



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0055700
(43) 공개일자 2023년04월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/122 (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)

A61P 9/00 (2006.01) *C12N 5/0775* (2010.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/122 (2013.01)

A23L 33/10 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2021-0139403

(22) 출원일자 2021년10월19일

심사청구일자 2022년06월22일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)

(72) 발명자

조광원

광주광역시 남구 서문대로 780, 111동 1302호(주월동, 제석산 호반 힐하임)

나가라잔 마하라잔

인도, 베르드나가 시바카시시티, 사파이어 스쿨 스트리트, 아이에나콜로니 3/377

(74) 대리인

특허법인리체

전체 청구항 수 : 총 7 항

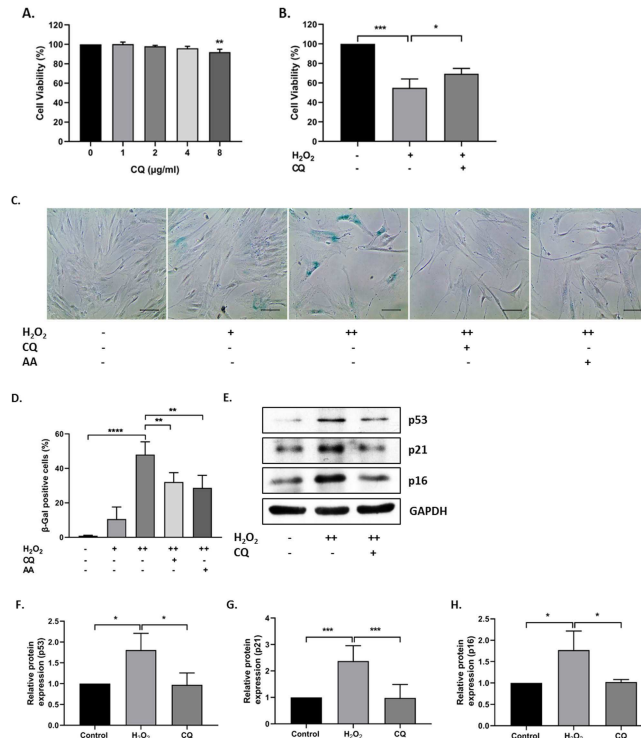
(54) 발명의 명칭 노화 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

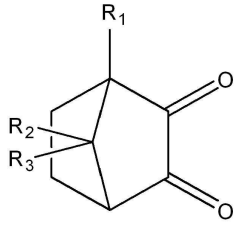
본 발명은 노화 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함함으로써 우수한 AMPK 및 자가포식 활성화 효과를 나타낼 수 있고 노화 방지에 도움을 줄 수 있다.

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



[화학식 1]



(화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

(52) CPC특허분류

A61P 9/00 (2018.01)

C12N 5/0663 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/302 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

C12N 2501/999 (2013.01)

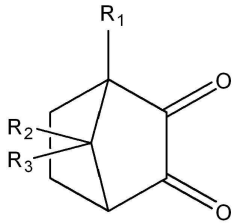
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 노화 관련 심장 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



(화학식 1 중 R_1 은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R_2 는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R_3 은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 노화 관련 심장 질환은 고혈압, 관상동맥질환, 심부전, 심방세동, 심장 섬유증 및 심장 허혈로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 약학 조성물.

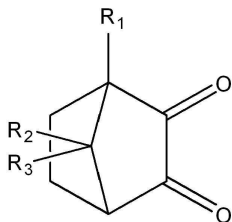
청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 R_1 은 C1의 알킬이고, R_2 는 C1의 알킬이고, R_3 은 C1의 알킬인, 약학 조성물.

청구항 4

하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 항노화용 식품 조성물:

[화학식 1]



(화학식 1 중 R_1 은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R_2 는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R_3 은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

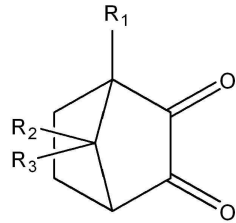
청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 조성물은 심장 항노화용인, 식품 조성물.

청구항 6

하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 생리학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 줄기세포 보존용 배지 조성물:

[화학식 1]



(화학식 1 중 R_1 은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R_2 는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R_3 은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 줄기세포는 인간 골수 유래 중간엽 줄기 세포인, 배지 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 노화 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 전 세계적인 고령화 현상의 지속으로 인해 2018년 이후 65세 이상 인구가 전체 14% 이상을 차지하는 고령 사회로 진입할 것으로 예측되고 있다. 노인 인구가 증가한다는 것은 만성 질환에 걸렸거나 생체 기능이 저하된 인구의 비율이 증가한다는 것을 의미하므로, 노인들의 건강한 삶의 질 욕구 및 건강을 개선하기 위한 의약품, 기능성 식품, 화장품 등의 항노화 산업의 발전이 예상된다.

[0004] 또한, 중년 인구의 경우, 더 나이가 들기 전에 노화와 관련된 각종 생체 지표를 개선하고, 좀 더 건강하고 젊은 상태로 살아가기를 희망하는 요구가 커지고 있다. 나아가, 경제·사회적 활동을 하는 성별 분포에 있어 여성의 비중이 점차 확대되고 있기 때문에, 여성용 항노화 소재 및 제품의 개발에 대한 요구가 매우 큰 실정이며, 그 중 과학적 효능이 명확히 검증된 제품에 대한 수요가 점차 커지고 있다.

[0005] 이와 같은 항노화에 대한 요구를 충족시키기 위해서는 노화된 조직 및 세포에서의 주된 특성을 파악하고 이를 개선하기 위한 방법을 모색해야 하는데, 노화된 조직 또는 장기를 이루고 있는 세포에서 나타나는 주된 특징으로, 자가포식(autophagy) 활성의 급격한 저하를 들 수 있다. 세포 내 자가포식 활성이 저하됨에 따라 세포 생존력 및 활동도가 급격히 떨어져 노화의 형태학적 양상을 나타나게 되어, 세포 노화, 신경 퇴행성 질환 또는 제2형 당뇨병과 같은 대사 질환 등으로 발전되게 된다.

[0006] 자가포식(autophagy)은 세포 내 에너지원이 고갈되거나 세포 내 스트레스 요인이 과도하게 발생했을 때 노후 혹은 손상된 세포 내 물질 및 기관을 분해함으로 에너지 재생산 및 손상 물질을 제거하는 기작을 말하며, 정상적인 세포의 유지를 가능하게 한다. 최근 다양한 연구를 통해 노화가 진행될수록 또는 노화를 가속화시킬수록 세포 내 자가포식 활성이 급격히 감소한다고 보고되고 있으며, 반대로 자가포식을 억제시킨 경우 세포 내에 노후 미토콘드리아나 잘못 접힌 단백질 등이 과도하게 축적되어 세포 내 자유 라디칼 및 산화 스트레스가 증가하여 결국에 세포의 사멸이 증가하고 노화가 촉진되는 결과를 야기하게 된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제1034624호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 노화 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 본 발명은 항노화 식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

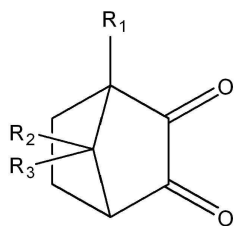
[0011] 본 발명은 항노화 화장품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0012] 본 발명은 줄기 세포 보존용 배지 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0014] 1. 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 노화 관련 심장 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[0015] [화학식 1]



[0016]

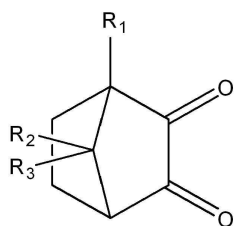
[0017] (화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

[0018] 2. 위 1에 있어서, 상기 노화 관련 심장 질환은 고혈압, 관상동맥질환, 심부전, 심방세동, 심장 섬유증(cardiac fibrosis) 및 심장 허혈(Cardiac ischemia)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 약학 조성물.

[0019] 3. 위 1에 있어서, 상기 R₁은 C1의 알킬이고, R₂는 C1의 알킬이고, R₃은 C1의 알킬인, 약학 조성물.

[0020] 4. 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 항노화용 식품 조성물:

[0021] [화학식 1]



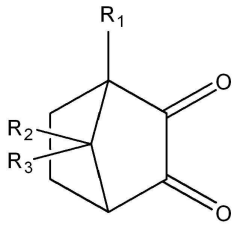
[0022]

[0023] (화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

[0024] 5. 위 4에 있어서, 상기 조성물은 심장 항노화용인, 식품 조성물.

[0025] 6. 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 생리학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 줄기세포 보존용 배지 조성물:

[0026] [화학식 1]



[0027]

[0028] (화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

[0029] 7. 위 6에 있어서, 상기 줄기세포는 인간 골수 유래 중간엽 줄기 세포인, 배지 조성물.

발명의 효과

[0031] 본 발명의 조성물은 AMPK(AMP-activated protein kinase)를 활성화시켜 자가포식(autophagy)을 유도하고 노화(예컨대 심장의 노화)를 방지할 수 있고, 궁극적으로 노화 관련 질환의 치료 또는 예방 효과를 나타낼 수 있다.

[0032] 본 발명의 조성물은 줄기세포의 AMPK(AMP-activated protein kinase)를 활성화시켜 자가포식(autophagy)을 유도하고, 노화를 억제하여 우수한 세포 보존 효과를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 일 실시예의 화합물의 H₂O₂ 유도 산화적 스트레스 하의 hBM-MSCs(human bone marrow mesenchymal stem cells)에 대한 보호 효과를 세포 생존율, 및 p53, p21, p16 등의 노화 관련 마커의 발현을 통해 확인한 결과이다(*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 and ****P < 0.0001).

도 2는 일 실시예의 화합물이 산화스트레스 유도 노인성 HBM-MSCs에서 자가포식(autophagy)을 활성화시키는 효과를 MPK, LC3, BECN1 및 SQSTM1 등의 자가포식 관련 마커의 발현을 통해 확인한 것이다(*P < 0.05, **P < 0.01, and ***P < 0.001).

도 3은 일 실시예의 화합물이 D-Gal 유도 노화 마우스에서 심장 조직의 노화를 개선하는 효과를 심장 조직에서 p53 및 p21 등의 노화 관련 마커의 발현을 통해 확인한 결과이다(모든 데이터 값은 평균 ± SD (n=3-4), *p < 0.05, **p < 0.01).

도 4는 일 실시예의 화합물이 D-Gal 유도 노화 마우스에서 심장 염증을 감소시키는 효과를 IL1α, IL1β, IL6 ALC RAGE 등의 염증성 마커의 발현을 통해 확인한 결과이다(모든 데이터 값은 평균 ± SD (n=3-4), *p < 0.05, **p < 0.01).

도 5는 일 실시예의 화합물이 D-Gal 유도 노화 마우스 심장 조직에서 AMPK를 활성화시키고, 자가포식을 개선하는 효과를 AMPK, LC3, BECN1 및 SQSTM1 등의 자가포식 관련 마커의 발현을 통해 확인한 결과이다

도 6은 일 실시예의 화합물이 SIRT1/AMPK 매개 자가포식을 활성화하여 산화 스트레스 유도 노화를 억제하는 메커니즘을 도식한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

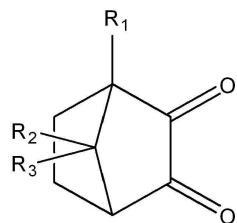
[0035] 이하, 본 발명을 설명한다.

[0037] 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 노화 관련 질환 예방 또는

치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0038] 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 노화 관련 심장 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다:

[0039] [화학식 1]



[0040]

[0041] (화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

[0042] 상기 화학식 1중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬일 수 있다. 상기 화학식 1중 R₁은 H 또는 C1 내지 C3의 알킬일 수 있다. 상기 화학식 1중 R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬일 수 있다. 상기 화학식 1중 R₂는 H 또는 C1 내지 C3의 알킬일 수 있다. 상기 화학식 1중 R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬일 수 있다. 상기 화학식 1중 R₃은 H 또는 C1 내지 C3의 알킬일 수 있다.

[0043] 상기 화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C3의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C3의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C3의 알킬일 수 있다.

[0044] 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1중 R₁은 C1의 알킬이고, R₂는 C1의 알킬이고, R₃은 C1의 알킬일 수 있다. 화학식 1에서 R₁은 C1의 알킬이고, R₂는 C1의 알킬이고, R₃은 C1의 알킬인 구조는 캄포퀴논이다.

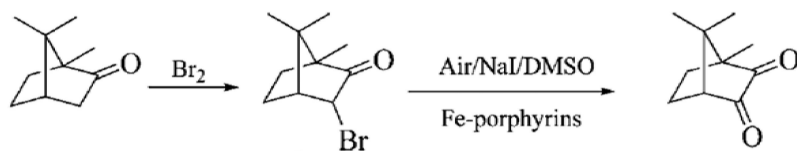
[0045] 즉, 본 발명은 캄포퀴논(Camphorquinone, CQ, 2,3-bornanedione) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 노화 관련 심장 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공할 수 있다.

[0046] 상기 화학식 1에서 R₁, R₂ 및 R₃가 각각 독립적으로 C1 내지 C6의 알킬인 화합물은 동일한 모체를 가지며 그 치환기도 유사하여, 구조적, 화학적으로 유사한 특성을 가져 작용효과가 유사할 것으로 충분히 예상 가능하다. 예컨대 R₁, R₂ 및 R₃가 C1의 알킬인 화합물의 노화 관련 심장 질환의 예방 또는 치료 효과로부터 R₁, R₂ 및 R₃가 C2 내지 C6인 화합물의 노화 관련 심장 질환의 예방 또는 치료 효과가 충분히 예상 가능한 범위이다.

[0047] 상기 화학식 1의 화합물은 천연으로부터 추출된 물질이거나, 화학적으로 합성된 것일 수 있다.

[0048] 캄포퀴논은 아래의 반응식 1과 같이 캄포(Camphor)로부터 합성된 것일 수 있다.

[0049] [반응식 1]



[0050]

[0051] 본 발명의 조성물은 세포 또는 줄기세포에서 SIRT1, AMPK 및 자가포식을 활성화시킬 수 있고, 산화 스트레스 유발 노화를 억제할 수 있다. 또한 본 발명은 심장 조직에서 항산화 효과를 나타낼 수 있고, 심장 염증을 감소시킬 수 있고, 심장 조직에서 줄기세포에서 SIRT1, AMPK 및 자가포식을 활성화시킬 수 있다. 이러한 효과들과 관련하여 본 발명의 조성물은 노화 관련 심장 질환의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.

[0052] 용어 "노화 관련 심장 질환"은 노화에 따른 심장 구조와 기능의 변화 및 혈관의 변화로 인해 나타날 수 있는 다양한 심장질환을 의미하며, 노인에게서 나타나는 심장질환일 수 있다.

[0053] 노화 관련 심장 질환은 고혈압, 관상동맥질환, 심부전, 심방세동, 심장 섬유증 및 심장 허혈로 이루어진 군에서

선택된 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0054] 용어 "약학적으로 허용 가능한"은 화합물 또는 조성물이 투여되는 개체, 세포, 조직 등에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물질들을 손상시키지 않는 특성을 나타내는 것을 의미한다.
- [0055] 용어 "약학적으로 허용 가능한 염"은 본 발명에 따른 특정 화합물과 비교적 무독성인 산 또는 염기를 이용해서 조제되는 염을 의미한다. 약학적으로 허용 가능한 염은 예를 들어 산 부가염 또는 금속염일 수 있다.
- [0056] 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 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 형성될 수 있다. 이러한 약학적으로 무독한 염은 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 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, 부틴-1,4-디오에이트, 핵산-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, 타르테이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함할 수 있다. 예를 들어, 산 부가염은 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 염을 수화성 유기 용매, 예컨대 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜 수득할 수 있다.
- [0057] 금속염은 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염일 수 있다. 금속염은 염기를 사용하여 제조할 수 있으며, 예를 들어, 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고 여액을 증발 및/또는 건조시켜 수득할 수 있다.
- [0058] 용어 "예방"은 전체 예방 뿐만 아니라 병태의 발병 또는 재발병의 가능성의 경미한, 실질적인 또는 큰 감소를 포함하여 예방될 병태 또는 재발생 또는 재발하는 병태의 발병 가능성의 임의의 정도의 감소를 초래하는 예방적 조치를 지칭하고, 가능성 감소의 정도는 적어도 경미한 감소이다.
- [0059] 용어 "치료"는 치유뿐만 아니라 경미한 완화, 실질적인 완화, 주요 완화를 포함하는 임의의 정도의 완화를 포함하여 치료될 병태를 앓고 있는 대상체 또는 환자에게 유리한 효과를 초래하는 처치를 지칭하고, 완화 정도는 적어도 경미한 완화이다.
- [0060] 본 발명의 약학적 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0061] 조성물에 함유될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로즈, 수크로스, 텍스트린, 말토텍스트린, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면 활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제되나, 이에 제한되지 않는다.
- [0062] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며 이에 제한되지는 않으나, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.
- [0063] 경구를 위한 액상 제제로는 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. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용액, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용액, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol),

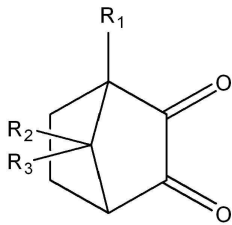
마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0064] 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 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. 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0065] 본 발명의 약학적 조성물에서 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 kg당 1 내지 6000 mg, 바람직하게는 60 내지 600 mg을 1회 또는 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0067] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 항노화용 식품 조성물을 제공한다:

[0068] [화학식 1]



[0069] (화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

[0071] 상기 화학식 1의 화합물에 대해서는 전술한 바 있어 구체적인 설명은 생략한다.

[0072] 상기 항노화용은 심장에 대한 항노화용일 수 있다.

[0073] 용어 "식품학적으로 허용 가능한"은 화합물 또는 조성물이 투여되는 개체, 세포, 조직 등에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는 특성을 나타내는 것을 의미한다.

[0074] 용어 "식품학적으로 허용 가능한 염"은 본 발명에 따른 특정 화합물과 비교적 무독성인 산 또는 염기를 이용해서 조제되는 염을 의미하며, 식품학적으로 허용 가능한 염은 예를 들어 산 부가염 또는 금속염일 수 있고, 산 부가염 및 금속염은 전술한 범위 내의 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0075] 식품 조성물은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다.

[0076] 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0077] 식품 첨가물 공전에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류 첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0078] 예를 들어, 정제 형태의 식품 조성물은 상기 조성물을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 식품 조성물은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다.

[0079] 캡슐 형태의 식품 조성물 중 경질 캡슐제는 통상의 경질 캡슐에 상기 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼

합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡슐제는 상기 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡슐기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡슐제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0080] 환 형태의 식품 조성물은 상기 조성물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.

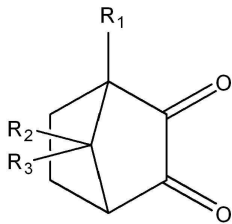
[0081] 과립 형태의 식품 조성물은 상기 조성물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0082] 식품 조성물은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.

[0083] 식품 조성물은 영양제의 용도로 경구 적용될 수 있으며, 적용 형태는 특별히 제한되지 않는다. 예를 들면 경구 투여되는 경우, 하루 섭취량은 5000mg 이하인 것이 바람직하고, 하루 섭취량이 2000mg 이하인 것이 보다 바람직하며, 하루 섭취량이 500 내지 1500mg, 또는 650mg인 것이 가장 바람직하다. 캡슐제 또는 정제로 제제화하는 경우, 1일 1회 1정을 물과 함께 투여할 수 있다.

[0085] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 AMPK, SIRT1 또는 자가포식 활성화용 조성물을 제공한다:

[0086] [화학식 1]



[0087]

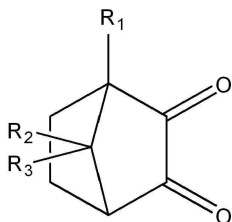
[0088] (화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

[0089] 하기 화학식 1의 화합물에 대해서는 전술한 바 있어 구체적인 설명은 생략한다.

[0090] 상기 조성물은 시험관내(in vitro)에서 AMPK, SIRT1 또는 자가포식 활성화용 조성물일 수 있다.

[0092] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 생리학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 줄기세포 보호용 조성물을 제공한다:

[0093] [화학식 1]



[0094]

[0095] (화학식 1 중 R₁은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₂는 H 또는 C1 내지 C6의 알킬이고, R₃은 H 또는 C1 내지 C6의 알킬임).

[0096] 하기 화학식 1의 화합물에 대해서는 전술한 바 있어 구체적인 설명은 생략한다.

[0097] 본 발명의 조성물은 항산화 활성이 있을 뿐만 아니라 AMPK(AMP-activated protein kinase) 활성화를 통한 자가

포식(autophagy) 유도 효과가 있어 우수한 줄기 세포 보호 또는 보존 효과가 있다.

[0098]

본 발명의 조성물은 줄기세포의 보존용 배지일 수 있다.

[0099]

줄기 세포는 예를 들면, 인간 골수 유래 중간엽 줄기 세포(human bone marrow mesenchymal stem cell)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 중간엽 줄기 세포는 골수와 체대혈에서 채취되는 성체 줄기 세포의 하나로 체내에 대략 100만개가 존재하는 것으로 알려졌으며, 섬유모세포의 모양(방추형 모양)을 띄고 있으며 부착되는 특징이 있고, 시험관에서는 무한정 증식이 가능하며 혈액 줄기 세포(hematopoietic stem cell)와 달리 골세포, 연골세포, 지방세포, 근육세포 및 섬유아세포 계통에 속하는 분화된 기질 세포가 될 수 있는 특징이 있다.

[0100]

줄기 세포 보호는 산화적 스트레스 또는 노화로부터 줄기 세포를 보호하는 것을 의미한다. 노화는 전술한 범위 내의 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 노화로부터 세포를 보호하는 것은 세포의 노화 관련 인자의 발현이 감소되는 것을 통해 확인할 수 있으며, 노화 관련 인자는 예를 들면, β -galactosidase, p16, p21, p53 등일 수 있다. 또한, 노화로부터 세포를 보호하는 것은 AMPK(AMP-activated protein kinase) 활성화를 통해 확인할 수 있다. AMPK 활성화에 의해 mTOR(mechanistic target of rapamycin)가 저해되고 mTOR 신호가 저해되면 자가포식(autophagy)이 활성화되므로, 노화로부터 세포를 보호하는 것은 자가포식 활성화를 통해서도 확인할 수 있다. AMPK 활성화는 AMPK 발현량에 대한 pAMPK 발현량의 비율(pAMPK/AMPK)이 증가하는 것을 통해 확인할 수 있고, 자가포식 활성화는 LC3II(microtubule-associated protein 2 light chain 3), BECN1(becnin 1) 발현량의 증가나 SQSTM1(sequestosome 1) 발현량의 감소를 통해 확인할 수 있다.

[0101]

용어 "생리학적으로 허용 가능한"은 화합물 또는 조성물이 투여되는 개체, 세포, 조직 등에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는 특성을 나타내는 것을 의미한다.

[0102]

용어 "생리학적으로 허용 가능한 염"은 본 발명에 따른 특정 화합물과 비교적 무독성인 산 또는 염기를 이용해서 조제되는 염을 의미하며, 화장품학적으로 허용 가능한 염은 예를 들어 산 부가염 또는 금속염일 수 있고, 산 부가염 및 금속염은 전술한 범위 내의 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0104]

이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.

[0106]

실험 재료 및 방법

[0107]

1. 화학물질 및 시약

[0108]

메틸티아졸릴디페닐-테트라졸륨 브로마이드(#M2128) MTT assay; 과산화수소(#H1009), 아스코르브산(Ascorbic acid, #A8960), 캄포퀴논(Camphorquinone, **CQ**, #124893; 순도 97%) 및 D-갈락토오스(D-Galactose, #G0750)는 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입하였다. SA- β -gal 염색 분석 키트(#9860)는 Cell Signaling Technology(Danvers, MA, USA)에서 구입했으며, 화합물 C는 Calbiochem(Darmstadt, Germany)에서 구입하였다. Radioimmunoprecipitation (RIPA) lysis buffer는 Santa Cruz Biotechnology(USA)에서 구입하였고, Pierce BCA protein assay kit는 Thermo Fisher Scientific(USA)에서 구입하였다. p16(#sc-1661), p21(#sc-397), 및 p53(#sc-6243)를 포함한 1차 항체, MAP LC3 α/β (#sc-398822), BECN1 (#sc-48341), SQSTM1 (#sc-48402), SIRT1 (#sc-74465), catalase (#sc-34285), 및 GAPDH (#sc-365062)는 Santa Cruz Biotechnology, INC. (TX, USA)에서 구입하였다. SOD1(#ADI-SOD-100)은 Enzo Life Sciences(Lausen, Switzerland)에서 입수하였다. AMPK α (#5832), p-AMPK(#2535) 및 SA- β -gal 분석 키트는 Cell Signaling Technology(Cell Signaling Technology, Massachusetts, USA)에서 구입하였다. 적절한 HRP 결합 2차 항체, 마우스 항토키키(#sc-2357) 및 마우스 항염소(#sc-2354) 항체는 Santa Cruz Biotechnology, Inc.(Dallas, TX, USA)에서 구입하였고, 말 항 -마우스(#7076) 항체는 Cell Signaling Technology(USA)에서 구입하였다. ECL Western blotting 검출 시약(RPN2209)은 GE Healthcare(Buckinghamshire, UK)에서 구입하였다.

[0110]

2. hBM-MSCs 세포 배양

[0111]

인간 골수 유래 중간엽 줄기 세포(hBM-MSCs, human bone marrow derived mesenchymal stem cells)는 서울 소재의 CEFO(Cell Engineering For Origin)에서 얻었다. 세포는 박테리아, 바이러스 및 마이코 플라스마 오염이 없었다. 세포는 유세포 분석법(flow cytometry analysis)에 의해 특성화되어 CD73⁺, CD105⁺ 및 CD31⁻ 표현형을 확

인하였다. 세포를 10% FBS (Gibco, Life Technologies, USA), L- 글루타민 및 1 % 페니실린/스트렙토 마이신 용액(Lonza, Walkersville, MD USA)이 보충된 배양 배지(Gibco, Life Technologies, USA의 DMEM)에서 성장시켰다. 세포는 5% CO₂-95 % 공기(air)와 함께 37℃의 가습 인큐베이터에서 멸균 조건 하에서 처리하였다. 세포를 명 시야 현미경(Nikon Eclipse TS100, Tokyo, Japan)으로 연속 모니터링하고 컨플루언스(confluence)에 도달하자마자 계대 배양하였다.

3. 세포 생존력 분석

MTT(메틸티아졸릴디페닐-테트라졸륨 브로마이드) 테스트를 사용하여 hBM-MSC에서 캠프키논의 세포 독성 및 보호 효과를 확인하였다. MTT 테스트는 제조업체의 지침에 따라 수행하였다. 세포 독성 효과를 확인하기 위해 hBM-MSC를 96웰 플레이트에서 웰당 8×10^3 세포의 밀도로 성장시켰다. 다음날, 세포를 다른 농도의 캠프키논(1-8 μ g/mL)으로 12시간 동안 처리한 후 MTT 용액으로 2시간 동안 배양하고 디메틸 설펍사이드(DMSO)를 사용하여 f 포르마잔 결정(formazan crystals)을 용해시켰다. 그후 분광광도계(Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 세포 생존율을 평가하였다. 캠프키논의 보호 효과를 위해 세포를 12시간 동안 1 μ g/mL(6.016 μ M)의 캠프키논으로 사전 처리한 다음, 다른 농도의 H₂O₂(0.7 μ M)로 1시간 동안 배양하였다. H₂O₂ 처리 후, 세포를 MTT 용액으로 2시간 동안 처리하고 세포 생존율을 평가하였다.

4. 산화스트레스 유발 노화

과산화수소(H₂O₂)를 사용하여 산화 스트레스 유발 세포 주기 정지 및 노화를 유도했다. 세포를 200 μ M의 H₂O₂에 2시간 동안 노출시키고 일반배지에서 2일 동안 배양하였다. 두 번째 H₂O₂ 처리를 위해 세포를 1:3으로 분할하고, 다시 세포를 200 μ M의 H₂O₂에 2시간 동안 노출시키고, 일반 배지(대조군) 또는 캠프키논(CQ)(1 μ g/ml) 또는 아스코르브산(500 μ M AA; 양성 대조군) 또는 Compound C(0.5 μ M; AMPK 억제제)와 함께 72시간 동안 배양하였다. 후술하는 바와 같이 SA- β -gal 분석 및 웨스턴 블롯을 사용해 세포 노화를 확인하였다.

5. 노화-관련 β -갈락토시다제(SA- β -gal, Senescence-associated β -galactosidase) 염색

SA- β -gal 양성 세포는 SA- β -gal 분석 키트(Cell Signaling Technology, USA)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 확인하였다. 간단히 말해서, 화합물로 72 시간 처리한 후, 세포를 1X PBS로 세척하고 실온에서 10-15분 동안 1X 고정제로 고정시켰다. SA- β -galactosidase 염색 용액(pH 6.0)을 플레이트에 첨가하고, CO₂ 없이 밤새도록 37℃의 건조 배양기에서 배양하였다. 다음 날, SA- β -Gal 양성 세포를 광학 현미경(Nikon Eclipse TS100; Tokyo, Japan)으로 관찰하고, Canon i-Solution IMTcam3 디지털 카메라(Tokyo, Japan)로 캡처하였다.

6. 면역블롯팅 분석

total protein은 페닐메틸설포닐 플루오라이드(PMSF), 소듐 오소바나 테이트(Na₃VO₄) 및 프로테아제 억제제 콕테일(Santa Cruz Biotechnology)을 포함하는 방사성 면역 침전(RIPA, radioimmunoprecipitation) 용해 완충 시스템으로 4℃에서 30분 동안 추출되었으며, 샘플을 20분 동안 16,000 xg에서 스핀 다운(spin down)하였다. 최소 total protein 농도는 Pierce BCA 단백질 분석 키트(Thermo Fisher Scientific)로 정량화하였다. 간략히 말해서, 30 내지 50 μ g의 단백질 샘플을 로딩하고 SDS-PAGE 겔 전기 영동으로 분리한 다음, PVDF membrane(GE Healthcare, Germany)에서 블롯팅하였다. 멤브레인은 1차 항체의 비특이적 결합을 방지하기 위해, 실온(RT)에서 1시간 30분 동안 1% 무지분유를 포함하는 TBST로 멤브레인을 차단하였다. 이어서, 멤브레인을 각각의 1차 항체와 함께 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 멤브레인을 TBST로 세척하고 홀스래디쉬 퍼옥시다제와 결합된 2차 항체를 첨가한 다음 enhanced chemiluminescence detection kit (GE Healthcare)로 시각화하였다. 밀도 측정 분석은 Image J 소프트웨어를 사용하여 수행하였다.

7. RNA 추출 및 정량적 역전사-중합효소 연쇄 반응(qRT-PCR)

RNAisoPlus(Takara) 시약을 사용하여 심장 조직에서 total RNA를 분리하였다. 2.5 µg의 Total RNA를 cDNA 합성에 사용하였다. Primescript™ II 1st strand cDNA 합성 키트 (Takara)를 사용하여 역전사하였고, Power SYBR Green PCR Mater mix(Applied BioSystems)를 사용하여 정량화하였다. 하기 표 1의 마우스 프라이머를 사용하여 유전자들을 증폭하였다.

표 1

유전자	서열		서열번호
β-actin	Forward	5'-CCACCATGTACCCAGGCATT-3'	1
	Reverse	5'-CGGACTCATCGTACTCCTGC-3'	2
IL1 α	Forward	5'-CCACCAAGAACAAGTCGGG-3'	3
	Reverse	5'-CAGACTGTCAGCACTTCCAA-3'	4
IL1 β	Forward	5'-AAGAGCCCATCCTCTGTGACT-3'	5
	Reverse	5'-GGAGCCTGTAGTGCAGTTGT-3'	6
IL6	Forward	5'-AGACAAAGCCAGAGTCTTCAG-3'	7
	Reverse	5'-GAGCATTGGAATTGGGGTAGG-3'	8
RAGE	Forward	5'-AGGTGGGGACATGTGTGTC-3'	9
	Reverse	5'-TCTCAGGGTGTCTCCTGGTC-3'	10

Real-time PCR 반응은 StepOne™ Real-Time PCR 시스템(Applied BioSystems)을 사용하여 수행하였고, 프라이머 쌍은 GenoTech(Daejeon, South Korea) 또는 IDT(Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, USA)로부터 합성하였다.

8. 동물 및 약물 투여

6 주령 수컷 C57BL/6 마우스(무게 22±2 g)를 Samtako Bio Korea Co., Ltd.(Osan, Gyeonggi, Korea)에서 구입하였다. 마우스는 병원균이 없는 동물 시설 센터에서 음식과 물에 자유롭게 접근할 수 있는 12시간의 명암 주기 하에서 23-25° C에서 유지되었다. 모든 동물 실험은 조선대학교 동물 실험 및 이용 위원회(CIACUC2020-S0009)에 따라 승인되었다. 적응 일주일 후 마우스를 무작위로 세 그룹(그룹당 마우스 4 마리)으로 나누었다: 대조군(PBS 단독), D-Galactose 모델 그룹(150 mg/kg/일) 및 D-Galactose + 캄포퀸(CQ) 그룹(0.5 mg/kg/일). 마우스에 PBS 또는 D-Gal을 10주 동안 복강 내 주사하고 3주 이후부터 마우스에 캄포퀸을 8주 동안 복강 주사하였다. 처리가 끝난 후 마우스를 희생시키고 심장 조직을 분리하고 액체 질소에서 즉시 동결하고 추가 사용을 위해 -80 °C에서 보관하였다.

9. 통계 분석

모든 데이터는 최소 3개 이상의 생물학적 반복에 따라 평균±표준 편차로 표시하였다. GraphPad Prism(GraphPad Software)을 사용하는 Holm-Sidak의 다중 비교 테스트와 함께 Student's t-test 및 ANOVA(분산 분석)에 의해 데이터 세트 간의 차이를 평가하였다. 통계적 유의 수준은 * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 및 **** p < 0.0001과 같이 별표를 사용하여 도면에 표시하였다.

실험 결과

1. hBM-MSCs에서 산화 스트레스 유발 노화 억제 효과

먼저 캄포퀸(CQ)이 세포의 생존율에 영향을 미치는지 확인하기 위해 hBM-MSC를 0-8 µg/mL(0-48.13 µM)의 CQ로 12시간 동안 처리하고 MTT 분석으로 세포 생존율을 평가하였다. 도 1A에 도시된 바와 같이 4 µg/mL까지 세포 생존율에 유의한 변화가 없었지만, 8 µg/mL 농도에서 세포 생존율이 감소하였다. 높은 농도의 CQ는 세포 생존율을 감소시키고, 세포 주기 정지, 세포 자멸사 및 염증을 유발시킬 수 있다는 점을 염두에 두고, 가장 낮은 농도인 1 µg/mL(6.016 µM)의 CQ로 아래의 실험을 수행하였다. H₂O₂(0.7mM)에 대한 CQ의 항산화 활성을 평가하였다. CQ는 H₂O₂ 처리된 hBM-MSC에서 세포 생존력을 증가시켰다(도 1B).

[0138] 항산화 활성이 확인된 CQ의 산화 스트레스 유발 노화 세포에 대한 항노화 효과를 평가하였다. H₂O₂가 1회(single time) 처리된 hBM-MSC에 비해 이중(double time) 처리된 hBM-MSC 세포는 확대되고 평평한 형태를 나타내었다(도 1C 참조), 또한, H₂O₂가 1회 처리된 hBM-MSC(single time treated hBM-MSCs)는 SA-β-gal-양성율이 약 11% 정도 인 반면, H₂O₂가 이중 처리된 세포(double time H₂O₂ treated hBM-MSC)는 SA-β-gal-양성율이 약 48%로 높았다(도 1D 참조). 이는 1회 H₂O₂ 처리하는 경우에는 작은 분획 세포가 산화 스트레스에서 회복되어 세포 주기에 다시 들어갈 수 있기 때문인 것으로 볼 수 있다. 따라서 CQ의 노화 억제 효과에 대한 연구를 위해 이중 H₂O₂ 처리된 세포를 이용하였다. 이중 H₂O₂ 처리된 세포에 CQ 또는 아스코르브산(양성 대조군)을 처리한 경우 SA-β-gal-양성 세포의 수가 유의하게 감소하였다(도 1D 참조, 무처리시 SA-β-gal-양성율: 48%, CQ 처리시 SA-β-gal-양성율: 16%, 아스코르브산 처리시 SA-β-gal-양성율: 19%).

[0139] 또한, p53, p16 및 p21 등 잘 알려진 노화 마커의 발현 수준을 확인을 통해 CQ의 노화 방지 효과를 추가로 평가하였다. 노화 마커의 발현은 이중 H₂O₂ 처리된 hBM-MSCs에서 높게 나타난 반면, CQ의 처리로 인해 H₂O₂가 처리되지 않은 hBM-MSCs의 수준으로 감소하였다(도 1E 내지 1H 참조). 이러한 결과는 낮은 농도의 CQ가 hBM-MSC에서 산화 스트레스로부터 hBM-MSC를 보호함을 시사한다.

[0141] 2. SIRT1, AMPK 및 autophagy 활성화를 통한 노화 억제 효과

[0142] AMPK 매개 자가포식 활성화는 산화적 스트레스 유발 노화로부터 세포를 보호할 수 있는 것으로 보고되어 있다. CQ 처리된 hBM-MSC에서는 SIRT1 및 AMPK 활성화가 증가하였고(SIRT1 및 p-AMPK 발현 증가), AMPK 억제제인 Compound C(CC)로 처리된 hBM-MSC에서는 SIRT1 및 AMPK 활성화가 억제되었다(도 2A 내지 2C).

[0143] 또한, 산화 스트레스 유발 노화 모델을 조절하는 AMPK의 하류 메커니즘 중 하나인 자가포식(autophagy) 관련 마커의 발현을 평가하였다. 그 결과, CQ 처리된 세포에서 LC3 및 BECN1의 발현은 증가되고, SQSTM1의 발현은 감소되었다(도 2D 내지 2G 참조). 이러한 결과를 통해 CQ가 SIRT1을 활성화하고, 산화 스트레스 유도 노화 세포에서 AMPK 매개 자가포식을 유도하며, 산화 스트레스 유발 노화를 감소시키는 것을 확인하였다.

[0145] 3. D-Gal로 유도된 노화 마우스의 심장 조직에서 노화 개선 효과

[0146] 먼저, D-Gal(D-Galactose)로 유도된 노화 마우스 심장 조직에서 CQ의 항산화 효과를 평가하였다. D-Gal 처리된 노화 마우스에서는 항산화 마커인 카탈라아제 발현이 감소된 반면, CQ 처리된 D-Gal 유도 노화 마우스의 심장 조직에서 카탈라아제 발현은 유의하게 증가하였다(도 3B 내지 3E 참조).

[0147] 또한, D-Gal 처리된 마우스 심장 조직에서 노화 마커의 발현을 평가하였다. 노화 마커 p53 및 p21의 발현은 D-Gal 처리된 마우스 심장 조직에서 증가한 반면, CQ 처리된 마우스에서는 유의하게 감소하였다(도 3F 내지 3H 참조). 이러한 결과는 CQ가 D-Gal 처리 마우스에서 항노화 효과 및 항산화 효과를 나타냄을 시사한다.

[0149] 4. D-Gal로 유도된 노화 마우스에서 심장 염증 감소 효과

[0150] 노화 마우스 모델에서 심장 염증 마커를 평가하였다. IL1α, IL1β, IL6 및 RAGE와 같은 염증 마커의 발현 수준은 D-Gal 유도 노화 모델에서 유의하게 증가하였다. 한편, 해당 마커들의 발현 수준은 CQ 처리 시 유의하게 감소하였다(도 4A 내지 4D 참조).

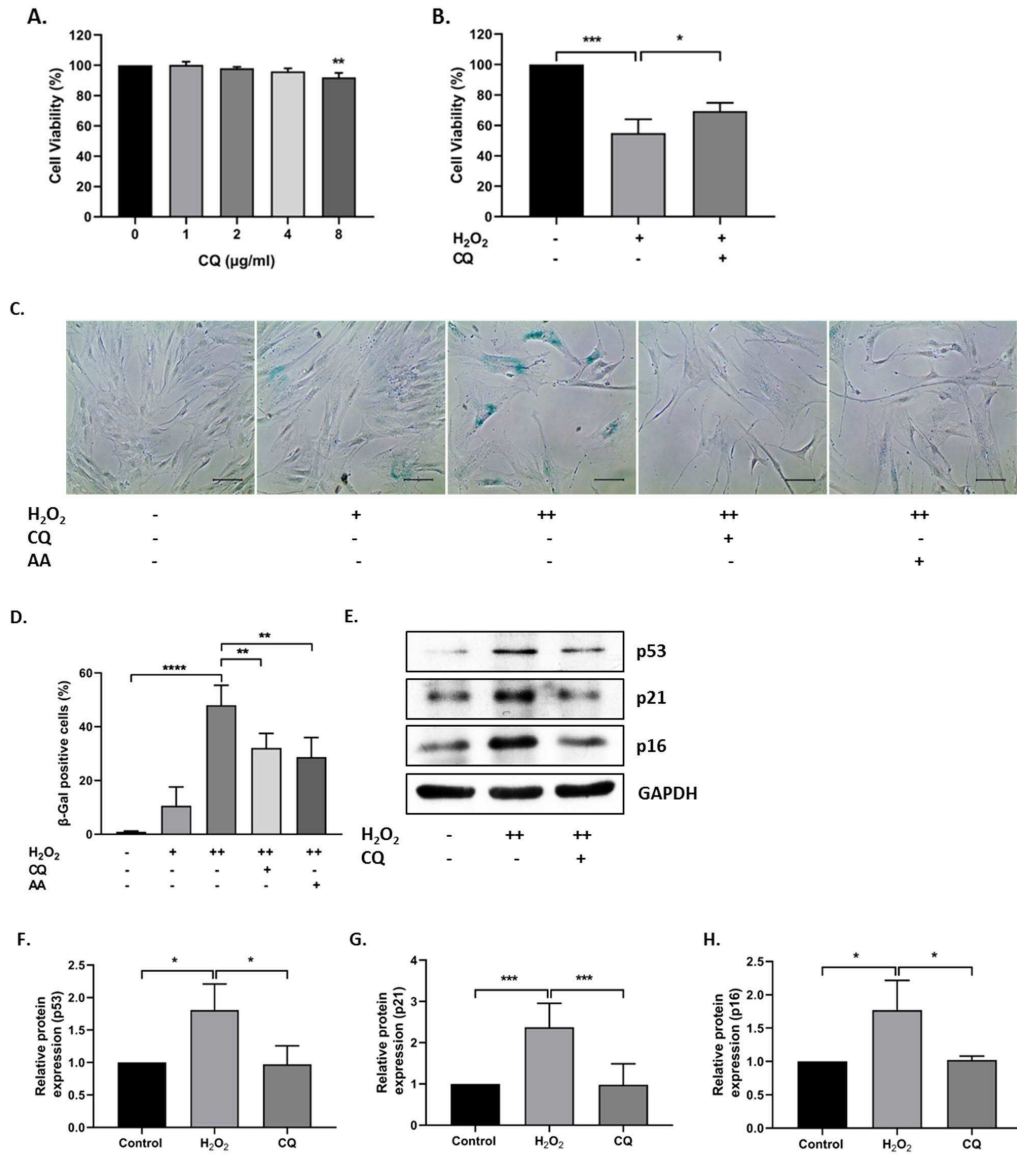
[0152] 5. D-Gal로 유도된 노화 마우스의 심장 조직에서 SIRT1 및 AMPK 매개 자가포식 활성화 효과

[0153] D-Gal로 유도된 노화 마우스의 심장 조직에서 SIRT1, AMPK 및 자가포식 활성화 효과를 확인하였다. SIRT1 및 AMPK의 발현은 CQ 처리된 마우스에서 유의하게 증가한 반면 D-Gal 유도된 노화 마우스에서는 변화가 없거나 약간 감소하였다(도 5A 내지 5C 참조). 또한, 노화 마우스 모델에서 자가포식 마커의 발현 수준을 조사한 결과, CQ가 처리된 군은 D-Gal 처리군에 비해 LC3 및 BECN1 발현을 증가시키고 SQSTM1 발현을 감소시켰다(도 5D 내지 5G 참조). 이러한 결과는 CQ가 D-Gal 유도 노화 마우스 심장 조직에서 SIRT1/AMPK 매개 자가포식을 활성화함을

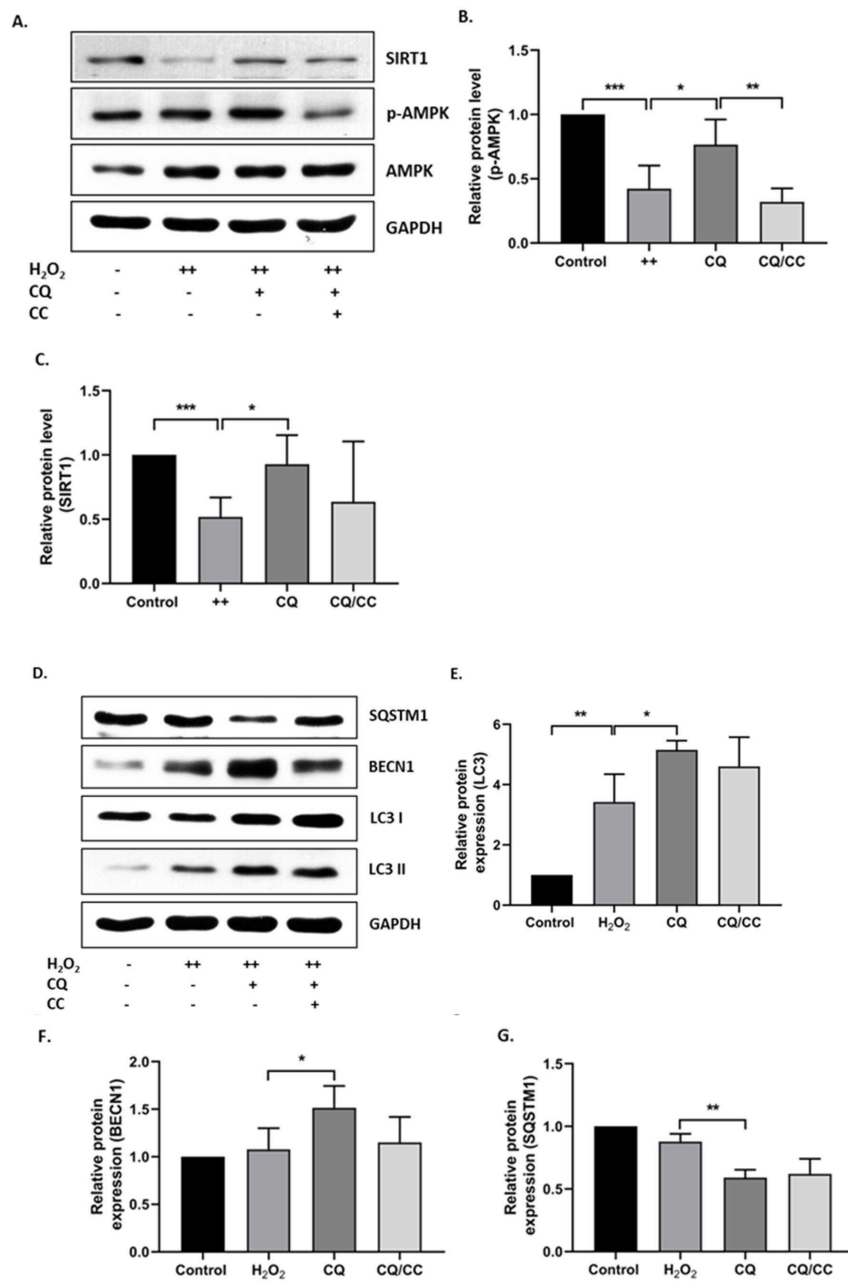
나타낸다.

도면

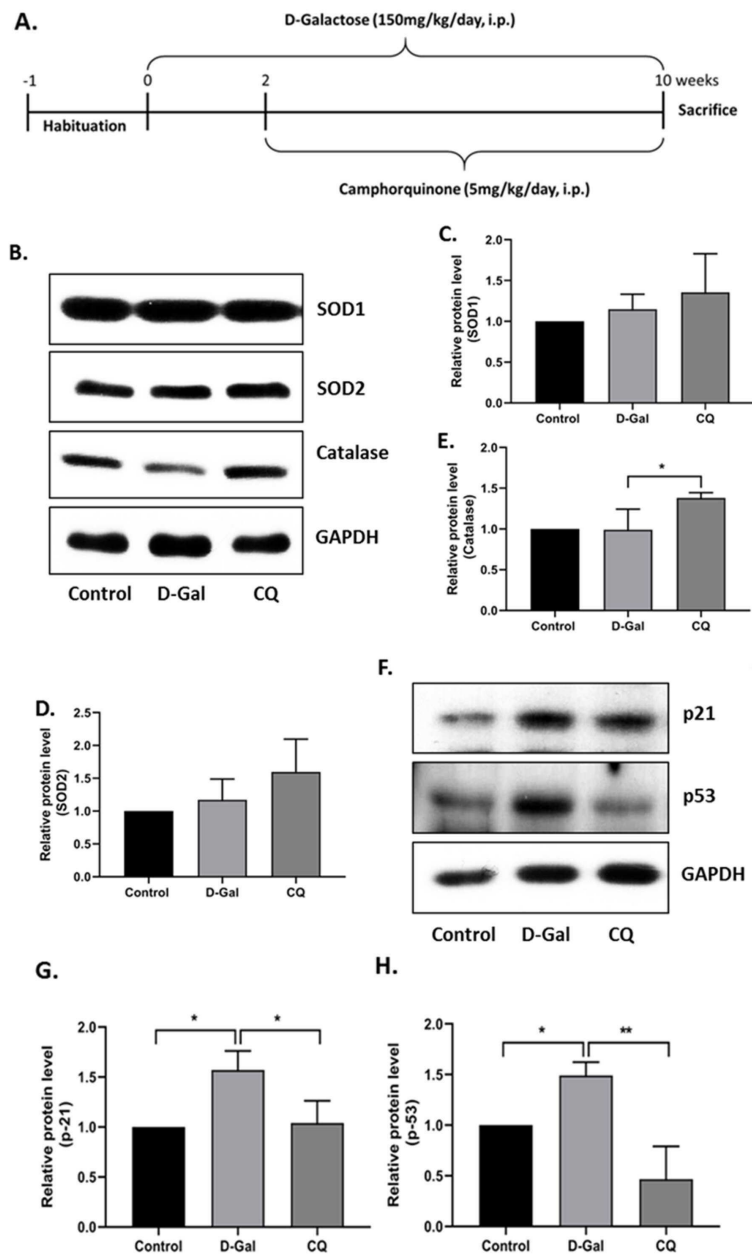
도면1



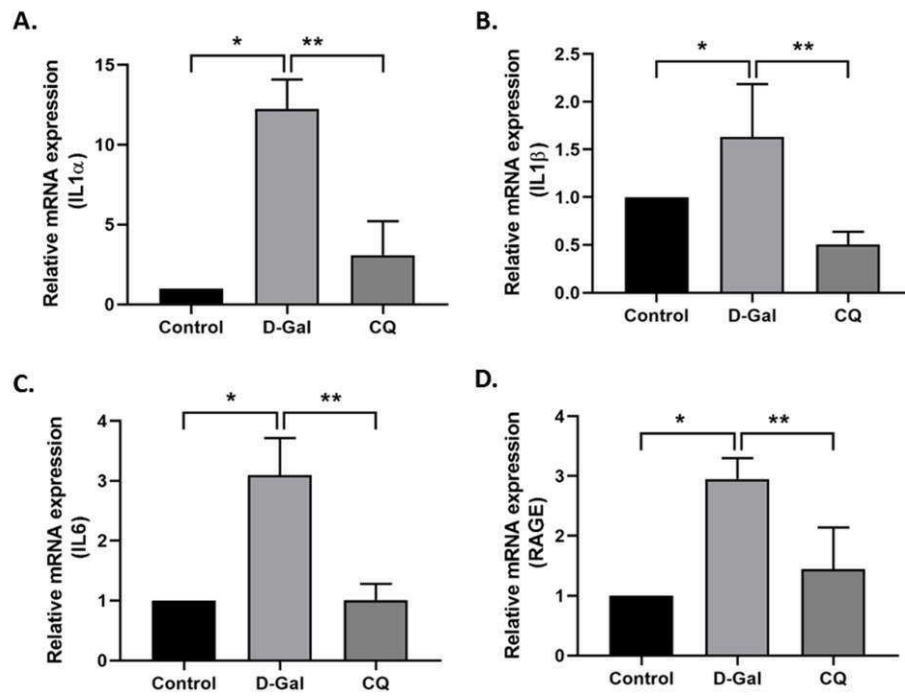
도면2



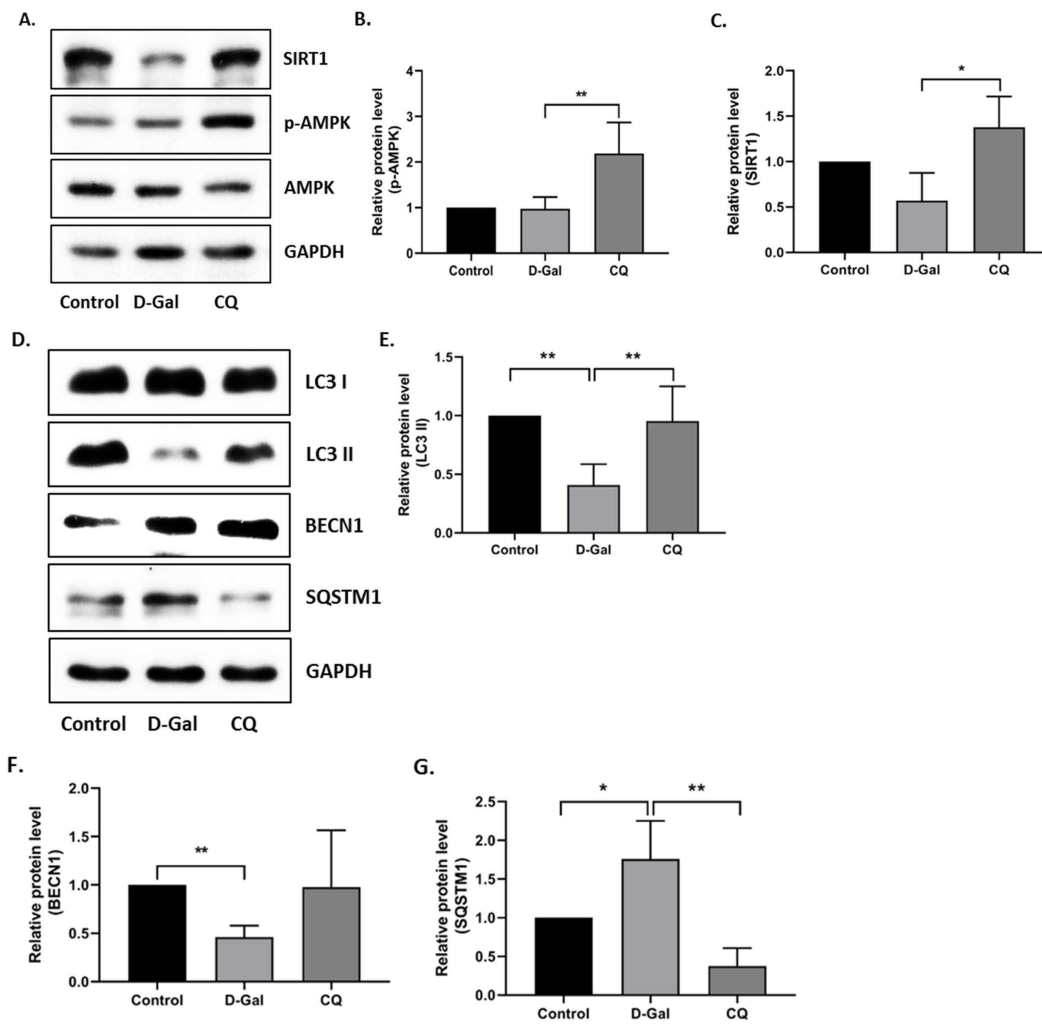
도면3



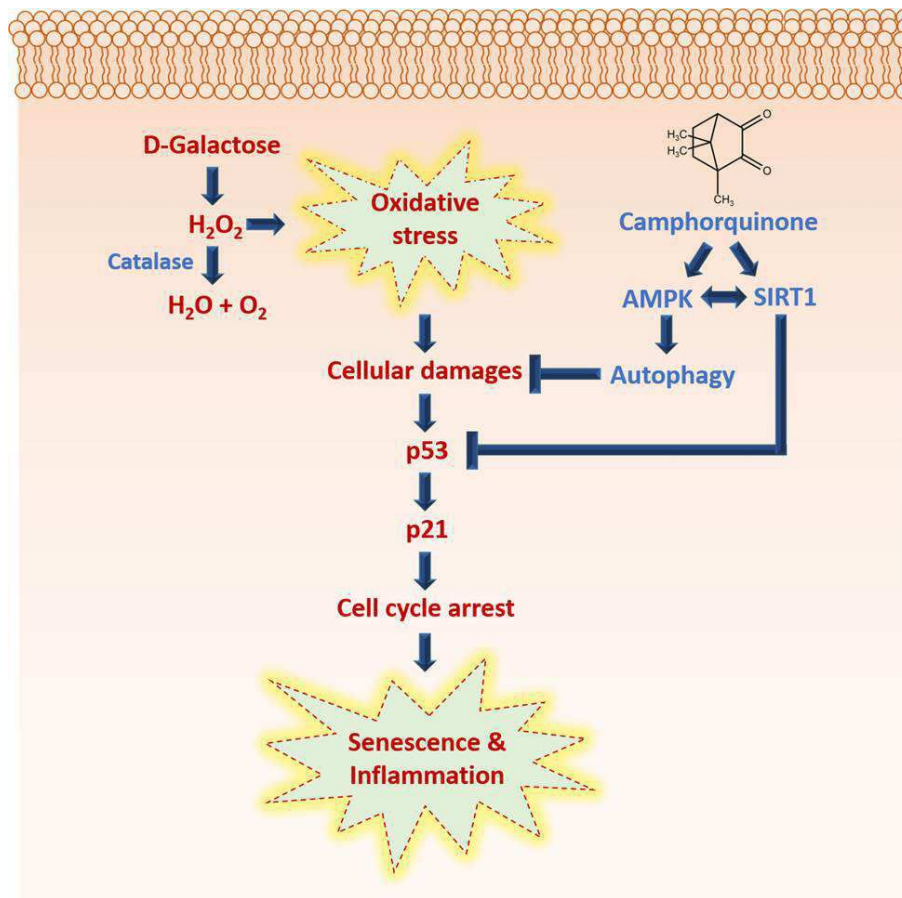
도면4



도면5



도면6



서열 목록

<110> INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION CHOSUN UNIVERSITY

<120> Pharmaceutical composition for preventing or treating
aging-related diseases

<130> 21P08040

<160> 10

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> beta-actin forward primer

<400> 1

ccaccatgta cccaggcatt

20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> beta-actin reverse primer

<400> 2

cggactcatc gtactcctgc 20

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL1 alpha forward primer

<400> 3

ccaccaaaga acaaagtcgg g 21

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL1 alpha reverse primer

<400> 4

cagactgtca gcacttccca a 21

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL1 beta forward primer

<400> 5

aagagcccat cctctgtgac t 21

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL1 beta rreverse primer

<400> 6

ggagcctgta gtgcagttgt 20

<210> 7

<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	IL6 forward primer	
<400>	7	
	agacaaagcc agagtccttc ag	22
<210>	8	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	IL6 reverse primer	
<400>	8	
	gagcattgga aattggggta gg	22
<210>	9	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	RAGE forward primer	
<400>	9	
	aggtggggac atgtgtgtc	19
<210>	10	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	RAGE reverse primer	
<400>	10	
	tctcaggggtg tctcctggtc	20