

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

(43) 국제공개일
2020년 6월 25일 (25.06.2020) WIPO | PCT

WO 2020/130198 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 36/54 (2006.01) A61K 36/65 (2006.01)
A61K 36/076 (2006.01) A61P 25/24 (2006.01)
A61K 36/71 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/736 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2018/016364

(22) 국제출원일: 2018년 12월 20일 (20.12.2018)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(71) 출원인: 한국 한의학 연구원 (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) [KR/KR]; 34054 대전시 유성구 유성대로 1672, Daejeon (KR).

(72) 발명자: 이미영 (LEE, Mi Young); 06183 서울시 강남구 영동대로 85길 17, 301호, Seoul (KR). 박보경 (PARK,

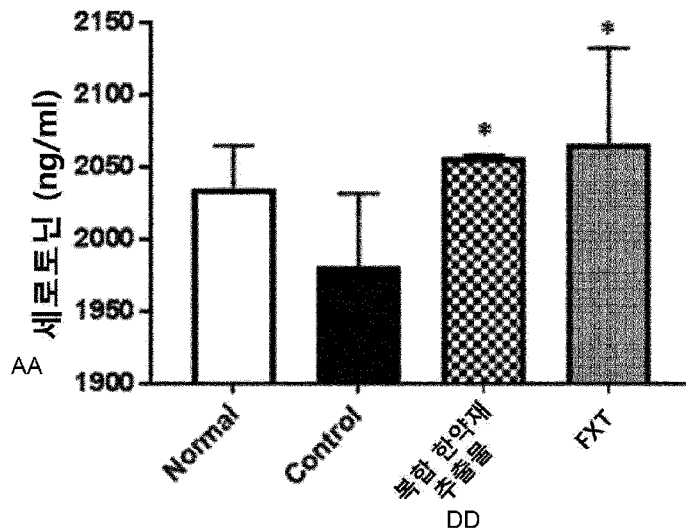
Bo-Kyung); 35251 대전시 서구 문정로 131, 7동 1103호, Daejeon (KR). 김영화 (KIM, Young Hwa); 13908 경기도 안양시 만안구 경수대로 1290번길 15, 101동 302호, Gyeonggi-do (KR). 양창섭 (YANG, Chang Sop); 34083 대전시 유성구 노은동로 187, 608동 501호, Daejeon (KR). 김유리 (KIM, Yu Ri); 34046 대전시 유성구 유성대로 1679번길 8-14, 305호, Daejeon (KR).

(74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 35209 대전시 서구 한밭대로 745, 12층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW,

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING, ALLEVIATING, OR TREATING STRESS AND DEPRESSION COMPRISING MEDICINAL HERB COMPLEX EXTRACT AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 복합 한약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 스트레스 및 우울증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물



AA ... Serotonin (ng/ml)

DD ... Medicinal herb complex extract

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing, alleviating, or treating stress and depression, the composition comprising a medicinal herb complex extract as an active ingredient and, more specifically, to a health functional food composition or pharmaceutical composition for preventing or alleviating stress and depression, the composition comprising a medicinal herb complex extract. The present invention can be useful in preparation of health functional foods or medicines.

(57) 요약서: 본 발명은 복합 한약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 스트레스 및 우울증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 복합 한약재 추출물을 포함하는 스트레스 및 우울증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 또는 약학적 조성물에 관한 것으로, 건강기능식품 또는 의약품 제조하는 데에 유용하게 이용될 수 있다.

[다음 쪽 계속]



WO 2020/130198 A1

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).

규칙 4.17에 의한 선언서:

- 신규성을 해치지 아니하는 개시 또는 신규성 상실의 예외에 관한 선언 (규칙 4.17(v))

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 복합 한약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 스트레스 및 우울증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 복합 한약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 스트레스 및 우울증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 사회가 급격히 발전하고 다변화됨에 따라 현대인들은 여러 가지 역할을 요구받고 있다. 이에 따라, 각종 스트레스로 인한 우울증, 불안장애 또는 수면장애 등 정신질환을 호소하는 사람들이 증가하고 있다. 보건복지부에서 18~64세 이하의 성인을 대상으로 시행한 2006년도 정신질환실태 역학조사에 따르면, 정신질환 1년 유병률이 17.1%인 것으로 나타났다. 또한, 평생 동안 한가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 정신질환 평생 유병률도 성인 3명 중 1명인 30%로 나타났다(2006년 기준). 아울러, 최근 과도한 학구열 등의 원인으로 인해 청소년 정신질환이 증가하는 추세이다.
- [3] 스트레스는 신체적 또는 심리적인 압박 상태를 말하는 것으로, 일상에 만연되어 있는 요소로 유발되며 거의 모든 정신과적 질환과 의학적 질병의 발생에 기여한다. 하지만, 스트레스에 대처하지 못하고 그대로 방치하게 되면 우울, 불안, 피로, 분노, 기분변화와 같은 심리반응이 초래되고, 뇌파 중 α -파 감소, 혈압과 맥박수의 증가 등의 생리 반응을 초래하게 되는데 이러한 반응이 계속 반복되면 우울증, 불안증, 수면 장애와 같은 질병이 나타나고 개인, 가족 및 사회적 손실을 야기하며, 개인의 삶의 질을 낮추는 원인이 된다.
- [4] 스트레스로 인한 질환 중에서 우울증은 슬픔, 절망감 및 좌절감의 감정을 특징으로 하는 침체된 기분의 심리적 상태를 말하는 것이다. 즉, 정상적인 감정인 "울적함", 감정부전 장애(dysthymic disorder)를 거쳐 주요 우울 장애(major depressive disorder)로 발전한 상태를 의미한다. 주요 증상에는 입맛, 체중 또는 수면 패턴의 변화, 정신운동 초조 또는 지체(psychomotor agitation or retardation), 사고 능력, 집중력 또는 결정능력의 감소, 활력의 부족 및 피로감, 무가치함의 감정, 자책감 또는 죄책감, 빈번한 죽음 또는 자살 생각, 자살할 계획 또는 시도 중 일부와 조합된, 일상적인 기분의 침체 또는 대부분의 활동에서의 흥미 또는 즐거움의 상실을 나타내는 기간인, 주요 우울 에피소드(major depressive episode)를 특징으로 한다.
- [5] 한편, 계지는 육계나무(Cinnamomum cassia Blume:肉桂) 또는 기타 동속 근연식물의 어린가지를 사용해 만든 약재로, 대장균, 고초간균, 황색포도균, 폐렴쌍구균 등의 발육을 억제하고 유행성감기바이러스를 억제하며 이노작용 등이 알려져 있다. 복령은 소나무를 벌채한 뒤 3~10년이 지난 뒤 뿌리에서

기생하여 성장하는 균핵으로 이노작용, 거담작용 및 건위작용을 하는 것으로 알려져 있고, 진정효과가 뛰어나서 신경의 흥분으로 인한 초조와 불안, 자주 놀라고 입이 마르며 식은 땀을 흘리는 증상에 안정제로 쓰인다.

- [6] 목단피는 모란(*Paeonia moutan* Sims)의 뿌리껍질을 건조한 생약으로 작약과 함께 옛부터 유명한 한약으로, 두통, 요통, 관절통 등의 진통, 진정제로 사용되며, 한방에서는 어혈제거용으로 사용되는 약재이다.
- [7] 도인은 복숭아나무의 익은 열매의 씨를 말린 것이다. 맛은 쓰고 달며 성질은 평하고, 혈액 순환을 촉진하며 어혈을 없애고 경미한 설사를 일으킨다. 응혈(凝血)을 억제하고 약한 용혈(溶血) 작용을 나타내며, 무월경, 축혈증(蓄血證), 산후 복통, 변비, 타박상, 옹종(癰腫), 급성 충수염, 적취(積聚) 등에 쓴다. 하루 6~10g을 탕제, 환제, 산제 형태로 만들어 먹으며, 외용약으로 쓸 때는 짓쪼개 붙이고, 임신부에게는 쓰지 않는다.
- [8] 작약은 미나리아재비과에 속하는 다년생 초본식물로, 꽃이 크고 탐스러워서 함박꽃이라고도 한다. 백작약·적작약·호작약·참작약 등 다양한 품종이 있다. 꽃은 5~6월에 피며, 뿌리를 약재로 사용한다. 위장염과 위장의 경련성동통에 진통효과를 나타내고, 소화장애로 복통·설사·복명(腹鳴)이 있을 때에 유효하며, 빈혈로 인한 팔과 다리의 근육경련, 특히 배복근경련에 진경·진통 효과가 있다.
- [9] 본 발명의 복합 한약제 추출물의 선행기술로는 동서간호학연구지 제4권 제1호 1999년 '월경장애여성의 건강관리를 위한 동서간호학적 접근'이 개시되어 있고, 대전대학교 학의학연구소 논문집 제21권 제2호 2013년 '뇌경색이후 발생한 위완통의 백호탕 치험 1례 증례보고'가 개시되어 있으나, 본 발명의 복합 한약제 추출물을 유효성분으로 포함하는 스트레스 및 우울증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대해서는 개시된 바 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [10] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 복합 한약제 추출물을 유효성분으로 포함하는 스트레스 및 우울증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하고, 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트 및 레세르핀(reserpine)으로 우울증이 유도된 C57BL/6 마우스에 본 발명의 복합 한약제 추출물을 투여하였을 때, 스트레스 및 우울증에 의한 행동양상이 줄어들어 있는 것을 확인하였으며, 우울증으로 인해 감소된 세로토닌을 회복시키고, 증가된 코르티코스테론을 감소시키는 것을 확인하였다. 또한, 뇌의 해마부분에 증가된 염증성 사이토카인(IL-1b, IL-6)을 감소시키는 것으로 보아 우울증 완화에 효과적이라는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [11] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약으로 이루어진 복합 한약제 추출물을 유효성분으로 함유하는 우울증의 예방 또는

치료용 약학 조성물을 제공한다.

- [12] 또한, 본 발명은 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약으로 이루어진 복합 한약제 추출물을 유효성분으로 함유하는 스트레스 해소 및 우울증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [13] 본 발명은 복합 한약제 추출물을 유효성분으로 포함하는 스트레스 및 우울증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 복합 한약제 추출물은 구속 스트레스 또는 약물로 유도한 우울증에 의해 증가된 코르티코스테론의 함량을 감소시키고, 감소된 세로토닌의 함량을 증가시킬 뿐만 아니라, 우울증 유도 동물모델에서 우울증에 의한 행동양상 개선 및 활동성 감소를 개선하는 효과가 있는 것이다.

도면의 간단한 설명

- [14] 도 1은 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트에게 300mg/kg의 복합 한약제 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine:FXT)을 14일 동안 투여하고 15일째 강제수영 테스트 결과로, 수중에서의 부동자세 유지시간(Immobile Time)을 나타낸 것이다. ###는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 부동시간이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p < 0.001$ 이고, **, ***은 대조군 대비 복합한약제 추출물 및 플루옥세틴 투여군의 부동시간이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, **은 $p < 0.01$ 이고, ***는 $p < 0.001$ 이다.
- [15] 도 2는 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트에게 300mg/kg의 복합 한약제 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 14일 동안 투여하고 15일째 획득한 혈액에서 세로토닌(serotonin)의 함량을 효소면역측정법으로 측정한 결과이다. *는 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군 대비 복합한약제 추출물 및 플루옥세틴 투여군의 세로토닌 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로 $p < 0.05$ 이다.
- [16] 도 3은 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트에게 300mg/kg의 복합 한약제 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 14일 동안 투여하고 15일째 획득한 혈액에서 코르티코스테론(corticosterone)의 함량을 효소면역측정법으로 측정한 결과이다. ##는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 코르티코스테론의 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p < 0.01$ 이고, *, **은 대조군 대비 복합한약제 추출물 및 플루옥세틴 투여군의 코르티코스테론의 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, *은 $p < 0.05$ 이고, **는 $p < 0.01$ 이다.
- [17] 도 4는 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트에게 300mg/kg의 복합 한약제 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 14일 동안 투여하고 15일째 획득한 뇌 내 해마조직에서 IL-1b mRNA의 함량을

실시간유전자분석법으로 측정한 결과이다. ##는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 뇌 내 해마조직에서 IL-1b mRNA의 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.01$ 이고, *은 대조군 대비 복합한약재 추출물 투여군의 뇌 내 해마조직에서 IL-1b mRNA의 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.05$ 이다.

- [18] 도 5는 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트에게 300mg/kg의 복합 한약재 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 14일 동안 투여하고 15일째 획득한 뇌 내 해마조직에서 IL-6 mRNA의 함량을 실시간유전자분석법으로 측정한 결과이다. #는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 뇌 내 해마조직에서 IL-6 mRNA의 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.05$ 이고, **은 대조군 대비 복합한약재 추출물 투여군의 뇌 내 해마조직에서 IL-6 mRNA의 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.01$ 이다..
- [19] 도 6은 레세르핀(reserpine)에 의해 우울증이 유도된 C57BL/6 생쥐에게 300mg/kg의 복합 한약재 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 10일 동안 투여하고 1, 5, 10일째 체중을 측정한 결과이다. ####는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 체중이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.001$ 이고, ***은 대조군 대비 복합한약재 추출물 및 플루옥세틴 투여군의 체중이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.001$ 이다.
- [20] 도 7은 레세르핀(reserpine)에 의해 우울증이 유도된 C57BL/6 생쥐에게 300mg/kg의 복합 한약재 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 10일 동안 투여하고 11일째 강제수영 테스트 결과로 수중에서의 부동자세 유지 시간을 나타낸 것이다. ####는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 부동시간이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.001$ 이고, **, ***은 대조군 대비 복합한약재 추출물 및 플루옥세틴 투여군의 부동시간이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, **은 $p<0.01$ 이고, ***는 $p<0.001$ 이다.
- [21] 도 8은 레세르핀(reserpine)에 의해 우울증이 유도된 C57BL/6 생쥐에게 300mg/kg의 복합 한약재 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 10일 동안 투여하고 11일째 꼬리 현수 실험 결과로, 거꾸로 꼬리가 매달린 상태에서의 부동자세 유지시간을 나타낸 것이다. #는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 부동시간이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.05$ 이고, *은 대조군 대비 복합한약재 추출물 및 플루옥세틴 투여군의 부동시간이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.05$ 이다.
- [22] 도 9는 레세르핀(reserpine)에 의해 우울증이 유도된 C57BL/6 생쥐에게 300mg/kg의 복합 한약재 추출물 및 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 10일

동안 투여하고 12일째 획득한 혈액에서 코르티코스테론(corticosterone)의 함량을 효소면역측정법으로 측정한 결과이다. ###는 정상군(Normal) 대비 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 대조군의 코르티코스테론 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.001$ 이고, **, ***은 대조군 대비 복합한약재 추출물 및 플루옥세틴 투여군의 코르티코스테론 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, **은 $p<0.01$ 이고, ***는 $p<0.001$ 이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [23] 본 발명은 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약으로 이루어진 복합 한약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [24] 상기 우울증은 스트레스에 의한 우울증인 것이 바람직하지만, 이에 한정하지 않는다.
- [25] 상기 복합 한약재 추출물은 하기의 단계를 포함하는 방법에 의해 제조할 수 있으나, 이에 한정하지 않는다:
 - [26] (1) 복합 한약재에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;
 - [27] (2) 단계 (1)의 추출물을 여과하는 단계; 및
 - [28] (3) 단계 (2)의 여과한 추출물을 농축하고 건조하여 추출물을 제조하는 단계.
- [29] 상기 단계 (1)에서 추출용매는 물, C₁~C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물 중에서 선택하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 물이지만 이에 한정하지 않는다. 상기 제조방법에 있어서, 추출방법은 여과법, 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 당 업계에 공지된 모든 통상적인 방법을 이용할 수 있다. 상기 추출용매는 복합 한약재(계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약) 중량의 1~20배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 5~15배 첨가하는 것이고, 더욱더 바람직하게는 10배 첨가하는 것이다. 추출온도는 60~100°C인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 1~48시간인 것이 바람직하며, 1~24시간이 더욱 바람직하고, 3시간이 가장 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 방법에 있어서, 단계 (3)의 농축은 진공 회전 농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무 건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 동결건조이나 이에 한정하지 않는다.
- [30] 상기 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약은 1~10:1~10:1~10:1~10의 중량비로 혼합한 것일 수 있으나 이에 한정하지 않는다.
- [31] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 상기 조성물을 제제화할 경우에는 통상적으로 사용하는 담체, 부형제 또는 희석제를 사용하여 조제할 수 있으나 이에 한정하는 것은 아니다.
- [32] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제

예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다.

- [33] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제 또는 좌제 등이 포함된다. 비수성용제 및 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제(base)로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [34] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강 내, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사 방식을 선택하는 것이 바람직하지만 이에 제한하지 않는다.
- [35] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, 약학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 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 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [36] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설률 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 복합 한약제 추출물의 양을 기준으로 0.01~1000mg/kg이고, 바람직하게는 30 내지 500mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 50~300mg/kg이며, 하루 1~6회 투여될 수 있으나, 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [37] 또한, 본 발명은 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약으로 이루어진 복합 한약제 추출물을 유효성분으로 함유하는 스트레스 해소 및 우울증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.
- [38] 본 발명의 복합 한약제 추출물을 유효성분으로 함유하는 건강기능식품 조성물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은

그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중에 포함되는 상기 복합 한약재 추출물의 양은 전체 건강기능식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 하지만, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[39] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료로 사용되는 경우, 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 유효성분인 복합 한약재 추출물을 함유하는 것 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[40] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 상기 유효성분 이외에 추가로, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알킨산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 및 탄산음료에 사용되는 탄산화제 중에서 선택된 하나 이상을 더 첨가하여 함유할 수 있다. 이외에도 본 발명의 건강기능식품 조성물은 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 상기 과육은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기 다양한 첨가제의 비율은 중요하진 않지만, 본 발명의 복합 한약재 추출물 100 중량부 당 0.1~20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[41]

[42] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[43]

[44] **[실험방법 및 실험재료의 준비]**

[45] **1. 복합 한약재 추출물의 제조**

[46] 하기 표 1에 기재된 제지, 복령, 목단피, 도인 및 작약으로 이루어진 복합한약재에 10배의 물을 넣고 100°C에서 3시간 동안 열수 추출하였다. 추출된 용매는 필터(5 μ m)를 이용하여 걸러낸 후 60°C 이하에서 증류장치(rotary evaporator)를 이용하여 감압 농축하여 추출물을 제조하였다. 그 다음 복합 한약재 추출물을 300mg/kg의 투여량에 맞게 생리 식염수에 녹인 후 분주하였다.

[47] [표1]

복합 한약재의 구성 성분 및 함량비

한약재 성분	중량%
계지	20
복령	20
목단피	20
도인	20
작약	20
총계	100

[48]

[49] 2. 구속 스트레스 또는 레세르핀(reserpine)에 의한 우울증 유도 모델

[50] 1) 스트레스에 의한 우울증 유도 모델

[51] 수컷 8주령의 Wistar Kyoto 랫트(165-175g)는 중앙실험동물사(Baumoe-ro, Korea)에서 공급받았고, 동물은 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고, 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 15\%$, 12 시간 light-dark cycle의 환경을 유지하며 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

[52] 우울증을 유도하기 위하여 매일 6시간씩 억제스트레스[부동(immobilization) 스트레스를 가하여 습관화(habituation)와 탈감작(desensitization) 효과가 적은 것으로 알려진 신체구금 스트레스(immobilization stress) 모델을 사용함]를 14일 동안 지속하였다.

[53] 2) 레세르핀(reserpine)에 의한 우울증 유도 모델

[54] 수컷 7주령의 C57BL/6 생쥐(20~25g)는 (주)대한바이오링크(Chungbuk, Korea)에서 공급받았고, 동물은 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고, 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 15\%$, 12 시간 light-dark cycle의 환경을 유지하며 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

[55] 우울증을 유도하기 위하여 매일 일정시간에 10일 동안 레세르핀(reserpine)을 0.5mg/kg으로 복강주사하여 모노아민 결핍(monoamine depletion)에 의한 우울증을 유도하였다.

[56]

[57] 3. 복합 한약재 추출물의 투여

[58] 구금 스트레스 또는 레세르핀(reserpine)을 복강주사 1시간 전에 약물을 경구투여 하였다. 정상군(normal)과 스트레스 대조군(control)은 생리 식염수를 경구투여 하였고, 복합 한약재 추출물 투여군은 300mg/kg, 플루옥세틴(Fluoxetine; FXT) 그룹은 20mg/kg으로 0.3mℓ씩 투여하였다.

[59]

[60] **4. 체중측정**

[61] 우울증이 유도된 C57BL/6 생쥐의 체중을 1, 5, 10일째 일정한 시간에 측정하여 평가하였다. 측정은 실험동물 사육실 내 정밀저울로 측정하였다.

[62]

[63] **5. 강제수영검사(Forced swim test, FST)**

[64] 투명 아크릴로 제작된 원통의 Water bath(Visionscientific Co., Korea)에 상온의 물을 넣고 우울증을 유도한 Wistar Kyoto 랫트를 꼬리가 바닥에 닿지 않을 높이에 빠뜨린 다음 15분 동안 강제로 예비수영을 시켰다. 24시간 후에 6분 동안 같은 환경에서 수영을 시키면서 부동자세(Immobility)를 유지하는 시간을 측정하였다. 측정은 최종 4분 동안 이루어졌으며, 비디오카메라로 녹화한 뒤, Video tracking software(SMART 3.0, Panlab, Spain)를 이용하여 수중에서 실험동물의 전체적인 움직임을 분석하였다.

[65]

[66] **6. 꼬리 현수 시험법(Tail suspension test, TST)**

[67] 하얀색의 아크릴로 제작된 20cm×25cm×30 cm 규격의 오픈된 상자에 꼬리 현수 장치를 설치하고 우울증을 유도한 C57BL/6 생쥐를 꼬리가 바닥에 닿지 않을 높이로 매달아 놓은 뒤 6분 동안 같은 환경에서 관찰하면서 부동자세(Immobility)를 유지하는 시간을 측정하였다. 측정은 최종 4분 동안 이루어졌으며, 비디오카메라로 녹화한 뒤, Video tracking software(SMART 3.0, Panlab, Spain)를 이용하여 C57BL/6 생쥐의 전체적인 움직임을 분석하였다.

[68]

[69] **7. 혈청 내 세로토닌 측정**

[70] 실험 종료 후 각 실험동물로부터 분리한 혈청에서 세로토닌의 함량을 측정하였다. 먼저 세로토닌 ELISA kit(Abcam, Cambridge, MA)의 매뉴얼대로 goat anti-rabbit IgG 마이크로플레이트의 비특이적 결합 웰(non-specific binding well)에 150 μ l, B₀ 웰에 100 μ l의 어세이 완충용액을 넣고, 표준물질과 시료 웰에는 각각 100 μ l를 넣은 후, 총 활성 웰(Total activity well)과 블랭크 웰(blank well)을 제외하고, 세로토닌 알칼리성 인산 가수분해효소 컨쥬게이트(serotonin Alkaline Phosphatase Conjugate)를 50 μ l씩 주입하였다. 블랭크 웰(Blank well), 총 활성 웰(Total activity well), 비특이적 결합 웰(non-specific binding well)을 제외하고 B₀, 표준물질 및 실험군에는 세로토닌 항체를 첨가하였다. 상온에서 500rpm으로 2시간 교반하고 3번의 세척 후, 총 활성 웰에만 세로토닌 알칼리성 인산 가수분해효소 컨쥬게이트(serotonin Alkaline Phosphatase Conjugate)를 20배 희석하여, 5 μ l 넣었다. 최종적으로 200 μ l씩 pNpp 기질용액을 넣고, 교반 없이 1시간 동안 상온에 반응시켰다. 50 μ l의 반응정지 용액(stop solution)으로 발색반응을 중지시킨 후 반응을 종료하여 마이크로플레이트 리더(microplate reader)로 405nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

[71]

[72] **8. 혈청 내 코르티코스테론 측정**

[73] 실험 종료 후 각 실험동물로부터 분리한 혈청에서 코르티코스테론의 함량을 측정하였다. 코르티코스테론 EIA kit (Cayman chemical company, MI, USA)의 매뉴얼에 따라 goat anti-mouse IgG coated microplate의 비특이적 결합 웰(non-specific binding well)에 100 μ l의 EIA 완충용액을 가하고, B₀ well에는 100 μ l의 EIA 완충용액을 넣었다. 표준물질과 시료 웰에 각각의 준비한 시료를 50 μ l를 가하고, 블랭크 웰, 총 활성 웰(Total activity well)을 제외한 모든 웰에 희석한 코르티코스테론 AChE Tracer를 50 μ l를 주입하였다. 블랭크 웰, 총 활성 웰(Total activity well), 비특이적 결합 웰(non-specific binding well)을 제외한 웰에 희석한 코르티코스테론 EIA 모노클로날 항체를 50 μ l를 첨가하였다. 4°C에서 밤새도록 반응한 후 5번의 세척과정을 거친 뒤, 희석한 200 μ l Ellman's 시약을 각 웰에 반응시키고, 총 활성 웰(Total activity well)에는 Ellman's 시약을 5 μ l를 더해서 총량을 맞춰주었다. 90~120분 동안 오비탈 교반기를 이용하여 교반 및 반응시킨 뒤 405nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

[74]

[75] **9. 뇌 내 해마조직의 IL-1b, IL-6 mRNA 발현량 측정**

[76] 실험 종료 후 각 실험동물로부터 적출한 뇌 hippocampus 조직(punch biopsy)에서의 유전자 발현 양상을 real-time PCR 증폭법을 사용하여 관찰하였다. 랫드 뇌 해마 조직(punch biopsy)을 RNazolB(Tel-Test) 용액으로 RNA를 추출한 뒤 One-step SYBR Green PCR kit(AB science)를 사용하여 cDNA 및 real-time PCR로 분석하였다. 뇌 해마 조직(punch biopsy)에 RNazolB 500 μ l를 넣고 조직파쇄기(homogenizer)로 조직을 분쇄하여 여기에 클로로포름(CHCl₃) 50 μ l를 첨가한 후 15초동안 다시 혼합하였다. 이를 얼음에 15분 동안 방치한 후 13,000rpm에서 원심 분리한 후 약 200 μ l의 상층액을 회수하여 2-프로판올 200 μ l와 동량 혼합 후 천천히 흔들고 얼음에서 15분 동안 방치하였다. 이를 다시 13,000rpm에서 원심 분리한 후 80% 에탄올로 수세하고 3분동안 진공펌프에서 건조하여 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 DEPC(diethyl pyrocarbonate)를 처리한 20 μ l의 증류수에 녹여 75°C의 히팅블럭에서 불활성화시킨 후 first strand cDNA 합성에 사용하였다. 역전사 (reverse transcription) 반응은 준비된 total RNA 3 μ g을 DNase I(10U/ μ l) 2U/tube를 37°C 히팅블럭(heating block)에서 30분 동안 반응시킨 후 75°C에서 10분 동안 변성시키고, 이에 2.5 μ l 10mM dNTPs mix, 1 μ l random sequence hexanucleotides(25pmole/ 25 μ l), RNA 저해제로서 1 μ l의 RNase 저해제(20U/ μ l), 1 μ l의 100mM DTT, 4.5 μ l 5 $\times$ RT 완충용액(250mM Tris-HCl, pH8.3, 375mM KCl, 15mM MgCl₂)를 가한 후, 1 μ l의 M-MLV RT(200U/ μ l)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20 μ l가 되도록 하였다. 이 20 μ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000rpm에서 5초동안 원심침강하여 37°C 히팅블럭에서 45분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95°C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를

polymerase chain reaction(PCR)에 사용하였다. Real time quantitative PCR은 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR system(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행하였다.

[77]

[78] **10. 통계 처리**

[79] 모든 데이터는 평균 $\pm$ 표준편차(means $\pm$ SD)로 표시하였다. 각 실험군의 결과값은 통계프로그램(one-way ANOVA; post hoc Tukey tests)을 사용하여 통계 처리하였으며, $P < 0.05$ 이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

[80]

[81] **실시예 1. 구속 스트레스로 유도된 Wistar Kyoto 랫트에 대한 복합 한약재 추출물의 항우울 효과**

[82] 본 실시예 1에서는 Wistar Kyoto 랫트에 대한 복합 한약재 추출물의 스트레스에 의한 항우울 효과를 확인하였다. 상세하게는 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도하기 위하여 14일 동안 Wistar Kyoto 랫트에 경구투여 방법으로 정상군과 스트레스 대조군에 생리 식염수를 투여하였고, 양성 대조군에는 20mg/kg의 플루옥세틴(Fluoxetine)을 투여하였으며, 복합 추출물 투여군에는 300mg/kg의 복합 한약재 추출물을 투여하였다. 그 후 1시간 후에 6시간씩 구금 스트레스를 가하여 우울증을 유도한 후, 실험 종료 후 스트레스 및 우울 관련 행동 양상 변화 및 생리적 표적물질을 검사하였다.

[83]

[84] **1) 구속 스트레스로 유도된 Wistar Kyoto 랫트에 대한 복합 한약재 추출물의 우울 행동에 미치는 효과**

[85] 복합 한약재 추출물이 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트의 우울행동에 미치는 영향을 확인하였다.

[86]

그 결과 도 1에 나타난 바와 같이, 스트레스 대조군의 경우 수중 부동자세유지시간이 유의하게 증가하였고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군의 경우 부동자세유지시간이 대조군에 비해 유의미하게 감소하는 것으로 나타났다.

[87]

[88] **2) 복합 한약재 추출물이 구속 스트레스로 유도된 Wistar Kyoto 랫트에서 세로토닌의 함량에 미치는 효과**

[89] 복합 한약재 추출물이 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트의 혈액 내에서 세로토닌(serotonin)의 함량에 미치는 영향을 확인하였다. 상세하게는 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도한 Wistar Kyoto 랫트의 혈액을 회수하여 원심분리한 후 혈청 부분을 효소면역측정법으로 세로토닌의 함량을 측정하였다.

[90]

그 결과 도 2에 나타난 바와 같이, 스트레스 대조군의 경우 혈중 세로토닌의

농도가 감소하는 것으로 나타났고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군은 대조군에 비해 유의미하게 세로토닌의 농도가 증가하는 것으로 나타났다.

[91]

[92] **3) 복합 한약재 추출물이 구속 스트레스로 유도된 Wistar Kyoto 랫트에서 코르티코스테론 호르몬에 미치는 효과**

[93] 복합 한약재 추출물이 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트의 혈액 내에서 코르티코스테론(corticosterone)의 농도에 미치는 영향을 확인하였다. 상세하게는 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도한 Wistar Kyoto 랫트의 혈액을 회수하여 원심분리한 후 혈청 부분을 효소면역측정법으로 코르티코스테론의 함량을 측정하였다.

[94] 그 결과 도 3에 나타난 바와 같이, 스트레스 대조군의 경우 혈중 코르티코스테론의 농도가 유의미하게 증가하는 것으로 나타났고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군은 대조군에 비해 유의미하게 코르티코스테론의 농도가 감소하는 것으로 나타났다.

[95]

[96] **4) 복합 한약재 추출물이 구속 스트레스로 유도된 Wistar Kyoto 랫트에서 IL-1b mRNA 발현에 미치는 효과**

[97] 복합 한약재 추출물이 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트의 뇌 내 해마조직에서 IL-1b mRNA 발현에 미치는 영향을 확인하였다. 상세하게는 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도한 Wistar Kyoto 랫트의 해마조직을 회수하여 RNA를 얻고 cDNA를 만들어 실시간유전자분석기를 통해 IL-1b mRNA 발현을 분석하였다.

[98] 그 결과 도 4에 나타난 바와 같이, 스트레스 대조군의 경우 IL-1b mRNA 발현량이 증가하는 것으로 나타났고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군의 경우 IL-1b mRNA 발현량이 감소하는 것으로 나타났다.

[99]

[100]

[101] **5) 복합 한약재 추출물이 구속 스트레스로 유도된 Wistar Kyoto 랫트에서 IL-6 mRNA 발현에 미치는 효과**

[102] 복합 한약재 추출물이 구속 스트레스에 의해 우울증이 유도된 Wistar Kyoto 랫트의 뇌 내 해마조직에서 IL-6 mRNA 발현에 미치는 영향을 확인하였다. 상세하게는 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도한 Wistar Kyoto 랫트의 해마조직을 회수하여 RNA를 얻고 cDNA를 만들어 실시간유전자분석기를 통해 IL-6 mRNA 발현을 분석하였다.

[103] 그 결과 도 5에 나타난 바와 같이, 스트레스 대조군의 경우 IL-6 mRNA 발현량이 증가하는 것으로 나타났고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군의 경우 IL-6 mRNA 발현량이 감소하는 것으로 나타났다.

[104]

- [105] 실시예 2. 레세르핀(reserpine) 우울증 모델 마우스에서 복합 한약재 추출물의 항우울 효과
- [106] 레세르핀(reserpine)으로 우울증이 유도된 C57BL/6 마우스에 대한 복합 한약재 추출물의 항우울 효과를 확인하였다. 상세하게는 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도하기 위하여 10일 동안 C57BL/6 마우스에 경구투여 방법으로 정상군과 대조군에 생리 식염수를 투여하였고, 양성 대조군에는 플루옥세틴(Fluoxetine) 투여하였으며, 복합 한약재 추출물 투여군에는 300mg/kg의 복합 한약재 추출물을 투여하였다. 그 후 1시간 후에 레세르핀(reserpine) 0.5mg/kg을 복강 투여하여 우울증을 유도한 후, 실험 종료 후 우울증 관련 행동 양상 변화 및 생리적 표적물질을 검사하였다.
- [107]
- [108] 1) 복합 한약재 추출물이 레세르핀(reserpine) 우울증 모델 마우스에서 체중 변화에 미치는 효과
- [109] 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도한 C57BL/6 마우스에 대한 1, 5, 10일째 체중을 측정하였다.
- [110] 그 결과 도 6에 나타난 바와 같이, 대조군의 경우 5일째부터 몸무게가 감소하는 경향이 있었으며 10일째 이르러 현저한 체중 감소가 관찰되었고, 10일째 복합 한약재 추출물을 투여한 군의 체중은 정상군에 비해 약간 감소하기는 하였으나, 대조군과 비교했을 때, 유의미한 차이가 있는 것으로 나타났다.
- [111]
- [112] 2) 복합 한약재 추출물이 레세르핀(reserpine) 우울증 모델 마우스에서 우울 및 불안 행동에 미치는 효과
- [113] 복합 한약재 추출물이 레세르핀(reserpine) 우울증 모델마우스의 우울 및 불안 관련 행동에 미치는 영향을 확인하였다.
- [114]
- [115] ① 강제수영 테스트
- [116] 상기 실험방법에 따라, 레세르핀(reserpine) 약물투여로 우울증을 유도한 C57BL/6 마우스에 대한 강제수영 테스트를 실시하였다.
- [117] 그 결과 도 7에 나타난 바와 같이, 대조군의 경우 수중 부동자세유지시간이 증가하는 것으로 나타났고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군의 경우 대조군에 비하여 부동자세 유지시간이 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.
- [118]
- [119] ② 꼬리 현수 시험
- [120] 상기 실험방법에 따라, 레세르핀(reserpine) 약물투여로 우울증을 유도한 C57BL/6 마우스에 대한 꼬리현수시험을 실시하였다.
- [121] 그 결과 도 8에 나타난 바와 같이, 대조군의 경우 부동자세 유지시간이 증가하는 것으로 나타났고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군의 경우 대조군에 비하여 부동자세 유지시간이 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.

[122]

[123] 3) 복합 한약재 추출물이 레세르핀(reserpine) 우울증 모델 마우스에서 코르티코스테론 호르몬에 미치는 효과

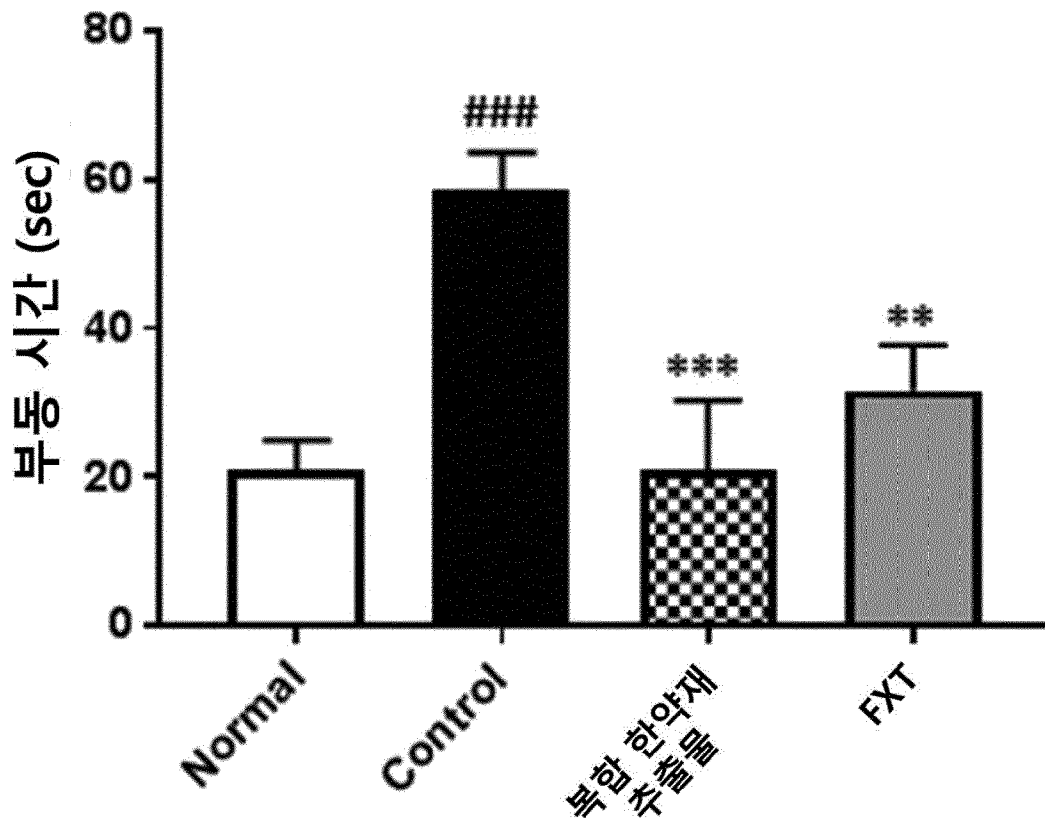
[124] 복합 한약재 추출물이 레세르핀(reserpine) 약물투여로 우울증이 유도된 C57BL/6 마우스의 혈액 내에서 코르티코스테론(corticosterone)의 농도에 미치는 영향을 확인하였다. 상기 실험방법에 따라, 우울증을 유도한 마우스의 혈액을 회수하여 원심분리한 후 혈청 부분을 효소면역측정법으로 코르티코스테론의 함량을 측정하였다.

[125] 그 결과 도 9에 나타난 바와 같이, 대조군의 경우 혈중 코르티코스테론의 함량이 증가한 것으로 나타났고, 복합 한약재 추출물을 투여한 군의 경우 대조군에 비하여 코르티코스테론의 양이 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.

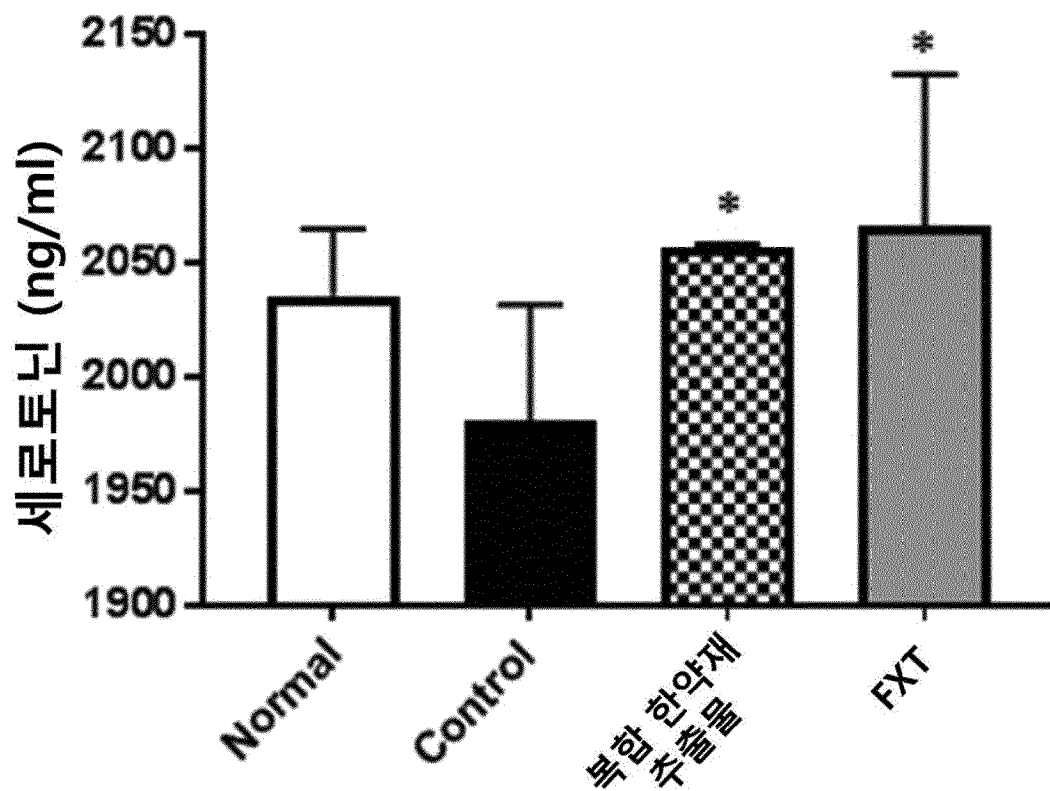
청구범위

- [청구항 1] 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약으로 이루어진 복합 한약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 우울증은 스트레스에 의한 우울증인 것을 특징으로 하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 복합 한약재 추출물의 추출용매는 물, $C_{1\sim4}$ 의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약은 1~10:1~10:1~10:1~10의 중량비로 혼합한 것을 특징으로 하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 추가로 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 것을 특징으로 하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 6] 계지, 복령, 목단피, 도인 및 작약으로 이루어진 복합 한약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 스트레스 해소 및 우울증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 추가로, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알킨산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 및 탄산음료에 사용되는 탄산화제 중에서 선택된 하나 이상을 더 함유하는 것을 특징으로 하는 스트레스 해소 및 우울증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

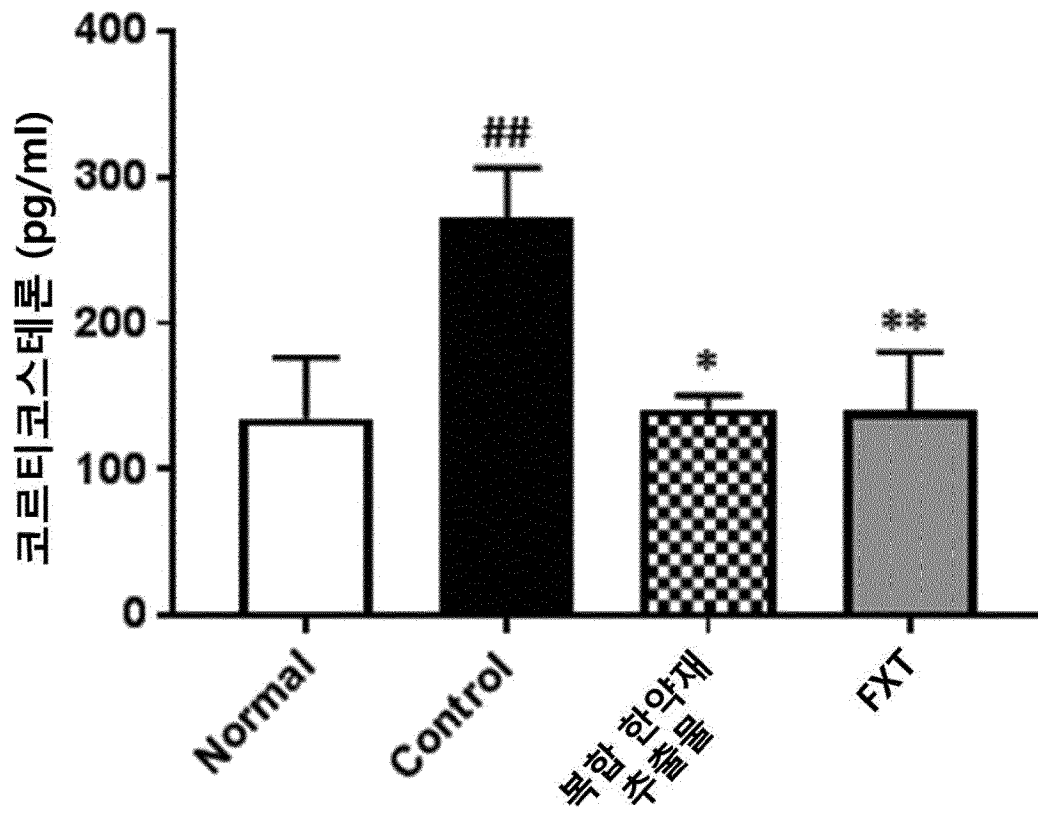
[도1]



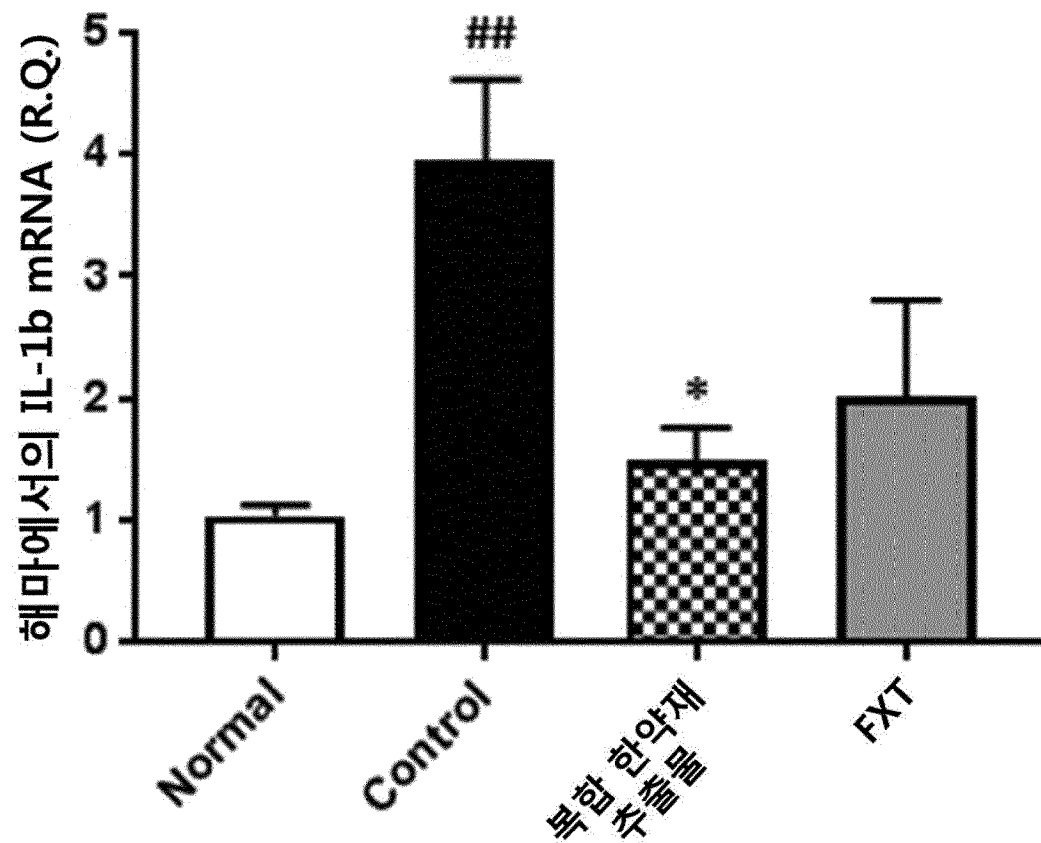
[도2]



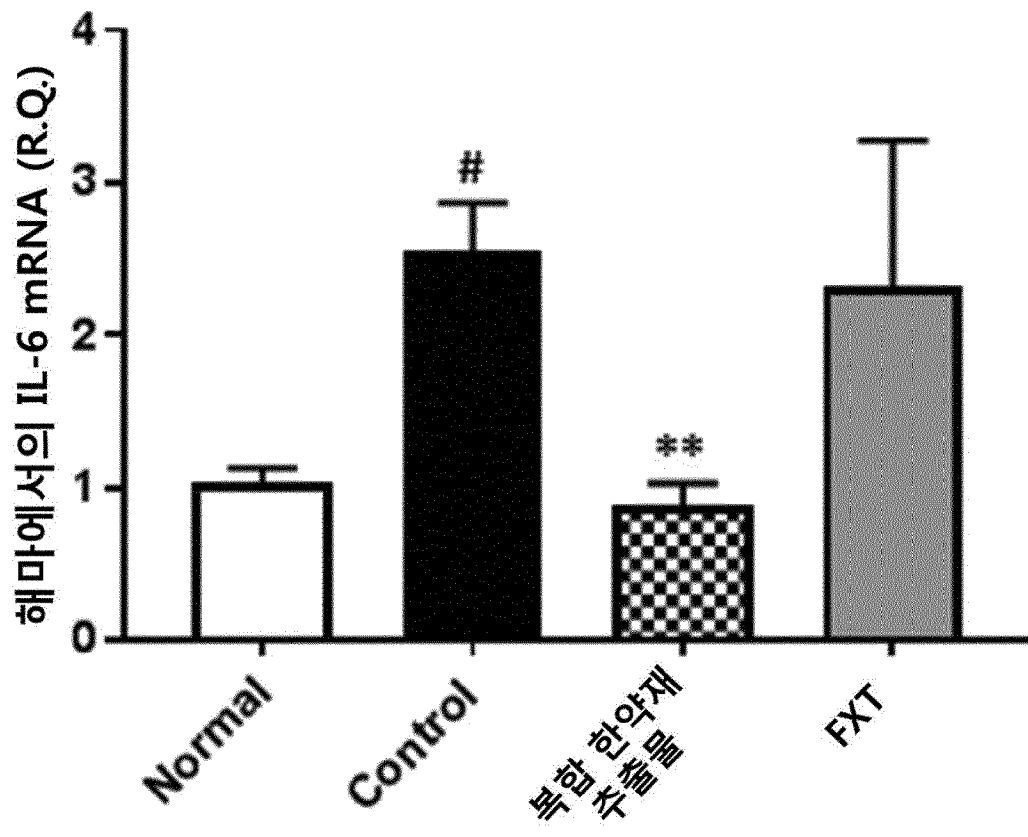
[도3]



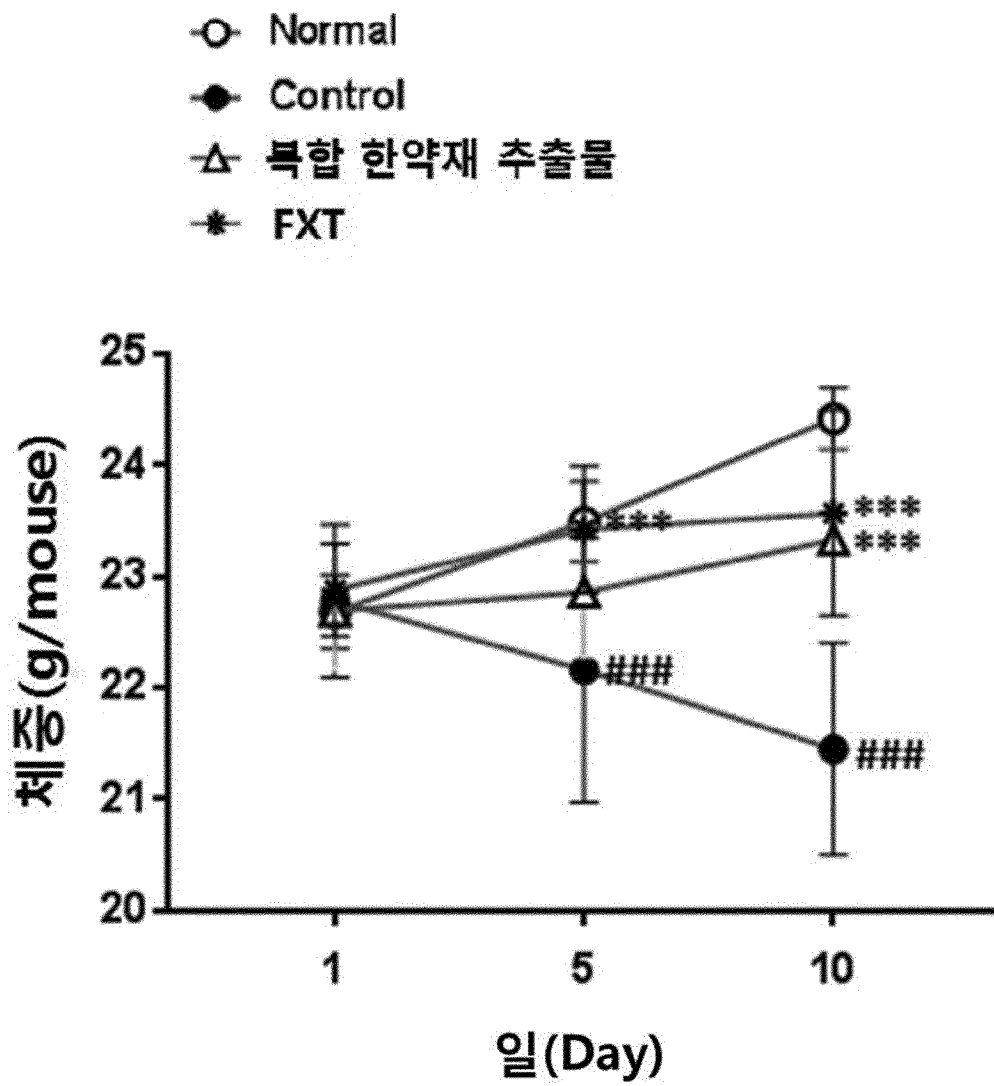
[도4]



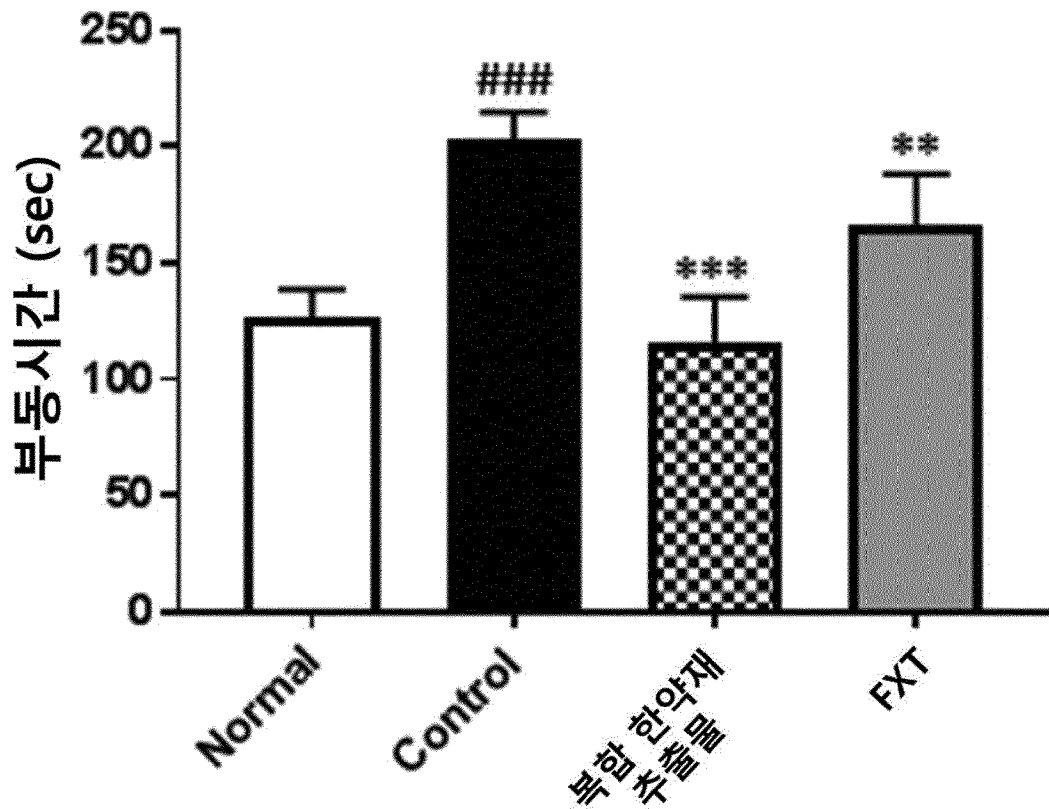
[도5]



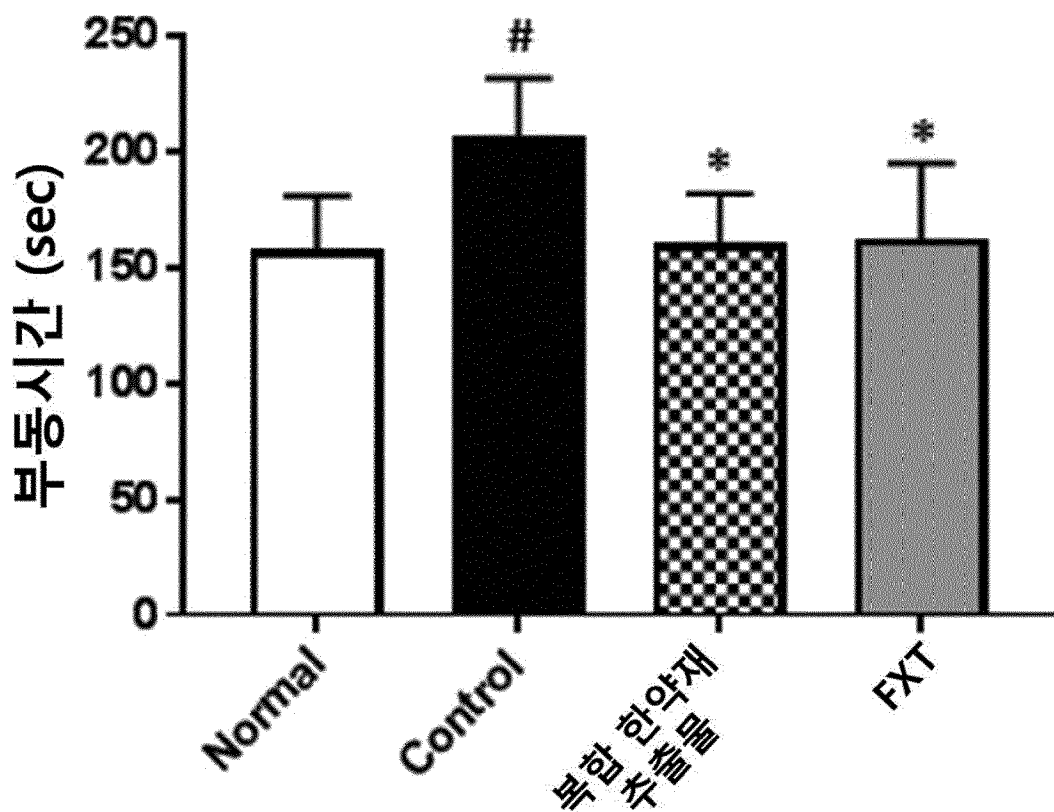
[도6]



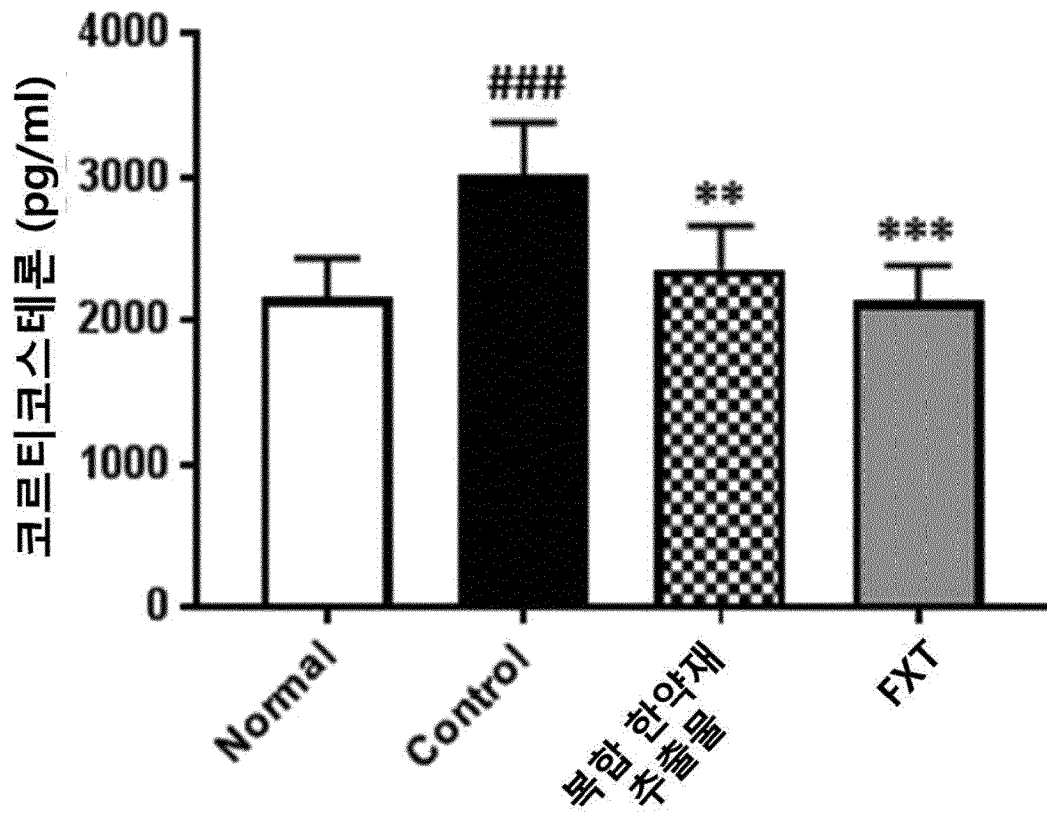
[도7]



[도8]



[도9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/016364

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/54(2006.01)i, A61K 36/076(2006.01)i, A61K 36/71(2006.01)i, A61K 36/736(2006.01)i, A61K 36/65(2006.01)i, A61P 25/24(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 36/54; A23L 33/105; A61K 36/65; A61K 8/97; A61P 1/04; A61Q 19/00; A61K 36/076; A61K 36/71; A61K 36/736; A61P 25/24

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: depressive disorder, Cinnamomum cassia, Poria cocos, Moutan cortex, Pruni Persicae Semen, Paeonia lactiflora

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2000-0069713 A (TEIKOKU SEIYAKU CO., LTD.) 25 November 2000 See page 3.	1-7
X	기존 한약처방서 우울증 치료효능 발견..첫 임상시험, 매일경제, 20 November 2018, page 1, non-official translation (Therapeutic Effects for Depression Found in Conventional Prescription of Korean Herbal Medicine.. First Clinical Trial, Maeil Business Newspaper). Retrieved from <URL: https://www.mk.co.kr/news/it/view/2018/11/725828 > See page 1.	1-7
A	KR 10-2007-0034561 A (YOU, Hong Gu) 28 March 2007 See the entire document.	1-7
X	PARK, Bo-kyung et al. Antidepressant-like effects of gyejibokryeong-hwan in a mouse model of reserpine-induced depression. BioMed Research International. 26 June 2018, vol. 2018, Article ID 5845491, pages 1-12 See abstract; pages 1-11. ※ The above document is a known document declaring exceptions to lack of novelty by the applicant.	1-7
E	KR 10-2019-0003092 A (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) 09 January 2019 See claims 1-7.	1-7



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

09 SEPTEMBER 2019 (09.09.2019)

Date of mailing of the international search report

09 SEPTEMBER 2019 (09.09.2019)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2018/016364

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2000-0069713 A	25/11/2000	EP 0968718 A1	05/01/2000
		EP 0968718 B1	05/01/2011
		JP 11-139980 A	25/05/1999
		JP 5054863 B2	24/10/2012
		KR 10-0558126 B1	10/03/2006
		US 2002-0025351 A1	28/02/2002
		US 6586022 B2	01/07/2003
		WO 99-22748 A1	14/05/1999
KR 10-2007-0034561 A	28/03/2007	None	
KR 10-2019-0003092 A	09/01/2019	KR 10-2019-0073324 A	26/06/2019
		KR 10-2019-0073325 A	26/06/2019
		KR 10-2019-0073326 A	26/06/2019

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 36/54(2006.01)i, A61K 36/076(2006.01)i, A61K 36/71(2006.01)i, A61K 36/736(2006.01)i, A61K 36/65(2006.01)i, A61P 25/24(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 36/54; A23L 33/105; A61K 36/65; A61K 8/97; A61P 1/04; A61Q 19/00; A61K 36/076; A61K 36/71; A61K 36/736; A61P 25/24

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: 우울증(depressive disorder), 계지(Cinnamomum cassia), 복령(Poria cocos), 목단피(Moutan cortex), 도인(Pruni Persicae Semen), 작약(Paeonia lactiflora)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2000-0069713 A (데이고꾸세이약꾸가부시키가이샤) 2000.11.25 페이지 3 참조.	1-7
X	“기존 한약치방서 우울증 치료효능 발견...첫 임상시험”, 매일경제, 2018.11.20, 페이지 1 <URL: https://www.mk.co.kr/news/it/view/2018/11/725828 > 페이지 1 참조.	1-7
A	KR 10-2007-0034561 A (유홍구) 2007.03.28 전체 문헌 참조.	1-7
X	PARK, BO-KYUNG 등, ‘Antidepressant-like effects of gyejibokryeong-hwan in a mouse model of reserpine-induced depression’, BioMed Research International, 2018.06.26, 2018권, Article ID 5845491, 페이지 1-12 초록; 페이지 1-11 참조. ※위 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임.	1-7
E	KR 10-2019-0003092 A (한국 한의학 연구원) 2019.01.09 청구항 1-7 참조.	1-7

☐ 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

2019년 09월 09일 (09.09.2019)

국제조사보고서 발송일

2019년 09월 09일 (09.09.2019)

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



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2000-0069713 A	2000/11/25	EP 0968718 A1 EP 0968718 B1 JP 11-139980 A JP 5054863 B2 KR 10-0558126 B1 US 2002-0025351 A1 US 6586022 B2 WO 99-22748 A1	2000/01/05 2011/01/05 1999/05/25 2012/10/24 2006/03/10 2002/02/28 2003/07/01 1999/05/14
KR 10-2007-0034561 A	2007/03/28	없음	
KR 10-2019-0003092 A	2019/01/09	KR 10-2019-0073324 A KR 10-2019-0073325 A KR 10-2019-0073326 A	2019/06/26 2019/06/26 2019/06/26