



- (51) 국제특허분류:
A61K 36/72 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/344 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/010336
- (22) 국제출원일: 2016년 9월 13일 (13.09.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0132400 2015년 9월 18일 (18.09.2015) KR
- (71) 출원인: 경희대학교 산학협력단 (UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY) [KR/KR]; 17104 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, Gyeonggi-do (KR). 대화제약 주식회사 (DAE HWA PHARMA. CO., LTD.) [KR/KR]; 25228 강원도 횡성군 횡성읍 한우로 495, Gangwon-do (KR).
- (72) 발명자: 조영우 (JO, Yeong Woo); 05718 서울시 송파구 중대로 121, 404 호, Seoul (KR). 류중훈 (RYU, Jong Hoon); 06288 서울시 강남구 삼성로 150, 101 동 609 호, Seoul (KR). 장대식 (JANG, Dae Sik); 06363 서울시 강남구 광평로 10길 50, 106 동 103 호, Seoul (KR). 정인호 (JUNG, In Ho); 16336 경기도 수원시 장안구 이목로 24, 109 동 1901 호, Gyeonggi-do (KR). 이형은 (LEE, Hyung Eun); 04368 서울시 용산구 원효로 216,

104 동 901 호, Seoul (KR). 류별 (RYU, Byeol); 02443 서울시 동대문구 이문로 8길 9, 301 호, Seoul (KR).

- (74) 대리인: 안소영 (AHN, So Young); 06632 서울시 서초구 서초대로 344, 4 층, Seoul (KR).

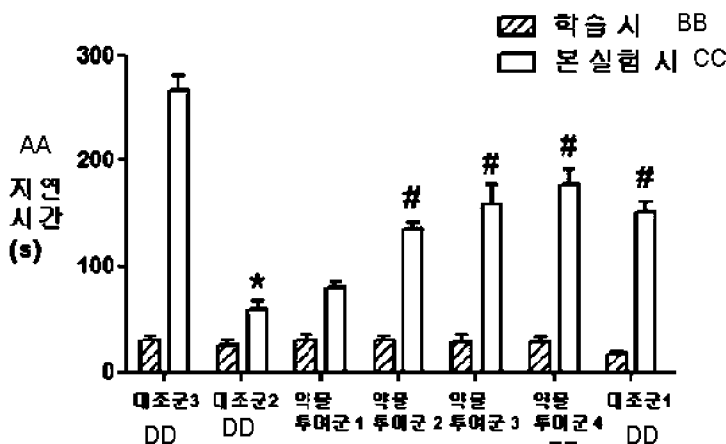
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING COGNITIVE FUNCTION DISORDER OR DEGENERATIVE BRAIN DISEASE

(54) 발명의 명칭 : 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물



AA ... Delay time (s)
BB ... In theory
CC ... In present experiment
DD ... Control group
EE ... Drug administered group

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for preventing or treating cognitive function disorder or degenerative brain disease, which includes *Zizyphus spinosi* extract and *Codonopsis lanceolata* root extract.

(57) 요약서: 본 발명은 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 전 세계가 빠른 속도로 고령화 사회로 진입하고 있으며, 이에 따라 인간은 질병없이 건강하게 장수할 수 있는 높은 삶의 질을 추구하고 있다. 과학의 발달로 인한 수명의 연장으로 노인 인구가 증가하면서, 신경퇴행성 질환인 치매 환자의 비율이 급증하고 있다.
- [3] 알츠하이머성 치매(Alzheimer's disease)는 치매를 일으키는 가장 흔한 퇴행성 뇌질환으로, 이 병의 특징은 서서히 발병하여 점차적으로 계속 진행되는 것이다. 알츠하이머성 치매의 증상은 인지기능 저하뿐만 아니라 성격변화, 초조함, 우울증, 망상, 환각, 공격성, 수면 장애 등의 정신행동이 나타난다. 알츠하이머성 치매의 말기에 이르면 경직, 보행 이상 등의 신경학적 장애가 나타나고 대소변 실금, 감염, 욕창 등 신체적인 장애도 나타난다. 알츠하이머성 치매는 발병 연령에 따라 65세 미만에서는 조발성(초로기) 알츠하이머성 치매, 65세 이상에서는 만발성(노년기) 알츠하이머성 치매으로 구분한다. 알츠하이머형 치매는 비교적 젊은 층에서도 발병하는 사례가 보고된 바 있으며, 65세에서 85세 범위 내에서는 나이가 5세 증가할 때마다 발병률이 2배씩 높아지는 등 노인 인구의 치매 유형 중 가장 흔한 형태로 알려져 있다. 2009년 전체 노인 인구의 사망자 중 알츠하이머형 치매로 사망한 환자가 2000년 대비 약 47% 증가하였다고 보고되고 있으며 알츠하이머형 치매 환자가 있는 가정의 의료비 지출은 다른 형태의 치매환자가 있는 가정의 의료비 지출보다 약 3.2배 정도인 것으로 나타나고 있다. 알츠하이머형 치매는 환자를 수용하는 수동적인 방법으로는 사회 경제적 부담을 감당할 수가 없기 때문에 치료요법 개발의 중요성이 한층 대두되고 있는 실정이다. 알츠하이머성 치매 환자의 뇌 조직을 검사하였을 때 노인반(senile plaque), 신경원섬유 다발(neurofibrillary tangle), 그리고 신경세포의 사멸(neuronal cell death)을 관찰할 수 있다. 알츠하이머성 치매의 정확한 발병 기전과 원인에 대해서는 알려져 있지 않지만, 현재는 신경전달물질(neurotransmitters)의 불균형과 베타 아밀로이드 단백질(amyloid β protein)이 과도하게 만들어져 뇌에 침착되면서 독성을 일으키는 것이 발병의 핵심 기전으로 알려져 있다. 그 외에도 타우 단백질(tau protein)의 과인산화, 신경염증(neuroinflammation), 산화적 물질 등이 뇌 세포 손상을 일으키는 것이 알츠하이머성 치매의 발병 원인으로 알려져 있다.

- [4] 알츠하이머형 치매 치료제로서 현재 가장 진전되어 있는 것이 콜린계 약물이다. 그중에서도 알츠하이머형 치매에서 인식된 신경전달물질인 아세틸콜린의 분해를 방지하여 뇌내의 아세틸콜린의 양을 증가시키는 아세틸콜린에스테라아제(acetylcholinesterase) 저해제가 주목받고 있다.
- [5] 현재 FDA 승인을 받아 치매치료제로 개발되어 사용되고 있는 의약품은 타크린(tacrine), 도네페질(donepezil), 갈란타민(galanthamine), 리바스티그민(rivastigmine) 등이 있는데 이들은 모두 아세틸콜린에스테라아제 저해제이나 병의 진행을 늦출 뿐 직접적인 치료에는 별 효과가 없고 또한 발병 초기에 제한된 치료 범위를 가지고 있기 때문에 알츠하이머형 치매의 근본적인 원인을 치료하는 약을 개발하고자 하는 노력이 이루어져 왔다.
- [6] 또한, 혈관성 치매는 대부분 뇌혈관 동맥경화에 의해 뇌의 여러 곳에 혈액공급이 부족하게 되어 뇌세포에 손상을 입음으로써 발생한다. 혈관성 치매와 상기 알츠하이머형 치매는 발생 원인은 다르지만, 결과적으로 기억력 및 학습능력에 손상이 발생한다는 점에 있어서는 동일하다.
- [7] 이러한 배경 하, 본 발명자들은 인지기능장애 및 퇴행성 뇌질환을 예방 및 치료하기 위한 효과적인 치료제를 개발하기 위하여 연구하던 중, 기억력 및 학습능력을 효과적으로 증진시킬 수 있는 복합 생약 추출물을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명의 목적은 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하기 위한 것이다.
- [9] 또한, 본 발명의 목적은 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 또는 식품 조성물을 제공하기 위한 것이다.

과제 해결 수단

- [10] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [11] 본 발명에서 산조인은 *Zizypus jujuba* var. *spinosa* Hu의 씨를 말하며, 산조인 추출물은 산조인으로부터 분리하여 얻은 물질을 의미한다. 구체적으로 산조인 추출물은 당업계에서 공지된 통상적인 추출용매, 예를 들어 물, C₁₄ 알코올(예: 메탄올, 에탄올, 부탄올 등), 또는 상기 알코올과 물과의 혼합용매 등을 사용하여 산조인으로부터 분리하여 얻은 물질을 의미한다.
- [12] 바람직하게 본 발명의 산조인 추출물은 *Zizypus jujuba* var. *spinosa*의 에탄올 또는 수 추출물이다. 보다 바람직하게 본 발명의 산조인 추출물은 *Zizypus jujuba* var. *spinosa*의 10 내지 95% 에탄올 추출물이다.

- [13] 본 발명의 목적상 산조인, 산조인 추출물은 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 치료 또는 개선용으로 사용된다.
- [14] 본 발명에서 산조인 추출물은 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 당업계에 공지된 방법으로 처리하여 수득하여 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [15] 본 발명에서 양유근은 *Codonopsis lanceolata*의 뿌리를 말하며, 양유근 추출물은 양유근으로부터 분리하여 얻은 물질을 의미한다. 구체적으로 양유근 추출물은 당업계에 공지된 통상적인 추출용매, 예를 들어 물, C₁₋₄ 알코올(예: 메탄올, 에탄올, 부탄올 등), 또는 상기 알코올과 물과의 혼합용매 등을 사용하여 양유근으로부터 분리하여 얻은 물질을 의미한다.
- [16] 바람직하게 본 발명의 양유근 추출물은 *Codonopsis lanceolata*의 에탄올 또는 수 추출물이다. 보다 바람직하게 본 발명의 양유근 추출물은 *Codonopsis lanceolata*의 10 내지 95% 에탄올 추출물이다.
- [17] 본 발명의 목적상 양유근, 양유근 추출물은 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 치료 또는 개선용으로 사용된다.
- [18] 본 발명에서 양유근 추출물은 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 당업계에 공지된 방법으로 처리하여 수득하여 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [19] 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 별도로 제조한 후 혼합, 배합하여 일 조성물로 제조하거나, 또는 산조인 및 양유근을 함께 추출하여 복합추출물로 제조할 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 산조인 및 양유근의 복합추출물이다.
- [20] 예시적으로, 본 발명에 따른 산조인 또는 양유근 추출물은 산조인 또는 양유근을 절단 및/또는 마쇄한 후, 준비된 산조인 또는 양유근 시료 중량의 약 2 내지 20배에 달하는 부피의 물, 또는 메탄올, 에탄올, 부탄올 등과 같은 C₁₋₄의 저급 알코올의 극성 용매 또는 상기 물과 C₁₋₄ 저급 알코올의 약 1:0.1 내지 1:10의 혼합비를 갖는 혼합용매로, 20°C 내지 90°C에서 약 1시간 내지 15일 동안 열수 추출, 냉침 추출, 환류 추출 또는 초음파 추출 등의 추출방법을 사용하여 2 내지 5회, 바람직하게는 2 내지 3회 추출한 후에, 이를 통상의 방법에 따라 여과, 농축 및 건조하여 산조인 또는 양유근 추출물을 수득할 수 있다.
- [21] 또한 예시적으로 본 발명에 따른 산조인 및 양유근의 복합 추출물은 산조인 및 양유근을 분쇄기로 분쇄하여 혼합한 후 중량의 5배수에 해당하는 에탄올을 가하여 75~80°C에서 환류 추출하고, 잔사에 중량대비 4배수의 에탄올을 가하여 75~80°C에서 환류 추출 후 여과하고, 추출액을 모두 합하여 감압 농축 후 건조과정을 거쳐 산조인과 양유근의 복합추출물을 수득할 수 있다.
- [22] 본 발명에 따른 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 전체 조성물 중 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 1:1 내지 10:1의 중량비로 포함한다. 바람직하게, 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체

조성물 중에 1:1 내지 6:1의 중량비, 보다 바람직하게 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 5:1의 중량비로 포함될 수 있다.

- [23] 구체적 일 실시예에서, 산조인(*Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa* Hu의 씨) 및 양유근(*Codonopsis lanceolata*의 뿌리)을 중량대비 1:1에서 6:1의 비율로 칭량하였고, 이를 분쇄하여 혼합하고, 총 중량의 5배수에 해당하는 50% 에탄올을 가하여 75~80°C에서 3시간 환류 추출하였으며, 잔사에 중량대비 4배수의 에탄올을 가하여 75~80°C에서 3시간 동안 환류 추출 후 여과시켰다. 그리고, 추출액을 모두 합하여 감압 농축 후 건조과정을 거쳐 산조인과 양유근의 복합추출물을 제조하였다.
- [24] 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.
- [25] 본 발명에서 인지기능장애는 정상 기능을 가진 동물에 대하여 인지손상 및 행동 변화를 나타내는 장애로, 기억력, 공간지각력, 판단력, 집행기능, 언어능력 등의 기능 저하로부터 발생하는 질환을 일컫는다. 상기 인지기능장애는 예를 들면, 알츠하이머성 치매(Alzheimer's disease), 혈관성 치매(vascular dementia), 기타 알콜 중독, 외상, 파킨슨병의 후유증으로 오는 치매와 같은 다양한 원인에 기인한 치매이거나 또는 건망증일 수 있으며, 바람직하게는 혈관성 치매 또는 알츠하이머성 치매일 수 있다.
- [26] 본 발명에서 퇴행성 뇌질환은 뇌신경 세포가 파괴됨으로써 발생하는 뇌에 발생하는 질환으로 예컨대, 뇌졸중, 중풍, 건망증, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환 또는 헌팅턴 질환일 수 있다.
- [27] 본 발명에서 예방이란 본 발명에 따른 산조인 추출물 및 양유근 추출물의 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물의 투여로 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환 발병을 저해 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [28] 본 발명에서 치료란 본 발명에 따른 산조인 추출물 및 양유근 추출물의 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물의 투여로 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [29] 구체적 일 실험예들에서, 본 발명의 산조인 및 양유근 복합 추출물을 스코폴라민 또는 베타-아밀로이드 단백질로 유도한 기억력 손상 동물 모델에 투여하고, 수동회피실험, Y-미로 실험 및 모리스 수중 미로 실험을 수행하였다. 그 결과, 본 발명의 조성물을 미처리한 대조군에 비하여 본 발명의 산조인 및 양유근 복합 추출물을 투여한 약물투여군에서 학습증진 및 공간지각능력이 현저하게 향상됨을 확인하였다.
- [30] 따라서 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 본 발명에 따른 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 인간을 포함하는 동물에게 투여하여 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [31] 본 발명에서 개체란 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환이 이미 발병하였거나

발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미하고, 본 발명의 조성물을 개체에게 투여함으로써, 상기 장애 또는 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다.

- [32] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 약학적으로 유효한 양이란 의학적 치료에 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 증정도, 연령, 성별, 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 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [33] 예시적으로, 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 산조인 및 양유근의 복합 추출물을 1일 0.5 g/kg 내지 1 g/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [34] 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 전체 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물을 0.1 내지 50 중량%의 함량으로 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [35] 본 발명의 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [36] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 첨가제, 예를 들어 담체, 부형제 및 희석제 등을 더 포함할 수 있다.
- [37] 본 발명의 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 있으며, 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 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, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한

고형제제는 상기 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 스테레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 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, 동결건조제, 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 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

- [38] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 또는 식품 조성물을 제공한다.
- [39] 상기 산조인, 산조인 추출물, 양유근, 양유근 추출물, 인지기능장애, 퇴행성 뇌질환은 앞서 설명한 바와 같다.
- [40] 바람직하게, 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 중 산조인 추출물은 *Zizypus jujuba* var. *spinosa*의 에탄올 또는 수 추출물일 수 있고, 양유근 추출물은 *Codonopsis lanceolata*의 에탄올 또는 수 추출물일 수 있다.
- [41] 바람직하게, 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 중 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 1:1 내지 10:1, 보다 바람직하게 1:1 내지 6:1, 특히 바람직하게 5:1의 중량비로 포함될 수 있다.
- [42] 본 발명에서, 개선이란 증상의 치료, 경감, 예방을 포함하는 의미로서, 본 발명에서는 인지기능장애 및 퇴행성 뇌질환, 예를 들어 뇌졸중, 중풍, 건망증, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환 또는 헌팅턴 질환이 치료, 경감 또는 예방되는 것을 말한다.
- [43] 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 건강기능식품 조성물 또는 식품 조성물에서 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 개선 효과를 나타낼 수 있는 한 용도, 제형, 배합 목적에 따라 임의의 양(유효량)으로 포함할 수 있다.
- [44] 본 발명에서 유효량이란 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 개선 효과를 유도할 수 있는 유효성분의 양을 말한다. 이러한 유효량은 당업자의 통상의 능력 범위 내에서 실험적으로 결정될 수 있다.
- [45] 본 발명의 건강기능식품 조성물 또는 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 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. 그 밖에 천연 과일쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

- [46] 또한 본 발명의 건강기능식품 조성물 또는 식품 조성물은 식품 또는 음료의 다양한 형태, 예를 들어 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 껌류, 아이스크림류, 스프, 음료수, 차, 기능수, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 중 어느 하나의 형태일 수 있으며, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 또는 액제 등의 형태로 사용될 수 있다.
- [47] 본 발명의 산조인 및 양유근 복합추출물은 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환 관련 질환의 예방 및 개선을 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 복합추출물의 양은 통상 전체 식품 조성물 중량의 1 내지 5 중량%로 가할 수 있으며, 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.
- [48] 또한, 상기 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 복합추출물을 함유하는 것 외에 액체성분으로 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료로서 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등의 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜을 들 수 있다. 기타 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 필요에 따라 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.
- [49] 또한 상기 건강기능식품 조성물은 식품첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, 식품첨가물로서의 적합여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전처에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [50] 상기 "식품첨가물공전"에 기재된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합 제제류들을 들 수 있다.
- [51] 상기 건강기능식품을 제조하는 과정에서 음료를 포함한 식품에 첨가되는 본 발명에 따른 복합 추출물은 필요에 따라 그 함량을 적절히 가감할 수 있다.
- [52] 또한, 본 발명은 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 또는 치료를 필요로 하는 대상체에게 상술한 본 발명의 약학적 조성물 또는 식품 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 또는 치료 방법을 제공한다. 본 발명에 있어서, 상기 대상체는 포유류, 특히 인간을

포함한다.

[53] 또한, 본 발명은 인지기능 장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 약제 또는 식품의 제조를 위한, 상술한 본 발명의 약학적 조성물 또는 식품 조성물의 용도를 제공한다.

[54] 상기 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환은 본 명세서에서 상술한 것과 동일하다.

발명의 효과

[55] 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물의 복합 추출물을 포함하는 조성물은 학습 및 기억력을 현저하게 개선시켜, 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환을 효과적으로 예방, 치료 및 개선할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[56] 도 1은 산조인 50% 에탄올 추출물을 스코폴라민으로 유도한 기억력 감퇴 동물에게 농도 의존적(50, 100, 200 및 400 mg/kg)으로 투여하고 수동회피 실험에서 어두운 방으로 들어가는 시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[57] 도 2는 양유근 50% 에탄올 추출물을 스코폴라민으로 유도한 기억력 감퇴 동물에게 농도 의존적(25, 50, 100 및 200 mg/kg)으로 투여하고 수동회피 실험에서 어두운 방으로 들어가는 시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[58] 도 3은 산조인 및 양유근 단일 추출물과 산조인과 양유근의 복합추출물의 스코폴라민으로 유도한 기억력 감퇴 동물에서의 기억력 감퇴에 대한 개선효과를 비교한 것으로 동일 농도(100 mg/kg)로 투여했을 때 수동회피 실험에서 어두운 방으로 들어가는 시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[59] 도 4는 산조인 및 양유근의 5:1 중량비 복합추출물을 스코폴라민으로 유도한 기억력 감퇴 동물에 농도 의존적(50, 100, 200 및 400 mg/kg)으로 투여하고 수동회피 실험에서 어두운 방으로 들어가는 시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[60] 도 5는 산조인 및 양유근의 5:1 중량비 복합추출물을 스코폴라민으로 유도한 기억력 감퇴 동물에 농도 의존적(50, 100, 200 및 400 mg/kg)으로 투여하고 Y-미로 실험에서 변경 행동력 및 총 출입수를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[61] 도 6은 산조인 및 양유근 5:1 중량비 복합추출물을 스코폴라민으로 유도한 기억력 감퇴 동물에 100, 200 및 400 mg/kg으로 투여하고 모리스 수중 미로 실험의 훈련실험에서 플랫폼을 찾는 시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[62] 도 7은 산조인 및 양유근 5:1 중량비 복합추출물을 베타 아밀로이드 단백질로 유도한 기억력 감퇴 동물에게 농도 의존적(100, 200 및 400 mg/kg)으로 투여하고 수동회피 실험에서 어두운 방으로 들어가는 시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[63] 도 8은 산조인 및 양유근 5:1 중량비 복합추출물을 스코폴라민으로 유도한 기억력 감퇴 동물에 농도 의존적(50, 100, 200 및 400 mg/kg)으로 투여하고

Y-미로 실험에서 변경 행동력 및 총 출입수를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [64] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나, 하기의 실시예는 본 발명을 더욱 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의하여 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [65] **재료: 약물 및 시약**
- [66] 스코폴라민(scopolamine) 및 도네페질(donepezil)은 Sigma-Aldrich Chemistry Co.에서 구입하여 사용하였으며, 베타 아밀로이드는 American Peptide Co.에서 구입하였고, 그 외 시약은 시중에서 구입할 수 있는 최상급을 사용하였다.
- [67] **실시예: 산조인과 양유근의 복합추출물 제조**
- [68] 산조인(*Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa* Hu의 씨) 또는 양유근(*Codonopsis lanceolata*의 뿌리)을 중량비 1:1에서 6:1의 비율로 각각 칭량하였다. 그리고 칭량한 산조인과 양유근을 분쇄기로 분쇄하여 혼합한 후 총 중량의 5배수에 해당하는 50% 에탄올을 가하여 75~80°C에서 3시간 환류 추출하였으며, 잔사에 중량대비 4배수의 에탄올을 가하여 75~80°C에서 3시간 동안 환류 추출 후 여과시켰다. 그 후, 추출액을 모두 합하여 감압 농축 후 건조과정을 거쳐 산조인과 양유근의 복합추출물을 제조하였다.
- [69] **참고예 1: 산조인 및 양유근 단일 추출물의 제조**
- [70] 산조인(*Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa* Hu의 씨) 또는 양유근(*Codonopsis lanceolata*의 뿌리)을 100 g 중량으로 각각 칭량하였다. 그리고 칭량한 산조인 또는 양유근을 분쇄기로 분쇄하여 혼합한 후 총 중량의 5배수에 해당하는 50% 에탄올을 가하여 75~80°C에서 3시간 환류 추출하였으며, 잔사에 중량대비 4배수의 에탄올을 가하여 75~80°C에서 3시간 동안 환류 추출 후 여과시켰다. 그 후, 추출액을 모두 합하여 감압 농축 후 건조과정을 거쳐 산조인 및 양유근의 단일 추출물을 제조하였다.
- [71] **참고예 2: 실험동물의 준비**
- [72] 6주령의 ICR 마우스(26 - 28 g) 를 (주) 오리엔트(Seoul, Korea)에서 공급받아 경희대학교 약학대학의 동물 실험실에 약 5일간 적응시켜 사용하였으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 온도($23 \pm 2^\circ\text{C}$), 습도($50 \pm 10\%$) 및 명암주기(12 시간)는 자동으로 조절되도록 하였다. 이하, 실험에서는 각 약물투여군 및 대조군 당 준비된 마우스 10마리씩을 사용하여 실험하였다.
- [73] **참고예 3: 통계처리**
- [74] 모든 실험 결과는 ANOVA (one way analysis of variance)를 이용하여 통계 처리하였고, 유의성이 인정될 경우 Student-Newman-Keuls Test를 사용하여 $p < 0.05$ 수준 이하에서 유의성 검정을 실시하였다.
- [75] **실험예 1. 스코폴라민에 의해 유도된 건망증 모델을 이용한 산조인 또는 양유근의 단일 추출물과 산조인 및 양유근 복합추출물의 수동회피 실험**

[76] (1) 실험 방법

[77] 약물투여군으로 참고예 1에서 제조한 산조인 추출물 및 양유근 추출물과, 실시예에서 제조한 산조인 및 양유근의 복합추출물(산조인:양유근 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 및 6:1의 중량비)을 0.5% CMC (carboxymethylcellulose: Sigma, U.S.A.)에 녹인 후 참고예 2의 마우스에 경구 투여하였다.

[78] 대조군 1은 도네페질 5 mg/kg을 투여한 군이고, 대조군 2는 약물 미투여군이며, 대조군 3은 10% CMC만을 투여한 군이다.

[79] 상기 약물 투여 30분 후에 약물투여군, 대조군 1 및 2에 0.9% 생리식염수에 녹인 스코폴라민을 1 mg/kg의 용량으로 복강 투여하였다(Ebert, U. et al., Eur. J. Clin. Invest., 28, pp944-949, 1998). 스코폴라민 투여 30분 후에 마우스를 조명을 비춘 밝은 쪽 구획에 놓고 10초의 탐색시간 후 길로틴문(guillotin door)이 열려 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다. 이때 길로틴문이 열린 후 60초 이내에 어두운 쪽으로 들어가지 않는 마우스는 실험에서 제외시켰다. 길로틴문이 열린 후 마우스가 어두운 쪽으로 들어갈 때까지의 시간을 측정하였다. 일단 마우스가 어두운 쪽으로 들어가면 길로틴문이 닫히고 0.5 mA의 전기 충격이 3초 동안 격자 바닥을 통해 흐르게 되고 마우스는 이러한 전기작용을 기억하게 된다.

[80] 학습 시험이 끝나고 24시간 후에 본 실험을 시행하였다. 마우스가 10초의 탐색시간 후 길로틴문이 열리고 어두운 쪽으로 네 발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time : 머무름 시간)을 300초까지 측정하였다. 걸리는 시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다.

[81] (2) 실험 결과

[82] 약물 및 스코폴라민을 전혀 처리하지 않은 대조군 3에 비해 스코폴라민만 투여한 대조군 2의 머무름 시간이 유의성 있게 감소한 것으로 보아 기억력 감퇴 모델이 제작되었음을 확인하였다. 참고예 1에 따른 산조인 단일 에탄올 추출물의 수동회피실험 결과는 표 1 및 도 1에 나타내었고, 참고예 1에 따른 양유근 단일 에탄올 추출물의 수동회피실험 결과는 표 2 및 도 2에 나타내었고, 참고예 1과 실시예에 따른 산조인 및 양유근 단일 추출물과, 산조인 및 양유근 복합추출물의 수동회피실험 결과는 표 3 및 도 3에 나타내었으며, 실시예에 따른 산조인 및 양유근 5:1 중량비 복합추출물의 용량의존성 수동회피실험 결과는 표 4 및 도 4에 나타내었다.

[83] 표 1 및 도 1에서 확인할 수 있는 바와 같이 산조인 단일 에탄올 추출물에 대한 용량의존성 실험에서 스코폴라민만 투여한 군(대조군 2)의 머무름 시간이 59.10 ± 24.45 초인데 반해 산조인 단일 에탄올 추출물의 100 mg/kg 투여군(약물투여군 2)에서 134.2 ± 23.80 ($p < 0.05$) 초, 200 mg/kg 투여군(약물투여군 3)에서 157.8 ± 56.78 ($p < 0.05$), 400 mg/kg 투여군(약물투여군 4)에서 176.5 ± 48.21 초로 유의성 있는 증가를 보였다.

[84] [표1]

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(50mg/Kg)	27.80 ± 14.25	80.10 ± 16.16
약물투여군 2(100mg/Kg)	28.70 ± 20.48	134.2 ± 23.80
약물투여군 3(200mg/Kg)	29.20 ± 14.26	157.8 ± 56.78
약물투여군 4(400mg/Kg)	29.90 ± 16.64	176.5 ± 48.21
대조군 1(도네페질)	17.20 ± 5.371	151.7 ± 30.59
대조군 2(스코폴라민)	24.30 ± 15.90	59.10 ± 24.45
대조군 3	29.10 ± 17.82	265.8 ± 44.15

[85] 표 2 및 도 2에서 확인할 수 있는 바와 같이 양유근 단일 에탄올 추출물에 대한 용량의존성 실험에서 스코폴라민만 투여한 군(대조군 2)의 머무름 시간이 22.41 ± 18.93 초인데 반해 양유근 단일 에탄올 추출물의 50 mg/kg 투여군(약물투여군 2)에서 142.3 ± 26.63 ($p < 0.05$) 초, 100 mg/kg 투여군(약물투여군 3)에서 119.5 ± 22.39 ($p < 0.05$) 초로 유의성 있는 증가를 보였다.

[86] [표2]

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(25mg/Kg)	35.50 ± 21.22	59.40 ± 14.07
약물투여군 2(50mg/Kg)	36.70 ± 20.08	142.3 ± 26.63
약물투여군 3(100mg/Kg)	37.30 ± 19.67	119.5 ± 22.39
약물투여군 4(200mg/Kg)	26.30 ± 28.13	69.62 ± 13.46
대조군 1(도네페질)	36.60 ± 22.58	119.3 ± 13.91
대조군 2(스코폴라민)	36.00 ± 20.91	22.41 ± 18.93
대조군 3	20.20 ± 8.550	213.0 ± 24.49

[87] 표 3 및 도 3에는 산조인 및 양유근의 단일 추출물과 다양한 조성비로 배합한 산조인과 양유근의 복합추출물 100 mg/kg에 대한 기억력 개선 효능 결과를 나타내었다. 스코폴라민만 투여한 군(대조군 2)의 머무름 시간이 43.40 ± 30.04 초인데 반해 산조인 단일 추출물을 투여한 군(약물투여군 1)의 머무름 시간은 174.8 ± 63.78 ($p < 0.05$) 초, 양유근 단일 에탄올 추출물을 투여한 군(약물투여군 2)의 머무름 시간이 129.4 ± 37.31 ($p < 0.05$) 초였다. 산조인과 양유근의 복합추출물은 산조인과 양유근이 3:1 중량 조성비일 때(약물투여군 5) 159.8 ± 77.52 ($p < 0.05$) 초, 산조인과 양유근이 4:1 중량 조성비일 때(약물투여군 6) 174.8 ± 75.54 ($p < 0.05$) 초, 산조인과 양유근이 5:1 중량 조성비일 때(약물투여군 7) 221.9 ± 44.62 ($p < 0.05$) 초, 산조인과 양유근이 6:1 중량 조성비일 때(약물투여군 8) 182.4 ± 60.79 ($p < 0.05$) 초로 산조인과 양유근이 5:1 중량 조성비일 때(약물투여군 7) 가장 우수한 학습 및 기억력 개선효과가 있음을 확인하였다.

[88] [표3]

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(산조인 100mg/Kg)	24.20 ± 11.36	174.8 ± 63.78
약물투여군 2(양유근 100mg/Kg)	26.70 ± 18.67	129.4 ± 37.31
약물투여군 3(산조인:양유근=1:1, 100mg/Kg)	25.70 ± 15.07	134.1 ± 30.34
약물투여군 4(산조인:양유근=2:1, 100mg/Kg)	26.40 ± 11.49	145.9 ± 68.19
약물투여군 5(산조인:양유근=3:1, 100mg/Kg)	27.40 ± 13.49	159.8 ± 77.52
약물투여군 6(산조인:양유근=4:1, 100mg/Kg)	30.70 ± 14.17	174.8 ± 75.54
약물투여군 7(산조인:양유근=5:1, 100mg/Kg)	29.40 ± 14.99	221.9 ± 44.62
약물투여군 8(산조인:양유근=6:1, 100mg/Kg)	21.20 ± 7.300	182.4 ± 60.79
대조군 1(도네페질)	25.30 ± 15.73	191.8 ± 56.80
대조군 2(스코폴라민)	30.90 ± 15.82	43.40 ± 30.04
대조군 3	20.60 ± 13.60	251.3 ± 40.01

[89] 표 4 및 도 4에서 확인할 수 있는 바와 같이, 산조인과 양유근의 5:1 중량비

복합추출물에 대한 용량의존성 실험에서 스코폴라민만 투여한 군(대조군 2)의 머무름 시간이 52.89 ± 12.77 초인데 반해 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물의 100 mg/kg 투여군(약물투여군 2)에서 142.0 ± 37.50 ($p < 0.05$) 초, 200 mg/kg 투여군(약물투여군 3)에서 176.7 ± 66.66 ($p < 0.05$) 초, 400 mg/kg 투여군(약물투여군 4)에서 180.1 ± 66.96 ($p < 0.05$) 초로 유의성 있는 증가를 보였다.

[90] [표4]

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(50mg/Kg)	33.40 ± 16.32	90.40 ± 30.62
약물투여군 2(100mg/Kg)	25.60 ± 19.33	142.0 ± 37.50
약물투여군 3(200mg/Kg)	29.00 ± 17.12	176.7 ± 66.66
약물투여군 4(400mg/Kg)	32.40 ± 15.83	180.1 ± 66.96
대조군 1(도네페질)	39.40 ± 15.04	182.9 ± 74.19
대조군 2(스코폴라민)	27.10 ± 16.54	52.89 ± 12.77
대조군 3	31.00 ± 20.15	277.6 ± 48.53

[91] 실험예 2. 스코폴라민에 의해 유도된 건망증 모델을 이용한 Y-미로 실험

[92] 실험예 1과 같은 방법으로 제조한 스코폴라민(1 mg/kg, i.p)을 투여한 기억력 감퇴 동물모델을 이용하여 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물이 기억력 손상을 억제하여 주는 효과가 있는지의 여부를 Y-미로 실험장치를 이용하여 하기와 같이 실험하였다. Y-미로시험에 이용되는 기구는 3개의 가지로 구성되어 있으며, 각 가지(arm)의 길이는 42 cm, 넓이는 3 cm, 높이는 12 cm이고 세 팔이 접하는 각도는 120°였다. 모든 실험 장치는 검정색의 폴리비닐 플라스틱(polyvinyl plastic)으로 장치하였다.

[93] 실시예에 따른 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물을 0.5%의 CMC (carboxymethylcellulose, Sigma, U.S.A.) 4 ml에 녹인 후 50, 100, 200 및 400 mg/kg 으로 참고예 2의 마우스에 경구 투여하였다. 양성 대조군(대조군 1)은 도네페질(donepezil) 5 mg/kg을 투여하고, 대조군 2는 약물 미투여군이며, 음성 대조군(대조군 3)에는 0.5% CMC만을 투여하였다.

[94] 상기 약물투여 30분 후에 증류수 5 ml에 스코폴라민 1 mg을 녹여 이를 1 mg/kg의 용량으로 약물투여군, 대조군 1 및 2의 마우스에 복강 투여하고, 스코폴라민 투여 30분 후에 각 가지를 A, B, C로 정한 후, 한쪽 가지에 마우스를 조심스럽게 놓고 8분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음, 마우스가 들어간 가지를 기록하였다. 이 때 꼬리까지 완전히 들어갔을 경우에 한하며, 갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 세 개의 다른 가지에 차례로 들어간 경우 1점(실제 변경, actual alternation)씩 부여하였다. 변경 행동력(alternation behavior)은 3가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되며, 하기 수학적 1에 의해 계산하였다(Sarter, M. et al., Psychopharmacology., 94, pp491-495, 1998).

[95] [수식1]

$$\text{변경 행동력(\%)} = \frac{\text{실제변경}}{\text{최고변경}} \times 100$$

[96] (최고변경 : 총 입장횟수 - 2)

- [97] 그 결과, 표 5 및 도 5와 같이 스코폴라민(1 mg/kg, i.p)의 투여에 의해 변경 행동력(spontaneous alternation)이 대조군 3에 비해 통계적으로 유의성 있게 감소하였다(*, $P < 0.05$ vs. 대조군, 도 5A 및 표 5 참조). 이러한 감소는 변경 행동력(spontaneous alternation)이 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물의 투여에 의해 증가하였으며, 거의 정상상태의 변경 행동(spontaneous alternation) 수준으로 회복되는 것을 확인할 수 있었다(#, $P < 0.05$ vs. 스코폴라민 투여군). 변경 행동력(Spontaneous alternation)이 증가한다는 것은 학습 및 기억력이 회복되었다는 것을 의미하는 반면, 각 구역으로 들어가는 총 횟수를 나타내는 총출입수(total entry)에는 변화가 없는 것으로 나타나 변경 행동력(spontaneous alternation)이 마우스의 활동성 변화에 의해 나타난 것이 아님을 알 수 있었다.

- [98] [표5]

실험군	변경 행동력(%)	총 출입 횟수
약물투여군 1(50mg/Kg)	58.51 ± 8.451	26.10 ± 4.228
약물투여군 2(100mg/Kg)	65.98 ± 10.53	27.90 ± 4.306
약물투여군 3(200mg/Kg)	64.06 ± 6.968	28.90 ± 4.095
약물투여군 4(400mg/Kg)	65.98 ± 10.53	27.10 ± 4.383
대조군 1(도네페질)	68.66 ± 8.861	27.60 ± 3.836
대조군 2(스코폴라민)	52.86 ± 10.42	26.80 ± 3.824
대조군 3	77.93 ± 7.788	27.40 ± 4.575

- [99] 실험예 3. 스코폴라민에 의해 유도된 건망증 모델을 이용한 모리스 수중 미로 실험
- [100] (1) 실험 방법
- [101] 실시예에 따른 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물을 0.5% CMC에 녹인 후 100, 200 및 400 mg/kg의 용량으로 참고예 2의 마우스에 경구 투여하였다. 양성 대조군(대조군 1)은 도네페질 5 mg/kg을 투여하고, 대조군 2는 약물 미투여군이며, 음성 대조군(대조군 3)에는 0.5% CMC를 투여하였다.
- [102] 상기 약물투여 30분 후에 증류수 5 ml에 스코폴라민 1 mg을 녹여 이를 1 mg/kg의 용량으로 약물투여군 및 대조군 1 및 2의 마우스에 복강 투여하였다.
- [103] 지름 90 cm, 높이 45 cm인 원형 풀에 각각 별, 네모, 세모, 원의 네 가지 표지를 같은 간격으로 붙이고 이 중 별 아래에 29 cm 높이의 플랫폼(platform)을 위치시켰다. 플랫폼 보다 0.5 cm 윗부분까지 물을 채우고(수온 $21 \pm 1^\circ\text{C}$), 색소를 이용하여 물을 흐리게 하여 수면에서 플랫폼이 보이지 않게 하였다. 마우스를 풀의 한 구획에 조심스럽게 내려놓은 다음 플랫폼까지 찾아가는 시간을 60초 동안 측정하였다. 30초 후 다시 같은 위치에 마우스를 내려놓고 플랫폼까지 찾아가는 시간을 60초 동안 측정하였다. 위의 과정을 4번 반복하고, 총 4일 동안 내려놓는 위치를 바꿔가며 실시하였다.
- [104] (2) 실험 결과
- [105] 그 결과, 모든 실험에서 대조군 3에 비해 스코폴라민만 투여한 대조군 2의 플랫폼까지 걸린 시간의 감소가 유의성이 없었던 것으로 보아 기억력 감퇴 모델이 제작되었음을 알 수 있었다. 도 6에서 확인할 수 있듯이, 훈련실험에서 스코폴라민만 투여한 대조군 2의 플랫폼까지 걸린 시간이 3일과 4일차에 각각

53.25 ± 11.14초, 51.60 ± 14.42초인데 반해 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물 100 mg/kg 투여군에서는 35.00 ± 8.134 (p < 0.05) 초, 34.65 ± 9.773 (p < 0.05) 초, 200 mg/kg 투여군에서는 32.15 ± 14.16 (p < 0.05) 초, 30.15 ± 13.18 (p < 0.05) 초, 400 mg/kg 투여군에서는 31.00 ± 13.09 (p < 0.05) 초, 27.80 ± 11.04 (p < 0.05) 초로 유의성 있는 감소를 보였다(표 6 및 도 6A). 훈련 후 플랫폼을 제거하고 마우스가 플랫폼이 있던 사분면에 머무르는 시간을 측정하였을 때 스코폴라민만 투여한 대조군 2의 머무름 시간이 15.75 ± 2.886초인데 반해 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물 100 mg/kg 투여군에서는 22.21 ± 3.774 (p < 0.05) 초, 200 mg/kg 투여군에서는 22.51 ± 3.723 (p < 0.05) 초, 400 mg/kg 투여군에서는 22.02 ± 2.733 (p < 0.05) 초로 유의성 있는 증가를 보였다(표 7 및 도 6B).

[106] [표6]

실험군	총 탐색 시간(3일)	총 탐색 시간(4일)
약물투여군 (100mg/Kg)	35.00 ± 8.134	34.65 ± 9.773
약물투여군 2(200mg/Kg)	32.15 ± 14.16	30.15 ± 13.18
약물투여군 3(400mg/Kg)	31.00 ± 13.09	27.80 ± 11.04
대조군 1(도네페질)	30.35 ± 12.56	31.90 ± 13.24
대조군 2(스코폴라민)	53.25 ± 11.14	51.60 ± 14.42
대조군 3	25.40 ± 14.35	24.85 ± 9.753

[107] [표7]

실험군	머무름 시간(초)
약물투여군 (100mg/Kg)	22.21 ± 3.774
약물투여군 2(200mg/Kg)	22.51 ± 3.723
약물투여군 3(400mg/Kg)	22.02 ± 2.733
대조군 1(도네페질)	22.97 ± 3.122
대조군 2(스코폴라민)	15.75 ± 2.886
대조군 3	24.50 ± 6.828

[108] 실험예 4. 베타 아밀로이드 단백질에 의해 유도된 치매 모델을 이용한 산조인과 양유근 5:1 중량비 복합추출물의 수동회피 실험

[109] (1) 베타 아밀로이드 단백질 유도 치매 마우스의 제작

[110] 베타 아밀로이드 단백질 1-42 fragment (American peptide, USA)를 구입하여 0.9% 생리식염수에 1 mg/ml의 농도로 용해하였다. 그 후 37 °C에서 24시간 동안 베타 아밀로이드 단백질을 응집시킨 후 사용하였다. 참고예 2의 마우스를 2% 아이소플루레인(isofluorane)으로 흡입마취를 유도한 후, 우측 뇌실에 3 μl를 해밀턴 실린지를 이용하여 투여하였다. 음성 대조군에는 0.9% 생리식염수를 투여하였다. 베타 아밀로이드 투여 직후 약물을 경구투여하였으며, 약물을 동량으로 1일 1회 총 7일간 투여하였다.

[111] (2) 실험 방법

[112] 실시예에 따른 산조인과 양유근 5:1 중량비 복합추출물을 0.5% CMC에 녹인 후 여러 가지 용량(100, 200 및 400 mg/kg)으로 실험예 4-(1)의 마우스에 7일간 경구 투여하였다. 양성 대조군(대조군 1)은 도네페질(donepezil) 5 mg/kg을 7일간 경구투여하고, 음성 대조군(대조군 3)에는 0.5% CMC를 7일간 경구투여하였다. 단회투여에 의한 효과를 피하기 위해 마지막 약물 투여 24시간 후에 마우스를

조명을 비춘 밝은 쪽 구획에 놓고 20초의 탐색시간 후 길로틴문(guillotin door)이 열려 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다. 이때 길로틴문이 열린 후 60초 이내에 어두운 쪽으로 들어가지 않는 마우스는 실험에서 제외시켰다. 길로틴문이 열린 후 마우스가 어두운 쪽으로 들어갈 때까지의 시간을 측정하였다. 일단 마우스가 어두운 쪽으로 들어가면 길로틴문이 닫히고 0.5 mA의 전기 충격이 3초 동안 격자 바닥을 통해 흐르게 되고 마우스는 이러한 전기작용을 기억하게 된다.

[113] 학습 시험이 끝나고 24시간 후에 본 실험을 시행하였다. 마우스가 10초의 탐색시간 후 길로틴문이 열리고 어두운 쪽으로 4발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time : 머무름 시간)을 300초까지 측정하였다. 걸리는 시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다.

[114] (3) 실험 결과

[115] 그 결과, 표 8 및 도 7에서 확인할 수 있듯이 대조군 3에 비해 베타 아밀로이드 단백질만 투여한 군(대조군 2)의 머무름 시간이 유의성 있게 감소한 것으로 보아 기억력 감퇴 모델이 제작되었음을 확인하였다. 베타 아밀로이드 단백질에 대한 용량의존성 실험에서 베타 아밀로이드 단백질만 투여한 군(대조군 2)의 머무름 시간이 92.10 ± 18.22 초인데 반해 산조인과 양유근 5:1 중량비 복합추출물의 100, 200 및 400 mg/kg 투여군에서 각각 110.8 ± 16.83 ($p < 0.05$), 152.0 ± 54.81 ($p < 0.05$), 157.9 ± 79.54 ($p < 0.05$)초로 유의성 있는 증가를 보였다. 특히 산조인과 양유근 5:1 중량비 복합추출물 400 mg/kg의 용량에서 대조군의 58.5% 수준으로 도네페질 투여군과 비슷한 정도로 회복하는 것을 확인하였다.

[116] [표8]

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(100mg/Kg)	25.67 ± 4.183	110.8 ± 16.83
약물투여군 2(200mg/Kg)	28.80 ± 16.24	152.0 ± 54.81
약물투여군 3(400mg/Kg)	30.44 ± 7.601	157.9 ± 79.54
대조군 1(도네페질)	21.11 ± 4.755	163.0 ± 19.40
대조군 2(베타 아밀로이드)	30.60 ± 16.16	92.10 ± 18.22
대조군 3	29.50 ± 8.772	269.9 ± 42.42

[117] 실험예 5. 베타 아밀로이드 단백질에 의해 유도된 치매 모델을 이용한 산조인과 양유근 5:1 중량비 복합추출물의 Y-미로 시험

[118] (1) 베타 아밀로이드 단백질 유도 치매 마우스의 제작

[119] 베타 아밀로이드 단백질 1-42 fragment (American peptide, USA)를 구입하여 0.9% 생리식염수에 1 mg/ml의 농도로 용해하였다. 그 후 37 °C에서 24시간 동안 베타 아밀로이드 단백질을 응집시킨 후 사용하였다. 참고예 2의 마우스를 2% 아이소플루레인(isofluorane)으로 흡입마취를 유도한 후, 우측 뇌실에 3 μ를 해밀턴 실린지를 이용하여 투여하였다. 음성 대조군에는 0.9% 생리식염수를 투여하였다. 베타 아밀로이드 투여 직후 약물을 경구투여하였으며, 약물을 동량으로 1일 1회 총 7일간 투여하였다.

[120] (2) 실험 방법

[121] 실험예 5-(1)에 따른 마우스에 실시예에 따른 산조인과 양유근 5:1 중량비 복합추출물을 0.5% CMC에 녹인 후 여러 가지 용량(50, 100, 200 및 400 mg/kg)으로 7일간 경구 투여하였다. 양성 대조군(대조군 1)은 도네페질(donepezil) 5 mg/kg을 7일간 경구투여하고, 음성 대조군(대조군 3)에는 0.5% CMC를 7일간 경구투여하였다. 단회투여에 의한 효과를 피하기 위해 마지막 약물 투여 24시간 후에 Y-미로 시험을 실시하였으며, 방법은 상기 실험예 2와 동일하였다.

[122] (3) 실험 결과

[123] 그 결과, 표 9 및 도 8에 나타나듯이 베타 아밀로이드 단백질을 투여한 군(대조군 2)의 변형 행동력(spontaneous alternation)이 $51.61 \pm 11.44\%$ 인데 반해 산조인과 양유근의 5:1 중량비 복합추출물 200 및 400 mg/kg 투여군에서 각각 63.04 ± 12.37 ($p < 0.05$), 64.71 ± 9.397 ($p < 0.05$)%로 유의성 있는 증가를 보였다. 또한, 각 구역으로 들어가는 총 횟수를 나타내는 총 출입수(total entry)에는 변화가 없는 것으로 나타나 변형 행동력(spontaneous alternation)이 마우스의 활동성 변화에 의해 나타난 것이 아님을 알 수 있었다.

[124] [표9]

실험군	변형 행동력(%)	총 출입 횟수
약물투여군 1(100mg/Kg)	53.76 ± 4.258	25.22 ± 4.549
약물투여군 2(200mg/Kg)	63.04 ± 12.37	26.60 ± 3.950
약물투여군 3(400mg/Kg)	64.71 ± 9.397	25.56 ± 4.825
대조군 1(도네페질)	68.95 ± 10.89	25.44 ± 5.747
대조군 2(베타 아밀로이드)	51.61 ± 11.44	27.00 ± 3.916
대조군 3	75.79 ± 10.42	25.50 ± 4.062

[125] 제제예 1. 산제의 제조

[126] 산조인과 양유근의 복합추출물 20 mg

[127] 유당 100 mg

[128] 탈크 10 mg

[129] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전 하여 산제를 제조한다.

[130] 제제예 2. 정제의 제조

[131] 산조인과 양유근의 복합추출물 20 mg

[132] 옥수수전분 100 mg

[133] 유당 100 mg

[134] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[135] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[136] 제제예 3. 캡셀제의 제조

[137] 산조인과 양유근의 복합추출물 20 mg

[138] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[139] 락토오스 14.8 mg

[140] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

- [141] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- [142] 제제예 4. 주사제의 제조
- [143] 산조인과 양유근의 복합추출물 20 mg
- [144] 만니톨 180 mg
- [145] 주사용 멸균 증류수 2974 mg
- [146] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg
- [147] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
- [148] 제제예 5. 액제의 제조
- [149] 산조인과 양유근의 복합추출물 20 mg
- [150] 이성화당 10 g
- [151] 만니톨 5 g
- [152] 정제수 적량
- [153] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬 향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전 하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
- [154] 제제예 6. 건강 식품의 제조
- [155] 산조인과 양유근의 복합추출물 1000 mg
- [156] 비타민 혼합물 적량
- [157] 비타민 A 아세테이트 70 μg
- [158] 비타민 E 1.0 mg
- [159] 비타민 B1 0.13 mg
- [160] 비타민 B2 0.15 mg
- [161] 비타민 B6 0.5 mg
- [162] 비타민 B12 0.2 μg
- [163] 비타민 C 10 mg
- [164] 비오틴 10 μg
- [165] 니코틴산아미드 1.7 mg
- [166] 엽산 50 μg
- [167] 판토텐산 칼슘 0.5 mg
- [168] 무기질 혼합물 적량
- [169] 황산제1철 1.75 mg
- [170] 산화아연 0.82 mg
- [171] 탄산마그네슘 25.3 mg
- [172] 제1인산칼륨 15 mg
- [173] 제2인산칼슘 55 mg

- [174] 구연산칼륨 90 mg
- [175] 탄산칼슘 100 mg
- [176] 염화마그네슘 24.8 mg
- [177] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
- [178] **제제예 7. 건강 음료의 제조**
- [179] 산조인과 양유근의 복합추출물 1000 mg
- [180] 구연산 1000 mg
- [181] 올리고당 100 g
- [182] 매실농축액 2 g
- [183] 타우린 1g
- [184] 정제수를 가하여 전체 900 ml
- [185] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85°C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
- [186] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

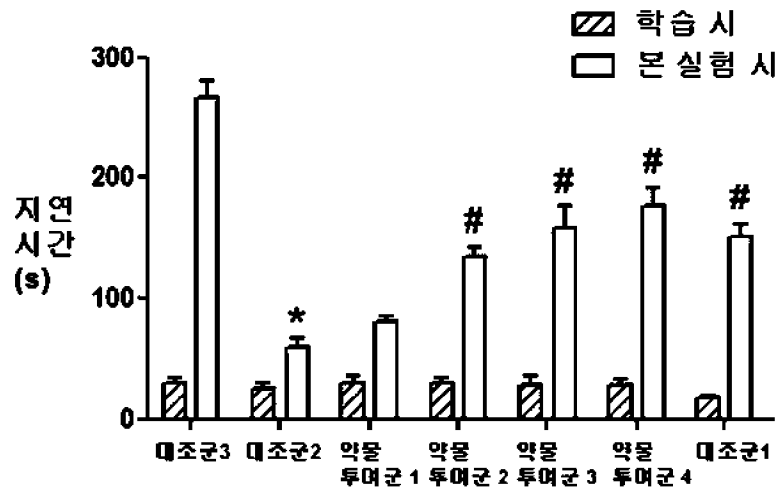
산업상 이용가능성

- [187] 본 발명의 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 조성물은 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

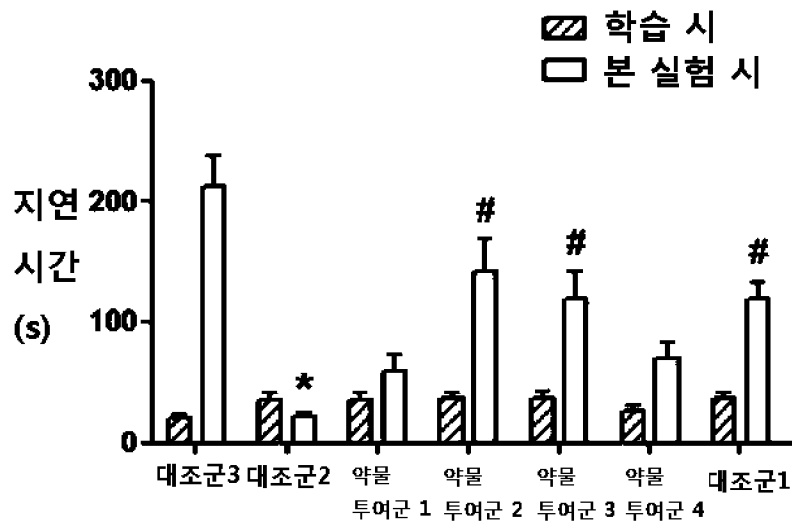
청구범위

- [청구항 1] 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 산조인 추출물은 *Zizypus jujuba* var. *spinosa*의 에탄올 또는 수 추출물인 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 양유근 추출물은 *Codonopsis lanceolata*의 에탄올 또는 수 추출물인 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 1:1 내지 10:1의 중량비로 포함되는 약학적 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 1:1 내지 6:1의 중량비로 포함되는 약학적 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 5:1의 중량비로 포함되는 약학적 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 퇴행성 뇌질환은 뇌졸중, 중풍, 건망증, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환 또는 헌팅턴 질환인 약학적 조성물.
- [청구항 8] 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 9] 제8항에 있어서, 산조인 추출물은 *Zizypus jujuba* var. *spinosa*의 에탄올 또는 수 추출물인 건강기능식품 조성물.
- [청구항 10] 제8항에 있어서, 양유근 추출물은 *Codonopsis lanceolata*의 에탄올 또는 수 추출물인 건강기능식품 조성물.
- [청구항 11] 제8항에 있어서, 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 1:1 내지 10:1의 중량비로 포함되는 건강기능식품 조성물.
- [청구항 12] 제8항에 있어서, 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 1:1 내지 6:1의 중량비로 포함되는 건강기능식품 조성물.
- [청구항 13] 제8항에 있어서, 산조인 추출물 및 양유근 추출물은 전체 조성물 중에 5:1의 중량비로 포함되는 건강기능식품 조성물.
- [청구항 14] 제8항에 있어서, 퇴행성 뇌질환은 뇌졸중, 중풍, 건망증, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환 또는 헌팅턴 질환인 건강기능식품 조성물.
- [청구항 15] 산조인 추출물 및 양유근 추출물을 포함하는 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 16] 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여함으로써, 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환을 예방, 개선 또는 치료하는 방법.
- [청구항 17] 인지기능장애 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 약제 또는 식품의 제조를 위한 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 조성물의 용도.

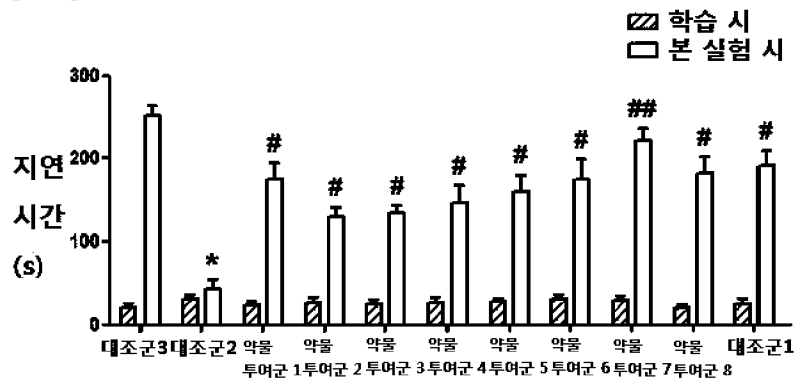
[도1]



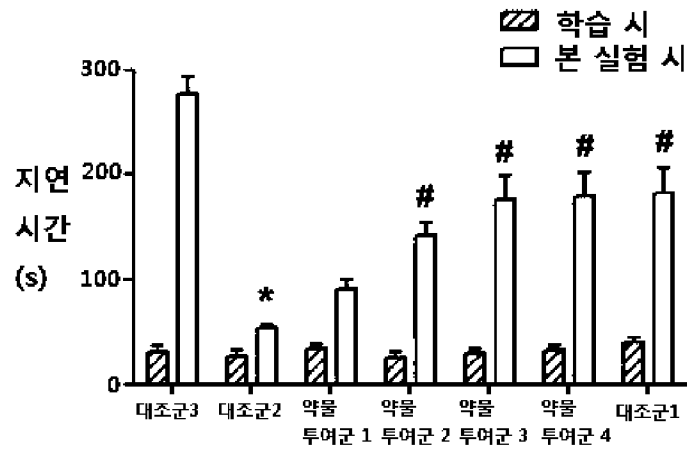
[도2]



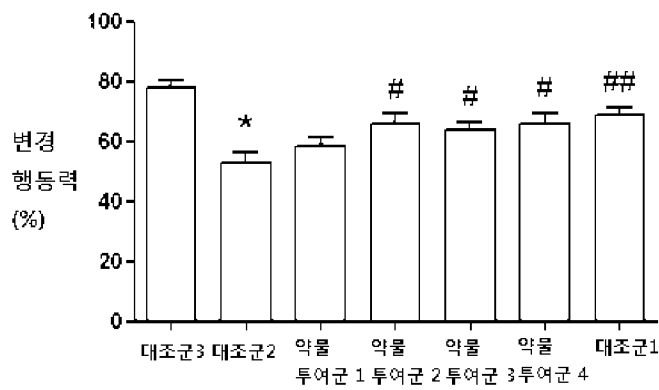
[도3]



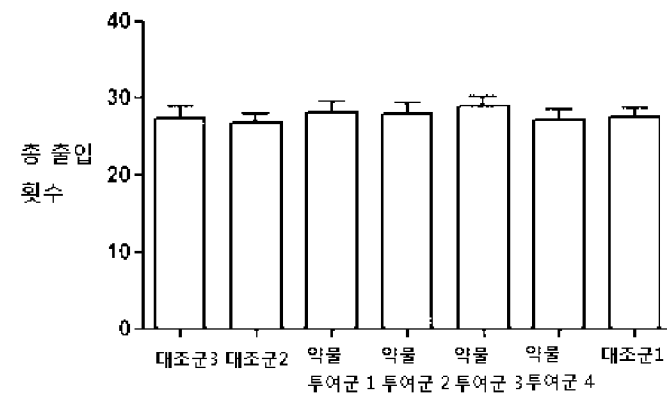
[도4]



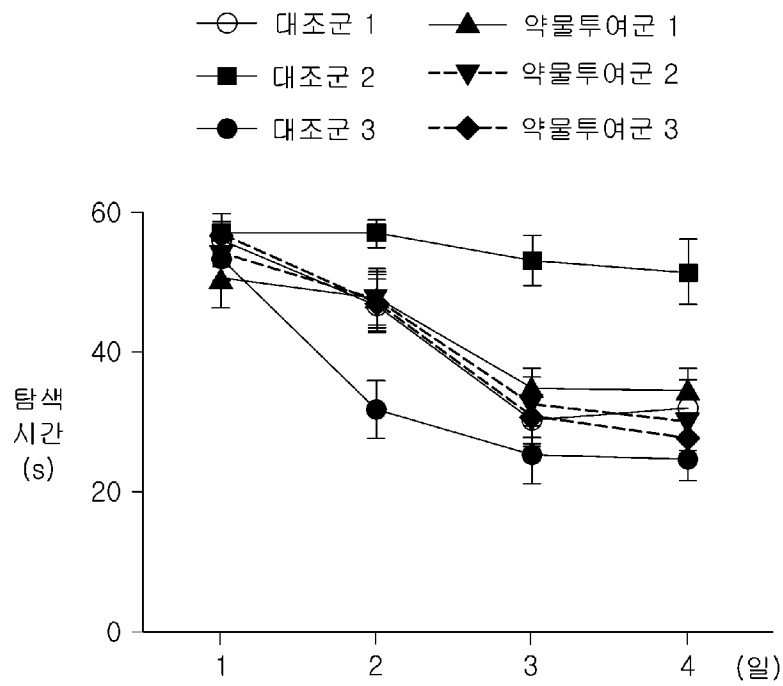
[도5a]



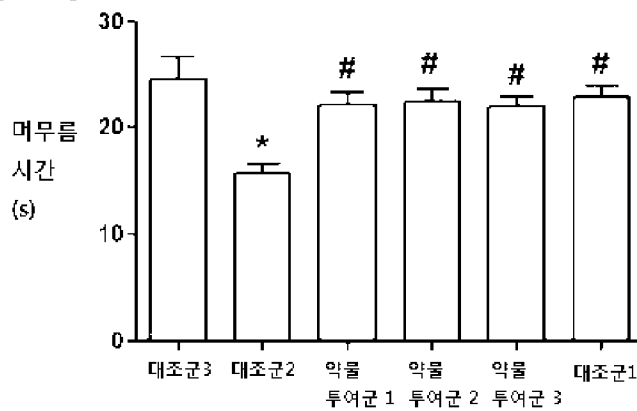
[도5b]



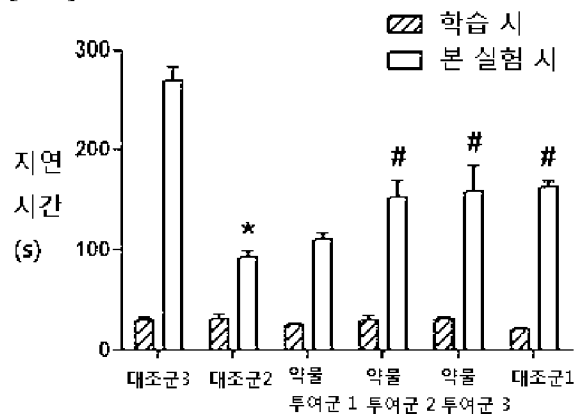
[도6a]



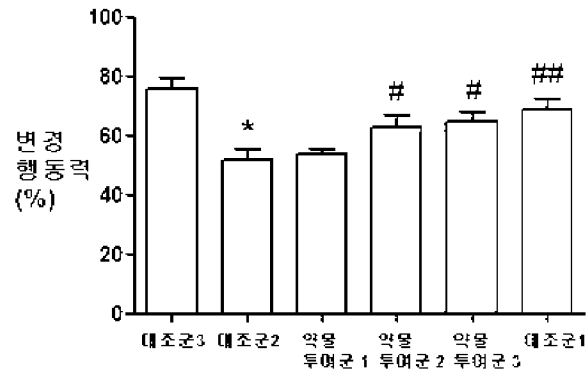
[도6b]



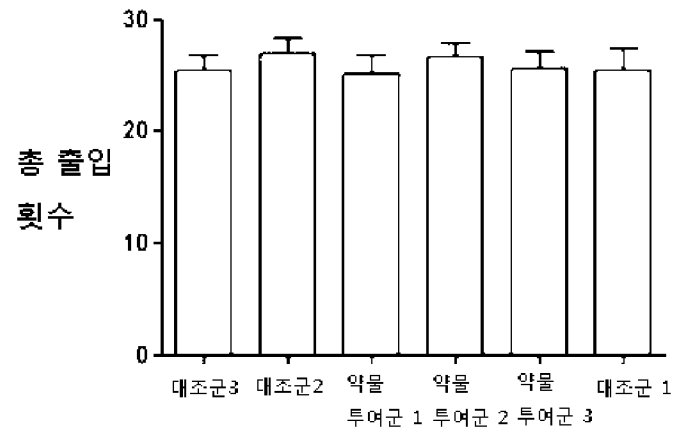
[도7]



[도8a]



[도8b]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/010336**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER***A61K 36/72(2006.01)i, A61K 36/344(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 36/72; A61K 31/70; A23L 33/00; A61K 36/484; A61K 36/344; A61K 31/702; A61P 25/28; A61K 36/284; A23L 33/105

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: zizyphus spinosi, codonopsis lanceolatae radix, cognitive skill, encephalopathy, anaplastia, nerve, dementia, alzheimer, parkinson, huntington

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2005-0092292 A (KRAUZEN CO., LTD. et al.) 21 September 2005 See abstract; paragraphs [0038], [0054], [0070], [0093]; examples 1, 2; and figure 2.	1-15,17
Y	KR 10-2014-0077382 A (UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY) 24 June 2014 See abstract; paragraph [0035]; and claim 6.	1-15,17
Y	KR 10-2005-0047779 A (STC LIFE CORPORATION CO., LTD.) 23 May 2005 See experimental examples 1, 2.	1-15,17
Y	KR 10-2012-0053604 A (KNU-INDUSTRY COOPERATION FOUNDATION) 29 May 2012 See claims 1-8; paragraph [0054]; experimental examples 2-4; and manufacturing examples 1-5	1-15,17
Y	KR 10-2013-0017640 A (INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, HALLYM UNIVERSITY) 20 February 2013 See claims 1-6; and example 2.	1-15,17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

05 JANUARY 2017 (05.01.2017)

Date of mailing of the international search report

05 JANUARY 2017 (05.01.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/010336

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **16**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 16 pertains to a method for treatment of the human body by therapy, and thus pertains to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17 (2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/010336

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2005-0092292 A	21/09/2005	NONE	
KR 10-2014-0077382 A	24/06/2014	NONE	
KR 10-2005-0047779 A	23/05/2005	KR 10-0564904 B1	30/03/2006
KR 10-2012-0053604 A	29/05/2012	KR 10-1290749 B1	29/07/2013
KR 10-2013-0017640 A	20/02/2013	KR 10-1319829 B1	17/10/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 36/72(2006.01)i, A61K 36/344(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 36/72; A61K 31/70; A23L 33/00; A61K 36/484; A61K 36/344; A61K 31/702; A61P 25/28; A61K 36/284; A23L 33/105

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 산조인, 양유근, 인지기능, 뇌질환, 퇴행성, 신경, 치매, 알츠하이머, 파킨슨, 헌팅턴

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2005-0092292 A (주식회사 크라우젠 등) 2005.09.21 요약; 단락 [0038], [0054], [0070], [0093]; 실시예 1, 2; 및 도면 2 참조	1-15, 17
Y	KR 10-2014-0077382 A (경희대학교 산학협력단) 2014.06.24 요약; 단락 [0035]; 및 청구항 6 참조.	1-15, 17
Y	KR 10-2005-0047779 A (주식회사 에스티씨나라) 2005.05.23 실험예 1, 2 참조.	1-15, 17
Y	KR 10-2012-0053604 A (강원대학교 산학협력단) 2012.5.29 청구항 1-8; 단락 [0054]; 실험예 2-4; 및 제조에 1-5 참조.	1-15, 17
Y	KR 10-2013-0017640 A (한림대학교 산학협력단) 2013.02.20 청구항 1-6; 및 실시예 2 참조.	1-15, 17

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 01월 05일 (05.01.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 01월 05일 (05.01.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이기철

전화번호 +82-42-481-3353



제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 16
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제16항은 치료에 의한 인체의 처치방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의
규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니
다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합
니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를
요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상
으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발
명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된
기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2005-0092292 A	2005/09/21	없음	
KR 10-2014-0077382 A	2014/06/24	없음	
KR 10-2005-0047779 A	2005/05/23	KR 10-0564904 B1	2006/03/30
KR 10-2012-0053604 A	2012/05/29	KR 10-1290749 B1	2013/07/29
KR 10-2013-0017640 A	2013/02/20	KR 10-1319829 B1	2013/10/17