(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105530944 B
(45)授权公告日 2018.02.02

(21)申请号 201480048227.1

(22)申请日 2014.07.02

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105530944 A

(43)申请公布日 2016.04.27

(30)优先权数据
10-2013-0077882 2013.07.03 KR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.03.01

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2014/005884 2014.07.02

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2015/002450 KO 2015.01.08

(73)专利权人 庆熙大学校产学协力团
地址 韩国京畿道

(72)发明人 柳钟薰 郑在训 申燦荣 张大植 安永济 金河悌

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司 11021
代理人 吴胜周

(51)Int.Cl.
A61K 31/704(2006.01)
A61K 31/70(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 1745175 A,2006.03.08,
CN 102329364 A,2012.01.25,
US 2012321694 A1,2012.12.20,
Guenné Samson 等.Screening of antioxidant, anti-acetylcholinesterase and antifungal activities and HPLC-MS identification of the bioactive phenolics of Eclipta alba (L.) Hassk..《International Journal of Phytomedicine》.2012,第4卷(第4期),第469-476页.
Shoji Yahara 等.oleanane glycosides from eclipta alba.《Chem.Pharm.Bull.》.1994,第42卷(第6期),第1336-1338页.

审查员 陈振中

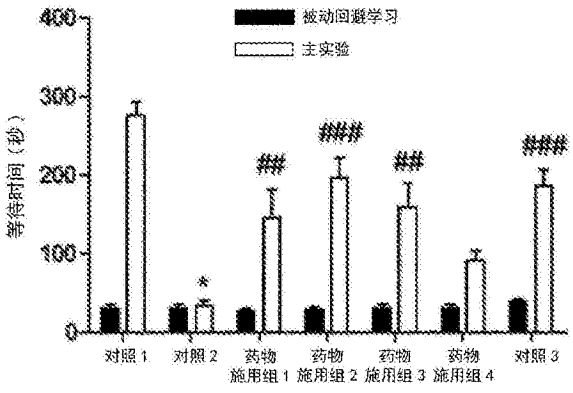
权利要求书1页 说明书14页 附图3页

(54)发明名称

包含墨旱莲皂苷或其衍生物的用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物

(57)摘要

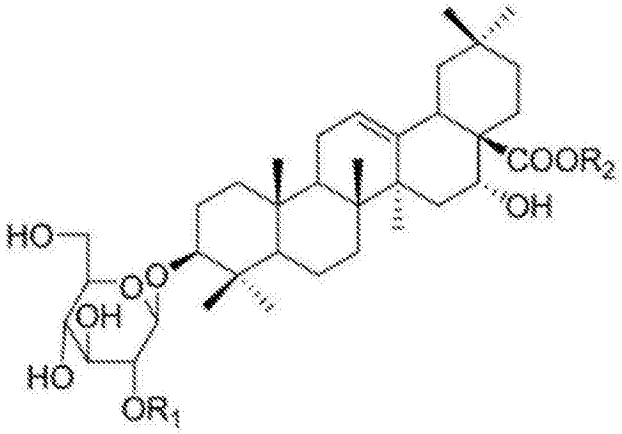
本发明提供药物组合物或食品组合物，所述组合物包含作为活性成分的墨旱莲皂苷(Eclalbasaponin)、其衍生物或含有墨旱莲皂苷的草药提取物。本发明的组合物在具有由东莨菪碱引起的记忆丧失的动物组中有效地改善记忆和学习能力，并且因此显示有效地治疗或预防注意集中障碍或认知障碍如谵妄、痴呆或遗忘症的工作效果。



CN 105530944 B

1.由以下式1表示的墨旱莲皂苷或其衍生物在制备药物中的用途，所述药物用于预防、改善或治疗认知障碍或注意集中障碍：

[式1]



，

其中所述墨旱莲皂苷或其衍生物是下表1中陈述的化合物：

[表1]

化合物	R_1	R_2
墨旱莲皂苷 I	H	Glc
墨旱莲皂苷 II	H	H
墨旱莲皂苷 III	Glc	Glc
墨旱莲皂苷 IV	Glc	H
墨旱莲皂苷 V	SO_3H	H
墨旱莲皂苷 VI	SO_3H	Glc

。

2.根据权利要求1所述的用途，其中所述墨旱莲皂苷或其衍生物是墨旱莲皂苷II。

3.根据权利要求1所述的用途，其中所述认知障碍是谵妄、痴呆或遗忘症。

4.根据权利要求3所述的用途，其中所述痴呆是阿尔茨海默痴呆或血管性痴呆。

5.含有墨旱莲皂苷II的墨旱莲(Eclipta prostrate)乙醇提取物的乙酸乙酯级分在制备药物中的用途，所述药物用于预防、改善或治疗谵妄、痴呆或注意集中障碍。

6.根据权利要求5所述的用途，其中墨旱莲乙醇提取物的乙酸乙酯级分还含有墨旱莲皂苷I、III、IV、V和VI。

包含墨旱莲皂苷或其衍生物的用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物

技术领域

[0001] 本公开内容涉及用于预防或治疗认知障碍(cognitive impairment)或注意集中障碍(concentration impairment)的药物组合物,其包含墨旱莲皂苷(Eclalbasaponin)或其衍生物。

[0002] 此外,本公开内容涉及用于预防或改善认知障碍或注意集中障碍的食品组合物(食物组合物,food composition),其包含墨旱莲皂苷或其衍生物。

[0003] 背景

[0004] 由于医学技术的发展和生活标准的提高,在过去半个世纪中,人平均寿命几乎延长了两倍,并且因此老年人口与总人口的比例快速增大。随着社会逐渐老化,老年性痴呆(senile dementia)作为人类在21世纪要解决的最大健康问题出现。因此,对于用于预防和治疗认知障碍(包括痴呆(dementia))的功能性材料和食品的存在不断增长的需求。

[0005] 痴呆,认知障碍的一种代表性疾病,是应该与正常衰老区别开的病态现象。取决于其病因,痴呆分类为阿尔茨海默痴呆(Alzheimer's dementia)、血管性痴呆(vascular dementia)、由酒精中毒引起的痴呆(dementia caused by alcoholism)、外伤引起的痴呆(dementia caused by external injury)和作为后遗症的帕金森病(Parkinson's disease)后出现的痴呆。已知的是,阿尔茨海默病占引起痴呆的疾病的50%到70%,并且已知血管性痴呆是痴呆的第二最常见原因。

[0006] 据研究论文报道,阿尔茨海默痴呆是一种慢性神经退行性疾病,其显示较高的脑功能障碍如记忆丧失、朦胧意识(obscure consciousness)、时空混淆(space-time confusion)以及思考、计算、判断和直觉障碍。已知阿尔茨海默痴呆为老年人口中最常见的痴呆形式。在相对年轻人中存在阿尔茨海默痴呆发生的情形,并且在65至85的年龄范围内,发生率每5年增加两 倍。尽管阿尔茨海默痴呆的发作机理不清楚,但是中枢神经系统中乙酰胆碱功能的减少是最常见的现象。因此,施用乙酰胆碱前体或抑制乙酰胆碱分解的药物,以增加脑中乙酰胆碱的浓度,已经用于治疗阿尔茨海默痴呆。因此,单独使用乙酰胆碱酯酶(下文称为,'AChE')抑制剂或与之前的胆碱酯酶抑制剂联合使用,被用作用于阿尔茨海默痴呆的药物。代表性的药物是他克林(tacrine)、多奈哌齐(donepezil)、利斯的明(rivastigmine)、加兰他敏(galantamine)等。所有这些仅延迟疾病的进展并且在直接治疗方面并不是那么有效。此外,这些的治疗范围限于初始阶段,因此已经进行了开发用于治疗阿尔茨海默痴呆的根本病因的药物的努力(Terry和Buccafusco,2003;Kar等人,2004;Akhondzadeh等人,2008;Cummings等人,2008;Voss等人,2008)。

[0007] 同时,血管性痴呆主要由因为脑血管动脉粥样硬化造成的对很多脑区域的供血不足导致的脑细胞损伤引起。血管性痴呆和阿尔茨海默痴呆的发作的原因是不同的,但其共同的是最终损伤记忆。

[0008] 如解释的,脑功能衰退和注意集中下降由衰老引起,并且由外部因素如压力等引起。

[0009] 本发明的发明人在研究用于预防或治疗认知障碍如痴呆、并且改善注意集中能力的有效药物的开发的同时，发现了有效增强记忆和学习能力、并且改善注意集中能力的粗提取物及其活性成分，并且因此完成本发明。

[0010] 概述

[0011] 技术问题

[0012] 本公开内容的一个目的是提供用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物，所述药物组合物包含墨旱莲皂苷或其衍生物。

[0013] 本公开内容的另一个目的是提供用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物，所述药物组合物包含含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲(Eclipta prostrate)提取物。

[0014] 本公开内容的又一个目的是提供用于预防或改善认知障碍或注意集中障碍的食品组合物，所述食品组合物包含墨旱莲皂苷或其衍生物。

[0015] 本公开内容的又一个目的是提供用于预防或改善认知障碍或注意集中 障碍的食品组合物，所述食品组合物包含含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物。

[0016] 解决问题的方案

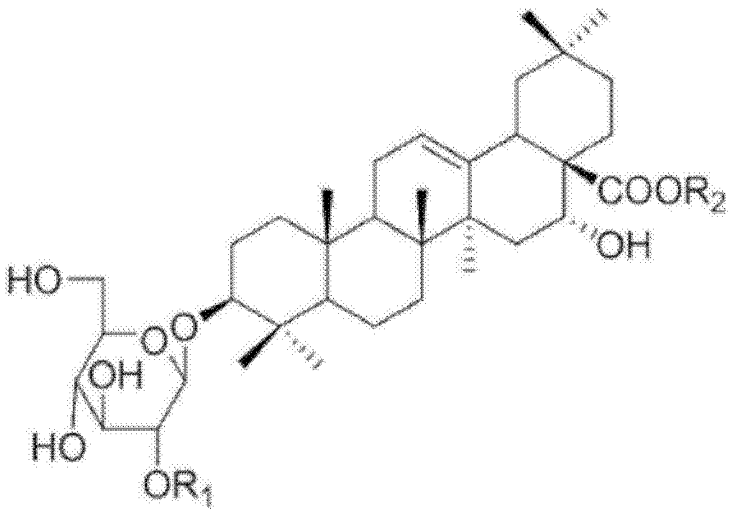
[0017] 药物组合物

[0018] 包含墨旱莲皂苷的组合物

[0019] 本公开内容提供用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物，所述药物组合物包含墨旱莲皂苷或其衍生物。

[0020] 所述墨旱莲皂苷或其衍生物是三萜皂苷的化合物并且由下式1表示。

[0021] [式1]

[0022] 

[0023] 在式1中，

[0024] R_1是H、SO_3H或葡萄糖(Glc)，并且

[0025] R_2是H或葡萄糖(Glc)。

[0026] 在本公开内容的一些实施方案中，墨旱莲皂苷或其衍生物可以从下表1中列出的墨旱莲皂苷I至VI中选择。优选地，其可以是墨旱莲皂苷I或II，并且最优选地，其可以是墨旱莲皂苷II。

[0027] [表1]

[0028]

化合物	R_1	R_2
墨旱莲皂苷I	H	Glc
墨旱莲皂苷II	H	H
墨旱莲皂苷III	Glc	Glc
墨旱莲皂苷IV	Glc	H
墨旱莲皂苷V	SO_3H	H
墨旱莲皂苷VI	SO_3H	Glc

[0029] 墨旱莲皂苷或其衍生物可以从墨旱莲获得，优选地其可以从整个墨旱莲的全植物(whole plant)获得。

[0030] 详细地，墨旱莲皂苷或其衍生物可以从墨旱莲提取物获得。用于墨旱莲提取物的提取剂可以是水、醇、己烷或其混合物。对于醇，优选使用C_1-C_4低级醇，并且最优选使用甲醇或乙醇。震荡提取(Shaking extraction)、索氏提取(Soxhlet extraction)或回流提取(reflux extraction)可以用作提取方法，但不限于这些。对于提取温度，优选为40-100℃，并且对于温度，最优选为60-80℃。此外，对于提取持续时间，优选为2-24小时，并且提取次数为1-5次。

[0031] 此外，墨旱莲皂苷或其衍生物可以从墨旱莲的水或醇提取物的级分获得。例如，所述级分可以是墨旱莲的水或醇提取物的己烷、乙酸乙酯、丁醇和水级分，并且优选地，其可以是墨旱莲的乙醇提取物的乙酸乙酯级分。

[0032] 另外，墨旱莲皂苷或其衍生物可以通过从市场购买使用或通过有机合成获得。

[0033] 包含墨旱莲皂苷或其衍生物的本公开内容的药物组合物可以用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍。

[0034] 本公开内容的认知障碍可以是由记忆、时空认知、判断能力、执行功能、语言能力等的受损引起的所有种类的疾病，如谵妄、痴呆或遗忘症。此外，痴呆可以通过多种病因发生，如阿尔茨海默痴呆、血管性痴呆、酒 精中毒引起的痴呆、外伤引起的痴呆或作为后遗症在帕金森病后出现的痴呆。优选地，痴呆可以是阿尔茨海默痴呆或血管性痴呆。

[0035] 详细地，包含墨旱莲皂苷或其衍生物的药物组合物在由东莨菪碱(scopolamine)引起的记忆损伤的动物模型中将学习能力、时空认知和记忆提供至高水平方面显示显著的效果。因此，确认了所述药物组合物在预防或治疗认知障碍或注意集中障碍方面表现出优异活性。

[0036] 另外，本公开内容的包含墨旱莲皂苷或其衍生物的药物组合物可以在东莨菪碱-诱导的小鼠中以小剂量抑制记忆弱化，并且可以提高注意力集中能力。

[0037] 此外，墨旱莲皂苷或其衍生物是草药中包含的成分，并且因此其可以有效地治疗认知障碍并且提高注意力集中能力，而没有副作用。

[0038] 因此，本公开内容的药物组合物可以可用于预防或治疗认知障碍，尤其是谵妄、痴呆或遗忘症。

[0039] 对于本公开内容的墨旱莲皂苷或其衍生物，基于本公开内容的药物组合物的总重量，优选包含0.1-50.0重量%。然而，该含量不限于以上，并且可以根据患者的状态、疾病的类型和进展而改变。

[0040] 至于用于预防或治疗认知或注意集中障碍的包含墨旱莲皂苷或其衍生物的本公开内容的药物组合物，对于成人，墨旱莲皂苷或其衍生物可以以每天约1mg至1g的剂量施用一次或若干次，并且优选地，施用可以以约30mg至120mg的剂量进行一次或若干次。然而，墨旱莲皂苷或其衍生物的剂量可以根据患者的状态如严重度、年龄、性别、重量等，药物制剂的类型、施用途径和施用持续时间而适当地调节。

[0041] 包含墨旱莲提取物的组合物

[0042] 此外，本公开内容提供用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物，其包含墨旱莲提取物作为活性成分。

[0043] 墨旱莲提取物包含墨旱莲皂苷或其衍生物，并且同样地，包含墨旱莲提取物作为活性成分的药物组合物在预防或治疗认知障碍方面表现出优异活性，并且提高注意集中能力，因为其在由东莨菪碱诱导的记忆损伤的动物模型中将学习能力、时空认知、记忆和注意集中能力提高至高水平方 面显示显著效果。此外，其可以预防或治疗认知障碍或注意集中障碍同时没有副作用，因为其是草药提取物。

[0044] 因此，包含墨旱莲提取物作为活性成分的药物组合物可以用于预防或治疗认知障碍，尤其是谵妄、痴呆或遗忘症。

[0045] 基于组合物的总重量，本公开内容的药物组合物可以包含0.1-50.0重量%的本公开内容的墨旱莲提取物。然而，该含量不限于以上，并且可以根据患者状态、以及疾病的类型和进展而改变。

[0046] 至于用于预防或治疗认知或注意集中障碍的包含墨旱莲提取物的本公开内容的药物组合物，对于成人，墨旱莲提取物可以以每天约10mg至2g的剂量施用一次或几次，并且优选地，施用可以是以约300mg至1200mg的剂量进行一次或几次。然而，墨旱莲提取物的剂量可以根据患者的状态如严重度、年龄、性别、重量等、药物制剂的类型、施用途径和施用持续时间而适当地调节。

[0047] 包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物作为活性成分的药物组合物，对于长期施用用于预防或治疗认知障碍是安全的，因为其不具有毒性和副作用。

[0048] 在本公开内容的范围内，包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物的用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物，可以包含添加剂如药用稀释剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、pH调节剂、抗氧化剂、增溶剂等。

[0049] 稀释剂可以是糖、淀粉、微晶纤维素、乳糖(乳糖水合物)、葡萄糖、D-甘露糖醇、藻酸盐、碱土金属盐、粘土、聚乙二醇、无水磷酸氢钙或其混合物，等。

[0050] 粘合剂可以是淀粉、微晶纤维素、高分散二氧化硅、甘露糖醇、D-甘露糖醇、蔗糖、乳糖水合物、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮(聚维酮)、聚乙烯吡咯烷酮共聚物(共聚维酮)、羟丙甲纤维素、羟丙基纤维素、天然树胶、合成树胶、共聚维酮、明胶或其混合物等。

[0051] 崩解剂可以是淀粉或改性淀粉如羟基乙酸淀粉钠、玉米淀粉、马铃薯淀粉或预糊化淀粉等；粘土如膨润土、蒙脱土或硅酸镁铝(veegum)等；纤维素如微晶纤维素、羟丙基纤维素或羧甲基纤维素等；藻酸类(algins)如藻 酸纳或藻酸等；交联纤维素如交联羧甲基纤维素钠；树胶如瓜尔胶和黄原胶等；交联聚合物如交联聚乙烯吡咯烷酮(交聚维酮)等；泡腾剂如碳酸氢钠、柠檬酸等，或其混合物。

[0052] 润滑剂可以是滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙、十二烷基硫酸钠、氢化植物油、苯甲酸钠、硬脂酰富马酸钠、山嵛酸甘油酯、单油酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、棕榈酰硬脂酸甘油酯、胶体二氧化硅，或其混合物，等。

[0053] pH调节剂可以是酸化剂等如乙酸、己二酸、抗坏血酸、抗坏血酸钠、醚化钠(sodium etehrate)、苹果酸、琥珀酸、酒石酸、富马酸和柠檬酸；以及碱化剂如沉淀碳酸钙、氨水、甲葡胺、碳酸钠、氧化镁、碳酸镁、柠檬酸钠和磷酸钙。

[0054] 抗氧化剂可以是二丁基羟基甲苯、丁基羟基苯甲醚、生育酚乙酸酯、生育酚、没食子酸丙酯、亚硫酸氢钠和焦亚硫酸钠等。

[0055] 增溶剂可以是聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯如十二烷基硫酸钠和聚山梨醇酯等、多库酯钠、泊洛沙姆(poloxamer)等。

[0056] 包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物的用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物可以配制为固体制剂如片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊等，用于口服施用。这些固体制剂可以通过将含有墨旱莲皂苷的草药提取物与至少一种赋形剂如淀粉、碳酸钙、蔗糖或乳糖、明胶等混合来制备。此外，除了简单的赋形剂，润滑剂如硬脂酸镁、滑石等可以一起使用。此外，药物组合物可以配制为液体制剂如混悬剂、用于内用的液体、乳剂、糖浆等，用于口服施用。除了水和液体石蜡外，各种赋形剂如保湿剂、甜味剂、芳香剂、防腐剂等可以用于配制液体制剂。

[0057] 另外，当配制用于肠胃外施用时，包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物的用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的药物组合物可以包含无菌水溶液、非水溶剂、悬浮液、乳液、冻干制剂和栓剂。

[0058] 非水溶剂和悬浮液可以是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油，或可注射酯如油酸乙酯。栓剂的基础材料可以是witepsol、聚乙二醇(macrogol)、吐温61、可可油脂、laurinum、甘油明胶等。

[0059] 本公开内容中使用的术语“施用(给药，administration)”是指经由适当方法向患者引入用于预防或治疗认知障碍的本公开内容的药物组合物，并且用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的本公开内容的药物组合物的施用途径可以是任何一般途径，只要其到达靶组织。施用途径可以是口服、腹膜内、静脉内、肌肉内、皮下、鼻内、肺内、直肠内、腔内、腹膜内和鞘内施用，但不限于这些。例如，药物组合物可以通过口服、直肠或静脉、肌肉、皮下、子宫内膜或脑室内的注射施用。

[0060] 包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物的用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的本公开内容的药物组合物可以每天施用一次或以定期间隔分为几次。

[0061] 另外，包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有的的墨旱莲提取物的用于预防或治疗认知障碍或注意集中障碍的本公开内容的药物组合物可以进一步包含对治疗认知障碍或注意集中障碍具有效果的其他活性成分。

[0062] 包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物的本公开内容的药物组合物可以单独使用或与多种治疗方法如激素疗法、药物疗法等联合使用，以预防或治疗认知障碍或注意集中障碍。

[0063] 食品组合物

[0064] 本公开内容提供包含墨旱莲皂苷或其衍生物的用于预防或改善认知障碍或注意集中障碍的由式1表示的食品组合物。

[0065] 此外，本公开内容提供包含含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物的用于预防或改善认知障碍或注意集中障碍的食品组合物。

[0066] 本公开内容的食品组合物可以通过向其中完整地添加墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物来制备，或者可以与添加剂等一起用在其他食品组合物、功能性保健食品或饮料中。

[0067] 例如，本公开内容的食品组合物可以包含甜味剂如蔗糖、颗粒状果糖、葡萄糖、D-山梨糖醇、甘露糖醇、异麦芽寡糖、甜菊糖苷、阿斯帕坦(aspartame)、乙酰磺胺酸钾(potassium acesulfame)、三氯半乳蔗糖(sucralose)等，酸化剂如无水柠檬酸、DL-苹果酸、琥珀酸及其盐等，防腐剂如苯甲酸及其衍生物等，各种营养补剂、维生素、矿物质(电解质)，芳香剂如合 成和天然的芳香剂；着色剂；增强剂(奶酪，胆酸盐等)；果胶酸(petic acid)及其盐，藻酸及其盐，有机酸、保护性胶体增稠剂、pH调节剂、稳定剂、防腐剂、甘油、醇、用于碳酸饮料的碳酸化剂(carbonator)等。此外，本公开内容的食品组合物可以包含用于制备天然水果和蔬菜汁的浆。这些添加剂的比例可以确定在约20重量份以下/100重量份的本公开内容的食品组合物的范围内。

[0068] 当将本公开内容的食品组合物制备为饮料时，其还可以包含通常添加至饮料中的芳香剂或天然碳水化合物。天然碳水化合物可以是单糖如葡萄糖和果糖；二糖麦芽糖如麦芽糖和蔗糖；多糖如糊精和环糊精；或糖醇如木糖醇、山梨糖醇和赤藓糖醇。另外，芳香剂可以是天然芳香剂如苏甜蛋白(thaumatin)、甜叶菊(stevia)提取物(甜叶菊苷A，甘草甜素等)；或合成的芳香剂如糖精、阿司帕坦等。当将食品组合物制备为饮料时，天然碳水化合物通常可以以1-20g/100mL的组合物，并且优选5-12g/100mL的组合物被包含。

[0069] 本公开内容的食品组合物可以制备为粉末、颗粒、片剂、胶囊或饮料的形式，并且作为食品、饮料、口香糖、茶、维生素复合物和保健食品使用。

[0070] 此外，可以将本公开内容的食品组合物添加至药物、食品和饮料中以提高注意集中能力，或预防或改善认知障碍。例如，可以将本公开内容的食品组合物添加至食品、饮料、口香糖、茶、维生素复合物、保健食品等.

[0071] 可以将本公开内容的食品组合物添加至食物或饮料以提高注意集中能力，或预防或改善认知障碍。基于食品的总重量，可以以1-5重量％包含本公开内容的食品组合物。可以以在100mL饮料中0.02-10g，并且优选0.3-1g的比例包含本公开内容的食品组合物。

[0072] 预防、改善或治疗认知障碍或注意集中障碍的方法

[0073] 本公开内容还提供预防、改善或治疗认知障碍或注意集中障碍的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用药物组合物或食品组合物。受试者包括哺乳动物，特别是人类。

[0074] 认知障碍可以是由记忆、时空认知、判断能力、执行功能、语言能力 等的受损引起的所有种类的疾病，如谵妄、痴呆或遗忘症。此外，痴呆可以通过各种病因发生，如阿尔茨海默痴呆、血管性痴呆、酒精中毒引起的痴呆、外伤引起的痴呆和作为后遗症的帕金森病后出现的痴呆。优选地，所述痴呆可以是阿尔茨海默痴呆或血管性痴呆。

[0075] 有益效果

[0076] 包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物作为活性成分的墨旱

莲提取物的本公开内容的药物组合物可以有效地预防或治疗认知障碍或注意集中障碍。

[0077] 此外，包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物作为活性成分的本公开内容的食品组合物可以有效地预防或改善认知障碍或注意集中障碍。

[0078] 附图简述

[0079] 图1是显示本公开内容的墨旱莲皂苷II对记忆和学习能力的改善效果的图。

[0080] 图2是显示本公开内容的墨旱莲皂苷I对记忆和学习能力的改善效果的图。

[0081] 图3是显示本公开内容的墨旱莲的70％乙醇提取物对记忆和学习能力的改善效果的图。

[0082] 图4是显示本公开内容的墨旱莲的30％乙醇提取物对记忆和学习能力的改善效果的图。

[0083] 图5是显示本公开内容的墨旱莲皂苷II对注意集中能力的改善效果的图。

[0084] 实施方案描述

[0085] 在下文将参考所附实施例更全面描述本公开内容。然而，本公开内容可以以很多不同形式具体体现，并且不应该解释为局限于本文中提呈的实施方案。

[0086] 另外，除非另有说明，本文中使用的试剂和溶剂购自Sigma，并且旋 光强度通过使用JASCO P-1020旋光计测量。UV通过使用Hitachi JP/U3010测量，IR通过使用JASCO FT/IR-5300测量，NMR通过使用Bruker的Avance 400(400MHz)测量，并且FAB质谱通过使用JEOL JMS-700质谱仪测量。

[0087] 制备例1：含有墨旱莲皂苷的墨旱莲的70％乙醇提取物的制备

[0088] 购买干燥后的墨旱莲(5kg)的全植物(Gyeongdong Herbal Market，首尔，韩国)并用国产混合器粉末化。将10-倍(v/v)量的70％乙醇(v/v)添加至该粉末并将其用超声提取器(POWERSONIC 420，Hwashin Tech)在60℃在水浴中提取两次，持续2小时，以获得提取物。将该提取物用脱脂棉过滤并在减压下用真空蒸发器(N-1000，EYELA)浓缩，获得70％(v/v)软浸膏。将该软浸膏用冷冻干燥器(FDU-2000，EYELA)冷冻干燥，获得粉末(收率：17.8％)。

[0089] 制备例2：含有墨旱莲皂苷的墨旱莲的30％乙醇提取物的制备

[0090] 以与制备例1相同的方式获得墨旱莲提取物，只是将30％(v/v)乙醇用作提取溶剂(收率：6.48％)。

[0091] 制备例3：墨旱莲皂苷的分离和纯化

[0092] 将制备例1中制备的墨旱莲的70％乙醇提取物(44.0g)悬浮在蒸馏水(500mL)中并且相继地用己烷(500ml×3)、乙酸乙酯(500ml×3)和丁醇(500ml×3)分级(fraction)，分别获得己烷级分(2.86g)、乙酸乙酯级分(4.14g)、丁醇级分(6.07g)和水级分(30.9g)。通过使用CH_2Cl_2-MeOH混合溶剂[分别为1:0，19:1，9:1，4:1，1:1，0:1；2000mL]作为流动相，通过进行柱色谱法(硅胶，4.6×40cm，70-230目)，将所述乙酸乙酯级分分为13个小级分(小级分1至小级分13)。通过使用MeOH作为流动相，对13个小级分中的小级分12(570mg)进行Sephadex LH-20柱色谱法(Ø3.3×41 cm)，分离墨旱莲皂苷I(150mg)和墨旱莲皂苷II(121.0mg)。通过上述方法获得墨旱莲皂苷III、IV、V和VI。通过在NMR数据分析和参照之间的比较明确分离的化合物的结构。

[0093] 墨旱莲皂苷I：^{1}H-NMR(400MHz吡啶-d_5)δ：0.74，0.85，0.85，0.89，0.98，1.14，1.70

(每个3H,s,H_3-23,24,25,26,27,28,29,30),3.28(1H,dd,J=4.4,12Hz,H-3),3.91(1H,m,Glc H-2),4.80(1H,d,J=7.6Hz,Glc H-1),5.16(1H,br s,H-16),5.47(1H,s,H-12),6.19(1H,d,J=8.4Hz,28-O-Glc H-1)。

[0094] 墨旱莲皂苷II:^{1}H-NMR(400MHz吡啶-d_5)δ:0.85,0.98,1.01,1.05,1.17,1.29,1.85(H_3-23,24,25,26,27,29,30),3.42(1H,br d,J=11.6Hz,H-3),4.04(1H,m,Glc H-2),4.94(1H,d,J=7.6Hz,Glc H-1),5.24(1H,br s,H-16),5.63(1H,br s,H-12)。

[0095] 墨旱莲皂苷III:^{1}H-NMR(吡啶-d_5)δ:0.88,1.00,1.04,1.09,1.12,1.25,1.82(H_3-23,24,25,26,27,29,30),3.29(1H,dd,J=4.0,11.7Hz,H-3),4.89(1H,d,J=7.7Hz,Glc H-1),5.30(1H,br s,H-16),5.36(1H,d,J=7.4Hz,Glc′H-1),5.61(1H,br s,H-12),6.30(1H,d,J=8.0Hz,28-O-Glc H-1)(Shoji等人,1994)。

[0096] 墨旱莲皂苷IV:^{1}H-NMR(吡啶-d_5)δ:0.86,1.03,1.07,1.10,1.19,1.27,1.85(H_3-23,24,25,26,27,29,30),3.31(1H,dd,J=4.4,11.7Hz,H-3),4.92(1H,d,J=7.3Hz,Glc H-1),5.25(1H,br s,H-16),5.37(1H,d,J=7.7Hz,Glc′H-1),5.65(1H,br s,H-12)(Shoji等人,1994)

[0097] 墨旱莲皂苷V:^{1}H-NMR(吡啶-d_5)δ:0.80,0.99,1.06,1.17,1.18,1.43,1.84(H_3-23,24,25,26,27,29,30),3.34(1H,dd,J=4.0,11.3Hz,H-3),4.99(1H,d,J=7.7Hz,Glc H-1),5.24(1H,br s,H-16),5.63(1H,br s,H-12)(Shoji等人,1994)

[0098] 墨旱莲皂苷VI:^{1}H-NMR(吡啶-d_5)δ:0.83,1.01,1.04,1.10,1.17,1.43,1.83(H_3-23,24,25,26,27,29,30),3.35(1H,br d,J=11.0Hz,H-3),4.99(1H,d,J=7.7Hz,Glc H-1),5.31(1H,br s,H-16),5.60(1H, br s,H-12).6.32(1H,d,J=8.1Hz,28-O-Glc H-1)(Shoji等人,1994)

[0099] ^{13}C NMR谱数据(100MHz吡啶-d_5)

[0100]

C	墨旱莲皂苷 I	墨旱莲皂苷 II
1	38.9	39.3
2	26.7	27.1
3	88.9	89.3
4	39.6	40.0
5	56.0	56.4
6	18.6	19.0
7	33.5	34.0
8	40.2	40.4
9	47.2	47.6
10	37.1	37.5
11	23.9	24.3
12	122.8	122.8
13	144.5	145.6
14	42.1	41.9
15	36.2	36.7
16	74.5	75.2
17	49.2	49.4
18	41.4	42.6
19	47.2	47.8
20	30.9	31.5
21	36.0	36.6
22	32.3	33.3
23	28.3	28.7

[0101]

24	17.1	17.5
25	15.7	16.1
26	17.6	18.0
27	27.3	27.7
28	176.0	180.5
29	33.3	33.8
30	24.6	25.2
3-*O*-Glc		
1	106.9	107.3
2	75.8	76.3
3	79.4	79.2
4	71.9	72.3
5	78.8	78.8
6	63.1	63.5
28-*O*-Glc		
1	95.9	
2	74.2	
3	78.9	
4	71.1	
5	78.3	
6	62.2	

[0102] 实施例:对认知障碍(痴呆)的治疗效果的观察

[0103] 为了观察包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物的本公开内容的药物组合物对认知障碍,特别是痴呆的治疗效果,进行使用东莨菪碱诱导的记忆损伤的动物模型的实验。详细的实验方法为如下。

[0104] 1)实验动物的准备

[0105] 约26g至28g的6-周龄ICR小鼠(Orientbio Inc,韩国)在没有约束的情况下接受水和饲料,并在具有约23±2℃的温度、约60±10%的湿度和12-小时明/暗循环的环境(College of Pharmacy,Kyung Hee University的动物实验室)下适应5天,然后用于实验。

[0106] 2)统计过程

[0107] 每个实验结果通过使用ANOVA(单因素方差分析)进行处理,并且当认为存在显著性时,通过使用Student-Newman-Keuls检验,在p＜0.05或以下的水平进行显著性试验。

[0108] 3)实施例1:被动回避试验1

[0109] 对于该实验,准备被动回避设备。该设备具有2个分开的小室(第一小室和第二小室),并且存在连接第一小室和第二小室的铡刀形通道。通过使用光将第一小室保持明亮,并且将第二小室保持黑暗。在第二小室的底部上安装栅格。在将实验室动物移入黑暗小室中时,所述栅格产生0.5mA的电击达3秒。

[0110] 将上述1)中准备的小鼠分为7个组(10只小鼠/组),由药物施用组1至4和对照1至3组成。将制备例3中制备的墨旱莲皂苷II溶解在10％吐温80(聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯:Sigma,U.S.A.),并分别以2.5、5、10和20mg/Kg的量向药物施用组1-4施用。同时,将5mg/Kg的多奈哌齐(dopenezil)施用酯对照3,并且将0.15mL的10％吐温80分别施用至对照1和2。

[0111] 约一小时后,将溶解在蒸馏水中的1mg/Kg的东莨菪碱腹膜内地施用至药物施用组1-4和对照2-3(Ebert,U.等人.,Eur.J.Clin.Invest.,28,pp944-949,1998),并且将0.9％的盐水溶液腹膜内地施用至对照1。30分钟后,对药物施用组1-4和对照1-3进行被动回避学习。详细地,使小鼠位于第一小室(即明亮空间)中并且在约10秒的观察时间后打开铡刀形通道,然而测量移动至第二小室(即黑暗空间)的小鼠的等待时间。排除在从打开铡刀形通道起60秒后没有移动至第二小室(即黑暗空间)的小鼠。

[0112] 被动回避学习后24小时,分别对药物施用组1-4和对照1-3进行主实验。在从打开铡刀形通道起的10秒观察时间后,各个组的小鼠将其4肢移入黑暗空间的等待时间测量为多至300秒。这意味着,如果等待时间更长,则被动回避学习和记忆更好。

[0113] 处于被动回避学习和主实验的各组的小鼠的平均等待时间显示在表2和图1中

[0114] [表2]

[0115]

组	被动回避学习(秒)	主实验(秒)
药物施用组1(2.5mg/Kg)	26.44±4.217	146.00±34.950
药物施用组2(5mg/Kg)	29.11±2.831	196.90±24.750
药物施用组3(10mg/Kg)	30.67±4.460	159.90±30.410
药物施用组4(20mg/Kg)	30.56±4.154	91.00±11.970
对照1(对照)	30.83±4.806	276.70±17.300
对照2(东莨菪碱)	30.44±4.580	33.00±7.464
对照3(多奈哌齐)	37.67±4.726	185.80±21.420

[0116] 如表2和图1中显示的,与对照2(其中施用东莨菪碱)的相比,药物施用组1-3(其中施用制备例3中制备的墨旱莲皂苷II)移动至第二小室的等待时间显著延长。详细地,与对照2的相比,药物施用组1(其中施用2.5mg/Kg的墨旱莲皂苷II)的等待时间,延长约4.4-倍;与对照2的相比,药物施用组2(其中施用5mg/Kg的墨旱莲皂苷II)的等待时间延长约5.9-倍;并且与对照2的相比,药物施用组3(其中施用10mg/Kg的墨旱莲皂苷II)的等待时间延长约4.8-倍。具体而言,观察到,在药物施用组2和3中,由于施用东莨菪碱所致的记忆损伤小

鼠的记忆和学习能力得到改善，并且该改善几乎与对照3(其中施用多奈哌齐(dopenezil))的相同。因此，确认墨旱莲皂苷II对于预防或治疗认知障碍如痴呆是有效的。

[0117] 4)实施例2：被动回避试验2

[0118] 将通过制备例3中解释的方法制备的墨旱莲皂苷I溶解于10％吐温80中，并分别以2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg和20mg/kg的量施用至药物施用组1-4。以与实施例1相同的方式，对药物施用组1-4和对照1-3进行被动回避试验。

[0119] 由其得到的试验结果显示在表3和图2中。

[0120] [表3]

[0121]

组	被动回避学习(秒)	主实验(秒)
药物施用组1(2.5mg/Kg)	30.11±6.775	74.88±14.950
药物施用组2(5mg/Kg)	35.44±7.211	99.00±13.910
药物施用组3(10mg/Kg)	31.22±5.351	144.30±25.680
药物施用组4(20mg/Kg)	21.22±2.808	127.40±26.200
对照1(对照)	23.00±6.608	286.00±8.324
对照2(东莨菪碱)	28.11±4.979	56.67±11.360
对照3(多奈哌齐)	32.67±7.022	197.40±28.500

[0122] 如表3和图2中所示，与对照2(其中施用东莨菪碱)的相比，药物施用组1-4(其中施用制备例3中制备的墨旱莲皂苷I)移动至第二小室的等待时间显著延长。详细地，与对照2的相比，药物施用组3(其中施用10mg/Kg的墨旱莲皂苷I)的等待时间延长约2.54-倍。

[0123] 因此，确认墨旱莲皂苷I对于预防或治疗认知障碍如痴呆是有效的。

[0124] 5)实施例3：被动回避测试3

[0125] 将制备例1中制备的利用70％乙醇提取的墨旱莲提取物溶解在10％吐温80中，并且分别以25mg/kg，50mg/kg，100mg/kg和200mg/kg的量施用给药物施用组1-4。以与实施例1相同的方式，对药物施用组1-4和对照1-3进行被动回避测试。

[0126] 由其得到的试验结果显示在表4和图3中。

[0127] [表4]

[0128]

组	被动回避学习(秒)	主实验(秒)
药物施用组1(25mg/Kg)	30.89±4.550	91.67±17.320
药物施用组2(50mg/Kg)	32.33±4.983	118.70±23.240
药物施用组3(100mg/Kg)	40.33±6.791	151.10±32.460
药物施用组4(200mg/Kg)	23.22±4.858	101.30±24.750
对照1(对照)	27.83±5.974	277.30±19.290
对照2(东莨菪碱)	29.67±4.265	30.63±6.803
对照3(多奈哌齐)	32.67±5.593	187.80±23.850

[0129] 表4和图3中所示，与对照2(其中施用东莨菪碱)的相比，药物施用组1-4(其中施用制备例1中制备的含有墨旱莲皂苷的墨旱莲的70％乙醇提取物)移动至第二小室的等待时间显著延长。详细地，与对照2的相比，药物施用组2(其中施用50mg/Kg的墨旱莲的70％乙醇

提取物)的等待时间延长约3.8-倍;并且与对照2的相比,药物施用组3(其中施用100mg/Kg的墨旱莲的70%乙醇提取物)的等待时间延长约4.9-倍。

[0130] 因此,确认制备例1中制备的含有墨旱莲皂苷墨旱莲的70%乙醇提取物对于预防或治疗认知障碍如痴呆是有效的。

[0131] 6)实施例4:被动回避试验4

[0132] 将制备例2中制备的用30%乙醇提取的墨旱莲提取物溶解在10%吐温80中,并分别以25mg/kg、50mg/kg、100mg/kg和200mg/kg的量施用至药物施用组1-4。以与实施例1相同的方式对药物施用组1-4和对照1-3进行被动回避试验。

[0133] 由其得到的测试结果显示在表5和图4中。

[0134] [表5]

[0135]

组	被动回避学习(秒)	主实验(秒)
药物施用组1(25mg/Kg)	36.00±5.382	82.25±20.00
药物施用组2(50mg/Kg)	36.67±6.249	140.60±20.10
药物施用组3(100mg/Kg)	35.89±4.823	112.10±17.14
药物施用组4(200mg/Kg)	34.00±5.323	97.50±12.96
对照1(对照)	21.33±2.333	265.80±21.08
对照2(东莨菪碱)	38.78±6.300	55.14±13.94
对照3(多奈哌齐)	36.00±6.640	194.80±30.01

[0136] 如表5和图4中所示,与对照2(其中施用东莨菪碱)的相比,药物施用组2(其中施用制备例2中制备的含有墨旱莲皂苷的墨旱莲的30%乙醇提取物)移动至第二小室的等待时间显著延长。详细地,与对照2的相比,药物施用组2(其中施用50mg/Kg的墨旱莲的30%乙醇提取物)的等待时间延长约2.5-倍。

[0137] 因此,确认制备例2中制备的含有墨旱莲皂苷墨旱莲的30%乙醇提取物对于预防或治疗认知障碍如痴呆是有效的。

[0138] 7)实施例5:Y-迷宫试验

[0139] 对于该实验,准备Y-迷宫。所述Y-迷宫具有3个分支并且每个分支具有42cm的长度、3cm的宽度和12cm的高度。任意两个臂之间的角度为120度,并且所述臂由黑色聚乙烯树脂制成。

[0140] 将在上述1)中准备的小鼠分为7个组(8-10只小鼠/组),由药物施用组1至4和对照1至3组成。

[0141] 将制备例3中制备的墨旱莲皂苷II(20mg)溶解在5mL的10%吐温80(聚氧乙烯失水山梨糖醇单油酸酯:Sigma,U.S.A.),并分别以2.5、5、10和20mg/Kg的量施用至药物施用组1-4。同时,将5mg/Kg的多奈哌齐施用至对照3,并且将0.15mL的10%吐温80分别施用至对照2和3。

[0142] 约30分钟后,将溶解在蒸馏水中的1mg/Kg的东莨菪碱腹膜内地施用至药物施用组1-4和对照2-3(Ebert,U.等人.,Eur.J.Clin.Invest.,28,pp.944-949,1998),并且将0.9%的盐水溶液腹膜内地施用至对照1。

[0143] 30分钟后,小心地将药物施用组1-4和对照1-3的小鼠置于Y-迷宫的各个分支(其

分别地分为A、B和C)，并且让小鼠自由地移动8分钟，然后记录小鼠已经进入的分支。当整个身体(即包括尾巴)已经完全进入时，记录进入。当小鼠再次进入该小鼠之前已经进入过的分支时也进行记录。

[0144] 当小鼠相继地进入3个不同的分支(实际变换)时，记为1分。变换行为(alternation behavior)被定义为相继进入到每3个分支中，并且经由以下公式1转化为%(Sarter,M.等人.,Psychopharmacology.,94,pp.491-495,1998)。

[0145] [公式1]

[0146] 变换行为(%)＝(实质变换/最大变换)s 100

[0147] (最大变换:总进入-2)

[0148] 通过公式1转化的变换行为显示在表6和图5中。

[0149] [表6]

[0150]

组	变换行为(%)
药物施用组1(2.5mg/Kg)	53.89±2.690
药物施用组2(5mg/Kg)	57.38±2.104
药物施用组3(10mg/Kg)	62.50±2.283
药物施用组4(20mg/Kg)	58.00±3.586
对照1(对照)	75.89±2.653
对照2(东莨菪碱)	50.20±1.988
对照3(多奈哌齐)	64.33±1.667

[0151] 如表6和图5中所示，与对照2(其中仅施用东莨菪碱)的相比，药物施用组3(其中施用制备例3中制备的墨旱莲皂苷II)的变换行为增加，并 且其与对照3(其中施用多奈哌齐)的类似。

[0152] 因此，确认制备例3中制备的墨旱莲皂苷II在预防或治疗认知障碍如痴呆和改善注意力集中能力方面是有效的。

[0153] 另外，在单一施用2g/kg的墨旱莲皂苷、或含有墨旱莲皂苷的墨旱莲提取物之后的2周内，没有观察到死亡。

[0154] 工业实用性

[0155] 包含墨旱莲皂苷或其衍生物、或含有墨旱莲皂苷或其衍生物的墨旱莲提取物作为活性成分的本公开内容的组合物可以有效预防、改善或治疗认知障碍或注意集中障碍。

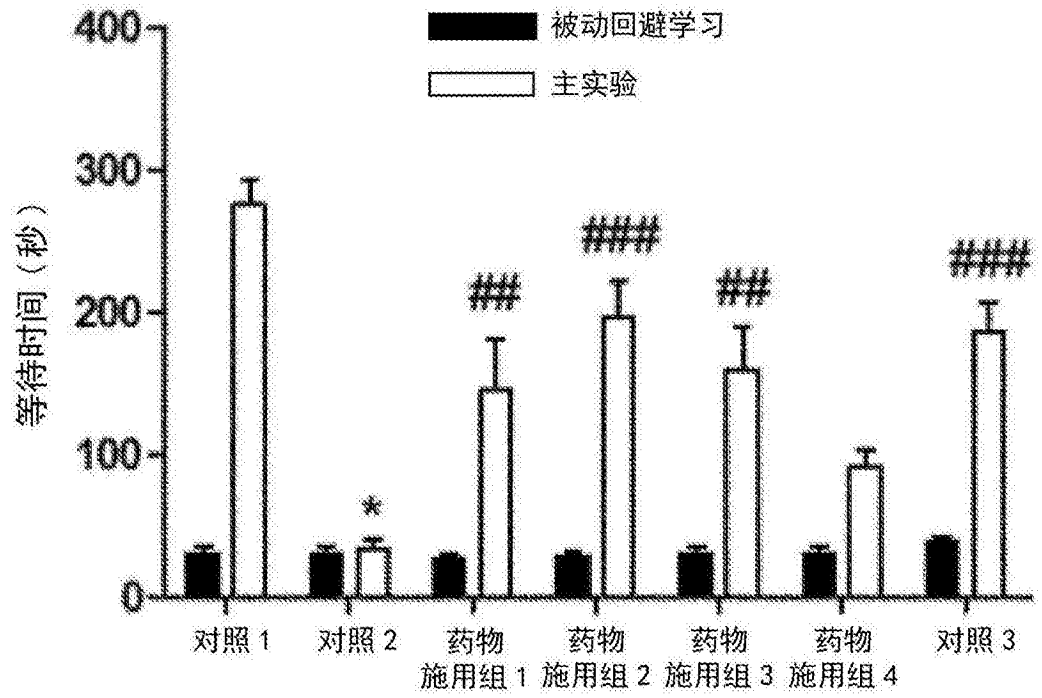

被动回避学习
主实验
等待时间（秒）
400
300
200
100
0
*
##
###
##
####
对照 1
对照 2
药物施用组 1
药物施用组 2
药物施用组 3
药物施用组 4
对照 3

图1

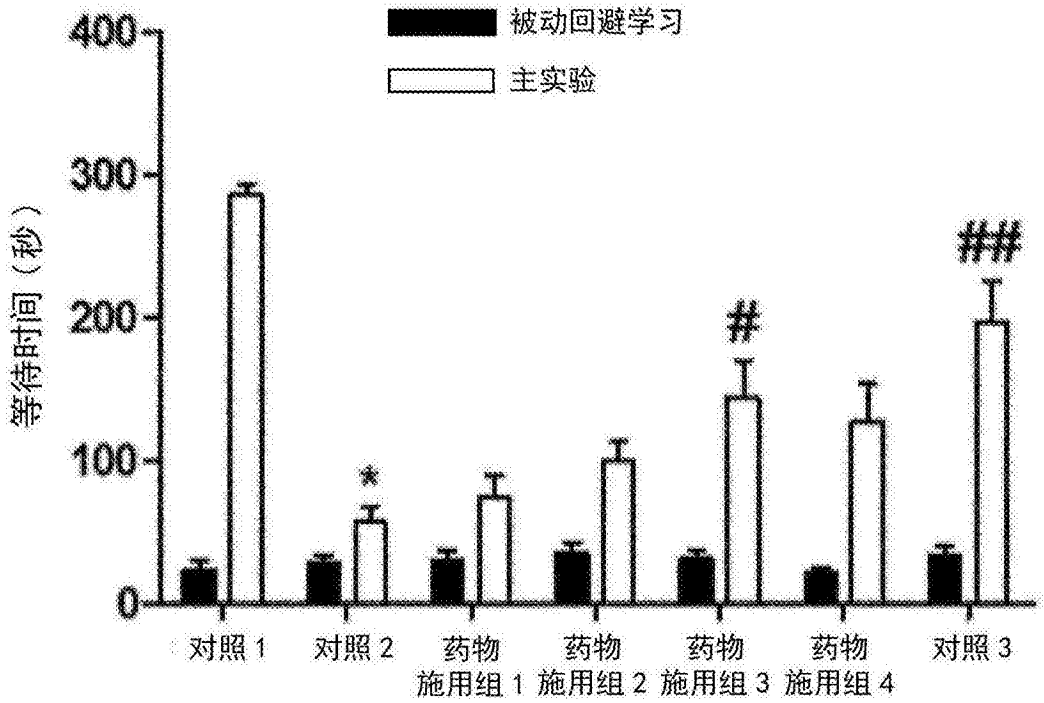

被动回避学习
主实验
等待时间（秒）
400
300
200
100
0
*
#
##
对照 1
对照 2
药物施用组 1
药物施用组 2
药物施用组 3
药物施用组 4
对照 3

图2

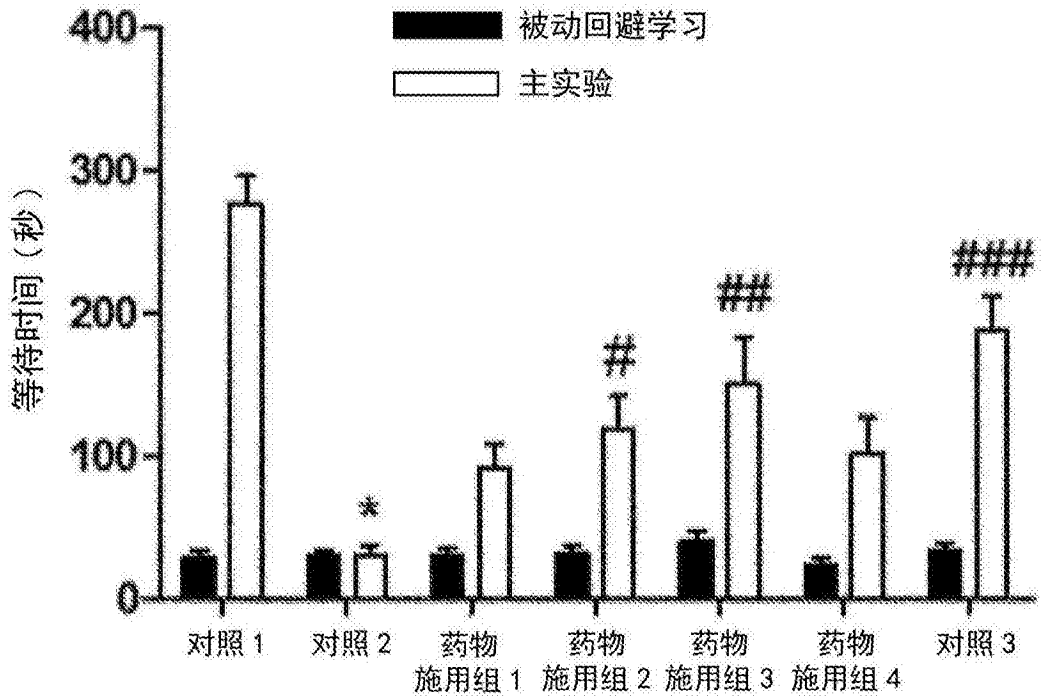

被动回避学习
主实验
等待时间（秒）
400
300
200
100
0
*
#
##
###
对照 1
对照 2
药物施用组 1
药物施用组 2
药物施用组 3
药物施用组 4
对照 3

图3

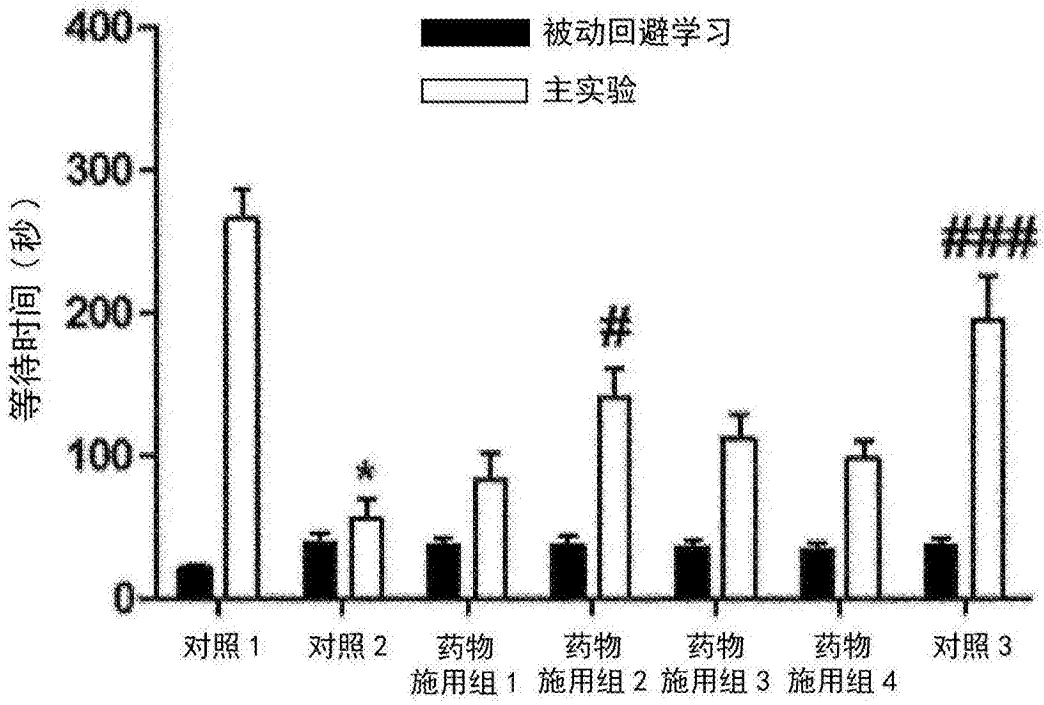

被动回避学习
主实验
等待时间（秒）
400
300
200
100
0
*
#
###
对照 1
对照 2
药物施用组 1
药物施用组 2
药物施用组 3
药物施用组 4
对照 3

图4

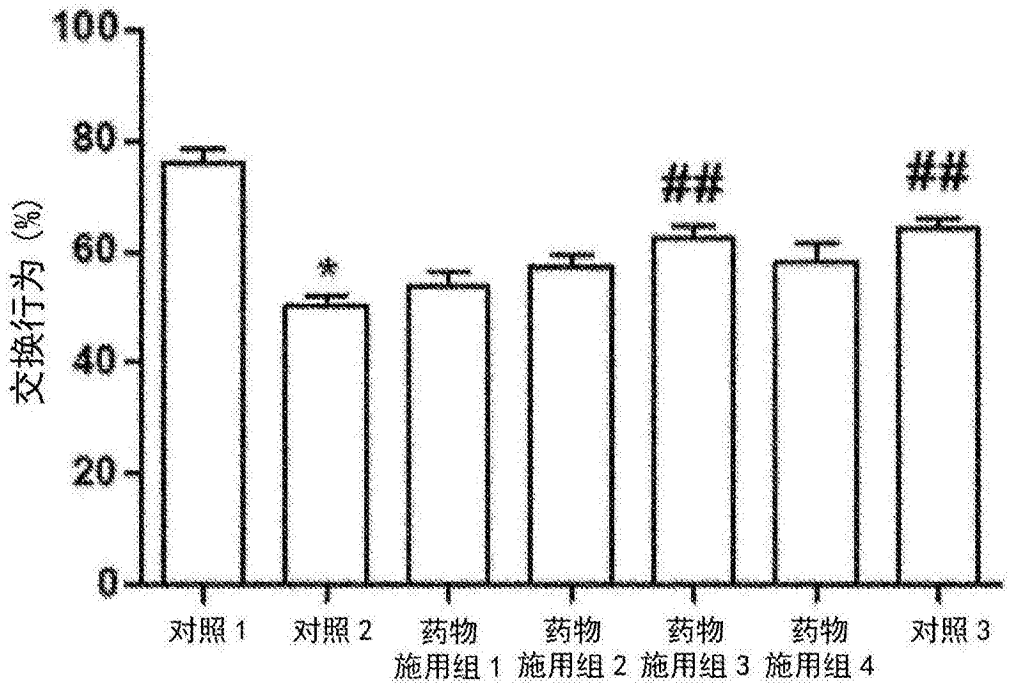


图5