



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0059326
(43) 공개일자 2009년06월11일

(51) Int. Cl.

A61K 36/488 (2006.01) A61K 36/72 (2006.01)
A61K 36/8905 (2006.01) A61P 25/32 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0126128

(22) 출원일자 2007년12월06일

심사청구일자 2007년12월06일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내

(72) 발명자

황의완

서울 송파구 석촌동 52-20 501호

조성훈

서울 송파구 잠실본동 304-28

(74) 대리인

이원희

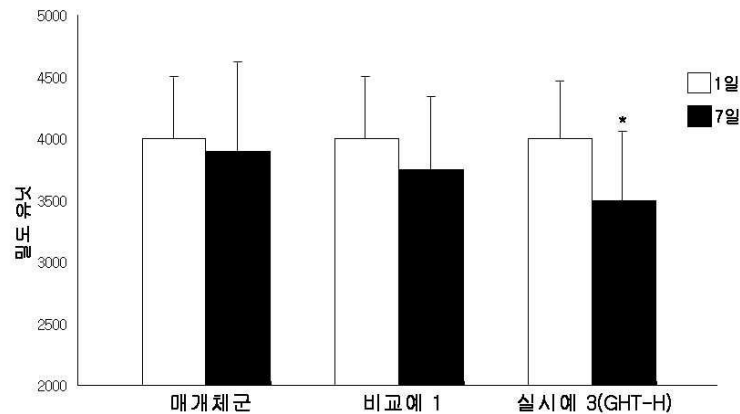
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 하는 알코올 의존증의 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 하는 알코올 의존증의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 항갈망 효과를 가지는 갈화와 지구자를 포함한 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 하는 알코올 의존증의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 포함하는 조성물은 자발적 알코올 섭취와 관련된 POMC mRNA의 발현을 감소시켜 알코올의 섭취를 막음으로써 알코올 의존증의 예방 및 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출된 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 모과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼을 포함하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 알코올 의존증 개선 효과를 가지는 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 혼합 생약재는 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 모과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼을 각각 2~30 중량%를 포함하는 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 알코올은 C₁ 내지 C₄ 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 6

제 1항에 있어서, POMC mRNA 발현 정도를 감소시키는 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 7

- 1) 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 목과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼을 각각 2~30 중량%를 포함하는 혼합 생약재를 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 이용하여 상온 또는 가열 진탕하여 추출액을 제조하는 단계;
- 2) 단계 1의 추출액으로부터 고형분을 제거하고 농축하는 단계를 포함하는 제 1항의 혼합 생약재 추출물을 제조하는 방법.

청구항 8

제 1항의 추출물을 유효성분으로 함유하는 알코올 의존증 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 9

제 1항의 추출물을 유효성분으로 함유하는 알코올 의존증 예방 및 개선용 건강식품.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 하는 알코올 의존증의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 항갈망 효과를 가지는 갈화와 지구자를 포함한 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 하는 알코올 의존증의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 알코올 의존증(alcohol dependence)이란 알코올 결여 시의 불쾌감을 피하기 위하여 지속적 또는 주기적으로 음주하고 싶다는 강박적 욕구가 항상 있고 알코올 과잉 반복섭취의 결과 여러 종류의 정신적, 신체적 및 사회적 장애를 일으키는 것을 말한다.

- <3> 한국보건사회연구원에 의하면 2001년 우리나라 남자 26.1%, 여자 10.5%, 성인 전체의 20.9%가 알코올 의존상태라고 한다. 이것은 성인 5명 중 1명이 알코올 의존 상태라는 것으로 이로 인한 사회적 문제와 소요비용이 증가하고 있다.
- <4> 한의학에서는 알코올 의존증과 관련하여 『황제내경영추(黃帝內經靈樞)』, 『제병원후론(諸病源候論)』, 『본초강목(本草綱目)』, 『증집의방신편(增輯醫方新編)』 등과 같은 고전문헌에 알코올 의존의 의존적 행동, 정신 증상, 신체적 증상 등이 서술되어 있으며, 현대 임상적으로는 갈근해주탕(葛根解酒湯), 창이자(蒼耳子)로 구성된 단주화(斷酒丸), 갈화(갈화)와 지구자로 구성된 해주지갈탕(解酒枳葛湯), 견우자(牽牛子), 갈근(葛根), 인진(茵陳), 진피(陳皮), 양강(良薑), 적봉령(赤茯苓), 초두구(草豆蔻) 등으로 구성된 성주청간탕(醒酒淸肝湯) 등이 사용된다. 이를 바탕으로 최근에는 한약물의 알코올중독 치료 효과에 관한 다양한 연구들이 이루어지고 있다.
- <5> 한은 알코올중독증을 유발시킨 흰쥐에 해주지갈탕 등을 투여하여 GOT, GPT, TG 등의 유의한 변화를 보고하였으며(한경승, 김지혁, 황의완 : 해주지갈탕, 단주화 및 성주청간탕이 실험적 Alcoholism에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, p.44, 1992), 방은 알코올중독증을 유발시킨 생쥐에 갈근해주탕 합 단주화(葛根解酒湯 合 斷酒丸) 및 해주지갈탕을 투여하여 Food-step수, Rearing 횟수, Rota-Rod에 의한 운동실조(motor incoordination)의 변화, 수중 T-미로 통과시간의 변화를 대조군과 비교하여 유의성있는 변화를 관찰하였고(방혜연, 황의완 : 葛根解酒湯 合 斷酒丸과 해주지갈탕이 실험적 알코올리즘 생쥐의 행동에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 5(1) : 93-101, 1994), 공은 갈근 추출물 및 그 주요 추출 성분인 다이드제인, 다이진(daidzin)이 에탄올을 선호하는 Syrian Golden 햄스터의 에탄올 섭취를 감소시킨다고 보고하였으며(Keung Wing-Ming, Vallee Bert L. : Daidzin and daidzein suppress free-choice ethanol intake by Syrian Golden hamsters, Proc. Natl. Acad. Sci, USA, pp.10008-10012, 1993), 오버스트리트는 갈근과 감귤(Citrus Reticulata)혼합추출물과 갈근 추출물이 P 랫트, Fawn-Hooded 랫트(알코올 선호 랫트)의 알코올 섭취량을 감소시키고(Overstreet DH, Lee YW, Rezvani AH, Pei YH, Criswell HE, Janowsky DS : Suppression of alcohol intake after administration of the Chinese herbal medicine, NPI-028, and its derivatives, Alcohol Clin Exp Res, 20(2) : 221-227, 1996), 알코올 금단 증상을 감소시켰으며, Giancarlo은 단삼(Salvia miltiorrhiza) 추출물이 에탄올을 선호하는 sP 랫트(Sardinian 알코올 선호 랫트)의 에탄올 섭취량과 선호도를 억제시키는 것을 보고하였으며(Giancarlo Colombo, Roberta Agabio, Carla Lobina, Roberta Reali, Paolo Morazzoni, Ezio Bombardelli and Gian Luigi Gessa : Salvia miltiorrhiza Extract Inhibits Alcohol Absorption, Preference, and Discrimination in sP Rats, Alcohol, 18(1) : 65-70, 1999), 임상 시험에 있어서도 윤은 갈근이 급성 주정중독 상태 및 금단상태에서 회복된 28세부터 59세 남자 환자들의 음주욕구를 감소시키며(윤종태, 김명정, 김성곤 : 갈근의 장기투여가 주정중독 환자의 음주욕구에 미치는 영향, 신경정신의학, 34(6) : 1937-1948, 1995), 김은 정상인과 알코올 의존 환자에서 갈근이 혈중 알코올 농도를 상승시키지 않는다고 하였다(김지훈, 김명정, 김성곤, 박제민, 정영인 : 정상 성인에서 갈근(Radix puerariae)의 장기투여가 혈중 알콜 농도에 미치는 영향, 신경정신의학, 35(6) : 1230-1235, 1996; 김명정, 정영인, 박제민, 김성곤, 최영길 : 알코올 의존 환자에서 갈근이 혈중 알코올 농도와 음주 효과에 미치는 영향, 신경정신의학, 35(6) : 1236-1246, 1996). 강 등은 갈근이 기초 음주 욕구를 감소시키고 음주 후에 유발되는 알코올 갈망의 증가를 차단한다고 하였다(강철중, 김명정, 김성곤, 김인주 : 알코올 의존환자에서 갈근이 알코올 갈망과 대뇌 국소혈류량의 변화에 미치는 영향, 신경정신의학, 36(5) : 861-869, 1997).
- <6> 알코올 의존증의 원인은 에탄올이 도파민을 비롯한 신경전달물질 시스템의 이상으로, 보상작용의 이상(reward system dysfunction)이 에탄올의 대한 내성, 강화를 일으켜, 결국 알코올에 대한 음주욕구(cravings)가 나타나 의존이 나타나는 것으로 알려져 왔다(Sanchis-Segura C, Grisel JE, Olive MF, Ghosland S, Koob GF, Roberts AJ, Cowen MS : Role of the Endogenous Opioid System on the Neuropsychopharmacological Effects of Ethanol: New Insights About an Old Question, Alcohol Clin Exp Res, 29(8) : 1522-1527, 2005). 이런 알코올 의존을 일으키는 기전으로 베타-엔돌핀의 전구물질인 POMC(proopiomelanocortin)가 내인성 아편계 물질체계(Endogenous Opioid system, EOPS)에서 중요한 역할을 하는데, 알코올을 좋아하는 정도가 높으면 시상하부의 POMC mRNA 레벨이 높고, 시상하부에서의 내인성 아편계 펩티드인 베타-엔돌핀의 유리를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 증가된 베타 엔돌핀은 아편계 물질 수용체(opioid receptors)의 결합처를 변화시켜 EOPS의 보상작용으로 강화효과(reinforcing effects)를 나타낸다고 알려져 있다. 이렇게 발생하는 알코올 음주욕구를 치료하기 위해, 날트렉손과 같은 약물은 아편계물질 길항제로서 작용하여 음주욕구를 감소시킨다고 연구되었다. 그런데, 한약물의 연구에 있어 효능에 대한 연구는 제한적으로 있었으나, 항갈망 기전 연구는 지금까지 없는 실정이다.

- <7> 본 발명에서 사용한 갈근해주탕은 한의학 임상에서 알코올중독 환자에게 사용되어 경험적 효과가 밝혀진 갈근해주탕 원방((경희대학교 한의과대학 부속한방병원 : 경희한방처방집, 경희의료원, 서울, p.533, 1997)에 해주독의 효능이 있는 지구자를 첨가한 것이다.
- <8> 갈근해주탕 원방의 알코올중독에 대한 연구로는 갈근해주탕과 지구자와 갈화로 구성된 해주지갈탕의 알코올중독에 미치는 효능을 입증하고자 Foot-step수, Rearing 횟수, Rota-Rod에 의한 운동실조의 변화, 수중 T-미로 통과시간의 변화 등 알코올리듬 생쥐의 행동을 관찰한 연구에서 Foot-step수의 변화는 갈근해주탕은 8시간에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 보였고, Rearing 횟수의 변화는 갈근해주탕 투여군이 3시간과 8시간에서 대조군에 비하여 유의성 있는 변화를 보였고 해주지갈탕 투여군은 8시간에서 유의성 있는 변화를 보였다. Rota-Rod에 의한 운동실조의 변화에서는 갈근해주탕 투여군이 8시간에서 유의성 있는 완화를 보였고, 수중 T-미로 성공 횟수의 변화는 증가 경향을 보였다. 수중 T-미로 통과시간의 변화는 갈근해주탕 투여군이 8시간에서 유의성 있는 감소를 보였으며(李時珍 : 本草綱目, 人民衛生出版社, 北京, pp.798, 862, 1277, 1577, 1558, 1718, 1982), 해주지갈탕의 알코올 중독에 미치는 효능을 알아보기 위해 흰쥐에게 실험적 알코올리듬을 유발시킨 후 실험한 결과, 벽 기어오르기 시간이 해주지갈탕에서 5시간과 8시간에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 보여(한경승, 김지혁, 황의완 : 해주지갈탕, 단주환 및 성주청간탕이 실험적 알코올 중독에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, p.44, 1992) 알코올중독으로 인한 공간지각 능력의 감퇴를 완화시키는 효능을 보여주었다.
- <9> 본 처방에 구성된 갈근(Radix Puerariae)은 두과(Leguminosae)에 속한 다년생 낙엽등본식물(落葉藤本植物)인 쑥의 뿌리로써 학명은 *Pueraria thunbergiana* B.이다. 갈근의 효능은 해주독, 발한해기(發汗解肌), 발표투진(發表透疹), 생진지갈(生津止渴), 해독배농(解毒排膿), 승양지사(升陽止瀉) 등의 작용이 있어 임상적으로는 감기, 구토, 홍역, 소갈, 설사, 협심증, 고혈압, 편두통, 망막동맥폐색증, 돌발성이루(突發性耳聾), 알코올중독증에 많이 활용되어 왔다.
- <10> 갈근의 장기 투여가 음주 효과에 미치는 영향은 알코올 의존으로 입원하여 급성주정중독 상태 및 금단상태에서 회복된 남자 환자를 대상으로 갈근 투여군과 위약투여군으로 나누어 4주간 투여한 결과 갈근 투여 전에 비하여, 음주 후 수축기 혈압은 음주 후 10, 30, 60, 90분에서 그리고 이완기 혈압은 음주 후 10, 30, 60, 90, 120분에서 유의하게 낮았다. 갈근 투여 전의 수축기 혈압은 음주 후 10분에서그리고 이완기 혈압은 음주 후 10, 30, 60분에서 음주 전에 비해 유의하게 상승하였으나 갈근 투여 후에는 알코올에 의한 우의 혈압상승 효과가 차단되었다. 갈근 투여 전에 비하여 투여 후에 운동량은 음주 후 60, 90분에서 유의하게 낮았고 목소리는 음주 후, 10,30, 60, 90분에서 유의하게 작았다(김명정, 정영인, 박제민, 김성곤, 최영길 : 알코올 의존 환자에서 葛根이 혈중 알코올 농도와 음주 효과에 미치는 영향, 신경정신의학, 35(6) : 1236-1246, 1996).
- <11> 급성 주정중독 상태 및 금단상태에서 회복된 28세부터 59세의 남자환자들 중 Short Michigan Alcoholism Screening Test의 13문항 중 4문항 이상, CAGE의 4문항 중 2문항 이상 해당자 64명을 대상으로 위약군, 갈근 2g투여군(아침, 저녁으로 1g씩), 갈근 4g(아침, 저녁으로 2g씩) 투여군의 3군으로 무작위 배정하여 매일 4주간 연속 투여하여 Likert Scale 및 VAS를 이용하여 음주욕구를 측정한 연구에서는, 갈근 투여군에서 음주욕구의 유의한 감소가 보였다(윤종태, 김명정, 김성곤 : 葛根의 장기투여가 주정중독 환자의 음주욕구에 미치는 영향, 신경정신의학,34(6) : 1937-1948, 1995).
- <12> 알코올 중독으로 입원하여 급성중독과 금단증상에서 회복된 환자 5명을 대상으로, 알코올 갈망, 불안 및 기분을 VAS로 측정하여 기초 알코올 갈망의 수준을 가늠하고 SPECT(단일광자방출전산화단층촬영술)를 이용하여 양측 미상핵 두부, 양측 시상 및 양측 안와전두엽의 국소 혈류량을 측정하여, 건조 갈근 과립 복용이 알코올 음료 섭취 후 나타나는 갈망과 두뇌의 국소 혈류량에 미치는 변화를 관찰한 연구에서는, 갈근이 알코올 중독환자에서 기초 음주 욕구를 감소시키고, 음주 후에 유발되는 알코올 갈망의 증가를 차단하며, 이러한 음주욕구의 변화와 변연계, 선조체 특히 미상핵의 국소 혈류량의 변화 사이에 의미있는 연관성이 존재할 것으로 시사된다고 하였다(강철중, 김명정, 김성곤, 김인주 : 알코올 의존환자에서 葛根이 알코올 갈망과 대뇌 국소혈류량의 변화에 미치는 영향, 신경정신의학, 36(5) : 861-869, 1997).
- <13> 본 발명에 주요 구성된 갈화(puerariae Flos)는 두과(Leguminosae)에 속한 다년생 낙엽등본인 쑥(*Pueraria thunbergiana* B.)의 꽃을 건조한 것으로 해주독의 효능이 현저하며 주지증상(醒胃止渴)의 작용을 하여, 임상에서 음주과도, 구갈, 위기손상(胃氣損傷) 등의 증상을 치료하여 간기능 회복에 널리 활용되고 있다.
- <14> 갈화에 대한 연구로는 쥐의 혈액, 뇌 및 간의 에탄올 농도를 유의있게 감소시켰으며, 갈화로부터 분리된 텍토리제닌(tectorigenin)과 가이카사포닌(kaikasaponin) III는 아급성 알코올 중독된 흰쥐 간의 자유 라디칼 생성계 효소를 억제시켜 알코올로 인한 간손상을 회복시키고, 알코올 대사 효소계에 관여하여 해독작용에 영향을 미쳤

다. 갈화 성분인 카카라이드(Kakkalide) 및 그 대사체 성분들이 마우스에서의 혈중 알코올 농도 억제 효과가 나타났으며(한여옥 : 갈화 성분인 Kakkalide 및 그 대사체의 mouse에서의 혈중 알코올농도 억제 효과와 그 대사효소의 부분 분리 정제, 경희대학교 대학원, 2002), 메탄올 추출액, 이소플라보노이드 분획, 트리테르페노이드 사포닌 분획 등의 갈화추출물이 혈중알코올 및 아세트알데히드의 농도에 미치는 영향과 알코올로 유발된 대사와 정 및 간기능에 미치는 영향에 대하여 연구하여 갈화의 알코올 해독효과가 나타났으며(Niiho Y, Yamazaki T, Nakajima Y, Itoh H, Takeshita T, Kinjo J, Nohara T. : Pharmacological studies on puerariae flos. : I. The effects of pu-erariae flos on alcoholic metabolism and spontaneous movement in mice, Yakugaku Zasshi, 109(6) : 424-431, 1989), 갈화 약침이 알코올 중독 흰쥐의 치상회에서 더 많은 신경세포를 생성시키는 것으로 나타났다(서정철, 김이화, 장미현, 김연정, 정주호, 김창주, 김연희, 임백민 : 갈화 약침이 알콜 중독 흰쥐의 치상회에서 신경세포 생성에 미치는 영향, 대한침구학회지, 18(6) : 206-214, 2001).

<15> 또한, 본 발명의 주요 약물인 지구자는 갈매나무과(Rhamnaceae)식물인 헛개나무(*Hovenia dulcis* T.)의 육질이 있는 과실 꼭지가 달린 열매나 종자로 지갈제번(止渴除煩), 청열(淸熱), 해주독, 통리이변(通利二便)시키는 효능을 가지고 있어 해독을 푸는데 주로 이용되었다. 헛개나무의 추출물로부터 숙취해소를 시키는 C17H16O8의 호베노-둘리놀(hovenol-dulinol)을 분리하여 알코올과 함께 쥐에 투여한 결과 ADH와 ALDH의 효소활성이 증가하였고(홍유리, 김민희, 안철, 이현용, 김종대 : 헛개나무 추출물의 생리활성에 관한 연구, 강원대학교 농업과학연구소 논문집, 11 : 1-11, 2000), 헛개나무 추출물과 오리나무 추출물이 쥐와 사람의 체내 알코올 분해능을 증가시키며, 쥐에 간염을 유발한 후에 헛개나무 추출물을 첨가하였을 경우 간염 치료 효과가 있고, 헛개나무의 추출물이 알코올을 투여한 쥐의 혈중 알코올 농도를 저하시키는 효과가 있음이 보고되었다(안상옥, 김영길, 김민희, 이병익, 이상호, 권혁일, 황백, 이현용 : 헛개나무와 오리나무 추출물의 간 해독작용 및 체내 알콜 분해능 비교, 韓國藥用作物學會誌, 7(4) : 263-268, 1999). 지구자를 포함한 숙취해소용 음료로 개발된 건강음료를 각각 알코올 투여 30분 전과 후에 경구 섭취시키고 섭취 후 1시간, 5시간째 혈액 중 알코올 농도와 아세트알데히드 농도를 측정된 결과, 대조군에 비해 지구자를 포함한 건강음료가 알코올 농도를 48%, 아세트알데히드 농도를 36% 낮추었다(강성희, 김성문, 김진현 : 헛개열매 추출물의 산 가수분해에 의한 알코올 분해 효능 증대, 한국생물공학회지, 20(2) : 129-132, 2005). 지구자 물추출물이 에탄올 중독된 흰쥐의 학습능력에 미치는 영향을 실험하기 위하여 정상군(normal), 25%에탄올 투여군(control) 및 지구자 물 추출물과 에탄올을 함께 투여한 검액 투여군으로 나누어 10일간 각약물을 투여한 후 11일째 1일 3회 실험을 직선 수로 실험을 시행하고, 다음날부터 3일간 1일 3회씩 실험한 T-미로실험을 시행한 결과, 정상군은 직선 수로실험과 T-미로실험에서 학습에 의하여 목표점 도달 소요시간이 유의성 있게 단축되고, 대조군은 기억력 쇠퇴로 인하여 학습능력이 현저히 감소하나, 지구자의 물 추출물을 계속적으로 투여한 시료군의 경우 에탄올 중독으로 저하된 학습 능력에 유의성 있는 회복을 나타냈다(임종필, 최훈, 송정모 : 에탄올에 중독된 흰쥐의 학습능력에 미치는 지구자의 효과, 韓國藥用作物學會誌, 11(3) : 232-235, 2003). 헛개나무의 수피, 목부, 과경 추출물은 혈중 알코올 농도를 저하시켰으며, 과경의 메탄올추출물보다는 열수 추출물이 알코올 분해효소(alcohol dehydrogenase)의 활성을 높여 알코올을 분해하는 것으로 나타났다(임종필, 최훈, 송정모 : 에탄올에 중독된 흰쥐의 학습능력에 미치는 지구자의 효과, 韓國藥用作物學會誌, 11(3) : 232-235, 2003). 헛개 나무 추출물과 오리나무 추출물들이 쥐와 사람을 대상으로 실험한 결과 체내 알코올 분해능이 있는 것으로 나타났으며, 쥐 실험의 경우 헛개 나무가 32%의 알코올 분해능이 증진되었으며 오리나무는 13%정도로 나타났으며 혼합물인 경우 42%의 높은 것으로 나타났다. 또한 쥐와 사람에게 알코올과 같이 투여시 ADH와 ALDH효소 활성을 증진시킴으로써 알코올 분해 증진효과를 확인 할수 있었다(김영길, 이상호, 권혁일, 황백, 이현용, 안상옥, 김민희, 이병익 : 헛개나무와 오리나무 추출물의 간 해독작용 및 체내 알콜 분해능 비교, 韓國藥用作物學會誌, 7(4) : 263-268, 1999).

<16> 향부자는 방동사니과(Cyperaceae)에 속한 다년생 초본인 향부자(*Cyperus rotundus* L.)의 근경을 건조한 것으로 이기해울(理氣解鬱), 조경지통(調經止痛) 등의 효능이 있어 간기울체로 인한 흉협완복창통(胸脅腕腹脹痛), 월경부조 등을 치료한다. 향부자 추출물의 메스암페타민과 니코틴에 대한 의존, 우울증, 불안증에 대한 효과와 치료 약물로서 케나비노이드 수용체와 시그마 수용체와의 연관성을 연관성을 보기위한 연구에서는 향부자추출물이 CB₁ 과 σ_1 수용체 길항 또는 효현 효과를 통해 약물 중독과 우울증, 불안증에 대한 치료 효과를 가진 것으로 판단되었다(정민숙 : 메스암페타민과 니코틴 의존에 대한 향부자 추출물의 영향, 전북대학교 대학원, 2006).

<17> 위와 같은 단미연구를 살펴보면, 갈근, 갈화, 지구자, 향부자 등은 갈근해주탕이 알코올 의존 치료하는 중요한 작용을 하는 약물로 사료되며, 나머지 약물인 양강, 산사, 목과(모과), 백출, 지실, 진피, 봉출, 고삼 등의 효능과 기타 관련 연구에 대하여는 하기 표 1과 같다.

표 1

<18>

	기원	효능	연구내용
양강	생강과(Zingiberaceae)에 속한 다년생 초목인 고량강(<i>Alpinia officinarum</i> H.)의 근경을 건조	온위, 거풍, 행기	간염 vaccine 내에 함유된 HBs 항원과 결합하는 간염치료제 연구.
산사	장미과(Rosaceae)에 속한 산사나무(<i>Crataegus pinnatifida</i> B.)의 열매를 건조	소식적(消食積), 산어혈(散瘀血)	알코올에 대한 고지혈증과 간손상 예방 효과 연구
목과	장미과(Rosaceae)에 속한 낙엽관목인 모과나무(<i>Chaenomeles sinensis</i> K.)의 성숙한 과실을 건조	서근활락(舒筋活絡), 화습(化濕)	한약의 자유라디칼 소거활성시험(기존항산화제와 비교)연구
고삼	두과(Leguminosae)에 속한 다년생 초본인 고삼(<i>Sophora flavescens</i> AIT)의 근을 건조	정열 조습(燥濕) 거풍(祛風) 살충(殺蟲)	XO/HX에 의하여 증식한c-fos양성세포수의 증가대한 억제효과 연구 카드뮴 독성에 의하여 손상된 NIH 3T3 섬유아세포의 재생효과 연구
진피	운향과(Rutaceae)에 속한 소교목인 귤(<i>Citrus unshiu</i> Markovich) 및 동속근연식물의 성숙한 과실의 과피를 건조	이기(理氣), 조습(燥濕)	대장수송능, 사하작용, 소장수송능 변화 연구
지실	운향과(Rutaceae)에 속한 탕자나무(<i>Poncirus trifoliata</i> R.)의 어린 과실을 건조	과기산비, 사담소적(瀉痰消積)	대장수송능, 사하작용, 소장수송능 변화 연구
봉출	생강과(Zingiberaceae)에 속한 다년생 속근초목인 아출(<i>Curcuma zedoaria</i> Rosc)의 근경	거담(祛痰), 통경(通經), 화적(化積), 지통(止痛)	봉출을 수제알코올 약침액의 진통효과 연구
백출	국화과(Compositae)에 속한 삼주(<i>Atractylodes japonica</i> K.)의 뿌리 줄기를 건조	보비익위(補脾益胃), 조습(燥濕),和中(化中)	방향건위제, 지사제, 이뇨제, 혈압강화제, 항염제 등의 약리작용

<19>

상기 기존 갈근해주탕은 갈화와 지구자를 포함하고 있지 않으며, 알코올 분해능을 밝힌 바 있으나 알코올 의존증의 유전적 요인에 대한 효과 연구는 지금까지 없는 실정이다.

<20>

한편, 알코올을 좋아하는 정도가 높으면 시상하부의 POMC mRNA 발현 정도가 높고 알코올은 시상하부에서 베타-엔돌핀의 생성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Dennis D. Rasmussen, Brian M. Boldt, Charles W. Wilkinson, and Dennis R. Mitton : Opiomelanocortin Gene Expression And Implications For Dependence, Relapse, And Deprivation Effect ALCOHOLISM: CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH, 26(4) : 535-546, 2002). 베타 엔돌핀은 POMC의 PTP(posttranslational processing)에 의해 생성되는데, POMC는 ACTH, 베타-엔돌핀, α -, β -, γ -MSH의 생산에 필요한 전구물질로 뇌하수체와 시상하부에서 랩틴에 의해 발현된다. POMC는 각종 호르몬을 생산하여 GnRH의 분비에 영향을 주며, 생식 생리에서 중요한 역할을 담당한다. 베타 엔돌핀을 직접적으로 측정하는 것은 기술적으로 매우 어렵기 때문에, 알코올 의존을 연구하기 위하여는 β -EPLP (beta-endorphin-like peptide), POMC 일차 전사체나 POMC mRNA등을 측정한다. 측정 부위로는 뇌 시상하부의 궁상핵을 선택하여 측정하는데, 이는 시상하부에서 POMC를 합성하는 기전이 있기 때문이다.

<21>

또한, 알코올은 Endogenous Opioid system(EOPS)을 활성도를 증가시킨다고 알려졌는데 특히 알코올이 POMC를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 알코올을 투여하였을 때, 알코올을 선호하지 않는 쥐(nP rats)에 비해 알코올을 선호하는 쥐(P rats)의 시상하부에서 POMC mRNA를 증가시켰으며, 높은 자발적 알코올 섭취를 하였으며 (Krishnan-Sarin S, Wand GS, Li XW, Portoghese PS, Froehlich JC : Effect of mu opioid receptor blockade on alcohol intake in rats bred for high alcohol drinking, Pharmacol Biochem Behav, 59(3) : 627-635, 1998), 2개월 된 숫컷 C57BL/6와 DBA/2를 알코올 섭취 후 POMC mRNA 발현을 비교한 결과, C57BL/6형 생쥐가 DBA/2형보다 높게 나왔다(Jamensky NT, Gianoulakis C : Comparison of the Proopiomelanocortin and Proenkephalin Opioid Peptide Systems in Brain Regions of the Alcohol-Preferring C57BL/6 and Alcohol-Avoiding DBA/2 Mice, Alcohol, 18(2-3) : 177-187, 1999). 자발적인 알코올섭취가 C57BL/6와 DBA/2의 뇌의 베타-엔돌핀 시스템에 미치는 영향을 알아보기 위한 연구에서 C57BL/6가 DBA/2보다 훨씬 알코올 섭취량이 많았으며 자발적인 알코올 섭취는 시상하부에 있는 POMC mRNA를 증가시켰다. 그리고 베타 엔돌핀 유사 펩티드가 두

렷히 증가하였다. 하지만 DBA/2에서는 베타-엔돌핀 시스템의 활성도를 변화시키지 못했다(De Waele J, Gianoulakis C : Enhanced activity of the brain β -endorphin system by free-choice ethanol drinking in C57BL/6 but not DBA/2 mice, European Journal of Pharmacology, 258(1-2) : 119-129, 1994). 높은 충동적 행동인 특징인 AA 랫트와 이에 비해 낮은 알코올 섭취를 가지는 ANA 랫트와 POMC mRNA 발현을 비교한 결과 AA 랫트가 보다 높은 경향을 나타냈다(Lindblom J, Wikberg JE, Bergstrom L : Alcohol-preferring AA rats show a derangement in their central melanocortin signalling system, Pharmacol Biochem Behav, 72(1-2) : 491-496, 2002). 또한 AA쥐가 ANA쥐에 비해 공상핵에서 POMC mRNA의 양이 52%나 더 많으며, ANA쥐와 AA 쥐들을 대상으로 인시츄 하이브리다이제이션 방법을 통해 프로오피오멜라노코르틴, 프로엔케팔린, 프로디노르핀 mRNA를 비교한 결과, AA쥐들이 시상하부 공형핵 안에 프로오피오멜라노코르틴 mRNA, 전두엽 피질 안의 프로엔케팔린 mRNA, 시상의 내측등쪽 피질 안에 프로디노르핀 mRNA가 의미있게 더 많음을 보여주었다(Marinelli PW, Kiianmaa K, Gianoulakis C : Opioid propeptide mRNA content and receptor density in the brains of AA and ANA rats, Life Sciences, 66(20) : 1915-1927, 2000). 임상 연구에서는 12명의 만성 알코올중독자와 12명의 비알코올중독자에게 혈액을 채취하여 비교한 결과, 만성 알코올중독자에서 유의한 정도로 POMC mRNA 상승한 것이 나타났다(Rosenberger P, Muhlbauer E, Weissmuller T, Rommelspacher H, Sinha P, Wernecke KD, Finckh U, Rettig J, Kox WJ, Spies CD : Decreased proopiomelanocortin mRNA in lymphocytes of chronic alcoholics after intravenous human corticotropin releasing factor injection, Alcohol Clin Exp Res, 27(11) : 1693-1700, 2003). 또한 알코올중독자와 대조군의 POMC mRNA를 비교한 결과, 알코올중독자의 림프구에서 대조군보다 높았다(Winkler A, Schmidt LG, Rommelspacher H, Melzig MF : Quantification of proopiomelanocortin mRNA in peripheral lymphocytes of alcoholics, Alcohol, 15(1) : 43-50, 1998).

<22> 이에, 본 발명자들은 알코올 의존 동물모델인 C57BL/6 생쥐를 이용한 실험결과 갈화와 지구자를 포함한 혼합 생약재 추출물이 상기 동물 모델의 알코올 섭취 선호도를 감소시키고 더 나아가 베타 엔돌핀의 전구물질인 POMC mRNA 발현 정도를 유의하게 감소시키는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

<23>

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<24> 본 발명의 목적은 부작용이 없는 천연 성분인 갈화 및 지구자를 포함한 혼합 생약재 추출물을 이용한 알코올 의존증 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

<25> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출된 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 모과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼을 포함하는 혼합 생약재 추출물을 제공한다.

<26> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약재 추출물을 제조하는 방법을 제공한다.

<27> 또한, 본 발명은 상기 추출물을 유효성분으로 함유하는 알코올 의존증 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

<28> 아울러, 본 발명은 상기 추출물을 유효성분으로 함유하는 알코올 의존증 예방 및 개선용 건강식품을 제공한다.

<29>

<30> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<31> 본 발명은 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출된 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 모과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼을 포함하는 혼합 생약재 추출물을 제공한다.

<32> 상기 혼합 생약재는 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 모과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼을 각각 2~30 중량%을 포함하는 것이 바람직하며, 갈근, 갈화 및 지구자를 10~20 중량%, 양강, 산사, 향부자 및 지실을 5~12 중량%, 백출, 모과 및 고삼을 2~8 중량% 및 진피 및 봉출을 2~6 중량%을 포함하는 것이 더욱 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

<33> 상기 알코올은 C₁ 내지 C₄ 저급 알코올인 것이 바람직하며, 이에 제한되는 것은 아니며, 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올이 바람직하다.

- <34> 또한, 본 발명은
- <35> 1) 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 목과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼 각각 2~30 중량%를 포함하는 혼합 생약재를 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 이용하여 상온 또는 가열 진탕하여 추출액을 제조하는 단계;
- <36> 2) 단계 1의 추출액으로부터 고형분을 제거하고 농축하는 단계로 구성된 혼합 생약재 추출물을 제조하는 방법을 제공한다.
- <37> 본 발명의 혼합 생약재 추출물은 기존의 경희의료원 한방병원 『경희한방처방집』의 갈근해주탕 원방에(경희대학교 한의과대학 부속한방병원 : 경희한방처방집, 경희의료원, 서울, p.533, 1997)에 갈화 및 지구자를 추가적으로 함유한 것으로, 갈근, 갈화, 지구자, 향부자, 양강, 산사, 목과, 백출, 지실, 진피, 봉출 및 고삼을 각각 2~30 중량% 포함하는 것을 특징으로 한다.
- <38> 본 발명의 혼합 생약재 추출물의 항갈망 효과와 기전을 알아보기 위하여 알코올 의존 동물 모델인 C57BL/6 생쥐를 이용하여 동물실험을 실시하였다. 본 연구의 대상으로 사용된 동물인 C57BL/6형 생쥐는 생체 활성이 높으며, 뇌수종과 눈 이상 발생율이 높고 탈모가 잘되어 종양세포 이식연구에 사용되고 알코올, 물핀에 대하여 기호성이 높아 중독의 유전적 연구, 약물의 효능 연구 등에 많이 사용된다(Meliska CJ, Bartke A, McGlacken G, Jensen RA : Ethanol, nicotine, am-phetamine, and aspartame consumption and preferences in C57BL/6 and DBA/2 mice, Pharmacol Biochem Behav, 50(4) : 619-626, 1995). 특히, C57BL/6은 유사한 종인 C3H/HeJ에 비해 구강으로 자유롭게 섭취한 알코올, 니코틴 소비에서 월등히 높은 차이가 있는 것으로 알려졌으며(Li XC, Karadsheh MS, Jenkins PM, Stitzel JA : Genetic correlation between the free-choice oral consumption of nicotine and alcohol in C57BL/6JxC3H/HeJ F2 intercross mice, Behav Brain Res, 157(1) : 79-90, 2005), C57BL/6은 129P3/J 순종의 생쥐보다 전체적으로 알코올 섭취량과 알코올 선호도가 높았으며(Bachmanov AA, Reed DR, Li X, Li S, Beauchamp GK, Tordoff MG : Voluntary ethanol consumption by mice: genome-wide analysis of quantitative trait loci and their interactions in a C57BL/6ByJ x 129P3/J F2 intercross, Genome Res, 12(8) : 1257-1268, 2002), C57BL/6은 알코올 비선호적인 생쥐인 DBA/2에 비해 월등히 높은 알코올 섭취와 알코올 선호도를 보였다(Meliska CJ, Bartke A, McGlacken G, Jensen RA : Ethanol, nicotine, am-phetamine, and aspartame consumption and preferences in C57BL/6 and DBA/2 mice, Pharmacol Biochem Behav, 50(4) : 619-626, 1995). 이렇게, C57BL/6은 알코올의 자발적 섭취량과 알코올 선호도가 높아 알코올 의존의 치료 약물 연구에 많이 사용되는 동물모델이다(Unwin JW, Taberner PV : Voluntary ethanol consumption after ethanol and acetaldehyde treatment in alcohol-preferring C57BL mice, Psychopharmacology (Berl), 78(4) : 361-364, 1982).
- <39> 또한, 본 발명에서는 행동학적으로도 알코올 의존화하기 위하여 변형된 유한 접근법(limited access procedure)을 이용하였다(Stromberg MF, Casale M, Volpicelli L, Volpicelli JR, O' BRIEN CP : A Comparison of the Effects of the Opioid Antagonists Naltrexone, Naltrexone, and β -Funtrexamine on Ethanol Consumption in the Rat, Alcohol, 15(4) : 281-289, 1998). 즉, 3주령의 C57BL/6형 생쥐를 3주간 안정화시킨 후, 약물 투여를 10일간 하면서 2시간 동안 알코올을 제공하여 2시간 알코올 섭취량을 측정하고, 나머지 22시간 동안의 물 섭취량을 측정하였는데, 이런 유한접근법은 알코올을 24시간 제공하는 방법(24h two-bottle choice technique)에 비해, 알코올 소비에 있어 다양한 약리학적 물질들의 효과에 대한 연구에 적합하며, 짧은 반감기를 가진 약물 혹은 두개 강내 주입으로 약효 지속시간이 짧은 약물연구에 효과적이며, 알코올 섭취에 있어 다양한 행동학적, 유전학적 요소까지 측정할 수 있는 장점이 있어 알코올 의존 연구에 많이 적용된다(Le AD, Ko J, Chow S, Quan B : Alcohol consumption by C57BL/6, BALB/c, and DBA/2 mice in a limited access paradigm, Pharmacol Biochem Behav, 47(2) : 375-378, 1994). 본 발명에서는 알코올 의존화를 위해 유한 접근법 적용하였는데, C57BL/6형 생쥐는 의존화 기간 직후, 2시간 동안 10%알코올 섭취량은 3.3g/kg정도이었다. 이는 다른 연구에서 실시하였던 알코올 의존 동물의 알코올 섭취량을 비교하면 충분한 선호적 알코올 섭취를 한다고 볼 수 있다.
- <40> 본 발명의 바람직한 실시예에서는 혼합 생약재 추출물의 알코올 의존에 작용하는 기전을 밝히기 위해 베타-엔돌핀의 전구물질인 POMC mRNA 발현 정도를 측정하였다. 알코올 의존의 정확한 원인은 아직 밝혀지지 않았지만, 베타-엔돌핀의 영향이 큰 것으로 알려져 있다. 에탄올은 내인성 아편계 펩티드인 베타-엔돌핀을 증가시키고, 아편계 수용체(opioid receptors)의 결합처를 변화시켜 Endogenous Opioid system(EOPS)의 이상으로 강화효과(reinforcing effects)를 나타낸다고 알려져 있다(Blum K, Topel H : Opioid peptides and alcoholism:

genetic deficiency and chemical management, *Funct Neurol*, 1(1) : 71-83, 1986; Topel H : Beta-endorphin genetics in the etiology of alcoholism, *Alcohol*, 5(2) : 159-165, 1988; Gianoulakis C : The effect of ethanol on the biosynthesis and regulation of opioid peptides, *Experientia*, 45(5) : 428-435, 1989). 알코올을 좋아하는 정도가 높으면 시상하부의 POMC mRNA 발현 정도가 높고 알코올은 시상하부에서 베타-엔돌핀의 생성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Dennis D. Rasmussen, Brian M. Boldt, Charles W. Wilkinson, and Dennis R. Mitton : Opiomelanocortin Gene Expression And Implications For Dependence, Relapse, And Deprivation Effect ALCOHOLISM: CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH, 26(4) : 535-546, 2002). 베타 엔돌핀은 POMC의 PTP(posttranslational processing)에 의해 생성되는데, POMC는 ACTH, 베타-엔돌핀, α -, β -, γ -MSH의 생산에 필요한 전구물질로 뇌하수체와 시상하부에서 랩틴에 의해 발현된다. POMC는 각종 호르몬을 생산하여 GnRH의 분비에 영향을 주며, 생식 생리에서 중요한 역할을 담당한다. 베타 엔돌핀을 직접적으로 측정하는 것은 기술적으로 매우 어렵기 때문에, 알코올 의존을 연구하기 위하여는 β -EPLP (β -endorphin-like peptide), POMC 일차 전사체나 POMC mRNA등을 측정한다. 측정 부위로는 뇌 시상하부의 궁상핵을 선택하여 측정하는데, 이는 시상하부에서 POMC를 합성하는 기전이 있기 때문이다.

<41> 본 발명의 혼합 생약재 추출물의 알코올 의존에 대한 치료 기전을 알아보기 위해 POMC mRNA를 측정한 결과, 갈근해주탕 1일 투여군에 비해 7일 투여군에서 유의성 있게 낮아졌다(도 1). 알코올은 Endogenous Opioid system(EOPS)을 활성도를 증가시킨다고 알려졌는데 특히 알코올이 POMC를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 알코올을 투여하였을 때, 알코올을 선호하지 않는 쥐(nP rats)에 비해 알코올을 선호하는 쥐(P rats)의 시상하부에서 POMC mRNA를 증가시켰으며, 높은 자발적 알코올 섭취를 하였으며(Krishnan-Sarin S, Wand GS, Li XW, Portoghesi PS, Froehlich JC : Effect of mu opioid receptor blockade on alcohol intake in rats bred for high alcohol drinking, *Pharmacol Biochem Behav*, 59(3) : 627-635, 1998), 2개월 된 숫컷 C57BL/6와 DBA/2를 알코올 섭취 후 POMC mRNA 발현을 비교한 결과, C57BL/6형 생쥐가 DBA/2형보다 높게 나왔다(Jamensky NT, Gianoulakis C : Comparison of the Proopiomelanocortin and Proenkephalin Opioid Peptide Systems in Brain Regions of the Alcohol-Preferring C57BL/6 and Alcohol-Avoiding DBA/2 Mice, *Alcohol*, 18(2-3) : 177-187, 1999). 자발적인 알코올섭취가 C57BL/6와 DBA/2의 뇌의 베타-엔돌핀 시스템에 미치는 영향을 알아보기 위한 연구에서 C57BL/6가 DBA/2보다 훨씬 알코올 섭취량이 많았으며 자발적인 알코올 섭취는 시상하부에 있는 POMC mRNA를 증가시켰다. 그리고 베타 엔돌핀 유사 펩티드가 뚜렷히 증가하였다. 하지만 DBA/2에서는 베타-엔돌핀 시스템의 활성도를 변화시키지 못했다(De Waele J, Gianoulakis C : Enhanced activity of the brain β -endorphin system by free-choice ethanol drinking in C57BL/6 but not DBA/2 mice, *European Journal of Pharmacology*, 258(1-2) : 119-129, 1994). 높은 충동적 행동인 특징인 AA 랫트와 이에 비해 낮은 알코올 섭취를 가지는 ANA 랫트와 POMC mRNA 발현을 비교한 결과 AA 랫트가 보다 높은 경향을 나타냈다(Lindblom J, Wikberg JE, Bergstrom L : Alcohol-preferring AA rats show a derangement in their central melanocortin signalling system, *Pharmacol Biochem Behav*, 72(1-2) : 491-496, 2002). 또한 AA쥐가 ANA쥐에 비해 궁상핵에서 POMC mRNA의 양이 52%나 더 많으며, ANA쥐와 AA 쥐들을 대상으로 인시츄 하이브리다이제이션 방법을 통해 프로오피오멜라노코르틴, 프로엔케팔린, 프로디노르핀 mRNA를 비교한 결과, AA쥐들이 시상하부 궁상핵 안에 프로오피오멜라노코르틴 mRNA, 전두엽 피질 안의 프로엔케팔린 mRNA, 시상의 내측등쪽 피질 안에 프로디노르핀 mRNA가 의미있게 더 많음을 보여주었다(Marinelli PW, Kiianmaa K, Gianoulakis C : Opioid propeptide mRNA content and receptor density in the brains of AA and ANA rats, *Life Sciences*, 66(20) : 1915-1927, 2000). 임상 연구에서는 12명의 만성 알코올중독자와 12명의 비 알코올중독자에게 혈액을 채취하여 비교한 결과, 만성 알코올중독자에서 유의한 정도로 POMC mRNA 상승한 것이 나타났다(Rosenberger P, Muhlbauser E, Weissmuller T, Rommelspacher H, Sinha P, Wernecke KD, Finckh U, Rettig J, Kox WJ, Spies CD : Decreased proopiomelanocortin mRNA in lymphocytes of chronic alcoholics after intravenous human corticotropin releasing factor injection, *Alcohol Clin Exp Res*, 27(11) : 1693-1700, 2003). 또한 알코올중독자와 대조군의 POMC mRNA를 비교한 결과, 알코올중독자의 림프구에서 대조군보다 높았다(Winkler A, Schmidt LG, Rommelspacher H, Melzig MF : Quantification of proopiomelanocortin mRNA in peripheral lymphocytes of alcoholics, *Alcohol*, 15(1) : 43-50, 1998).

<42> 이를 종합해 볼 때, 갈근해주탕은 POMC mRNA 발현을 낮추어 알코올 선호도를 감소시켜, 알코올의 영향을 줄여 알코올의 섭취를 막는다고 해석할 수 있다.

<43> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 알코올 의존증 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

<44> 본 발명의 약학 조성물은 상기 혼합 생약제에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 상기 조성물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 각종의 투여 경로를 통하여 유효한 양으로 투여될 수 있다. 상기 용도는 약제학적으로 허용되는 담체를 함께 함유한다. 보다 구체적으로 약제학적으로 허용되는 담체로는 멸균 용액, 정제, 코팅정 및 캡슐과 같은 공지된 제형들에 사용될 수 있는 표준의 약제학적 담체라면 어느 것이든 가능하다. 통상적으로 담체는 전분, 밀크, 당, 특정종류의 클레이, 젤라틴, 스테아린산, 탈크, 식물성 기름 또는 오일, 검, 글리콜류 등의 부형제 또는 기타 다른 공지의 부형제를 포함할 수 있으며 또한 풍미제, 색소 첨가제 및 다른 성분들이 포함될 수 있다. 본 발명의 혼합 생약제 추출물을 유효성분으로 함유한 조성물을 투여하기 위한 제제는 통상적인 방법으로 경구, 정맥내, 근육내, 경피 투여의 방법에 의해 투여할 수 있지만, 이들 방법에만 한정되는 것은 아니다. 실제 임상투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제가 포함될 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하 주사, 정맥주사 또는 근육내 주사에 의한다. 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는 상기 생약조성물을 포함하여 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제제한다.

<45> 본 발명의 조성물의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 불활성화율, 배설속도, 환자의 연령, 성별 및 상태, 치료할 질병의 중증 정도에 따라 적절히 선택되나, 일반적으로 1일에 1회 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 조성물에서 상기 혼합 생약제 추출물을 유효성분으로 함유하는 경우, 그 유효용량은 100~1,000 mg/kg/day이고, 바람직하기로는 100~500 mg/kg/day 이다. 상기 제제의 정확한 양, 투여경로 및 횟수는 제제의 특성, 투여대상의 체중 및 상태, 그리고 사용하고자 하는 특정 유도체의 특성에 따라 용이하게 결정할 수 있다.

<46> 본 발명의 조성물은 알코올 의존증의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

<47> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약제 추출물을 유효성분으로 함유하는 알코올 의존증 예방 및 개선용 건강식품을 제공한다.

<48> 본 발명의 혼합 생약제 추출물을 식품으로 사용할 경우, 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 혼합 추출물을 식품 또는 음료의 제조 시에 원료에 대하여 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다. 본 발명의 혼합 추출물의 유효용량은 상기 약학적 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

<49> 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 혼합 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

효 과

<50> 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 혼합 생약제 추출물을 포함하는 조성물은 자발적 알코올 섭취와 관련된 POMC mRNA의 발현을 감소시켜 알코올의 섭취를 막음으로써 알코올 의존증의 예방 및 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<51> 이하, 본 발명을 실시예 및 시험예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예 및 시험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용을 한정하지는 않는다.

<실시예 1> 혼합 생약재 추출물(이하, '갈근 해주탕'이라 칭함)의 제조

경희의료원 한방병원 『경희한방처방집』의 갈근해주탕 원방에(경희대학교 한의과대학 부속한방병원 : 경희한방처방집, 경희의료원, 서울, p.533, 1997) 지구자 12 g을 첨가하여 새롭게 구성된 처방으로, 1첩(85 g)단위로 10첩(850 g)을 전탕 후 냉동 건조하여 분말상태로 만들어 사용하였다. 갈근해주탕의 구성내용 및 분량은 표 2와 같다.

표 2

갈근해주탕의 구성내용 및 분량

구성내용	학명	Dose
갈근	Puerariae Radix	12.0g
갈화	Puerariae Flos	12.0g
양강	Alpiniae officinarum Rhizoma	8.0g
산사초	Crataegii Fructus	8.0g
향부자	Cyperi Rhizoma	8.0g
지실	Aurantii immaturus Fructus	8.0g
백출	Atractylodis macrocephalae Rhizoma	4.0g
목과(모과)	Chaenomelis Fructus	4.0g
고삼	Sophorae Radix	4.0g
진피	Citri Pericarpium	3.0g
봉출	Zedoariae Rhizoma	2.0g
지구자	Hovenia Semen	12.0g
총양		85.0g

약재 1첩당 물 300cc의 비율로 혼합하여 환류 냉각장치에서 3시간 동안 가열 후 1차 전탕액을 얻었다. 이 전탕액을 다시 회전식 진공플라스크에 넣고 감압 농축시켜 2차 원액을 얻었다. 2차 원액은 다시 동결건조과정을 거쳐 고체 형태의 추출물로 만들어졌다. 이를 분쇄기로 분쇄하여 분말상태 103.8g을 얻었다.

이를 일반 성인(60kg)의 kg당 1일 섭취량으로 환산하면 345 mg/kg이며, 다시 생쥐 한 마리당 섭취량으로 계산하면 8.6 mg/생쥐(체중 25g기준)이다.

<실시예 2> 갈근해주탕 low dose군(GHT-L)

갈근해주탕 low dose군(GHT-L)의 섭취용량은 상기 실시예 1에서 제조된 갈근해주탕을 생쥐의 1일 섭취량보다 2배 높은 농도로 투여하여 1일 17.2 mg/생쥐(688 mg/kg)을 투여하였다.

<실시예 3> 갈근해주탕 high dose군(GHT-H)

갈근해주탕 high dose군(GHT-H)은 생쥐의 1일 섭취량보다 10배 높은 농도로 투여하여 1일 86.0 mg/생쥐(3450 mg/kg)을 투여하였다.

<비교예 1> 갈화와 지구자가 없는 갈근해주탕

기존의 갈화와 지구자가 포함되지 않은 갈근해주탕을 비교예 1로 하였다. 비교예 1의 갈근해주탕은 갈화와 지구자를 제외하고 실시예 1과 동일하게 제조하였다. 비교예 1의 갈근해주탕은 상기 GHT-H군과 동일하게 생쥐의 1일 섭취량보다 10배 높은 농도로 투여하여 1일 86.0mg/mouse(3450mg/kg)을 투여하였다.

<실험예 1> 갈근해주탕의 알코올 의존증 치료효과

본 발명의 갈근해주탕의 알코올 의존증의 치료효과를 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

1. 실험동물

실험 대상으로 3주령의 C57BL/6형 수컷 생쥐(효창 science, 대구)를 사용하였다. C57BL/6형 수컷 생쥐는 도착 일로부터 5일 동안(실험 5일째까지) 한 우리당 5마리씩 사육하면서 실험환경에 적응시켰다. 이때 물과 생쥐용

배합사료(삼양유지사료주식 회사, 서울)는 24시간 동안 자유로이 섭취하도록 하였다.

<68> 이후 대상 생쥐의 행동학적 알코올 의존화를 위하여 변형된 유한 접근법(limited access procedure)을 이용하였다. 즉, 대상 생쥐를 한 우리당 한 마리씩 사육하면서 일주일 동안(실험 12일째까지)은 물 대신에 10%(v/v) 알코올(Sigma St, Louis, MO, USA)만을 사료와 함께 24시간 동안 제공함으로써 알코올 섭취를 강요하였다. 이후 3주 동안(실험 33일째까지)에는 매일 오후 2시부터 4시사이의 2시간 동안은 물 제공 없이 10%(v/v) 알코올만을 제공함으로써 이때에만 알코올 섭취를 할 수 있다는 것을 학습시켰다. 알코올이 제공되지 않는 나머지 22시간에는 물을 제공하였다. 사료는 모두 24시간 제공하였다. 명암은 06시부터 18시까지 12시간 간격으로 조절하였다.

<69> 약물 투여는 실험 38일째부터 47일째까지 10일간 시행하며, 이를 위해 약물 투여 첫날인 실험 38일째 오전에 생쥐를 무작위로 매개체군(vehicle)군은 0.1ml의 물을 투여하였으며, 갈근해주탕 추출물 투여군은 low dose 투여군(688 mg/kg, 실시예2)과 high dose 투여군(3.450 g/kg, 실시예3)으로 나누어 처리하였다. 일회 투여량은 처리군에 관계없이 모두 0.1 ml로 경구 투여하였으며, 각 투여군은 농도를 달리하였다. 약물 투여는 알코올 제공 시작 시간 2시간 전인 오전 12시에 시작하였다. 오후 2시부터 4시 사이의 2시간 동안 물 제공 없이 10%(v/v) 알코올을 제공하였다. 알코올이 제공되지 않는 22시간은 물을 제공하였으며, 사료는 24시간 모두 제공하였다.

<70> 2. POMC mRNA 발현 측정

<71> 실험대상으로 도착일로부터 5일 동안 한 우리당 5마리씩 사육하면서 실험환경에 적응시킨 C57/BL6형 수컷 생쥐(효창 science, 대구)를 사용하였다. 약물 투여는 약물 처리결과 일부 유의성이 나타난 갈근해주탕 high dose 투여군(GHT-H)과 매개체군 및 갈화와 지구자를 포함하지 않은 기존의 갈근해주탕을 비교군으로 하였다. 투여량은 매개체군은 0.1 ml의 물을 투여하였으며, 갈근해주탕 추출물 처리군은 high dose 처리군인 3.45 g/kg투여군으로 나누어 처리하였으며, 비교군은 기존의 갈근해주탕을 3.45 g/kg 투여하였다. 일회 투여량은 투여군에 관계없이 모두 0.1 ml로 경구투여하였다. 약물 투여는 알코올 제공 시작 시간 2시간 전인 오전 12시에 투여하였다. 각 투여군은 궁상핵(arcuate nucleus)에서 POMC 유전자의 발현 정도를 측정하기 위하여 매개체군과 갈근해주탕 high dose 투여군으로 구분하여 투여 1일과 투여 7일째(각 그룹 9마리)에 마취 후 뇌를 적출하여 뇌중 시상하부의 궁상핵을 절취하여 실험의 재료로 사용하였다.

<72> 뇌 시상하부의 궁상핵을 절취한 직후 RNA를 분리하였다. RNA의 분리는 절취한 조직에 트리졸 용액을 700 μ l 넣은 다음 곱게 마쇄하였다. 이어서 클로로포름 용액을 200 μ l넣은 후 12,000 rpm에서 원심 분리하여 상등액을 새 튜브에 넣고 이소프로필 알코올 200 μ l를 넣은 후 냉동실에서 밤새 정치한 다음 12,000 rpm에서 원심 분리 후 상등액을 제거하였다. 여기에 75% 에탄올 700 μ l를 넣고 원심 분리하였다. 원심 분리 후 상등액을 제거하고 튜브를 완전히 건조시킨 다음 DEPC 용액을 10-20 μ l 첨가하여 RNA를 추출하였다. 그리고 추출한 RNA는 스펙트로미터를 이용하여 정량하여 RT-PCR에 사용하였다.

<73> POMC에 발현과 관련한 프라이머는 단편의 크기가 436 bp되게 하여 정방향 프라이머(서열번호 1: 5'-GAT TCT GCT ACA GTC GCT C-3')과 역방향 프라이머(서열번호 2: 5 '-GAA CTC TAG GGG AAA GGC-3')로 BIONICS사에 제작 의뢰하여 사용하였다. RT-PCR은 RT-PCR kit(Promega Co. USA)를 이용하여 RNase-free water 11 μ l, AMV/Tf1 5 μ l 반응 완충액 4 μ l, dNTP 혼합액 2 μ l, 정방향과 역방향 프라이머를 각각 1 μ l, 25 mM MgSO₄ 0.8 μ l, AMV 역전사 효소 0.4 μ l, Tf1 DNA 중합효소 0.4 μ l 첨가 후 주형 RNA 1 μ l를 혼합한 다음, 45°C에서 45분간 역전사시켜 1차 가닥 cDNA를 합성하였다. 그리고 94°C에서 2분간 예열한 후 94°C에서 30초간 변성화반응(denaturation), 50°C에서 1분간 프라이머 결합 반응(annealing), 72°C에서 1분간 연장반응 과정을 40회 반복하고 최종적으로 72°C에서 7분간 반응하여 2차 가닥 cDNA를 합성하는 RT-PCR을 실시하였다.

<74> PCR 반응이 완료되면 2.0% 아가로오즈 겔에 전기 영동하여 RNA 밴드의 증폭유무를 확인하였으며, 증폭된 RNA 밴드는 각 밴드의 양을 밀도계로 측정하여 POMC mRNA의 발현 정도를 측정하였다. POMC mRNA의 측정 결과는 각 군의 평균 비교분석으로 독립 t-검증을 사용하여 검정하였다.

<75> 갈근해주탕이 시상하부 POMC mRNA 발현에 미치는 영향을 알아보기로 하자, 투여 후 1일째, 7일째 갈근해주탕 high dose군, 매개체군 및 비교군의 POMC mRNA 발현을 측정하여 세 군간 평균을 비교하였다. 그 결과, 1일째와 7일째 매개체군과 비교군 사이에서는 평균의 유의한 차이가 없었으나, 1일째와 7일째 갈근해주탕 high dose군 사이에서 평균의 유의한 차이가 있었다(p=0.043)(도 1).

<76> 알코올은 Endogenous Opioid system(EOPS)을 활성도를 증가시킨다고 알려졌는데 특히 알코올이 POMC를 증가시키

는 것으로 알려져 있다. 알코올을 투여하였을 때, 알코올을 선호하지 않는 쥐(nP rats)에 비해 알코올을 선호하는 쥐(P rats)의 시상하부에서 POMC mRNA를 증가시켰으며, 높은 자발적 알코올 섭취를 하였으며(Krishnan-Sarin S, Wand GS, Li XW, Portoghese PS, Froehlich JC : Effect of mu opioid receptor blockade on alcohol intake in rats bred for high alcohol drinking, Pharmacol Biochem Behav, 59(3) : 627-635, 1998), 2개월 된 숫컷 C57BL/6와 DBA/2를 알코올 섭취 후 POMC mRNA 발현을 비교한 결과, C57BL/6형 생쥐가 DBA/2형보다 높게 나왔다(Jamensky NT, Gianoulakis C : Comparison of the Proopiomelanocortin and Proenkephalin Opioid Peptide Systems in Brain Regions of the Alcohol-Preferring C57BL/6 and Alcohol-Avoiding DBA/2 Mice, Alcohol, 18(2-3) : 177-187, 1999). 자발적인 알코올 섭취가 C57BL/6와 DBA/2의 뇌의 베타 엔돌핀 시스템에 미치는 영향을 알아보기 위한 연구에서 C57BL/6가 DBA/2보다 훨씬 알코올 섭취량이 많았으며 자발적인 알코올 섭취는 시상하부에 있는 POMC mRNA를 증가시켰다. 그리고 베타 엔돌핀 유사 펩티드가 뚜렷히 증가하였다. 하지만 DBA/2에서는 베타-엔돌핀 시스템의 활성도를 변화시키지 못했다(De Waele J, Gianoulakis C : Enhanced activity of the brain β -endorphin system by free-choice ethanol drinking in C57BL/6 but not DBA/2 mice, European Journal of Pharmacology, 258(1-2) : 119-129, 1994). 높은 충동적 행동인 특징인 AA 랫트와 이에 비해 낮은 알코올 섭취를 가지는 ANA 랫트와 POMC mRNA 발현을 비교한 결과 AA 랫트가 보다 높은 경향을 나타냈다(Lindblom J, Wikberg JE, Bergstrom L : Alcohol-preferring AA rats show a derangement in their central melanocortin signalling system, Pharmacol Biochem Behav, 72(1-2) : 491-496, 2002). 또한 AA쥐가 ANA쥐에 비해 공상핵에서 POMC mRNA의 양이 52%나 더 많으며, ANA쥐와 AA 쥐들을 대상으로 인시츄 하이브리다이제이션 방법을 통해 프로오피오멜라노코르틴, 프로엔케팔린, 프로디노르핀 mRNA를 비교한 결과, AA쥐들이 시상하부 공형핵 안에 프로오피오멜라노코르틴 mRNA, 전두엽 피질 안의 프로엔케팔린 mRNA, 시상의 내측등쪽 피질 안에 프로디노르핀 mRNA가 의미있게 더 많음을 보여주었다(Marinelli PW, Kiianmaa K, Gianoulakis C : Opioid propeptide mRNA content and receptor density in the brains of AA and ANA rats, Life Sciences, 66(20) : 1915-1927, 2000). 임상 연구에서는 12명의 만성 알코올중독자와 12명의 비알코올중독자에게 혈액을 채취하여 비교한 결과, 만성 알코올중독자에서 유의한 정도로 POMC mRNA 상승한 것이 나타났다(Rosenberger P, Muhlbauer E, Weissmuller T, Rommelspacher H, Sinha P, Wernecke KD, Finckh U, Rettig J, Kox WJ, Spies CD : Decreased proopiomelanocortin mRNA in lymphocytes of chronic alcoholics after intravenous human corticotropin releasing factor injection, Alcohol Clin Exp Res, 27(11) : 1693-1700, 2003). 또한 알코올중독자와 대조군의 POMC mRNA를 비교한 결과, 알코올중독자의 림프구에서 대조군보다 높았다(Winkler A, Schmidt LG, Rommelspacher H, Melzig MF : Quantification of proopiomelanocortin mRNA in peripheral lymphocytes of alcoholics, Alcohol, 15(1) : 43-50, 1998).

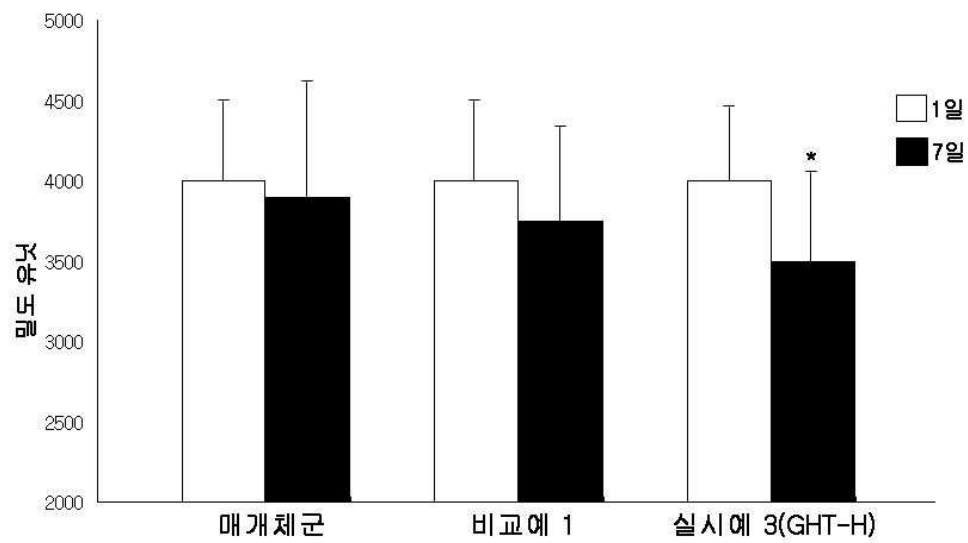
<77> 이를 종합해 볼 때, 갈근해주탕은 POMC mRNA 발현을 낮추어 알코올 선호도를 감소시켜, 알코올의 영향을 줄여 알코올의 섭취를 막는다고 해석할 수 있다.

도면의 간단한 설명

<78> 도 1은 POMC mRNA 발현 측정 결과를 나타내는 도면이다. *: 1일 GHT-H 투여군의 독립 t-검증(p=0.043).

도면

도면1



서열 목록

<110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University
 <120> Composition comprising herbal mixture extract as an active ingredient for prevention and treatment of alcohol dependence

<130> 7p-10-41

<160> 2

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Forward primer for POMC

<400> 1

gattctgcta cagtcgctc

<210> 2
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse primer for POMC

<400> 2
gaactctagg ggaaaggc

18