



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0095413
(43) 공개일자 2021년08월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/7048 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A23L 33/125 (2016.01) A61K 31/352 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/7048 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0009255

(22) 출원일자 2020년01월23일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

동아대학교 산학협력단

부산광역시 사하구 낙동대로550번길 37, 동아대학교 내 (하단동)

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

김동현

부산광역시 강서구 명지오션시티11로 51, 313동 202호(명지동, 영어도시 쿨덱1차)

김남중

서울특별시 강남구 일원로 120, 105동 305호(일원동, 샘터마을아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

두호특허법인

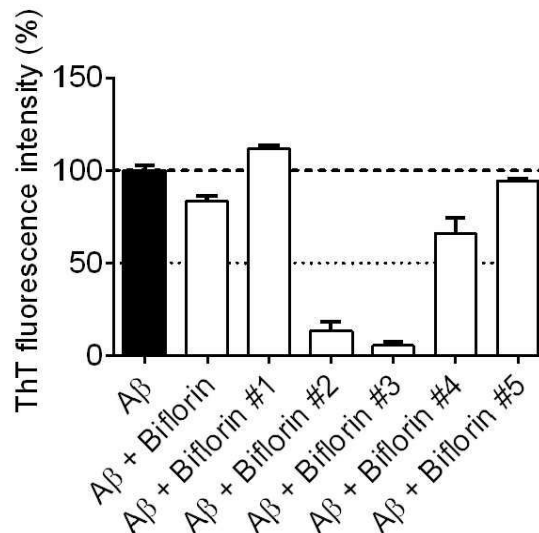
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 의약 조성물

(57) 요약

본 발명은 특정 화합물을 포함함으로써, 베타 아밀로이드의 응집을 저해하고, 응집된 베타 아밀로이드 피브릴 및 올리고머를 분해하여 베타 아밀로이드에 의한 독성을 억제하여, 베타 아밀로이드의 응집에 의해 유발되는 다양한 질환을 근본적으로 예방 및 치료할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/125 (2020.05)

A61K 31/352 (2013.01)

A61P 25/28 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

(72) 발명자

류중훈

서울특별시 강남구 삼성로 150, 101동 609호(대치동, 한보미도맨션)

조은비

울산광역시 남구 둔질로250번길 7, 401호(달동, 화룡훼미리)

권희영

부산광역시 사하구 낙동대로457번안길 3(하단동, 듀크빌)

전지은

부산광역시 사하구 장림시장9길 54, 102동 402호(장림동, 센텀바인하츠)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2019-0017
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공분야 기초연구사업
연구과제명	말초신경병증 연구센터
기 여 율	1/1
과제수행기관명	동아대학교 산학협력단
연구기간	2016.06.01 ~ 2022.12.31

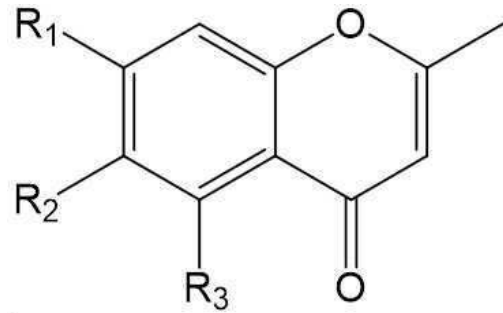
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물을 포함하는, 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 의약 조성물:

[화학식 1]

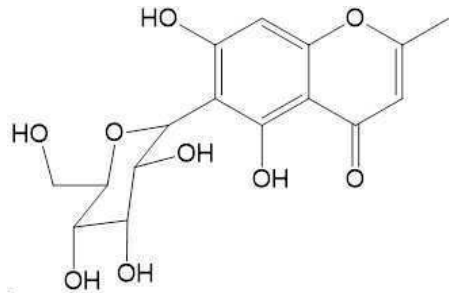


(식 중, R₁, R₂, R₃는 서로 독립적으로, 수소, 히드록시기, 탄소수 1~3의 알콕시기, 또는 글루코피라노실이되; 셋 중 적어도 하나는 수소 원자가 아니거나, 메톡시기가 아님).

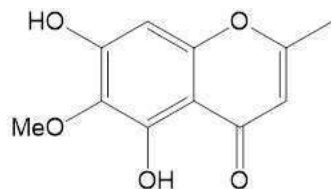
청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 하기 화학식 2 내지 5 중 적어도 하나의 화합물인, 조성물:

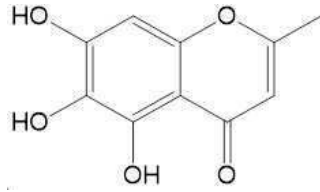
[화학식 2]



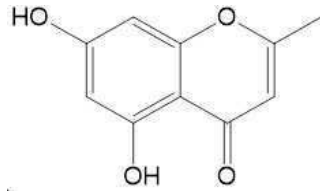
[화학식 3]



[화학식 4]



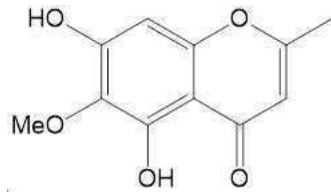
[화학식 5]



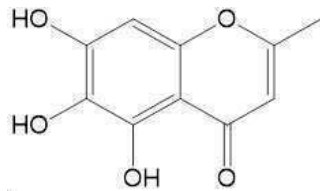
청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 하기 화학식 3 또는 4의 화합물인, 조성물:

[화학식 3]



[화학식 4]



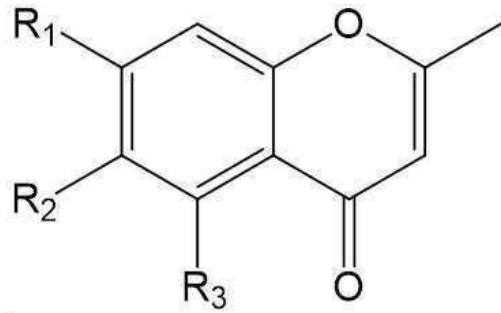
청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 질환은 알츠하이머 치매, 다운증후군, 아밀로이드맥관병증, 전신성 아밀로이드병, 더취(Dutch)형 아밀로이드증 또는 붕입체 구염인, 조성물.

청구항 5

하기 화학식 1의 화합물을 포함하는, 뇌 내 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

[화학식 1]



(식 중, R₁, R₂, R₃는 서로 독립적으로, 수소, 히드록시기, 탄소수 1~3의 알콕시기, 또는 글루코피라노실이되; 셋 중 적어도 하나는 수소 원자가 아니거나, 메톡시기가 아님).

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 의약 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 평균 수명이 늘어남으로써 퇴행성 뇌질환의 발병율이 크게 늘고 있다. 특히 알츠하이머병을 포함한 노인성 치매는 언어, 학습, 지능 등에 대한 전반적인 인지기능과 고등정신기능이 비정상적으로 감퇴되는 기능적 장애를 동반하여 환자 본인뿐만 아니라 주변 사람들의 부담을 가중시키는 질환으로 인식되고 있다. 많은 타겟 기전들이 밝혀졌지만 아직 알츠하이머병을 포함한 치매에 쓰는 약물은 뇌 중 아세틸콜린의 양을 늘릴 수 있는 아세틸콜린 분해효소 저해제와 NMDA 수용체를 차단하여 병의 진행을 늦출 것이라 예상되는 의약품만 존재하고 있다. 또한 이들 의약품의 효능이 미비하고 질병의 치료제라기보다는 증상 개선제에 불과한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 한국특허 제2052097호

발명의 내용

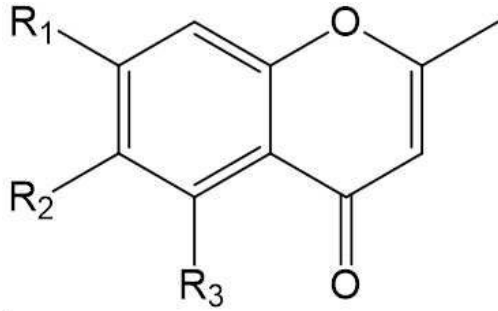
해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 베타 아밀로이드의 응집을 예방하고, 응집체를 분해하여, 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환을 근본적으로 예방 및 치료할 수 있는 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 1. 하기 화학식 1의 화합물을 포함하는, 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 의약 조성물:

[0009] [화학식 1]

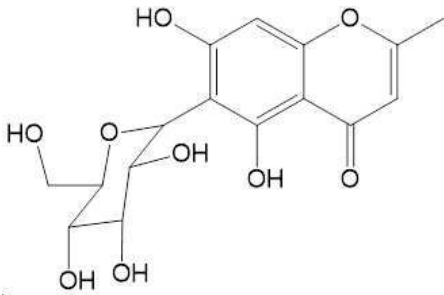


[0010]

[0011] (식 중, R₁, R₂, R₃는 서로 독립적으로, 수소, 히드록시기, 탄소수 1~3의 알콕시기, 또는 글루코피라노실이되; 셋 중 적어도 하나는 수소 원자가 아니거나, 메톡시기가 아님).

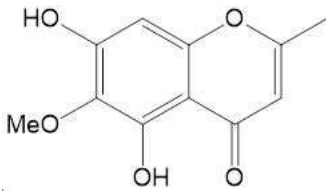
[0012] 2. 위 1에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 하기 화학식 2 내지 5 중 적어도 하나의 화합물인, 조성물:

[0013] [화학식 2]



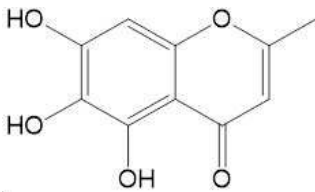
[0014]

[0015] [화학식 3]



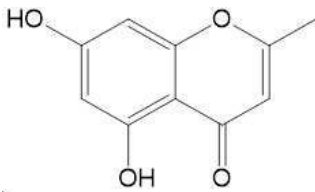
[0016]

[0017] [화학식 4]



[0018]

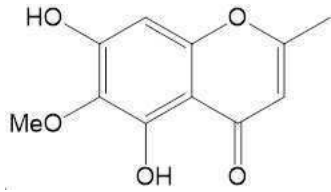
[0019] [화학식 5]



[0020]

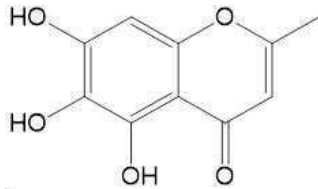
[0021] 3. 위 1에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 하기 화학식 3 또는 4의 화합물인, 조성물:

[0022] [화학식 3]



[0023]

[0024] [화학식 4]

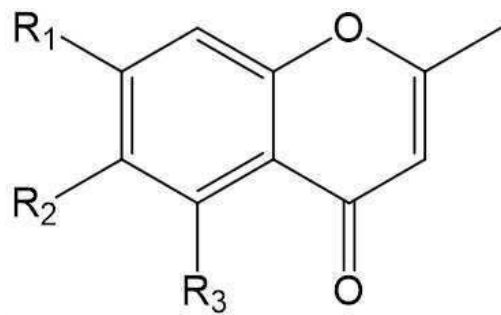


[0025]

[0026] 4. 위 1에 있어서, 상기 질환은 알츠하이머 치매, 다운증후군, 아밀로이드맥관병증, 전신성 아밀로이드병, 더취(Dutch)형 아밀로이드증 또는 붕괴체 구염인, 조성물.

[0027] 5. 하기 화학식 1의 화합물을 포함하는, 뇌 내 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

[0028] [화학식 1]



[0029]

[0030] (식 중, R₁, R₂, R₃는 서로 독립적으로, 수소, 히드록시기, 탄소수 1~3의 알콕시기, 또는 글루코피라노실이되; 셋 중 적어도 하나는 수소 원자가 아니거나, 메톡시기가 아님).

발명의 효과

[0032] 본 발명은 조성물은 베타 아밀로이드의 응집을 저해하고, 응집된 베타 아밀로이드 피브릴 및 올리고머를 분해하여 베타 아밀로이드에 의한 독성을 억제할 수 있다. 따라서, 베타 아밀로이드의 응집에 의해 유발되는 다양한 질환을 근본적으로 예방 및 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 Biflorin 및 유도체들의 베타아밀로이드 응집 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 2는 Biflorin 및 유도체들의 베타아밀로이드 응집체 분해 효과를 나타낸 것이다.

도 3은 Biflorin 유도체들의 베타아밀로이드 올리고머 형성 저해 효과를 나타낸 것이다.

도 4는 Biflorin 유도체들의 베타아밀로이드의 세포독성 저해 효과를 나타낸 것이다.

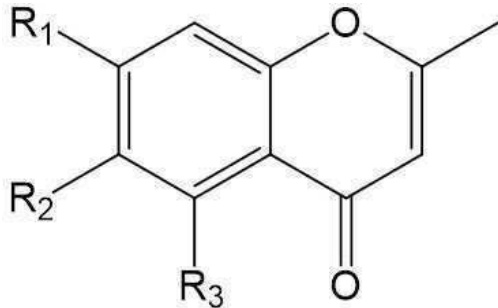
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0037] 본 발명은 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 의약 조성물에 관한 것이다.

[0038] 본 발명의 조성물은 하기 화학식 1의 화합물을 포함한다.

[0039] [화학식 1]



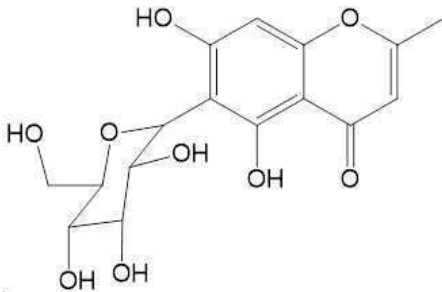
[0040]

[0041] (식 중, R₁, R₂, R₃는 서로 독립적으로, 수소, 히드록시기, 탄소수 1~3의 알콕시기, 또는 글루코피라노실이되; 셋 중 적어도 하나는 수소 원자가 아니거나, 메톡시기가 아님).

[0042] 본 발명자들은 상기 화학식 1의 화합물이 베타 아밀로이드의 응집을 억제하고 응집체를 분해함을 확인한 것으로, 이에 상기 화합물은 베타 아밀로이드의 응집에 의해 유발되는 다양한 질환에 대해 예방 또는 치료 효능을 나타낼 수 있다.

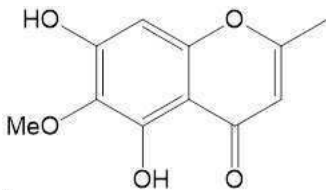
[0043] 화학식 1의 화합물은 구체적으로 하기 화학식 2 내지 5의 화합물일 수 있고, 보다 구체적으로는 화학식 3 또는 4의 화합물일 수 있다.

[0044] [화학식 2]



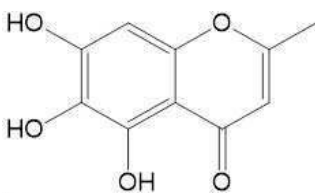
[0045]

[0046] [화학식 3]



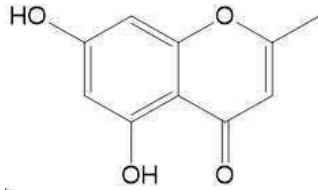
[0047]

[0048] [화학식 4]



[0049]

[0050] [화학식 5]



[0051]

[0052] 본 발명의 조성물의 예방 또는 치료 대상이 되는 질환은 베타 아밀로이드의 응집에 의해 유발될 수 있는 질환이라면 제한 없이 해당될 수 있으며, 예를 들면, 알츠하이머 치매, 다운증후군, 아밀로이드맥관병증, 전신성 아밀로이드병, 더취(Dutch)형 아밀로이드증, 봉입체 구염 등일 수 있다.

[0053] 본 발명의 의약 조성물은 유효성분을 단독으로 포함하거나, 하나 이상의 의약적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하여 의약 조성물로 제공될 수 있다.

[0054] 본 발명의 용어 "의약적으로 허용되는"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다.

[0055] 본 발명에 있어서, 의약 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다.

[0056] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하며, 이에 한정되는 것은 아니다.

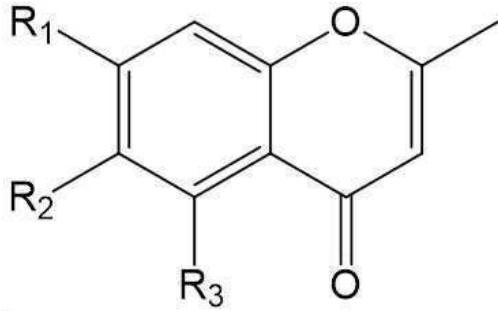
[0057] 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 상기 조성물은 0.01~1000mg/kg/day로, 바람직하게는 0.1~500mg/kg/day로 투여하는 것이 바람직하 나 이에 한정되지 않는다. 상기 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0058] 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calciumcarbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propyleneglycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로 제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0060] 또한, 본 발명은 베타 아밀로이드의 응집으로 유발되는 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

[0061] 본 발명의 조성물은 하기 화학식 1의 화합물을 포함한다.

[0062] [화학식 1]

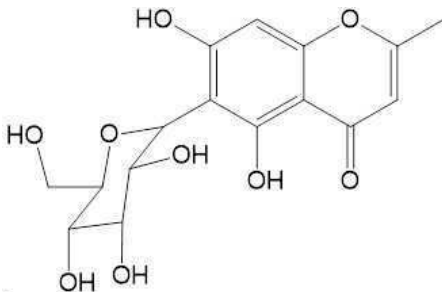


[0063]

[0064] (식 중, R₁, R₂, R₃는 서로 독립적으로, 수소, 히드록시기, 탄소수 1~3의 알콕시기, 또는 글루코피라노실이되; 셋 중 적어도 하나는 수소 원자가 아니거나, 메톡시기가 아님).

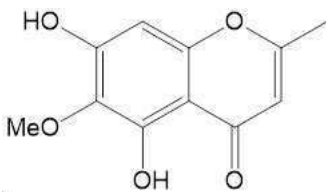
[0065] 화학식 1의 화합물은 구체적으로 하기 화학식 2 내지 5의 화합물일 수 있고, 보다 구체적으로는 화학식 3 또는 4의 화합물일 수 있다.

[0066] [화학식 2]



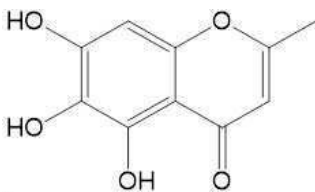
[0067]

[0068] [화학식 3]



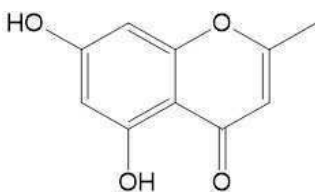
[0069]

[0070] [화학식 4]



[0071]

[0072] [화학식 5]



[0073]

[0074] 본 발명의 건강기능식품의 예방 또는 개선 대상이 되는 질환은 베타 아밀로이드의 응집에 의해 유발될 수 있는 질환이라면 제한 없이 해당될 수 있으며, 예를 들면, 알츠하이머 치매, 다운증후군, 아밀로이드맥관병증, 전신성 아밀로이드병, 더취(Dutch)형 아밀로이드증, 봉입체 구염 등일 수 있다.

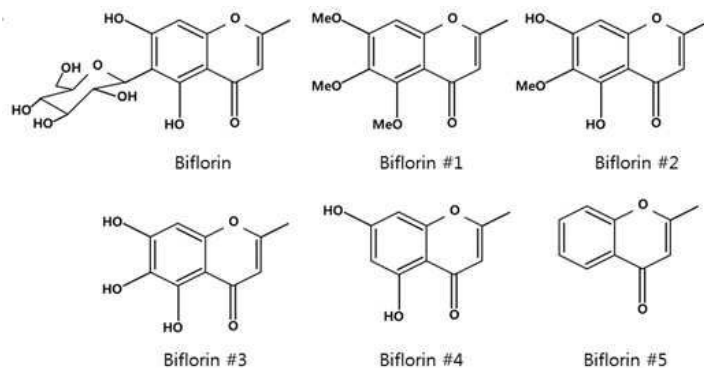
- [0075] 본 발명의 건강기능식품은 담체, 희석제, 부형제 및 첨가제 중 하나 이상을 더 포함하여 정제, 환제, 산제, 과립제, 분말제, 캡슐제 및 액제 제형으로 이루어진 군에서 선택된 하나로 제형될 수 있다. 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 각종 식품류, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽제, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 식품류 등이 있다.
- [0076] 상기 본 발명에 더 포함될 수 있는 첨가제로는, 천연 탄수화물, 향미제, 영양제, 비타민, 광물(전해질), 풍미제(합성 풍미제, 천연 풍미제 등), 착색제, 증진제(치즈, 초콜릿 등), 팩트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH조절제, 안정화제, 방부제, 산화 방지제, 글리세린, 알콜, 탄산화제 및 과육으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 성분을 사용할 수 있다.
- [0077] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [0078] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 팩트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명에 따른 조성물은 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [0079] 상기 담체, 부형제, 희석제 및 첨가제의 구체적인 예로는 이에 한정하는 것은 아니나, 락토즈, 텍스트로즈, 슈크로즈, 솔비톨, 만니톨, 에리스리톨, 전분, 아카시아 고무, 인산칼슘, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리 케이트, 미세결정성 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로즈, 물, 설탕시럽, 메틸셀룰로즈, 메틸 하이드록시 벤조에이트, 프로필하이드록시 벤조에이트, 활석, 스테아트산 마그네슘 및 미네랄 오일로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상이 사용되는 것이 바람직하다.
- [0080] 본 발명의 건강기능식품을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 증진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [0082] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.

[0084] 실시예

[0085] 1. 실험방법

[0086] 1) 약물 및 시약

[0087] 베타아밀로이드1-42는 Anaspec에서 구입하였다. Biflorin 유도체들은 발명자인 김남중 교수가 합성하여 제공하였다. 그 외 시약은 시중에서 구입할 수 있는 최상급을 사용하였다.



[0088]

[0090] 2) 베타아밀로이드 응집 저해 및 응집체 분해 효과

[0091] 단백질 응집 정도를 in vitro에서 확인할 수 있는 방법을 사용하였다. 벤조티아졸 염료인 Thioflavin T (ThT)는 Sigma (T3516)에서 구입하여 DPBS에 녹여 사용하였다. Amyloid β 1-42 ($A\beta$ 42) 단백질은 DMSO에 1 mM으로 녹여 DPBS로 100 μ M으로 희석하여 사용하였다. Biflorin 및 유도체들은 DMSO에 녹여 사용하였다. $A\beta$ 42 응집 정도를 확인하기 위해, $A\beta$ 42와 biflorin 및 유도체들의 양을 1:1로 섞어 black Eppendorf tube에 넣어 37 ° C에서 24 시간동안 배양하였다. 최종 농도는 $A\beta$ 42 (10 μ M), biflorin 및 유도체 (10 μ M), curcumin (10 μ M), ThT (45 μ M)을 사용하였다. 96-well black plate에 100 μ l/well 넣어 Synergy™ HTX multi-mode microplate reader를 이용하여 485 nm / 528 nm 파장에서 형광 값을 측정하였고 모두 세 번씩 진행되었다.

[0093] 3) 베타아밀로이드 western blot

[0094] 모든 단백질은 BCA protein assay kit (Thermo)를 이용하여 정량하였다. $A\beta$ 42 단백질은 정량 후 photo-cross linking 과정을 통해 단백질 구조를 고정시켰다. 6주령 mice 뇌 샘플을 homogenization하여 얻은 단백질은 정량 후 이황화 결합을 끊어 전기영동 가능케 하였다.

[0095] SDS-PAGE를 통해 상온에서 단백질을 크기 별로 분리하였고, Transfer는 PVDF membrane로 4°C에서 2시간 동안 진행하였다. blocking은 5% bovine serum albumin (BSA)으로 상온에서 1시간 30분 간 진행하였다. 1차 항체는 2% BSA에 1:1000 비율로 희석하여 overnight 시킨 다음, 1% BSA에 1:5000 비율로 희석한 2차 항체와 상온에서 30 분간 반응시켰다. Band는 ECL detection kit를 사용하여 film 검출하였고, 이미지 분석 프로그램인 image J로 signal을 수치화하였다. Actin을 로딩 대조군으로 사용하였다. $A\beta$ antibody (sc-53822, Santa Cruz).

[0097] 4) 베타아밀로이드 세포독성 실험(MTT)

[0098] Mouse neuroblastoma cell line인 neuro2a는 American Type Culture Collection (Menassas, VA, USA)으로부터 구매하였고, 10% fetal bovine serum과 1% penicillin streptomycin이 함유된 Minimum Essential Medium (WELGENE Co., Daegu, Korea)을 사용하였다. 세포는 5% CO2를 포함한 공기를 내보내는 incubator 내에서 온도 37°C, 습도 100%의 조건으로 배양되었으며 confluence가 70~80%에 달하였을 때 subculture 하였다.

[0099] (1) 세포 생존율 평가

[0100] Neuro2a 세포를 24-well culture plate (2×10^4 /well)에 24시간 배양한 후 약물을 농도별로(0-30 μ M) 24시간 처리하였다. $A\beta$ 42 단백질은 미리 24시간 동안 배양하여 응집체를 얻은 후 약물과 함께 처리되었다. 약물 처리 후 기존의 배지를 제거하고 새로운 배지에 MTT 시약(Thermo Fisher scientific)을 0.5 mg/ml 농도로 처리하여 37°C incubator에서 30분간 반응시킨 다음 배지를 제거하고 DMSO로 발색을 유도하여 micro plate reader (Bio-rad)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0101] (2) 세포 독성 평가

[0102] Neuro2a 세포를 24-well culture plate (2×10^4 /well)에 24시간 배양한 후 $A\beta$ 42 응집체와 약물을 농도별로(0-30 μ M) 24시간 처리하였다. 약물 처리 후 배지를 모아 1000 rpm에서 2분간 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 회수한 상층액은 solution A와 B를 45:1로 섞은 LDH 시약과 1:1로 섞어 차광 박스 내에서 15분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0104] 4) 통계처리

[0105] 모든 통계적인 분석과 그래프는 Graphpad Prism 5.0을 사용하였다. 신경돌기 성장 평가와 수동회피실험 결과는 one-way analysis of variance (ANOVA)로 분석하였다.

[0106] ANOVA 분석으로 유의성이 띄었을 때 각각의 그룹은 post-hoc Turkey's pairwise comparison을 사용하여 비교하였고 p < 0.05의 범위에서 통계학적으로 유의미한 것으로 인정하였다.

[0108] 2. 결과

[0109] 1) Biflorin 및 유도체의 베타아밀로이드(A β) 응집 억제 효과

[0110] 베타아밀로이드만 배양하였을 경우 형광 세기의 크기를 100으로 하여 biflorin 유도체들의 응집 저해 활성을 평가하였다. Biflorin(10 μ M)은 베타아밀로이드(10 μ M)의 응집에 대해 19% 정도의 저해활성을 나타내었고, biflorin #1은 저해활성이 전혀 없었으며, biflorin #2는 82%, biflorin #3는 91%, biflorin #4는 37%, biflorin #5는 8%의 저해활성을 나타내었다(도 1).

[0112] 2) Biflorin 유도체들의 베타아밀로이드 응집체 분해 효과

[0113] 베타아밀로이드를 24시간 동안 배양하여 응집체를 형성시킨 뒤 biflorin 및 유도체들을 가하여 이미 응집된 응집체를 분해할 수 있는지 확인하는 실험을 실시하였다. 베타아밀로이드 응집 저해 효과가 뛰어났던 biflorin #2와 biflorin #3가 이미 형성된 베타아밀로이드 응집체를 효과적으로 분해함을 알 수 있었다(도 2).

[0115] 3) Biflorin 유도체들의 베타아밀로이드 올리고머 형성 저해 효과

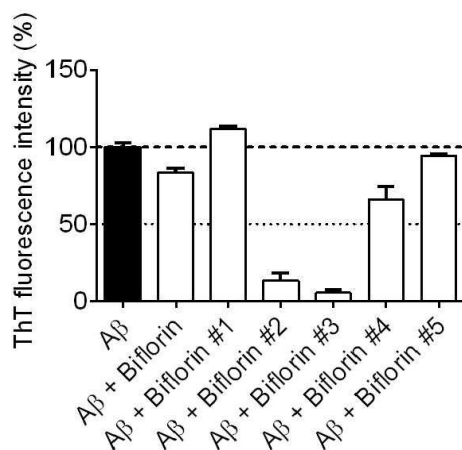
[0116] 베타아밀로이드의 저분자 올리고머(2량체 및 3량체)가 뇌세포 독성을 나타냄이 알려져 있어 biflorin 및 유도체들이 베타아밀로이드 저분자 올리고머 형성에 미치는 영향을 평가하였다. 베타아밀로이드만 배양한 경우에 비해 biflorin #2와 biflorin #3을 같이 배양한 경우 dimer, trimer 및 tetramer의 생성이 줄어들음을 알 수 있다. 양성대조군으로 사용한 curcumin의 경우도 유사한 정도로 베타아밀로이드 올리고머의 감소가 나타났다.

[0118] 4) Biflorin 유도체들의 베타아밀로이드의 세포독성 저해 효과

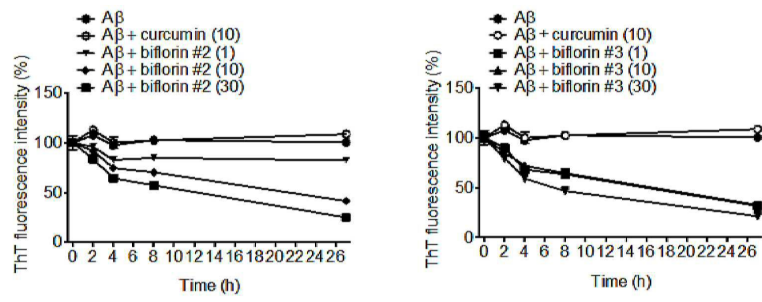
[0119] 베타아밀로이드 저분자 올리고머의 생성을 억제하는 활성을 가진 biflorin #2와 biflorin #3의 베타아밀로이드에 의한 세포 독성에 대한 효과를 알아보았다. 두 물질 모두 베타아밀로이드에 의한 세포 사멸을 억제함을 알 수 있었다(도 4).

도면

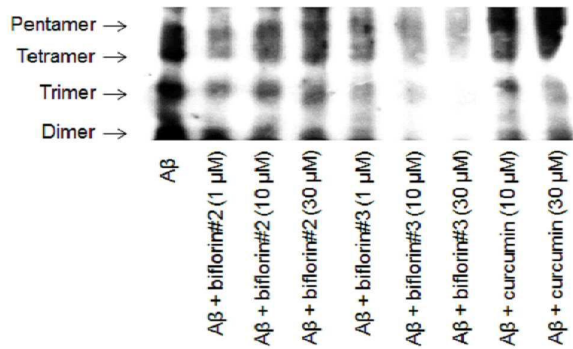
도면1



도면2



도면3



도면4

