

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0129833

(43) 공개일자 2022년09월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/55 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)

A61P 1/16 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/55 (2013.01)

A23L 33/10 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2021-0034652

(22) 출원일자 2021년03월17일

심사청구일자 2021년03월17일

(71) 출원인

상지대학교산학협력단

강원도 원주시 상지대길 83 (우산동, 상지대학교)

(72) 발명자

안미정

강원도 원주시 무실로 455, 우미원아파트 105동 102호

양나연

경기도 화성시 동탄대로12길 71, 1844동 1202호
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

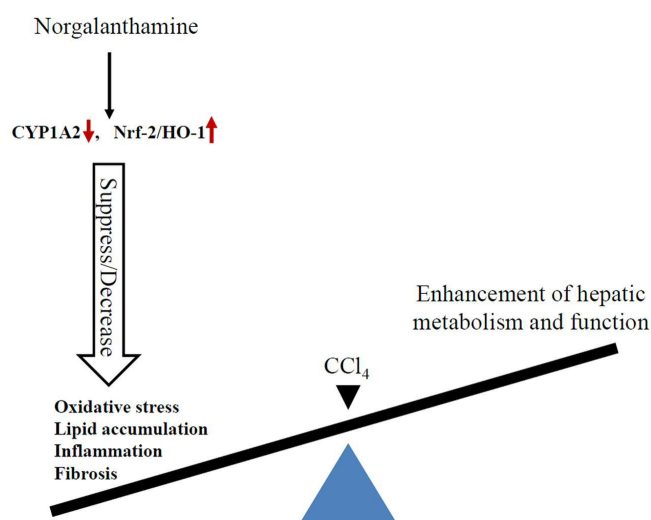
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 노르갈란타민을 포함하는 간 손상의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

노르갈란타민을 유효성분으로 포함하는 간 손상의 예방 및 치료와 간 기능 개선에 사용할 수 있는 조성물에 관한 것으로, 노르갈란타민은 손상된 간에서 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제, 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 및 총 빌리루빈 수준의 증가와 혈청 포도당 수준의 감소를 현저하게 역전시키고, 항산화 효소의 활성은 회복시키며, 지질 축적 및 지질 합성에 관여하는 유전자의 발현은 감소시키며, 염증 및 섬유증을 개선하므로 간 손상 예방 또는 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도13



(52) CPC특허분류

A61P 1/16 (2018.01)

A61P 3/04 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

A23V 2200/332 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

(72) 발명자

고명순

충청북도 충주시 대소원면 첨단산업2로 41, 108동
204호

신태균

제주특별자치도 제주시 금월길 46-5, 107동 302호
(아라이동, 프로빌 F 단지연립주택)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1545021363

과제번호 316006055HD040

부처명 농림축산식품부

과제관리(전문)기관명 농림식품기술기획평가원

연구사업명 농생명산업기술개발(R&D)

연구과제명 지방간 모델에서 흑무 및 유색무 조추출물의 간기능 개선 기능성 평가

기 여 율 1/1

과제수행기관명 제주대학교 산학협력단

연구기간 2020.01.01 ~ 2021.06.30

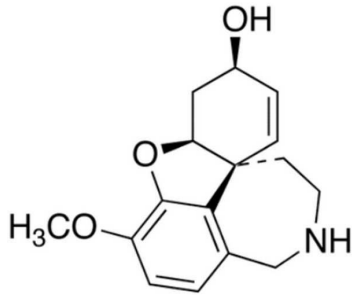
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I로 표시되는 노르갈란타민 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 간 손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[화학식 I]



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 간 손상은 간염바이러스, 스트레스, 알코올, 약물, 화합물 또는 과도한 지방 섭취로 유발되는, 간 손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물은 빌리루빈, 알라닌 아미노전이효소 및 아스파르테이트 아미노전이효소로 이루어진 군에서 선택되는 간세포 손상 인자를 감소시키는 것인, 간 손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

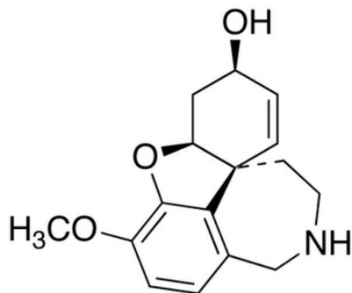
청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 간세포 또는 간 조직의 섬유화, 지방 축적 또는 염증을 억제하는 것인, 간 손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

하기 화학식 I로 표시되는 노르갈란타민 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 간 손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

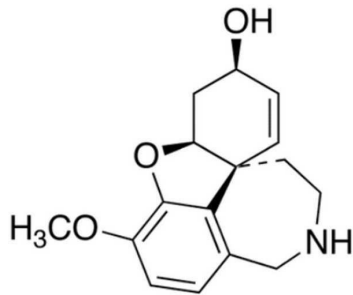
[화학식 I]



청구항 6

하기 화학식 I로 표시되는 노르갈란타민 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물.

[화학식 I]



청구항 7

제6항에 있어서, 상기 조성물은 PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ), aP2 (adipocyte protein-2) 및 SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein-1c)로 이루어진 군에서 선택되는 유전자의 발현을 억제하는 것인, 항비만용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 노르갈란타민을 유효성분으로 포함하는 간 손상의 예방 및 치료와 간 기능 개선에 사용할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 간은 섭취한 음식물들을 여러 조직에서 필요한 영양소의 형태로 적절하게 변화시키고, 조직에서 이용하고 남은 노폐물들을 처리하는 신체의 대사과정을 담당하는 인체의 중요한 장기 중의 하나이다. 구체적으로는 소화액인 담즙을 분비하고, 단백질과 탄수화물, 지방을 대사시키며, 글리코겐과 지용성 비타민 등을 저장하고, 혈액응고 인자를 합성하며, 혈액에서 노폐물과 독성물질을 제거하고, 혈액량을 조절하며 노쇠한 적혈구를 파괴하는 등의 기능을 수행한다.

[0004] 정신적 스트레스, 지방성분이 포함된 음식 또는 알코올의 과다 섭취, 바이러스의 감염, 약물이나 흡연, 공해물질 등의 유해물질에의 노출, 영양부족 등 다양한 요소가 간 손상을 유발할 수 있다. 그러나 간은 완충능력이 큰 기관이므로 손상의 초기단계에는 증상이 나타나지 않고, 통증을 느끼는 신경이 적기 때문에 간 손상이 간경화와 같은 질환으로 상당히 악화되어서야 발견되는 것이 일반적이다. 간경화나 간암은 각종 간질환이 만성적으로 진행되는 경우 공통적으로 이르는 마지막 단계로, 간은 초기의 건강관리가 매우 중요한 기관이다.

[0005] 이에 안전하게 사용할 수 있는 천연물질을 이용한 간 손상 치료용 조성물을 제공하려는 연구들이 진행되어 왔으며, 일 예로 특허문헌 1에는 인삼잎 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 개시되어 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 등록특허 제10-2204912호

발명의 내용

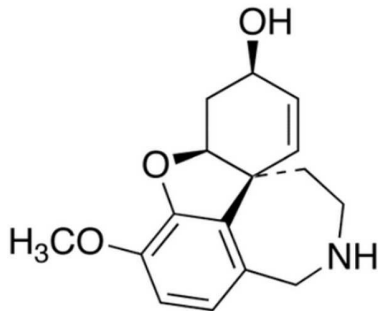
해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 간 손상의 예방 또는 치료 효과가 우수한 약학적 조성물, 지방 축적 억제 효과가 우수한 항비만 조성물을 제공하는 것으로 본 발명자들은 간 손상에 유용한 물질을 발굴하기 위해 연구한 결과, 노르갈란타민이 손상된 간에서 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제, 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 및 총 빌리루빈 수준의 증가와 혈청 포도당 수준의 감소를 현저하게 역전시키고, 항산화 효소의 활성은 회복시키며, 지질 축적 및 지질 합성에 관여하는 유전자의 발현은 감소시키며, 염증 및 섬유증을 개선하는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 양상은 하기 화학식 I로 표시되는 노르갈란타민 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 간 손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0011] [화학식 I]



[0012]

[0013] 본 발명에서, 상기 화학식 1의 화합물은 화학식 1로 표시되는 노르갈란타민, 이의 약학적으로 허용 가능한 염뿐만 아니라 이의 수화물, 용매화물 및 입체 이성질체를 포함한다.

[0014] 상기 노르갈란타민은 N-데스메틸 갈란타민(N-Desmethyl Galanthamine)으로도 불리우며, 문주란 추출물에서 분리되어 탈모 방지 및 모발 성장 촉진 효과를 갖는 것으로 알려져 있으나 간 보호 효과에 대해서는 아직까지 알려진 바 없다.

[0015] 본 명세서에 사용된 용어, "간 손상"은 간세포 또는 간 조직이 간염바이러스, 스트레스, 알코올, 약물, 화합물 또는 과도한 지방 섭취 등을 원인으로 정상적인 기능을 수행하지 못하는 상태를 말하며, 지방간, 간염, 간섬유화, 및 간경화와 같은 간 질환이 발생한 상태를 포함한다.

[0016] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 노르갈란타민은 사염화탄소(CCl₄)로 유도한 간 손상 모델에서 빌리루빈(bilirubin), 알라닌 아미노전이효소(alanine aminotransferase, ALT) 및 아스파르테이트 아미노전이효소(aspartate aminotransferase, AST)로 이루어진 군에서 선택되는 간세포 손상 인자를 감소시킬 수 있다 (도 2).

[0017] 상기 인자 중에서 ALT와 AST는 간 내에 각각 혈청의 7천배 및 3천배 많이 존재하는데 간 손상이 발생하면 혈청 내로 흘러나오게 되며, 혈청 내 수준의 상승 정도에 따라 간 질환 여부를 판별하는 지표가 된다. 빌리루빈은 혈액소 대사의 산물로 간세포 내로 섭취되어 일련의 과정을 거친 후 담관으로 배설되는데 간 손상이 발생하면 혈청 빌리루빈이 증가하게 된다.

[0018] 또한, 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 노르갈란타민은 간세포 또는 간 조직의 섬유화, 지방 축적 또는 염증을 억제할 수 있다.

[0019] 구체적으로 노르갈란타민은 CCl₄ 투여로 증가한 혈액 내 포도당 농도를 감소시키고(도 2의 D), 항산화 효소인 슈퍼옥사이드 디스무타제(SOD) 및 카탈라제(CAT) 활성은 회복시키며(도 6), 산화 스트레스 초래 유전자인 CYP1A2 및 CYP2E1 유전자의 발현을 억제하는 효과(도 5)가 있으므로 간 손상을 억제할 수 있다.

[0020] 또한, 노르갈란타민은 지질 축적 및 지방 합성에 관여하는 유전자 (PPAR- γ 및 aP2)의 발현을 억제하며(도 4 및 9), 전염증 매개체인 TNF- α , IL-1 β 및 MCP-1의 발현은 하향 조절하고(도 7) Nrf2/HO-1 경로는 상향 조절하므로(도 10) 염증을 개선할 수 있다. 추가적으로 노르갈란타민은 섬유증 관련 유전자 α SMA 및 피브로블라스트의 발

현을 하향 조절하여 간 조직의 콜라겐 침착을 감소시킬 수 있다 (도 11 및 12).

- [0021] 본 발명의 노르갈란타민은 조성물에 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 포함될 수 있다. 상기 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰 산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부탄-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만텔레이트를 포함할 수 있다.
- [0022] 또한, 상기 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 노르갈란타민을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴로 침전시켜서 제조할 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명의 노르갈란타민은 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염의 형태로 만들어 사용할 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻을 수 있다. 이때, 금속 염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명의 일 구체예에 의한 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다.
- [0025] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0026] 또한, 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.
- [0027] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 발명에서 용어 "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수해/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 간 손상의 정도, 간 손상의 원인, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 약학적 조성물은 1일 0.0001 내지 100mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 100mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

- [0029] 본 발명의 다른 양상은 상기 노르갈란타민 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 간 손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0030] 본 발명에서, 상기 화학식 1의 화합물은 화학식 1로 표시되는 노르갈란타민, 이의 약학적으로 허용 가능한 염뿐만 아니라 이의 수화물, 용매화물 및 입체 이성질체를 포함한다.
- [0031] 상기 기재한 바와 같이 노르갈란타민은 간 손상을 개선하는 용도가 뛰어나므로 간 손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- [0032] 본 발명에서, 상기 식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽, 음료 또는 환의 형태로 제공될 수 있으며, 유효성분인 노르갈란타민 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적절하게 결정될 수 있다.
- [0033] 상기 식품 조성물에 함유된 유효성분의 유효용량은 상기 약학 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.
- [0034] 상기 식품 조성물은 식품 제조시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 및 합성 향미제를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 유효성분 외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙 등을 추가로 포함시킬 수 있다.
- [0035] 한편, 본 발명자들은 손상된 간 조직 이외에 일반 지방세포에서 노르갈란타민이 지방 축적을 억제할 수 있는지 확인한 결과, 지방 축적 및 지질 합성 관련 유전자들의 발현이 효과적으로 억제되는 것을 확인하였다 (도 14 및 도 15).
- [0036] 따라서, 본 발명의 다른 양상은 노르갈란타민 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물을 제공한다.
- [0037] 본 명세서에 사용된 용어, “항비만”은 비만 증상을 개선하는 것으로, 상기 비만은 대사 장애로 인하여 체내에 지방세포가 증식 분화하고 이로 인하여 체지방이 과잉으로 축적된 상태를 의미한다.
- [0038] 본 명세서에 사용된 용어, “개선”은 상기 조성물을 이용하여 비만의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 의미하며, 상기 항비만 조성물은 지질 합성에 관여하는 PPAR- γ , aP2 및 SREBP-1c 유전자의 발현 억제 효과가 현저히 우수하다.
- [0039] 본 발명의 항비만용 조성물은 약학 조성물 및/또는 식품 조성물 형태로 사용될 수 있으며, 상기 간 손상의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이나 간 손상의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 기재한 바와 같이 추가 성분을 포함하거나, 특정 제형으로 개발될 수 있다.

발명의 효과

- [0041] 본 발명의 노르갈란타민은 손상된 간에서 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제, 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 및 총 빌리루빈 수준의 증가와 혈청 포도당 수준의 감소를 현저하게 역전시키고, 항산화 효소의 활성은 회복시키며, 지질 축적 및 지질 합성에 관여하는 유전자의 발현은 감소시키며, 염증 및 섬유증을 개선하므로 간 손상 예방 또는 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0043] 도 1은 본 발명의 일 예에 따라 마우스에 급성 및 만성 간 손상을 유도하는 방법과 노르갈란타민 투여 일정을

나타낸 것이다.

도 2는 노르갈란타민을 투여한 간 손상 마우스의 혈청에서 ALT (A), AST (B), T-bil (C) 및 포도당(D)의 수준을 확인한 것이다: Normal-정상 대조군; Vehicle-CCl₄만 투여한 간 손상 유도군; NG1-CCl₄+노르갈란타민 1 mg/kg 투여군; NG10-CCl₄+노르갈란타민 10 mg/kg 투여군; 및 Sily100-CCl₄+실리마린 100 mg/kg 투여군.

도 3은 간 손상 마우스의 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 손상 개선 정도를 조직 염색(A), 손상 등급 평가(B) 및 피사 면적(C)으로 확인한 것이다.

도 4는 간 손상 마우스의 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 지방 축적 변화를 오일 레드 O 염색으로 확인한 것이다.

도 5는 간 손상 마우스의 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 CYP1A2와 CYP2E1의 mRNA 발현 변화를 확인한 것이다.

도 6은 간 손상 마우스의 간 조직에서 노르갈란타민의 항산화 효과를 SOD(Superoxide Dismutase) 및 카탈라아제의 활성으로 확인한 것이다.

도 7은 노르갈란타민 투여에 의한 항염증 효과를 확인하기 위해 간 손상 마우스의 간 조직에서 TNF- α , IL-1 β 및 MCP-1의 mRNA 수준을 확인한 것이다.

도 8은 간 손상 마우스의 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 쿠퍼 세포 활성화 및 염증세포 침윤 변화를 확인한 것이다.

도 9는 손상된 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 PPAR- γ (proliferator-activated receptor- γ) 및 aP2(adipocyte fatty acid-binding protein-2) 유전자의 발현 변화를 확인한 것이다.

도 10은 손상된 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 Nrf-2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2)의 핵 전좌 변화(A) 및 HO-1(heme oxygenase 1)의 발현 변화(B)를 확인한 것이다.

도 11은 만성 간 손상 마우스의 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 간 보호 효과를 확인한 것이다.

도 12는 만성 간 손상 마우스의 간 조직에서 노르갈란타민 투여에 의한 α SMA (α -smooth muscle actin) 및 피브로넥틴 mRNA의 발현 변화를 확인한 것이다.

도 13은 노르갈란타민의 간 손상 보호 및 지방 축적 억제 예상 기작을 개략적으로 도시한 것이다.

도 14는 지방세포에 MDI (IBMX, dexamethasone, insulin)와 노르갈란타민을 같이 처리한 후 지방 축적 정도를 오일 레드 O 염색으로 확인한 것이다.

도 15는 지방세포에 MDI (IBMX, dexamethasone, insulin)와 노르갈란타민을 같이 처리한 후 지질 합성 유전자인 PPAR- γ , aP2 및 SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein-1c) 유전자의 발현 변화를 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0046] 실험 방법

[0047] 1. 화합물 및 시약

[0048] 노르갈란타민 (norgalanthamine; D292035)은 Toronto Research Chemicals (캐나다)에서 구입하였고, 양성 대조군으로 사용한 실리마린 (silymarin)은 Sigma-Aldrich (미국)에서 구입하였다. 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 (superoxide dismutase, SOD) 및 카탈라제 (CAT) 활성 측정용 비색 분석 키트는 Abcam (영국)에서 구입하였다. Nrf-2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2) 및 HO-1(heme oxygenase 1)을 표적하는 폴리클로날 항체는 Cell Signaling Technology (미국), Iba-1 (ionized calcium binding adapter molecule 1)은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (일본)에서 구입하였다. ABC Elite 키트 및 DAB (diaminobenzidine) 기질은 Vector Laboratories (미국)에서 구입하였다.

[0050] **2. 실험동물**

[0051] 모든 실험에는 무게 20 내지 22 g, 6주령의 수컷 C57BL/6 마우스 (DBL, 대한민국)를 사용하였다. 마우스는 12 시간의 명암 주기, 25-28℃ 온도에서 표준 사료를 공급하고, 물을 자유롭게 제공하여 사육하였다.

[0053] **3. 실험 설계**

[0054] 급성 모델은 마우스를 6마리씩 5개 그룹으로 무작위로 나누어 노르갈란타민 처리 CCl₄-손상 그룹에 연속 7일 동안 노르갈란타민 (각각 1 또는 10 mg/ml (NG1 및 NG10), 인산염 완충 식염수(PBS) pH 7.4)에 희석하여 경구 투여하였다. 급성 및 만성 모델 모두에서, 비히클 대조군으로는 PBS, 양성 대조군으로는 실리마린을 사용하였고 (100 mg/kg; (Ni and Wang, 2016)), 둘 다 동일한 프로토콜에 따라 관리하였다. 간 손상은 마우스의 복강 내에 CCl₄ 및 멸균 올리브 오일의 1:1(v/v) 혼합물(i.p., 1.5 ml/kg)을 주사하여 유발하였다. CCl₄는 노르갈란타민의 마지막 투여 후 24시간에 한 번 투여하였다.

[0055] 만성 모델에서 마우스는 각각 6마리씩 4개 그룹으로 무작위로 나누었다. 비히클 대조군에는 PBS (pH 7.4)를 투여하고, 노르갈란타민 처리 CCl₄-손상 그룹에는 연속 14일 동안 노르갈란타민 (10 mg/ml (NG10), PBS에 희석, pH 7.4)을 경구 투여하였다. 간 손상은 마우스의 복강 내에 CCl₄ 및 멸균 올리브 오일의 1:1(v/v) 혼합물 (i.p., 1.5 ml/kg)을 주사하여 유발하였다. CCl₄는 14일 동안 72시간마다 주사하였다 (도 1).

[0057] **4. 샘플 수집 및 혈액 분석**

[0058] 마우스는 최종 처치 후 금식시키고, 급성 모델에서는 CCl₄ 손상 유도 또는 만성 모델에서는 CCl₄ 마지막 용량을 투여한 24시간 뒤에 희생시켰다. 이소플루란 흡입(하나 팜(주), 서울)으로 마우스를 마취한 후 하대 정맥에서 채혈하고, 조직 병리학, 유전자 발현 및 면역화학 연구를 위해 간을 절개하였다 (도 1). 간 조각은 조직 병리학을 위해 10% 중성 완충 포르말린에 고정하거나, RNA 추출을 위해 즉시 냉동 보관하였다. 혈액 샘플은 4℃에서 10분 동안 13,000 rpm으로 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT), 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST), 총 빌리루빈 (T-bil) 및 포도당의 혈청 수준은 제조업체의 지침에 따라 Beckman Coulter AU680 분석기 (Beckman Coulter, 일본)로 측정하였다.

[0060] **5. 간 손상의 조직병리학적 검사**

[0061] 파라핀에 포매한 간 절편(4 μm)에서 파라핀을 제거하고, 광학 현미경 검사를 위해 헤마토실린 및 에오신(H&E)으로 염색하였다. 급성 간 손상 후 괴사의 정도는 간 실질(liver parenchyma)에서 괴사성 병변의 정도에 따라 손상 점수를 사용하여 평가하였으며 (표 1), 각 샘플은 각 실험군을 모르는 3명의 병리학자에 의해 독립적으로 채점되었다. 채점 체계는 다음과 같다: 등급 0, 병리학적 변화 없음; 등급 1, 드문 괴사 병소를 갖는 퇴행성 간 세포; 등급 2, 중앙 정맥 주변에 작고 경미한 중심엽 괴사 있음; 등급 3, 등급 2보다 더 심한 경미한 중심엽 괴사; 등급 4, 등급 3보다 더 심한 중심엽 괴사 (Dai et al., 2018; Li et al., 2013).

[0062] 괴사 부위는 톨루이딘 블루로 염색한 파라핀 포매 단면에서 평가하고, 중성 트리글리세리드와 지질을 검출하는 오일 레드 O로 염색한 고정 냉동 색전에서 지방 변화의 심각도를 평가했다. 피크로시리우스 레드 (Picrosirius red; Polysciences, 미국) 염색은 원섬유 콜라겐(fibrillary collagen)에 사용되었다. 지질 (간 단면의 전체 면적에 대한 백분율로 붉은색으로 염색된 면적), 괴사 (간 단면의 전체 면적에 대한 백분율로 밝은 파란색으로 염색된 면적) 면적 및 콜라겐 침착 (간 단면의 전체 면적에 대한 백분율로 붉은색으로 염색된 면적)의 비율은 Aperio eSlide Manager 소프트웨어 (Leica Biosystems, 미국)로 평가하였다.

[0064] **6. 항산화 효소 활성 분석**

[0065] 마우스의 간 조각은 사용하기 전까지 즉시 동결시켰다. 그 후 조직을 유봉 균질화기에서 균질화하고 SOD 및

CAT 활성을 상용 분석 키트(Abcam)로 제조사 프로토콜에 따라 측정하였다.

7. 웨스턴 블롯 분석

제조업체 (Thermo Scientific, 미국)에서 권장하는 대로 NE-PER® 핵 및 세포질 추출 시약으로 세포질 및 핵 분획을 분리하였다. 단백질을 (40 µg/샘플)을 10% (w/v) 나트륨 도데실 설페이트 또는 나트륨 라우릴 설페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (각각 SDS- 및 SLS-PAGE)으로 분리하여 니트로셀룰로스 막 (Schleicher 및 Schuell, 미국)으로 트랜스퍼하였다.

표적 단백질은 상응하는 1차 항체(표 2)와 2시간 동안 막을 반응시켜 면역검출하였다. 항체와 결합한 단백질은 화학발광 기질 (Miracle-Star; iNtRON Biotech, 대한민국)을 사용하여 검출하였다. 이후 단백질 블롯을 이미지 화하고 밴드의 밀도를 ImageJ 소프트웨어 (NIH, Bethesda, MD, USA)로 분석하였다. β-액틴은 내부 대조군으로 사용하였다.

각 밴드의 광학 밀도 (OD; mm² 당)를 측정하고 β-액틴 밴드에 대한 밀도 비율을 ImageJ로 결정하였다. 데이터는 평균±평균의 표준 오차(SEM)로 표시하였다.

8. 정량적 실시간 PCR

유전자 발현 수준은 마우스 간에서 추출한 mRNA에서 TRIzol® 시약 (Ambion, 미국), CellScript™ all-in-one 5x first-strand cDNA 및 cDNA Synthesis Master Mix (CellSafe, 대한민국)를 사용하여 분석하였다. 실시간 PCR은 Luna® Universal qPCR Master Mix (New England BioLabs, Ipswich, MA, USA)로 수행했다. mRNA 발현 수준은 내부 대조군으로 GAPDH를 사용하여 2-ΔΔCt 방법에 따라 계산하였다. PCR에 사용된 프라이머는 표 3에 기재하였다.

9. 면역조직화학

간 절편을 토끼 항-Iba-1 항체와 반응시키고, 퍼옥시다아제 반응은 DAB 키트 (Vector Laboratories, 미국)로 시각화시켰다. 간 절편 슬라이드는 헤마토실린으로 대조 염색한 다음 마운트하고, Iba-1 항체로 면역염색된 영역은 ImageJ를 사용하여 반-정량적으로 분석하였다 (그룹당 n=6). 각 간에서 5개의 다른 단면을 평가하고 양성 면적을 각 단면의 전체 면적에 대한 백분율로 계산하였다 (그룹당 n=5).

10. 간 하이드록시프롤린(hydroxyproline) 함량 측정

간 하이드록시프롤린 함량은 제조사의 프로토콜에 따라 hydroxyproline kit (Abcam)를 사용하여 순간 냉동 간 샘플에서 비색계로 정량화하였다. 실험 결과는 알려진 하이드록시 프롤린 농도의 표준 곡선과 비교하여 정량화하였고, 되었으며 mg 하이드록시 프롤린/mg 간으로 표시하였다.

11. 지방 축적 억제 효과

3T3-L1 지방 전구세포를 플레이트에서 배양한 후 MDI (IBMX, dexamethasone, insulin)를 처리하여 지방 축적을 유도하였다. 실험군에는 노르갈란타민을 각각 5, 10, 20 및 40 µg/ml 농도로 처리하고, 양성 대조군에는 실리마린을 각각 5, 10 및 20 µg/ml 농도로 처리하였다. 6일 동안 추가로 배양한 후 오일 레드 O로 세포를 염색하고, 지질 합성 관련 유전자들의 발현 변화를 확인하였다.

또한, 만성 간 손상 모델에 14일 동안 노르갈란타민 (0, 1 및 10 mg/kg) 또는 실리마린 (100 mg/kg)을 투여하고, 15일 차에 마우스를 희생시켰다.

12. 통계 분석

모든 결과는 평균±SEM으로 표시하였다. 통계적 유의성은 Bonferroni의 다중 비교 사후 테스트에 따른 일원 분

산 분석 결과를 기반으로 P 값 <0.05로 정의하였다.

[0089] 실험 결과

[0090] 1. 혈청에서 생화학적 파라미터 확인

[0091] ALT, AST 및 T-bil 효소의 혈청 수준을 측정하여 CCl₄ 유도성 간 손상에 대한 노르갈란타민의 보호 효능을 평가하였다 (도 2의 A 내지 C). 혈청 ALT, AST 및 T-bil 수준은 대조군(Normal)에서는 정상 범위 (각각 31.8±2.20, 42.2±2.29 및 0.17±0.00 U/L)인 반면, 간 손상 유도군(CCl₄만 투여; Vehicle)에서는 유의하게 높았다 (각각 6,088.0±697.47 U/L, p<0.001; 4134.0 ± 392.95, p<0.001; 및 0.27±0.02, p<0.001).

[0092] 그러나 노르갈란타민 투여군(1 mg/kg; NG 1)에서는 ALT가 4,176.0±441.97 U/L (p<0.05), AST는 2,952.0±358.07 U/L (p<0.05)로 나타나 두 효소의 수준이 크게 감소하였다. 또한, 노르갈란타민 투여군(10 mg/kg; NG 10)에서는 ALT는 3,588.00±281.13 U/L (p 0.01), AST가 2,236.00±158.83 U/L (p<0.001) 및 T-bil은 0.22±0.01 U/L (p<0.05)로 측정되어 간 손상 유도군(CCl₄만 투여; Vehicle)과 비교하여 상당한 용량 의존적 감소가 나타났다.

[0093] 실리마린 처리군(양성 대조군, 100 mg/kg; Sily 100)에서는, ALT가 3,588.00±225.73 U/L (p<0.01), AST는 1,840.00±185.66 U/L (p<0.001) 및 T-bil은 0.21±0.01 U/L (p<0.05)로 나타나 간 손상 유도군(CCl₄만 투여; Vehicle)과 비교하여 효소 수준이 유의하게 감소하였다.

[0094] 혈청 포도당 수치는 간 손상 유도군(CCl₄만 투여; Vehicle)에서는 32.80±3.53 U/L로 나타나 정상 대조군의 296.60±17.87 U/L (p<0.001)보다 유의하게 낮지만, 노르갈란타민 투여군(10 mg/kg; NG 10)에서는 104.40±6.95 U/L로 나타나 간 손상 유도군(CCl₄만 투여; Vehicle)보다 유의하게 높은 것으로 나타났다.

[0096] 2. 노르갈란타민의 간 손상 개선 효과

[0097] 조직 병리학적 연구 결과, CCl₄ 유도성 간 손상을 노르갈란타민이 개선하는 것을 확인하였다 (도 3). 정상 대조군(Normal Cont.)의 간은 잘 보존된 세포질, 두드러진 핵 및 중심 정맥을 가진 간세포를 포함하는 정상적인 조직 구조를 보여 주었다 (도 3의 A). 그러나 간 손상 유도군(Vehicle)의 간에서는 간 구조의 손실, 염증 세포 침윤 및 세포 부종과 함께 넓은 영역의 중심 주위 괴사가 관찰되었다 (도 3의 B). 간 병변은 실리마린 투여군(Sily100) (도 3의 E)보다 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)(도 3의 C 및 D)에서 더 개선된 것으로 나타났다.

[0098] 간 손상 등급은 H&E 염색을 기반으로 평가하였다. 조직학적 점수에 따르면, 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)은 간 손상 유도군(Vehicle)에 비해 급성 간 손상을 유의하게 억제하였다 (p<0.001). 실리마린 투여군(Sily100)에서도 노르갈란타민과 유사한 수준의 간 손상 억제 효과가 나타났다 (도 3의 F).

[0099] 중심 정맥 주변의 중심엽 괴사의 정도를 톨루이딘 블루 염색으로 평가한 결과, 간 손상 유도군(Vehicle)에서 증가한 괴사 영역이 노르갈란타민 투여군(NG10)과 실리마린 투여군(Sily100)에서 유의하게 감소하였다 (도 3의 G).

[0100] 또한, 마우스의 간 조직에서 지방 변화를 조사하였다 (도 4). 정상 대조군(Normal)에서는 오일 레드 O 염색에 의해 지질 방울이 검출되지 않은 반면 (도 4의 A), 간 손상 유도군(Vehicle)에서는 간 전체에 걸쳐 확산성 지방 변성이 나타났다 (도 4의 B). 대조적으로, 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)과 실리마린 투여군(Sily100)에서는 간의 지방 변화 정도가 상대적으로 감소하였다 (도 4의 C 내지 E). 오일-레드-O-양성 면적의 비율은 정상 대조군(Normal cont.)보다 간 손상 유도군(Vehicle)에서 유의하게 높았지만(p<0.001) 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10) (p <0.001)과 실리마린 투여군(Sily100) (p <0.001)에서 유의하게 감소하였다 (도 3의 F). 이러한 결과는 노르갈란타민 처리가 마우스 간에서 CCl₄ 유도성 조직 병리학적 변화를 완화할 수 있음을 의미한다.

[0102] 3. 손상된 간에서 노르갈란타민의 CYP1A2 및 CYP2E1 유전자 발현 조절

[0103] 간에서 CYP1A2와 CYP2E1의 mRNA 발현 수준은 qPCR로 분석하였다. CYP 2E1 mRNA 발현은 정상 대조군(Normal)에 비해 모든 투여군에서 유의하게 감소 하였다 (간 손상 유도군(Vehicle) 및 NG10, $p<0.01$; NG 1 및 실리마린 투여군(Sily100), $p<0.05$). 그러나 모든 실험군에서 발현 수준은 변화가 없었다 (도 5의 A).

[0104] 반면, CYP1A2 mRNA 발현은 정상 대조군에 비해 간 손상 유도군 (Vehicle)에서 유의하게 감소하였고, NG10 ($p<0.05$) 및 실리마린 투여군(Sily100) ($p<0.001$)에서 유의하게 증가하였다 (도 5의 B).

[0106] 4. 손상된 간에서 노르갈란타민의 항산화 효과

[0107] 간 손상에 대한 노르갈란타민의 항산화 효과를 SOD 및 CAT의 활성을 측정하여 확인하였다. 정상 대조군(Normal)에 비해 간 손상 유도군(Vehicle)에서는 SOD 및 CAT 활성이 크게 감소하였다 (각각 80.37 ± 5.24 및 0.46 ± 0.04 U/L; 모두 $p<0.05$). 그러나 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)에서는 간 손상 유도군(Vehicle)에 비해 두 효소의 활성이 크게 향상되었으며, 특히 NG10에서는 SOD 활성이 현저히 높은 수준으로 상승하였다 (102.22 ± 2.26 U/L, $p<0.01$; 도 6의 A). CAT 활성 또한 NG1 및 NG10에서 유의미하게 상승하였다 (각각 0.62 ± 0.03 , $p<0.01$; 0.98 ± 0.21 , $p<0.05$, 도 6의B). 이러한 결과는 노르갈란타민의 간 보호 효과가 항산화 활성에서 파생된다는 것을 의미한다.

[0109] 5. 손상된 간에서 노르갈란타민의 항염증 효과

[0110] 노르갈란타민의 항염증 효과를 확인하기 위해 마우스의 간에서 TNF- α , IL-1 β 및 MCP-1 mRNA 수준을 측정하였다 (도 7).

[0111] TNF- α 및 IL-1 β 의 mRNA 발현은 간 손상 유도군(Vehicle)에서 각각 3.41 ± 0.56 및 2.37 ± 0.27 U/L, 정상 대조군(Normal)에서는 각각 0.71 ± 0.26 및 1.42 ± 0.45 U/L로 나타나 간 손상 유도군(Vehicle)에서는 유의하게 증가하였고 ($p<0.01$), 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)에서는 각각 2.30 ± 0.27 및 1.47 ± 0.02 U/L로 나타나 유의하게 감소하였다 (모두 $p<0.05$; 도 7의 A 및 B).

[0112] 또한 염증성 케모카인인 MCP-1의 mRNA 수준은 간 손상 유도군(Vehicle)에서 정상 대조군(Normal)보다 유의하게 높았으며 (12.37 ± 1.00 vs. 1.31 ± 0.27 U/L, $p<0.01$), 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)에서는 간 손상 유도군(Vehicle)보다 현저히 낮았다 (각각 6.94 1.3 배 변화, 6.9 ± 0.77 배 변화, 모두 $p<0.01$; 도 7의 C).

[0113] 쿠퍼 세포(Kupffer cell)/대식세포는 간 손상 동안 활성화된다. 정상 대조군(Normal)에서는 Iba-1-양성 쿠퍼 세포가 굴모양혈관(sinusoid)을 따라 관찰되었지만(도 8의 A), 염증세포의 침윤은 관찰되지 않았다. 대조적으로, 간 손상 유도군(Vehicle)에서는 활성화된 쿠퍼 세포와 염증세포 침윤이 확인되었다 (도 8의 B). 그러나 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)에서는 Iba-1-양성 Kupffer 세포의 수가 감소하였다 (도 8의 D 및 E). 또한 Iba-1 양성 부위의 비율은 정상 대조군(Normal)과 비교하여 간 손상 유도군(Vehicle)에서 유의하게 높았지만 ($p<0.01$), NG10 ($p<0.01$)과 실리마린 투여군(Sily100) ($p<0.01$)에서는 감소하였다 (도 8의 F).

[0115] 6. 손상된 간에서 노르갈란타민의 지방 축적 억제 효과

[0116] 손상된 간 조직에서 지질 흡수 및 대사에 관여하는 PPAR- γ (proliferator-activated receptor- γ) 및 aP2(adipocyte fatty acid-binding protein-2) 유전자의 mRNA 수준을 분석하여 노르갈란타민의 지방 축적 억제 효과를 평가하였다 (도 9).

[0117] 그 결과, 간 손상 유도군(Vehicle)에서는 두 유전자의 발현 수준이 유의미하게 증가되는 반면($p<0.01$), 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)에서는 두 유전자 모두 발현이 상당히 감소하였다 ($p<0.05$).

[0119] 7. 손상된 간에서 노르갈란타민의 Nrf-2 및 HO-1 수준 향상 효과

[0120] Nrf-2 및 이의 하류 표적인 HO-1은 다른 항산화 효소 (예: SOD 및 글루타티온 과산화효소)와 함께 세포 보호 및 항산화 유전자의 발현을 조절하여 조직 보호에 중요한 역할을 한다. 간세포의 세포질 및 핵에서 Nrf-2 수준에 대한 노르갈란타민의 효과를 확인하기 위해 웨스턴 블롯팅을 수행하였다. 간 손상 유도군(Vehicle)과 비교하여

노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)에서는 Nrf-2의 세포질 수준과 단백질의 핵 전좌 정도가 크게 증가하였다 (도 10의 A). 이러한 결과와 일치하게 HO-1 단백질 수준은 간 손상 유도군(Vehicle)보다 NG10에서 유의하게 높았다 (도 10의 B).

8. 노르갈란타민의 만성 간 손상 보호 효과

간 절편을 피크로시리우스 레드로 염색한 결과, 정상 대조군의 주변세정맥 부위(perivenular region) 주변에서 콜라겐 섬유를 확인하였다 (도 11의 A). 그러나 간 손상 유도군(Vehicle)에서는 섬유증에 의한 콜라겐 조직 증식이 검출되었다 (도 11의 B). 간 손상 유도군(Vehicle)과 비교하여 노르갈란타민 투여군(NG1 및 NG10)과 실리마린 투여군(Sily100)에서는 간에서 콜라겐 조직의 증식 현저하게 감소하였다 (도 11의 C 및 D).

피크로시리우스 레드 양성 면적의 비율은 간 손상 유도군(Vehicle) ($3.77 \pm 0.27\%$, $p < 0.01$)에서 정상 대조군 ($1.60 \pm 0.14\%$)보다 유의하게 높았다. 간 손상 유도군(Vehicle)과 비교하여 노르갈란타민 투여군(NG10)에서는 비율이 현저히 낮았다 ($3.00 \pm 0.02\%$, $p < 0.05$) (도 11의 E).

간 조직의 하이드록시프롤린 수치는 정상 대조군 (33.87 ± 5.81 g)보다 간 손상 유도군(Vehicle) (189.26 ± 35.53 g, $p < 0.05$)에서 유의하게 증가하였으며, 노르갈란타민 투여군(NG10) (148.6 ± 24.94 g, $p < 0.05$)에서는 유의하게 낮았다 (도 11의 F).

CCl₄ 유도 만성 간 손상 마우스의 생화학적 혈청 및 조직 병리학적 파라미터의 변화는 CCl₄ 유도 급성 간 손상 마우스의 변화와 유사하였다 (데이터는 제시하지 않음). 또한, αSMA 및 피브로넥틴 mRNA는 간 손상 유도군(Vehicle)에서는 각각 5.24 ± 1.75 배 변화 및 1.48 ± 0.07 (모두 $p < 0.05$)로 나타나고, 노르갈란타민 투여군(NG10)에서는 각각 3.33 ± 1.76 배 변화 ($p < 0.01$) 및 1.03 ± 0.15 배 변화 ($p < 0.05$)로 나타나 노르갈란타민 투여군(NG10)에서 유의하게 감소하였다 (도 12).

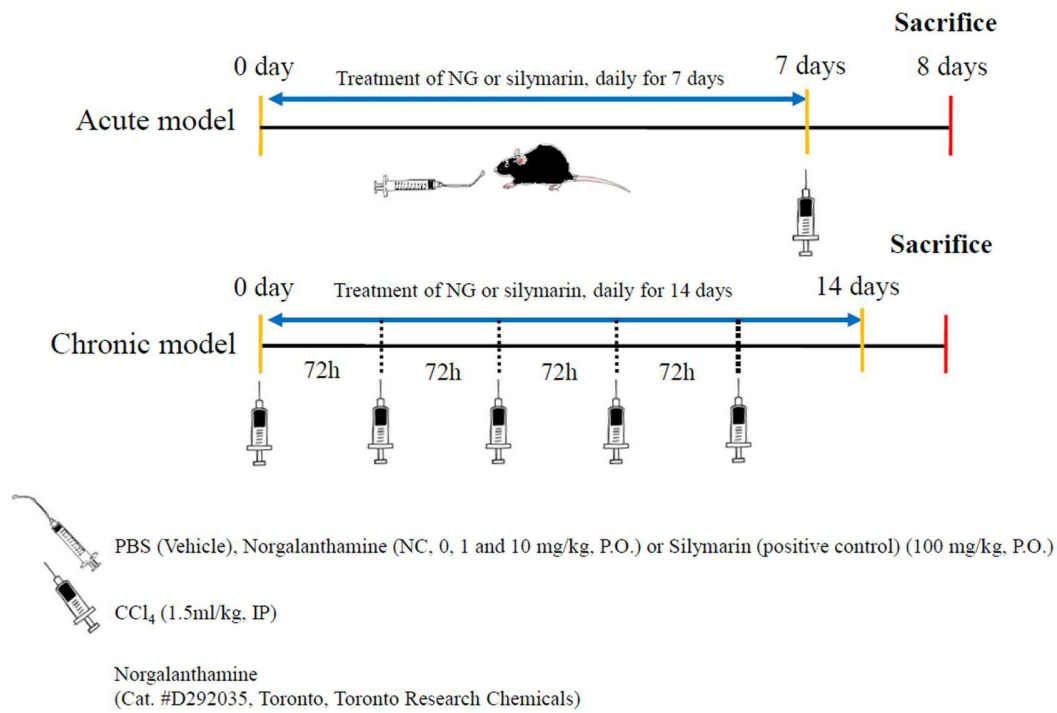
지금까지의 결과를 통하여 간 손상 마우스 모델에서 노르갈란타민은 산화 스트레스, 간 지질 축적, 항산화 분자의 활성화를 통해 염증을 억제하고, 지질 축적과 관련 있는 지방 생성 마커, 전염증성 매개체 및 섬유증 인자의 발현을 감소시키는 것을 확인하였다 (도 13). 이를 통해 노르갈란타민이 간 손상 보호 효과 및 지방 축적 억제 효과가 우수한 것을 알 수 있다.

9. 노르갈란타민의 지방 축적 억제 효과

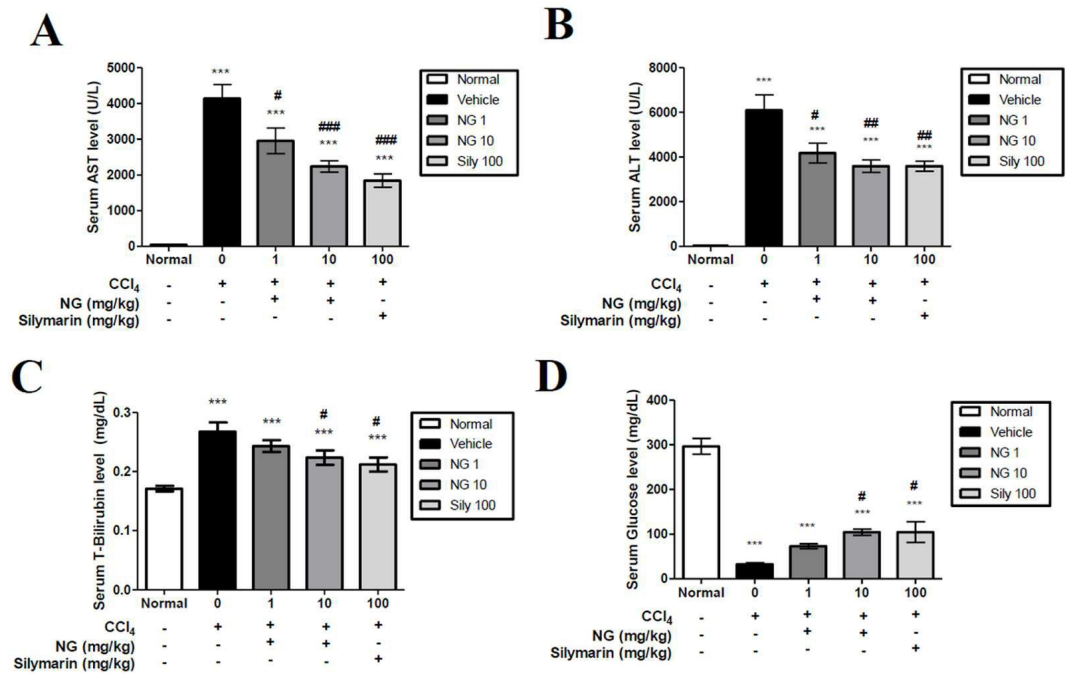
한편 손상된 간 조직 이외에 일반적인 지방세포에서 노르갈란타민이 지방 축적을 억제할 수 있는지 확인하였다. 그 결과, 노르갈란타민이 MDI에 의하여 유도된 지방 축적을 유의하게 억제하고 (도 14), 지방 합성에 관여하는 PPAR-γ, aP2 및 SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein-1c) 유전자의 발현을 현저하게 억제하는 것을 확인하였다 (도 15).

도면

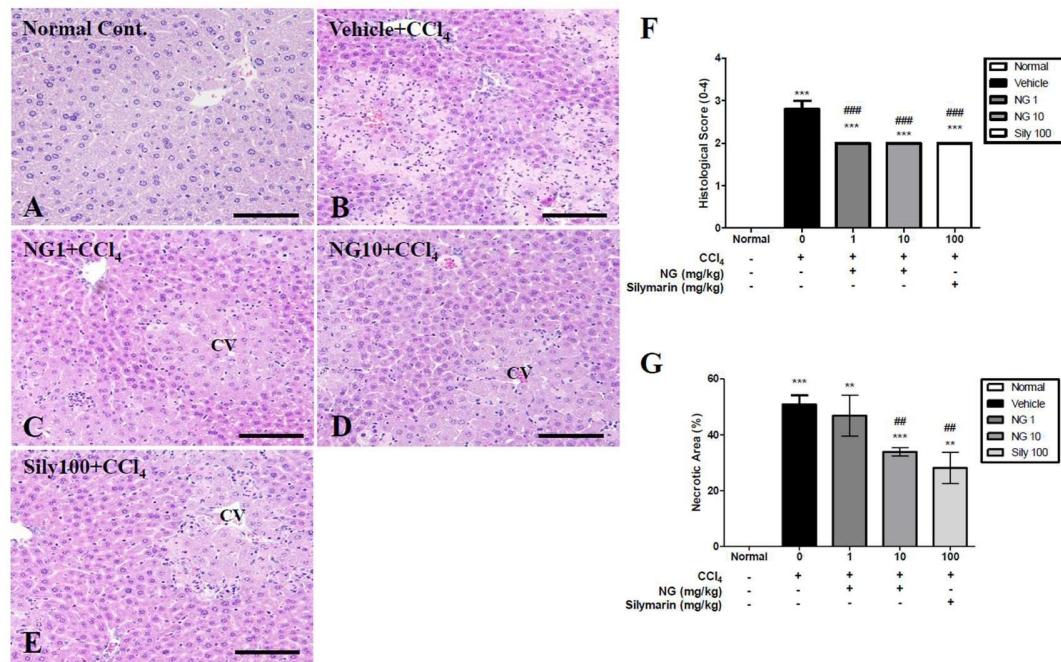
도면1



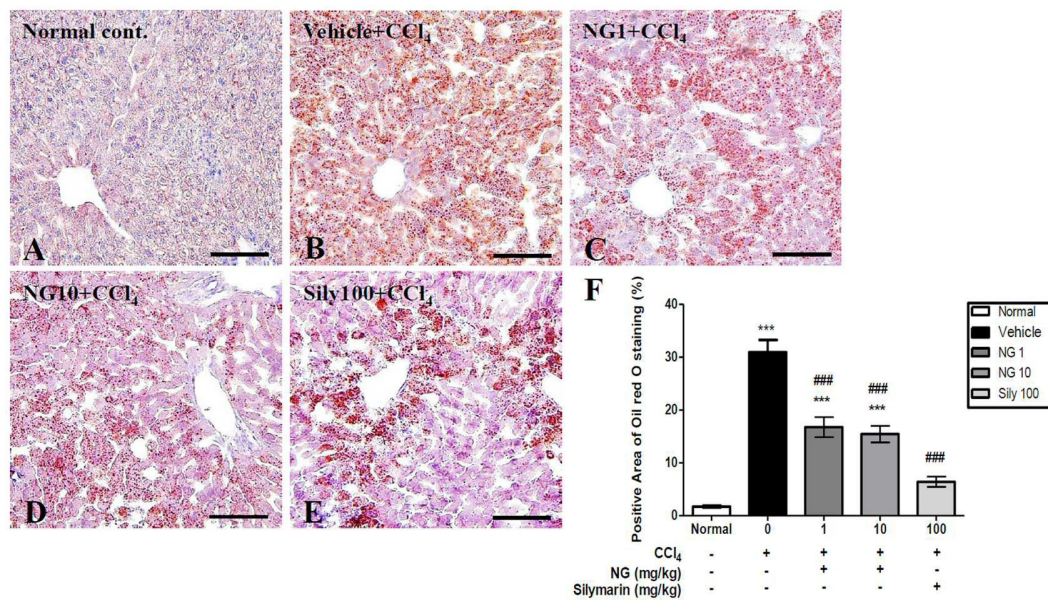
도면2



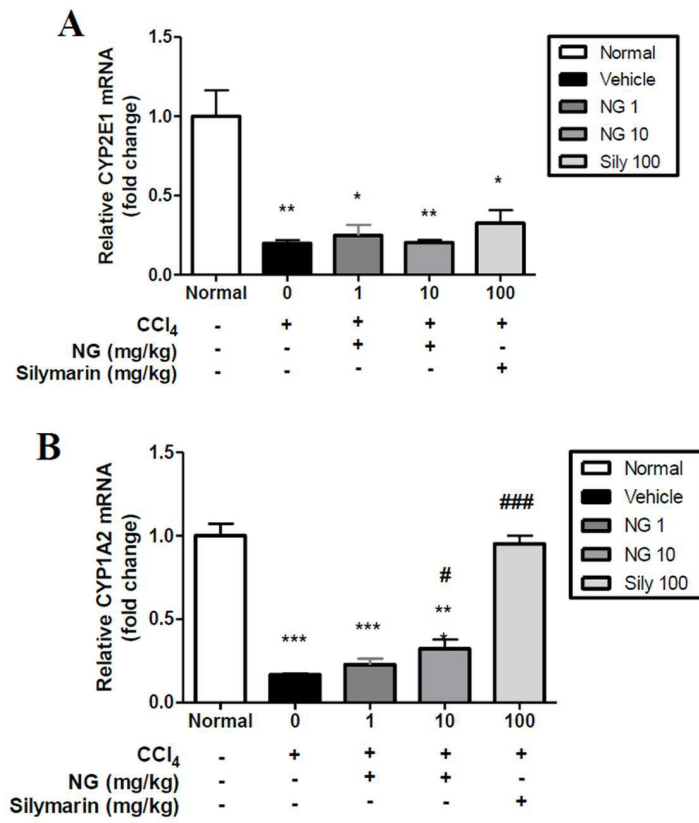
도면3



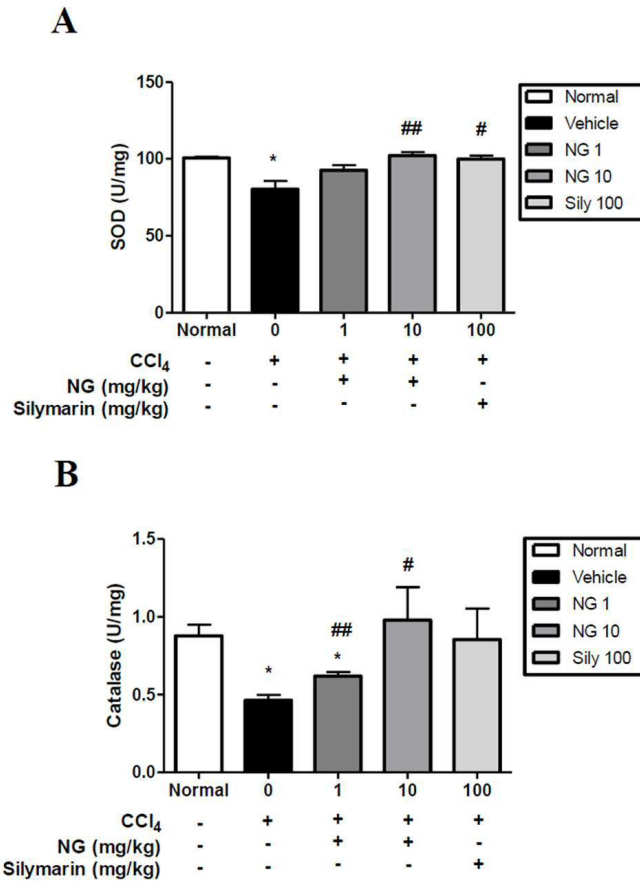
도면4



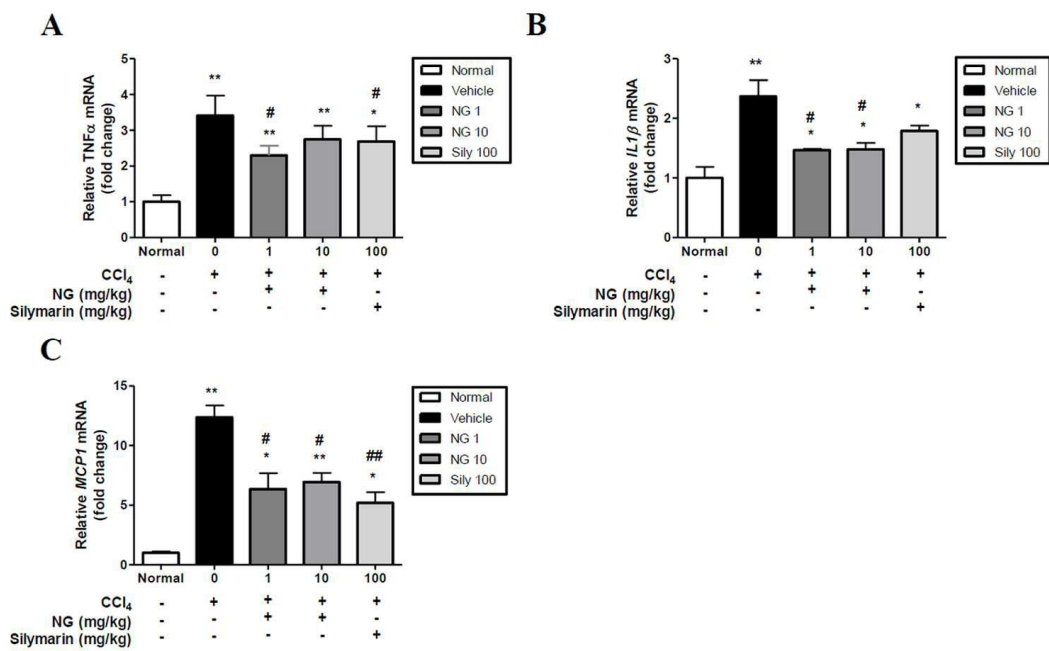
도면5



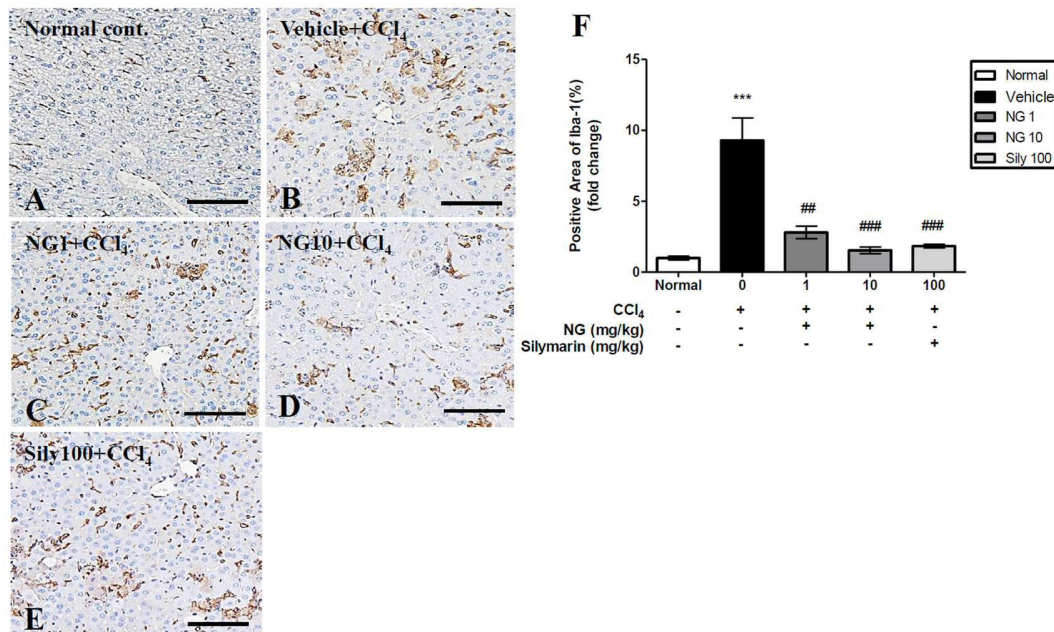
도면6



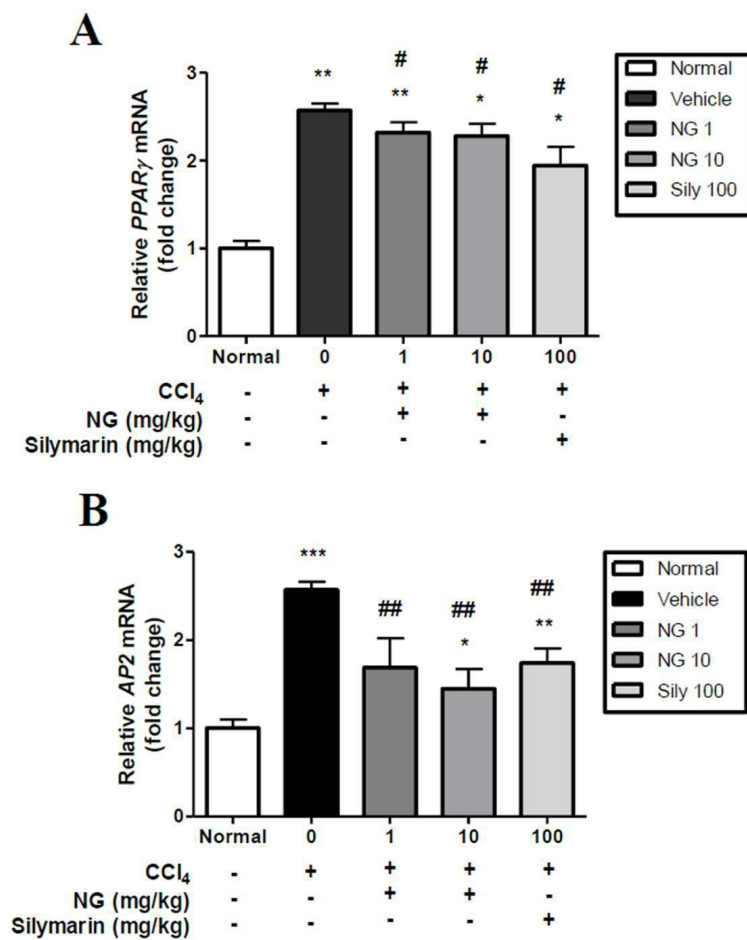
도면7



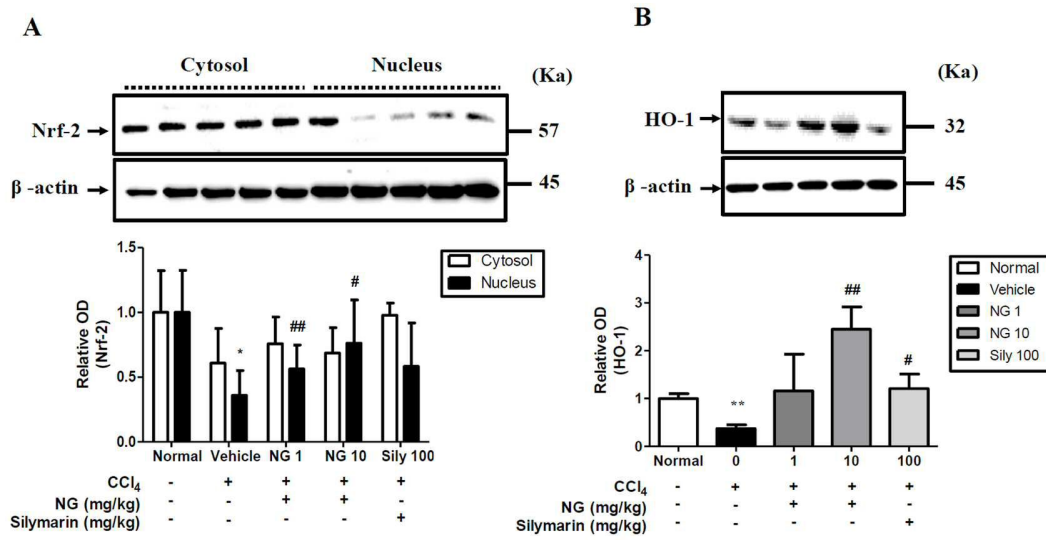
도면8



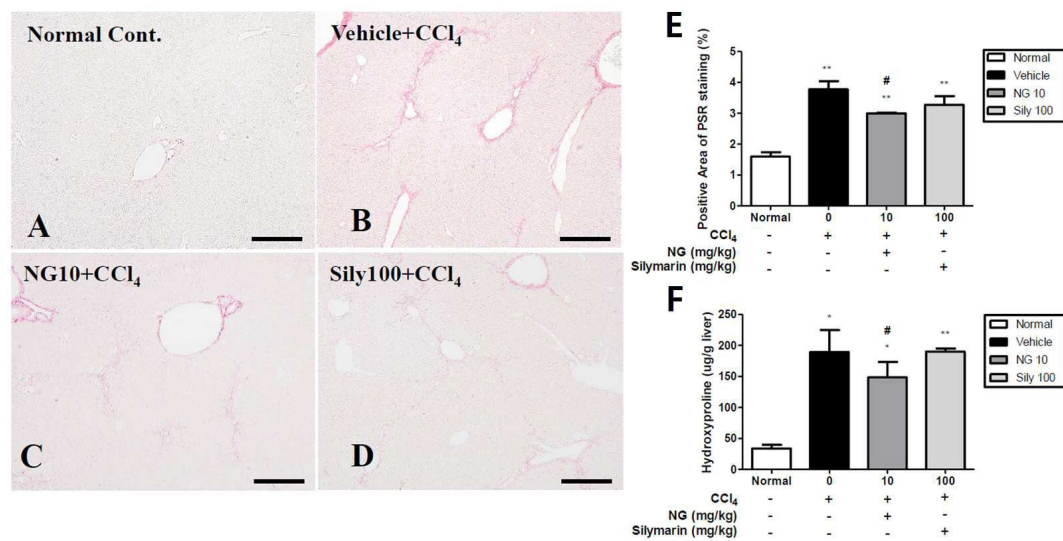
도면9



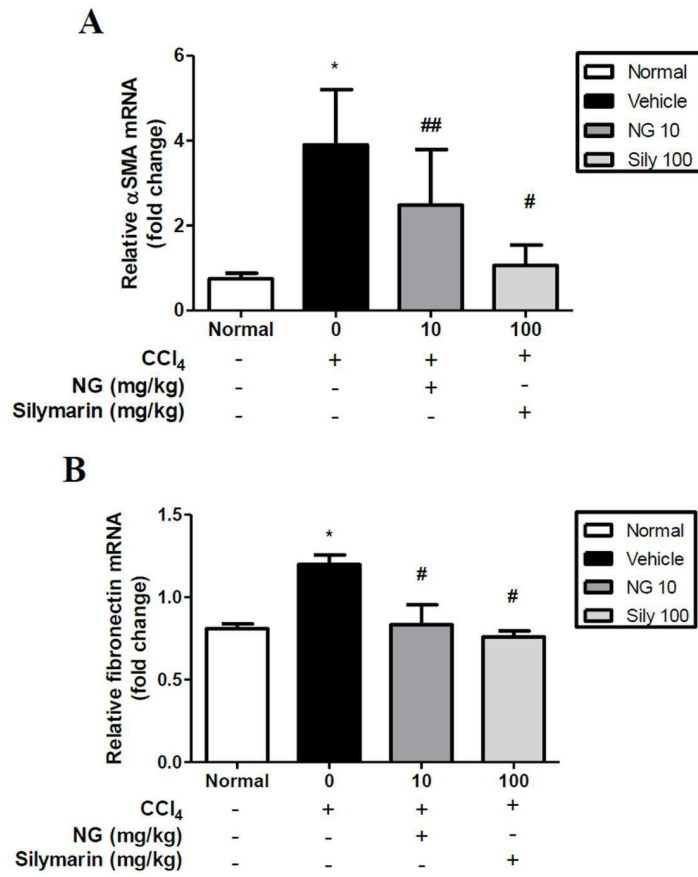
도면10



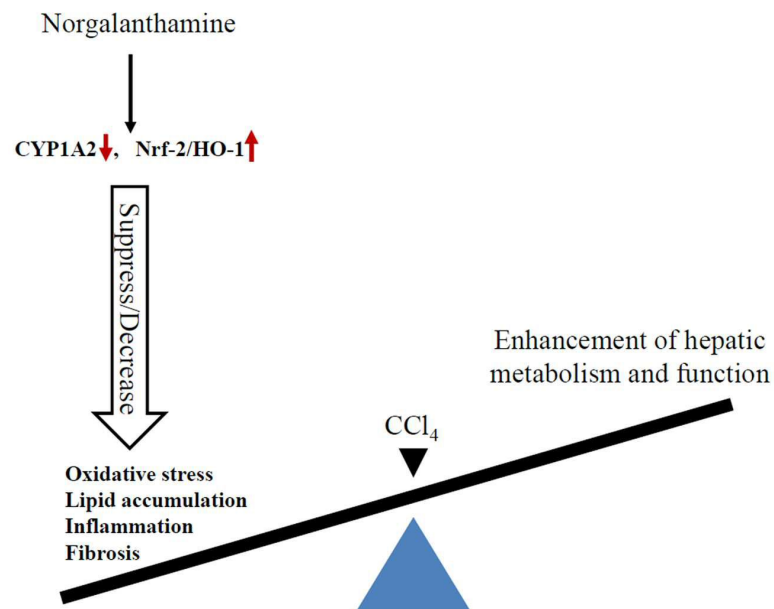
도면11



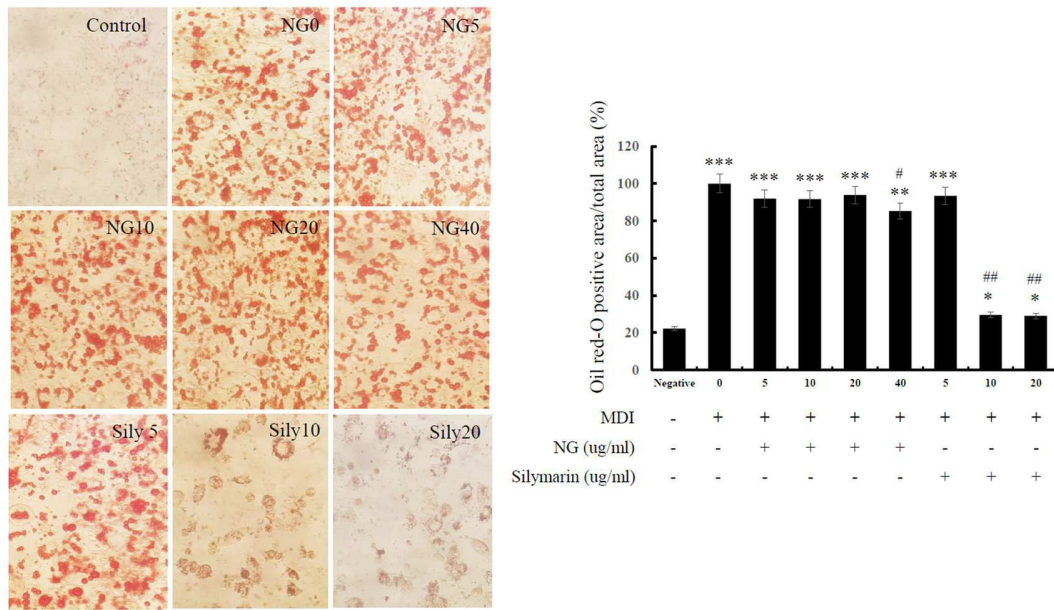
도면12



도면13



도면14



도면15

