(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0077382
(43) 공개일자 2014년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/702 (2006.01) *A61K 31/70* (2006.01)
A61K 31/015 (2006.01) *A61P 25/28* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0146132
(22) 출원일자 2012년12월14일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
(72) 발명자
김동현
서울 성북구 선잠로 92-24, (성북동)
류종훈
서울 강남구 남부순환로 3032, 101동 609호 (대치동, 미도아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

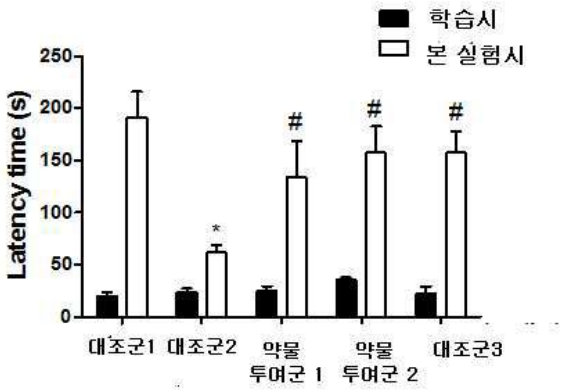
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **란세마사이드 A 또는 이의 대사체를 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 치료용 약학조성물**

(57) 요 약

본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산 또는 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학 조성물은 인지기능 장애 질환을 예방 및 치료하는 조성물로, 기억 및 학습 능력을 효과적으로 향상시켜 혈관성 치매, 알츠하이머성 치매 또는 건망증과 같은 인지기능 장애 질환을 효과적으로 치료 및 예방할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

조은하

대전 서구 신갈마로155번길 7-9, 301호 (갈마동, 록원빌라)

정일훈

경기 안양시 동안구 관악대로 135, 131동 1007호 (비산동, 삼성래미안아파트)

안영제

경북 경주시 황성로27번길 24, 202동 1105호 (황성동, 현대아파트2차)

특허청구의 범위

청구항 1

란세마사이드 A(lancemaside A), 이의 대사체인 에치노 사이트산 (echinocystic acid), 이들의 광학이성질체 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 중 적어도 하나 이상을 포함하는 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 란세마사이드 A는 더덕(*Codonopsis lanceolata*)로부터 수득되는 것인 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 란세마사이드 A는 더덕 뿌리로부터 수득되는 것인 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 란세마사이드 A는 더덕의 메탄올 추출물로부터 수득되는 것인 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 란세마사이드 A는 더덕의 메탄올 추출물의 부탄올 분획 추출물로부터 수득되는 것인 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 6

란세마사이드 A를 함유하는 더덕(*Codonopsis lanceolata*) 추출물을 포함하는 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 7

란세마사이드 A(lancemaside A), 이의 대사체인 에치노 사이트산 (echinocystic acid), 이들의 광학이성질체 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 중 적어도 하나 이상을 포함하는 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 개선용 식품.

청구항 8

란세마사이드 A를 함유하는 더덕(*Codonopsis lanceolata*) 추출물을 포함하는 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매 예방 또는 개선용 식품.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 란세마사이드 A 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 및 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로 본 발명은 기억력 및 학습능력을 향상시켜 혈관성 치매, 알츠하이머성 치매 또는 건망증과 같은 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있는 약학 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 의학 기술의 발달과 생활수준의 향상으로 인간의 평균수명은 지난 반세기동안 두 배 가까이 연장되었으며 이로 인하여 전체인구에 대한 노인 인구의 비율이 급속하게 증가되었다. 사회가 점차 고령화되면서 노인성 치매는 21세기 인류가 해결해야 할 최대의 보건문제로 등장하고 있다. 이에 따라, 치매를 비롯한 인지기능장애의 예방 및

치료가 가능한 기능성 물질 및 식품 등의 개발에 대한 요구가 커지고 있는 실정이다.

[0003] 인지기능장애의 대표적인 질환인 치매는 정상적인 노화와는 구분해야 할 병적인 현상이며 그 원인에 따라 알츠하이머성 치매(Alzheimer'sdisease), 혈관성 치매(vascular dementia), 기타 알콜 중독, 외상, 파킨슨병의 후유증으로 오는 치매로 구별된다.

[0004] 알츠하이머성 치매는 기억의 손실, 불분명한 의식, 시공간 인식의 혼란, 사고력, 계산력, 판단력, 상식 등의 고위 대뇌기능의 장애를 나타내는 일종의 만성 정신퇴행질환으로 보고되어 있다. 알츠하이머형 치매는 비교적 젊은 층에서도 발병하는 사례가 보고된 바 있으며, 65세에서 85세 범위 내에서는 나이가 5세 증가할 때마다 발병률이 2배씩 높아지는 등 노인 인구의 치매 유형 중 가장 흔한 형태로 알려져 있다. 알츠하이머성 치매의 발병기전은 명확히 알려져 있지 않으나, 중추신경계의 아세틸콜린 기능의 감소가 가장 공통적으로 나타나므로, 그 치료를 위해서는 아세틸콜린 전구체를 투여하거나 아세틸콜린의 분해를 저해하는 약물을 투여하여 뇌의 아세틸콜린 농도를 높여주는 치료방법이 사용되어 왔다. 따라서 아세틸콜린에스터라제(이하 'AChE'라 한다) 억제제 단독으로 또는 기존의 콜린 에스터라제 억제제와 병용한 약물들이 그 치료제로 사용되고 있으며, 대표적인 약물로는 타크린(tacrine), 도네페질 (donepezil), 리바스티그민 (rivastigmine), 갈란타민(galantamine) 등이다. 이들은 모두 아세틸콜린에스테라아제 저해제이나 병의 진행을 늦출 뿐 직접적인 치료에는 별 효과가 없고 또한 발병 초기에 제한된 치료 범위를 가지고 있기 때문에 알츠하이머형 치매의 근본적인 원인을 치료하는 약을 개발하고자 하는 노력이 이루어져 왔다. (Terry and Buccafusco, 2003; Kar et al., 2004; Akhondzadeh et al., 2008; Cummings et al., 2008; Voss et al., 2008)

[0005] 혈관성 치매는 대부분 뇌혈관 동맥경화에 의해 뇌의 여러 곳에 혈액공급이 부족하게 되어 뇌세포에 손상을 입음으로서 발생한다. 혈관성 치매와 상기 알츠하이머성 치매는 발생 원인은 다르지만, 결과적으로 기억력 및 학습능력에 손상이 발생한다는 점에 있어서는 동일하다.

[0006] 이에, 본 발명자들은 치매와 같은 인지기능 장애 질환을 예방 또는 치료하기 위한 효과적인 치료제를 개발하기 위하여 연구하던 중, 기억력 및 학습능력을 효과적으로 증진시킬 수 있는 생약 추출물 및 그 유효 성분을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-2010-0034779

(특허문헌 0002) KR 10-2004-0083414

(특허문헌 0003) KR 10-2003-0062963

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) 2009 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimers Dement(2009). 5(3): p. 234-70

(비특허문헌 0002) Whitehouse, P. J., Price, D. L., Struble, R. G., Clark, A. W., Coyle, J. T., and Delong, M. R. (1982) Alzheimer's disease and senile dementia : loss of neurons in the basal forebrain. Science215, 1237-12392

(비특허문헌 0003) Hyman, B. T., Van Hoesen, G. W., Damasio, A. R., and Barnes, C. L. (1984) Alzheimer's disease : cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. Science225, 1168-11703

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산 (echinocystic acid), 이들의 광학이성질체 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 중 적어도 하나를 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 란세마사이드 A 함유 더덕(*Codonopsis lanceolata*) 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산 (echinocystic acid), 이들의 광학이성질체 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 중 적어도 하나를 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

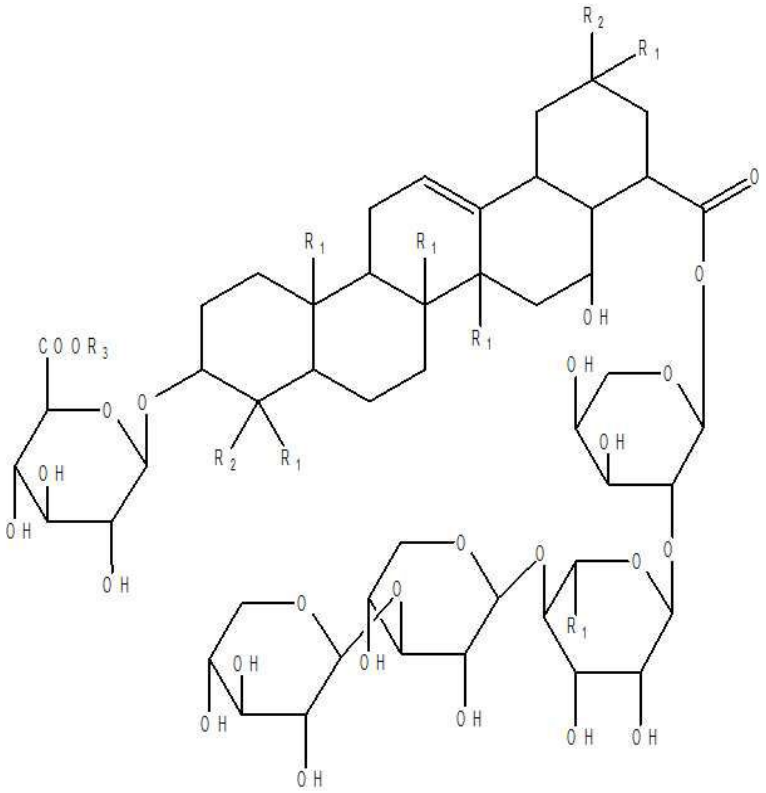
[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산 (echinocystic acid), 이들의 광학이성질체 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 중 적어도 하나를 포함하는 퇴행성 뇌 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 퇴행성 뇌 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 및 치료용 약학 조성물에 대한 것이다.

[0016] [화학식 1]



[0017]

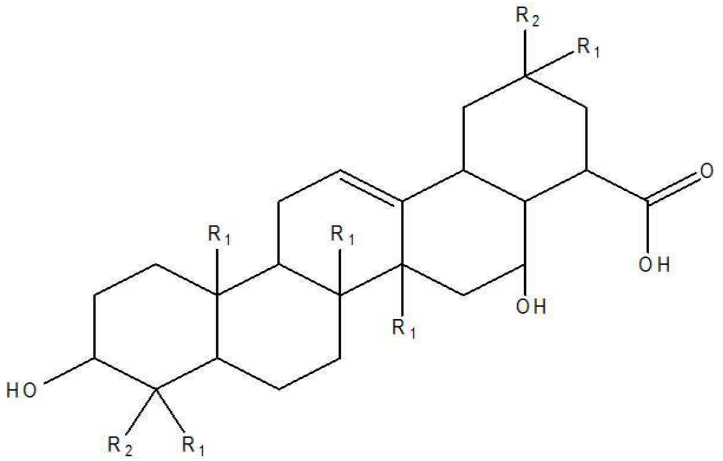
[0018] 상기 화학식 1에서 R1 내지 R3는 독립적으로 -H, C1 내지 C6의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬일 수 있다. 바람직하게는 R_1 및 R_2는 독립적으로 $-CH_3$일 수 있으며, 상기 R_3는 -H일 수 있다.

[0019] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 바람직하게 란세마사이드 A일 수 있다.

[0020] 본 발명은 하기 화학식 2로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을

포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 대한 것이다.

[0021] [화학식 2]

[0022] 

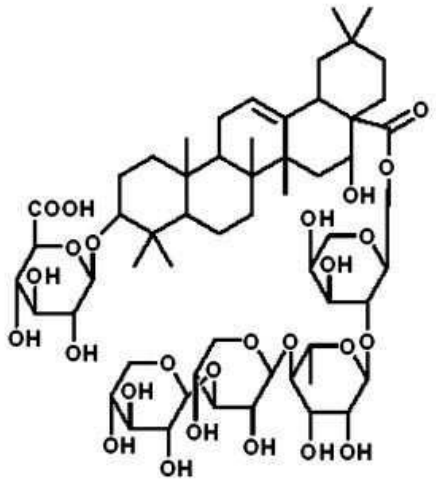
[0023] 상기 화학식 2에서 R_1 및 R_2는 독립적으로 -H, C1 내지 C6의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬일 수 있다. 바람직하게는 R_1 및 R_2는 독립적으로 $-CH_3$일 수 있다.

[0024] 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 에치노 사이트산 (echinocystic acid) 일 수 있다.

[0025] 본 발명은 란세마사이드 A(Lancemaside A), 이의 대사체인 에치노 사이트산 (echinocystic acid), 이들의 광학이성질체 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 중 적어도 하나를 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 대한 것이다.

[0026] 란세마사이드 A는 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물이다.

[0027] [화학식 3]

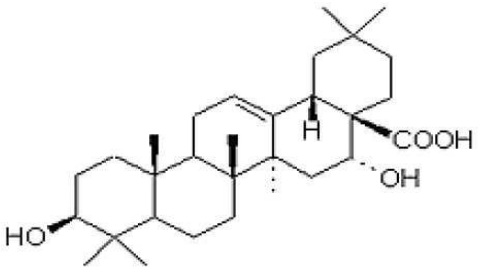
[0028] 

[0029] 상기 화학식 3으로 표시되는 란세마사이드 A 는 인지기능 장애 질환을 예방 또는 치료할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 화학식 3으로 표시되는 란세마사이드 A 는 기억력을 향상시켜 인지기능 장애 질환을 예방 또는 치료할 수 있다. 구체적으로, 상기 란세마사이드 A를 포함하는 약학적 조성물은 기억력 감퇴가 나타나는 건망증, 혈관성 치매 또는 알츠하이머성 치매 등을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0030] 상기 란세마사이드 A는 경구 투여되어 장에 도달하면, 장내 미생물에 의해 대사되어 하기 화학식 4로 표시되는 에치노 사이트산으로 전환(Joh EH, Kim DH. A sensitive liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometric method for lancemaside A and its metabolites in plasma and a pharmacokinetic study in mice. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2010;878(21):1875-80. Joh EH, Gu W, Kim DH.Echinocystic acid ameliorates lung inflammation in mice and alveolar macrophages by inhibiting the binding of LPS to TLR4 in NF-κB and MAPK pathways. Biochem Pharmacol. 2012;84(3):331-40.) 된 후 장을

통해 흡수되어 그 효과를 나타낼 수 있다.

[0031] [화학식 4]



[0032]

[0033] 본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이들의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 혼합물을 포함하는 약학 조성물은 스코폴라민(scopolamine)으로 유도된 기억력 손상 동물 모델에서 학습 증진, 공간지각능력 및 기억력을 높은 수준으로 향상시키는 효과를 나타내는 바, 인지기능장애 질환의 예방 또는 치료에 뛰어난 활성을 나타내며, 특히 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매, 알츠하이머성 치매 및 건망증 개선에 유용하다.

[0034] 상기 화학식 3으로 표시되는 란세마사이드 A은 더덕(*Codonopsis lanceolata*)으로부터 수득될 수 있으며, 바람직하게는 상기 더덕의 뿌리로부터 수득될 수 있다.

[0035] 상기 란세마사이드 A는 더덕 또는 더덕 뿌리의 추출물로부터 수득될 수 있다. 상기 란세마사이드 A는 더덕 또는 더덕 뿌리의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 헥산의 추출물로부터 수득될 수 있으며, 바람직하게는 메탄올 추출물로부터 수득될 수 있다.

[0036] 상기 란세마사이드 A는 더덕 또는 더덕 뿌리의 물 또는 알콜 추출물의 분획 추출물로부터 수득될 수 있다. 예를 들면, 란세마사이드 A는 더덕 또는 더덕 뿌리의 물 추출물의 부탄올 분획 추출물로 부터 수득될 수 있으며, 바람직하게는 더덕 또는 더덕 뿌리의 메탄올 추출물의 부탄올 분획 추출물로부터 수득될 수 있다.

[0037] 또는 상기 화학식 3으로 표시되는 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산, 이들의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 이들의 혼합물은 시중에 판매되는 것을 구입하여 수득할 수 있다.

[0038] 본 발명에 있어, 상기 인지기능 장애 질환은 기억력, 공간지각력, 판단력, 집행기능, 언어능력 등의 기능 저하로부터 발생되는 질환을 의미하는 것으로 예를 들면, 알츠하이머성 치매(Alzheimer'sdisease), 혈관성 치매(vascular dementia), 기타 알콜 중독, 외상, 파킨슨병의 후유증으로 오는 치매와 같은 다양한 원인에 기인한 치매이거나 또는 건망증일 수 있으며, 바람직하게는 혈관성 치매 또는 알츠하이머성 치매일 수 있다.

[0039] 본 발명의 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 혼합물을 포함하는 약학조성물은 스코폴라민를 투여한 마우스의 기억력 감퇴 효과를 적은 양으로도 효과적으로 억제할 수 있다.

[0040] 상기 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 혼합물은 위 기재된 생약에 포함된 성분으로 부작용 없이 인지기능 장애 질환을 효과적으로 치료할 수 있다.

[0041] 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 의약업계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미하며, 예를 들어 칼슘, 칼륨, 나트륨 및 마그네슘 등으로 제조된 무기이온염, 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산, 주석산 및 황산 등으로 제조된 무기산염, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 구연산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산, 만델산, 뮤크산, 질산, 파모산, 판토텐산, 숙신산, 타르타르산 등으로 제조된 유기산염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산, 캄포르설폰산, 또는 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염, 글리신, 아르기닌, 라이신 등으로 제조된 아미노산염 및 트리메틸아민, 트리에틸아민, 암모니아, 피리딘, 피콜린 등으로 제조된 아민염 등이 있으나, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명의 약학 조성물은 상기 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약

제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 혼합물을 조성물 총 중량에 대하여 약 0.01 중량% 내지 약99.99중량%로 포함될 수 있으며, 바람직하게는 5 내지 50 중량%로 포함될 수 있다.

[0043] 본 발명의 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산 또는 이들의 혼합물을 포함하는 인지기능장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 있어 상기 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 혼합물은 약 성인 1일 1mg 내지 120mg의 용량으로 단회 내지 수회 투여가 가능하며, 바람직하게는 30mg 내지 120mg의 용량으로 단회 내지 수회투여가 가능하다. 그러나 상기 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 혼합물의 투여량은 환자의 중증, 나이, 성별, 체중 등의 환자의 상태와 약물의 제형, 투여경로 및 투여 기간에 따라 적절하게 조절될 수 있다.

[0044] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 란세마사이드 A를 함유하는 더덕(*Codonopsis lanceolata*) 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 상기 더덕 추출물은 란세마사이드 A를 함유하고 있으므로 기억력을 향상시켜 인지기능 장애 질환을 예방 또는 치료할 수 있다. 구체적으로, 상기 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 기억력 감퇴가 나타나는 건망증, 혈관성 치매 또는 알츠하이머성 치매 등을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0045] 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 더덕 추출물은 더덕의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 헥산의 추출물일 수 있으며, 바람직하게는 더덕 뿌리의 에탄올 추출물일 수 있다.

[0046] 상기 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물은 부작용 없이 인지기능 장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0047] 본 발명의 상기 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물은 란세마사이드 A 를 함유하고 있으므로 스코폴라민(scopolamine)으로 유도된 기억력 손상 동물 모델에서 학습증진, 공간지각능력 및 기억력을 높은 수준으로 향상시키는 현저한 효과를 나타내는 바, 인지기능장애 질환의 예방 또는 치료에 뛰어난 활성을 나타내며, 특히 혈관성 치매, 알츠하이머성 치매 및 건망증 개선에 유용하다.

[0048] 본 발명의 약학 조성물은 상기 더덕 추출물을 조성물 총 중량에 대하여 0.1 내지 50중량%로 포함할 수 있다. 그러나 상기 함유량은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.

[0049] 본 발명의 더덕 추출물을 포함하는 인지기능장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 있어 상기 더덕 추출물은 성인에 대하여 1일 약 10mg 내지 2g의 용량으로 단회 내지 수회 투여가 가능하며, 바람직하게는 300mg 내지 1200mg의 용량으로 단회 내지 수회투여가 가능하다. 그러나 상기 생약 추출물의 투여량은 환자의 중증, 나이, 성별, 체중 등의 환자의 상태와 약물의 제형, 투여경로 및 투여 기간에 따라 적절하게 조절될 수 있다.

[0050] 본 발명의 상기 화학식 (1)로 표시되는 란세마사이드 A, 이의 대사체인 에치노 사이트산 또는 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학 조성물은 독성 및 부작용이 없으므로 예방 또는 치료 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다.

[0051] 본 발명의 상기 화학식 (1)로 표시되는 란세마사이드 A, 에치노 사이트산 또는 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 해치지 않는 범위 안에서 약학적으로 허용 가능한 희석제, 결합제, 붕해제, 윤활제, pH 조절제, 산화방지제, 용해보조제 등의 첨가제를 포함할 수 있다.

[0052] 희석제는 슈가, 전분, 미결정셀룰로오스, 유당(유당수화물), 포도당, 디-만니톨, 알기네이트, 알칼리토금속류염, 클레이, 폴리에틸렌글리콜, 무수인산수소칼슘, 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있으며; 결합제는 전분, 미결정셀룰로오스, 고분산성 실리카, 만니톨, 디-만니톨, 자당, 유당수화물, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈(포비돈), 폴리비닐피롤리돈 공중합체(코포비돈), 히프로멜로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 천연검, 합성검, 코포비돈, 젤라틴, 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있다.

[0053] 붕해제는 전분글리콘산나트륨, 옥수수전분, 감자전분 또는 전호화전분 등의 전분 또는 변성전분; 벤토나이트, 몬모릴로나이트, 또는 비검(veegum) 등의 클레이; 미결정셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 또는 카르복시메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류; 알긴산나트륨 또는 알긴산 등의 알긴류; 크로스카멜로스(croscarmellose)나트륨 등의 가교 셀룰로오스류; 구아검, 잔탄검 등의 검류; 가교 폴리비닐피롤리돈(crospovidone) 등의 가교 중

합체; 중탄산나트륨, 시트르산 등의 비등성 제제, 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다.

[0054] 윤활제는 탈크, 스테아린산, 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘, 라우릴설페이트나트륨, 수소화식물성오일, 나트륨벤조에이트, 나트륨스테아릴푸마레이트, 글리세릴 베헤네이트, 글리세릴 모노레이트, 글리세릴모노스테아레이트, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 콜로이드성 이산화규소 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있다.

[0055] pH 조절제는 초산, 아디프산, 아스코르빈산, 아스코르빈산 나트륨, 에테르산 나트륨, 사과산, 숙신산, 주석산, 푸마르산, 구연산(시트르산)과 같은 산성화제와 침강 탄산 칼슘, 암모니아수, 메글루민, 탄산 나트륨, 산화 마그네슘, 탄산 마그네슘, 구연산 나트륨, 삼염기칼슘인산염과 같은 염기성화제 등을 사용할 수 있다.

[0056] 산화방지제는 디부틸 히드록시 톨루엔, 부틸레이티드 히드록시아니솔, 초산 토코페롤, 토코페롤, 프로필 갈레이트, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨 등을 사용할 수 있다.본 발명의 선방출성 구획에서, 용해보조제는 라우릴황산나트륨, 폴리소르베이트 등의 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테류, 도큐세이트 나트륨, 폴록사머(poloxamer) 등을 사용할 수 있다.

[0057] 본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 경구투여를 위하여 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등의 고형제제로 제제화될 수 있으며, 이러한 고형제제는 란세마사이드 A, 에치노 사이트산 또는 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물과 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 제조될 수 있다. 또한 상기 약학 조성물이 경구를 위한 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등의 액상제제로 제제화될 수 있으며, 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 사용하여 액상제제로 제제화될 수 있다.

[0058] 본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산 , 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 비경구 투여를 위한 제제화를 위하여 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함할 수 있다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0059] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 인지기능 장애 질환 예방 및 치료용 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 인지기능 장애 질환 예방 및 치료용 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 경구 투여, 복강 내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여, 강내 투여, 복강내 투여, 경막내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 (intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0060] 본 발명에 따른 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 및 치료용 조성물은 일 회 투여될 수도 있고, 또는 일정한 시간 간격을 두고 수회 나누어 투여될 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학 조성물은 인지기능장애 질환 치료 효과를 가진 다른 활성성분을 추가적으로 더 포함할 수 있다.

[0062] 본 발명에 따른 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물은 포함하는 약학 조성물은 인지기능장애 질환을 예방 또는 치료하기 위하여 단독 또는 호르몬 치료, 약물 치료 등의 다양한 방법들과 병용하여 사용될 수 있다.

[0063] 본 발명은 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

[0064] 본 발명에 따른 상기 식품 조성물은 식품 조성물, 건강기능식품 또는 음료에 통상적으로 첨가제 등을 더 포함할 수 있다.

[0065] 예를 들면, 본 발명의 식품 조성물은 백당, 결정과당, 포도당, D-솔비톨, 만니톨, 이소말토올리고당, 스테비오

사이드, 아스파탐, 아세설팜칼륨, 수크랄로오스 등의 감미제, 무수구연산, DL-사과산, 호박산 및 그의 염 등의 산미제, 안식향산 및 그의 유도체 등의 보존제, 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 식품 조성물들은 천연 과일 쥬스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 본 발명의 식품 조성물 100 중량부 당 약 20 중량부 이하의 범위에서 사용될 수 있다.

[0066] 본 발명의 식품 조성물이 음료인 경우, 음료에 통상적으로 포함되는 향미제 또는 천연 탄수화물을 더 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 덱스트린, 시크롤덱스크린과 같은 폴리사카라이드 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리쓰리톨과 같은 당 알콜일 수 있다. 또한, 상기 향미제로는 타우마틴, 스테비아 추출물(레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)의 천연 향미제 또는 사카린, 아스파탐 등의 합성 향미제일 수 있다. 상기 식품 조성물이 음료인 경우 천연 탄수화물은 조성물 100mL 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g 포함될 수 있다.

[0067] 본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 제조되어 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류로 이용될 수 있다.

[0068] 본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 조성물은 인지기능 장애를 예방 또는 개선하기 위한 약제, 식품 및 음료 등에 첨가될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 조성물은 식품, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등에 첨가될 수 있다.

[0069] 본 발명의 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 식품 조성물은 인지기능 장애 질환의 예방 또는 개선을 위해 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 본 발명의 조성물은 식품 전체 중량의 1 내지 5 중량%로 첨가될 수 있으며, 음료 100mL에 0.02g 내지 10g, 바람직하게는 0.3g 내지 1g의 비율로 첨가될 수 있다.

[0070] 본 발명은 란세마사이드 A, 에치노 사이트산, 이의 광학이성질체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 혼합물을 포함하는 퇴행성 뇌 질환을 예방 또는 치료하는 약학 조성물을 제공한다. 상기 화학식 (1)로 표시되는 란세마사이드 A 또는 이의 대사체인 에치노 사이트산은 뇌졸중, 중풍, 파킨스씨 병 또는 헌팅턴 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0071] 본 발명은 란세마사이드 A 함유 더덕(*Codonopsis lanceolata*) 추출물을 포함하는 퇴행성 뇌 질환을 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 화학식 (1)로 표시되는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물은 뇌졸중, 중풍, 파킨스씨 병 또는 헌팅턴 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 상기 더덕 추출물은 바람직하게는 더덕의 뿌리로부터 수득될 수 있다.

발명의 효과

[0072] 본 발명에 따른 란세마사이드 A, 에치노 사이트산 또는 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 인지기능 장애 질환을 효과적으로 예방 치료할 수 있다. 구체적으로, 본 발명에 따른 란세마사이드 A, 에치노 사이트산 또는 이들의 혼합물, 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 기억력 및 학습능력을 현저히 향상시켜 혈관성 치매, 알츠하이머성 치매 또는 건망증을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0073] 도 1은 본 발명에 따른 란세마사이드 A 를 포함하는 약학 조성물의 기억 및 학습 능력 향상 효과를 보여주는 도이다.

도 2 내지 도 5는 본 발명에 따른 란세마사이드 A 또는 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 포함하는 약학 조성물의 기억 및 학습 능력 향상 효과를 보여주는 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0074] 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예 및 실험예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0075] 또한, 이하에서 언급된 시약 및 용매는 특별한 언급이 없는 한 Sigma사부터 구입한 것이며 선광도는 JASCO P-1020 polarimeter를 사용하여 측정하였다. UV는 Hitachi JP/U3010, IR은 JASCO FT/IR-5300 장치로부터 측정하였으며, NMR 은 Bruker 사의 Avance 400 (400 MHz)으로 측정하였으며, FAB Mass spectrum은 LC-MS/MSAgilent 1200 series (LC-MS/MS system consisting of a quaternary pump, a vacuum degasser, an autosampler, a thermostat columncompartment, a diode array detector, and an Agilent G6410 triple quadrupole mass spectrometer with an electro spray ionization (ESI) source)를 사용하여 측정하였다.

[0076] **제조예 1. 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물의 제조**

[0077] 건조된 더덕(Codonopsis lanceolata Trautv) 뿌리(경동시장, 서울, 대한민국) 5kg을 MeOH로 3시간을 끓여서 환류추출기로 환류추출하고, 추출액을 회전감압농축기(선일아일라, Eyla KSB 201, 한국)로 감압 농축하여 439.24g의 추출물을 얻었다. 이를 물에 녹인 뒤 부탄올(BuOH)로 분획 추출하여 BuOH층만 분리하여 감압농축해서 211g의 분획물을 얻었다.

[0078] **제조예 1-1. 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물의 제조**

[0079] 건조된 더덕(Codonopsis lanceolata Trautv) 뿌리(경동시장, 서울, 대한민국) 5kg을 구입하고, 가정용 분쇄기(mixer)를 이용하여 분말화하였다. 상기 분말에 70% (v/v)에탄올을 10배량(v/v)을 가하여 60℃ 수욕상에서 초음파 추출장치 (POWERSONIC 420, 화신테크)로 2시간동안 2회 추출하여 추출물을 수득하였다. 상기 추출액을 탈지면으로 여과 후, 감압농축기 (N-1000, EYELA) 로 감압 농축하여 70% (v/v)에탄올 연조 엑스를 수득한 후 상기 연조 엑스를 동결건조기 (FDU-2000, EYELA) 로 동결건조한 후 분말을 얻었다.

[0080] **제조예 2: 란세마사이드 A의 분리 및 정제**

[0081] 제조예 1에서 수득된 위 분획물을 실리카겔을 고정상으로 사용하여 dichloromethane과 MeOH의 기울기 용리 시스템의 이동상을 사용하여 14개의 분획(dichloromethane:MeOH = 100:0, 95:5, 90:10, 85:15 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 30:70 각 1L 씩)으로 나누었고 이 중 13번째 분획을 MPLC(medium pressure liquid chromatography; Yamazen 540-SY-S2CSC, 일본)를 사용하여(이동상: 10% ACN in water to 70% ACN in water) 4 ml/min의 속도로 4시간 동안 분리한 결과 80개의 분획을 얻었고 이들 중 37~42번 분획을 감압 농축하여 620mg의 란세마사이드 A를 얻어내었다. 상기 분리한 란세마사이드 A는 H1-NMR(Bruker, AVANCE digital 400)과 LC-MS/MSAgilent 1200 series (LC-MS/MS system consisting of a quaternary pump, a vacuum degasser, an autosampler, a thermostat columncompartment, a diode array detector, and an Agilent G6410 triple quadrupole mass spectrometer with an electro spray ionization (ESI) source)로, 그 가수분해물 비당체모핵(에티노사이트산)은 13C-NMR(Bruker, AVANCE digital 400)로 구조를 동정하였다.

[0082]

1H-NMR of lancemaside A (pyridine-d5)		13C-NMR (pyriding-d5) of aglycone	
H-1	1.39	C-1	38.7
	0.87	2	26.6
H-2	2.22	3	89.0
	1.86	4	39.5
H-3	3.38	5	55.8
H-5	0.79	6	18.3
H-9	1.73	7	33.4
H-12	5.57	8	39.9
H-16	5.27	9	47.0
H-18	3.57	10	36.9
H-19	2.74	11	23.7
	1.33	12	122.8
H-21	2.42	13	144.3
	1.29	14	42.0
H-22	2.31	15	36.1
	2.19	16	74.0
H23	1.28	17	49.5
H-24	0.98	18	41.2
H-25	0.81	19	47.1
H-26	1.05	20	30.9
H-27	1.83	21	35.9
H-29	1.00	22	32.1
H-30	1.14	23	28.1
glcA-1	5.04	24	16.9
glcA-5	4.73	25	15.6
ara-1	6.51	26	17.5
rha-1	5.72	27	27.1
rha-6	1.71	28	175.9
xyl-1	5.19	29	33.2
xyl-1'	5.24	30	24.7

[0083] (상기 표에서 glcA-1, glcA-5는 각각 lancemaside A에 결합한 D-glucuronic acid의 1과 5번을 의미하는 것이며, ara-1는 lancemaside A에 결합한 L-arabinose의 1번 탄소, rha-1 및 rha-6은 lancemaside A에 결합한 L-rhamnoside의 1번과 6번 탄소, xyl-1, 1'는 lancemaside A에 결합한 D-xylose의 1번과 1" 탄소 위치를 의미한다.)

[0084] ESI-MS(m/z) 1190.4 $[M]^-$

[0085] **실험예: 치매치료 효능 확인**

[0086] 제조예 1-1 및 2에서 제조된 란세마사이드 A 또는 란세마사이드 A를 유효성분으로 포함하는 더덕 추출물의 치매치료 효능을 확인하기 위하여 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴 모델을 이용한 실험을 수행하였으며 구체적인 실험방법을 다음과 같이 수행하였다.

[0087] <u>1) 실험동물의 준비</u>

[0088] 약 26g 내지 28g의 6주령 ICR계 쥐((주) 오리엔트, 한국)를 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 하면서 온도 약 22 ± 1℃, 습도 약 50 ± 10% 및 명암주기가 12시간인 환경 하에서 5일간 적응시켜 사육(경희대학교 약학대학의 동물 실험실)한 후 실험에 사용하였다.

[0089] <u>2) 통계처리</u>

[0090] 모든 실험 결과는 ANOVA (one-way analysis of variance)를 이용하여 통계 처리하였고, 유의성이 인정될 경우 Student-Newman-Keuls Test를 사용하여 $p < 0.05$ 수준 이하에서 유의성 검정을 실시하였다.

[0091] <u>3) 실시예 1: 수동회피실험(passive avoidance test) 1</u>

[0092] 실험을 위하여 수동회피반응 측정장치를 준비하였다. 상기 수동회피반응 측정장치는 제1공간 및 제2 공간 두 개의 공간으로 분획되며, 두 공간 사이에 길로틴 형태의 출입구가 형성되어 있고 상기 출입구를 통해 상기 제1 공간 및 제2 공간이 연결된다. 상기 제1 공간은 조명을 사용하여 밝게 유지하고 상기 제2 공간은 어둡게 유지하였다. 어둡게 유지되는 제2 공간의 바닥은 격자가 설치되어 있으며 실험동물이 어두운 공간으로 이동할 경우 바닥의 격자를 통해 0.5mA의 전기 충격이 3초 동안 흐르도록 하였다.

[0093] 상기 1)에서 준비된 마우스들을 란세마사이드 A가 투여될 약물투여군 1 내지 2 및 대조군 1 내지 3의 5개의 군

(한 군당 10마리)으로 준비하였다. 상기 약물투여군 1 및 2에 대해서는 실시예 2의 란세마사이드 A를 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 용해시킨 후 10 mg/Kg 및 20 mg/Kg의 용량으로 약물투여군 1 및 2에 각각 투입하였다. 한편, 대조군 1 및 2에는 10% 트윈 80을 각각 0.15mL 투여하였으며, 대조군 3에는 도네페질을 5 mg/Kg의 용량으로 투여하였다.

[0094] 약 1시간 경과 후 증류수에 용해시킨 스코폴라민을 1 mg/Kg의 용량으로 상기 약물투여군 1, 2 대조군 2 및 3에 복강 투여(Ebert, U. et al., Eur. J. Clin. Invest., 28, pp944-949, 1998)하고 대조군 1에는 0.9%의 생리 식염수(saline 용액)을 복강 투여하였으며, 30분 경과 후 상기 약물투여군 1, 2 및 대조군 1 내지 3 마우스 각각에 대하여 수동회피반응 측정장치에 대한 학습을 수행하였다. 구체적으로 상기 마우스들을 밝게 유지되는 제1 공간에 위치시킨 후, 약 10초의 탐색시간이 경과한 후에, 길로틴 형태의 출입구를 개방하여 상기 마우스가 어둡게 유지되는 제2 공간으로 이동하는 시간(latency time, 지연시간)을 측정하였다. 길로틴 형태의 출입구 개방 후 60초가 경과할 때까지 어둡게 유지되는 제2 공간으로 이동하지 않은 쥐는 실험에서 제외하였다.

[0095] 학습이 끝나고 24시간 후에 상기 약물투여군 1, 2 및 대조군 1 내지 3 각각에 대하여 본 실험을 시행하였다. 상기 각 군의 마우스들이 10초의 탐색시간 후 길로틴문이 열리고 어두운 쪽으로 4발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time : 지연시간)을 300초까지 측정하였다. 걸리는 시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다.

[0096] 학습 시 및 본 실험에서 각 군의 마우스들의 평균 지연시간을 하기 표 1 및 도 1에 나타내었다.

[0097] 표 1

실험군	학습(초)	본 실험(초)
약물투여군 1(10mg/Kg)	24.8551 ± 4.7169	133.5714 ± 34.9995
약물투여군 2(20mg/Kg)	35.2307 ± 2.3323	157.4132 ± 25.4595
대조군 1(control)	20.1818±3.8749	190.8571 ± 25.1744
대조군 2(scopolamine)	23.1251 ± 4.2863	61.5193 ± 7.1262
대조군 3(Donepezil)	22.0971 ± 6.8731	157.5638 ± 20.1651

[0098]

[0099] 상기 표 1 및 도 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 실시예 2에서 제조된 란세마사이드 A를 투여한 약물투여군 1 및 2는 스코폴라민만을 투여한 대조군 2에 비하여 제2 공간으로 이동하는 시간인 지연시간이 현저하게 증가하였다. 구체적으로 란세마사이드 A를 10 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 1은 대조군 2에 비하여 약 2배 정도 지연시간이 증가하였으며, 란세마사이드 A를 20 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 2는 대조군 2에 비하여 약 2.5배 정도 지연시간이 증가하였으며, 도네페질을 투여한 대조군 1과 유사한 정도의 지연시간을 나타내었다.

[0100] 이로부터 란세마사이드 A가 기억력 감퇴 현상을 효과적으로 치료하여 건망증, 혈관성 치매, 알츠하이머성 치매 또는 파킨슨 변에 의한 치매와 같은 인지기능장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0101] 4) 실시예 2: 수동회피실험(passive avoidance test) 2

[0102] 스코폴라민 기억력 감퇴모델이 아닌 기억력 증강 작용을 알아 보기 위하여 란세마사이드 A를 10%의 트윈 80에 용해시켜 여러 가지 용량 (2.5, 5, 10 및 20 mg/kg)으로 경구 투여하였다.

[0103] 실험을 위하여 수동회피반응 측정장치를 준비하였다. 상기 수동회피반응 측정장치는 제1공간 및 제2 공간 두 개의 공간으로 분획되며, 두 공간 사이에 길로틴 형태의 출입구가 형성되어 있고 상기 출입구를 통해 상기 제1 공간 및 제2 공간이 연결된다. 상기 제1 공간은 조명을 사용하여 밝게 유지하고 상기 제2 공간은 어둡게 유지하였다. 어둡게 유지되는 제2 공간의 바닥은 격자가 설치되어 있으며 실험동물이 어두운 공간으로 이동할 경우 바닥의 격자를 통해 0.3mA의 전기 충격이 3초 동안 흐르도록 하였다.

[0104] 구체적으로 상기 1)에서 준비된 마우스들을 란세마사이드 A가 투여될 약물투여군 1 내지 4 및 대조군 1의 5개의 군(한 군당 10마리)으로 준비하였다. 상기 약물투여군 1 내지 4에 대해서는 실시예 2의 란세마사이드 A를 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 용해시킨 후 2.5, 5, 10 및 20 mg/kg의 용량으로 약물투여군 1 내지 4에 각각 투여하였다. 한편, 대조군 1에는 10% 트윈 80을 0.15mL 투여하였다.

[0105] 상기 마우스들을 밝게 유지되는 제1 공간에 위치시킨 후, 약 10초의 탐색시간이 경과한 후에, 길로틴 형태의 출입구를 개방하여 상기 쥐가 어둡게 유지되는 제2 공간으로 이동하는 시간(latency time, 지연시간)을 측정하였다. 길로틴 형태의 출입구 개방 후 60초가 경과할 때까지 어둡게 유지되는 제2 공간으로 이동하지 않은 쥐는 실

험에서 제외하였다.

[0106] 학습이 끝나고 24시간 후에 상기 약물투여군 1 내지 4및 대조군 1 에 대하여 본 실험을 시행하였다. 상기 각 군의 마우스들이 10초의 탐색시간 후 길로틴문이 열리고 어두운 쪽으로 4발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time : 지연시간)을 600초까지 측정하였다. 걸리는 시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다.

[0107] 학습 시 및 본 실험에서 각 군의 마우스들의 평균 지연시간을 하기 표 2 및 도 2에 나타내었다.

[0108] 표 2

[0109]

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(2.5mg/Kg)	28.60±6.034	146.0±19.35
약물투여군 2(5mg/Kg)	27.50±3.704	347.0±53.98
약물투여군 3(10mg/Kg)	21.90±4.762	255.4±63.62
약물투여군 4(20mg/Kg)	25.40±3.380	352.5±61.64
대조군 1 (control)	25.90±3.755	145.3±29.20

[0110] 상기 표 2 및 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 란세마사이드 A를 투여한 약물투여군 중 5mg/kg 및 20mg/kg 에서는 대조군 1에 비하여 제2 공간으로 이동하는 시간인 지연시간이 현저하게 증가하였다. 구체적으로 란세마사이드 A를 5mg/kg 및 20mg/kg의 용량으로 투여한 약물투여군은 대조군 1에 비하여 약 2.4배 이상 지연시간이 증가하였다.

[0111] 이로부터 란세마사이드 A 는 기억력 증강 작용이 있음을 알 수 있었다.

[0112] 5) 실시예 3: 수동회피실험(passive avoidance test) 3

[0113] 제조예 1-1에서 수득된 70%의 에탄올로부터 추출된 더덕 추출물을 사용하여 수동회피실험을 수행하였다.

[0114] 상기 1)에서 준비된 마우스들을 제조예 1-1의 더덕 추출물이 투여될 약물투여군 1 내지 4 및 대조군 1 내지 3의 7개의 군(한 군당 10마리)으로 준비하였다. 상기 약물투여군 1 내지 4에 대해서는 제조예 1-1의 더덕 추출물을 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 용해시킨 후 25mg/kg, 50mg/kg, 100mg/kg 및 200 mg/kg의 용량으로 약물 투여군 1 내지 4에 각각 투여하였다. 한편, 대조군 1 및 2에는 10% 트윈 80을 각각 0.15mL 투여하였으며, 대조군 3에는 도네페질을 5 mg/Kg의 용량으로 투여하였다.

[0115] 상기 약물투여군 1 내지 4 및 대조군 1 내지 3의 마우스들에 대하여 실시예 1의 수동회피실험과 동일하게 수동회피실험을 수행하여 지연시간을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 3 및 도 3에 도시하였다.

[0116] 표 3

[0117]

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(25mg/Kg)	35±5.406	59.4±14.07
약물투여군 2(50mg/Kg)	36.7±5.485	142.3±26.63
약물투여군 3(100mg/Kg)	37.3±5.447	119.5±22.39
약물투여군 4(200mg/Kg)	26.3±5.304	69.62±13.46
대조군 1(Control)	20±2.924	213±24.49
대조군 2(Scopolamine)	36±5.56	22.41±1.893
대조군 3(Donepezil)	36.6±4.752	119.3±13.91

[0118] 상기 표 3 및 도 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 제조예 1-1에서 제조된 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물을 투여한 약물투여군 1 내지 4는 스코폴라민을 투여한 대조군 2에 비하여 제2 공간으로 이동하는 시간인 지연시간이 현저하게 증가하였다. 구체적으로 더덕 추출물을 200mg/kg 용량으로 투여한 약물투여군 4 는 대조군 2에 비하여 약 3 배 정도 지연시간이 증가하였다.

[0119] 또한 더덕 추출물을 50mg/Kg 및 100mg/kg의 용량으로 투여한 약물투여군 2 및 3 은 대조군 2에 비하여 약 6배 정도 지연시간이 증가하였다. 특히 상기 약물투여군 2 및 3 은 도네페질을 투여한 대조군 3과 거의 유사한 정도로 스코폴라민 투여에 의한 기억력 감퇴된 마우스의 기억력 및 학습능력을 향상시켰음을 알 수 있었다.

[0120] 이로부터 제조예 1-1에서 제조된 란세마사이드 A 함유 더덕 추출물은 기억력 감퇴를 효과적으로 치료하여 혈관성 치매 또는 알츠하이머성 치매와 같은 인지기능장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0121] 6) 실시예 4: Y 미로 실험

[0122] 실험을 위하여 Y-미로를 준비하였다. Y-미로는 3개의 가지를 가지고 있으며, 각 가지는 길이는 42cm, 폭이 3cm, 높이는 12cm이고 세 팔이 이루는 각도는 120도이며, 검정색의 폴리비닐수지로 제조되었다.

[0123] 상기 1)에서 준비된 마우스들을 제조예 2에서 제조된 란세마사이드 A가 투여될 약물 투여군 1 및 2와 대조군 1 내지 3의 5개의 군(한 군당 10마리)으로 준비하였다.

[0124] 제조예 2의 란세마사이드 A 16mg을 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.) 4mL에 용해시킨 후 상기 약물투여군 1 및 2에 10 mg/Kg 및 20 mg/Kg의 용량으로 각각 투여하였다. 한편, 대조군 2 및 3에는 10% 트윈 80을 각각 0.15mL 투여하였으며, 대조군 3에는 도네페질을 5 mg/Kg의 용량으로 투여하였다.

[0125] 약 30분 경과 후 증류수에 용해시킨 스코폴라민을 1 mg/Kg의 용량으로 상기 약물투여군 1, 2, 대조군 2 및 3에 복강 투여(Ebert, U. et al., Eur. J. Clin. Invest., 28, pp944-949, 1998)하였고 대조군 1에는 0.9%의 생리식염수(saline 용액)을 복강 투여하였다.

[0126] 30분 경과 후 상기 약물투여군 1, 2, 대조군 1, 2 또는 3의 마우스에 대하여 각각 A, B, C로 구분된 Y-미로 3개 중 한쪽 가지에 마우스를 조심스럽게 놓고 8분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음, 마우스가 들어간 가지를 기록하였다. 이 때 꼬리까지 완전히 들어갔을 경우에 한하여 실험 동물이 들어간 가지로 기록하였으며, 갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다.

[0127] 세 개의 다른 가지에 차례로 들어간 경우 1점(실제 변경, actual alternation)씩 부여하였다. 변경 행동력(alternation behavior)은 3가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되며, 하기 수학식 1에 의해 %로 환산하였다(Sarter, M. et al., Psychopharmacology., 94, pp491-495, 1998).

[0128] [수학식 1]

[0129]
$$\text{변경 행동력}(\%) = \frac{\text{실제변경(actual alternation)}}{\text{최고변경(maxium alternation)}} \times 100$$

[0130] (최고변경 : 총 입장횟수 - 2)

[0131] 상기 수학식 1에 의해 환산된 변경 행동력을 하기 도 4 및 표 4에 나타내었다.

[0132] 표 4

[0133]

실험군	변경행동력(%)
약물투여군 1(10mg/Kg)	54.10 ± 8.73
약물투여군 2(20mg/Kg)	63.18 ± 7.27
대조군 1(Control)	78.19±8.77
대조군 2(Scopolamine)	40.69 ± 9.25
대조군 3(Donepezil)	64.40 ± 7.90

[0134] 상기 표 4 및 도 4에서 볼 수 있는 바와 같이, 제조예 2에서 제조된 란세마사이드 A를 투여한 약물투여군 1 및 2는 스코폴라민만을 투여한 대조군 2에 비하여 변경행동력이 증가하였으며 도네페질을 투여한 대조군 3과 유사한 정도의 변경행동력을 나타내었다.

[0135] 이로부터 제조예 2에서 제조된 란세마사이드 A가 기억력 감퇴를 효과적으로 치료하여 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨 병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매와 같은 인지기능장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0136] 7) 실시예 5: 모리스 수중 미로 실험

[0137] 실험을 위하여 모리스 수중 미로 실험 장치를 준비하였다. 지름 90 cm, 높이 45 cm인 원형 풀에 각각 별, 네모, 세모, 원의 네 가지 표지를 같은 간격으로 붙이고 이 중 별 아래에 29 cm 높이의 플랫폼 (platform)을 위치시킨다. 플랫폼 보다 0.5 cm 윗부분까지 물을 채우고(수온 21 ± 1 ℃), 색소를 이용하여 물을 흐리게 하여 수면에

서 플랫폼이 보이지 않게 하였다.

[0138] 상기 1)에서 준비된 마우스들을 제조예 2의 란세마사이드 A가 투여되는 약물 투여군 1, 2 및 대조군 1 내지 3의 5개의 군(한 군당 10마리)으로 준비하였다.

[0139] 제조예 2의 란세마사이드 A 16mg을 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.) 4mL에 용해시킨 후 상기 약물투여군 1 및 2에 10 mg/Kg 및 20 mg/Kg의 용량으로 각각 투여하였다. 한편, 대조군 1 및 2에는 10% 트윈 80을 각각 0.15mL 투여하였으며, 대조군 3에는 도네페질을 5 mg/Kg의 용량으로 투여하였다.

[0140] 약 30분 경과 후 증류수에 용해시킨 스코폴라민을 1 mg/Kg의 용량으로 상기 약물투여군 1, 2, 대조군 2 및 대조군 3에 복강 투여(Ebert, U. et al., Eur. J. Clin. Invest., 28, pp944-949, 1998)하였고 대조군 1에는 0.9%의 생리 식염수(saline 용액)을 복강 투여하였다.

[0141] 30분 경과 후 상기 약물투여군 1, 2, 대조군 1, 2 또는 3의 마우스 각각에 대하여, 상기 풀의 한 구획에 내려놓은 다음 플랫폼까지 찾아가는 시간을 60초 동안 측정하였다. 30초 후 처음 마우스를 내려놓은 위치에 다시 위치시킨 후 플랫폼까지 찾아가는 시간을 60초 동안 측정하였다. 위 과정을 4번 반복하여 그 평균값을 구하였으며, 동일한 방식으로 처음 내려놓은 위치만을 변경하며 4일 동안 첫째날과 동일하게 약물을 투여하면서 동일하게 실험을 수행하였다.

[0142] 상기 실험 결과는 표 5 및 도 5에 나타내었다.

[0143] 표 5

[0144]

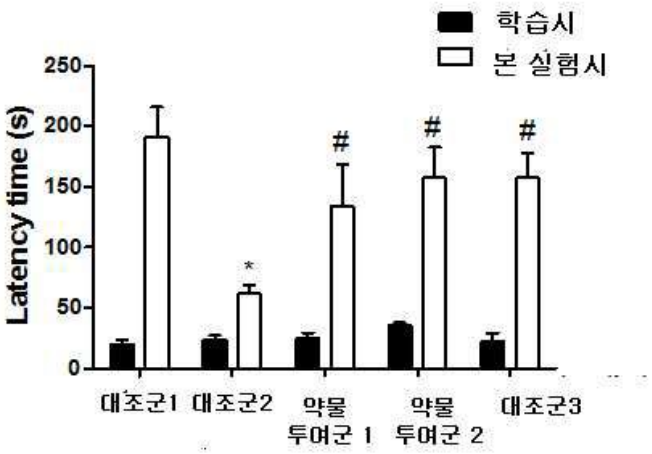
실험군	시간(초)				
	1일	2일	3일	4일	5일
약물투여군1(10mg/Kg)	262.5± 22.16	234± 36.96	209.4± 37.02	193± 24.81	185.4± 11.16
약물투여군2(20mg/Kg)	251 ± 24.66	209.4± 13.64	177.57± 22.39	161± 36.60	154± 19.46
대조군1(Control)	238± 36.46	183.6± 34.46	149.14± 41.64	128.17± 40.46	111.17± 34.23
대조군2(Scopolamine)	272.8± 22.17	263.2± 14.33	253.42± 37.30	242± 28.62	238.17± 19.40
대조군3(Donepezil)	248.5± 33.95	201.2± 30.55	169.5± 25.07	159.33± 39.88	149.5± 28.80

[0145] 상기 표 5 및 도 5에서 볼 수 있는 바와 같이, 제조예 2의 란세마사이드 A를 투여한 약물투여군 2는 스코폴라민을 투여한 대조군 2에 비하여 3일, 4일 및 5일차에 플랫폼을 찾아가는데까지 걸리는 시간이 각각 76초, 81초 및 84초 이상 감소하였다.

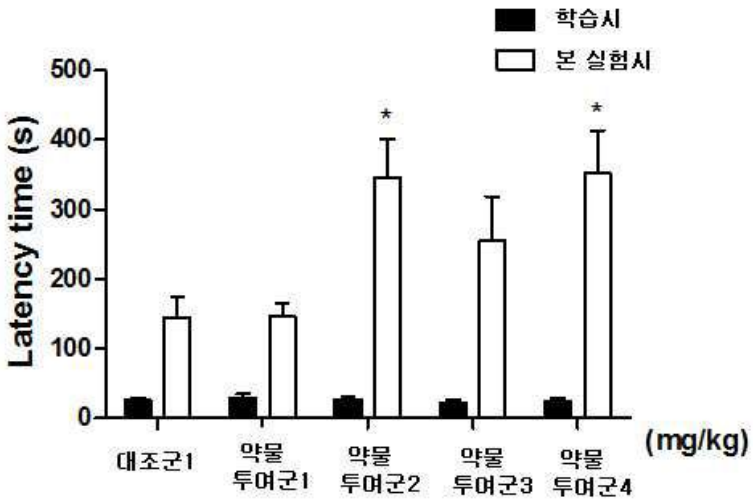
[0146] 이로부터 제조예 2의 란세마사이드 A는 기억력 감퇴 현상을 효과적으로 치료하여 건망증, 혈관성 치매, 파킨슨병에 의한 치매 또는 알츠하이머성 치매와 같은 인지기능장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료 할 수 있음을 알 수 있었다.

도면

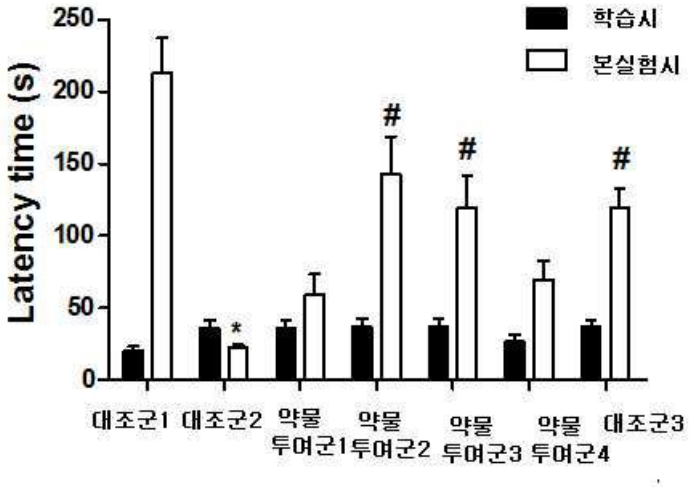
도면1


학습시
본 실험시
Latency time (s)
250
200
150
100
50
0
*
#
#
#
대조군1
대조군2
약물 투여군 1
약물 투여군 2
대조군3

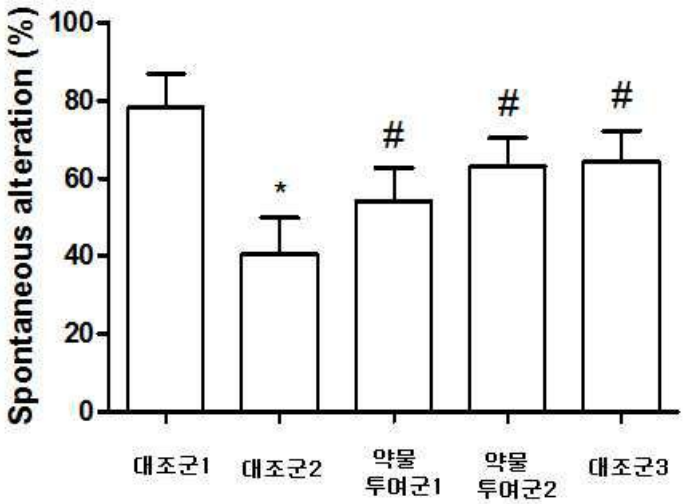
도면2


학습시
본 실험시
Latency time (s)
500
400
300
200
100
0
*
*
대조군1
약물 투여군1
약물 투여군2
약물 투여군3
약물 투여군4
(mg/kg)

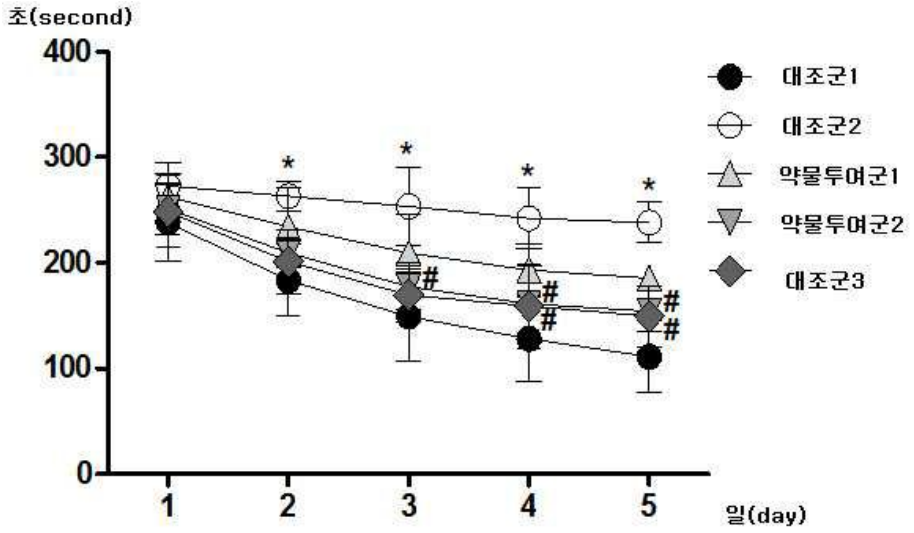
도면3


Latency time (s)
250
200
150
100
50
0
학습시
본실험시
*
#
#
#
대조군1
대조군2
약물 투여군1
약물 투여군2
약물 투여군3
약물 투여군4
대조군3

도면4


Spontaneous alteration (%)
100
80
60
40
20
0
*
#
#
#
대조군1
대조군2
약물 투여군1
약물 투여군2
대조군3

도면5


초(second)
400
300
200
100
0
대조군1
대조군2
약물투여군1
약물투여군2
대조군3
1
2
3
4
5
일(day)