(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0092595
(43) 공개일자 2011년08월18일

(51) Int. Cl.
C07D 473/04 (2006.01) *A61K 31/522* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0012104
(22) 출원일자 2010년02월09일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산 남구 무거2동 산29
(72) 발명자
윤승용
서울특별시 송파구 석촌동 288-18 402호
김동호
서울특별시 서초구 양재동 우성아파트 112동 101호
최정은
경기도 파주시 법원읍 대능리 379번지 8호 1통 5반 양지빌라 나 B동 201호
(74) 대리인
특허법인태백

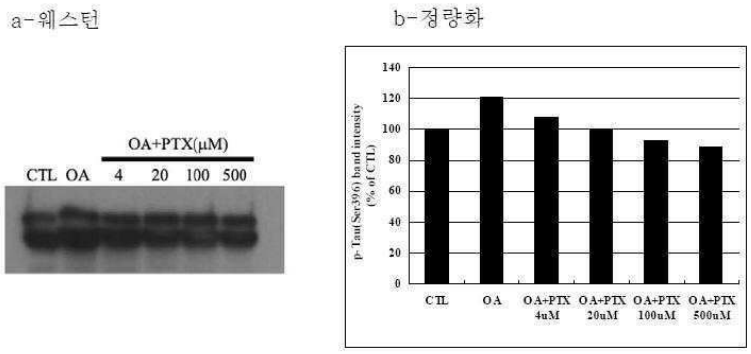
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 타우 단백질 과인산화 억제제

(57) 요 약

본 발명은 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 타우 단백질 과인산화 억제제에 관한 것으로, 상기 펜톡시필린은 오카다익산 처리에 의한 LDH 유리 증가, tau 단백질의 과인산화 증가 및 신경세포 가지돌기 손상을 방지함으로써 알츠하이머성 치매, 파킨슨성 치매 및 전측두엽성 치매 등과 같은 원발성 치매를 예방하거나 치료하는 데에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



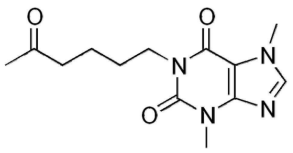
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 20090091459
부처명
연구관리전문기관
연구사업명 세포기능장애 연구센터
연구과제명 알츠하이머병과 당뇨병의 병인기전연구와 세포보호제 개발연구
기여율
주관기관 한국과학재단
연구기간 2009년 09월 01일 ~ 2010년 08월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

화학식 1로 표시되는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 타우 단백질 과인산화 억제제:

[화학식 1]



청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 펜톡시필린은 오카다익산 유도성 신경세포 퇴행모델에서 신경보호 효과를 나타내는 타우 단백질 과인산화 억제제.

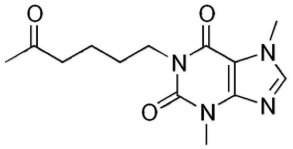
청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 펜톡시필린은 알츠하이머성 치매, 파킨슨성 치매 및 전측두엽성 치매로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 질환을 치료하거나 예방하는 타우 단백질 과인산화 억제제.

청구항 4

화학식 1로 표시되는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 원발성 치매 예방 및 치료용 약학조성물:

[화학식 1]



청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 약학조성물 총 100 중량부에 대하여 펜톡시필린을 0.1 내지 50 중량부로 함유하는 원발성 치매 예방 및 치료용 약학조성물.

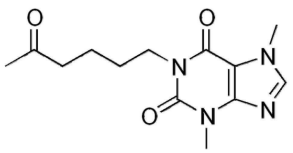
청구항 6

청구항 4 또는 청구항 5에 있어서, 상기 원발성 치매는 알츠하이머성 치매, 파킨슨성 치매 및 전측두엽성 치매로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 원발성 치매 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 7

화학식 1로 표시되는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 원발성 치매 개선용 건강식품:

[화학식 1]



명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 알츠하이머병, 파킨슨성 치매 및 전측두엽성 치매 등을 포함한 질환을 효과적으로 예방하거나 치료할 수 있는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 타우 단백질 과인산화 억제제에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 치매는 후천적으로 발생한 뇌의 병변으로 인한 기억장애, 언어의 장애, 인격이나 감성의 변화를 포함한 고차원적인 대뇌의 기능장애가 지속되는 상태를 의미하는 임상증후군이다.

[0003] 치매는 기질적인 원인이 밝혀져 있지 않고 호전을 기대할 수 없는 알츠하이머성 치매 등을 포함한 원발성 치매와, 뇌혈관이나 심혈관 장애로 인한 중풍으로 일어나는 혈관성 치매로 분류할 수 있으며, 현재 알츠하이머성 치매의 치료제로는 아리셉트, 레미닐, 엑셀론과 같은 콜린에스테라제 억제제를 사용하는 반면, 혈관성 치매는 혈관확장제나 혈전억제제를 사용하고 있으며, 치매의 종류에 따라 다양한 치료제들이 사용되고 있다.

[0004] 알츠하이머병의 주요한 병인적 특징 중 하나는 신경섬유엉킴(neurofibrillary tangles; NFT)로서, 이러한 신경섬유엉킴은 tau 단백질의 과인산화의 결과물인 PHFs(paired helical filaments)로 이루어진 것이다. 따라서 tau 단백질의 과인산화는 NFT의 형성에 중요한 단계로 이해되고 있다.

[0005] 비록 tau 단백질의 과인산화로 초래되는 특이한 세포성 이벤트가 아직 분명하지 않을지라도, 알츠하이머병의 신경섬유 병인은 단백질 포스파타아제-2A(PP2A)의 활성 감소와 관련하여 일어나는 것으로 예측하고 있다.

[0006] PP2A 저해제인 오카다익산(okadaic acid; OA)은 세포 배양에서 tau 단백질의 과인산화, 신경변성 및 세포사멸을 유도한다. 그리고 동물실험에서는 오카다익산은 β-아밀로이드 침적과 잇따른 신경변성, 시냅스 손실 및 기억장애 등과 같은 알츠하이머병과 유사한 병리적 특징을 보인다. 따라서 오카다익산 유도성 신경세포 퇴행모델은 신경성 세포사멸 과정 및 tau 단백질의 과인산화와 관련된 알츠하이머병과 같은 신경변성 질환을 대표하는 모델 중의 하나로서 약물들의 치료 또는 예방적 효과를 검증하기 위해 유용하다.

[0007] 한편, 아직까지 알츠하이머성 치매와 같은 원발성 치매에 대한 치료제는 현재 거의 없으며, 출시된 약들도 미미한 증상경감 효과만 있을 뿐, 원인을 치료하는 약물은 현재 전무한 상태이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 상기 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명자는 tau 단백질의 과인산화와 관련된 질환에 유용하게 이용될 수 있는 약물을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

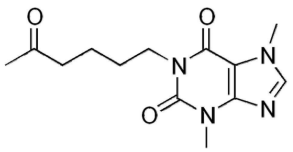
[0009] 따라서, 본 발명의 목적은 tau 단백질의 과인산화와 관련된 질환의 치료 또는 예방에 유용하게 이용될 수 있는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 타우 단백질 과인산화 억제제를 제공하는 데에 있다.

[0010] 또한, 본 발명의 다른 목적은 tau 단백질의 과인산화와 관련된 질환의 치료 또는 예방에 유용하게 이용될 수 있는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 원발성 치매 예방 및 치료용 약학조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 타우 단백질 과인산화 억제제를 제공한다:

[0012] [화학식 1]

[0013] 

[0014] 특히, 상기 펜톡시필린은 오카다익산 유도성 신경세포 퇴행모델에서 포스포디에스테라제 활성을 통해 신경보호 효과를 나타낼 수 있고, 알츠하이머성 치매, 파킨슨성 치매 및 전측두엽성 치매로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 질환을 치료하거나 예방하는 데에 유용하게 사용될 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 치매 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명에 따른 약학조성물은 약학조성물 총 100 중량부에 대하여 펜톡시필린을 0.1 내지 50 중량부로 함유하는 것이 바람직하다. 만약, 펜톡시필린을 상기 함량 범위를 벗어나 소량으로 함유하면 원하는 신경보호 효과를 얻기 곤란하며, 과량으로 함유하면 용량에 비해 신경보호 효과가 둔화될 것이며, 부작용도 야기될 수 있고, 경제적이지 못한 문제가 야기될 수 있다.

[0017] 또한, 본 발명의 약학조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0018] 본 발명의 약학조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0019] 본 발명에 따른 약학조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0020] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제한다.

[0021] 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0022] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 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.

[0023] 본 발명에서 사용하는 펜톡시필린은 현재 순환기용 약제로 이미 사용되고 있고 부작용도 검증된 약제로서, 펜톡시필린의 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다.

[0024] 상기 약학조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 비강, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내(intracerebroventricular)주사에 의해 투여될 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유하는 원발성 치매 개선용 건강식품을 제공한다.

[0026] 상기 건강식품은 펜톡시필린 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 그의 사용 목적 예를들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0027] 상기 건강식품에 함유된 펜톡시필린의 유효용량은 상기 약학조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

[0028] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

발명의 효과

[0029] 본 발명에 따른 타우 단백질 과인산화 억제제는 펜톡시필린을 유효성분으로 함유함으로써 오카다익산 처리에 의

한 LDH 유리 증가, tau 단백질의 과인산화 증가 및 신경세포 가지돌기 손상을 방지하여 알츠하이머성 치매, 파킨슨성 치매 및 전측두엽성 치매 등과 같은 신경변성 질환을 예방하거나 치료하는 데에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 펜톡시필린 전처리에 따른 오카다익산 처리에 의한 LDH 유리 감소 효과를 나타낸 것이고,

도 2는 펜톡시필린 전처리에 따른 오카다익산 처리에 의한 tau 단백질 인산화 감소 효과를 웨스턴 블롯 결과로 나타낸 것이고,

도 3은 펜톡시필린 전처리에 따른 오카다익산 처리에 의한 tau 단백질 인산화 감소 효과를 면역세포화학염색 결과로 나타낸 것이고,

도 4는 펜톡시필린 전처리에 따른 오카다익산 처리에 의한 신경세포 가지돌기 손상 감소 효과를 가지돌기 길이 수지화로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 이하, 하기 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0032] **<실시예 1> 신경세포 배양**

[0033] 랫트 대뇌피질 신경세포의 초대배양은 태생 16일이 되는 랫트의 뇌로부터 준비되었다. 즉, 랫트의 대뇌피질을 칼슘 및 마그네슘 프리 HBSS(Hank's balanced salt solution)에서 절개하고 37℃에서 10분 동안 0.125% 트립신 용액에서 배양하였다. 트립신을 20% 태아소혈청을 함유한 DMEM으로 불활성화하고, 대뇌피질 조직을 파스퇴르 피펫을 이용하여 시리얼 마쇄에 의해 추가로 분리하였다.

[0034] 얻어진 세포 현탁액을 B27 구성요소(GibcoBRL, Grand Island, NY)로 보강된 NB 배지(neurobasal medium)에서 희석하였고, 폴리-D-라이신-(Sigma, 50㎍/ml) 및 라미닌-(1㎍/ml, GibcoBRL, Grand Island, NY) 코팅된 48웰 플레이트에 웰 당 $5X10^4$ 세포의 밀도로 분주하였다.

[0035] 신경세포는 오카다익산 및 펜톡시필린의 첨가 전 12일 동안 37℃, 5% CO_2 상태에서 유지되었다. 오카다익산(10nM, Boehringer Mannheim, Germany)은 0.1% 디메틸설폭사이드(DMSO)에 그리고 펜톡시필린은 3차 증류수에 용해하여 사용하였다.

[0036] **<실시예 2> LDH 분석**

[0037] 실시예 1에서와 같이 배양된 신경세포에 오카다익산 처리 24시간 후, 신경세포 손상을 제조자의 안내지침에 따라 손상된 세포로부터 유리된 LDH와 MTS 활성을 측정함으로써 정량적으로 판단하였다.

[0038] 락테이트 디하이드로게네이즈(lactate dehydrogenase; LDH)는 세포질에 존재하는 해당 마지막 단계에서 젖산 발효에 관여하는 효소로서, 세포가 죽으면서 세포막이 전투과성이 되면 LDH가 세포질에서 세포 밖으로 빠져나가게 되며, 따라서 세포 배양액에 LDH가 많아지면 세포가 많이 죽었다는 것을 의미하므로, 이를 측정하여 세포독성 유무를 판단한다.

[0039] 그 결과, 도 1에서 도시된 바와 같이 오카다익산 처리에 의해 LDH 유리가 대조군에 비해 50% 증가하였으며, 이러한 증가는 오카다익산 처리 30분 전에 펜톡시필린로 전처리한 경우 증가된 양에 30% 정도 감소하였다.

[0040] **<실시예 3> 웨스턴 블롯 분석**

[0041] 신경세포배양으로 얻어진 배양물은 세포 스크랩퍼로 긁어서 2000rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 세포 펠렛을 제조자의 안내지침에 따라 단백질 추출용액(Pro-Prep, Intron)에서 재현탁하였고, -20℃에서 20분 동안 용해(lysis)시켰다.

[0042] 그후, 13,000rpm(4℃)에서 5분 동안 원심분리하였고, 상등액을 1.5ml 튜브에 옮겼다. 단백질 농도를 Bradford 법에 의해 정량하였다. 동량의 단백질을 시료 완충액[62.5mM 트리스-HCl(pH 6.8), 1% SDS, 2.5% 글리세롤, 0.5% 2-β-메르캅토에탄올 및 브로모페놀블루로 구성됨]과 혼합하고, 100℃에서 5분 동안 끓이며, 사용 전까지 -20℃에서 저장하였다. 단백질을 일정한 압력전압(130V)에서 SDS-PAGE로 전기이동(electrophoresis)시킨 후,

200mA에서 2시간 동안 폴리비닐리덴 디플루오라이드 멤브레인(포어 사이즈, 0.2㎛, Biorad)로 전이시켰다.

[0043] 2% 정상 말혈청과 2% 소혈청알부민(BSA)을 함유한 TTBS 완충액(20mM 트리스, 137mM NaCl 및 0.1% 트윈20)으로 실온에서 1시간 동안 블록킹한 후, 4℃에서 16시간 동안 제1차 항체와 반응시켰다. 이때, 사용된 항체는 p-Tau[S396] 항체(Biosource, 1:1,000)이다.

[0044] 마지막으로, 얻어진 블롯을 TTBS 완충액에서 세정하고, HRP-표식 항-IgG(Pierce, 1:5,000)와 실온에서 1시간 반응시키고, ECL 시약(enhanced chemiluminescence; Amersham, Arlington Heights, IL) 및 x-레이 필름을 이용하여 가시화하였다. 밀도 측정은 각 밴드로부터 얻어진 신호를 정량하였다.

[0045] 그 결과, 도 2에 도시된 바와 같이, 오카다익산의 처리 8시간 후 인산화된 tau 단백질이 약 25% 정도 증가하였고, 펜톡시필린을 처리한 군에서는 증가한 양의 약 50% 정도를 감소시켰다.

[0046] **<실시예 4> 면역세포화학염색**

[0047] 배양된 세포에 각각의 처치를 수행한 후, 4% 파라포름알데히드(in 0.1M PB pH7.4)로 30분간 고정하였다. 2% 정상 말혈청과 2% 소혈청알부민(BSA)을 함유한 PBS 완충액에 0.1% 트리톤X-100이 들어간 용액을 세포에 30분간 처리해 줌으로써, 비특이 반응을 제거하고 항체가 세포막을 잘 통과할 수 있도록 해주었다. 그 후 2% 정상 말혈청과 2% 소혈청알부민(BSA)을 함유한 PBS 완충액 일차항체를 적당한 농도로 희석하여 세포에 처리해 4℃에서 하룻밤동안 반응시켰다.

[0048] 이때 사용한 일차항체는 p-Tau(Ser396)[Biosource, 1:1000], p-Tau[S202] 항체(Biosource, 1:1,000), MAP-2(Millipore,1:1000), βⅢ-tubulin(Sigma,1:1000)이다. 다음날 PBS로 5분씩 3회 수세하고, Cy3(빨강)나 FITC(녹색)가 붙은 이차항체 용액을 상온에서 1시간 동안 반응시켜주고, PBS로 5분씩 3회 수세한 후, 슬라이드에 부착하여 관찰하였다.

[0049] 그 결과, 도 3에 도시된 바와 같이 형광면역염색을 통해서도 대조군에 비해 오카다익산을 처리한 군에서 tau 단백질의 인산화가 증가하였으며, 오카다익산 처리 30분 전에 펜톡시필린으로 전처리한 경우 tau 단백질의 인산화가 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 그리고 가지돌기의 표지자인 MAP-2 이중면역염색을 해 본 결과 오카다익산을 처리한 신경세포의 가지돌기가 손상되었으며, 오카다익산에 펜톡실필린을 전처리한 군에서 이러한 손상을 막아주었다.

[0050] **<실시예 5> 가지돌기 길이 수치구하기**

[0051] 가지돌기의 길이 수치를 구하기 위해, 가지돌기의 표지자인 MAP-2 항체로 면역염색을 수행한 다음, 적어도 임의로 5개의 영역을 골라 100X 배율로 사진을 찍은 다음, MAP-2(+)로 염색된 신경가지를 따라 선을 그리고 그 수치를 MetaMorpho software(Universal Imaging, USA)를 통해 측정하였고, 도 4에서 가지돌기의 길이를 정량적으로 나타내었다. 즉, 오카다익산을 처리한 신경세포의 가지돌기가 손상되었으며, 오카다익산에 펜톡시필린을 전처리한 군에서 가지돌기의 길이가 220% 정도 증가하였다.

[0052] 하기에 본 발명에 따른 펜톡시필린을 포함하는 약학조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0053] **<제제예 1> 산제의 제조**

[0054] 펜톡시필린 20 mg, 유당 100 mg 및 탈크 10 mg을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

[0055] **<제제예 2> 정제의 제조**

[0056] 펜톡시필린 20 mg, 옥수수전분 100 mg, 유당 100 mg 및 스테아린산 마그네슘 2 mg을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0057] **<제제예 3> 캅셀제의 제조**

[0058] 펜톡시필린 10 mg, 옥수수전분 100 mg, 유당 100 mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0059] **<제제예 4> 주사제의 제조**

[0060] 펜톡시필린 10 mg, 주사용 멸균 증류수 적량 및 pH 조절제 적량을 혼합한 후 통상의 주사제의 제조방법에 따라

1 앰플당(2㎖) 상기의 성분 함량으로 제조하였다.

[0061] **<제제예 5> 분무제의 제조**

[0062] 펜톡시필린 0.08 중량% 및 올레산 0.005 중량%에 총 100 중량%가 되도록 HFA-227을 첨가하여 에어로졸 현탁액을 제조하였다.

[0063] **<제제예 6> 건강식품의 제조**

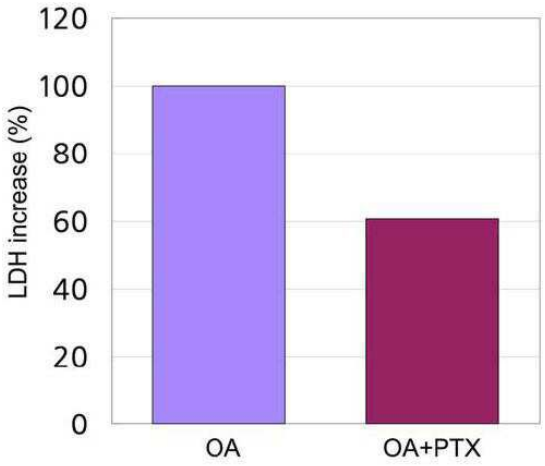
[0064] 펜톡시필린 200 ㎎, 비타민 혼합물 적량(비타민 A 아세테이트 70 ㎍, 비타민 E 1.0 ㎎, 비타민 B 1 0.13 ㎎, 비타민 B 2 0.15 ㎎, 비타민 B 6 0.5 ㎎, 비타민 B 12 0.2 ㎍, 비타민 C 10 ㎎, 비오틴 10 ㎍, 니코틴산아미드 1.7 ㎎, 엽산 50 ㎍, 판토텐산 칼슘 0.5 ㎎) 및 무기질 혼합물 적량(황산제1철 1.75 ㎎, 산화아연 0.82 ㎎, 탄산마그네슘 25.3 ㎎, 제1인산칼륨 15 ㎎, 제2인산칼슘 55 ㎎, 구연산칼륨 90 ㎎, 탄산칼슘 100 ㎎, 염화마그네슘 24.8 ㎎)을 혼합한 다음 과립을 제조하고 통상의 방법에 따라 건강식품을 제조하였다.

[0065] **<제제예 7> 건강음료의 제조**

[0066] 펜톡시필린 200 ㎎, 구연산 1000 ㎎, 올리고당 100 g, 매실농축액 2 g, 타우린 1 g 및 정제수를 가하여 전체 900 ㎖가 되도록 하며, 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하였다.

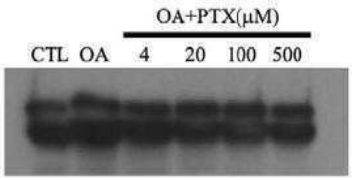
도면

도면1

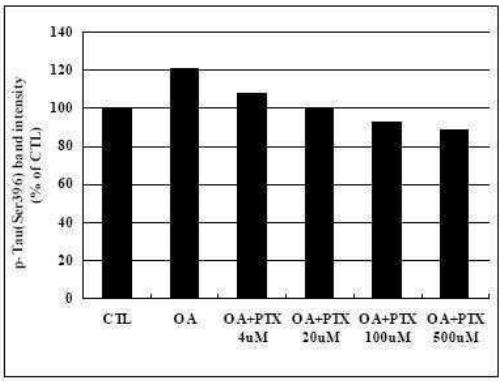


도면2

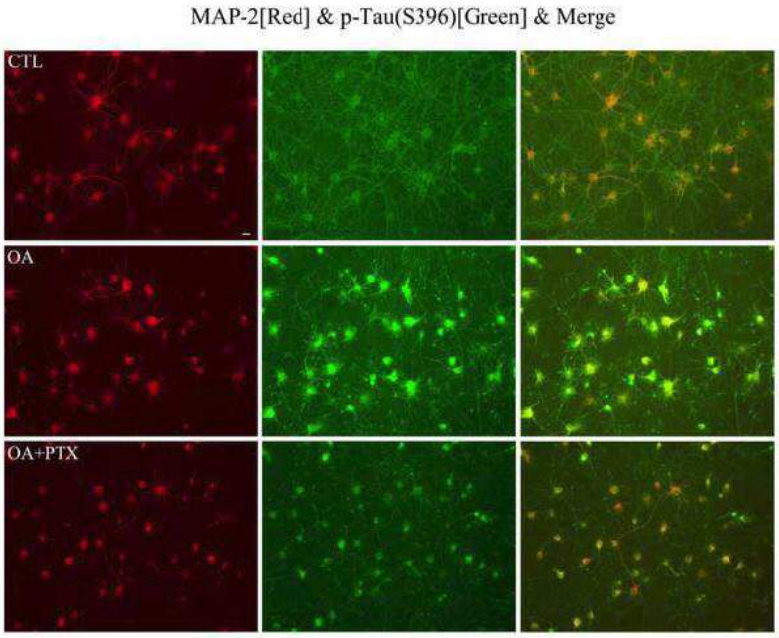
a-웨스턴



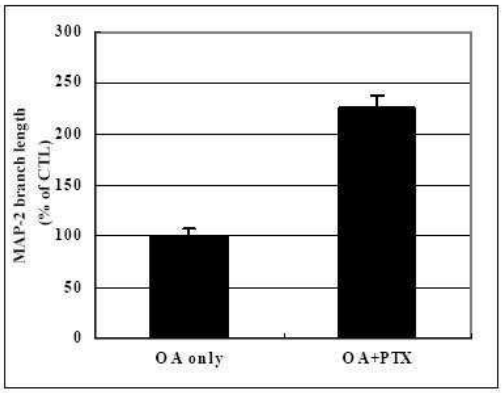
b-정량화



도면3



도면4



p-Tau(Ser199/202)[Red] & bIII-tubulin[Green] & Merge

