



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년04월29일
(11) 등록번호 10-2106032
(24) 등록일자 2020년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4184 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61K 9/00 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4184 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0099321
(22) 출원일자 2018년08월24일
심사청구일자 2018년08월24일
(65) 공개번호 10-2020-0023003
(43) 공개일자 2020년03월04일
(56) 선행기술조사문헌
W02007030080 A1
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
인제대학교산학협력단
경남 김해시 인제로 197, 내 (어방동, 인제대학교)
(72) 발명자
서수길
부산광역시 연제구 월드컵대로 266, 103동 701호 (거제동, 거제동 롯데캐슬피렌체)
이성민
부산광역시 부산진구 가야대로 424번길 54, 505호(개금동, 다솜빌)
(74) 대리인
특허법인리체

전체 청구항 수 : 총 5 항

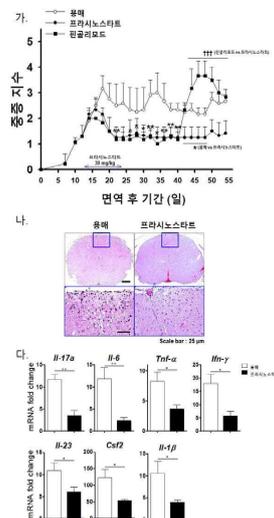
심사관 : 허명숙

(54) 발명의 명칭 프라시노스타트를 포함하는 다발성 경화증 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 프라시노스타트(pracinostat)를 포함하는 다발성 경화증 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 프라시노스타트는 중추신경조직 내 염증병소에서만 선택적으로 면역조절효소 IDO의 발현을 유도하여 염증세포를 제어 할 수 있어 새로운 다발성 경화증 치료제로 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/0053 (2013.01)

A61P 25/00 (2018.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020080046219 A*

KR1020150091864 A

PNAS. 2017. Vol.114. No.29, pp.E5881-E5890.*

International Immunopharmacology. 2017.

Vol.42, pp.25-31.

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

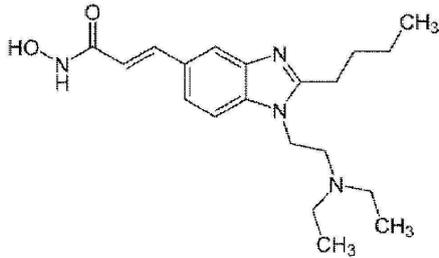
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 II로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 다발성 경화증의 치료 또는 예방용 약학 조성물:

[화학식 II]



청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 경구로 투여되는, 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 인돌아민 2,3-디옥시게나아제 (indoleamine 2,3-dioxygenase; IDO)가 녹아아웃되지 않은 대상체에 투여되기 위한 것인, 약학 조성물.

청구항 6

삭제

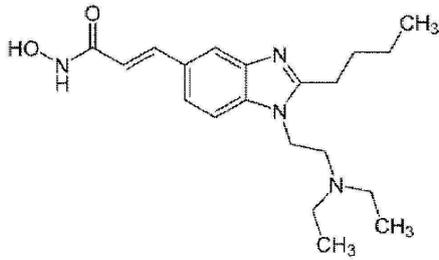
청구항 7

제5항에 있어서, 상기 대상체의 중추신경조직 내 염증 병소에 작용하는, 약학 조성물.

청구항 8

하기 화학식 II로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 포함하는 다발성 경화증의 완화 또는 예방용 건강기능식품:

[화학식 II]



청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 중추신경조직 내 염증병소에서만 선택적으로 면역조절효소 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(indoleamine 2,3-dioxygenase; IDO)의 발현을 유도하여 다발성 경화증을 치료할 수 있는 프라시노스타트의 의학적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 다발성 경화증(multiple sclerosis)은 중추신경계에 발생하는 자가 면역 질환으로, 염증에 의해 신경세포의 탈수초(demyelination) 및 축삭 손상(axon injury)의 병리학적 특징을 갖는다. 가장 흔한 증상은 감각 및 운동 마비이며 염증부위에 따라 증상의 차이가 있다. 질병의 경과 중 재발과 완화가 반복되다가 진행성으로 악화될 수 있다. 모든 연령층에서 발생할 수 있지만 일반적으로 20-40세 성인에게 발생 빈도가 높으며, 특히 여성에서 발병률이 높다. 유럽계 백인에게 발생 빈도가 높고 북유럽, 미국 북부, 캐나다 남부, 호주 남부 등에서 높은 유병률을 보인다. 이를 통해 다발성 경화증은 유전적인 요인과 환경적인 요인이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 추정하고 있다.

[0004] 증상은 자가 면역 상태의 변화에 따라 재발과 완화를 반복하며, 시간이 지나고 재발이 반복되면 손상이 축적되기 때문에 증상이 완전히 호전되지 않고 장애가 남게 된다. 그러므로 재발 빈도를 줄이기 위한 조기 치료와, 재발한 경우 급성기 손상을 최소화하기 위한 적극적인 항염증 치료가 핵심이다. 급성 재발 시 고용량 코르티코스테로이드(corticosteroids)가 표준 치료로 사용되며, 재발-이장성(relapsing remitting) 다발성 경화증은 베타 인터페론(Beta interferon), 글라티라머 아세테이트(glatiramer acetate), 핀골리모드(fingolimod)가 질병 완화 치료제로 사용되고 있다. 일차 질병 완화 치료에도 불구하고 재발이 빈번하거나 이차성 진행형의 다발성 경화증인 경우에는 미토산트론(mitoxantrone)이나 나탈리주맙(natalizumab)을 사용하고 있지만 치료효과는 미미하다.

[0005] 자가 면역 뇌척수염(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)은 다발성 경화증 동물모델로 질병 발생 원인 및 치료제 개발에 유용하게 이용되고 있다. EAE 모델을 통해 수초 항원-특이적 Th1 및 Th17 세포가 주요 병인 세포임이 밝혀졌다. 특히 Th17 세포와 Treg 세포의 언밸런스가 주요한 발병원인 중의 하나임이 최근 확인되었다. 이외에도 염증 대식세포의 침착 및 신경 아교세포의 염증 촉진 등의 다양한 면역기전에 의해 염증반응이 발생된다는 새로운 사실이 밝혀지고 있다. 이는 말초에서부터 이동한 염증세포 뿐만 아니라 신경조직에 거주하는 세포들의 염증활성도 함께 치료 전략에 포함되어야 함을 시사한다.

[0006] 프라시노스타트(Pracinostat)는 3-[2-부틸-1-(2-다이에틸아미노에틸)-1H-벤조이미다졸-5-일]-N-하이톡시아크릴아미-하이드로클로라이드 구조로 섭취 가능한 히스톤 디아세틸화 효소 억제제(histone deacetylase inhibitor, HDAC inhibitor)이다. Class I, II 및 IV HDACs를 강력하게 억제하며 약동학(pharmacokinetics)적으로 뛰어난 특성을 지니고 있다. 암세포 사멸 유도효과가 뛰어나 현재 급성 골수성 백혈병을 대상으로 임상 3상 진행 중에

있다.

[0007] 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(indoleamine 2,3-dioxygenase; IDO)는 트립토판 대사효소로서 초기 염증반응에 의해 발현이 유도되어 과도한 염증반응을 억제하고 면역관용(immune tolerance)을 유도하는 기능을 가진다. IDO는 트립토판 고갈 유도과 동시에 면역억제기능을 하는 대사체인 키누레닌(kynurenine, KYN)을 생성함으로써 염증 T 세포의 증식을 억제하고 Treg의 생성을 유도한다. 최근 KYN이 면역조절 전사인자인 아릴 하이드로카본 수용체(aryl hydrocarbon receptor; AHR)의 내인성 리간드임이 밝혀졌으며, 이를 통해 IDO가 IDO-KYN-AHR 기전에 의해 과활성화 면역세포의 기능을 억제함이 명확해졌다. IDO 발현 저하 및 활성 저하가 다양한 염증질환과 관련됨이 동물실험과 임상연구를 통해 확인되었다. 그리고 외부에서 물질 투여에 의해 IDO의 발현을 유도하면 난치성 염증질환을 치료할 수 있음이 보고되었다.

[0008] 기존 IDO 유도제(TLR9 작용제, 항-4-1BB, CTLA-4Ig)는 생체 내 인터페론-감마(IFN-γ) 생성을 촉진시켜 IDO 발현을 유도한다. 따라서 오히려 염증반응을 촉진시킬 수 있는 위험성도 함께 지니고 있다. 또한 칼시뉴린 억제제 및 스테로이드와 같은 기존 면역억제약물은 인터페론-감마 생성을 차단하기 때문에 이들 약물과의 병합투여가 불가능하다. 따라서 인터페론-감마 비의존적 기전으로 IDO 발현을 병소에 선택적으로 유도할 수 있는 신규 물질은 혁신적인 다발성 경화증 치료제가 될 수 있을 것이다.

발명의 내용

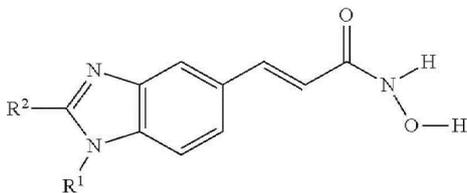
해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 화학식 I로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유하는 다발성 경화증 치료용 약학조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 1. 하기 화학식 I로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 대상체에서 염증성 질환을 치료하거나 염증성 질환의 재발을 예방하기 위한 약학 조성물:

[0013] [화학식 I]



[0014] R¹은 화학식 -(CR³R⁴)_m-(CR⁵R⁶)_n-(CR⁷R⁸)_o-NR⁹R¹⁰이고;

[0016] R²는 F, 시아노, C₂-C₆알케닐 또는 C₂-C₆알킬닐로 치환되거나 비치환된 알킬, 및 =O로 치환되거나 비치환된 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

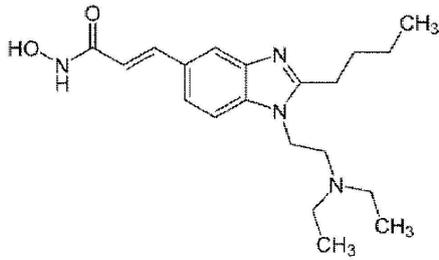
[0017] R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ 및 R⁸는 각각 H 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0018] R⁹ 및 R¹⁰은 각각 H, 하이드록시알킬 및 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0019] m, n 및 o는 각각 0, 1, 2, 3 및 4로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 정수이다.

[0020] 2. 상기 화학식 I은 하기 화학식 II로 표시되는 화합물인, 약학 조성물:

[0021] [화학식 II]



[0022]

[0023]

[0024]

[0025]

[0026]

[0027]

[0028]

[0029]

3. 상기 염증성 질환은 다발성 경화증인, 약학 조성물.

4. 상기 약학 조성물은 경구로 투여되는, 약학 조성물.

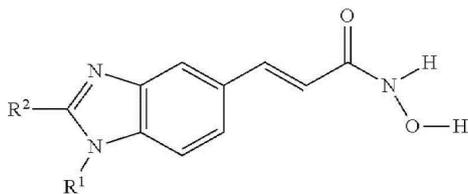
5. 상기 대상체는 인돌아민 2,3-디옥시게나아제 (indoleamine 2,3-dioxygenase; IDO)가 녹아웃되지 않은, 약학 조성물.

6. 상기 화합물은 상기 대상체에서 IDO의 발현을 증가시키는, 약학 조성물.

7. 대상체의 신경세포에서 IDO의 발현이 증가되는, 약학 조성물.

8. 하기 화학식 I로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 포함하는, 염증성 질환을 완화하거나 염증성 질환의 재발을 예방하기 위한 건강기능식품:

[화학식 I]



[0030]

[0031]

[0032]

[0033]

[0034]

[0035]

[0036]

[0037]

R^1 은 화학식 $-(CR^3R^4)_m-(CR^5R^6)_n-(CR^7R^8)_o-NR^9R^{10}$ 이고;

R^2 는 F, 시아노, C_2-C_6 알케닐 또는 C_2-C_6 알킬닐로 치환되거나 비치환된 알킬, 및 =O로 치환되거나 비치환된 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

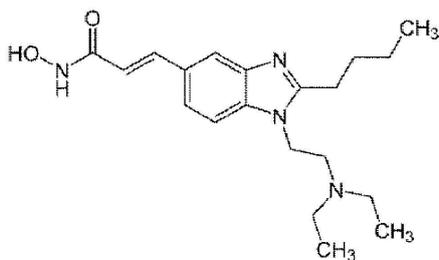
R^3, R^4, R^5, R^6, R^7 및 R^8 는 각각 H 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

R^9 및 R^{10} 은 각각 H, 하이드록시알킬 및 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

m, n 및 o는 각각 0, 1, 2, 3 및 4로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 정수이다.

9. 상기 화학식 I은 하기 화학식 II로 표시되는 화합물인, 건강기능식품:

[화학식 II]



[0038]

[0039]

10. 상기 염증성 질환은 다발성 경화증인, 건강기능식품.

발명의 효과

[0041] 본 발명에 따르면, 자가면역억제수염(EAE)의 다발성 경화증 동물모델에서 프라시노스타트를 경구 투여함에 따라 척수의 염증부위에 IDO의 발현이 유도되어 질병의 중증도 감소, 조직병리학적 손상 감소, 병인사이토카인 감소, 조직 침윤 염증 세포의 제거 효과를 나타내므로, 프라시노스타트는 다발성 경화증을 효과적으로 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

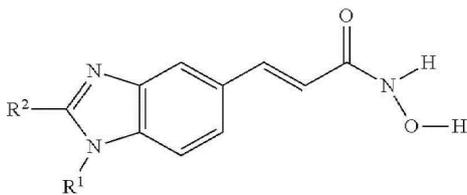
- [0043] 도 1은 프라시노스타트의 다발성 경화증 치료 효과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 프라시노스타트의 IDO 의존적 질환 치료 효과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 프라시노스타트의 염증병변 내 신경세포에서 IDO 발현 유도 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 프라시노스타트의 IDO-AhR 기전에 의한 염증치료 효과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 이하, 하기 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0046] 본원에 사용된 용어 "본 발명의 화합물"은 화학식 I로 표시되는 화합물 및 그의 약학적으로 허용되는 염 둘 다를 의미한다:

[0047] [화학식 I]



[0048] R¹은 화학식 $-(CR^3R^4)_m-(CR^5R^6)_n-(CR^7R^8)_o-NR^9R^{10}$ 이고;

[0050] R²는 F, 시아노, C₂-C₆알케닐 또는 C₂-C₆알킬닐로 치환되거나 비치환된 알킬, 및 =O로 치환되거나 비치환된 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

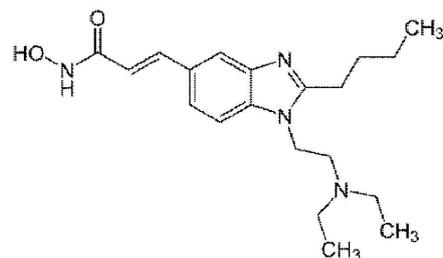
[0051] R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ 및 R⁸는 각각 H 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0052] R⁹ 및 R¹⁰은 각각 H, 하이드록시알킬 및 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0053] m, n 및 o는 각각 0, 1, 2, 3 및 4로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 정수이다.

[0054] 본 발명의 일 실시예에서, 화학식 I로 표시되는 화합물은 화학식 II로 표시되는 화합물, 프라시노스타트, 3-[2-부틸-1-(2-다이에틸아미노에틸)-1H-벤조이미다졸-5-일]-N-하이톡시아크릴아미드 또는 3-[2-부틸-1-(2-다이에틸아미노에틸)-1H-벤조이미다졸-5-일]-N-하이톡시아크릴아미-하이드로클로라이드일 수 있다:

[0055] [화학식 II]



- [0056] 상기 프라시노스타트는 수초-특이적 염증 T 세포의 활성을 억제할 수 있다.
- [0057]

- [0058] 상기 프라시노스타트는 선천면역 세포의 활성을 억제할 수 있다.
- [0059] 실험적 자가면역뇌척수염(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)은 T 세포 매개성 자가면역성 질병으로서, 중추신경계에서 염증세포의 침윤과 수초탈락의 특징을 가지는 사람의 다발성 경화증의 동물 모델이다
- [0060] 본 발명자들은 프라시노스타트를 섭취하면 다발성 경화증이 치료가 되고 기존 치료약물인 핀콜리모드보다 뛰어난 효능을 보인다는 것을 확인하였다. 중요한 발견은, 프라시노스타트에 의해 염증 부위의 신경세포(neuron)에 서만 IDO의 발현이 유도되며 IDO-KYN-AHR 기전에 의해 주요 병인세포인 Th17 세포와 염증대식세포가 효과적으로 제거되어 치료효과가 나타남을 확인하였다.
- [0061] 본원에 사용된 용어 “약학적으로 허용되는 염”은 대상 화합물의 바람직한 생물학적 활성을 보유하고 최소의 바람직하지 않은 독성 효과를 나타내는 염으로서, 약학적으로 허용되는 산 또는 염기와의 염인 약학적으로 허용되는 염이다. 약학적으로 허용되는 산은 염산, 황산, 인산, 이중 인산, 브롬화수소산 또는 질산과 같은 무기산과, 시트르산, 푸마르산, 말레산, 말산, 아스코르브산, 숙신산, 타르타르산, 벤조산, 아세트산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 살리실산, 스테아르산, 벤젠설폰산 또는 p-톨루엔설폰산과 같은 유기산을 둘 다 포함한다. 약학적으로 허용되는 염기는 나트륨 또는 칼륨을 포함하는 알칼리 금속 및 칼슘 또는 마그네슘을 포함하는 알칼리 토금속 수산화물 및 알킬 아민, 아릴 아민 또는 복소환식 아민과 같은 유기 염기를 포함한다.
- [0062] 통상의 기술자는 추가로 결정질 형태로 존재하는 본 발명의 특정 화합물 또는 이의 다양한 용매화물이 다양한 결정질 구조로 발생하는 능력인 다형성을 나타낼 수 있음을 인지할 것이다. 이들 다양한 결정질 형태는 전형적으로 "다형체"로 공지되어 있다. 본 발명은 이러한 모든 다형체를 포함한다. 다형체는 동일한 화학적 조성을 갖지만 패킹, 기하학적 배열 및 결정질 고체 상태의 다른 기술적 특성이 상이하다. 따라서, 다형체는 상이한 물리적 특성, 예컨대 색상, 밀도, 경도, 변형성, 안정성, 및 용해 특성을 가질 수 있다. 다형체는 전형적으로 확인에 사용할 수 있는 상이한 용점, IR 스펙트럼 및 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 통상의 기술자는, 예를 들어 화합물의 제조에 사용되는 반응 조건 또는 시약을 변화시키거나 또는 조절함으로써 상이한 다형체를 제조할 수 있음을 인지할 것이다. 예를 들어, 온도, 압력 또는 용매에서의 변화로 다형체를 생성할 수 있다.
- [0063] 또한, 하나의 다형체는 특정 조건 하에 또 다른 다형체로 자발적으로 전환될 수 있다.
- [0064] 본 발명은 또한 화학식 I로 표시되는 화합물의 다양한 중수소화 형태를 포함한다. 탄소 원자에 부착된 각각의 이용 가능한 수소 원자는 독립적으로 중수소 원자로 대체될 수 있다. 통상의 기술자는 화학식 I로 표시되는 화합물의 중수소화 형태를 합성하는 방법을 알 것이다. 상업적으로 입수가 가능한 중수소화 출발 물질은 화학식 I의 화합물의 중수소화 형태의 제조에 사용할 수 있거나, 또는 이들은 중수소화 시약을 사용하는 통상의 기술을 사용하여 합성할 수 있다.
- [0065] 본 발명의 화합물 및 이를 포함하는 조성물은 다양한 투약 형태(dosage form)로 투여될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 화합물을 포함하는 약학적 조성물을 구강, 직장, 비경구, 비강 또는 경피 투여, 또는 흡입에 의한 또는 좌약에 의한 투여에 적합한 형태로 제형화될 수 있다.
- [0066] 상기 투여방법은 특별히 이에 제한되는 것은 아니지만, 경구 또는 비경구투여방법이라면 어느 것이나 사용가능하고, 전신 투여 또는 국소 투여가 가능하지만, 전신 투여가 더 바람직하며, 경구 투여가 가장 바람직하다. 환자의 체내로의 투여는 바람직하게는 경구투여이며, 구체적으로는 1일 1회 5-10회 투여가 기본이지만 그 이상의 투여라도 상관없다. 또, 투여 시간은 단시간이라도 장시간 지속 투여라도 좋다. 경구 투여를 위한 액체 분산액은 시럽, 유탕액 및 현탁액일 수 있다.
- [0067] 본 발명의 약학 조성물은 당업자에 의해 공지의 방법으로 제제화하는 것이 가능하다. 예를 들면, 필요에 따라서 물 또는 그 외의 약학적으로 허용되는 액과의 무균성 용액, 또는 현탁액제의 주사제의 형태로 비경구적으로 사용할 수 있다. 예를 들면, 약학적으로 허용되는 담체 또는 매체, 구체적으로는, 멸균수나 생리 식염수, 식물유, 유화제, 현탁제, 계면활성제, 안정제, 부형제, 비히클(vehicle), 방부제, 결합제 등과 적당 조합하여, 일반적으로 인정된 제약 실시예 요구되는 단위 용량 형태로 혼화함으로써 제제화할 수 있다. 상기 제제에 있어서 유효 성분량은 지시받은 범위의 적당한 용량을 얻을 수 있도록 하는 것이다.
- [0068] 또한, 주사를 위한 무균 조성물은 주사용 증류수와 같은 부형액을 이용해 통상의 제제 실시예에 따라 처방할 수가 있다. 주사용의 수용액으로서, 예를 들면 생리 식염수, 포도당이나 그 외의 보조약을 포함한 등장용액, 예를 들면 D-소르비톨, D-만노스, D-만니톨, 염화 나트륨을 들 수 있어 적당한 용해 보조제, 예를 들면 알코올, 구체적으로는 에탄올, 폴리 알코올, 예를 들면 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 비이온성 계면활성제, 예를 들

면 폴리소르베이트 80(TM), HCO-50으로 병용할 수 있다. 유성액으로서는 참기름, 콩기름을 들 수 있어 용해 보조제로서 안식향산벤질, 벤질 알코올과 병용할 수 있다.

[0069] 주사제형의 예로서는 예를 들면, 정맥내 주사, 동맥내 주사, 선택적 동맥내 주사, 근육내 주사, 복강내 주사, 피하주사, 뇌실내 주사, 뇌내 주사, 골수액강내 주사 등에 의해 투여할 수가 있지만, 바람직하게는 정맥내 주사이다.

[0070] 또한, 완충제, 예를 들면 인산염 완충액, 초산나트륨 완충액, 무통화제, 예를 들면, 염산 프로카인, 안정제, 예를 들면 벤질 알코올, 페놀, 산화 방지제와 배합할 수 있다. 조제된 주사액은 통상, 적당한 앰플에 충전시킨다.

[0071] 현탁액 및 유탁액은, 담체로서, 예를 들어, 천연 검, 한천, 알긴산 나트륨, 펙틴, 메틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스, 또는 폴리비닐알코올을 함유할 수 있다. 근육 내 주사를 위한 현탁액 또는 용액은, 활성 화합물과 함께, 약학적으로 허용되는 담체, 예를 들어, 멸균수, 올리브 오일, 에틸 올레에이트, 글리콜, 예를 들어, 프로필렌 글리콜, 및 필요하다면 적합한 양의 리도카인 염산염을 함유할 수 있다.

[0072] 본 발명의 화합물은 고체 또는 액체 형태로 존재할 수 있다. 고체 상태에서, 본 발명의 화합물은 결정질 또는 비결정질 형태, 또는 그의 혼합물로 존재할 수 있다. 결정질 형태의 본 발명의 화합물의 경우, 통상의 기술자는 용매 분자가 결정화 동안 결정질 격자 내로 혼입되는 약학적으로 허용되는 용매화물이 형성될 수 있음을 인지할 것이다. 용매화물은 비수성 용매, 예컨대 에탄올, 이소프로판올, DMSO, 아세트산, 에탄올아민 및 에틸 아세테이트를 포함할 수 있거나, 또는 이들은 결정질 격자에 혼입되는 용매로서 물을 포함할 수 있다. 물이 결정질격자 내로 혼입된 용매인 용매화물은 전형적으로 "수화물"로 지칭된다. 수화물은 화학량론적 수화물 뿐만 아니라 가변량의 물을 함유하는 조성물을 포함한다. 본 발명은 이러한 모든 용매화물을 포함한다.

[0073] 본 발명은 또한 생체 내에서 반응하여 본 발명의 화합물을 제공하는 전구약물을 포함한다.

[0074] 본 발명의 화합물은 당업자에게 명백한 합성 경로에 기초하여 제조될 수 있다.

[0075] 본 발명의 조성물 또는 식품에 하나 이상의 약물의 투여를 추가로 제공할 경우, 이들은 동시에, 순차적으로 또는 개별적으로 투여될 수 있다. 이들은 함께 포장되거나 별도로 포장될 수 있다. 또한 이들은 동시에 투여되거나 또는 이들은 동일 투약 형태일 필요는 없다. 개별 투여는 약물이 동일한 전체적인 투약 치료계획의 일부로서 투여되며, 동일자에 투여되거나 다른 날 투여될 수 있다. 동시적이란 약물이 함께 섭취되어야 하거나 단일 조성물로서 제형화되는 것을 의미한다. 순차적은 약물이 대략 동시에, 바람직하게는 서로 약 1시간 이내에 투여되는 것을 의미한다.

[0076] 본원에 사용된 용어 "약학적으로 허용되는 담체"는 희석제, 보조제, 부형제 또는 비이클(vehicle)로서 본 발명의 화합물 투여할 때 사용되며, 국가 관리기관의 승인을 받거나, 동물, 보다 구체적으로는 인간에게 사용하기 위한 일반적으로 알려진 약전에 등재되어 있는 것이다. 이러한 약제학적 담체는 물이나 오일과 같은 액상일 수도 있고, 상기 오일은 석유, 동물, 식물 또는 합성물 유래 오일을 포함하며 피넛오일, 대두유, 미네랄 오일, 참기름 등과 같은 오일이 해당한다. 약학적으로 허용되는 담체는 염수(saline), 아카시아 검, 젤라틴, 전분 페이스트, 탈크, 케라틴, 콜로이드실리카, 우레아 등이 있다. 환자에게 투여되었을 때, 본 발명의 화합물 및 약제학적으로 허용가능한 담체는 바람직하게는 무균질(sterile)이다. 염 용액, 액상 텍스트로스 및 글리세롤 용액 또한 액상 담체, 특히 주사 가능한 용액으로서 이용될 수 있다. 적합한 약제학적 담체는 글루코스, 락토오스, 수크로스, 글리세롤 모노스테아레이트, 소듐 클로라이드, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물 및 에탄올과 같은 첨가제를 포함할 수도 있다. 본 발명의 조성물은, 필요에 따라서 미량의 습윤제나 유상화제, pH 완충제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 용액, 에멀전, 서방형 제제 또는 그 밖의 사용에 적합한 제형을 취할 수 있다.

[0077] 본원에 사용된 용어 "염증성 질환"은 류마티스 관절염, 크론병, 천식, 알츠하이머병, 다발성 경화증, 건성, 궤양성 대장염, 골관절염 또는 강직성 척추염을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0078] 상기 약학 조성물의 치료적 유효량은 특별히 제한되는 것은 아니지만, 5 mg/kg 내지 50 mg/kg cell/kg인 것이 바람직하고, 10 mg/kg 내지 40 mg/kg인 것이 더욱 바람직하고, 20 mg/kg 내지 30 mg/kg인 것이 가장 바람직하다.

[0080] <실시예 1> 프라시노스타트의 다발성 경화증 치료효과

[0081] 본 발명에 따른 프라시노스타트의 다발성 경화증에 대한 치료효과를 알아보기 위하여 하기와 같이 C57BL/6 마우스에 자가면역뇌척수염을 유도하고 프라시노스타트 (Selleckchem, Cat No. S1515)를 투여하여 그 효능을 평가하

였다.

- [0082] 실험 0일째 마이엘린 회소돌기아교세포 당단백질³⁵⁻⁵⁵ (myelin oligodendrocyte glycoprotein³⁵⁻⁵⁵; MOG³⁵⁻⁵⁵, Peptron) (200 μ g), 열처리 마이코박테리움 튜버쿨로시스 사균체 (heat killed mycobacterium tuberculosis, Difco, Cat No. 231141) (500 μ g), 아쥬반트 (Complete freund's adjuvant, Sigma aldrich, Cat No. F5506)를 혼합한 후 7 분 동안 침수하였다. 침수된 펩티드를 C57BL/6 마우스(7 주령, 암컷, 17 \pm 2 g)의 양쪽 옆구리 (flank)에 각각 100 μ l 피하주사(subcutaneous injection)한 후 백일해 독소 (pertussis toxin, Sigma aldrich, Cat No. P2980) (200 ng) 100 μ l를 꼬리정맥에 투여 하였다. 실험 2일째 동량의 백일해 독소를 정맥 투여하였다. 마우스는 주입된 부위에 이머전(immersion)이 새어 나오는지 확인하고, 실험 7일부터 육안 관찰하여 다발성 경화증 발병 여부를 확인하였다.
- [0083] 본 발명에 따른 프라시노스타트 투여 군에는 마우스 한 마리당 30 mg/kg의 프라시노스타트를 투여용량의 15% (v/v)에 해당하는 크레모포어 EL-에탄올 혼합물(1:1, v/v)에 완전히 녹인 다음 인산완충식염수에 희석하여 200 μ l씩 실험 13일부터 실험 22일까지 총 10회 매일 경구 투여하였다. 또한 또한 약물 대조군으로 현재 임상에서 사용되고 있는 다발성 경화증 치료제인 핀골리모드(Fingolimod)를 마우스 한 마리당 1 mg/kg으로 200 μ l씩 실험 13일부터 실험 42일까지 총 30회 매일 경구 투여하여 다발성 경화증 치료 효능을 비교하였으며, 용매 (Vehicle) 대조군에는 크레모포어 EL-에탄올-인산완충식염수 혼합물 (7.5 : 7.5 : 85, v/v/v)을 200 μ l씩 프라시노스타트 투여 군과 동일하게 투여하였다. 다발성 경화증 지수는 실험 7일부터 0-5단계로 분류한 중증 지수 체계로 육안 관찰하여 2일 간격으로 기록하였다.
- [0084] 자가면역뇌척수염 증상은 이하의 항목에 따라 지수 평가하였다.
- [0086] 0 증상 없음
- [0087] 1 꼬리 부분에 힘이 빠짐
- [0088] 2 꼬리 부분에 힘이 빠지고 뒷다리 약화
- [0089] 3 뒷다리 마비
- [0090] 4 뒷다리 마비 및 앞다리 약화
- [0091] 5 빈사 혹은 사망
- [0093] 분석 결과, 모든 실험군은 실험 7일부터 다발성 경화증이 발병되어 실험 18일 째 중증 지수 3.0 이상의 급성 반응이 100% 유도됨을 확인하였다. 용매대조군의 마우스는 중증 지수가 급성 반응 기간인 실험 18일째 3.08 \pm 0.41, 만성 반응 기간인 실험 34일째 2.91 \pm 0.41로 나타났다. 용매대조군은 재발-관해 경향(relapse-remitting pattern)을 보이며 실험 기간 내내 높은 중증 지수를 보였다. 핀골리모드 처리군은 실험 20일째 1.67 \pm 0.17이었으며, 실험 34일째 1.0 \pm 0으로 용매대조군에 비해 완화된 급성 반응과 만성 반응 치료효과를 보였다. 그러나 핀골리모드 투여 군은 투약 종료 직후인 실험 42일부터 중증 지수가 증가하기 시작해 실험 46일 째 3.67 \pm 0.33의 높은 중증 지수를 보였다. 본 발명의 화합물 프라시노스타트 30 mg/kg 투여 군은 실험 22일부터 용매대조군에 비해 통계적으로 유의한 치료효과를 확인할 수 있었다. 투여 중단 후에도 (실험 34일째 1.25 \pm 0.25, 실험 54일째 1.42 \pm 0.42) 용매대조군에 비해 통계적으로 유의한 치료효과를 유지하였다 (용매대조군 대비 *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001, 도 1가 참조). 이러한 치료 유지 효과는 실험 44일째부터 핀골리모드 투여 군에 비해 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (핀골리모드 투여 군 대비 +, p<0.05; ++, p<0.01; +++, p<0.001, 도 1가 참조). 본 발명의 프라시노스타트는 30 mg/kg 투여 시 뛰어난 초기 치료 및 지속적인 재발 방지 효과를 보였다.
- [0094] 본 발명의 프라시노스타트 5회 경구 투여가 완료된 실험 18일째 마우스의 척수를 적출하여 조직 샘플을 제작하였다. 적출한 마우스의 척수를 4% 파라포름알데하이드(sigma aldrich)로 고정시킨 후 조직 포매기(tissue processor, Leica)를 이용하여 파라핀 침윤을 수행하고 조직포매기 (Embedding center, Leica)로 파라핀 블록을 제작하였다. 상기 제작한 파라핀 블록을 마이크로톰(microtome, Leica)으로 5 μ m 두께로 절단하여 조직 절편을 제작하였다.
- [0095] 완성된 조직 절편에 헤마톡실린(100%) & 에오신(0.15%) 염색을 수행하여 척수의 조직 병리학적 분석을 수행하였다. 조직학적 분석은 Nanozoomer 2.0 RS (Hamamatsu)를 이용해 진행하였다.
- [0096] 조직병리학적 분석 결과, 척수 병변의 염증세포 침윤이 프라시노스타트 투여 조직에서 용매대조군에 비해 크게

감소하였다 (도 1나 참조).

- [0098] 본 발명의 프라시노스타트 5회 경구 투여가 완료된 실험 18일째 마우스의 척수를 적출하여 mRNA 샘플을 제작하였다. mRNA를 추출하기 위해 척수 조직을 분쇄기(homogenizer)로 갈아서 균질 현탁액을 획득하였다. 균질 현탁액에서 mRNA를 Trizol 시약 (Invitrogen, Cat No. 15596018)을 이용한 페놀-클로로포름 침강방식으로 추출하였다. 분리한 RNA에서 역전사로 cDNA를 합성하고 CFX96 (Bio-rad) 검출 시스템에서 iQ SYBR-Green Supermix (Bio-rad)를 이용해 실시간 증합효소 연쇄반응(real-time PCR)으로 염증성 사이토카인의 발현을 확인하였다. GAPDH를 대조효소로 사용한 $\Delta\Delta ct$ 방식으로 효소 발현량의 상대값을 비교하였다. WT 마우스 척수를 대조군으로 사용하여 1 배수를 설정하였다.
- [0099] 실시간 증합효소 연쇄반응의 결합 온도 (annealing temperature)를 58℃로 하여, 45 회차(cycle)의 조건으로 수행되었으며, 다음과 같은 프라이머 서열을 사용하였다. 마우스 IL-17A 정방향, 5' -TTT AAC TCC CTT GGC GCA AAA-3' 과 역방향, 5' -CTT TCC CTC CGC ATT GAC AC-3' ; 마우스 IL-6 정방향, 5' -CAT GTT CTC TGC GAA ATC GTG G-3' 과 역방향, 5' -AAC GCA CTA GGT TTG CCG AGT A-3' ; 마우스 TNF- α 정방향, 5' -CCA CAC CGT CAG CCG ATT TG-3' 과 역방향, 5' -CAC CCA TTC CCT TCA CAG AGC-3' ; 마우스 IFN- γ 정방향, 5' -ATG AAC GCT ACA CAC TGC ATC-3' 과 역방향, 5' -CCA TCC TTT TGC CAG TTC CTC-3' ; 마우스 IL-23 정방향, 5' -ATG CTG GAT TGC AGA GCA GTA-3' 과 역방향, 5' -ACG GGG CAC ATT ATT TTT AGT CT-3' ; 마우스 CSF2 정방향, 5' -GGC CTT GGA AGC ATG TAG AGG-3' 과 역방향, 5' -GGA GAA CTC GTT AGA GAC GAC TT-3' ; 마우스 IL-1 β 정방향, 5' -CTC GTG CTG TCG GAC CCA TAT-3' 과 역방향, 5' -TTG AAG ACA AAC CGC TTT TCC A-3' ; 마우스 GAPDH 정방향, 5' -TTC ACC ACC ATG GAG AAG GC-3' 과 역방향, 5' -GGC ATG GAC TGT GGT CAT GA-3' .
- [0100] 척수 병변 내 염증성 사이토카인 IL-17A, IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-23, CSF2 (GM-CSF), IL-1 β 의 발현양이 프라시노스타트 투여로 인해 용매대조군 대비 유의하게 감소하였다 (용매대조군 대비 *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001, 도 1다 참조).
- [0101] 따라서 본 발명의 프라시노스타트는 다발성 경화증 마우스 모델에서 치료 효능을 가지며, 투여 중단 후에도 재발 방지 효능이 지속되기 때문에 신규한 다발성 경화증 경구치료제로써 유용한 치료 전략을 제시할 수 있다.
- [0103] <실시예 2> 프라시노스타트의 IDO 의존적 질환 치료 효과
- [0104] 본 발명에 따른 프라시노스타트의 자가면역뇌척수염의 치료효과가 IDO 의존적인지 여부를 알아보기 위하여 하기와 같이 야생형 (WT, 정상) 마우스와 IDO-녹아웃 (IDO-KO, 유전자결핍) 마우스에 자가면역뇌척수염을 유도하고 프라시노스타트를 투여하여 그 효능을 평가하였다.
- [0105] "도 1가"와 동일한 방법으로 WT C57BL/6 마우스와 IDO-KO C57BL/6 마우스(7 주령, 암컷, 17±2 g)에 질병을 유도하였고, 프라시노스타트 (30 mg/kg, 1일 1회 13일부터 22일까지 총 10회) 및 용매대조군을 경구 투여하였다. 자가면역뇌척수염 증상은 "도 1가"와 동일한 기준으로 평가하였다.
- [0106] WT 마우스의 프라시노스타트 30 mg/kg 투여 군은 실험 16일부터 용매대조군에 비해 통계적으로 유의한 치료효과가 나타나며 그 효과가 실험 종료시점까지 지속되었다. 반면, IDO-KO 마우스의 프라시노스타트 투여 군은 IDO-KO 마우스의 용매대조군과 유사한 양상의 높은 중증도를 보이며 질병 완화효과가 전혀 관찰되지 않았다. 그리고 WT 마우스의 프라시노스타트 투여 군과 비교해서 IDO-KO 마우스의 프라시노스타트 투여 군이 통계적으로 유의하게 질병 중증도가 높았다 (WT 마우스 프라시노스타트 투여 군 대비 IDO-KO 마우스 프라시노스타트 투여 군 +, p<0.05; ++, p<0.01; +++, p<0.001, 도 2가 참조).
- [0108] 본 발명의 프라시노스타트 5회 경구 투여가 완료된 실험 18일째 마우스의 척수를 적출하여 "도 1나"와 동일한 방법으로 조직 염색하였다.
- [0109] 조직병리학적 분석 결과, IDO-KO 마우스에서는 프라시노스타트 투여에 의한 염증세포 침윤 감소효과가 전혀 나타나지 않았다 (도 2나 참조).
- [0111] 본 발명의 프라시노스타트 5회 경구 투여가 완료된 실험 18일째 마우스의 척수를 적출하여 "도 1다"와 동일한 방법으로 염증성 사이토카인의 발현을 확인하였다.
- [0112] WT 마우스 경우, 척수 병변 내 염증성 사이토카인 IL-17A, IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-1 β 의 발현양이 프라시노스타트 투여로 인해 용매대조군 대비 유의하게 감소하였으나, IDO-KO 마우스는 프라시노스타트 투여의 영향을 받지 않았다 (도 2다 참조).

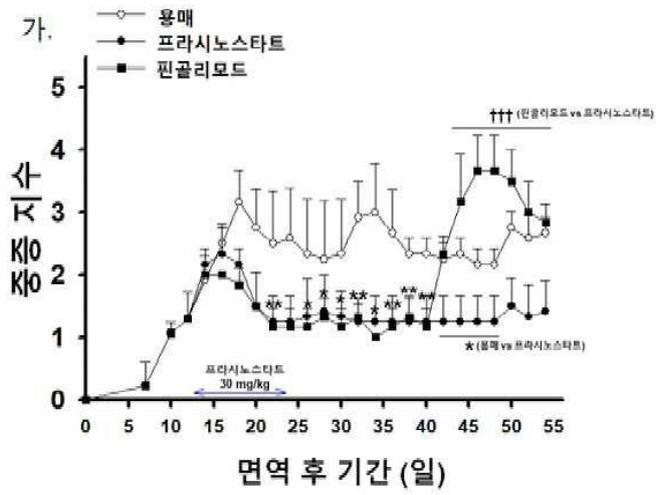
- [0113] 따라서 본 발명의 프라시노스타트는 IDO 의존적으로 다발성 경화증 치료 효능을 가진다는 것을 확인하였다.
- [0115] <실시예 3> 프라시노스타트의 염증병변 내 신경세포에서 IDO 발현 유도
- [0116] 본 발명에 따른 프라시노스타트의 질환 치료효과가 IDO 의존적임을 확인하였다. 이에 프라시노스타트의 IDO 발현 및 발현 세포를 동정하기 위해 “도 1가” 와 같이 C57BL/6 마우스에 자가면역뇌척수염을 유도하고 프라시노스타트를 5회 투여한 후 척수 병변을 추출하여 실험을 진행하였다. 적출한 척추는 단백질 샘플, mRNA 샘플, 그리고 조직 샘플을 제작하였다.
- [0117] 먼저, 척추에서 IDO 단백질 발현을 조사하기 위해, 분쇄기(homogenizer)로 갈아서 균질 현탁액을 획득하였다. 균질 현탁액은 mammalian cell PE LB buffer (G-Biosciences, Cat No. 2224687)에 5 mM DL-Dithiothreitol (DTT, Fluka, Cat No. 2224687), 5 mM EDTA (pH 8.0), 1X protease inhibitor cocktail (SIGMA FAST Protease inhibitor Cocktail Tablets, EDTA-free, Sigma-Aldrich, Cat No. S8830)을 첨가하여준 용액에 녹여주었다. 균질 현탁액은 20 μ g의 농도로 사용하여 주었다.
- [0118] 15% SDS-PAGE에서 단백질을 분리한 후 니트로셀룰로오스 막 (nitrocellulose membrane, Whatman)으로 트랜스퍼해 주었다. 트랜스퍼한 단백질의 막은 5% 탈지유 (skim-milk, sigma aldrich)로 블로킹(blocking)해주었다. 블로킹해준 막에 항-IDO (Adipogen, Cat No. AG-25A-0032-C100, 1:2,000 희석), β -Actin (Santa cruze, Cat No. sc-1615-R, 1:1,000 희석)를 밤새 처리하였다. 각 단백질의 발현은 LAS-3000 (Fujifilm, Tokyo, Japan)을 통해서 확인하였으며, Multi Gauge v.2.2 소프트웨어 (Fujifilm)를 사용하여 단백질의 변화를 비교하였다.
- [0119] 본 발명의 프라시노스타트 5회 경구 투여로 자가면역뇌척수염의 척수 병변에서 IDO 발현이 뚜렷하게 증가하였다 (도 3가 참조).
- [0121] 다음으로 IDO 발현을 정량하게 위해, 척수 조직을 분쇄기(homogenizer)로 갈아서 균질 현탁액을 획득하였다. 균질 현탁액에서 mRNA를 Trizol 시약 (Invitrogen, Cat No. 15596018)을 이용한 페놀-클로로포름 침강방식으로 추출하였다. 분리한 RNA에서 역전사로 cDNA를 합성하고 CFX96 (Bio-rad) 검출 시스템에서 iQ SYBR-Green Supermix (Bio-rad)를 이용해 실시간 중합효소 연쇄반응(real-time PCR)으로 IDO 발현을 확인하였다. GAPDH를 대조효소로 사용한 $\Delta\Delta$ ct 방식으로 효소 발현량의 상대값을 비교하였다. WT 마우스 척수를 대조군으로 사용하여 1 배수를 설정하였다.
- [0122] 실시간 중합효소 연쇄반응의 결합 온도 (annealing temperature)를 58 $^{\circ}$ C로 하여, 45 회차(cycle)의 조건으로 수행되었으며, 다음과 같은 프라이머 서열을 사용하였다. 마우스 IDO 정방향, 5' -CAC CAT GGC GTA TGT GTG GAA-3' 과 역방향, 5' -TGC CAG GAC ACA GTC TGC ATA AG-3' ; 마우스 GAPDH 정방향, 5' -TTC ACC ACC ATG GAG AAG GC-3' 과 역방향, 5' -GGC ATG GAC TGT GGT CAT GA-3' .
- [0123] 프라시노스타트 투여에 의한 IDO mRNA 발현 증가는 용매대조군 대비 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (용매대조군 대비 *, p<0.05; **, p<0.01; ***, 도 3나 참조).
- [0125] 다음으로 프라시노스타트에 의해 IDO를 발현하는 세포를 동정하기 위해, 조직 샘플을 “도 1가” 와 동일한 방법으로 제작하였다.
- [0126] 이후, 면역조직화학법(immunohistochemistry) 분석을 위해 조직 절편을 크실렌(xylene)과 에탄올(EtOH)로 탈수화(dehydration) 한 후 항원 언마스킹 용액 (antigen unmasking solution, Vector, Cat No. H-3301)으로 복구 해주었다. CAS 블록 (CAS block, Thermo Fisher, Cat No. 00-8120)용액을 처리해 블로킹해준 조직에 항-IDO (Adipogen, Cat No. AG-25A-0032-C100, 1:100)을 밤새 처리하였다. IDO에 대한 2차 항체 비오틴화된 항-토끼 항체 (Biotinylated anti-rabbit Ab, Vector, Cat No. BA-1100, 1: 100 희석)를 2시간 동안 처리한 후, Vectastain ABC 키트 (Vector, Cat No. PK-4000)로 1시간 동안 반응시켜주었다. DAB (3,3-diaminobenzidine)로 대조염색(counter-staining)하고 Nanozoomer 2.0 RS (Hamamatsu)로 관찰하였다.
- [0127] 본 발명의 프라시노스타트 경구 투여로 인해 자가면역뇌척수염의 척수 병변에서 형태학적으로 신경세포로 보이는 세포에서 IDO가 선택적으로 발현하는 것을 조직화학법으로 확인하였다 (도 3다 참조).
- [0129] 더욱 명확하게 신경세포에서 IDO발현을 확인하기 위해, 이중면역형광법(dual immunofluorescence)을 시행하였다. 조직 절편을 크실렌(xylene)과 에탄올(EtOH)로 탈수화(dehydration) 한 후 항원 언마스킹 용액 (Vector, Cat No. H-3301)으로 복구해주었다. CAS 블록 (Thermo Fisher, Cat No. 00-8120)용액을 처리해 블로킹해준 조직에 항-NEUN (Millipore, Cat No. MAB377, 1:100 희석)과 항-IDO (Adipogen, Cat No. AG-25A-0032-C100, 1:100)을 밤새 처리하였다. NEUN에 대한 2차 항체 Alexa 488 결합된 항-마우스 항체 (Molecular probe,

Cat No. A-11001, 1: 100 희석)와 IDO에 대한 2차 항체 Alexa 594 결합된 항-토끼 항체 (Molecular probe, Cat No. A-11037, 1: 100 희석)를 2시간 동안 처리한 후, DAPI로 대조염색하고 형광현미경(Fluorescence in situ Hybridization)으로 관찰하였다.

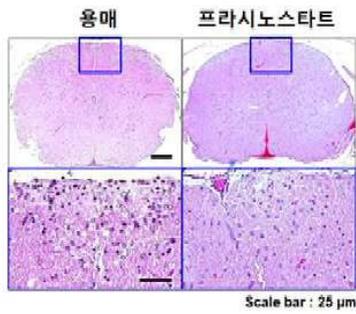
- [0130] 이를 통해 IDO 발현세포가 NEUN⁺ 신경세포라는 것을 형광 현미경 관찰을 통해 확인하였다 (도 3라 참조).
- [0131] 따라서 본 발명의 프라시노스타트는 실험적 다발성 경화증 마우스 모델의 척수 병변 내 신경세포에서 IDO 발현을 유도해 치료 효능을 가진다는 것을 알 수 있었다.
- [0133] **<실시예 4> 프라시노스타트의 IDO-AhR 기전에 의한 염증치료 효과**
- [0134] 본 발명에 따른 프라시노스타트의 다발성 경화증 치료효과가 신경세포 IDO 발현에 의해 이루어짐을 확인하였다. IDO 발현 증가 이후 AhR 활성화 유도가 하위 작용 기전인지를 조사하기 위해, 하기와 같이 C57BL/6 마우스에 자면역억제수염을 유도하고 프라시노스타트와 AhR 저해제 CH-223191을 투여하여 그 효능을 평가하였다.
- [0135] “도 1가”와 동일한 방법으로 질병 유도 후 프라시노스타를 경구 투여하였다. 이때 AhR 저해제 CH-223191 투여 군에는 마우스 한 마리당 10 mg/kg의 CH-223191을 투여용량의 15% (v/v)에 해당하는 크레모포어 EL-에탄올 혼합물(1:1, v/v)에 완전히 녹인 다음 인산완충식염수에 희석하여 200 μ l씩 실험 13일부터 실험 17일까지 총 5회 매일 복강 투여하였다.
- [0136] 그 결과, 프라시노스타트 30 mg/kg 투여 군은 용매대조군에 비해 통계적으로 유의한 치료효과가 나타났다. 하지만, AhR 저해제 CH-223191 투여에 의해 프라시노스타트의 치료효과가 전혀 나타나지 않음을 확인하였다 (도 4가 참조).
- [0138] 프라시노스타트 치료효과에 미치는 AhR 저해제 CH-223191 효과를 조직병리학적으로 추가 분석하기 위해, “도 1나”와 동일한 방법으로 조직 염색하였다.
- [0139] 조직병리학적 분석 결과, AhR 저해제 CH-223191 투여에 의해 프라시노스타트에 의한 염증세포 침윤 감소효과가 전혀 나타나지 않았다 (도 4나 참조).
- [0141] 프라시노스타트 치료효과에 미치는 AhR 저해제 CH-223191 효과를 사이토카인분석으로 추가 확인하기 위해, “도 1다”와 동일한 방법으로 염증성 사이토카인의 발현을 확인하였다.
- [0142] 분석 결과, AhR 저해제 CH-223191 투여에 의해 프라시노스타트에 의한 염증사이토카인 감소효과가 전혀 나타나지 않았다 (도 4다 참조).
- [0143] 따라서 본 발명의 프라시노스타트는 IDO 발현 증가 후 AhR 활성화 하위 기전 유도로 다발성 경화증 치료 효능을 가진다는 것을 확인하였다.

도면

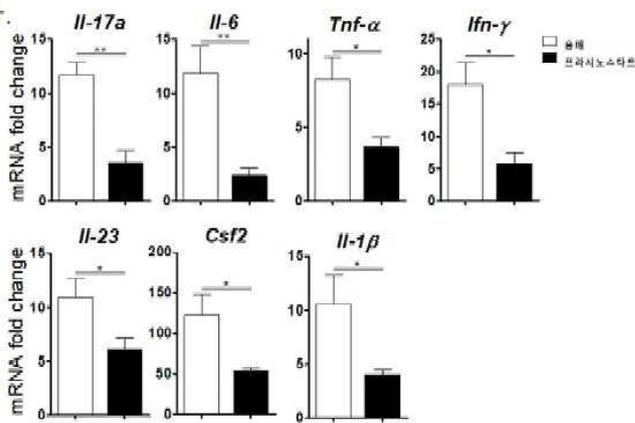
도면1



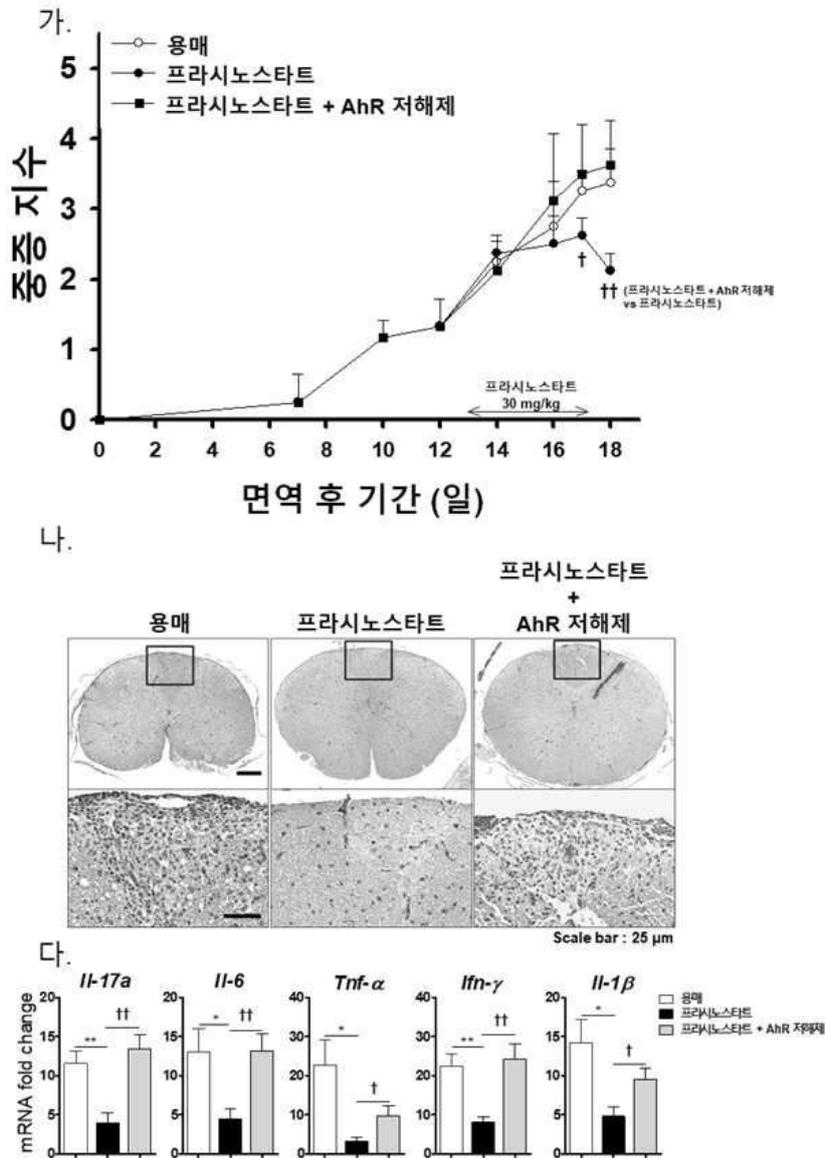
나.



다.



도면2

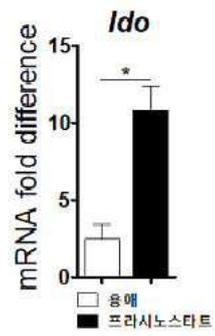


도면3

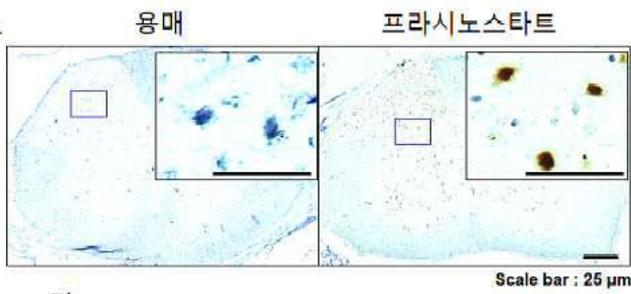
가.



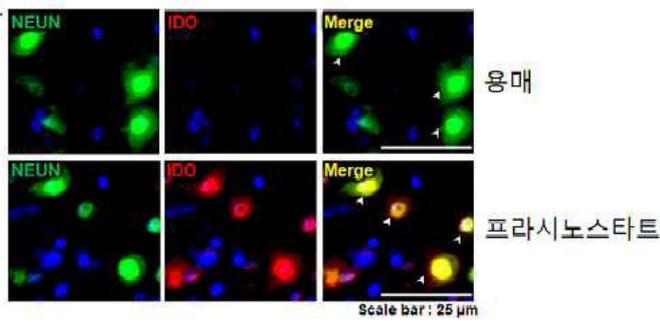
나.



다.



라.



도면4

