



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

A61K 31/185 (2006.01)

(11) 공개번호

10-2007-0041489

(43) 공개일자

2007년04월18일

(21) 출원번호 10-2007-0031959(분할)

(22) 출원일자 2007년03월30일

심사청구일자 2007년03월30일

(62) 원출원 특허10-2005-0076324

원출원일자 : 2005년08월19일

심사청구일자

2005년08월19일

(71) 출원인 경희대학교 산학협력단

경기 용인시 기흥읍 서천리 1

(72) 발명자 김호철

서울시 동대문구 회기동 65번지 신현대아파트 2동 1404호

이대희

서울 성북구 종암동 삼성래미안아파트 110-1602호

김미연

서울 성북구 길음2동 길음뉴타운 224-1401

부영민

서울 강동구 고덕1동 현대아파트 103-705

하니나

인천 부평구 산곡4동 현대아파트 503-901

정진희

서울 서초구 방배동 779-11번지 201호

(74) 대리인 이원희

전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 신경세포 보호활성을 갖는 올레산을 함유하는 퇴행성뇌질환의 예방 및 개선용 건강기능식품

(57) 요약

본 발명은 신경세포 보호활성을 갖는 올레산(Oleic acid)을 유효성분으로 함유하는 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 올레산은 뇌허혈에 의해 유도되는 뇌신경세포 손상을 보호하는 효과를 나타내고, 신경행동학적 회복효과실험에서 뛰어난 회복 효과가 있으므로, 올레산을 포함하는 조성물은 신경세포의 사멸에 의해 발생하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료를 위한 의약품 및 건강기능식품으로 이용될 수 있다.

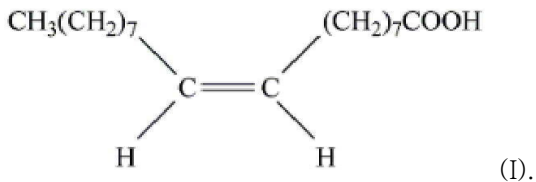
대표도

도 1a

특허청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 (I)의 올레산(oleic acid)을 유효성분으로 함유하는 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 피크(Pick)병 및 크로이츠펔트-야콥(Creutzfeldt-Jakob)병으로 구성된 군으로부터 선택되는 신경세포사에 의하여 유발되는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 개선용 건강기능식품:



청구항 2.

제 1항에 있어서, 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제의 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 건강기능식품.

청구항 3.

제 1항에 있어서, 상기 올레산은 올리브 오일, 식물추출물 또는 동·식물성 유지로부터 수득 분리됨을 특징으로 하는 건강기능식품.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 신경세포 보호활성을 갖는 올레산(oleic acid)을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

통계청에서 2003년 10월 발표한 우리나라 노령 인구의 비율을 살펴보면, 우리나라는 지난 2000년 65세 이상 인구가 총인구에서 차지하는 비중이 7.2 %에 이르러 고령화 사회에 들어섰으며, 오는 2019년에는 이 비율이 14 %를 넘어 고령사회에 진입할 것으로 전망되고 있다. 이와 같이 최근 고령화 문제가 사회적인 이슈로 대두 됨에 따라 고령인구의 특성이나 주거, 보건, 문화, 여가 등 노인복지 등에 대한 국민의 관심이 높아지고, 이에 대한 통계 수요도 늘어나고 있다. 이러한 변화의 핵심은 노령화 인구의 증가로 인해서 지난 50여 년간 사망의 주된 원인이 되었던 급성 전염성 질병보다는 만성 퇴행성 질병이 더욱더 큰 문제로 대두 되고 있다는 점이다. 특히 만성 퇴행성 질병 중에서 뇌혈관질환에 의한 사망은 단일질환에 의한 사망률 중에서 2위를 기록하고 있는 매우 중요한 질환이다.

뇌혈관질환은 크게 2가지 형태로 분류될 수 있다. 하나는 뇌출혈 등에서 볼 수 있는 출혈성 뇌질환이고, 다른 하나는 뇌혈관의 폐쇄 등에 의해 나타나는 허혈성 뇌질환이다. 출혈성 뇌질환은 교통사고 등에 의해서 주로 나타나며, 허혈성 뇌질환은 주로 노령의 사람들에서 자주 나타나는 질환이다.

대뇌에 일시적인 뇌허혈이 유발되는 경우, 산소와 포도당의 공급이 차단되어 신경세포에서는 ATP 감소, 부종(edema)이 발생되며, 결국 뇌의 광범위한 손상이 유발된다. 신경세포의 사멸은 뇌허혈이 있는 후 상당한 시간 경과 후에 나타나는데, 이를 지연성 신경세포사(delayed neuronal death)라고 한다. 지연성 신경세포사는 몽골리안 저빌(Mongolian gerbil)을

이용한 일과성 전뇌 허혈모델(transient forebrain ischemic model)을 통한 실험에서 살펴보면, 5분간 뇌허혈 유도 4일 후 해마(hippocampus)의 CA1 영역에서 신경세포사가 관찰되는 것으로 보고되고 있다(Kirino T, Sano K. *Acta Neuropathol.*, 62: 201-208, 1984; Kirino T. *Brain Res.*, 239: 57-69, 1982).

지금까지 가장 많은 사람들이 받아들이는 뇌허혈에 의한 신경세포사 기전으로는 2가지가 있다. 하나는 뇌허혈에 의해서 세포 바깥에 과도한 글루타메이트(glutamate)가 축적되게 되며, 이러한 글루타메이트가 세포내로 유입되어 결국 과도한 세포내 칼슘의 축적으로 신경세포사가 유발된다는 흥분성 신경세포사 기전(Kang TC, *et al.*, *J. Neurocytol.*, 30: 945-955, 2001)과 허혈-재관류시에 갑작스러운 산소 공급으로 인해 생체내 라디칼의 증가로 인해 DNA 및 세포질에 손상을 입어 유발된다는 산화성 신경세포사, 2가지 기전에 있다(Won MH, *et al.*, *Brain Res.*, 836: 70-78, 1999; Sun AY, Chen YM. *J. Biomed. Sci.*, 5: 401-414, 1998; Flowers F, Zimmerman JJ. *New Horiz.* 6: 169-180, 1998).

이러한 기전적인 연구를 바탕으로 해서 뇌허혈시에 나타나는 신경세포사를 효과적으로 억제하는 물질을 탐색하거나, 물질에 대한 기전을 밝히는 연구가 많이 수행되고 있다. 그러나 아직까지 효과적으로 뇌허혈에 의한 신경세포사를 억제하는 물질은 거의 없는 실정이다.

지금까지 유일하게 뇌허혈 치료제로 FDA 공인 시판 중인 조직플라즈미노겐활성자(tissue plasminogen activator)는 혈전용해제로 뇌허혈을 유발시키는 혈전을 녹여 빠른 산소 및 포도당의 공급을 유도하는 물질이다. 따라서 직접적으로 신경세포를 보호하는 것이 아니기 때문에 빠른 사용이 필요하며, 혈전용해제라는 특징 때문에 과량 사용 또는 자주 사용시에는 혈관벽이 얇아져 결국 출혈성 뇌혈관질환을 유발하게 된다.

또한 초기의 칼슘 유입을 효과적으로 억제하기 위한 칼슘채널 억제제(calcium channel blocker)인 MK-801의 경우 임상적 테스트가 실행이 되었으나 그 부작용으로 인해 약물을 폐기한 바 있다.

한편 국내의 경우, 다수의 천연물질이 뇌졸중 예방에 효과가 있는 건강식품으로 시판되고 있으나 이들 대부분은 과학적인 검증을 거치지 않은 것이 많으며 오히려 건강식품 남용의 원인이 되기도 하여 사회적인 문제가 되고 있다.

따라서, 오랫동안 사용되어 그 안전성이 입증된 천연자원들을 객관적으로 검증하여 뇌질환 치료 및 예방효과를 갖는 천연물질을 개발하고자 하는 노력이 시급히 요구되고 있다.

올레산(oleic acid)은 생체 내에 널리 존재하는 불포화지방산의 일종으로 분자량은 282.5, 녹는점 13.3℃, 끓는점 223℃/10 mmg Hg 이며, 순수한 것으로 무색, 무취의 기름모양의 액체이다. 천연에는 올리브기름, 동백기름 등의 주요 성분과 쇠기름, 돼지기름 등의 주요 구성성분으로 존재한다. 생체 내에서는 팔미트산에서 스테아르산을 거쳐 합성된다. 또 식물 내에서는 리놀레산으로 변환되기도 한다. 유리된 산의 형태보다는 주로 글리세롤과 에스테르(글리세리드)의 형태로 지방조직 속에 존재하는 외에 인지질이 구성성분으로 생체막에 존재한다. 공업용으로는 수지를 원료로 하여 제조되며, 또한 연(軟)비누나 모노폴비누 등 특수한 비누의 원료나 직물의 방수재료 등으로 응용된다. 올레산은 1 분자 내에 1개의 이중결합을 가지며, 트랜스형인 엘라이드산의 기하이성질체이다. 즉, 동종의 치환기가 이중결합에 대하여 같은 쪽에 있는 것(시스)이 올레산이며, 교차하여 반대쪽에 있는 것(트랜스)이 엘라이드산이다.

현재까지 올레산에 대한 연구는 항암효과 (Menendez *et al.*, *Annals of Oncology*, p.10, 2005), 혈액 점도를 낮춰 혈류의 흐름을 원활하게 하고 (Alberts *et al*, Gerland Publishing, Inc., New York, 1994), 신경세포의 재생 및 신경섬유의 수초화(myelination)(Medina and Taberner, *J Physiology*, 96: 265-271, 2002)등이 보고되고 있다. 그러나 신경세포 보호 작용에 대한 연구는 보고된 바가 없으며, 특히 동물모델을 이용한 신경보호 작용에 대한 연구는 알려져 있지 않다.

이에 본 발명자는 올레산의 뇌허혈성 신경세포 사멸에 대한 억제 활성화와 신경세포 손상으로 인한 감각운동 기능의 실조에 대한 보호 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명의 목적은 신경세포 보호활성을 갖는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료를 위한 조성물 및 퇴행성 뇌질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

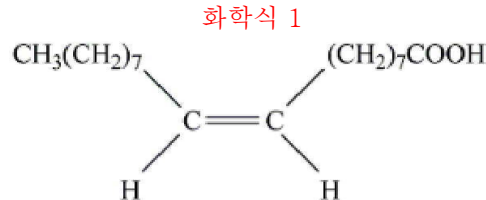
발명의 구성

상기 목적에 따라, 본 발명은 신경세포 보호활성을 갖는 올레산(oleic acid)을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 치료 및 예방을 위한 약학적 조성물을 제공한다.

더 나아가, 본 발명은 올레산을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

이하 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명의 올레산은 옥타디세노이드산(*Cis*-9-Octadecenoic acid)으로서, 하기 화학식 1로 표기된다.



상기 퇴행성 뇌질환은 신경세포사에 의하여 유발되는 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 피크(Pick)병 또는 크로이츠펠트-야콥(Creutzfeldt-Jakob)병이 포함된다.

또한 상기 올레산은 올레산이 함유된 올리브오일의 식물성 추출물 및 동물성유지로부터 먼저 원료를 분쇄한 후 핵산 또는 클로로포름을 가하여 진탕추출한 후 여과하여 핵산 층을 진공감압농축기로 농축하여 건고물을 수득하고, 건고물로부터 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하여, 올레산을 분리 정제하며 이때 이동상은 아세톤과 핵산 1:9 혼합용매로 하여 실시하고, 수득한 올레산의 순수도를 확인하기 위하여 얇은 막 크로마토그래피를 실시함으로써 수득 분리됨을 특징으로 한다.

본 발명의 신경세포사에 의한 퇴행성 뇌질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.1 내지 50 중량%로 포함한다.

본 발명의 화합물을 포함하는 약학조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.1 내지 50 중량%로 포함한다.

본 발명의 화합물을 포함하는 약학조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

본 발명의 화합물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

본 발명에 따른 화합물을 포함하는 약학조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 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. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

본 발명의 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 화합물은 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 10 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

본 발명의 화합물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

본 발명은 신경세포 보호활성을 갖는 상기 화합물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다. 본 발명의 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강 기능성 식품류 등이 있다.

또한, 신경세포 보호 및 퇴행성 뇌질환의 예방 효과를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이때, 식품 또는 음료 중의 상기 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제, 액제 등의 형태를 포함한다.

본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

상기 외에 본 발명의 화합물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 화합물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 화합물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

본 발명의 올레산은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있다.

이하, 본 발명을 하기의 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

참고예 1: 실험동물의 준비

실험동물로 300 g 내외, 8주령의 스프라그-다울리계(sprague-dawley) 수컷 흰쥐를 샘타코사(서울, 대한민국)에서 구입하여 사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일간 실험환경에 적응시켰다.

실험예 1: 올레산의 뇌신경세포 보호 효과

올레산의 국소 뇌허혈에 의한 신경세포 손상에 대하여 신경세포 보호 효과를 측정하기 위하여 응용된 혈관내 봉합사 삽입법(intraluminal suture method)을 사용하였다(Zea Longa, *et al.*, *Stroke*, 20: 84-91, 1989).

먼저, 25 mm의 4-0 나이론 봉합사의 끝 부분에서 약 5-8 mm길이를 실리콘으로 코팅하되 지름이 0.30 mm가 되게 제작하여 실험에 사용하였다. 흰쥐를 70% N₂O와 30% O₂가 섞인 혼합가스에 5%의 이소플루란(isoflurane)으로 전신마취를 한 후 한 쪽은 채혈을 위한 주사기를, 다른 한쪽은 혈압측정용 프로브(probe)를 삽입하여 혈압을 관찰하였으며, 채혈을 한 후 혈당 및 혈액가스를 분석하여 관찰하였다. 목 전방 부위 중앙의 피부를 절개하고 오른쪽 경동맥과 외경동맥(ECA)을 주위조직과 신경들로부터 조심스럽게 분리하였다. 외경동맥 분지인 상부갑상선동맥과 후두동맥을 전기소작기로 소작하고 내경동맥의 분지인 익돌근구개동맥을 전기소작하고 외경동맥을 자르고 프로브를 외경동맥에서 내경동맥으로 삽입하되 총경동맥 분지에서 약 18~20 mm정도 삽입한 후 실로 고정하였다. 피부절개부위를 다시 봉합한 후 마취에서 자연회복시켰다. 유발 직후 및 120분에 올레산을 10 및 100 mg/kg의 농도로 각각 흰쥐 체중 100 g당 0.1 ml씩의 부피로 5% 트윈(Tween) 20으로 희석하여 복강 주사하였으며, 대조군은 같은 부피의 5% 트윈 20을 투여하였다. 모든 실험군은 당일에 같은 마리수를 유발하였으며 수술은 체온이 37±0.5℃가 되게 유지하면서 관찰하였다. 수술 120분 후 상기와 같은 방법으로 재 마취하여 프로브를 후퇴시켜 재관류 시켰다. 재관류 후 24시간 후에 경추탈골 시키고, 2분 이내에 뇌를 적출하여 2 mm 두께로 6개의 절편을 얻었다. 2% TTC(triphenyltetrazolium chloride)가 들어 있는 16 웰 플레이트(well plate)에 조직을 충분히 담고 37℃에서 30 분 동안 방치한 후 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)로 고정시켜 조직을 관찰하였다. 모든 수술과정은 수술현미경하에서 시행하였으며, 마취는 이소플루란을 2%로 계속 유지하면서 체온이 37℃ 이하로 떨어지지 않도록 램프를 켜주었다. 조직은 디지털 카메라로 하나씩 촬영한 후 컴퓨터로 옮겼고, 이미지 분석프로그램인 옵티마스 6.5(Optimas 6.5, Bioscan)를 이용하여 뇌경색 비율(%)을 하기 수학식 1로 계산하였다. 이때, 교정된 뇌경색의 부피(mm³)는 하기 수학식 2로 계산하였다.

$$\text{뇌경색 비율}(\%) = (A-B/A) \times 100$$

A: 정상 좌반구의 부피(mm³)

B: 교정된 뇌경색의 부피 (mm³)

$$\text{교정된 뇌경색의 부피}(\text{mm}^3)$$

$$= (\text{정상 좌반구의 부피}) - (\text{손상 반구의 정상 부위 부피})$$

올레산의 뇌조직 및 뇌신경세포 보호 효과를 측정한 결과, 도 1a에 나타낸 바와 같이, 대조군에 비하여 올레산을 투여한 군은 신경세포가 사멸되어 TTC로 염색 되지 않은 부위의 면적이 적었고, 신경세포가 손상되지 않아 TTC로 염색된 흑색 부위의 면적이 적은 것을 알 수 있었다. 참고로, TTC로 뇌조직을 염색하면 손상으로 인하여 조직이 사멸한 부위는 염색이 되지 않아 흰색으로 나타나며, 정상 부위의 조직은 염색이 되어 흑색으로 나타난다.

또한, 도 1b에서 보는 바와 같이, 5% 트윈 20을 투여한 대조군은 뇌경색 비율(%)이 37.1±4.34%로 나타났고, 올레산을 10 및 100 mg/kg으로 투여한 군에서는 각각 20.9±3.48 및 13.0±2.79%로 나타나 농도 의존적인 신경보호효과를 나타내었다. 이들은 대조군에 비하여 각각 32.9 및 64.9%의 신경보호효과를 보인 것으로 100 mg/kg의 용량에서 최고 효능을 나타내었다.

실험예 2: 올레산의 신경행동학적 회복 효과 검증

상기 실시예 1과 동일한 방법으로 처리된 백서의 신경행동학적 회복효과를 롱가(Longa) 등의 신경행동학적 점수(Neurological score) 측정법(Stroke, 20, pp.84-91, 1989)에 따라 측정하였다. 평가 점수는 흰쥐를 바닥에서부터 50 cm정도 떨어뜨려서 올렸을 경우, 두 앞발을 바닥으로 향하는 정상적인 상태를 5점, 다른 증상 없고 손상된 부위의 앞발을 폼다 구부렸다 하는 상태를 4점, 앞발을 완전히 구부리며 다른 증상이 없는 상태를 3점, 왼쪽으로 틀거나 하면 2점을 주었고, 왼쪽으로 빙글빙글 도는 상태를 1점으로 하여 산정하였다. 상기의 평가 점수 방법에 따라 부여된 각 검사항목의 점수를 모두 합산하여 각 투여군의 최종적인 신경행동학적 점수를 도 2에 나타내었다. 대조군에서는 2.86±0.21 점수를 보인 반면, 올레산 100 mg/kg을 복강주사한 군에서는 3.95±0.15 점수 (p < 0.001)를 보여 각각의 용량에서 신경보호효과를 보였다.

실험예 3: 급성독성 실험

3-1: 경구투여

ICR계 마우스(몸무게 25 ± 5 g)와 스프라그-다울리계(sprague-dawley) 랫트를 각각 10마리씩 4군으로 나누어 본 발명의 조성물을 각각 100, 250, 500 및 1000 mg/kg의 용량으로 경구 투여한 후 2주간 독성여부를 관찰한 결과 실험 물질을 투여한 모든 동물에서 특이할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사 및 부검 소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과, 본 발명의 화합물은 랫트에서 각각 1000 mg/kg까지도 독성변화를 나타내지 않았으며, 경구투여 최소치사량(LD₅₀)은 100 mg/kg이상인 안전한 물질로 판단되었다.

3-2. 복강투여

ICR계 마우스(몸무게 25 ± 5 g)와 스프라그-다울리계(sprague-dawley) 랫트를 각각 10마리씩 4군으로 나누어 본 발명의 조성물을 각각 25, 50, 100 및 200 mg/kg의 용량으로 복강투여한 후 24시간 동안 독성여부를 관찰한 결과 실험 물질을 투여한 모든 동물에서 특이할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사 및 부검 소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과, 본 발명의 화합물은 랫트에서 각각 200 mg/kg까지도 독성변화를 나타내지 않았으며, 안전한 물질로 판단되었다.

하기에 본 발명의 올레산을 포함하는 약학조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

제제예 1: 산제의 제조

올레산 300 mg

유당 100 mg

탈크 10 mg

상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

제제예 2: 정제의 제조

올레산 50 mg

옥수수전분 100 mg

유당 100 mg

스테아린산 마그네슘 2 mg

상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

제제예 3: 캡슐제의 제조

올레산 50 mg

옥수수전분 100 mg

유당 100 mg

스테아린산 마그네슘 2 mg

통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

제제예 4: 주사제의 제조

올레산 50 mg

주사용 멸균 증류수 적량

pH 조절제 적량

통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

제제예 5: 액제의 제조

올레산 1000 mg

설탕 20 g

이성화당 20 g

레몬향 적량

정제수를 가하여 전체 1000 ml로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조하였다.

제제예 6. 건강 식품의 제조

올레산 1000 mg

비타민 혼합물 적량

비타민 A 아세테이트 70 μ g

비타민 E 1.0 mg

비타민 B1 0.13 mg

비타민 B2 0.15 mg

비타민 B6 0.5 mg

비타민 B12 0.2 μ g

비타민 C 10 mg

비오틴 10 μ g

니코틴산아미드 1.7 mg

엽산 50 μ g

판토텐산 칼슘 0.5 mg

무기질 혼합물 적량

황산 제1철 1.75 mg

산화아연 0.82 mg

탄산마그네슘 25.3 mg

제1인산칼륨 15 mg

제2인산칼슘 55 mg

구연산칼륨 90 mg

탄산칼슘 100 mg

염화마그네슘 24.8 mg

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.

제제예 7: 건강 음료의 제조

올레산 1000 mg

구연산 1000 mg

올리고당 100 g

매실농축액 2 g

타우린 1 g

정제수를 가하여 전체 900 ml

통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

발명의 효과

상술한 바와 같이, 본 발명의 신경세포 보호활성을 갖는 올레산(oleic acid)을 유효성분으로 함유하는 조성물은 뇌허혈시 발생하는 신경세포사를 저해하는 효과가 탁월할 뿐만 아니라 신경손상으로 인한 감각운동 기능의 실조에 대한 보호 효과를 확인함으로써, 신경세포의 괴사에 의해 발생하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료 및 후유증의 개선을 위한 약학조성물 또는 건강기능식품으로서 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

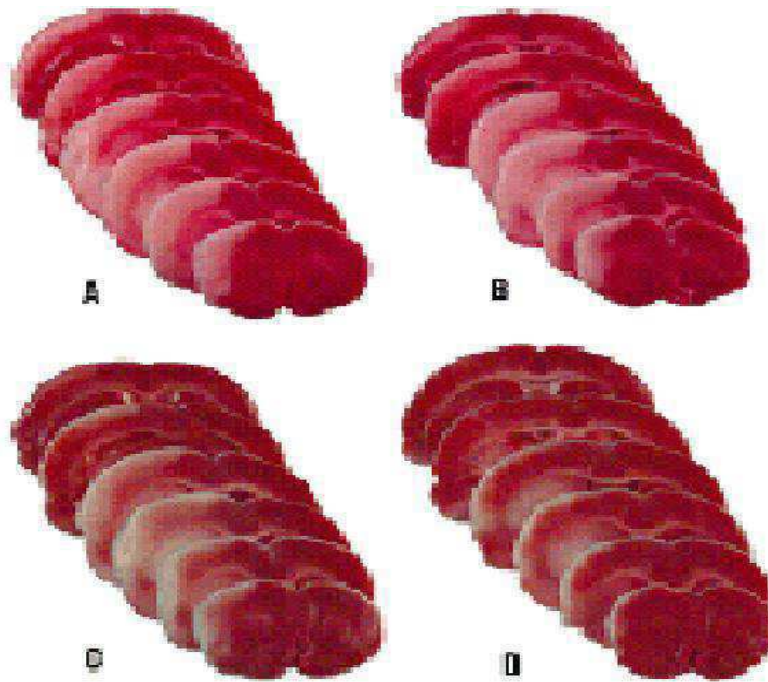
도 1a는 올레산(oleic acid)의 투여 농도에 따른 흰쥐 뇌조직에서의 뇌신경세포 손상 보호 효과를 관찰하기 위해 흰쥐의 뇌조직 절편을 TTC 염색법으로 관찰한 도이고,

도 1b는 5% 트윈(Tween) 20을 투여한 대조군과 올레산 투여군에서의 뇌조직 손상율 (또는 뇌경색비율)을 비교하여 나타낸 도이며,

도 2는 올레산(oleic acid)의 투여에 따른 신경행동학적 회복효과를 나타낸 도이다.

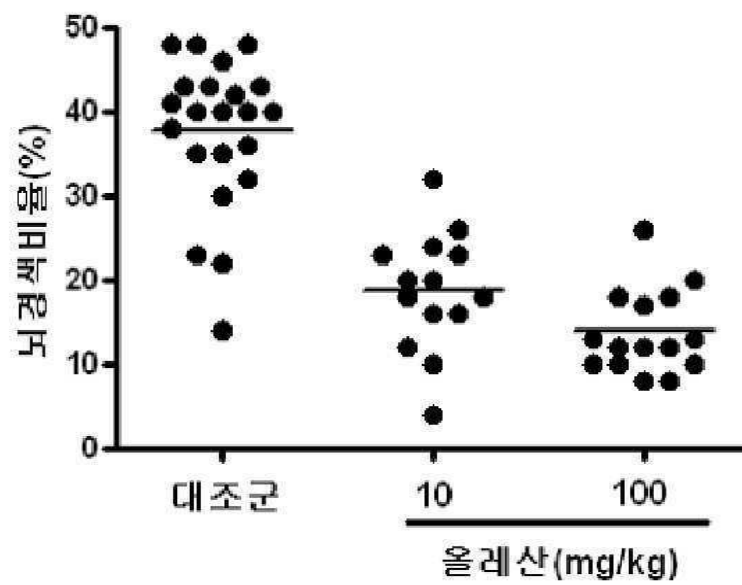
도면

도면1a



A :대조군, B: 1 mg/kg, C: 10 mg/kg, D: 100 mg/kg

도면1b



도면2

