



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0039762
(43) 공개일자 2011년04월20일

(51) Int. Cl.

A61K 31/122 (2006.01) *A61K 36/482* (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0096746

(22) 출원일자 2009년10월12일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내

(72) 발명자

류중훈

서울 강남구 대치동 511 (24/3) 한보미도맨션 101-609

김동현

서울특별시 용산구 갈월동 고려에이트리움 1601호 (뒷면에 계속)

(74) 대리인

신동인

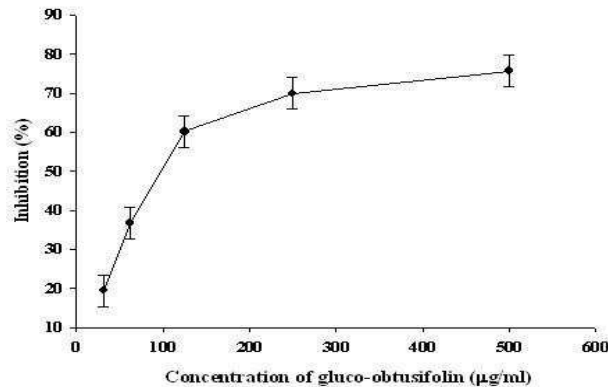
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 결명자 또는 초결명에서 분리된 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 건망증 개선 및 치매 치료 효과를 갖는 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 콩과에 속하는 결명자 (*Cassia tora*) 또는 초결명(*Cassia obtusifolia*)에서 분리된 화합물들은 베타 시크리타아제 (β -secretase)를 억제하고 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴 동물군의 학습증진 효능을 나타냄으로써, 인지기능 장애의 예방 및 치료를 위한 약학 조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김현수

인천 남동구 만수6동 남동아파트 101동 1001호

최재수

부산광역시 해운대구 좌동 1310 해운대화목타운
105동 1502호

현숙경

부산광역시 남구 용호2동 526-1 5/5

박호재

서울특별시 동대문구 회기동 347번지

정재성

서울특별시 동대문구 이문동 257-80

신범영

서울특별시 동대문구 용두동 791번지 두산위브아파
트 105동 1902호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 no. 10524

부처명 서울시정개발연구원 부설 산학연지원센터

연구관리전문기관

연구사업명 노인성 질환계 천연물 신약 클러스터조성 사업

연구과제명 천연물 소재 향우울제 KHUR-4X의 상용화

기여율

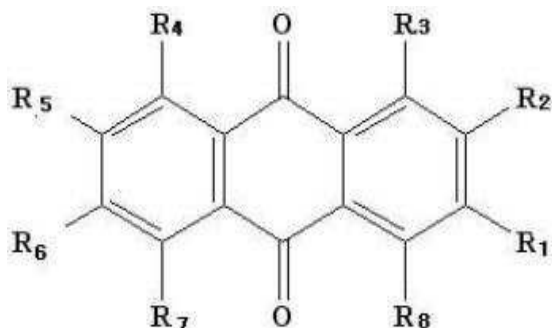
주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2008년 12월 01일 ~ 2009년 11월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

결명자 또는 초결명에서 분리된 하기 일반식 (I)로 표기되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료용 약학조성물:



(I)

상기식에서,

R₁ 내지 R₈은 각각 독립적으로 수소원자, 히드록시기, C₁ 내지 C₃ 저급 알킬기, C₁ 내지 C₃ 저급 알콕시기, O-Glu, O-Glu-Glu 또는 O-Glu-Glu-Glu로부터 선택된 하나 이상의 치환기이고, 여기에서 Glu는 글루코스(Glucose)를 의미한다.

청구항 2

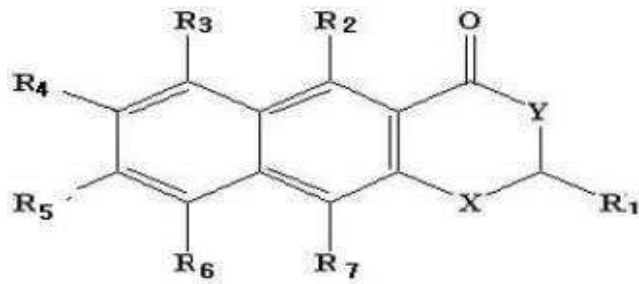
제 1항에 있어서, 상기 일반식 (I) 화합물은 R₁은 수소원자 또는 메틸기인 화합물군; R₂는 수소원자, 히드록시기, -O-Glu인 화합물군; R₃는 수소원자, 히드록시기, 메톡시기, -O-Glu-Glu-Glu인 화합물군; R₄는 수소원자 또는 히드록시기인 화합물군; R₅는 수소원자, 메톡시기인 화합물군; R₆는 수소원자, 히드록시기인 화합물군; R₇ 및 R₈은 수소원자인 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 일반식 (I) 화합물은 글루코-옵투스폴린(Gluco-obtusifolin), 글루코-아우란티오-옵투스인(Gluco-aurantio-obtusin), 알라테르닌(Alaternin), 또는 크리소파놀-트리글루코시드(Chrysophanol-triglucoside)인 약학조성물.

청구항 4

결명자 또는 초결명에서 분리된 하기 일반식 (II)로 표기되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료용 약학조성물:



(II)

상기식에서,

R₁ 내지 R₈은 각각 독립적으로 수소원자, 히드록시기, C₁ 내지 C₃ 저급 알킬기, C₁ 내지 C₃ 저급 알콕시기, O-Glu, O-Glu-Glu 또는 O-Glu-Glu-Glu로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며, 여기에서 Glu는 글루코스(Glucose)를 의미하고;

X, Y는 CH, O, S 또는 N으로부터 선택된 기이다.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 일반식 (II) 화합물은 R₁은 수소원자 또는 메틸기인 화합물군; R₂는 수소원자 또는 히드록시기인 화합물군; R₃는 수소원자, O-Glu, O-Glu-Glu 또는 O-Glu-Glu-Glu인 화합물군; R₄는 수소원자인 화합물군; R₅는 수소원자, 히드록시기 또는 메톡시기인 화합물군; R₆ 또는 R₇는 수소원자인 화합물군; X, Y는 CH 또는 O인 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 일반식 (II) 화합물은 노르-루브로푸사린 글루코시드(Nor-rubrofusarin glucoside), 루브로푸사린-겐티오비오시드(Rubrofusarin-gentiobioside), 또는 토랄락톤-겐티오비오시드(Toralactone-gentiobioside)인 약학조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 인지 기능 장애 질환은 알츠하이머형 치매증, 뇌혈관성 치매증, 픽(pick)병, 크루츠펔트-야콥(Creutzfeldt-jakob)병, 두부손상에 의한 치매 및 파킨슨(Parkinson)병인 약학 조성물.

청구항 8

제 1항 또는 제 4항에 있어서, 결명자 또는 초결명에서 분리된 상기 일반식 (I) 또는 (II)로 표기되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지 기능 장애의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 9

제 8항에 있어서, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태인 건강기능식품.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 결명자(Cassia tora) 또는 초결명(Cassia obtusifolia)에서 분리된 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지 기능 장애의 예방 및 치료용 약학조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] [문헌 1] J.A. Duke, Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants, *Herbal Reference Library*, CRC press, Boca Raton, Florida, pp. 143144, 1992
- [0003] [문헌 2] J.S. Choi, H.J. Lee et al., In vitro antimutagenic effects of anthraquinone aglycones and naphthopyrone glycosides from Cassia tora, *Planta Medica*, 63, pp.1114, 1997
- [0004] [문헌 3] N.J. Hao et al., Structure-activity relationships of anthraquinones as inhibitors of 7-ethoxycoumarin O-deethylase and mutagenicity of a-amino- 3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, *Mutation Research*, 328, pp.183191, 1995
- [0005] [문헌 4]H.S. Choi et al., Effect of the ethanol extracts of Cassia tora L. of antioxidative compounds and lipid metabolism in hepatotoxicity of rats-induced by ethanol, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 30(6), pp.11771183, 2002
- [0006] [문헌 5]U.K. Patil et al., Hypolipidemic activity of seeds of Cassia tora Linn, *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2-3), pp.249252, 2004
- [0007] [문헌 6]Ellman et al., Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-stone RM, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.*, Jul ;7, pp.88-95, 1961
- [0008] [문헌 7]Ermolieff J, et al., Proteolytic activation of recombinant pro-memapsin 2 (pro-beta-secretase) studied with new fluorogenic substrates. *Biochemistry*. 10:39(40):12450-6, 2000 Oct
- [0009] [문헌 8]Ebert U, Kirch W. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *Eur J Clin Invest.*, 28, pp.944-949, 1998

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0010] 본 발명은 결명자 또는 초결명에서 분리된 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0011] 뇌(brain)와 척수(spinal cord)로 구성된 중추신경계는 생명현상을 운영하는 중심센터로서 감각과 (불)수의적인 운동에서부터 사고, 기억, 감정, 언어 등에 이르기까지 인체의 모든 기능을 총괄하는 아주 필수적인 기관이다. 따라서 뇌졸중, 외상 등으로 야기된 급행적인 신경세포의 사멸이나, 알츠하이머병으로 대표되는 노인성 치매, 파킨슨질환 등과 같은 중추신경계 퇴행성 질환을 유발시키는 서행적인 신경세포의 사멸등과 같은 모든 경우에는 곧 바로 신경회로망의 비가역적인 기능장애를 초래하게 되며 결국에는 해당 인체 기능의 영구적인 손실을 초래하게 된다. 알츠하이머병으로 대표되는 노인성 치매는 인간 평균수명의 연장과 의료복지시설의 현대화와 맞물려 비례적으로 증가하는 특성을 가지고 있다. 보건사회연구원 통계조사에 따르면 우리나라의 노인인구가 2000년에 7%를 넘어 고령사회에 진입한 이래 2003년 397만 명으로 노인인구의 비율이 8.3%에 이르렀고 2019년에는 14.4%에 이르러 완전고령사회에 진입할 것으로 예상된다. 65세 이상 노인인구 중 한 가지 이상 만성질환을 가지고 있는 노인은 에 이르며 특히 65세 이상 노인의 치매 유병율도 8.2%로 추정된다. 서구사회에서는 65세 이상인구의 약 10%, 80세 이상인구의 약 40 ~ 50%에서 알츠하이머병이 발생하고 있으며, 이미 미국에서는 이 질환 환자가 500만 명 이상으로 이로 인한 의료비 지출이 연간 1000억 달러로 추정되고 있다. 또한 우리나라에서는

약 20만 명 이상이 치매 환자인 것으로 나타났다. 미국의 경우 2030년까지 현재의 2배 규모로 증가하고, 2050년까지는 350% 이상 늘어난 1,400만 명에 달할 것으로 추정되어지고 있다.

[0012] 의료기술의 발달로 인한 수명 연장으로 노인 인구가 증가하면서 퇴행성 신경의 질환인 치매 환자의 비율도 급증하고 있다. 치매는 개인적으로나 사회적으로 삶의 질을 크게 떨어뜨리고 본인과 주변의 사람들을 불행하게 만드는 질환으로 알, 심장질환, 뇌졸중에 이어 노인 사망의 네 번째 원인이 되고 있다. 치매는 크게 알츠하이머형 치매와 혈관성 치매로 나누는데, 알츠하이머형 치매는 서구에서 많이 관찰되는 치매의 형태로 뇌의 특정 부위에 베타 아밀로이드가 축적되어 콜린성 뉴런이 파괴되어 나타나는 병이다. 혈관성 치매는 고혈압, 뇌졸중, 고지혈증 등으로 인해 뇌로 가는 혈관의 이상으로 허혈 상태가 발생하여 해마 및 변연계통의 신경이 사멸하므로 나타나는 치매로 서구에서 보다는 동양에서 많이 나타나기 때문에 연구가 덜 되어있는 실정이다. 이들 두 치매의 형태가 원인은 다르지만 결과적으로 기억력 전달 신경물질로 알려진 아세틸콜린의 작용을 감소시켜 기억력에 손상을 가져온다는 부분에서는 동일한 기전을 가진다.

[0013] 4급 아민 구조를 갖는 아세틸콜린은 신경전달물질이며 아세틸콜린에스테라아제 (acetylcholinesterase)는 아세틸콜린을 가수분해하여 콜린으로 만드는 작용을 한다. 치매 환자의 경우 신경전달물질인 아세틸콜린의 농도가 저하되며, 아세틸콜린에스테라아제를 억제할 경우 뇌의 아세틸콜린의 농도가 상승하여 치매환자의 증상이 개선되는 것이 보고되어 있다. FDA 승인을 받아 치매치료제로 개발되어 사용되고 있는 의약품은 타크린 (tacrine), 도네페질 (donepezil), 갈란타민 (galanthamine), 리바스티그민 (rivastigmine) 네 가지가 있는데 이들은 모두 아세틸콜린에스테라아제 저해제이다.

[0014] 결명자는 콩과에 속하는 긴강남차(*Cassia tora* L.) 및 초결명자 (*Cassia Obtusifolia* L.)의 종자를 사용하는 생약으로, 크리소파놀(chrysophanol), 에모딘(emodin), 레닌(rhein) 등 생리 활성을 나타내는 다양한 안트라퀴논(anthraquinone)들을 함유하고 있다(J.A. Duke, Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants, *Herbal Reference Library*, CRC press, Boca Raton, Florida, pp. 143144, 1992).

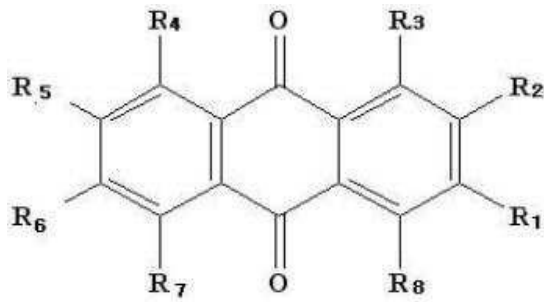
[0015] 옛날부터 명목(明目), 청간(淸肝),通便(通便) 등의 목적으로 사용되어온 결명자는 에임즈 테스트(Ames test)에서 아플라톡신B1(aflatoxin B1)을 길항하는 효과가 있다고 보고되어 있다(J.S. Choi, H.J. Lee et al., In vitro antimutagenic effects of anthraquinone aglycones and naphthopyrone glycosides from *Cassia tora*, *Planta Medica*, **63**, pp.1114, 1997). 또한 결명자는 항 돌연변이 효능(N.J. Hao et al., Structure-activity relationships of anthraquinones as inhibitors of 7-ethoxycoumarin O-deethylase and mutagenicity of amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, *Mutation Research*, **328**, pp.183191, 1995), 간독성 완화(H.S. Choi et al., Effect of the ethanol extracts of *Cassia tora* L. of antioxidative compounds and lipid metabolism in hepatotoxicity of rats-induced by ethanol, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **30(6)**, pp.11771183, 2002), 고지혈증 감소 작용(U.K. Patil et al., Hypolipidemic activity of seeds of *Cassia tora* Linn, *Journal of Ethnopharmacology*, **90(2-3)**, pp.249252, 2004)등이 보고되어 있다. 하지만 아직까지 건망증 개선에 대한 보고는 이루어져 있지 아니하다.

[0016] 따라서 본 발명자들은, 결명자(*Cassia tora*) 또는 초결명(*Cassia obtusifolia*)에서 분리된 화합물들의 인지기능 장애의 예방 및 치료 효과를 알아보기 위해, 베타 시크리타아제(β -secretase) 활성 저해 실험, 아세틸콜린에스테라아제 저해능 실험 및 스코폴라민에 의해 유도된 건망증 모델을 이용한 수동회피 실험을 통하여 베타 시크리타아제 (β -secretase)를 억제하고 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴 동물군의 학습증진 효능을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

과제 해결수단

[0017] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 결명자(*Cassia tora*) 또는 초결명(*Cassia obtusifolia*)에서 분리된 하기 일반식 (I) 또는 일반식 (II)로 표기되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

화학식 1



(I)

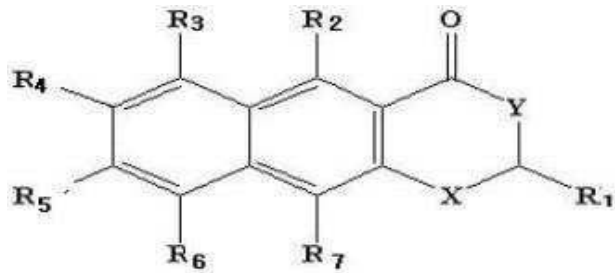
상기식에서,

R₁ 내지 R₈은 각각 독립적으로 수소원자, 히드록시기, C₁ 내지 C₃ 저급 알킬기, C₁ 내지 C₃ 저급 알콕시기, O-Glu, O-Glu-Glu 또는 O-Glu-Glu-Glu로부터 선택된 하나 이상의 치환기이고, 여기에서 Glu는 글루코스(Glucose)를 의미한다.

상기 일반식 (I) 화합물의 바람직한 화합물로는 R₁은 수소원자 또는 메틸기인 화합물군; R₂는 수소원자, 히드록시기, -O-Glu인 화합물군; R₃는 수소원자, 히드록시기, 메톡시기, -O-Glu-Glu-Glu인 화합물군; R₄는 수소원자 또는 히드록시기인 화합물군; R₅는 수소원자, 메톡시기인 화합물군; R₆는 수소원자, 히드록시기인 화합물군; R₇ 및 R₈은 수소원자인 화합물군들을 들 수 있다.

상기 일반식 (I) 화합물의 가장 바람직한 화합물로는 글루코-옵투스폴린(Gluco-obtusifolin), 글루코-아우란티오-옵투스(Gluco-aurantio-obtusin), 알라테르닌(Alaternin), 크리스�파놀-트리글루코사이드(Chrysophanol-triglucoside)를 들 수 있으나, 본 발명의 범위는 이에 한정되지는 않는다.

화학식 2



(II)

상기식에서,

R₁ 내지 R₈은 각각 독립적으로 수소원자, 히드록시기, C₁ 내지 C₃ 저급 알킬기, C₁ 내지 C₃ 저급 알콕시기, O-Glu, O-Glu-Glu 또는 O-Glu-Glu-Glu로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며, 여기에서 Glu는 글루코스(Glucose)를 의미하고;

X, Y는 CH, O, S 또는 N으로부터 선택된 기이다.

상기 일반식 (II) 화합물의 바람직한 화합물로는 R₁은 수소원자 또는 메틸기인 화합물군; R₂는 수소원자 또는 히드록시기인 화합물군; R₃는 수소원자, O-Glu, O-Glu-Glu 또는 O-Glu-Glu-Glu인 화합물군; R₄는 수소원자인 화합물군; R₅는 수소원자, 히드록시기 또는 메톡시기인 화합물군; R₆ 또는 R₇는 수소원자인 화합물군; X, Y는 CH 또는 O인 화합물군들을 들 수 있다.

- [0029] 상기 일반식 (II)의 가장 바람직한 화합물로는 노르-루브로푸사린 글루코시드(Nor-rubrofusarin glucoside), 루브로푸사린-겐티오비오시드(Rubrofusarin-gentiobioside), 토랄락톤-겐티오비오시드(Toralactone-gentiobioside)를 들 수 있으나, 본 발명의 범위는 이에 한정되지는 않는다.
- [0030] 상기 일반식 (I) 또는 일반식 (II) 화합물들은 베타 씨크리타아제 (β -secretase)를 억제하고 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴 동물군의 학습증진 효능을 나타냄으로써, 인지기능 장애의 예방 및 치료를 위한 약학 조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 이용될 수 있다.
- [0031] 따라서, 본 발명은 결명자(Cassia tora) 또는 초결명(Cassia obtusifolia)에서 분리된 상기 일반식 (I) 또는 일반식 (II)로 표기되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애의 예방 및 치료를 위한 약학조성물을 제공한다.
- [0032] 상기의 인지 기능 장애 관련 질환은 일반적인 인지 기능 장애 관련 질환을 포함하며, 바람직하게는 알츠하이머형 치매증, 뇌혈관성 치매증, 픽(pick)병, 크루즈펠트-야콥(Creutzfeldt-jakob)병, 두부손상에 의한 치매 또는 파킨슨(Parkinson)병을 포함하며, 보다 바람직하게는 알츠하이머병을 포함한다.
- [0033] 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 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.
- [0035] 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0036] 상세하게는, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 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 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 화합물은 0.0001 ~ 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 ~ 100 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다. 조성물에서 본 발명의 화합물은 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 ~ 50 중량%의 함량으로 배합될 수 있다.
- [0038] 또한, 본 발명의 화합물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 마우스, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0040] 본 발명은 상기 일반식 (I) 및 일반식 (II)로 표기되는 결명자(Cassia tora) 또는 초결명(Cassia obtusifolia)에서 분리된 화합물을 유효성분으로 함유하는 인지 기능 장애의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0041] 본 발명의 화합물은 인지 기능 장애의 예방 및 개선을 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 발명의 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강

보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.

[0042] 본 발명의 화합물은 독성 및 부작용은 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0043] 본 발명의 상기 화합물은 인지 기능 장애의 예방 및 치료를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 화합물의 양은 일반적으로 본 발명의 건강식품 조성물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 30 g, 바람직하게는 0.3 내지 10 g의 비율로 가할 수 있다.

[0044] 본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 것 외에 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0045] 상기 외에 본 발명의 화합물은 조성물은 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, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

효 과

[0046] 본 발명의 결정자 또는 초결정에서 분리된 일반식 (I) 및 일반식 (II) 로 표기되는 화합물은 베타 씨크리타아제 (β -secretase)를 억제하고 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴 동물군의 학습증진 효능을 나타냄으로써, 인지 기능 장애의 예방 및 치료를 위한 약학 조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0047] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0048] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0049] 참조예 1. 약물 및 시약

[0050] 스코폴라민 (scopolamine) 및 타크린 (tacrine)은 시그마사(Sigma-Aldrich Chemistry Co.)에서 구입하여 사용하였으며, 그 외 시약은 시중에서 구입할 수 있는 최상급을 사용하였다.

[0051] 참조예 2. 실험동물의 준비

[0052] 6주령의 ICR 마우스 (26 - 28 g) 및 14주령의 SD 랫드를 (주) 오리엔트 (Seoul, Korea)에서 공급받아 경희대학교 약학대학의 무균 사육장(clean cage)에 약 5일간 적응시켜 사용하였으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 온도 ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), 습도 ($55 \pm 10\%$) 및 명암주기 (12 시간)는 자동으로 조절되도록 하였다.

[0053] 참조예 3. 통계처리

- [0054] 모든 실험 결과는 ANOVA (one way analysis of variance)를 이용하여 통계 처리하였고, 유의성이 인정될 경우 스튜던트-뉴만-케울스 검정법(Student-Newman-Keuls Test)를 사용하여 $p < 0.05$ 수준 이하에서 유의성 검정을 실시하였다.
- [0055] **실시예 1. 결명자 추출물의 제조**
- [0056] 결명자 (경동시장, 서울, 대한민국)를 건조하여 분쇄한 후, 결명자 분말 500 g 에 메탄올 2,000 mL를 가하여 80 °C에서 3시간 동안 환류 냉각 추출하고 여과 및 감압 농축하여 51.5 g의 결명자 메탄올 추출물을 수득하였다.
- [0057] **실시예 2. 결명자 추출물로부터 화합물의 분리 및 동정**
- [0058] 2-1. 글루코 유포시폴린 (Glucobtusifolin)의 분리 및 동정
- [0059] 상기 실시예 1에서 수득한 메탄올 추출물 51.5 g을 실리카겔 컬럼에 걸고 클로로포름 : 메탄올 (20 : 1 → 1 : 1(v/v))을 용출용매로 사용하여 크로마토그래피를 실시하여 박층 크로마토그래피에서 동일한 양상을 나타내는 것들을 합하고 농축하여 10개의 분획으로 나누었으며, 다섯 번째 분획 8.4 g을 실리카겔 컬럼에 걸고 클로로포름 : 메탄올 : 물 (15 : 1 : 0.1 → 1 : 1(v/v))을 용출용매로 사용하여 크로마토그래피를 실시하여 박층 크로마토그래피에서 동일한 양상을 나타내는 것들을 합하고 농축하여 하기 물성치를 갖는 글루코 유포시폴린 (Glucobtusifolin) 36 mg을 수득하였다.
- [0060] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.76 (OH), 7.87 (1H, s, H-4), 7.74 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-6), 7.64 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-5), 7.34 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-7), 5.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.42-3.06 (m, glucosyl-H), 3.89 (3H, s, OCH₃), 2.43 (3H, s, CH₃);
- [0061] $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 188.0 (C-9), 181.4 (C-10), 161.4 (C-8), 154.7 (C-2), 153.3 (C-1), 141.5 (C-7), 136.5 (C-6), 132.6 (C-3), 129.7 (C-11), 125.2 (C-4), 124.6 (C-14), 124.1 (C-13), 118.4 (C-5), 116.9 (C-12), 103.8 (C-1'), 77.4 (C-3'), 76.4 (C-5'), 74.1 (C-2'), 69.8 (C-4'), 61.5 (C-6'), 60.9 (OCH₃), 17.6 (CH₃).
- [0062] 2-2. 글루코-아우란티오-유포신 (Glucobaurantio obtusin)의 분리 및 동정
- [0063] 상기 실시예 2-1과 동일한 반응 공정을 수행하여 하기 물성치를 갖는 글루코-아우란티오-유포신 (Glucobaurantio obtusin) 70 mg을 수득하였다.
- [0064] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 13.08 (OH), 7.78 (1H, s, H-4), 7.43 (1H, s, H-5), 5.16 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 2.28 (3H, s, CH₃);
- [0065] $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 187.6 (C-9), 179.9 (C-10), 156.2 (C-8), 155.7 (C-2), 155.5 (C-6), 147.3 (C-1), 141.4 (C-7), 132.4 (C-3), 128.2 (C-11), 125.9 (C-4), 124.6 (C-14), 123.6 (C-13), 113.5 (C-12), 106.2 (C-5), 100.3 (C-1'), 77.3 (C-3'), 76.5 (C-5'), 73.2 (C-2'), 69.3 (C-4'), 61.1 (CH₃), 60.5 (CH₃), 60.4 (C-6'), 16.5 (CH₃).
- [0066] 2-3. 알라테르닌(Alaternin)의 분리 및 동정
- [0067] 상기 실시예 2-1과 동일한 반응 공정을 수행하여 하기 물성치를 갖는 알라테르닌(Alaternin) 5 mg을 수득하였다.
- [0068] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.02 (OH), 7.47 (1H, H-4), 7.08 (1H, H-5), 6.52 (1H, H-7), 2.34 (3H, s,

CH₃);

[0069] ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 190.0 (C-9), 179.8 (C-10), 164.3 (C-8), 165.6 (C-6), 150.1 (C-2), 149.1 (C-1), 135.5 (C-3), 131.2 (C-11), 122.9 (C-14), 122.8 (C-4), 113.9 (C-13), 108.9 (C-12), 108.5 (C-5), 107.1 (C-7), 16.2 (CH₃).

[0070] 2-4. 크리스오파놀-트리글루코시드 (Chrysophanol-triglucoside)의 분리 및 동정

[0071] 상기 실시예 2-1과 동일한 반응 공정을 수행하여 하기 물성치를 갖는 크리스오파놀-트리글루코시드 (Chrysophanol-triglucoside) 10 mg을 수득하였다.

[0072] ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 360 MHz) δ: 12.90 (OH), 7.76 (1H, t, *J* = 7.6 Hz, H-6), 7.72 (1H, brs, H-4), 7.66 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.6 Hz, H-5), 7.59 (1H, brs, H-2), 7.35 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.6 Hz, H-7), 5.28 (1H, brd, *J* = 6.0 Hz, H-1'), 4.43 (2H, brd, *J* = 6.0 Hz, H-1'', H-1'''), 5.25-3.0 (m, glucosyl-H), 2.53 (3H, brs, CH₃);

[0073] ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 90 MHz) δ: 187.7 (C-9), 182.1 (C-10), 161.4 (C-1), 158.3 (C-8), 147.6 (C-3), 136.2 (C-11), 134.4 (C-6), 132.4 (C-14), 124.4 (C-4), 122.8 (C-5), 121.4 (C-7), 118.3 (C-12), 118.3 (C-13), 116.8 (C-2), 104.2 (C-1'''), 103.1 (C-1'), 100.5 (C-1''), 88.2 (C-3'''), 77.0 (C-3'''), 76.5 (C-3'), 76.2 (C-5'''), 76.1 (C-5''), 75.8 (C-5'), 73.9 (C-2'''), 73.5 (C-2'), 72.4 (C-2''), 70.2 (C-4'''), 69.8 (C-4'), 69.0 (C-4''), 68.5 (C-6'), 61.2 (C-6'''), 60.8 (C-6''), 22.0 (CH₃).

[0074] 2-5. 노르-루브로푸사린 글루코시드 (Nor-rubrofusarin glucoside)의 분리 및 동정

[0075] 상기 실시예 2-1과 동일한 반응 공정을 수행하여 하기 물성치를 갖는 노르-루브로푸사린 글루코시드 (Nor-rubrofusarin glucoside) 100 mg을 수득하였다.

[0076] ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 14.94 (OH), 10.33 (OH), 7.06 (1H, s, H-10), 6.72 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-9), 6.68 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-7), 6.16 (1H, s, H-3), 4.97 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 5.10-3.10 (m, glucosyl-H), 2.37 (3H, s, CH₃);

[0077] ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 183.7 (C-4), 168.6 (C-2), 162.1 (C-5), 159.7 (C-8), 158.3 (C-6), 152.3 (C-11), 140.4 (C-14), 106.9 (C-3), 106.5 (C-13), 103.0 (C-12), 102.5 (C-9), 101.6 (C-7), 101.3 (C-1'), 99.9 (C-10), 77.2 (C-5'), 76.4 (C-3'), 73.5 (C-2'), 69.5 (C-4'), 60.6 (C-6'), 20.1 (CH₃).

[0078] 2-6. 루브로푸사린-겐티오비오시드 (Rubrofusarin-gentiobioside)의 분리 및 정제

[0079] 상기 실시예 2-1과 동일한 반응 공정을 수행하여 하기 물성치를 갖는 루브로푸사린-겐티오비오시드 (Rubrofusarin-gentiobioside) 10 mg을 수득하였다.

[0080] ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 14.87 (OH), 7.18 (1H, s, H-10), 6.93 (1H, s, H-9), 6.81 (1H, s, H-7), 6.18 (1H, s, H-3), 5.06 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, anomeric H), 5.05 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, anomeric H), 5.00-3.00 (glucosyl-H), 3.88 (3H, s, OCH₃), 2.38 (3H, s, CH₃);

[0081] ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75.5 MHz) δ: 183.6 (C-4), 168.7 (C-5), 161.8 (C-2), 161.0 (C-8), 157.5 (C-6), 152.3 (C-11), 140.2 (C-14), 107.6 (C-13), 106.6 (C-3), 103.5 (C-1' & C-10), 101.1 (C-12), 100.8 (C-7), 100.7 (C-9), 99.7 (C-1''), 76.8 (C-3'), 76.6 (C-5''), 76.3 (C-3''), 75.5 (C-5'), 73.4 (C-2' & C-2''), 70.1

(C-4'), 69.7 (C-4''), 68.8 (C-6'), 61.6 (C-6''), 55.4 (OCH₃), 20.0 (CH₃).

[0082] 2-7. 토랄락톤-겐티오비오시드 (Toralactone-gentiobioside)의 분리 및 동정

[0083] 상기 실시예 2-1과 동일한 반응 공정을 수행하여 하기 물성치를 갖는 토랄락톤-겐티오비오시드 (Toralactone-gentiobioside) 15 mg을 수득하였다.

[0084] ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 12.60 (OH), 7.13 (1H, s, H-5), 6.93 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.51 (1H, s, H-4), 5.09 (1H, d, J = 7.8 Hz, anomeric H), 4.20 (1H, d, J = 7.8 Hz, anomeric H), 3.89 (3H, s, OCH₃), 2.23 (3H, s, CH₃);

[0085] ¹³C-NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 166.8 (C-3), 162.6 (C-1), 161.3 (C-9), 157.4 (C-7), 152.5 (C-10), 141.5 (C-14), 132.3 (C-12), 111.6 (C-5), 109.1 (C-13), 104.1 (C-4), 103.6 (C-8), 101.8 (C-1'), 100.9 (C-1''), 100.3 (C-6), 98.4 (C-11), 76.8 (C-3'), 76.6 (C-5'), 76.4 (C-3''), 75.5 (C-5'), 73.5 (C-2'), 73.5 (C-2''), 70.1 (C-4'), 69.7 (C-4''), 68.8 (C-6'), 61.6 (C-6''), 55.4 (OCH₃), 18.8 (CH₃).

[0086] 실험예 1. 아세틸콜린에스테라제 활성 저해 측정

[0087] 아세틸콜린에스테라아제 저해 활성 측정은 엘만의 방법(Elman et al., Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-stone RM, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.*, Jul ;7, pp.88-95, 1961)에 따라 수행하였다.

[0088] 마우스의 뇌를 적출하여 10배 부피의 PBS1 (12.5M sodium phosphate buffer pH 7.0, 400mM NaCl)에 넣었고, 테플론 글래스 튜브를 이용하여 500rpm에서 갈아서 1000 X g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액에 PBS1과 트리톤(Triton) X-100을 첨가하였고 30분 동안 교반한 다음 10000 X g에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 효소로 사용하였다. 약물을 녹인 용액 1.5 ml과 완충액 2.6ml, 75mM 아세틸티오펜올 이오다이드 용액(acetylthiocholine iodide solution 20 μl), 엘만(Ellman's) 시약 0.1 ml를 모두 섞어서 25 °C에서 30분간 전배양한 후 여기에 효소용액을 0.4 ml 넣었고 30초 간격으로 5분 동안 410nm에서 흡광도를 측정하였다. 아세틸콜린에스테라아제 저해능은 하기의 수학적 식 1을 이용하여 계산하였고, 결과를 표 1에 나타내었다.

수학적 식 1

$$\text{억제율}(\%) = \left[1 - \frac{(\text{시험군 } O.D. - \text{시험군 바탕값}(\text{blank}) O.D.)}{(\text{대조군 } O.D. - \text{대조군 바탕값} O.D.)} \right] \times 100$$

표 1

성 분		억제율 (%)
일반식 (I)	글루코-오투시폴린	51.2 ± 4.1
	글루코-아우란티오-오투신	2.1 ± 0.3
	알라테르닌	10.24 ± 1.5
	크리소파놀 트리글루코시드	45.50 ± 4.2
일반식 (II)	노어-루부로푸사린 글루코시드	33.2 ± 3.2
	루부로푸사린-겐티오비오시드	12.22 ± 1.8
	토랄락톤-겐티오비오시드	7.41 ± 2.2

[0091] 실험결과, 상기 표 1에 나타나는 바와 같이, 100 μg/kg의 농도에서 각 성분의 아세틸콜린에스테라아제 활성 억

제능은 글루코 옵투스폴린(gluco-obtusifolin), 노어 루부로후사린 글루코시드(nor-rubrofusarin glucoside)이 뛰어난 억제 활성을 나타냄을 확인하였다.

[0092] 또한, 가장 뛰어난 억제 활성을 갖는 글루코 옵투스폴린(gluco-obtusifolin)의 농도별 억제 활성을 도 1에 나타내었다.

[0093] 실험예 2. 베타 썬크리타아제 (β -secretase) 활성 저해 측정

[0094] 본 발명에서 알츠하이머성 치매질환과 관련된 효소인 베타 썬크리타아제(β -secretase)에 대한 저해 활성은 하기와 같이 문헌에 기재된 방법을 이용하여 수행하였다(Ermolieff J, et al., Proteolytic activation of recombinant pro-memapsin 2 (pro-beta-secretase) studied with new fluorogenic substrates. Biochemistry. 10;39(40):12450-6, 2000 Oct).

[0095] 기질용액은 일정량의 합성기질 (MCA)Ser-Glu-Val-Asn-Leu-Asp-Ala -Glu-Phe-Lys(DNP)을 DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹여 만들었고, 효소용액은 일정량의 베타 썬크리타아제(β -secretase)를 0.1M 소듐 아세테이트 버퍼(pH4.0)에 녹여 사용하였다. 저해반응은 일정량의 효소용액과 시료용액을 취하여 0.5 mL cell에 넣고 37℃로 조절된 형광광도기에서 10분 동안 유지시킨 후, 일정량의 기질용액을 가하여 반응을 시켰고, 시간에 따라 여기 파장 328 nm 및 방출 파장 393 nm에서 형광성(fluorescence)을 측정하였다. 대조구는 시료용액을 넣지 않고 상기와 동일한 방법으로 하여 형광성(fluorescence)을 측정하였다. 저해 활성은 하기의 수학적 식 2를 이용하여 계산하였다.

수학적 식 2

[0096] 저해 활성(%) = (시료의 초기반응속도 / 대조구의 초기반응속도) × 100

[0097] 실험결과, 도 2에서 보는 바와 같이 알츠하이머성 치매 환자에 있어서 신경독성을 가진 A β 를 생성하는 물질인 베타 썬크리타아제(β -secretase) 억제 활성 실험에서 크리소파놀 트리글루코사이드(crysophanol triglucoside), 글루코 아우란티오 옵투스(gluco-aurantio-obtusin), 노어 루부로후사린 글루코시드(nor-rubrofusarin glucoside), 글루코-옵투스폴린(gluco-obtusifolin), alaternin이 농도 의존적으로 억제 활성을 나타내고 있으며 그 억제 활성 정도는 글루코 오란티오 옵투스(gluco-aurantio-obtusin), > 글루코 옵투스폴린(gluco-obtusifolin) > 노어 루부로후사린 글루코시드(nor-rubrofusarin glucoside) = alaternin = 크리소파놀 트리글루코시드(crysophanol triglucoside) 임을 확인하였다.

[0098] 실험예 3. 스코폴라민에 의해 유도된 건망증 모델을 이용한 수동회피 실험

[0099] 각 성분들을 각각 10% 트윈 80(Polyoxyethyl enesorbitan monooleate : Sigma, U.S.A.)에 녹인 후 여러 가지 용량으로 경구투여하였고, 양성 대조군은 타크린 10 mg/kg을 투여하였고 대조군에는 10% 트윈을 투여하였다.

[0100] 하기 문헌에 기재된 방법을 이용하여 약물투여 30분 후에 증류수에 녹인 스코폴라민을 1 mg/kg의 용량으로 복강 투여하였고 (Ebert U, Kirch W. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. Eur J Clin Invest., 28, pp.944-949, 1998), 스코폴라민 투여 30분 후에 쥐를 조명을 비춘 밝은 쪽 구획에 놓고 20초의 탐색시간 후 길로틴문 (guillotine door)이 열려 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다. 이때 길로틴문이 열린 후 40초 이내에 어두운 쪽으로 들어가지 않는 쥐는 실험에서 제외시켰다. 길로틴문이 열린 후 쥐가 어두운 쪽으로 들어갈 때까지의 시간을 측정하였다. 일단 쥐가 어두운 쪽으로 들어가면 길로틴문이 닫히고 0.5mA의 전기 충격이 3초 동안 격자 바닥을 통해 흐르게 되고 쥐는 이러한 전기작용을 기억하게 되었다.

[0101] 학습 시험이 끝나고 24시간 후에 본 실험을 시행하였다. 쥐가 20초의 탐색시간 후 길로틴문이 열리고 어두운 쪽으로 4발이 다 들어가는 데 걸리는 시간 (latency time : 머무름 시간)을 300초까지 측정하였다. 걸리는 시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타내었다.

[0102] 상기 실험예 1의 아세틸콜린에스테라아제 활성 억제능 실험에서 그 활성이 뛰어난 노어 루부로후사린 글루코시

드(nor-rubrofusarin glucoside), 글루코 옹투시폴린(gluco-obtusifolin), 크리소파놀 트리글루코시드(chrysophanol triglucoside)의 스코플라민으로 유도한 건망증 모델을 이용한 수동회피실험 결과를 도 3에 나타내었다. 각각 0.1 mg/kg을 사용하여 비교실험을 실시한 결과 노어 루브로후사린 글루코시드와 글루코 옹투시폴린에서 우수한 효과가 관찰되었고, 농도 의존성 실험결과를 도 4 및 도 5와 같이 나타내었다. 노어 루브로후사린 글루코시드는 양성대조군으로 사용한 타크린과 비슷한 효과를 나타내는 반면 글루코 옹투시폴린은 양성대조군으로 사용한 타크린보다 그 효능이 뛰어남을 확인할 수 있었다.

[0103] 실험예 4. 급성독성시험

[0104] 본 발명의 화합물의 급성독성을 시험하기 위하여 식품의약품안전청(KFDA)의 예규에 따라 웅성의 ICR 마우스를 (주) 오리엔트 (Seoul, Korea)에서 구입하여 경희대학교 약학대학의 무균 사육장(clean cage)에 약 5일간 적응시킨 후 실험하였다.

[0105] 각 그룹당 10 마리씩의 마우스에 본 발명의 화합물을 0.625 ~ 2g/kg의 용량으로 1회 경구투여하였고, 2주간 관찰하였다.

[0106] 실험 물질 투여 후 동물의 폐사여부, 임상증상 및 체중변화를 관찰하고 혈액생화학적 검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 장기와 흉강 장기의 이상여부를 관찰하였다.

[0107] 실험 결과, 실험 물질을 투여한 모든 동물에서 특이할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사 및 부검 소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다.

[0108] 본 발명의 화합물은 마우스에서 2g/kg의 용량까지 경구 투여시 독성변화를 나타내지 않았으며, 인체에 경구투여시 1 - 1000 mg/kg, 피부적용시에는 0.2 - 100 mg/cm²으로 사용시에 효과가 있는 물질로 판단되었다.

[0109] 하기에 상기 조성물의 제제예를 설명하나, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0110] 제제예 1. 산제의 제조

[0111]	글루코 옹투시폴린	20 mg
[0112]	유당	100 mg
[0113]	탈크	10 mg
[0114]	상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.	

[0115] 제제예 2. 정제의 제조

[0116]	노어 루브로후사린 글루코시드	10 mg
[0117]	옥수수전분	100 mg
[0118]	유당	100 mg
[0119]	스테아린산 마그네슘	2 mg
[0120]	상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.	

[0121] 제제예 3. 캡셀제의 제조

[0122]	글루코 옹투시폴린	10 mg
[0123]	결정성 셀룰로오스	3 mg

[0124]	락토오스	14.8 mg
[0125]	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg
[0126]	통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.	
[0127]	제제예 4. 주사제의 제조	
[0128]	노어 루브르푸사린 글루코시드	10 mg
[0129]	만니톨	180 mg
[0130]	주사용 멸균 증류수	2974 mg
[0131]	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	26 mg
[0132]	통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.	
[0133]	제제예 5. 액제의 제조	
[0134]	글루코 옥투시폴린	20 mg
[0135]	이성화당	10 g
[0136]	만니톨	5 g
[0137]	정제수	적량
[0138]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	
[0139]	제제예 6. 건강 식품의 제조	
[0140]	노어 루브르푸사린 글루코시드	1000 mg
[0141]	비타민 혼합물	적량
[0142]	비타민 A 아세테이트	70 μg
[0143]	비타민 E	1.0 mg
[0144]	비타민 B1	0.13 mg
[0145]	비타민 B2	0.15 mg
[0146]	비타민 B6	0.5 mg
[0147]	비타민 B12	0.2 μg
[0148]	비타민 C	10 mg
[0149]	비오틴	10 μg
[0150]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0151]	엽산	50 μg
[0152]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0153]	무기질 혼합물	적량
[0154]	황산제1철	1.75 mg

[0155]	산화아연	0.82 mg
[0156]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0157]	제1인산칼륨	15 mg
[0158]	제2인산칼슘	55 mg
[0159]	구연산칼륨	90 mg
[0160]	탄산칼슘	100 mg
[0161]	염화마그네슘	24.8 mg
[0162]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.	

[0163] **제제예 7. 건강 음료의 제조**

[0164]	글루코 옴투시폴린	1000 mg
[0165]	구연산	1000 mg
[0166]	올리고당	100 g
[0167]	매실농축액	2 g
[0168]	타우린	1 g
[0169]	정제수를 가하여 전체	900 ml
[0170]	통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.	
[0171]	상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.	

[0172] **[이 발명을 지원한 국가연구개발사업]**

[0173] **[과제고유번호]** no. 10524

[0174] **[부처명]** 서울시정개발연구원 부설 산학연지원센터

[0175] **[연구사업명]** 노인성 질환계 천연물 신약 클러스터조성 사업

[0176] **[연구과제명]** 천연물 소재 항우울제 KHUR-4X의 상용화

[0177] **[주관기관]** 경희대학교 산학협력단

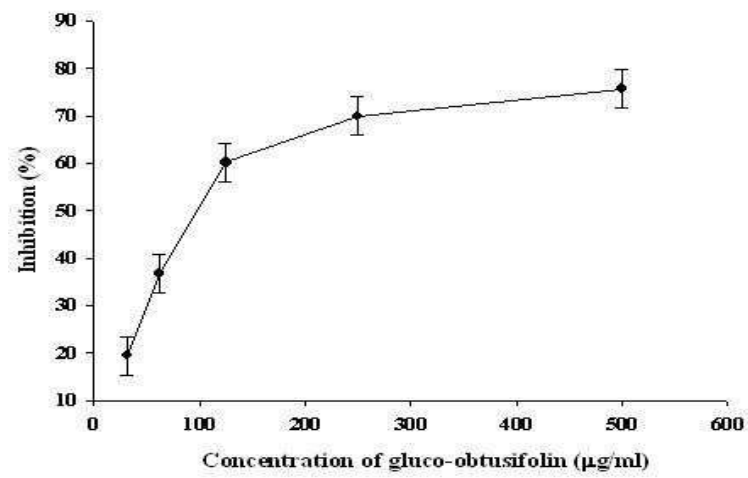
[0178] **[연구기간]** 2008년 12월 01일 ~ 2009년 11월 30일

도면의 간단한 설명

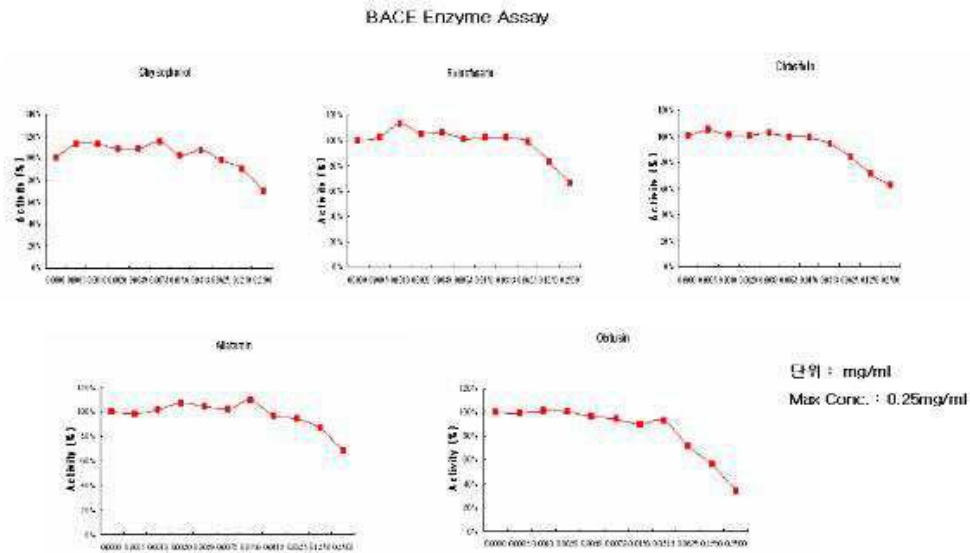
[0179]	도 1은 글루코 옴투시폴린의 농도별 아세틸콜린 에스테라아제 활성 억제 효과를 나타낸 도이고,
[0180]	도 2는 각 성분들의 베타 씨크리타아제 활성 억제 효과를 나타낸 도이며,
[0181]	도 3은 각 성분들의 수동회피실험에 대한 효과를 나타낸 도이고,
[0182]	도 4는 글루코 옴투시폴린의 수동회피실험에 대한 농도별 효능을 나타낸 도이며,
[0183]	도 5는 노어 루부로후사린 글루코시드의 수동회피실험에 대한 농도별 효능을 나타낸 도이다.

도면

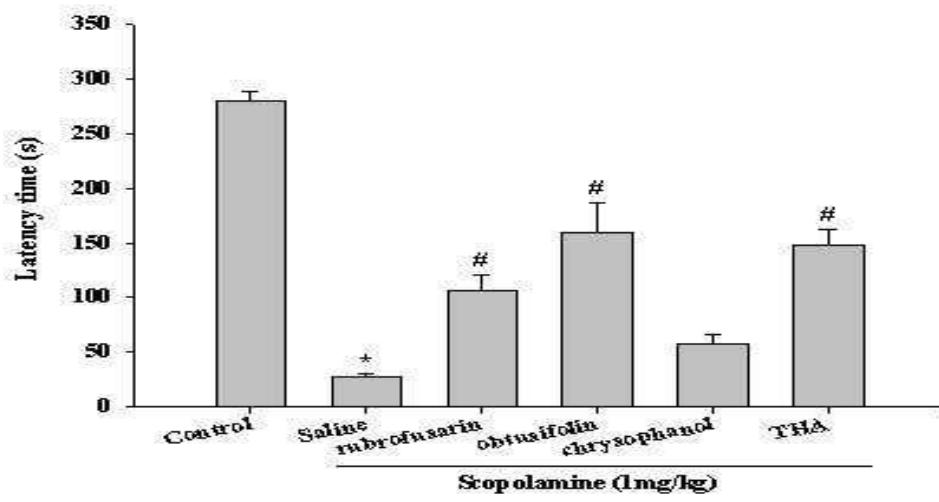
도면1



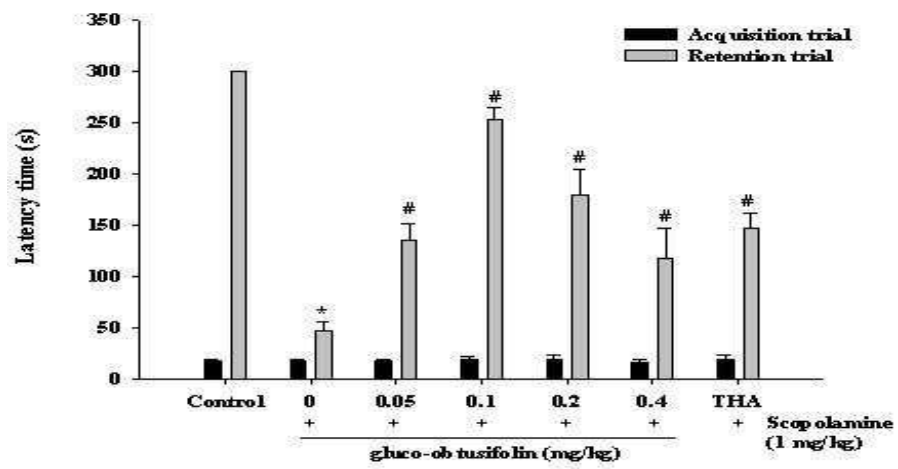
도면2



도면3



도면4



도면5

