



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0025871
(43) 공개일자 2021년03월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/122 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61P 25/00 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/122 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0105801
(22) 출원일자 2019년08월28일
심사청구일자 2019년08월28일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)
전북대학교산학협력단
전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 (덕진동1가)
(72) 발명자
최재수
부산광역시 남구 오륙도로 85, 101동 204호(용호동, 오륙도 에스케이뷰 아파트)
성수희
부산광역시 남구 전포대로20번길 15, 109동 1001호(문현동, 문현동삼성아파트)
정현아
전라북도 전주시 덕진구 송천3길 55, 101동 1105호(송천동1가, 벽산 e리버파크)
(74) 대리인
위병갑

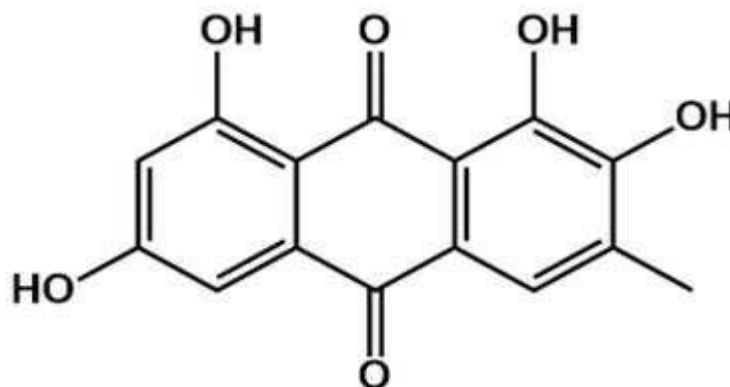
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 7-하이드록시에모딘을 포함하는 신경질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 7-하이드록시에모딘을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 7-하이드록시에모딘은 도파민 D₃ 수용체에 의한 신호전달을 촉진하고, 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체에 의한 신호전달을 저해함으로써 퇴행성 신경질환, 조현병 또는 자폐증 등의 신경질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 25/00 (2018.01)

A61P 25/28 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2019R1I1A3A01049380
부처명	교육부 학술진흥과
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	학문균형발전(지역대학우수과학자)
연구과제명	빅데이터 분석과 실험적 평가를 통한 결명자 유래 이차대사산물의 항파킨슨 질환제
개발	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	부경대학교
연구기간	2019.06.01 ~ 2020.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

7-하이드록시이모딘(7-hydroxyemodin)을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 7-하이드록시이모딘은 도파민 D₃ 수용체의 효현제(agonist)인 것인 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 7-하이드록시이모딘은 바소프레신 V_{1A} 수용체 또는 세로토닌 1A 수용체의 길항제인 것인 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 7-하이드록시이모딘은 MAO-A (monoamine oxidase A) 또는 MAO-B (monoamine oxidase B)에 대한 저해 활성을 가지는 것인 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 신경질환은 퇴행성 신경질환, 조현병, 정신분열형 장애, 주의력결핍 과잉행동장애, 인격 장애, 자폐증, 우울증 및 망상 장애로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 퇴행성 신경질환은 파킨슨병, 알츠하이머병, 노인성 치매, 당뇨병성 치매, 알코올성 치매 및 혈관성 치매로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인 조성물.

청구항 7

7-하이드록시이모딘을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 8

시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 MAO-A (monoamine oxidase A) 또는 MAO-B (monoamine oxidase B)의 활성을 저해하는 방법.

청구항 9

시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 도파민 D₃ 수용체에 의한 신호전달을 촉진시키는 방법.

청구항 10

시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 바소프레신 V_{1A} 수용체 또는 세로토닌 1A 수용체에 의한 신호전달을 저해하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 7-하이드록시이모딘을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 신경퇴행(Neurodegeneration)은 노화에 따라 악화되는 뉴런의 구조적 및 기능적 특성의 지속적인 손실을 말한다. 퇴행성 신경질환은 병리학적 및 임상적으로 나타나는 다양한 신경 장애의 거대한 집합으로서, 신경 손상에 의해 인지력 감퇴인 알츠하이머병(Alzheimer's disease); SNPC (substantia nigra pars compacta)에서 도파민성 신경세포의 선택적 손실에 의한 운동 장애를 특징으로 하는 파킨슨병(Parkinson's disease); 및 선조 투사 뉴런의 손실, 비정상적인 에너지 대사 및 흥분 독성을 특징으로 하는 헌팅턴병(Huntington disease)을 포함하고 있다 (IGI Global, PA, USA, 2019, pp. 1-23). 특히, 파킨슨병(Parkinson's disease)의 치료제에 대한 연구는 동물 모델에서 광범위하게 이루어졌고, 상기 치료제의 공통적 특성 중 하나는 중추신경계에 신경전달물질인 도파민(dopamine)을 향상시키는 것이다 (Evrard et al., 2002; Finberg and Rabey, 2016).

[0003] MAO (monoamine oxidases, EC 1.4.3.4)는 신경전달물질의 이화작용(catabolism)에 관여하는 플라빈-포함 효소로서 (Finberg and Rabey, 2016), 두 가지의 isoform인 MAO-A 및 MAO-B 가 존재한다. 상기 isoform은 70% 정도의 동일한 서열을 가지고 있으나, 신경전달물질에 대해서는 다른 결합력을 가지고 있다. MAO-A는 도파민, 세로토닌 및 노르에피네프린을 선택적으로 분해하고, MAO-B은 도파민, 페네틸아민 및 벤질아민을 분해한다 (Ramsay and Albrecht, 2018).

[0004] MAO-A의 억제제는 시냅스 틈(synaptic cleft)에서 세로토닌의 농도를 증가시킬 수 있고, 반면, MAO 억제제의 급성 전신 주입은 세로토닌의 억제를 유도할 수 있다 (Evrard et al., 2002). 기존 연구에서는 강력한 세로토닌 수용체의 길항제(5-HT_{1A} receptor antagonist)인 WAY 100635는 MAO 저해제와 함께 처리하였을 때 MAO 저해제로 유도된 세로토닌의 세포 발화를 억제시키고, MAO 저해제의 효율성을 증대시켰다고 보고되었다 (Sharp et al., 1997).

[0005] 카테콜아민-기반의 신경전달물질인 도파민은 동기, 감정 및 보상을 포함하는 다양한 신경학적 과정과 관련된 GPCRs(G-protein-coupled receptors) superfamily의 멤버인 도파민 수용체(dopamine receptors)를 촉진하여 작용하는 것으로 알려져 있다 (Newman et al., 2012). 도파민 수용체는 신호전달에서의 유사성을 근거로 D₁-like (D₁R, D₅R) 및 D₂-like (D₂R, D₃R, D₄R) 서브타입으로 분류된다 (Butini et al., 2016).

[0006] D₂-like D₂R, D₃R 및 D₄R 은 G_{ai/o} 를 자극하여 아데닐산 시클라아제 (adenylate cyclase) 활성화 및 cAMP (cyclic adenosine monophosphate) 생산을 억제한다. 전체적 또는 부분적 D₂R 및 D₃R 의 작용제(agonist)는 파킨슨병 치료에 널리 사용되고 있고, D₂R 또는 D₃R 의 길항제(antagonist)는 조현병(schizophrenia)의 치료에 효과가 있다 (Bello et al., 2019). 해마와 전두엽 피질에서 주로 발견되는 D₄R 는 탐색 행동, 주의 및 억제 회피 작업에 영향을 준다. D₄R 의 활성화는 조현병 및 주의력 결핍 / 과다 활동 장애와 관련된 인지 장애를 치료하는데 사용될 수 있다 (Keck et al., 2019).

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2014-0081339호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명의 목적은 7-하이드록시이모딘(7-hydroxyemodin)을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 7-하이드록시이모딘을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 MAO-A (monoamine oxidase A) 또는 MAO-B (monoamine oxidase B)의 활성을 저해하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 도파민 D₃ 수용체에 의한 신호전달을 촉진시키는 방법을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 바소프레신 V_{1A} 수용체 또는 세로토닌 1A 수용체에 의한 신호전달을 저해하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 7-하이드록시이모딘(7-hydroxyemodin)을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0016] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 7-하이드록시이모딘은 도파민 D₃ 수용체의 효현제(agonist)인 것일 수 있고, 바소프레신 V_{1A} 수용체 또는 세로토닌 1A 수용체의 길항제인 것일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 7-하이드록시이모딘은 MAO-A (monoamine oxidase A) 또는 MAO-B (monoamine oxidase B)에 대한 저해 활성을 가지는 것일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 신경질환은 퇴행성 신경질환, 조현병, 정신분열형 장애, 주의력결핍 과잉 행동장애, 인격 장애, 자폐증, 우울증 및 망상 장애로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것일 수 있고, 상기 퇴행성 신경질환은 파킨슨병, 알츠하이머병, 노인성 치매, 당뇨병성 치매, 알코올성 치매 및 혈관성 치매로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것일 수 있으나, 바람직하게는 퇴행성 신경질환, 조현병 또는 자폐증인 것일 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명은 7-하이드록시이모딘을 유효성분으로 포함하는 신경질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0020] 또한, 본 발명은 시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 MAO-A (monoamine oxidase A) 또는 MAO-B (monoamine oxidase B)의 활성을 저해하는 방법을 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명은 시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 도파민 D₃ 수용체에 의한 신호전달을 촉진시키는 방법을 제공한다.
- [0022] 또한, 본 발명은 시험관 내(*in vitro*)에서 7-하이드록시이모딘을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 바소프레신 V_{1A} 수용체 또는 세로토닌 1A 수용체에 의한 신호전달을 저해하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0024] 본 발명에 따른 화합물인 7-하이드록시이모딘은 도파민 D₃ 수용체에 의한 신호전달을 촉진하고, 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체에 의한 신호전달을 저해함으로써 퇴행성 신경질환, 조현병 또는 자폐증 등의 신경질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 7-하이드록시이모딘(7-hydroxyemodin)의 화학 구조식을 나타낸 것이다.

도 2는 7-하이드록시이모딘의 인간 MAO-A에 대한 Michaelis-Menten plot (A), Lineweaver-Burk plot (B) 및 secondary plot (C, D) 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 7-하이드록시이모딘의 인간 MAO-B에 대한 Michaelis-Menten plot (A), Lineweaver-Burk plot (B) 및 secondary plot (C, D) 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 MAO-A의 촉매 부위 (A, B) 및 비촉매 부위 (C, D)에 도킹된 7-하이드록시이모딘의 결합 양상을 나타낸 것이다 (7-하이드록시이모딘, 연두색 막대; 및 FAD, 검은색의 막대).

도 5는 MAO-B의 촉매 부위 (A, B) 및 비촉매 부위 (C, D)에 도킹된 7-하이드록시이모딘의 결합 양상을 나타낸 것이다 (7-하이드록시이모딘, 연두색 막대; 및 FAD, 검은색의 막대).

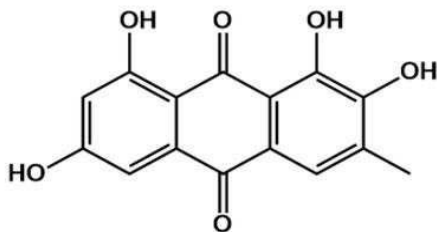
도 6는 여러 농도의 7-하이드록시이모딘에 따른 도파민 D₃ 수용체에 대한 효현제 효과 (A), 여러 농도의 7-하이드록시이모딘에 따른 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체에 대한 길항제 효과 (B, C)를 나타낸 것이다.

도 7은 7-하이드록시이모딘의 도파민 D₃ 수용체 (A, B), 바소프레신 V_{1A} 수용체 (C, D) 및 세로토닌 1A 수용체 (E, F)에 대한 도킹 결과를 나타낸 것이다 (7-하이드록시이모딘, 연두색 막대; 수용체의 잔기들, 회색 막대; 수소 결합, 파란색 실선; 및 수소 결합 거리, 파란색 글자로 표시함).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 본 발명의 화합물인 7-하이드록시이모딘은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 의미한다. 본 발명의 7-하이드록시이모딘은 천연 공급원으로부터 분리할 수 있으나, 이에 한정되지 않고, 당업계에 공지된 방법으로 화학적으로 합성하거나 시판되는 물질을 사용할 수 있다.

[0029] [화학식 1]



[0030]

[0032] 본 발명의 용어, "효현제(agonist)"는 수용체에 결합하여 생물학적 반응을 생산하기 위하여 수용체를 활성화시키는 물질이고, "길항제(antagonist)"는 상기 작용제와 같이 수용체에 결합하지만, 작용제와 반대로 생물학적 반응을 저해하기 위하여 수용체를 억제시키는 물질이다.

[0033] 본 발명의 7-하이드록시이모딘은 도파민 D₃ 수용체의 효현제(agonist)인 것일 수 있고, 상기 7-하이드록시이모딘은 도파민 수용체에 의한 신호전달을 촉진시키는 효과가 있어 퇴행성 신경질환, 특히, 파킨슨병의 치료에 이용될 수 있다. 또한, 본 발명의 7-하이드록시이모딘은 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체의 길항제(antagonist)인 것일 수 있고, 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체에 의한 신호전달을 촉진시키는 효과가 있어, 조현병 또는 자폐증 등의 신경질환의 치료에 이용될 수 있다.

[0035] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 담체는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 윤활제 등 당업계에 공지된

것이라면 제한없이 사용할 수 있다.

- [0036] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 나아가, 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 겔의 형태의 피부 외용제의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [0037] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 싸이코트리아 루브라 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테arate, 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 (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.
- [0038] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "투여"란 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [0039] 상기 용어, "개체"란 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 바람직하게는, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.
- [0040] 상기 용어, "약학적으로 유효한 양"이란 의학적인 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0042] 본 발명의 식품 조성물은 통상적인 의미의 식품을 모두 포함할 수 있으며, 기능성 식품, 건강기능식품 등 당업계에 알려진 용어와 혼용 가능하다.
- [0043] 본 발명의 용어, "기능성 식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [0044] 본 발명의 용어, "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말하며, 상기 성분에 의해 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 방지와 회복 등 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수 있도록 설계되고 가공된 식품을 말하는 것으로서, 상기 건강식품용 조성물은 질병의 예방 및 질병의 회복 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 조성물은 당업자의 선택에 따라 식품에 포함될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림 류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발

명에 따른 추출물 및 이의 분획물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.

[0046] 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품(예: 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예: 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예: 스낵류), 유가공품(예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예: 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.

[0047] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0049] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0051] 실시예 1. 실험재료 및 방법

[0052] 1.1. 인간 MAO-A (human monoamine oxidase A, hMAO-A) 및 인간 MAO-B (human monoamine oxidase B, hMAO-B) 활성 저해 실험

[0053] 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B에 대한 저해활성은 MAO-Glo™ assay kit (Promega, Madison, WI, USA)에서 제공하는 프로토콜을 수정하여 실험하였다. 간단히, 12.5 μ L의 기질과 12.5 μ L의 4X 시료 또는 양성대조군(디프레닐 HCl)을 흰색 불투명 96-well plate에 주입하였다. 이후, 인간 MAO-A 및 MAO-B 효소는 2X reaction buffer (pH 7.4)로 희석한 후, 25 μ L을 well에 주입하고 1 시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후, 50 μ L의 RLDR (reconstituted luciferin detection reagent)를 첨가하여 20분 동안 배양하였고, Luminometer (Spectra Max L, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 ALU (arbitrary light unit)를 측정하였다.

[0055] 1.2. 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B에 대한 키네틱 연구

[0056] 본 발명자들은 7-하이드록시이모딘의 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B에 대한 억제 메커니즘을 결정하기 위하여, 여러 농도의 7-하이드록시이모딘 (인간 MAO-A: 0, 0.8, 4, 20 μ M; 및 인간 MAO-B: 0, 1, 5, 25 μ M)에서 여러 농도의 기질 하에 효소학적 반응을 Michaelis-Menten plot과 Lineweaver-Burk plot을 통해 나타내었다. 인간 MAO-A에 대한 키네틱 실험에서는 40, 80, 160 μ M 농도 (최종 농도: 10, 20, 40 μ M)의 기질을 사용하였고, 인간 MAO-B에 대한 키네틱 실험에서는 4, 8, 16 μ M 농도 (최종 농도: 1, 2, 4 μ M)의 기질을 사용하였다.

[0058] 1.3. 기능성 GPCRs(G-protein-coupled receptor) 검정

[0059] 기능성 GPCRs 세포-기반 검정은 G_i/G_o -연결 수용체에 대한 cAMP; 및 G_q -연결 수용체에 대한 IP_1/IP_3 및 칼슘 플럭스를 포함하는 다중 이차 메신저의 관독을 제시할 수 있다. 기능성 어세이는 인간의 클로닝된 수용체를 발현하는 형질감염된 세포를 사용하여 Eurofins Cerep (Le Bois l'Eveque, France)에서 수행되었다. 인-하우스 어세이의 프로토콜은 www.eurofinsdiscoveryservices.com/cms/cms-content/services/in-vitro-assays/gpcrs/functional에 나와 있으며, 구체적인 실험조건은 하기 표 1에 나타내었다. 본 발명에서는 제조한 GPCRs을 발현하는 안정화된 세포주가 사용되었다.

표 1

Assay/Receptors	Source	Stimulus	Incubation	Measured Component	Detection Method
D ₁ (h) Dopamine (agonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	None (control: 10 μ M dopamine)	30 min RT	cAMP	HTRF
D ₁ (h) Dopamine (antagonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	Dopamine (300 nM)	30 min RT	cAMP	HTRF
D ₃ (h) Dopamine (agonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	None (control: 300 nM dopamine)	30 min 37°C	cAMP	HTRF
D ₃ (h) Dopamine (antagonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	Dopamine (10 nM)	30 min 37°C	cAMP	HTRF
D ₄ (h) Dopamine (agonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	None (control: 10 μ M dopamine)	10 min 37°C	cAMP	HTRF
D ₄ (h) Dopamine (antagonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	Dopamine (100 nM)	10 min 37°C	cAMP	HTRF
M ₃ (h) Muscarinic (agonist effect)	Human recombinant (RBL cells)	None (control: 0.624 μ M ACh)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry
M ₃ (h) Muscarinic (antagonist effect)	Human recombinant (RBL cells)	ACh (10 nM)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry
NK ₁ (h) Tachykinin (agonist effect)	Human endogenous (U373MG cells)	None (control: 30 nM [Sar ⁹ , Met(O ₂) ¹¹]-SP)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry
NK ₁ (h) Tachykinin (antagonist effect)	Human endogenous (U373MG cells)	[Sar ⁹ , Met(O ₂) ¹¹]-SP (1 nM)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry
V _{1a} (h) Vasopressin / Oxytocin (agonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	None (control: 1 μ M AVP)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry
V _{1a} (h) Vasopressin / Oxytocin (antagonist effect)	Human recombinant (CHO cells)	AVP (10 nM)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry
5-HT _{1A} (h) Serotonin (agonist effect)	Human recombinant (BA/F3 cells)	None (control: 2.5 μ M serotonin)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry
5-HT _{1A} (h) Serotonin (antagonist effect)	Human recombinant (BA/F3 cells)	Serotonin (30 nM)	RT	Intracellular [Ca ²⁺]	Fluorimetry

HTRF: Homogeneous Time Resolved Fluorescence

1.4. cAMP 수준의 측정

표적 GPCR 유전자(도파민 D₁, D₃ 또는 D₄ 수용체)가 포함된 플라스미드는 CHO (chinese hamster ovary) 세포로 도입되어 형질감염시켰다. 형질감염된 CHO-GPCR 세포주는 500 μ M IBMX가 첨가된 HBSS/20 mM HEPES buffer (pH 7.4)로 부유시키고, 5×10^3 cells/well의 밀도로 마이크로플레이트에 분주한 후, 대조군, 시험군 또는 양성 대조군의 존재 하에 상온에서 30분 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 용해하고, 형광 어셉터 (D2-labeled cAMP) 및 형광 도너(europium cryptate가 있는 anti-cAMP antibody)를 첨가하였다. 1시간 후, Envision™ microplate reader (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)를 사용하여 $\lambda_{ex}=337$ nm 및 $\lambda_{em}=620$ 및 665 nm에서 형광 전이 (fluorescence transfer)를 측정하였다. cAMP 농도는 665 nm에서 측정된 시그널을 620 nm에서 측정된 시그널로 나누어 결정하였다. 효현제(agonist) 효과의 결과는 도파민에 대한 대조군 반응의 퍼센트로 나타내었고, 길항제 (antagonist) 효과의 결과는 도파민에 대한 대조군 반응의 저해 퍼센트로 나타내었다.

1.5. 세포내 [Ca²⁺] 수준의 측정

다른 수용체를 발현하는 세포는 수용체 폴리펩티드를 암호화하는 발현 벡터로 형질감염시켰고, 수용체가 발현되기에 충분한 시간 동안 성장시켰다. 이후, HBSS/2 M HEPES buffer (pH 7.4) 내에 프로벤시드(probencid)와 혼합된 형광 프로브(Fluo8 Direct, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 각 웰에 첨가하고, 37 °C에서 1시간 동안 평형화시켰다. 이후, 검정 플레이트를 CellLux™ microplate reader (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)에 위치시키고, 7-하이드록시이모딘, 기준 효현제(reference agonist) 또는 버퍼(blank)를 첨가한 후, 유리 사이토졸의 Ca²⁺ 이온 농도에 비례하여 변화하는 형광 강도를 측정하였다. 각 실험에 실시된 실험조건은 상기 표 1에 나타내었다. 이에 따라 농도-반응 곡선을 생성하여 EC₅₀ 값을 계산하였다.

효현제(agonist) 효과는 각 타겟의 알려진 기준 효현제(reference agonist)에 대한 대조군 반응의 퍼센트 (측정된 반응 / 대조군 반응 $\times$ 100) 로 계산하였으며, 길항제(antagonist) 효과는 각 타겟에서 대조 기준 효현제 (agonist)의 저해 퍼센트 (100 - (측정된 반응 / 대조군 반응) $\times$ 100) 로 계산하였다.

1.6. 분자 도킹 연구

[0071] 표적 수용체와 7-하이드록시이모딘의 도킹 시뮬레이션은 AutoDock 4.2 program을 사용하여 수행되었다. 인간 MAO-A-하민(harmine) 복합체(PDB ID: 2Z5X), 인간 MAO-B-safinamide 복합체(PDB ID: 2V5Z) 및 인간 도파민 D₃ 수용체 (hD₃R)-에티클로프라이드(eticlopride) 복합체(PDB ID: 3PBL)의 X-선 결정구조는 RCSB Protein Data Bank (PDB)에서 획득하였다. 5-HT_{1A} 수용체 및 바소프레신 V_{1A} 수용체는 상동성 모델링을 통하여 모델을 구축하였다. 7-하이드록시이모딘의 3D 구조는 Marvin Sketch program (v17.1.30, ChemAxon, Budapest, Hungary)을 사용하여 생성하였다. 자동 도킹 시뮬레이션은 AutoDockTools (ADT)을 사용하여 실행해 적절한 결합 방향을 평가하였다. 도킹 계산을 위해, Gasteiger charges를 디폴트로 추가하고, 회전가능한 결합을 ADT로 설정하고, 모든 torsion은 회전 가능하도록 하였다. 그리드 맵 (grid maps)은 AutoGrid로 생성하였다. 구부러지지 않거나 구부러질 수 있는 리간드 도킹을 위한 도킹 프로토콜은 15개 독립 유전 알고리즘으로 구성되었다. 사용된 다른 파라미터들은 ADT 디폴트이다. 결과는 Discovery Studio (v17.2, Accelrys, San Diego, CA, USA) 및 UCSF Chimera (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>)를 사용하여 시각화하고 분석하였다.

[0073] 실시예 2. 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B 활성 저해 효과

[0074] 본 발명자들은 R-(-)-디프레닐 HCl를 양성 대조군으로 하여 7-하이드록시이모딘의 MAO-A 및 MAO-B에 대한 저해 효과를 측정하는 실험을 수행하였다. 그 결과, 표 2에 나타난 바와 같이, 7-하이드록시이모딘은 MAO-A 및 MAO-B 모두에 대하여 높은 선택성을 보였다. 7-하이드록시이모딘의 MAO-A 및 MAO-B에 대한 IC₅₀ 값은 각각 5.35 μ M 및 4.55 μ M으로 확인되었고, 선택도 지수 (selective index, SI)는 1.18로 확인되었다 (표 2).

표 2

Compounds	<i>h</i> MAO-A IC ₅₀ (μ M) ^a	<i>h</i> MAO-B IC ₅₀ (μ M) ^a	SI ^b	Inhibition type	K _i value
7-Hydroxyemodin	5.35 $\pm$ 0.09	4.55 $\pm$ 0.09	1.18	Mixed type ^c ,	3.97 (K _{ic}) ^{e,g} , 9.33 (K _{iu}) ^{e,h}
Deprenyl ^f	8.41 $\pm$ 1.35	0.40 $\pm$ 0.01	21.03	Mixed type ^d	2.41 (K _{ic}) ^{f,g} , 4.46 (K _{iu}) ^{f,h}

^aThe 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values (μ M) were calculated from a log dose inhibition curve and expressed as the mean $\pm$ SEM of triplicate experiments.

^bThe selective index (SI) was determined by the ratio of *h*MAO-A IC₅₀/*h*MAO-B IC₅₀.

^c, ^e *h*MAO-A inhibition type and inhibition constant (K_i)

^d, ^f *h*MAO-B inhibition type and inhibition constant (K_i)

^g Binding constant of inhibitor with free enzyme (K_{ic})

^h Binding constant of inhibitor with enzyme-substrate complex (K_{iu})

ⁱ Positive control

[0076]

[0078] 실시예 3. 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B 에 대한 키네틱 분석 결과

[0079] 본 발명자들은 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B 의 저해 메커니즘을 이해하기 위해서 Michaelis-Menten plot, Lineweaver-Burk plot 및 이의 secondary plot을 통해서 효소 키네틱 실험을 수행하였다. 그 결과, 7-하이드록시이모딘을 처리한 경우 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B의 활성에 대한 Lineweaver-Burk plot은 직선 형태로 그려졌고, 2분면에서 교차하였다 (도 2 및 도 3). 또한, Michaelis-Menten plot에서도 전형적인 혼합형 저해 양상이 나타났다. 도 2 및 도 3에 나타난 바와 같이, 7-하이드록시이모딘의 농도가 높아질수록 y축 교차점 (1/V_{max})의 위치는 높아지고, x축 교차점은 짧아지는 것으로 확인되었다. 이로써, 7-하이드록시이모딘은 혼합형 저해제인 것으로 확인되었다. 7-하이드록시이모딘의 인간 MAO-A에 대한 저해 상수(K_{ic} 및 K_{iu})는 secondary plot에 의해서 각각 3.97 및 9.33 μ M로 확인되었다 (도 2 및 표 2). 또한, 7-하이드록시이모딘의 인간 MAO-B에 대한 저해 상수(K_{ic} 및 K_{iu})는 secondary plot에 의해서 각각 2.41 및 4.46 μ M로 확인되었다 (도 3 및 표 2).

[0081] 실시예 4. 인간 MAO에 대한 도킹 시뮬레이션 결과

[0082] 본 발명자들은 7-하이드록시이모딘에 의한 hMAO-A 및 hMAO-B의 저해 메커니즘을 증명하기 위하여 도킹 시뮬레이션을 수행하였다. 그 결과, 도 4 및 표 3에 나타낸 바와 같이, 7-하이드록시이모딘은 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B의 촉매 부위 및 비촉매 부위 모두에서 음의 결합 에너지를 가지는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 키네틱 결과와 일치하였다. 인간 MAO-A의 촉매 부위에 대한 7-하이드록시이모딘의 가장 최적화된 결합 위치에서, 7-하이드록시이모딘의 수산기와 MAO-A의 Thr336, Phe208 및 Asn181 잔기 사이에 3개의 수소 결합이 관찰되었다 (도 4A). 또한, 7-하이드록시이모딘은 MAO-A의 Tyr407, Ile335, Tyr444, Leu337, Cys323 및 FAD와 pi-상호작용을 형성하였다 (도 4B). 인간 MAO-A의 비촉매 부위에서, 7-하이드록시이모딘의 수산기는 Ala111, Tyr121, His488, Phe112, Asn125 잔기들과 수소결합을 형성하였으며, Glu492, Phe112, Trp128 잔기들과 pi-상호작용을 형성하였다 (도 4C 및 4D).

[0083] 인간 MAO-B의 촉매 부위에서, 7-하이드록시이모딘은 Tyr435 및 Tyr326 잔기와 1개의 수소결합을 각각 형성하였고, Cys172 잔기와 3개의 수소결합을 형성하였다 (도 5A). 특히, Cys172 잔기와의 강한 정전기적 상호작용을 형성하였으며, 이 외에도 FAD, Tyr398, Leu171 및 Ile199 잔기들과 pi-상호작용을 형성하였다 (도 5B). 인간 MAO-B의 비촉매 부위에서, 7-하이드록시이모딘은 Leu171, Gln206, Ile199, Pro102 잔기들과 수소 결합을 형성하였다 (도 5C). 또한, 7-하이드록시이모딘의 메틸기와 아로마틱 고리는 Trp119, Ile316 및 Leu164 잔기들과 pi-상호작용을 형성하였다 (도 5D).

[0084] 상기 결과로부터, 7-하이드록시이모딘은 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B에 대한 저해 활성을 가지고 있음을 확인하였다.

표 3

Compounds	Energy (kcal/mol) ^a	Interaction residues ^b
MAO-A 7-Hydroxyemodin	-8.82 ^c	H-bond: Asn181, Phe208, Thr336 pi-sigma: Ile335, Tyr407, pi-sulfur: Cys323, pi-pi stacked: Tyr407, pi-alkyl: Tyr444, FAD, Ile335, Leu337
	-8.30 ^d	H-bond: Ala111, Tyr121, His488, Phe112, Asn125 pi-anion: Glu492, pi-sigma: Phe112, pi-pi T-shaped: Trp128
MAO-B	-8.85 ^c	H-bond: Tyr435, Cys172, Tyr326 pi-sigma: Leu171, Tyr398, FAD, pi-sulfur: Cys172, pi-pi stacked: Tyr398, Tyr435, Tyr326, pi-alkyl: Leu171, Cys172, Ile199
	-8.42 ^d	H-bond: Gln206, Pro102, Pro102, Ile199, Leu171 pi-sigma: Leu171, Ile199, alkyl: Pro104, Leu164, pi-alkyl: Trp119, Ile199
MAO-A Harmine ^c	-8.5	H-bond: Asn181 pi-sigma: Tyr444, pi-pi stacked: Tyr407, alkyl: Ile180, pi-alkyl: Phe208, Ile180, van der Waals: FAD
MAO-B Saffinamide ^c	-9.9	H-bond: Tyr435, FAD, Gln206 pi-sigma: Ile199, Tyr398, pi-sulfur: Cys172, pi-alkyl: Tyr435, FAD, Leu171

^a Binding energy, which indicates binding affinity and capacity for the active site of the hMAO-A.

^b All amino acid residues from the enzyme-inhibitor complex were determined with the AutoDock 4.2 and Discovery studio.

^c Reported hMAO-A and hMAO-B inhibitor, respectively.

[0086]

[0088] 실시예 5. 기능성 GPCRs 검정 결과

[0089] 본 발명자들은 시험관 내의 세포 기반 기능성 검정 분석을 통해 도파민 D₁, D₃ 및 D₄ 수용체 (D₁, D₃ 및 D₄); 무스카린 수용체 (muscarinic acetylcholine receptor, M₅); 뉴로키닌-1 수용체 (neurokinin-1 receptor, NK₁); 바소프레신 V_{1A} 수용체 (V_{1A}) 및 세로토닌 1A 수용체 (serotonin 1A receptor, 5HT_{1A})에 대한 7-하이드록시이모딘의 효과를 확인하는 실험을 수행하였다. 그 결과, 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이, 7-하이드록시이모딘은

도파민 D₃ 수용체에 대한 효현제 효과를 보였으며, EC₅₀은 56.85 μ M로 나타났다. 또한, 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체에 대하여 길항제 효과를 보였으며, IC₅₀ 값은 각각 11.51 및 84.23 μ M로 나타났다.

[0090] 본 발명자들은 다양한 농도의 7-하이드록시이모딘에서 도파민 D₃ 수용체에 대한 효현제 효과 및 바소프레신 V_{1A} 수용체와 세로토닌 1A 수용체에 대한 길항제 효과를 확인하였다. 그 결과, 7-하이드록시이모딘은 농도 의존적으로 도파민 D₃ 수용체에 대한 효현제 효과 및 바소프레신 V_{1A} 수용체와 세로토닌 1A 수용체에 대한 길항제 효과를 보였다 (도 6).

표 4

Receptors	% of Control Agonist Response at 50 μ M	EC ₅₀ ^a (μ M)	Reference agonists of respective target receptors EC ₅₀ (nM) ^b
D1 (h) Dopamine	0.01 $\pm$ 2.41	-	dopamine 17
D3 (h) Dopamine	43.97 $\pm$ 4.76	56.85 $\pm$ 4.59	4
D4 (h) Dopamine	14.10 $\pm$ 0.31	-	dopamine 5.8
M5 (h) Acetylcholine (Muscarinic)	0.13 $\pm$ 0.05	-	acetylcholine 1
NK1 (h) Tachykinin	-4.80 $\pm$ 0.69	-	[Sar ⁹ , Met(O ₂) ¹¹]-SP 0.12
V1A (h) Vasopressin / Oxytocin	-11.0 $\pm$ 0.66	-	AVP 0.29
5-HT1A (h) Serotonin	-5.46 $\pm$ 0.15	-	serotonin 1.6

^aConcentration producing a half-maximal agonist response

^bConcentration producing a 50% agonist response for respective receptors, reported by Eurofins Panlab

[0092]

표 5

Receptors	% Inhibition of Control Agonist Response at 50 μ M	IC ₅₀ ^a (μ M)	Reference antagonists of respective target receptors IC ₅₀ (nM)
D1 (h) Dopamine	-30.43 $\pm$ 8.95	-	SCH 23390 3.6
D3 (h) Dopamine	-9.8 $\pm$ 4.82	-	(+) butaclamol 13
D4 (h) Dopamine	-2.4 $\pm$ 6.18	-	clozapine 320
M5 (h) Acetylcholine (Muscarinic)	13.56 $\pm$ 5.15	-	atropine 2.4
NK1 (h) Tachykinin	37.36 $\pm$ 5.50	> 100	L 733,060 0.83
V1A (h) Vasopressin / Oxytocin	59.20 $\pm$ 0.10	11.51 $\pm$ 1.08	[d(CH ₂) ₅ ¹ , Tyr(Me) ₂]-AVP 4.5
5-HT1A (h) Serotonin	34.50 $\pm$ 4.86	84.23 $\pm$ 4.12	(S)-WAY-100635 4.4

^aConcentration producing a half-maximal inhibition of the control agonist response

^bConcentration producing a 50% antagonist response for respective receptors, reported by Eurofins Panlab

[0094]

실시예 6. GPCR에 대한 도킹 시뮬레이션 결과

[0096]

[0097] 본 발명자들은 7-하이드록시이모딘의 도파민 D₃ 수용체, 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체와의 상호작용을 도킹 시뮬레이션을 통해 확인하였다. 그 결과, 표 6에 나타낸 바와 같이, 7-하이드록시이모딘은 도파민 D₃ 수용체에 대하여 -6.79 kcal/mol의 결합 에너지를 가졌으며, Tyr365, Ser196, Thr115 및 Val111 잔기들과 수소 결합을 형성하는 것을 관찰할 수 있었다 (도 7A). 또한, Tyr373, Phe345 잔기들과 Pi-Alkyl 상호작용을 하였으며, 주요 잔기인 Asp110과 Pi-Anion 상호작용을 하였고, Cys114와 Pi-Sulfur 상호작용 및 Phe346과 Pi-Pi T-

shaped 상호작용을 이루었다 (도 7B). 특히, Ser196과 Ser192와의 상호작용은 수용체의 활성화와 관련되어 있어, 7-하이드록시이모딘이 도파민 D₃ 수용체에 대한 효현제로 작용한다는 것을 증명하였다.

[0098] 또한, 표 7에 나타낸 바와 같이, 7-하이드록시이모딘은 바소프레신 V_{1A} 수용체에 대하여 -6.40 kcal/mol의 결합 에너지를 가졌으며, Lys128, Gln131, Ser213, Val217 및 Gln311 잔기들과 수소 결합을 형성하는 것을 관찰할 수 있었다 (도 7C). 또한, 7-하이드록시이모딘의 아로마틱 고리구조는 Ala205와 Lys128 잔기들과 Pi-Alkyl 상호작용을 형성하였으며, Met220 잔기와 Pi-Sulfur 상호작용을 이루었다 (도 7D). 이러한 상호작용은 알려진 길항제인 SR49059와 유사하게 나타났으며, 수용체를 억제하는데 영향을 주는 Lys128 잔기와의 상호작용을 확인함으로써, 7-하이드록시이모딘이 바소프레신 V_{1A} 수용체에 대한 길항제로 작용한다는 것을 증명하였다.

[0099] 또한, 표 8에 나타낸 바와 같이, 7-하이드록시이모딘은 세로토닌 1A 수용체에 대하여 -6.77 kcal/mol의 음의 결합 에너지를 가졌으며, Cys187 잔기와 하나의 수소 결합을 형성하는 것을 관찰할 수 있었다 (도 7E). 또한, 7-하이드록시이모딘의 아로마틱 고리 구조는 Phe112와 Phe361 잔기들과 Pi-Pi 상호작용을 이루었고, 주요 잔기인 Asp116과 Pi-Anion 상호작용을 하였다 (도 7F).

[0100] 상기 결과로부터, 7-하이드록시이모딘은 도파민 D₃ 수용체에 대한 효현제 효과가 있고, 바소프레신 V_{1A} 수용체 및 세로토닌 1A 수용체에 대한 길항제 효과가 있음을 확인하였다. 따라서, 7-하이드록시이모딘은 퇴행성 신경질환, 특히, 파킨슨병의 치료제로 사용될 수 있고, 조현병 또는 자폐증 등의 신경질환의 치료제로 사용될 수 있음을 확인하였다.

표 6

Compounds	Binding energy (kcal/mol)	No. of H-bonds	H-bond interaction residues	Non-polar interacting residues
Dopamine ^a (Agonist)	-5.84	5	Asp110 (Salt bridge), Val111, Thr115, Ser196	Val111, Cys114, Phe346
Rotigotine ^a (Agonist)	-9.23	2	Asp110 (Salt bridge), Ser192	Val111, Phe345, His349, Val107, Cys181, Val111, Cys114
Eticlopride ^a (Antagonist)	-8.50 ^b	3	Asp110 (Salt bridge), Asp110, His349	Val111, Cys114, Val189, Phe346, His349, Val111, Ile183, Phe345
7-Hydroxyemodin	-6.79	4	Tyr365, Ser196 Thr115, Val111	Tyr373, Thr369, Tyr365, His349, Phe345, Phe346, Ile183, Trp342, Asp110, Cys114, Ser192

^aDopamine, rotigotine, and eticlopride were used as positive ligands.

^bRMSD value: 0.48 Å.

[0102]

표 7

Compounds	Binding energy (kcal/mol)	No. of H-bonds	H-bond interaction residues	Non-polar interacting residues
AVP ^a (Agonist)	-9.14	5	Asp202, Glu54, Asp112, Ile330	Trp204, Ile330, Ala101, Ala334, Val132, Met135
SR49059 ^a (Antagonist)	-8.98	5	Gln131, Gln108, Lys128	Phe307, Trp204, Val132, Met135, Met220, Ala334, Ala205, Gln131, Thr333
7-Hydroxyemodin	-6.40	5	Lys128, Gln131, Ser213, Val217, Gln311	Lys128, Met135, Met220, Phe189, Ala205

^a Adenosine vasopressin (AVP) and (2S)-1-[(2R,3S)-5-chloro-3-(2-chloro-phenyl)-1-(3,4-dimethoxybenzenesulfonyl)-3-hydroxy-2,3-dihydro-1H-indole-2-carbonyl]pyrrolidine-2-carboxamide (SR49059) were used as positive ligands.

[0104]

표 8

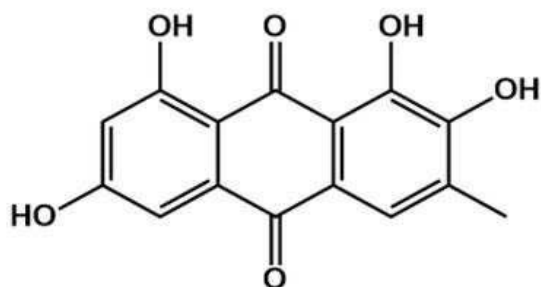
Compounds	Binding energy (kcal/mol)	No. of H-bonds	H-bond interaction residues	Non-polar interacting residues
Serotonin ^a (Agonist)	-6.77	4	Asp116 (Salt bridge), Thr200, Thr121	Ala203, Val117, Phe362, Phe361, Cys120
WAY 100635 ^a (Antagonist)	-11.22	3	Asp116 (Salt bridge), Asn386	Ala93, Tyr96, Thr200, Phe112, Cys120, Ala203, Phe362, Phe361
7-Hydroxyemodin	-6.77	1	Cys187	Asp116, Ile189, Phe112, Phe361, Trp358

^a Serotonin and N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]-ethyl]-N-(2-pyridinyl) cyclohexanecarboxamide (WAY 100635) were used as positive ligands.

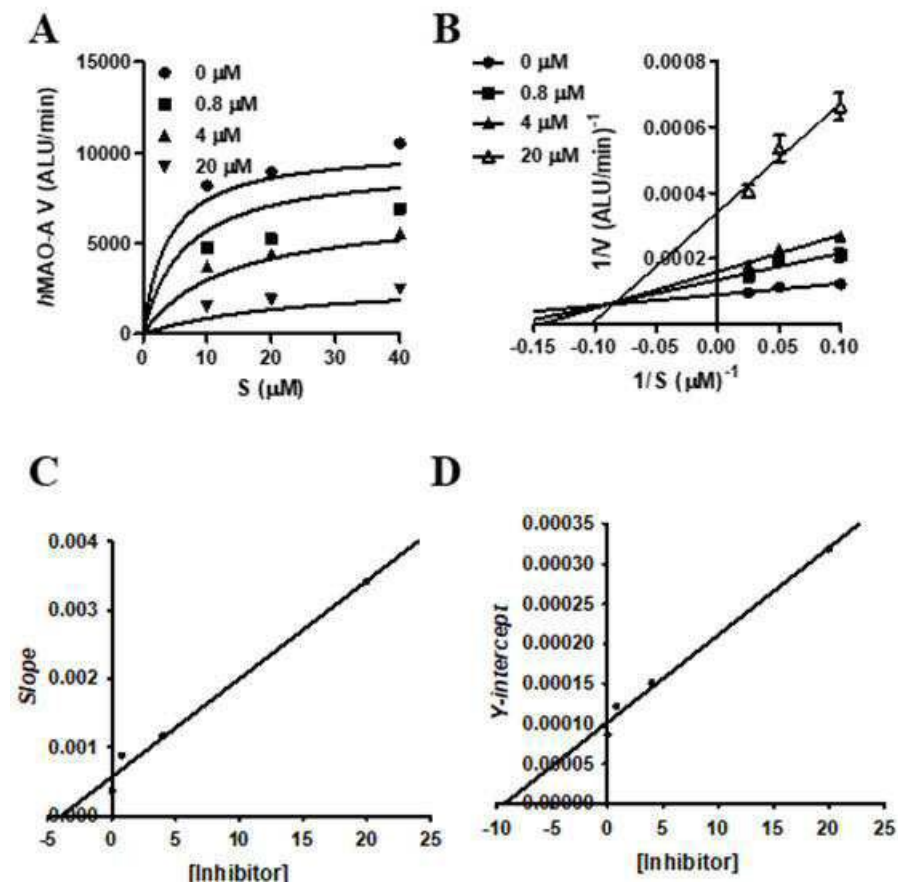
[0106]

도면

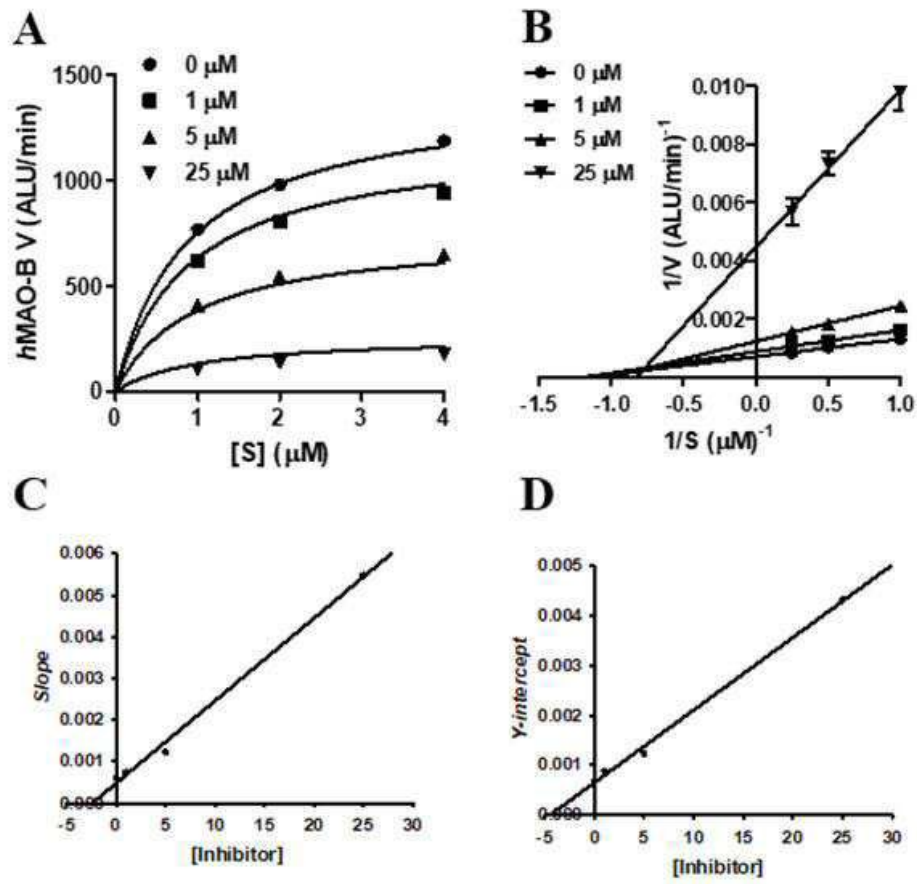
도면1



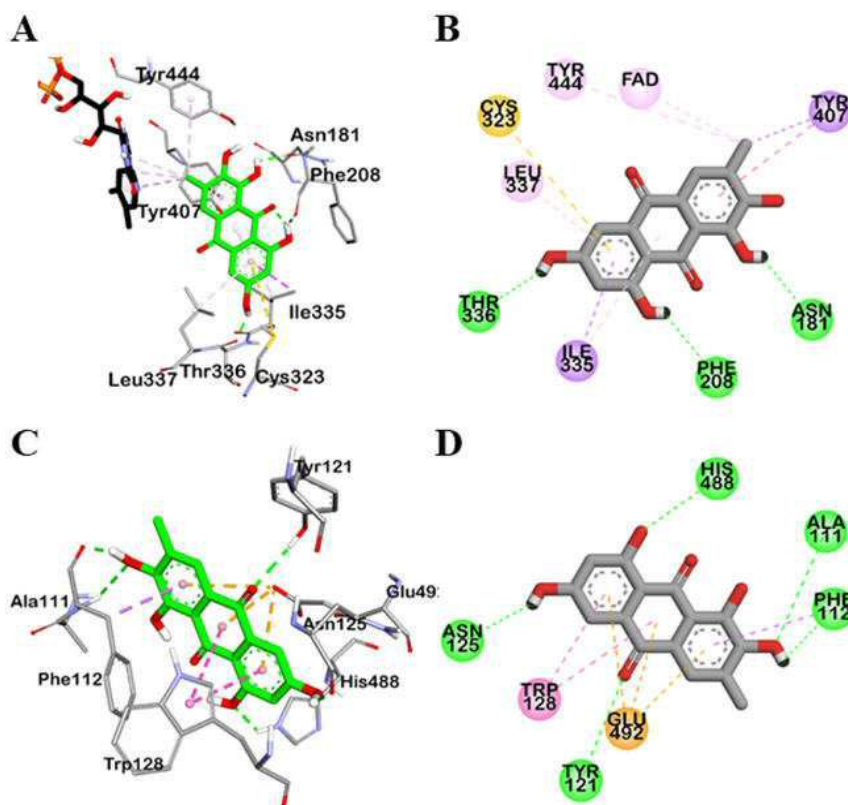
도면2



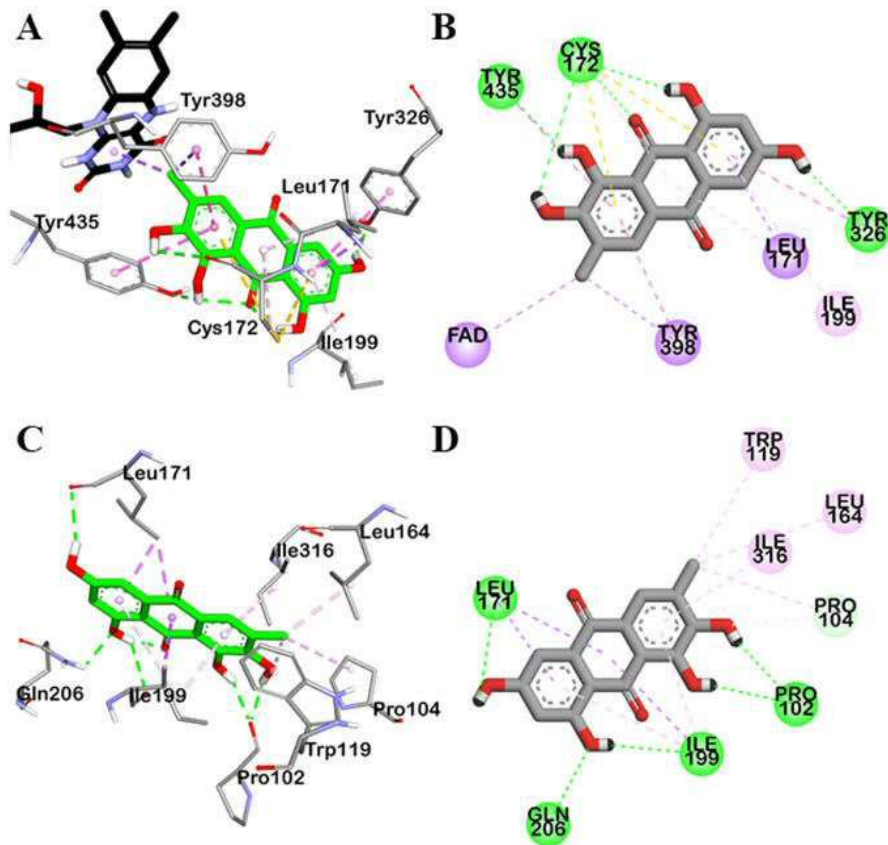
도면3



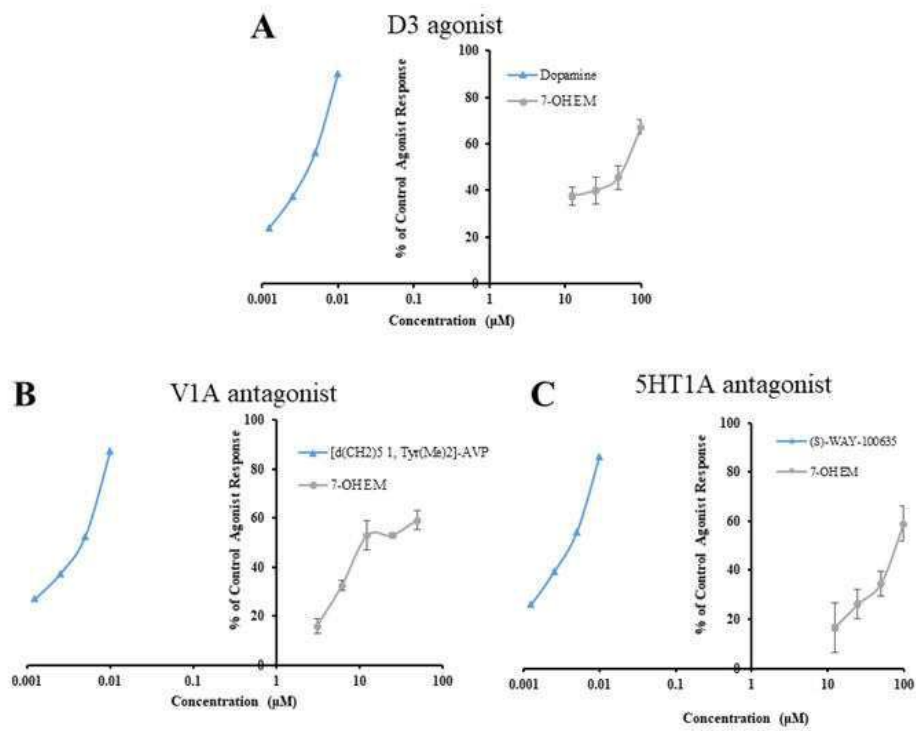
도면4



도면5



도면6



도면7

