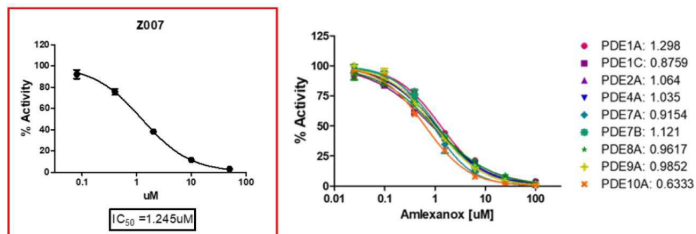
도면

도면1

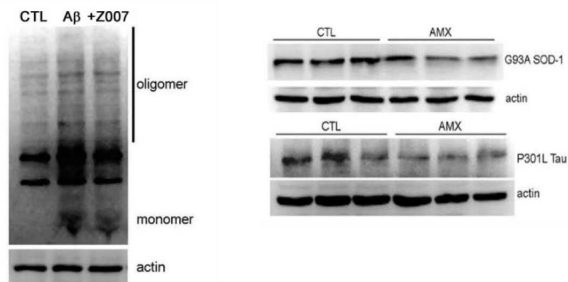


도면2

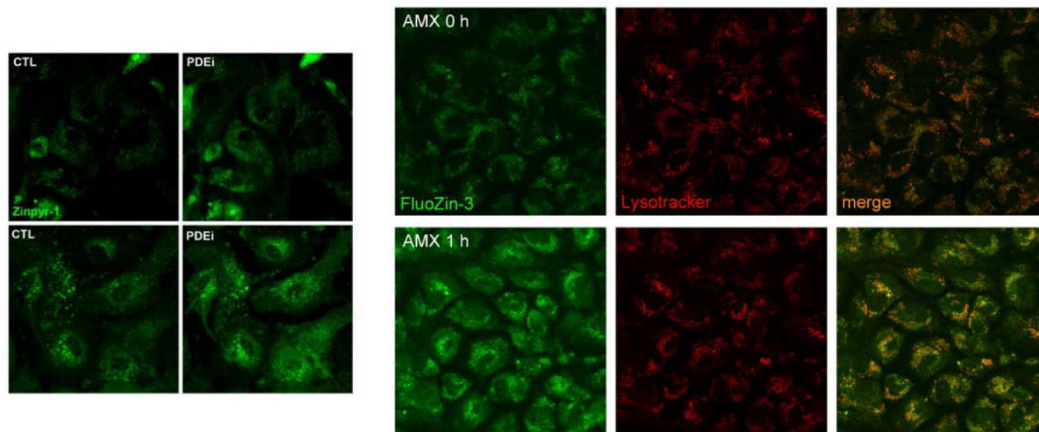
❖ PDE inhibitory effect by PDE inhibitor



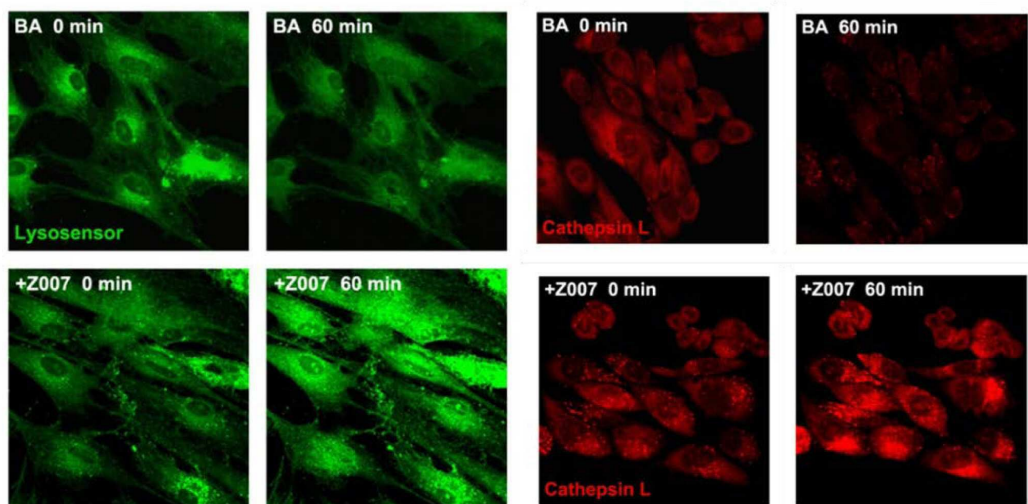
❖ Abnormal protein aggregation clearing effect of Z007



도면3

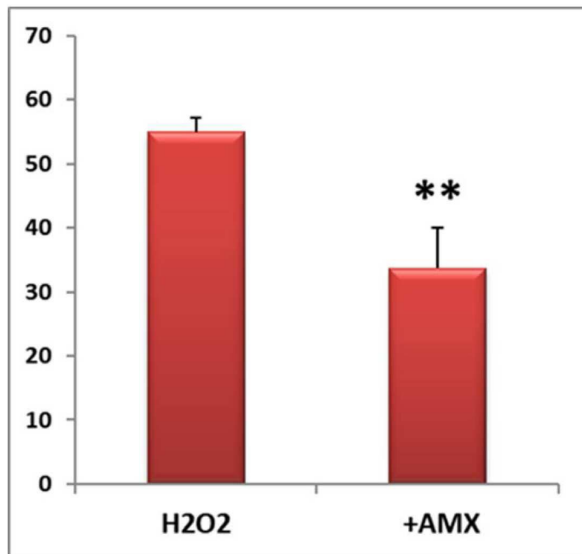


도면4

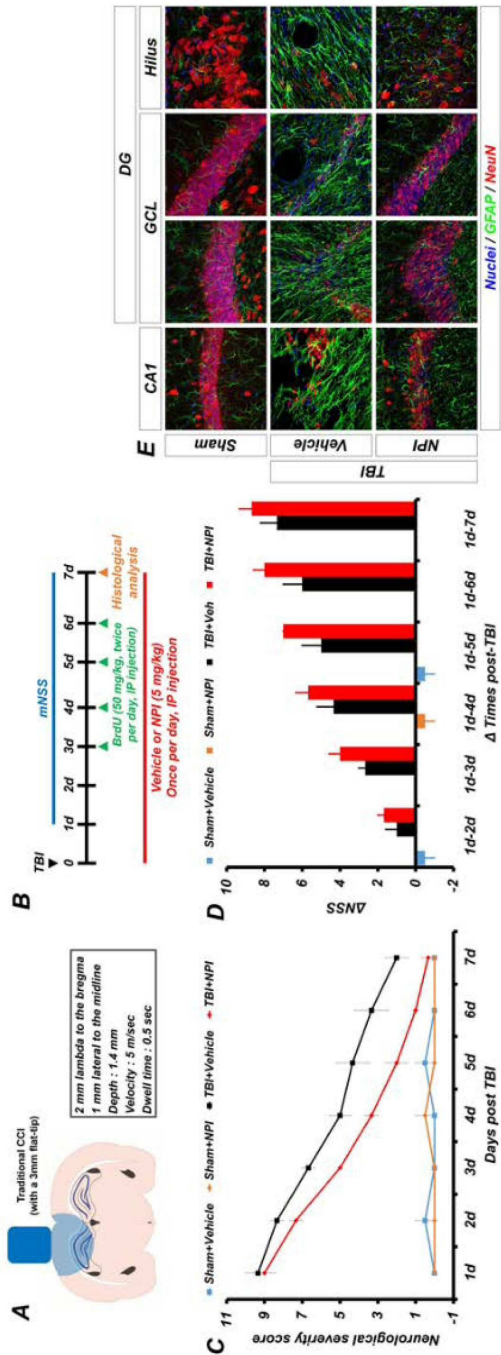


도면5

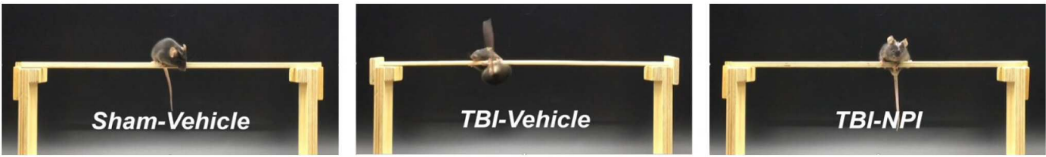
A PDEi reduces H₂O₂ toxicity in astrocyte



도면6



도면7



도면8

