



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0060835
(43) 공개일자 2013년06월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/7048 (2006.01) *A61K 31/70* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0127108

(22) 출원일자 2011년11월30일

심사청구일자 2011년11월30일

(71) 출원인

대한민국 (식품의약품안전처장)

충청북도 청원군 강외면 오송생명2로 187

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스
내 (서천동, 경희대학교)

서울대학교산학협력단

서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)

(72) 발명자

류중훈

서울특별시 강남구 대치동 미도아파트 101동 609
호

이형은

서울특별시 강남구 압구정로 201, 75동 602호 (압
구정동, 현대아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

안소영

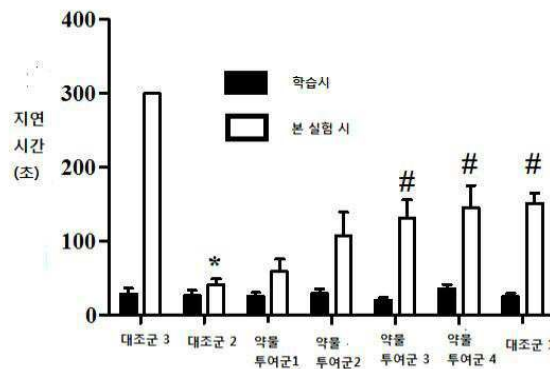
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 스피노신을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학조성물

(57) 요약

본 발명의 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 약학 조성물은 인지기능 장애 질환을 예방 및 치료하는 조성물로, 기억 및 학습 능력을 효과적으로 향상시켜 치매 및 건망증과 같은 인지기능 장애 질환을 효과적으로 치료 및 예방할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

강삼식

서울특별시 강남구 압구정로 201, 31동 202호 (압구정동, 현대아파트)

김주선

경기도 성남시 분당구 중앙공원로 20, 416동 1401호 (서현동, 현대아파트)

이소영

서울특별시 용산구 이태원로16길 37-9 (이태원동)

김도훈

서울특별시 서초구 잠원동 58-24 11차 한신아파트 321동 104호

김동섭

서울특별시 양천구 목동 트라펠리스 웨스턴에비뉴 B동 1501호

김승희

서울특별시 양천구 목동동로 350, 목동신시가지아파트 525동 303호 (목동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	09112한약재890
부처명	식품의약품안전청
연구사업명	한약재 평가기술 과학화 연구
연구과제명	한약재 생리활성성분 분리 및 효능연구 6
주관기관	서울대학교
연구기간	2009.06.01 ~ 2011.11.30

특허청구의 범위

청구항 1

스피노신(spinosin)을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 스피노신은 *Zizyphus jujuba* Mill var. *inermis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *hoonensis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*, *Passiflora edulis flavicarpa*, *Cayaponia tayuya*, *Desmodium tortuosum*, *Wilbrandia ebracteata*, *Strophoblachia fimbriicalyx*, *Clutia abyssinica* 및 *Saccharopolyspora spinosa*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추출물로부터 수득되는 것인 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 인지기능 장애 질환은 치매 또는 건망증인 것인 약학 조성물.

청구항 4

스피노신을 함유하며, *Zizyphus jujuba* Mill var. *inermis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *hoonensis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*, *Passiflora edulis flavicarpa*, *Cayaponia tayuya*, *Desmodium tortuosum*, *Wilbrandia ebracteata*, *Strophoblachia fimbriicalyx*, *Clutia abyssinica* 및 *Saccharopolyspora spinosa*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 추출물은 *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*의 씨로부터 수득되는 것인 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 6

스피노신을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

스피노신을 함유하며, *Zizyphus jujuba* var. *inermis*, *Zizyphus jujuba* var. *hoonensis*, *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* 및 *Passiflora edulis flavicarpa*, *Cayaponia tayuya*, *Desmodium tortuosum*, *Wilbrandia ebracteata*, *Strophoblachia fimbriicalyx*, *Clutia abyssinica*, *Saccharopolyspora spinosa*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

명 세 서

기술분야

[0001] 본 발명은 스피노신을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 및 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로 본 발명은 기억력 및 학습능력을 향상시켜 치매 또는 건망증과 같은 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있는 약학 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[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 알츠

하이머성 치매(Alzheimer's disease), 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 아세틸콜린에스테라제(이하 'AChE'라 한다) 억제제 단독으로 또는 기존의 콜린 에스테라제 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 스피노신을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
[0010] 본 발명의 다른 목적은 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성

물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 스피노신을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

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

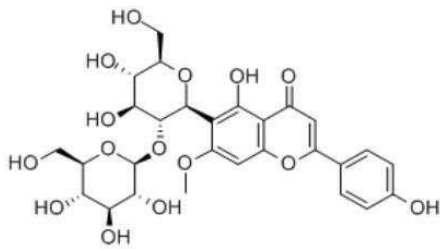
[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 스피노신을 포함하는 퇴행성 뇌 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

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

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명은 스피노신(spinosin)을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 대한 것이다.

[0016] 스피노신(spinosin, 6-(2-O-beta-D-Glucopyranosyl-beta-D-glucopyranosyl)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-1-benzopyran-4-one)은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물이다.



[0017] ... 화학식 (1)

[0018] 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 인지기능 장애 질환을 예방 또는 치료할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 기억력 및 학습능력을 향상시켜 인지기능 장애 질환을 예방 또는 치료할 수 있다.

[0019] 본 발명의 스피노신을 포함하는 약학 조성물은 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 치매 및 건망증 개선에 유용하다.

[0020] 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 다양한 종류의 생약으로부터 수득될 수 있다. 예를 들면, 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 *Zizyphus jujuba* Mill var. *inermis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *hoonensis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*, *Passiflora edulis flavicarpa*, *Cayaponia tayuya*, *Desmodium tortuosum*, *Wilbrandia ebracteata*, *Strophoblachia fimbricalyx*, *Clutia abyssinica*, *Saccharopolyspora spinosa* 또는 이들의 혼합물로부터 수득될 수 있으며, 바람직하게는 *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*의 씨(seed)인 산조인으로부터 수득될 수 있다.

[0021] 상기 기재된 생약 또는 이들 혼합물의 추출물로부터 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신을 수득할 수 있으며, 바람직하게는 상기 생약 또는 이들 혼합물의 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 헥산의 추출물로부터 화학식 (1)로 표시되는 스피노신을 수득할 수 있다. 예를 들면, 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*의 씨(seed)인 산조인의 추출물로부터 수득될 수 있다.

[0022] 바람직하게는 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*의 씨(seed)인 산조인의 에탄올 추출물로부터 수득될 수 있다.

[0023] 또는 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 시중에 판매되는 것을 구입하여 수득할 수 있다.

[0024] 본 발명에 있어, 상기 인지기능 장애 질환은 기억력, 공간지각력, 판단력, 집행기능, 언어능력 등의 기능 저하로부터 발생하는 질환을 의미하는 것으로 예를 들면, 알츠하이머성 치매(Alzheimer's disease), 혈관성 치매(vascular dementia), 기타 알콜 중독, 외상, 파킨슨병의 후유증으로 오는 치매와 같은 다양한 원인에 기인한 치매이거나 또는 건망증일 수 있으며, 바람직하게는 알츠하이머성 치매일 수 있다.

[0025] 본 발명의 스피노신을 포함하는 약학조성물은 스코폴라민을 투여한 마우스의 기억력 감퇴 효과를 적은 양으로도

효과적으로 억제할 수 있다.

- [0026] 상기 스피노신은 위 기재된 생약에 포함된 성분으로 부작용 없이 인지기능 장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 스피노신을 포함하는 인지기능장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 있어 상기 스피노신은 성인 1일 약 1mg 내지 120mg의 용량으로 단회 내지 수회 투여가 가능하며, 바람직하게는 30mg 내지 120mg의 용량으로 단회 내지 수회투여가 가능하다. 그러나 상기 스피노신의 투여량은 환자의 중증, 나이, 성별, 체중 등의 환자의 상태와 약물의 제형, 투여경로 및 투여 기간에 따라 적절하게 조절될 수 있다.
- [0028] 본 발명은 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신을 포함하며, *Zizyphus jujuba* Mill var. *inermis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *hoonensis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*, *Passiflora edulis flavicarpa*, *Cayaponia tayuya*, *Desmodium tortuosum*, *Wilbrandia ebracteata*, *Strophoblachia fimbriicalyx*, *Clutia abyssinica*, *Saccharopolyspora spinosa* 또는 이들 혼합물의 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0029] 상기 *Zizyphus jujuba* Mill var. *inermis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *hoonensis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*, *Passiflora edulis flavicarpa*, *Cayaponia tayuya*, *Desmodium tortuosum*, *Wilbrandia ebracteata*, *Strophoblachia fimbriicalyx*, *Clutia abyssinica* 및 *Saccharopolyspora spinosa*는 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신(spinosin)을 포함한다. 따라서 상기 기재된 생약의 추출물을 포함하는 조성물은 스피노신(spinosin)과 같이 인지기능 장애 질환을 예방 또는 치료할 수 있으며, 생약 추출물이므로 부작용이 없다.
- [0030] 본 발명의 약학 조성물은 *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*의 추출물을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*의 씨(Seed)의 물, 핵산, 에탄올, 메탄올, 부탄올 또는 이들의 혼합물의 추출물을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 에탄올 추출물을 포함할 수 있다.
- [0031] 상기 스피노신 함유 생약 추출물은 부작용 없이 인지기능 장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 상기 생약 추출물은 스피노신을 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 치매 및 건망증 개선에 유용하다.
- [0033] 본 발명의 약학 조성물은 상기 생약 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.
- [0034] 본 발명의 생약 추출물을 포함하는 인지기능장애 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 있어 상기 생약 추출물은 성인에 대하여 1일 약 10mg 내지 1200mg의 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.
- [0035] 본 발명의 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신(spinosin) 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 약학 조성물은 독성 및 부작용이 없으므로 예방 또는 치료 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 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, 용해 보조제 등의 첨가제를 포함할 수 있다.
- [0037] 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.
- [0038] 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)나

트륨 등의 가교 셀룰로오스류; 구아검, 잔탄검 등의 검류; 가교 폴리비닐피롤리돈(crospovidone) 등의 가교 중합체; 중탄산나트륨, 시트르산 등의 비등성 제제, 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다.

[0039] 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.

[0040] 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.

[0041] 산화방지제는 디부틸 히드록시 톨루엔, 부틸레이티드 히드록시아니솔, 초산 토크페롤, 토크페롤, 프로필 갈레이트, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 선방출성 구획에서, 용해보조제는 라우릴황산나트륨, 폴리소르베이트 등의 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 도큐세이트 나트륨, 폴록사머(poloxamer) 등을 사용할 수 있다.

[0042] 본 발명의 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 경구투여를 위하여 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등의 고형제제로 제제화될 수 있으며, 이러한 고형제제는 상기 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물과 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 제조될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 함께 사용될 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.

[0043] 본 발명의 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 비경구 투여를 위한 제제화를 위하여 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 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 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0044] 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.

[0045] 본 발명에 따른 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 및 치료용 조성물은 일 회 투여될 수도 있고, 또는 일정한 시간 간격을 두고 수회 나누어 투여될 수 있다.

[0046] 본 발명에 따른 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 약학 조성물은 인지기능장애 질환 치료 효과를 가진 다른 활성성분을 추가적으로 더 포함할 수 있다.

[0047] 본 발명에 따른 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물은 포함하는 약학 조성물은 인지기능장애 질환을 예방 또는 치료하기 위하여 단독 또는 호르몬 치료, 약물 치료 등의 다양한 방법들과 병용하여 사용될 수 있다.

[0048] 본 발명은 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신(spinosin) 또는 상기 스피노신을 함유하는 생약 추출물을 포함하는 인지기능 장애 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

[0049] 본 발명에 따른 상기 식품 조성물은 식품 조성물, 건강기능식품 또는 음료에 통상적으로 첨가제 등을 더 포함할 수 있다.

[0050] 예를 들면, 본 발명의 식품 조성물은 백당, 결정과당, 포도당, D-솔비톨, 만니톨, 이소말토올리고당, 스테비오사이드, 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 증진제(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 주스 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.

[0051] 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, 슈크로스과 같은 디사카라이드, 텍스트린, 시크로덱스스클린과 같은 폴리사카라이드 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리쓰리톨과 같은 당 알코올일 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.

[0052] 본 발명의 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 제조되어 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류로 이용될 수 있다.

[0053] 본 발명의 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 조성물은 인지기능 장애를 예방 또는 개선하기 위한 약제, 식품 및 음료 등에 첨가될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 조성물은 식품, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등에 첨가될 수 있다.

[0054] 본 발명의 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 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.

[0055] 본 발명은 스피노신(spinosin)을 포함하는 퇴행성 뇌 질환을 예방 또는 치료하는 약학 조성물을 제공한다. 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신은 뇌졸중, 중풍, 파킨슨씨 병 또는 헌팅턴 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0056] 본 발명은 스피노신(spinosin)을 함유하는 생약 추출물을 포함하는 퇴행성 뇌 질환을 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 화학식 (1)로 표시되는 스피노신 함유 생약 추출물은 뇌졸중, 중풍, 파킨슨씨 병 또는 헌팅턴 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 상기 생약 추출물은 *Zizyphus jujuba* Mill var. *inermis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *hoonensis*, *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*, *Passiflora edulis* *flavicarpa*, *Cayaponia tayuya*, *Desmodium tortuosum*, *Wilbrandia ebracteata*, *Strophoblachia fimbriatylx*, *Clutia abyssinica*, *Saccharopolyspora spinosa* 또는 이들의 혼합물로부터 수득될 수 있으며, 바람직하게는 *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa*의 씨(seed)로부터 수득될 수 있다.

발명의 효과

[0057] 본 발명에 따른 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 약학 조성물은 인지기능 장애 질환을 효과적으로 예방 치료할 수 있다. 구체적으로, 본 발명에 따른 스피노신 또는 스피노신 함유 생약 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 기억력 및 학습능력을 현저히 향상시켜 치매를 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0058] 도 1은 본 발명에 따른 스피노신을 포함하는 약학 조성물의 기억 및 학습 능력 향상 효과를 보여주는 도이다.

도 2 내지 도 5는 본 발명에 따른 스피노신 함유 산조인 추출물을 포함하는 약학 조성물의 기억 및 학습 능력 향상 효과를 보여주는 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0059] 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.

[0060] 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 JEOL JMS-700 mass spectrometer를 사용하여 측정하였다.

실시예 1. 스피노신 함유 산조인 추출물의 제조

- [0062] 산조인(*Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa* Hu 씨) 12kg을 분쇄기로 분쇄한 후 추출병에 나눠 넣고 n-헥산을 분쇄된 산조인 표면 이상이 될 때까지 가하여 실온에서 3일 동안 방치한 후 여과하였다. 동일한 방법으로 4회 반복하여 헥산 용액이 거의 투명하게 되었을 때 헥산 추출액을 합하여 농축하였다.
- [0063] 헥산 추출액 제거 후 남은 산조인 표면 이상이 될 때까지 70% 에탄올을 가하여 실온에서 3일 동안 방치한 후 여과시켜 감압 농축하였다. 다시 잔사에 70%의 에탄올을 가하여 수욕상에서 추출하고 여과하였다. 잔사에 다시 70%의 에탄올을 가하여 수욕상에서 추출하고 여과하는 방법으로 6회 추출하고 추출액을 모두 합하고 감압 농축하여 산조인의 70%의 에탄올 연조 엑스를 수득하였다.
- [0064] **실시예 2: 스피노신의 분리 및 정제**
- [0065] 상기 실시예 1에서 제조된 산조인의 에탄올 연조 엑스에 n-헥산: 메탄올: 물을 10: 9: 1의 부피비로 가하여 진탕한 후 하룻밤 방치시켜 n-헥산 가용부를 제거하고 90%의 메탄올 분획을 감압 농축하였다. 농축된 90% 메탄올 분획에 증류수를 가하고 상기 증류수와 동량의 에틸아세테이트를 가한 후, 에틸아세테이트 분획을 제거하였다. 상기 물 층에 동량의 n-부탄올을 가한 후 n-부탄올 분획을 감압 농축하였다.
- [0066] 상기 감압 농축하여 수득된 n-부탄올 분획을 실라카겔 컬럼에 로딩한 후 메틸렌클로라이드/메탄올/물의 부피비가 7 : 1 : 0.5, 7 : 1.5 : 0.5 및 7 : 2 : 0.5인 용액 및 메탄올을 용출용매로 하여 크로마토그래피를 실시 (7 : 1 : 0.5 → 7 : 1.5 : 0.5 → 7 : 2 : 0.5 → MeOH)하여 30개의 소분획을 수득하고 상기 30개의 소분획에 대하여 TLC로 스피노신(spinosin)이 포함된 25번째 소분획을 수득하였다.
- [0067] 상기 25번째 소분획을 실라카겔 컬럼에 로딩한 후 에틸아세테이트/메탄올/물의 부피비가 100 : 8 : 6, 100 : 10 : 7.5, 100 : 12 : 9인 용액을 용출용매로 하여 크로마토그래피를 실시(100 : 8 : 6 → 100 : 10 : 7.5 → 100 : 12 : 9)하여 소분획을 수득하고 각 소분획에 대하여 TLC로 스피노신(spinosin)이 포함된 3번째 소분획을 다시 수득하였다.
- [0068] 상기 3번째 소분획을 메탄올로 재결정하여 미황색 무정형 분말인 스피노신(3.2g)을 수득하였다.(수율 0.027%)
- [0069] 상기 스피노신의 물리화학적 성상은 하기와 같았다.
- [0070] TLC Rf: 0.27 (흡착제: 실리카 겔 GF₂₅₄, 전개용매: 클로로포름/메탄올/물 (= 520 : 280 : 80), 발색시약: 20% 황산수용액
- [0071] 융점: 237-240 °C
- [0072] $[\alpha]_D^{24} = -47.5^\circ$ (c = 0.01, MeOH)
- [0073] UV, $\lambda_{\max}$ (log ϵ) (MeOH) 216 (sh, 4.74), 272 (4.46), 334 (4.52) nm
- [0074] IR, $\nu_{\max}$ 3141 (OH), 1649, 1603, 1484, 1453, 1347, 1196, 1054, 1020, 841 cm^{-1}
- [0075] ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ + D₂O) δ : 2.56 (1H, dt, J = 9.0 Hz, H-5'''), 2.74 (1H, dt, J = 9.4 Hz, H-5'''), 2.83 (2H, t, J = 8.3, H-2'''), 2.93 (2H, br d, 9.4 Hz, H-6'''), 2.94, 2.99 (1H each, t, J = 8.5 Hz, H-4'''), 3.39 (2H, br d, J = 12.1 Hz, H-6''), 3.70 (2H, t, J = 9.0 Hz, H-3'''), 3.88 (6H, s, OCH₃), 4.15 (2H, d, J = 7.8, H-1'''), 4.28, 4.45 (1H each, t, J = 9.3 Hz, H-2''), 4.68 (2H, d, J = 9.8 Hz, H-1''), 6.77, 6.79 (1H each, s, H-8), 6.80 (2H, s, H-3), 6.94 (4H, d, J = 8.6 Hz, H-3',5'), 7.95 (4H, d, J = 8.6 Hz, H-2',6'), 13.5, 13.6 (1H each, s, 5-OH)
- [0076] ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆ + D₂O) δ : 56.5, 56.9 (OCH₃), 60.2, 60.8 (C-6'''), 61.6 (C-6''), 69.3, 69.6 (C-4'''), 70.6 (C-4''), 71.1, 71.4 (C-1''), 74.7, 74.8 (C-2'''), 76.4 (C-3'''), 76.6, 76.8 (C-5'''), 78.4, 78.7 (C-3'), 80.9, 81.3 (C-2''), 81.7, 82.0 (C-5'), 90.8, 91.3 (C-8), 103.4, 103.5 (C-3), 104.5, 104.7 (C-10), 105.4, 105.6 (C-1'''), 108.8 (C-6), 116.4 (C-3',5'), 121.4, 121.5 (C-1'), 128.9 (C-2',6'), 157.4, 157.5 (C-9), 159.6, 160.5 (C-5), 161.4 (C-4'), 164.2 (C-2), 164.3, 165.4 (C-7), 182.3, 182.6 (C-4)

- [0077] Positive FAB-MS m/z 609 $[M + H]^+$
- [0078] **실험예: 치매치료 효능 확인**
- [0079] 실시예 1 및 2에서 제조된 스피노신 또는 스피노신을 유효성분으로 포함하는 산조인 추출물의 치매치료 효능을 확인하기 위하여 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴 모델을 이용한 실험을 수행하였으며 구체적인 실험방법을 다음과 같다.
- [0080] 1) 실험동물의 준비
- [0081] 약 26g 내지 28g의 6주령 ICR계 쥐((주) 오리엔트, 한국)를 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 하면서 온도 약 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 약 $55 \pm 10\%$ 및 명암주기가 12시간인 환경 하에서 5일간 적응시켜 사육(경희대학교 약학대학의 동물 실험실)한 후 실험에 사용하였다.
- [0082] 2) 통계처리
- [0083] 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.
- [0084] 3) 실험예 1: 수동회피실험(passive avoidance test) 1
- [0085] 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.
- [0086] 상기 1)에서 준비된 마우스들을 스피노신이 투여될 약물투여군 1 내지 4 및 대조군 1 내지 3의 7개의 군(한 군 당 10마리)으로 준비하였다. 실시예 2의 스피노신을 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 용해시킨 후 2.5 mg/Kg, 5 mg/Kg, 10 mg/Kg 및 20 mg/Kg의 용량으로 약물투여군 1, 2, 3, 4에 각각 투입하였다. 한편, 대조군 1에는 도네페질(Sigma-Aldrich Chemistry Co.)을 5 mg/Kg의 용량으로 투여하였으며, 대조군 2 및 3에는 10% 트윈 80을 각각 0.15mL 투여하였다.
- [0087] 약 30분 경과 후 증류수에 용해시킨 스코폴라민(Sigma-Aldrich Chemistry Co.)을 1 mg/Kg의 용량으로 상기 약물투여군 1 내지 4, 대조군 1 및 대조군 2에 복강 투여(Ebert, U. et al., Eur. J. Clin. Invest., 28, pp944-949, 1998)하고 대조군 3에는 0.9%의 생리 식염수(saline 용액)를 복강 투여하였으며, 30분 경과 후 상기 약물투여군 1 내지 4 및 대조군 1 내지 3 마우스 각각에 대하여 수동회피반응 측정장치에 대한 학습을 수행하였다. 구체적으로 상기 마우스들을 밝게 유지되는 제1 공간에 위치시킨 후, 약 20초의 탐색시간이 경과한 후에, 길로틴 형태의 출입구를 개방하여 상기 쥐가 어둡게 유지되는 제2 공간으로 이동하는 시간(latency time, 지연시간)을 측정하였다.
- [0088] 길로틴 형태의 출입구 개방 후 60초가 경과할 때까지 어둡게 유지되는 제2 공간으로 이동하지 않은 쥐는 실험에서 제외하였다.
- [0089] 학습이 끝나고 24시간 후에 상기 약물투여군 1 내지 4 및 대조군 1 내지 3 각각에 대하여 본 실험을 시행하였다. 상기 각 군의 마우스들이 10초의 탐색시간 후 길로틴문이 열리고 어두운 쪽으로 4발이 다 들어가는 데 걸리는 시간(latency time : 지연시간)을 300초까지 측정하였다. 걸리는 시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다.
- [0090] 학습 시 및 본 실험에서 각 군의 마우스들의 평균 지연시간을 하기 표 1 및 도 1에 나타내었다.

[0091] 표 1

실험군	학습(초)	본 실험(초)
약물투여군 1(2.5mg/Kg)	25.88±13.72	59.13±46.88
약물투여군 2(5mg/Kg)	29.38±18.17	107.1±91.70
약물투여군 3(10mg/Kg)	20.50±9.196	131.3±69.94
약물투여군 4(20mg/Kg)	36.00±16.45	146.0±83.53
대조군 1(도네페질)	25.13±13.68	151.9±37.24
대조군 2	26.50±18.16	41.33±18.92
대조군 3	29.17±18.15	300

[0092]

[0093] 상기 표 1 및 도 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 실시예 2에서 제조된 스피노신(spinosin)을 투여한 약물투여군 1 내지 4는 스코폴라민만을 투여한 대조군 2에 비하여 제2 공간으로 이동하는 시간인 지연시간이 현저하게 증가하였다. 구체적으로 스피노신을 2.5 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 1은 대조군 2에 비하여 약20초 정도 지연시간이 증가하였으며, 스피노신을 5 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 2는 대조군 2에 비하여 약 2.5배 정도 지연시간이 증가하였다. 또한 스피노신을 10 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 3은 대조군 2에 비하여 약 3배 정도 지연시간이 증가하였으며, 스피노신을 20 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 4는 대조군 2에 비하여 약 3.5배 정도 지연시간이 증가하였다. 특히 상기 약물대조군 3 및 4는 도네페질을 투여한 대조군 1과 거의 유사한 정도로 스코폴라민 투여에 의한 기억력 감퇴된 마우스의 기억력과 학습능력을 향상시켰음을 알 수 있었다.

[0094] 이로부터 실시예 2에서 제조된 스피노신(spinosin)이 치매와 같은 인지기능장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0095] 4) 실험예 2: 수동회피실험(passive avoidance test) 2

[0096] 실시예 1에서 제조된 70%의 에탄올로 추출된 산조인 추출물을 10%의 트윈 80에 용해시켜 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg 및 200 mg/kg의 용량으로 약물 투여군 1 내지 4에 투여한 점을 제외하고 실험예 1과 동일한 방법으로 약물 투여군 1 내지 4 및 대조군 1 내지 3에 대하여 수동회피실험을 수행하였다.

[0097] 상기 실험의 결과는 하기 표 2 및 도 2에 도시하였다.

[0098] 표 2

실험군	학습	본 실험
약물투여군 1(25mg/Kg)	25.75±15.92	49.50±46.26
약물투여군 2(50mg/Kg)	23.25±18.17	40.00 ± 17.51
약물투여군 3(100mg/Kg)	32.13 ± 18.92	173.9 ± 77.84
약물투여군 4(200mg/Kg)	27.75 ± 19.00	112.8 ± 89.67
대조군 1(도네페질)	17.25 ± 5.365	140.5 ± 25.47
대조군 2	32.80±21.26	26.10± 25.27
대조군 3	21.00±8.380	228.7.00± 50.65

[0099]

[0100] 상기 표 2 및 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 스피노신(spinosin) 함유 산조인 추출물을 투여한 약물투여군 1 내지 4는 스코폴라민만을 투여한 대조군 2에 비하여 제2 공간으로 이동하는 시간인 지연시간이 현저하게 증가하였다. 구체적으로 스피노신을 25 mg/Kg 및 50 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 1 및 2는 대조군 2에 비하여 약2배 정도 지연시간이 증가하였다. 또한 스피노신을 100 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 3은 대조군 2에 비하여 약 6배 정도 지연시간이 증가하였으며, 스피노신을 200 mg/Kg의 용량으로 투여한 약물투여군 4는 대조군 2에 비하여 약 4.3배 정도 지연시간이 증가하였다. 특히 상기 약물대조군 3 및 4는 도네페

폐질을 투여한 대조군 1과 거의 유사한 정도로 스코폴라민 투여에 의한 기억력 감퇴된 마우스의 기억력 및 학습 능력을 향상시켰음을 알 수 있었다.

[0101] 이로부터 실시예 1에서 제조된 스피노신(spinosin) 함유 산조인 추출물은 치매와 같은 인지기능장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0102] 5) 실험예 3: Y 미로 실험

[0103] 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.

[0104] 상기 1)에서 준비된 마우스들을 실시예 1에서 제조된 산조인 추출물이 투여될 약물 투여군 1 및 2와 대조군 1 내지 3의 5개의 군(한 군당 10마리)으로 준비하였다.

[0105] 실시예 1의 산조인 추출물 160mg을 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.) 4mL에 용해시킨 후 상기 약물투여군 1 및 2에 100 mg/Kg 및 200 mg/Kg의 용량으로 각각 투여하였다. 한편, 대조군 1에는 도네페질(Sigma-Aldrich Chemistry Co.)을 5 mg/Kg의 용량으로 투여하였으며, 대조군 2 및 3에는 10% 트윈 80을 각각 0.15mL 투여하였다.

[0106] 약 30분 경과 후 증류수에 용해시킨 스코폴라민(Sigma-Aldrich Chemistry Co.)을 1 mg/Kg의 용량으로 상기 약물투여군 1, 2, 대조군 1 및 2에 복강 투여(Ebert, U. et al., Eur. J. Clin. Invest., 28, pp944-949, 1998) 하였고 대조군 3에는 0.9%의 생리 식염수(saline 용액)을 복강 투여하였다.

[0107] 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.

[0108] 세 개의 다른 가지에 차례로 들어간 경우 1점(실제 변경, actual alternation)씩 부여하였다. 변경 행동력(alternation behavior)은 3가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되며, 하기 수학적 식 1에 의해 %로 환산하였다(Sarter, M. et al., Psychopharmacology., 94, pp491-495, 1998).

[0109] [수학적 식 1]

실제변경(actual alternation)

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

최고변경(maximum alternation)

(최고변경 : 총 입장횟수 - 2)

[0110] 상기 수학적 식 1에 의해 환산된 변경 행동력을 하기 도 3 및 표 3에 나타내었으며, 각 구역으로 들어가는 총 횟수를 나타내는 총 입장횟수(total entry)을 도 4 및 표 4에 나타내었다.

[0112] 표 3

실험군	변경행동력(%)
약물투여군 1(100mg/Kg)	63.32 ± 9.005
약물투여군 2(200mg/Kg)	60.91 ± 6.369
대조군 1(도네페질)	65.71 ± 10.19
대조군 2	50.92 ± 14.59
대조군 3	76.53 ± 8.379

[0113]

[0114] 표 4

실험군	총 입장횟수
약물투여군 1(100mg/Kg)	37.00 ± 14.30
약물투여군 2(200mg/Kg)	32.30 ± 7.675
대조군 1(도네페질)	34.75 ± 7.265
대조군 2	24.75 ± 6.519
대조군 3	26.88 ± 13.78

[0115]

[0116] 상기 표 3 및 도 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 스피노신(spinosin) 함유 산조인 추출물을 투여한 약물투여군 1 및 2는 스코폴라민만을 투여한 대조군 2에 비하여 변경행동력이 증가하였으며 도네페질을 투여한 대조군 1과 유사한 정도의 변경행동력을 나타내었다. 또한 표 4 및 도 4에서 볼 수 있는 바와 같이 약물 투여군 1, 2 및 대조군 1 내지 3의 총 입장횟수는 모두 유사한 수치를 나타내고 있었다. 따라서, 변경 행동력의 증가가 마우스의 활동성 변화에 의한 것이 아님을 알 수 있어 약물투여군 1 및 2의 마우스의 학습능력 및 기억력이 실시예 1에서 제조된 스피노신 함유 산조인 추출물에 의해 현저히 향상되었음을 알 수 있었다.

[0117] 이로부터 실시예 1에서 제조된 스피노신(spinosin) 함유 산조인 추출물은 치매와 같은 인지기능장애 질환을 효과적으로 예방 또는 치료 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0118] 6) 실험예 4: 모리스 수중 미로 실험

[0119] 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 위치시켰다. 플랫폼 보다 0.5cm 윗부분까지 물을 채우고(수온 21±1 ℃), 색소를 이용하여 물을 흐리게 하여 수면에서 플랫폼이 보이지 않게 하였다.

[0120] 상기 1)에서 준비된 마우스들을 실시예 1에서 제조된 산조인 추출물이 투여되는 약물 투여군 1, 2 및 대조군 1 내지 3의 5개의 군(한 군당 10마리)으로 준비하였다.

[0121] 실시예 1의 산조인 추출물 160mg을 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.) 4mL에 용해시킨 후 상기 약물투여군 1 및 2에 100 mg/Kg 및 200 mg/Kg의 용량으로 각각 투여하였다. 한편, 대조군 1에는 도네페질(Sigma-Aldrich Chemistry Co.)을 5 mg/Kg의 용량으로 투여하였으며, 대조군 2 및 3에는 10% 트윈 80을 각각 0.15mL 투여하였다.

[0122] 약 30분 경과 후 증류수에 용해시킨 스코폴라민(Sigma-Aldrich Chemistry Co.)을 1 mg/Kg의 용량으로 상기 약물투여군 1, 2, 대조군 1 및 대조군 2에 복강 투여(Ebert, U. et al., Eur. J. Clin. Invest., 28, pp944-949,

1998)하였고 대조군 3에는 0.9%의 생리 식염수(saline 용액)를 복강 투여하였다.

[0123] 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.

[0124] 상기 실험 결과는 표 5 및 도 5에 나타내었다.

[0125] 표 5

실험군	시간(초)			
	1일	2일	3일	4일
약물투여군1 (100mg/Kg)	56.10±9.088	59.85±0.4743	49.85±16.64	46.70±15.96
약물투여군2 (200mg/Kg)	52.75±12.17	46.20±12.52	43.45±18.19	30.55±20.45
대조군 1(도네페질)	59.34±2.055	48.75±14.98	42.80±15.16	34.35±13.80
대조군 2	57.75±7.115	57.05±6.693	53.95±11.13	57.30± 6.701
대조군 3	57.10±6.736	40.35±14.98	27.65±16.27	25.60±13.70

[0126]

[0127] 상기 표 5 및 도 5에서 볼 수 있는 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 스피노신(spinosin) 함유 산조인 추출물을 투여한 약물투여군 1 및 2는 스코폴라민을 투여한 대조군 2에 비하여 3일 및 4일차에 플랫폼을 찾아가는데까지 걸리는 시간이 각각 10초 및 25초 이상 감소하였다. 특히 약물투여군 2의 경우 도네페질을 투여한 대조군 1보다 플랫폼을 찾아가는 시간이 감소한 바, 도네페질보다 우수한 기억력 및 학습 능력 향상이 나타남을 알 수 있었다.

[0128] 제제 및 식품 조성물의 제조

[0129] 산제의 제조

[0130] 실시예 1에서 제조한 스피노신 함유 산조인 추출물 20mg, 유당 100mg 및 탈크 10mg을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0131] 정제의 제조

[0132] 실시예 1에서 제조한 스피노신 함유 산조인 추출물 및 하기 표 6에 기재된 성분들을 사용하여 정제를 제조하였다.

[0133] 표 6

성분	함량(mg)
산조인 추출물(실시예 1)	10
옥수수전분	100
유당	100
스테아린산 마그네슘	2

[0134]

[0135] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조하였다.

[0136] **캡슐의 제조**

[0137] 표 7

성분	함량(mg)
산조인 추출물(실시예 1)	10
결정성 셀룰로오스	100
락토오스	100
스테아린산 마그네슘	0.2

[0138]

[0139] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0140] **주사제의 제조**

[0141] 표 8

성분	함량(mg)
산조인 추출물(실시예 1)	10
만니톨	180
주사용 멸균 증류수	2974
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	26

[0142]

[0143] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 방법으로 용액을 제조한 후, 2mL 용량의 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조하였다.

[0144] **액제의 제조**

[0145] 표 9

성분	함량
산조인 추출물(실시예 1)	20mg
이성화당	10g
만니톨	5g
정제수	85ml

[0146]

[0147] 통상의 액제 제조방법에 따라 정제수에 상기 표 9의 각 성분을 가하여 용해시키고 레몬 향을 적량 가한 다음 정

제수를 다시 추가하여 100mL의 용액을 제조한 후 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조하였다.

건강식품의 제조

표 10

성분	함량
산조인 추출물(실시예 1)	1000mg
니코틴산아미드	1.7mg
엽산	50 μ g
판토텐산 칼슘	0.5 mg
황산제1철	1.75 mg
산화아연	0.82 mg
탄산마그네슘	25.3 mg
제1인산칼륨	15 mg
제2인산칼슘	55 mg
구연산칼륨	90 mg
탄산칼슘	100 mg
염화마그네슘	24.8mg
비타민 혼합물	적량
무기질 혼합물	적량

통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물을 제조하였다.

건강음료의 제조

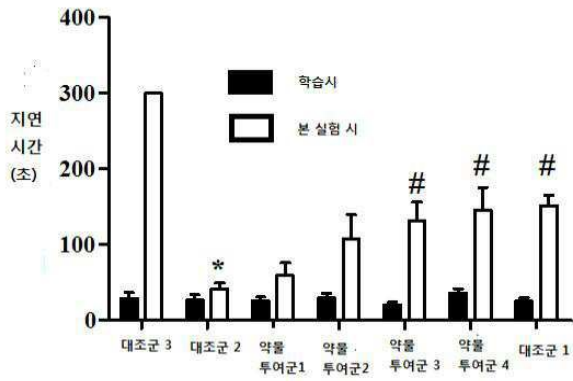
표 11

성분	함량
산조인 추출물(실시예 1)	1000mg
구연산	1000mg
올리고당	100g
매실농축액	2g
타우린	1g
정제수	전체 900mL

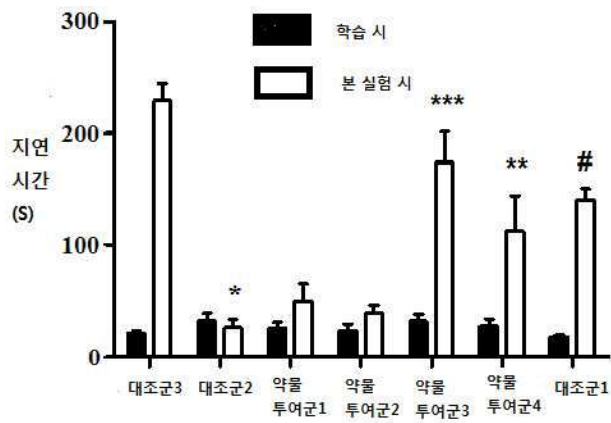
통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기 표 11의 성분들을 정제수에 용해시켜 총 900mL의 용액을 제조한 후, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열하였다. 이 후 상기 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강음료를 제조하였다.

도면

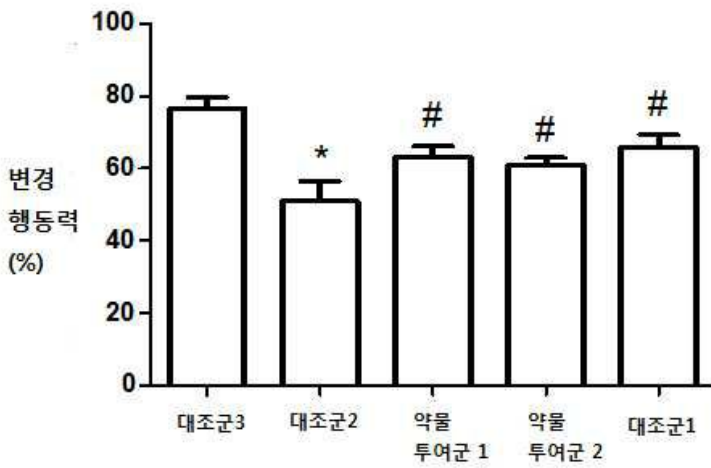
도면1



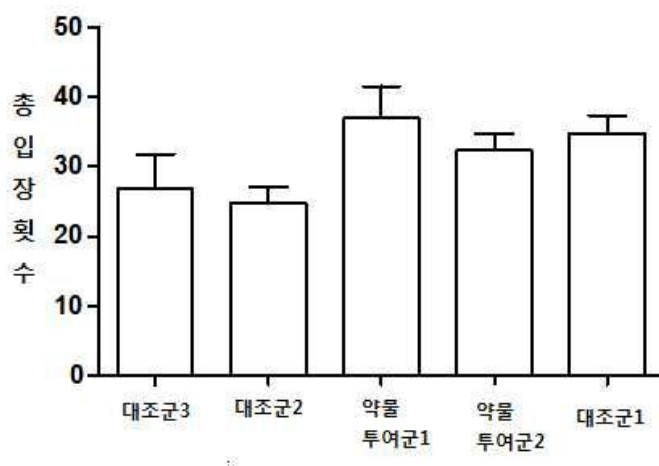
도면2



도면3



도면4



도면5

