



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0124352
(43) 공개일자 2016년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/54 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/54 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0054338
(22) 출원일자 2015년04월17일
심사청구일자 2015년04월17일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
조성훈
서울특별시 송파구 도곡로62길 11-14 (잠실동) 이화영
인천광역시 남구 석정로126번길 23 103동 603호 (송의동, 한화꿈에그린아파트)
(74) 대리인
특허법인 하나

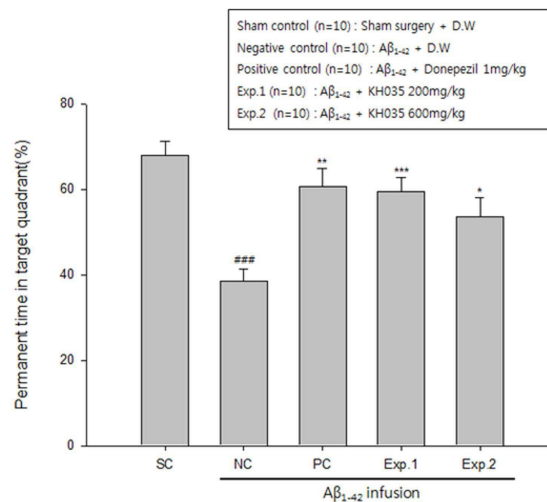
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 녹나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 녹나무 추출물을 제조하여 알츠하이머 치매 동물모델에 투여하였을 때, 동물모델의 순간 공간 인지력이 개선되며, 학습 및 기억력 감소가 완화됨을 확인함으로써, 녹나무 추출물이 알츠하이머 치매의 개선 및 치료 효과에 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 2236/30 (2013.01)

A61K 2236/33 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2007-0054931

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 선도연구개발센터지원사업(MRC)

연구과제명 암예방소재개발연구센터

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2015.03.01 ~ 2016.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 녹나무는 잎을 이용하는 것을 특징으로 하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 물, C₁ 내지 C₂ 저급 알코올, 또는 이들의 혼합물인 용매로 추출되는 것을 특징으로 하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 신경계 질환은 척수 손상, 파킨슨병(Parkinson's disease), 뇌졸중, 근위축성 척수측색 경화증, 운동신경손상, 외상에 의한 말초신경손상, 허혈성 뇌손상, 신생아 저산소성 허혈성 뇌손상, 뇌성마비, 간질, 난치성 간질, 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 선천성 대사성 신경계질환 및 외상성 뇌손상으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

녹나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 녹나무는 잎을 이용하는 것을 특징으로 하는 신경계 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제 6항에 있어서, 상기 신경계 질환은 척수 손상, 파킨슨병(Parkinson's disease), 뇌졸중, 근위축성 척수측색 경화증, 운동신경손상, 외상에 의한 말초신경손상, 허혈성 뇌손상, 신생아 저산소성 허혈성 뇌손상, 뇌성마비, 간질, 난치성 간질, 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 선천성 대사성 신경계질환 및 외상성 뇌손상으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 신경계 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 고령화 사회에 들어서면서 노화에 대한 관심과 더불어 이에 관련된 질병, 뇌졸중, 알츠하이머 치매 등의 뇌신경 질환들이 증가하고 있다. 다양한 뇌질환 중에서도 치매는 가장 광범위한 세포 손상을 유발하는 질환으로 퇴행성 정신장애를 동반하며, 특히 기억력 장애 및 판단력 상실 등이 주요증상으로 알려져 있다. 치매의 유형은 뇌 혈관의 협착이나 폐색으로 생기는 혈관성 치매(20 내지 30%)와 베타아밀로이드 단백질이 뇌 내에 축적되어 발병하는 것으로 알려진 알츠하이머 치매(50%), 그리고 이들 두 가지 원인이 복합적으로 작용하여 생기는 혼합형 치매(15 내지 20%)로 크게 나눌 수 있다. 환자 중 가장 많은 비율을 차지하는 치매 유형은 알츠하이머 치매이며, 최근 연구에 따르면 2050년에는 85명 중 1명의 비율로 이 질환을 가질 것이고, 이중 43%는 집중 치료를 받아야 한다는 보고가 있다(Prabhulkar S, Piatyszek R, et al. J Neurochem., 2012, 122, 374-381).

[0005] 알츠하이머 치매는 크게 유전성 알츠하이머 병(familial Alzheimer's disease)과 산발성 알츠하이머 병(sporadic Alzheimer's disease)으로 분류된다. 유전성 알츠하이머 병은 전체 알츠하이머 치매 환자의 5 ~ 10% 정도를 차지하며, 원인 유전인자로 알려진 프레세닐린 1(presenilin 1), 아밀로이드 전구단백질(amyloid precursor protein) 및 프레세닐린 2(presenilin 2)에 돌연변이가 일어났을 경우 100% 알츠하이머 치매로 발병하게 된다. 산발성 알츠하이머 병은 알츠하이머 치매 환자의 대부분을 차지하며, 아포지단백질 E(apolipoprotein E)나 알파-2 매크로글로불린(Alpha-2 macroglobulin)에 돌연변이가 일어났을 때 알츠하이머 병으로 진전할 확률이 높아지는 위험인자라는 것이 밝혀져 있으나, 현재까지 발병의 정확한 원인은 알려진 것이 없다.

[0006] 알츠하이머 치매의 병리학적 특징으로는 신경세포의 외부에 축적되어지는 노인반점(senile plaques), 신경세포의 세포체 내에 엉켜진 실뿔처럼 보이는 신경섬유 덩어리(neurofibrillary tangles) 및 신경세포의 손실(neuronal loss) 등을 들 수 있다. 이러한 병리학적 특징은 유전성 알츠하이머 병 및 산발성 알츠하이머 병의 모든 경우에 나타나며, 이 중 노인반점의 주요 구성 요소로는 응집된 아밀로이드 베타 펩티드(amyloid beta peptide)라는 독성단백질이 밝혀져 있다. 아밀로이드 베타 펩티드는 아밀로이드 전구단백질의 비정상적인 절단으로부터 생성된 40 내지 42개의 아미노산으로 이루어진 불용성 펩티드로, 아밀로이드 베타 펩티드의 과다 축적은 유전성 알츠하이머 병 및 산발성 알츠하이머 병의 모든 경우에 공통적 현상으로 나타난다고 보고되어 있으며, 알츠하이머 병의 주요 병원성 물질(pathogenic material)로 간주되고 있다.

[0007] 알츠하이머 치매의 전반적인 발병과정은 프레세닐린 1, 2 유전자의 돌연변이가 발생하면 β -세크레타제(β -secretase)에 의해 아밀로이드 전구단백질이 비정상적으로 절단되고 아밀로이드 베타 펩티드가 생성된다. 생성된 아밀로이드 베타 펩티드에 의해 뇌신경세포의 피사가 일어나며, 이로 인해 알츠하이머 병이 발병하게 된다고 알려져 있다.

[0009] 현재까지 치매의 원인과 치료법에 대하여 광범위하고 다양한 연구가 진행되어 왔으나, 원인규명이 미비하고 효과적인 치료법의 개발이 아직 미진한 수준이다. 비록 알츠하이머 치매의 치료제로서 타크린(tacrine), 리바스티그민(rivastigmine), 갈란타민(galantamine), 도네페질(donepezil) 및 메만틴(memantine)이 FDA로부터 인가되었지만 현재 사용되는 치매 치료제는 치료를 가능하게 해주는 약물이 아니라 진행이나 증세를 일시적으로 경감시켜 주는 것에 불과하며, 더욱이 신경세포의 사멸이 진행될수록 약물의 효과는 저하되며, 중증치매의 경우 효과가 없다. 또한, 이들 중 대부분은 소염작용을 하는 약물로서 간독성과 소화기관의 점막을 손상시키는 등의 부작용이 있으며, 궁극적인 원인치료라기보다는 대증적인 요법에 국한되어 있다는 한계가 있다.

[0011] 현재 치매 관련 약물 개발을 위해 여러 제약회사에서 연구개발에 박차를 가하고 있으나, 신약 개발이 가져오는 경제적, 사회적 효과는 지대하나 그 개발 비용이 막대하여 쉽게 개발에 나서지 못하는 실정이다. 그러나 한약이나 천연물에는 여러 가지 알려져 있지 않은 성분들이 함유되어 있으며 우리 선조들이 오랫동안 사용해온 경험에 축적된 비교적 안전성이 확보되어 있다는 장점을 지니고 있다. 예로부터 한약재의 추출물이 치매 예방에 사용되어 오고 있어, 한의학은 신경계 질환의 치료에 있어서 매우 높은 가능성을 지니고 있으며, 이를 이용한 체계적인 연구 수행이 필요하다.

[0013] 녹나무(*Cinnamomum camphora*)는 우리나라에서 천연기념물 제162호로 지정되었으며, 제주도 서귀포에서 자생한다. 녹나무는 녹나무과(Lauraceae)에 속한 식물로, 높이 20 m, 흉고 직경 2 m에 이르며 병해충이 없고 수명이 긴 특징이 있다. 주로 가지를 말린 것을 장뇌라고 하며, 이를 약용으로 사용해 왔다. 장뇌에는 정유 성분인 캠프(camphor)가 주요성분이고, 이외에 시네올(cineol), α -피넨(α -pinene), 1-캠펜(1-camphene), δ -리모넨(δ -limonene), 사프롤(safrol), α -캠프렌(α -camphorene) 등이 함유되어 있다고 보고되고 있으며, 일본에서는 장뇌를 매우 귀중히 여겨 우리 나라의 인삼처럼 국가 전매품으로 취급하고 있다. 우리나라의 경우 제주도에서 녹나무가 민간에서 암 치료약으로 사용되어 왔으나, 녹나무 성분의 생리 활성에 대한 보고는 많지 않은 실정이다.

[0015] 이에 본 발명자들은 부작용이 적은 한약 또는 천연물을 이용한 알츠하이머 치매의 치료제를 개발하기 위해 노력하던 중, 녹나무 추출물이 알츠하이머 치매 동물모델에서 순간 공간 인지력 개선 효과 및 공간학습 및 기억력 개선 효과를 나타냄을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 본 발명의 목적은 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 녹나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0022] 본 발명의 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물은 알츠하이머 치매 동물모델에서 운동기능에는 영향을 미치지 않고, 순간 공간 인지력을 개선시키며, 학습 및 기억력 감소 완화효과를 나타냄을 확인함으로써, 상기 녹나무 추출물이 알츠하이머 치매의 개선 및 치료 효과에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 투여한 후, 마우스의 보행운동량을 측정을 나타낸 도이다:

sham control: 알츠하이머 치매 모델을 유발하지 않은 군;

negative control: 알츠하이머 치매 유발 후 증류수를 투여한 군;

positive control: 알츠하이머 치매 유발 후 1 mg/kg의 도네페질을 투여한 군;

EXP.1(200 mg/kg): 알츠하이머 치매 유발 후 200 mg/kg의 녹나무 추출물을 투여한 군; 및

EXP.2(600 mg/kg): 알츠하이머 치매 유발 후 600 mg/kg의 녹나무 추출물을 투여한 군.

도 2는 녹나무 추출물을 투여한 후, 마우스의 순간 공간 인지력 측정을 나타낸 도이다:

sham control: 알츠하이머 치매 모델을 유발하지 않은 군;

negative control: 알츠하이머 치매 유발 후 증류수를 투여한 군;

positive control: 알츠하이머 치매 유발 후 1 mg/kg의 도네페질을 투여한 군;

EXP.1(200 mg/kg): 알츠하이머 치매 유발 후 200 mg/kg의 녹나무 추출물을 투여한 군; 및

EXP.2(600 mg/kg): 알츠하이머 치매 유발 후 600 mg/kg의 녹나무 추출물을 투여한 군.

도 3은 녹나무 추출물을 투여한 후, 마우스의 학습 및 기억력 측정을 나타낸 도이다:

sham control: 알츠하이머 치매 모델을 유발하지 않은 군;

negative control: 알츠하이머 치매 유발 후 증류수를 투여한 군;

positive control: 알츠하이머 치매 유발 후 1 mg/kg의 도네페질을 투여한 군;

EXP.1(200 mg/kg): 알츠하이머 치매 유발 후 200 mg/kg의 녹나무 추출물을 투여한 군; 및

EXP.2(600 mg/kg): 알츠하이머 치매 유발 후 600 mg/kg의 녹나무 추출물을 투여한 군.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0027] 본 발명은 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0028] 상기 녹나무는 채배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 녹나무는 이의 동속근연계 식물의 덩굴줄기, 가지, 뿌리, 줄기, 잎, 꽃잎 및 꽃봉오리 중 어느 것을 이용가능하고 이에 한정하지 않으나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면 녹나무 잎 또는 이의 동속근연계 식물의 잎을 이용하는 것이 가장 바람직하다.
- [0029] 또한, 상기 추출에 있어서, 녹나무 추출물의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올은 C₁ 내지 C₂ 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올 또는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 추출용매를 건조된 녹나무 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4 내지 6배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20 내지 100℃ 인 것이 바람직하고, 20 내지 40℃ 인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48시간 인 것이 바람직하며, 15 내지 30시간 인 것이 더욱 바람직하고, 24시간 인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러 추출 횟수는 1 내지 5회 인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회 인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다.
- [0030] 또한, 상기 방법에 있어서, 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0031] 또한, 상기 신경계 질환은 구체적으로 척수 손상, 파킨슨병(Parkinson's disease), 뇌졸중, 근위축성 척수축색경화증, 운동신경손상, 외상에 의한 말초신경손상, 허혈성 뇌손상, 신생아 저산소성 허혈성 뇌손상, 뇌성마비, 간질, 난치성 간질, 알츠하이머 병(Alzheimer's disease), 선천성 대사성 신경계질환 및 외상성 뇌손상(trumatic brain injury)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나인 것일 수 있고, 보다 구체적으로는 척수 손상인 것일 수 있으나, 이에 한정하지 않으며, 신경 손상으로 인해 발생할 수 있는 모든 신경계 질환에 적용

가능하다.

[0033] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 건조된 녹나무 잎을 분쇄하여 물 또는 물 및 알코올의 혼합용매를 이용하여 열수추출 후 동결 건조하여 분말 엑스를 수득하였다. 수득된 녹나무 추출물을 알츠하이머 치매 유발 마우스에 투여하여 운동기능의 문제가 없으며 보행활동량에 영향을 미치지 않음을 확인하였다(도 1 참조). 또한, 알츠하이머 치매 유발 마우스에 상기 녹나무 추출물을 투여하여 Y자 미로형 검사, 모리스 수중 미로 검사를 수행하여, 순간 공간 인지력이 개선되며(도 2 참조), 학습 및 기억력 감소가 완화됨을 확인하였다(도 3 참조). 따라서, 본 발명의 녹나무 추출물은 알츠하이머 치매의 개선 및 치료 효과에 유용하게 사용될 수 있다.

[0035] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 발명의 용어 "약학적으로 허용 가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 생리식염수, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜 및 리퀴드 파라핀으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용 가능하다. 상기 성분들은 상기 유효성분인 녹나무 추출물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.

[0036] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween)61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[0038] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 그 투여 용량에 특별한 제약은 없고, 체내 흡수도, 체중, 환자의 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 유효량 범위를 고려하여 제조하도록 하며, 이렇게 제제화된 단위 투여형 제제는 필요에 따라 약제의 투여를 감시하거나 관찰하는 전문가의 판단과 개인의 요구에 따라 전문화된 투약법을 사용하거나 일정 시간 간격으로 수회 투여할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 약학 조성물은 녹나무 추출물의 양을 기준으로 1일 0.5 내지 5000 mg/kg으로, 바람직하게는 50 내지 500 mg/kg으로, 더욱 바람직하게는 50 mg/kg으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다.

[0040] 본 발명은 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경계 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0041] 상기 녹나무는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 녹나무는 이의 동속근연계 식물의 덩굴줄기, 가지, 뿌리, 줄기, 잎, 꽃잎 및 꽃봉오리 중 어느 것을 이용가능하고 이에 한정하지 않으나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면 녹나무 잎 또는 이의 동속근연계 식물의 잎을 이용하는 것이 가장

바람직하다.

[0042] 또한, 상기 추출에 있어서, 녹나무 추출물의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올은 C₁ 내지 C₂ 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올 또는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 추출용매를 건조된 녹나무 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4 내지 6배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20 내지 100℃ 인 것이 바람직하고, 20 내지 40℃ 인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48시간 인 것이 바람직하며, 15 내지 30시간 인 것이 더욱 바람직하고, 24시간 인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러 추출 횟수는 1 내지 5회 인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회 인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0043] 또한, 상기 방법에 있어서, 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0044] 또한, 상기 신경계 질환은 구체적으로 척수 손상, 파킨슨병(Parkinson's disease), 뇌졸중, 근위축성 척수측색경화증, 운동신경손상, 외상에 의한 말초신경손상, 허혈성 뇌손상, 신생아 저산소성 허혈성 뇌손상, 뇌성마비, 간질, 난치성 간질, 알츠하이머 병(Alzheimer's disease), 선천성 대사성 신경계질환 및 외상성 뇌손상(traumatic brain injury)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나인 것일 수 있고, 보다 구체적으로는 척수 손상인 것일 수 있으나, 이에 한정하지 않으며, 신경 손상으로 인해 발생할 수 있는 모든 신경계 질환에 적용 가능하다.

[0046] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 건조된 녹나무 잎을 분쇄하여 물 또는 물 및 알코올의 혼합용매를 이용하여 열수추출 후 동결 건조하여 분말 엑스를 획득하였다. 획득된 녹나무 추출물을 알츠하이머 치매 유발 마우스에 투여하여 운동기능의 문제가 없으며 보행활동량에 영향을 미치지 않음을 확인하였다(도 1 참조). 또한, 알츠하이머 치매 유발 마우스에 상기 녹나무 추출물을 투여하여 Y자 미로형 검사, 모리스 수중 미로 검사를 수행하여, 순간 공간 인지력이 개선되며(도 2 참조), 학습 및 기억력 감소가 완화됨을 확인하였다(도 3 참조). 따라서, 본 발명의 녹나무 추출물은 알츠하이머 치매의 개선 및 치료 효과에 유용하게 사용될 수 있다.

[0048] 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능식품 100 중량부당 0.01 ~ 0.04 중량부, 구체적으로는 약 0.02 ~ 0.03 중량부 범위에서 선택할 수 있다.

[0049] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강식품 100 중량부 당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0051] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0052] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해서 한정되는 것은 아니다.

[0054] <실시예 1> 녹나무 추출물의 제조

[0055] <1-1> 물을 용매로 이용한 녹나무 추출물 제조

[0056] 전라남도 여수에서 수확한 녹나무(*Cinnamomum camphora*) 잎을 건조시켜 실험에 사용하였다. 분쇄한 상태의 녹나무 잎 100 g을 1 ℓ의 증류수에 가하여 교반한 다음 90 내지 95℃의 온도에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 이후, 여액을 분리하고, 55 내지 65℃로 상기 추출물을 감압 농축한 후, 동결 건조시켜 생약조성물 분말 엑스 21.2 g을 얻었다.

[0058] <1-2> 물 및 알코올의 혼합용매를 이용한 녹나무 추출물 제조

[0059] 상기 <실시예 1-1>과 동일하게 분쇄된 녹나무 잎 600 g에 3 ℓ의 30% 에틸 알코올을 가해 교반한 다음, 80 내지 90℃의 온도에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 이후, 여액을 분리하고, 55 내지 65℃로 상기 추출물을 감압 농축한 후, 동결 건조시켜 생약조성물 분말 엑스 135 g을 얻었다.

[0061] <실험예 1> 녹나무 추출물이 보행활동량에 미치는 영향 확인

[0062] <1-1> 알츠하이머 치매 동물모델 제작

[0063] 본 발명의 녹나무 잎 추출물의 신경계 질환 예방 및 치료에 대한 효과를 확인하기 위하여, 아밀로이드 베타 펩티드(Amylodi beta₁₋₄₂ peptide) 주입을 통하여 치매를 유발시킨 동물모델(Amylodi beta₁₋₄₂ infused mouse model)을 제작하였다.

[0064] 구체적으로, C57BL/6 마우스를 졸레틸(zoletil)과 럼폰(rompun)이 2 : 1로 혼합된 마취액으로 마취 한 후, 뇌의 해마 CA1 지역(coordinates: -2.3 mm anterior/posterior, 1.8 mm medial/lateral and -1.75mm dorsal/ventral from Bregma)에 아밀로이드 베타 펩티드를 주입하여 알츠하이머 치매 동물모델을 제작하였다.

[0066] <1-2> 녹나무 추출물이 보행활동량에 미치는 영향 확인

[0067] 상기 <실험예 1-1>에서 제작한 알츠하이머 치매 동물모델에 녹나무 추출물을 투여하였을 때 운동성 및 움직임을 관찰하기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[0068] 구체적으로, 마우스를 50 × 50 × 50 cm의 흰색 아크릴 박스에 넣고 영상추적시스템(Video tracking system, smart v2.5.21)을 이용하여 10분 동안 행동을 측정하였으며, 아크릴 박스 공간을 9등분하여 가운데 영역을 중심 영역(central zone)으로 설정하여, 알츠하이머 치매 유도 마우스의 모델 유발 일주일 후 도네페질 1 mg/kg, 녹나무 잎 추출물 200 mg/kg, 600 mg/kg 또는 대조군인 증류수를 각각 투여하여 자발운동량을 이용한 보행활동량을 측정하였다.

[0069] 그 결과, 알츠하이머를 유발한 후 증류수를 투여한 동물모델의 경우, 알츠하이머를 유발하지 않은 동물모델과 비교하였을 때 유의미한 차이를 나타내지 않았으므로 약물투여로 인한 보행활동량에는 변화가 없음을 알 수 있었다(도 1). 이러한 결과를 통하여, 약물투여를 통해 발생할 수 있는 운동기능에는 문제가 없고, 녹나무 잎 추출물이 보행활동량에는 영향을 미치지 않음을 확인하였다.

[0071] <실험예 2> 녹나무 추출물의 순간 공간 인지력 개선 효과 확인

[0072] 녹나무 추출물에 의한 단기 기억형태의 순간 공간 인지력 개선 효과를 평가하기 위하여, 상기 <실험예 1-1>에서 제작된 동물모델의 모델 유발 일주일 후 도네페질 1 mg/kg, 녹나무 잎 추출물 200 mg/kg, 600 mg/kg 또는 대조군인 증류수를 각각 투여하여 Y자형 미로 검사(Y-maze test)를 수행하였다.

[0073] 구체적으로, Y자형 미로 검사에 이용되는 기구는 3개의 가지(arm)로 구성되어 있으며, 각 가지의 길이는 42 cm, 넓이는 3 cm, 높이는 12 cm이고, 3개의 가지가 접히는 각도는 120° 이다. 모든 실험 장치는 검정색의 폴리비닐 플라스틱(polyvinyl plastic)으로 구성하였으며, 각 가지를 A, B, C로 정한 후 한쪽 가지에 마우스를 조심스럽게 올려놓고 8분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음, 마우스가 들어간 가지를 기록하였다. 이때, 꼬리까지 완전히 들어갔을 경우에 한하여 유효한 것으로 인정하였으며, 갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 3개의 서로 다른 가지에 차례로 들어간 경우(ABC, CAB, BCA)에 실제 변경(actual alternation)으로 간주하여 1점

씩 부여하였다. 이를 통하여 3가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되는 변경 행동력을 계산하였으며, 하기 수학적 식 1에 의해 계산하였다.

수학적 식 1

$$\text{변경 행동력}(\%) = \frac{\text{실제변경(actual alternation)}}{\text{최고변경(maximum alternation)}} \times 100$$

(최고변경: 총 입장회수 - 2)

그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이 아밀로이드 베타 펩티드를 뇌에 직접 주입(1.2 $\mu\text{g}/\text{mouse}$, i.c.v) 함으로써 유발된 음성대조군의 변경 행동력이 주입하지 않은 대조군에 비해 통계적으로 유의성 있게 감소하였음을 확인하였다(도 2). 그러나 녹나무 잎 추출물을 투여하였을 때 자발적 변경(spontaneous alternation)이 음성대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 자발적 변경이 증가한다는 것은 학습 및 기억력이 회복되었다는 것을 의미한다. 반면, 각 구역으로 들어가는 총 횟수를 나타내는 총 진입(total entry)에서는 변화가 없는 것으로 나타나므로 자발적인 변경이 쥐의 활동성 변화에 의해 나타난 것이 아님을 알 수 있다.

<실험예 3> 녹나무 추출물의 공간학습 및 기억력 개선 효과 확인

녹나무 추출물에 의한 공간학습 및 기억력(spatial learning and memory)을 평가하기 위해 수동 회피 검사를 수행하였다.

구체적으로, 마우스 동물 모델의 투여는 상기 <실험예 1-2>와 동일하게 수행되었다. 하기 실험은 기존의 모리스(Morris)의 방법을 응용하여 시행하였다. 먼저, 실험 시작 1시간 전에 마우스를 행동 관찰실로 옮기고 안정시켰다. 미로(maze)의 제원은 지름 90 cm, 높이 32.5 cm이며 플랫폼(white platform)의 지름은 5 cm로 구성되어 있다. 수중미로의 주변은 비디오카메라와 연결된 컴퓨터 시스템과 수온조절용 장치 등 공간단서들을 항상 일정하게 유지시켰다. 그런 다음, 미로(maze)에 물을 채우고 마우스가 플랫폼을 볼 수 없도록 물 높이의 1cm 밑에 설치하였다. 상기 미로에 4개의 마커를 사용하여 4분원이 되도록 나누어서 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW)로 구분하였고, 미로의 하나 4분원에 플랫폼을 설치하였다. 모리스 수중미로 검사(Morris water maze test)는 6일 동안 진행하였고, 첫째 날에는 각 마우스들이 물에 대하여 적응을 할 수 있도록 1분간 미로 내에서 자유로이 수영하도록 하였고, 이때 플랫폼은 설치하지 않았다. 두 번째 날부터 5일째 되는 날까지는 하루에 각각의 마우스가 1일 4회씩 10분 간격으로 1분 동안 미로에서 수영하도록 하였다. 두 번째 되는 날부터 5일째 되는 4일 동안 1회의 실험방법은 이미 미로 내에 설치한 플랫폼에 1분 이내에 10초간 올라가 있는 마우스는 실험을 마치고 1분 이내에 플랫폼을 찾지 못하거나 플랫폼에 10초간 올라가 있지 않은 마우스는 실험종료 후 인위적으로 10초간 플랫폼에 올려둔 후 실험을 종료하며, 이때 플랫폼의 위치는 같은 자리에 고정시켰다. 6일째 되는 날에는 플랫폼을 미로에서 제거한 후 플랫폼이 있던 분원에 마우스가 머문 시간을 측정하였다. 모리스 수중미로 학습에서 마지막 날인 5일째 기억검사를 시행하기 위하여, 플랫폼을 제거한 후 60초간 자유 수영을 실시하고 이를 스마트 프로그램(Smart program)을 통하여 총시간 중 플랫폼에 있었던 4분원에 머무는 시간을 측정하였다. 실험군은 아밀로이드 베타 펩티드를 투여하지 않은 정상 마우스 대조군과 아밀로이드 베타 펩티드를 주입하여 치매 동물모델로 제작된 마우스인 음성대조군, 아밀로이드 베타 펩티드와 도네페질을 함께 주입한 양성대조군 및 아밀로이드 베타 펩티드와 200, 600 mg/kg의 녹나무 잎 추출물을 함께 주입한 실험군으로 구성되었다.

그 결과, 도 3 및 하기 표 1에 나타난 바와 같이 대조군은 $67.97 \pm 3.14481\%$, 아밀로이드 베타 펩티드를 투여한 음성대조군은 $38.56 \pm 2.69489\%$, 아밀로이드 베타 펩티드와 도네페질을 함께 투여한 양성대조군은 $60.4986 \pm 4.35727\%$, 아밀로이드 베타 펩티드와 녹나무 잎 추출물 200 mg/kg을 투여한 실험군 1은 $59.5614 \pm 3.235\%$ 및 아밀로이드 베타 펩티드와 녹나무 잎 추출물 600 mg/kg을 투여한 실험군 2는 $53.4714 \pm 4.62295\%$ 로 나타났으며, 집단간 유의성 있는 차이를 보였다(표 1).

표 1

군	아밀로이드 베타 펩티드 주입 (A β infusion)	표적 4분원에서 머문 시간(%)
대조군	×	67.97 ± 3.14481

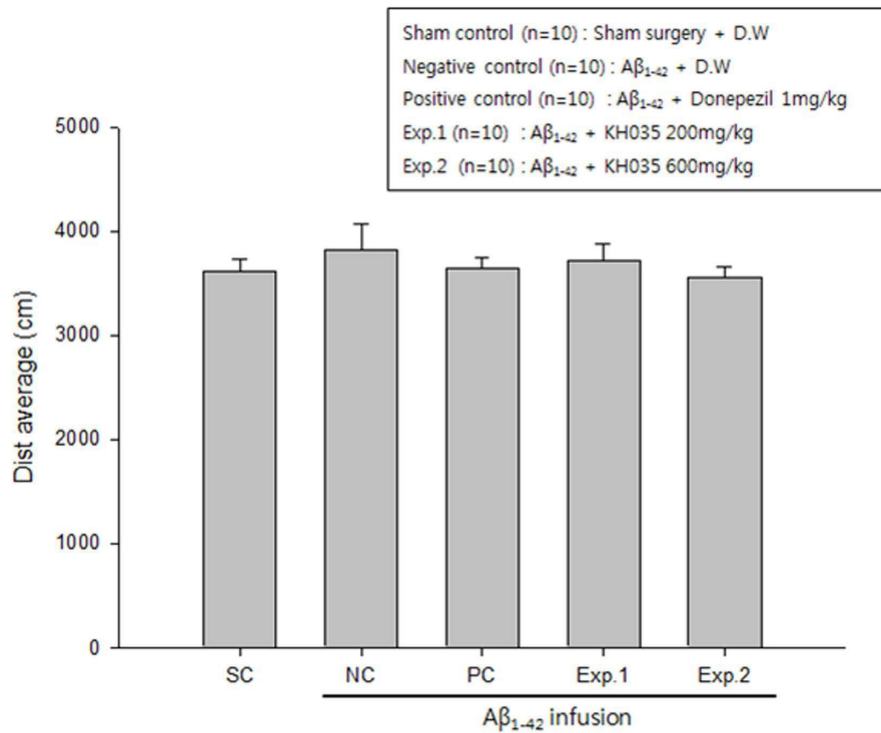
음성대조군	○	38.56 ± 2.69489 ^{###}
양성대조군	○	60.4986 ± 4.35727 ^{**}
실험군 1	○	59.5614 ± 3.235 ^{***}
실험군 2	○	53.4714 ± 4.62295 [*]

[0083] 각각의 값은 평균 S.E.M. 대조군과 비교하여 ^{###}p<0.001, 아밀로이드 베타 펩티드 주입군과 비교하여 *p<0.05. **p<0.005, ***p<0.001을 나타낸다.

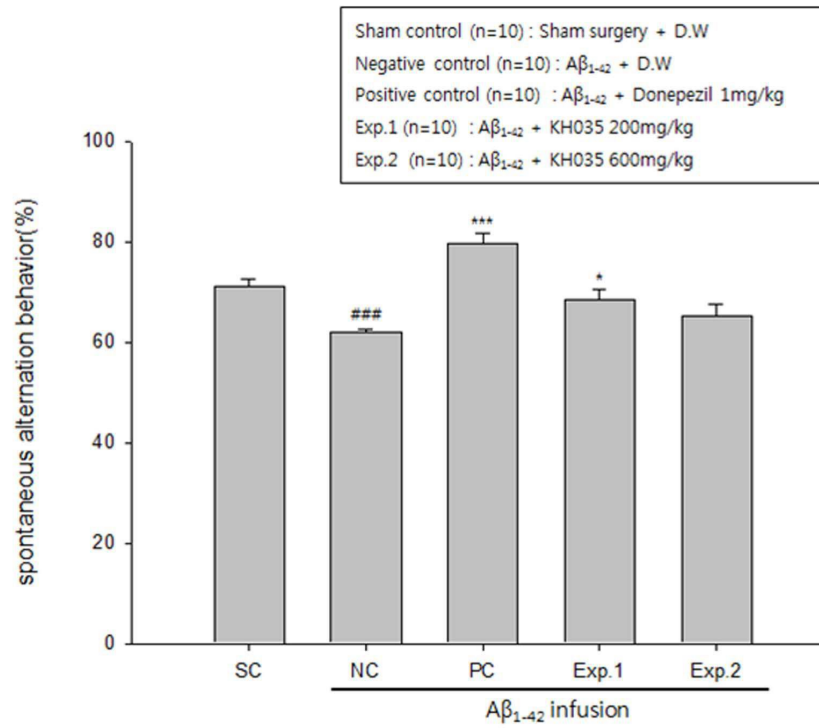
[0085] 이러한 결과를 통하여, 알츠하이머 치매가 유발되는 경우 발생할 수 있는 학습 및 기억력의 감소를 녹나무 잎 추출물이 증가시켜 완화시킬 수 있음을 확인함으로써, 녹나무 추출물이 알츠하이머 치매의 개선 및 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

도면

도면1



도면2



도면3

