



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년08월09일

(11) 등록번호 10-2564539

(24) 등록일자 2023년08월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 33/105 (2016.01) A23K 10/30 (2016.01)

A23L 17/60 (2016.01) A23P 10/00 (2016.01)

A61K 36/05 (2006.01) A61P 25/20 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A23K 10/30 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2023-0050212

(22) 출원일자 2023년04월17일

심사청구일자 2023년04월17일

(30) 우선권주장

1020220177067 2022년12월16일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020120079003 A

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 10 항

(73) 특허권자

부경대학교 산학협력단

부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)

(72) 발명자

조승목

부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교 A12 141 7호

김성희

부산광역시 남구 수영로 324, A-913(리마크빌)
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인지담

심사관 : 김현주

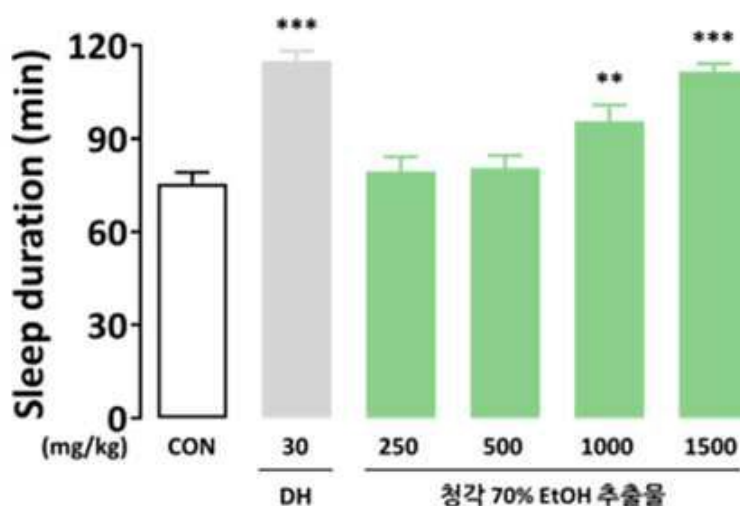
(54) 발명의 명칭 청각 추출물을 유효성분으로 포함하는 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 청각 추출물은 입면시간의 감소, 수면 지속시간의 증가 효과가 매우 뛰어나다. 또한, 천연물인 청각으로부터 유래한 것이어서 장기간 사용하여도 인지장애(cognitive impairment), 내성 또는 의존성이 형성되는 부작용이 없다. 따라서, 본 발명의 청각 추출물을 유효성분으로 포함하는 수면장애 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 경쟁력 있는 식품, 의약품, 사료 등의 제조에 매우 유용하다..

대표도 - 도3b



(52) CPC특허분류

A23L 17/60 (2016.08)
A23P 10/00 (2016.08)
A61K 36/05 (2013.01)
A61P 25/20 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/31 (2013.01)
A23V 2250/08 (2013.01)
A23V 2250/202 (2013.01)
A23V 2300/14 (2013.01)

(72) 발명자

김두현

부산광역시 남구 용소로34번길 6-6, 1001호(대연동, 더원팰리스)

유호등

부산광역시 남구 수영로 283, 101동 1013호 (대연동, 벽산e-솔렌스힐)

박소홍

부산광역시 금정구 금강로 502, 204동 1003호 (구서동, 롯데캐슬골드1단지)

박세림

부산광역시 남구 수영로298번길 39-17, 1501호

김동민

경기도 용인시 수지구 용구대로 2790번길 10

송준호

부산광역시 금정구 벽구산로 25-1, 101-410(현대그레이스아파트)

최기범

부산광역시 남구 수영로366번길 27, 301호(레이덤오피스텔)

이채현

부산광역시 영도구 태종로 248번길 14-9, 1층

최윤진

부산광역시 사하구 신산북로43번길 59, 105-402(사하뷰엘아파트)

박수빈

부산광역시 남구 수영로266번길 82(꿈에그린, 506호)

이재광

전라북도 전주시 만성로 147, 104-206(만성에코르1단지)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020120091995 A

KR1020220133799 A

W02012070835 A2

청각 Codium fragile의 성분 연구. 대한 화학회지. 1989, Vol. 33, No. 3, pp. 321-325

KR101252149 B1

KR1020220085350 A

Cho et al., Phlorotannins of the edible brown seaweed Ecklonia cava Kjellman induce sleep via positive allosteric modulation of gamma-aminobutyric acid type A-benzodiazepine receptor: A novel neurolog

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525013763
과제번호	202204882
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	수산식품산업 맞춤형 기술개발
연구과제명	수산물 유래 고시형 건강기능식품 및 기능성표시식품 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	부경대학교산학협력단
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 청각 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것을 특징으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 혼합용매는 20 내지 95 부피%의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 프로판올 수용액인 것을 특징으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 혼합용매는 20 내지 95 부피%의 에탄올 수용액인 것을 특징으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 청각 추출물은 10 내지 80 °C의 추출온도로 추출된 것을 특징으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 치료는 입면시간의 감소 또는 수면 지속시간의 증가를 위한 것을 특징으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 식품 조성물의 제형은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 것을 특징으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 9

청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 사료 첨가제 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 청각 추출물을 유효성분으로 포함하는 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 수면은 여러 가지 관점에서 정의할 수 있지만 주로 외부 환경을 인식하고 반응하는 능력이 가역적, 반복적, 정상적으로 정지되어 있는 움직이지 않는 상태로 정의한다. 상기 수면은 뇌의 활동에 의해 이루어지지만 다른 신체 부위의 생리학적 변화와도 깊이 연관되어 있다.

[0004] 수면장애는 현대인들이 흔히 겪는 문제 중의 하나로서, 인구의 약 20% 이상이 경험한 적이 있거나 앓고 있는 매우 흔한 질환이다. 이러한 수면장애란 건강한 수면을 취하지 못하거나, 충분한 수면을 취하고 있음에도 낮 동안에 각성을 유지하지 못하는 상태, 또는 수면리듬이 흐트러져 있어서 잠자거나 깨어 있을 때 어려움을 겪는 상태를 말한다. 정신적인 문제가 큰 원인이 되기도 하는데 과도한 스트레스와 불안감, 긴장감, 공포 등으로 인해 발생한다.

[0005] 수면장애는 여러 가지 개인적, 사회적 문제를 초래할 수 있으며 학습장애, 능률저하, 교통사고, 안전사고, 정서장애, 사회 적응장애, 결혼생활의 불만족, 그리고 산업재해 등의 원인이 된다. 또한 수면장애를 적절하게 치료하지 않으면 이미 앓고 있는 내과적, 신경과적, 정신과적 질환이 악화되거나 회복이 지연될 수 있고 심근경색증, 뇌졸중 등의 심각한 병을 초래할 수 있다.

[0006] 이러한 수면장애를 치료하기 위하여 중추신경을 가역적으로 억압하여 수면을 유도하고 수면 상태를 유지시키는 화학적 수면제가 사용된다. 종래의 수면제는 마취제와 같은 중추억제작용이 있어 소량으로는 진정작용, 중등량으로는 수면작용을 하지만, 다량으로는 혼수, 마비, 호흡억제작용을 한다. 바르비탈계 약제는 안전성이 낮아 내성과 의존성이 쉽게 일어나고 장기 연용 후 중지하면 악몽 등에 의한 수면장애가 일어나는 문제가 있다.

[0007] 따라서, 수면제 장기 복용자 및 제한자의 경우 이를 대체할 수 있는 수단의 필요성이 높아지고 있으며, 수면 증진용 건강기능식품에 대한 수요가 증대되고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) KR 10-1875307 B

(특허문헌 0002) KR 10-1820761 B

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 목적은 청각 추출물을 유효성분으로 함유하여 수면장애 또는 불면증을 예방 또는 개선할 수 있는 식품 조성물을 제공하는데 있다.
- [0011] 또한, 본 발명의 다른 목적은 청각 추출물을 유효성분으로 함유하여 수면장애 또는 불면증을 예방 또는 치료할 수 있는 약학 조성물을 제공하는데 있다.
- [0012] 또한, 본 발명의 다른 목적은 청각 추출물을 유효성분으로 함유하여 수면장애 또는 불면증을 예방 또는 개선할 수 있는 사료 첨가제 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0014] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물은 청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.
- [0015] 상기 청각 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것일 수 있다.
- [0016] 상기 혼합용매는 20 내지 95 부피%의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 프로판올 수용액일 수 있으며, 바람직하게는 20 내지 95부피%의 에탄올 수용액일 수 있다.
- [0017] 상기 청각 추출물은 10 내지 80 ℃의 추출온도로 추출된 것일 수 있다.
- [0018] 상기 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 치료는 입면시간의 감소 또는 수면 지속시간의 증가를 위한 것일 수 있다.
- [0019] 상기 식품 조성물의 제형은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료일 수 있다.
- [0020] 또한, 상기한 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.
- [0021] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 식품 조성물은 청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 청각 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것일 수 있다.
- [0023] 상기 혼합용매는 20 내지 95 부피%의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 프로판올 수용액일 수 있으며, 바람직하게는 20 내지 95부피%의 에탄올 수용액일 수 있다.
- [0024] 상기 청각 추출물은 10 내지 80 ℃의 추출온도로 추출된 것일 수 있다.
- [0025] 상기 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 치료는 입면시간의 감소 또는 수면 지속시간의 증가를 위한 것일 수 있다.
- [0026] 상기 식품 조성물의 제형은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료일 수 있다.
- [0027] 또한, 상기한 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.
- [0028] 또한, 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 사료 첨가제 조성물 조성물은 청각(*Codium fragile*) 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0030] 본 발명의 청각 추출물은 입면시간의 감소, 수면 지속시간의 증가 효과가 매우 뛰어나다. 또한, 천연물인 청각 으로부터 유래한 것이어서 장기간 사용하여도 인지장애(cognitive impairment), 내성 또는 의존성이 형성되는 부작용이 없다. 따라서, 본 발명의 청각 추출물을 유효성분으로 포함하는 수면장애 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 경쟁력 있는 식품, 의약품, 사료 등의 제조에 매우 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 본 발명의 청각 추출물의 수면 효능을 확인하기 위한 펜토바비탈 수면유도 실험의 절차를 도식화하여 나타낸 것이다.

도 2는 펜토바비탈 수면용량(45 mg/kg, i.p.)을 투여한 마우스의 입면시간(도 2a) 및 수면시간(도 2b)에 대한 청각 및 미강 추출물의 효과를 비교하여 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 미강 추출물(1,000 mg/kg) 및 청각 추출물(1,000 및 1,500 mg/kg)을 각각 경구투여(p.o.)하고 45분 후 펜토바비탈을 투여하였다. 각 그래프는 평균값(means±SEM, n=10)을 나타낸다. *, **, 및 ***은 미투여군과 비교하여 각각 $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$ 에서 유의적 차이가 있음(Dunnett's test)을 의미한다.

도 3은 펜토바비탈 수면용량(45 mg/kg, i.p.)을 투여한 마우스의 입면시간(도 3a) 및 수면시간(도 3b)에 대한 청각 추출물의 농도별 효과를 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 독세핀 하이드로클로라이드(DH, 30 mg/kg) 및 청각 추출물(250, 500, 1,000, 1,500 mg/kg)을 각각 경구투여(p.o.)하고 45분 후 펜토바비탈을 투여하였다. 각 그래프는 평균값(means±SEM, n=10)을 나타낸다. ** 및 ***은 미투여군과 비교하여 각각 $p<0.01$ 및 $p<0.001$ 에서 유의적 차이가 있음(Dunnett's test)을 의미한다.

도 4는 본 발명의 청각 추출물을 투여한 마우스의 수면구조분석을 위한 실험의 절차를 도식화하여 나타낸 것이다.

도 5a는 수면구조분석을 통해 마우스의 입면시간 감소에 대한 대조군(Vehicle) 및 실시예의 청각 추출물(CFE)의 효과를 시판 수면제인 독세핀(DH, doxepin hydrochloride)과 비교하여 나타낸 그래프이고, 도 5b는 논렘수면(NREMS) 증가 및 각성(Wake) 감소에 대한 대조군(Vehicle) 및 실시예의 청각 추출물(CFE)의 효과를 시판 수면제인 독세핀(DH, doxepin hydrochloride)과 비교하여 나타낸 그래프이며, 도 5c는 24 시간동안의 각 시간대별 논렘수면(NREMS), 렘수면(REMS) 및 각성(Wake)의 변화에 대한 대조군(Vehicle) 및 실시예의 청각 추출물(CFE)의 효과를 시판 수면제인 독세핀(DH, doxepin hydrochloride)과 비교하여 나타낸 그래프이다. Vehicle은 대조군을 나타내고, *은 대조군과 비교하여 $p<0.05$ 에서, **은 대조군과 비교하여 $p<0.01$ 에서, ***은 대조군과 비교하여 $p<0.001$ 에서 유의적 차이가 있음(Dunnett's test)을 의미한다. Wake는 wakefulness의 약자이고, NREMS 및 REMS는 각각 non-rapid eye movement sleep 및 rapid eye movement sleep의 약자이다.

도 6은 펜토바비탈 수면용량(45 mg/kg, i.p.)을 투여한 마우스의 입면시간(a) 및 수면시간(b)에 대한 청각 추출물의 효과를 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 청각 추출물, 구멍갈파래 추출물, 패 추출물, 참가죽고물바탕말 추출물 및 팽생이모자반 추출물을 각각 1,000 mg/kg씩 경구투여(p.o.)하고 45분 후 펜토바비탈을 투여하였다. 각 그래프는 평균값(means±SEM, n=10)을 나타낸다. * 및 **은 미투여군과 비교하여 각각 $p<0.05$ 및 $p<0.01$ 에서 유의적 차이가 있음(Dunnett's test)을 의미한다.

도 7은 본 발명의 청각 추출물의 GABA 수용체 활성 증가 효과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 본 발명은 청각 추출물을 유효성분으로 함유하여 수면장애 또는 불면증을 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

[0034] 상기 수면장애 또는 불면증은 다양한 원인에 의해 발생할 수 있다. 상기 수면장애 또는 불면증은 카페인 투여로 인한 것일 수 있고, 구체적으로 커피, 고카페인 에너지 음료, 콜라, 녹차, 홍차, 코코아 등 카페인이 들어있는 식품의 섭취로 인한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0035] 상기 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료는 입면시간(sleep latency)이 감소하는 효과, 수면 지속시간(sleep duration)이 증가하는 효과 또는 논렘 수면이 증가하는 효과일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0036] 또한, 상기 수면장애는 기능부전적 수면 기전, 수면 중 생리학적 기능의 이상, 생체시계의 이상, 및 수면과정과 무관한 인자에 의해서 유도된 수면장애를 포함한 다수의 원인으로 인하여 야기되는 붕괴된 수면 패턴을 의미하고, 예를 들어 불면증일 수 있다. 상기 불면증에는 야반(middle-of-the-night) 불면증, 심야(late night) 불면증, 수면 시작 후에 장기간 깨어있는 불면증, 수면 유지 불면증, 및 야반 기상 후에 이어지는 불면증을 포함할 수 있다.

[0037] 하기 실시예에서는, 청각 추출물이 입면시간의 감소 및 수면 지속시간의 증가 효과를 나타냄을 확인하였다. 따라서, 청각 추출물은 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물의 유효성분으로서 사용될 수 있다. 종래의 수면제와는 달리 청각 추출물은 식품으로서 승인되어 있는 인체에 무해한 성분으로서 부작용이 없

을 뿐만 아니라 입면 유도 효과 및 수면 연장 효과가 우수하므로, 수면장애의 예방, 개선 또는 치료를 위해 유용하게 사용될 수 있다.

[0039] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0040] 본 발명의 수면장애 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 청각 추출물을 유효성분으로 함유한다.

[0041] 본 명세서에서 “청각(*Codium fragile*)”은 식용으로 알려져 있는 녹조류 청각목 청각과의 해조(海藻)이다. 저조산 부근의 암석에 서식하며, 바닷속의 돌, 바위, 암석, 조개껍질 등에 붙고 매우 깊은 곳에도 서식한다. 비뇨기 질환 및 수종의 치료에 이용되어 왔으며 청각 추출물에는 유해균만을 억제하는 특이한 항균작용을 가지고 있는 아크릴산(acrylic acid), 항혈액응고 활성물질 등이 함유되어 있을 뿐 아니라, 항암 및 항돌연변이 효과와 면역 활성 등이 있는 것으로 밝혀져 여러 분야에서 응용되고 있는 해조이다.

[0042] 본 발명의 청각은 추출용매와 1 : 5 내지 50, 바람직하게는 1 : 5 내지 15, 더욱 바람직하게는 1 : 8 내지 12의 중량비로 혼합하여 10 내지 80 ℃, 바람직하게는 20 내지 70 ℃, 더욱 바람직하게는 30 내지 70 ℃, 더욱 바람직하게는 35 내지 65 ℃, 더욱 바람직하게는 40 내지 60 ℃에서 1 내지 20시간, 바람직하게는 1 내지 14시간 동안 추출한 후 감압농축을 수행하여 추출물을 제조한다. 상기 청각과 추출용매의 중량비가 상기 범위를 벗어나는 경우에는 추출물에 청각의 유효성분이 적은 양으로 추출될 수 있다.

[0043] 상기 각 추출물을 추출하는 추출용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매이다. 상기 저급알코올로는 20 내지 95 부피%, 바람직하게는 20 내지 80부피%의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 프로판올을 들 수 있다.

[0044] 상기 추출용매로는 특별히 한정하는 것은 아니지만 20 내지 95부피%, 바람직하게는 20 내지 80 부피%, 더욱 바람직하게는 60 내지 80 부피%의 에탄올 수용액으로 추출된 추출물이 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료에 바람직하게 작용한다.

[0045] 상기 청각 추출물은 청각을 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있다. 바람직하게는, 청각 추출물은 청각의 에탄올 추출물을 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 또는 물로 재분획한 분획물일 수 있다.

[0046] 본 명세서에서 청각을 언급하면서 사용되는 용어 “추출물”은 추출용매를 처리하여 얻은 조추출물뿐만 아니라 청각 추출물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 청각 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0047] 또한, 본 발명의 청각 추출물은 광의로는 청각을 동물에게 투여할 수 있도록 제형화된 청각 가공물, 예컨대, 청각 분말도 포함하는 의미를 갖는다. 비록 본 발명에서 청각으로 실험을 진행하긴 하였으나, 청각 가공물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상 가능할 것이다.

[0048] 한편, 본 명세서에서 용어 “유효성분으로 함유하는”이란 청각 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다.

[0049] 본 발명의 청각 추출물의 1일 투여량은, 250 내지 2500 mg/kg일 수 있으며, 바람직하게는 250 내지 2000 mg/kg일 수 있고, 더욱 바람직하게는 500 내지 2000 mg/kg, 더욱 바람직하게는 1000 내지 2000 mg/kg일 수 있고, 더욱 바람직하게는 1250 내지 1750 mg/kg일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 1250 내지 1500 mg/kg일 수 있다. 본 발명의 청각 추출물의 투여량의 상기 하한치 미만인 경우에는 수면 효과가 원하는 정도로 나타나지 않을 수 있고, 상기 상한치를 초과하는 경우에는 투여량이 증가하는 만큼 수면 효과가 증가하지 않을 수 있다. 청각 추출물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 청각 추출물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0050] 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, 펜토바비탈 수면유도 실험에서 마우스 모델에 본 발명의 청각 추출물을 투여한 결과, 국내 판매 중인 수면 유도용 건강기능식품 조성물의 유효성분인 미강 추출물과 동등한 정도의 입면시간 감소 및 수면 지속시간의 증가 효과를 나타내어, 수면장애 또는 불면증을 개선하는 효과가 있음을 구체적으로 확인하였다(도 2a 내지 도 2b 참조).

[0051] 본 발명의 구체적인 다른 실시예에 따르면, 펜토바비탈 수면유도 실험에서 마우스 모델에 다양한 녹조류 추출물들을 각각 투여한 결과, 여러 녹조류들 중에서 청각(*Codium fragile*) 만이 입면시간 감소 및 수면 지속시간 증가 효과가 있는 것을 확인하였다. 한편, GABA 수용체 결합 활성이 높다고 해서 수면 개선 효과가 높은 것은 아

님을 확인할 수 있었으며, 예를 들어, 청각(*Codium fragile*)은 [3H]-플루마제닐의 결합을 치환하는 GABAA-벤조디아제핀 수용체 결합 활성이 10 mg/mL 농도에서 $55.9 \pm 5.6\%$ 이고, 모란갈파래는 $86.2 \pm 1.9\%$ 이지만, 모란갈파래는 유의적인 수면 개선 효과를 나타내지 않는 반면, 청각(*Codium fragile*)은 우수한 수면 개선 효과를 나타내는 것을 구체적으로 확인하였다(표 1 참조).

- [0052] 본 발명의 구체적인 또 다른 실시예에서는, 펜토바비탈 수면유도 실험에서, 마우스 모델에 본 발명의 청각 추출물을 투여한 결과 입면시간 감소 및 수면 지속시간의 증가 효과를 나타내어, 수면장애 또는 불면증을 개선하는 효과가 있음을 구체적으로 확인하였다(도 3a 및 도 3b 참조). 특히, 청각 추출물 투여 용량이 1,500 mg/kg인 경우에는 독세핀 하이드로클로라이드(DH)와 비슷한 수준의 수면 효능을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0053] 이는, 본 발명의 청각 추출물이 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0054] 본 발명의 용어 "예방"이란, 상기 수면장애 또는 불면증을 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 것을 의미한다.
- [0055] 본 발명의 용어 "치료"란, 달리 언급되지 않는 한, 상기 수면장애 또는 불면증의 증상을 역전시키거나, 완화시키거나, 그 진행을 억제하거나, 또는 예방하는 것을 의미한다.
- [0056] 본 발명의 용어 "개선"이란, 본 발명의 청각 추출물을 포함하는 조성물의 투여로 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 것을 의미한다.
- [0057] 본 발명에 따른 식품 조성물은 식품학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 분말, 과립, 정제, 캡슐 등으로 제제화하여 기능성 식품으로 이용할 수 있다. 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [0058] 또한, 본 발명에 따른 식품 조성물은 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류 등일 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 식품 조성물은 커피 음료일 수 있다.
- [0059] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 청각 추출물뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 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 벡스틴, 사이클로벡스틴 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 청각 추출물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다. 상기 식품 조성물의 제형은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료일 수 있다.
- [0060] 상기 식품 조성물에서 상기 청각 추출물의 함량은 0.001 내지 5 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 1 중량%, 더욱 바람직하게는 0.001 내지 0.5 중량%, 더욱 바람직하게는 0.002 내지 0.3 중량%, 더욱 바람직하게는 0.005 내지 0.3 중량%, 더욱 바람직하게는 0.01 내지 0.2 중량%, 더욱 바람직하게는 0.02 내지 0.1 중량%일 수 있다.
- [0062] 또한, 본 발명은 상기 청각 추출물을 유효성분으로 포함하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다. 건강기능식품이란, 청각 추출물을 다양한 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품에 있어서의 청각 추출물의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료의 형태일 수 있다.
- [0064] 또한, 본 발명은 청각 추출물을 유효성분으로 함유하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0065] 본 발명의 약학 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하

여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 봉해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 율활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0066] 상기 약학 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약학 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0067] 상기 약학 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 율활제, 봉해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 봉해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.

[0068] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 향산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 율활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0069] 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0070] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.

[0071] 본 발명의 약학 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 약학 조성물의 1일 투여량은 0.001-10 g/kg일 수 있다.

[0072] 본 발명의 약학 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 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.

[0074] 또한, 본 발명은 상기 청각 추출물을 유효성분으로 포함하는 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 사료 첨가제 조성물을 제공한다.

[0075] 본 발명에서 용어, '사료 첨가제'는 영양소 보충 및 체중감소 예방, 사료 내 섬유소의 소화 이용성 증진, 유질 개선, 번식장애 예방 및 수태율 향상, 하절기 고온 스트레스 예방 등 다양한 효과를 목적으로 사료에 첨가하는 물질을 포함한다. 본 발명의 사료 첨가제는 사료 관리법상의 보조 사료에 해당하며, 탄산수소나트륨, 벤토나이트(bentonite), 산화마그네슘, 복합광물질 등의 광물질제제, 아연, 구리, 코발트, 셀레늄 등의 미량 광물질인 미네랄제제, 케로틴, 비타민 A D, E, 니코틴산, 비타민 B 복합체 등의 비타민제, 메티오닌, 라이신 등의 보호아미노산제, 지방산 칼슘염 등의 보호지방산제, 생균제(유산균제), 효모배양물, 곰팡이 발효물 등의 생균, 효모제 등이 추가로 포함될 수 있다.

[0076] 본 발명에서 용어 '사료'는, 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분으로, 본 발명에 따른 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 조성물을 유효성분으로 포함하는 사료는 당업계에 공지된 다양한 형태의 사료로 제조가능하며, 바람직하게는 농후 사료, 조사료 및/또는 특수사료가 포함될 수 있으나, 이로 한정되지 않는다.

[0077] 농후사료에는 밀, 귀리, 옥수수 등의 곡류를 포함하는 종자열매류, 곡물을 정제하고 얻는 부산물로서 쌀겨, 밀기울, 보릿겨 등을 포함하는 겨류, 콩, 유채, 깨, 아마인, 코코야자 등을 채유하고 얻는 부산물인 깻묵류와 고구마, 감자 등에서 녹말을 뺀 나머진인 녹말찌꺼기의 주성분인 잔존녹말질류 등의 찌꺼기류, 어분, 물고기찌꺼기, 어류에서 얻은 신선한 액상물(液狀物)을 농축시킨 것인 피시솔루블(fish soluble), 육분(肉粉), 혈분, 우모

분, 탈지분유, 우유에서 치즈, 탈지유에서 카제인을 제조할 때의 잔액인 웨이(whey)를 건조한 건조웨이 등의 동물질사료, 효모, 클로렐라, 해조류가 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0078] 조사료에는 야초, 목초, 꽃베기 등의 생초(生草)사료, 사료용 순무, 사료용 비트, 순무의 일종인 루터베어거 등의 뿌리채소류, 생초, 꽃베기작물, 곡실(穀實) 등을 사일로에 채워 놓고 젖산발효시킨 저장사료인 사일리지(silage), 야초, 목초를 베어 건조시킨 건조, 종축용(種畜用) 작물의 짚, 콩과 식물의 나뭇잎이 있으며, 이에 제한되지 않는다. 특수사료에는 굴껍데기, 암염 등의 미네랄 사료, 요소나 그 유도체인 디우레이드이소부탄 등의 요소사료, 천연사료원료만을 배합했을 때 부족하기 쉬운 성분을 보충하거나, 사료의 저장성을 높이기 위해서 배합사료에 미량으로 첨가하는 물질인 사료첨가물, 식이보조제가 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0079] 본 발명에 따른 상기 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선용 사료 첨가제 조성물은 당업계에 공지된 다양한 사료 제조방법에 따라 적절한 유효 농도 범위에서 청각 추출물을 첨가하여 제조 가능하다.

[0080] 본 발명에 따른 사료 첨가제 조성물은 수면장애 또는 불면증의 예방 또는 개선을 목적으로 하는 개체이면 제한 없이 적용가능하다. 예를 들면, 소, 말, 돼지, 염소, 양, 개, 고양이, 토끼 등과 같은 비인간동물, 조류 및 어류 등 어느 개체에도 적용이 가능하다.

[0082] 또한, 본 발명은 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료용 의약 또는 식품의 제조를 위한 청각 추출물의 용도를 제공한다. 상기한 바와 같이 청각 추출물은 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료를 위한 용도로 이용될 수 있다.

[0084] 또한, 본 발명은 포유동물에게 유효량의 청각 추출물을 투여하는 것을 포함하는 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료 방법을 제공한다.

[0085] 여기에서 사용된 용어 “포유동물”은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.

[0086] 여기에서 사용된 용어 “유효량”은 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상가에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 해당 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분 또는 유효량 및 투여 횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 수 있다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 예방, 개선 또는 치료 방법에 있어서, 성인의 경우, 청각 추출물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.001 g/kg 내지 10 g/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.

[0087] 본 발명의 치료방법에서 청각 추출물을 유효 성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

[0089] 이하, 본 발명에 따른 청각 추출물을 유효성분으로 포함하는 수면장애 또는 불면증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대해 실시예 및 비교예를 들어 상세히 설명하기로 한다.

[0091] <실시예>

[0092] 실시예: 청각 에탄올 추출물

[0093] 청각(*Codium fragile* Hariot)을 깨끗하게 세척하여, 완전히 건조시킨 다음 분쇄기를 이용하여 분쇄하였다. 상기 청각 분말과 70%(v/v) 에탄올을 1 : 10의 중량비로 혼합한 후 50 ℃에서 16시간 동안 추출하여 청각 에탄올 추출물을 수득하였다. 상기 수득된 추출물은 여과 및 감압 농축을 거쳐 동결건조로 분말화하여 이용하였다(수율 3.6%).

[0095] <시험방법>

[0096] 실험 동물

[0097] ICR 마우스(18-22 g, 웅성)는 ㈜코아텍(경기, 평택)에서 분양받아 실험동물용 사육상자에 일주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물의 사육은 온도 25± 1℃, 습도 65± 5%, 명-암주기(명: 오전 7시-오후 7시), 조도 3000 Lux의 조건하에 이루어졌으며, 사료 및 음수는 자유 급여하였다. 모든 동물들은 부경대학교 동물실험윤리

위원회의 실험동물 사용지침에 따라 관리하였다.

[0098] **펜토바비탈 수면유도 실험(Pentobarbital-induced sleep test)**

[0099] 펜토바비탈 수면유도 실험은 오후 1시에서 5시 사이의 일정한 시간 내에 진행하였으며, 그룹 당 10 마리(n=10)의 마우스를 실험 전 24시간 동안 절식시킨 후 사용하였다. 모든 시료는 5% tween 80-식염수 용액을 이용하여 제조하였고 펜토바비탈 투여 45분 전에 마우스에 경구투여(p.o.)하였다. 일반 대조군 실험군은 5% tween 80-식염수 수용액을 10 mg/kg의 농도로 경구투여하였고, 독세핀 하이드로클로라이드(DH)는 대표적인 수면제로서 추출물의 수면증진 효과를 비교하기 위하여 양성 대조군 약물로 사용하였다. 펜토바비탈((주)한림제약)은 실험 디자인에 따라 45 mg/kg(hypnotic dosage)의 농도로 복강주사(i.p.)를 통해 투여하였다. 펜토바비탈 처리 후 각각의 개체를 독립된 공간에 옮겨서 입면시간(sleep latency)과 수면시간(sleep duration)을 측정하였다. 입면시간은 펜토바비탈을 복강주사한 후 정반사(righting reflex)를 1 분 이상 상실할 때까지의 경과시간으로 설정하였고, 수면시간은 다시 정반사를 회복할 때까지의 시간으로 설정하였다. 펜토바비탈 투여 후 10분이 지나도 수면행동을 보이지 않은 마우스는 실험에서 제외하였다(도 1).

[0100] **수면구조분석**

[0101] C57BL/6N 마우스를 1주일간 적응시킨 후 뇌파(Electroencephalogram, EEG) 및 근전도도(Electromyogram, EMG) 측정을 위해 전극 삽입 수술을 실시하였다. 마우스를 pentobarbital(50 mg/kg, i.p.)로 마취시키고 뇌정위기(stereotaxic instrument)에 두부를 고정시켰다. 두부 피하 결합조직을 절개한 후 EEG 및 EMG 측정을 위하여 Mouse EEG/EMG Headmount (Pinnacle Technology Inc, Oregon, USA)를 삽입하였다. 이후 dental cement로 고정 후 수술부위의 소독 및 항생제 투여를 1일 동안 실시하여 수술로 인한 염증을 예방하였으며, 7일간 회복기간을 두었다. 뇌파측정환경에 적응시키기 위하여 측정 4일 전부터 recording 장치를 연결하여 본 실험과정에 순응하도록 유도하였다. EEG 및 EMG는 시료 경구투여 후 5분간 안정화 시킨 다음 PAL-8200 series (Pinnacle Technology Inc, Oregon, USA)를 이용하여 17:00부터 24시간동안 측정하였다. EEG 및 EMG의 sampling rate는 200 Hz로 설정하고(epoch time: 10 s), EEG는 0.1-25 Hz, EMG는 10-100 Hz의 필터 영역을 설정하여 데이터를 기록하였다. 수면구조 분석은 fast Fourier transform (FFT) 알고리즘에 의해 수행되었으며, SleepSign 프로그램(Ver. 3.0, Kissei Comtec, Nagano, Japan)을 이용하였다. 분석결과는 Wake(wakefulness), REMS (rapid eye movement sleep, theta band: 6-10 Hz), NREMS (non-rapid eye movement sleep, delta band: 0.65-4 Hz)으로 구분하여 나타내었고, Sleep latency(입면시간)는 10초 epoch 단위의 NREM 수면이 12번 이상 연속적으로 나타나는데 걸리는 시간으로 설정하였다(도 4).

[0103] **<시험예>**

[0104] **시험예 1: 청각 추출물의 수면 효능**

[0105] **1-1: 수면 효능이 알려진 미강 추출물과의 수면 효능 비교**

[0106] 펜토바비탈 수면유도 실험을 통해 실시예의 청각 추출물과 기존에 수면 질 개선용 건강기능식품 소재로서 개별 인정을 받은 미강주정 추출물과의 수면 효능을 비교하고자 하였다.

[0107] 이를 위하여, 마우스를 각 군당 10 마리씩 4그룹으로 나누어 준비하였다. 일반대조군은 5% tween 80-saline을 투여하였고, 미강주정추출물((주)에스앤디)을 1,000 mg/kg 농도로, 실시예의 청각 추출물을 각각 1,000 mg/kg 및 1,500 mg/kg의 농도로 경구투여(p.o.)한 후 펜토바비탈 (45 mg/kg, i.p.)에 의한 수면유도 효과를 분석하였다.

[0108] 그 결과, 실시예의 청각 추출물은 1,500 mg/kg의 농도에서 기존에 수면 효능이 알려진 미강 추출물(1,000 mg/kg)과 동등한 정도의 입면시간의 감소 및 수면 지속시간의 증가 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다(도 2a 및 도 2b 참조).

[0110] **1-2: 타 녹조류와의 수면 효능 비교**

[0111] 펜토바비탈 수면유도 실험을 통해 실시예의 청각(*Codium fragile*) 추출물과 타 녹조류와의 수면 효능을 비교하고자 하였다.

[0112] 이를 위하여, 마우스를 각 군당 10 마리씩 6그룹으로 나누어 준비하였다. 일반대조군은 5% tween 80-saline을 투여하였고, 실시예의 청각 추출물, 및 타 녹조류의 추출물을 각각 1,500 mg/kg의 농도로 경구투여(p.o.)한 후 펜토바비탈 (45 mg/kg, i.p.)에 의한 수면유도 효과를 분석하여 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

구분	입면시간(min)	수면 지속시간(min)
대조군	3.42±0.16	75.4±6.4
실시에 (<i>Codium fragile</i>)	2.73±0.42***	116.3±4.7***
누운청각(<i>Codium coactum</i> Okamura)	3.32±0.25	82.5±10.3
몽우리청각(<i>Codium contractum</i> Kjellman)	3.36±0.20	78.2±6.8
구슬청각(<i>Codium minus</i> Silva)	3.41±0.09	80.7±3.9
모란갈파래(<i>Ulva conglobata</i> Kjellman)	3.28±0.36	86.4±2.7

[0115] 상기 표 1을 살펴보면, 녹조류 식물인 모란갈파래의 경우 유의적인 수면 효능을 나타내지 않았고, 본 발명의 청각과 동일한 청각과의 누운청각, 몽우리청각 및 구슬청각 역시 유의적인 수면 효능을 나타내지 않은 반면, 본 발명의 청각 추출물은 우수한 수면 효능을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0117] 본 발명자들의 선행연구(Suengmok Cho *at al.*, Food Chemistry 132 (2012) 1133-1142, 한국등록특허 제10-1260696호 참조)에 따르면, 갈조류 추출물은 입면시간은 감소시키고, 수면 지속시간은 증가시키는 효과를 가진다. 상기 갈조류 추출물의 수면 개선 효과는 녹조류나 홍조류에는 존재하지 않고, 갈조류에만 존재하는 폴리페놀인 플로로탄닌 화합물에 의한 것이었다.

[0118] 한편, 본 발명에서는 플로로탄닌을 포함하지 않는 녹조류들의 수면 개선 효과들을 확인한 결과, 여러 녹조류들 중에서 청각(*Codium fragile*) 만이 입면시간 감소 및 수면 지속시간 증가 효과가 있는 것을 확인하였다.

[0120] 시험예 2: 청각 추출물의 농도에 따른 수면 효능

[0121] 펜토바비탈 수면유도 실험을 통해 실시예의 청각 추출물이 어떠한 수면 효능을 나타내는지 확인하고자 하였다.

[0122] 이를 위하여, 마우스를 각 군당 10 마리씩 6그룹으로 나누어 준비하였다. 일반대조군은 5% tween 80-saline을 투여하였고, 독세핀 하이드로클로라이드(DH)를 30 mg/kg의 농도로, 실시예의 청각 추출물을 각각 250, 500, 1,000 및 1,500 mg/kg의 농도로 경구투여(p.o.)한 후 펜토바비탈 (45 mg/kg, i.p.)에 의한 수면유도 효과를 분석하였다.

[0123] 그 결과, 실시예의 청각 추출물은 1,000 및 1,500 mg/kg의 농도에서 유의적인 입면시간의 감소 및 수면 지속시간의 증가 효과를 나타내었다(도 3a 및 도 3b 참조).

[0124] 본 발명의 청각 추출물은 합성 수면제인 독세핀 하이드로클로라이드(DH, 30 mg/kg)와 유사한 정도의 수면 효과가 있는 것을 확인할 수 있다.

[0126] 시험예 3: 청각 추출물을 이용한 수면 구조 분석

[0127] 본 발명의 일 실시예에 따른 청각 추출물의 수면의 양 및 질을 평가하기 위해 마우스의 수면 구조를 분석하고자 하였고, 이를 위해 각 군당 8 마리씩 4그룹의 마우스(C57BL/6N, 수컷, 11주령, 25-28g)를 준비하였다. 일반대조군은 5% tween 80-saline을 투여하였고, 양성대조군은 독세핀(DH, doxepin hydrochloride) 10 mg/kg, 실시예의 청각 추출물(CFE) 1000 mg/kg을 각각 경구투여(p.o.)한 후 마우스의 수면 구조를 분석하였다(도 4 참조).

[0128] 수면 구조 분석 결과, 본 발명의 실시예의 청각 추출물(CFE)은 수면 효과가 알려진 독세핀(DH, doxepin hydrochloride)과 유사한 수면 효과를 나타내었고, 구체적으로 대조군에 비하여 유의적으로 입면시간을 감소시키고, 논렘 수면을 증가시켰으며, 각성 시간을 감소시켰다(도 5a 및 5b 참조).

[0129] 또한, 실시예의 청각 추출물(CFE) 1,000 mg/kg 및 독세핀(DH, doxepin hydrochloride) 10 mg/kg을 각각 경구투여한 후 C57BL/6N mice의 뇌파를 측정하는 동안 매 시간별 Wake, NREM, 및 REM 수면시간의 변화를 도 6c에 나타내었다. 도 5c를 살펴보면, 실시예의 청각 추출물은 경구투여 후 처음 2시간 동안 NREM 수면의 유의적인 증가를 나타내었고, 양성대조군인 독세핀(DH, doxepin hydrochloride)은 경구투여 후 처음 5시간 동안 대조군(Vehicle)에 대하여 NREM 수면의 유의적인 증가를 보였다. 이러한 결과로부터, 본 발명에 따른 실시예의 청각 추출물은 수면 초반에 수면증진효과를 나타낸 후에는 자연적인 수면을 유도한 반면, 수면제인 독세핀(DH, doxepin hydrochloride)은 본 발명의 실시예에 따른 추출물과 같이 수면 초반에 수면증진효과를 나타내었으나 그 효과가 지나치게 장시간 동안 지속되어, 수면제의 전형적인 부작용을 유발하게 된 것을 확인할 수 있었다.

[0131] **시험예 4: GABA 수용체 결합 활성과 수면 효능의 상관관계 확인**

[0132] 펜토바비탈 수면유도 실험을 통해 GABA 수용체 결합 활성과 수면 효능간의 상관관계를 확인하고자 하였다.

[0133] 본 발명자들의 선행연구(Suengmok Cho *at al.*, Food Chemistry 132 (2012) 1133-1142, 한국등록특허 제10-1260696호 참조)에 따르면, 해조류 추출물, 특히 갈조류 추출물의 경우 [3H]-플루마제닐의 결합을 치환하는 GABAA-벤조디아제핀 수용체 결합 활성 (‘GABA_A-BZD 수용체 결합 활성’ 또는 ‘GABA 수용체 결합 활성’ 이라고 함)이 증가할수록 수면 효능이 높아지는 경향을 나타내었다.

[0134] 그러나, 본 발명자들은 이후의 다양한 후속연구들을 통해 GABA 수용체 결합 활성이 높다고 해서 수면 효능이 높은 것은 아님을 확인할 수 있었다.

[0135] 예를 들어, 청각(*Codium fragile*)은 [3H]-플루마제닐의 결합을 치환하는 GABAA-벤조디아제핀 수용체 결합 활성 (GABA_A-BZD 수용체 결합 활성)이 10 mg/mL 농도에서 $55.9 \pm 5.6\%$ 이고, 모란갈파래는 $86.2 \pm 1.9\%$ 이지만 (Suengmok Cho *at al.*, Food Chemistry 132 (2012) 1133-1142 참조), 모란갈파래는 유의적인 수면 개선 효과를 나타내지 않는 반면(표 1 참조), 청각(*Codium fragile*)은 우수한 수면 개선 효과를 나타내는 것을 구체적으로 확인하였다.

[0136] 더욱 구체적으로, 마우스를 각 군당 10 마리씩 6그룹으로 나누어 준비하였다. 일반대조군은 5% tween 80-saline 을 투여하였고, 실시예의 청각 추출물, 및 청각에 비해 GABAA-BZD 수용체 결합 활성이 높은 타 해조류의 추출물을 각각 1,000 mg/kg의 농도로 경구투여(p.o.)한 후 펜토바비탈 (45 mg/kg, i.p.)에 의한 수면유도 효과를 분석하여 하기 표 2 및 도 6에 나타내었다.

표 2

[0137]

구분	입면시간(min)	수면 지속시간(min)	GABA _A -BZD 수용체 결합 활성(%)
대조군	3.56 ± 0.21	59.2 ± 8.6	-
실시예 (<i>Codium fragile</i>)	$3.04 \pm 0.45^*$	$85.5 \pm 9.3^{**}$	55.9 ± 5.6
구멍갈파래(<i>Ulva pertusa</i> Kjellman)	3.52 ± 0.25	68.9 ± 6.2	72.5 ± 3.6
패(<i>Ishige okamurai</i> Yendo)	3.51 ± 0.20	67.8 ± 8.8	73.8 ± 1.8
참가죽그물바탕말(<i>Dictyota dichotoma</i> Lamouroux)	3.45 ± 0.09	74.6 ± 5.9	72.6 ± 1.6
팽생이모자반(<i>Sargassum horneri</i> C.Agardh)	3.48 ± 0.36	70.4 ± 3.7	70.4 ± 2.4

[0139] 상기 표 2 및 도 6을 살펴보면, 타 해조류의 경우 청각에 비해 GABA_A-BZD 수용체 결합 활성이 더욱 높음에도 유의적인 수면 효능을 나타내지 않은 반면, 본 발명의 청각 추출물은 우수한 수면 효능을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0140] 이러한 결과들로부터, GABA 수용체 결합 활성과 수면 효능 사이에 직접적인 상관관계가 없음을 유추할 수 있다.

[0142] **시험예 5: 청각 추출물의 GABA 수용체에 대한 활성화 효과**

[0143] HEK293T CELL (Human embryonic kidney cell 293)을 DMEM(Dulbecco Modified Eagle) 배지에 10% FBS (Fetal Bovine Serum), 1% Penicillin-Streptomycin 첨가하여 배양한 후, 배양된 HEK 293T CELL에 GABA 수용체를 형질 전환하기 위해 Transfection Reagent (QIAGEN)이용하여 $\alpha 1$, $\beta 3$ 및 $\gamma 2$ Subunits cDNA 을 1:1:1 비율로 처리한 후 GABA 수용체가 발현되는 형질전환 세포를 유도하였다. 이후, $\alpha 1$ Subunits cDNA가 AAV-GFP Plasmid Vector에 Sub-cloning 된 cDNA를 사용하여 형광현미경을 통하여 세포내 GABA 수용체의 발현을 확인하였다. 시료의 GABA 수용체에 대한 활성 변화는 전기생리학 기술인 Whole-cell Voltage-clamp 기법을 이용하여 기록하였다. 사용된 장비는 Axon 700B patch-clamp amplifier(Molecular device, Foster City, CA, USA)와 Digidata 1440 interface, Clampex 및 Clampfit Software (Version10, Molecular Device)를 이용하였다.

[0144] GABA 수용체의 활성을 측정하기 위하여 형광현미경을 통해 GABA수용체가 발현이 확인된 세포에 voltage clamp 모드로 수용체를 통해 이동하는 전류를 측정하였다. 대조군으로 1 μ M 농도의 GABA를 3초간 처리하여 유도된 전류를 컴퓨터에 저장하고, 100 μ g/ml의 농도로 청각 추출물을 GABA 와 함께 처리하여 유도된 전류의 크기를 측정 후 대조군과 비교하여 활성을 확인하였다. 각각의 결과는 t-test를 통하여 통계상의 유의성을 확인하였다.

- [0145] 그 결과, 실시예의 청각 추출물은 GABA 수용체의 활성을 약 30% 증가시키는 것을 확인할 수 있었다(도 7 참조).
- [0147] 종합하면, 본 발명의 청각 추출물과 기존에 수면 질 개선용 건강기능식품 소재로서 개별인정을 받은 미강주정추출물의 수면 개선 효과를 비교한 결과, 본 발명의 청각 추출물은 상기 미강 추출물과 동등한 정도의 수면 개선 효과를 나타내는 것을 구체적으로 확인하였다.
- [0148] 또한, 본 발명은 다양한 녹조류를 각각의 수면 개선 효과를 확인한 결과, 여러 녹조류들 중에서 청각 추출물만이 수면 개선 효과가 있음을 구체적으로 확인하였다.
- [0149] 한편, 본 발명의 청각 추출물은 1,000 및 1,500 mg/kg의 농도에서 유의적인 입면시간의 감소 및 수면 지속시간의 증가 효과를 나타내어 합성 수면제인 독세핀 하이드로클로라이드(DH, 30 mg/kg)와 유사한 정도의 수면 효능이 있는 것을 확인할 수 있었다.
- [0150] 또한, 수면 구조 분석 시험을 수행한 결과, 합성 수면제인 독세핀 하이드로클로라이드는 수면 초반에 수면증진 효과를 나타내었으나 그 효과가 지나치게 장시간 동안 지속되어 수면제의 전형적인 부작용을 유발하는 반면, 본 발명의 청각 추출물은 수면 초반에 수면증진효과를 나타낸 후에는 자연적인 수면을 유도하여 부작용을 유발하지 않는 것을 구체적으로 확인하였다.
- [0151] 또한, GABA 수용체 결합 활성과 수면 효능의 상관관계 확인하고자 다양한 해조류들의 GABA 수용체 결합 활성과 수면 개선 효과를 각각 측정한 결과, 본 발명자들의 선행연구 결과와는 달리 청각 추출물에 비해 GABA 수용체 결합 활성이 높은 다양한 해조류 추출물들이 유의적인 수면 개선 효과를 나타내지 않는 것을 확인하여, GABA 수용체 결합 활성과 수면 개선 효과 사이에 직접적인 상관관계가 존재하지 않음을 알 수 있었다.
- [0152] 한편, 상기와 같은 수면 개선 효과를 나타내는 본 발명의 청각 추출물은 GABA 수용체의 활성을 약 30% 증가시키는 것을 구체적으로 확인하였다.
- [0154] 하기에 본 발명의 청각 추출물을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.
- [0156] 제제예 1. 산제의 제조
- | | | |
|--------|-----------------|---------|
| [0157] | 실시예에서 얻은 추출물 분말 | 1500 mg |
| [0158] | 유당 | 100 mg |
| [0159] | 탈크 | 10 mg |
- [0160] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.
- [0162] 제제예 2. 정제의 제조
- | | | |
|--------|-----------------|---------|
| [0163] | 실시예에서 얻은 추출물 분말 | 1500 mg |
| [0164] | 옥수수전분 | 100 mg |
| [0165] | 유당 | 100 mg |
| [0166] | 스테아린산 마그네슘 | 2 mg |
- [0167] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
- [0169] 제제예 3. 캡슐제의 제조
- | | | |
|--------|-----------------|---------|
| [0170] | 실시예에서 얻은 추출물 분말 | 1500 mg |
| [0171] | 결정성 셀룰로오스 | 3 mg |
| [0172] | 락토오스 | 14.8 mg |
| [0173] | 스테아린산 마그네슘 | 0.2 mg |
- [0174] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- [0176] 제제예 4. 주사제의 제조

[0177]	실시예에서 얻은 추출물 분말	1500 mg
[0178]	만니톨	180 mg
[0179]	주사용 멸균 증류수	2974 mg
[0180]	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	26 mg
[0181]	통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플 당 상기의 성분 함량으로 제조한다.	
[0183]	<u>제제예 5. 액제의 제조</u>	
[0184]	실시예에서 얻은 추출물 분말	4 g
[0185]	이성화당	10 g
[0186]	만니톨	5 g
[0187]	정제수	적량
[0188]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100g으로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	
[0190]	<u>제제예 6. 과립제의 제조</u>	
[0191]	실시예에서 얻은 추출물 분말	1,500 mg
[0192]	비타민 혼합물	적량
[0193]	비타민 A 아세테이트	70 μg
[0194]	비타민 E	1.0 mg
[0195]	비타민 B1	0.13 mg
[0196]	비타민 B2	0.15 mg
[0197]	비타민 B6	0.5 mg
[0198]	비타민 B12	0.2 μg
[0199]	비타민 C	10 mg
[0200]	비오틴	10 μg
[0201]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0202]	엽산	50 μg
[0203]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0204]	무기질 혼합물	적량
[0205]	황산제1철	1.75 mg
[0206]	산화아연	0.82 mg
[0207]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0208]	제1인산칼륨	15 mg
[0209]	제2인산칼슘	55 mg
[0210]	구연산칼륨	90 mg
[0211]	탄산칼슘	100 mg
[0212]	염화마그네슘	24.8 mg

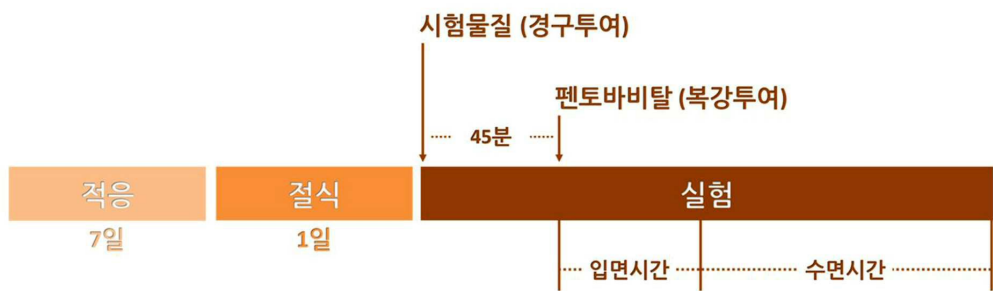
- [0213] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 과립제에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 과립제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
- [0215] 제제예 7. 기능성 음료의 제조
- | | | |
|--------|-----------------|-----------|
| [0216] | 실시예에서 얻은 추출물 분말 | 1,500 mg |
| [0217] | 구연산 | 1,000 mg |
| [0218] | 올리고당 | 100 g |
| [0219] | 매실농축액 | 2 g |
| [0220] | 타우린 | 1 g |
| [0221] | 정제수를 가하여 | 전체 900 mL |
- [0223] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.
- [0224] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.
- [0226] 비록 본 발명이 상기에 언급된 바람직한 실시예로서 설명되었으나, 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 또한, 첨부된 청구범위는 본 발명의 요지에 속하는 이러한 수정이나 변형을 포함한다.

도면

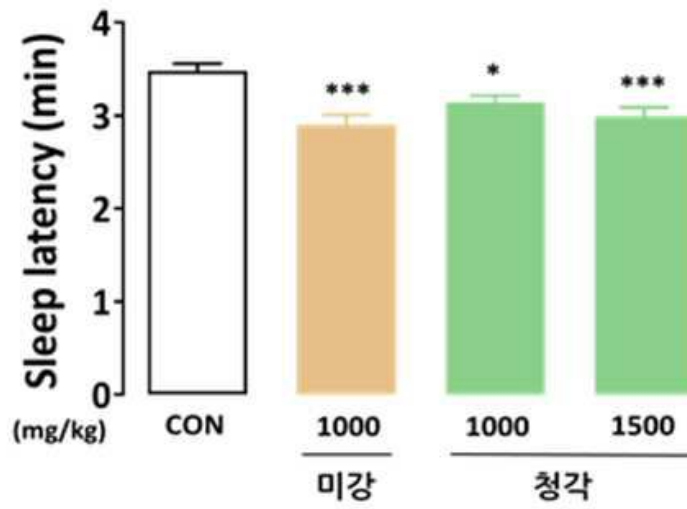
도면1

실험 절차

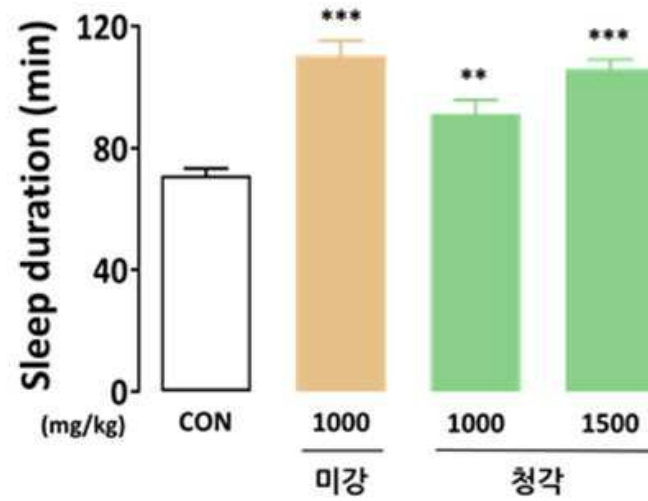
동물: ICR 마우스 (수컷, 3주령, 18-19 g)



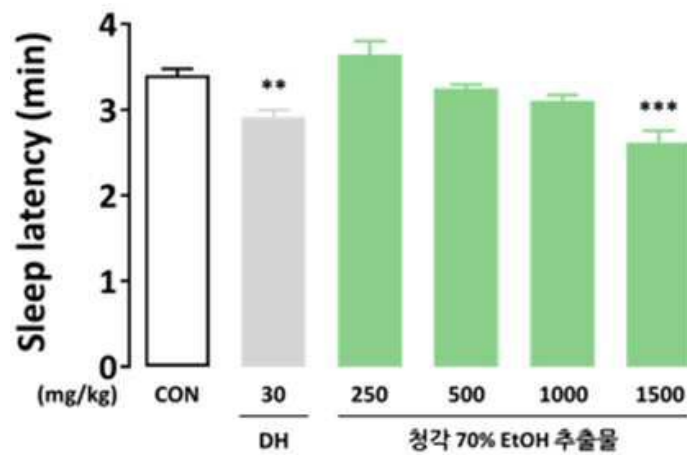
도면2a



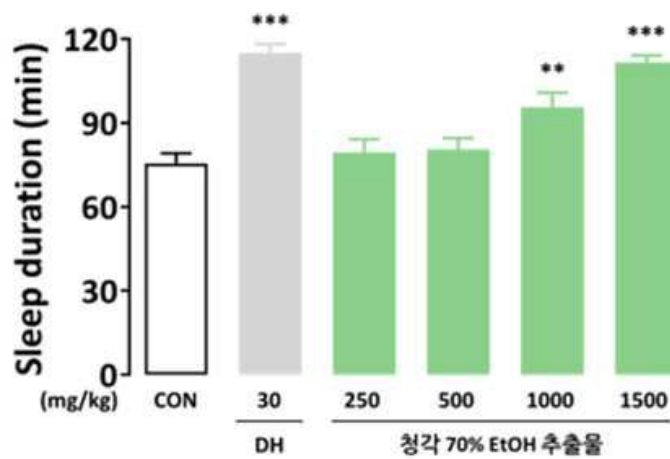
도면2b



도면3a



도면3b



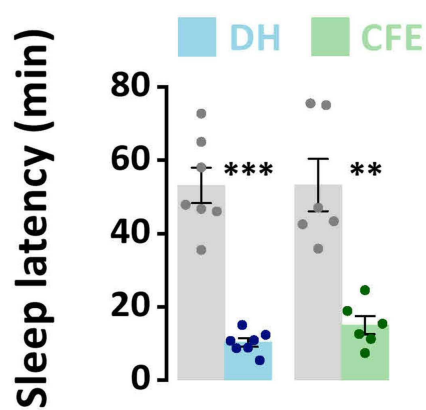
도면4

단회 투여

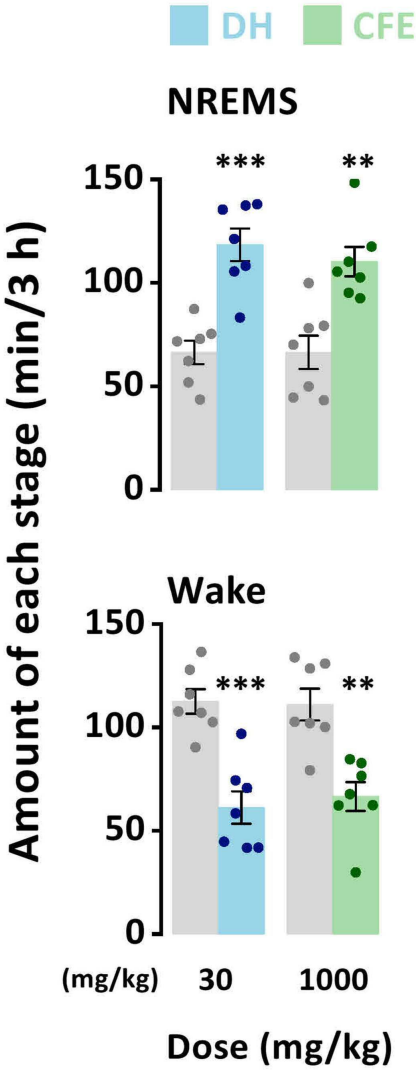
동물: C57BL/6N 마우스 (수컷, 11주령, 25-28 g)



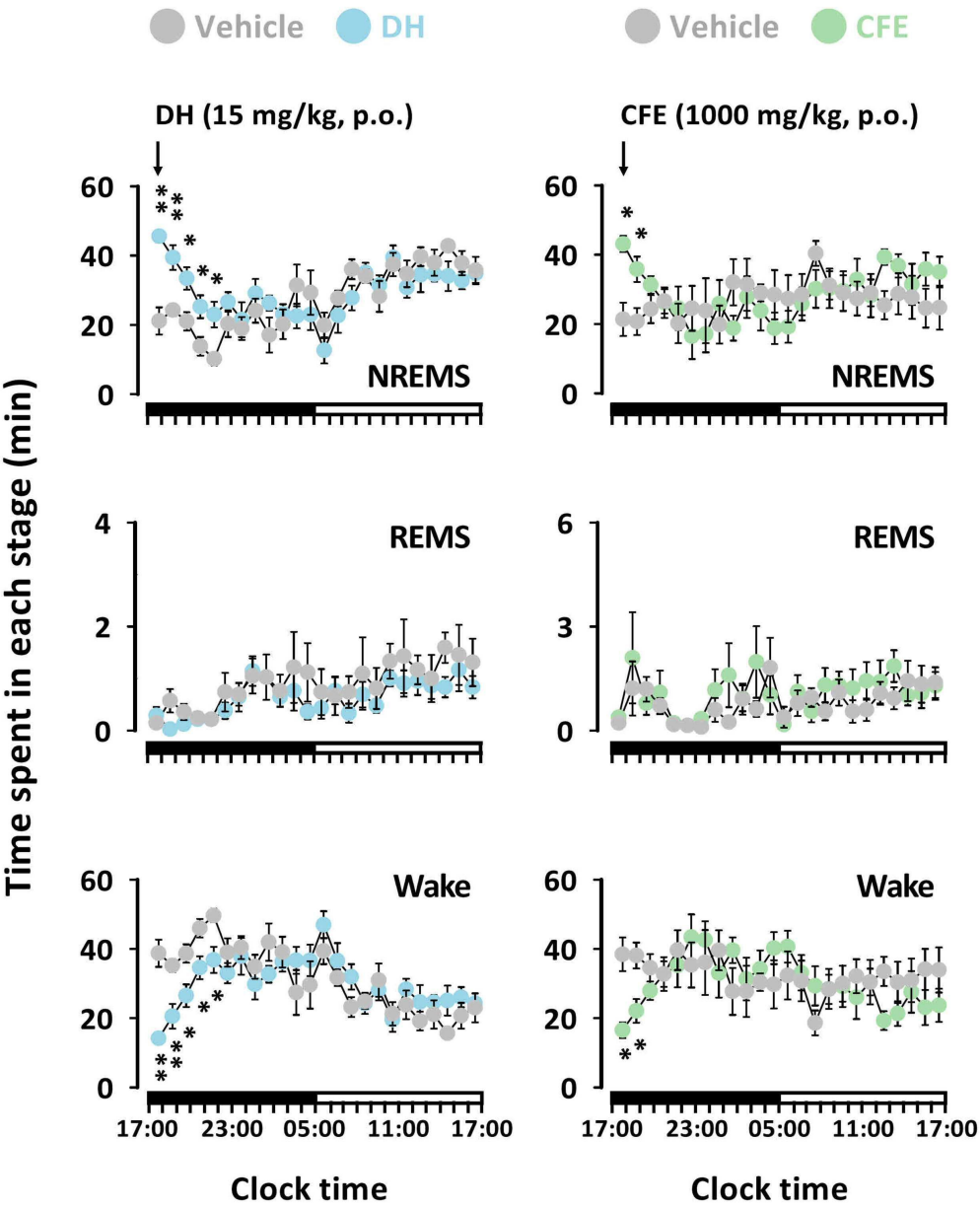
도면5a



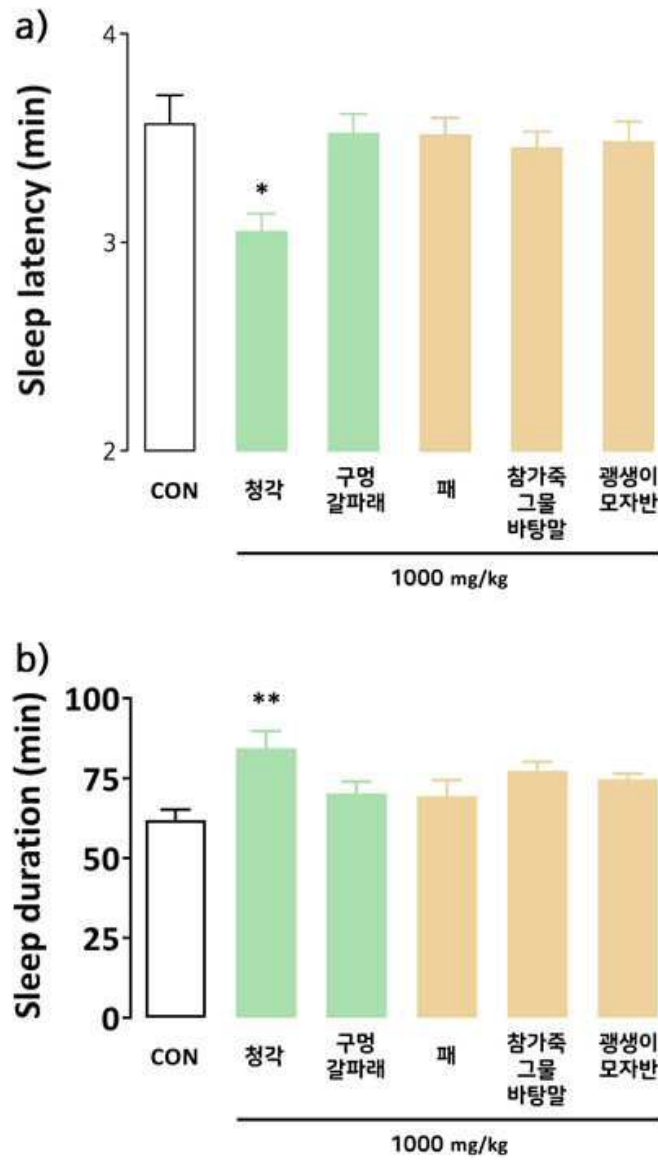
도면5b



도면5c



도면6



도면7

