



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0113434

(43) 공개일자 2015년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/258 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0036964

(22) 출원일자 2014년03월28일

심사청구일자 2014년03월28일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김미정

서울특별시 강북구 삼양로19길 113 삼각산아이원 아파트 114-2001

김영준

서울 서초구 효령로77길 20, 1107호 (서초동, 현대이에스에이아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

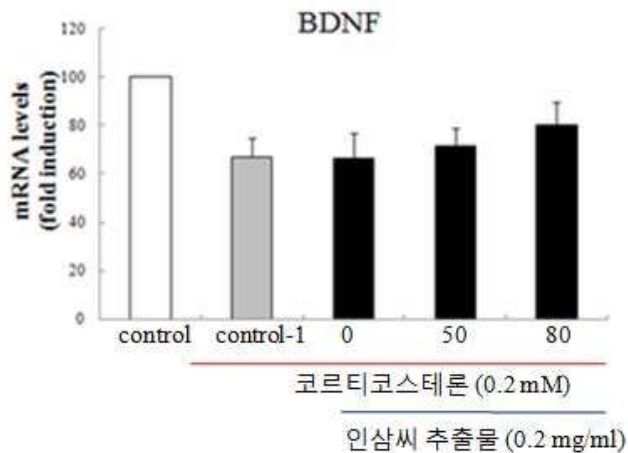
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 인삼씨 추출물을 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 인삼씨 추출물의 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료를 위한 신규 용도를 제공한다. 본 발명의 인삼씨 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 우울증 유발과 관련 있는 코르티코스테론에 의한 독성에 대한 신경 세포 보호 효과 및 신경 영양 인자의 발현 개선 효과를 나타내므로 우울증 발생 및 진행을 예방 또는 개선하거나, 우울증을 치료하는데 효과적으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도3a



(72) 발명자

김태균

세종특별자치시 조치원읍 충현로 159 옥일아파트
108동 1606호

판정훈

세종특별자치시 조치원읍 섭골길 45-4

허완

세종특별자치시 조치원읍 섭골길 45-4

김형민

울산 동구 남목7길 36, 3동 108호 (서부동, 남목우
주아파트)

조형택

강원 홍천군 서면 노일로 478

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2013011686

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 (이공)일반연구자-여성과학자

연구과제명 [1차년도] 다양한 천연물 가공법을 이용한 고 효율성 우울증 개선 소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2013.06.01 ~ 2014.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

인삼씨 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물의 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 유기용매는 저급 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 및 디에틸에테르로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용매인 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 저급 알코올 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 에탄올 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 헥산 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 7

인삼씨 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물의 추출물인 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 유기용매는 저급 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 및 디에틸에테르로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용매인 식품 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 저급 알코올 추출물인 식품 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 에탄올 추출물인 식품 조성물.

청구항 12

제7항에 있어서,

상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 헥산 추출물인 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인삼씨 추출물의 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료를 위한 신규 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 우울증 (depression)은 ‘마음의 감기’ 라도 일컬어지며, 인간의 모든 질병 중 자살율이 가장 높은 질환으로, 한사람이 평생 살아가면서 우울증에 걸릴 확률은 10-15% 로 어느 정신질환보다도 이환율이 높은 것으로 알려져 있다.

[0003] 우울증 유발 원인은 명확히 밝혀지지 않았으며, 최근 들어 다양한 분자 기전의 연구를 통하여 그 원인이 조금씩 밝혀 지고 있는데, 한가지의 단독적 원인이 아니라 여러 가지 기전들이 작용하여 우울증이 유발되는 것으로 알려지고 있다.

[0004] 우선 우울증에는 유전적 혹은 생물학적 소인이 내재하며 이는 스트레스에 의해 유발되는 것으로 알려져 있다. 스트레스는 시상하부의 실방핵(paraventricular nucleus: PVN)에서 corticotropin releasing factor(CRF) mRNA 발현을 증가시키며, 편도체에서는 glucocorticoid 수용체 발현을 증가시키며 우울증 환자의 상당수에서 이와 같은 HPA axis의 이상이 발견되며, 이로 인한 장기적 우울증이 유발되는 것으로 밝혀졌다.

[0005] 다음으로는 최근 스트레스와 우울증에 대한 연구들이 해마(hippocampus)를 중심으로 이루어지고 있는데, 스트레스 후에 해마가 위축되거나 해마 CA3 부위의 pyramidal neuron이 감소하는 등 형태학적 변화가 초래됨. 뇌 영상 연구에서도 우울증 혹은 외상후 스트레스장애 환자들에게서 해마의 용적이 감소되어 있음이 관찰됨. 해마의 위축과 신경세포의 소실은 우울증 혹은 외상후 스트레스장애의 정신병리와 관련이 있을 것으로 발표 되었다.

[0006] 또한 항 우울제들이 스트레스에 의해 유발되는 해마 신경세포의 형태학적 변화 혹은 신경세포의 소실을 역전시킬 것이라는 기대는 이들이 해마에서 brain-derived neurotrophic factor (BDNF)의 발현을 촉진시킨다는 사실이 알려지면서 증폭되고 있는 상황이다. BDNF는 주로 뇌의 발달기에 신경세포의 분화나 생존에 관여한다고 알려

져 있으며, 실제 항우울제 장기처치는 스트레스에 의해 유발된 신경세포돌기들의 위축을 회복시키는 것으로 밝혀지고 있다.

[0007] 현재 우울증 관련 치료는 대체적으로 인지행동치료 (CBT), 대인관계 치료(IPT), 및 상담 치료와 같은 심리적 치료와 전기 자극을 이용한 전기 경련 치료, 항우울제 및 신경안정제 등을 이용한 약물치료 등으로 진행되고 있는 상황이며, 또한 주로 사용되고 있는 우울증 치료제는 주로 뇌세포 간의 정보 전달을 담당하는 ‘세로토닌’ 이나 ‘노르아드레날린’ 등의 작용을 활발하게 하여 증상을 개선시키는 것을 목적으로 한다.

[0008] 이러한 제제들은 각각의 목적에 맞게 개발되어 판매되고 있는데, 세로토닌 또는 노르아드레날린 재흡수 억제 목적으로 하는 SSRI(선택적 세로토닌 재흡수 억제약)인 ‘파록세틴’, ‘셀트라린’ 과 SNRI(세로토닌·노르아드레날린 재흡수 억제약)인 ‘밀라세프린’ 및 그 전세대 제약인 3환세대, 4환세대 제약인 ‘아미트립틸린’, ‘아목사핀’ 등 여러 제제가 있다.

[0009] 그러나 이러한 제제들은 치료 효과는 우수하나 질환 특성상 의사 처방이 필요하고 장기적 복용을 필요로 하며, 장기 복용에 따른 구토, 소화기 문제, 전립선 비대증 및 월경 불순에 따른 여성 질환 유발 등의 부작용 등이 존재한다.

[0010] 따라서 부작용이 적은 천연물을 유효 성분으로 하는 예방 또는 치료용 제제 및 예방 또는 개선용 식품의 필요성이 대두되고 있다.

[0011] 한편, 인삼씨 (ginseng seed)는 주로 인삼 재배 및 육종과 관련하여 사용되므로 이를 소재로 하여 성분의 분석 및 연구된 결과 및 상품화가 미비한 상황이다. 인삼(Panax ginseng C.A. Meyer)은, 오가피과 인삼 속에 속하는 식물로 한국, 중국, 일본 등지에서 2,000여년 전부터 사용되어 온 생약으로, 경험적으로 질병을 예방하고 수명 연장을 목적으로 하여 사용되어져 왔으며 중추 신경계 질환 완화, 항암, 면역기능 증진, 항 당뇨, 간기능 항진 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 그러나, 인삼씨는 인삼을 재배하기 위한 수단으로만 사용되었기 때문에, 인삼씨 특히 인삼씨에 함유된 오일에 대한 연구는 인삼씨 오일의 지방산 조성 및 피토스테롤 함량 분석(비특허문헌 1) 정도이며 조단백 또는 폴리페놀 성분의 함량 정도만 연구되어 있는 실정이다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) J. Agric. Food Chem. 50, 744-750, 2002

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명은 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료를 위해 사용되어 온 기존의 약물들을 대체할 수 있는 천연물 유래의 성분을 발굴하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명자들은 스트레스성 질환 중 대표적 질환인 우울증에 대하여 천연물을 대상으로 연구를 진행하던 중 산업적으로 그 가치성이 낮은 인삼씨의 추출물이 뇌신경세포 보호 활성을 나타내며 우울증을 예방, 개선 또는 치료하는 효과를 갖고 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0015] 본 발명은 인삼씨 추출물의 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료를 위한 신규 용도, 인삼씨 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료용 약제학적 조성물, 치료상 유효량의 인삼씨 추출물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료방법을 제공한다.

[0016] 하기 실시예에서는, 인삼씨 추출물을 신경세포인 PC12 cell에 처리하여 코르티코스테론에 대한 신경세포 손상 억제 효과를 확인하였으며 아울러 코르티코스테론에 의한 신경세포 독성에 기인하여 억제되었던 신경세포의 분화 및 재생에 관련된 신경 영양 인자인 BDNF(brain-derived neurotrophic factor)와 신호 전달관련 인자인

CREB(cyclic adenosine monophosphate response element binding protein)의 발현이 증진됨을 확인하였다. 따라서, 인삼씨 추출물은 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료용 조성물의 유효성분으로서 사용될 수 있다.

[0017] 본 발명에 있어서 우울증은 만성 스트레스에 의해 유발되는 우울장애 (depressive disorder)를 뜻하며 이는 의욕 저하와 우울감을 주요 증상으로 하며 다양한 인지 장애 및 정신 신체적 증상을 일으켜 일상생활의 기능 저하를 가져 오는 질환을 말한다.

[0018] 본 발명에 있어서, 인삼씨 추출물은 압착법 또는 용매추출법에 의해 얻어진 추출물을 모두 포함한다.

[0019] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 인삼씨 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물을 추출 용매로서 이용하여 인삼씨로부터 추출된 것일 수 있다. 이 때 사용되는 유기용매의 종류나 물과 유기용매의 혼합 비율은 특별히 제한되지 않는다.

[0020] 예를 들어, 상기 유기용매는 저급 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 및 디에틸에테르로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용매일 수 있다. 상기 저급 알코올은 탄소수 1 내지 6의 알코올일 수 있다. 예를 들어, 저급 알코올로는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올, 노말-부탄올, 1-펜탄올, 2-부톡시에탄올 또는 에틸렌글리콜 등을 이용할 수 있다. 유기용매는 이 외에도 아세트산, DMFO(dimethyl-formamide), DMSO(dimethyl sulfoxide) 등의 극성 용매, 아세토나이트릴, 에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 플루오로알칸, 펜탄, 2,2,4-트리메틸펜탄, 데칸, 사이클로헥산, 사이클로펜탄, 디이소부틸렌, 1-펜텐, 1-클로로부탄, 1-클로로펜탄, o-자일렌, 디이소프로필 에테르, 2-클로로프로판, 톨루엔, 1-클로로프로판, 클로로벤젠, 벤젠, 디에틸 에테르, 디에틸 설파이드, 클로로포름, 디클로로메탄, 1,2-디클로로에탄, 어닐린, 디에틸아민, 에테르, 사염화탄소 및 THF(Tetrahydrofuran) 등의 비극성 용매를 사용할 수도 있다.

[0021] 한 구체예에서, 상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 열수 추출물 또는 저급 알코올 추출물일 수 있다. 바람직하게는 인삼씨의 에탄올 추출물일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 헥산 추출물일 수 있다. 본 명세서에서, 유기 용매의 추출물은 유기용매 단독 또는 유기용매와 물의 혼합 용매를 추출용매로 이용하여 추출한 것을 모두 포함한다. 예를 들어, 하수오의 에탄올 추출물은 에탄올 단독을 추출 용매로 사용한 추출물뿐만 아니라, 물과 에탄올의 혼합 용매를 이용하여 추출한 추출물도 포함한다.

[0022] 예를 들어, 본 발명의 인삼씨 추출물은 건조된 인삼씨에 중량의 10배 내지 20배, 바람직하게는 15배(w/v)의 물, 에탄올, 메탄올, 부탄올 등의 저급알콜 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물 또는 5 내지 95% 에탄올에 가열 추출법, 초음파 추출법, 환류 추출법 등의 통상적인 추출방법, 바람직하게는 가열추출법으로 70 내지 120℃, 바람직하게는 80 내지 110℃에서 1 내지 6시간, 바람직하게는 3 내지 5시간 동안 추출하는 제 1단계; 상기 단계에서 수득한 추출물을 여과하여 감압 농축하는 제 2단계; 이를 -50℃내지 -30℃에서, 바람직하게는 -45℃ 내지 -25℃에서, 24 내지 72시간, 바람직하게는 40 내지 55시간동안 동결 건조하는 제 3단계의 제조방법을 통하여 본 발명의 인삼씨 추출물을 수득할 수 있다.

[0023] 본 명세서에서 사용되는 용어 ‘추출물’은 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉, 인삼씨 추출물은 상술한 추출용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것도 포함한다. 또한, 상기 추출물이나 분획물을 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 인삼씨 추출물에 포함된다.

[0024] 한 구체예에서, 상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 유기용매 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 저급 알코올 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있다. 예를 들어, 상기 인삼씨 추출물은 인삼씨의 에탄올 추출물을 헥산으로 재분획한 분획물일 수 있다.

[0025] 본 명세서에서 사용되는 용어 ‘인삼씨 추출물’은 인삼씨에 추출용매를 처리하여 얻은 조추출물뿐만 아니라 인삼씨 추출물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 인삼씨 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0026] 본 발명의 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 인삼씨 추출물을 0.01 내지 50% 중량으로 포함할 수 있다. 이러한 조성은 이에 한정되는 것은 아니며, 인삼씨 추출물의 농도, 본 발명의 조성물이 투여되는 대상체의 상태, 질환의 종류 및 진행 정도 등에 따라 변할 수 있다.

[0027] 한편, 본 명세서에서 용어 ‘유효성분으로 포함하는’이란 인삼씨 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분

한 양을 포함하는 것을 의미한다. 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명의 조성물 내에서 인삼씨 추출물은 예를 들어, 0.01 mg/ml 이상, 바람직하게는 0.05 mg/ml 이상, 보다 바람직하게는 0.1 mg/ml 이상, 보다 더 바람직하게는 1 mg/ml 이상 포함된다. 인삼씨 추출물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 인삼씨 추출물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0028] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적 조성물 또는 식품 조성물로 활용될 수 있다.

[0029] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0030] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0031] 상기 약제학적 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 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 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. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.

[0032] 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 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0033] 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 제제화 할 수 있다.

[0034] 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 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.

[0035] 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 0.0001-10g/kg이다.

[0036] 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.

[0037] 본 발명은 또한 인삼씨 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0038] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약제학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.

[0039] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 인삼씨 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 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비

톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오 시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 인삼씨 추출물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0040] 본 발명은 상기 인삼씨 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방 및 개선용 식품 조성물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다. 건강기능식품이란, 인삼씨 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 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 인삼씨 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 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.

[0041] 본 발명은 또한 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료용 의약 또는 식품의 제조를 위한 상기 인삼씨 추출물의 용도를 제공한다. 상기한 바와 같이 인삼씨 추출물은 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료를 위한 용도로 이용될 수 있다.

[0042] 또한 본 발명은 포유동물에게 유효량의 인삼씨 추출물을 투여하는 것을 포함하는 뇌신경세포 보호 및 우울증의 예방, 개선 및 치료 방법을 제공한다.

[0043] 여기에서 사용된 용어 '포유동물'은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.

[0044] 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 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 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, 치료 또는 개선 방법에 있어서, 성인의 경우, 인삼씨 추출물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.001 mg/kg 내지 10g/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.

[0045] 본 발명의 치료방법에서 인삼씨 추출물을 유효 성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

발명의 효과

[0046] 본 발명의 인삼씨 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 우울증 유발과 관련있는 코르티졸에 의한 독성에 대한 신경 세포 보호 효과 및 신경 영양 인자의 발현 개선 효과를 나타내므로 우울증 발생 및 진행을 예방 또는 개선하거나, 우울증을 치료하는데 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 인삼씨의 물 및 에탄올 추출물의 세포 독성에 대한 효과를 보여준다(Control: 무처리 대조군, 0: 인삼씨 열수 추출물, 50: 50% EtOH 인삼씨 추출물, 80: 80% EtOH 인삼씨 추출물, 시료의 최종농도: 0.1 mg/ml 및 0.5 mg/ml).

도 2은 인삼씨의 물 및 에탄올 추출물의 코르티코스테론으로부터의 신경세포 보호 활성을 보여준다(Control: 무처리 대조군, control-1: 코르티코스테론 처리 (0.2 mM, 48hr), 0: 인삼씨 열수 추출물, 50: 50% EtOH 인삼씨

추출물, 80: 80% EtOH 인삼씨 추출물).

도 3은 인삼씨의 물 및 에탄올 추출물이 코르티코스테론에 의해 야기된 신경세포 영양 인자의 발현 억제를 개선함을 보여준다 (Control: 무처리 대조군, control-1: 코르티코스테론 처리 (0.2 mM, 48hr), 0: 인삼씨 열수 추출물, 50: 50% EtOH 인삼씨 추출물, 80: 80% EtOH 인삼씨 추출물).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048]

본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0049]

실시예 1. 인삼씨의 열수 추출물의 제조

[0050]

건조시킨 인삼씨 시료를 마쇄하여 마쇄한 시료 3.2 kg에 정제수 36 L를 가하여 100℃에서 4시간 동안 가열추출하고 여액을 감압 농축하여 동결건조기를 이용하여 -40℃에서 48시간 동안 동결 건조시켜 본 발명의 인삼씨 열수 추출물을 수득하여 하기 실험예의 시료로 사용하였다.

[0051]

실시예 2. 인삼씨의 에탄올 추출물의 제조

[0052]

2-1. 인삼씨의 50% 에탄올 추출물의 제조

[0053]

건조시킨 인삼씨 시료를 마쇄하여 마쇄한 시료(3.2 kg)에 50% 에탄올 36 L를 가하여 84℃에서 4시간 동안 가열추출하고 여액을 감압 농축하여 동결건조기를 이용하여 -40℃에서 48시간 동안 동결건조시켜 본 발명의 인삼씨 50% 에탄올 추출물을 수득하여 하기 실험예의 시료로 사용하였다.

[0054]

2-2. 인삼씨의 80 % 에탄올 추출물의 제조

[0055]

건조시킨 인삼씨 시료를 마쇄하여 마쇄한 시료 (3.2 kg)에 95% 에탄올 36 L를 가하여 82℃에서 4시간 동안 가열추출하고 여액을 감압 농축하여 동결건조기를 이용하여 -40℃에서 48시간 동안 동결건조시켜 본 발명의 인삼씨 95% 에탄올 추출물 수득하여 하기 실험예의 시료로 사용하였다.

[0056]

실험예 1. 세포독성 실험

[0057]

상기 실시예에서 수득한 시료의 세포독성을 실험하고자 MTT assay 법(Yun-Lian Lina, Guei-JaneWang, Chuen-Lin Huan, Yi-Chao Lee, Wei-Chen Liao, Wen-Lin Lai, Yen-Ju Lin, Nai-Kuei Huan, J. Ethnopharmacology, 122; 417-425 (2009))을 이용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다.

[0058]

PC12 세포 (rat pheochromocytoma cell, American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA))을 10% fetal bovin serum (FBS, Gibco-BRL ((Gaithersburg, MD)) 및 1% antimicrobials/antibiotics (Gibco-BRL)를 함유한 RPMI-1640 배지(Gibco-BRL)에서 배양하여 세포수가 10^4 - 10^6 세포/ml이 되도록 배양하였다.

[0059]

배양 세포들을 96-웰 플레이트로 옮겨 주어 세포수가 웰당 1×10^4 로 배양한 다음, 상기 실시예에서 수득한 인삼씨 추출물을 5% DMSO에 1 mg/ml 및 5 mg/ml을 녹인 후 15 μ l씩 넣고 (최종 농도가 0.1 mg/ml 및 0.5 mg/ml)48시간 37℃에서 반응시킨 후, PBS에 녹인 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, M2128, Sigma) 시약 2 mg/ml을 각 웰당 15 μ l씩 넣은 후 37℃에서 90분간 반응 후 570nm/630nm 에서 흡광도 값을 측정한 후, 하기 수식식 1을 이용하여 계산하였다.

[0060]

[수식식 1]

[0061]

세포 생존율(%) = (흡광도(시료)/흡광도(대조군)) $\times$ 100

[0062] 도 1은 인삼씨의 물 및 에탄올 추출물의 세포 독성에 대한 효과를 보여준다(Control: 무처리군, 0: 인삼씨 열수 추출물, 50: 50% EtOH 인삼씨 추출물, 80: 80% EtOH 인삼씨 추출물, 시료의 최종농도: 200 μ g/ml). 도 2에 나타난 바와 같이, 인삼씨 추출물 시료 모두 세포 독성이 없음을 확인할 수 있었다.

[0063] **실험예 2. 코르티코스테론에 대한 신경세포 보호 활성의 측정**

[0064] 상기 실시예에서 수득한 시료의 코르티코스테론에 의한 독성으로부터 신경세포 보호 활성을 실험하고자 Xiao-Qing Tang 등의 방법(Xiao-Qing Tang, Jian-Qiang Feng, Jin Chen, Pei-Xi Chen, Jun-Li Zhi, Yu Cui, Rui-Xian Guo, Hui-Min Yu; Brain Research, 1057 57-64(2005))을 이용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다.

[0065] PC12 세포를 96-웰 플레이트에 antimicotics/antibiotics를 함유한 RPMI-1640 배지에 배양하여 세포수가 웰당 1×10^4 이 되었을 때, 상기 실시예에서 수득한 인삼씨 추출물 시료를 2mg/ml의 농도로 5% DMSO에 녹인 후, 각각 15 μ l씩 넣고 2-4시간 37 $^{\circ}$ C에서 전처리(pre-incubation)한 후, 0.2 mM 코르티코스테론을 48 시간 처리하여 산화적 스트레스(oxidative stress)를 유도한 후, 상기 실험예 1의 MTT 어세이법을 이용하여 신경세포 보호 활성을 측정하였다. 대조군은 시료를 아무것도 처리하지 않았으며, 음성대조군은 0.2 mM 코르티코스테론을 48시간 처리하여 측정하였다.

[0066] 도 2는 인삼씨의 물 및 에탄올 추출물의 코르티코스테론으로부터 신경세포 보호 활성을 보여준다(Control: 무처리군, con-1: 코르티코스테론 처리 (0.2 mM, 48hr), 0; 인삼씨 열수 추출물, 50; 50%EtOH 인삼씨 추출물, 80; 80% EtOH 인삼씨 추출물). 도 2에 나타난 바와 같이, 코르티코스테론에 의해 유발된 산화적 스트레스로 인하여 세포 활성이 60% 정도로 낮아졌으며, 인삼씨 추출물에서의 높은 보호 활성을 나타냄을 보였다.

[0067] **실험예 3. 코르티코스테론에 의해 유발되는 신경 독성에 대한 신경세포 성장인자들의 발현 증진 활성 효과**

[0068] 상기 실시예에서 수득한 인삼씨 추출물 시료가 코르티코스테론에 의한 뇌신경 독성으로부터 신경세포 성장 영양인자의 발현을 증진시키는지 확인하고자 하기와 같이 실험을 수행하였다.

[0069] PC12 세포를 6-웰 플레이트에 antimicotics/antibiotics를 함유한 RPMI-1640 배지에 배양하여 세포수가 웰당 2×10^5 이 되었을 때, 상기 실시예에서 수득한 인삼씨 추출물을 2mg/ml의 농도로 5% DMSO에 녹인 후, 각각 15 μ l씩 넣고 2-4시간 37 $^{\circ}$ C에서 전처리(pre-incubation)한 후, 0.2 mM 코르티코스테론을 48 시간 처리하여 신경세포 독성을 유발하여, qPCR 어세이법을 이용하여 신경세포 성장 영양인자 및 관련인자들의 발현정도를 측정하였다. 대조군(control)은 시료를 아무것도 처리하지 않았으며, 음성대조군(control-1)은 코르티코스테론만을 처리하여 측정하였다.

[0070] 본 실험예에서 신경세포 성장 영양인자 및 관련인자로 사용된 BDNF (brain-derived neurotrophic factor)는 주된 신경세포 성장 영양인자로서 신경세포의 생존 및 발현에 주된 영향을 주는 인자이며, CREB(cyclic adenosine monophosphate response element binding protein)은 세포 신호전달 경로 및 BDNF의 발현에 밀접한 영향을 주는 인자로 알려져 있다. 또한 MAP-4(microtubule-associated protein 4)는 CREB의 발현과 밀접하게 관련있는 non-neuronal microtubule-associated protein으로 알려져 있으며 세포주기(cell cycle)와 연관있는 인자로 알려져 있다.

[0071] 도 3은 인삼씨의 물 및 에탄올 추출물이 코르티코스테론에 의해 억제된 신경세포 성장 인자의 발현을 개선함을 보여준다(Control: 무처리 대조군, control-1: 코르티코스테론 처리 (0.2 mM, 48hr), 0; 인삼씨 열수 추출물, 50; 50%EtOH 인삼씨 추출물, 80; 80% EtOH 인삼씨 추출물). 도 3에 나타난 바와 같이, 코르티코스테론에 의해 유발된 신경세포 독성으로 인하여 신경세포 성장 인자 및 관련 인자의 발현정도가 40-60% 정도로 낮아졌으며, 인삼씨 추출물의 처리 결과 관련 인자들의 발현 억제 정도가 개선되는 것을 확인할 수 있었다. .

[0072] 이하, 본 발명의 추출물을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

- [0073] **제제예 1. 산제의 제조**
- [0074] 인삼씨 열수 또는 에탄올 추출물 20 mg
- [0075] 유당 100 mg
- [0076] 탈크 10 mg
- [0077] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.
- [0078] **제제예 2. 정제의 제조**
- [0079] 인삼씨 열수 또는 에탄올 추출물 10 mg
- [0080] 옥수수전분 100 mg
- [0081] 유당 100 mg
- [0082] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0083] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
- [0084] **제제예 3. 캡셀제의 제조**
- [0085] 인삼씨 열수 또는 에탄올 추출물 10 mg
- [0086] 결정성 셀룰로오스 3 mg
- [0087] 락토오스 14.8 mg
- [0088] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg
- [0089] 통상의 캡셀제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡셀제를 제조한다.
- [0090] **제제예 4. 주사제의 제조**
- [0091] 인삼씨 열수 또는 에탄올 추출물 10 mg
- [0092] 만니톨 180 mg
- [0093] 주사용 멸균 증류수 2974 mg
- [0094] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg
- [0095] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
- [0096] **제제예 5. 액제의 제조**
- [0097] 인삼씨 열수 또는 에탄올 추출물 20 mg
- [0098] 이성화당 10 g
- [0099] 만니톨 5 g

[0100]	정제수 적량
[0101]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
[0102]	제제예 6. 건강 식품의 제조
[0103]	인삼씨 열수 또는 에탄올 추출물 1000 mg
[0104]	비타민 혼합물 적량
[0105]	비타민 A 아세테이트 70 μ g
[0106]	비타민 E 1.0 mg
[0107]	비타민 B1 0.13 mg
[0108]	비타민 B2 0.15 mg
[0109]	비타민 B6 0.5 mg
[0110]	비타민 B12 0.2 μ g
[0111]	비타민 C 10 mg
[0112]	비오틴 10 μ g
[0113]	니코틴산아미드 1.7 mg
[0114]	엽산 50 μ g
[0115]	판토텐산 칼슘 0.5 mg
[0116]	무기질 혼합물 적량
[0117]	황산제1철 1.75 mg
[0118]	산화아연 0.82 mg
[0119]	탄산마그네슘 25.3 mg
[0120]	제1인산칼륨 15 mg
[0121]	제2인산칼슘 55 mg
[0122]	구연산칼륨 90 mg
[0123]	탄산칼슘 100 mg
[0124]	염화마그네슘 24.8 mg
[0125]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
[0126]	제제예 7. 건강 음료의 제조
[0127]	인삼씨 열수 또는 에탄올 추출물 1000 mg
[0128]	구연산 1000 mg
[0129]	올리고당 100 g

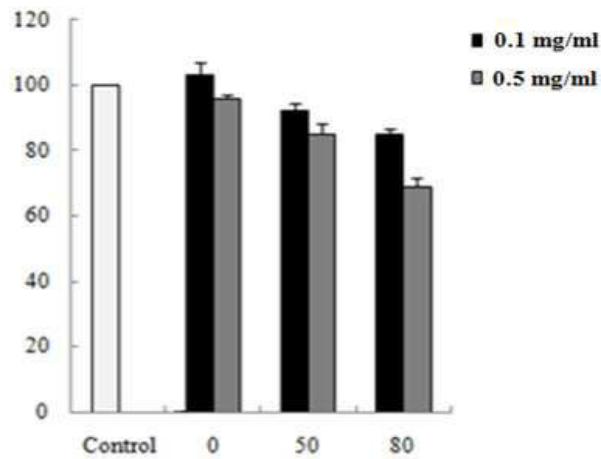
- [0130] 매실농축액 2 g
- [0131] 타우린 1 g
- [0132] 정제수를 가하여 전체 900 ml

[0133] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

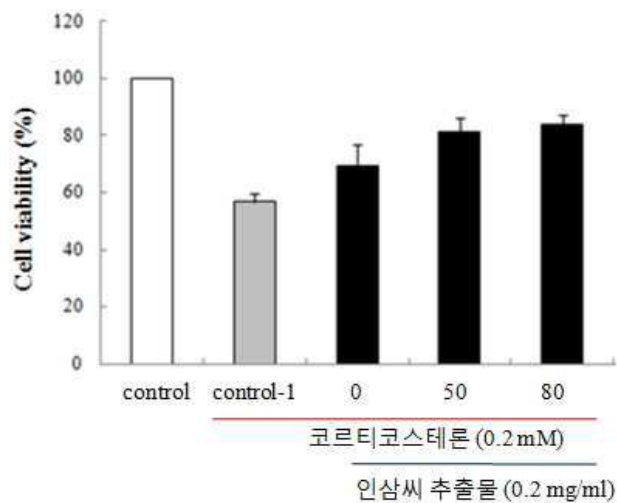
[0134] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

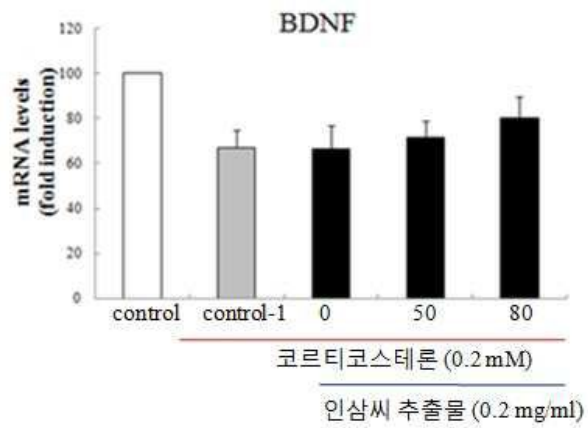
도면1



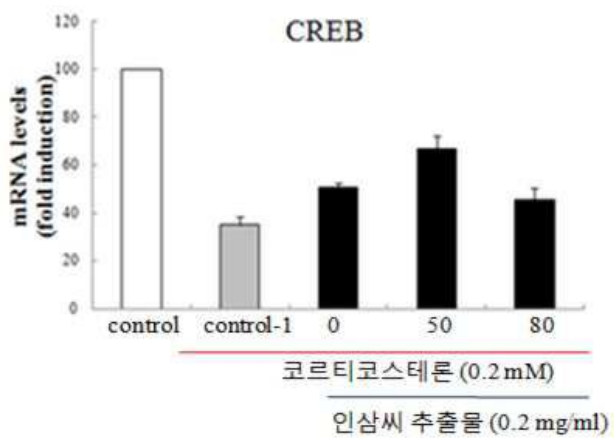
도면2



도면3a



도면3b



도면3c

