

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014년 10월 30일 (30.10.2014)



(10) 국제공개번호
WO 2014/175518 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 36/185 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61D 7/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/008702
- (22) 국제출원일: 2013년 9월 27일 (27.09.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2013-0044943 2013년 4월 23일 (23.04.2013) KR
10-2013-0044944 2013년 4월 23일 (23.04.2013) KR
- (71) 출원인: 한국식품연구원 (KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE) [KR/KR]; 463-746 경기도 성남시 분당구 안양판교로 1201 번길 62, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 김윤태 (KIM, Yun-Tai); 448-971 경기도 용인시 수지구 현암로 125 번길 11, 새터마을 현대힐스테이트 715 동 304 호, Gyeonggi-do (KR). 한대석 (HAN, Daeseok); 463-953 경기도 성남시 분당구 판교로 20, 판교원마을 대우푸르지오아파트 304 동 1602 호, Gyeonggi-do (KR). 김재구 (KIM, Jae-Goo); 446-773 경기도 용인시 기흥구 중부대로 735, 대우아파트 104 동

1403 호, Gyeonggi-do (KR). 이창호 (LEE, Chang-Ho); 448-783 경기도 용인시 수지구 수지로 342 번길 18, 현대아파트 105 동 104 호, Gyeonggi-do (KR). 김인호 (KIM, In-Ho); 463-728 경기도 성남시 분당구 내정로 152 파크타운 롯데아파트 137 동 1402 호, Gyeonggi-do (KR). 조승목 (CHO, Sueng-Mock); 448-739 경기도 용인시 수지구 성북 1로 163 번길 11, 경남아너스빌 102 동 1801 호, Gyeonggi-do (KR).

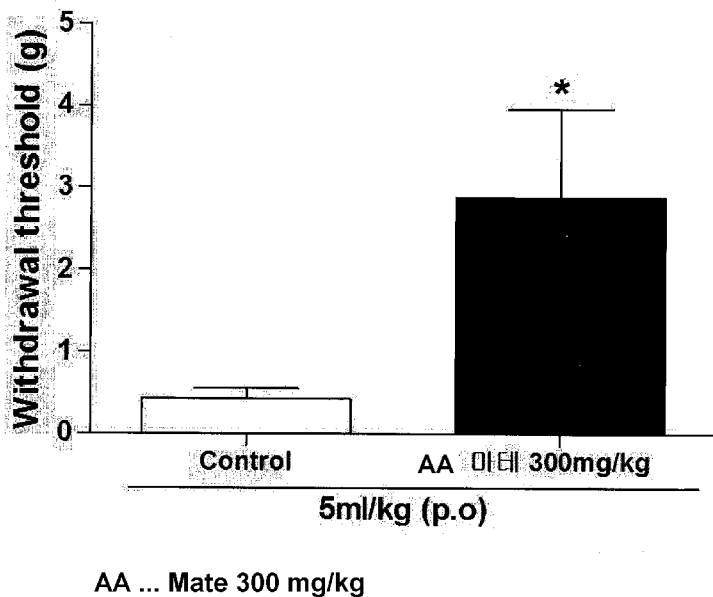
(74) 대리인: 양부현 (YANG, Boo-Hyun); 151-832 서울시 관악구 인현동 1659-2, 청동빌딩 301 호, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR RELIEVING, PREVENTING, OR TREATING PAIN CONTAINING MATE EXTRACT AS ACTIVE INGREDIENT, AND METHOD FOR EVALUATING PAIN RELIEF, PREVENTION, OR TREATMENT EFFICACY OF SAMPLE

(54) 발명의 명칭: 마테 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물 및 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법



AA ... Mate 300 mg/kg

(57) Abstract: The present invention provides a composition for relieving, preventing, or treating pain containing a mate extract as an active ingredient. The composition of the present invention has effects of relieving and treating pain that has occurred, and exhibits an effect of preventing pain when being administered to a subject before the pain occurs. The composition of the present invention exhibits a remarkable pain relief effect even through oral administration as well as through intravenous injection, application to skin, or the like. The composition of the present invention having these features is highly applicable to a food. The present invention provides a method for evaluating pain relief, prevention, or treatment efficacy of a sample. The use of the present invention can accurately measure the number of times of occurrence or the duration time of ultrasonic vocalization generated from an experimental animal on pain response and express the measurement results as objective numerical values, so that the present invention is very useful in evaluating pain relief, prevention, or treatment efficacy of the sample, and is capable of minimizing errors of the prior art resulting from individual differences among experimenters and subjective judgments in the measurement of the pain response.

ments in the measurement of the pain response.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2014/175518 A1



(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 마테 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 기 발생된 통증에 대해 완화 및 치료 효과를 가질 뿐 아니라 통증이 발생하기 이전에 대상에 투여하면 통증을 예방하는 효과를 나타낸다. 본 발명의 조성물은 정맥주사 또는 피부 도포 등의 방법이 아닌 경구 투여를 통해서도 현저한 통증 완화 효과를 나타내며, 이러한 특징을 갖는 본 발명의 조성물은 식품에 적용 가능성이 높다. 본 발명은 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법을 제공한다. 본 발명을 이용하면 실험 동물로부터 통증 반응 시 발생하는 초음파 음력대의 발생 횟수 또는 지속 시간을 정확하게 측정하여 객관적인 수치로 표현할 수 있어 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능을 평가하는데 매우 유용하며, 통증 반응의 측정에 있어서 종래의 방법이 갖는 실험자의 개별적 차이, 주관적 판단에 대한 오류를 최소화할 수 있다.

【명세서】

【발명의 명칭】

5 마테 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물 및 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법

【기술분야】

10 본 발명은 마테 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물 및 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법에 관한 것이다.

【관련 특허출원】

15 본 특허출원은 2013년 4월 23일에 대한민국 특허청에 제출된 대한민국 특허출원 제10-2013-0044943호 및 대한민국 특허출원 제10-2013-0044944호에 대하여 우선권을 주장하며, 상기 특허출원의 개시 사항은 본 명세서에 참조로서 삽입된다.

【배경기술】

20 현재, 진통제로는 아스피린이나 타이레놀 등의 소염진통제가 주류를 이루며, 심한 통증의 경우 모르핀 약물들이 대부분 사용되고 있다. 최근 새로운 통증 억제제를 개발하고 있는데, 통증 치료제 전문 개발사인 자벨린 파마슈티컬스(Javelin Pharmaceuticals)는 중증 수술 후 통증의 치료에 정맥주사 모르핀과 대등한 진통효과를 나타내는 뿌리는 마약성 진통제인 비강 내 모르핀 분무제 ‘릴로민’ (Rylomine)을 개발하였다. 또한, 25 아일랜드 제약회사인 이랜(Elan)이 바다 달팽이독으로부터 개발한 진통제 ‘프라이얼트(Prialt)’가 영국에서 첫 시판되었다.

30 만성 악성 종양성 통증은 물론 사회가 고령화됨에 따라 퇴행성 관절염, 요통 관련 질환 환자는 매년 증가 추세에 있으나 모르핀과 같은 기존의 아편제제는 일반인에게 마약작용으로 인하여 사용에 제한이 있어 통증완화제의 수요는 향후 훨씬 더 늘 것으로 예상된다. 또한, 기존의 진통제에 반응하지 않는 통증에 대한 진통제 개발이 크게 요구되고 있고,

진통효과가 상대적으로 큰 것으로 알려진 기존의 아편유사제제 등의 마약성 및 심각한 부작용들로 인해 일반 환자가 편하게 사용할 수 없는 실정이므로 부작용이 없고 진통억제 효능을 갖는 천연자원의 개발이 필요하다.

5 마테(*Ilex paraguariensis*, mate)는 감탕나무과의 상록 소교목으로 감탕나무과에 속하는 높이 6 m 정도의 식물로 남아메리카의 파라과이나 브라질 지역에 분포한다. 야생 상태에서는 본래 윗부분이 둥근 형태를 하고 있지만 재배할 경우에는 그 형태가 변형되어 줄기가 많은 관목이 되고 야생 상태보다 양질의 차잎을 재배할 수 있게 되며, 추수는 2 년에 1 번씩 한다. 마테의 꽃은 작고 잎겨드랑이에 달리며 4 수이며 녹색이고, 열매는 10 적색 또는 적갈색이고 둥글며 지름 6 mm 정도이다. 마테의 잎은 이미 수천년 전부터 남미 사람들의 음료로 애용되고 있으며, 차나무과(*Thea sinensis* L.)인 녹차와 비슷한 향을 갖는 차(tea)의 원료이다(Wikipedia, 2011). 잎에는 카페인 성분이 함유되어 있고(2% 내외) 향기가 좋으며, 잎은 따로 추수하고 말려서 물에 우려낸 차로 음용된다.

15 마테는 칼슘과 철분 등 무기질이 많은 토양에서 자라기 때문에 철분 칼슘 마그네슘 등의 무기질이 많이 포함되어 있으며, 특히 철 함유량이 매우 높고, 녹차의 5 배에 달하는 철 함유량을 가진다. 특히나 다른 차에는 철의 흡수를 방해하는 탄닌 성분이 들어있는데 반해 마테에는 탄닌이 거의 들어 있지 않다. 마테차는 마테의 잎을 말려서 부수어 만든 것으로서, 트리테르펜, 카페인 및 카페인-유사 화합물을 함유한다. 20 마테차는 변비, 비만, 어깨 결림, 두통 등의 치료에 효과가 있다고 알려져 있으며, 이러한 마테의 약학 활성은 카페오일퀸산 및 카페인-유사 폴리페놀에 기인한다. 마테의 주요성분은 주로 클로로젠산, 루틴, 케르세틴 등과 같은 플라본이드 성분이 다량 함유되어 있고(SONIA CHANDRA et al., 2004), 항산화 및 항염증 작용, 혈관 이완 및 혈중 지질 억제 작용, 25 항암 작용, 혈당강하 작용, 체중 감소 효능 등과 같은 다양한 약리 효능이 알려져 있다(Bracesco et al., 2011).

마테에 대한 종래 연구들은 크산틴(xanthine), 카페오일 유도체(caffeoylerivative), 플라보노이드(flavonoid) 및 트리테르페노이드 사포닌(triterpenoid saponin)과 같은 많은 생활성의 화합물의 존재를 30 발견하였다. 예르바 마테(*Yerba mate, ilex paraguariensis*)는 항산화 및

세포 보호작용(Filip et al., 2000; Gugliucci and Stahl, 1995), 항비만 및 발열작용(Martinet et al., 1999), 순환계 작용 및 콜레스테롤 저하효과(Gorgen et al., 2005) 및 담즙 촉진 작용(Gorzalczany et al., 2001) 등과 같은 다양한 생물학적 활성이 알려져 있다.

5 실험동물의 통증 정도를 측정하는 방법에는 주로 기계적 이질통 평가(von frey filament test), 체중부하검사(Weight bearing test) 등이 이용되고 있다. 이러한 종래의 테스트 방법들은 실험자의 주관적인 판단에 의존하고 있기 때문에 많은 경우 실험의 정확성이 저하되는 문제점이 발생한다. 따라서, 주의 깊은 블라인드 테스트(Blind test)가
10 요구된다. 또한, 종래의 테스트방법은 실험자가 팔을 이용하여 장시간동안 반복적으로 실험하여야 하므로 노동집약적이며 테스트시간이 많이 소요되어 양질의 테스트데이터를 얻기 힘든 문제점이 있었다. 따라서, 실험동물에서 통증 반응을 정확하게 측정할 수 있는 쉽고 객관적인 기술이 요구되고 있다.

15 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

20 **【발명의 내용】**

【해결하고자 하는 과제】

본 발명자들은 통증을 효과적으로 완화할 수 있는 인체에 안전한 물질, 특히 식물-유래 물질을 개발하고자 예의 연구 노력하였고, 그 결과
25 종래에 차의 원료로 사용되고 있는 마테가 통증을 완화, 예방 또는 치료하는데 매우 유효하다는 것을 규명하였다.

또한, 본 발명자들은 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능을 평가할 수 있는 방법을 개발하고자 예의 연구 노력하였고, 그 결과, 통증이 유발된 동물에 분석하고자 하는 시료를 투여한 다음, 동물로부터 발생하는
30 22-27 kHz의 초음파를 측정하면 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능을 평가하는데 매우 유효하다는 것을 규명함으로써, 본 발명을 완성하였다.

따라서 본 발명의 목적은 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

본 발명의 다른 목적은 통증의 완화, 예방 또는 치료용 식품 조성물 및 약제학적 조성물을 제공하는데 있다.

5 본 발명의 또 다른 목적은 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법을 제공하는데 있다.

본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명 및 청구범위에 의해 보다 명확하게 된다.

10 **【과제 해결 수단】**

본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 마테(*Ilex paraguayensis*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

15 본 발명자들은 통증을 효과적으로 완화할 수 있는 인체에 안전한 물질, 특히 식물-유래 물질을 개발하고자 예의 연구 노력하였고, 그 결과 종래에 차의 원료로 사용되고 있는 마테가 통증을 완화, 예방 또는 치료하는데 매우 유효하다는 것을 규명하였다.

본 발명의 조성물은 통증의 완화, 예방 또는 치료에 매우 효과적으로 작용한다.

20 하기의 실시예에서 입증된 바와 같이, 피부 절개 수술에 앞서 본 발명의 조성물을 동물에 투여한 경우, 수술 부위의 통증 민감도가 감소하였으며 신경 분지 결찰 손상을 입은 동물에 본 발명의 조성물을 투여한 경우, 통증 민감도가 감소하였다.

25 본 발명의 조성물은 정맥주사 또는 피부 도포 등의 방법이 아닌 경구 투여를 통해서도 현저한 통증 완화 효과를 나타낸다. 이러한 특징을 갖는 본 발명의 조성물은 식품에 잘 적용될 수 있다.

본 발명의 조성물은 기 발생된 통증에 대해 완화 및 치료 효과를 가질 뿐 아니라 통증이 발생하기 이전에 대상에 투여하면 통증을 예방하는 효과를 나타낸다.

본 발명의 조성물에서 유효성분으로 이용되는 마테(*Ilex paraguayensis*)는 감탕나무과의 상록 소교목으로 감탕나무과에 속하는 식물이다.

본 발명의 조성물에서 이용되는 마테 추출물을 마테에 추출용매를
5 처리하여 수득하는 경우에는, 다양한 추출용매가 이용될 수 있다. 본 발명에 따르면, 극성 용매 또는 비극성 용매를 이용할 수 있다. 극성 용매로서 적합한 것은, (i) 물, (ii) 알코올(바람직하게는, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올, 노말-부탄올, 1-펜탄올, 2-부톡시에탄올 또는 에틸렌글리콜), (iii) 아세트산, (iv) DMFO(dimethyl-
10 formamide) 및 (v) DMSO(dimethyl sulfoxide)를 포함한다. 비극성 용매로서 적합한 것은, 아세톤, 아세토나이트릴, 에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 플루오로알칸, 펜탄, 헥산, 2,2,4-트리메틸펜탄, 데칸, 사이클로헥산, 사이클로펜탄, 디이소부틸렌, 1-펜텐, 1-클로로부탄, 1-클로로펜탄, o-자일렌, 디이소프로필 에테르, 2-클로로프로판, 톨루엔, 1-
15 클로로프로판, 클로로벤젠, 벤젠, 디에틸 에테르, 디에틸 설파이드, 클로로포름, 디클로로메탄, 1,2-디클로로에탄, 어닐린, 디에틸아민, 에테르, 사염화탄소 및 THF 를 포함한다.

본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명에서 이용되는 추출용매는 (a) 물, (b) 탄소수 1-4 의 무수 또는 함수 저급 알코올(메탄올, 에탄올,
20 프로판올, 부탄올 등), (c) 상기 저급 알코올과 물과의 혼합용매, (d) 아세톤, (e) 에틸 아세테이트, (f) 클로로포름, (g) 부틸아세테이트, (h) 1,3-부틸렌글리콜, (i) 헥산 및 (j) 디에틸에테르를 포함한다. 본 발명의 다른 구현예에, 본 발명에서 이용되는 추출용매는 물, 에탄올 또는 이의 조합이다. 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 본 발명에서 이용되는
25 추출용매는 40-80 vol% 주정(grain alcohol)이다.

본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 마테 추출물은 마테잎에 주정을 가하여 추출한 다음, 여과하여 감압 농축 한 후 동결건조하여 수득한다.

본 발명에서 이용되는 마테 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는
30 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

본 명세서에서 사용되는 용어 ‘추출물’은 상술한 바와 같이 당업계에서 조추출물(crude extract)로 통용되는 의미를 갖지만, 광의적으로는 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉, 마테 추출물은 상술한 추출용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것도 포함한다. 예컨대, 상기 추출물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피 (크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 마테 추출물에 포함되는 것이다.

본 명세서에서 용어 ‘유효성분으로 포함하는’이란 하기의 마테 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 본 발명은 조성물은 천연식물재료인 마테로부터 수득한 추출물을 포함하는 것으로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 마테 추출물이 본 발명의 조성물에 포함된 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

본 발명에서 용어 “통증(pain)”은 넓은 의미로 사용되며, 통각수용성 통증과 같은 급성 및 만성 통증, 예컨대 체성 통증(somatic pain) 및 내장성 통증(visceral pain); 염증성 통증, 기능장애 통증, 특발성 통증, 표면성 통증(superficial pain), 심부 통증(deep pain), 가려움, 신경병증성 통증, 예컨대, 중추발생성 통증(centrally generated pain) 및 말초발생성 통증(peripherally generated pain), 편두통 및 암 통증을 포함하는 모든 타입의 통증을 의미한다.

상기 용어 “통각수용성 통증(nociceptive pain)”은 신체 조직들을 손상시킬 우려가 있거나 또는 실제로 손상시키는 유해한 자극에 의해 유발되는 모든 통증을 포함하는데 사용되며, 벤 상처(cut), 타박상(bruise), 골절(bone fracture), 압제손상(crush injury), 화상(burn) 및 이와 유사한 상처에 의한 통증을 제한 없이 포함한다. 조직 손상에 대한 통증 수용체(통각수용기, nociceptors)는 대부분 피부, 근골격계 또는 내부장기(internal organs)에 위치하고 있다.

상기 용어 “체성 통증(somatic pain)”은 뼈, 관절, 근육, 피부 또는 결합조직(connective tissue)에서 일어나는 통증을 나타내는데 사용된다. 이러한 타입의 통증은 전형적으로 매우 국부적이다.

상기 용어 “내장성 통증(visceral pain)”은 본 명세서에서
 5 호흡기(respiratory), 위장기관(gastrointestinal tract) 및 췌장(pancreas)과 같은 내장장기들, 요로(urinary tract) 및 생식기관(reproductive organs)에서 일어나는 통증을 나타내는데 사용된다. 내장성 통증은 장기피막(organ capsule)의 중앙 침범(tumor involvement)에 의해 유도되는 통증을 포함한다. 다른 타입의 내장성 통증은 전형적으로
 10 유강장기(hollow viscus)의 폐색에 의해 유발되며, 간헐적 경련(intermittent cramping) 및 심한 국부 통증이 특징이다. 내장성 통증은 방광염(cystitis) 또는 역류성 식도염(reflux esophagitis)의 경우에서와 같이 염증과 관련될 수 있다.

상기 용어 “염증성 통증”은 외상(trauma), 외과수술, 감염 및
 15 자가면역 질환 등에 의해 유발될 수 있는 활동성 염증(active inflammation)과 관련이 있는 통증을 포함한다.

상기 용어 “표면성 통증(superficial pain)”은 배근(dorsal root)의 신경이 분포된 피부 분절에 따라 느껴지는 통증을 말하며, 자극을 느낀 지점에서 통증을 느끼는 직접적인 통증이다.

상기 용어 “심부통증(deep pain)”은 심부 기관에서 유래되는
 20 통증으로 조직의 성격에 따라 통증의 특징과 정도가 다르다. 통각이 특히 예민한 부분은 건(tendon), 심부근만, 인대, 관절, 골막, 혈관 및 신경이다. 일반적으로 심부통증은 감각이 둔하고 주위로 퍼지며 느껴지는 부위가 넓다. 심부나 내장 등의 통증은 그 기전이 복잡하여 표면성 통증보다 통증의
 25 위치를 찾기 어렵고, 오심, 발한, 혈압 상승 등의 문제도 함께 나타난다.

상기 용어 “신경병증성 통증(neuropathic pain)”은 본 명세서에서 말초 또는 중추신경계의 장애의 결과로 생기는 말초 또는 중추신경계에 의한 비정상적 과정(abnormal processing)의 감각 입력에서 비롯된 통증을 나타내는데 사용된다.

상기 용어 “시술 통증(procedural pain)” 은 내과, 치과 또는 외과 시술에서 일어나는 통증을 나타내며 상기 시술은 보통 예정되어 있거나 또는 급성 외상과 관련되어 있다.

상기 용어 “가려움(itch)” 은 본 명세서에서 넓은 의미로 사용되며, 국부에 제한하여 일반적으로 설명될 수 있는 급성 간헐성 및 지속성의, 모든 타입의 가렵고 찌르는 듯한 감각들을 의미한다. 상기 가려움은 특발성, 알려지성, 대사성, 감염성, 약물-유도성, 간, 신장 질환에 기인하거나 또는 암에 의한 것일 수 있다. “소양증(Pruritus)” 은 중증 가려움증(severe itching)이다.

“환자” 라 함은 임의의 동물을 의미한다. 본 발명의 일 구현예에서, 상기 환자는 인간이다. 본 발명의 조성물을 이용하여 치료될 수 있는 다른 동물들은 비-인간 영장류들(예컨대, 원숭이, 고릴라, 침팬지), 가축(예컨대, 말, 돼지, 염소, 토끼, 양, 소, 라마), 및 반려동물(예컨대, 기니피그, 래트(rats), 마우스(mice), 도마뱀, 뱀, 개, 고양이, 관상어, 햄스터 및 새)을 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

신경병증성(Neuropathic), 염증성(inflammatory) 및 통각수용성(nociceptive) 통증은 병인학(etiology), 병리생리학(pathophysiology), 진단 및 처치에 있어서 차이가 있다. 통각수용성 통증은 말초감각신경(peripheral sensory neurons)의 특이적 부분(specific subset), 즉 강렬한 또는 유해한 자극에 의해 통각수용기들의 활성화에 반응하여 일어난다. 통각수용성 통증은 일반적으로 민감하고, 자기제한적(self-limiting)이며 잠재적 또는 진행 중인 조직 손상의 경고로 작용함으로써 보호의 생물학적 기능을 제공한다. 통각수용성 통증은 전형적으로 국부에 매우 제한된다. 통각수용성 통증의 예들은, 외상성(traumatic) 또는 외과수술성(surgical) 통증, 분만 진통(labor pain), 염좌(sprains), 골절(bone fractures), 화상(burns), 충돌(bumps), 타박상(bruises), 주사(injections), 치과시술(dental procedures), 피부검사(skin biopsies) 및 폐색(obstructions)을 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

염증성 통증은 수술 후(postoperative), 외상 후(post-traumatic) 통증, 관절염(류마티스성(rheumatoid) 또는 골관절염(osteoarthritis))

통증, 및 축성 하부요통(axial low back pain)의 경우와 같이 관절(joints), 근육 및 힘줄(tendons)의 손상과 관련된 통증을 포함하는 조직 손상 또는 염증이 있는 경우에 발생하는 통증이다.

5 통각수용성 통증과 대조적으로, 신경병증성 통증은 실제 “타는 듯한(burning),” “감전된 듯한(electric),” “얼얼하거나 저린(tingling),” 또는 “쿵쿵 쭈시는(shooting)” 것으로 묘사된다. 신경병증성 통증은 종종 만성 이질통(chronic allodynia)(가벼운 터치와 같은, 보통 통증반응을 유발하지 않는 자극으로 인한 통증으로 정의된다) 및 감각과민(hyperalgesia)(정상적인 통증자극에 대한 높은 감수성으로
10 정의된다)에 의해 설명되며, 어떤 손상된 조직의 외관상 치료(apparent healing) 후 수개월 또는 수년 동안 지속될 수 있다.

본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 지속적 말초 신경병증성 통증(persistent peripheral neuropathic pain)의 완화, 예방 또는 치료에 매우 효과적으로 작용한다.

15 본 발명의 조성물은 식품 조성물로 제공될 수 있다.

본 발명의 조성물이 식품 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로서 마테 추출물뿐 만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.
25

예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 마테 추출물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액, 감초 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

30 본 발명의 조성물은 약제학적 조성물로 제공될 수 있다.

본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로서 마태 추출물뿐 만 아니라, 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.001-100 mg/kg이다.

본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 단계를 포함하는 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법을 제공한다:

(a) 인간을 제외한 동물에게 통증을 유발시키는 단계;

5 (b) 상기 동물에 분석하고자 하는 시료를 투여하는 단계; 및

(c) 상기 시료를 투여한 동물로부터 발생하는 22-27 kHz 의 초음파를 측정하는 단계로서, 상기 시료가 상기 동물로부터 발생하는 22-27 kHz 의 초음파를 감소시키는 경우에 상기 시료는 통증의 완화, 예방 또는 치료 효능이 있는 것으로 판정된다.

10 본 발명자들은 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능을 평가할 수 있는 방법을 개발하고자 예의 연구 노력하였고, 그 결과, 통증이 유발된 동물에 분석하고자 하는 시료를 투여한 다음, 동물로부터 발생하는 22-27 kHz 의 초음파를 측정하면 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능을 평가하는데 매우 유효하다는 것을 규명하였다.

15 본 발명의 방법에 따르면, 동물에게 통증을 유발시킨 다음, 분석하고자 하는 시료를 투여하고 시료를 투여한 동물로부터 발생하는 22-27 kHz 의 초음파 발생 횟수 또는 지속기간을 측정한다. 동물로부터 발생하는 22-27 kHz 음력대의 초음파 발생 횟수 또는 지속기간(duration)을 측정하여 시료를 투여하지 않은 동물과 비교하여 시료를 투여한 동물에서
20 22-27 kHz 의 초음파 발생 횟수 또는 발생 지속기간이 감소하는 경우 상기 시료는 통증의 완화 또는 치료용 물질로 판단된다.

본 발명의 일 구현예에 따르면, 동물에 분석하고자 하는 시료를 투여하는 단계는 동물의 통증 유발 전에 먼저 실시할 수 있다. 통증 유발 전 동물에 분석하고자 하는 시료를 투여한 다음, 동물로부터 발생하는 22-
25 27 kHz 의 초음파 발생 횟수 또는 지속기간을 측정하여 시료를 투여하지 않은 동물과 비교하여 시료를 투여한 동물에서 22-27 kHz 의 초음파 발생 횟수 또는 발생 지속기간이 감소하는 경우 상기 시료는 통증의 예방용 물질로 판단된다.

본 발명에서 시료는 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥 내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다.

본 발명에서 이용되는 시료는 상술한 단일 화합물 또는 화합물들의 혼합물 이외에, 펩타이드, 항체, 펩타이드 앵타머, 어드넥틴(AdNectin), 어피바디(affibody, 미국 특허 제 5,831,012 호), 아비머(Avimer, Silverman, J. et al, Nature Biotechnology 23(12):1556(2005)) 또는 쿠니쯔 5 도메인(Kunitz domain, Arnoux B et al., Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr. 58(Pt 7):1252-4(2002)), 및 Nixon, AE, Current opinion in drug discovery & development 9(2):261-8(2006))을 포함한다.

본 발명에서 동물의 통증 유발은 약물 투여, 피부 절개 또는 신경 결찰을 통해 유도할 수 있다. 통증이 유발된 동물은 당업계에 공지된 10 다양한 통증 유발 방법에 의해 제안된 통증 동물 모델을 이용할 수 있다. 예컨대, 본 발명에서 이용되는 통증 동물 모델은 CCI(Chronic constriction injury) 모델, PSL/셀처(Partial sciatic nerve ligation) 모델, SNL(Spinal nerve ligation) 모델, SNI(Spared nerve injury) 모델, 빈크리스틴(Vincristin-induced neuropathy) 모델, 절개 모델(Incision 15 model), 경막 내 카테터 삽입(Intrathecal catheterization) 모델, 직접 요추 천자(Direct lumbar puncture) 모델일 수 있다.

본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 평가방법에 이용되는 동물은 설치류 동물이다.

본 발명의 특정 구현예에 따르면, 본 발명의 평가방법에 이용되는 20 동물은 마우스(Mus musculus) 또는 랫트(Rattus norvegicus)이다.

본 발명의 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법에서 용어 “통증(pain)”은 넓은 의미로 사용되며, 통각수용성 통증과 같은 급성 및 만성 통증, 예컨대 체성 통증(somatic pain) 및 내장성 통증(visceral pain); 염증성 통증, 기능장애 통증, 특발성 통증, 25 표면성 통증(superficial pain), 심부 통증(deep pain), 가려움, 신경병증성 통증, 예컨대, 중추발생성 통증(centrally generated pain) 및 말초발생성 통증(peripherally generated pain), 편두통 및 암 통증을 포함하는 모든 타입의 통증을 의미한다.

상기 용어 “통각수용성 통증(nociceptive pain)”은 신체 조직들을 30 손상시킬 우려가 있거나 또는 실제로 손상시키는 유해한 자극에 의해 유발되는 모든 통증을 포함하는데 사용되며, 벤 상처(cut), 타박상(bruise),

골절(bone fracture), 압제손상(crush injury), 화상(burn) 및 이와 유사한 상처에 의한 통증을 제한 없이 포함한다. 조직 손상에 대한 통증 수용체(통각수용기, nociceptors)는 대부분 피부, 근골격계 또는 내부장기(internal organs)에 위치하고 있다.

5 상기 용어 “체성 통증(somatic pain)”은 뼈, 관절, 근육, 피부 또는 결합조직(connective tissue)에서 일어나는 통증을 나타내는데 사용된다. 이러한 타입의 통증은 전형적으로 매우 국부적이다.

 상기 용어 “내장성 통증(visceral pain)”은 본 명세서에서 호흡기(respiratory), 위장기관(gastrointestinal tract) 및
 10 췌장(pancreas)과 같은 내장장기들, 요로(urinary tract) 및 생식기관(reproductive organs)에서 일어나는 통증을 나타내는데 사용된다. 내장성 통증은 장기피막(organ capsule)의 종양 침범(tumor involvement)에 의해 유도되는 통증을 포함한다. 다른 타입의 내장성 통증은 전형적으로
 15 유강장기(hollow viscus)의 폐색에 의해 유발되며, 간헐적 경련(intermittent cramping) 및 심한 국부 통증이 특징이다. 내장성 통증은 방광염(cystitis) 또는 역류성 식도염(reflux esophagitis)의 경우에서와 같이 염증과 관련될 수 있다.

 상기 용어 “염증성 통증”은 외상(trauma), 외과수술, 감염 및 자가면역 질환 등에 의해 유발될 수 있는 활동성 염증(active
 20 inflammation)과 관련이 있는 통증을 포함한다.

 상기 용어 “표면성 통증(superficial pain)”은 배근(dorsal root)의 신경이 분포된 피부 분절에 따라 느껴지는 통증을 말하며, 자극을 느낀 지점에서 통증을 느끼는 직접적인 통증이다.

 상기 용어 “심부통증(deep pain)”은 심부 기관에서 유래되는
 25 통증으로 조직의 성격에 따라 통증의 특징과 정도가 다르다. 통각이 특히 예민한 부분은 건(tendon), 심부근만, 인대, 관절, 골막, 혈관 및 신경이다. 일반적으로 심부통증은 감각이 둔하고 주위로 퍼지며 느껴지는 부위가 넓다. 심부나 내장 등의 통증은 그 기전이 복잡하여 표면성 통증보다 통증의 위치를 찾기 어렵고, 오심, 발한, 혈압 상승 등의 문제도 함께 나타난다.

30 상기 용어 “신경병증성 통증(neuropathic pain)”은 본 명세서에서 말초 또는 중추신경계의 장애의 결과로 생기는 말초 또는 중추신경계에

의한 비정상적 과정(abnormal processing)의 감각 입력에서 비롯된 통증을 나타내는데 사용된다.

상기 용어 “시술 통증(procedural pain)”은 내과, 치과 또는 외과 시술에서 일어나는 통증을 나타내며 상기 시술은 보통 예정되어 있거나 또는 급성 외상과 관련되어 있다.

상기 용어 “가려움(itch)”은 본 명세서에서 넓은 의미로 사용되며, 국부에 제한하여 일반적으로 설명될 수 있는 급성 간헐성 및 지속성의, 모든 타입의 가렵고 찌르는 듯한 감각들을 의미한다. 상기 가려움은 특발성, 알려지성, 대사성, 감염성, 약물-유도성, 간, 신장 질환에 기인하거나 또는 암에 의한 것일 수 있다. “소양증(Pruritus)”은 중증 가려움증(severe itching)이다.

“환자”라 함은 임의의 동물을 의미한다. 본 발명의 일 구현예에서, 상기 환자는 인간이다. 본 발명의 조성물을 이용하여 치료될 수 있는 다른 동물들은 비-인간 영장류들(예컨대, 원숭이, 고릴라, 침팬지), 가축(예컨대, 말, 돼지, 염소, 토끼, 양, 소, 라마), 및 반려동물(예컨대, 기니피그, 래트(rats), 마우스(mice), 도마뱀, 뱀, 개, 고양이, 관상어, 햄스터 및 새)을 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

신경병증성(Neuropathic), 염증성(inflammatory) 및 통각수용성(nociceptive) 통증은 병인학(etiology), 병리생리학(pathophysiology), 진단 및 처치에 있어서 차이가 있다. 통각수용성 통증은 말초감각신경(peripheral sensory neurons)의 특이적 부분(specific subset), 즉 강렬한 또는 유해한 자극에 의해 통각수용기들의 활성화에 반응하여 일어난다. 통각수용성 통증은 일반적으로 민감하고, 자기제한적(self-limiting)이며 잠재적 또는 진행 중인 조직 손상의 경고로 작용함으로써 보호의 생물학적 기능을 제공한다. 통각수용성 통증은 전형적으로 국부에 매우 제한된다. 통각수용성 통증의 예들은, 외상성(traumatic) 또는 외과수술성(surgical) 통증, 분만 진통(labor pain), 염좌(sprains), 골절(bone fractures), 화상(burns), 충돌(bumps), 타박상(bruises), 주사(injections), 치과시술(dental procedures), 피부검사(skin biopsies) 및 폐색(obstructions)을 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

염증성 통증은 수술 후(postoperative), 외상 후(post-traumatic) 통증, 관절염(류마티스성(rheumatoid) 또는 골관절염(osteoarthritis)) 통증, 및 축성 하부요통(axial low back pain)의 경우와 같이 관절(joints), 근육 및 힘줄(tendons)의 손상과 관련된 통증을 포함하는 조직 손상 또는
 5 염증이 있는 경우에 발생하는 통증이다.

통각수용성 통증과 대조적으로, 신경병증성 통증은 실제 “타는 듯한(burning),” “감전된 듯한(electric),” “얼얼하거나 저린(tingling),” 또는 “쿵쿵 쏘시는(shooting)” 것으로 묘사된다. 신경병증성 통증은 종종 만성 이질통(chronic allodynia)(가벼운 터치와
 10 같은, 보통 통증반응을 유발하지 않는 자극으로 인한 통증으로 정의된다) 및 감각과민(hyperalgesia)(정상적인 통증자극에 대한 높은 감수성으로 정의된다)에 의해 설명되며, 어떤 손상된 조직의 외관상 치료(apparent healing) 후 수개월 또는 수년 동안 지속될 수 있다.

15 **【효과】**

본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

(a) 본 발명은 마테 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

(b) 본 발명의 조성물은 기 발생된 통증에 대해 완화 및 치료 효과를
 20 가질 뿐 아니라 통증이 발생하기 이전에 대상에 투여하면 통증을 예방하는 효과를 나타낸다.

(c) 본 발명의 조성물은 정맥주사 또는 피부 도포 등의 방법이 아닌 경구 투여를 통해서도 현저한 통증 완화 효과를 나타내며, 이러한 특징을 갖는 본 발명의 조성물은 식품에 적용 가능성이 높다.

(d) 본 발명은 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한
 25 평가방법을 제공한다.

(e) 본 발명을 이용하면 실험 동물로부터 통증 반응 시 발생하는
 30 초음파 음력대의 발생 횟수 및 지속기간을 정확하게 측정하여 객관적인 수치로 표현할 수 있어 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능을 평가하는데 매우 유용하다.

(f) 본 발명은 통증 반응의 측정에 있어서 종래의 방법이 갖는 실험자의 개별적 차이, 주관적 판단에 대한 오류를 최소화할 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

5 도 1은 실험동물에 마테 추출물을 경구 투여한 다음, 피부 절개 수술을 실시하고 5시간 후 수술 부위의 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

 대조군(n=10), 마테 추출물(300 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

10 도 2는 실험동물에 마테 추출물을 경구 투여한 다음, 피부 절개 수술을 실시하고 24시간 후 수술 부위의 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

 대조군(n=10), 마테 추출물(300 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

15 도 3은 실험동물에 마테 추출물을 경구 투여한 다음, 피부 절개 수술을 실시하고 6시간 후 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횡수를 측정한 결과이다.

 대조군(n=10), 마테 추출물(300 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

 도 4는 실험동물에 마테 추출물을 경구 투여한 다음, 피부 절개 수술을 실시하고 24시간 후 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횡수를 측정한 결과이다.

20 대조군(n=10), 마테 추출물(300 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

 도 5는 신경 분지 결찰 손상 수술 전 실험동물의 통증 역치값을 측정한 결과이다.

 대조군(n=10), 마테 추출물(300 mg/kg) 투여군(n=10)

25 도 6은 신경 분지 결찰 손상 수술 후 실험동물에 마테 추출물을 14일간 경구투여한 후 통증 역치값을 측정한 결과이다.

 도 7은 피부 절개 모델(급성 통증 모델)의 제작 과정을 나타낸 그림이다.

 도 8은 신경 분지 결찰 손상 모델(만성 통증 모델)의 제작 방법에 관한 그림이다.

30 도 9는 신경 분지 결찰 손상 모델의 제작 과정을 나타낸 그림이다.

 도 10은 기계적 이질통 평가 방법을 나타낸 그림이다.

도 11은 초음파 발성음 측정 방법을 나타낸 그림이다.

도 12는 초음파 발성음 측정 결과를 나타낸 그림이다.

(a) 대조군, (b) 통증 완화제 처리군

5 도 13은 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 5시간 후 수술 부위의 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 가바펜틴(30 mg/kg) 투여군(n=10), *** p<0.001

10 도 14는 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 1일 후(POD1) 수술 부위의 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 가바펜틴(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

도 15는 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 6시간 후 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횟수를 측정한 결과이다.

15 대조군(n=10), 가바펜틴(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

도 16은 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 3.5시간, 6시간, 24시간 후 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횟수를 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 가바펜틴(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

20 도 17은 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 5시간 후 수술 부위의 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 나프록센(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

25 도 18은 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 1일 후(POD1) 수술 부위의 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 나프록센(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

30 도 19는 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 6시간 후 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횟수를 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 나프록센(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

도 20은 피부 절개 수술 직 후 실험동물에 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 3.5시간, 6시간, 24시간 후 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횟수를 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 나프록센(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

5 도 21은 신경 분지 결찰 손상 수술 후 14일 동안 실험동물에 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 가바펜틴(30 mg/kg) 투여군(n=10), *** p<0.001

10 도 22는 신경 분지 결찰 손상 수술 전, 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 통증 역치값의 기저선을 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 가바펜틴(30 mg/kg) 투여군(n=10)

도 23은 신경 분지 결찰 손상 수술 후 14일 동안 실험동물에 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 측정한 결과이다.

15 대조군(n=10), 나프록센(30 mg/kg) 투여군(n=10), ** p<0.01

도 24는 신경 분지 결찰 손상 수술 전, 통증 민감도를 기계적 이질통 평가를 통해 통증 역치값의 기저선을 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 나프록센(30 mg/kg) 투여군(n=10)

20 도 25는 신경 분지 결찰 손상 수술 후 7일 동안 실험동물에 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횟수를 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 가바펜틴(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

25 도 26은 신경 분지 결찰 손상 수술 후 7일 동안 실험동물에 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 실험동물이 22-27 kHz 음력대의 초음파를 발생시키는 횟수를 측정한 결과이다.

대조군(n=10), 나프록센(30 mg/kg) 투여군(n=10), * p<0.05

【발명의 실시를 위한 구체적인 내용】

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지

않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

실시에

재료 및 방법

5 1. 마테 추출

천연물 추출물 시료는 경동시장 내에 있는 (주)약수당(한국)에서 건조된 마테잎을 원물로 구입하였으며, 추출 전 세절하여 추출하였다. 마테 원물 100 g당 70 vol% 주정을 10배 첨가하여 80℃에서 4시간 동안 추출한 후 여액 및 잔사 추출액을 합하여 여과 후 감압 농축하였다. 모든 10 추출물은 여과 및 감압농축을 거쳐 동결건조한 후 분말화하여 실험에 사용하였다.

2. 실험동물

Sprague-Dawley(SD) 랫트(200-250 g, 웅성)는 (주)Samtako에서 15 분양받아 실험동물용 사육상자에 일주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물의 사육은 온도 22±1℃, 습도 55± 5%, 밤낮주기(12 시간 낮/ 12 시간 밤), 조도 300 Lux의 조건하에 이루어졌으며, 사료 및 음수는 자유 급여하였다. 모든 동물들은 KFRI-IACUC(Korea Food Research Institute, Institutional Animal Care and Use Committee)의 실험동물 사용지침에 20 의해 관리되었다.

3. 시료조제 및 투여

적응 후 정상으로 판단된 동물에 대하여 체중을 측정하고 무작위적으로 실험군을 분리하였으며, 실험동물의 개체식별은 25 피모색소표시법을 이용 실시하였다. 마테 70% 주정 추출물 시료는 2차 증류수에 적정 농도로 용해 및 현탁시켜 제조하였다. 제조된 시료는 수술 30분 전 300 mg/kg/5 ml의 용량으로 경구투여 하였으며, 대조군은 동량의 2차 증류수를 수술 30분 전 경구투여 하였다.

가바펜틴, 나프록센은 생리식염수(0.9% NaCl)에 적정 농도로 30 용해하여 제조하였다. 제조된 시료는 수술 직 후 30 mg/kg/3 ml의 용량으로 복강 내 주사(intraperitoneal injection) 하였으며, 대조군은

동량의 생리식염수를 수술 직 후 복강 내 주사 하였다.

4. 통증 동물모델 제작

4-1. 피부 절개 모델(*skin incision model*)

5 랫트 피부 절개모델은 Brennan에 의해 제안되었다(Brennan, 1996).
일반적으로 수술 후 통증은 급성통증의 한 형태로 생각되고 있으며, 랫트의
절개모델은 인간의 수술 후 통증 상태와 유사하다고 생각되고 있다.
펜토바르피탈을 이용하여 SD 웅성 랫트(200-250 g)를 전신마취 하고 왼쪽
발바닥을 10%, 포비돈액으로 소독 후 발 뒤꿈치 끝부분 0.5 cm 떨어진
10 부분에서 시작하여 세로방향으로 1 cm 길이의 피부와 근막을 11번 수술용
칼로 절개하였다. 절개한 부분의 발바닥 근육(족저근)을 포셉으로 들어
올려 1 cm 길이를 분리하였다. 세로방향의 양쪽 끝부분은 발바닥 근육이
떨어지지 않게 조심해서 들어 올려 분리하고 절개된 부분을 부드럽게
압박하여 지혈하였다. 지혈된 절개부위의 근막과 피부는 나일론 4-0
15 봉합사로 봉합 후 10% 포비돈액으로 소독하였다. 수술 후 감염방지를
위해 항생제 연고를 도포하고, 사육케이지에 옮겨 회복시켰다. 관찰기간
중 감염이 발생하거나, 봉합부위가 터진 동물과 부종이 생긴 동물은
실험에서 제외시켰다.

20 4-2. 신경 분지 결찰 손상(*Spared nerve injury, SNI*)

신경 분지 결찰 손상 동물모델은 Decosterd 및 Woolf에 의해
제안되었다(Decosterd & Woolf, 2000). 펜토바르피탈을 이용하여 SD 웅성
랫트(200-250 g)를 전신마취 하였다. 전신마취 하에서 랫트의 좌측
넓적다리의 측면 피부를 면도하고 절개하고 대퇴이둔근(biceps femoris)을
25 분리한 후 좌골신경의 세 말단분지를 노출시켰다. 좌골신경은
비복신경(sural nerve), 총비골신경(common peroneal never),
경골신경(tibial nerve)의 세 가닥의 신경으로 이루어져있다. 이중
비복신경은 손상을 가하지 않고 온전히 유지해야하는데 좌측다리 기준에서
관찰시 오른쪽으로 분기해 있으며, 가장 작은 신경이다. 총비골신경,
30 경골신경은 다리 방향으로 근육을 따라 분기해 있으며, 각각 분리하여,
나일론 4-0 봉합사를 이용하여 단단히 결찰한 후, 포셉과 가위를 이용하여

2-4 mm 길이를 절단하여 제거하였다. 신경절단을 마무리 한 후, 근육층을 봉합사로 봉합한 다음, 피부 절개부위를 다시 봉합하여 실험동물을 사육케이지로 옮겨 회복시켰다.

5 5. 평가방법

5-1. 기계적 이질통 평가(*von frey filament test*)

동물통증모델 제작 후 기계적 이질통의 정도를 측정하기 위한 방법으로 Chaplan 등에 의해 기술되었다(Chaplan et. al, 1994). 랫트를 그물눈의 크기가 2×2 mm 인 철망 실험대 위에 설치된 아크릴 상자에 넣고 10 15분 이상 적응시킨 뒤, 랫트의 움직임 등이 조용해지면 연속된 굽기의 본 프레이 필라멘트(Stoelting, 미국)를 사용하여 통증 역치(g) 값을 평가하였다. 필라멘트를 좌측 환부 발바닥에 수직으로 접촉시키고 5-6초간 유지시켜 랫트가 신속한 회피반응을 보이거나 또는 hairs를 떼면서 즉시 움찔하거나 발바닥을 핥으면 양성반응을 보인 것으로 간주한다. 15 중앙부의 본 프레이 필라멘트부터 자극하여 양성반응을 보이면 약한 필라멘트로 자극하고, 양성반응이 없으면 강한 필라멘트로 자극하며 진행한다. 양성반응을 나타내는 최소의 자극 크기를 역치로 하며, 15 g 이상에서도 반응이 없을 때를 상한선으로 하여 더 이상 적용하지 않는다.

20 5-2. 초음파 발성음(*Ultrasonic vocalization calls*)

랫트는 통증, 고통, 위축, 스트레스 상태에 있을 때 초음파를 발생시키며, 그 초음파 범위는 22-27 KHz 로 보고되고 있다(Portfors, 2007). 수술 후 3.5 시간, 6 시간 및 24 시간의 통증 정도를 알아보기 위하여 각 10분 동안 USV 측정 시스템(Sonotrack®, ver 1.5.0, Metris, 25 네덜란드) 장비를 이용하여 통증을 느낄 때 랫트가 내는 초음파(22-27 KHz) 발성음을 측정하였다. 초음파를 측정할 수 있는 아크릴 상자에 랫트를 넣어두고 15분 동안 안정화 시킨 후 10분 동안 초음파 측정 실험을 진행하였다.

30 실험결과

기계적 이질통 평가를 통한 마테의 통증 완화 효과 확인

피부 절개 수술 5시간 및 24시간 후에 수술 부위의 통증 민감도를 측정하기 위하여 기계적 이질통 평가를 하였다. 그 결과, 수술 후 5시간 대조군의 통증 역치(g) 값이 0.279 ± 0.058 (g)인데 비하여 마테 300 mg/kg 군은 1.112 ± 0.375 (g)로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.05$)으로 증가함을 확인하였다(도 1). 또한, 수술 후 1일(POD1) 대조군의 통증 역치(g) 값이 0.171 ± 0.061 (g)인데 비하여 마테 300 mg/kg 군은 1.649 ± 0.69 (g)로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.05$)으로 증가함을 확인하였다(도 2).

10 *초음파 발생음 측정을 통한 마테의 완화 효과 확인*

피부 절개 수술 후 3.5 시간, 6 시간, 24 시간(POD1)의 시간대 별로 실험동물이 통증을 느낄 때 유발하는 초음파 음력대(22-27 kHz)를 측정 후, 그 횟수를 정량화하여 마테의 통증 완화 효과를 확인하였다. 수술 6 시간 후, 초음파 발생음 측정값에서 대조군이 10.4 ± 1.869 (calls)인데 비하여 마테 300 mg/kg 군은 5.1 ± 1.233 (calls)을 기록하여 유의적($p < 0.05$)으로 감소함을 확인하였다(도 3). 수술 후 1일(POD1), 초음파 발생음 측정값에서 대조군이 14.0 ± 3.296 (calls)인데 비하여 마테 300 mg/kg 군은 6.429 ± 1.343 (calls)을 기록하여 유의적($p < 0.05$)으로 감소함을 확인하였다(도 4).

20

기계적 이질통 평가를 통한 마테의 통증 완화 효과 확인

신경 분지 결찰 손상 수술 후 14일 동안 장기적으로 마테를 경구투여하며 통증 민감도를 측정하기 위하여 기계적 이질통 평가를 하였다. 그 결과, 대조군의 통증 역치(g) 값이 0.429 ± 0.123 (g)인데 비하여 마테 300 mg/kg 군은 2.88 ± 1.079 (g)로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.05$)으로 증가함을 확인하였다(도 6). 이 결과, 마테의 통증완화 효과는 단기모델뿐 만 아니라 장기모델에서도 확인되었다. 신경 분지 결찰 손상 수술 전 두 군간의 통증에 대한 베이스라인을 확인하기 위하여 기계적 이질통 평가를 실시하였다. 그 결과, 두 실험군 사이의 수술 전 통증 역치(g) 값은 동일하였음을 확인 하였다(도 5).

30

피부 절개 모델에서 기계적 이질통 평가(von frey filament test)를 통한 양성대조군 가바펜틴(gabapentin)의 통증 완화 효과 확인

피부 절개 수술 5시간 후에 수술 부위의 통증 민감도를 측정하기 위하여 기계적 이질통 평가를 하였다. 그 결과, 대조군의 통증 역치(Withdrawal threshold) (g) 값이 0.141 ± 0.049 (g)인데 비하여 양성대조군 가바펜틴 30 mg/kg 군은 7.486 ± 1.308 (g)로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.001$)으로 증가함을 확인하였다(도 13). 또한, 수술 1일 후(POD1) 기계적 이질통 평가 결과 대조군의 통증 역치(g) 값이 0.087 ± 0.027 (g)인데 비하여 양성대조군 가바펜틴 30 mg/kg 군은 4.924 ± 2.163 (g)으로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.05$)으로 증가함을 확인하였다(도 14).

피부 절개 모델에서 초음파 발성음(Ultrasonic vocalization calls) 측정을 통한 양성대조군 가바펜틴(gabapentin)의 통증 완화 효과 확인

피부 절개 수술 후 3.5시간, 6시간, 24시간(POD1) 시간대 별로 실험동물이 통증을 느낄 때 유발하는 초음파 음역대(22-27 kHz)를 측정 후, 그 횟수를 정량화하여 양성대조군 가바펜틴의 통증 완화 효과를 확인하였다. 수술 3.5시간 후, 대조군 6.857 ± 1.37 (calls), 양성대조군 가바펜틴 30 mg/kg군 2.143 ± 1.37 (calls) (* $p < 0.05$), 수술 6시간 후, 대조군 19.286 ± 5.432 (calls), 양성대조군 가바펜틴 30 mg/kg군 3.714 ± 1.672 (calls)(* $p < 0.05$), 수술 24시간 후, 대조군 24.143 ± 6.967 (calls) 양성대조군 가바펜틴 30 mg/kg군 5.286 ± 1.229 (calls)(* $p < 0.05$), 기록하여 유의적($p < 0.05$)으로 감소함을 확인하였다(도 16).

피부 절개 모델에서 기계적 이질통 평가를 통한 양성대조군 나프록센(Naproxen)의 통증 완화 효과 확인

피부 절개 수술 5시간 후에 수술 부위의 통증 민감도를 측정하기 위하여 기계적 이질통 평가를 하였다. 그 결과, 대조군의 통증 역치(g) 값이 0.122 ± 0.025 (g)인데 비하여 양성대조군 나프록센 30 mg/kg 군은 4.8 ± 1.528 (g)로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.05$)으로 증가함을

확인하였다(도 17). 또한, 수술 후 1일째 기계적 이질통 평가 결과, 대조군의 통증 역치(g) 값이 $0.107 \pm 0.025(g)$ 인데 비하여 양성대조군 나프록센 30 mg/kg 군은 $3.993 \pm 1.698(g)$ 로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.05$)으로 증가함을 확인하였다(도 18).

5

피부 절개 모델에서 초음파 발생음 측정을 통한 양성대조군 나프록센의 통증 완화 효과 확인

피부 절개 수술 후 3.5시간, 6시간, 24시간(POD1)에 시간대 별로 실험동물이 통증을 느낄 때 유발하는 초음파 음력대(22-27 kHz)를 측정 후, 그 횟수를 정량화하여 양성대조군 나프록센의 통증 완화 효과를 확인하였다. 수술 6시간 후, 대조군 $19.286 \pm 5.432(\text{calls})$, 양성대조군 나프록센 30 mg/kg 군 $5.667 \pm 1.382(\text{calls})$ (* $p < 0.05$), 수술 24시간 후, 대조군 $24.143 \pm 6.967(\text{calls})$ 양성대조군 나프록센 30 mg/kg 군 $3.833 \pm 1.195(\text{calls})$ (* $p < 0.05$)을 기록하여 유의적($p < 0.05$)으로 감소함을 확인하였다. 수술 3.5시간 후에는 대조군에 비하여 나프록센 30 mg/kg 군의 22-27 kHz 초음파 측정 기록이 감소하는 경향을 확인하였다(도 20).

10

15

SNI 모델에서 기계적 이질통 평가를 통한 양성대조군 가바펜틴의 통증 완화 효과 확인

SNI 수술 후 14일 동안 장기적으로 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 통증 민감도를 측정하기 위하여 기계적 이질통 평가를 실시하였다. 그 결과, 대조군의 통증 역치(g) 값이 $0.429 \pm 0.123(g)$ 인 것과 비교하여 가바펜틴 30 mg/kg 군은 $6.0 \pm 0.882(g)$ 으로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.001$)으로 증가함을 확인하였다(도 21). 본 실험을 통해 가바펜틴이 단기모델뿐만 아니라 장기모델에서도 통증완화 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. SNI 수술 전 두 실험군간의 통증에 대한 기저선(baseline)을 확인하기 위하여 기계적 이질통 평가를 실시하였다. 그 결과, 두 실험군 사이의 수술 전 통증 역치(g) 값이 같음을 확인하였다(도 22).

20

25

30

SNI 모델에서 기계적 이질통 평가를 통한 양성대조군 나프록센의 통증 완화

효과 확인

SNI 수술 후 14일 동안 장기적으로 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 통증 민감도를 측정하기 위하여 기계적 이질통 평가를 실시하였다. 그 결과, 대조군의 통증 역치(g) 값이 $0.333 \pm 0.08(g)$ 인 것과 비교하여 나프록센 30 mg/kg군은 $3.88 \pm 1.014(g)$ 으로 통증을 느끼는 힘의 크기가 유의적($p < 0.01$)으로 증가함을 확인하였다(도 23). 본 실험을 통해 나프록센이 단기모델뿐 만 아니라 장기모델에서도 통증완화 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. SNI 수술 전 두 실험군간의 통증에 대한 기저선을 확인하기 위하여 기계적 이질통 평가를 실시하였다. 그 결과, 두 실험군 사이의 수술 전 통증 역치(g) 값이 같음을 확인하였다(도 24).

SNI 모델에서 초음파 발생음 측정을 통한 양성대조군 가바펜틴의 통증 완화 효과 확인

SNI 수술 후 7일(POD7) 동안 장기적으로 가바펜틴을 복강 내 주사한 다음, 실험동물이 통증을 느낄 때 유발하는 초음파 음력대(22-27 kHz)를 측정하고, 그 횟수를 정량화하여 가바펜틴의 통증 완화 효과를 확인하였다. 대조군 $19.778 \pm 5.482(calls)$, 가바펜틴 30 mg/kg군 $4.571 \pm 0.948(calls)$ (* $p < 0.05$), 기록하여 가바펜틴 처리군에서 22-27 kHz 음력대 초음파 발생이 유의적($p < 0.05$)으로 감소함을 확인하였다(도 25).

SNI 모델에서 초음파 발생음 측정을 통한 양성대조군 나프록센의 통증 완화 효과 확인

SNI 수술 후 7일(POD7) 동안 장기적으로 나프록센을 복강 내 주사한 다음, 실험동물이 통증을 느낄 때 유발하는 초음파 음력대(22-27 kHz)를 측정하고, 그 횟수를 정량화 하여 나프록센의 통증 완화 효과를 확인하였다. 대조군 $17.556 \pm 3.783(calls)$, 나프록센 30 mg/kg군 $4.714 \pm 0.808(calls)$ (* $p < 0.05$), 나프록센 처리군에서 22-27 kHz 음력대 초음파 발생이 유의적($p < 0.05$)으로 감소함을 확인하였다(도 26).

결론

본 발명인 마테(Ilex paraguayensis) 추출물은 통증 동물모델인 피부

절개 모델과 신경 분지 결찰 손상 모델에서 모두 통증을 완화시키는 효과를 확인하였으며, 특히 단기효과뿐 만 아니라 장기효과도 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명의 마테 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 이용하여 통증 예방, 완화 또는 치료하는 효과를 나타낸다.

5 또한, 본 발명은 통증의 단기모델인 피부 절개 모델 및 장기모델인 SNI 모델에서도 초음파 발성음 측정 방법이 통증의 정도 및 정량하는 방법에서 우수한 실험 방법임을 규명하였다. 통증 예방 및 치료에 있어서 통증의 유무 및 정도의 크기를 판단하는 실험방법으로 기계적 이질통 평가를 단독으로 진행할 경우의 단점인 실험자의 개별적 차이, 주관적
10 판단에 대한 오류를 본 발명의 방법을 통해 최소화하고 극복할 수 있음을 주장하는 바이다.

본 발명에 사용한 양성대조군 가바펜틴, 나프록센의 통증 완화 효능은 기계적 이질통 평가뿐만 아니라 초음파 발성음 측정법을 통하여 명확히 입증을 하였다. 본 발명을 이용하면 통증 반응을 보다 객관적,
15 과학적인 방법으로 측정할 수 있으며, 실험 결과의 신뢰성 또한 높일 수 있다.

참고문헌

1. Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone
20 Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in Comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas, *J. Agric. Food Chem.* 52, 3583-3589(2004).

2. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview, *Journal of Ethnopharmacology*, 136:378-384(2011).

25 3. Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain* 64:493-501(1996).

4. Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 87:149-58(2000).

5. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL.
30 Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 53:55-63(1994).

6. Portfors CV. Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. J Am Assoc Lab Anim Sci. 46(1):28-34(2007).

- 5 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

10

【특허청구범위】

【청구항 1】

5 마테(Ilex paraguayensis) 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의
완화, 예방 또는 치료용 조성물.

【청구항 2】

10 제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 통증 예방용 조성물인 것을
특징으로 하는 조성물.

【청구항 3】

15 제 1 항에 있어서, 상기 통증은 체성 통증(somatic pain), 내장성
통증(visceral pain), 염증성 통증, 기능장애 통증, 특발성 통증,
신경병증성 통증, 표면성 통증(superficial pain), 심부 통증(deep pain),
가려움, 편두통 및 암 통증으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로
하는 조성물.

【청구항 4】

20 제 3 항에 있어서, 상기 신경병증성 통증은 지속적 말초 신경병증성
통증(persistent peripheral neuropathic pain)인 것을 특징으로 하는
조성물.

【청구항 5】

25 제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는
조성물.

【청구항 6】

30 제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로
하는 조성물.

【청구항 7】

마테(Ilex paraguayensis) 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 대상(subject)에 투여하는 단계를 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료 방법.

5

【청구항 8】

제 7 항에 있어서, 상기 방법은 통증의 예방 방법인 것을 특징으로 하는 방법:

10 【청구항 9】

제 7 항에 있어서, 상기 통증은 체성 통증(somatic pain), 내장성 통증(visceral pain), 염증성 통증, 기능장애 통증, 특발성 통증, 신경병증성 통증, 표면성 통증(superficial pain), 심부 통증(deep pain), 가려움, 편두통 및 압 통증으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

15

【청구항 10】

제 9 항에 있어서, 상기 신경병증성 통증은 지속적 말초 신경병증성 통증(persistent peripheral neuropathic pain)인 것을 특징으로 하는 방법.

20

【청구항 11】

제 7 항에 있어서, 상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 방법.

25 【청구항 12】

제 7 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 13】

30 다음의 단계를 포함하는 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가방법:

- (a) 인간을 제외한 동물에게 통증을 유발시키는 단계;
- (b) 상기 동물에 분석하고자 하는 시료를 투여하는 단계; 및
- (c) 상기 시료를 투여한 동물로부터 발생하는 22-27 kHz 의 초음파를 측정하는 단계로서, 상기 시료가 상기 동물로부터 발생하는 22-27 kHz 의 초음파를 감소시키는 경우에 상기 시료는 통증의 완화, 예방 또는 치료 효능이 있는 것으로 판정된다.

【청구항 14】

제 13 항에 있어서, 상기 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에서 통증은 체성 통증(somatic pain), 내장성 통증(visceral pain), 염증성 통증, 기능장애 통증, 특발성 통증, 신경병증성 통증, 표면성 통증(superficial pain), 심부 통증(deep pain), 가려움, 편두통 및 압통증으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 평가방법.

【청구항 15】

제 13 항에 있어서, 상기 통증 유발은 약물투여, 피부 절개 또는 신경 결찰에 의한 것을 특징으로 하는 평가방법.

【청구항 16】

제 13 항에 있어서, 상기 단계 (c)의 초음파 측정은 22-27 kHz 의 초음파 발생 횟수 또는 지속기간(duration)을 측정하는 것을 특징으로 하는 평가방법.

【청구항 17】

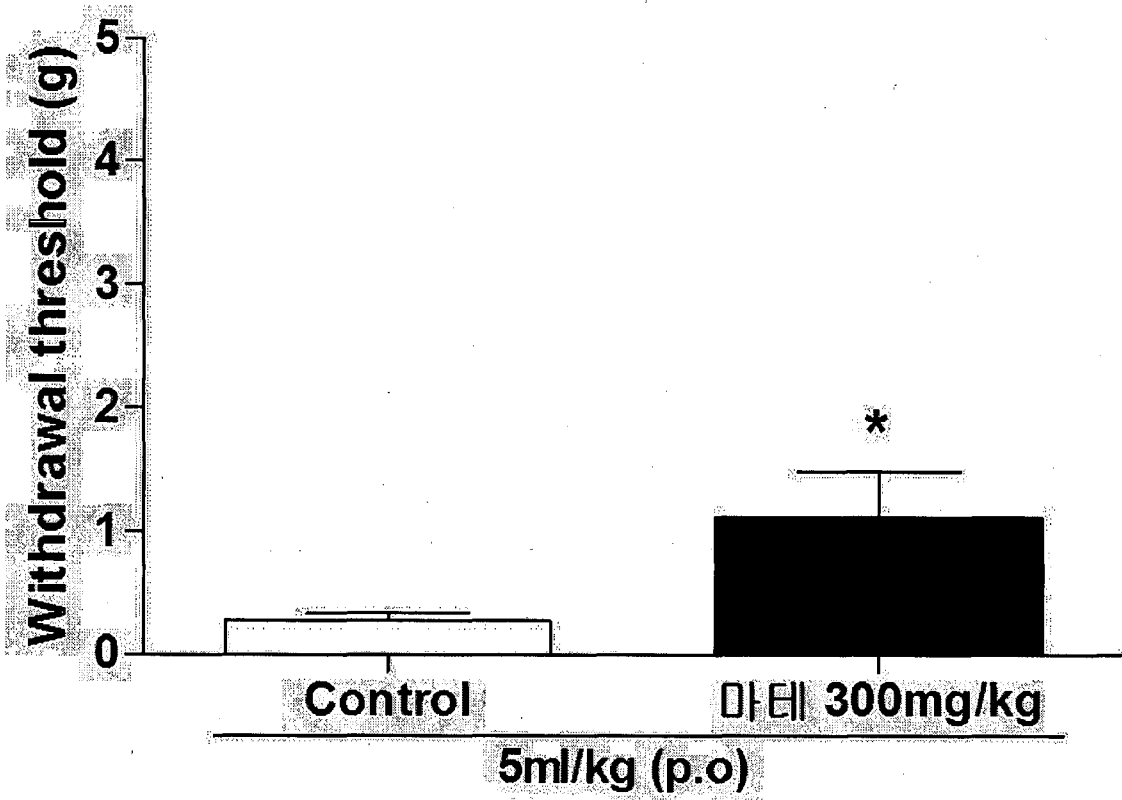
제 13 항에 있어서, 상기 동물은 설치류 동물인 것을 특징으로 하는 평가방법.

【청구항 18】

제 17 항에 있어서, 상기 설치류 동물은 마우스(Mus musculus) 또는 랫트(Rattus norvegicus)인 것을 특징으로 하는 평가방법.

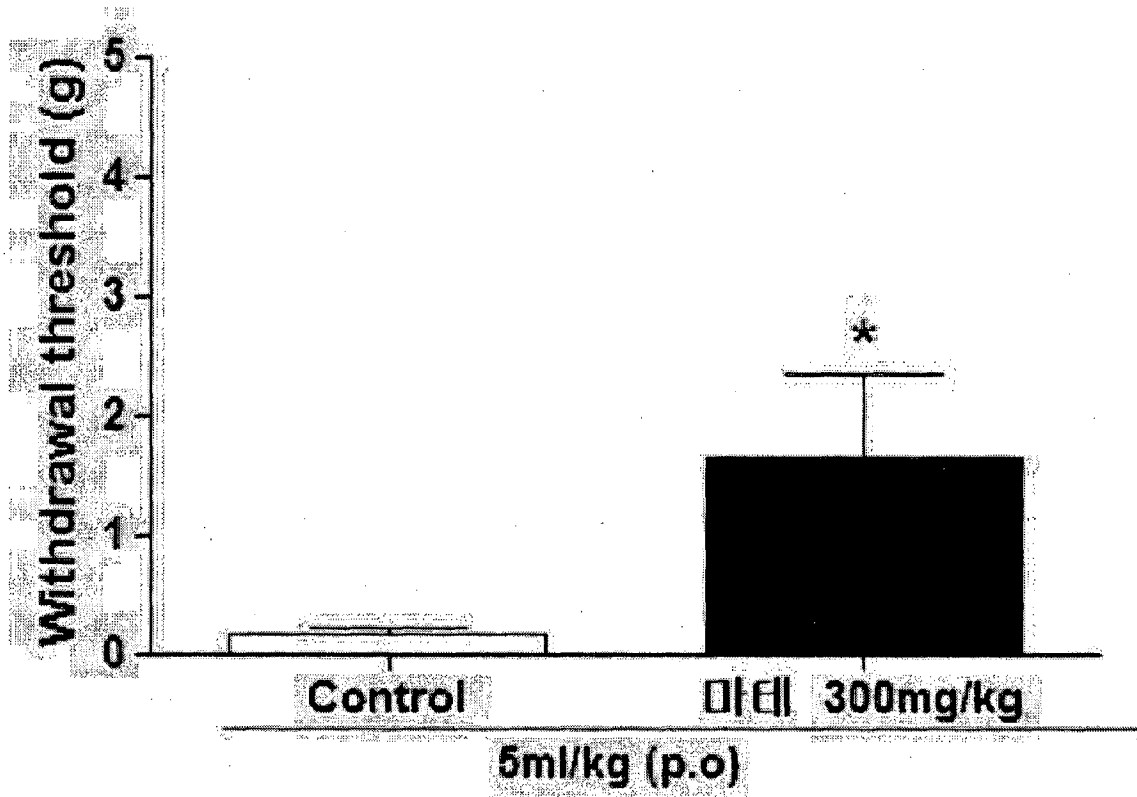
1/27

Fig. 1



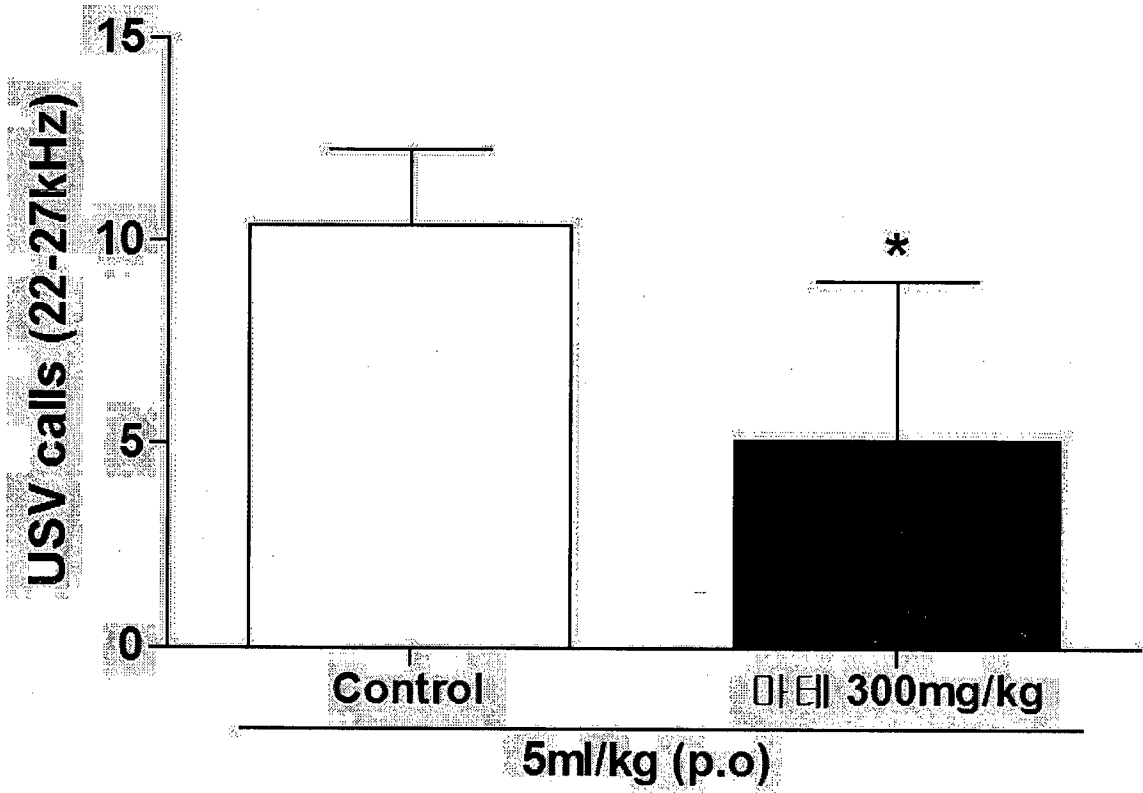
2/27

Fig. 2



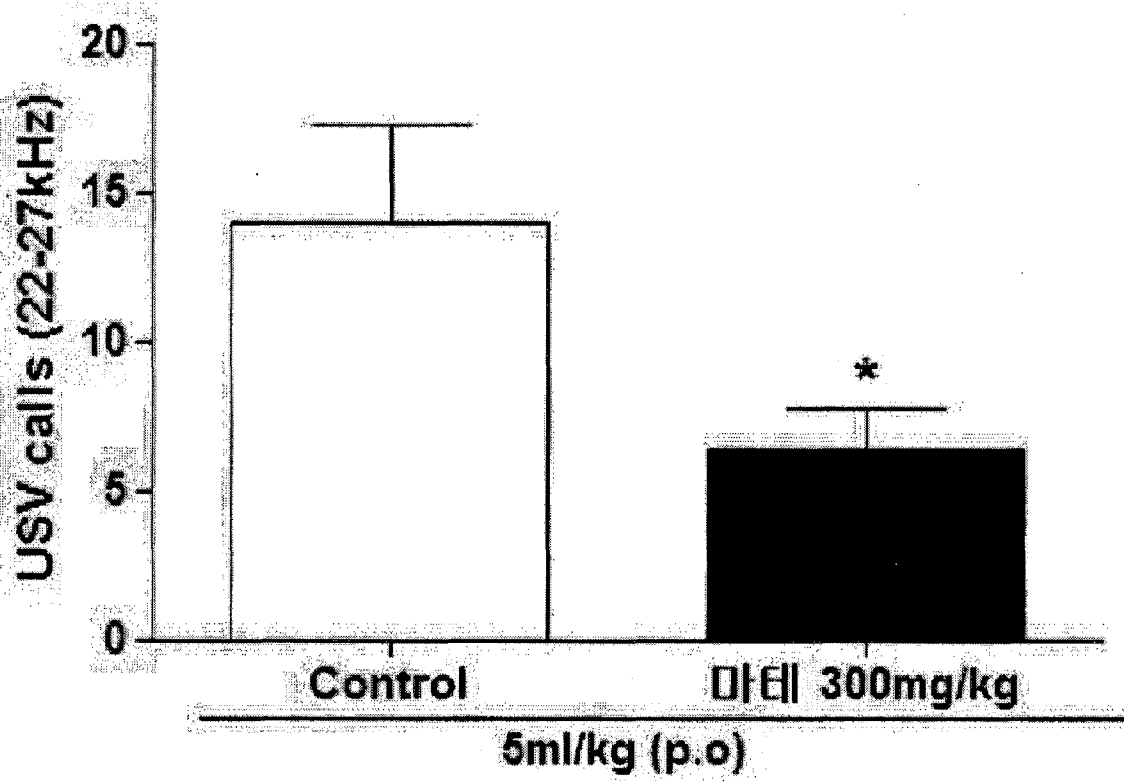
3/27

Fig. 3



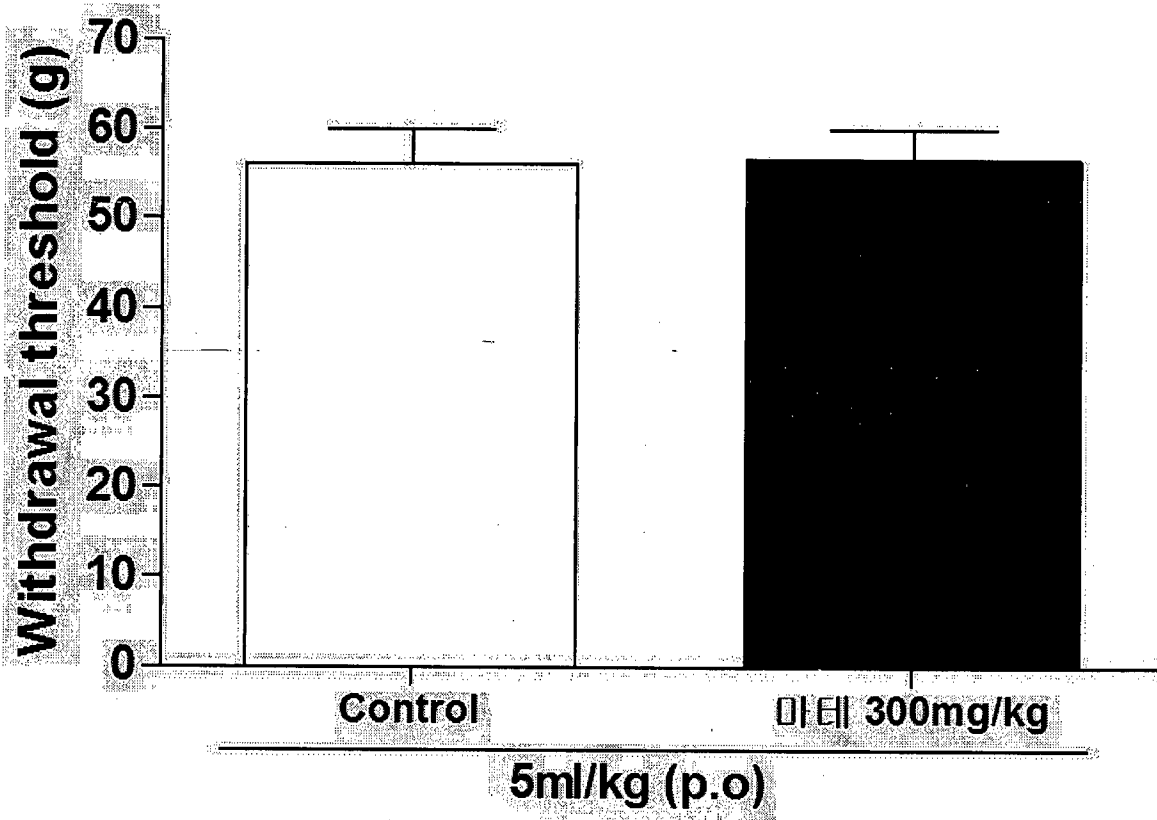
4/27

Fig. 4



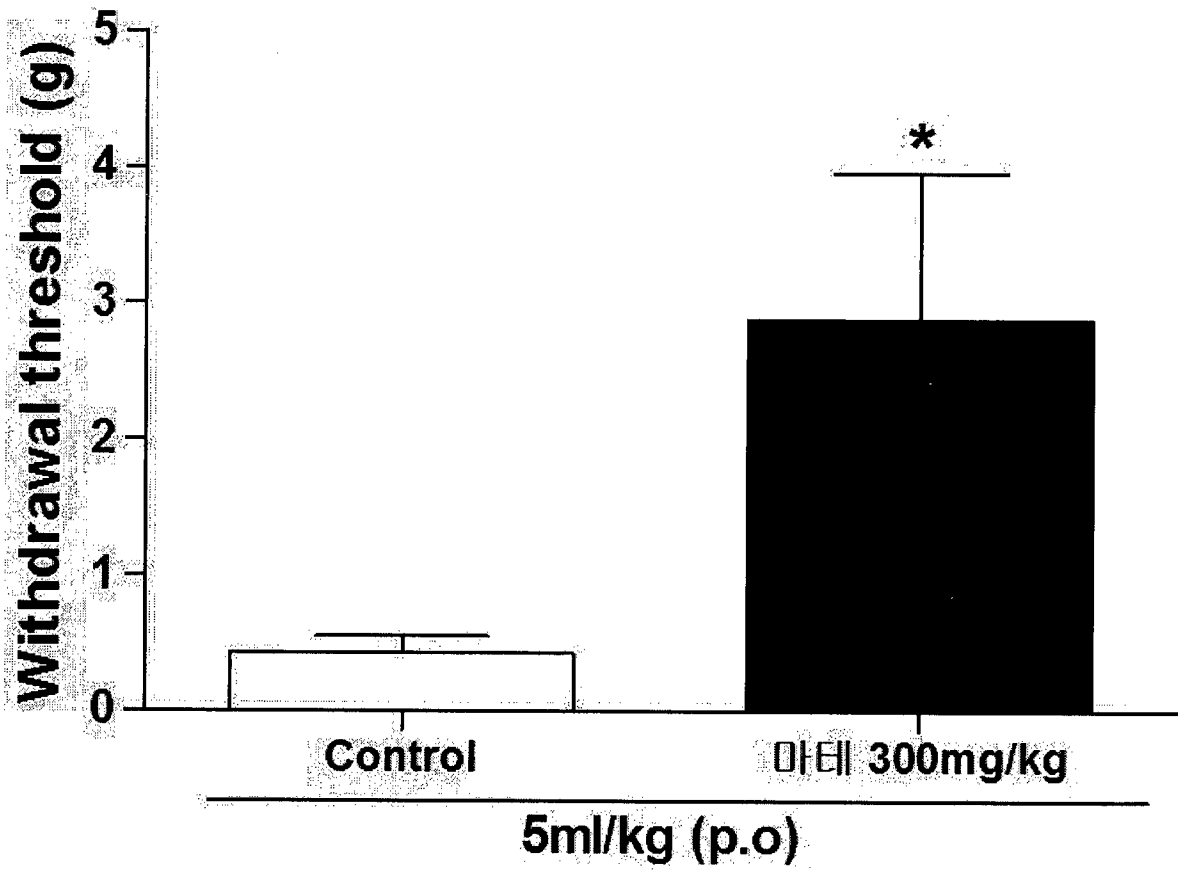
5/27

Fig. 5



6/27

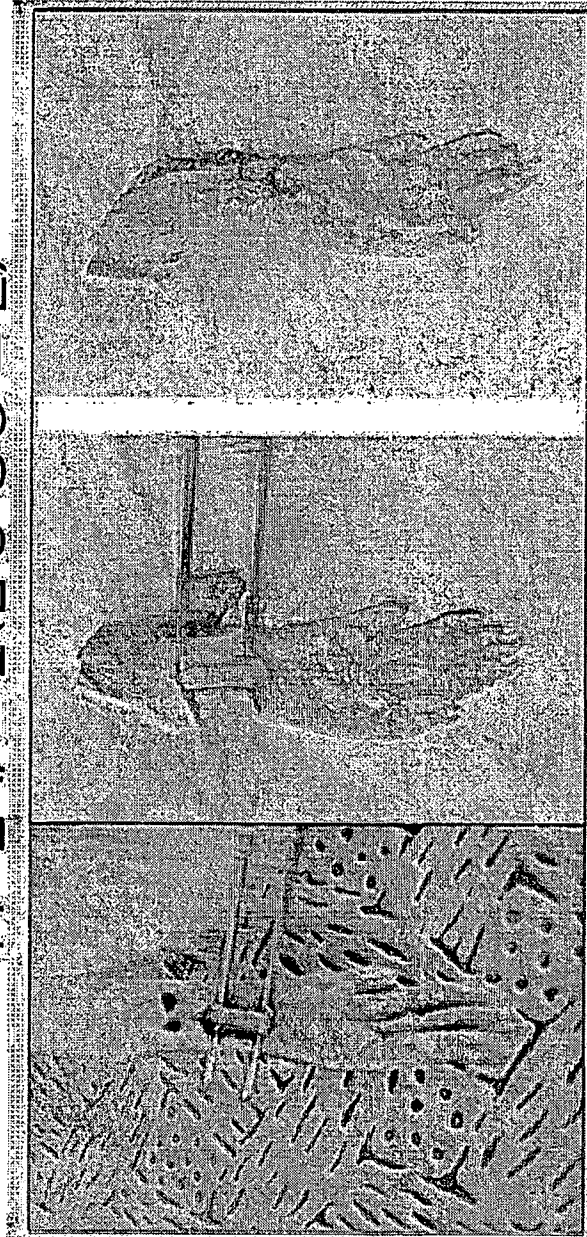
Fig. 6



7/27

Fig. 7

피부 절개 모델(금성 통증 모델)

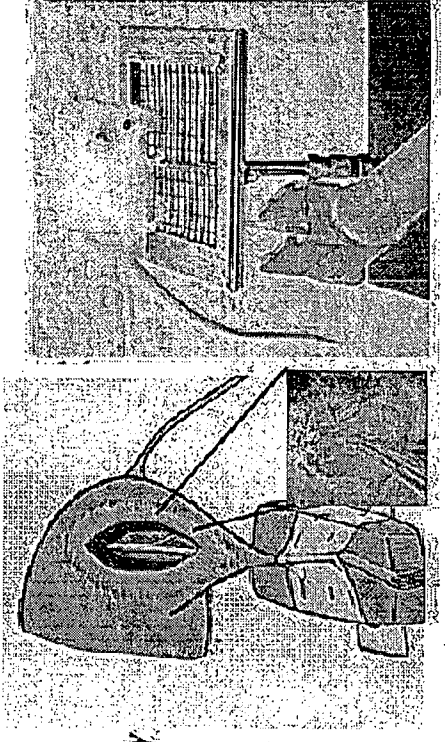
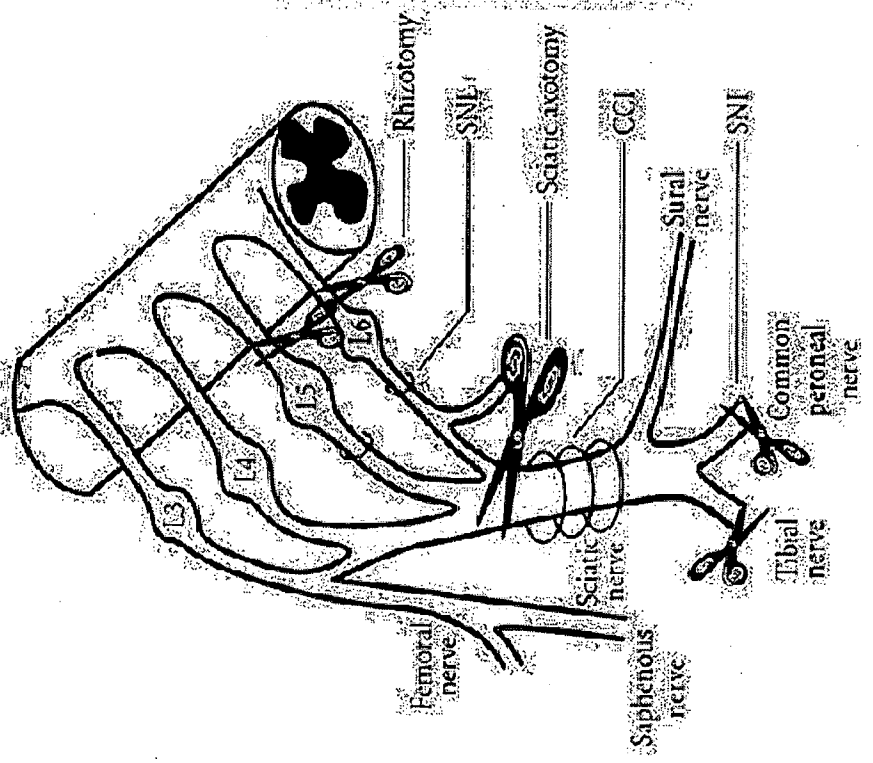


8/27

Fig. 8

신경 분지 절단 손상 모델(만성 통증 모델)

마우스 SNI 모델



9/27

Fig. 9



10/27

Fig. 10

- 기계적 이질성 평가(Von frey filament test)



11/27

Fig. 11

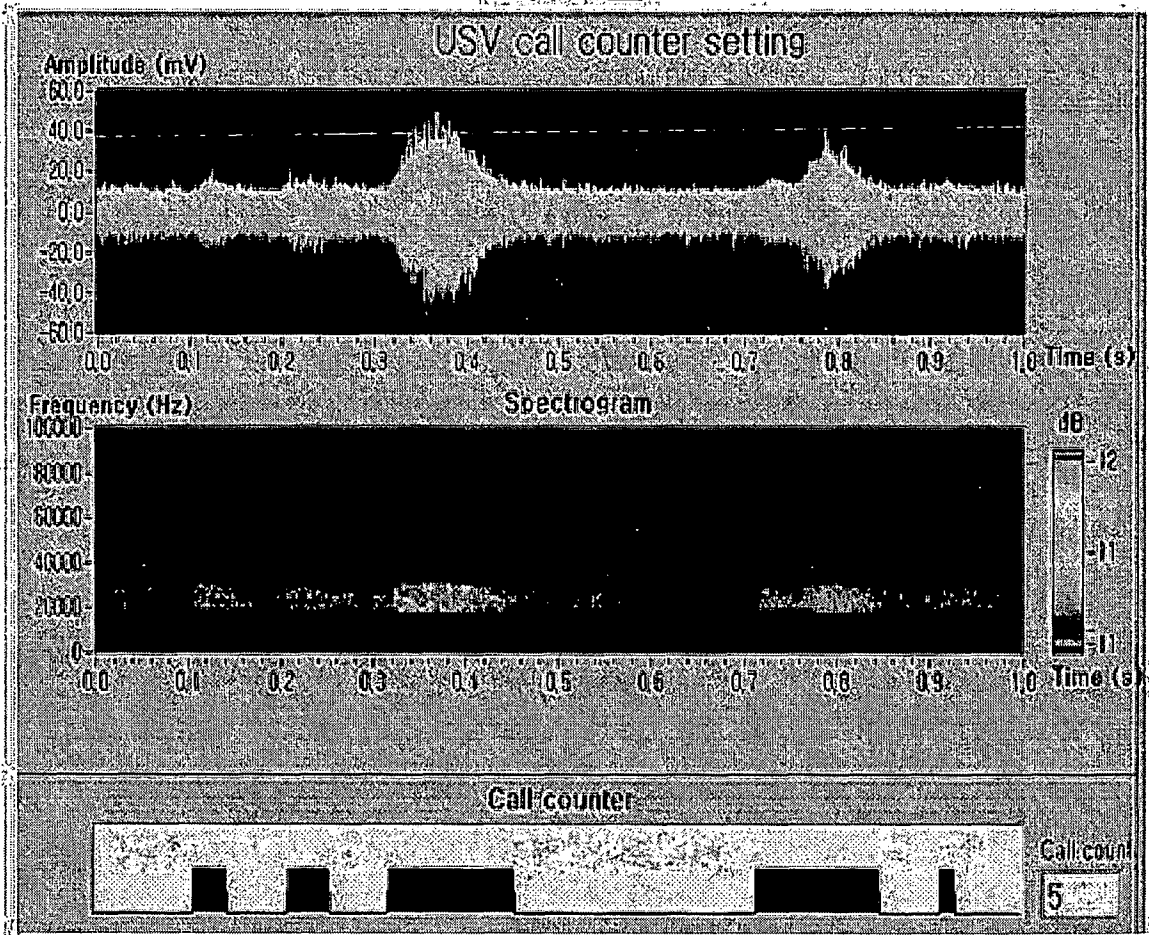
- 초음파 발성음(Ultrasound vocalization) 측정



12/27

Fig. 12a

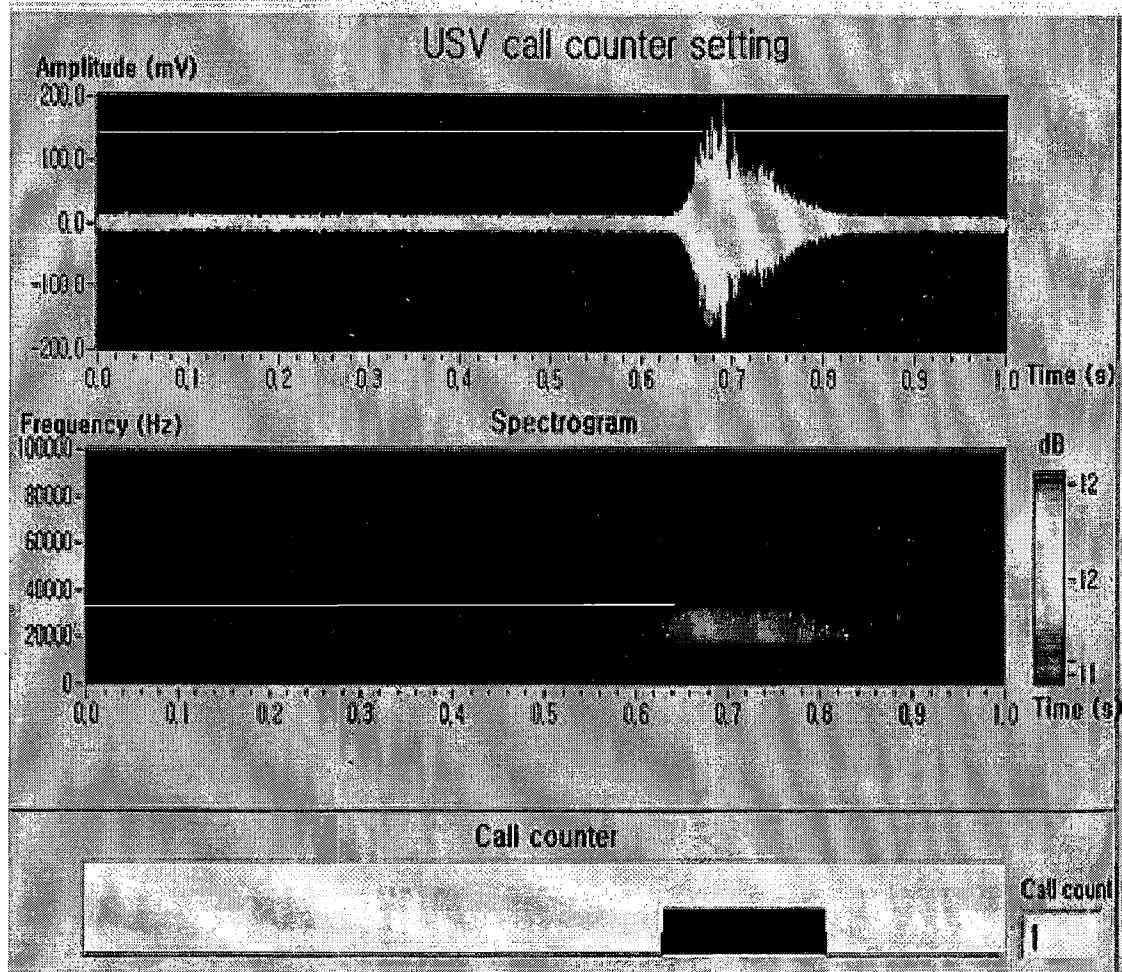
대조군



13/27

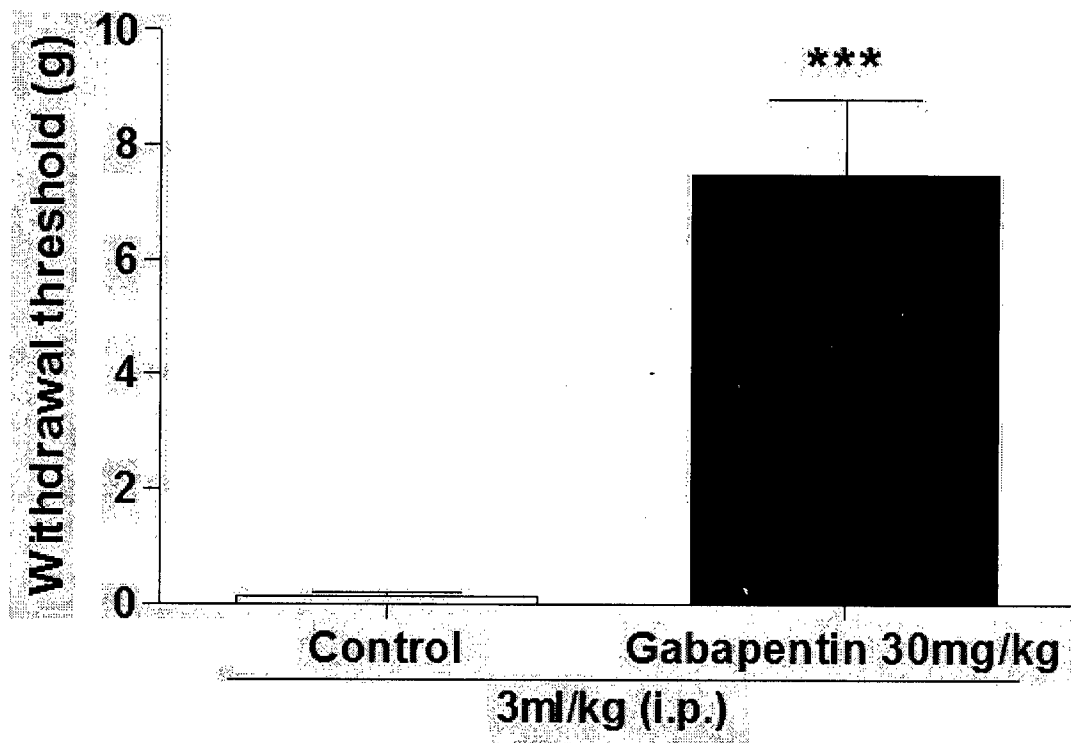
Fig. 12b

통증 완화제 처리군



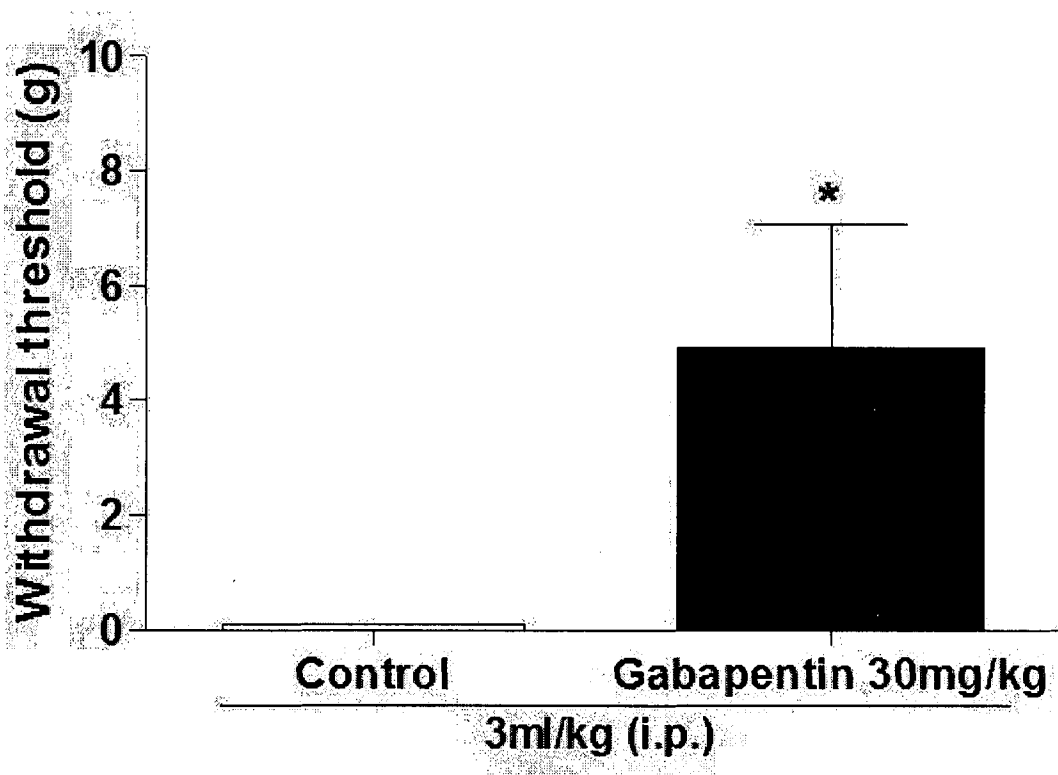
14/27

Fig. 13



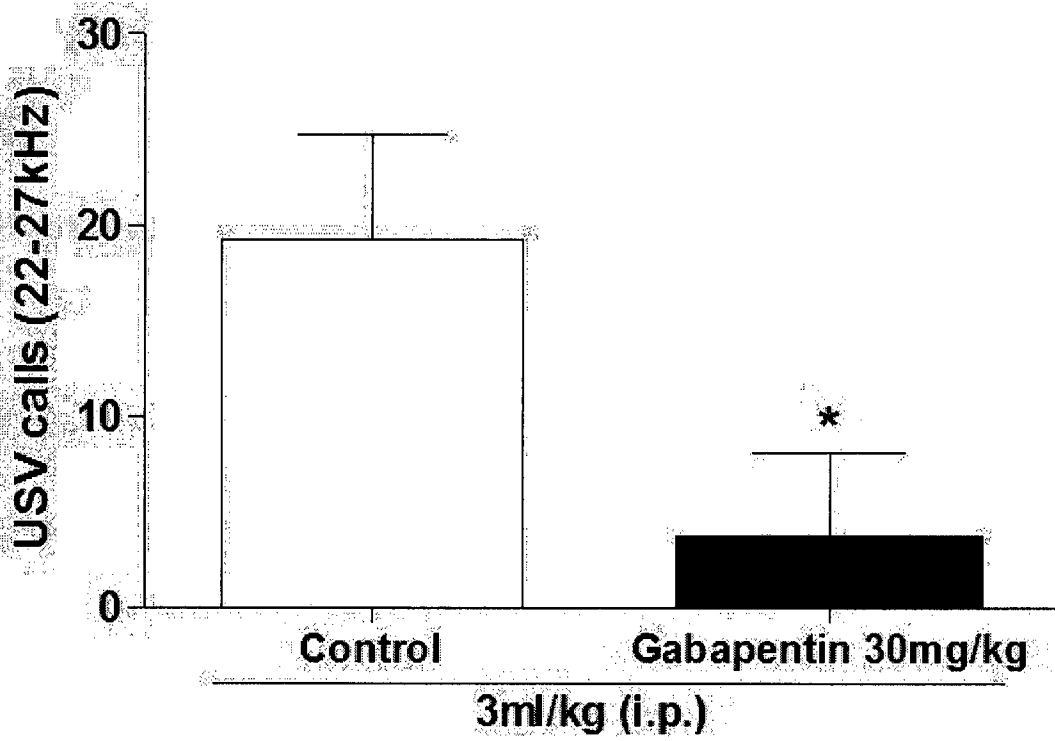
15/27

Fig. 14



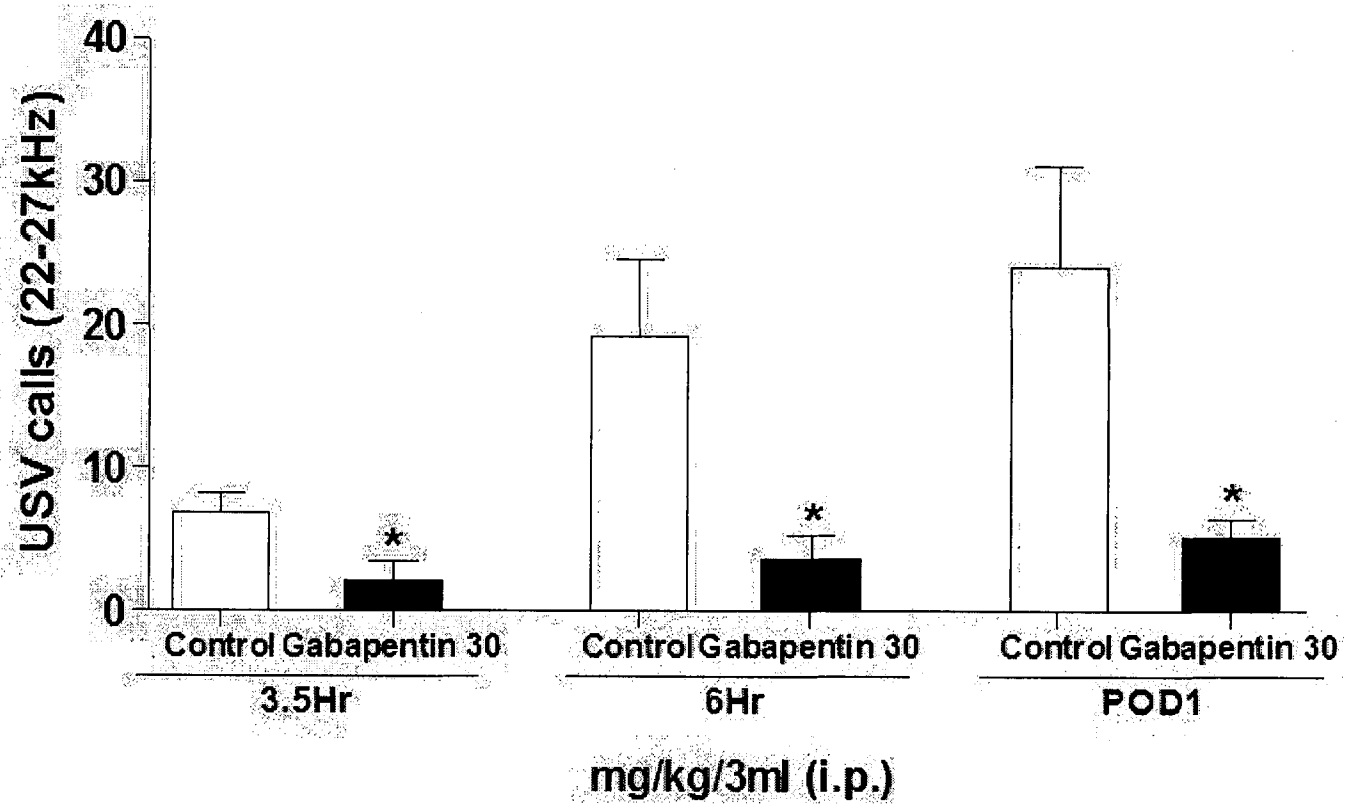
16/27

Fig. 15



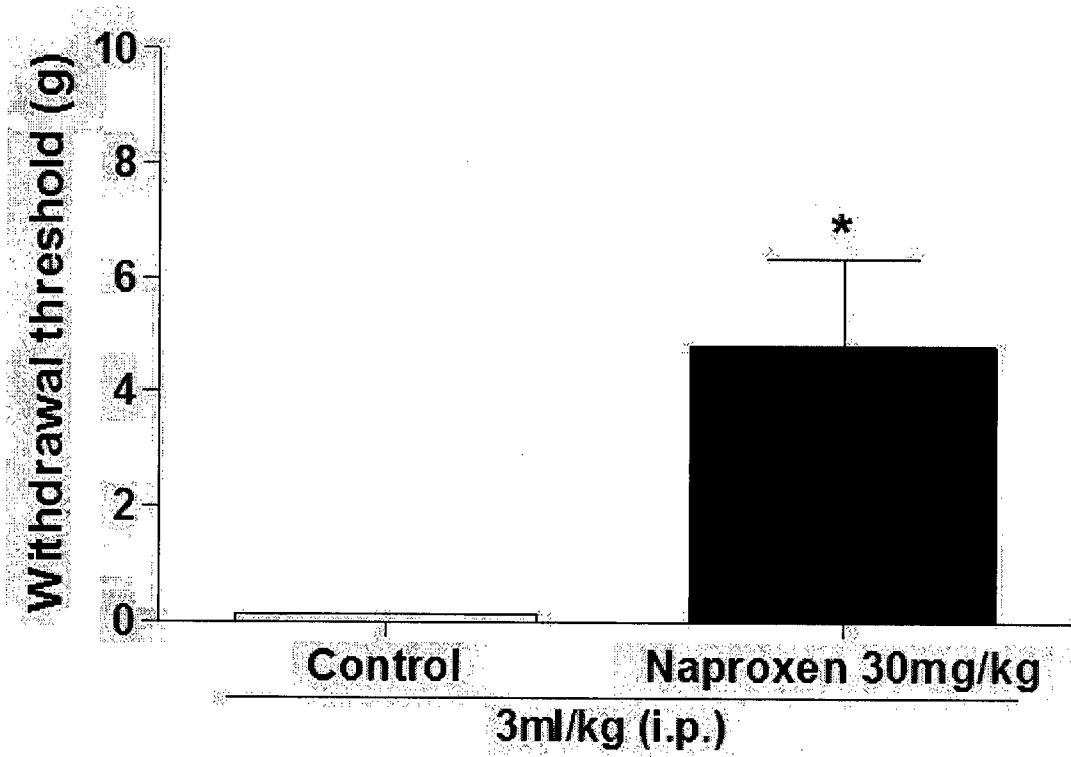
17/27

Fig. 16



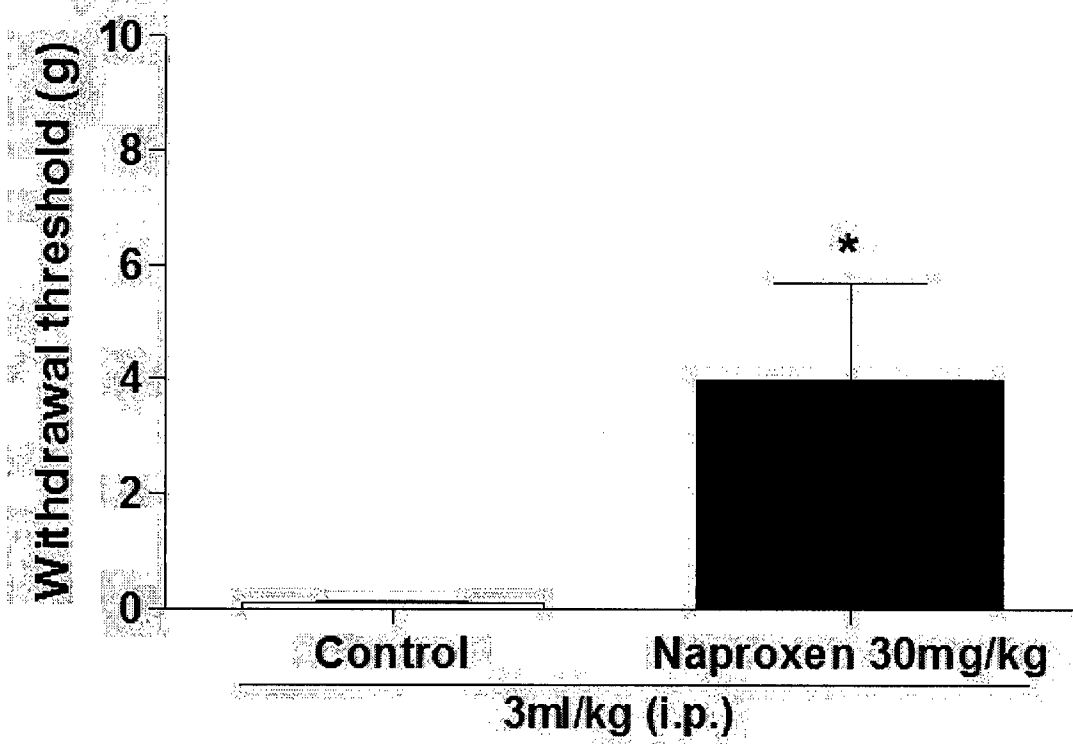
18/27

Fig. 17



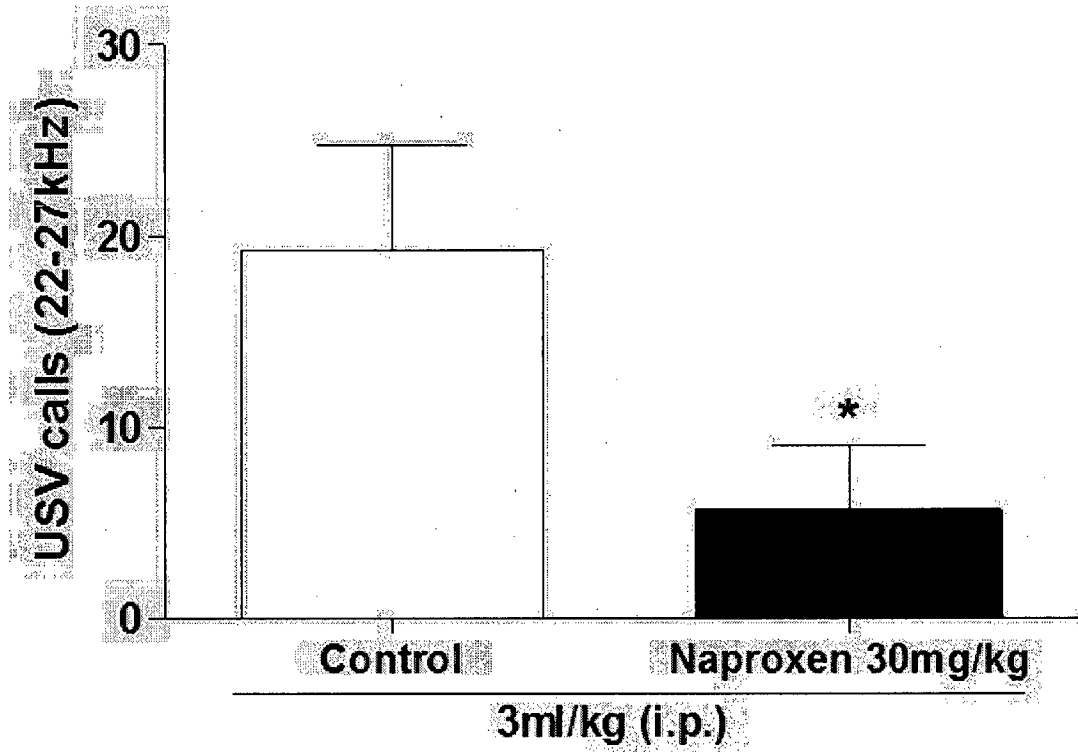
19/27

Fig. 18



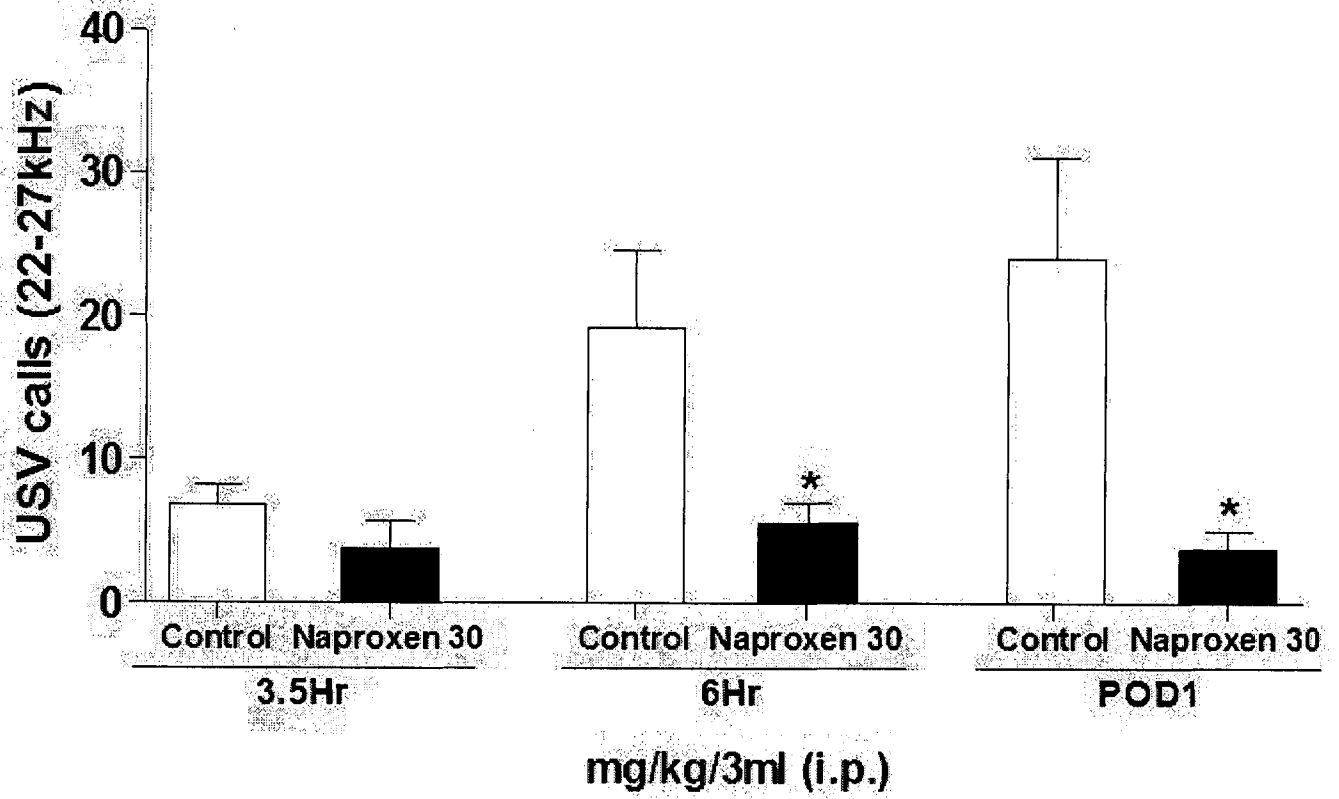
20/27

Fig. 19



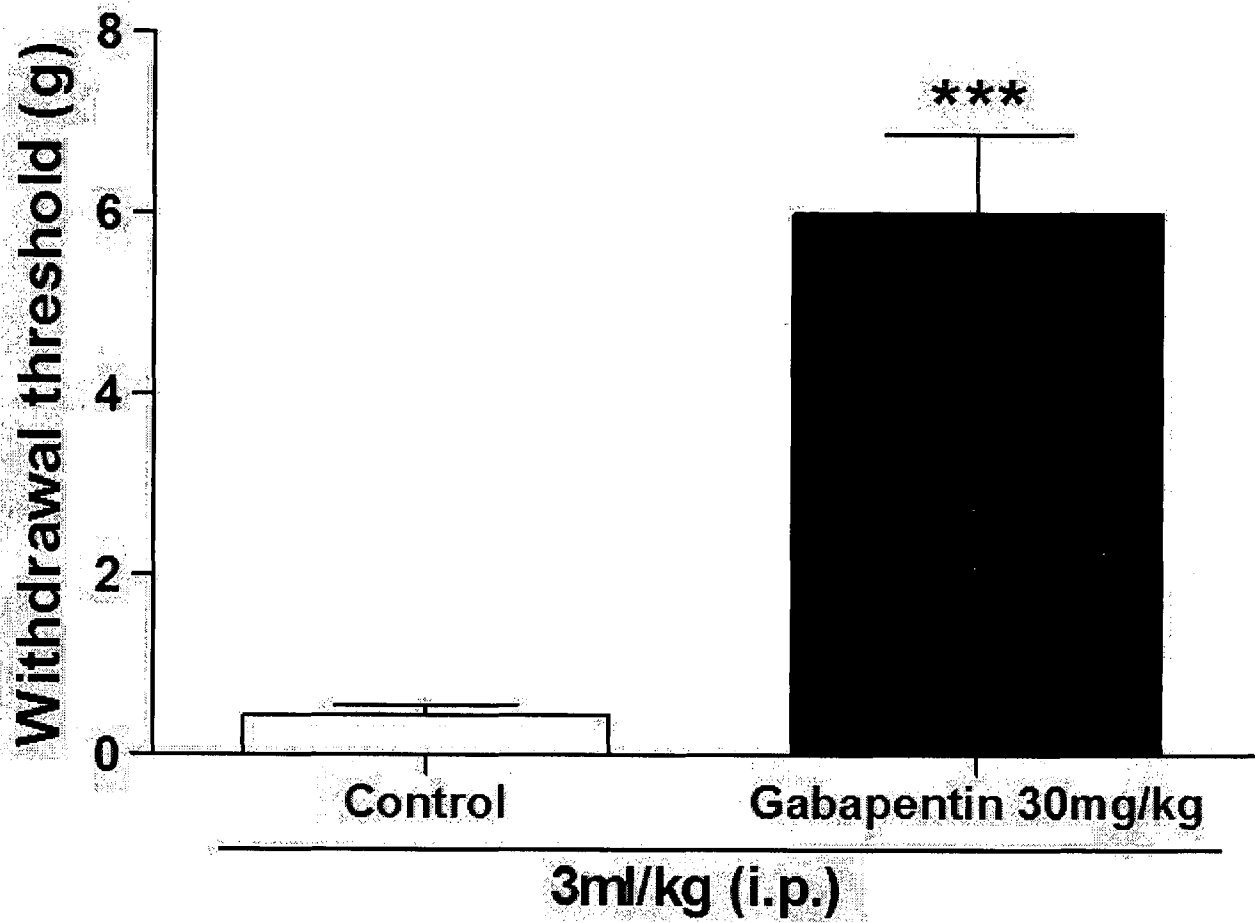
21/27

Fig. 20



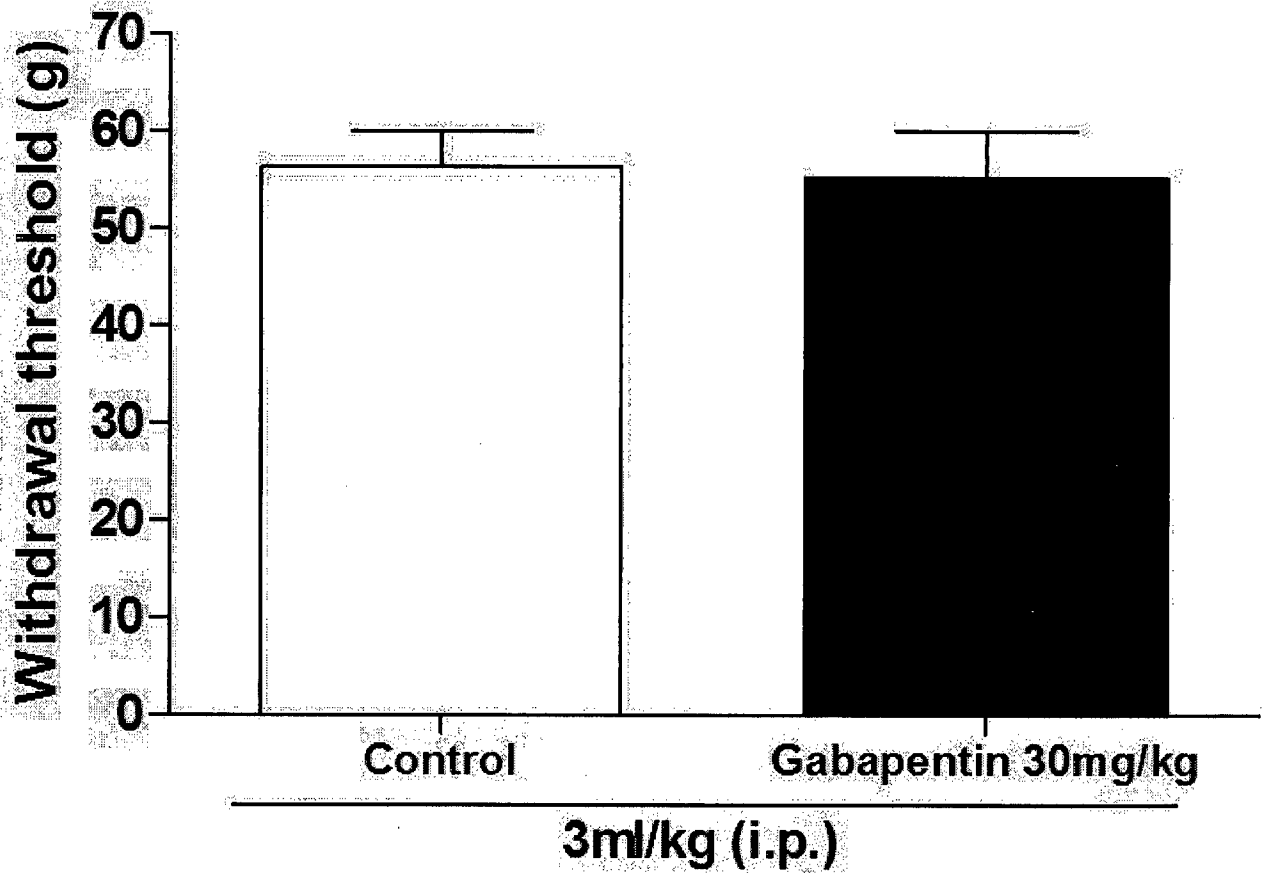
22/27

Fig. 21



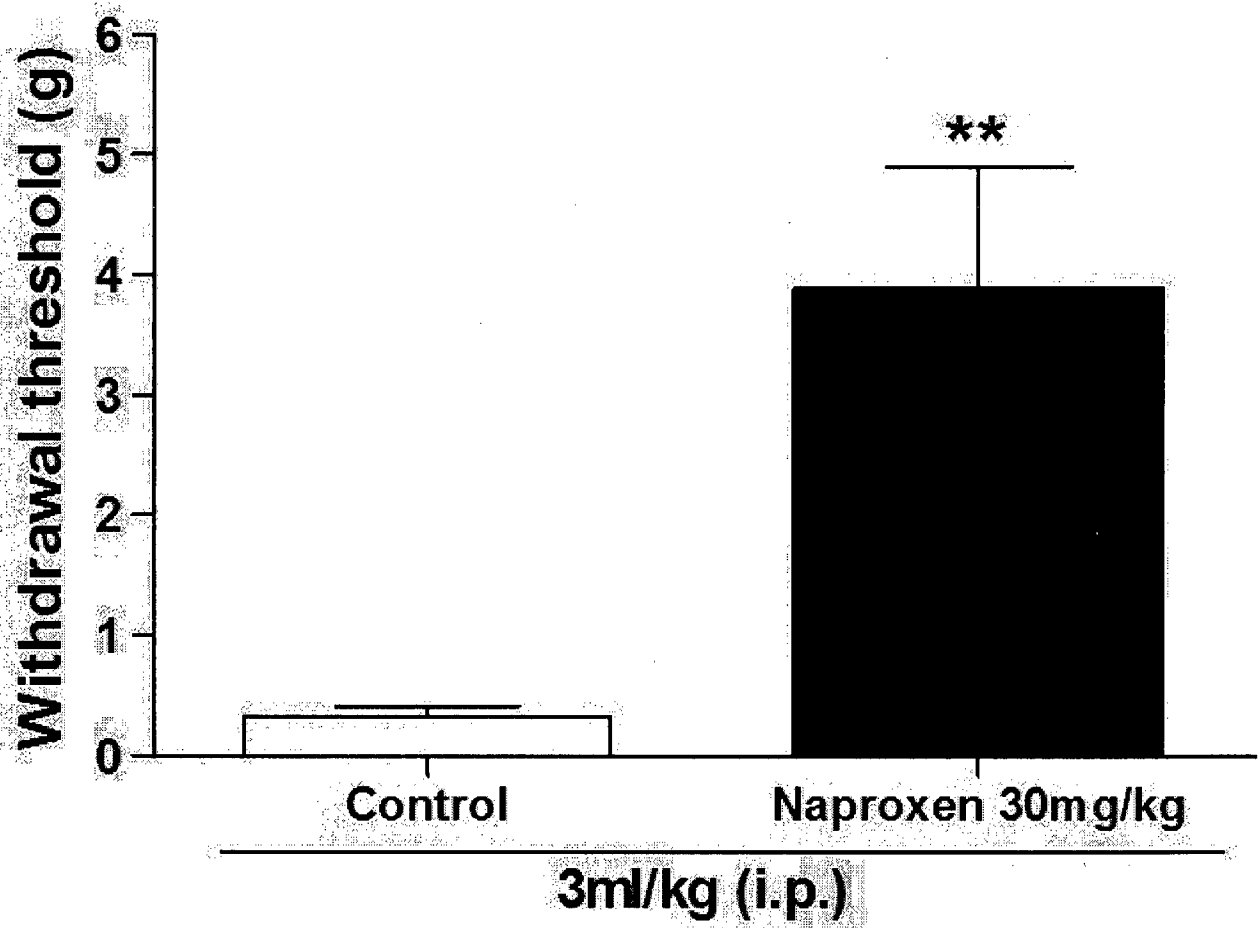
23/27

Fig. 22



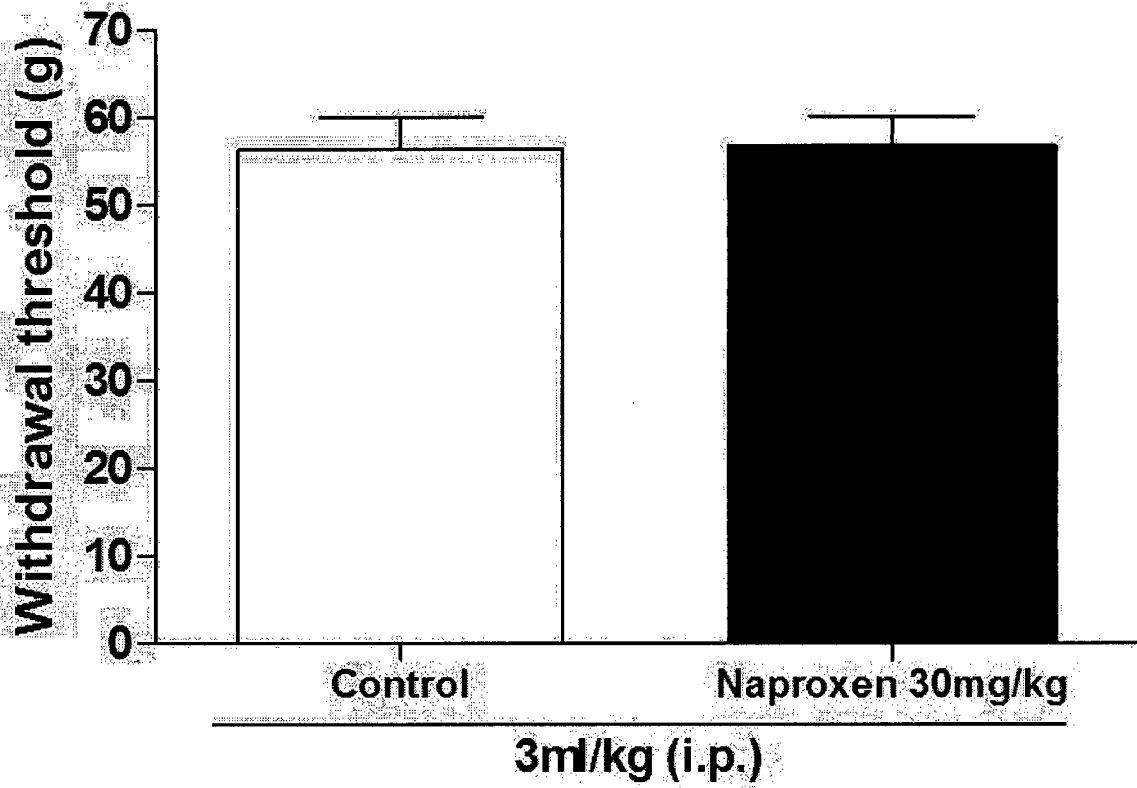
24/27

Fig. 23



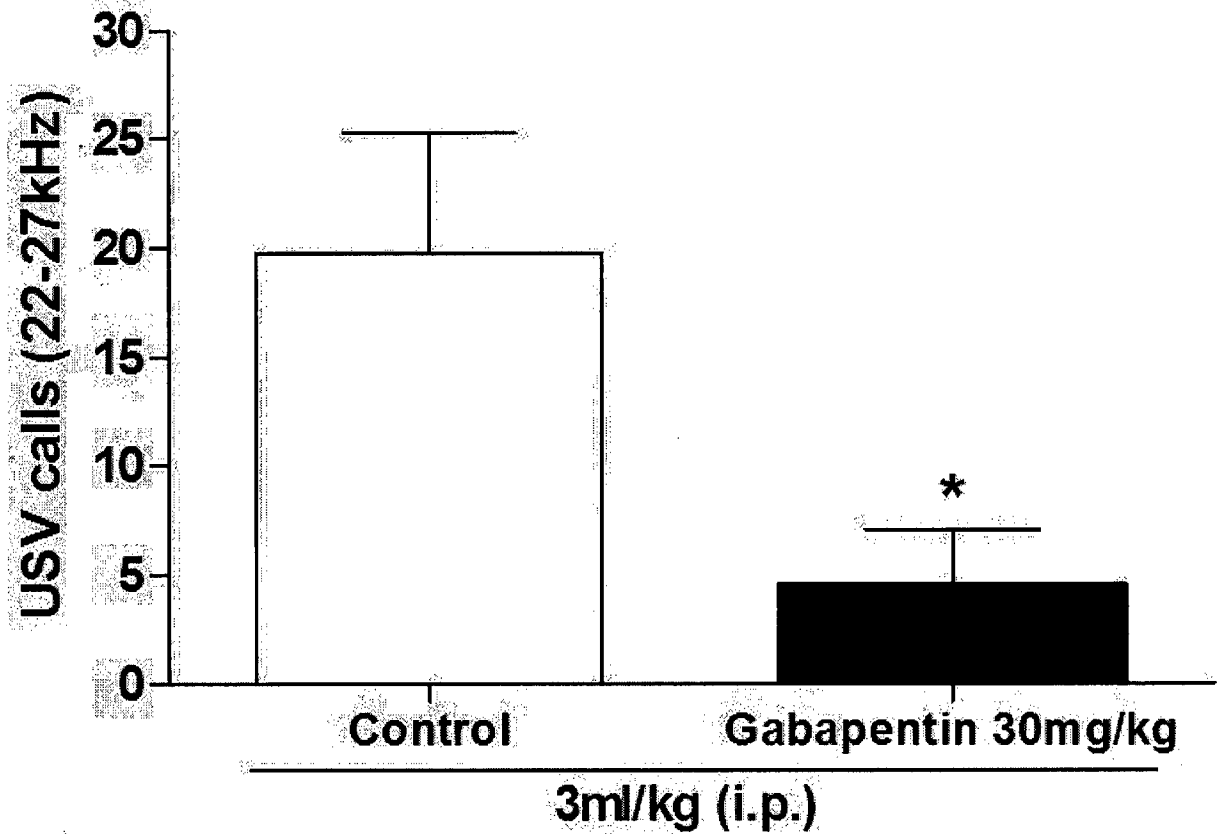
25/27

Fig. 24



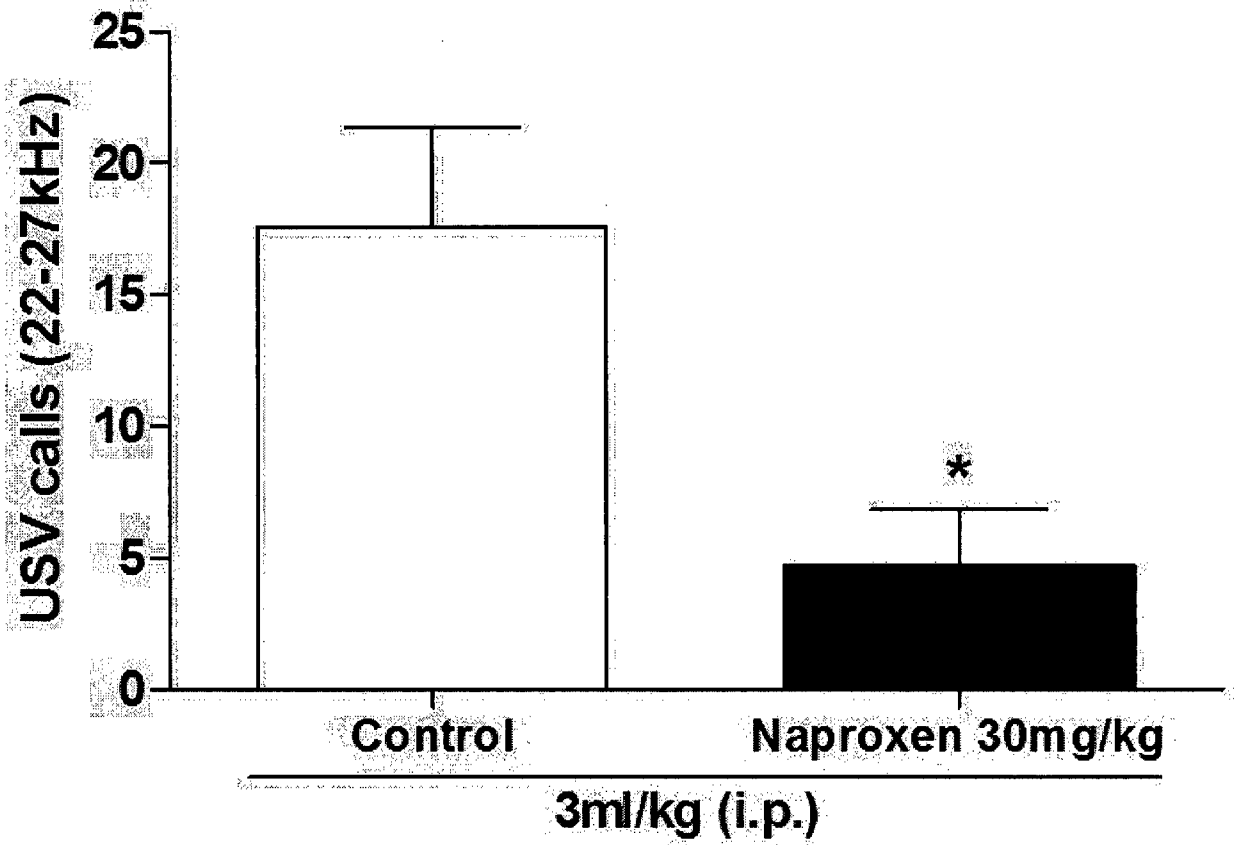
26/27

Fig. 25



27/27

Fig. 26



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/008702

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/185(2006.01)i, A61D 7/00(2006.01)i, A61P 25/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 36/185; A61K 31/235; A61K 31/522; A61K 31/7024; A61K 35/78; A61D 7/00; A61P 25/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as aboveElectronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: Ilex paraguayensis(Ilex paraguayensis), pain(pain), ultrasonic waves, pain

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X | BORTOLUZZI, M. C. et al., "Pain levels after third molar surgical removal: an evaluation of predictive variables", The Journal of Contemporary Dental Practice, 2011, vol. 12, no. 4, pp. 239-244. See abstract; and pages 239-242. | 1-6 |
| A | | 13-18 |
| X | KUREJOVA, M. et al., "An improved behavioural assay demonstrates that ultrasound vocalizations constitute a reliable indicator of chronic cancer pain and neuropathic pain", Molecular Pain, 2010, vol. 6, paper number 18. See abstract; pages 2 and 6; and figures 1-3. | 13-18 |
| A | BARDIN, L. et al., "Comparison of milnacipran, duloxetine and pregabalin in the formalin pain test and in a model of stress-induced ultrasonic vocalizations in rats", Neuroscience Research, 2010, vol. 66, pp. 135-140. See abstract; pages 136-139; and figure 2. | 1-6,13-18 |
| A | US 2007-0004647 A1 (ARBISER, J.) 04 January 2007 See paragraphs [0007]-[0013] and [0048]-[0051]. | 1-6,13-18 |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 JANUARY 2014 (22.01.2014)

Date of mailing of the international search report

22 JANUARY 2014 (22.01.2014)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/008702

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 7-12
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 7-12 pertain to a treatment method of the human, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Claims 1 to 6 pertain to a composition for alleviating pain, preventing or treating diseases including *Ilex paraguayensis* extract as an active ingredient,

Claims 13 to 18 pertain to an evaluation method for pain alleviation, disease prevention and treatment efficacy of a sample.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/008702

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|---|--|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | WILLIAMS, W. O. et al., "Ultrasonic sound as an indicator of acute pain in laboratory mice", Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, 2008, vol. 47, no. 1, pp. 8-10. See abstract; and pages 9 and 10. | 1-6,13-18 |
| A | US 2005-0142236 A1 (HORIE, T. et al.) 30 June 2005 See paragraphs [0002] and [0027]-[0029]. | 1-6,13-18 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/008702

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member | Publication date |
|--|------------------|----------------------|------------------|
| US 2007-0004647 A1 | 04/01/2007 | AU 2006-251655 A1 | 30/11/2006 |
| | | AU 2006-251655 B2 | 11/10/2012 |
| | | CA 2609213 A1 | 30/11/2006 |
| | | CN 101222900 A | 16/07/2008 |
| | | CN 101222900 B | 13/02/2013 |
| | | EP 1895971 A2 | 12/03/2008 |
| | | EP 1895971 A4 | 08/08/2012 |
| | | HK 1122988 A1 | 28/06/2013 |
| | | IL 187463 D | 20/03/2008 |
| | | JP 2008-540682 A | 20/11/2008 |
| | | WO 2006-127525 A2 | 30/11/2006 |
| US 2005-0142236 A1 | 30/06/2005 | BR P10418293 A | 02/05/2007 |
| | | CA 2548357 A1 | 14/07/2005 |
| | | EP 1550451 A1 | 06/07/2005 |
| | | EP 1708729 A1 | 11/10/2006 |
| | | JP 2007-517785 A | 05/07/2007 |
| | | MX PA06007499 A | 31/08/2006 |
| | | RU 2006127295 A | 10/02/2008 |
| | | WO 2005-063270 A1 | 14/07/2005 |

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
A61K 36/185(2006.01)i, A61D 7/00(2006.01)i, A61P 25/00(2006.01)i

B. 조사된 분야
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A61K 36/185; A61K 31/235; A61K 31/522; A61K 31/7024; A61K 35/78; A61D 7/00; A61P 25/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 마테(Ilex paraguayensis), 통증(pain), 초음파, 진통

C. 관련 문헌

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재 | 관련 청구항 |
|-------|--|------------|
| X | BORTOLUZZI, M. C. 외 3명, 'Pain levels after third molar surgical removal: an evaluation of predictive variables', The Journal of Contemporary Dental Practice, 2011년, 12권, 4호, 페이지 239-244. 요약; 및 페이지 239-242 참조. | 1-6 |
| A | | 13-18 |
| X | KUREJOVA, M. 외 5명, 'An improved behavioural assay demonstrates that ultrasound vocalizations constitute a reliable indicator of chronic cancer pain and neuropathic pain', Molecular Pain, 2010년, 6권, 논문번호 18. 요약; 두 번째 및 여섯 번째 페이지; 및 도면 1-3 참조. | 13-18 |
| A | BARDIN, L. 외 7명, 'Comparison of milnacipran, duloxetine and pregabalin in the formalin pain test and in a model of stress-induced ultrasonic vocalizations in rats', Neuroscience Research, 2010년, 66권, 페이지 135-140. 요약; 페이지 136-139; 및 도면 2 참조. | 1-6, 13-18 |
| A | US 2007-0004647 A1 (ARBISER, J.) 2007.01.04 단락 [0007]-[0013] 및 [0048]-[0051] 참조. | 1-6, 13-18 |

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:
 "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌
 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

| | |
|--|---|
| 국제조사의 실제 완료일 2014년 01월 22일 (22.01.2014) | 국제조사보고서 발송일 2014년 01월 22일 (22.01.2014) |
|--|---|

| | |
|---|------------------------------------|
| ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (문산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140 | 심사관 최승희 전화번호 +82-42-481-8740 |
|---|------------------------------------|

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. 청구항: 7-12
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉, 청구항 제7항 내지 제12항은 사람의 치료방법에 해당하는 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당합니다.
2. 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

청구항 제1항 내지 제6항은 마테(Ilex paraguayensis) 추출물을 유효성분으로 포함하는 통증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이고,

청구항 제13항 내지 제18항은 시료의 통증 완화, 예방 또는 치료 효능에 대한 평가 방법에 관한 것입니다.

1. 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

| C (계속). 관련 문헌 | | |
|---------------|---|-----------|
| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재 | 관련 청구항 |
| A | WILLIAMS, W. O. 외 2명, 'Ultrasonic sound as an indicator of acute pain in laboratory mice', Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, 2008년, 47권, 1호, 페이지 8-10. 요약; 및 페이지 9 및 10 참조. | 1-6,13-18 |
| A | US 2005-0142236 A1 (HORIE, T. 외 3명) 2005.06.30 단락 [0002] 및 [0027]-[0029] 참조. | 1-6,13-18 |

| 국제조사보고서에서 인용된 특허문헌 | 공개일 | 대응특허문헌 | 공개일 | | |
|-----------------------|------------|--------------------|------------|----------------|------------|
| US 2007-0004647 A1 | 2007/01/04 | AU 2006-251655 A1 | 2006/11/30 | | |
| | | AU 2006-251655 B2 | 2012/10/11 | | |
| | | CA 2609213 A1 | 2006/11/30 | | |
| | | CN 101222900 A | 2008/07/16 | | |
| | | CN 101222900 B | 2013/02/13 | | |
| | | EP 1895971 A2 | 2008/03/12 | | |
| | | EP 1895971 A4 | 2012/08/08 | | |
| | | HK 1122988 A1 | 2013/06/28 | | |
| | | IL 187463 D | 2008/03/20 | | |
| | | JP 2008-540682 A | 2008/11/20 | | |
| | | WO 2006-127525 A2 | 2006/11/30 | | |
| | | US 2005-0142236 A1 | 2005/06/30 | BR PI0418293 A | 2007/05/02 |
| | | | | CA 2548357 A1 | 2005/07/14 |
| EP 1550451 A1 | 2005/07/06 | | | | |
| EP 1708729 A1 | 2006/10/11 | | | | |
| JP 2007-517785 A | 2007/07/05 | | | | |
| MX PA06007499 A | 2006/08/31 | | | | |
| RU 2006127295 A | 2008/02/10 | | | | |
| WO 2005-063270 A1 | 2005/07/14 | | | | |