



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0003023
(43) 공개일자 2018년01월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/343 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
A61K 36/8905 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/343 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0082288
(22) 출원일자 2016년06월30일
심사청구일자 2016년06월30일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
오명숙
서울특별시 강남구 삼성로 151, 1동 305호 (대치동, 선경아파트)
장대식
서울특별시 강남구 광평로10길 50, 106동 103호 (일원동, 청솔빌리지)
심여문
서울특별시 동대문구 경희대로 26-6, 약학대학 312호 (회기동, 경희대학교)
(74) 대리인
특허법인 하나

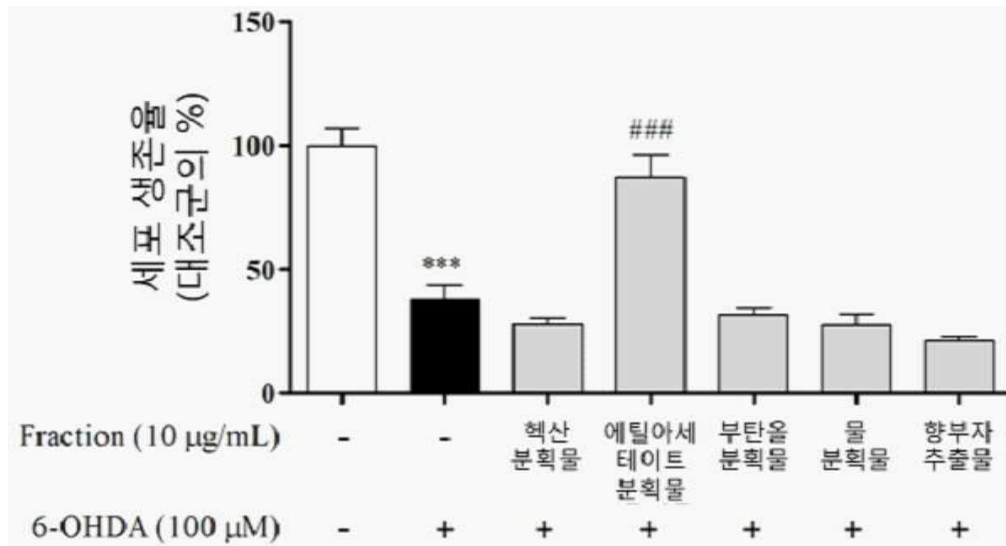
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 향부자 추출물 및 이의 분획물로부터 분리된 스킨프루신 A와 B를 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

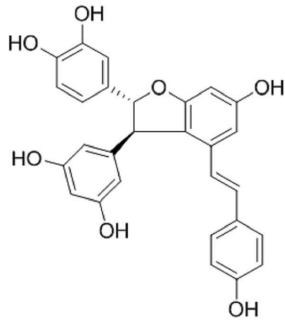
본 발명의 일 실시예는 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 뇌 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1

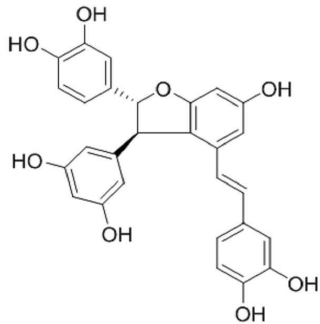


질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[화학식 1]



[화학식 2]



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A61K 36/8905 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

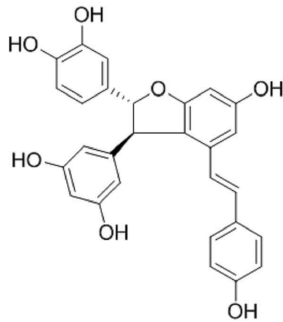
명세서

청구범위

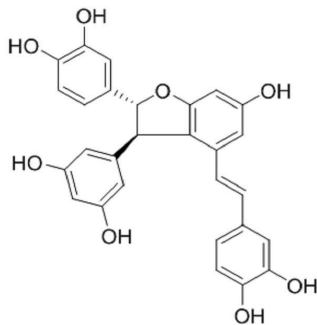
청구항 1

하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



[화학식 2]



청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물은 향부자(*Cyperus rotundus* L.) 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 향부자 추출물은 향부자 근경(rhizome) 추출물인, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 향부자 추출물은 물, C₁~C₄의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출된, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 저급 알코올은 에탄올인, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제2항에 있어서,

상기 분획물은 에틸아세테이트(ethyl acetate) 분획물인, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

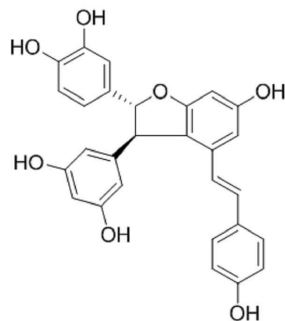
제1항에 있어서,

상기 스트레스성 질환은 우울증(depressive disorder), 수면장애(sleep disturbance), 및 불안장애(anxiety disorder)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

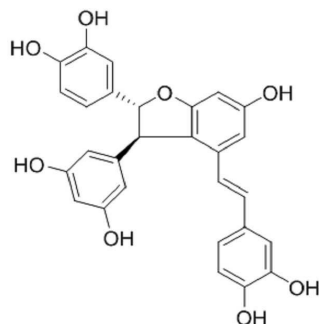
청구항 9

하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 건강기능식품:

[화학식 1]



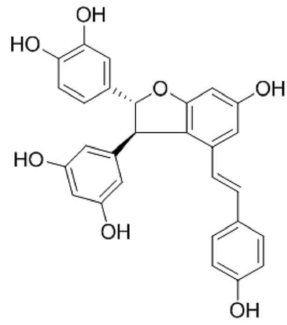
[화학식 2]



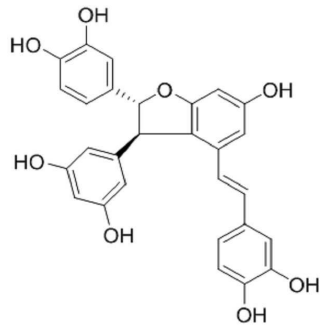
청구항 10

하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 뇌신경 보호용 약학적 조성물:

[화학식 1]



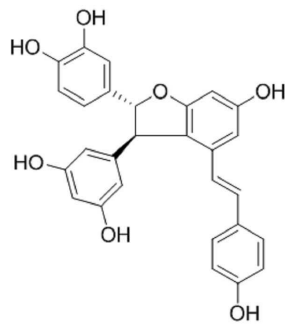
[화학식 2]



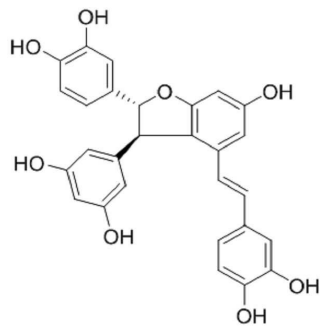
청구항 11

하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 뇌신경 보호용 건강기능식품:

[화학식 1]



[화학식 2]



발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 향부자 추출물 및 이의 분획물로부터 분리된 스키르푸신 A와 B를 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질

환 및 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 최근 고령화 사회에 접어들면서 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환과 같은 퇴행성 뇌질환(neurodegenerative disease)에 대한 우려가 급증하고 있으며, 과도한 경쟁 체제 아래 현대인의 마음이 병이라 불리는 우울증, 수면 장애 등의 스트레스성 질환(stress disease)에 대한 우려 또한 증가하고 있다.
- [0003] 이러한 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환과 관련하여, 현재까지 근본적인 치료제는 전무할 뿐만 아니라, 병의 진행을 일시적으로 억제하는 치료제조차도 병세 악화에 따라 약효가 감소하고 다양한 부작용이 발생하여 한계점이 존재한다.
- [0004] 한편, 한의학에서 주로 사용하는 한약재들은 발병 원인 및 증상이 복합적으로 나타나는 만성, 난치성 질환의 예방 및 치료에 있어 멀티 타겟 기전에 의해 보다 근본적인 치료제로서의 가능성이 대두되고 있다.
- [0005] 또한, 이러한 한약재를 원료로 사용하는 치료제의 경우 화학 약품 사용에 따라 발생할 수 있는 다양한 부작용을 최소화할 수 있기 때문에, 현존하는 의약품 성분의 대체 소재로 주목받고 있는 실정이다.

발명의 내용

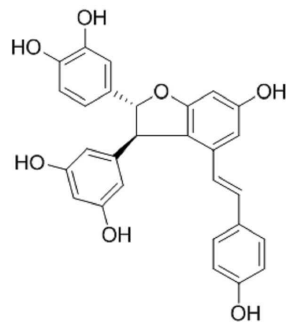
해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 목적은 천연물 유래의 한약재 성분을 함유하여 부작용을 최소화하면서도 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환의 개선 효과가 우수한 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

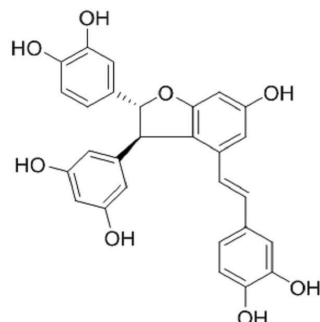
- [0007] 본 발명의 일 측면은 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

- [0008] [화학식 1]



[0009]

- [0010] [화학식 2]



[0011]

- [0012] 일 실시예에 있어서, 상기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물은 향부자(*Cyperus rotundus* L.) 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리될 수 있다.

- [0013] 일 실시예에 있어서, 상기 향부자 추출물은 향부자 근경(rhizome) 추출물일 수 있다.

[0014] 일 실시예에 있어서, 상기 향부자 추출물은 물, C₁~C₄의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출될 수 있다.

[0015] 일 실시예에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올일 수 있다.

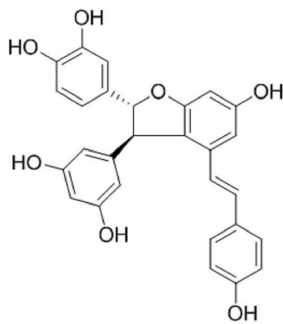
[0016] 일 실시예에 있어서, 상기 분획물은 에틸아세테이트(ethyl acetate) 분획물일 수 있다.

[0017] 일 실시예에 있어서, 상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0018] 일 실시예에 있어서, 상기 스트레스성 질환은 우울증(depressive disorder), 수면장애(sleep disturbance), 및 불안장애(anxiety disorder)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

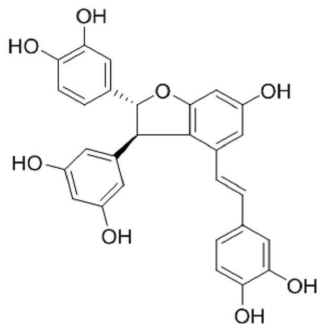
[0019] 또한, 본 발명의 다른 일 측면은 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 건강기능식품을 제공한다.

[0020] [화학식 1]



[0021]

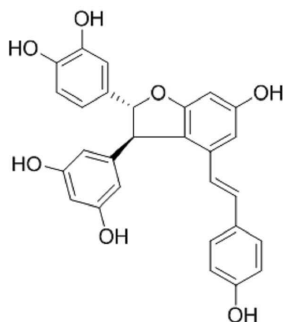
[0022] [화학식 2]



[0023]

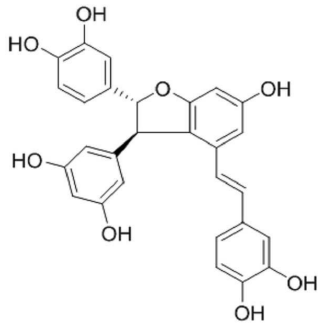
[0024] 본 발명의 또 다른 일 측면은 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 뇌 신경 보호용 약학적 조성물을 제공한다.

[0025] [화학식 1]



[0026]

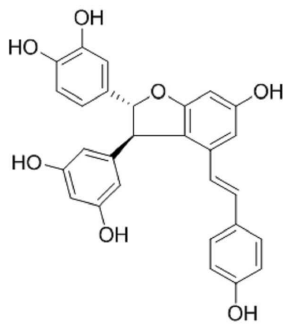
[0027] [화학식 2]



[0028]

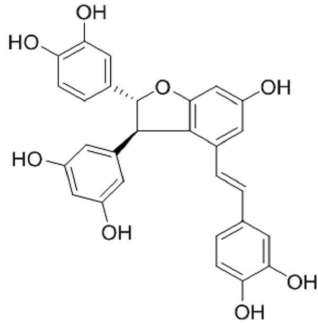
[0029] 또한, 본 발명의 다른 일 측면은 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 뇌신경 보호용 건강기능식품을 제공한다.

[0030] [화학식 1]



[0031]

[0032] [화학식 2]



[0033]

발명의 효과

[0034] 본 발명의 일 측면에 따르면, 스킨루프신 A 및 B를 조성물의 유효성분으로 사용하여 우수한 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환 개선 효과를 구현할 수 있고, 나아가 상기 스킨루프신은 천연물인 향부자로부터 유래한 것을 사용함으로써 부작용을 최소화할 수 있다.

[0035] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 향부자 추출물 및 분획물의 뇌신경 세포 보호능을 나타낸 그래프이다.

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 에틸아세테이트 분획물 성분의 뇌신경 세포 보호능을 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 실시예에 따른 에틸아세테이트 분획물 성분의 스트레스 억제능을 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따른 에틸아세테이트 분획물 성분의 항염 효능을 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명의 실시예에 따른 에틸아세테이트 분획물 성분의 아밀로이드-베타 응집 저해능을 나타낸 그래프

이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 판례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.

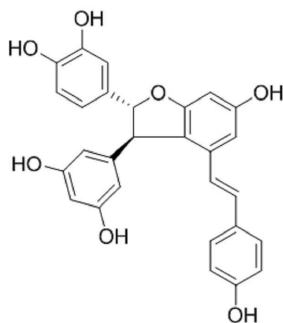
[0038] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0039] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.

[0040] 이하, 본 발명의 실시예를 상세히 기술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 한정되지 아니함은 자명하다.

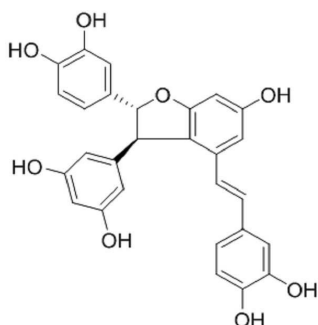
[0041] 본 발명의 일 측면에 따른 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0042] [화학식 1]



[0043]

[0044] [화학식 2]



[0045]

[0046] 상기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물은 각각 스킵루푸신(scirupusin) A 및 B에 해당하는 물질로, 양자는 1개의 하이드록실기(hydroxyl group) 유무를 달리하는 폴리페놀계 화합물에 해당한다.

[0047] 폴리페놀계 화합물은 항산화 작용에 있어서 우수한 효능을 나타내는 것은 이미 공지된 바 있으며, 퇴행성 뇌질환의 개선에도 탁월한 효능이 있다는 연구결과가 보고된 바 있다.

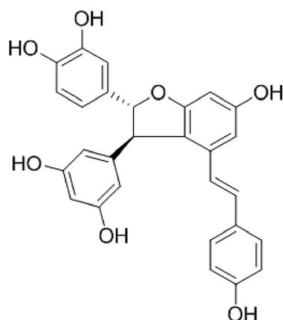
[0048] 상기 스킵루푸신 A 및 B가 폴리페놀계 화합물의 구조를 가짐으로써, 6-OHDA(6-hydroxydopamine),

LPS(lipopolysaccharide)와 같은 신경독성 물질, 크로티코스테론(corticosterone)과 같은 스트레스성 호르몬, 아밀로이드-베타($A\beta$, amyloid- β) 등으로부터 세포를 보호하여 우수한 퇴행성 뇌질환 및/또는 스트레스성 질환 개선 효능을 나타낼 수 있다.

- [0049] 상기 “퇴행성 뇌질환(neurodegenerative disease)”은 나이가 들어감에 따라 발생하는 신경퇴행성 질환 중, 뇌에서 발생하는 질환을 의미한다. 현재까지 발병 원인이 명확하게 규명된 것은 아니나, 뇌와 척수의 특정 뇌세포군이 서서히 기능을 상실하고, 뇌신경계의 정보전달에 핵심적인 역할을 하는 뇌신경 세포의 사멸, 뇌신경 세포 간의 정보를 전달하는 시냅스의 형성이나 기능상 문제, 뇌신경 전위의 이상적 증감 등에 의해 야기되는 것으로 알려져 있다. 상기 퇴행성 뇌질환은 주요 증상 및 뇌의 손상 부위에 따라 구분할 수 있으며, 대표적으로 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환을 예시할 수 있다.
- [0050] 상기 “스트레스성 질환(stress disease)”은 스트레스로 통용되는 내외부 자극에 의해 자율신경계와 신경내분비계의 기능에 변화가 발생하고, 이러한 변화의 정도가 허용치를 초과하거나 장기간 지속되는 경우 발병할 수 있는 질환을 의미한다. 상기 스트레스성 질환은 고혈압, 심장병, 위궤양 등의 신체질환과 우울증, 수면장애 등의 정신질환으로 구분할 수 있다.
- [0051] 최근 연구결과에 따르면, 퇴행성 뇌질환 뿐만 아니라 스트레스성 질환도 뇌신경 세포 손상에 의해 발병할 수 있으므로, 상기 퇴행성 뇌질환과 스트레스성 질환은 발병 근원의 일부를 공유할 수 있다. 즉, 상기 스킨프루신의 뇌신경 세포 보호 작용에 의해 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환 개선 효과를 동시에 달성할 수 있음을 의미한다.
- [0052] 이 때, 상기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물은 향부자(*Cyperus rotundus* L.) 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리될 수 있다.
- [0053] 상기 “향부자(*Cyperus rotundus* L.)”는 사초과의 다년초로 근경, 즉 뿌리줄기 전체에 정유, 알칼로이드, 강심배당체, 플라보노이드, 당분, 펙틴, 유기산 등을 함유하고 있다. 상기 근경의 추출물은 진통작용과 자궁의 긴장성을 낮추며, 강심작용과 이뇨작용에 의해 혈액 순환을 원활하게 한다. 이는 부인병의 선약이라 하여 통경약, 정혈약으로 월경불순, 월경통, 산전산후의 부인병에 널리 쓰인다. 또한, 해열진정약, 소화약으로 처방에 넣어 감기, 두통, 복통, 식욕저하에도 사용한다.
- [0054] 상기 “근경(rhizome)”은 뿌리 형상을 하고 땅속으로 뻗는 줄기의 특수 형태를 의미하며, 마디에서 잔뿌리를 내고 끝부분이 땅속줄기로 되어 있다. 이러한 근경은 뿌리와 유사한 기능, 즉 영양번식의 수단으로 기능하기 때문에 다양한 활성 성분을 함유할 수 있고, 이에 따라 상기 근경 추출물 또는 분획물에 상대적으로 다량의 약리 활성 성분이 포함될 수 있다. 이에 따라, 상기 향부자 추출물은 향부자 근경(rhizome) 추출물일 수 있다.
- [0055] 이와 같이, 상기 스킨프루신 A 및 B는 인공 화합물과는 달리 천연물 유래의 물질을 그대로 이용하는 것이므로, 이의 섭취 내지 투여에 따른 치명적인 부작용의 발생을 최소화할 수 있다.
- [0056] 한편, 추출 공정에 있어서 용매의 종류는 특별히 한정되지 않으며, 필요에 따라 다양한 용매를 사용할 수 있다. 또한, 상기 추출은 상기 용매를 사용하여 냉침, 온침, 가열 등 당해 기술 분야의 통상적인 방법이 사용될 수 있다.
- [0057] 이에 따라, 상기 향부자 추출물이 물, $C_1 \sim C_4$ 의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합 용매로 추출될 수 있고, 바람직하게는 에탄올을 추출 용매로 사용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0058] 상기 추출 용매로 에탄올을 사용하는 경우, 안정성을 높일 수 있을 뿐만 아니라, 인체에 무해하기 때문에 식품이나 의약품의 조성물로 사용하기에 우수한 적합성을 나타낼 수 있으며, 안정성 확보를 위한 엄격한 공정 관리와 같은 비용 증가가 발생하지 않으므로 경제적 효과 또한 향상시킬 수 있다.
- [0059] 상기 향부자 추출물은 추가의 용매를 사용하여 각각의 분획물로 분리될 수 있으며, 이에 따라 상기 분획물은 에틸아세테이트(ethyl acetate) 분획물일 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어 “분획물(fraction)”은 각종 구성 성분 또는 혼합물로부터 각각의 성분 또는 특정의 그룹으로 분리하는 조작, 즉 크로마토그래피, 전기영동, 원심 분리 등을 사용하여 분리된 각 성분 내지 그룹을 의미한다.
- [0060] 상기 에틸아세테이트 분획물은 상기 향부자 추출물을 n-헥산(n-hexane), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 부탄올(butanol) 및 물(water)을 용매로 사용하여 순차적으로 반복 추출하여 수득된 n-헥산 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물, 및 물 분획물로 이루어진 혼합물로부터 분리된 것일 수 있다.

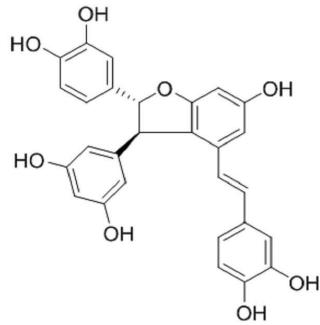
- [0061] 구체적으로, 상기 향부자 추출물을 물을 사용하여 현탁하고, n-헥산과 혼합한 뒤 일정 시간이 경과하면 n-헥산 층과 물 층으로 상 분리가 일어날 수 있다. 에틸아세테이트 및 부탄올을 이용하여 이와 같은 과정을 순차 반복하면 각각의 분획물 층이 형성될 수 있고, 각 단계에서 각 층을 분리함으로써 독립적인 분획물을 수득할 수 있다.
- [0062] 상기 에틸아세테이트 분획물은 상기 향부자에 포함된 스킵루핀 A 및 B와 특히 우수한 친화력 및 상승 작용을 나타낼 수 있고, 이에 따라 타 분획물에 비해 스킵루핀 A 및 B를 다량 함유하여 보다 우수한 신경 보호 효능을 나타낼 수 있다.
- [0063] 상기 약학적 조성물은 통상적인 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0064] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0065] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.
- [0066] 상기 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 향부자 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제, 예컨대, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 또는 젤라틴 등을 혼합하여 조제할 수 있다. 상기 부형제 이외에 마그네슘 스테arate, 탈크 같은 윤활제가 사용될 수도 있다.
- [0067] 상기 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있으며, 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0068] 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 사용될 수 있다. 상기 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르가 사용될 수 있다. 상기 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이 사용될 수 있다.
- [0069] 상기 향부자 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양이 대상체에 투여될 수 있다. 상기 “약제학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0070] 상기 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 바람직하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0071] 본 발명의 다른 일 측면은 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 뇌질환 또는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 건강기능식품을 제공한다.

[0072] [화학식 1]



[0073]

[0074] [화학식 2]



[0075]

[0076] 즉, 상기 조성물은 약학 조성물 뿐만 아니라 식품 조성물일 수도 있다. 이러한 경우 상기 식품은 육류, 스낵류, 낙농제품, 음료수 등을 예시할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며, 통상적인 건강기능식품을 모두 포함하는 개념으로 이해될 수 있다.

[0077] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.

[0078] 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다. 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.

[0079] 상기 건강기능식품은 퇴행성 뇌질환 및/또는 스트레스성 질환 개선을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.

[0080] 상기 건강기능식품은 상기 질환 개선을 목적으로, 전체 중량 대비 1.0 내지 10.0 중량%의 상기 약학적 조성물을 포함할 수 있다. 상기 약학적 조성물이 1.0 중량% 미만이면 퇴행성 뇌질환 및/또는 스트레스성 질환 개선 효과가 충분히 구현되지 않을 수 있고 10.0 중량% 초과이면 제품 본연의 품질이 구현되지 않거나 비용 효율이 저하될 수 있다.

[0081] 또한, 상기 건강기능식품은 퇴행성 뇌질환 및/또는 스트레스성 질환 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캡슐, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.

[0082] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 향부자 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.

[0083] 상기 캡슐 형태의 건강기능식품 중 경질캡슐제는 통상의 경질캡슐에 가지 추출물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡슐제는 향부자 추출물 또는 이의 분획물, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡슐제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0084] 상기 환 형태의 건강기능식품은 향부자 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 진분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.

[0085] 상기 과립형태의 건강기능식품은 향부자 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0086] 또한, 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에

기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.

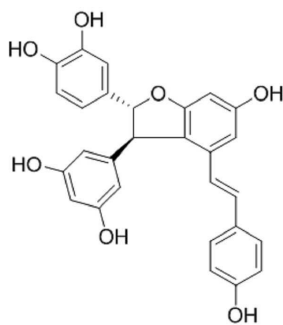
[0087] 전술한 바와 같이, 상기 향부자 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 스킨푸신 A 및 B는 신경독성 물질, 스트레스성 호르몬 등으로부터 세포를 보호하여 퇴행성 뇌질환 및/또는 스트레스성 질환 개선 효과를 구현할 수 있다.

[0088] 구체적으로, 상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0089] 또한, 상기 스트레스성 질환은 우울증(depressive disorder), 수면장애(sleep disturbance), 및 불안장애(anxiety disorder)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

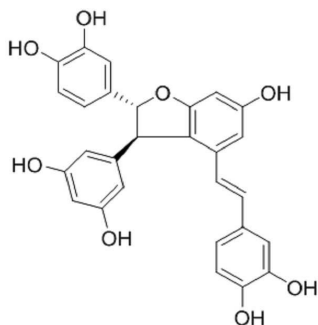
[0090] 본 발명의 또 다른 일 측면은 하기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 뇌 신경 보호용 약학적 조성물을 제공한다.

[0091] [화학식 1]



[0092]

[0093] [화학식 2]



[0094]

[0095] 상기 화학식 1 및 화학식 2의 화합물의 작용, 효과 및 이의 근원인 향부자 추출물 또는 이의 분획물에 관해서는 전술한 것과 같다.

[0096] 또한, 본 발명의 다른 일 측면은 상기 약학적 조성물을 포함하는, 뇌신경 보호용 건강기능식품을 제공한다. 상기 건강기능식품에 추가로 포함될 수 있는 성분들에 관해서는 전술한 것과 같다.

[0097] 이하, 첨부된 도면을 참고하여 본 발명의 실시예에 관하여 상세히 서술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.

[0098] 실시예 : 향부자 추출물 및 각각의 분획물 제조

[0099] 건조 후 분쇄시킨 향부자 근경 2.8kg을 10L의 80% 에탄올을 사용하여 추출한 후, 40℃에서 진공 농축하여 향부자 근경의 에탄올 추출물(399g)을 수득하였다.

[0100] 상기 에탄올 추출물 중 일부(392g)를 2L 물(water)로 현탁한 뒤, n-헥산(n-hexane), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 및 부탄올(butanol)을 이용하여 순차적으로 추출 및 분리함으로써 n-헥산 분획물 45.8g, 에틸아세테이트 분획물 23.5g, 부탄올 분획물 52.4g, 및 물 추출물 270.3g을 각각 수득하였다.

[0101] 실험예 1 : 추출물 및 분획물 종류에 따른 뇌신경 세포 보호능 평가

- [0102] 상기 향부자 추출물과 각 분획물의 뇌신경 세포 보호능을 확인하기 위해, 쥐(rat)의 부신수질(adrenal medulla) 크롬친화세포종(pheochromocytoma)에서 유래된 PC12 세포를 96 well plate에 2.5×10^5 cells/ml로 분주하여 24시간 동안 배양하였다.
- [0103] 이후, 상기 추출물 및 분획물을 각각 $10 \mu\text{g/ml}$ 농도로 1시간 동안 전처리하고, $100 \mu\text{M}$ 농도의 6-OHDA(6-hydroxydopamine)를 후처리하여 3시간 동안 더 배양하였다. 반응이 완료된 각각의 세포에 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 0.5mg/ml 농도로 3시간 동안 처리한 후, 570nm에서 흡광도를 측정하여 이를 세포 생존율로 나타내었으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.
- [0104] 도 1을 참고하면, 향부자 추출물, n-헥산 분획물, 부탄올 분획물, 및 물 분획물은 6-OHDA만을 처리한 음성 대조군(흑색)과 유사한 세포 생존율을 나타낸 반면에, 에틸아세테이트 분획물은 이들에 비해 현저하게 높은 세포 생존율을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0105] 이러한 결과는 향부자 추출물의 에틸아세테이트 분획물이 6-OHDA에 의한 PC12 세포 사멸을 유의적으로 억제하여 우수한 뇌신경 세포 보호능을 나타내며, 이에 따라 상기 에틸아세테이트 분획물이 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환의 개선 효과를 향상시킬 수 있음을 시사한다.
- [0106] 실험예 2 : 에틸아세테이트 분획물 성분에 따른 뇌신경 세포 보호능 평가
- [0107] 상기 향부자 추출물의 에틸아세테이트 분획물에 포함된 성분, 구체적으로 스킵루핀 A 및 B의 뇌신경 세포 보호능을 확인하기 위해, 크로마토그래피를 반복 실시하여 상기 에틸아세테이트 분획물로부터 스킵루핀 A 및 B를 분리하였다.
- [0108] 이후, 각각 $10 \mu\text{M}$ 농도의 스킵루핀 A 및 B를 사용하여 상기 실험예 1과 동일한 방법으로 PC12 세포 생존율을 측정하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다. 이 때, 양성 대조군으로 커큐민(curcumin)을 사용하였다.
- [0109] 도 2를 참고하면, 6-OHDA만을 처리한 음성 대조군(흑색)에 비해 스킵루핀 B는 향상된 세포 생존율을 나타내어 양성 대조군인 커큐민과 유사한 수준을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0110] 이는 향부자 추출물의 에틸아세테이트 분획물에 포함된 성분 중, 스킵루핀 B가 6-OHDA에 의한 독성 억제 효과가 탁월하고, 이에 따라 PC12 세포 사멸을 유의적으로 억제할 수 있음을 의미한다.
- [0111] 이에 따라, 상기 스킵루핀 B는 우수한 뇌신경 세포 보호능을 나타내어 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환의 예방, 치료용 조성물로서의 효능이 우수함을 시사한다.
- [0112] 실험예 3 : 에틸아세테이트 분획물 성분에 따른 스트레스 억제능 평가
- [0113] 상기 스킵루핀 A 및 B의 코르티코스테론(corticosterone)에 의한 스트레스 억제능을 평가하기 위해, 해마신경 전구세포(hippocampal neuronal precursor cell)에서 유래된 HT22 세포를 96 well plate에 1.0×10^5 cells/ml 농도로 분주하여 24시간 동안 배양하였다.
- [0114] 이후, 상기 스킵루핀 A 및 B를 각각 $10 \mu\text{M}$ 농도로 1시간 동안 전처리하고, $100 \mu\text{M}$ 농도의 코르티코스테론을 후처리하여 3시간 동안 더 배양하였다. 반응이 완료된 각각의 세포에 MTT를 0.5mg/ml 농도로 3시간 동안 처리한 후, 570nm에서 흡광도를 측정하여 이를 세포 생존율로 나타내었으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.
- [0115] 도 3을 참고하면, 코르티코스테론만을 처리한 음성 대조군(흑색)에 비해 스킵루핀 A 및 B는 모두 높은 세포 생존율을 나타내는 것을 확인할 수 있고, 이에 따라 상기 스킵루핀 A 및 B는 모두 스트레스성 호르몬인 코르티코스테론으로부터 HT22 세포를 유의적으로 보호할 수 있음을 알 수 있다.
- [0116] 이는 상기 스킵루핀 A 및 B가 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환 치료용 조성물로서 우수한 약리 활성을 나타낼 수 있음을 시사한다.
- [0117] 실험예 4 : 에틸아세테이트 분획물 성분에 따른 항염 효능 평가
- [0118] 상기 스킵루핀 A 및 B의 항염 효능을 평가하기 위해, 쥐(rat)의 신경 지지세포 형태로서의 미세아교세포(microglia cell)인 BV-2 세포를 96 well plate에 3.0×10^5 cells/ml 농도로 분주하여 24시간 동안 배양하였다.
- [0119] 이후, 상기 스킵루핀 A 및 B를 각각 $10 \mu\text{M}$ 농도로 1시간 동안 전처리하고, 100ng/ml 의 LPS(lipopolysaccharide)를 후처리하여 23시간 동안 더 배양하였다. 반응이 완료된 각각의 세포에 Griess 시약

50 μ l를 10분 동안 처리한 후, 550nm에서 흡광도를 측정하여 이를 산화질소(NO, nitrite) 생성량으로 나타내었으며, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0120] 도 4를 참고하면, LPS만을 처리한 음성 대조군(흑색)에 비해 스킨푸신 A 및 B를 처리한 BV-2 세포의 산화질소 생성량이 현저하게 감소되어 양성 대조군인 커큐민과 유사한 수준을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0121] 이는 상기 스킨푸신 A 및 B가 신경독성 물질인 LPS로부터 유도되는 염증산물, 즉 산화질소의 생성을 유의적으로 억제함으로써 항염 효과를 나타낼 수 있음을 의미하며, 나아가 상기 스킨푸신 A 및 B가 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환의 예방, 치료용 조성물로서 우수한 효능을 나타낼 수 있음을 시사한다.

[0122] 실험예 5 : 에틸아세테이트 분획물 성분에 따른 아밀로이드-베타 응집 저해능 평가

[0123] 상기 스킨푸신 A 및 B의 아밀로이드-베타(A β , amyloid- β) 응집 저해능을 평가하기 위해, 아밀로이드-베타 단백질 단량체인 A β ₁₋₄₂ 100mM에 스킨푸신 A 및 B를 각각 100 μ M씩 혼합하여 24시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 반응시켰다.

[0124] 이후, 형광 발색제인 티오플라빈 T(ThT, thioflavin T)를 처리하여 아밀로이드-베타 단백질 응집체 생성량을 측정하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0125] 도 5를 참고하면, 스킨푸신 A 및 B의 형광 세기는 양성 대조군인 커큐민 보다 다소 낮은 수준의 형광 세기를 나타내어, 우수한 아밀로이드-베타 응집 저해능을 나타내는 것을 확인하였다.

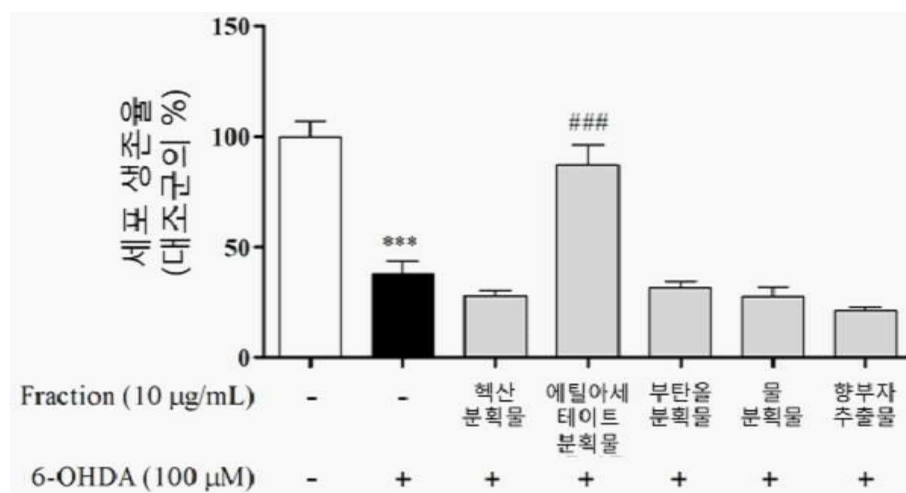
[0126] 이러한 결과를 통해, 상기 스킨푸신 A 및 B가 퇴행성 뇌질환 및 스트레스성 질환 개선용 조성물로서 우수한 효능을 나타낼 수 있음을 알 수 있다.

[0127] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

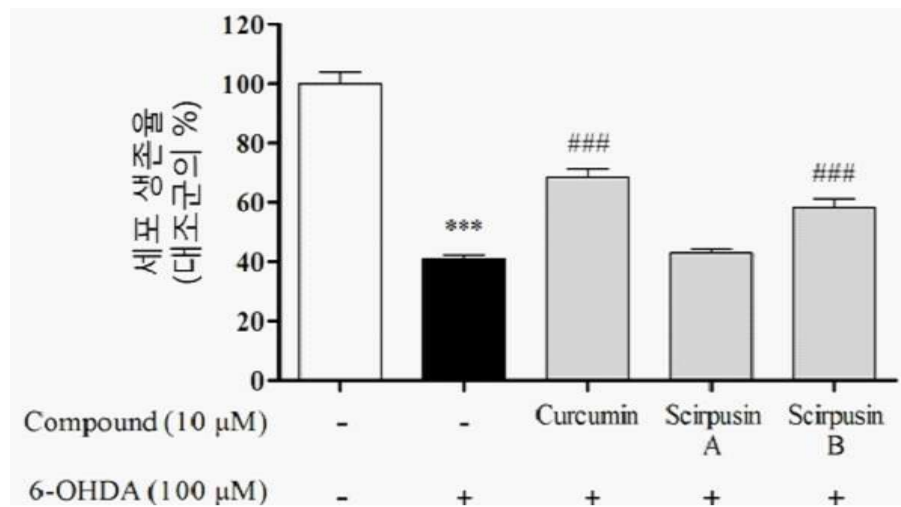
[0128] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

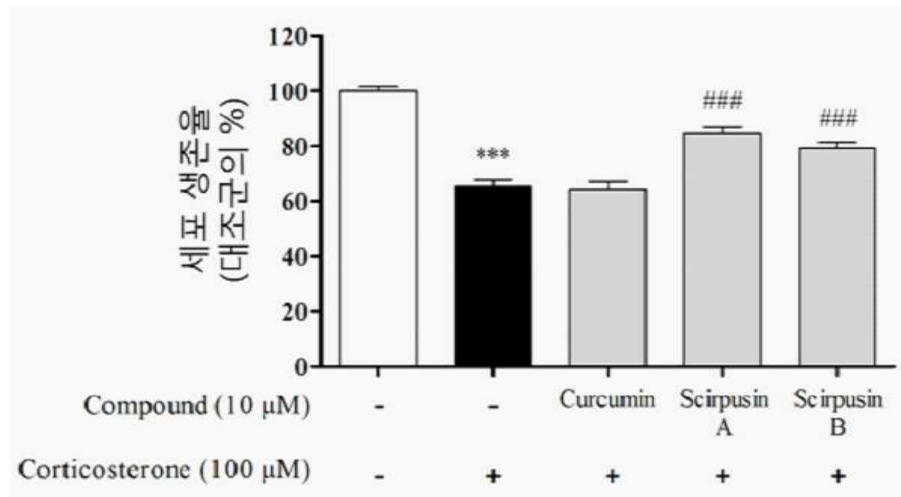
도면1



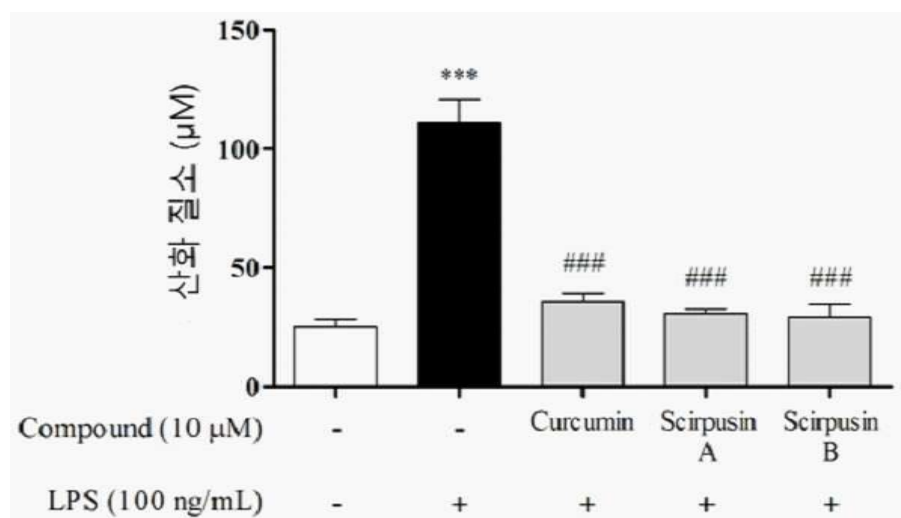
도면2



도면3



도면4



도면5

