(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0043204
(43) 공개일자 2021년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/8945 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 36/232 (2006.01) *A61K 36/65* (2006.01)
A61K 36/77 (2006.01) *A61K 36/804* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/8945 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0126084
(22) 출원일자 2019년10월11일
심사청구일자 2019년10월11일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
조성훈
서울특별시 동대문구 경희대로 23 한방병원 2층 신경정신과 외래 (회기동)
(74) 대리인
특허법인태백

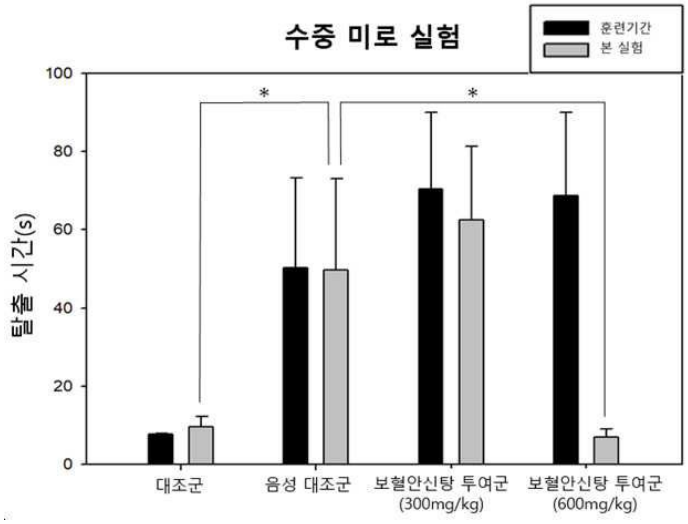
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **보혈안신탕을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 보혈안신탕을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 조성물을 포함하는 약학적 조성물과 기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61K 36/232 (2013.01)
A61K 36/65 (2013.01)
A61K 36/77 (2013.01)
A61K 36/804 (2013.01)
A61P 25/28 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

산약(*Dioscorea batatas*) 추출물 및 당귀(*Angelica gigas*) 추출물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 용안육, 작약, 숙지황, 맥문동, 복령, 산조인, 신곡, 맥아, 원지, 천궁, 황금, 오미자, 감초 및 감국으로 구성된 군에서 하나 이상 선택된 것의 추출물을 추가로 더 포함하는 것인, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 추출물은 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출된 것인, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 추출물은 냉침, 환류 및 초음파 추출로 구성된 군에서 하나 이상 선택되는 방법에 의해 추출된 것인, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸증(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군에서 하나 이상 선택된 것인, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

산약(*Dioscorea batatas*) 및 당귀(*Angelica gigas Nakai*)를 10 내지 90%의 에틸 알코올로 추출하는 단계;를 포함하는, 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

추출 단계는 용안육, 작약, 숙지황, 맥문동, 복령, 산조인, 신곡, 맥아, 원지, 천궁, 황금, 오미자, 감초 및 감국으로 구성된 군에서 하나 이상 선택된 약재를 추가로 더 포함하여 추출하는 것인, 제조방법.

청구항 10

제1항 내지 제5항중 어느 한 항의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 인간을 제외한 개체의 퇴행성 뇌질환 치

료 또는 개선 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 보혈안신탕을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 조성물을 포함하는 약학적 조성물과 기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 퇴행성 뇌질환의 종류에는 알츠하이머병, 혈관성 치매, 루이소체 치매, 전측두엽 치매, 파킨슨병 치매 등이 있다. 그 외에도 헌팅턴병 치매, 외상으로 인한 치매, 독성 물질로 유발된 치매도 퇴행성 뇌질환의 한 종류이다.

[0003] 알츠하이머병은 여러 종류의 치매 중에서 가장 많이 나타나는 치매이며 노년층에서 주로 나타난다. 기억력 손상이 알츠하이머병의 특징적인 증상이며 가장 초기부터 나타나는 증상이기도 하다. 초기에는 새로 익힌 정보를 기억을 못 하거나, 방금 전에 했던 말을 기억 못 하거나 소지품을 어디에 두었는지 기억을 못 하는 등의 형태로 증상이 나타난다. 증세가 더 심해지면 가족이나 친한 친척의 이름을 기억 못 하는 등 장기적인 기억도 손상되는 모습을 보인다.

[0004] 매년 치매 유병율은 증가하고 있어 2027년에는 치매노인이 100만 명을 넘을 것으로 예상되고 있다. 또한 치매로 인한 사망도 늘어나 2012년에는 알츠하이머형 치매가 여성 사망원인의 9위를 기록하였다. 치매 환자는 학습 및 메모리, 언어, 집행 기능, 지각-운동기능, 사회인지 등에서 인지기능 저하 증상이 나타나며, 이러한 인지 기능 손상 때문에 일상생활이 어려운 것을 특징으로 한다.

[0005] 경증 치매의 경우 기억력 저하가 두드러지게 나타나지 않아 일상생활에 큰 문제가 없는 환자들도 많지만, 중등도 이상의 치매의 경우 위생, 길 찾기 등의 일상생활에서 혼자 수행이 불가능하기 때문에 보호자의 도움을 필요로 하는 경우가 많다. 또한 공격적인 행동을 보이거나 보호자를 의심하는 증상이 나타나는 치매 환자도 있어 치매 환자의 보호자들은 스트레스가 큰 편이다.

[0006] 한의학에서는 퇴행성 뇌질환에 관한 부분을 매병(病), 치매(痴) 등에서 찾아볼 수 있다. 치매는 병인(病因)이 비교적 복잡한데 신체가 허약하고 정기(精氣)가 부족하며 기혈(氣血)이 허(虛)하여서 점차 인지기능장애가 나타나는 경우가 있고, 또한 정신적인 원인, 중독, 외상에 기인한 경우도 있다. 치매는 신지(神志)의 병변에 속하여 그 위치가 뇌(腦)에 있으나 심(心), 간(肝), 비(脾), 신(腎), 담(膽)의 장부와 연관이 있을 수도 있다고 하였다.

[0007] 보혈안신탕은 산약 및 당귀 등의 한약재로 제조하는 처방으로서, 혈허(血虛)한 사람이 음식을 먹고 싶은 생각이 없고 가슴이 두근거리고 잠을 잘 못자며 머리가 아프고 어지러우며 변비가 있고 소변을 자주 보는 것을 치료하는 처방으로 알려져 있다. 상기 보혈안신탕은 신경정신과에서 처방되고 있으며, 이를 갱년기 우울증이나 공황장애 등에 사용한 예는 보고된 바 있으나, 치매를 비롯한 퇴행성 뇌질환에 사용한 예는 찾아볼 수 없다.

[0008] 본 발명자들은 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료를 위한 천연 식물 유래의 추출물을 연구한 결과, 보혈안신탕이 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료 효과를 갖는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1341693호

비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) 한국전통지식포탈 한방용어사전 中 보혈안신탕(補血安神湯); (http://www.koreantk.com/ktkp2014/dictionary/dictionary-detail-view.view?dicCd=K0009110)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 목적은 산약(*Dioscorea batatas*) 추출물 및 당귀(*Angelica gigas Nakai*) 추출물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 상기 조성물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물과 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 식품조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법 및 이를 투여하여 퇴행성 뇌질환을 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은, 산약(*Dioscorea batatas*) 추출물 및 당귀(*Angelica gigas Nakai*) 추출물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명에서 본 발명에서 상기 "산약(*Dioscorea batatas*)"은 마과에 속한 다년생 초본인 마(*Dioscoreabatatas Decaisne*) 또는 참마(*Dioscoreajaponica Thunberg*)의 주피를 제거한 뿌리줄기(담근체)를 건조하여 사용하는 약재로, 항산화 효과, 혈당강하 효과, 콜레스테롤 저하 작용, 비만, 장 기능 개선 효과 등을 가진다는 점이 알려져 있다. 주요 성분인 메틸 프로토디오신(methyl protodioscin), 메틸 프로토네오그라실린(methyl protoneogracillin), 그라실린(gracillin), 디오신(dioscin) 등은 인간 암세포에 대한 항종양 효과, 면역조절 효과, 포스포리파제(phospholipase) A2 저해작용, 항진균성 및 세포독성의 활성, 골다공증 억제 효과 등의 효과를 가진다는 사실이 알려져 있다.

[0016] 본 발명에서 상기 "당귀(*Angelica Gigas*)"는 미나리과에 속하는 다년생 초본으로 1~2년 생근을 말하며 이의 뿌리를 건조한 것을 의미한다. 늦가을에 채취하여 수염 뿌리를 제거하고, 수분이 약간 증발할 때를 기다렸다가 천천히 연기로 훈증한다. 당귀의 유효성분으로는 쿠마린(coumarin)류의 데커신(decursin), 데커시놀(decusinol), 프탈라이드(phthalid)e류의 리구스틸라이드(ligustilide), 부틸리덴 프탈라이드(butylidene phthalide), 부틸프탈라이드(butylphthalide) 등이 있다. 뿌리에는 베르갑텐, 이소핌피넬린, 시토스테롤 등이 있는 것으로 알려져 있다.

[0017] 구체적으로, 상기 조성물은 용안육, 작약, 숙지황, 맥문동, 복령, 산조인, 신곡, 맥아, 원지, 천궁, 황금, 오미자, 감초 및 감국으로 구성된 군에서 하나 이상 선택된 것의 추출물을 추가로 더 포함하여 제조된 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로는 상기 재료를 모두 포함하여 제조된 보혈안신탕일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0018] 상기 보혈안신탕은 혈허(血虛)한 사람이 음식을 먹고 싶은 생각이 없고 가슴이 두근거리고 잠을 잘 못자며 머리가 아프고 어지러우며 변비가 있고 소변을 자주 보는 것을 치료하는 처방으로 알려져 있다. 상기 보혈안신탕은 신경정신과에서 많이 처방되고 있으며, 이를 갱년기 우울증이나 공황장애 등에 사용한 예는 보고된 바 있으나, 치매를 비롯한 퇴행성 뇌질환에 사용한 예는 찾아볼 수 없다.

[0019] 본 발명에서는 양쪽 총경동맥(bilateral common carotid arteries) 손상으로 유도된 혈관성 치매 동물 모델에게 본 발명의 보혈안신탕을 투여하는 경우, 수중미로 실험(Morris water maze test)에서 탈출에 걸리는 시간을 감소시키고(도 2), Y형 미로 실험(Y-maze test)에서 자발적 교차행동을 증가시키며(도 3), 웨스턴 블롯 분석(Western blot analy)에서 Nuen군을 증가시켜 신경들을 회복시키는 것을 확인(도 4)함으로써, 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있음을 규명하였다.

[0020] 보혈안신탕은 산약 8g, 당귀 8g, 용안육 6g, 작약 4g, 숙지황 4g, 맥문동 4g, 복령 4g, 산조인4g, 신곡 4g, 맥아 4g, 원지 3g, 천궁 3g, 황금 3g, 오미자 3g, 감초1g, 감국1g으로 구성되어 있다. 위 구성을 1첩으로 달여서 3.4포로 만들었고, 1포의 무게는 6g이다. 본 발명에서 사용된 모든 보혈안신탕은 경희의료원에서 만들어진 것을 사용하였다.

[0021] 본 발명의 일 실시예에서는 분쇄한 상태의 산약 24g, 당귀 24g, 용안육 18g, 작약 12g, 숙지황 12g, 맥문동 12g, 복령 12g, 산조인12g, 신곡 12g, 맥아 12g, 원지 9g, 천궁 9g, 황금 9g, 오미자 9g, 감초3g 및 감국3g에 5리터의 30% 에틸 알코올을 가해 잘 교반한 다음, 열을 가해 80 내지 90℃를 유지하는 추출온도에서 3시간 동안 환류 추출한 후 여액(濾液)을 분리하였다. 이후, 상기 추출물을 55~65℃에서 감압 농축한 후, 동결 건조시켜

60g의 분말을 수득함으로써 보혈안신탕 추출물을 제조하였다.

[0022] 본 발명에 있어서, 구체적으로 상기 추출물은 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출된 것일 수 있다. 더욱 구체적으로는 30 내지 80%의 에탄올 등의 탄소수 1 내지 5의 알코올 수용액일 수 있고, 가장 구체적으로는 30%의 에탄올 수용액일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0023] 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 역시 향상될 수 있다.

[0024] 구체적으로, 상기 추출물의 추출공정은 냉침, 온침, 가열, 환류 및 초음파 추출로 구성된 군에서 하나 이상 선택되는 방법을 단독 또는 혼합하여 사용할 수 있으며, 이에 제한되지 않고 필요에 따라 이를 적절히 변경하여 적용할 수 있다.

[0025] 더욱 구체적으로는 불순물을 제거한 산약, 당귀, 용안육, 작약, 숙지황, 맥문동, 복령, 산조인, 신곡, 맥아, 원지, 천궁, 황금, 오미자, 감초, 감국에 추출용매를 가하고 추출과정을 수행하는 방법으로 수행할 수 있다. 이때, 상기 추출 과정은 환류 추출법을 이용한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않고 냉침추출법, 온침추출법, 가압추출법 또는 초음파 분쇄 추출법 또한 사용할 수 있다. 또한, 상기 추출법으로 제조한 추출물 즉, 조추출액에 분획용매를 가한 후에, 예를 들어 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 순서로 가한 후에 층분리한헥산분획물, 클로로포름 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올분획물 및 물 분획물을 수득하는 방법을 수행할 수 있다.

[0026] 또한, 상기 추출물은 추출 또는 분획과정을 수행한 이후, 감압 여과 과정을 수행하거나 추가로 농축 및/또는 동결건조를 수행하여 농축하거나 용매를 제거할 수 있고, 상기 수득한 보혈안신탕은 사용 시까지 급속 냉동 냉장고(deep freezer)에 보관할 수 있다.

[0027] 본 발명에 있어, 구체적으로 상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸증(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.

[0028] 상기 “퇴행성 뇌질환(neurodegenerative disease)”은 나이가 들어감에 따라 발생하는 신경퇴행성 질환 중, 뇌에서 발생하는 질환을 의미한다. 현재까지 퇴행성 뇌질환의 발병 원인이 명확하게 규명된 것은 아니나, 뇌와 척수의 특정 뇌세포군이 서서히 기능을 상실하고, 뇌신경계의 정보전달에 핵심적인 역할을 하는 뇌신경 세포의 사멸, 뇌신경 세포 간의 정보를 전달하는 시냅스의 형성이나 기능상 문제, 뇌신경 전위의 이상적 증감 등에 의해 야기되는 것으로 알려져 있다.

[0029] 상기 퇴행성 뇌질환은 주요 증상 및 뇌의 손상 부위에 따라 구분할 수 있으며, 대표적으로 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환 또는 각종 뇌손상에서 유발된 치매를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0030] 일반적으로 “치매(dementia)”는 그 자체가 하나의 질환을 의미하는 것은 아니고, 여러가지 원인에 의한 뇌손상에 의해 기억력을 위시한 여러 인지기능의 장애가 생겨 예전 수준의 일상생활을 유지할 수 없는 상태를 의미하는 포괄적인 용어로서 사용된다.

[0031] 구체적으로, 본 발명에서 상기 “치매”는 뇌졸증(stroke), 뇌경색(cerebral infarct) 또는 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis) 등 뇌혈관 질환에 의한 직접적인 뇌조직 손상이 원인인 “혈관성 치매”를 의미하거나, 머리 외상(head trauma)에 의한 직접적 뇌손상을 이유로 하는 치매를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0032] 상기 “혈관성 치매”는 뇌혈관의 동맥경화나 뇌졸중 후 속발하는 질환으로 알츠하이머 질환 다음으로 흔한 치매의 원인 질환으로 알려져 있다. 혈관성 치매는 알츠하이머성 치매보다 보행장애, 연하 곤란, 사지 마비 등의 신경학적 이상이 많고, 고혈압, 당뇨병 등의 성인병이 같이 있는 경우도 많으므로 생활상의 주의가 더 요구되는 것으로 알려져 있다.

[0033] 상기 “알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)”은 치매를 유발하는 가장 흔한 원인 질환으로, 전체 치매 환자의 약 50-80%에서 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 알츠하이머 질환은 대뇌 피질세포의 점진적인 퇴행성 변화로 인하여 기억력과 언어 기능의 장애를 초래할 뿐 아니라 판단력과 방향 감각이 상실되고 성격도 변화되어 결

국 자신 스스로를 돌보는 능력이 상실되는 것을 특징으로 한다. 더욱 구체적으로, 초기에는 주로 최근 일에 대한 기억력에서 문제를 보이고, 병의 진행에 따라 언어기능과 판단력 등 다른 여러 인지기능의 이상을 동반하며, 결국에는 모든 일상 생활 기능을 상실하게 된다. 알츠하이머 질환은 인지기능 저하뿐만 아니라 성격변화, 초조행동, 우울증, 망상 등의 정신행동 증상이 동반되며 말기에 이르면 경직, 보행 이상 등의 신경학적 장애와 신체적인 합병증까지 나타난다.

[0034] 상기 "파킨슨 질환(Parkinson's disease)"은 도파민 신경세포의 소실로 인해 발생하는 신경계의 만성 진행성 퇴행성 질환을 의미하는 것으로, 치매 다음으로 흔한 대표적인 퇴행성 뇌질환으로 알려져 있다. 파킨슨 환자들에게서는 서동증(운동 느림), 안정 시 떨림, 근육 강직, 자세 불안정 등의 증상이 발생하고, 주로 노년층에서 발생하는 질환으로서 연령이 증가할수록 이 병에 걸릴 위험은 점점 커지는 것으로 알려져 있다.

[0035] 상기 "예방"은 동물의 병리학적 세포의 발생 또는 세포의 손상, 소실의 정도의 감소를 의미한다. 예방은 완전할 수 있으며 또는 부분적일 수도 있다. 이 경우에는 개체 내의 병리학적 세포의 발생 또는 신경세포의 사멸이나 손실 등이 상기 퇴행성 신경질환 예방 및 치료용 조성물을 사용하지 않은 경우와 비교하여 감소하는 현상을 의미할 수 있다.

[0036] 상기 "치료"는 퇴행성 신경질환의 하나 이상의 증상을 개선하거나, 증상의 진행을 저지하는 것을 의미하며, 통상적으로 사용되는 치료의 의미를 포괄할 수 있다.

[0037] 본 발명의 다른 측면은 상기 조성물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0038] 상기 약학적 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 보혈안신탕을 0.001 중량% 내지 99.9 중량%, 구체적으로는 0.1 중량% 내지 99 중량%, 더욱 구체적으로는 1중량% 내지 50 중량% 포함할 수 있다. 또한, 상기 추가성분의 함량은 구체적으로 상기 보혈안신탕 100 중량부 당 0.1 내지 20 중량부 범위에서 추가할 수 있다.

[0039] 또한, 상기 약학적 조성물은 통상적인 약학적 조성물의 조제에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0040] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 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.

[0041] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.

[0042] 상기 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 보혈안신탕 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.

[0043] 상기 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있으며, 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0044] 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 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 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이 사용될 수 있다.

[0045] 상기 보혈안신탕을 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.

[0046] 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.

[0047] 본 발명의 치료용 조성물의 바람직한 투여량은 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 본원발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 치료용 조성물은 보혈안신탕의 양을 기준으로 1일 0.0001 내지 1000㎎/㎏으로, 보다 효과적이기 위해서는 0.01 내지 100㎎/㎏으로 투여하는 것이 바람직하다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량과 투여횟수는 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0048] 본 발명의 또 다른 측면은, 상기 조성물을 포함하는, 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0049] 본 발명에서 식품이라 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 건강기능식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의도이다.

[0050] 본 발명의 식품은 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영,유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예,스넥류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예,과실,채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등)을 포함하나 이에 한정되지 않는다.상기 식품, 건강기능식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0051] 본 발명에서 건강기능식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 상기 건강기능식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 건강기능식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0052] 본 발명에서 음료란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며 건강기능음료를 포함하는 의도이다. 상기 음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 보혈안신탕을 유효성분으로 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0053] 상기의 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100㎖ 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 5 내지 12g일 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 쥬스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육을 추가로 함유할 수 있다.

[0054] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하지 않지만, 본 발명의 보혈안신탕 추출물 100 중량부 당 0 내지 20 중량부 범위에서 선택될 수 있다.

[0055] 본 발명에서 건강기능음료란 음료에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 음료의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 음료 군이나 음료 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 신체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 음료를 의미한다.

[0056] 또한, 퇴행성 뇌질환 예방 또는 개선의 효과를 목적으로 하는 식품 조성물에 있어서, 상기 보혈안신탕의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 포함할 수 있으며, 음료 조성물은 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1g의 비율로 포함할 수 있다.

[0057] 본 발명의 또 다른 측면은 산약(*Dioscorea batatas*) 및 당귀(*Angelica gigas Nakai*)를 10 내지 90%의 에틸 알코올로 추출하는 단계;를 포함하는, 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법을 제공한다.

[0058] 구체적으로, 상기 추출 단계는 용안육, 작약, 숙지황, 맥문동, 복령, 산조인, 신곡, 맥아, 원지, 천궁, 황금, 오미자, 감초 및 감국으로 구성된 군에서 하나 이상 선택된 약재를 추가로 더 포함하여 추출하는 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로는 산약 24g, 당귀 24g, 용안육 18g, 작약 12g, 숙지황 12g, 맥문동 12g, 복령 12g, 산조인12g, 신곡 12g, 맥아 12g, 원지 9g, 천궁 9g, 황금 9g, 오미자 9g, 감초3g 및 감국3g를 추출하여 제조한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않고 이를 필요에 따라 적절히 변경하여 적용 가능하다.

[0059] 본 발명의 일 실시예에서는 산약 24g, 당귀 24g, 용안육 18g, 작약 12g, 숙지황 12g, 맥문동 12g, 복령 12g, 산조인12g, 신곡 12g, 맥아 12g, 원지 9g, 천궁 9g, 황금 9g, 오미자 9g, 감초3g 및 감국3g에 5리터의 30% 에틸 알코올을 가해 잘 교반한 다음, 열을 가해 80 내지 90℃를 유지하는 추출온도에서 3시간 동안 환류 추출한 후 55~65℃에서 감압 농축 및 동결 건조시켜 60g의 보혈안신탕 추출물 분말을 수득하였다.

[0060] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 인간을 제외한 개체의 퇴행성 뇌질환 치료 또는 개선 방법을 제공한다.

[0061] 구체적으로, 상기 조성물의 투여량은 1일 0.01 내지 100mg/kg의 용량으로 할 수 있으나, 이에 제한되지 않고 필요에 따라 적절히 변경하여 적용 가능하다.

발명의 효과

[0062] 본 발명의 일 측면에 따르면, 약학적 조성물 또는 건강기능식품의 일 성분으로 천연 한약재인 보혈안신탕의 추출물을 사용함으로써 생체 안전성 및 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료 효과가 우수하다.

[0063] 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

[0064] 도 1은 대조군, 음성대조군, 보혈안신탕 저농도(300mg/kg) 투여군 및 고농도(600mg/kg) 투여군의 일반 운동 활성 실험 결과를 나타내었다.

도 2는 대조군, 음성대조군, 보혈안신탕 저농도(300mg/kg) 투여군 및 고농도(600mg/kg) 투여군의 수중 미로 탈출 실험 결과를 나타내었다.

도 3은 대조군, 음성대조군, 보혈안신탕 저농도(300mg/kg) 투여군 및 고농도(600mg/kg) 투여군의 Y형 미로 실험 결과를 나타내었다.

도 4는 대조군, 음성대조군, 보혈안신탕 저농도(300mg/kg) 투여군 및 고농도(600mg/kg) 투여군의 웨스턴 블롯 결과를 나타내었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0066] **실시예 1. 보혈안신탕 분말의 제조**

[0067] 본 발명의 보혈안신탕을 제조하기 위하여, 분쇄한 상태의 산약 24g, 당귀 24g, 용안육 18g, 작약 12g, 숙지황 12g, 맥문동 12g, 복령 12g, 산조인12g, 신곡 12g, 맥아 12g, 원지 9g, 천궁 9g, 황금 9g, 오미자 9g, 감초3g 및 감국3g에 5리터의 30% 에틸 알코올을 가해 잘 교반한 다음, 열을 가해 80 내지 90℃를 유지하는 추출온도에서 3시간 동안 환류 추출한 후 여액(濾液)을 분리하였다. 이후, 상기 추출물을 55~65℃에서 감압 농축한 후, 동결 건조시켜 60g의 분말을 수득하였다.

[0068] **실험예 1. 혈관성 치매 동물모델의 제작**

[0069] 본 발명 보혈안신탕의 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료효과를 확인하기 위하여 인위적으로 치매를 유발한 동물모델을 제작하였다.

[0070] 구체적으로, 7주령의 C57BL/6 수컷 마우스를 (주)오리엔트바이오(경기도 성남시 중원구 상대원동 143-1번지)에서 공급받아 경희의료원 동물 사육실에서 1주일 이상 사육하여 적응시켜 사용하였으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 온도(23 ± 2 ℃), 습도 (55 ± 10 %) 및 명암주기는 12시간 간격으로 자동조절 되도록 하

였다. 각 실험군당 10 내지 12 마리의 마우스를 사용하였다.

[0071] 상기 준비된 마우스의 양쪽 총경동맥(bilateral common carotid arteries)을 손상시켜 혈관성 치매 동물모델 제작하였다.

[0072] 구체적으로, 케타민과 럼푼을 이용해 마우스를 마취하였다. 양쪽 총경동맥을 노출시키기 위해서 목 중앙부위를 절개하고, 실로 2중봉합을 하였다. 20분 후, 실을 제거하고, 절개부위를 봉합하였다. 대조군(sham control)은 가짜 수술을 수행하기 위해서 중앙부위 절개만 하고 총경동맥을 20분간 2중봉합하는 과정을 생략하였다. 수술과정 동안 가열패드를 사용하였다.

[0073] **실험예 2. 일반 운동 활성 실험(Open field test)**

[0074] 본 발명의 보혈안신탕이 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료효과를 갖는지와 관련한 동물실험에 앞서, 상기 보혈안신탕이 운동 능력에 영향을 주지 않음을 확인하기 위해서 일반 운동 활성 실험(open field test)을 수행하였다.

[0075] 구체적으로, 50cm*50cm 크기의 박스 중앙에 마우스를 넣고 10분간 마우스가 움직인 거리를 Smart 프로그램을 통해서 분석하였다(도 3).

[0076] 도 1에 나타난 바와 같이, 본 실험에서 10분동안 마우스들이 움직인 총 거리는 대조군(Sham Control)에서 3906.66±251.29cm, 음성 대조군(Negative Control)은 3785.96±146.59cm, 보혈안신탕(300mg/kg) 투여군은 4192.61±193.95cm, 보혈안신탕(600mg/kg) 투여군은 4725.01±761.01cm였고, 각 그룹 간에 유의미한 차이는 없는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 통해 상기 동물모델의 치매 유발여부 또는 보혈안신탕 투여여부와 관계없이 각 그룹 사이에 운동능력의 차이가 없음을 확인하였다.

[0077] **실험예 3. 수중 미로 실험(Morris water maze test)**

[0078] 본 발명의 보혈안신탕을 투여한 동물모델을 대상으로 공간 기억력과 인지기능 회복여부를 확인하기 위하여 수중 미로 실험을 수행하였다.

[0079] 구체적으로, 170cm 지름의 실린지를 무해한 흰색 가루를 섞은 물로 채워 불투명하게 만들었다. 기기를 4등분하고 한 사분면의 중앙에 탈출 플랫폼을 설치하였다. 플랫폼은 동물에게는 보이지 않게 설치하였고, 훈련기간 동안 그 자리에 그대로 두어 플랫폼의 위치를 찾기 위해서 주변 환경을 기억해야 하는 환경을 조성하였다. 마우스를 한 사분면에 놓고 상기 탈출 플랫폼을 찾을 때까지 수영을 하게 한 후, 탈출에 걸리는 시간을 측정하고 도 2에 나타내었다.

[0080] 그 결과 도 2에 나타난 바와 같이, 수중 미로 실험에서 마우스들이 탈출에 걸린 시간은 대조군(Sham Control)에서 9.67±2.60초, 혈관성 치매는 유발하되 보혈안신탕을 투여하지 않은 음성 대조군(Negative Control)은 49.75±23.24초, 보혈안신탕(300mg/kg) 투여군은 62.50±18.87초, 보혈안신탕(600mg/kg) 투여군은 7.00±2.12초를 나타내었다.

[0081] 대조군과 음성 대조군의 수중 미로 탈출 시간 사이에 유의미한 차이가 있었고, 음성 대조군과 보혈안신탕(600mg/kg) 투여군 사이에 유의미한 차이가 존재하는 것을 확인하였다.

[0082] 이러한 결과는 상기 실험예 1에서 실시한 총경동맥 손상에 의해 마우스의 인지력이 떨어졌다는 것을 의미하고, 보혈안신탕 복용후 떨어졌던 인지력이 어느정도 회복되었다는 것을 의미한다.

[0083] **실험예 4. Y형 미로(Y-maze) 실험**

[0084] 본 발명의 보혈안신탕을 투여한 동물모델을 대상으로 공간 기억력과 인지기능의 회복여부를 확인하기 위하여 Y형 미로 실험을 실시하였다.

[0085] Y형 미로 실험은 자유선택 탐험 기전을 바탕으로 인지과정을 연구하기 위해서 발달되어 왔으며, 구체적으로 Y형 미로는 3개의 수평으로 된 미로가(길이 40cm, 너비 3cm, 높이 12cm) 있으며, 서로 120° 의 각도로 대칭적으로 배치하였다. 미로의 바닥과 벽은 하얀색 플라스틱으로 만들었다. Y자 모양의 미로에서 3개의 각지를 각각 A, B, C로 정한 후 한쪽 가지에 마우스를 놓고 10분간 자유롭게 움직이게 한 후 마우스가 들어간 가지를 기록하였다. 꼬리까지 완전히 들어갔을 경우를 기록하였으며 한번 들어갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 세 개의 다른 가지에 차례로 들어간 경우 1점씩 부여하였고 연속으로 들어가지 않으면 점수를 부여하지 않았다. 교차행동력(spontaneous alteration)은 아래 식과 같이 측정된 점수를 전체 미로 출입 횟수에서 2를 뺀 수로 나누어 확률로 환산한 값으로 계산하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0086] 교차 행동력=[A, B, C 연속 교차 횟수/(전체 미로 출입 횟수-2)]*100

[0087] 도 3에 나타난 바와 같이, Y형 미로 실험에서 10분동안 마우스들의 자발적 교차행동력은 대조군(Sham Control)에서 74.78±7.38%, 음성 대조군(Negative Control)은 60.52±7.79%, 보혈안신탕(300mg/kg) 투여군은 58.38±6.25%, 보혈안신탕(600mg/kg) 투여군은 78.51±4.92%로 나타났다.

[0088] 즉, 음성대조군과 보혈안신탕(600mg/kg) 투여군 사이에 유의미한 교차 행동력 차이가 존재함을 확인하였고, 이로부터 보혈안신탕 고농도 투여군의 인지력이 회복된 것을 확인하였다.

[0089] **실험예 5. 웨스턴 블롯 분석(Western blot analysis) 실험**

[0090] 본 발명의 보혈안신탕을 투여한 동물모델이 운동실험 뿐 아니라 실제 신경세포의 회복효과가 있는지를 확인하기 위하여 웨스턴 블롯 실험을 실시하였다.

[0091] 구체적으로, 상기 웨스턴 블롯 실험을 위하여 50 mM의 Tris-HCl(pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, 1mM의 페닐메틸설포닐 플루오라이드(phenylmethylsulfonyl fluoride) 및 프로테아제 저해제 칵테일(protease inhibitor cocktail)을 혼합한 용해완충액에 각 실험군(대조군, 음성대조군, 보혈안신탕 300mg/kg 및 600mg/kg 투여군)으로부터 수득한 해마를 균질화하고, 4° C에서 15분간 18,000×g로 원심분리한 다음 상층액만을 분리하였다.

[0092] 상기 상층액으로부터 수득한 단백질을 정량하여 같은 양을 12%의 SDS-PAGE 겔에서 전기영동하고, 니트로셀룰로오스막(nitrocellulose membrane)으로 옮겼다.

[0093] 이를 뉴런의 항체로 알려진 Neun 항체로 처리하여 반응시킨 후 웨스턴 블롯을 수행하고 스마트 프로그램을 사용해서 밀도 측정 분석을 수행한 결과를 도 4에 나타내었다.

[0094] 도 4에 나타난 바와 같이, Nuen 밴드는 대조군에서보다 음성 대조군에서 더 농도가 진하게 검출되었다. 또한 보혈안신탕 복용군이 음성 대조군보다 더 농도가 진하게 검출되었으며, 고용량군이 저용량군보다 더 농도가 진하게 검출되었다.

[0095] 즉, 대조군보다 음성 대조군에서 Nuen의 농도가 더 높게 검출된 것은 실험예 1의 양쪽 총경동맥 손상 시술을 하면서 미성숙한 신경들이 많아졌기 때문인 것으로 판단되며, 보혈안신탕 복용군이 음성 대조군보다 Nuen의 농도가 더 높은 것은 보혈안신탕의 농도 의존적으로 신경의 회복효과가 나타나기 때문인 것으로 판단된다.

[0096] 상기 실험예 2 내지 5에 나타난 바와 같이, 본 발명의 보혈안신탕은 수중미로 실험(Morris water maze test)에서 탈출에 걸리는 시간을 감소시키고, Y형 미로 실험(Y-maze test)에서 자발적 교차행동을 증가시켰으며, 웨스턴 블롯 분석(Western blot analysis)에서 Nuen군을 증가시켜 신경들을 회복시킨 것을 확인하였다.

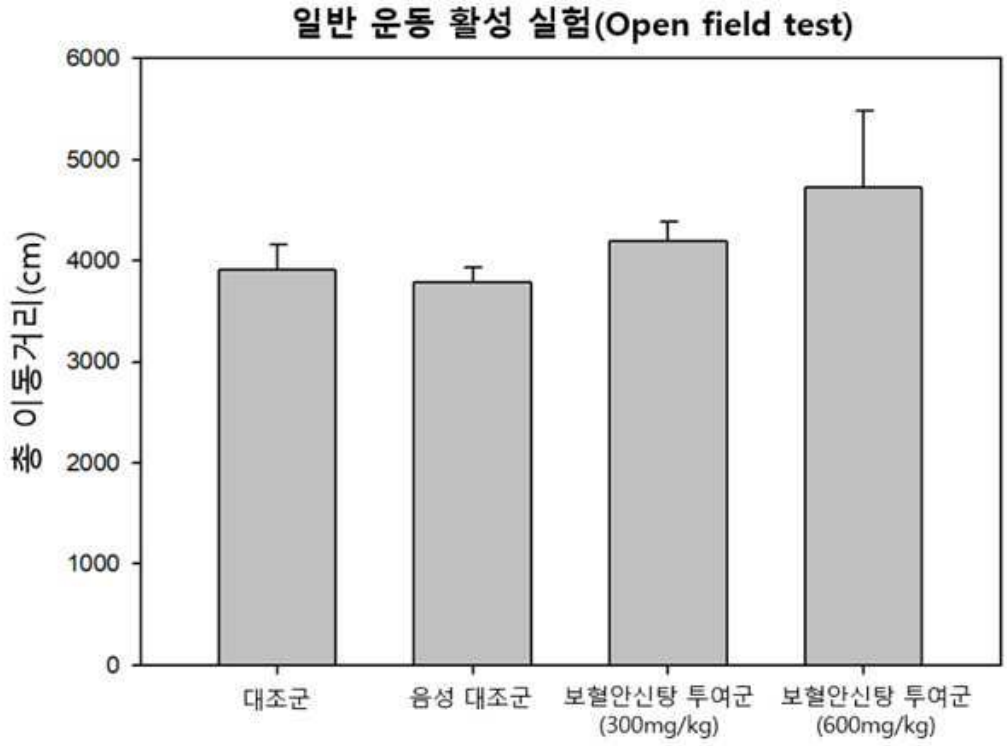
[0097] 따라서 상기한 결과를 종합할 때, 본 발명의 보혈안신탕은 퇴행성 뇌질환, 특히 혈관성 치매에 의한 인지능력 회복효과를 보이는 바, 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료 효과를 가지는 것을 확인하였다.

[0098] 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.

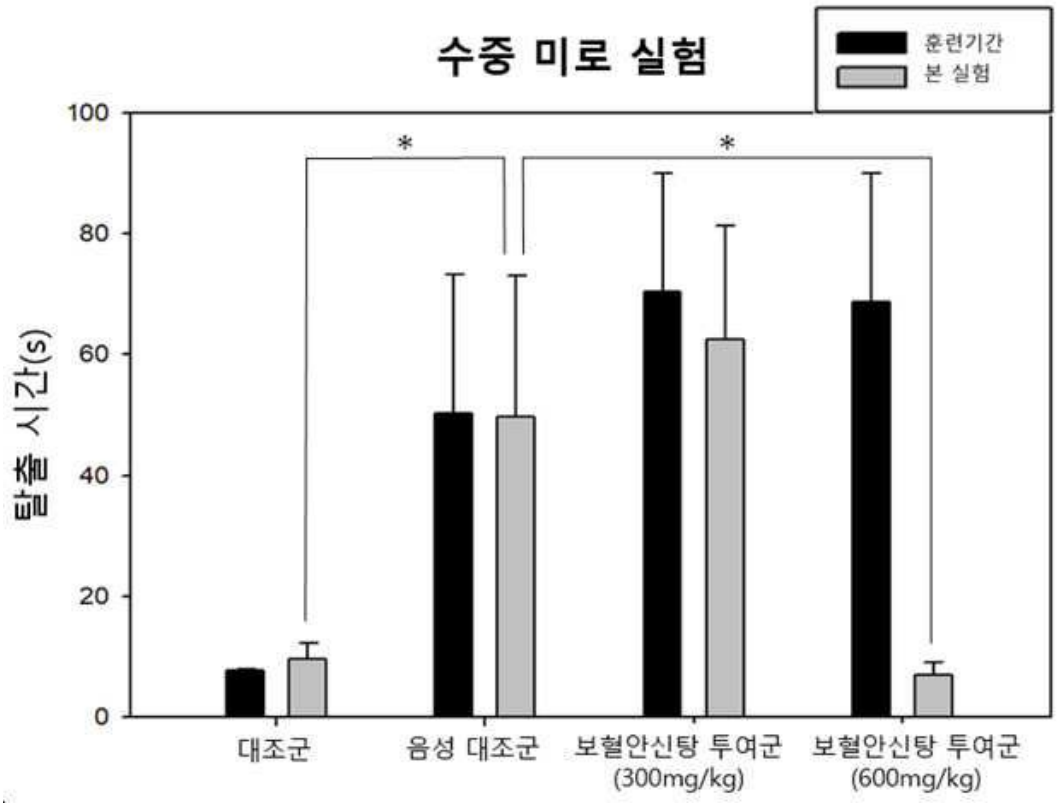
[0099] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

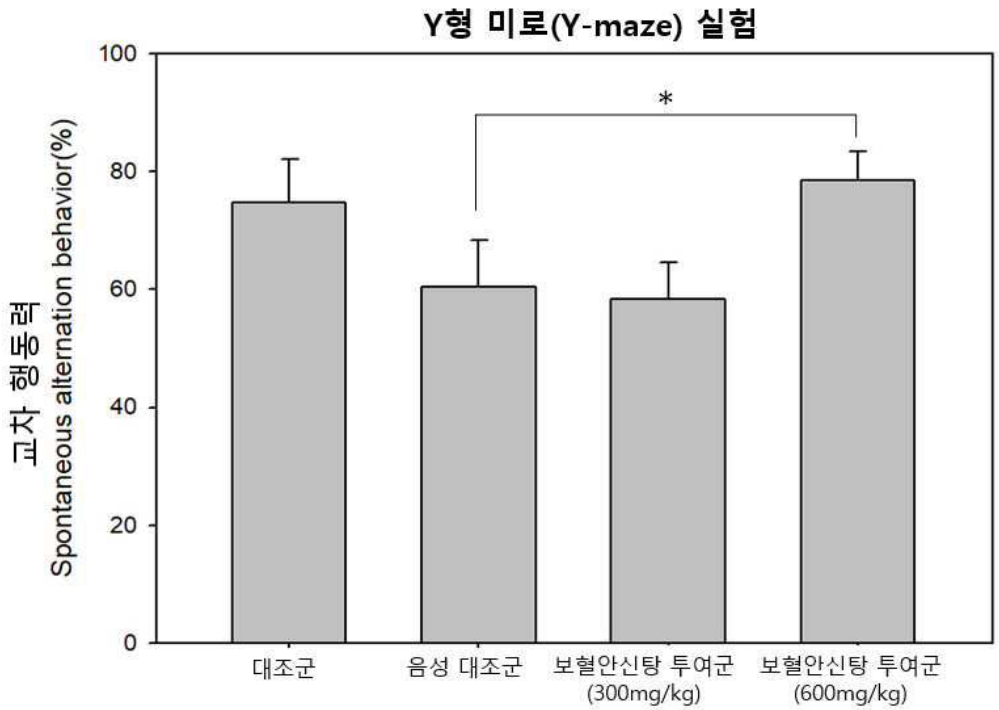
도면1


일반 운동 활성 실험(Open field test)
총 이동거리(cm)
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
대조군
음성 대조군
보혈안신탕 투여군 (300mg/kg)
보혈안신탕 투여군 (600mg/kg)

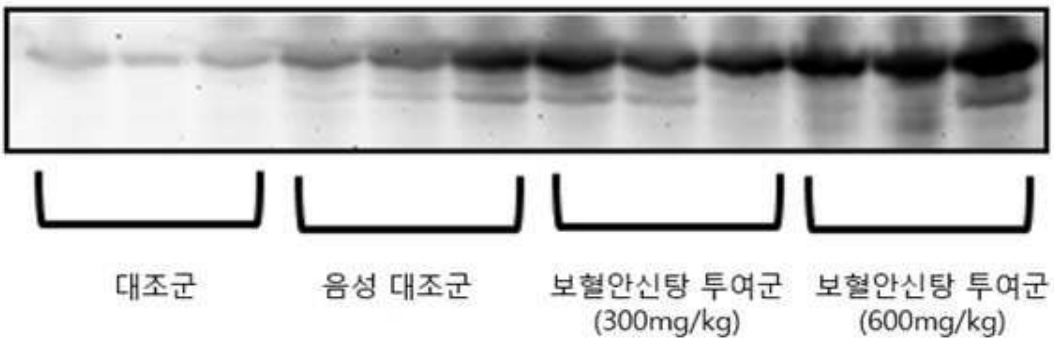
도면2


수중 미로 실험
훈련기간
본 실험
탈출 시간(s)
100
80
60
40
20
0
*
*
대조군
음성 대조군
보혈안신탕 투여군 (300mg/kg)
보혈안신탕 투여군 (600mg/kg)

도면3


Y형 미로(Y-maze) 실험
교차 행동력
Spontaneous alternation behavior(%)
100
80
60
40
20
0
*
대조군
음성 대조군
보혈안신탕 투여군
(300mg/kg)
보혈안신탕 투여군
(600mg/kg)

도면4


대조군
음성 대조군
보혈안신탕 투여군
(300mg/kg)
보혈안신탕 투여군
(600mg/kg)