

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6930037号
(P6930037)

(45) 発行日 令和3年9月1日 (2021.9.1)

(24) 登録日 令和3年8月13日 (2021.8.13)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 31/165 (2006.01)
A 6 1 P 9/10 (2006.01)
A 2 3 L 33/10 (2016.01)
A 2 3 K 20/105 (2016.01)

A 6 1 K 31/165
 A 6 1 P 9/10
 A 2 3 L 33/10
 A 2 3 K 20/105

請求項の数 6 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2020-544616 (P2020-544616)
 (86) (22) 出願日 平成31年4月1日 (2019.4.1)
 (65) 公表番号 特表2021-510728 (P2021-510728A)
 (43) 公表日 令和3年4月30日 (2021.4.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2019/003794
 (87) 国際公開番号 W02019/194494
 (87) 国際公開日 令和1年10月10日 (2019.10.10)
 審査請求日 令和2年10月19日 (2020.10.19)
 (31) 優先権主張番号 10-2018-0039368
 (32) 優先日 平成30年4月4日 (2018.4.4)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 韓国 (KR)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 520292279
 ニューロバイオジェン カンパニー リミ
 テッド
 NEUROBIOGEN CO., LTD.
 大韓民国, 13201, 京畿道城南市, 中
 院区, ガルマチロ, 302, 502号
 502ho, 302, Galmach
 i-ro, Jungwon-gu, S
 eongnam-si Gyeonggi
 -do, 13201, Korea
 (74) 代理人 110002295
 特許業務法人森脇特許事務所

最終頁に続く

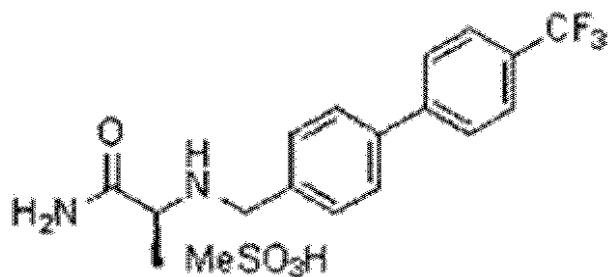
(54) 【発明の名称】 脳卒中の予防又は治療用組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記化学式 1 で表される化合物又はその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含む、
 脳卒中 (stroke) の予防又は治療用薬学組成物：

【化 1】



【請求項 2】

前記脳卒中は、虚血性脳卒中 (ischemic stroke) 又は出血性脳卒中 (ischemic stroke) である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

脳卒中によって減少した運動機能の回復を促進することを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

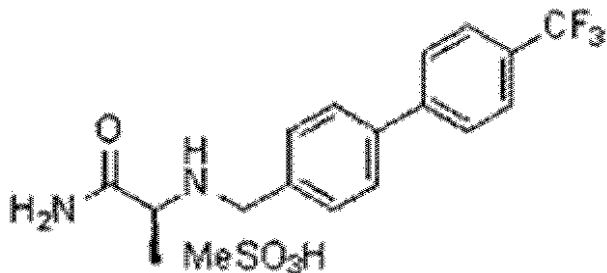
【請求項 4】

内包 (internal capsule) における梗塞 (infarction) サイズを減少させることを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

下記化学式 1 で表される化合物を有効成分として含む、脳卒中の予防又は改善用食品組成物：

〔化 1〕

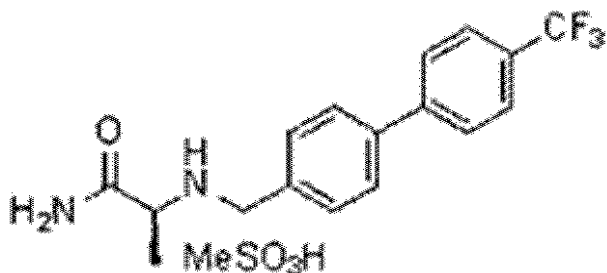


10

【請求項 6】

下記化学式 1 で表される化合物を有効成分として含む、脳卒中の予防又は改善用飼料組成物：

〔化 1〕



20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、脳卒中の予防又は治療用組成物に関し、特に、(S)-2-((4-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)-4-イル)メチル)アミノ)プロパンアミドメタンスルホネートを含む脳卒中の予防又は治療用組成物、脳卒中の予防又は改善用食品組成物、飼料組成物、脳卒中の予防又は治療方法、及び前記化合物の脳卒中予防又は治療用途などに関する。

30

【背景技術】

【0002】

脳卒中は脳血管疾患であり、心臓疾患及び癌と共に主な 3 つの死亡原因とされており、その頻発数が次第に増加するに伴って平均寿命の展望及び人口年齢の延長に影響を与える最も一般的な疾患の一つである。高血圧、高脂肪血症、粥状動脈硬化症、高コレステロール血症は、脳血性脳卒中に対する様々な重要な危険因子として知られている。

40

【0003】

脳卒中は大きく 2 つに分けられるが、脳組織に行く血液供給の減少或いは遮断による脳組織の虚血状態から発生する虚血性脳卒中 (ischemic stroke) と血管が破れて脳組織に出血を起こす出血性脳卒中 (hemorrhagic stroke) とに区分されており、虚血性脳卒中が全脳卒中患者の約 80 % を占めている。このような脳卒中による死亡率は、韓国内だけでなく全世界で毎年増加の一途にあり、近年、脳卒中治療薬物の開発への関心が高まっている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

50

【特許文献1】韓国登録特許公報第10-1795562号

【特許文献2】韓国登録特許公報第10-1781060号

【特許文献3】韓国登録特許公報第10-1746060号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明者らは、本発明の(S)-2-(((4'-トリフルオロメチルビフェニル-4-イル)メチル)アミノ)プロパンアミドメタンスルホネート化合物が脳卒中による運動機能低下を回復させ、内包における梗塞サイズを減らす効果を示すことを見出し、脳卒中の予防及び治療に有用であることを確認することによって本発明を完成した。

10

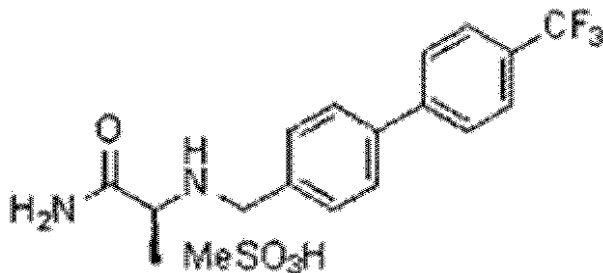
【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明の一目的は、下記化学式1で表される化合物又はその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含む、脳卒中(stroke)の予防又は治療用薬学組成物を提供することである。

【0007】

[化1]



20

【0008】

本発明の他の目的は、前記化合物を有効成分として含む、脳卒中の予防又は改善用食品組成物を提供することである。

【0009】

本発明のさらに他の目的は、前記化合物を個体に投与する段階を含む、脳卒中の予防又は治療方法を提供することである。

30

【0010】

本発明のさらに他の目的は、前記化合物の脳卒中予防又は治療用途を提供することである。

【発明の効果】

【0011】

本発明の化学式1の化合物を含む組成物は、脳卒中によって低下した運動機能を回復させ、梗塞サイズを減少させることによって、脳卒中の予防、改善及び治療に優れた効果があることを確認したので、前記化合物及びこれを含む組成物は脳卒中の予防、改善及び治療に有用に用いることができる。

40

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】齧歯類中風モデル概要を示す図である。

【図2】齧歯類中風モデルにおいてKDS2010投与による運動機能回復効果を示す図である。Aは、全実験期間及び薬物投与時期を示している。Bは、単一ペレット到達試験(SPRT; single-pellet reaching task)テストを示し、C及びDは、SPRT点数を示している。Eは、シリンダーテストを示し、F及びGはシリンダーテストにおいて全回数のうち、中風の発生した前肢と反対側の前肢の使用比率を示している。(Sham: 正常対照群、Stroke: 中風モデル、Stroke+rehab: リハビリ訓練をした中風モデル、Stroke+KDS2010: 薬物投与をし

50

た中風モデル、Stroke + rehab + KDS 2010 : 薬物投与及びリハビリ訓練をした中風モデル)

【図3】齧歯類中風モデルにおいてKDS 2010投与による脳組織損傷回復効果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

これを具体的に説明すると、次の通りである。一方、本発明に開示する各説明及び実施形態は他の各説明及び実施形態にも適用可能である。すなわち、本発明に開示する様々な要素の全ての組み合わせが本発明の範囲に属する。また、以下の具体的な記述によって本発明の範囲が制限されることはない。

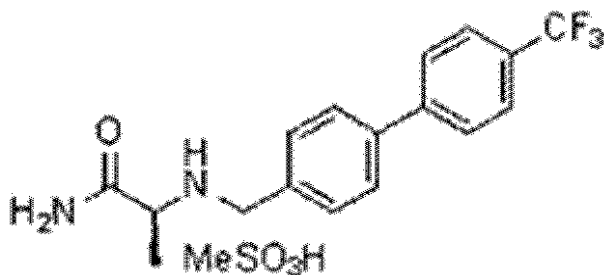
10

【0014】

上記目的を達成するための本出願の一態様は、下記化学式1で表される化合物又はその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含む、脳卒中(stroke)の予防又は治療用薬学組成物を提供する。

【0015】

[化1]



20

【0016】

本発明において前記化学式1で表される化合物は、(S)-2-(((4'-トリフルオロメチルビフェニル-4-イル)メチル)アミノ)プロパンアミドメタンスルホネート((S)-2-(((4'-trifluoromethyl biphenyl-4-yl)methyl)amino)propanamide methanesulfonate)と命名される化合物である。本発明において前記化合物は、KDS 2010と命名され得る。

30

【0017】

前記化合物の具体的な薬理活性についてはまだ研究進行中であり、直接的に脳卒中の予防及び治療効果を有するかどうかについては明らかになっていない。

【0018】

本発明は、(S)-2-(((4'-トリフルオロメチルビフェニル-4-イル)メチル)アミノ)プロパンアミドメタンスルホネートの取得方法に特に限定されず、当業界に公知の方法で化学的に合成したり、或いは市販の物質を使用することができる。

【0019】

本発明の(S)-2-(((4'-トリフルオロメチルビフェニル-4-イル)メチル)アミノ)プロパンアミドメタンスルホネートは、溶媒化した形態で存在してもよく、非溶媒化した(unsolvated)形態で存在してもよい。本発明の(S)-2-(((4'-トリフルオロメチルビフェニル-4-イル)メチル)アミノ)プロパンアミドメタンスルホネートは、結晶形又は無定形の形態で存在でき、このような全ての物理的形態は本発明の範囲に含まれる。

40

【0020】

本発明の薬学組成物は、前記化学式1で表される化合物の他に、その薬剤学的に許容可能な塩を含むこともできる。本発明において、“薬学的に許容可能な塩”は、前記化合物が他の物質と結合した塩の形態であり、薬学的に類似の活性を示し得る物質を意味する。

【0021】

50

前記薬剤学的に許容可能な塩の種類には、塩化水素酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩又は硫酸塩のような無機酸塩と、カルボキシル酸塩又はスルホン酸塩のような有機酸塩が含まれるか、これに限定されない。また、カルボキシル酸塩の種類には、酢酸塩、マレ酸塩、フマル酸塩、リンゴ酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、乳酸塩又は安息香酸塩が含まれるが、これに限定されない。また、スルホン酸塩の種類には、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、又はナフタレンジスルホン酸塩が含まれるが、これに限定されない。

【 0 0 2 2 】

本発明において「脳卒中 (s t r o k e) 」とは、脳血流異常によって突然に誘発された局所的な神経学的欠損症状を意味する。このような脳卒中には、血栓などで脳血管が詰まって脳細胞の死滅につながる脳梗塞、又は脳血管が裂けて発生する脳出血が含まれ得る。具体的な脳卒中の症状としては、突然の頭痛及び嘔吐があり、半身麻痺や身体一部の麻痺、身体一部の感覚麻痺と消失があり得、言語障害 (失語症或いは発音障害) 、顔面神経障害、運動失調などを示すことがある。本発明において脳卒中は中風を意味することができる。

10

【 0 0 2 3 】

本発明の前記薬学組成物は、脳卒中によって損傷した運動機能の回復を促進したり、又は梗塞サイズを減少させるものであり得る。

【 0 0 2 4 】

本発明の具体的な一実施例では、本発明の化学式 1 の化合物を脳卒中動物モデルに処理した結果、脳卒中薬物非投与群に比べて運動機能の回復が促進されており、内包における梗塞サイズが減少することを確認した (図 2 及び図 3) 。

20

【 0 0 2 5 】

前記結果から、本発明の化学式 1 の化合物を含む組成物が脳卒中の予防又は治療用途に優れた効果があることを確認した。

【 0 0 2 6 】

本発明において用語「予防」とは、本発明の化学式 1 の化合物を含む組成物の投与によって脳卒中の発病を抑制又は遅延させる全ての行為を指す。本発明において用語「治療」は、本発明の化学式 1 の化合物を含む組成物の投与によって前記疾患の症状が好転したり或いは有益に変更される全ての行為を指す。

30

【 0 0 2 7 】

本発明の脳卒中予防又は治療用組成物の薬学的投与形態は、それらの薬学的に許容される塩の形態で使用されてもよく、単独で又は他の薬学的活性化合物との結合の他にも適当な集合の形態で使用されてもよい。

【 0 0 2 8 】

本発明の脳卒中予防又は治療用組成物は、薬学的に許容可能な担体をさらに含むことができる。

【 0 0 2 9 】

本発明の脳卒中予防又は治療用組成物は、哺乳動物に投与して活性成分の迅速、持続又は遅延された放出を提供できるように、当業界に公知の方法を用いて薬学的剤形に製造することができる。剤形の製造において、活性成分を担体と共に混合又は希釈したり、或いは容器形態の担体内に封入することが好ましい。

40

【 0 0 3 0 】

したがって、本発明の脳卒中予防又は治療用組成物は、通常の方法によって、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、懸濁液、エマルジョン、シロップ、エアゾールなどの経口型剤形、外用剤、坐剤及び滅菌注射溶液の形態で剤形化して使用することができ、組成物の製造に通常使用する適切な担体、賦形剤及び希釈剤をさらに含むことができる。

【 0 0 3 1 】

例えば、本発明の組成物に含まれる担体は、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルチトール、澱粉、

50

アカシアガム、アルギネート、ゼラチン、リン酸カルシウム、ケイ酸カルシウム、セルロース、メチルセルロース、微晶質セルロース、ポリビニルピロリドン、水、ヒドロキシ安息香酸メチル、ヒドロキシ安息香酸プロピル、タルク、ステアリン酸マグネシウム及び鉱物油などが挙げられるが、これに限定されない。製剤化する場合には普通使用する充填剤、増量剤、結合剤、湿潤剤、崩壊剤、界面活性剤などの希釈剤又は賦形剤を使用して調製される。

【0032】

経口投与のための固形製剤には錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤などが含まれ、このような固形製剤は、前記化合物に少なくとも一つの賦形剤、例えば、澱粉、炭酸カルシウム (calcium carbonate)、スクロース (sucrose) 又はラクトース (lactose)、ゼラチンなどを混ぜて調製される。また、単純な賦形剤の他に、ステアリン酸マグネシウム、タルクのような潤滑剤も用いられる。

10

【0033】

経口投与のための液状製剤には懸濁剤、耐溶液剤、乳剤、シロップ剤などが該当し、通常使用される単純希釈剤である水、リキッドパラフィンの他に様々な賦形剤、例えば湿潤剤、甘味剤、芳香剤、保存剤なども含まれ得る。

【0034】

非経口投与のための製剤には滅菌した水溶液、非水性溶剤、懸濁剤、乳剤、凍結乾燥剤、坐剤が含まれる。非水性溶剤、懸濁剤として、プロピレングリコール (propylene glycol)、ポリエチレングリコール、オリーブオイルのような植物性油、オレイン酸エチルのような注射可能なエステルなどを用いることができる。坐剤の基材としては、ウィテップゾール (witepsol)、マクロゴール、ツイン (tween) 61、カカオ脂、ラウリン脂、グリセロゼラテンなどを用いることができる。

20

【0035】

本発明の薬学組成物は個別治療剤として投与してもよく、他の治療剤と併用して投与してもよく、従来の治療剤とは順次に又は同時に投与できる。そして、単一又は多重投与され得る。これらの要素を全て考慮して副作用を誘発しないながらも最小限の量で最大の効果が得られる量を投与することが重要であり、当業者によって容易に決定され得る。

【0036】

本発明で使われる用語“投与”とは、適切な方法で患者に本発明の薬学組成物を導入することを意味し、本発明の組成物の投与経路は、目的組織に到達可能なものである限り、経口又は非経口の様々な経路で投与され得る。

30

【0037】

本発明に係る薬学組成物の投与方式は特に制限されず、当該技術分野における通常的方式を用いることができる。前記投与方式の非制限的な例として、組成物を経口投与又は非経口投与方式で投与することができる。本発明に係る薬学組成物は、目的とする投与方式に応じて様々な剤形に作製可能である。

【0038】

本発明の組成物の投与頻度は特にこれに制限されないが、1日1回投与したり又は容量を分割して数回投与してもよい。

40

【0039】

本発明の化学式1の化合物を有効成分として含む組成物の通常の1日投与量は1~1,000mg/kg、具体的には11~100mg/kgとすることができ、1回又は数回に分けて投与することができる。

【0040】

本発明は他の態様として、前記化学式1で表される化合物を有効成分として含む、脳卒中の予防又は改善用食品組成物を提供する。

【0041】

本発明の脳卒中予防又は改善用食品組成物は、丸剤、粉末、顆粒、浸剤、錠剤、カプセル又は液剤などの形態を含み、本発明の組成物を添加できる食品には、例えば、各種食品

50

類、例えば、飲料、ガム、茶、ビタミン複合剤、健康補助食品類などがある。

【 0 0 4 2 】

本発明の脳卒中予防又は改善用食品組成物に含み得る必須成分として、前記組成物又はその有効成分、又はその生理学的に許容可能な塩を含有する他は、他の成分に特に制限はなく、通常の商品と同様に、種々の生薬抽出物、食品補助添加剤又は天然炭水化物などを追加成分として含有できる。

【 0 0 4 3 】

前述したように食品補助添加剤をさらに添加してもよいので、食品補助添加剤は当業界における通常の商品補助添加剤、例えば香味剤、風味剤、着色剤、充填剤、安定化剤などを含む。

10

【 0 0 4 4 】

前記天然炭水化物の例は、モノサッカライド、例えばブドウ糖、果糖など；ジサッカライド、例えばマルトース、スクロースなど；及びポリサッカライド、例えばデキストリン、シクロデキストリンなどのような通常の糖、及びキシリトール、ソルビトール、エリトリトールなどの糖アルコールである。上述した他にも、香味剤として天然香味剤（例えばレバウジオシドA、グリシルヒジンなど）及び合成香味剤（サッカリン、アスパルテムなど）を有利に使用することができる。

【 0 0 4 5 】

上記の他に本発明の脳卒中予防又は改善用食品組成物は様々な栄養剤、ビタミン、鉱物（電解質）、合成風味剤及び天然風味剤などの風味剤、着色剤及び充填剤（チーズ、チョコレートなど）、ペクチン酸及びその塩、アルギン酸及びその塩、有機酸、保護性コロイド増粘剤、pH調節剤、安定化剤、防腐剤、グリセリン、アルコール、炭酸飲料に使用される炭酸化剤などを含有できる。その他に、天然果汁及び果汁飲料及び野菜飲料の製造のための果肉を含有できる。このような成分は独立して又は組み合わせて使用することができる。

20

【 0 0 4 6 】

本発明において、前記健康補助食品は健康機能食品及び健康食品などを含む。

【 0 0 4 7 】

前記健康機能（性）食品（functional food）とは、特定保健用食品（food for special health use；FoSHU）と同じ用語であり、栄養供給の他にも生体調節機能を効率的に奏するように加工された、医学・医療効果の高い食品を意味する。ここで“機能（性）”とは、人体の構造及び機能に対して栄養素を調節したり或いは生理学的作用などのような保健用途に有用な効果を得ることを意味する。本発明の食品は当業界で通常用いられる方法によって製造可能であり、前記製造時には当業界で通常添加する原料及び成分を添加して製造できる。また、前記食品の剤形も、食品と認められる剤形であればいかなる剤形にも製造可能である。本発明の食品用組成物は様々な形態の剤形に製造可能であり、一般薬品とは違い、食品を原料とするので、薬品の長期服用時に生じうる副作用などがない長所があり、携帯性にも優れているので、本発明の食品は脳卒中予防又は改善の効果を増進させるための補助剤として摂取が可能である。

30

40

【 0 0 4 8 】

本発明は他の態様として、前記化学式1で表される化合物を有効成分として含む、脳卒中の予防又は改善用飼料組成物を提供する。

【 0 0 4 9 】

本発明の飼料組成物は、例えば動物が食べ、摂取し、消化するのに適した食事といった任意の天然又は人工の規定の食べ物の成分を意味することができ、当業界に公知の様々な形態で製造可能である。

【 0 0 5 0 】

前記飼料の種類は特に限定されず、当該技術分野における通常の飼料を使用することができる。前記飼料の非点綴的な例としては、穀物類、根果類、食品加工副産物類、藻類、

50

繊維質類、製薬副産物類、油脂類、澱粉類、フクベ類又は穀物副産物類などのような植物性飼料；タンパク質類、無機物類、油脂類、鉱物性類、油脂類、単細胞タンパク質類、動物性プランクトン類又は飲食物などのような動物性飼料を挙げることができる。これらは単独で又は2種以上を混合して使用され得る。

【0051】

本発明の飼料添加剤組成物は、投与のために前述した化合物の他にクエン酸、フマル酸、アジピン酸、乳酸などの有機酸や、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、重合リン酸塩などのリン酸塩や、ポリフェノール、カテキン、トコフェロール、ビタミンC、緑茶抽出物、キット酸、タンニン酸などの天然抗酸化剤のいずれか1成分以上を混合して使用することができ、必要によって緩衝液、静菌剤などの他の通常の添加剤を添加してもよい。また、希釈剤、分散剤、界面活性剤、結合剤及び潤滑剤をさらに添加して製剤化してもよい。

10

【0052】

前記飼料組成物は、動物の飼料に直接混合したり或いは他の成分と組み合わせて容易に投与できる。投与量は、動物の体重、健康状態、食餌、投与方法及び疾患の重症度などに応じてその範囲は様々である。

【0053】

本発明は他の態様として、前記化学式1で表される化合物を個体に投与する段階を含む、脳卒中の予防又は治療方法を提供する。

【0054】

前記予防又は治療方法は、リハビリ訓練段階をさらに含むことができる。

20

【0055】

本発明で使われる用語“個体”とは、脊髄損傷が発病していたり発病する可能性のある人間を含め、全ての動物を意味し得る。前記動物は人間の他にこれと類似の症状の治療を必要とする牛、馬、羊、豚、山羊、ラクダ、羚羊、犬、猫などの哺乳動物であるが、これに制限されない。

【0056】

本発明の前記予防又は治療方法は具体的に、脳卒中が発病しているか発病する危険のある個体に前記組成物を薬学的に有効な量で投与する段階を含むことができる。

【0057】

本発明は他の態様として、前記化学式1で表される化合物の脳卒中の予防又は治療用途を提供する。

30

【0058】

前記化合物、脳卒中の予防又は治療は、前述した通りである。

【実施例】

【0059】

以下、実施例を用いて本発明の構成及び効果をより詳細に説明する。これらの実施例は単に本発明を例示するためのものであり、本発明の範囲はこれらの実施例によって限定されない。

実施例1：実験方法

40

【0060】

1-1. 投与薬物準備

脳卒中に対する治療効果を有するかどうか確認するための対象薬物を準備した。投与対象となる薬物は、韓国登録特許公報第10-1746060号に記載されている通りに準備した。具体的に、前記公報に記載された合成方法によって前記公報の実施例9に記載された(S)-2-(4'-トリフルオロメチルビフェニル-4-イル)メチル)アミノ)プロパンアミドメタンスルホネート(以下、KDS2010)を合成した。

【0061】

1-2. 齧歯類中風モデル作製

9週齢SDラットの脳内包後肢(posterior limb of the in

50

ternal capsule)に光刺激を与え、白質(white matter)脳梗塞動物モデルを作製した。

具体的に、ケタミン(ketamine hydrochloride, 100 mg/kg)とキシラジン(xylazine, 7 mg/kg)を組み合わせた麻酔薬で動物を麻酔した後、定位法(stereotaxis)を用いて頭蓋骨ブレグマ(bregma)から後方2.0 mm、側方3.1 mmの位置に穴をあけ、光繊維(内径62.5 μm、外径125 μm)を7.2 mm深さに挿入して内包後肢をターゲットとした。ローズベungal(Rose Bengal, 20 mg/kg)を尻静脈注入した後、光繊維を用いて1.5 分間緑色レーザー3.7 mWで光刺激した。その後、光繊維を除去して手術を完了し、疼痛調節のためにケトプロフェン(ketoprofen, 2 mg/kg)注入後に回復させた。対照群は0.9%生理食塩水をローズベungalの代わりに注入した。

10

作製された脳梗塞動物モデルの脳構造概要は図1の通りである。

【0062】

1-3. 薬物投与及びリハビリ訓練

薬物KDS2010を投与したグループのネズミは、毎日1回ずつ経口投与で、KDS2010を塩類溶液(saline)に溶かして10 mg/kgの濃度で服用した(図2A)

リハビリ訓練をするグループのネズミは中風手術後に毎日20分ずつ3週間単一ペレット到達試験(single-pellet reaching task)(SPRT)を行った。一方、リハビリ訓練をしないグループのネズミは週に2回だけ3週間SPRTを行った。

20

【0063】

1-4. 行動実験

齧歯類中風モデルにおいてKDS2010の効果を確認するために、前肢使用の非対称を確認するためのシリンダーテスト(cylinder test)と、精巧な運動能力を評価するための単一ペレット到達試験を行った。

シリンダーテストのために動物を透明なシリンダー(直径20 cm、高さ30 cm)に入れ、前肢をシリンダー壁について支えている時、どちらの前肢を相対的に多く使用するかを調べた。合計20回の動きを録画し、全回数のうち、中風の発生した前肢と反対側の前肢の使用比率を計算した。

30

単一ペレット到達試験は、前方の壁に1 cmの縦長のスリットがあるアクリルボックス(45 cm×13 cm×40 cm)を使用し、そのスリットの前方に砂糖ペレットを置いた。動物は、体重の90%になるまで禁食させて食べ物を得ようとする状態にして準備した。総20個のペレットのうち何個を口で落とさずに持っていくかの比率を計算した。

【0064】

1-5. 神経線維染色

内包梗塞のサイズを組織から確認するために、行動実験の終わったネズミは組織学的検査のための犠牲とし、脳組織を準備した。摘出した脳組織、神経線維(neurofilament)抗体(SMI-31R, BioLegend, CA, USA)とDAB染色キット(TL-060-QHD, Thermo, MA, USA)を用いて神経線維を染色した。

40

実施例2：実験結果

【0065】

2-1. 単一ペレット到達試験及びシリンダーテストを用いた運動機能回復効果の確認

前記実施例1-4のように単一ペレット到達試験で運動機能を評価した結果、図2のB~Dから分かるように、齧歯類中風モデルでは運動機能が非常に損傷していた。中風誘発後にリハビリ訓練を行っても運動機能は実質的に回復しなかった。一方、KDS2010薬物投与とリハビリ訓練を併行した場合、精巧な運動機能がほとんど正常レベルに回復したことを確認した。

また、シリンダーテストによって運動機能回復効果を確認した結果、図2のE~Gから

50

分かるように、齧歯類中風モデルでは運動機能が非常に損傷しているのに対し、薬物投与群 (Stroke + KDS 2010) では対照群に比べて運動機能が有意に回復したことを確認した。

したがって、前記のような結果から、中風モデルに KDS 2010 薬物を投与する場合、中風によって損傷した運動機能の回復が促進されることが分かる。

【0066】

2 - 2 . 単一ペレット到達試験及びシリンダーテストを用いた運動機能回復効果の確認

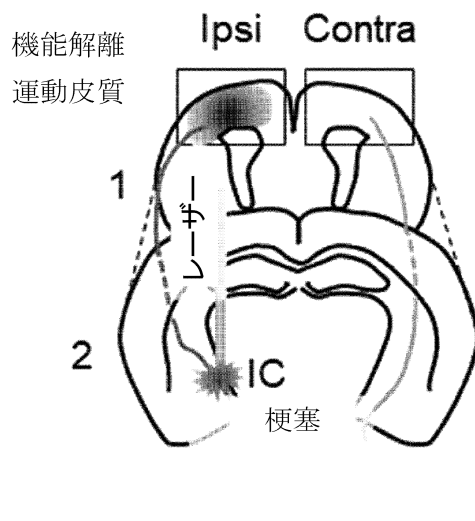
前記実施例 1 - 5 の方法のように神経線維を染色して内包における梗塞サイズを観察した。

その結果、図 3 から分かるように、齧歯類中風モデルでは内包における梗塞サイズが相当増加しているのに対し、薬物投与群 (Stroke + KDS) では対照群に比べて梗塞サイズが大幅に減少し、特に、薬物投与と共にリハビリ訓練を併行した実験群 (Stroke + rehab + KDS) では内包における梗塞サイズがさらに減少したことを確認した。

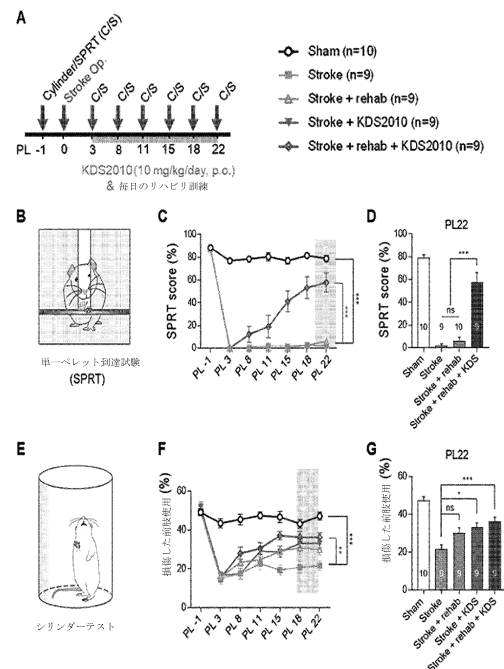
したがって、前記のような結果から、KDS 2010 が梗塞面積を減少させることによって運動機能を回復させ、中風、すなわち脳卒中を予防及び治療できることが分かる。

以上の説明から、本発明の属する技術分野における当業者にとって本発明がその技術的思想や必須特徴を変更しない範囲で別の具体的な形態に実施され得ることが理解できよう。これに関連して、以上に述べた実施例はいずれの面においても例示的であり、限定的なものではないと理解しなければならない。本発明の範囲は前述した詳細な説明より、後述する特許請求の範囲の意味及び範囲そしてその等価概念から導出される全ての変更又は変形された形態が本発明の範囲に含まれるものとして解釈されるべきである。

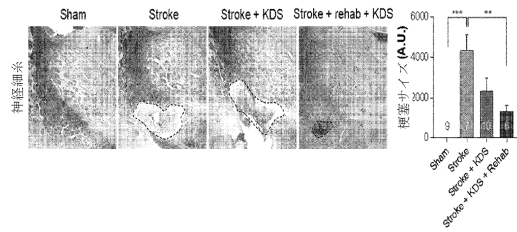
【図 1】



【図 2】



【図 3】



フロントページの続き

- (72)発明者 パク ギドク
大韓民国, 0 2 7 9 2, ソウル特別市, 城北区, ファランロ 1 4 ギル, 5
- (72)発明者 リー チャンジュン
大韓民国, 0 2 7 9 2, ソウル特別市, 城北区, ファランロ 1 4 ギル, 5
- (72)発明者 オー スージン
大韓民国, 0 2 7 9 2, ソウル特別市, 城北区, ファランロ 1 4 ギル, 5
- (72)発明者 ペ エニム
大韓民国, 0 2 7 9 2, ソウル特別市, 城北区, ファランロ 1 4 ギル, 5
- (72)発明者 リム サンミン
大韓民国, 0 2 7 9 2, ソウル特別市, 城北区, ファランロ 1 4 ギル, 5
- (72)発明者 パク ジョンヒョン
大韓民国, 0 2 7 9 2, ソウル特別市, 城北区, ファランロ 1 4 ギル, 5
- (72)発明者 ナム ミンホ
大韓民国, 0 2 7 9 2, ソウル特別市, 城北区, ファランロ 1 4 ギル, 5
- (72)発明者 キム ヒョンイル
大韓民国, 6 1 0 0 5, 全羅南道, 光州広域市, 北区, チョムダングァギロ, 1 2 3, ディパート
メント バイオメディカル サイエンス アンド エンジニアリング
- (72)発明者 パク チヨン
大韓民国, 6 1 0 0 5, 全羅南道, 光州広域市, 北区, チョムダングァギロ, 1 2 3, ディパート
メント バイオメディカル サイエンス アンド エンジニアリング
- (72)発明者 チョ ジョンウク
大韓民国, 6 1 0 0 5, 全羅南道, 光州広域市, 北区, チョムダングァギロ, 1 2 3, ディパート
メント バイオメディカル サイエンス アンド エンジニアリング

審査官 鶴見 秀紀

(56)参考文献 韓国公開特許第10 - 2009 - 0018817 (KR, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0

A 2 3 K 2 0 / 1 0 5

A 2 3 L 3 3 / 1 0

A 6 1 P 9 / 1 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)