



등록특허 10-2048289



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년01월08일

(11) 등록번호 10-2048289

(24) 등록일자 2019년11월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/7034 (2006.01) A61K 31/7028

(2006.01)

A61P 25/16 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7018051

(22) 출원일자(국제) 2012년12월17일

심사청구일자 2017년12월14일

(85) 번역문제출일자 2014년06월30일

(65) 공개번호 10-2015-0002576

(43) 공개일자 2015년01월07일

(86) 국제출원번호 PCT/CN2012/086796

(87) 국제공개번호 WO 2013/087042

국제공개일자 2013년06월20일

(30) 우선권주장

61/576,367 2011년12월16일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현

CN1526400 A*

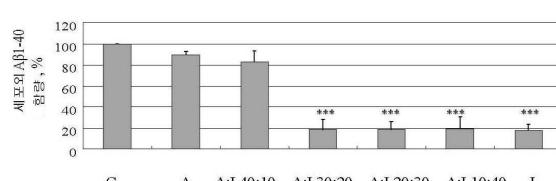
(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 강태현

(54) 발명의 명칭 아밀로이드 β 펩타이드 관련 질환 또는 이상을 예방 또는 치료하기 위한 약학적 조성물**(57) 요약**

아밀로이드 β 펩타이드의 형성, 축적 또는 응집을 억제할 수 있어서, 아밀로이드 β -펩타이드-관련 질환 또는 이상을 예방 또는 치료하는데 유용한 아이소액티오사이드 및 액티오사이드를 포함하는 약학적 조성물이 제공되며, 아이소액티오사이드 대 액티오사이드의 중량비는 4:1 내지 1:4이다.

대 표 도 - 도1

(72) 발명자

후양 영명

대만 아이 란 통산 샤인 총 산 빌리지 넘버 84

탕 정정

대만 아이 란 통산 샤인 총 산 빌리지 넘버 84

(56) 선행기술조사문현

KR1020040064830 A*

Brain Research, 1283, pp.139-147(2009) 1부.*

KR1020040074614 A

KR1020040014757 A

KR1020130095246 A

JP2009196905 A

US20070004011 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문현

명세서

청구범위

청구항 1

유효 성분들로서 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하는 아밀로이드 β 웨타이드-관련 질환 또는 이상을 예방 또는 치료하기 위한 약학적 조성물로서, 아이소액티오사이드 대 액티오사이드의 중량비는 4:1 내지 2:3이고, 아밀로이드 β -웨타이드-관련 질환 또는 이상은 알츠하이머병, 경도인지장애, 루이체 치매(Lewy body dementia), 다운증후군, 네덜란드형 아밀로이드 뇌혈관병증(hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis(HCHWA) Dutch), 팜의 파킨슨 치매 복합증(Parkinson-dementia complex of Guam), 대뇌 아밀로이드 맥관병증(Cerebral amyloid angiopathy), 봉입체 근염(inclusion body myositis), 전두측두엽 치매(frontotemporal dementia), 노인성 황반변성(age-related macular degeneration) 또는 피크병(Pick's disease)인 것인 약학적 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1 항에 있어서,

에키나코사이드가 없는 약학적 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

약학적 조성물은 아밀로이드 β 웨타이드의 형성, 축적 또는 응집을 억제하는 약학적 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

약학적 조성물은 아밀로이드 β 웨타이드의 세포외 형성, 축적 또는 응집을 억제하는 약학적 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

약학적 조성물은 개인의 학습 및 기억 능력을 유지, 개선 또는 회복하기 위해, 아밀로이드 β 웨타이드에 의해 유발된 뉴런 손상 또는 세포자멸사를 억제하는 약학적 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 알츠하이머병을 치료하기 위한 것인 약학적 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 유기체가 알츠하이머병을 앓는 것을 예방하고 유기체가 알츠하이머병을 앓는 것을 지연하기 위한 것인 약학적 조성물.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

사람에 대한 상기 약학적 조성물의 유효 투여량은 하루당 체중의 kg당 0.2mg 내지 4.0mg의 유효 성분들과 동일한 것인 약학적 조성물.

청구항 11

제 3 항에 있어서,

유효 성분들의 원료로서 식물로부터 추출하는 페닐에타노이드 글리코사이드 제제를 포함하며, 제제는 주요 페닐에타노이드 글루코사이드로서 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하며, 아이소액티오사이드의 함량은 액티오사이드의 함량보다 큰 것인 약학적 조성물.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

제제는 제제의 중량을 기초로, 12-32%의 액티오사이드 및 26-46%의 아이소액티오사이드를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

식물은 관화육종용인 약학적 조성물.

청구항 14

제 13 항에 있어서,

제제는 다음 단계를 포함하는 방법에 의해 제공되는 것인 약학적 조성물:

- a) 관화육종용의 신선한 줄기를 제 1 극성 용매로 추출하는 단계;
- b) 단계 a)로부터의 최종 추출물을 소수성 거대-다공성 폴리머 비드가 채워진 컬럼 속에 주입하여, 페닐에타노이드 글리코사이드가 폴리머 비드 상에 흡착되게 하는 단계;
- c) 이동상으로 작용하는 제 2 극성 용매의 사용에 의해 컬럼을 용출하여, 페닐에타노이드 글리코사이드보다 덜 강하게 흡착된 화합물들이 컬럼으로부터 용출되며 페닐에타노이드 글리코사이드는 여전히 폴리머 비드 상에 흡착되는 단계; 및
- d) 제 3 극성 용매의 사용에 의해 컬럼을 용출하여 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하는 용출액을 얻는 단계로서, 제 1 극성 용매는 물, 메탄올, 에탄올, 물과 메탄올의 혼합물, 또는 물과 에탄올의 혼합물이며; 제 2 극성 용매는 물이며; 제 3 극성 용매는 메탄올, 에탄올, 물과 메탄올의 혼합물, 또는 물과 에탄올의 혼합물이며, 제 3 극성 용매는 제 2 극성 용매보다 극성이 낮다;
- e) 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하는 용출액을 농축하고, 물에 농축액을 용해하고, 수용액을 거대-다공성 수지와 접촉시켜, 페닐에타노이드 글리코사이드가 거대-다공성 수지상에 흡착되는 단계; 및
- f) 거대-다공성 수지를 제 4 극성 용매 및 제 4 극성 용매보다 극성이 낮은 제 5 극성 용매로 연속으로 용출하여, 제 4 극성 용매 용출로부터 얻은 용출액은 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하지 않고, 제 5 극성 용매 용출로부터 얻은 용출액은 단지 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하는 단계로서, 제 4 극성 용매 및 제 5 극성 용매는 물과 메탄올의 혼합물 또는 물과 에탄올의 혼합물이다.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

제 4 극성 용매는 25-35% 에탄올 수용액이며 제 5 극성 용매는 35-45% 에탄올 수용액인 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 아밀로이드 β 웨타이드 관련 질환 또는 이상을 예방하거나 치료하는데 사용하기 위한 약학적 조성물에 관한 것이며, 아밀로이드 베타 웨타이드의 형성, 축적 또는 응집을 억제할 수 있는 유효 성분들로서 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함한다.

배경 기술

[0002] US 특허 No. 7,087,252 B2는 관화육종용((*Cistanche tubulosa*)(Schenk.) Wight))으로부터 추출된 페닐에타노이드 글리코시드를 포함하는 약학적 제제를 개시하며, 상기 제제는 노인성 치매를 치료하는데 효과적인 25-50중량%의 에키나코사이드 및 5-15중량%의 액티오사이드를 포함한다. 아이소액티오사이드 및 다른 페닐에타노이드 글리코시드는 또한 상기 약학적 제제에 포함되는 것으로 알려져 있다.

[0003] WO 2011/157059 A1의 출원인은 아밀로이드 β 웨타이드(A β)의 형성, 축적 또는 응집을 억제하는데 아이소액티오사이드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도 및 A β -관련 질환 또는 이상의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조에서 용도를 개시한다.

[0004] US 특허 No. 7,087,252 B2 및 WO 2011/157059 A1의 전문이 참조로 본 발명에 포함된다.

[0005] 본 출원에서, 본 발명자들은 WO 2011/157059 A1의 연구를 지속하며 관련된 창의성이 풍부한 성과를 얻는다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] A β 및 이의 응집체는 유기체에서 여러 질환 또는 이상을 일으킬 수 있기 때문에, 본 발명의 한 목적은 A β 의 형성, 축적 또는 응집을 억제하기 위한 약학적 조성물을 제공하는 것이며 이런 약학적 조성물은 식품, 음료, 씹는 물질, 패치, 스킨 케어 제품 등에서 첨가제로서 사용될 수 있다. 본 발명의 다른 목적은 A β -관련 질환 또는 이상을 예방 또는 치료하기 위한 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 또 다른 목적은 A β -관련 질환 또는 이상을 예방 또는 치료하기 위한 의약의 제조에서 약학적 조성물의 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명에 의해 제공된 A β -관련 질환 또는 이상을 예방 또는 치료하기 위한 약학적 조성물은 유효 성분들로서 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하며, 아이소액티오사이드 대 액티오사이드의 중량비는 4:1 내지 1:4이다.

[0009] 바람직하게는, 약학적 조성물에서 아이소액티오사이드 대 액티오사이드의 중량비는 4:1 내지 2:3이다.

[0010] 바람직하게는, 약학적 조성물은 에키나코사이드가 없다.

[0011] 바람직하게는, 약학적 조성물은 아밀로이드 β 웨타이드의 형성, 축적 또는 응집을 억제할 수 있다.

[0012] 바람직하게는, 약학적 조성물은 아밀로이드 β 웨타이드의 세포외 형성, 축적 또는 응집을 억제할 수 있다.

[0013] 바람직하게는, 약학적 조성물은 학습 및 기억 능력을 유지, 개선 또는 회복하기 위해, 아밀로이드 β 웨타이드에 의해 유발된 뉴런 손상 또는 세포자멸사를 억제할 수 있다.

[0014] 바람직하게는, A β -관련 질환 또는 이상은 알츠하이머병, 경도인지장애, 루이체 치매(Lewy body dementia), 다운증후군, 네덜란드형 아밀로이드 뇌혈관병증(hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis(HCHWA) Dutch), 팜의 파킨슨 치매 복합증(Parkinson-dementia complex of Guam), 대뇌 아밀로이드 맥관병증(Cerebral amyloid angiopathy), 봉입체 근염(inclusion body myositis), 전두측두엽 치매(frontotemporal demetia), 노인성 황반변성(age-related macular degeneration) 또는 피크병(Pick's disease)이다.

[0015] 바람직하게는, 약학적 조성물은 알츠하이머병을 치료하기 위한 것이다.

[0016] 바람직하게는, 약학적 조성물은 유기체가 알츠하이머병을 앓는 것을 예방하고 유기체가 알츠하이머병을 앓는 것

을 지연하기 위한 것이다.

[0017] 바람직하게는, 사람에 대한 약학적 조성물의 유효 투여량은 하루당 체중의 kg당 0.2mg 내지 4.0mg의 유효 성분들과 동일하다.

[0018] 바람직하게는, 약학적 조성물은 유효 성분들의 원료로서 식물로부터 추출하는 페닐에타노이드 글리코사이드 제제를 포함하며, 제제는 주요 페닐에타노이드 글루코사이드로서 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하며, 아이소액티오사이드의 함량은 액티오사이드의 함량보다 크다.

[0019] 바람직하게는, 제제는 제제의 중량을 기초로, 12-32%의 액티오사이드 및 26-46%의 아이소액티오사이드를 포함한다.

[0020] 바람직하게는, 식물은 관화육종용이다.

[0021] 바람직하게는, 제제는 다음 단계를 포함하는 방법에 의해 제공된다:

a) 관화육종용의 신선한 줄기를 제 1 극성 용매로 추출하는 단계;

b) 단계 a)로부터의 최종 추출물을 소수성 거대-다공성 폴리머 비드가 채워진 컬럼 속에 주입하여, 페닐에타노이드 글리코사이드가 폴리머 비드 상에 흡착되게 하는 단계;

c) 이동상으로 작용하는 제 2 극성 용매의 사용에 의해 컬럼을 용출하여, 비교적 덜 강하게 흡착된 화합물들이 컬럼으로부터 용출되며 대부분의 페닐에타노이드 글리코사이드는 여전히 폴리머 비드 상에 흡착되는 단계; 및

d) 제 3 극성 용매의 사용에 의해 컬럼을 용출하여 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하는 용출액을 얻는 단계로서, 제 1 극성 용매는 물, 메탄올, 에탄올, 물과 메탄올의 혼합물, 또는 물과 에탄올의 혼합물이며; 제 2 극성 용매는 물이며; 제 3 극성 용매는 메탄올, 에탄올, 물과 메탄올의 혼합물, 또는 물과 에탄올의 혼합물이며, 제 3 극성 용매는 제 2 극성 용매보다 극성이 낮다;

e) 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하는 용출액을 농축하고, 물에 농축액을 용해하고, 수용액을 거대-다공성 수지와 접촉시켜, 페닐에타노이드 글리코사이드가 거대-다공성 수지상에 흡착되는 단계; 및

f) 거대-다공성 수지를 제 4 극성 용매 및 제 4 극성 용매보다 극성이 낮은 제 5 극성 용매로 연속으로 용출하여, 제 4 극성 용매 용출로부터 얻은 용출액은 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하지 않고, 제 5 극성 용매 용출로부터 얻은 용출액은 단지 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하는 단계로서, 제 4 극성 용매 및 제 5 극성 용매는 물과 메탄올의 혼합물 또는 물과 에탄올의 혼합물이다.

[0028] 바람직하게는, 제 4 극성 용매는 25-35% 에탄올 수용액이며 제 5 극성 용매는 35-45% 에탄올 수용액이다.

[0029] 본 발명의 상기 및 다른 목적, 특징 및 이점을 잘 이해하기 위해서, 본 발명은 첨부된 도면을 참조하여 실시예들로부터 상세하게 아래 기술될 것이다.

발명의 효과

[0030] 본 발명의 내용 중에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 세포의 A β 1-40 축적에 대한 약물 A(액티오사이드), 약물 I(아이소액티오사이드), C(대조군, 약물 없음) 및 다른 비율의 A 내지 I를 가진 약학적 조성물의 효과를 도시한다.

도 2는 A β 1-42 올리고머화에 대한 약물 A(액티오사이드), 약물 I(아이소액티오사이드), C(대조군, 약물 없음) 및 다른 비율의 A 내지 I를 가진 약학적 조성물의 효과를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] A β 에 의해 유발된 다양한 질환은 공통된 특징을 가진다: A β 응집체의 형성. 이런 A β 응집체는 원섬유 또는 반점과 같은 모양으로 존재하며 유기체의 시스템, 기관, 조직 또는 체액에 퇴적되어, 다양한 질환 또는 이상을 일으킨다. 따라서 A β 형성, 축적 또는 응집의 억제는 A β -관련 질환 또는 이상을 효과적으로 예방 또는 치료하기 위한 접근법으로 사용될 수 있다고 생각된다.

[0033] 본 발명에서 사용된 "예방하다"라는 용어는 유기체에서 질환 또는 이상의 발생을 피하거나 지연하는 것을 의미

한다. 본 발명에서 사용된 "치료하다"라는 용어는 질환 또는 이상의 진행을 늦추거나 멎추게 하고 또는 개인을 개선된 상태 또는 정상 상태로 되돌아가게 하는 것을 의미한다.

[0034] "아밀로이드 β 웨타이드(A β)-관련 질환 또는 이상"이란 용어는 일반적으로 A β 의 형성, 축적 또는 응집과 관련하여 발생하는 질환 또는 이상을 의미하며, 특히 A β 에 의해 유발되는 질환 또는 이상을 의미한다. 비정상적 형성, 축적 또는 응집이 특정 질환 또는 이상을 가진 개인들의 특정 부분에서 발견될 때, 질환 또는 이상은 A β 와 관련이 있는 것으로 생각된다. 또한, A β 가 특정 질환 또는 이상에서 영향을 받은 병리학적 특징들의 발생과 가까운 곳에서 응집할 때, 이 질환 또는 이상은 또한 A β 와 관련이 있는 것으로 생각될 수 있다.

[0035] 다음 실시예에서 표 1에 나열된 검사 샘플은 A β 실험을 실행하기 위해 사용되었고, A β 실험은 임의의 검사 샘플이 첨가되지 않은 용매 대조군(Vehicle control group)과 비교되었다.

표 1

기호	검사 샘플	농도	공급원
A	액티오사이드	50 μ g/ml	Sinphar Lab., 순도 97%
I	아이소액티오사이드	50 μ g/ml	Sinphar Lab., 순도 97%
A:I 40:10	액티오사이드 + 아이소액티오사이드	40 μ g/ml + 10 μ g/ml	Sinphar Lab., 순도 97%
A:I 30:20	액티오사이드 + 아이소액티오사이드	30 μ g/ml + 20 μ g/ml	Sinphar Lab., 순도 97%
A:I 20:30	액티오사이드 + 아이소액티오사이드	20 μ g/ml + 30 μ g/ml	Sinphar Lab., 순도 97%
A:I 10:40	액티오사이드 + 아이소액티오사이드	10 μ g/ml + 40 μ g/ml	Sinphar Lab., 순도 97%

[0037] 실시예 1: 신경아세포종 세포 배양

[0038] 야생형 인간 신경아세포종 세포(SH-SY5Y)를 (10% FBS, 10 units/ml 페니실린, 10 μ g/ml 스트렙토마이신을 함유하는) 이글스 최소 필수 배지(EMEM) / 햄스 F12 배지(1:1 혼합물)에서 배양하였다. 야생형 생쥐 신경아세포종 뉴로-2a 세포를 (10% FBS, 10 units/ml 페니실린, 10 μ g/ml 스트렙토마이신을 함유하는) 최소 필수 배지(MEM)에서 배양하였다.

[0039] 실시예 2: 세포의 A β 1-40 축적에 대한 각 검사 샘플의 효과

[0040] 실시예 1에서 야생형 인간 신경아세포종 SH-SY5Y 세포의 배지를 무혈청 배지(chemical defined medium)(EMEM/F12 배지(Cat.No.12500-062)), 헤페스 5mM, 글루코오스 0.6%, NaHCO₃ 3mM, 글루타민 2.5mM, 인슐린 25 μ g/ml, 트랜스페린 100 μ g/ml, 프로게스트론 20nM, 퓨트레신 60 μ M, 소듐 셀레나이트 30nM, 헤파린 2 μ g/ml)로 교체하였다. 각 웰은 300 μ l의 배양 배지에 1x10⁵ SH-SY5Y 세포를 함유하였다. 30분 후, 각 웰을 24시간 동안 50 μ g/ml의 전체 농도로 각각 표 1에 제공된 검사 샘플로 처리하였다. 그 후, 각 웰의 배지에서 A β 1-40의 수준을 인간 A β 1-40 면역분석 키트(Catalog # KHB3482 Invitrogen)에 의해 분석하였다.

[0041] 인간 신경세포아종 SH-SY5Y 세포는 A β 의 세포외 축적을 유발한다. 도 1은 임의의 검사 샘플로 처리되지 않은 용매 대조군(C)의 배지에서 A β 1-40의 양을 기초로, 테스트 샘플로 처리한 각 SH-SY5Y 웰의 배지에서 A β 1-40의 백분율을 도시한다. 결과는 평균±표준 편차(SD) 형태로 도시되었다. 용매 대조군과 검사 샘플-처리 그룹 사이의 유의한 차이는 ***, P<0.001로 나타내었다.

[0042] 도 1을 참조하면, 검사 샘플 A(액티오사이드)는 약 10%만큼 배지에서 A β 1-40의 수준을 감소시키며, 테스트 샘플 A:I 40:10(액티오사이드 40 μ g/ml + 아이소액티오사이드 10 μ g/ml)는 약 22%만큼 배지에서 A β 1-40의 수준을 감소시키며, 나머지 테스트 샘플들은 약 80%만큼 배지에서 A β 1-40의 수준을 감소시킨다. 도 1의 결과는 액티오사이드 + 아이소액티오사이드 = 30 μ g/ml + 20 μ g/ml; 20 μ g/ml + 30 μ g/ml; 및 10 μ g/ml + 40 μ g/ml의 검사 샘플 및 아이소액티오사이드 = 50 μ g/ml의 검사 샘플이 세포외 A β 1-40 축적을 감소시키는데 현저한 활성을 가진다는 것을 나타낸다.

[0043] 실시예 3: A β 1-42 올리고머화에 대한 각 검사 샘플의 효과

[0044] 건조된 인간 A β 1-42를 냉장고로부터 빼내었고 실온과 평형으로 만들었다. A β 1-42를 1mM의 농도로

1,1,1,3,3,3-헥사-플루오로-2-프로판올(HFIP)에 용해시켰고 그런 후에 1시간 동안 실온에 놓았다. A β 1-42/HFIP 용액을 해밀톤 주사기로 분취하였고, 질소 기체의 흐름하에서 건조하였고, 뒤이어 -20°C의 온도에서 저장하였다. HFIP로 처리된 A β 1-42를 PBS에 용해하였고, A β 1-42 올리고머를 제조하기 위해 24시간 동안 50 μ g/ml의 농도 및 4°C에서 각 검사 샘플의 처리로 진동 배양하였다. A β 1-42 올리고머화의 수준은 티오플라빈 T 형 광(Ex=450nm, Em=482nm)에 의해 분석하였다.

[0045] 도 2는 A β 1-42 올리고머화에 대한 표 1의 검사 샘플들의 효과를 도시하며, 결과는 임의의 검사 샘플로 처리하지 않은 대조군(C)을 기초로 하여 백분율로 도시된다. 도 2의 결과는 모든 검사 샘플은 A β 1-42 올리고머화를 억제하는데 활성을 갖는 것으로 발견되었고, 액티오사이드 + 아이소액티오사이드 = 30 μ g/ml + 20 μ g/ml; 20 μ g/ml + 30 μ g/ml; 및 10 μ g/ml + 40 μ g/ml의 검사 샘플 및 아이소액티오사이드 = 50 μ g/ml의 검사 샘플이 A β 1-42 올리고머화를 억제하는데 더 좋은 활성을 가진다. 즉, 이런 약학적 조성물들은 A β -관련 질환 또는 이상을 예방 또는 치료하는데 사용될 수 있다.

[0046] 기술된 A β -관련 질환 또는 이상은 알츠하이머병, 경도인지장애(mild cognitive impairment), 루이체 치매(Lewy body dementia), 다운 증후군, 네덜란드형 아밀로이드 뇌혈관병증(hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis(HCHWA) Dutch), 팜의 파킨슨 치매 복합증(Parkinson-dementia complex of Guam), 대뇌 아밀로이드 맥관병증(Cerebral amyloid angiopathy), 봉입체 근염(inclusion body myositis), 전두측두엽 치매(frontotemporal dementia), 노인성 황반변성(age-related macular degeneration), 피크병(Pick's disease) 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 또한, 비록 기술된 A β 는 섬유화성 또는 A β 1-40 또는 고 섬유화성 A β 1-42로 예시되지만, A β 는 다른 웨타이드 단편을 포함할 수 있다.

[0047] 도 1 및 2의 결과는 아이소액티오사이드가 더 좋은 활성을 나타낸다; 그러나, 사카라이드-포함 분자인 아이소액티오사이드의 사용을 구현함에 있어, 이것은 화학적으로 합성되기 어렵다. 또한 식물의 원료로부터 고순도 아이소액티오사이드를 얻는 것은 매우 비용이 소요된다. 경제적 이득 및 의학적 치료 효과와 같은 실질적 사용의 측면을 고려하면, 도 1 및 2의 결과는 아밀로이드 β 웨타이드 억제제로서 순수한 아이소액티오사이드에 필적할만한 활성을 가진 액티오사이드 및 아이소액티오사이드의 혼합물은 아밀로이드 β 웨타이드 관련 질환 또는 이상을 예방하거나 치료하는데 정제된 아이소액티오사이드의 대체물로서 사용될 수 있다는 것을 나타낸다.

[0048] 다음 실시예에서, US 특허 No. 7,087,252에 개시된 페닐에타노이드 글리코사이드-포함 제제를 제조하는 방법을 채택하였고, 다음 단계를 포함한다: a) 제 1 극성 용매로 관화육종용의 (신선한 줄기)의 지하 부분을 추출하는 단계; b) 단계 a)로부터의 최종 추출물을 소수성 거대-다공성 폴리머 비드가 채워진 컬럼 속에 주입하여, 페닐에타노이드 글리코사이드가 폴리머 비드 상에 흡착되게 하는 단계; c) 이동상으로 작용하는 제 2 극성 용매의 사용에 의해 컬럼을 용출하여, 비교적 덜 강하게 흡착된 화합물들이 컬럼으로부터 용출되며 대부분의 페닐에타노이드 글리코사이드는 여전히 폴리머 비드 상에 흡착되는 단계; 및 d) 제 3 극성 용매의 사용에 의해 컬럼을 용출하여 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하는 용출액을 얻는 단계로서, 제 3 극성 용매는 제 2 극성 용매보다 극성이 더 낮다.

[0049] 단계 a)의 제 1 극성 용매는 예를 들어 물 또는 물과 에탄올의 혼합 용매일 수 있다. 단계 c)의 제 2 극성 용매는 물이다. 단계 d)의 제 3 극성 용매는 예를 들어 메탄올, 에탄올, 물과 메탄올의 혼합물, 또는 물과 에탄올의 혼합물일 수 있으며, 제 3 극성 용매는 물과 에탄올의 혼합 용매이다.

[0050] 본 발명은 관화육종용으로부터 상기 페닐에타노이드 글리코사이드-포함 제제를 직접 정제함으로써 그 안에 포함된 단지 페닐에타노이드 글리코사이드인 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하는 약학적 조성물을 얻는 다른 경제 방법을 제공한다. 다른 경제 방법은 관화육종용 포함 다양한 페닐에타노이드 글리코사이드로부터의 상기 제제를 거대-다공성 수지로 정제하는 단계 e) 및 거대-다공성 수지를 제 4 극성 용매와 제 5 극성 용매로 연속으로 용출하는 단계 f)를 포함하며, 제 5 극성 용매는 제 4 극성 용매보다 극성이 낮아서, 제 5 극성 용매 용출로부터 얻은 용출액은 페닐에타노이드 글리코사이드의 실질적으로 단지 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함한다. 본 발명의 바람직한 실시태양들 중 하나에서, 제 4 극성 용매는 예를 들어 25-35% 에탄올 수용액일 수 있으며 제 5 극성 용매는 예를 들어 35-45% 에탄올 수용액일 수 있다.

[0051] 바람직하게는, 소수성 거대-다공성 폴리머 비드는 가교 폴리방향족이며, 더욱 바람직하게는 가교 폴리스티렌 또는 D-101 타입 또는 AB-8 타입 재료와 같은 스티렌 및 다이아이닐 벤젠의 가교 코폴리머이다.

[0052] 약학적 조성물은 페닐에타노이드 글리코사이드의 실질적으로 단지 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하며 제 5 극성 용매 용출로부터 얻은 용출액을 농축 또는 건조시켜 직접 얻을 수 있다.

[0053] 실시예 4: 약학적 조성물은 페닐에타노이드 글리코사이드의 실질적으로 단지 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함한다

[0054] 관화육종용의 신선한 줄기의 얇은 조각 10kg을 얇은 조각의 8배인 양의 물에 담갔다. 얇은 조각을 2시간 동안 물로 달이기 전에 1시간 동안 물에 담갔다. 달여진 혼합물을 여과하여 제 1 여과액을 얻었다. 그런 후에 잔류물을 잔류물의 6배인 양의 물로 달이고 달여진 혼합물을 여과하여 제 2 여과액을 얻었다. 또한 제 2 여과액과 동일한 절차에 의해 제 3 여과액을 얻었다. 3개의 여과액을 혼합하고 진공하에서 농축하여 1.10(50°C)의 비중을 가졌다. 농축 형태의 여과액을 에탄올과 혼합하여 60%의 에탄올을 포함하는 혼합물을 얻었고, 그런 후에 12시간 동안 냉장하였다. 그런 후에, 상층액을 차가운 혼합물로부터 채취하면서 잔류물을 여과하여 여과액을 얻었고, 이를 상층액과 혼합하고 진공하에서 농축하여 1.10(50°C)의 비중을 가진 최종 추출물을 얻었다.

[0055] 6kg의 최종 추출물을 가열하면서 최종 추출물과 동일한 양의 물에 용해하였다. 그런 후에 추출물 용액을 거대-다공성 흡착 수지로 채워진 흡착 컬럼 속에 첨가하였다. 컬럼을 먼저 물로 용출하여 신선한 줄기의 4배의 양으로 물 용출액을 얻었고, 그런 후에 40% 에탄올과 용출하여 신선한 줄기의 5배의 양으로 제 1 40% 에탄올 용출액을 얻었다. 물 용출액에 신선한 줄기의 3배의 양의 물과 40% 에탄올로 연속으로 컬럼을 용출하여 흡착-탈착 작업을 추가 실시하여 신선한 줄기의 4배 양으로 제 2 에탄올 용출액을 얻었다. 2개의 40% 에탄올 용출액을 혼합하고, 농축하고 건조하여 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하며 1107g의 중량을 가진 제제를 얻었다.

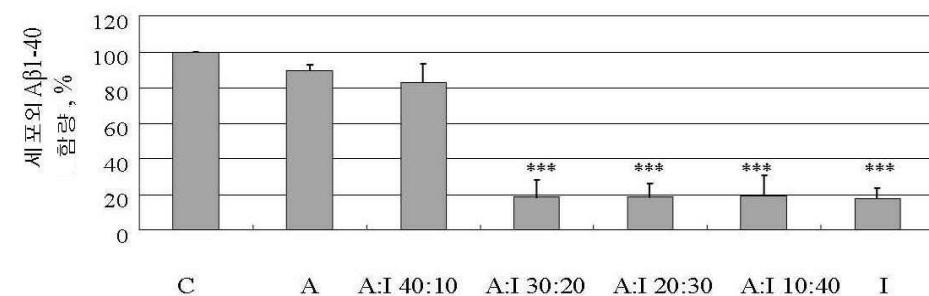
[0056] 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 다음 조건하에서 실행하였다: 용매 A: 0.1% 포름산을 포함하는 아세토나이트릴(CAN); 용매 B: 0.1% 포름산을 포함하는 MQ-H₂O; 컬럼: 2.1 x 150mm의 Agilent Zorbax SB-C18 컬럼, 5μm; 유속: 0.3ml/min; 및 333nm의 UV 파장. 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하는 제제의 액티오사이드, 액티오사이드 및 아이소액티오사이드의 함량을 측정하였고, 각각 33.6중량%, 3.65중량% 및 6.05중량%로 계산되었다.

[0057] 200g의 페닐에타노이드 글리코사이드를 포함하는 제제를 800g의 물에 용해하고 최종 용액을 거대-다공성 수지 속에 주입하여 정제하였고, 30% 에탄올 수용액과 40% 에탄올 수용액으로 연속해서 용출하였다. 박층 크로마토그래피를 UV 365nm로 실행하여 각 용출액을 분석하였고, 30% 에탄올 수용액으로부터 수집한 용출액은 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함하지 않으며 40% 에탄올 수용액으로부터 수집한 용출액은 23.6g의 페닐에타노이드 글리코사이드의 단지 액티오사이드 및 아이소액티오사이드를 포함한다. 이 예에서, 용출액에서 액티오사이드는 22.5중량%이며 용출액에서 아이소액티오사이드는 36.4중량%이다.

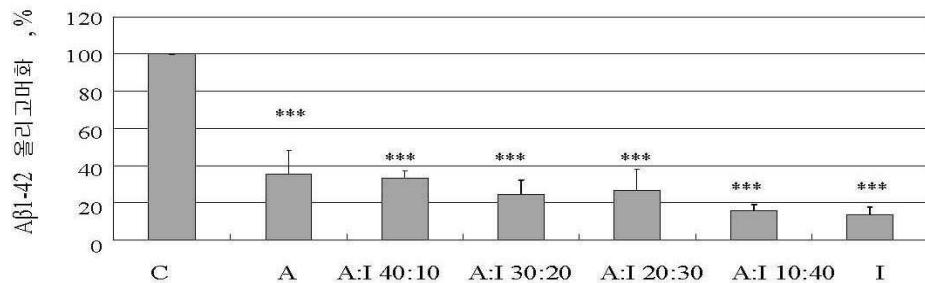
[0058] 비록 본 발명은 상기한 여러 바람직한 실시태양에 의해 개시되었지만, 이들은 본 발명을 제한하기 위한 것이 아니다. 당업자에 의해 본 발명의 취지를 벗어나지 않고 이루어진 여러 동일한 치환 및 변형은 여전히 첨부된 청구항의 범위 내에 있다.

도면

도면1



도면2



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 제6항

【변경전】

상기 개인의

【변경후】

개인의