(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0029568
(43) 공개일자 2018년03월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 33/00 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61K 31/28 (2006.01) *A61K 33/24* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 33/00 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0117788
(22) 출원일자 2016년09월13일
심사청구일자 2017년08월31일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
정헌택
울산광역시 울주군 범서읍 장검길 88, 109동 1801호 (울산 문수산 더샵)
조연수
울산광역시 울주군 언양읍 북문11길 9, 107동 1301호 (신울산 경남아너스빌)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 7 항

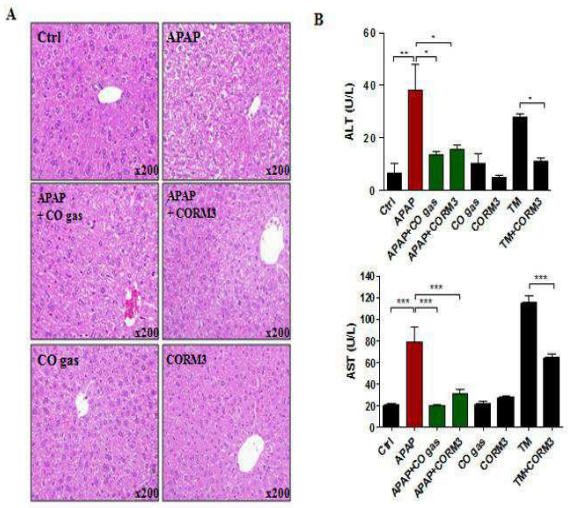
(54) 발명의 명칭 **일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명의 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 아세트아미노펜에 의한 간 조직 손상을 회복시키고 간 손상인자인 ALT 및 AST를 감소시키며, p38 인산화를 증가시킴으로써 세포사멸 유도인자인 CHOP의 발현을 감소시킬 수 있다.

따라서, 상기와 같은 효과를 갖는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물, 간 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 간 독성 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/28 (2013.01)
A61K 33/24 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/30 (2013.01)
Y10S 514/893 (2013.01)

(72) 발명자
진영경
울산광역시 중구 화합로 407, 신울산고시텔 404호
박혁준
경상남도 창원시 마산회원구 회원동29길 34
박정민
울산광역 남구 수암로 315-2

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2016-0657
부처명 미래부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 바이오의료기술개발사업
연구과제명 바이오활성가스를 이용한 염증성 대사질환제어 원천기술 개발(3)
기 여 율 1/1
주관기관 울산대학교
연구기간 2016.09.01 ~ 2017.08.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소는 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 발생하는 것을 특징으로 하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 아세트아미노펜에 의한 간 조직의 손상을 회복시키고, 알라닌 아미노트랜스퍼라아제(ALT) 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라아제(AST)의 양을 감소시키는 것을 특징으로 하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 p38 인산화를 증가시키고, 세포사멸 유도인자인 CHOP의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 6

일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 간 질환은 급성 간부전(fulminant hepatic failure), 간 괴사(liver necrosis), 신경독소(nephrotoxicity) 및 간경화(liver cirrhosis)인 것을 특징으로 하는 아세트아미노펜 유도 간 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 1950년대 미국에서 개발되어 타이레놀로 잘 알려진 아세트아미노펜(Acetaminophen, AP)은 진통 및 해열제로 세계에서 가장 보편적으로 사용되는 약물의 일종으로 그 화학명칭은 N-아세틸-p-아미노페놀(N-acetyl-p-aminophenol)이고, 파라세타몰(paracetamol)이라고도 불린다. 아세트아미노펜은 체중 1 kg당 하루 150 mg까지, 성인의 경우 하루에 최고 4 g까지 경구 투여 가능하다고 알려져 있어, 의사의 처방이 없어도 구입할 수 있는 안전한 일반의약품으로 분류되어 있다. 그러나 아세트아미노펜은 과량 복용하면 급성 간부전(fulminant hepatic failure), 간 괴사(liver necrosis), 신경독소(nephrotoxicity), 간 경화(liver cirrhosis)를 초래해 심할 경우 사망에 이르기도 하는 양면성을 가진 물질이다. 사람에 있어 아세트아미노펜에 의한 간 독성은 1960년경 처음 보고 되었고, 최근 선진국에서는 급성 간 부전 환자의 40%가 아세트아미노펜의 과량 복용이 원인이었다. 실제로 미국과 영국에서는 약물에 의한 간질환 원인 중에서 가장 우위를 차지하고 있는 것이 아세트아미노펜에 의한 간 손상이라고 한다. 이에, 미국식품의약청(FDA)은 2009년 아세트아미노펜이 간 손상을 초래할 수 있는 잠재적 위험에 대한 경고를 제품 라벨에 포함하도록 결정하였으며, 전문가 그룹의 보고서에서 과량 복용을 방지하기 위한 조처로 일반의 약품에서 의사의 처방이 필요한 전문의약품으로 전환할 것과 성인 1회 섭취량을 현행 1g에서 0.65g으로 줄일 것, 하루 최다 섭취량 기준을 현행 4g에서 3.25g으로 강화할 것, 제품 라벨에 간부전 등 간의 부작용을 알리는 강한 경고 문구를 넣을 것 등을 권고하였다.

[0003] 아세트아미노펜 투여에 의한 간 손상 모델로는 마우스와 햄스터가 잘 알려져 있고, 인체에서도 비슷한 현상이 보고되고 있다. 게다가 알코올을 함께 흡수할 경우 간 독성의 피해가 더욱 심각하게 나타나 미국식품의약청은 1998년에 매일 세 잔 이상 정기적으로 술을 마시는 사람은 간 독성이 유발될 수 있으니 이 약을 복용해야 할 경우 반드시 의사와 상의해야 한다는 사실을 의무적으로 알리도록 하였다. 최근에 이러한 아세트아미노펜의 간 독성을 제거 및 완화시킬 수 있는 약물을 발굴하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0004] 인간 적혈구의 수명은 약 120일(생쥐 60일)로 전 적혈구의 약 0.8%가 매일 사라진다. 노후된 적혈구는 비장, 간장 및 골수의 세망내피계세포나 마크로파지에 의해서 제거되는데, 이때 헤모글로빈은 글로빈과 색소 부분인 헴으로 나누어지고 헴은 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 분해된다. 헴 옥시게나제-1은 산화에 의하여 b-형 헴 분자의 α-메소 탄소 가교를 절단하여 동일 몰량의 빌리베르딘 IXa, 일산화탄소(CO) 및 유리 철을 생성시킨다. 이후, 빌리베딘은 빌리베딘 리덕타제에 의해 빌리루빈(bilirubin)으로 전환되어 담즙으로 배설되고, 유리 철은 페리틴(ferritin) 내로 격리된다는 이론이 1940년에 확립되었다.

[0005] 헴 옥시게나제-1에 의해 발생되는 일산화탄소는 생체 내에서 중요한 신호 분자로서 밝혀진 바 있으며, 특히, 일산화탄소는 뇌 뉴런의 메신저 분자로서, 시상하부 내의 신경-내분비 조절인자로서 작용한다는 내용이 보고된 바 있다. 또한, 일산화탄소는 평활근 이완제로 작용하고, 혈소판 응집을 억제하는 활성이 있으며, 저농도의 일산화탄소 흡입은 항산화 및 항염증에 효과가 있는 것이 보고된 바 있다. 또한, 최근에는 당 혹은 지방대사에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으나, 아직까지 정확한 기전은 밝혀진 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제 10-2009-0089867호 (2009. 08. 24 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 데에 있다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 데에 있다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명의 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 아세트아미노펜에 의한 간 조직 손상을 회복시키고 간 손상인자인 ALT 및 AST를 감소시키며, p38 인산화를 증가시킴으로써 세포사멸 유도인자인 CHOP의 발현을 감소시킬 수 있다.

[0013] 따라서, 상기와 같은 효과를 갖는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물, 간 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 간 독성 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1A는 마우스 동물모델의 간 조직 이용하여 아세트아미노펜에 의한 간 손상이 일산화탄소 또는 CORM-2에 의해 회복되는 것을 헤마톡실린 & 에오신 염색으로 확인한 것이다.

도 2는 마우스 동물모델의 간 조직 이용하여 일산화탄소에 의한 CHOP의 유전자 발현량과 단백질 발현량을 각각 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)과 면역블랏법(immunoblot)으로 확인한 것이다.

도 3A는 마우스 간 세포주인 AML12 세포에서 아세트아미노산에 의한 세포 생존율 감소가 CORM-2에 의해 증가하는 것을 MTT 분석으로 확인한 것이며, 도 3B는 CORM-2에 의해 인산화된 p38 단백질의 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 것이며, 도 3C는 p38 인산화 억제제인 SB203580를 이용하여 CORM-2에 의한 세포 생존율과 CHOP 단백질의 발현량을 각각 MTT 분석과 웨스턴 블랏으로 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명에서 발명자들은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체가 아세트아미노펜에 의한 간 조직의 손상을 회복시키고 ALT 및 AST를 감소시켰으며, p38 인산화를 증가시킴으로써 세포사멸 유도인자인 CHOP의 발현을 감소시키는 것을 확인하며 본 발명을 완성하였다.

[0017] 본 발명에서 사용된 용어 “예방”은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체에 의해 간 독성 또는 간 질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0018] 본 발명에서 사용된 용어 “치료”는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체에 의해 간 독성 또는 간 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0019] 본 발명에서 사용된 용어 “일산화탄소(CO)"는 액체 형태로 압출된 또는 수용액에 용해된 기체상인 분자 일산화탄소로 정의할 수 있으며, “일산화탄소를 포함하는 조성물”은 이를 필요로 하는 개체에 처리 또는 투여될 수

있는 일산화탄소를 함유하는 기체 또는 액체 조성물을 의미한다.

[0020] 본 발명에서 사용된 용어 “소포체(endoplasmic reticulum)”는 리보좀이 붙어있는 조면 소포체(rough ER, RER)와 활면 소포체(smooth ER, SER)가 존재한다. 조면 소포체는 단백질 합성이 주된 기능이며 세포 내 단백질의 약 1/3이 조면 소포체에서 합성이 된다. 그러나 활면 소포체는 대부분의 세포에서 발견되며, 다양한 지질과 스테로이드 호르몬을 합성하고 칼슘 저장소로 세포 내 칼슘 농도를 조절하는데 중요한 역할을 하게 된다. 여러 가지 생리적 또는 병리적인 상태에 의해 소포체 내에 칼슘 항상성, 당단백질의 당화과정(glycosylation) 또는 이황화 결합(disulfide bond) 형성 등이 제대로 이루어지지 않았을 때 단백질 접힘(folding)이 제대로 일어나지 않게 되고, 이 때 소포체가 처리할 수 있는 능력 이상의 unfolded 단백질이 축적되거나 칼슘이 고갈되어 소포체의 기능 손상이 발생하는데 이러한 상태를 소포체 스트레스(ER stress)라고 한다.

[0022] 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0023] 바람직하게는, 상기 일산화탄소는 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 발생하는 것일 수 있다.

[0024] 바람직하게는, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 아세트아미노펜에 의한 간 조직의 손상을 회복시키고, 알라닌 아미노트랜스퍼라아제(ALT) 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라아제(AST)의 양을 감소시킬 수 있다.

[0025] 바람직하게는, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 p38 인산화를 증가시키고, 세포사멸 유도인자인 CHOP의 발현을 감소시킬 수 있다.

[0027] 또한, 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0028] 바람직하게는, 상기 간 질환은 급성 간부전(fulminant hepatic failure), 간 괴사(liver necrosis), 신경독소(nephrotoxicity) 및 간경화(liver cirrhosis)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0030] 본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있는데, 이러한 약제학적으로 허용되는 담체는 약품 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 약학 조성물은 첨가제 및 보조제로서 충진제, 중량제, 결합제, 윤활제, 습윤제, 붕해제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 방향제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0031] 상기 약학 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 유제, 동결건조제제, 좌제 및 멸균 주사용액으로 제형화할 수 있다.

[0032] 상기 약학 조성물은 증상 정도에 따라 투여 방법이 결정되는데, 정맥내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여, 근육내 투여, 흉골내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 안구내 투여, 직장 내 투여, 국소 투여, 경구 투여 및 흡입을 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

[0033] 상기 약학 조성물의 유효성분의 유효량은 질환의 예방 또는 치료 요구되는 양을 의미한다. 따라서, 질환의

종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있으나, 이에 제한 되는 것은 아님을 명시한다.

[0035] 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn_2CO_{10}; manganese decacarbonyl), CORM-2($Ru(CO)_3Cl_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($Ru(CO)_3Cl$(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($Na_2(H_3BCO_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 아세트아미노펜 유도 간 독성 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0037] 상기 건강식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강식품 조성물은 상기 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0038] 상기 건강식품 조성물에 함유된 상기 유효성분의 유효용량은 상기 약학 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

[0039] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

[0041] 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0043] **실시예 1 : 아세트아미노펜의 간독성에 대한 일산화탄소 방출분자-2(CO releasing molecule-2, CORM-2) 또는 일산화탄소(CO)의 보호작용**

[0044] 아세트아미노펜(APAP)을 투여하여 간 독성을 유발시킨 마우스 동물모델과 아세트아미노펜에 일산화탄소를 체외 가스로 공급하거나, 체내로 CORM-2를 주사한 동물모델에서 간 조직을 채취하고, 헤마톡실린 & 에오신(hematoxylin & eosin) 염색을 수행하여 간 손상을 관찰하였다.

[0045] 그 결과, 도 1A를 참조하여 보면, 아세트아미노펜에 의한 간 손상이 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체(CORM-2)에 의해 회복되는 것을 확인하였다. 또한, 도 1B를 참조하여 보면, 아세아미노펜에 의해 증가된 간 손상 지수 ALT 및 AST가 일산화탄소 또는 CORM-2에 의해 감소하는 것을 확인하였다.

[0046] 더불어 일산화탄소 또는 CORM-2를 노출시킨 마우스를 정상군과 비교한 결과, 낮은 농도의 일산화탄소 또는 CORM-2의 노출은 체내 영향을 주지 않는 것을 확인하였다.

[0048] **실시예 2 : 일산화탄소에 의한 CHOP 발현 감소**

[0049] 아세트아미노펜에 의한 간 세포의 손상 및 간 세포의 사멸은 소포체 스트레스에 의해 유도되는 CHOP의 발현이 중요한 역할을 한다. 소포체 스트레스로 인하여 세포의 항상성을 유지하지 못할 경우, CHOP의 발현이 증가하고 이에 따라 세포 사멸을 유도한다는 것이 많은 연구에서 밝혀져 있다.

[0050] 따라서, 마우스 동물모델의 간 조직에서 일산화탄소에 의한 CHOP의 유전자 발현량과 단백질 발현량을 각각 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)과 면역블랏법(immunoblot)을 이용하여 측정하였다.

[0051] 그 결과, 도 2를 참조하여 보면, 아세트아미노펜의 의해 CHOP의 유전자 발현량 및 단백질 발현량이 증가하는 것을 확인하였고, 반면에 일산화탄소는 CHOP의 유전자 발현량 및 단백질 발현량을 감소시키는 것을 확인하였다.

[0053] **실시예 3 : 마우스 간 세포주 AML12에서 일산화탄소에 의한 세포 생존율 증가**

[0054] 마우스 간 세포주인 AML12(alpha mouse liver 12) 세포에 아세트아미노펜 또는 아세트아미노펜과 CORM-2를 함께 처리하여 배양한 후, MTT 분석을 이용하여 세포 생존율 (viability)을 측정하였다.

[0055] 그 결과, 도 3A를 참조하여 보면, 아세트아미노펜에 의해 세포 생존율이 감소하는 것을 확인하였고, 반면에 일산화탄소의 처리는 세포 생존율을 증가시키는 것을 확인하였다.

[0057] **실시예 4 : 마우스 간 세포주 AML12에서 일산화탄소에 의한 p38 인산화 증가 및 CHOP 발현 감소**

[0058] 마우스 간 세포주인 AML12에 아세트아미노펜 또는 아세트아미노펜과 CORM-2를 함께 처리하여 배양한 후, 웨스턴 블랏을 이용하여 p38의 인산화 및 CHOP 단백질 발현을 분석하였다.

[0059] 그 결과, 도 3B 및 도 3C를 참조하여 보면, CORM-2에 의해 p38의 인산화(p-p38)가 증가하고, 세포 사멸 유도 인자인 CHOP의 발현이 감소하는 것을 확인하였다.

[0060] 또한, 도 3C를 참조하여 보면, p38 인산화 억제제인 SB203580 화합물을 처리하였을 때, 아세트아미노펜과 CORM-2를 함께 처리한 군에서 감소되었던 CHOP 발현이 증가하는 것을 확인하였고, 동시에 증가되었던 세포의 생존율이 감소하는 것을 확인하였다.

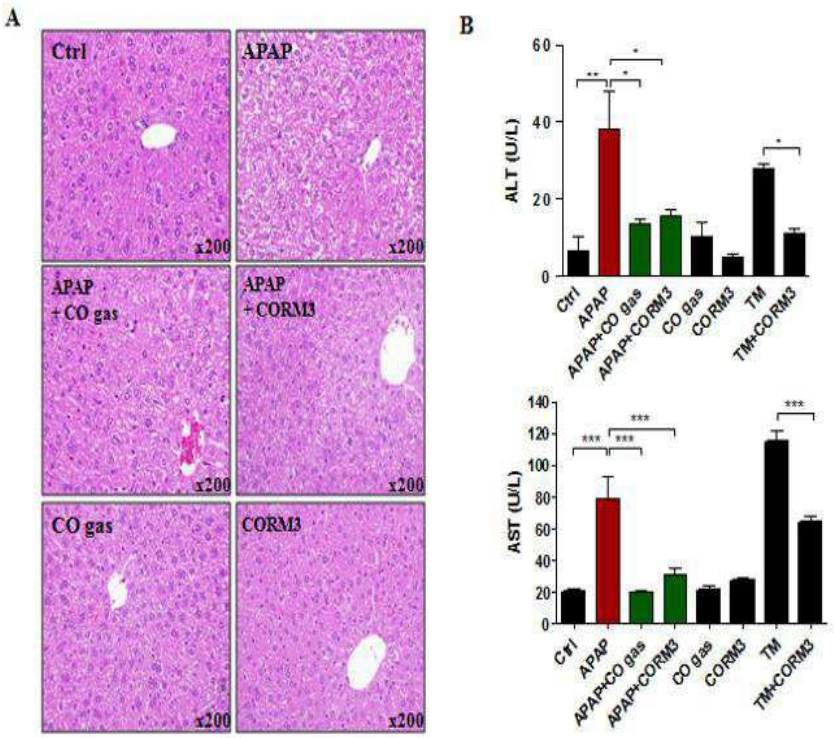
[0061] 따라서, 아세트아미노펜에 의한 간 독성과 세포 사멸로부터 일산화탄소의 보호 효과는 p38의 인산화를 증가시키고 세포 사멸 유도 인자인 CHOP의 발현을 감소시킴으로써 매개되는 것을 확인함으로써, 아세트아미노펜에 의해 발병되는 급성 간 부전을 포함한 다양한 간 질환에 있어 일산화탄소가 중요한 치료적 물질이 될 수 있을 것으로 사료된다.

[0063] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술한 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

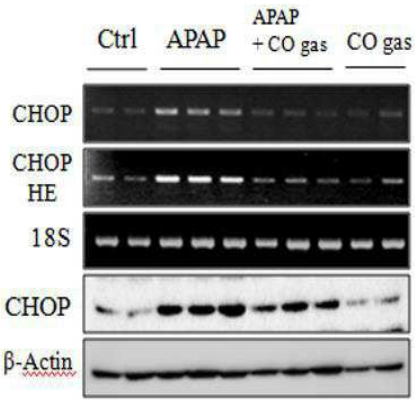
[0064] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

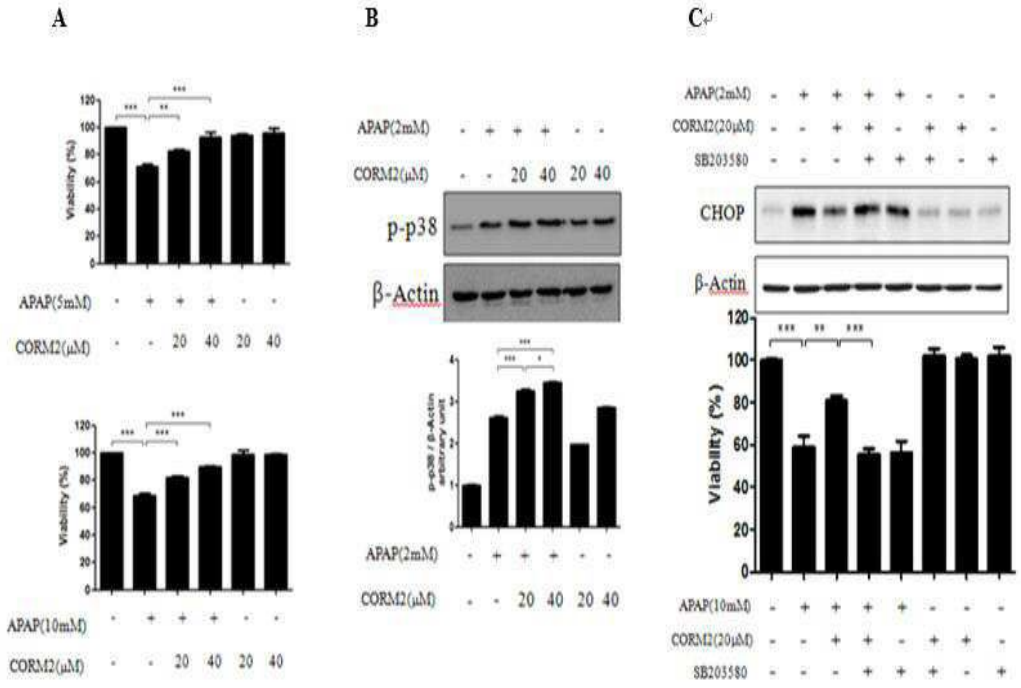
도면1


A
Ctrl
APAP
APAP +CO gas
APAP +CORM3
CO gas
CORM3
x200
B
ALT (U/L)
AST (U/L)
Ctrl
APAP
APAP+CO gas
APAP+CORM3
CO gas
CORM3
TM
TM+CORM3

도면2


Ctrl
APAP
APAP +CO gas
CO gas
CHOP
CHOP HE
18S
CHOP
β-Actin

도면3


A
B
C
Viability (%)
APAP(5mM)
APAP(10mM)
CORM2(μM)
p-p38
β-Actin
APAP(2mM)
CHOP
SB203580
CORM2(20μM)