



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0008606
(43) 공개일자 2017년01월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/16 (2006.01) A61K 31/4025 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01) A61K 36/31 (2006.01)
A61K 47/34 (2017.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/16 (2013.01)
A61K 31/4025 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0099982

(22) 출원일자 2015년07월14일
심사청구일자 2015년07월14일

(71) 출원인

건양대학교산학협력단
충청남도 논산시 대학로 121 (내동)

(72) 발명자

김좌진
대전광역시 서구 관저북로51번길 24-20 엘리트
401호

정지훈

대전광역시 서구 구봉로147번길 95, 204호

박동호

대전광역시 서구 봉우로56번길 23-19, 302호

(74) 대리인

김대영

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 인돌-3-카비놀을 유효성분으로 함유하는 신경세포 보호용 나노입자 조성물의 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 인돌-3-카비놀 유도체 및 생분해성 고분자를 포함하는 나노 입자 조성물 및 이의 제조방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/404 (2013.01)

A61K 36/31 (2013.01)

A61K 47/34 (2013.01)

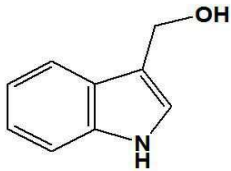
명세서

청구범위

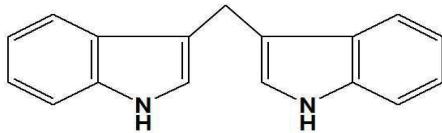
청구항 1

하기 [화학식 1] 내지 [화학식 3] 중 어느 하나로 표시되는 인돌-3-카비놀 유도체 및 생분해성 고분자를 포함하는 나노 입자 조성물.

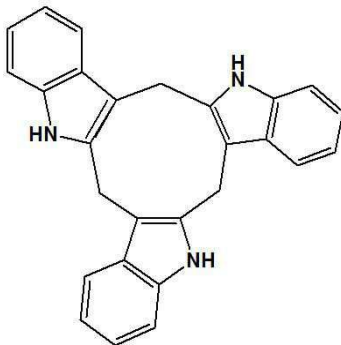
[화학식 1]



[화학식 2]



[화학식 3]



청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 생분해성 고분자는 polydioxanone, poly(β -hydroxybutyrate), poly(hydroxyvalerate), poly(ϵ -caprolactone), poly(lactic acid), poly(glycolic acid), poly(DETOSU-1,6 HD-t-CDM ortho ester), poly(DET carbonate), poly(methyl 2-cyanoacrylate), poly[(p-methyl phenoxy)(ethyl glycinate)phosphazene] 중 선택되는 어느 하나 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 나노 입자 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 인돌-3-카비놀 유도체는 십자화과 식물의 추출물 또는 분획물에 포함된 것을 특징으로 하는 나노 입자 조성물.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 십자화과 식물은 양배추, 브로콜리, 컬리플라워, 브루셀 스프라우트 중에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 나노 입자 조성물.

청구항 5

(1) 인돌-3-카비놀 유도체 및 생분해성 고분자를 혼합하는 단계;

(2) 유기용매 및 폴리비닐알코올을 투입 후, 아이스베스에서 용해하여 나노입자 제조 단계; 및

(3) 상기 (2) 단계에서 얻어진 나노입자를 EP-tube에 옮겨 세포배양배지에 용해 후 계면활성제를 추가 투입하여 표면이 코팅된 나노 입자 제조 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 나노 입자 조성물 제조방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 (3) 단계 이후, (4) 흥분독성에 따른 세포 생존율을 분석 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 나노 입자 조성물 제조방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 흥분독성은 글루타메이트인 것을 특징으로 하는 나노 입자 조성물 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인돌-3-카비놀 유도체(Indole-3-carbinol, I3C)를 유효성분으로 포함하는 신경세포 보호용 나노입자 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 일반적으로 뇌졸중 (중풍, 발작)은 뇌혈류의 갑작스런 차단 혹은 외상 등에 의한 두 개강 내 뇌동맥 부위의 출혈로 인하여 뇌실질조직 및 지주막하강내로의 출혈로 인해 유발된 국소성의 신경장애를 일으키는 질환으로, 후속적인 뇌기능의 결손 및 대응하는 신경적 증상 및 정신적 증상을 수반하는 질환이다. 이러한 뇌졸중의 약 75%는 뇌동맥 부위의 폐색에 의해, 약 11%는 뇌출혈에 의해, 약 5%는 지주막하강 출혈에 의해 야기되는 것으로 보고되었다 (Boulton 등, Neurom ethods, Vol.22 (1992)). 전세계적으로 해마다 많은 뇌졸중 환자가 발생하고, 이들 중 약 1/3 정도가 사망하고 있으나, 허혈성 뇌졸중 치료제의 개발은 미흡한 실정이다.

[0003] 상기 필요에 따라서 뇌졸중 치료에 대한 연구가 진행된 결과, 지금까지 FGF (basic fibroblast growth factor)등과 같은 신경영양성 인자 (neurotrophic factor), NMDA (N-methyl-D-aspartate) 또는 non-NMDA 수용체 길항제, 21-아미노스테로이드 (21-aminosteroid)와 같은 라자로이드 (lazaroid)계통의 약물, 유리라디칼 스캐빈저 (free radical scavenger), 나이트릭 옥사이드 (nitric oxide) 억제제, 인터루킨-1, 9 억제제, NMDA 수용체 부위에 존재하는 폴리아민 결합부위의 억제제, 글루타메이트 수용체에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드 (antisense oligonucleotide), 저체온 또는 강글리오사이드 (ganglioside) 등이 뇌졸중의 치료에 효과가 있는 것으로 밝혀졌다. 그 중, 흥분성 아미노산 수용체인 NMDA, non-NMDA는 허혈성 뇌졸중, 지연성 발작, 저혈당 또는 저산소 유발성 허혈 및 급성 뇌외상 등으로 인하여 야기된 신경세포의 손상과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다.

[0004] 한편, 뇌졸중과 같은 뇌질환에서 나타나는 신경세포의 사멸은 신경전달 물질인 글루타메이트(glutamate)에 의하여 유발된다. 정상 상태에서는 적정 농도로 분비되는 글루타메이트가 신경 전달 물질로서의 기능을 수행하지만 비정상적인 상태, 즉 뇌허혈 상태에서는 과잉 발현되어 신경세포의 사멸을 유발하는 흥분독성 (excitotoxicity)을 일으켜 결국 뇌졸중과 같은 병적인 상태를 유발한다. 즉, 뇌졸중으로 인하여 신경세포는 글루타메이트를 과다 분비하고 이는 NMDA 수용체 및 non-NMDA 수용체와 연계된 이온채널을 활성화시켜 세포밖의 Ca^{2+} 을 세포 내로 유입시킴으로써, 신경세포를 죽음에 이르게 하는 것으로 알려져 있다. 흥분독성은 과잉 발현된 글루타메이트

가 신경세포에 존재하는 글루타메이트-수용체 (glutamate-receptor, NMDA 및 AMPA/Kainate receptor)를 활성화시키고, 활성화된 이들 수용체를 통하여 세포 내부로 다량의 Ca^{2+} 가 유입됨으로써 발생된다. 즉, 다유입된 세포 내의 Ca^{2+} 이온은 세포 내의 phospholipase A 2 (PLA2), nitric oxide synthetase (NOS), protease, endonuclease 등의 Ca^{2+} 의존성 효소들을 활성화시키고 활성화된 이들 효소는 세포 내에 과산화물 (superoxide), 수산기 (hydroxyl radical)와 같은 활성 산소(active oxygen)를 과다하게 생성하여 세포 내의 산화, 환원 균형을 깨트리고, 결국 이러한 활성 산소에 의하여 DNA, 단백질, 지질 등이 비선택적으로 파괴되어 신경세포가 사멸하게 되는 것이다.

[0005] 식물성 항암 성분인 인돌-3-카비놀(Indole-3-carbinol, I3C)은 브로콜리, 양배추 등의 십자화과 식물에서 추출한 화학적 혼합물로 구조식은 $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}$ 이고 분자량은 147.17이다. 인돌-3-카비놀은 인돌그룹의 부속물로 회색빛이 도는 흰색의 고체이며 절단, 분쇄, 저장과 같은 분해과정 혹은 조리과정 및 생체 내 효소에 의해 생성된다. 효소 미로시나제(myrosinase)에 의해 전구체인 인돌-3-글루코시놀레이트(indole-3-glucosinolate)로부터 만들어진다.

[0006] 신경세포 보호용 조성물에 대한 종래의 기술로는 공개특허 특2000-0008399호(2000.02.07.)에서는 약용식물인 현삼을 추출 및 분획하여 신경세포 보호활성을 가지는 현삼 추출물을 제조하고 이를 이용하여 칼럼크로마토그래피 및 재결정함으로 활성물질을 신나메이트 유도체를 분리, 정제하는 기술을 제공한다. 하지만 신나메이트 유도체 제조 공정이 여러 단계를 거쳐야 하는 문제점이 있으며, 신경독성으로부터 신경세포를 보호하는 활성수치가 낮아 신경세포 보호용 조성물 개발의 필요성은 지속적으로 요구되고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 특2000-0008399호(2000.02.07.)

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Neurom ethods, Vol.22 (1992)

발명의 내용

해결하려는 과제

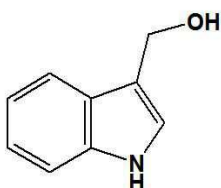
[0009] 본 발명은 십자화과 식물에서 추출한 천연물질인 인돌-3-카비놀과 생분해성 고분자를 포함하는 나노 입자를 제조하는 방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 신경세포 보호용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

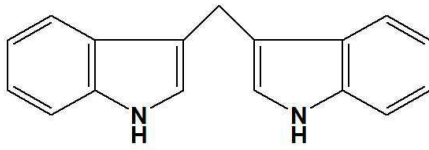
[0011] 본 발명에서 하기 [화학식 1] 내지 [화학식 3] 중 어느 하나로 표시되는 인돌-3-카비놀 유도체와 생분해성 고분자를 포함하는 나노 입자 조성물을 제공한다.

[0012] [화학식 1]



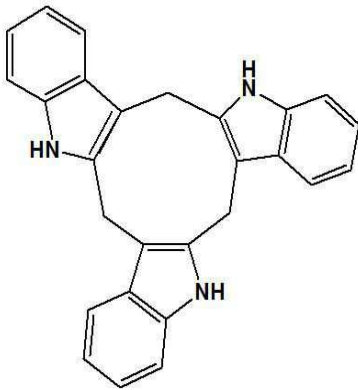
[0013]

[0014] [화학식 2]



[0015]

[0016] [화학식 3]



[0017]

[0018] 일 실시예로, 상기 생분해성 고분자는 polydioxanone, poly(β -hydroxybutyrate), poly(hydroxyvalerate), poly(ϵ -caprolactone), poly(lactic acid), poly(glycolic acid), poly(DETOSU-1,6 HD-t-CDM ortho ester), poly(DET carbonate), poly(methyl 2-cyanoacrylate), poly[(p-methyl phenoxy)(ethyl glycinato)phosphazene] 중 선택되는 어느 하나 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0019] 일 실시예로, 상기 인돌-3-카비놀 유도체는 십자화과 식물의 추출물 또는 분획물에 포함된 것일 수 있다.

[0020] 일 실시예로, 상기 십자화과 식물은 양배추, 브로콜리, 컬리플라워, 브루셀 스프라우트 중에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0021] 본 발명은 (1) 인돌-3-카비놀 유도체 및 생분해성 고분자를 혼합하는 단계; (2) 유기용매 및 폴리비닐알코올을 투입 후, 아이스베스에서 용해하여 나노입자 제조 단계; 및 (3) 상기 (2) 단계에서 얻어진 나노입자를 EP-tube에 옮겨 세포배양배지에 용해 후 계면활성제를 추가 투입하여 표면이 코팅된 나노 입자 제조 단계의 나노 입자 조성물 제조방법을 제공한다.

[0022] 일 실시예로, 상기 (3) 단계 이후, (4) 흥분독성에 따른 세포 생존율을 분석 단계를 포함할 수 있으며, 상기 흥분독성 물질은 글루타메이트일 수 있다.

발명의 효과

[0023] 본 발명은 인돌-3-카비놀 유도체 및 생분해성 고분자를 유효성분으로 포함하는 신경세포 보호용 나노입자의 조성물 및 이의 제조방법을 제공한다.

[0024] 또한 본 발명의 나노입자는 흥분독성으로부터 신경세포를 보호하는 활성을 지님으로서 뇌졸중 및 치매 등의 퇴행성 신경계 질환의 예방이나 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 나노 입자의 전자현미경(TEM)을 도시한 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 나노 입자의 FT-IR을 도시한 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 나노입자를 처리하여 세포생존율을 도시한 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 나노입자를 처리하여 도립 현미경 및 세포생존율을 도시한 것이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 나노입자를 처리하여 활성산소를 분석한 것이다.

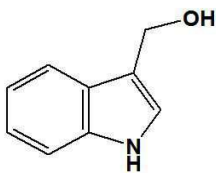
도 6은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 나노입자를 처리하여 신경세포 손상 정도에 관해 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 본 발명을 용이하게 실시할 수 있는 바람직한 실시 예를 포함한 발명의 구성을 상세히 설명한다. 본 발명의 각 도면에 있어서, 구조물들의 사이즈나 치수는 본 발명의 명확성을 기하기 위하여 실제보다 확대하거나 축소하여 도시한 것이고, 특징적 구성이 드러나도록 공지 구성들은 생략하여 도시하였으므로 도면으로 한정하지는 아니한다. 본 발명의 바람직한 실시 예에 대한 원리를 상세하게 설명함에 있어 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략한다.

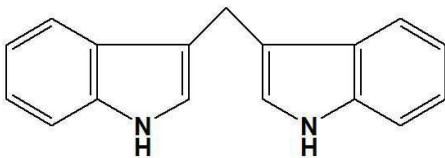
[0027] 본 발명의 나노 입자 조성물은 하기 [화학식 1] 내지 [화학식 3] 중 어느 하나로 표시되는 인돌-3-카비놀 유도체와 생분해성 고분자를 포함할 수 있다.

[0028] [화학식 1]



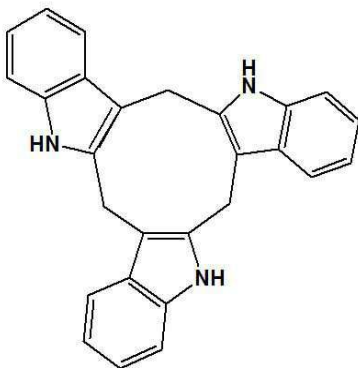
[0029]

[0030] [화학식 2]



[0031]

[0032] [화학식 3]



[0033]

[0034] 여기서, 상기 인돌-3-카비놀 유도체는 바람직하게는 화학식 1일 수 있으며, 인돌-3-카비놀 유도체가 상기 화학식 1 내지 화학식 3에 한정되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명에서 상기 생분해성 고분자는 polydioxanone, poly(β -hydroxybutyrate), poly(hydroxyvalerate), poly(ϵ -caprolactone), poly(lactic acid), poly(glycolic acid), poly(DETOSU-1,6 HD-t-CDM ortho ester), poly(DET carbonate), poly(methyl 2-cyanoacrylate), poly[(p-methyl phenoxy)(ethyl glycinate)phosphazene] 중 선택되는 어느 하나 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 바람직하게는 poly(D,L-lactic acid) 또는 poly(D,L-lactic-co-glycolic acid)의 공중합체일 수 있고, 보다 바람직하게는 poly(D,L-lactic-co-glycolic acid)의 공중합체일 수 있다.

[0036] 본 발명에서 상기 인돌-3-카비놀 유도체는 십자화과 식물의 추출물 또는 분획물에 포함된 것일 수 있다.

여기서, 상기 십자화과 식물은 양배추, 브로콜리, 콜리플라워, 브루셀 스프라우트 중에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으며, 이에 한정된 것은 아니다.

[0037] 본 발명은 (1) 인돌-3-카비놀 유도체 및 생분해성 고분자를 혼합하는 단계, (2) 유기용매 및 폴리비닐알코올을 투입 후, 아이스베스에서 용해하여 나노입자 제조 단계 및 (3) 상기 (2) 단계에서 얻어진 나노입자를 EP-tube에 옮겨 세포배양배지에 용해 후 계면활성제를 추가 투입하여 표면이 코팅된 나노 입자 제조 단계의 나노 입자 조성물 제조방법을 제공한다.

[0038] 상기 (1) 단계에서 인돌-3-카비놀 유도체와 생분해성 고분자는 질량대비 1:0.05 내지 1:0.5로 혼합될 수 있다.

[0039] 또한, 상기 (3) 단계에서 계면활성제는 비이온성 계면활성제일 수 있으며, 예로는 Tween-20(polyoxyethylene(20) sorbitan monolaurate), Tween-40(polyoxyethylene(20) sorbitan monopalmitate) 및 Tween-80(polyoxyethylene(20) sorbitan monooleate)일 수 있고, 바람직하게는 Tween-80(T80)일 수 있다.

[0040] 본 발명은 상기 (3) 단계 이후, (4) 흥분독성에 따른 세포 생존율을 분석 단계를 포함할 수 있으며, 여기서 상기 흥분독성은 글루타메이트일 수 있다.

[0041] 상기 글루타메이트는 일반적으로 중추신경계에서 중심적인 흥분성 신경전달물질로 중추신경계의 15~20%를 차지하는 신경전달물질로 NMDA(N-methyl-D-aspartate)수용기, AMPA(Alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoazole-4-propionic acid)수용기, 카이네이트(Kainate) 수용기, 대사성 글루타메이트 수용기(metabotropic glutamate receptor)의 네 가지 수용기를 자극할 수 있다.

[0042] 본 발명은 상기 글루타메이트만을 처리한 세포 및 본 발명에 제조방법에 의해 제조된 나노 입자가 처리된 세포를 비교함으로써 글루타메이트의 양에 따른 신경세포의 사멸 정도를 제공한다.

[0043] 이하, 본 발명을 실시예를 통해 자세히 설명한다.

[0044] (실시예)

[0045] 실시예 1. 나노입자 제조

[0046] PLGA 50 mg, I3C(10% ww/of polymer) 5 mg를 2.5ml 에틸아세테이트와 혼합 후 5분 동안 소니케이션하여 유기상을 얻는다. 이후, PVA(50 mg in 5 ml; 1% w/v)가 포함된 수상 5 ml를 투입하여 W/O 에멀전(oil/water emulsion)화한 후, 아이스베스에서 10초간 3회 소니케이션한다. 얻어진 유기용제를 EP-tube에 1ml 옮겨 담은 후, 24시간 동안 이베포레이션하여 I3C-PLGA-nanoparticle을 얻는다.

[0047] 이후, DMEM 1ml를 투입하여 용해한 후 4% Tween80을 투입 후 5분 동안 소니케이션하여 I3C-PLGA-T80-NPs 형태의 나노입자를 제조하였다.

[0048] 실시예 2. 세포배양 및 흥분독성의 유도

[0049] PC12(Korean Cell Line Bank, Korea)세포를 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), 10% (v/v) 열-불활성화 우혈청(heat-inactivated fetal bovine serum, FBS), 페니실린을 5% CO₂, 37 °C 온도, 습한 분위기에서 배양하였다. PC12세포는 실시예 1에서 제조된 나노 입자에 6시간 동안 전처리한 후, 5 mM 글루타메이트를 첨가하여 12시간 동안 배양하여 전처리한다.

[0050] (실험예)

[0051] 1. 나노 입자의 분석

[0052] 본 발명의 실시예 1에서 얻어진 나노 입자의 크기, 표면상태 등의 분석은 TEM(H-7650, Hitachi, Japan)을 사용하여 분석하였으며, 이는 도 1에 나타났다.

[0053] 본 발명의 도 1에서 알 수 있듯이, 나노 입자는 균일한 형태의 구형이며, 평균 입자크기가 61 nm인 것을 확인할 수 있으며, 도 2를 통해 FT-IR 분석결과를 확인할 수 있다.

[0054] 2. 세포 분석

[0055] 세포 생존율 분석

[0056] PC12 세포는 96-well 배양접시에 well 당 세포 1×10⁴의 밀도로 도포하여 5% CO₂, 37 °C에서 24시간 배양한다.

이후, 실시예 1에서 얻어진 나노입자를 처리하고, MTT 용액을 더하여 37℃에서 4시간 추가 배양한다. 배양액을 제거한 후, 용해되지 않은 청색의 포르마잔 결정은 DMSO(dimethyl sulfoxide) 100 μ l를 추가하여 용해한다.

[0057] 이후, 540 nm에서 흡광도를 측정(ELx800uv microplate reader, Bio-tek Instruments, Inc.)하며, 결과는 도 3에 나타났다. 도 3을 통해 나노입자의 농도가 25 μ g/ml인 경우 세포 생존율이 가장 우수한 것을 확인할 수 있다.

[0058] 형태학적 분석

[0059] 96-well 배양접시에 well 당 세포 1×10^5 의 밀도로 도포 후 5% CO₂, 37 °C에서 성장시킨다. 이후, PC12 세포에 실시예 1에서 얻어진 나노입자를 25 μ g/ml 농도로 전처리하여, 5 mM 글루타메이트와 12시간 배양한다. 이후 세포는 4% 파라폼알데하이드(Paraformaldehyde)로 고정한 후, PBS 버퍼용액으로 세척하여 도립현미경(Olympus CKX41)으로 분석하였으며, 도 4에 나타났다.

[0060] 본 발명의 도 4 (A) 및 도 4 (B)를 통해 글루타메이트(Glu)의 경우에 비해 I3C-PLGA-T80-NPs 형태의 나노입자가 포함된 경우 세포 생존율이 높게 나타나는 것을 확인 할 수 있다. 결과적으로 글루타메이트만 사용된 경우 신경 세포가 과하게 흥분하여 괴사하여 세포 생존율이 낮게 나타나며, 나노입자를 처리한 경우 글루타메이트와 같은 흥분독성으로부터 세포괴사를 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

[0061] 활성산소(ROS) 분석

[0062] 활성산소 분석은 디하이드로에티디움(dihydroethidium, DHE)분석을 통해 측정되었다. 세포를 도포 후, 상기 실시예 1에서 얻어진 나노입자를 처리 후, 글루타메이트로 흥분독성을 유도하고, 디하이드로에티디움과 5% CO₂, 37 °C에서 30분 동안 배양 후, Krebs-Hepes 버퍼로 세척한다. 이후, FACSCalibur system(BD Biosciences)을 통해 분석하며, 이는 도 5를 통해 확인할 수 있다.

[0063] 본 발명에서 도 5는 글루타메이트만 존재하는 경우보다 I3C-PLGA-T80-NPs 형태의 나노입자를 처리한 경우 활성산소가 낮게 나타나는 것을 알 수 있다. 결과적으로 나노입자의 산화방지 특성으로 인해 활성 산소종의 수치를 낮출 수 있으며, 이는 세포 손상 및 사멸을 예방할 수 있는 것으로 사료된다.

[0064] Western Blot 분석

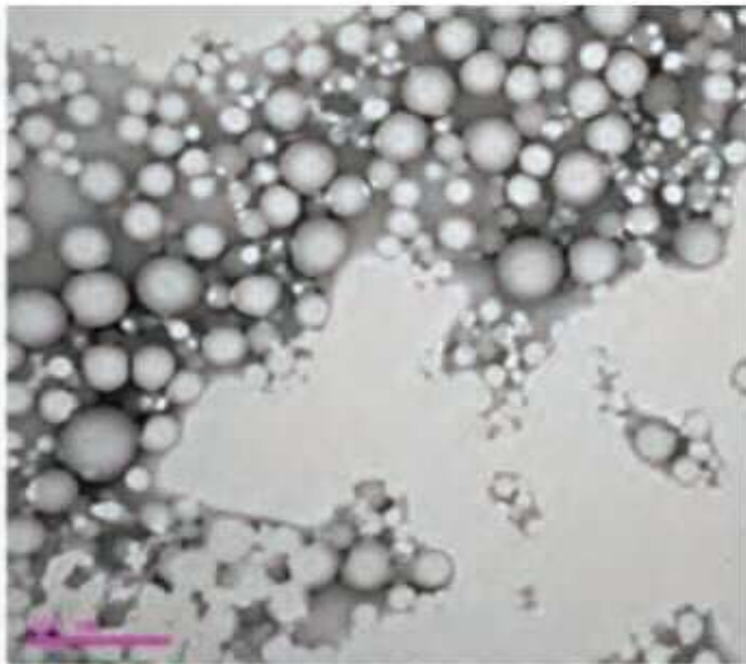
[0065] 세포를 도포 후 실시예 1의 나노입자 25 μ g/ml 를 처리한 후, 채취하여 PBS로 2회 세척한다. 단백질을 차가운 PRO-PREP™ (iNtRON, Seongnam, Korea) 버퍼 20 μ l에 용해되어 수집 후, 단백질의 상등부의 농도를 측정하였다. 단백질의 부분 표본 30 μ g/lane는 SDS-PAGE (10-15%)에 의해 분리되고, 이후 폴리비닐리덴플루오라이드(polyvinylidene fluoride, PVDF) 막으로 옮긴 후, 막은 5% 무지분유로 블로킹(blocking)하였다. 일차항체로 caspase-3(또는 caspase-8) (1:1000)를 사용하여 4 °C에서 24시간 반응하였다. 이후 3차례 0.1% Tween 20이 포함된 TBS (Tris-buffered saline)로 세척하고 horseradish peroxidase (anti-rabbit IgG 1:2000)가 결합된 이차 항체로 실온에서 2시간 반응시켰다. 이후 T/TBS로 3회 세척하였다.

[0066] 본 발명의 도 6은 Western Blot 분석결과를 나타낸 것으로, 글루타메이트를 흥분독성(excitotoxicity)으로 사용하였으며, 나노입자를 세포에 전처리한 후, 5 mM 글루타메이트에 12 시간동안 노출 후 분석하였다.

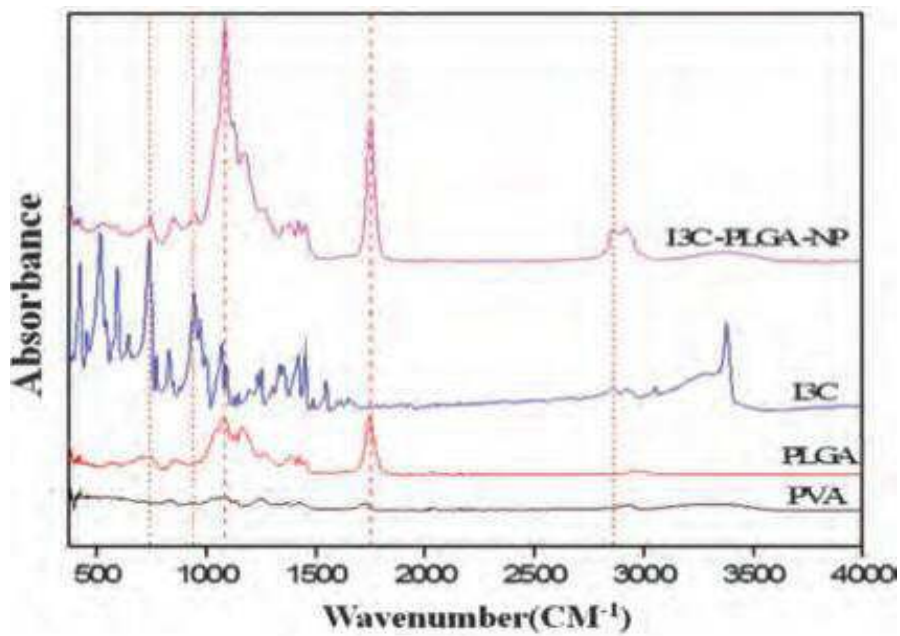
[0067] 도 6(a)를 통해 세포에 나노입자를 처리한 군의 caspase-3 및 caspase-8의 활성은 글루타메이트만을 처리한 경우보다 나노입자가 처리된 경우 활성이 낮은 것을 확인할 수 있으며, 결과적으로 나노입자 처리된 세포의 경우 카스페이스(caspase)의 활성을 억제함으로써 글루타메이트를 처리하더라도 세포 독성으로부터 신경세포 손상을 예방하는 것으로 사료된다.

도면

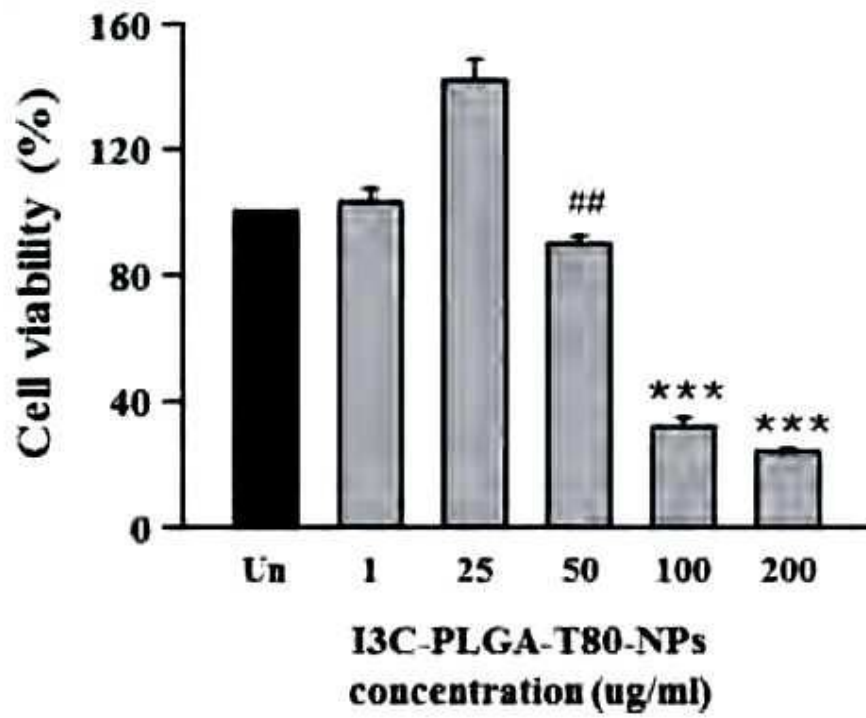
도면1



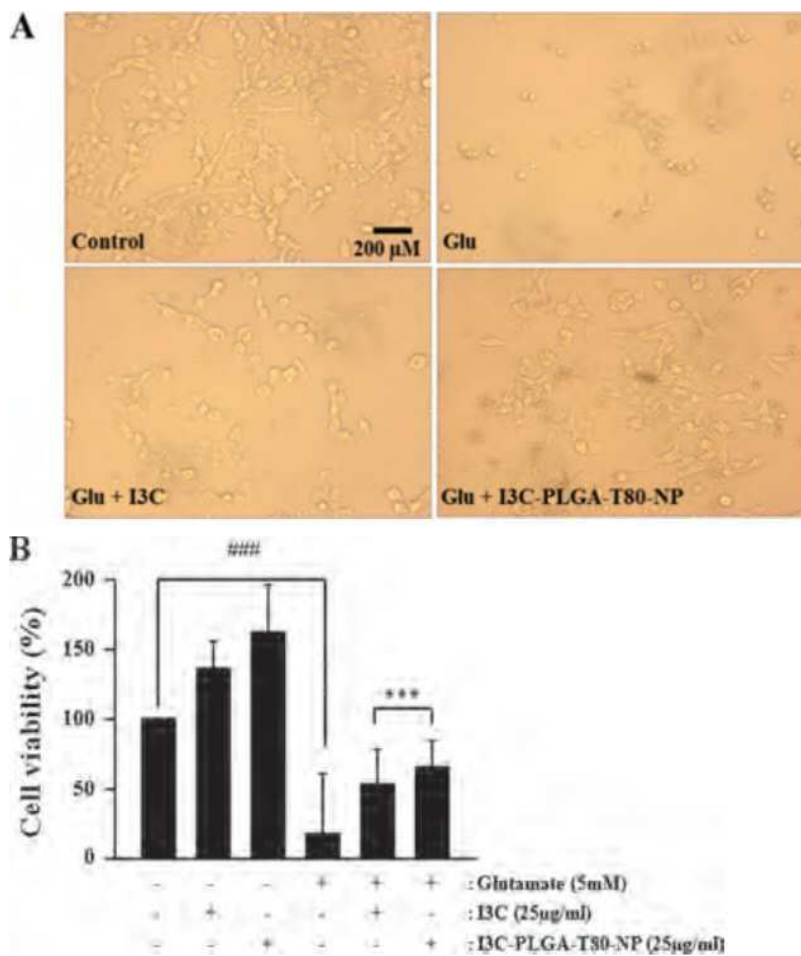
도면2



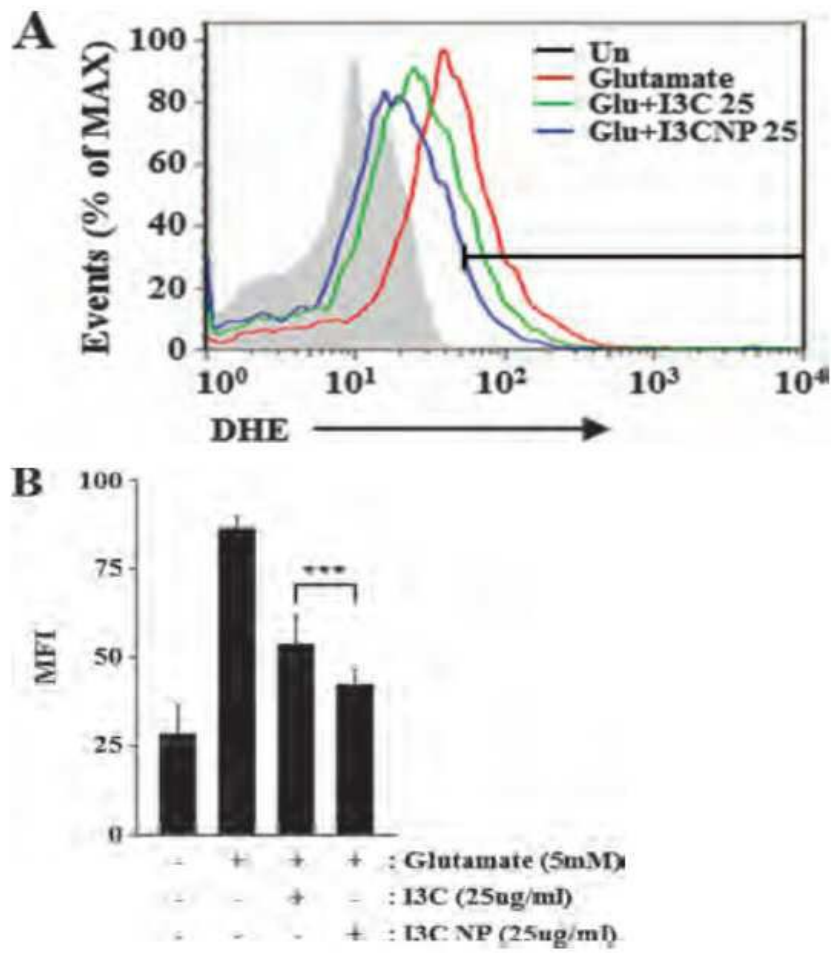
도면3



도면4



도면5



도면6

