



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월09일

(11) 등록번호 10-2476644

(24) 등록일자 2022년12월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/7024 (2006.01) A23L 33/00 (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) A61K 36/22 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01) C07H 13/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/7024 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-7031083

(22) 출원일자(국제) 2017년03월28일

심사청구일자 2020년03월27일

(85) 번역문제출일자 2018년10월26일

(65) 공개번호 10-2019-0005157

(43) 공개일자 2019년01월15일

(86) 국제출원번호 PCT/CN2017/078361

(87) 국제공개번호 WO 2017/167168

국제공개일자 2017년10월05일

(30) 우선권주장

62/313,946 2016년03월28일 미국(US)

62/458,216 2017년02월13일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

CN102250159 A*

KR1020090084159 A*

Elwira Sieniawska et al. Activities of
Tannins - From In Vitro Studies to Clinical
Trials. NPC, v.10(11), pp.1877~1884
(2015.08.30.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

신유알엑스 인터내셔널 (타이완) 코퍼레이션

대만 221 뉴 타이페이 시지 지시 디스트릭트 신타
이 퍼프쓰 로드 섹션 1 넘버 99 20에프-10

(72) 발명자

차이, 귀추안 에밀

미국 91106 캘리포니아주 파사데나 사우스 마랭고
애비뉴 1380

왕, 칭-첵

중국 221 타이완 뉴 타이페이 시지 지시 디스트릭
트 신타이 퍼프쓰 로드 섹션 1 넘버 99 20에프-10

(74) 대리인

양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 21 항

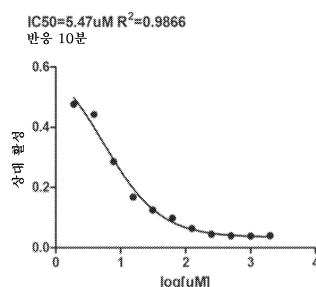
심사관 : 신영신

(54) 발명의 명칭 탄닌산을 함유하는 조성물 및 그의 용도

(57) 요약

탄닌산, 특히 3개 초과인 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 포함하는 조성물 (예를 들어, 제약 조성물, 기능식품 조성물 또는 의료 식품 조성물), 이를 제조하는 방법, 및 비만, 고지혈증, 당뇨병 또는 중추 신경계 장애를 치료하기 위한 그의 용도가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/30 (2016.08)

A61K 36/22 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 25/00 (2018.01)

A61P 3/04 (2018.01)

C07H 13/08 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 중추 신경계 (CNS) 장애를 치료하는데 사용하기 위한 조성물이며, 상기 조성물은 (i) 탄닌산 또는 그의 허용되는 염의 혼합물, 및 (ii) 담체를 포함하고,

상기 혼합물 중 탄닌산의 적어도 50%가 6-12개의 갈로일 모이어티를 갖고,

상기 CNS 장애는 ADHD, 학습 장애, 정신분열증, 통증, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 양극성 장애, 틱 장애, 외상후 스트레스 장애, 불안, 사회 불안 장애, 공황 장애, 자폐증, 아스퍼거 장애, 강박 장애 (OCD), 투렛 증후군, 경도 인지 장애, 치매, 행동 혈관성 치매, 알츠하이머 장애, 전두측두엽 치매, 파킨슨 장애, 헌팅턴병, 야간 야뇨증, 안검연축, 뇌 말라리아, 및 비-간질성 발작으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 혼합물 중 탄닌산의 적어도 50%가 8-12개의 갈로일 모이어티를 갖는 것인 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 탄닌산의 혼합물이 적어도 루스 키넨시스(*Rhus chinensis*), 루스 자바니카(*Rhus javanica*), 루스 세미알라타(*Rhus semialata*), 루스 코리아리아(*Rhus coriaria*), 루스 포타니니이(*Rhus potaninii*), 루스 폰자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레흐테르 & 이.에이치. 윌슨(*Rhus punjabensis* var. *sinica* (Diels) Rehder & E.H. Wilson), 카멜리아 시넨시스(*Camellia sinensis*), 베리(*Berry*), 빅사 오렐라나(*Bixa orellana*), 비티스 비니페라(*Vitis vinifera*), 푸니카 그라나툼(*Punica granatum*), 퀘르쿠스 인펙토리아(*Quercus infectoria*), 퀘르쿠스 세리스(*Quercus cerris*), 아카시아 메아른시이(*Acacia mearnsii*), 슈도추가 멘지에시이(*Pseudotsuga menziesii*), 카에살피니아 스피노사(*Caesalpinia spinosa*), 파구스 하야타에 파리브. 엑스 하야타(*Fagus hayatae* Palib. ex Hayata), 및 마칠루스 툰베르기이 시에브. & 주크.(*Machilus thunbergii* Sieb. & Zucc.)로 이루어진 군으로부터 선택된 식물 공급원으로부터의 탄닌산을 포함하거나;

상기 탄닌산의 혼합물이 적어도 루스 키넨시스, 루스 자바니카, 루스 세미알라타, 루스 코리아리아, 루스 포타니니이, 및 루스 폰자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레흐테르 & 이.에이치. 윌슨으로 이루어진 군으로부터 선택된 식물 공급원으로부터의 탄닌산을 포함하거나;

상기 탄닌산의 혼합물이 적어도 루스 키넨시스, 루스 포타니니이, 및 루스 폰자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레흐테르 & 이.에이치. 윌슨으로부터 선택된 식물 공급원으로부터의 탄닌산을 포함하거나;

상기 탄닌산의 혼합물이 적어도 안드리쿠스 콜라리(*Andricus kollari*), 안드리쿠스 페쿤다트릭스(*Andricus fecundatrix*), 안드리쿠스 퀘르쿠스칼리시스(*Andricus quercuscalicis*), 안드리쿠스 퀘르쿠스칼리시스, 비오리자 팔리다(*Biorhiza pallida*), 네우로테루스 퀘르쿠스박카룸(*Neuroterus quercusbaccarum*), 네우로테루스 알비페스(*Neuroterus albipes*), 네우로테루스 누미스말리스(*Neuroterus numismalis*), 시니프스 퀘르쿠스폴리이(*Cynips quercusfolii*), 멜라피스 치넨시스 (벨)(*Melaphis chinensis* (Bell)), 멜라피스 페이탄 차이 에트 탕(*Melaphis peitan* Tsai et Tang), 누루데아 시니카 차이 에트 탕(*Nurudea sinica* Tsai et Tang), 누루데아 시라이이 마추무라(*Nurudea shiraii* Matsumura), 누루데아 로세아 마추무라(*Nurudea rosea* Matsumura), 메이타나피스 엘롱갈리스 차이 에트 탕(*Meitanaphis elongallis* Tsai et Tang), 마크로리나리움 엔시갈리스 차이 에트 탕(*Macrorrhinarium ensigallis* Tsai et Tang), 마크로리나리움 오바갈리스 차이 에트 탕(*Macrorrhinarium ovagallis* Tsai et Tang), 플로라피스 메이타넨시스 차이 에트 탕(*Floraphis meitanensis* Tsai et Tang), 메이타나피스 플라보갈리스 탕(*Meitanaphis flavogallis* Tang), 카부라기아 루시콜라 타카기(*Kaburagia rhusicola* Takagi), 카부라기아 오바티후이콜라 시앙(*Kaburagia ovatihuicola* Xiang), 카부라기아 엔시갈리스 차이 에트 탕(*Kaburagia ensigallis* Tsai et Tang), 카부라기아 오보갈리스(*Kaburagia ovogallis*), 카부라기아 투시콜라 타카기(*Kaburagia thusicola* Takagi), 메이타나피스 마이크로갈리스 시앙(*Meitanaphis microgallis* Xiang), 및

플로라피스 초우이 시앙(*Floraphis choui Xiang*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 등지형성 곤충을 필요로 하는 식물 공급원으로부터의 탄닌산을 포함하거나;

상기 탄닌산의 혼합물이 적어도 멜라피스 치넨시스 (벨), 멜라피스 페이탄 차이 에트 탕, 누루데아 시니카 차이 에트 탕, 누루데아 시라이이 마추무라, 누루데아 로세아 마추무라, 메이타나피스 엘롱갈리스 차이 에트 탕, 마크로리나리움 엔시갈리스 차이 에트 탕, 마크로리나리움 오바갈리스 차이 에트 탕, 플로라피스 메이타넨시스 차이 에트 탕, 메이타나피스 플라보갈리스 탕, 카부라기아 루시콜라 타카기, 카부라기아 오바티후이콜라 시앙, 카부라기아 엔시갈리스 차이 에트 탕, 카부라기아 오보갈리스, 카부라기아 투시콜라 타카기, 메이타나피스 마이크로갈리스 시앙, 및 플로라피스 초우이 시앙으로 이루어진 군으로부터 선택된 등지형성 곤충을 필요로 하는 식물 공급원으로부터의 탄닌산을 포함하거나;

상기 탄닌산의 혼합물이 적어도 등지형성 곤충을 필요로 하는 식물 공급원 중 중국 주머니-모양(*Chinese belly-shaped*) 오배자, 뿔형(*horned*) 오배자, 경질 칼형(*hard ensiform*) 오배자, 날-경질 칼형(*egg-hard ensiform*) 오배자, 및 화서(*inflorescence*) 오배자로 이루어진 군으로부터 선택된 오배자로부터의 탄닌산을 포함하거나; 또는

상기 탄닌산의 혼합물이 적어도 등지형성 곤충을 필요로 하는 식물 공급원 중 중국 뿔형 오배자로 이루어진 군으로부터 선택된 오배자로부터의 탄닌산을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 오배자가 직경이 1-8 cm 범위인 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 제2 치료제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 제2 치료제가 항우울제, 항정신병제, 정신자극제, 기분 안정제, 불안완화제, 주의력 결핍 과잉행동 장애 (ADHD)를 치료하기 위한 작용제, 및 알츠하이머병 (AD)을 치료하기 위한 작용제로 이루어진 군으로부터 선택된, 중추 신경계 (CNS) 장애를 치료하기 위한 작용제인 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 CNS 장애를 치료하기 위한 작용제가 부티로페논, 페노티아진, 플루페나진, 페르페나진, 프로클로르페라진, 티오리다진, 트리플루오페라진, 메소리다진, 프로마진, 트리플루프로마진, 레보메프로마진, 프로메타진, 티오크산텐, 클로르프로티센, 플루펜티솔, 티오티센, 주클로펜티솔, 클로자핀, 올란자핀, 리스페리돈, 퀘티아핀, 지프라시돈, 아미술프리드, 아세나핀, 팔리페리돈, 아리피프라졸, 라모트리진, 메만틴, 테트라베나진, 칸나비디올, LY2140023, 드로페리돌, 피모지드, 부타페라진, 카르페나진, 레복시프리드, 피페라세타진, 슬피리드, 아캄프로세이트, 및 테트라베나진으로 이루어진 군으로부터 선택된 항정신병제이거나;

상기 CNS 장애를 치료하기 위한 작용제가 모노아민 옥시다제 억제제 (MAOI), 삼환계 항우울제 (TCA), 테트라시클릭 항우울제 (TeCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제 (SSRI), 노르아드레날린성 및 특이적 세로토닌성 항우울제 (NASSA), 노르에피네프린 (노르아드레날린) 재흡수 억제제, 노르에피네프린-도파민 재흡수 억제제, 및 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 억제제 (SNRI)로 이루어진 군으로부터 선택된 항우울제이거나; 또는

상기 CNS 장애를 치료하기 위한 작용제가 플루옥세틴, 파록세틴, 시탈로프람, 에스시탈로프람, 세르트랄린, 플루복사민, 벤라팍신, 벤라팍신 XR, 밀라시프란, 둘록세틴, 미르타자핀, 미안세린, 레복세틴, 부프로피온, 아미트립틸린, 노르트립틸린, 프로트립틸린, 데시프라민, 이미프라민, 트리미프라민, 아목사핀, 부프로피온, 부프로피온 SR, 클로미프라민, 독세핀, 이소카르복스아지드, 트라닐시프로민, 트라조돈, 네파조돈, 페넬진, 라모트리진, 리튬, 토피라메이트, 가바펜틴, 카르바마제핀, 옥스카르바제핀, 발프로에이트, 마프로틸린, 브로파로민, 게피론, 모클로베미드, 이소니아지드, 및 이프로니아지드로 이루어진 군으로부터 선택된 항우울제인, 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 경구 투여를 위해 제제화된 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 건강 식제품 또는 의료 식제품인 조성물.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 정제, 캡슐, 연질 추잉제 또는 겔인 조성물.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 제약상 허용되는 담체를 추가로 포함하는 제약 조성물이며, 상기 제약 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여를 위해 제제화된 것인, 조성물.

청구항 12

대상체에서 CNS 장애를 치료하는데 사용하기 위한 조성물이며, 상기 조성물은 (i) 탄닌산 또는 그의 허용되는 염 및 (ii) 담체를 포함하고,

상기 탄닌산은 6-12개의 갈로일 모이어티로 이루어진 군으로부터 선택된 다중 갈로일 모이어티를 함유하고,

상기 탄닌산은 조성물 중 총 탄닌산의 적어도 90% (w/w)를 구성하고,

상기 CNS 장애는 ADHD, 학습 장애, 정신분열증, 통증, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 양극성 장애, 틱 장애, 외상후 스트레스 장애, 불안, 사회 불안 장애, 공황 장애, 자폐증, 아스퍼거 장애, 강박 장애 (OCD), 투렛 증후군, 경도 인지 장애, 치매, 행동 혈관성 치매, 알츠하이머 장애, 전두측두엽 치매, 파킨슨 장애, 헌팅턴병, 야간 야뇨증, 안검연축, 뇌 말라리아, 및 비-간질성 발작으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 탄닌산이 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개의 갈로일 모이어티를 갖는 것인, 조성물.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 탄닌산이 조성물 중 총 탄닌산의 적어도 95 중량%를 구성하는 것인 조성물.

청구항 15

제12항 또는 제13항에 있어서, 제2 치료제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 제2 치료제가 항우울제, 항정신병제, 정신자극제, 기분 안정제, 불안완화제, 주의력 결핍 과잉행동 장애 (ADHD)를 치료하기 위한 작용제, 및 알츠하이머병 (AD)을 치료하기 위한 작용제로 이루어진 군으로부터 선택된, 중추 신경계 (CNS) 장애를 치료하기 위한 작용제인 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 CNS 장애를 치료하기 위한 작용제가 부티로페논, 페노티아진, 플루페나진, 페르페나진, 프로클로르페라진, 티오리다진, 트리플루오페라진, 메소리다진, 프로마진, 트리플루프로마진, 레보메프로마진, 프로메타진, 티오크산텐, 클로르프로티센, 플루펜티솔, 티오티센, 주클로펜티솔, 클로자핀, 올란자핀, 리스페리돈, 퀘티아핀, 지프라시돈, 아미술프리드, 아세나핀, 팔리페리돈, 아리피프라졸, 도파민 부분 효능제, 라모트리진, 테트라베나진, 칸나비디올, LY2140023, 드로페리돌, 피모지드, 부타페라진, 카르페나진, 레복시프리드, 피페라세타진, 솔피리드, 아캄프로세이트, 및 테트라베나진으로 이루어진 군으로부터 선택된 항정신병제이거나;

상기 CNS 장애를 치료하기 위한 작용제가 (a) 모노아민 옥시다제 억제제 (MAOI), 삼환계 항우울제 (TCA), 테트라시클릭 항우울제 (TeCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제 (SSRI), 노르아드레날린성 및 특이적 세로토닌성 항우울제 (NASSA), 노르에피네프린 (노르아드레날린) 재흡수 억제제, 노르에피네프린-도파민 재흡수 억제제, 및

세로토닌-노르에피네프린 재흡수 억제제 (SNRI)로 이루어진 군으로부터 선택된 항우울제이거나; 또는

(b) 플루옥세틴, 파록세틴, 시탈로프람, 에스시탈로프람, 세르트랄린, 플루복사민, 벤라팍신, 벤라팍신 XR, 밀라시프란, 돌록세틴, 미르타자핀, 미안세린, 레복세틴, 부프로피온, 아미트립틸린, 노르트립틸린, 프로트립틸린, 데시프라민, 이미프라민, 트리미프라민, 아목사핀, 부프로피온, 부프로피온 SR, 클로미프라민, 독세핀, 이소카르복스아지드, 트라닐시프로민, 트라조돈, 네파조돈, 페넨진, 라모트리진, 리튬, 토피라메이트, 가바펜틴, 카르바마제핀, 옥스카르바제핀, 발프로에이트, 마프로틸린, 브로파로민, 게피론, 모클로베미드, 이소니아지드, 및 이프로니아지드로 이루어진 군으로부터 선택된 항우울제인, 조성물.

청구항 18

제12항 또는 제13항에 있어서, 경구 투여를 위해 제제화된 조성물.

청구항 19

제12항 또는 제13항에 있어서, 건강 식제품 또는 의료 식품인 조성물.

청구항 20

제12항 또는 제13항에 있어서, 정제, 캡슐, 연질 추잉제 또는 겔인 조성물.

청구항 21

제12항 또는 제13항에 있어서, 제약상 허용되는 담체를 추가로 포함하는 제약 조성물이며, 상기 제약 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여를 위해 제제화된 것인, 조성물.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 PCT 출원은 2016년 3월 28일에 출원된 미국 가출원 번호 62/313,946 및 2017년 2월 13일에 출원된 미국 가출원 번호 62/458,216의 이익을 주장하며, 그의 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0003] 탄닌은 다양한 식물, 예를 들어, 루스 키넨시스(*Rhus chinensis*), 루스 자바니카(*Rhus javanica*), 루스 세미알라타(*Rhus semialata*), 루스 코리아리아(*Rhus coriaria*), 루스 포타니니(*Rhus potaninii*), 루스 푼자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레흐데르 & 이.에이치. 윌슨(*Rhus punjabensis* var. *sinica* (Diels) Rehder & E.H. Wilson), 카멜리아 시넨시스(*Camellia sinensis*), 베리(Berry), 빅사 오렐라나(*Bixa orellana*), 비티스 비니페라(*Vitis vinifera*), 푸니카 그라나툼(*Punica granatum*), 퀘르쿠스 인펙토리아(*Quercus infectoria*), 퀘르쿠스 세리스(*Quercus cerris*), 아카시아 메아른시이(*Acacia mearnsii*), 슈도추가 멘지예시이(*Pseudotsuga menziesii*), 카에살피니아 스피노사(*Caesalpinia spinosa*), 파구스 하야타에 파리브. 엑스 하야타(*Fagus hayatae* Palib. ex Hayata), 또는 마칠루스 툰베르기이 시에브. & 주크.(*Machilus thunbergii* Sieb. & Zucc.) 등에 존재하는 자연 발생 화합물 군이다. 기본 유닛으로서 각각 갈산, 플라본, 및 플로로글루시놀을 함유하는 가수분해성 탄닌 (또한 탄닌산으로도 공지됨), 축합된 탄닌, 및 플로로탄닌을 포함한 3종의 주요 부류의 탄닌이 존재한다. 탄닌은 산업용 파티클보드 접착제 유형으로서 및 항-부식 프라이머 또는 수지의 제조를 위해 널리 사용된다. 또한, 탄닌은 인간 건강에 대해 다양한 효과를 가질 수 있다는 것이 시사되었다.

[0004] D-아미노산 옥시다제 (DAAO)는 D-아미노산을 상응하는 이미노산으로 산화시키는 퍼옥시솜 효소이다. DAAO는 D-세린을 포함한 너 D-아미노산의 대사, 및 글루타메이트성 신경전달의 조절에 수반되는 것으로 보고되었다. 따라서, DAAO는 D-세린 및/또는 글루타메이트성 신경전달과 연관된 중추 신경계 (CNS) 장애를 치료하기 위한 표적이다.

발명의 내용

[0005] 본 개시내용은 탄닌산, 특히 3개 초과와 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산이 DAAO의 활성을 효과적으로 억제하였다는 발견을 기초로 한다. 따라서, 이러한 탄닌산을 함유하는 조성물은 DAAO 및/또는 글루타메이트성 신경전달과 연관된 질환 및 장애, 예컨대 비만, 당뇨병, 고지혈증 및 CNS 장애의 치료에 유익할 것이다.

[0006] 따라서, 본 개시내용의 한 측면은 (i) 탄닌산 또는 그의 제약상 허용되는 염의 혼합물, 및 (ii) 담체를 포함하는 조성물 (예를 들어, 제약 조성물, 건강 식제품 또는 의료 식제품)을 특색으로 하며, 여기서 조성물은 4개 미만의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산이 실질적으로 부재한다. 일부 예에서, 조성물 중 탄닌산의 혼합물은 4-10개의 갈로일 모이어티 (예를 들어, 5-10개의 갈로일 모이어티, 5-12개의 갈로일 모이어티, 또는 8-12개의 갈로일 모이어티)를 갖는 탄닌산을 포함한다. 일부 예에서, 탄닌산의 혼합물은 조성물 중 총 탄닌산 내용물의 적어도 95 중량%를 구성한다. 일부 예에서, 본원에 기재된 탄닌산은 조성물 중 유일한 탄닌산 내용물이다.

[0007] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물은 1-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 20% 이하 (예를 들어, <15%, <10% 또는 <5%)로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 조성물은 6-12개의 갈로일 모이어티 (예를

들어, 8-12개의 갈로일 모이어티)를 갖는 탄닌산을 적어도 50% (예를 들어, >60%, >70% 또는 >80%) 포함할 수 있다.

[0008] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 탄닌산은 적어도 루스 키넨시스, 루스 자바니카, 루스 세미알라타, 루스 코리아리아, 루스 포타니니이, 루스 푼자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레흐테르 & 이.에이치. 윌슨, 카멜리아 시넨시스, 베리, 빅사 오렐라나, 비티스 비니페라, 푸니카 그라나툼, 퀘르쿠스 인팩토리아, 퀘르쿠스 세리스, 아카시아 메아른시이, 슈도추가 멘지에시이, 카에살피니아 스피노사, 파구스 하야타에 파리브. 엑스 하야타, 또는 마칠루스 툰베르기이 시에브. & 주크.를 포함하나 이에 제한되지는 않는 식물 공급원으로부터의 것이다.

[0009] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 탄닌산은 적어도 루스 키넨시스, 루스 자바니카, 루스 세미알라타, 루스 코리아리아, 루스 포타니니이, 루스 푼자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레흐테르 & 이.에이치. 윌슨일 수 있는 식물 공급원으로부터의 것이다.

[0010] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 탄닌산은 적어도 안드리쿠스 콜라리(*Andricus kollari*), 안드리쿠스 페쿤다트릭스(*Andricus fecundatrix*), 안드리쿠스 퀘르쿠스칼리시스(*Andricus quercuscalicis*), 안드리쿠스 퀘르쿠스칼리시스, 비오리자 팔리다(*Biorhiza pallida*), 네우로테루스 퀘르쿠스박카룸(*Neuroterus quercusbaccarum*), 네우로테루스 알비페스(*Neuroterus albipes*), 네우로테루스 누미스말리스(*Neuroterus numismalis*), 시니프스 퀘르쿠스폴리이(*Cynips quercusfolii*), 멜라피스 치넨시스 (벨)(*Melaphis chinensis* (Bell)), 멜라피스 페이탄 차이 에트 탕(*Melaphis peitan Tsai et Tang*), 누루데아 시니카 차이 에트 탕(*Nurudea sinica Tsai et Tang*), 누루데아 시라이이 마추무라(*Nurudea shiraii matsumura*), 누루데아 로세아 마추무라(*Nurudea rosea Matsumura*), 메이타나피스 엘롱갈리스 차이 에트 탕(*Meitanaphis elongallis Tsai et Tang*), 마크로리나리움 엔시갈리스 차이 에트 탕(*Macrorhinarium ensigallis Tsai et Tang*), 마크로리나리움 오바갈리스 차이 에트 탕(*Macrorhinarium ovagallis Tsai et Tang*), 플로라피스 메이타넨시스 차이 에트 탕(*Floraphis meitanensis Tsai et Tang*), 메이타나피스 플라보갈리스 탕(*Meitanaphis flavogallis Tang*), 카부라기아 루시콜라 타카기(*Kaburagia rhusicola Takagi*), 카부라기아 오바티후이콜라 시앙(*Kaburagia ovatihuicola Xiang*), 카부라기아 엔시갈리스 차이 에트 탕(*Kaburagia ensigallis Tsai et Tang*), 카부라기아 오보갈리스(*Kaburagia ovogallis*), 카부라기아 투시콜라 타카기(*Kaburagia thusicola Takagi*), 메이타나피스 미크로갈리스 시앙(*Meitanaphis microgallis Xiang*), 또는 플로라피스 초우이 시앙(*Floraphis choui Xiang*)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 등지형성 곤충을 필요로 하는 식물 공급원으로부터의 것이다.

[0011] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 탄닌산은 적어도 멜라피스 치넨시스 (벨), 멜라피스 페이탄 차이 에트 탕, 누루데아 시니카 차이 에트 탕, 누루데아 시라이이 마추무라, 누루데아 로세아 마추무라, 메이타나피스 엘롱갈리스 차이 에트 탕, 마크로리나리움 엔시갈리스 차이 에트 탕, 마크로리나리움 오바갈리스 차이 에트 탕, 플로라피스 메이타넨시스 차이 에트 탕, 메이타나피스 플라보갈리스 탕, 카부라기아 루시콜라 타카기, 카부라기아 오바티후이콜라 시앙, 카부라기아 엔시갈리스 차이 에트 탕, 카부라기아 오보갈리스, 카부라기아 투시콜라 타카기, 메이타나피스 미크로갈리스 시앙, 또는 플로라피스 초우이 시앙을 포함하나 이에 제한되지는 않는 등지형성 곤충을 필요로 하는 식물 공급원으로부터의 것이다.

[0012] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 탄닌산은 적어도 등지형성 곤충을 필요로 하는 식물 공급원 중 중국 주머니-모양(*Chinese belly-shaped*) 오배자, 뿔형(*horned*) 오배자, 경질 칼형(*hard ensiform*) 오배자, 날-경질 칼형(*egg-hard ensiform*) 오배자, 및 화서(*inflorescence*) 오배자로부터 선택된 오배자로부터의 것이다.

[0013] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) 탄닌산 또는 그의 허용되는 염, 및 (ii) 담체를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 탄닌산은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개의 갈로일 모이어티를 함유한다. 탄닌산은 조성물 중 총 탄닌산 내용물의 적어도 90% (w/w)를 구성할 수 있다. 일부 예에서, 탄닌산은 조성물 중 총 탄닌산 내용물의 적어도 95 중량%를 구성한다. 또한, 본원에 기재된 바와 같은 탄닌산 조성물을 제조하는 방법이 본원에 제공된다. 이러한 방법은 (i) 식물 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 식물 공급원 중 임의의 것)의 오배자를 제공하는 단계; (ii) 오배자를 분쇄하여 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) 오배자 분말을 제1 용매로 추출하여 제1 탄닌산 추출물을 생산하는 단계; 및 (iv) 탄닌산 추출물을 목탄, CaSO_4 , MgSO_4 , 또는 그의 조합과 접촉시켜 목탄에 흡수된 물질을 제거하거나 또는 CaSO_4 또는 MgSO_4 에 의해 침전시켜 그에 의해 제1 탄닌산 조성물을 생산하는 단계를 포함할 수 있다. 임의로, 방법은 (v) 제1 탄닌산 조성물을 제2 용매 중에 용해시켜 용액을 형성하는 단계, (vi) 용액에 메틸렌 클로라이드 (CH_2Cl_2) 또는 디클로로에탄을 첨가하는 단계, 및 (vii) 이에 따라 형성된 고체 물질을 수집하여, 그에 의해 제2 탄닌산 조성물을 생산하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 단

계 (iii)에 사용하기 위한 제1 용매의 예는 아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 헥산, 또는 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 단계 (v)에 사용하기 위한 제2 용매의 예는 아세톤, 아세토니트릴, 에틸 아세테이트, 메틸 에틸 케톤, 또는 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 제조 방법 중 임의의 것은 2-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 제거하여 풍부화된 탄닌산 추출물을 형성하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 제거하는 단계는 제1 탄닌산 추출물을 (i) 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 또는 에틸 아세테이트 중 어느 하나, 및 (ii) 펜탄, 헥산 또는 헵탄 중 어느 하나의 조합물일 수 있는 용매와 혼합하여 2개의 유기 층을 형성하고, 보다 유성인 층을 수집하여 풍부화된 탄닌산 추출물을 생산하는 것에 의해 수행될 수 있다. 일부 경우에, 용매는 메틸 에틸 케톤/헥산 또는 에틸 아세테이트/헥산을 포함한다. 일부 예에서, 제거하는 단계는 단계 (iii) 후 및 단계 (iv) 전에 수행될 수 있다.

[0014] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 제조 방법 중 임의의 것은 단계 (iii) 전 및 단계 (ii) 후에, 20-60-메쉬의 체를 통해 오배자 분말을 통과시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0015] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물 중 임의의 것은 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이다. 이러한 제약 조성물은 제2 치료제를 추가로 포함할 수 있다.

[0016] 일부 예에서, 제2 치료제는 올리스타트, 로르카세린, 시부트라민, 리모나반트, 메트포르민, 액세나티드, 프롤린티드, 펜테르민, 펜플루라민, 텍스펜플루라민 토피라메이트, 디니트로페놀, 부프로피온, 및 조니사미드를 포함하나 이에 제한되지는 않는 항비만제이다.

[0017] 다른 예에서, 제2 치료제는 중추 신경계 (CNS) 장애를 치료하기 위한 작용제이다. 이러한 작용제는 항우울제, 항정신병제, 정신자극제, 기분 안정제, 불안완화제, 주의력 결핍 과잉행동 장애 (ADHD)를 치료하기 위한 작용제 또는 알츠하이머병 (AD)을 치료하기 위한 작용제일 수 있다.

[0018] 항정신병 약물의 예는 부티로페논, 페노티아진, 플루페나진, 페르페나진, 프로클로르페라진, 티오리다진, 트리플루오페라진, 메소리다진, 프로마진, 트리플루프로마진, 레보메프로마진, 프로메타진, 티오크산텐, 클로르프로티센, 플루펜티솔, 티오티센, 주클로펜티솔, 클로자핀, 올란자핀, 리스페리돈, 퀘티아핀, 지프라시돈, 아미술프리드, 아세나핀, 팔리페리돈, 아리피프라졸, 라모트리진, 메탄딘, 칸나비디올, LY2140023, 드로페리돌, 피모지드, 부타페라진, 카르페나진, 레복시프리드, 피페라세타진, 술피리드, 아캄프로세이트 및 테트라베나진을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0019] 항우울제는 모노아민 옥시다제 억제제 (MAOI), 삼환계 항우울제 (TCA), 테트라시클릭 항우울제 (TeCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제 (SSRI), 노르아드레날린성 및 특이적 세로토닌성 항우울제 (NASSA), 노르에피네프린 (노르아드레날린) 재흡수 억제제, 노르에피네프린-도파민 재흡수 억제제 또는 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 억제제 (SNRI)일 수 있다. 예는 플루옥세틴, 파록세틴, 에스시탈로프람, 시탈로프람, 세르트랄린, 플루복사민, 벤라팍신, 밀라시프란, 돌록세틴, 미르타자핀, 미안세린, 레복세틴, 부프로피온, 아미트립틸린, 노르트립틸린, 프로트립틸린, 데시프라민, 트리미프라민, 아목사핀, 부프로피온, 클로미프라민, 데시프라민, 독세핀, 이소카르복스아지드, 트라닐시프로민, 트라조돈, 네파조돈, 페넨진, 라모트리진, 리튬, 토피라메이트, 가바펜틴, 카르바마제핀, 옥스카르바제핀, 발프로에이트, 마프로틸린, 브로파로민, 게피론, 모클로베미드, 이소니아지드 및 이프로니아지드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0020] 본원에 기재된 제약 조성물 중 임의의 것은 경구 투여를 위해 또는 비경구 투여를 위해 제제화될 수 있다.

[0021] 다른 실시양태에서, 조성물은 건강 식제품 (예를 들어, 기능식품 조성물) 또는 의료 식제품이며, 이는 식용 담체를 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 정제, 캡슐, 연질 츄잉제 또는 겔로서 제제화될 수 있다.

[0022] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) 1종 이상의 탄닌산 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 (ii) 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물 (예를 들어, 제약 조성물, 건강 식제품 또는 의료 식제품)의 유효량을 DAAO와 연관된 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 DAAO와 연관된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 특색으로 하며; 여기서 제약 조성물은 축합된 탄닌 및/또는 플로로탄닌이 실질적으로 부재한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 의해 치료될 표적 질환은 CNS 장애로, 이는 통증, 정신병, 불안, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 자폐증, OCD, 조증, 투렛 증후군, 치매, 및 치매의 행동 및 심리 증상 (BPSD)일 수 있다.

[0023] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 치료 방법에 사용하기 위한 조성물은 본원에 기재된 제약 조성물, 건강 식제품 및/또는 의료 식제품 중 임의의 것일 수 있다. 이러한 조성물은 비만을 치료하는데 사용될 수 있다. 일부

예에서, 치료를 필요로 하는 대상체는 비만이거나 비만이 의심되는 인간 환자이다. 다른 예에서, 대상체는 비만 치료에 적용되었거나 치료 중인 인간 환자이다.

[0024] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물은 중추 신경계 (CNS) 장애를 치료하는데 사용하기 위한 것이다. 예시적인 CNS 장애는 ADHD, 정신분열증, 통증, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 양극성 장애, 틱 장애, 외상후 스트레스 장애, 불안, 사회 불안 장애, 공황 장애, 자폐증, 아스퍼거 장애, 강박 장애 (OCD), 학습 장애, 투렛 증후군, 경도 인지 장애, 치매, 혈관성 치매, 다발경색 치매, 알츠하이머 장애, 전두측두엽 치매, 루이 소체 치매, 파킨슨 장애, 헌팅턴병, 근위축성 측삭 경화증, 야간 야뇨증, 안검연축 및 비-간질성 발작을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 예에서, 치료를 필요로 하는 대상체는 CNS 장애를 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다. 다른 예에서, 대상체는 CNS 장애를 치료하기 위한 치료에 적용되었거나 치료 중인 인간 환자이다.

[0025] 또한 (i) DAAO- 및/또는 글루타메이트성 신경전달-연관 질환/장애, 예컨대 본원에 기재된 것의 치료에 사용하기 위한, 또는 비만, 고지혈증, 당뇨병 또는 CNS 장애를 치료하기 위한, 본원에 기재된 탄닌산-함유 조성물 (예를 들어, 제약 조성물, 건강 식제품 또는 의료 식제품) 중 임의의 것 및 (ii) 본원에 기재된 것을 포함한 표적 질환/장애 중 임의의 것을 치료하는데 사용하기 위한 의약을 제조하는데 있어서의 이러한 조성물의 용도가 본 개시내용의 범주 내에 있다.

[0026] 본 발명의 하나 이상의 실시양태의 상세내용이 하기 설명에 제시된다. 본 발명의 다른 특색 또는 이점은 하기도면 및 여러 실시양태의 상세한 설명, 및 또한 첨부된 청구범위로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0027] 하기 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고, 본 개시내용의 특정 측면을 추가로 입증하기 위해 포함되며, 이는 이들 도면 중 하나 이상을 본원에 제시된 구체적 실시양태의 상세한 설명과 함께 참조하여 보다 잘 이해될 수 있다.

도 1은 균으로서의 탄닌산이 D-아미노산 옥시다제 (DAAO)를 억제하는 것을 보여주는 차트이다.

도 2는 상이한 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 300 nM에서의 항-DAAO 활성을 보여주는 차트이다. 3개의 갈로일 모이어티는 무시할만한 활성을 나타내었다. 4개 이상의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산은 3개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산과 비교하여 DAAO를 억제하는데 있어서 보다 높은 활성을 나타내었다. 갈로일 모이어티의 수가 더 많을 수록, DAAO를 억제하는 효력이 더 강하였다.

도 3은 기본 행동 기능, 불안, 우울증, 기억, 감각운동 게이팅 및 인지 행동을 개선시키는데 있어서의 탄닌산의 활성을 검증하기 위한 예시적인 설계의 개략도이다. 마우스에게 비히클 대조군 또는 탄닌산 10 mg/kg 또는 30 mg/kg을 주사에 의해 격일로 제공하였다. 처리된 마우스의 체중을 격일로 측정하였다. 행동 시험은 주사를 투여하지 않은 날에 수행하였다.

도 4는 처리 과정 동안 비히클 대조군 및 제시된 바와 같은 다양한 용량의 탄닌산으로 처리된 마우스의 체중 변화를 보여주는 차트이다. 탄닌산 10 mg/kg은 체중 증가를 정지시켰고, 한편 30 mg/kg은 체중을 감소시켰다.

도 5는 탄닌산 또는 비히클 대조군의 반복 주사 후 마우스의 자발적 보행 활동의 감소를 보여주는 차트이다.

도 6은 제시된 바와 같은 다양한 용량으로의 단일 경구 위관영양에 의한 탄닌산 (머크 밀리포어(Merck Millipore), 독일)이 마우스에서 용량-의존성 방식으로 보행 활동을 감소시킨다는 것을 보여주는 차트이다.

도 7은 탄닌산 vs. 비히클 대조군의 반복 주사 후 마우스의 불안-유사 행동의 개선을 보여주는 다이어그램을 포함한다. 패널 A: 각각의 군의 회피 지속시간. 패널 B: 각각의 군의 회피 거리 비. 패널 C: 각각의 군의 위험 판단 수.

도 8은 탄닌산 vs. 비히클 대조군의 반복 주사 후 마우스의 공간 기억 회복의 개선된 성능을 보여주는 차트이다.

도 9는 실시예 3에 기재된 바와 같은 MK801로 처리한 마우스에서 탄닌산의 효과를 검증하기 위한 예시적인 실험 설계의 개략도이다. 탄닌산 또는 비히클 대조군으로 처리된 각각의 마우스의 자발적 보행 활동 및 감각운동 기능을 각각 개방 현장 및 프리펠스 억제에 의해 시험하였고, 시험 사이에는 적어도 1-주 간격을 두었다. MK801 (또는 비히클) 투여 20분 전에, 탄닌산 (또는 비히클)을 각각의 마우스에 투여하였다. 또한, 행동 시험 20분

전, MK801 (또는 비히클)을 각각의 마우스에 투여하였다.

도 10은 MK801-유도되는 과다-보행을 용량-의존성 방식으로 감소시키는데 있어서의 단일 경구 투여를 통한 탄닌산의 효과를 보여주는 차트이다.

도 11은 프리펠스 억제를 용량-의존성 방식으로 개선시키는데 있어서의 탄닌산의 효과를 보여주는 차트이다.

도 12는 프리펠스 억제에 대한 상이한 공급원으로부터의 탄닌산의 개선 효과를 보여주는 차트이다.

도 13은 실시예 3에 기재된 바와 같은 MK801로 처리한 마우스에서 탄닌산의 효과를 검증하기 위한 예시적인 실험 설계의 개략도이다. MK-801에 더하여 탄닌산 또는 비히클 대조군으로 처리된 각각의 마우스의 자발적 보행 활동 및 감각운동 기능을 각각 개방 현장, 프리펠스 억제, 반즈 미로, 수크로스 선호에 의해 시험하였고, 시험 사이에는 적어도 1-주 간격을 두었다. MK801 (또는 비히클) 주사 20분 전, 탄닌산 (또는 비히클)을 각각의 마우스에게 i.p. 주사에 의해 투여하였다. 또한, 행동 시험 20분 전, MK801 (또는 비히클)을 각각의 마우스에게 i.p. 주사에 의해 투여하였다.

도 14는 MK-801-유도되는 과잉행동을 용량-의존성 방식으로 개선시키는데 있어서의 탄닌산의 효과를 보여주는 차트이다.

도 15는 MK-801-교란된 프리펠스 억제를 용량-의존성 방식으로 개선시키는데 있어서의 탄닌산의 효과를 보여주는 차트이다.

도 16은 반즈 미로에서 MK-801-교란된 작업 기억을 용량-의존성 방식으로 개선시키는데 있어서의 탄닌산의 효과를 보여주는 차트이다.

도 17은 MK-801-교란된 수크로스 선호를 용량-의존성 방식으로 개선시키는데 있어서의 탄닌산의 효과를 보여주는 차트이다.

도 18은 폰 프라이 시험으로 마우스에서의 탄닌산의 효과를 검증하기 위한 예시적인 실험 설계의 개략도이다. 탄닌산 (또는 비히클)을 각각의 마우스에게 i.p. 주사에 의해 투여하였다.

도 19는 탄닌산 또는 비히클 대조군 (PBS)의 주사 후 시간의 경과에 따른 발 회피 통증 역치의 개선을 보여주는 차트이다.

도 20은 케르쿠스 인팩토리아로부터의 탄닌산을 함유하는 조성물의 HPLC 크로마토그램을 보여주는 다이어그램이다.

도 21은 루스 키넨시스로부터의 탄닌산을 함유하는 조성물의 HPLC 크로마토그램을 보여주는 다이어그램이다.

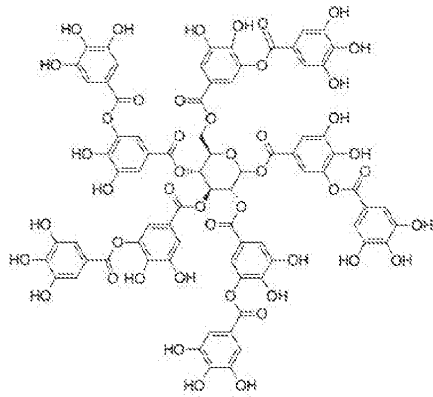
도 22는 루스 키넨시스로부터의 탄닌산을 함유하는 조성물의 HPLC 크로마토그램을 보여주는 다이어그램이다.

도 23은 제시된 바와 같은 다양한 식물 공급원으로부터의 오배자로부터 추출된 탄닌산의 DAAO에 대한 억제 활성을 보여주는 다이어그램이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

탄닌산은 다양한 식물에 존재하는 탄닌의 서브패밀리이다. 식물로부터 추출된 탄닌산은 2-12개의 갈로일 모이어티를 함유하는 폴리갈로일 글루코스 또는 폴리갈로일 퀴산 에스테르의 혼합물이다. 글루코스 모이어티에 연결된 10개의 갈로일 모이어티를 함유하는 예시적인 탄닌산 분자의 구조가 하기 제공된다.

[0028]



[0029]

[0030]

역사적으로, 탄닌산은 독을 빨아들이기 위한 해독제로서, 및 단기 상태, 예컨대 출혈, 발진 및 다른 근통증 상태를 치료하기 위해 사용되어 왔다.

[0031]

본 개시내용은 탄닌산, 특히 4개 이상의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산이 다양한 질환 및 장애, 예컨대 비만, 고지혈증, 당뇨병 및 CNS 장애에 수반되는 것으로 공지되어 있는 DAAO에 대해 강력한 억제 활성을 나타내었다는 발견을 기초로 한다. 본 연구는 또한 탄닌산이 마우스 모델에서 체중을 성공적으로 감소시키고, 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및 인지 행동을 개선시킨다는 것을 보여주었다. 또한, 탄닌산은 N-메틸-D-아스파르테이트 수용체 (NMDA 수용체)의 길항제인 MK801로 처리된 마우스에 대해 회복 및 보호 효과를 나타내었다. NMDA 수용체는 신경 세포 상에서 발현되는 글루타메이트 수용체 및 이온 채널 단백질이고, 시냅스 가소성, 복구, 신경발달, 학습 및 기억 기능을 제어하는데 있어서 중요한 역할을 한다.

[0032]

따라서, 본 개시내용은 기본 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및 인지 행동의 치료를 필요로 하는 대상체에서 기본 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및 인지 행동을 개선시키고/거나 DAAO와 연관된 질환 및 장애, 예컨대 비만 및 CNS 장애를 치료하기 위한 탄닌산-함유 조성물, 키트 및 그의 사용 방법을 제공한다.

[0033]

I. 탄닌산-함유 조성물 및 이를 함유하는 키트

[0034]

본 개시내용의 한 측면은 1종 이상의 탄닌산 및 담체, 예를 들어, 제약상 허용되는 담체 및/또는 식용 담체를 포함하는 조성물, 예를 들어, 제약 조성물, 건강 식품예컨대 기능식품 조성물, 및 의료 식품에 관한 것이다. 자연 발생 또는 비-자연 발생 (합성)의 것인 이러한 담체는 조성물 중의 탄닌산에 대해 다양한 이익을 부여할 수 있고, 예를 들어, 탄닌산의 시험관내 및/또는 생체내 안정성을 개선시키고/거나, 탄닌산의 생체이용률을 증진시키고/거나, 탄닌산의 생물활성을 증가시키고/거나, 부작용을 감소시킨다. 적합한 담체는 희석제, 충전제, 염, 완충제, 안정화제, 가용화제, 완충제, 보존제 또는 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 예에서, 담체는 벤조에이트 예컨대 벤조산나트륨을 포함할 수 있다.

[0035]

(A) 탄닌산 내용물

[0036]

본원에 기재된 조성물은 1종 이상의 탄닌산 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 용어 "제약상 허용되는 염"은 탄닌산의 상대적으로 비-독성, 무기 또는 유기 염기 부가염을 지칭한다. 이들 염은 투여 비히클 또는 투여 형태 제조 방법에서 계내 제조될 수 있거나, 또는 개별적으로 1종 이상의 탄닌산을 적합한 유기 또는 무기 염기와 반응시키고, 이에 따라 형성된 염을 후속 정제 동안 분리하는 것에 의해 제조될 수 있다. 적합한 무기 염기는 수산화나트륨, 수산화바륨, 수산화철(II), 수산화철(III), 수산화마그네슘, 수산화칼슘, 수산화알루미늄, 수산화암모늄, 수산화칼륨, 수산화세슘 또는 수산화리튬을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 적합한 유기 염기는 피리딘, 메틸 아민, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 히스티딘, 포스포젠 염기, 또는 유기 양이온의 히드록시드 예컨대 4급 암모늄 히드록시드 및 포스포늄 히드록시드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어 문헌 [Berge et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19]을 참조한다.

[0037]

일부 실시양태에서, 본원에 개시된 조성물에 함유된 탄닌산은 다양한 수, 예를 들어, 2-12, 4-12, 4-10, 5-10, 5-12, 6-12, 또는 8-12개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산 또는 그의 제약상 허용되는 염의 혼합물이다. 일부 예에서, 탄닌산의 혼합물은 적어도 4개의 갈로일 모이어티 (예를 들어, 4-12, 4-10, 4-9, 또는 4-7개의 갈로일 모이어티)를 갖는 탄닌산 또는 그의 제약상 허용되는 염을 함유한다. 임의로, 조성물 중의 탄닌산은 3개 이하

의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산이 실질적으로 부재할 수 있다. 본원에 사용된 3개 이하의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산이 "실질적으로 부재"한다는 것은 조성물 중 이러한 탄닌산의 총량이 10 중량% 이하임을 의미한다. 일부 예에서, 본원에 기재된 조성물 중 3개 이하의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 총량은 8%, 5%, 2%, 1% 미만, 또는 그 미만일 수 있다. 일부 예에서, 조성물은 3개 이하의 갈로일 모이어티를 갖는 임의의 탄닌산이 완전히 부재한다.

[0038] 본원에 기재된 조성물 중 임의의 것은 1-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 20% 이하 (예를 들어, 18%, 15%, 12%, 10%, 5% 이하, 또는 그 미만)로 함유할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 조성물은 6-12개의 갈로일 모이어티 또는 8-12개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 50% 이상 (예를 들어, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 그 초과)으로 함유할 수 있다. 하나의 특정한 예에서, 조성물은 1-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 18% 이하 및 6-12개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 60% 이상 함유한다. 또 다른 예에서, 조성물은 1-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 15% 이하 및 6-12개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 70% 이상 함유한다. 또 다른 예에서, 조성물은 1-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 12% 이하 및 6-12개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 80% 이상 함유한다. 대안적으로, 조성물은 1-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 10% 이하 및 6-12개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 90% 이상 함유한다.

[0039] 본원에 개시된 조성물을 제조하는데 사용하기 위한 탄닌산 또는 탄닌산 혼합물은 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 탄닌산의 혼합물은 적어도, 루스 키넨시스, 루스 자바니카, 루스 세미알라타, 루스 코리아리아, 루스 포타니니, 루스 폰자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레호데르 & 이.에이치. 윌슨, 카멜리아 시넨시스, 베리, 빅사 오렐라나, 비티스 비니페라, 푸니카 그라나툼, 퀘르쿠스 인펙토리아, 퀘르쿠스 세리스, 아카시아 메아르시이, 슈도추가 멘지에시이, 카에살피니아 스피노사, 파구스 하야타에 파리브. 엑스 하야타, 또는 마칠루스 튜베르기이 시에브. & 주크.를 포함하나 이에 제한되지는 않는 적합한 식물 공급원으로부터 추출 또는 분리될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원의 조성물에 함유된 탄닌산 또는 탄닌산 혼합물은 루스 키넨시스, 루스 자바니카, 루스 세미알라타, 루스 코리아리아, 루스 포타니니, 또는 루스 폰자벤시스 변종 시니카 (디엘스) 레호데르 & 이.에이치. 윌슨으로부터 추출된다.

[0040] 본원에 기재된 식물 공급원은 안드리쿠스 콜라리, 안드리쿠스 페쿤다트릭스, 안드리쿠스 퀘르쿠스칼리시스, 안드리쿠스 퀘르쿠스칼리시스, 비오리자 팔리다, 네우로테루스 퀘르쿠스박카툼, 네우로테루스 알비페스, 네우로테루스 누미스말리스, 시니프스 퀘르쿠스폴리이, 멜라피스 치넨시스 (벨), 멜라피스 페이탄 차이 에트 탕, 누루데아 시니카 차이 에트 탕, 누루데아 시라이이 마추무라, 누루데아 로세아 마추무라, 메이타나피스 엘롱갈리스 차이 에트 탕, 마크로리나리움 엔시갈리스 차이 에트 탕, 마크로리나리움 오바갈리스 차이 에트 탕, 플로라피스 메이타넨시스 차이 에트 탕, 메이타나피스 플라보갈리스 탕, 카부라기아 루시콜라 타카기, 카부라기아 오바티후 이콜라 시앙, 카부라기아 엔시갈리스 차이 에트 탕, 카부라기아 오보갈리스, 카부라기아 투시콜라 타카기, 메이타나피스 마이크로갈리스 시앙, 및 플로라피스 초우이 시앙을 포함하나 이에 제한되지는 않는 동지형성 곤충을 필요로 할 수 있다.

[0041] 일부 실시양태에서, 탄닌산 또는 탄닌산 혼합물은 적어도 식물 공급원 중 중국 주머니-모양 오배자, 뿔형 오배자, 경질 칼형 오배자, 날-경질 칼형 오배자, 및 화서 오배자를 포함하나 이에 제한되지는 않고, 본원에 기재된 동지형성 곤충을 필요로 하는 오배자로부터 추출된다.

[0042] 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물에 함유된 탄닌산은 실질적으로 동종인 집단이다. 이러한 탄닌산 집단은 규정된 수, 예를 들어, 3 및 12 사이의 임의의 수 (3 및 12 포함)의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 함유할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "실질적으로 동종"은 규정된 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산이 조성물 중 총 탄닌산 내용물의 적어도 85 중량% (예를 들어, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 초과)를 구성한다는 것을 의미한다. 일부 예에서, 실질적으로 동종인 탄닌산 집단은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산을 함유한다. 이러한 실질적으로 동종인 탄닌산 집단은 다양한 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 혼합물 (예를 들어, 본원에 기재된 것)로부터 통상적인 방법, 예를 들어, 크로마토그래피를 통해 분리될 수 있다.

[0043] 탄닌산 추출물은 1종 이상의 정제 절차, 예를 들어, 겔 여과, 분별증류, 분배, 재결정화 및 크로마토그래피 (예를 들어, HPLC) 또는 그의 조합에 적용될 수 있다. 예를 들어, 하기 실시예를 참조한다. 대안적으로, 탄닌산 또는 탄닌산 혼합물은 상용 방법론에 따른 화학적 합성에 의해 제조될 수 있다.

[0044] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 탄닌산 조성물은 다음과 같이 제조될 수 있다. 적합한 식물 공급원, 예를 들어, 본원에 기재된 것으로부터의 오배자는 상용 방법을 통해 수득될 수 있다. 오배자는 분쇄되어

오배자 분말로 형성될 수 있다. 일부 예에서, 오배자 분말은 적합한 크기 (예를 들어, 20-메쉬, 30-메쉬, 40-메쉬, 50-메쉬 또는 60-메쉬)를 갖는 체를 통해 통과되어 미세한 오배자 분말로 형성될 수 있다.

[0045] 이어서, 본원에 기재된 오배자 분말 중 임의의 것으로부터 탄닌산 내용물을 추출하기 위해 적합한 용매가 사용될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "용매"는 1종 이상의 용질을 용해시킬 수 있는 액체를 지칭한다. 용매는 관심 용질을 용해시키는 물질의 순수한 집단을 포함할 수 있다. 대안적으로, 본원에 사용되는 바와 같은 용매는 용질을 용해시키는 다중 물질의 혼합물일 수 있다. 탄닌산을 추출하는데 적합한 용매는 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 펜탄, 헥산, 헵탄 또는 그의 조합을 포함한다. 탄닌산 내용물을 추출하기 위해, 오배자 분말을 적합한 부피의 용매 내로 넣을 수 있다. 이에 따라 형성된 혼합물을 적합한 온도 (예를 들어, 실온)에서 적합한 시간 (예를 들어, 6-18시간, 6-12시간, 12-18시간, 18-24시간) 동안 교반할 수 있다. 이어서 생성된 용액을 여과하고, 상용 실무에 의해 (예를 들어, 진공 증발에 의해) 농축시킬 수 있다.

[0046] 이어서 탄닌산을 함유하는 농축된 조성물을 목탄, CaSO_4 , MgSO_4 , 또는 그의 조합과 혼합하여 바람직하지 않은 물질 (예를 들어, 목탄에 흡수되거나 CaSO_4 및/또는 MgSO_4 에 의해 침전될 수 있는 물질)을 제거할 수 있다. 일부 예에서, 이전 단계로부터 수득된 탄닌산-함유 조성물 중 임의의 것을 먼저 목탄과 적합한 시간 동안 혼합할 수 있다 (예를 들어, 실온에서 1-24시간 동안 교반할 수 있다). 이어서 CaSO_4 및/또는 MgSO_4 를 혼합물에 첨가할 수 있고, 이를 적합한 온도 (예를 들어, 실온) 하에 적합한 시간 (예를 들어, 30분 내지 6시간) 동안 교반할 수 있다. 이어서 혼합물을, 예를 들어 셀라이트(Celite) 층을 통해 여과하고, 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합)로 세척하고, 상용 방법에 의해 농축시켜 탄닌산 조성물을 생산할 수 있다. 다른 예에서, 이전 단계로부터 수득된 탄닌산-함유 조성물 중 임의의 것을 먼저 목탄과 적합한 시간 동안 혼합할 수 있다 (예를 들어, 실온에서 1-24시간, 예를 들어, 6-12시간 또는 12-18시간 동안 교반할 수 있다). 이어서 혼합물로부터 목탄을 제거하여 용액을 형성할 수 있다. 이어서 CaSO_4 및/또는 MgSO_4 를 용액에 첨가할 수 있고, 이를 적합한 온도 (예를 들어, 실온) 하에 적합한 시간 (예를 들어, 30분 내지 6시간, 예를 들어, 30분 내지 2시간 또는 내지 1시간) 동안 교반할 수 있다. 이어서 혼합물을, 예를 들어 셀라이트 층을 통해 여과하고, 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합)로 세척하고, 상용 방법에 의해 농축시켜 탄닌산 조성물을 생산할 수 있다.

[0047] 필요한 경우에, 본원에 기재된 바와 같은 탄닌산 조성물을 제조하는 방법은 2-5개의 갈로일 모이어티 (2-5G)를 갖는 탄닌산을 감소시키거나 제거하는 단계, 6-12개의 갈로일 모이어티 (6-12G)를 갖는 탄닌산을 풍부화하는 단계, 또는 둘 다를 추가로 포함할 수 있다.

[0048] 2-5G를 갖는 탄닌산을 제거하기 위해, 조 탄닌산 조성물을 적합한 용매와 혼합하여 혼합물을 형성할 수 있고, 이를 적합한 온도 (예를 들어, 실온) 하에 적합한 시간 (예를 들어, 6-18시간) 동안 인큐베이션 (예를 들어, 교반)하여 2개의 유기 층이 형성되게 할 수 있다. 5G 미만을 갖는 탄닌산은 상부 층에 용해될 것이다. 5G 초과를 갖는 탄닌산은 보다 유성인 층 (하부 층)에 고체 물질로서 머무를 것이다. 다수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산으로 풍부화된 보다 유성인 층을 수집할 수 있다. 필요한 경우에, 보다 유성인 층을 농축시킬 수 있고, 이에 따라 수득된 고체를 적합한 용매 중에 용해시킬 수 있다. 5G 미만을 갖는 탄닌산을 제거하는데 적합한 용매는 하기 열거된 군 (i) 용매 중 어느 하나 및 군 (ii) 용매 중 어느 하나의 혼합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

[0049] (i) 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 또는 에틸 아세테이트; 및

[0050] (ii) 펜탄, 헥산 또는 헵탄.

[0051] 생성된 용액은 본원에 기재된 바와 같이 바람직하지 않은 물질을 제거하기 위해 목탄, CaSO_4 및/또는 MgSO_4 처리에 적용될 수 있다.

[0052] 다수의 갈로일 모이어티 (예를 들어, 6-12 G)를 갖는 탄닌산을 풍부화하기 위해, 탄닌산-함유 조성물을 먼저 적합한 용매 예컨대 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 또는 에틸 아세테이트 중에 용해시킬 수 있다. 이에 따라 형성된 용액을 교반할 수 있고, CH_2Cl_2 또는 디클로로에탄을 용액에 천천히 적가하여 목적하는 탄닌산이 침전되게 할 수 있다. 이어서 고체를 상용 실무 (예를 들어, 여과 및/또는 건조)에 의해 수집하여 풍부화된 탄닌산 조성물을 생산할 수 있다.

- [0053] 일부 예가 이어지며, 이는 단지 예시적인 것으로, 본 개시내용을 이들 구체적 예로 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0054] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물 공급원의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) 미세한 오배자 분말을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤 (MEK), 에틸 아세테이트 (EtOAc), 에탄올 (EtOH), 이소프로판올 (IPA), 테트라히드로푸란 (THF), 1,4-디옥산, 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 이에 따라 형성된 혼합물을 20 내지 45℃에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) 생성된 용액을 여과하고 농축시켜 고체 잔류물을 형성하는 단계; (v) 고체 잔류물을 용매 (예를 들어, 20%-60% 메틸 에틸 케톤/헥산 또는 30-50% 메틸 에틸 케톤/헥산)와 20 내지 45℃에서 3-24시간 동안 혼합하여 2개의 유기 층을 형성하는 단계; (vi) (v)로부터 보다 유성인 층을 수거하고 농축시키는 단계; (vii) 이에 따라 형성된 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시켜 용액을 형성하는 단계; (viii) (vii)로부터의 용액을 목탄의 존재 하에 1-24시간 동안 교반하는 단계; (ix) (viii)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (x) (ix)로부터의 혼합물로부터 상용 실무를 통해 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (xi) (x)로부터의 여과물을 농축시키는 단계; (xii) (xi)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (xiii) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄올 (xii)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (xiv) (xiii)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.
- [0055] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) (i)로부터의 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) 미세한 오배자 분말을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 생성된 용액을 20 내지 45℃에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) 용액을 여과하는 단계; (v) (iv)로부터의 용액에 적합한 용매 (예를 들어, 펜탄, 헥산, 헵탄, 또는 그의 조합)를 첨가하고, 이를 3-24시간 동안 교반하여 2개의 유기 층을 형성하는 단계; (vi) (v)로부터 보다 유성인 층을 수거하고 농축시키는 단계; (vii) (vi)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (viii) (vii)로부터의 용액을 목탄의 존재 하에 1-24시간 (예를 들어, 6-12시간 또는 12-18시간) 동안 교반하는 단계; (ix) (viii)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (x) (ix)로부터의 혼합물로부터 상용 실무를 통해 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (xi) (x)로부터의 여과물을 농축시키는 단계; (xii) (xi)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (xiii) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄올 (xii)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (xiv) (xiii)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.
- [0056] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) (i)로부터의 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) 미세한 오배자 분말을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 20-45℃에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) (iii)으로부터의 용액을 여과하는 단계; (v) (iv)로부터의 용액에 적합한 용매 (예를 들어, 펜탄, 헥산, 헵탄, 또는 그의 조합)를 첨가하고, 3-24시간 동안 교반하여 2개의 유기 층을 형성하는 단계; (vi) (v)로부터 보다 유성인 층을 수거하는 단계; (vii) (vi)로부터의 보다 유성인 층을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합)로 희석하는 단계; (viii) (vii)로부터의 용액을 목탄의 존재 하에 1-24시간 (예를 들어, 6-12시간 또는 12-18시간) 동안 교반하는 단계; (ix) (viii)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (x) (ix)로부터의 혼합물로부터 상용 실무를 통해 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (xi) (x)로부터의 여과물을 농축시키는 단계; (xii) (xi)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (xiii) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄올 (xii)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (xiv) (xiii)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.
- [0057] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) (i)로부터의 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) 미세한 오배자

분말을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 20-45℃에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) (iii)로부터의 용액을 목탄의 존재 하에 1-24시간 (예를 들어, 6-12시간 또는 12-18시간) 동안 교반하는 단계; (v) (iv)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (vi) (v)로부터의 혼합물로부터 상용 실무를 통해 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (vii) (vi)로부터의 여과물을 농축시키는 단계; (viii) (vii)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (ix) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄올 (viii)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (x) (ix)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.

[0058] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) (i)로부터의 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) 미세한 오배자 분말을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 20-45℃에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) (iii)로부터의 용액을 목탄의 존재 하에 1-24시간 (예를 들어, 6-12시간 또는 12-18시간) 동안 교반하는 단계; (v) (iv)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (vi) (v)로부터의 혼합물로부터 상용 실무를 통해 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (vii) (vi)로부터의 여과물의 부피를 원래 부피의 약 1/10 내지 1/100으로 감소시키는 단계; (ix) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄올 (vii)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (x) (ix)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.

[0059] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) (i)로부터의 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) 미세한 오배자 분말을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 20-45℃에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) (iii)로부터의 용액을 여과하는 단계; (v) (iv)로부터의 여과물을 목탄의 존재 하에 1-24시간 (예를 들어, 6-12시간 또는 12-18시간) 동안 교반하는 단계; (vi) (v)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (vii) (vi)로부터의 혼합물로부터 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (viii) (vii)로부터의 여과물을 상용 실무를 통해 농축시키는 단계; (ix) (viii)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (x) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄올 (ix)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (xi) (x)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.

[0060] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) (i)로부터의 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) (ii)로부터의 미세한 오배자 분말의 용액을 용매 (예를 들어, 50-30% 메틸 에틸 케톤/헥산)에 넣고 이에 따라 형성된 혼합물을 RT에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) (iii)로부터의 용액을 여과하는 단계; (v) (iv)로부터 수집된 고체를 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 20-45℃에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (vi) (v)로부터의 용액을 여과하는 단계; (vii) (vi)로부터의 여과물을 목탄의 존재 하에 1-24시간 동안 교반하는 단계; (viii) (vii)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (ix) (viii)로부터의 혼합물로부터 상용 실무를 통해 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (x) (ix)로부터의 여과물을 농축시키는 단계; (xi) (x)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (xii) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄올 (xi)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (xiii) (xii)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.

[0061] - 하기를 포함하는 방법: (i) 적합한 식물의 오배자를 분쇄하여 조 오배자 분말을 형성하는 단계; (ii) (i)로부터의 조 오배자 분말을 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 형성하는 단계; (iii) (ii)로부터의 미세한 오배자 분말을 용매 (예를 들어, 20-60%, 예를 들어, 30-50%, 메틸 에틸 케톤/헥산)에 넣고 이에 따라 형성된 용액을 RT에서 3-24시간 동안 교반하는 단계; (iv) (iii)로부터의 용액을 여과하는 단계; (v) (iv)로부터 수집된 고체를 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 1,4-디옥산, 또는 그의 조합) 중에 용해시키고, 용액을 20-45℃에서 3-24시간

동안 교반하는 단계; (vi) (v)로부터의 여과물을 목탄의 존재 하에 1-24시간 (예를 들어, 6-12 또는 12-18시간) 동안 교반하는 단계; (vii) (vi)로부터의 혼합물을 CaSO_4 또는 MgSO_4 의 존재 하에 교반하는 단계; (viii) (vi)로부터의 혼합물로부터 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 를 제거하는 단계; (ix) (viii)로부터 여과물의 부피를 원래 부피의 약 1/10 내지 1/100으로 감소시키는 단계; (x) (ix)로부터의 잔류물을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올, 또는 그의 조합) 중에 용해시키는 단계; (xi) 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로에탄을 (x)로부터의 용액에 첨가하는 단계; 및 (xii) (xi)에서 형성된 고체를 수집하고 건조시키는 단계.

[0062] (B) 제약 조성물

[0063] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 1종 이상의 탄닌산 (예를 들어, 탄닌산의 혼합물 또는 본원에 기재된 바와 같은 규정된 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 실질적으로 동종인 집단)을 제약상 허용되는 담체 (부형제)와 혼합하여 제약 조성물을 형성할 수 있고, 이를 본원에 기재된 바와 같은 표적 질환 중 임의의 것을 치료하는데 사용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물 중의 탄닌산 집단은 축합된 탄닌 및/또는 플로로탄닌이 실질적으로 부재한다. "허용되는"은 담체가 조성물의 활성 성분과 상용성이어야 하고 (바람직하게는, 활성 성분을 안정화할 수 있어야 하고), 치료될 대상체에게 유해하지 않아야 한다는 것을 의미한다. 완충제를 포함한 제약상 허용되는 부형제 (담체)는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover]을 참조한다.

[0064] 제약상 허용되는 담체는 희석제, 충전제, 염, 완충제, 안정화제, 가용화제, 및 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 물질을 포함한다. 탄닌산 또는 그의 염에 대해 예시적인 제약상 허용되는 담체는 특히 미국 특허 번호 5,211,657에 기재되어 있다. 이러한 제제는 염, 완충제, 보존제, 상용성 담체, 및 임의로 다른 치료제를 상용적으로 함유한다. 의약에서 사용되는 경우, 염은 제약상 허용되어야 하지만, 비-제약상 허용되는 염이 그의 제약상 허용되는 염을 제조하기 위해 편리하게 사용될 수 있고, 본 발명의 범주로부터 배제되지 않는다. 이러한 약리학상 및 제약상 허용되는 염은 적합한 무기 염기 (예를 들어, 수산화나트륨, 수산화바륨, 수산화철(II), 수산화철(III), 수산화마그네슘, 수산화칼슘, 수산화알루미늄, 수산화암모늄, 수산화칼륨, 수산화세슘 또는 수산화리튬) 또는 적합한 유기 염기 (예를 들어, 피리딘, 메틸 아민, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 히스티딘, 포스포젠 염기, 또는 유기 양이온의 히드록시드 예컨대 4급 암모늄 히드록시드 및 포스포늄 히드록시드)로부터 제조된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 제약상 허용되는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토류 염, 예컨대 리튬, 나트륨, 칼륨 또는 칼슘 염으로서 제조될 수 있다.

[0065] 본원에 기재된 바와 같은 탄닌산-함유 제약 조성물은 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제를 동결건조 제제 또는 수용액 형태로 포함할 수 있다. 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover]. 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정화제는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 벤조에이트, 소르베이트 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 세린, 알라닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트란을 포함한 다른 탄수화물; 킬레이트화제 예컨대 EDTA; 당 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 카운터-이온 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어 Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제 예컨대 트윈(TWEEN)TM, 플루로닉스(PLURONICS)TM 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함할 수 있다.

[0066] 다른 예에서, 본원에 기재된 제약 조성물은 지속-방출 포맷으로 제제화될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 탄닌산을 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 히드로겔 (예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산 및 7 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예컨대 루프론 데포(LUPRON DEPOT)TM (락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사가능한 마이크로구체), 수크로스 아세테이트 이소부티레이트, 및 폴리-D-(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다.

- [0067] 생체내 투여에 사용될 제약 조성물은 멸균이어야 한다. 이는, 예를 들어, 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다. 치료 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어 피하 주사 바늘에 의해 뚫릴 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알 내에 담긴다.
- [0068] 본원에 기재된 제약 조성물은 경구, 비경구 또는 직장 투여, 또는 흡입 또는 취입, 또는 척수강내 또는 뇌내 경로에 의한 투여를 위한 단위 투여 형태 예컨대 정제, 환제, 캡슐, 분말, 과립, 용액 또는 현탁액, 또는 좌약으로 존재할 수 있다.
- [0069] 정제와 같은 고체 조성물의 제조를 위해, 주요 활성 성분을 제약 담체, 예를 들어 통상적인 정제화 성분, 예컨대 옥수수 전분, 락토스, 수크로스, 소르비톨, 활석, 스테아르산, 스테아르산마그네슘, 인산이칼슘 또는 겔, 및 다른 제약 희석제, 예를 들어, 물과 혼합하여, 본 발명의 화합물 또는 그의 비독성 제약상 허용되는 염의 균질 혼합물을 함유하는 고체 예비제제 조성물을 형성할 수 있다. 이러한 예비제제 조성물을 균질한 것으로 지칭하는 경우, 이는 조성물이 균등하게 유효 단위 투여 형태 예컨대 정제, 환제 및 캡슐로 용이하게 세분될 수 있도록 활성 성분이 조성물 전반에 걸쳐 균일하게 분산되어 있는 것을 의미한다. 이어서, 이러한 고체 예비제제 조성물을, 본 발명의 활성 성분을 0.1 내지 약 500 mg 함유하는 상기 기재된 유형의 단위 투여 형태로 세분한다. 신규 조성물의 정제 또는 환제를 코팅하거나 또는 달리 배합하여 지속 작용의 장점을 제공하는 투여 형태를 제공할 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 환제는 내부 투여 및 외부 투여 성분을 포함할 수 있고, 후자는 전자 위의 외피 형태로 존재한다. 2개의 성분은 위에서의 봉해를 막는 역할을 하고 내부 성분이 무손상 상태로 십이지장 내를 통과하도록 또는 그의 방출이 지연되도록 하는 장용 층에 의해 분리될 수 있다. 다양한 물질이 이러한 장용 층 또는 코팅에 사용될 수 있고, 이러한 물질은 다수의 중합체 산, 및 중합체 산과 셀락, 세틸 알콜 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 물질의 혼합물을 포함한다.
- [0070] 적합한 표면-활성제는, 특히 비-이온성 작용제, 예컨대 폴리옥시에틸렌소르비탄 (예를 들어, 트윈™ 20, 40, 60, 80 또는 85) 및 다른 소르비탄 (예를 들어, 스팬(Span)™ 20, 40, 60, 80 또는 85)을 포함한다. 표면-활성제를 갖는 조성물은 편리하게는 0.05 내지 5%의 표면-활성제를 포함할 것이고, 이는 0.1 내지 2.5%일 수 있다. 필요하다면, 다른 성분, 예를 들어 만니톨 또는 다른 제약상 허용되는 비히클이 첨가될 수 있다는 것이 인지될 것이다.
- [0071] 적합한 에멀전은 상업적으로 입수가 가능한 지방 에멀전, 예컨대 인트라립이드(Intralipid)™, 리포신(Liposyn)™, 인포뉴트롤(Infonutrol)™, 리포펀딘(Lipofundin)™ 및 리피피산(Lipiphysan)™을 사용하여 제조될 수 있다. 활성 성분은 사전-혼합된 에멀전 조성물 중에 용해될 수 있거나, 또는 대안적으로 오일 (예를 들어, 대두 오일, 홍화 오일, 목화씨 오일, 참깨 오일, 옥수수 오일 또는 아몬드 오일) 및 인지질 (예를 들어, 난 인지질, 대두 인지질 또는 대두 레시틴)과의 혼합 시 형성되는 에멀전 및 물 중에 용해될 수 있다. 에멀전의 장성을 조정하기 위해 다른 성분, 예를 들어 글리세롤 또는 글루코스가 첨가될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 적합한 에멀션은 전형적으로 최대 20% 오일, 예를 들어, 5 내지 20%를 함유할 것이다.
- [0072] 흡입 또는 취입을 위한 제약 조성물은 제약상 허용되는 수성 또는 유기 용매, 또는 그의 혼합물 중의 용액 및 현탁액, 및 분말을 포함한다. 액체 또는 고체 조성물은 상기 제시된 바와 같은 적합한 제약상 허용되는 부형제를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 국부 또는 전신 효과를 위해 경구 또는 비강 호흡 경로에 의해 투여된다.
- [0073] 바람직하게는 멸균 제약상 허용되는 용매 중의 조성물은 기체의 사용에 의해 연무화될 수 있다. 연무화된 용액은 연무화 장치로부터 직접 호흡될 수 있거나, 또는 연무화 장치는 페이스 마스크, 텐트 또는 간헐적 양압 호흡 기계에 부착될 수 있다. 제제를 적절한 방식으로 전달하는 장치로부터, 바람직하게는 경구로 또는 비강으로, 용액, 현탁액 또는 분말 조성물이 투여될 수 있다.
- [0074] 일부 실시양태에서, 탄닌산-함유 제약 조성물 중 임의의 것은 조성물의 의도되는 치료 용도에 기초하여 제2 치료제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0075] 일부 예에서, 제2 치료제는 오를리스타트, 로르카세린, 시부트라민, 리모나반트, 메트포르민, 액세나티드, 프람린티드, 펜테르민, 펜플루라민, 텍스펜플루라민 토피라메이트, 디니트로페놀, 부프로피온 및 조니사미드를 포함하나 이에 제한되지는 않는 항비만제이다.
- [0076] 다른 예에서, 제2 치료제는 CNS 질환/장애를 치료하기 위한 작용제이다. 이러한 치료제는 항정신병 약물일 수 있다. 예시적인 항정신병 약물은 부티로페논 (예를 들어, 할로페리돌 (할돌(HALDOL)™), 페노티아진 (예를 들어, 클로르프로마진 (토라진(THORAZINE)™), 플루페나진 (프로릭신(PROLIXIN)™), 페르페나진 (트릴라폰

(TRILAFON)TM), 프로클로르페라진 (콤파진(COMPAZINE)TM), 티오리다진 (멜라릴(MELLARIL)TM), 트리플루오페라진 (스텔라진(STELAZINE)TM), 메소리다진, 프로마진, 트리플루프로마진 (베스프린(VESPRIN)TM), 레보메프로마진 (노지난(NOZINAN)TM), 프로메타진 (페네르간(PHENERGAN)TM), 티오크산텐 (예를 들어, 클로르프로티센, 플루펜티솔 (데픽솔(DEPIXOL)TM, 플루안솔(FLUANXOL)TM), 티오텍센 (나반(NAVANE)TM), 주클로펜티솔 (클로픽솔(CLOPIXOL)TM, 아쿠파제(ACUPHASE)TM), 클로자핀 (클로자릴(CLOZARIL)TM), 올란자핀 (지프렉사(ZYPREXA)TM), 리스페리돈 (리스페르달(RISPERDAL)TM, 리스페르달 콘스타(RISPERDAL CONSTA)TM), 퀘티아핀 (세로쿠엘(SEROQUEL)TM), 지프라시돈 (게오돈(GEODON)TM), 아미술프리드 (솔리안(SOLIAN)TM), 아세나핀, 팔리페리돈 (인베가(INVEGA)[®]), 아리피프라졸 (아빌리파이(ABILIFY)TM), 도파민 부분 효능제 (비페프루녹스(BIFEPRUNOX)TM, 노르클로자핀(NORCLOZAPINE)TM (ACP-104)), 라모트리진 (라미탈(LAMICTAL)TM), 테트라베나진 (니토만(NITOMAN)TM, 제나진(XENAZINE)TM), 칸나비디올, LY2140023 등)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0077] 대안적으로, 제2 치료제는 항우울제 및/또는 기분 안정제일 수 있다. 특정 실시양태에서 항우울제는 모노아민 옥시다제 억제제 (MAOI), 삼환계 항우울제 (TCA), 테트라시클릭 항우울제 (TeCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제 (SSRI), 노르아드레날린성 및 특이적 세로토닌성 항우울제 (NASSA), 노르에피네프린 (노르아드레날린) 재흡수 억제제, 노르에피네프린-도파민 재흡수 억제제 및/또는 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 억제제 (SNRI)를 포함한다. 예시적인 SSRI는 플루옥세틴 (프로작(PROZAC)TM), 파록세틴 (팍실(PAXIL)TM, 세록사트(SEROXAT)TM), 에스시탈로프람 (렉사프로(LEXAPRO)TM, 에시프람(ESIPRAM)TM), 시탈로프람 (셀렉사(CELEXA)TM), 세르트랄린 (졸로프트(ZOLOFT)TM), 플루복사민 (루복스(LUVOX)TM))을 포함한다. 예시적인 SNRI는 벤라팍신 (에펙소르(EFFEXOR)TM), 밀라시프란 및 둘록세틴 (심발타(CYMBALTA)TM)를 포함한다. 추가의 항우울제는 노르아드레날린성 및 특이적 세로토닌성 항우울제 (NASSA) (예를 들어, 미르타자핀 (아반자(AVANZA)TM, 지스핀(ZISPIN)TM, 레메론(REMERON)TM), 또는 미안세린, 노르에피네프린 (노르아드레날린) 재흡수 억제제 (NRI) (예를 들어, 레복세틴 (에드로낙스(EDRONAX)TM)), 노르에피네프린-도파민 재흡수 억제제 (예를 들어, 부프로피온 (웰부트린(WELLBUTRIN)TM, 지반(ZYBAN)TM)), 아미트립틸린, 노르트립틸린, 프로트립틸린, 데시프라민, 이미프라민, 트리미프라민, 아목사핀, 부프로피온, 부프로피온 SR, 클로미프라민, 독세핀, 이소카르복스아지드, 벤라팍신 XR, 트라닐시프로민, 트라조돈, 네파조돈, 페넨진, 라모트리진, 리튬, 토피라메이트, 가바펜틴, 카르바마제핀, 옥스카르바제핀, 발프로에이트, 마프로틸린, 미르타자핀, 브로파로민, 게피론, 모클로베미드, 이소니아지드, 이프로니아지드 등을 포함한다.

[0078] 다른 예에서, 제2 치료제는 ADD 및/또는 ADHD의 치료를 위한 작용제일 수 있다. 적합한 ADHD 의약은 암페타민, 모다피닐, 데속신, 메탐페타민, 코카인, 아레콜린, 텍스메틸페니데이트 (포칼린, 포칼린 XR), 텍스트로암페타민 (텍세드린, 텍세드린 스파슬, 텍스트로암페타민 ER, 텍스트로스타트), 메틸페니데이트 (콘서트타, 데이트라나, 메타데이트 CD, 메타데이트 ER, 메틸린, 메틸린 ER, 리탈린, 리탈린-LA, 리탈린-SR), 리스텍삼페타민 디메실레이트 (비반세(Vyvanse)), 혼합된 염 암페타민 (아데랄(Adderall), 아데랄 XR), 아토목세틴 (스트라테라(Strattera)), 클로니딘 히드로클로라이드 (카타프레스(Catapres)), 구안파신 히드로클로라이드 (테넥스(Tenex)), 아레콜린, 및 페몰린을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0079] 또한, 제2 치료제는 인지 장애 및/또는 신경변성 (예를 들어, 알츠하이머병, 또는 파킨슨병)을 특징으로 하는 상태를 치료하는데 사용하기 위한 작용제일 수 있다. 이러한 치료제는 타크린, 리바스티그민, 메만틴 (악수라(AXURA)TM, 아카티놀(AKATINOL)TM, 나멘다(NAMENDA)TM, 에빅사(EBIXA)TM, 아빅사(ABIXA)TM), 도네페질 (아리셉트(Aricept)TM), 피소스티그민, 니코틴, 아레콜린, 후페르진 알파, 셀레길린, 릴루텍(rilutek)TM (릴루졸), 비타민 c, 비타민 e, 카로티노이드, 징코 빌로바 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0080] (C) 건강 식제품

[0081] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 탄닌산-함유 조성물은 인간 및 동물에게 영양을 공급하거나, 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및/또는 인지 기능을 개선시키거나, 또는 본원에 기재된 표적 질환 (예를 들어, 본원에 기재된 것을 포함한 비만 또는 CNS 장애) 중 임의의 것의 치료를 용이하게 하는데 사용되는 임의의 유형의 액체 및 고체/반-고체 물질일 수 있는 건강 식제품일 수 있다. 건강 식제품은 식제품 (예를 들어, 차-기반 음료, 주스, 청량 음료, 커피, 우유, 젤리, 쿠키, 시리얼, 초콜릿, 스낵 바, 허브 추출물, 유제품 (예를 들어, 아이스크림 및 요구르트)), 식품/식이요법 보충제, 또는 기능식품 제제일 수 있다.

[0082] 1종 이상의 탄닌산 (예를 들어, 본원에 기재된 탄닌산 혼합물 또는 또한 본원에 기재된 바와 같은 규정된 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 실질적으로 동종인 집단)을 함유하는 본원에 기재된 건강 식제품은 본원에 기

재된 바와 같은 제품 중의 탄닌산에 대해 1종 이상의 이익을 부여하는 1종 이상의 식용 담체를 포함할 수 있다. 식용 담체의 예는 전분, 시클로덱스트린, 말토덱스트린, 메틸셀룰로스, 카르보메톡시 셀룰로스, 크산탄 검, 및 그의 수용액을 포함한다. 다른 예는, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지될 바와 같이, 용매, 분산 매질, 코팅, 계면활성제, 향산화제, 보존제 (예를 들어, 항박테리아제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 안정화제, 겔, 결합제, 부형제, 봉해제, 윤활제, 감미제, 향미제, 염료, 이와 유사한 물질 및 그의 조합을 포함한다. 일부 예에서, 본원에 기재된 건강 식제품은 추가로 신경보호 식품, 예컨대 어유, 아마씨 오일 및/또는 벤조에이트를 포함할 수 있다.

[0083] 일부 예에서, 건강 식제품은 식품 공급원으로부터의 성분을 함유하고 식품에서 발견되는 기본 영양가에 더하여 추가의 건강 이익을 부여하는 조성물을 지칭하는 기능식품 조성물이다. 본원에 기재된 바와 같은 기능식품 조성물은 본원에 기재된 탄닌산 내용물 (예를 들어, 탄닌산 혼합물 또는 본원에 기재된 바와 같은 실질적으로 동종인 탄닌산 집단), 및 양호한 건강을 촉진하고/거나 탄닌산의 안정성 및 생물활성을 증진시키는 추가의 성분 및 보충제를 포함한다.

[0084] 기능식품 조성물의 작용은 신속 또는/및 단기일 수 있거나, 또는 본원에 기재된 바와 같은 장기 건강 목적을 달성하는 것을 도울 수 있고, 예를 들어, CNS 장애와 같은 DAAO와 연관된 질환을 갖거나 그러한 질환의 위험이 있는 인간 대상체 또는 비만을 갖거나 비만의 위험이 있는 인간 대상체에서, 예를 들어 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각운동 게이팅, 통증 억제, 기억 및/또는 인지 기능을 개선시킬 수 있다. 기능식품 조성물은 식용 물질에, 예를 들어 식이성 보충제 또는 제약 제제로서 함유될 수 있다. 식이성 보충제로서, 추가의 영양소, 예컨대 비타민, 미네랄 또는 아미노산이 포함될 수 있다. 조성물은 또한 음료 또는 식제품, 예를 들어, 차, 청량 음료, 주스, 우유, 커피, 쿠키, 시리얼, 초콜릿 및 스낵 바일 수 있다. 원하는 경우에, 조성물은 감미제 예컨대 소르비톨, 말티톨, 수소화된 글루코스 시럽 및 수소화된 전분 가수분해물, 고과당 옥수수 시럽, 사탕수수당, 사탕무 당, 펙틴 또는 수크랄로스를 첨가하는 것에 의해 달게 될 수 있다.

[0085] 본원에 개시된 기능식품 조성물은 용액 형태로 존재할 수 있다. 예를 들어, 기능식품 제제는 매질, 예컨대 완충제, 용매, 희석제, 불활성 담체, 오일, 또는 크림 중에서 제공될 수 있다. 일부 예에서, 제제는 비-수성 공-용매, 예컨대 알코올 임의로 함유하는 수용액 중에 존재한다. 기능식품 조성물은 또한 분말, 페이스트, 젤리, 캡슐 또는 정제 형태로 존재할 수 있다. 락토스 및 옥수수 전분은 통상적으로 캡슐용 희석제 및 정제용 담체로서 사용된다. 정제를 형성하기 위해 전형적으로 윤활제, 예컨대 스테아르산마그네슘이 첨가된다.

[0086] 건강 식제품은 적합한 투여 경로, 예를 들어, 경구 투여를 위해 제제화될 수 있다. 경구 투여를 위해, 조성물은 예를 들어 정제 또는 캡슐의 형태를 취할 수 있고, 이는 허용되는 부형제 예컨대 결합제 (예를 들어, 예비젤라틴화 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 히드록시프로필 메틸셀룰로스); 충전제 (예를 들어, 락토스, 미세 결정질 셀룰로스 또는 인산수소칼슘); 윤활제 (예를 들어, 스테아르산마그네슘, 활석 또는 실리카); 봉해제 (예를 들어, 감자 전분 또는 소듐 스타치 글리콜레이트); 또는 습윤제 (예를 들어, 소듐 라우릴 술페이트)를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조된다. 정제는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 코팅될 수 있다. 또한, 바 및 다른 저작성 제제가 또한 포함된다.

[0087] 일부 예에서, 건강 식제품은 액체 형태로 존재할 수 있고, 1종 이상의 식용 담체는 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜), 지질 (예를 들어, 트리글리세리드, 식물성 오일, 리포솜) 또는 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅, 예컨대 레시틴의 사용에 의해; 담체 예컨대 예를 들어 액체 폴리올 또는 지질 중 분산에 의해 요구되는 입자 크기의 유지에 의해; 계면활성제 예컨대 예를 들어 히드록시프로필셀룰로스의 사용에 의해; 또는 그의 조합에 의해 유지될 수 있다. 다수의 경우에서, 등장화제, 예컨대 예를 들어, 당, 염화나트륨 또는 그의 조합을 포함하는 것이 권고될 수 있을 것이다.

[0088] 경구 투여를 위한 액체 제제는 예를 들어 용액, 시럽 또는 현탁액의 형태를 취할 수 있거나, 또는 이는 사용 전에 물 또는 다른 적합한 비히클에 의한 구성을 위한 건조 생성물로서 제공될 수 있다. 한 실시양태에서, 액체 제제는 과일 주스에 의한 투여를 위해 제제화될 수 있다. 이러한 액체 제제는 제약상 허용되는 첨가제 예컨대 현탁화제 (예를 들어, 소르비톨 시럽, 셀룰로스 유도체 또는 수소화된 식용 지방); 유화제 (예를 들어, 레시틴 또는 아카시아); 비-수성 비히클 (예를 들어, 아몬드 오일, 유성 에스테르, 에틸 알코올 또는 분별화 식물성 오일); 및 보존제 (예를 들어, 메틸 또는 프로필-p-히드록시벤조에이트, 벤조에이트 또는 소르베이트)를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조될 수 있다.

[0089] 본원에 기재된 건강 식제품은 추가로, 본원에 기재된 것을 포함한 1종 이상의 제2 치료제를 포함할 수 있다.

[0090] (D) 의료 식제품

[0091] 본 개시내용은 또한 의료 식제품 조성물, 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및/또는 인지 기능을 개선시키고/거나 본원에 기재된 바와 같은 표적 질환 (예를 들어, 비만 또는 CNS 장애)을 치료하는데 있어서의 용도를 제공한다. 의료 식제품은 소모 또는 경장으로의 투여를 위해 제제화된 식제품이다. 이러한 식제품은 통상적으로 본원에 기재된 것과 같은 표적 질환의 특정 식이 관리를 위해 의사의 감독 하에 사용된다. 일부 경우에, 이러한 의료 식품 조성물은 치료를 필요로 하는 환자 (예를 들어, 질병을 앓고 있거나 또는 특정 식이 관리를 통해 질환 또는 상태를 완화시키기 위해 주요 활성제로서 제품의 사용을 필요로 하는 인간 환자)를 위해 특별히 제제화되고 가공된다 (천연 상태로 사용되는 자연 발생 식품과 대조적). 일부 예에서, 본원에 기재된 의료 식품 조성물은 단순히 증상을 관리하거나 질환 또는 상태의 위험을 감소시키기 위해 전체 식이의 일부로서 의사에 의해 권고될 것들 중 하나는 아니다.

[0092] 1종 이상의 탄닌산 분자 또는 그의 염 및 적어도 1종의 담체 (예를 들어, 본원에 기재된 것)를 포함하는 본원에 기재된 의료 식품 조성물 중 임의의 것은 하기 상술된 바와 같은 액체 용액; 분말, 바, 웨이퍼, 적절한 액체 또는 적합한 에멀전 중의 현탁액의 형태로 존재할 수 있다. 자연-발생 또는 합성 (비-자연 발생)일 수 있는 적어도 1종의 담체는 조성물 중의 탄닌산 내용물에 대해 1종 이상의 이익, 예를 들어, 안정성, 생체이용률 및/또는 생물활성을 부여할 것이다. 본원에 기재된 담체 중 임의의 것은 의료 식품 조성물을 제조하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 의료 식품 조성물은 천연 향미제, 인공 향미제, 주요 미량 미네랄 및 초-미량 미네랄, 미네랄, 비타민, 귀리, 너트, 향신료, 우유, 계란, 염, 밀가루, 레시틴, 크산탄 검 및/또는 감미제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 군으로부터 선택된 1종 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 의료 식품 조성물은 적합한 용기 내에 담길 수 있고, 이는 적어도 추가의 치료제 예컨대 본원에 기재된 것을 추가로 포함할 수 있다.

[0093] (E) 키트

[0094] 본 개시내용은 또한 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및/또는 인지 기능을 개선시키고/거나 본원에 기재된 바와 같은 표적 질환 (예를 들어, 비만 또는 CNS 장애)을 치료하는데 사용하기 위한 키트를 제공한다. 이러한 키트는 본원에 기재된 바와 같은 탄닌산-함유 조성물 및 임의로, 또한 본원에 기재된 바와 같은 제2 치료제 중 1종 이상을 포함하는 1개 이상의 용기를 포함할 수 있다.

[0095] 일부 실시양태에서, 키트는 본원에 기재된 방법 중 임의의 것에 따른 사용에 대한 지침서를 포함할 수 있다. 포함되는 지침서는, 예를 들어 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및/또는 인지 기능을 개선시키기 위해, 또는 본원에 기재된 바와 같은 표적 질환을 치료하기 위해 탄닌산-함유 조성물의 투여에 대한 설명 및 임의로 제2 치료제(들)의 투여에 대한 설명을 포함할 수 있다. 키트는 개체가 질환을 갖는지 또는 질환에 대한 위험이 있는지 여부를 확인하는 것에 기초하여 치료에 적합한 그러한 개체를 선택하는 설명을 추가로 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 지침서는 질환의 위험이 있는 개체 또는 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억 및/또는 인지 기능의 개선을 필요로 하는 개체에게 개시내용의 1종 이상의 작용제를 투여하는 것에 대한 설명을 포함한다.

[0096] 의도되는 치료 효과를 달성하기 위해 탄닌산-함유 조성물을 사용하는 것에 관한 지침서는 일반적으로 의도되는 치료를 위한 투여량, 투여 스케줄, 및 투여 경로에 대한 정보를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (예를 들어, 다중-용량 패키지) 또는 단위 용량 미만일 수 있다. 본 발명의 키트에서 공급되는 지침서는 전형적으로 라벨 또는 패키지 삽입물 (예를 들어, 키트에 포함된 종이 시트) 상의 서면 지침서이지만, 기계-판독가능한 지침서 (예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크 상에 운반되는 지침서)가 또한 허용된다.

[0097] 라벨 또는 패키지 삽입물은 조성물이 의도되는 치료 유용성을 위해 사용된다는 것을 나타낼 수 있다. 지침서는 본원에 기재된 방법 중 임의의 것을 실시하기 위해 제공될 수 있다.

[0098] 본 발명의 키트는 적합한 포장 내에 있다. 적합한 포장은 바이알, 병, 단지, 가요성 포장 (예를 들어, 밀봉된 마일라(Mylar) 또는 플라스틱 백) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 또한 특정 장치, 예컨대 흡입기, 비강 투여 장치 (예를 들어, 아토마이저) 또는 주입 장치 예컨대 미니펌프와 조합하여 사용하기 위한 패키지가 고려된다. 키트는 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 뚫릴 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 용기도 또한 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 뚫릴 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음).

[0099] 키트는 임의로 추가의 성분 예컨대 완충제 및 설명 정보를 제공할 수 있다. 통상적으로, 키트는 용기, 및 용기

상에 있거나 용기와 회합된 라벨 또는 패키지 삽입물(들)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 상기 기재된 키트의 내용물을 포함하는 제조 물품을 제공한다.

[0100] II. 탄닌산-함유 조성물의 적용

[0101] 본원에 기재된 탄닌산-함유 조성물 중 임의의 것은 치료를 필요로 하는 대상체에서 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억, 및/또는 인지 기능을 개선시키는데 사용될 수 있다. 이러한 조성물은 또한 DAAO와 연관된 질환 또는 장애 예컨대 중추 신경 장애 (예를 들어, 본원에 기재된 것)를 치료하는데 사용될 수 있다. 조성물은 또한 비만을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0102] 본원에 사용된 용어 "치료하는"은 예를 들어 표적 질환 또는 장애, 질환/장애의 증상, 또는 질환/장애의 소인을 갖는, 치료를 필요로 하는 대상체에게 장애, 질환의 증상, 또는 질환 또는 장애에 대한 소인을 치유하거나, 낮게 하거나, 완화시키거나, 경감시키거나, 변경시키거나, 해소하거나, 호전시키거나, 개선시키거나, 또는 그에 영향을 미칠 목적으로 1종 이상의 활성제를 포함하는 조성물을 적용 또는 투여하는 것을 지칭한다.

[0103] 표적 질환/장애를 완화시키는 것은 질환의 발생 또는 진행을 지연시키는 것 또는 질환 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 질환을 완화시키는 것은 치유적 결과를 반드시 필요로 하지 않는다. 본원에 사용된 표적 질환 또는 장애의 발생을 "지연시키는 것"은 질환의 진행을 미루고/거나, 지체시키고/거나, 느리게 하고/거나, 저지하고/거나, 안정화시키고/거나, 연기시키는 것을 의미한다. 이러한 지연은 치료되는 질환 및/또는 개체의 이력에 따라 시간 길이가 다양할 수 있다. 질환 발생을 "지연" 또는 완화시키거나, 또는 질환의 발병을 지연시키는 방법은 이러한 방법을 사용하지 않은 경우와 비교하여 주어진 시간 프레임에서 질환의 1종 이상의 증상이 발생할 가능성을 감소시키고/거나 주어진 시간 프레임에서 증상의 정도를 감소시키는 방법이다. 이러한 비교는 전형적으로, 통계적으로 유의한 결과를 제공하는데 충분한 다수의 대상체를 사용한 임상 연구에 기초한다.

[0104] 질환의 "발생" 또는 "진행"은 질환의 초기 징후 및/또는 그 후의 진행을 의미한다. 질환의 발생은 관련 기술분야에 널리 공지된 표준 임상 기술을 사용하여 검출가능할 수 있고 평가될 수 있다. 그러나, 발생은 또한 검출 불가능할 수 있는 진행을 지칭한다. 본 개시내용의 목적상, 발생 또는 진행은 증상의 생물학적 과정을 지칭한다. "발생"은 출현, 재발, 및 발병을 포함한다. 본원에 사용된 표적 질환 또는 장애의 "발병" 또는 "출현"은 초기 발병 및/또는 재발을 포함한다.

[0105] 본원에 기재된 의도되는 치료 효과 중 임의의 것을 달성하기 위해, 유효량의 탄닌산-함유 조성물을 치료를 필요로 하는 대상체에게 적합한 경로를 통해 투여할 수 있다.

[0106] 용어 "대상체", "개체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 치료에 대해 평가되고/되거나 치료되는 포유동물을 지칭한다. 대상체는 인간일 수 있지만, 또한 다른 포유동물, 특히 인간 질환에 대한 실험실 모델로서 유용한 포유동물, 예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 개 등을 포함한다.

[0107] 치료를 필요로 하는 인간 대상체는 표적 질환/장애, 예컨대 CNS 장애, 비만, 당뇨병, 또는 고지혈증을 갖거나, 그에 대한 위험이 있거나, 또는 그를 갖는 것으로 의심되는 인간 환자일 수 있다. 표적 질환 또는 장애를 갖는 대상체는 상용 의학적 검사, 예를 들어, 실험실 시험, 기관 기능 시험 및/또는 행동 시험에 의해 확인될 수 있다. 이러한 표적 질환/장애 중 임의의 것을 갖는 것으로 의심되는 대상체는 질환/장애의 1종 이상의 증상을 나타낼 수 있다. 질환/장애에 대한 위험이 있는 대상체는 그러한 질환/장애에 대한 위험 인자 중 1종 이상, 예를 들어, 유전 인자를 갖는 대상체일 수 있다. 일부 경우에, 인간 대상체는 소아와 연관된 CNS 장애, 예를 들어, 주의력 결핍/과잉행동 장애 (ADHD), 자폐증, 아스퍼거 장애, 강박 장애, 우울증, 정신병, 만성 통증 및 학습 장애를 갖거나, 그를 갖는 것으로 의심되거나, 또는 그에 대한 위험이 있는 소아이다.

[0108] 본원에 기재된 방법 및 조성물은 CNS 장애를 치료하는데 사용될 수 있다. 본원에 기재된 방법 및 조성물에 의해 치료될 수 있는 예시적인 CNS 장애는 주의력 결핍/과잉행동 장애 (ADHD), 정신분열증, 통증, 우울증, 자살 관념 및/또는 행동, 양극성 장애, 틱 장애, 외상후 스트레스 장애, 불안, 사회 불안 장애, 공황 장애, 자폐증, 아스퍼거 장애, 강박 장애, 학습 장애, 투렛 증후군, 경도 인지 장애, 치매, 혈관성 치매, 신경변성 장애 (예를 들어, 알츠하이머병 또는 파킨슨병, 전두측두엽 치매, 헌팅턴병), 야간 야뇨증, 안검연축, 비-간질성 발작, 정신병, 조증, 뇌 말라리아 및 치매의 행동 및 심리 증상 (BPSD)을 포함한다.

[0109] 본원에 사용된 "유효량"은 단독으로 또는 1종 이상의 다른 활성제, 예컨대 본원에 기재된 제2 치료제 중 1종 이상과 조합되어 대상체에 대해 치료 효과를 부여하는데 요구되는, 각각의 활성제 (예를 들어, 탄닌산 혼합물 또는 본원에 기재된 바와 같은 탄닌산의 실질적으로 동종인 집단)의 양을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 치료 효과는 대상체에서 DAAO의 활성을 (예를 들어, 적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 그

초과만큼) 억제하는 것이다. 일부 실시양태에서, 치료 효과는 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각 운동 게이팅, 통증 역치, 기억의 개선, 및/또는 인지 기능의 개선이다. 일부 실시양태에서, 치료 효과는 본원에 기재된 CNS 장애 중 임의의 것과 연관된 1종 이상의 증상을 완화시키는 것이다. 대안적으로 또는 추가로, 치료 효과는 대상체의 체중을 유지 또는 감소시키는 것이다.

[0110] 본원에 기재된 바와 같은 조성물의 양이 치료 효과를 달성하였는지 여부를 결정하는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명할 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인식되는 바와 같이, 유효량은 치료될 특정한 상태, 상태의 중증도, 연령, 신체 상태, 체격, 성별 및 체중을 포함한 개별 환자 파라미터, 치료의 지속 시간, 공동 요법의 속성 (존재하는 경우), 특정 투여 경로, 유전 인자 및 건강 진료의 지식 및 경험 내의 기타 인자에 따라 달라진다. 이들 인자는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고, 단지 상용 실험을 사용하여 다루어질 수 있다. 개별 성분 또는 그의 조합의 최대 용량, 즉 타당한 의학적 판단에 따른 가장 높은 안전 용량이 사용되는 것이 일반적으로 바람직하다.

[0111] 실험적 고려사항, 예컨대 반감기가 일반적으로 투여량의 결정에 기여할 것이다. 투여 빈도는 요법 과정에 따라 결정 및 조정될 수 있고, 반드시 그러한 것은 아니지만 일반적으로 표적 질환/장애의 치료 및/또는 억제 및/또는 완화 및/또는 지연을 기초로 한다. 대안적으로, 본원에 기재된 바와 같은 조성물의 지속적인 연속 방출 제제가 적절할 수 있다. 지속 방출을 달성하기 위한 다양한 제제 및 장치가 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0112] 일반적으로, 조성물 중 임의의 것의 투여의 경우에, 예시적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 0.1 μ g/kg 내지 3 μ g/kg 내지 30 μ g/kg 내지 300 μ g/kg 내지 3 mg/kg, 내지 30 mg/kg 내지 100 mg/kg 또는 그 초과 중 임의의 것의 범위일 수 있다. 수일 또는 그 초과에 걸친 반복 투여의 경우에, 상태에 따라, 치료는 증상의 목적하는 억제가 발생할 때까지 또는 충분한 치료 수준이 달성되어 표적 질환 또는 장애, 또는 그의 증상이 완화될 때까지 지속된다. 예시적인 투여 요법은 1종 이상의 초기 용량을 적합한 간격으로 적합한 기간에 걸쳐 투여하는 것을 포함한다. 필요하다면, 다중 유지 용량이 대상체에게 적합한 간격으로 적합한 기간에 걸쳐 주어질 수 있다. 그러나, 진료가 달성하고자 하는 약동학적 붕괴 패턴에 따라 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 예를 들어, 1일 또는 1주 1 내지 4회 투여가 고려된다. 일부 실시양태에서, 약 3 μ g/mg 내지 약 2 mg/kg 범위 (예컨대 약 3 μ g/mg, 약 10 μ g/mg, 약 30 μ g/mg, 약 100 μ g/mg, 약 300 μ g/mg, 약 1 mg/kg, 및 약 2 mg/kg)의 투여가 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여 빈도는 1일 3회, 1일 2회, 1일 1회, 격일 1회, 격주 1회, 2주마다 1회, 4주마다 1회, 2개월마다 1회, 또는 3개월마다 1회일 수 있다. 투여 요법은 시간의 경과에 따라 달라질 수 있다.

[0113] 일부 실시양태에서, 정상 체중의 성인 환자의 경우에, 약 0.3 내지 50.00 mg/kg/일 (예를 들어, 0.5 내지 40 mg/kg/일, 1-30 mg/kg/일, 5-30 mg/kg/일, 또는 10-20 mg/kg/일) 범위의 용량이 투여될 수 있다. 특정한 투여 요법, 즉 용량, 타이밍 및 반복은 특정한 개체 및 그러한 개체의 의료 병력, 뿐만 아니라 개별 작용제의 특성 (예컨대 작용제의 반감기, 및 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 고려사항)에 좌우될 것이다.

[0114] 본 개시내용의 목적상, 본원에 기재된 바와 같은 탄닌산-조성물의 적절한 투여량은 특정 탄닌산 또는 탄닌산 혼합물, 및/또는 사용된 다른 활성 성분, 질환/장애의 유형 및 중증도, 조성물이 예방 또는 치료 목적을 위해 투여되는지 여부, 이전 요법, 환자의 임상 병력 및 DAAO 억제제에 대한 반응, 및 담당 의사의 판단에 좌우될 것이다. 전형적으로, 임상상의 목적하는 결과를 달성하는 투여량에 도달할 때까지 조성물을 투여할 것이다.

[0115] 관련 의학 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 방법을 사용하여, 치료될 질환의 유형 또는 질환의 부위에 따라 대상체에게 조성물 (예를 들어, 제약 조성물, 건강 식품 조성물, 기능식품 조성물 또는 의료 식품 조성물)을 투여할 수 있다. 이러한 조성물은 또한 다른 통상적인 경로를 통해 투여될 수 있고, 예를 들어, 경구로, 비경구로, 흡입 스프레이에 의해, 국소로, 직장으로, 비강으로, 협측으로, 질로, 또는 이식 저장소를 통해 투여될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 동맥내, 활막내, 흉골내, 척수강내, 병변내, 및 두개내 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 또한, 주사가 가능한 데포 투여 경로를 통해, 예컨대 1-주, 1/2 (또는 2주)-, 1-, 3-, 또는 6-개월 데포 주사가 가능한 또는 생분해성 물질 및 방법을 사용하여 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 예에서, 제약 조성물은 안대로 또는 유리체내로 투여된다.

[0116] 주사가 가능한 조성물은 다양한 담체 예컨대 식물성 오일, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 에틸 락테이트, 에틸 카르보네이트, 이소프로필 미리스테이트, 에탄올 및 폴리올 (글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등)을 함유할 수 있다. 정맥내 주사의 경우, 수용성 항체가 점적 방법에 의해 투여될 수 있고, 이에 의해 탄닌산 및 생리학상 허용되는 부형제를 함유하는 제약 제제가 주입된다. 생리학상 허용되는 부형제는, 예를 들어, 5% 텍스트로스, 0.9% 염수, 링거액 또는 다른 적합한 부형제를 포함할 수 있다. 근육내 제제, 예를

들어, 탄닌산의 적합한 가용성 염 형태의 멸균 제제가 제약 부형제 예컨대 주사용수, 0.9% 염수, 또는 5% 글루코스 용액 중에 용해되어 투여될 수 있다.

[0117] 한 실시양태에서, 탄닌산-함유 조성물은 부위-특이적 또는 표적화된 국부 전달 기술을 통해 투여된다. 부위-특이적 또는 표적화된 국부 전달 기술의 예는 탄닌산-함유 조성물의 다양한 주입가능한 데포 공급원 또는 국부 전달 카테터, 예컨대 주입 카테터, 유치 카테터 또는 바늘 카테터, 합성 이식편, 혈관외막 랩, 셉트 및 스텐트 또는 다른 이식형 장치, 부위 특이적 담체, 직접 주사, 또는 직접 적용을 포함한다. 예를 들어, PCT 공개 번호 WO 00/53211 및 미국 특허 번호 5,981,568을 참조한다.

[0118] 표적 질환/장애에 대한 치료 효능은 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 평가될 수 있다.

[0119] III. 조합 요법

[0120] 또한 본원에 기재된 탄닌산-함유 조성물 중 임의의 것 및 제2 치료제, 예컨대 본원에 기재된 것을 사용하는 조합 요법이 본원에 제공된다. 본원에 사용된 용어 조합 요법은 이들 작용제 (예를 들어, 탄닌산-함유 조성물 및 항-CNS 장애제 또는 항비만제)를 순차적 방식으로 투여하는 것, 즉, 각각의 치료제를 상이한 시간에 투여하는 것, 뿐만 아니라 이들 치료제 또는 치료제 중 적어도 2종을 실질적으로 동시 방식으로 투여하는 것을 포괄한다. 각각의 작용제의 순차적 또는 실질적 동시 투여는 경구 경로, 정맥내 경로, 근육내, 피하 경로, 및 점막 조직을 통한 직접 흡수를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 적절한 경로에 의해 이루어질 수 있다. 작용제는 동일한 경로에 의해 또는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 제1 작용제 (예를 들어, 탄닌산-함유 조성물)은 경구로 투여될 수 있고, 제2 작용제 (예를 들어, 항-CNS 장애제 또는 항비만제)는 정맥내로 투여될 수 있다.

[0121] 본원에 사용된 용어 "순차적"은, 달리 명시되지 않는 한, 규칙적인 서열 또는 순서에 의해 특징화되는 것을 의미하고, 예를 들어, 투여 요법이 탄닌산-함유 조성물 및 항-CNS 장애제 또는 항비만제의 투여를 포함하는 경우에, 순차적 투여 요법은 항-CNS 장애제 또는 항비만제의 투여 전, 그와 동시의, 실질적으로 동시의, 또는 그의 투여 후의 탄닌산-함유 조성물의 투여를 포함할 수 있지만, 둘 다의 작용제는 규칙적인 서열 또는 순서로 투여될 것이다. 용어 "개별"은, 달리 명시되지 않는 한, 하나가 다른 것으로부터 떨어져서 유지되는 것을 의미한다. 용어 "동시에"는, 달리 명시되지 않는 한, 동일한 시간에 일어나거나 이루어지는 것을 의미하고, 즉, 본 발명의 작용제가 동일한 시간에 투여되는 것을 의미한다. 용어 "실질적으로 동시에"는, 작용제가 서로 수분 내에 (예를 들어, 서로 10분 내에) 투여되는 것을 의미하고, 연합 투여 뿐만 아니라 연속 투여를 포괄하는 것으로 의도되지만, 투여가 연속되는 경우에, 이는 시간상 단지 단기간 (예를 들어, 의료 진료의가 2종의 화합물을 개별적으로 투여하는데 걸리는 시간) 동안만 분리된다. 본원에 사용된 공동 투여 및 실질적으로 동시 투여는 상호교환가능하게 사용된다. 순차적 투여는 본원에 기재된 작용제의 시간상 분리된 투여를 지칭한다.

[0122] 조합 요법은 또한 다른 생물학적 활성 성분 (예를 들어, 상이한 항-CNS 장애제) 및 비-약물 요법 (예를 들어, 수술)과 추가로 조합된 본원에 기재된 작용제 (예를 들어, 탄닌산-함유 조성물 및 항-CNS 장애제 또는 항비만제)의 투여를 포괄할 수 있다.

[0123] 탄닌산-함유 조성물 및 제2 치료제 (예를 들어, 항-CNS 장애제 또는 항비만제)의 임의의 조합은 표적 질환을 치료하기 위해 임의의 순서로 사용될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 본원에 기재된 조합물은 DAAO를 억제하고/거나, 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 우울증, 감각운동 게이팅, 통증 역치, 기억을 개선시키거나 또는 인지 기능을 증진시키고/거나 표적 질환과 연관된 적어도 1종의 증상을 완화시키는데 있어서의 유효성, 또는 조합물의 또 다른 작용제의 부작용을 완화시키는데 있어서의 유효성을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다수의 인자에 기초하여 선택될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조합 요법은 조합물의 각각의 개별 구성원과 연관된 부작용 중 임의의 것, 예를 들어, 제2 치료제와 연관된 부작용을 감소시킬 수 있다.

[0124] IV. 일반적 기술

[0125] 본 발명의 실시는, 달리 나타내지 않는 한, 관련 기술분야의 기술 내에 있는 신경과학, 분자 생물학 (재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이다. 이러한 기술은 문헌, 예컨대 [Current protocol in Neuroscience (Developmental Editor: Eric Prager, Online ISBN: 9780471142300, DOI: 10.1002/0471142301). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue

Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)]에 충분히 설명되어 있다.

- [0126] 추가의 상술 없이, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상기 설명에 기초하여 본 발명을 그의 최대 범위까지 이용할 수 있을 것으로 여겨진다. 따라서, 본원에 제공되는 구체적 실시양태는 단지 예시적이며 어떠한 방식으로든 개시내용의 나머지를 제한하지 않는 것으로 해석되어야 한다. 본원에 인용된 모든 간행물은 본원에 언급된 목적 또는 대상을 위해 참조로 포함된다.
- [0127] 실시예 1. 탄닌산의 강력한 모이어티의 확인 및 중추 신경계 (CNS) 장애를 치료하는 것에 대한 그의 유효성의 결정
- [0128] D-아미노산 옥시다제 (DAAO)를 억제하는 탄닌산의 활성을 다음과 같이 결정하였다.
- [0129] 공지된 기질, D-프롤린의 이화작용의 억제를 측정함으로써 DAAO의 활성을 시험관내 결정하였다. 먼저 보조인자 FAD (40 μ M)를 DAAO 원액에 첨가하였다. 검정을 위해, 탄닌산(들)의 잠재적 억제제를 포스페이트 완충 염수 (137 mM NaCl, 3 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 2 mM NaH₂PO₄, pH 7.4), 양고추냉이 퍼옥시다제 (5 U/ml), o-페닐렌디아민 (OPD, 0.03%), 및 0.6 μ g 인간- (또는 돼지-) DAAO를 함유하는 반응 혼합물과 혼합하고, 약 5분 동안 인큐베이션하였다. 사전-인큐베이션 기간 후, 40 mM D-프롤린을 기질로서 첨가하고, 10분 동안 반응이 계속되게 하였다. 양고추냉이 퍼옥시다제에 의해 OPD가 산화되어 2,3-디아미노페나진 (DAP)을 형성하였다. DAP의 흡광도를 분광광도측정법에 의해 453 nm에서 측정하였다. 억제제의 연속 희석물에서 검정을 행하여 IC₅₀을 생성하고, 프리즘 (그래프패드 소프트웨어(Graphpad Software))에 의해 분석하였다. 분석에서, 분광광도측정법 판독치를 표준 방정식에 피팅시켜 50 % 억제 농도 (IC₅₀)를 결정하였다. 모든 효소적 검정은 실온에서 96-웰 플레이트 포맷으로 수행하였다.
- [0130] 도 1에 제시된 바와 같이, 균으로서의 탄닌산은 IC₅₀ 값이 5.47 μ M로, 강력한 D-아미노산 옥시다제 (DAAO) 억제 활성을 나타내었다.
- [0131] 탄닌산의 하위군 (특정한 수의 갈로일 모이어티를 가짐)의 DAAO 억제 활성을 하기와 같이 결정하였다. 상이한 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산 분획을 역상 칼럼 (리크로프렙(LiChroprep)® RP-18)에 의해 아세토니트릴 및 증류수의 이동상을 구배 용리로 사용하여 분리하였다. 80 μ M (표 1) 및 300 nM (도 2, 표 2)에서의 각각의 탄닌산 분획의 DAAO 억제 활성을 블랭크 대조군으로서 증류수 및 10% DMSO 수용액 및 양성 대조군으로서 벤조산 나트륨을 사용하여 상기 기재된 방법에 의해 분석하였다.

[0132] 표 1. 개별 탄닌산의 DAAO-억제 활성

샘플 (80 μ M)	DAAO 억제 활성	
	(%)	SEM
H ₂ O	100.00	1.01
10% DMSO	100.00	1.97
벤조산나트륨	38.05	0.46
분획 7 (2개의 갈로일)	24.35	0.72
분획 9 (2개의 갈로일)	26.42	0.20
분획 13 (3개의 갈로일)	13.17	0.20
분획 15 (4개의 갈로일)	6.71	0.14
분획 19 (5개의 갈로일)	5.62	0.17
분획 20 (6개의 갈로일)	5.63	0.30
분획 22 (7개의 갈로일)	5.16	0.36
분획 24 (8~9개의 갈로일)	7.45	0.13

[0133]

[0134] 표 1은 상이한 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 항-DAAO 활성을 보여준다. 4개 이상의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산은 4개 미만의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산과 비교하여 DAAO를 억제하는데 있어서 훨씬 더 높은 활성을 나타내었다. 모든 DAAO 검정은 탄닌산 80 μ M을 사용하여 수행하였다.

[0135] 표 2. 개별 탄닌산의 DAAO-억제 활성

샘플 (300 nM)	상대 활성 (%)	SD
대조군	100.00	4.74
3G	99.25	5.01
4G	83.67	4.55
5G	60.41	3.62
6G	54.19	1.81
7G	44.60	1.39
8G	48.23	1.17
9G	27.92	1.36
10G	19.25	5.13

[0136]

[0137] 표 2는 상이한 수의 갈로일 모이어티를 갖는 300 nM의 탄닌산의 항-DAAO 활성을 보여준다. 3개의 갈로일 모이어티는 약한 활성을 나타낸 반면에, 보다 많은 수의 갈로일 모이어티는 DAAO 활성의 유의하게 더 높은 억제를 나타내었다. (G=갈로일 기의 수).

[0138] 하기 표 3은 상이한 수의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 항-DAAO 활성의 IC₅₀ (μ M)을 보여준다. 상이한 수의 갈로일 모이어티를 갖는 각각의 탄닌산에 대해 IC₅₀을 결정하였고, 이는 3개 초과와 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산이 강력하다는 것을 나타내었다. 4개 이상의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산은 4개 미만의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산과 비교하여 훨씬 더 낮은 IC₅₀을 나타내었고, DAAO를 억제하는데 있어서 보다 강력하였다. (G=갈로일 기의 수).

표 3. 개별 탄닌산의 효력

	3G	4G	5G	6G	7G	8G	9G	10G
IC ₅₀ (μ M)	8.474	1.576	0.496	0.375	0.256	0.337	0.240	0.215
표준 오차	0.031	0.020	0.019	0.014	0.014	0.012	0.011	0.008

따라서, 3개 초과와 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산의 정제는 탄닌산 혼합물과 비교하여 (표 4) 보다 작은 IC₅₀에 의해 나타내어지는 바와 같이 효력을 향상시킨다. 결과는 3개 초과와 갈로일 모이어티 (예를 들어, 4-10개)를 갖는 탄닌산이 3개 이하의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산보다 더 높은 DAAO 억제 효력을 나타낸다는 것을 보여준다.

표 4. 4-9개의 갈로일 모이어티 (4-9 G)를 갖는 탄닌산 정제는 탄닌산 혼합물보다 더 강력한 효력을 나타낸다.

샘플	탄닌산	4-9 G
IC ₅₀ (μ g/ml)	<u>0.515</u>	<u>0.361</u>
표준 오차	<u>0.020</u>	<u>0.017</u>

실시에 2. 기본 행동 기능 및 인지 행동에 대한 탄닌산의 효과

본 연구의 목적은 기본 대사, 행동 기능, 및 인지 행동에 대한 다중 용량의 탄닌산의 효과를 검증하기 위한 것이다. 본 실험에서, 각각의 마우스의 체중, 자발적 보행 활동, 불안-유사 행동, 공간 학습 및 기억, 우울증-유사 행동 및 감각운동 게이팅 기능을 탄닌산의 반복 주사 또는 경구 투여 후에 검사하였다. 이들 활성은 NMDA 수용체에 의해 매개되는 것으로 공지되어 있다 (Wu et al., PNAS; 110(36):14765-70 (2013); Furuya et al., Eur J Pharmacol, 364(2-3):133-140 [1999]; Lai et al., Curr Pharm Des, 20(32):5139-5150 [2014]; McLamb et al., Pharmacol Biochem Behav, 37(1):41-45 [1990]; Vardigan et al., Pharmacol Biochem Behav, 95(2):223-229 [2010]; Wiley et al., Eur J Pharmacol, 294(1):101-107 [1995]; Wu et al., Psychopharmacology (Berl), 177(3):256-263 [2005]). 이러한 연구의 예시적인 설명을 도 3에 제시한다.

방법 및 물질

동물 및 수용 조건

C57BL/6J 수컷 마우스를 동물 룸 내 폴리술폰 환기 케이지 (알터너티브 디자인(Alternative Design), 미국 아칸소주)에서 먹이 및 물을 자유롭게 이용가능하게 하면서 군별 수용하였다 (케이지당 3-5마리 마우스). 콜로니를 22 $\pm$ 2°C의 온도에서 12/12시간 명/암 주기로 유지시켰고, 모든 행동 연구는 암 주기 동안 수행하였다. 본 연구에 사용된 모든 동물은 성체 마우스였다 (적어도 2.5개월령).

탄닌산의 반복 주사

탄닌산은 시그마(Sigma) (시그마-알드리치(Sigma-Aldrich), 미국)에서 구입하였다. 성체 마우스를 무작위로 3개의 군: (1) 대조군, (2) 탄닌산 (10 mg/kg), 및 (3) 탄닌산 (30 mg/kg)으로 배정하였고, 이를 각각 비히클 대조군 (PBS), 탄닌산 10 mg/kg, 및 탄닌산 30 mg/kg으로 취급하였다. 행동 시험 2주 전, 모든 마우스에게 비히클 대조군 또는 탄닌산을 격일로 복강내로 (i.p.) 주사하였다. 그의 신체 발달 및 대사의 지표로서의 역할을 하는 각각의 마우스의 체중을 주사한 날에 기록하였다.

마우스 기본 행동 기능 및 인지 행동에 대한 탄닌산의 반복 주사 효과의 검사

상기 기재된 바와 같이 비히클 대조군 또는 탄닌산으로 처리된 모든 마우스를 순차적으로 5종의 작업별로 시험하였다: (1) 자발적 보행 시험을 위한 개방 현장 작업, (2) 세워진 십자형 미로에 의한 불안-유사 행동 시험, (3) 반즈 미로에 의한 공간 학습 및 기억 시험, (4) 꼬리 매달기에 의한 우울증-유사 행동 시험, 및 (5) 프리펠스 억제에 의한 감각운동 기능 시험. 상이한 작업 사이에는 적어도 1-주 간격을 두었다. 이월 효과를 최소화하기 위해, 보다 더 스트레스인 작업이 덜 스트레스인 작업 전에 이루어지 않게 하는 순서로 작업을 배열하였다. 절차가 문헌 [Current protocol in Neuroscience (Developmental Editor: Eric Prager, Online ISBN: 9780471142300, DOI: 10.1002/0471142301)]에 기재되어 있고, 그의 관련 개시내용은 의도되는 목적상 본

원에 참조로 포함된다.

- [0153] 결과
- [0154] 신체 발달 및 체중 감소
- [0155] 반복 주사 기간 동안, 탄닌산 (10 mg/kg) 군의 체중은 대조군의 체중보다 더 낮은 수준으로 증가하였고, 탄닌산 (30 mg/kg)의 체중은 대조군보다 훨씬 더 가벼웠다. 도 4를 참조한다.
- [0156] 자발적 이동 활동
- [0157] 개방 현장 작업은 마우스 및 래트 둘 다에서의 새롭게 유도된 탐색적 행동 및 일반적 활동의 통상적인 측정이다. 이러한 연구에서, 마우스를 50-65 룩스 광 강도 하의 플렉시글라스(PLEXIGLAS)® 케이지 (37.5 cm x 21.5 cm x 18 cm)에 넣었다. 그의 자발적 이동 활동을 에토비전(EthoVision) 비디오 추적 시스템 (놀두스 인포메이션 테크놀로지(Noldus Information Technology), 네덜란드)을 사용하여 60분 동안 측정하였다. 각각의 마우스의 이동 거리를 보행 활동의 지표로서 측정하였다. 도 5에 제시된 바와 같이, 탄닌산은 처리된 마우스의 이동 거리를 용량-의존성 방식으로 감소시켰다.
- [0158] 유사한 실험을 수행하였고, 여기서 마우스에게 단일 용량으로 10 mg/kg, 30 mg/kg, 100 mg/kg, 300 mg/kg, 및 600 mg/kg을 경구로 투여하고, 30분, 60분, 90분, 및 120분 동안 그의 보행 활동을 측정하였다. 탄닌산은 모든 시험된 용량에서 처리된 마우스의 보행을 비히클 대조군으로 처리된 마우스와 비교하여 감소시켰다. 결과를 도 6에 예시한다.
- [0159] 불안-유사 행동
- [0160] 2개의 개방 부문과 2개의 폐쇄 부문으로 이루어진 세워진 십자형 미로를 사용하여 본능적인 불안 행동을 평가하였다. 미로는 바닥에서 50 cm 높았고, 2개의 개방 부문 (각각 50 cm 길이 x 10 cm 폭), 지붕이 없는 2개의 폐쇄 부문 십자형 45 cm 높이 벽 (각각 50 cm 길이 x 10 cm 폭), 및 사각형 형상의 중심 플랫폼 (10 x 10 cm)을 가졌다. 각각의 마우스를 중심 플랫폼에 두고, 폐쇄 부문 중 하나를 향하게 하고 50-65 룩스 광 강도 하에 5분 동안 관찰하였다. 미로의 각각의 부분에서 소비한 시간 및 미로의 각각의 부분에서의 이동 거리를 에토비전 추적 시스템 (놀두스 인포메이션 테크놀로지, 네덜란드)에 의해 기록하였다.
- [0161] 각각의 군의 회피 지속시간 비를 도 7, 패널 A에 제시한다. 대조군과 비교하여, 탄닌산 (30 mg/kg) 군은 미미하게 더 높은 회피 지속시간 비를 나타낸 반면에, 탄닌산 (10 mg/kg) 군은 그렇지 않았다. 각각의 군의 회피 거리 비를 도 7, 패널 B에 제시한다. 탄닌산 (30 mg/kg) 군은 대조군과 비교하여 유의하게 더 높은 회피 거리 비를 나타내었다. 각각의 군의 위험 판단의 수를 도 7 패널 C에 나타낸다. 대조군과 비교하여, 둘 다의 탄닌산 군은 유의하게 더 낮은 위험 판단을 나타내었다 (모두 $p < 0.05$).
- [0162] 공간 학습 및 기억
- [0163] 마우스를 이전에 기재된 바와 같이 (Barnes, J Comp Physiol Psychol, 93(1):74-104 [1979]) 그의 공간 학습 및 기억을 검사하기 위해 반즈 미로에서 시험하였다. 시험 장치는 경계 주위에 균등하게 이격된 20개의 구멍 (직경 7 cm, 구멍 사이 7 cm)을 갖는 세워진 (바닥 위 50 cm) 원형 플렉시글라스(PLEXIGLAS)® 플레이트 (직경 100 cm)이다. 마우스가 모리스 수중 미로 작업에서의 숨겨진 플랫폼과 유사한 것으로 지정된 표적 구멍 뒤에 숨겨진 탈출 박스 (25 x 8 x 6 cm)를 확인하도록 플레이트 위에서 훈련시켰다. 표적 구멍의 위치는 각각의 마우스에 대해 선택되되, 마우스 전반에서 무작위화되었다. 마우스를 처음에 불투명 실린더로 덮인 플레이트의 중앙에 놓고, 회피 톤 (440 Hz, 85 dB) 및 광 (100 lux) 둘 다를 스위치 온하여 시험을 시작한 지 10초 후에 실린더를 제거하였다. 마우스를 연속 3일에 걸친 1일에 3회의 훈련 시험 동안 주위 시각적 단서에 따라 표적 구멍을 찾아내고 회피 톤으로부터 탈출하도록 훈련시켰다. 공간 기억을 "프로브 시험"에 의해 측정하였다. 모든 훈련 시험 및 프로브 시험을 3분 동안 비디오녹화하였다. 이어서, 훈련 시험의 경우 탈출 대기시간 및 프로브 시험 동안 상이한 사분면 (표적, 좌측, 우측, 및 반대편)에서의 시간의 백분율을 분석하였다. 도 8에 예시된 바와 같이, 프로브 시험에서 탄닌산 (30 mg/kg) 군은 표적 구역으로의 유의한 선호를 나타낸 반면에, 다른 군은 그렇지 않았다.
- [0164] 다중 주사로 다양한 용량의 탄닌산에 의해 처리된 마우스의 기본 대사, 행동 기능, 및 인지 행동 특징을 실시예 2에 기재된 실험에서 연구하였다. 요약하면, 3개의 주요 발견이 주목되었다.
- [0165] 먼저, 탄닌산 (30 mg/kg) 군의 마우스의 체중이 감소하였다. 또한 이러한 마우스 군은 개방 현장에서 보다 낮

은 자발적 보행을 나타내었다. 새롭게-유도되는 이동 활동 및 일반적 운동 기능을 시험하기 위해 개방 현장 작업을 사용하였다 (Powell et al., Biol Psychiatry, 59(12):1198-1207 [2006]; van den Buuse, Schizophr Bull, 36(2):246-270 [2010]). 이론에 얽매이지는 않지만, 반복해서 탄닌산이 주사된 마우스에서의 감소된 보행 활동은 신규 환경으로의 보다 신속한 습관화로부터의 결과일 수 있다.

[0166] 두번째로, 탄닌산으로 처리된 마우스의 불안-유사 행동이 세워진 십자형 미로에서 감소되었다. 세워진 십자형 미로 작업은 추정 불안완화 또는 불안유발 화합물 스크리닝을 위한 마우스 모델이다 (Rodgers et al., Braz J Med Biol Res, 30(3):289-304 [1997]; Steimer, Dialogues Clin Neurosci, 13(4):495-506 [2011]). 개방 부문에서 소비된 시간 비율에서의 증가는 십자형 미로에서의 보다 낮은 불안을 나타낸다. 실험에서, 주사가 반복된 마우스는 개방 부문에서 보다 높은 비율의 소비된 시간 뿐만 아니라 개방 부문에서 보다 높은 비율의 이동 거리 및 보다 낮은 위험 판단을 나타내었다. 이들 결과는 탄닌산의 반복 주사가 세워진 십자형 미로에서 불안-유사 행동을 감소시킨다는 것을 지지하였다.

[0167] 세번째로, 탄닌산 주사가 반복된 마우스는 반즈 미로에서 공간 기억 회복의 증진을 나타내었다. 반즈 미로는 마우스에서 인지 기능, 특히 공간 학습 및 기억을 평가하기 위한 작업이다 (Rosenfeld et al., J Vis Exp, (84):e51194 [2014]). 특정 인지 기능적 도메인의 이해에서의 진보에 기초하여, 증가하고 있는 양의 임상 연구는 정신분열증, 치매, 알츠하이머병, 우울증 및 강박 장애 (OCD) 등을 포함한 많은 정신병에서 인지 결핍의 영향을 강조한다 (Kirova et al., Biomed Res Int, 748212 [2015]; Lai et al., Curr Pharm Des, 20(32):5139-5150 [2014]; Okasha et al., Acta Psychiatr Scand, 101(4):281-285 [2000]; Rosenblat et al., Int J Neuropsychopharmacol, pii: pyv082 [2015]; Terry et al., Ann Neurol, 30(4):572-580 [1991]). 프로브 시험 (기억 회복기)에서, 탄닌산 (30개 군)은 표적 구역에 대한 선호를 나타내었다. 이러한 증거는 고용량 탄닌산의 반복 주사가 정상 마우스에서 인지 기능을 증진시킬 수 있다는 것을 나타내었다. 또한, NMDA 수용체 신호 전달은 학습 과정 및 기억 강화에서 중요한 역할로서 간주된다 (Newcomer et al., Hippocampus, 11(5):529-542 [2001]; Rezvani, Animal Models of Cognitive Impairment, 1(4) [2006]). 따라서, 탄닌산의 반복 주사는 마우스에서 NMDA 신호전달을 통해 인지 기능을 증진시킬 수 있다.

[0168] 따라서, 이러한 연구의 결과는 탄닌산이 체중 감소 및 기본 행동 기능, 과잉행동, 불안, 기억 및/또는 인지 행동을 개선시키는데 있어서 효과적인 것임을 나타낸다. 예를 들어, ADHD를 갖는 소아의 높은 백분율이 동반이환 학습 장애를 갖고, 학습 및 기억에 대한 탄닌산의 효과를 고려하면, 이는 또한 탄닌산에 의해 개선될 수 있다.

[0169] 실시예 3. MK801 처리된 마우스에 대한 탄닌산 주사의 회복 및 보호 효과

[0170] 본 실험의 목적은 널리-공지된 NMDA 수용체 길항제인 MK801을 사용하여 CNS 장애를 치료하는데 있어서의 탄닌산의 잠재적 작용 메커니즘을 평가하기 위한 것이다. 탄닌산 및 MK801을 마우스에게 각각 행동 시험 (즉, 개방 현장 및 프리펠스 억제) 전 복강내 (i.p.) 주사에 의해 투여하였다.

[0171] 실험 설계

[0172] 본 실험은 탄닌산의 작용 메커니즘을 특정화하기 위해 설계되었다. 디조실핀으로도 공지되어 있는 MK801은 NMDA 수용체의 길항제이다 (Kovacic et al., Oxid Med Cell Longev, 3(1):13-22 [2010]). 이는 상동증적 행동, 무쾌감증, 학습 및 기억 결핍, 작업 기억 장애 및 감각운동 기능 이상을 포함한 중추 신경계 질환의 NMDA 과소-기능 유도된 증상의 많은 측면에서 사용되어 왔다 (Furuya et al., Eur J Pharmacol, 364(2-3):133-140 [1999]; McLamb et al., Pharmacol Biochem Behav, 37(1):41-45 [1990]; Vardigan et al., Pharmacol Biochem Behav, 95(2):223-229 [2010]; White et al., Pharmacol Biochem Behav, 59(3):613-617 [1998]; Wu et al., Psychopharmacology (Berl), 177(3):256-263 [2005]). 이들 실험의 목적은 과소-기능 NMDA 수용체를 갖는 마우스에 대한 탄닌산의 효과를 평가하기 위한 것이었다. 예시적인 실험 설계를 도 9에 예시한다.

[0173] 방법 및 물질

[0174] 동물 및 수용 조건

[0175] C57BL/6J 수컷 마우스를 동물 룸 내 폴리술폰 환기 케이지 (알터너티브 디자인, 미국 아칸소주)에서 먹이 및 물을 자유롭게 이용가능하게 하면서 군별 수용하였다 (케이지당 3-5마리 마우스). 콜로니를 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 12/12시간 명/암 주기로 유지시켰고, 모든 행동 연구는 암 주기 동안 수행될 것이다. 본 연구에 사용된 모든 동물은 성체 마우스였다 (적어도 2.5개월령).

[0176] 약물 투여

- [0177] 마우스를 무작위로 6개의 군으로 배정하였다:
- [0178] 군 1: PBS + 염수 대조군;
- [0179] 군 2: PBS + MK801;
- [0180] 군 3: 탄닌산 (10 mg/kg) + MK801;
- [0181] 군 4: 탄닌산 (15 mg/kg) + MK801;
- [0182] 군 5: 탄닌산 (20 mg/kg) + MK801; 및
- [0183] 군 6: 탄닌산 (30 mg/kg) + MK801.
- [0184] 군 2-6의 각각의 마우스에게 행동 시험 20분 전 생리 염수 중에 용해된 MK-801 (시그마-알드리치, USA)의 급성 투여를 제공하였다 (0.1 mg/kg, i.p.). 군 3-6의 각각의 마우스에게 MK801 투여 20분 전 탄닌산의 급성 투여를 제공하였다 (시그마-알드리치, USA; PBS 중에 용해됨, 10, 15, 20 또는 30 mg/kg, i.p.)
- [0185] MK801 처리된 마우스에 대한 탄닌산 투여 효과의 검사
- [0186] 본 연구에서 모든 마우스를 개방 현장 작업 및 프리펠스 억제 작업으로 시험하였고, 2종 작업 사이에는 적어도 1-주 간격을 두었다. 프리펠스 억제에 대한 탄닌산의 상이한 공급원의 효과를 시험하기 위해 마우스의 추가의 코호트를 사용하였다.
- [0187] 결과
- [0188] MK801 처리된 마우스에서의 보행에 대한 탄닌산의 효과
- [0189] 대조군 (군 1)과 비교하여, MK801 군 (군 2)은 과다-보행 활동을 나타내었다. 탄닌산 10, 20, 및 30 군 (군 3, 5, 및 6)은 도 10에 예시된 바와 같이 대조군보다 더 낮은 보행 활동을 나타내었다. MK801 군 (군 2)과 비교하여, 모든 탄닌산 군은 도 10에 제시된 바와 같이 보다 낮은 보행 활동을 나타내었다.
- [0190] MK801 처리된 마우스에서의 프리펠스 억제에 대한 탄닌산의 효과-감각운동 기능
- [0191] 전-주의 처리는 자동적이고 신속하며, 의식적 인식 밖에서 작동하는 경향이 있는 반면에, 의도적 주의 과정은 제한된 자원을 갖고, 더 많은 노력을 필요로 하며, 보다 느리게 작동한다. 전-주의 처리의 통상적인 척도는 프리펠스 억제이다. 결핍은 인간 증상과 유사한 방식으로 나타나기 때문에 이러한 패러다임은 여러 정신병 (예를 들어, 정신분열증, 알츠하이머병)의 마우스 모델에서 통상적으로 검사되어 왔다 (Arguello et al., Neuron, 52(1):179-196 [2006]; Lai et al., Curr Pharm Des, 20(32):5139-5150 [2014]; McCool et al., Brain Res, 994(1):99-106 [2003]).
- [0192] 프리펠스 억제는 SR-LAB 놀람 장치 (샌디에고 인스트루먼트(San Diego Instruments), 미국 캘리포니아주 샌디에고)를 사용한 감각운동 게이팅 기능의 지표로서 사용되었다. 72 dB 배경 잡음 하에, 각각의 세션은 5분 측정 기간에 이은 4개의 블록에서의 64회 시험으로 구성되었다. 펄스 단독 (PA) 시험은 40 ms, 120 dB 백색 소음 버스트였다. 프리펠스 (pp) + 펄스 시험에서, 78 dB (pp6), 82 dB (pp10), 및 90 dB (pp18)의 20 ms 백색 소음 프리펠스 자극이 40 ms 120 dB 펄스 100 ms 전에 제공되었다. 비-자극 (NS) 시험은 배경 잡음만이 제공되었다. 초기 및 마지막 블록은 각각 6개의 PA 시험으로 구성되었다. 2개의 중간 블록은 PA, pp + 펄스, 및 NS 시험으로 이루어졌다. 이들 시험은 의사-무작위로 제공되었고, 평균 15초 (10 내지 20초 사이에서 달라짐)의 종속간 간격으로 분리되었다. 프리펠스 억제의 백분율을 하기 공식에 의해 평가하였고: % PPI = $100 \times [(PA \text{ 스코어}) - (pp-P \text{ 스코어})] / (PA \text{ 스코어})$, 여기서 PA 스코어는 중간 블록의 PA 값의 평균이다. 탄닌산은 도 11&12에서와 같이 프리펠스 억제를 개선시켰고, 도 11에서 입증되는 바와 같이 이를 용량-의존적으로 개선시켰다.
- [0193] 78 dB 프리펠스 강도에서, 6개의 군 사이에 어떠한 유의차도 관찰되지 않았다. 82 dB 프리펠스 강도에서, MK801 및 탄닌산 (10 mg/kg) 군은 대조군에 비해 차이를 나타내지 않았다. 대조군과 비교하여, 탄닌산 (15 mg/kg) 군은 미미하게 더 높은 백분율의 프리펠스 억제를 나타내었고, 탄닌산 (20 mg/kg) 및 탄닌산 (30 mg/kg) 군은 유의하게 더 높은 백분율의 프리펠스 억제를 나타내었다. 90 dB 프리펠스 강도의 규모에서, 대조군과 비교하여, 탄닌산 (15 mg/kg), 탄닌산 (20 mg/kg) 및 탄닌산 (30 mg/kg) 군은 대조군과 비교하여 유의하게 더 높은 백분율의 프리펠스 억제를 나타낸 한편, 도 11에 도시된 바와 같이 MK801 및 탄닌산 (10 mg/kg) 군에서는 이러한 결과가 전혀 관찰되지 않았다.

- [0194] MK801 처리된 마우스에서의 프리펄스 억제에 대한 상이한 공급원의 탄닌산의 효과
- [0195] 본 실험의 목적은 프리펄스 억제에 대한 상이한 공급원의 탄닌산의 효과를 평가하기 위한 것이다. 탄닌산을 시그마-알드리치 (공급원 A) 및 스펙트럼, 유에스에이(Spectrum, USA) (공급원 B)로부터 구입하여 본 연구에서 15 mg/kg으로 사용하였다.
- [0196] 78 dB 및 82 dB 프리펄스 강도와 관련하여, 2개의 공급원의 탄닌산 및 대조군 또는 MK801 군으로 처리된 마우스 사이에 어떠한 유의차도 관찰되지 않았다. 90 dB 프리펄스 강도의 규모에서, 탄닌산 군 둘 다는 대조군과 비교하여 유의하게 더 높은 백분율의 프리펄스 억제를 나타낸 반면에, MK801 군에서는 이러한 결과가 전혀 관찰되지 않았다. 공급원 A 탄닌산 및 공급원 B 탄닌산으로 처리된 마우스로부터 수득된 결과는 도 12에 제시된 바와 같이 유사하였다.
- [0197] 동물 모델에서 정신병 증상을 관찰하고 측정하는 것은 도전과제이지만, 시험될 수 있는 정신병-관련 행동은 정신운동 초조, 흥분 증상, 감각 게이팅 및 정신병유사 약물, 예컨대 MK801에 대한 감수성을 포함한다 (Arguello et al., *Neuron*, 52(1): 179-196 [2006]; Lai et al., *Curr Pharm Des*, 20(32):5139-5150 [2014]). 마우스에서, 개방 현장 작업 시 과다-보행 활동 및 새롭게-유도되는 보행 활동의 변경 (새로운 또는 증가된 탐색에 대한 습관화의 어느 하나의 장애)과 관련된 파라미터는 각각 정신운동 초조 및 흥분 증상을 측정하는데 사용될 수 있다 (Lai et al., *Curr Pharm Des*, 20(32):5139-5150 [2014]; Powell et al., *Biol Psychiatry*, 59(12):1198-1207 [2006]; Vardigan et al., *Pharmacol Biochem Behav*, 95(2):223-229 [2010]). 본 연구에서, i.p. 또는 경구 (p.o.) 경로 둘 다에 의한 탄닌산의 투여는 개방 현장에서 MK801 유도되는 과다-보행 활동을 반전시켰다/보호하였다. 결과는 탄닌산이 정신병 증상 (예를 들어, 망상 및 환각)을 치료하기 위한 잠재적 치료제임을 나타내었다.
- [0198] 프리펄스 억제 작업에서, 탄닌산 15 mg/kg은 MK-801로 처리된 마우스에서 감각운동 게이팅 기능을 증진시키는 데 충분하였다. 또한, 상이한 공급원의 탄닌산은 프리펄스 억제 작업에서의 감각운동 기능의 증진에 영향을 미치지 않았다. 프리펄스 억제에서의 결핍은, 그러한 결핍이 인간에서 유사하게 확인될 수 있기 때문에, 마우스 모델에서 통상적으로 정신분열 내적표현형으로서 간주되어 왔다 (Arguello et al., *Neuron*, 52(1):179-196 [2006]; Geyer et al., *Schizophr Bull*, 13(4):643-668 [1987]; Lai et al., *Curr Pharm Des*, 20(32):5139-5150 [2014]). 프리펄스 억제의 결핍은 또한 자폐증 스펙트럼 장애 (McAlonan et al., *Brain*, 125(Pt 7):1594-1606 [2002]), 강박 장애, 헌팅턴병, 야간 야뇨증, 주의력 결핍 장애, 투렛 증후군, 안검연축, 비-간질성 발작, 외상후 스트레스 장애 (Braff et al., *Psychopharmacology (Berl)*, 156(2-3):234-258 [2001]), 공황 장애, 양극성 장애, 알츠하이머의 경도 치매, 루이 소체 치매, 및 결합된 주의력-결핍 과잉행동 장애 및 틱 장애 (Giakoumaki et al., *Biol Psychiatry*, 62(12):1418-1422 [2007]; Ludewig et al., *Depress 불안*, 15(2):55-60 [2002]; Perriol et al., *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 76(1):106-108 [2005]; Ueki et al., *Psychiatry Clin Neurosci*, 60(1):55-62 [2006])를 포함한 다른 중추 신경계 질환에서도 발견되었다.
- [0199] 따라서, 탄닌산은 다양한 CNS 장애에 대한 유망한 치료제이다. 또한, 탄닌산은 자발적 및 MK-801 유도된 과다 보행 둘 다를 감소시키고, 이는 탄닌산이 ADHD의 증상 및 그의 관련 장애를 개선시키기 위한 치료제로서의 역할을 할 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0200] 또한, 탄닌산은 그에 의해 처리된 마우스에서 체중을 감소시킬 수 있는 것으로 관찰되었고, 이는 탄닌산이 체중을 제어하고/거나 비만 및 그의 관련 장애를 치료하는데 효과적인 것임을 나타낸다.
- [0201] 실시예 4. MK801 처리된 마우스에 대한 탄닌산 경구 투여의 회복 및 보호 효과
- [0202] 본 실험의 목적은 널리-공지된 NMDA 수용체 길항제인 MK801을 사용하여 CNS 장애를 치료하는데 있어서의 탄닌산의 잠재적 작용 메커니즘을 평가하기 위한 것이다. 탄닌산 및 MK801을 마우스에게 각각 행동 시험 (즉, 개방 현장, 프리펄스 억제, 반즈 미로 및 수크로스 선호) 전 각각 경구 위관영양 (p.o.) 및 복강내 (i.p.) 주사에 의해 투여하였다.
- [0203] 실험 설계
- [0204] 본 실험은 탄닌산의 작용 메커니즘을 특정화하기 위해 설계되었다. 디조실핀으로도 공지되어 있는 MK801은 NMDA 수용체의 길항제이다 (Kovacic et al., *Oxid Med Cell Longev*, 3(1):13-22 [2010]). 이는 상동증적 행동, 무쾌감증, 학습 및 기억 결핍, 작업 기억 장애 및 감각운동 기능 이상을 포함한 중추 신경계 질환의 NMDA 과소-기능 유도된 증상의 많은 측면에서 사용되어 왔다 (Furuya et al., *Eur J Pharmacol*, 364(2-3):133-140

[1999]; McLamb et al., Pharmacol Biochem Behav, 37(1):41-45 [1990]; Vardigan et al., Pharmacol Biochem Behav, 95(2):223-229 [2010]; White et al., Pharmacol Biochem Behav, 59(3):613-617 [1998]; Wu et al., Psychopharmacology (Berl), 177(3):256-263 [2005]). 이들 실험의 목적은 과소-기능 NMDA 수용체를 갖는 마우스에 대한 탄닌산의 효과를 평가하기 위한 것이었다. 예시적인 실험 설계를 도 13에 예시한다.

- [0205] 방법 및 물질
- [0206] 동물 및 수용 조건
- [0207] C57BL/6J 수컷 마우스를 동물 룸 내 폴리스폰 환기 케이지 (얼터너티브 디자인, 미국 아칸소주)에서 먹이 및 물을 자유롭게 이용가능하게 하면서 군별 수용하였다 (케이지당 3-5마리 마우스). 콜로니를 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 12/12시간 명/암 주기로 유지시켰고, 모든 행동 연구는 암 주기 동안 수행될 것이다. 본 연구에 사용된 모든 동물은 성체 마우스였다 (적어도 2.5개월령).
- [0208] 약물 투여
- [0209] 마우스는 무작위로 5개의 군으로 배정하였다:
- [0210] 군 1: PBS + 염수 대조군;
- [0211] 군 2: PBS + MK801;
- [0212] 군 3: 탄닌산 (10 mg/kg) + MK801;
- [0213] 군 4: 탄닌산 (30 mg/kg) + MK801; 및
- [0214] 군 5: 탄닌산 (100 mg/kg) + MK801.
- [0215] 군 2-5의 각각의 마우스에게 행동 시험 20분 전 생리 염수 중에 용해된 MK-801 (시그마-알드리치, USA)의 급성 투여를, 개방 현장 및 반즈 미로 작업의 경우 0.1 mg/kg, 및 프리펠스 억제 및 수크로스 선호 작업의 경우 0.2 mg/kg으로 i.p. 주사에 의해 제공하였다. 군 3-6의 각각의 마우스에게 MK801 투여 20분 전 탄닌산의 급성 경구 투여를 제공하였다 (머크 밀리포어, 독일; PBS 중에 용해됨, 10, 30, 또는 100 mg/kg, p.o.).
- [0216] 결과
- [0217] MK801 처리된 마우스에 대한 탄닌산 투여 효과의 검사
- [0218] 본 연구에서 모든 마우스를 개방 현장 작업, 프리펠스 억제 작업, 반즈 미로 및 수크로스 선호로 시험하였고, 작업 사이에는 적어도 1-주 간격을 두었다.
- [0219] MK801 처리된 마우스에서 보행에 대한 탄닌산 경구 투여의 효과
- [0220] 본 시험에서, 탄닌산을 MK801 (0.1 mg/kg) 주사 20분 전에 경구로 투여하였다. 도 14에 제시된 바와 같이, MK801은 과다-보행을 유도하였고, 탄닌산은 MK801-유도되는 과다-보행을 용량-의존성 방식으로 회복시켰다.
- [0221] MK801- 처리된 마우스에서의 프리펠스 억제에 대한 탄닌산의 효과
- [0222] 대조군과 비교하여, MK801 (0.2 mg/kg)은 강건한 프리펠스 억제 결핍을 유도하였다. 78 dB 및 82 dB 프리펠스 강도에서, 탄닌산 (10, 30 및 100 mg/kg)은 MK801-유도되는 프리펠스 억제 결핍을 회복/보호하지 않았다. 90 dB 프리펠스 강도의 규모에서, MK801 군과 비교하여, 탄닌산 (30 mg/kg), 및 탄닌산 (100 mg/kg) 군은 MK801 유도된 프리펠스 억제 결핍에 대해 회복/보호 효과를 유의하게 나타내었다. 반면에, 도 15에 예시된 바와 같이, MK801 및 탄닌산 (10 mg/kg) 군에서는 이러한 결과가 전혀 관찰되지 않았다.
- [0223] MK801- 처리된 마우스에서의 공간 학습 & 기억에 대한 탄닌산의 효과
- [0224] 도 16에 제시된 바와 같이, 탄닌산은 MK-801-처리된 마우스에서 반즈 미로 작업의 기억 회복을 용량-의존적으로 개선시켰다.
- [0225] MK801 처리된 마우스에서의 우울증-유사 행동 (무쾌감증)에 대한 탄닌산의 효과
- [0226] 대조군과 비교하여, MK801 군의 마우스는 수크로스 용액 (2%)에 대한 선호를 나타내지 않았다. MK801 군과 비교하여, 탄닌산 30 mg/kg 및 100 mg/kg을 제공받은 마우스는 도 17에 제시된 바와 같이 MK801 유도된 우울증-유사 행동 (무쾌감증)에 대해 회복/보호 효과를 나타내었다.

- [0227] 실시예 5. 마우스에서의 탄닌산의 진통 효과
- [0228] 본 실험의 목적은 마우스에서 탄닌산의 진통 효과를 평가하기 위한 것이다. 탄닌산을 마우스에게 행동 시험 (즉, 폰 프라이 시험) 전 복강내 (i.p.) 주사에 의해 투여하였다.
- [0229] 실험 설계
- [0230] 폰 프라이 시험 (통각에 대한 전형적 검정)을 위해 또 다른 코호트를 사용하였다. 각각의 마우스의 발 회피 역치를 도 22에 제시된 바와 같이 약물 주사 전 및 약물 주사 30, 60, 90 및 120분 후에 샘플링하였다.
- [0231] 방법 및 물질
- [0232] 동물 및 수용 조건
- [0233] C57BL/6J 수컷 마우스를 동물 룸 내 폴리술폰 환기 케이지 (얼터너티브 디자인, 미국 아칸소주)에서 먹이 및 물을 자유롭게 이용가능하게 하면서 군별 수용하였다 (케이지당 5마리 마우스). 콜로니를 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 12/12시간 명/암 주기로 유지시켰고, 모든 행동 연구는 암 주기 동안 수행될 것이다. 본 연구에 사용된 모든 동물은 성체 마우스였다 (적어도 8주령).
- [0234] 약물 투여
- [0235] 마우스는 무작위로 2개의 군으로 배정하였다:
- [0236] 군 1: PBS 대조군; 및
- [0237] 군 2: 탄닌산 (15 mg/kg)
- [0238] 군 1의 각각의 마우스에게 비히클 대조군으로서 PBS의 급성 투여를 i.p. 주사에 의해 제공하였다. 군 2의 각각의 마우스에게 탄닌산의 급성 투여를 제공하였다 (머크 밀리포어, 독일; PBS 중에 용해됨 15 mg/kg, i.p.).
- [0239] 결과
- [0240] 마우스에서의 탄닌산 주사의 진통 효과
- [0241] 기준선에서는, 군 사이에 어떠한 차이도 발견되지 않았다. PBS 대조군과 비교하여, 군 2의 역치는 도 19에 제시된 바와 같이 약물 주사 30분, 60분 및 90분 후에 유의하게 더 높았다.
- [0242] 실시예 6. 상이한 탄닌산 조성물의 비교
- [0243] 상이한 공급업체로부터의 3종의 상업적 탄닌산의 조성 및 D-아미노산 옥시다제 (DAAO)에 대한 억제 활성을 비교하였다.
- [0244] 실험 설계
- [0245] 3종의 상업적 탄닌산의 조성을 HPLC에 의해 결정하고, D-AAO에 대한 억제 활성을 실시예 1에 예시된 방법에 의해 결정하였다.
- [0246] 방법 및 물질
- [0247] HPLC 조건
- [0248] - 기기: 애질런트 1260 칼럼: 아틀란티스 T3 150*4.6mm, 30 μm
- [0249] - 이동상 A: 물 + 0.1% 트리플루오로아세트산
- [0250] - 이동상 B: 메탄올:아세트니트릴 2:8 (v/v)
- [0251] - 칼럼 온도: 25°C
- [0252] - 검출기: DAD 280 nm
- [0253] - 유량: 1.5 mL/분
- [0254] - 샘플 제제: 10 mg/mL
- [0255] - 주입 부피: 10 μL

[0256] - 희석제: 물

[0257] - 구매:

[0258]

[0259]

[0260]

[0261]

[0262]

[0263]

[0264]

시간 (분)	0	10	25	26	34	36	40
A%	100	81	78	75	73	5	5
B%	0	19	22	25	27	95	95

결과

조성:

상이한 식물 공급원으로부터의 3종의 탄닌산의 HPLC 크로마토그램을 도 20-22에 예시한다.

DAAO에 대한 억제 활성:

DAAO에 대한 3종의 상업적 탄닌산의 억제 활성 및 그의 조성을 표 5에 예시한다.

표 5. 상이한 식물 공급원으로부터의 3종의 상업적 탄닌산의 억제 활성

식물 공급원	<i>퀘르쿠스 인펙토리아</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 키넨시스</i>
공급업체	공급업체 #1	공급업체 #2	공급업체 #3
IC ₅₀ (μg/ml)	0.601	0.424	0.336
IC ₅₀ 표준 오차	0.007	0.005	0.006
2-5G%	50.86%	16.32%	7.25%
6-12G%	49.14%	83.68%	92.76%
8-12G%	21.17%	61.19%	78.16%

[0265]

[0266]

[0267]

[0268]

[0269]

[0270]

[0271]

[0272]

[0273]

[0274]

[0275]

[0276]

루스 키넨시스로부터 추출된 탄닌산은 퀘르쿠스 인펙토리아로부터의 탄닌산보다 훨씬 더 높은 백분율의 6-12G 및 훨씬 더 낮은 2-5G 백분율을 가졌다.

실시에 7. 비교를 위한 상이한 식물 공급원의 오배자로부터의 탄닌산의 추출

탄닌산을 표시된 바와 같은 상이한 식물 공급원의 오배자로부터 추출하고, D-아미노산 옥시다제 (DAAO)에 대한 그의 억제 활성을 조사하였다.

방법

오배자 분쇄 방법

적합한 식물 공급원 (하기 표 6 참조)으로부터의 탄닌산 생산 오배자를 기계 분쇄기에 의해 밀링하고, 40-메쉬 체를 통해 통과시켜 미세한 오배자 분말을 생산하였다.

미세한 오배자 분말 추출 방법

미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 적합한 용매 (예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, 메틸 에틸 케톤 (MEK), 에틸 아세테이트 (EtOAc), 에탄올 (EtOH), 이소프로판올, 테트라히드로푸란, 또는 1,4-디옥산) 200.0 mL 중에 넣었다. 이에 따라 형성된 혼합물을 RT 또는 40°C에서 밤새 교반하였다. 생성된 용액을 여과하고, 여과물을 진공 하에 농축시켜 탄닌산을 함유하는 조성물을 생성하였다.

결과

DAAO에 대한 억제 활성:

상기 방법에 따른, 상이한 식물 공급원의 오배자로부터 추출된 탄닌산의 DAAO에 대한 억제 활성을 표 6에 예시한다. 다양한 직경의 오배자 및 그의 DAAO IC₅₀의 비교를 도 23에 예시한다.

[0277] 표 6. 상이한 식물 공급원의 오배자로부터 추출된 탄닌산의 억제 활성

식물 공급원	<i>케르쿠스 인펙토리아</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 포타니니이</i>	<i>루스 포타니니이</i>
오배자 직경	3-4 cm	3-4 cm	6-7 cm	4-5 cm	6-7 cm
추출 용매	MEK	MEK	MEK	MEK	MEK
추출 온도	RT	RT	RT	RT	RT
IC ₅₀ (μg/ml)	0.679	0.393-0.424	0.441-0.553	0.560-0.724	0.718

[0278]

[0279]

표 6 및 도 23에 예시된 바와 같이, 루스 키넨시스로부터의 오배자 또는 루스 포타니니이로부터의 오배자는 케르쿠스 인펙토리아로부터의 오배자보다 DAAO에 대해 더 낮은 IC₅₀을 가졌다 (보다 강한 억제). 또한, 루스 키넨시스 (직경 3-4 cm) 및 루스 포타니니이 (직경 4-5 cm)로부터의 보다 작은 오배자는 동일한 식물 공급원으로부터의 보다 큰 (직경 6-7 cm) 오배자와 비교하여 더 낮은 IC₅₀을 가졌다.

[0280]

실시예 8. 상이한 식물 공급원의 오배자로부터 추출된 탄닌산의 풍부화 방법

[0281]

본원에 제시된 각각의 식물 공급원의 오배자로부터 추출된 탄닌산을 하기 기재된 바와 같이 풍부화하였다. DAAO에 대한 그의 억제 활성을 조사하였다.

[0282]

풍부화 방법 1

[0283]

미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 적합한 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 200.0 mL 중에 넣고, 이에 따라 형성된 혼합물을 RT 또는 40℃에서 12시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을 여과하고, 여과물을 진공 하에 농축시켜 탄닌산을 함유하는 조성물을 형성하였다. 조성물을 50 또는 30% 메틸 에틸 케톤/헥산 용액 (헥산 중 50% 또는 30% 메틸 에틸 케톤) 50.0 mL와 혼합하였다. 이에 따라 형성된 혼합물을 추가로 RT에서 12시간 동안 교반하고, 생성된 2개의 유기 층을 분리하였다. 보다 유성인 층 (하부 층)을 진공 하에 농축시켜 조 고체를 생산하였다. 고체를 적합한 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 50.0 mL 중에 용해시키고, 생성된 용액을 목탄 (1.6 g)과 혼합하였다. 생성된 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하고, CaSO₄ 또는 MgSO₄ (2.5 g)를 혼합물에 첨가하였다. 이에 따라 형성된 혼합물을 추가로 RT에서 30분 동안 교반하고, 셀라이트 층을 통해 여과하고, 적합한 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하고, 진공 하에 농축시켰다. 생성된 고체 (탄닌산 함유)를 아세톤 또는 에틸 아세테이트 (12.0 mL) 중에 용해시킨 다음, 이에 따라 형성된 용액을 교반하고 CH₂Cl₂ (72.0 mL)와 적가 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 고체를 생산하였다.

[0284]

풍부화 방법 2

[0285]

미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 적합한 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올) 200.0 mL 중에 넣고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 이에 따라 형성된 용액을 여과하고, 여과물을 수집하고, 헥산 200.0 mL와 혼합하였다. 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하고, 생성된 2개의 유기 층을 분리하였다. 보다 유성인 층 (하부 층)을 진공 하에 농축시키고, 이에 따라 수득된 고체를 적합한 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올 등) 50.0 mL 중에 용해시켰다. 생성된 용액을 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, 추가로 RT에서 12시간 동안 교반하였다. 이에 따라 수득된 혼합물을 추가로 CaSO₄ 또는 MgSO₄ (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트 층을 통해 여과하고, (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 에탄올 등) (100 mLx2)로 세척하고, 진공 하에 농축시켰다. 이에 따라 수득된 조 잔류물을 아세톤 또는 에틸 아세테이트 (12.0 mL) 중에 용해시키고, 이에 따라 형성된 용액을 교반하고 CH₂Cl₂ (72.0 mL)와 천천히 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 생산하였다.

[0286]

풍부화 방법 3

[0287]

미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 200.0 mL 중에 넣고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을 여과하고, 여과물을 수집하였다. 이어서 여과물을

200.0 mL 헥산에 첨가하였다. 이에 따라 형성된 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하고, 생성된 2개의 유기 층을 분리하였다. 보다 유성인 층 (하부 층)을 수집하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 40.0 mL 및 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, 생성된 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 추가로 CaSO_4 또는 MgSO_4 (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하고, 셀라이트 층을 통해 여과하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하였다. 이에 따라 수집된 여과물을 진공 하에 농축시키고, 생성된 고체 물질을 아세톤 또는 에틸 아세테이트 (12.0 mL) 중에 용해시켰다. 이에 따라 형성된 용액을 교반하고 CH_2Cl_2 (72.0 mL)와 적가 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 형성하였다.

[0288] 풍부화 방법 4

[0289] 미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 200.0 mL 중에 넣어 혼합물을 형성하고, 이를 RT에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 추가로 CaSO_4 또는 MgSO_4 (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하고, 셀라이트 층을 통해 여과하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하였다. 여과물을 진공 하에 농축시키고, 생성된 잔류물을 아세톤 또는 에틸 아세테이트 (12.0 mL) 중에 용해시키고, 이에 따라 형성된 용액을 교반하고, CH_2Cl_2 (72.0 mL)와 천천히 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 생산하였다.

[0290] 풍부화 방법 5

[0291] 미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 200.0 mL 중에 넣고, 이에 따라 형성된 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 추가로 CaSO_4 또는 MgSO_4 (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트 층을 통해 여과하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하였다. 여과물을 약 10~15 mL로 농축시키고, 생성된 용액을 CH_2Cl_2 (60~90 mL)와 적가 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 형성하였다.

[0292] 풍부화 방법 6

[0293] 미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 200.0 mL 중에 넣고, 이에 따라 형성된 용액을 RT에서 12시간 동안 교반한 다음, 여과하였다. 여과물을 수집하고, 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 추가로 CaSO_4 또는 MgSO_4 (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하였다. 이어서 생성된 혼합물을 셀라이트 층을 통해 여과하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하고, 합한 여과물을 진공 증발에 의해 농축시켰다. 이에 따라 형성된 조 고체를 아세톤 또는 에틸 아세테이트 (12.0 mL) 중에 용해시키고, 용액을 교반하고, CH_2Cl_2 (72.0 mL)와 천천히 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 수득하였다.

[0294] 풍부화 방법 7

[0295] 미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 50% 또는 30% 메틸 에틸 케톤/헥산 50.0 mL 중에 넣고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 여과하고, 고체를 수집하였다. 이어서 고체를 200.0 mL 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올)와 혼합하였다. 이에 따라 형성된 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하고, 여과하고, 여과물을 수집하였다. 이어서 여과물을 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 추가로 CaSO_4 또는 MgSO_4 (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하고, 셀라이트 층을 통해 여과하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하고, 여과물을 진공 증발에 의해 농축시켰다. 이에 따라 수득된 잔류물을 아세톤 또는 에틸 아세테이트 (12 mL) 중에 용해시킨 다음, 용액을 교반하고, CH_2Cl_2 (72.0 mL)와 적가 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 생산하였다.

[0296] 풍부화 방법 8

[0297] 미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 50 또는 30% 메틸 에틸 케톤/헥산 50 mL 중에 넣고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 용액을 여과하고, 수집된 고체를 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 200.0 mL와 혼합하였다. 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하고, 여과하고, 수집된 여과물을 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 추가로 CaSO_4 또는 MgSO_4 (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하였다. 이어서 혼합물을 셀라이트 층을 통해 여과하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하고, 여과물을 약 10~15 mL로 농축시켰다. 잔류 용액을 CH_2Cl_2 (60~90 mL)와 천천히 혼합하고, 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 생산하였다.

[0298] 풍부화 방법 9

[0299] 미세한 오배자 분말 (20.0 g)을 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 200.0 mL 중에 넣고, 40~45℃에서 12시간 동안 교반하였다. 용액을 여과하고, 수집된 여과물을 헥산 200.0 mL 중에 넣었다. 이에 따라 형성된 혼합물을 RT에서 12시간 동안 교반하고, 2개의 생성된 유기 층을 분리하였다. 보다 유성인 층 (하부 층)을 수집하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) 40.0 mL와 혼합하고, 이에 따라 형성된 용액을 목탄 (1.6 g)과 혼합하고, RT에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 추가로 CaSO_4 또는 MgSO_4 (2.5 g)와 혼합하고, RT에서 30분 동안 교반하였다. 이어서 혼합물을 셀라이트 층을 통해 여과하고, 용매 (아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸 아세테이트, 또는 에탄올) (100 mLx2)로 세척하고, 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 이에 따라 형성된 잔류물을 아세톤 또는 에틸 아세테이트 (12 mL) 중에 용해시킨 다음, 용액을 교반하고, CH_2Cl_2 (72.0 mL)와 적가 혼합하였다. 이에 따라 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 진공 하에 40~45℃에서 2시간 동안 건조시켜 풍부화된 탄닌산 조성물을 생산하였다.

[0300] 결과

[0301] DAAO에 대한 억제 활성:

[0302] 상이한 식물 공급원의 오배자로부터 추출된, 상이하게 풍부화된 탄닌산의 DAAO에 대한 억제 활성을 표 7 및 8에 예시한다.

[0303] 표 7. 상이한 식물 공급원의 오배자로부터 추출된, 풍부화된 탄닌산의 억제 활성 - 1

식물 공급원	<i>캐르쿠스 인팩토리아</i>	<i>캐르쿠스 인팩토리아</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 키넨시스</i>	<i>루스 키넨시스</i>
오배자 직경	3-4 cm	3-4 cm	4-5 cm	4-5 cm	4-5 cm	4-5 cm	4-5 cm	4-5 cm
추출 용매	MEK	MEK	MEK	MEK	MEK	MEK	MEK	EtOH
추출 온도	RT	RT	RT	RT	RT	RT	RT	RT
풍부화 방법	없음	1	없음	1	2	3	7	1
IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	0.679	0.626	0.428	0.373	0.338	0.319	0.389	0.384

[0304]

[0305] 표 7에 제시된 바와 같이, 본원에 기재된 제조 방법 중 임의의 것에 의한 모든 풍부화된 탄닌산은 풍부화되지 않은 것 (단지 직접 추출, 2-5개의 갈로일 모이어티를 갖는 탄닌산 제거 부재, 목탄 및 CaSO_4 또는 MgSO_4 에 의한 처리 부재, 및/또는 제2 용매 및 메틸렌 클로라이드에 의한 추가 처리 부재)보다 더 낮은 IC₅₀ 값을 나타내었다 (보다 강한 억제를 나타냄). 또한, 풍부화 방법 2 및 3은 방법 1 및 7과 비교하여 DAAO에 대해 가장 낮은 IC₅₀ 활성을 갖는 풍부화된 탄닌산을 제공하였고, 풍부화 방법 3은 풍부화 방법 2보다 더 낮은 IC₅₀ 값을 갖는 풍부화된 탄닌산을 제공하였다. 또한, 풍부화 방법 1에 따른 EtOH에 의한 추출로부터의 탄닌산은 동일한 풍부화 방법에 따른 MEK에 의한 것보다 약간 더 약한 억제를 나타내는 것으로 제시되었다.

[0306] 표 8. 상이한 식물 공급원의 오배자로부터 추출된, 풍부화된 탄닌산의 억제 활성 - 2

식물 공급원	루스 키네티스	루스 키네티스	루스 키네티스	루스 키네티스
오배자 직경	4-5 cm	4-5 cm	4-5 cm	4-5 cm
추출 용매	MEK	MEK	MEK	EtOAc
추출 온도	RT	40°C	40°C	40°C
풍부화 방법	없음	없음	3	3
IC ₅₀ (μg/ml)	0.428	0.449	0.361	0.337

[0307]

[0308] 표 8에 예시된 바와 같이, 풍부화 방법 3에 따른 40°C의 추출 온도에서의 에틸 아세테이트 (EtOAc)에 의한 추출은, 각각 실온에서의 MEK에 의한 추출, 40°C에서의 MEK에 의한 추출, 및 풍부화 방법 3에 따른 40°C에서의 MEK에 의한 추출보다 DAAO에 대해 훨씬 더 낮은 IC₅₀을 갖는 풍부화된 탄닌산을 제공하였다. 또한, 표 6 및 8에 제시된 바와 같이, 6 cm 이하의 직경을 갖는 루스 키네티스로부터의 오배자는 6 cm 초과와 것보다 더 낮은 IC₅₀ 값을 나타내었다.

[0309]

다른 실시양태

[0310]

본 명세서에 개시된 모든 특색은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특색은 동일하거나, 동등하거나, 또는 유사한 목적을 제공하는 대안적인 특색으로 대체될 수 있다. 따라서, 달리 명백하게 언급되지 않는 한, 개시된 각각의 특색은 단지 일반적인 일련의 동등하거나 유사한 특색의 예이다.

[0311]

상기 설명으로부터, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용의 본질적인 특징을 용이하게 확인할 수 있고, 그의 취지 및 범주로부터 벗어나지 않으면서, 본 개시내용을 다양하게 변화 및 변형시킴으로써 다양한 용법 및 조건에 맞게 적합화할 수 있다. 따라서, 다른 실시양태도 또한 청구범위 내에 포함된다.

[0312]

등가물

[0313]

여러 본 발명의 실시양태가 본원에 기재되고 예시되어 있지만, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 기재된 기능을 수행하고/거나 결과 및/또는 하나 이상의 이점을 획득하기 위한 다양한 다른 수단 및/또는 구조를 용이하게 구상할 것이고, 각각의 이러한 변경 및/또는 변형은 본원에 기재된 본 발명의 실시양태의 범주 내에 있는 것으로 간주된다. 보다 일반적으로, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 기재된 모든 파라미터, 치수, 물질 및 구성이 예시적인 것으로 의도되고, 실제 파라미터, 치수, 물질 및/또는 구성은 본 발명의 교시가 사용되는 구체적인 적용 또는 적용들에 따라 좌우될 것임을 용이하게 인지할 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 단지 상용 실험을 사용하여, 본원에 기재된 구체적인 본 발명의 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 따라서, 상기 실시양태는 단지 예로서 제시된 것이고, 첨부된 청구범위 및 그에 대한 등가물의 범주 내에서, 본 발명의 실시양태가 구체적으로 기재되고 청구된 바와 달리 실시될 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 본 개시내용의 본 발명의 실시양태는 본원에 기재된 각각의 개별 특색, 시스템, 물품, 물질, 키트 및/또는 방법에 관한 것이다. 또한, 이러한 특색, 시스템, 물품, 물질, 키트 및/또는 방법이 상호 불일치하지 않는 경우, 2종 이상의 이러한 특색, 시스템, 물품, 물질, 키트 및/또는 방법의 임의의 조합이 본 개시내용의 발명의 범주 내에 포함된다.

[0314]

본원에서 정의되고 사용된 모든 정의는 사전적인 정의, 참조로 포함된 참고문헌의 정의, 및/또는 정의된 용어의 통상적인 의미보다 우선하는 것으로 이해되어야 한다.

[0315]

본원에 개시된 모든 참고문헌, 특허 및 특허 출원은 각각 인용된 대상과 관련하여 참조로 포함되고, 일부 경우에 이는 그 문헌의 전체를 포괄할 수 있다.

[0316]

명세서 및 청구범위에서 본원에 사용된 부정 관사는, 달리 명백하게 나타내지 않는 한, "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0317]

명세서 및 청구범위에서 본원에 사용된 어구 "및/또는"은 그렇게 결합된 요소, 즉 일부 경우에는 결합하여 존재하고 다른 경우에는 분리되어 존재하는 요소 중 "어느 하나 또는 둘 다"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. "및/또는"과 함께 열거된 다중 요소는 동일한 방식으로, 즉 그렇게 결합된 요소 중 "하나 이상"으로 해석되어야 한다. 다른 요소는 구체적으로 확인되는 요소와 관련되는지 비관련되는지에 관계없이 "및/또는" 절에 의해 구

체적으로 확인되는 요소 외에 임의로 존재할 수 있다. 따라서, 비제한적 예로서, "A 및/또는 B"에 대한 언급은 "포함하는"과 같은 개방형 언어와 함께 사용될 때, 한 실시양태에서 A만 (임의로 B 이외의 요소를 포함함); 또 다른 실시양태에서 B만 (임의로 A 이외의 요소를 포함함); 또 다른 실시양태에서 A 및 B 둘 다 (임의로 다른 요소를 포함함) 등을 지칭할 수 있다.

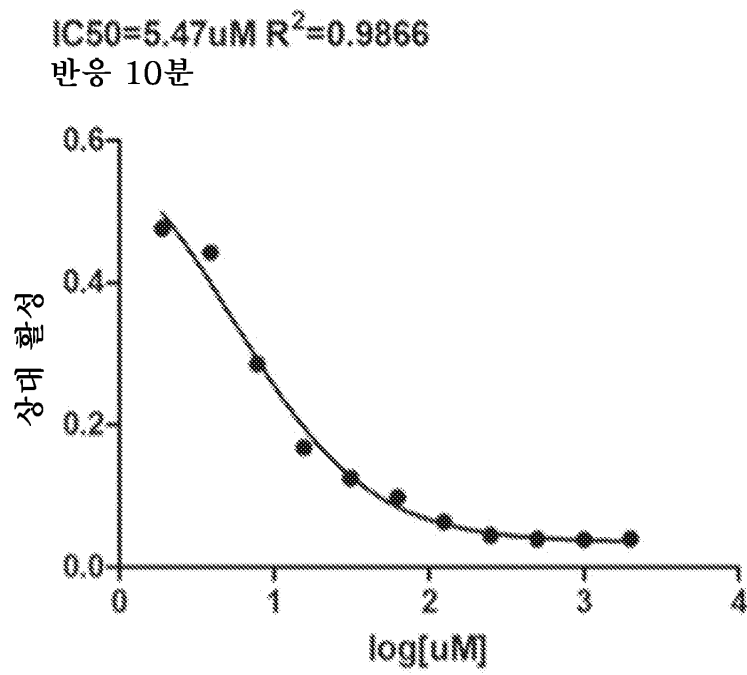
[0318] 명세서 및 청구범위에서 본원에 사용된 "또는"은 상기 정의된 "및/또는"과 동일한 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 목록에서 항목을 분리하는 경우에, "또는" 또는 "및/또는"은 포함하는 것으로, 즉 다수의 요소 또는 요소의 목록 중, 적어도 하나를 포함할 뿐만 아니라, 하나 초과, 및 임의로, 추가의 열거되지 않은 항목을 포함하는 것으로 해석될 것이다. "중 오직 하나" 또는 "중 정확하게 하나" 또는 청구범위에서 사용될 때 "로 이루어진"과 같이 달리 명백하게 나타내어진 용어만이 다수의 요소 또는 요소의 목록 중 정확하게 한 요소를 포함하는 것으로 지칭될 것이다. 일반적으로, 본원에서 사용된 용어 "또는"은 "어느 하나", "중 하나", "중 오직 하나" 또는 "중 정확하게 하나"와 같은 배제적 용어가 이어질 때에만 표시되는 배제적 대안 (즉, "둘 다가 아닌 하나 또는 다른 것")을 나타내는 것으로 해석될 것이다. "로 본질적으로 이루어진"이 청구범위에 사용될 때, 특허법 영역에서 사용되는 바와 같은 그의 통상의 의미를 가질 것이다.

[0319] 하나 이상의 요소의 목록과 관련하여 명세서 및 청구범위에서 본원에 사용된 어구 "적어도 하나"는 요소의 목록의 요소 중 어느 하나 이상으로부터 선택된 적어도 하나의 요소를 의미하지만, 요소의 목록 내에 구체적으로 열거된 각각의 및 모든 요소 중 적어도 하나를 반드시 포함하는 것은 아니며, 요소의 목록에서 요소의 임의의 조합을 배제하는 것이 아님을 이해해야 한다. 이러한 정의는 또한 어구 "적어도 하나"가 언급하는 요소의 목록 내에서 구체적으로 확인되는 요소 이외의 요소가, 그러한 구체적으로 확인되는 요소와 관련되는지 비관련되는지에 관계없이 임의로 존재할 수 있다는 것을 허용한다. 따라서, 비제한적 예로서, "A 및 B 중 적어도 하나" (또는, 동등하게, "A 또는 B 중 적어도 하나" 또는, 동등하게 "A 및/또는 B 중 적어도 하나")는, 한 실시양태에서, B가 존재하지 않는, 임의로 하나 초과를 포함하는 적어도 하나의 A (및 임의로 B 이외의 요소를 포함함); 또 다른 실시양태에서, A가 존재하지 않는, 임의로 하나 초과를 포함하는 적어도 하나의 B (및 임의로 A 이외의 요소를 포함함); 또 다른 실시양태에서, 임의로 하나 초과를 포함하는 적어도 하나의 A, 및 임의로 하나 초과를 포함하는 적어도 하나의 B (및 임의로 다른 요소를 포함함) 등을 지칭할 수 있다.

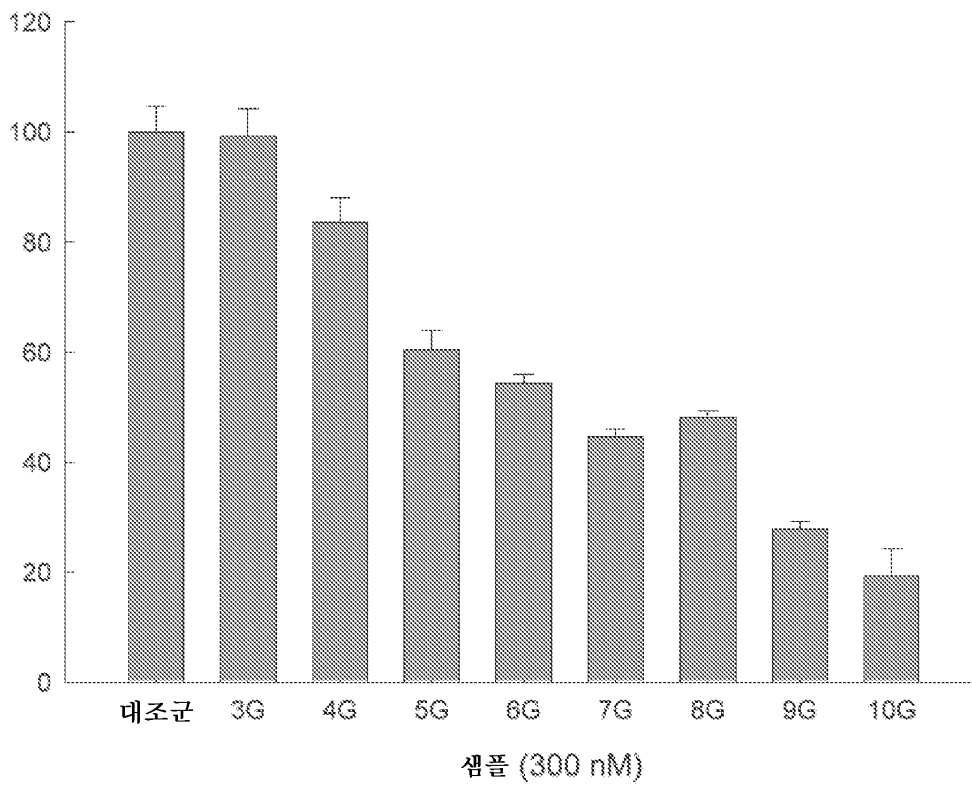
[0320] 달리 명백하게 나타내지 않는 한, 하나를 초과하는 단계 또는 작용을 포함하는 본원에 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 작용의 순서는 반드시 방법의 단계 또는 작용이 언급된 순서에 제한되지는 않는 것으로 또한 이해되어야 한다.

도면

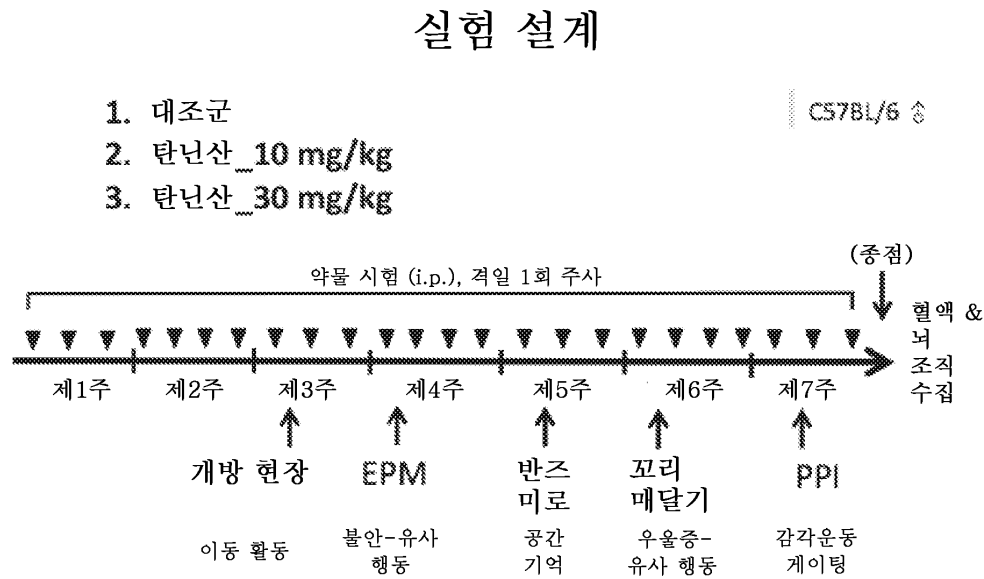
도면1



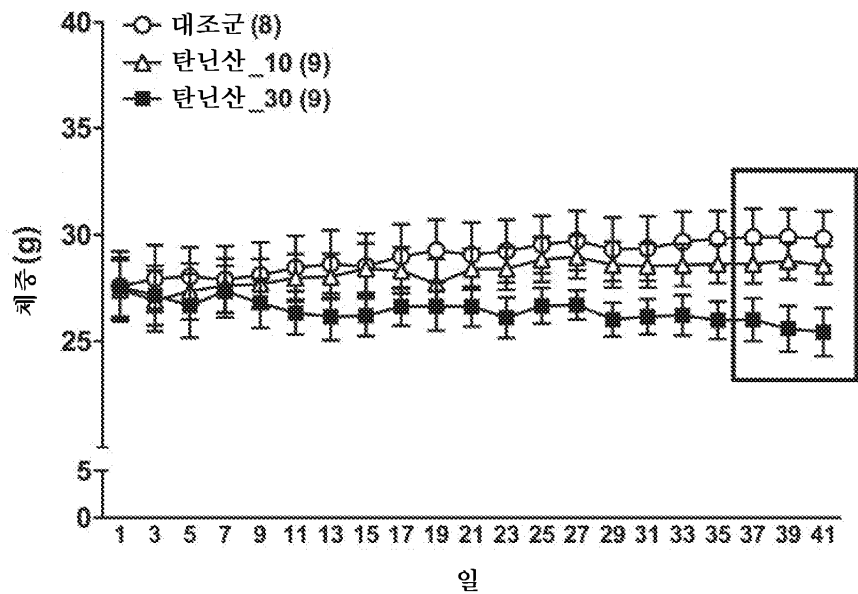
도면2



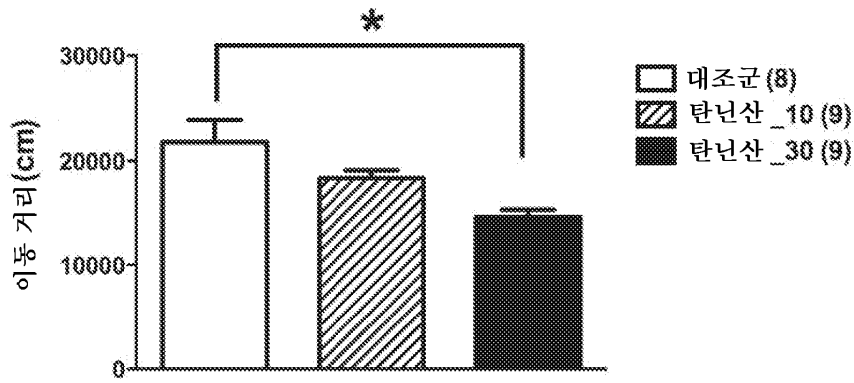
도면3



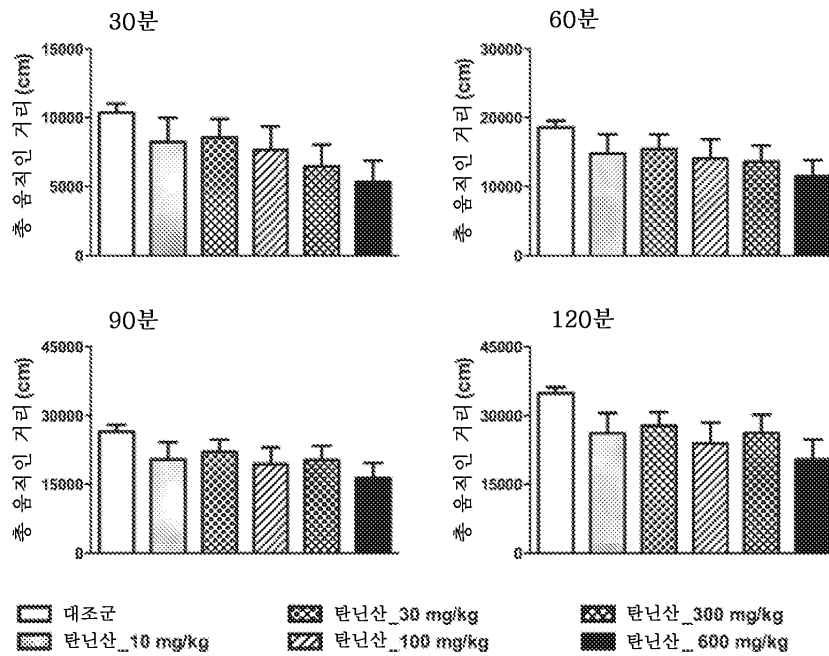
도면4



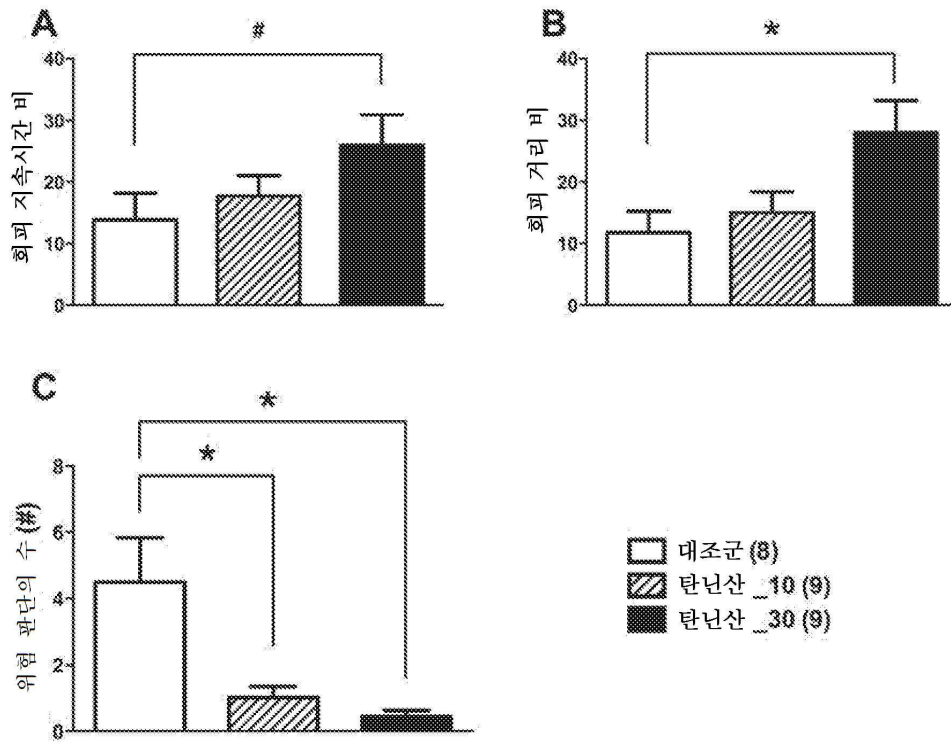
도면5



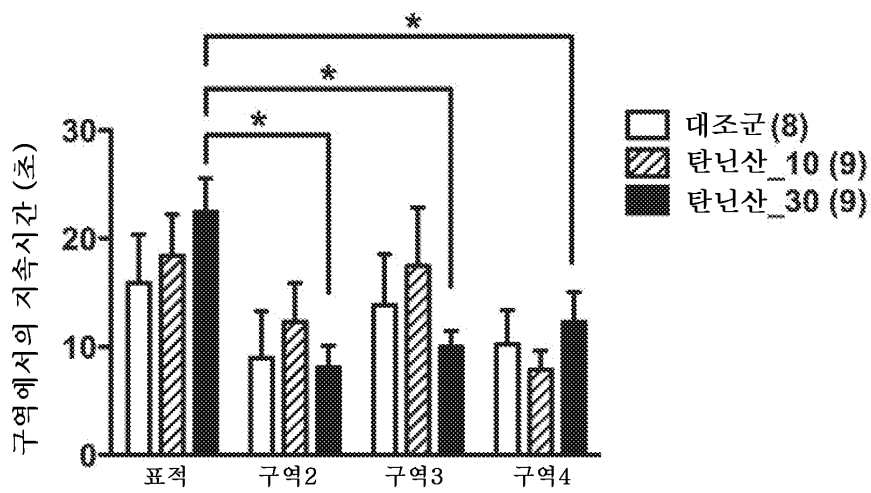
도면6



도면7

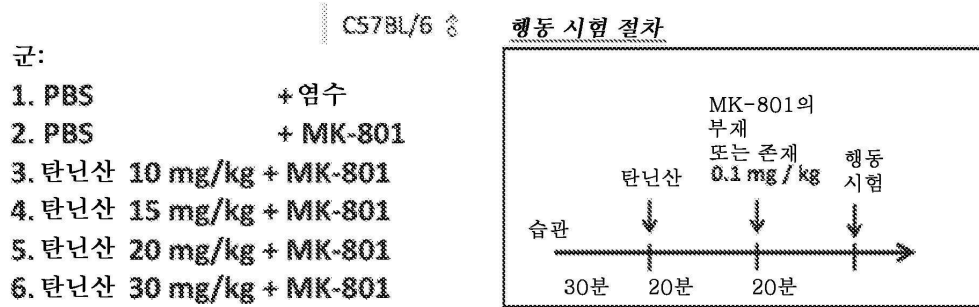


도면8

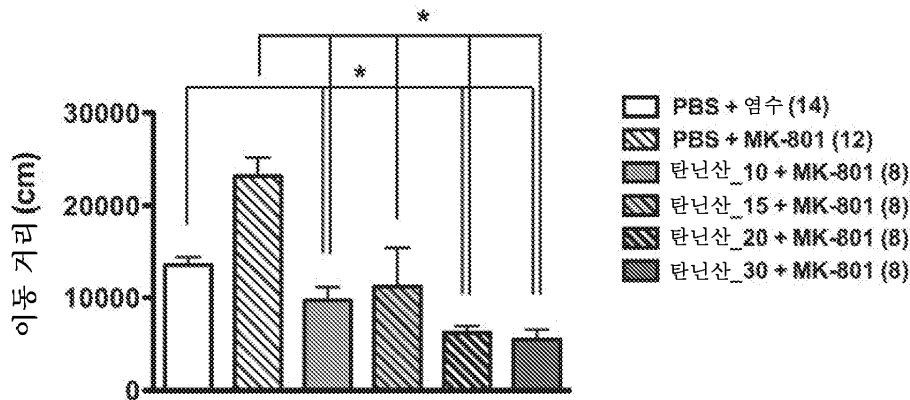


도면9

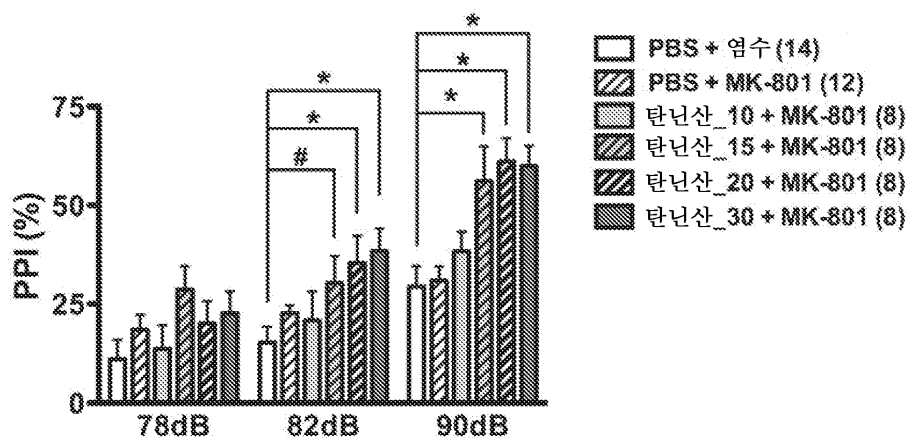
실험 설계



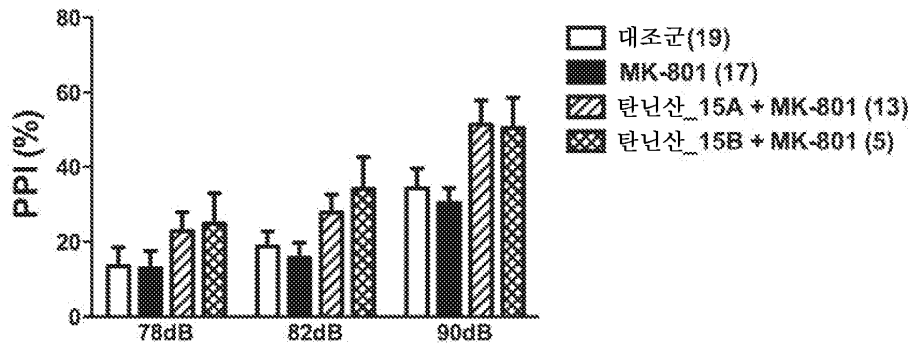
도면10



도면11

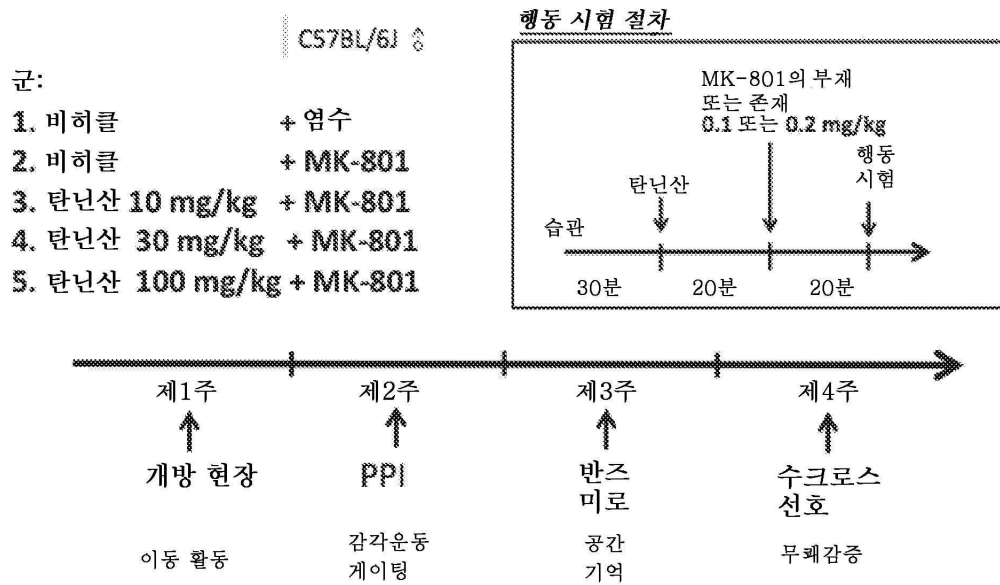


도면12

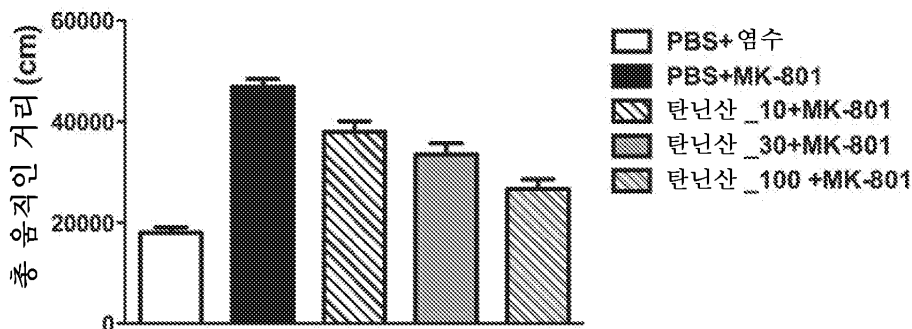


도면13

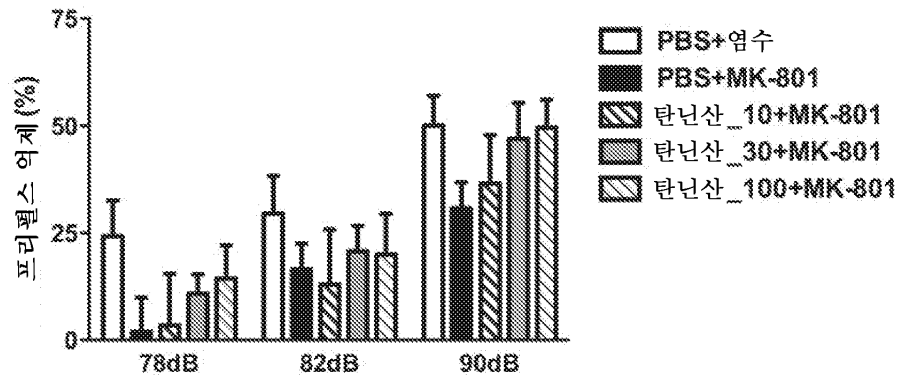
실험 설계



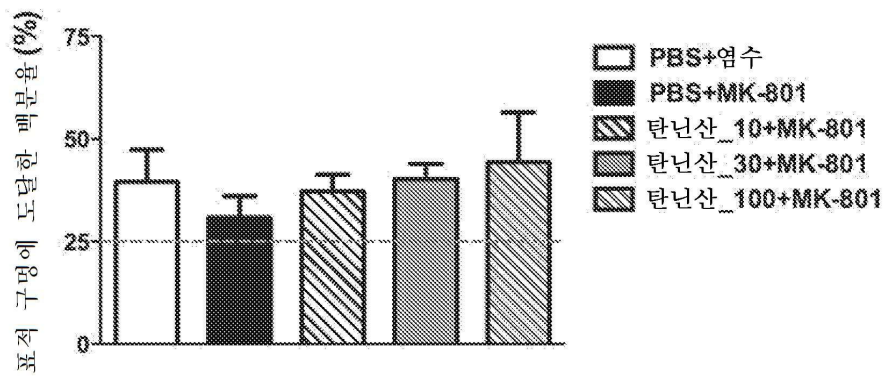
도면14



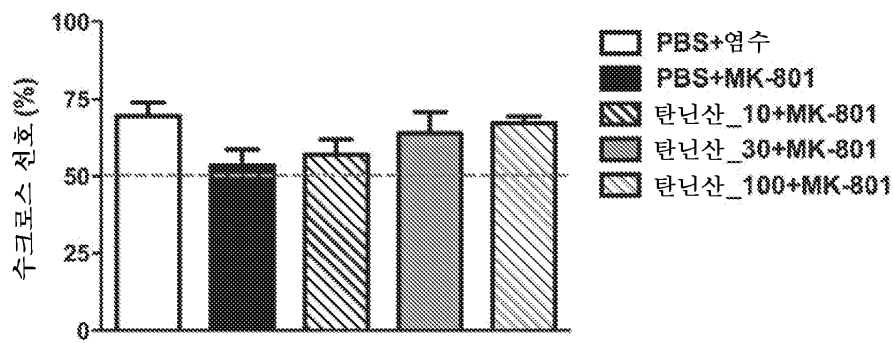
도면15



도면16



도면17



도면18

실험 설계

동물: 8주령 수컷 C57BL/6J 마우스

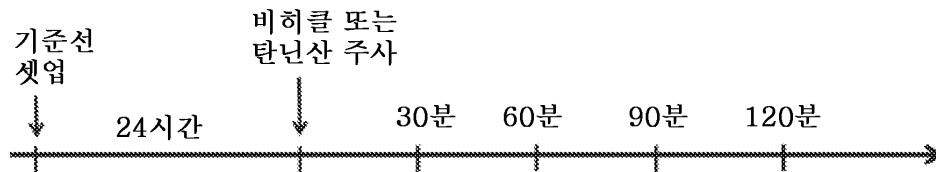
군: 군당 10마리의 수컷

1. PBS 대조군 2. 탄닌산_15 mg/kg

약물 투여 경로: 복강내 주사

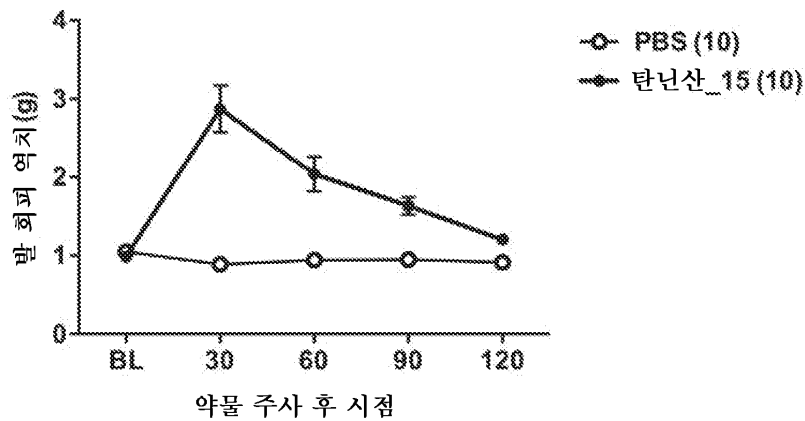
급성 통증 검정: 본 프라이 시험

핫 플레이트 & 본 프라이 시험의 절차:

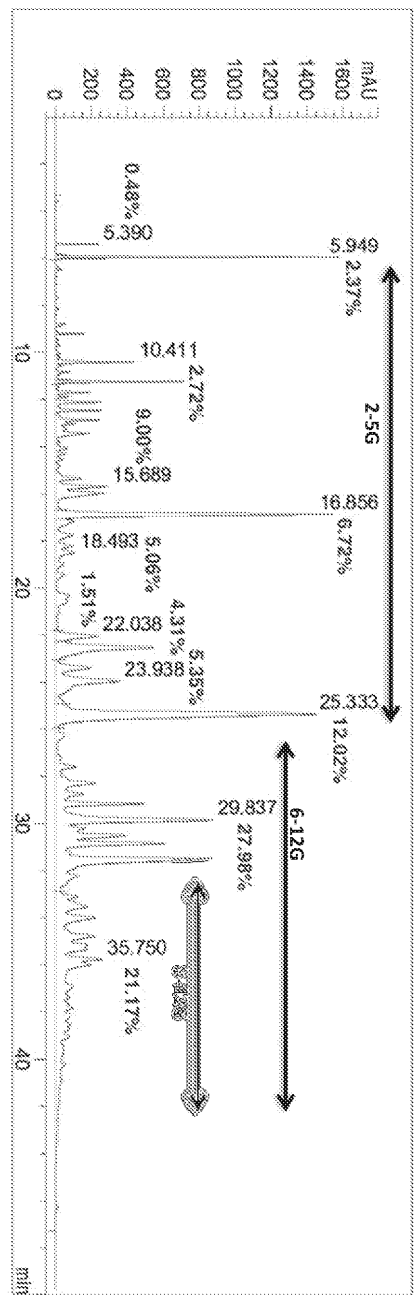


도면19

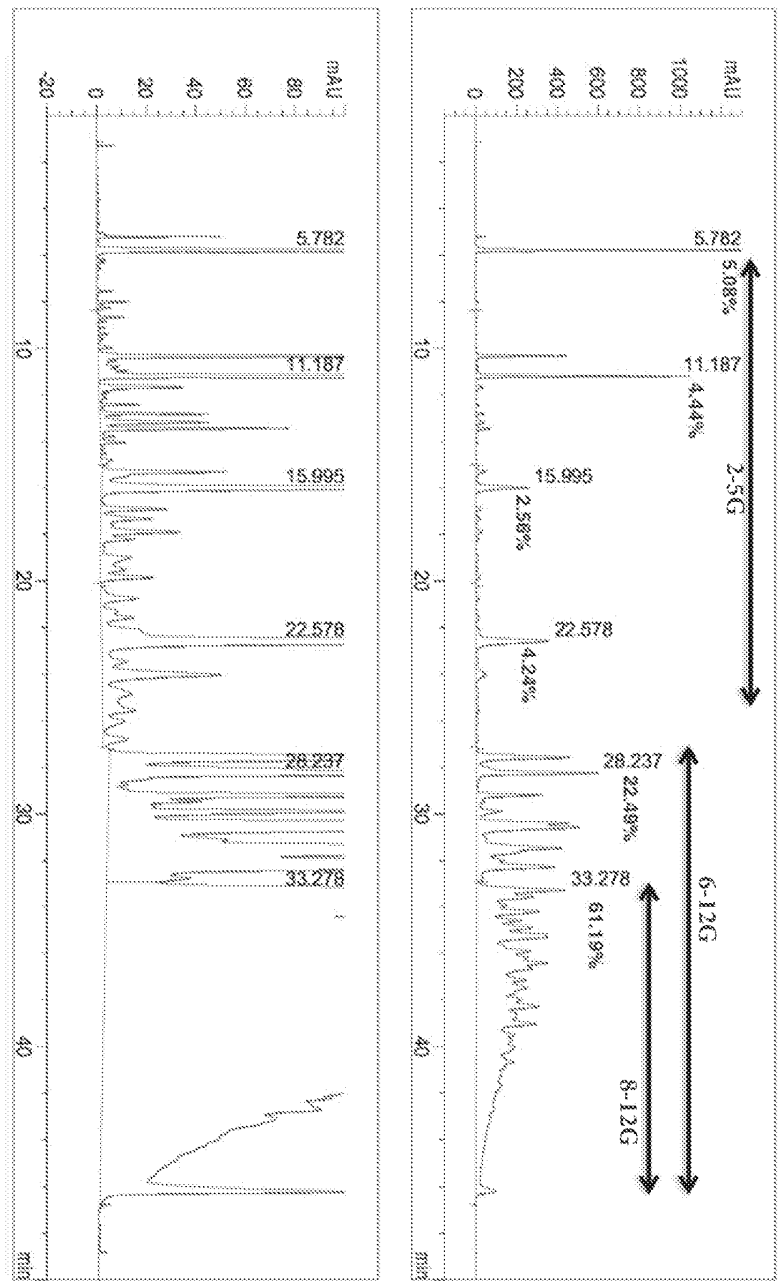
본 프라이



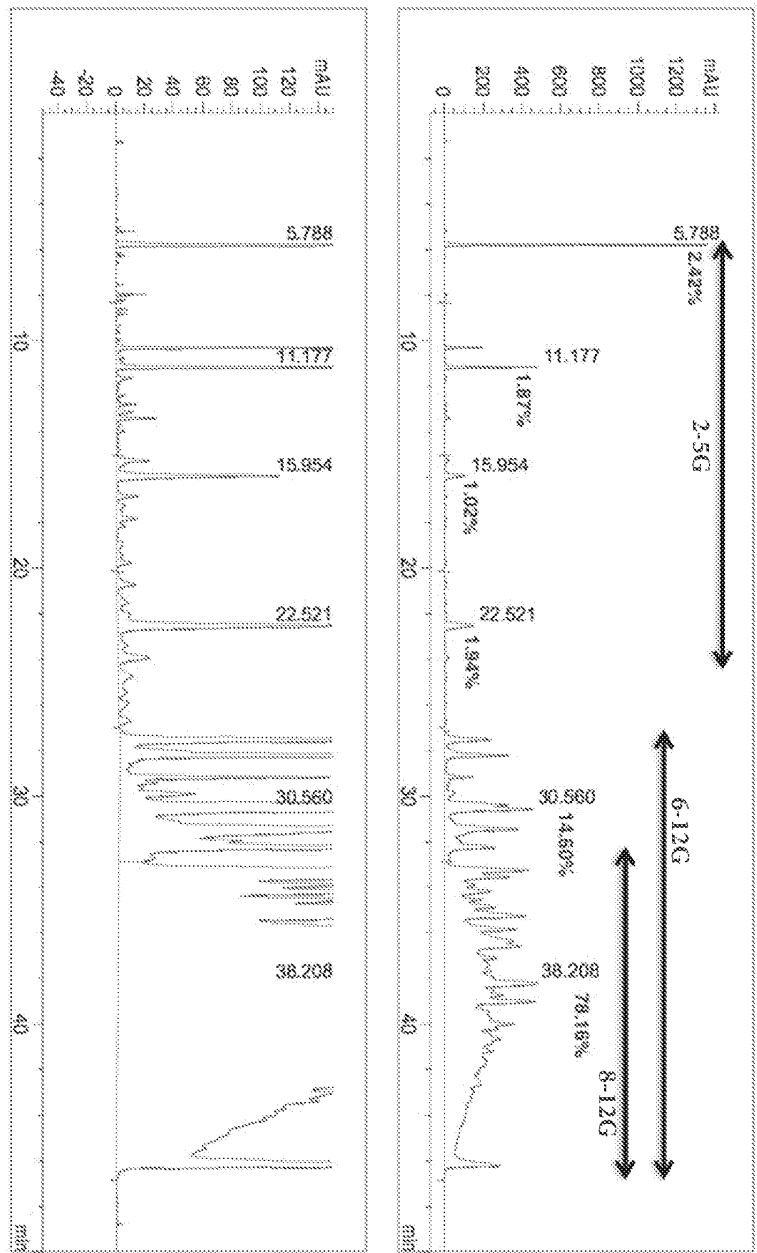
도면20



도면21



도면22



도면23

