



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년09월06일
(11) 등록번호 10-1887178
(24) 등록일자 2018년08월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/70 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/70 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0019670
(22) 출원일자 2017년02월13일
심사청구일자 2017년02월13일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020020087723 A*
KR1020120045591 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
오명숙
서울특별시 강남구 삼성로 151, 1동 305호 (대치동, 선경아파트)
구필성
서울특별시 동대문구 이문로12길 54, 101호 (회경동)
(74) 대리인
특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 4 항

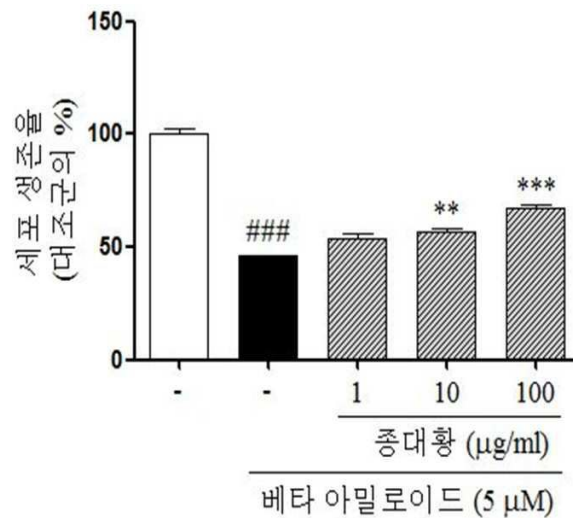
심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 종대황 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명의 일 실시예는 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012M3A9C4048795

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 전통천연물기반유전자-동의보감사업

연구과제명 동의보감 처방 및 약재 표준화를 통한 전통 천연물소재 library 구축

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2012.09.01 ~ 2022.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 종대황 추출물은 물, C₁~C₄의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출된 알츠하이머 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 저급 알코올은 에탄올인 알츠하이머 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 종대황 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 고령화 사회에 접어들면서 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환과 같은 퇴행성 뇌질환(neurodegenerative disease)에 대한 우려가 급증하고 있다.

[0003] 이러한 퇴행성 뇌질환과 관련하여, 현재까지 근본적인 치료제는 전무할 뿐만 아니라, 병의 진행을 일시적으로 억제하는 치료제조차도 병세 악화에 따라 약효가 감소하고 다양한 부작용이 발생하여 한계점이 존재한다.

[0004] 한편, 한의학에서 주로 사용하는 한약재들은 발병 원인 및 증상이 복합적으로 나타나는 만성, 난치성 질환의 예방 및 치료에 있어 멀티 타겟 기전에 의해 보다 근본적인 치료제로서의 가능성이 대두되고 있다.

[0005] 또한, 이러한 한약재를 원료로 사용하는 치료제의 경우 화학 약품 사용에 따라 발생할 수 있는 다양한 부작용을 최소화할 수 있기 때문에, 현존하는 의약품 성분의 대체 소재로 주목받고 있는 실정이다(KR 10-2011-0108150 A, KR 10-2009-0078939 A).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 목적은 천연물 유래의 한약재 성분을 함유하여 부작용을 최소화하면서도 퇴행성 뇌질환의 개선 효과가 우수한 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 일 측면은 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0008] 일 실시예에 있어서, 상기 종대황 추출물은 물, C₁~C₄의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출될 수 있다.

[0009] 일 실시예에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올일 수 있다.

[0010] 일 실시예에 있어서, 상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0011] 또한, 본 발명의 다른 일 측면은 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 건강기능식품을 제공한다.

[0012] 본 발명의 또 다른 일 측면은 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경 보호용 약학적 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 다른 일 측면은 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경 보호용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 일 측면에 따르면, 약학적 조성물 내지 건강기능식품의 일 성분으로 천연 한약재인 종대황 추출물을 사용함으로써 부작용을 최소화하면서도 퇴행성 뇌질환 개선 효과를 향상시킬 수 있다.

[0015] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 종대황 추출물의 아밀로이드-베타 응집 저해능을 나타낸 그래프이다.

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 종대황 추출물의 뇌신경 세포 보호능을 나타낸 그래프이다.

도 3 및 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 종대황 추출물의 항염 효능을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 판례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.

[0018] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0019] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수

치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.

- [0020] 이하, 본 발명의 실시예를 상세히 기술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 한정되지 아니함은 자명하다.
- [0021] 본 발명의 일 측면에 따른 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 “퇴행성 뇌질환(neurodegenerative disease)”은 나이가 들어감에 따라 발생하는 신경퇴행성 질환 중, 뇌에서 발생하는 질환을 의미한다. 현재까지 발병 원인이 명확하게 규명된 것은 아니나, 뇌와 척수의 특정 뇌세포군이 서서히 기능을 상실하고, 뇌신경계의 정보전달에 핵심적인 역할을 하는 뇌신경 세포의 사멸, 뇌신경 세포간의 정보를 전달하는 시냅스의 형성이나 기능상 문제, 뇌신경 전위의 이상적 증감 등에 의해 야기되는 것으로 알려져 있다. 상기 퇴행성 뇌질환은 주요 증상 및 뇌의 손상 부위에 따라 구분할 수 있으며, 대표적으로 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환을 예시할 수 있다.
- [0023] 상기 “종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*)”은 마디풀과에 속하는 종대황(*Rheum undulatum* Linne)의 근경을 지칭하는 것으로, 통상적으로 종대황이라는 명칭은 학명을 지칭하는 *Rheum undulatum* Linne이 아닌, 근경의 라틴생약명 *Rhei Undulatai Rhizoma*을 의미하는 개념으로 사용된다.
- [0024] 상기 “근경(rhizome)”은 뿌리 형상을 하고 땅속으로 뻗는 줄기의 특수 형태를 의미하며, 마디에서 잔뿌리를 내고 끝부분이 땅속줄기로 되어 있다. 이러한 근경은 뿌리와 유사한 기능, 즉 영양번식의 수단으로 기능하기 때문에 다양한 활성 성분을 다량 함유할 수 있다.
- [0025] 상기 종대황은 에모딘(emodin), 알로에에모딘(aloeemodin)과 같은 안트라퀴논 유도체들을 다량 함유하고 있어 진위작용, 사하작용, 항균작용, 항종양작용 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 상기 에모딘은 흥부대 동맥에서 5-하이드록시트립타민(5-hydroxytryptamine) 유도성 최대수축반응에 대해 100% 혈관이완반응을 나타내어 혈관성 질환의 치료제로도 우수한 효능을 나타내는 것으로 보고된 바 있다.
- [0026] 다만, 현재까지 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환과 같은 퇴행성 뇌질환의 개선 효과와 관련하여 상기 종대황의 작용 기전이나 효능에 관한 연구결과가 보고된 바는 없다.
- [0027] 상기 종대황 추출물은 인공 화합물과는 달리 천연물 유래의 물질을 그대로 이용하는 것이므로, 이의 섭취 내지 투여에 따른 치명적인 부작용의 발생을 최소화할 수 있다.
- [0028] 한편, 추출 공정에 있어서 용매의 종류는 특별히 한정되지 않으며, 필요에 따라 다양한 용매를 사용할 수 있다. 또한, 상기 추출은 상기 용매를 사용하여 냉침, 온침, 가열 등 당해 기술 분야의 통상적인 방법이 사용될 수 있다.
- [0029] 이에 따라, 상기 종대황 추출물이 물, C₁~C₄의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출될 수 있고, 바람직하게는 에탄올, 더 바람직하게는 70%의 에탄올을 사용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0030] 상기 추출 용매로 에탄올을 사용하는 경우, 안정성을 높일 수 있을 뿐만 아니라, 인체에 무해하기 때문에 식품이나 의약품의 조성물로 사용하기에 우수한 적합성을 나타낼 수 있으며, 안정성 확보를 위한 엄격한 공정 관리와 같은 비용 증가가 발생하지 않으므로 경제적 효과 또한 향상시킬 수 있다.
- [0031] 상기 조성물은 통상적인 약학적 조성물의 조제에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0032] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0033] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.
- [0034] 상기 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 종대황 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제, 예컨대, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로오스,

락토오스, 또는 젤라틴 등을 혼합하여 조제할 수 있다. 상기 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제가 사용될 수도 있다.

- [0035] 상기 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있으며, 단순회석제인 물, 리퀴드 파라핀 외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0036] 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 사용될 수 있다. 상기 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르가 사용될 수 있다. 상기 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이 사용될 수 있다.
- [0037] 상기 종대황 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양이 대상체에 투여될 수 있다. 상기 “약제학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0038] 상기 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 바람직하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 다른 일 측면은 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 건강기능식품을 제공한다.
- [0040] 즉, 상기 조성물은 약학 조성물 뿐만 아니라 식품 조성물일 수도 있다. 이러한 경우 상기 식품은 육류, 스낵류, 낙농제품, 음료수 등을 예시할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며, 통상적인 건강기능식품을 모두 포함하는 개념으로 이해될 수 있다.
- [0041] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.
- [0042] 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다. 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.
- [0043] 상기 건강기능식품은 퇴행성 뇌질환 개선을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.
- [0044] 상기 건강기능식품은 퇴행성 뇌질환 개선을 목적으로, 전체 중량 대비 1.0 내지 10.0 중량%의 상기 조성물을 포함할 수 있다. 상기 조성물이 1.0 중량% 미만이면 퇴행성 뇌질환 개선 효과가 충분히 구현되지 않을 수 있고 10.0 중량% 초과이면 제품 본연의 품질이 구현되지 않거나 비용 효율이 저하될 수 있다.
- [0045] 또한, 상기 건강기능식품은 퇴행성 뇌질환 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캡셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.
- [0046] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 종대황 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.
- [0047] 상기 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 가지 추출물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 종대황 추출물 또는 이의 분획물, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡

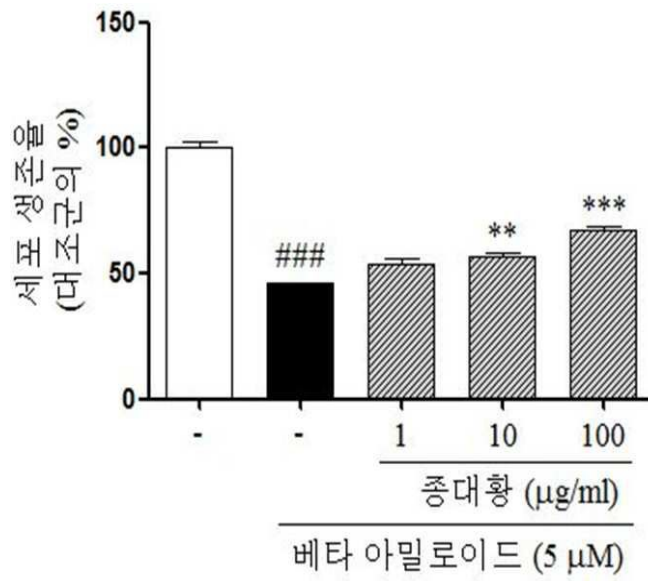
셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

- [0048] 상기 환 형태의 건강기능식품은 종대황 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0049] 상기 과립형태의 건강기능식품은 종대황 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0050] 또한, 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.
- [0051] 전술한 바와 같이, 상기 종대황 추출물은 6-OHDA(6-hydroxydopamine), LPS(lipopolysaccharide) 아밀로이드-베타(amyloid- β) 등의 신경독성 물질로부터 세포를 보호하여 퇴행성 뇌질환 개선 효과를 구현할 수 있다.
- [0052] 구체적으로, 상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0053] 본 발명의 또 다른 일 측면은 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경 보호용 약학적 조성물을 제공한다. 상기 종대황 추출물의 작용, 효과 및 상기 약학적 조성물의 추가 성분에 관해서는 전술한 것과 같다.
- [0054] 또한, 본 발명의 다른 일 측면은 종대황(*Rhei Undulatai Rhizoma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경 보호용 건강기능식품을 제공한다. 상기 건강기능식품의 추가 성분에 관해서는 전술한 것과 같다.
- [0055] 이하, 첨부된 도면을 참고하여 본 발명의 실시예에 관하여 상세히 서술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.
- [0056] **실시예 : 종대황 추출물 제조**
- [0057] 건조 후 분쇄시킨 종대황을 70% 에탄올을 사용하여 상온에서 24시간 동안 추출한 후, 40℃에서 진공 농축하여 종대황 에탄올 추출물(수율 35.8%)을 수득하였다.
- [0058] **실험예 1 : 추출물 농도에 따른 아밀로이드-베타 응집 저해능 평가**
- [0059] 상기 종대황 추출물의 농도 구배에 따른 아밀로이드-베타(A β , amyloid- β) 응집 저해능을 평가하기 위해, 해마 신경전구세포(hippocampal neuronal precursor cell)에서 유래된 HT22 세포를 96 well plate에 1.0x10⁵ cells/ml 농도로 분주하여 24시간 동안 배양하였다.
- [0060] 이후, 상기 실시예에 따른 종대황 추출물을 각각 1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml로 1시간 동안 전처리하고, 5 μ M 농도의 아밀로이드-베타를 후처리하여 23시간 동안 더 배양하였다.
- [0061] 반응이 완료된 각각의 세포에 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 0.5mg/ml 농도로 3시간 동안 처리한 후, 570nm에서 흡광도를 측정하여 이를 세포 생존율로 나타내었으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.
- [0062] 도 1을 참고하면, 아밀로이드-베타만을 처리한 음성 대조군(흑색)에 비해 종대황 추출물을 처리한 경우에 세포 생존율이 높고, 종대황 추출물의 농도가 증가할수록 세포 생존율은 더욱 향상되는 것을 알 수 있다.
- [0063] 상기 결과는 종대황 추출물이 아밀로이드-베타에 의한 HT22 세포 사멸을 유의적으로 억제하여 우수한 뇌신경 세포 보호능을 나타내고, 퇴행성 뇌질환 개선 효과를 향상시킬 수 있음을 시사한다.
- [0064] **실험예 2 : 추출물 농도에 따른 뇌신경 세포 보호능 평가**
- [0065] 상기 종대황 추출물의 뇌신경 세포 보호능을 확인하기 위해, 쥐(rat)의 부신수질(adrenal medulla) 크롬친화세포종(pheochromocytoma)에서 유래된 PC12 세포를 96 well plate에 2.5x10⁵ cells/ml로 분주하여 24시간 동안 배양하였다.
- [0066] 이후, 상기 실시예의 종대황 추출물을 각각 1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml 농도로 1시간 동안 전처리하고, 120 μ M 농도의 6-OHDA(6-hydroxydopamine)를 후처리하여 23시간 동안 더 배양하였다.

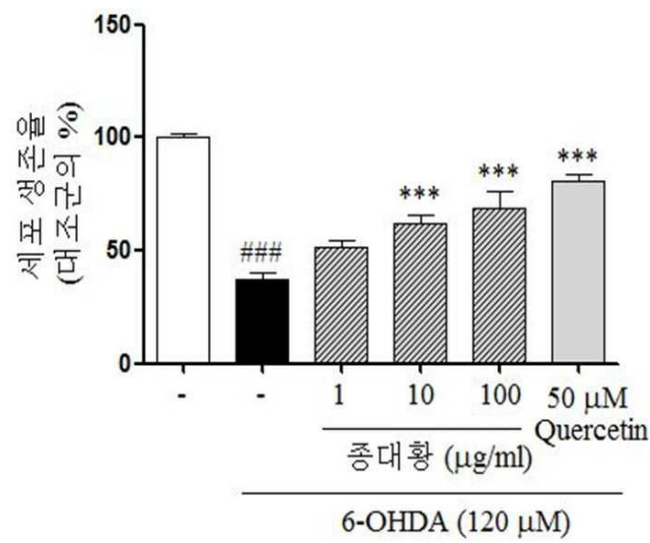
- [0067] 반응이 완료된 각각의 세포에 MTT를 0.5mg/ml 농도로 3시간 동안 처리한 후, 570nm에서 흡광도를 측정하여 이를 세포 생존율로 나타내었으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0068] 도 2를 참고하면, 종대황 추출물을 처리한 경우 농도 의존적으로 세포 생존율이 향상되었고, 소량의 종대황 추출물을 처리하여도 6-OHDA만을 처리한 음성 대조군(흑색)에 비해 향상된 세포 생존율을 나타내었다.
- [0069] 특히, 종대황 추출물의 농도가 100 μ g/ml인 경우에는 양성 대조군인 50 μ M 퀘세틴(Quercetin)과 유사한 수준의 세포 생존율을 나타내는 것을 알 수 있다.
- [0070] 상기 결과는 종대황 추출물이 6-OHDA에 의한 PC12 세포 사멸을 유의적으로 억제하여 우수한 뇌신경 세포 보호능을 나타내며, 퇴행성 뇌질환 개선 효과를 향상시킬 수 있음을 시사한다.
- [0071] **실험예 3 : 추출물 농도에 따른 항염 효능 평가**
- [0072] 상기 종대황 추출물의 항염 효능을 확인하기 위해, 쥐(mouse)의 뇌조직 중 해마와 흑색질을 절편하였다. 상기 해마 및 흑색질로부터 정상세포(astrocyte) 및 미세아교세포(microglia)를 분리하여 96 well plate에 3.0x10⁵ cells/ml 농도로 분주하고 24시간 동안 배양하였다.
- [0073] 이후, 각각의 세포에 종대황 추출물을 10mg/kg, 100mg/kg 농도로 전처리하여 4일 동안 배양하고, 5mg/kg의 LPS(lipopolysaccharide)를 후처리하여 2시간 동안 더 배양하였다.
- [0074] 반응이 완료된 정상세포에 GFAP(Glial fibrillary acidic protein) 항체를 처리하고, 미세아교세포에 Iba-1 항체를 처리하여 염색한 후 각각의 강도를 측정하였고, 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.
- [0075] 도 3을 참고하면 종대황 추출물이 농도 의존적으로 LPS에 의해 유도되는 정상세포의 활성을 억제하고, 특히 100 mg/kg의 종대황 추출물은 퀘세틴과 유사한 수준의 활성 억제를 나타내며, 이와 같은 억제 효과는 흑색질 및 해마 주변의 정상세포에서 모두 발현될 수 있음을 알 수 있다.
- [0076] 또한, 도 4를 참고하면 흑색질 및 해마 주변의 미세아교세포도 마찬가지로 LPS에 의해 유도되는 활성을 종대황 추출물이 농도 의존적으로 억제할 수 있음을 확인할 수 있다.
- [0077] 이는 상기 종대황 추출물이 신경독성 물질인 LPS로부터 유도되는 염증 반응, 구체적으로 정상세포와 미세아교세포의 활성을 유의적으로 억제할 수 있음을 의미하고, 나아가 상기 종대황 추출물이 퇴행성 뇌질환의 예방, 치료용 조성물로서 우수한 효능을 나타낼 수 있음을 시사한다.
- [0078] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.
- [0079] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

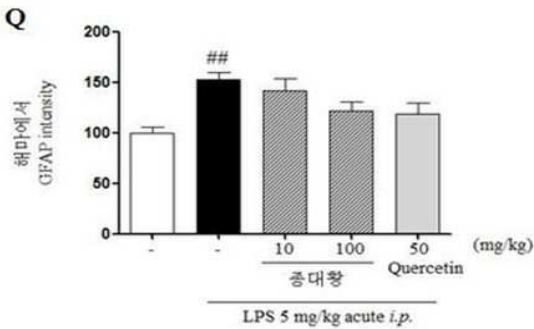
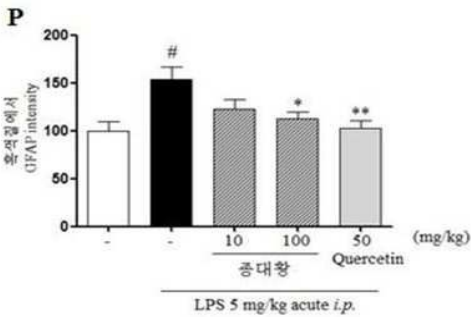
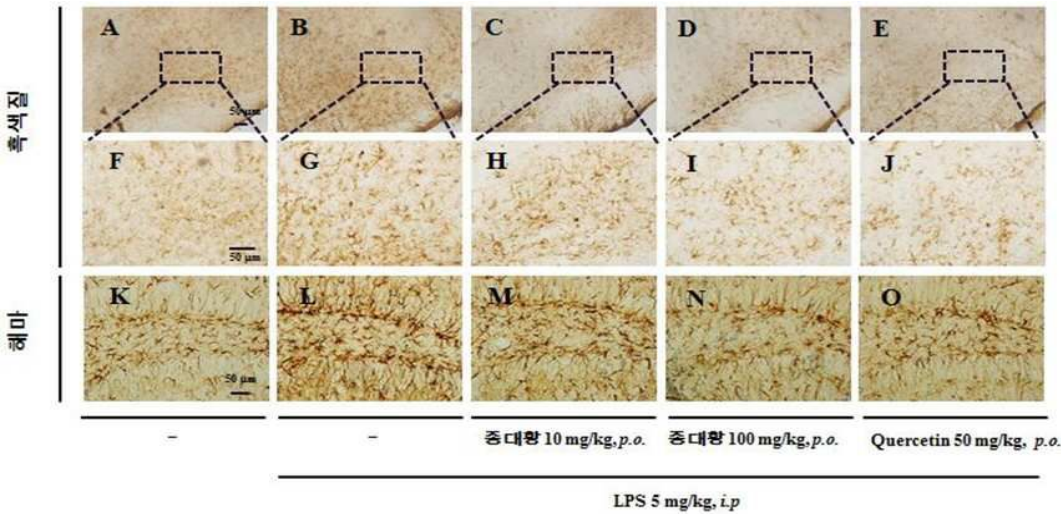
도면1



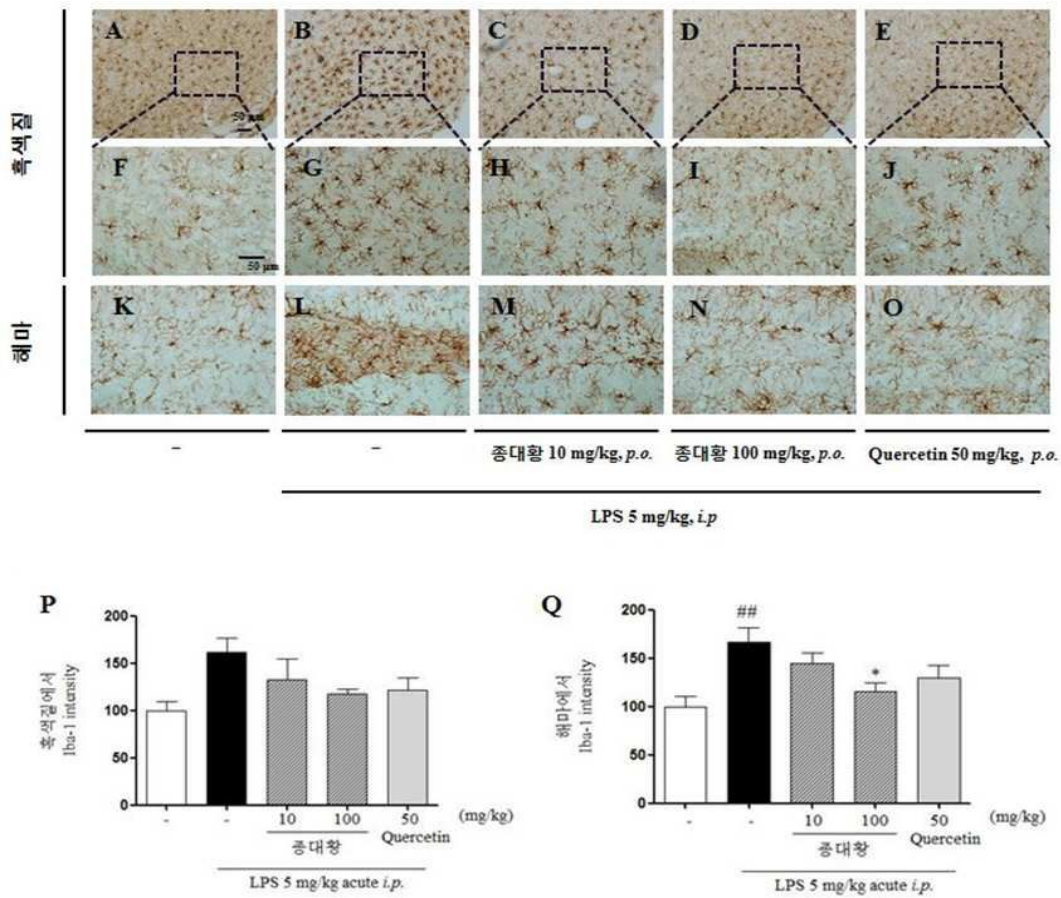
도면2



도면3



도면4



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 발명(고안)의 설명

【보정세부항목】 식별번호 [0005]

【변경전】

또한, 이러한 한약재를 원료로 사용하는 치료제의 경우 화학 약품 사용에 따라 발생할 수 있는 다양한 부작용을 최소화할 수 있기 때문에, 현존하는 의약품 성분의 대체 소재로 주목받고 있는 실정이다.

【변경후】

또한, 이러한 한약재를 원료로 사용하는 치료제의 경우 화학 약품 사용에 따라 발생할 수 있는 다양한 부작용을 최소화할 수 있기 때문에, 현존하는 의약품 성분의 대체 소재로 주목받고 있는 실정이다(KR 10-2011-0108150 A, KR 10-2009-0078939 A).

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 5

【변경전】

치료용

【변경후】

개선용