(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년05월19일
(11) 등록번호 10-2808889
(24) 등록일자 2025년05월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2022.01) *A23K 10/22* (2016.01)
A23L 17/10 (2016.01) *A23L 33/18* (2016.01)
A61K 35/60 (2015.01) *A61P 25/24* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2022.01)
A23K 10/22 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2024-0074130
(22) 출원일자 2024년06월07일
심사청구일자 2024년06월07일
(56) 선행기술조사문헌
KR101647558 B1
김민지 외 6명. 한국생물공학회
30(6):326-331(2015)

(73) 특허권자
한국식품연구원
전북특별자치도 완주군 이서면 농생명로 245
국립부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)
(72) 발명자
조승목
부산광역시 남구 용소로 45, 웅비관 1417호(대연동,부경대학교대연캠퍼스)
김성희
부산광역시 남구 수영로 324, 9층 A-913호 (대연동, 리마크빌 대연)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 16 항 심사관 : 장은경

(54) 발명의 명칭 **참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 조성물에 대한 것이다.

본 발명의 조성물은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 함유함으로써 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 개선하거나, 스트레스 또는 긴장을 완화하는 데 우수한 효과를 나타내며, 기존 우울증 치료제 또는 불안장애 치료제에 의한 부작용 발생을 낮출 수 있다. 특히, 본 발명의 조성물은 우울증 유도 동물모델에서 우울증에 의한 행동 및 활동성 감소를 개선하는 효과가 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 식품, 건강기능식품, 사료 첨가제 및 의약품 등의 제조에 유용하게 이용될 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A23L 17/10 (2016.08)
A23L 33/18 (2016.08)
A61K 35/60 (2013.01)
A61P 25/24 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/31 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)

(72) 발명자
유호등
부산광역시 남구 수영로 283, 101동 1013호 (대연동, 벽산e-솔렌스힐)
박소홍
부산광역시 금정구 금강로 502, 204동 1003호 (구서동, 롯데캐슬골드1단지)
지선미
경상남도 거제시 능포로8길 13, 나빌레라 2차 404호 (능포동)
오휘원
부산광역시 해운대구 마린시티2로 33, 101동 2212호 (우동, 해운대두산위브더제니스)
엄민영
서울특별시 강동구 천호옛12길 27, 102동 101호 (성내동, 현대아파트)
윤민석
전북특별자치도 전주시 덕진구 만성로 147, 106동 1806호 (만성동, 전주만성에코르1단지)
김민지
전북특별자치도 전주시 덕진구 기지로 77, 201동 315호 (장동, 대방 디엠시티)
박인혜
부산광역시 북구 덕천로234번길 47, 502동 102호 (만덕동, 그린코아아파트)
정창화
서울특별시 영등포구 양평로24길 9, 110동 902호 (양평동5가, 양평동한신아파트)
이하은
대구광역시 수성구 수성로 412, 105동 1303호 (수성동4가, 수성보성타운)
김윤태
전북특별자치도 전주시 완산구 구룡1길 21 (효자동2가)
전현정
전북특별자치도 완주군 이서면 갈산1로 71, 807동 1604호 (이노힐스아파트)
김은자
서울특별시 강남구 언주로30길 56, 비동 2005호 (도곡동, 타워팰리스)

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
과제수행기관명	부경대학교 산학협력단
연구기간	2024.01.01 ~ 2024.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 식품 조성물로서,

상기 참치심장 가수분해물은 참치심장 분쇄물에 단백질 분해효소를 처리하여 제조된 것이고,

상기 단백질 분해효소는 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소; IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소; 또는 이들의 복합물인 것을 특징으로 하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 참치심장 가수분해물은 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 개선하거나, 스트레스 또는 긴장을 완화하는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 불안장애는 분리 또는 격리 불안증, 편집증, 범공포증, 범강박증, 신경불안증 및 공황장애 중에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 참치는 태평양참다랑어(*Thunnus orientalis*), 대서양참다랑어(*Thunnus thynnus*), 남방참다랑어(*Thunnus maccoyii*), 눈다랑어(*Thunnus obesus*), 황다랑어(*Thunnus albacares*), 날개다랑어(*Thunnus alalunga*), 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*) 및 백다랑어(*Thunnus tonggol*) 중에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 참치심장은 참치의 동맥구, 심실 및 심방 중에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소는 바실러스 유래의 중성의 프로테아제인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 바실러스 유래의 중성의 프로테아제는 바실러스 아밀로리퀘팍시엔스(*Bacillus amyloliquefaciens*)의 수중

발효(submerged fermentation)에 의해 생산되는 중성의 메탈로(Zn) 엔도프로테아제인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 중성의 메탈로(Zn) 엔도프로테아제는 뉴트라아제(Neutrase)인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소는 바실러스 유래의 알칼리성 프로테아제인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 바실러스 유래의 알칼리성 프로테아제는 바실러스 리케니포미스(*Bacillus licheniformis*)에 의해 생산되는 알칼리성의 세린 엔도펩티다아제인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 알칼리성의 세린 엔도펩티다아제는 프로텍스 6L(Protex 6L) 또는 알칼라아제(Alcalase)인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서,

상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소 및 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소의 복합물은 프로타멕스(Protamex)인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서,

상기 단백질 분해효소의 처리는 40 내지 70 ℃에서 1 내지 5 시간 동안 수행되는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서,

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

청구항 17

참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 사료 첨가제 조성물로서,

상기 참치심장 가수분해물은 참치심장 분쇄물에 단백질 분해효소를 처리하여 제조된 것이고,

상기 단백질 분해효소는 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소; IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소; 또는 이들의 복합물인 것을 특징으로 하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 사료 첨가제 조성물.

청구항 18

참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 우울증 또는 불안장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물로서,

상기 참치심장 가수분해물은 참치심장 분쇄물에 단백질 분해효소를 처리하여 제조된 것이고,

상기 단백질 분해효소는 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소; IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소; 또는 이들의 복합물인 것을 특징으로 하는 우울증 또는 불안장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 조성물에 대한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 사회가 급격히 발전하고 다변화됨에 따라 현대인들은 여러 가지 역할을 요구받고 있다. 이에 따라, 각종 스트레스로 인한 우울증, 불안장애 또는 과도한 긴장 등의 정신질환을 호소하는 사람들이 증가하고 있다. 보건복지부에서 18~64세 이하의 성인을 대상으로 시행한 2006년도 정신질환실태 역학조사에 따르면, 정신질환 1년 유병률이 17.1%인 것으로 나타났다. 또한, 평생 동안 한가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 정신질환 평생 유병률도 성인 3명 중 1명인 30%로 나타났다(2006년 기준). 아울러, 최근 과도한 학구열 등의 원인으로 인해 청소년 정신질환이 증가하는 추세이다.

[0003] 스트레스는 신체적 또는 심리적인 압박 상태를 말하는 것으로, 일상에 만연되어 있는 요소로 유발되며 거의 모든 정신과적 질환과 의학적 질병의 발생에 기여한다. 하지만, 스트레스에 대처하지 못하고 그대로 방치하게 되면 우울, 불안, 피로, 분노 또는 급격한 기분 변화와 같은 심리반응이 초래되고, 뇌파 중 α-파 감소, 혈압과 맥박수의 증가 등의 생리 반응을 초래하게 되는데 이러한 반응이 계속 반복되면 우울증, 불안장애, 과도한 긴장 등과 같은 질병이 나타나고 개인, 가족 및 사회적 손실을 야기하며, 개인의 삶의 질을 낮추는 원인이 된다.

[0004] 스트레스로 인한 질환 중에서 우울증은 슬픔, 절망감 및 좌절감의 감정을 특징으로 하는 침체된 기분의 심리적 상태를 말하는 것이다. 즉, 정상적인 감정인 "울적함", 감정부전 장애(dysthymic disorder)를 거쳐 주요 우울장애(major depressive disorder)로 발전한 상태를 의미한다. 주요 증상에는 입맛, 체중 또는 수면 패턴의 변화, 정신운동 초조 또는 지체(psychomotor agitation or retardation), 사고 능력, 집중력 또는 결정능력의 감소, 활력의 부족 및 피로감, 무가치함의 감정, 자책감 또는 죄책감, 빈번한 죽음 또는 자살 생각, 자살할 계획 또는 시도 중 일부와 조합된, 일상적인 기분의 침체 또는 대부분의 활동에서의 흥미 또는 즐거움의 상실을 나타내는 기간인, 주요 우울 에피소드(major depressive episode)를 특징으로 한다.

[0005] 현재 임상에서 우울증이나 불안장애에 대한 약물치료를 위해 주로 diazepam, lorazepam, clonazepam, alprazolam 등의 benzodiazepine 계통의 약물이 사용되고 있다.

[0006] 그러나, 이러한 약물들은 항정신성 의약품으로 분류되는 약물이며, 심리적, 신체적으로 의존하게 만들어 약물남용이 우려되는 등의 위험성을 내포하고 있다.

[0007] 이에, 천연물을 이용하여 의존성이 낮으면서도 효과적으로 우울증, 불안장애, 스트레스로 인한 긴장 등을 개선 또는 치료할 수 있는 물질의 개발이 요구되는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) KR 10-2016-0049251 A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 사료 첨가제 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 우울증 또는 불안장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기한 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 식품 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 참치심장 가수분해물은 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 개선하거나, 스트레스 또는 긴장을 완화하는 것일 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 불안장애는 분리 또는 격리 불안증, 편집증, 범공포증, 범강박증, 신경불안증 및 공황장애 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0015] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 참치는 태평양참다랑어(*Thunnus orientalis*), 대서양참다랑어(*Thunnus thynnus*), 남방참다랑어(*Thunnus maccoyii*), 눈다랑어(*Thunnus obesus*), 황다랑어(*Thunnus albacares*), 날개다랑어(*Thunnus alalunga*), 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*) 및 백다랑어(*Thunnus tonggol*) 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0016] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 참치심장은 참치의 동맥구, 심실 및 심방 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 참치심장 가수분해물은 참치심장 분쇄물에 단백질 분해효소를 처리하여 제조된 것일 수 있다.

[0018] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 단백질 분해효소는 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소; IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소; 또는 이들의 복합물;일 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소는 바실러스 유래의 중성의 프로테아제일 수 있다.

[0020] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 바실러스 유래의 중성의 프로테아제는 바실러스 아밀로리퀘팍시엔스(*Bacillus amyloliquefaciens*)의 수중 발효(submerged fermentation)에 의해 생산되는 중성의 메탈로(Zn) 엔도프로테아제일 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 중성의 메탈로(Zn) 엔도프로테아제는 뉴트라아제(Neutrase)일 수 있다.

[0022] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소는 바실러스 유래의 알칼리성 프로테아제일 수 있다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 바실러스 유래의 알칼리성 프로테아제는 바실러스 리케니포미스(*Bacillus licheniformis*)에 의해 생산되는 알칼리성의 세린 엔도펩티다아제일 수 있다.

[0024] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 알칼리성의 세린 엔도펩티다아제는 프로텍스 6L(Protex 6L) 또는 알칼라아제(Alcalase)일 수 있다.

[0025] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소 및 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소의 복합물은 프로타멕스(Protamex)일 수 있다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 단백질 분해효소의 처리는 40 내지 70 ℃에서 1 내지 5 시간 동안 수행될 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 식품 조성물의 제형은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료일 수 있다.

[0028] 상기한 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 사료 첨가제 조성물을 제공한다.

[0029] 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 우울증 또는 불안장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0030] 본 발명의 조성물은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 함유함으로써 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 개선하거나, 스트레스 또는 긴장을 완화하는 데 우수한 효과를 나타내며, 기존 우울증 치료제 또는 불안장애 치료제에 의한 부작용 발생을 낮출 수 있다. 특히, 본 발명의 조성물은 우울증 유도 동물모델에서 우울증에 의한 행동 및 활동성 감소를 개선하는 효과가 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 식품, 건강기능식품, 사료 첨가제 및 의약품 등의 제조에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 참치의 심장 구조를 나타낸 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 참치심장 가수분해물의 제조방법을 간단히 나타낸 순서도이다.

도 3은 실시예에 따른 참치심장 가수분해물의 신경세포 보호 활성에 관한 것으로, 도 3a는 해마세포에 실시예에 따른 참치심장 가수분해물 및 코르티코스테론을 처리한 후의 세포 생존율을 나타낸 그래프이고, 도 3b는 해마세포에 실시예에 따른 참치심장 가수분해물, 및 과산화수소 또는 글루타메이트를 처리한 후의 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.

도 4는 코르티코스테론(CORT, corticosterone)에 의해 우울증 및 불안장애가 유도된 마우스에게 실시예에 따른 참치심장 가수분해물을 투여한 후 꼬리매달기 시험(Tail suspension test, TST)을 실시한 결과로 거꾸로 꼬리가 매달린 상태에서의 부동자세 시간을 나타낸 것으로, 도 4a는 실시예 1군 내지 4군에 대한 결과(효소 종류에 따른 효과 비교)를 비교한 것이고, 도 4b는 실시예 5군 및 6군에 대한 결과(심장 부위에 따른 효과)를 비교한 것이다.

도 5는 코르티코스테론(CORT, corticosterone)에 의해 우울증 및 불안장애가 유도된 마우스에게 실시예에 따른 참치심장 가수분해물을 투여한 후 강제수영 검사를 실시한 결과로 수중에서의 부동자세 시간을 나타낸 것으로, 도 5a는 실시예 1군 내지 4군에 대한 결과(효소 종류에 따른 효과 비교)를 비교한 것이고, 도 5b는 실시예 5군 및 6군에 대한 결과(심장 부위에 따른 효과)를 비교한 것이다.

도 6은 코르티코스테론(CORT, corticosterone)에 의해 우울증 및 불안장애가 유도된 마우스에게 실시예에 따른 참치심장 가수분해물을 투여한 후 자당 선호도를 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 7은 코르티코스테론(CORT, corticosterone)에 의해 우울증 및 불안장애가 유도된 마우스에게 실시예에 따른 참치심장 가수분해물을 투여한 후 혈청 내 코르티코스테론 함량을 측정한 그래프이다.

도 8은 코르티코스테론(CORT, corticosterone)에 의해 우울증 및 불안장애가 유도된 마우스에게 실시예에 따른 참치심장 가수분해물을 투여한 후 뇌유래신경영양인자 (BDNF, brain derived neurotrophic factor) 발현에 대한 효과를 나타내는 그림 및 그래프이다. 도 9a는 BDNF 함량을 측정한 웨스턴블랏 결과이고, 도 9b는 상기 웨스턴블랏에 의해 측정된 BDNF 함량을 상대적 수치로 나타낸 그래프이다.

도 9는 코르티코스테론(CORT, corticosterone)에 의해 우울증 및 불안장애가 유도된 마우스에게 실시예에 따른 참치심장 가수분해물을 투여한 후 개방장 시험(open field test)에서 관측된 움직인 거리(Traveled distance) 및 중앙(center zone)에 머무르는 시간을 측정하여 나타낸 것으로, 도 9a는 실시예 1군 내지 4군에 대한 결과(효소 종류에 따른 효과 비교)를 비교한 것이고, 도 9b는 실시예 5군 및 6군에 대한 결과(심장 부위에 따른 효과)를 비교한 것이다.

도 10은 코르티코스테론(CORT, corticosterone)에 의해 우울증 및 불안장애가 유도된 마우스에게 실시예에 따른 참치심장 가수분해물을 투여한 후 고가식 십자 미로 실험(elevated plus maze test)에서 관측된 열린 통로(open arms)에 머무르는 시간 및 닫힌 통로(closed arms)에 머무르는 시간을 측정하여 나타낸 것으로, 도 10a는 실시예 1군 내지 4군에 대한 결과(효소 종류에 따른 효과 비교)를 비교한 것이고, 도 10b는 실시예 5군 및 6군에 대한 결과(심장 부위에 따른 효과)를 비교한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 본 발명의 명세서 및 청구범위에 사용된 용어 또는 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정 해석되지 아니하며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는

원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

[0033] 본 명세서에서, 용어 “우울증(depression)”은 우울장애(depressive disorder)라고도 하고, 의욕 저하와 우울감을 주요 증상으로 하여 다양한 인지 및 정신 신체적 증상을 일으켜 일상 기능의 저하를 가져오는 질환을 의미하며, 구체적으로는 주로 슬픔, 무미(입맛의 결여), 감정의 상실, 무쾌감증(쾌감의 결여), 비탄, 동요, 또는 지체, 죄의식과 무가치하다는 생각 및 감정을 느끼며, 심각한 경우 자살, 환각, 및 망상 등의 행동을 시행하는 신경정신 장애를 의미한다.

[0034] 본 명세서에서, 용어 “불안장애(불안증, anxiety disorders)"는 극도의 공포, 불안 및 관련된 행동 장애의 특징을 지닌 질환들을 포함한다. 불안은 광범위하게 매우 불쾌하고 막연하게 불안한 느낌으로 미래의 위협에 대한 예측에서 발생하는 현상이며, 공포는 실제로 있거나 혹은 지각된 즉각적인 위협에 대한 감정적 반응이다. 이는 정상적 범위를 넘어선 불안과 공포로 인하여 두통, 심장 박동 증가, 호흡수 증가, 위장관계 이상 등과 같은 신체적 증상이 나타나며, 이로 인해 일상 활동을 수행하기 어려운 경우에 불안장애로 진단할 수 있다. 분리 또는 격리 불안증, 편집증, 범공포증, 범강박증, 신경불안증, 급성 스트레스 장애, 외상 후 스트레스 장애 및 공황장애 등이 불안장애에 해당한다.

[0035] 본 명세서에서, 용어 “스트레스(stress)”는 적응하기 어려운 환경에 처할 때 느끼는 심리적, 신체적 긴장 상태를 의미하며, 장기적으로 지속되면 심장병, 위궤양, 고혈압과 같은 신체적 질환을 일으키기도 하고, 불면증, 불안증, 우울증, 긴장과 같은 심리적 부적응을 일으키기도 한다. 본 발명의 실시예에서 마우스에 스트레스 호르몬인 코르티코스테론을 투여하는 방식으로 스트레스를 가하여 우울증, 불안증, 또는 긴장을 유발하였다.

[0037] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0038] 본 발명의 일 측면은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 식품 조성물에 관한 것이다.

[0039] 일 구체예에서, 상기 참치심장 가수분해물은 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 개선하거나, 스트레스 또는 긴장을 완화하는 것일 수 있다.

[0040] 일 구체예에서, 상기 우울증 또는 불안장애는 스트레스로 인한 것일 수 있다.

[0041] 일 구체예에서, 상기 불안장애는 분리 또는 격리 불안증, 편집증, 범공포증, 범강박증, 신경불안증 및 공황장애 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0042] 본 발명의 식품 조성물은 우울증 또는 불안장애의 예방 또는 개선 효과와 함께 스트레스 또는 긴장 완화 효과, 바람직하게는 스트레스로 인한 긴장 완화 효과를 수반한다.

[0043] 일 구체예에서, 상기 참치심장 가수분해물은 스트레스로 인한 긴장을 완화하는데 도움을 준다.

[0044] 상기 참치심장은 참치로부터 분리, 채취된 심장으로, 기존에 버려지던 참치의 부산물이였다. 본 발명은 이러한 참치 부산물인 참치심장을 이용하여 산업적으로 이용하고자 연구하던 중 참치심장 가수분해물이 신경세포를 보호하고, 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 활성이 있어 우울증, 불안장애, 스트레스 또는 긴장의 예방, 개선, 치료에 사용할 수 있다는 사실을 최초로 규명하였다. 이에 본 발명은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 우울증 또는 불안장애를 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 조성물, 또는 스트레스 또는 긴장을 완화할 수 있는 조성물을 제공할 수 있다.

[0045] 일반적으로 참치의 심장은 가슴의 복부 중앙에 위치하고 혈액이 흐르는 방향에 따라 정맥동(sinus venosus), 심방(atrium), 심실(ventricle) 및 동맥구(bulbus arteriosus)가 연속적으로 배열되어 있으며, 다른 구조로는 동맥원추(conus arteriosus)와 방실계(atrioventricular segment 또는 atrioventricular region)가 알려져 있다. 심방과 심실은 근육성 방으로 수축 기능을 하며 다른 구조들은 혈액이 원활하게 흐르도록 도와주는 기능을 하고, 동맥구는 심실이 수축하는 동안 팽창하여 탄력적인 저장소 역할을 하며, 탄력성 유지를 위해 콜라겐과 엘라스틴이 다량 분포되어 있는 것으로 알려져 있다.

[0046] 한편, 동일한 어류라고 하더라도 심장 구조는 다양하므로, 상기 참치심장은 농어목, 고등어과의 다랑어속(Thunnus)으로 분류되는 경골어류로부터 얻은 심장인 것이 바람직하고, 그 중에서도 태평양참다랑어(Thunnus orientalis), 대서양참다랑어(Thunnus thynnus), 남방참다랑어(Thunnus maccoyii), 눈다랑어(Thunnus obesus), 황다랑어(Thunnus albacares), 날개다랑어(Thunnus alalunga), 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*) 및 백다랑어(Thunnus tonggol)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 경골어류로부터 얻은 심장인 것이 보다

바람직하고, 눈다랑어, 황다랑어 및 가다랑어로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상으로부터 얻은 심장이 더욱 바람직하며, 가다랑어 심장, 또는 눈다랑어 심장 및 황다랑어 심장의 혼합물인 것이 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효능 면에서 가장 바람직하다.

[0047] 일 구체예에서, 상기 참치심장은 참치의 동맥구(動脈球)(bulbus arteriosus), 심실 및 심방 중에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 바람직하게는 동맥구 또는 심실일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 동맥구일 수 있다.

[0048] 상기 참치심장은 생심장, 냉동심장, 자숙 심장, 건조 심장을 사용할 수 있으나, 바람직하게는 생 심장 또는 냉동 심장을 사용하는 것이 바람직한데, 냉동 심장의 경우 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효능이 우수한 참치심장 가수분해물을 우수한 수율로 얻을 수 있다는 점에서 가장 바람직하다.

[0049] 상기 참치심장은 흐르는 수돗물로 10분간 세척하고, 세척한 참치 심장을 거름망 위에 놓고 수분을 제거한 다음, 분쇄하여 참치심장 분쇄물을 제조하며, 바로 이용이 어려울 경우 상기 참치심장 분쇄물은 -20 ℃ 이하로 냉동 저장할 수 있다.

[0050] 일 구체예에서, 상기 참치심장 가수분해물은 참치심장 분쇄물에 단백질 분해효소를 처리하여 제조된 것일 수 있다.

[0051] 일 구체예에서, 상기 단백질 분해효소는 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소; IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소; 또는 이들의 복합물;일 수 있고, 바람직하게는 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소; 또는 상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소와 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소의 복합물일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소일 수 있다.

[0052] 상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소는 바실러스 유래의 중성의 프로테아제로서, 예를 들어 바실로라이신, 바실러스 메탈로엔도펩티다제, 아닐로자임 P10; 바실러스 메탈로프로테나제, 메가테리오펩티다제, "뉴트라아제(Neutrase)"(Novozyme 사) 등은 효소처리를 통해 참치심장 가수분해물을 제조할 경우 참치심장 열수 추출물에 비해 훨씬 뛰어난 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효과를 나타낸다. 상기 뉴트라아제는 바실러스 아밀로리퀘팍시엔스(Bacillus amyloliquefaciens)의 수중 발효(submerged fermentation)에 의해 생산되는 중성의 메탈로(Zn) 엔도프로테아제이다. 뉴트라아제 외에 상기 효소 클래스에 속하는 박테리아 기원의 중성 메탈로프로테나제인 "Protease N 'Amano'"(Amano Enzyme 사) 및 "Corolase N"(AB Enzymes 사) 등에 의해 효소처리된 참치심장 가수분해물들도 종래 참치심장 열수 추출물에 비해 훨씬 뛰어난 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효과를 나타낼 수 있다.

[0053] 또한 "프로타멕스(Protamex)"(Novozyme 사)와 같이 상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소를 일부 포함하는 효소 복합물의 경우에도 종래 참치심장 열수 추출물에 비해 훨씬 뛰어난 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효과를 나타낸다. 상기 프로타멕스는 상기 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.24.28의 효소 및 IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소의 복합물이다.

[0054] 또한, IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.21.62의 효소는 바실러스 유래의 알칼리성 프로테아제로서, "알칼라아제(Alcalase)"(Novozyme 사), “프로텍스 6L(Protex 6L; FoodPro Alkaline Protease라고도 함)”(Genencor international BVBA), 콜로라아제(colorase) N, ALK-효소, 바실로펩티다제 A, 바실로펩티다제 B, 바실러스 섭틸리스 알칼라인 프로테나제 바이오프라제(bioprase), 바이오프라제 AL 15, 바이오프라제 APL 30, 콜리스티나제(colistinase), 섭틸리신 J, 섭틸리신 S41, 섭틸리신 센다이(섭틸리신 Sendai), 섭틸리신 GX, 섭틸리신 E, 섭틸리신 BL, 섭틸리신 A(Type VIII), 제네나제(genenase) I, 에스페라제(esperase), 맥사타제(maxatase), 서르모아제(thermoase) PC 10, 프로테아제 XXVII, 서르모아제(thermoase), 슈페라제(superase), 섭틸리신 DY, 섭틸로펩티다제, SP 266, 사비나제(savinase) 8.0L, 사비나제 4.0T, 카주사제(kazusase), 프로테아제 VIII, 옵티마제, 옵티클린(opticlean), 바실러스 섭틸리스 알칼라인 프로테나제, protin A 3L, 사비나제, 사비나제 16.0L, 사비나제 32.0 L EX, 오리엔타제(orientase) 10B, 및 프로테아제 S 중에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있고, 바람직하게는 바실러스 리케니포미스(*Bacillus licheniformis*)에 의해 생산되는 알칼리성의 세린 엔도펩티다아제인 프로텍스 6L, 섭틸리신 A 또는 알칼라아제일 수 있다.

[0055] 일 구체예에서, 본 발명의 단백질 분해효소는 알칼라아제, 뉴트라아제, 프로타멕스 및 알칼라인(FoodPro Alkaline) 중에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 바람직하게는 뉴트라아제, 프로타멕스 및 알칼라인(FoodPro Alkaline) 중에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 뉴트라아제 및 프로타멕스 중에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 더욱 바람직하게는 뉴트라아제일 수 있다.

[0056] 한편, IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.23.1의 효소, 예를 들어 펩신(pepsin), 아스파틱 프로테나아제

(Aspartic proteinnase)와 같은 효소들은 참치심장 가수분해물을 제조하더라도 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효과를 나타내지 않는다. 펩신은 아스파틱 엔도펩티데이즈로서 선택적으로 소수성, 특히 방향족 아미노산 잔기를 절단한다.

[0057] 또한, IUBMB 효소 명명 클래스 EC 3.4.11.1의 효소, 예를 들어 A-LAP, acidic M17 leucine aminopeptidase, AcLAP, adipocyte-derived leucine aminopeptidase, Aminopeptidase, "플라보자임(Flavourzyme)"(Novozyme사)과 같은 효소 또한 효소처리를 통해 참치심장 가수분해물을 제조하더라도 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효과를 나타내지 않는다. 플라보자임은 아스퍼질러스 오리재(Aspergillus oryzae)의 수중 발효(submerged fermentation)에 의해 생산되는 엔도프로테아제 및 엑소펩티데이즈의 복합물이다.

[0058] 일 구체예에서, 상기 참치심장 가수분해물 제조는 물에 적절한 양의 참치심장과 효소를 투입하여 효소처리한다. 예를 들어 참치심장 분쇄물 100 중량부를 기준으로 100 내지 500 중량부 또는 부피부, 바람직하게는 100 내지 300 중량부 또는 부피부의 물을 투입하고, 효소는 0.5 내지 3 중량부, 바람직하게는 1 내지 2 중량부를 투입할 수 있으나, 그 투입량은 필요에 따라 임의로 변경하여 사용할 수 있다.

[0059] 상기 효소 처리는 40 내지 70 ℃, 바람직하게는 45 내지 65 ℃, 더욱 바람직하게는 50 내지 60 ℃에서 1 내지 5 시간동안 수행될 수 있다. 1시간 미만 또는 40 ℃ 미만이면 가수분해가 되지 않으며, 5 시간을 초과하면 제조시간은 단축되나 온도를 유지하는 비용이 증가되고, 70 ℃를 초과하면 온도를 증가시키는 비용에 비해 가수분해의 효율이 증가하지 않으므로 상기한 온도 및 시간 범위에서 가수분해시키는 것이 바람직하다.

[0060] 상기 참치심장 가수분해물은 효소 실활을 위해 80 내지 90 ℃에서 5 내지 20 분 동안 처리할 수 있다. 5분 미만 또는 80 ℃ 미만이면 효소가 실활 되지 않으며, 20 분을 초과하면 참치심장 가수분해물의 수율이 저하되거나 활성이 낮아지고, 90 ℃를 초과하면 온도를 증가시키는 비용에 비해 참치심장 가수분해물에 존재하는 유효성분의 변형이 야기되므로 상기한 온도 및 시간 범위에서 수행하는 것이 바람직하다.

[0061] 본 발명에서 참치심장 가수분해물은 참치심장을 효소로 처리 혹은 가수분해하여 얻어진 효소 처리물로, 아미노산 및/또는 펩타이드를 포함하는 물질군을 의미한다. 이러한 효소 처리물은 그대로 또는 원심분리 후 상등액을 취하여 이용하거나, 그 상등액을 감압농축 및/또는 동결건조시켜 액상 또는 분말상으로 이용되거나, 효소처리물 그대로 또는 그 상등액을 물이나 에탄올 등의 유기용매로 추출하거나, 그 추출물을 극성이 서로 다른 유기용매를 사용하여 분획하거나, 그 추출물 또는 분획물을 농축하여 이용할 수 있다.

[0062] 또한, 상기 참치심장 가수분해물은 참치심장에 효소처리를 통해 얻어진 반응생성물, 이들로부터 분획한 분획물, 이들 분해물 또는 분획물을 추가적으로 농축한 농축물, 이를 정제 또는 분리한 정제물도 포함하고, 상기 반응생성물, 분획물, 농축물 또는 정제물을 건조한 건조물 또는 그를 분쇄한 분말을 포함하는 의미로 사용된다.

[0063] 상기 농축물 또는 정제물의 제조를 위해 원심분리하거나, 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시키거나, 또는 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 부가할 수 있다.

[0064] 상기 원심분리는 1 내지 20 분 동안 수행되는 것이 바람직하다. 1 분 미만이면 고체입자 또는 액체미립자를 분리하지 못하고, 20 분을 초과하면 소요시간이 길어 제조시간이 단축되지 않으므로 상기한 범위로 수행하는 것이 바람직하다.

[0065] 상기 원심분리는 원심분리기를 사용하여 분당 회전수인 5,000 내지 10,000 rpm으로 회전시켜 원심분리하는 것이 바람직하다. 5,000 rpm 미만이면 원심분리가 잘 되지 않고, 10,000 rpm을 초과하면 증가된 원심분리 속도에 비해 소비전력이 더욱 상승하여 효율적이지 못하므로 상기한 범위에서 수행하는 것이 바람직하다.

[0066] 상기 건조는 동결 건조, 진공 건조 또는 분무 건조를 사용할 수 있으며, 동결 건조를 하는 것이 바람직하다.

[0067] 상기 분무 건조는 재료를 열풍기류 속에 접촉시키면 재료의 수분이 건조되는 방법이며, 상기 진공 건조와 동결 건조는 재료를 진공 중에 방치하면 진공도에 상응한 온도에서 수분이 제거되는 방법이다. 그리고 상기 진공 건조는 재료를 동결시키지 않고 감압함으로써 수분을 증발시켜 건조하는 것이다.

[0068] 상기 동결 건조는 참치심장 가수분해물 내에 존재하는 수분을 저온으로 동결시켜 만든 빙결정을 감압 및 진공상태에서 수분을 승화시키는 것이다. 상기 동결 건조 시 압력을 4 내지 6 Torr로 하여 -40 ℃ 이하 건조실 내에서 가수분해물을 동결상태로 유지하면 가수분해물의 유리수가 빙결정이 되며, 상기 빙결정이 수증기로 점차 승화되어 제거된다.

[0069] 본 발명의 구체적인 일 실시예에 의하면, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 섭취하면 꼬리매달기 시험법으로 측정 시 부동시간(immobility time)이 참치심장 가수분해물을 섭취하지 않은 대조군(스트레스 유도군)에 비해 30% 이상, 바람직하게는 30 내지 50%, 더욱 바람직하게는 40 내지 50% 감소한다. 또한, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 섭취하면 강제수영 시 부동시간이 참치심장 가수분해물을 섭취하지 않은 대조군(스트레스 유도군)에 비해 20% 이상, 바람직하게는 20 내지 50%, 더욱 바람직하게는 40 내지 50% 감소한다.

[0070] 한편, 상기 꼬리매달기 실험 및 강제수영 실험으로 인하여 본 발명의 참치심장 가수분해물은 가만히 있는 시간(부동시간)을 감소시키고, 움직이는 시간을 현저히 증가시킴을 확인하였다. 이에, 본 발명의 참치심장 가수분해물은 운동수행능력, 구체적으로는 지구력을 향상시키는 효능이 있으므로, 운동능력 증진용 식품 조성물 등으로 사용할 수 있다.

[0071] 또한, 본 발명의 구체적인 다른 실시예에 의하면, 자당 선호도 검사에서 참치심장 가수분해물을 섭취하지 않은 대조군(스트레스 유도군)은 자당 선호도가 유의하게 감소한 반면, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 섭취한 시험군의 자당 선호도는 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.

[0072] 또한, 본 발명의 구체적인 또 다른 실시예에 의하면, 혈청 내 코르티코스테론 함량 분석 시험에서 참치심장 가수분해물을 섭취하지 않은 대조군(스트레스 유도군)은 혈청 내 코르티코스테론 함량이 유의하게 증가한 반면, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 섭취한 시험군의 혈청 내 코르티코스테론 함량은 대조군에 비해 유의하게 감소하여, 정상상태 수준으로 회복되었다.

[0073] 또한, 본 발명의 구체적인 또 다른 실시예에 의하면, 뇌유래신경영양인자(BDNF) 측정 시험에서 참치심장 가수분해물을 섭취하지 않은 대조군(스트레스 유도군)은 BDNF 함량이 유의하게 감소한 반면, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 섭취한 시험군의 BDNF 함량은 대조군에 비해 유의하게 증가하여, 정상상태보다 높은 수준으로 회복되었다.

[0074] 또한, 본 발명의 구체적인 또 다른 실시예에 의하면, 개방장 시험에서 참치심장 가수분해물을 섭취하지 않은 대조군(스트레스 유도군)의 총 움직인 거리 및 중앙에 머무르는 시간이 정상군에 비해 유의하게 감소한 반면, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 섭취한 시험군의 총 움직인 거리 및 중앙에 머무르는 시간은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.

[0075] 또한, 본 발명의 구체적인 또 다른 실시예에 의하면, 고가식 십자 미로 실험에서 참치심장 가수분해물을 섭취하지 않은 대조군(스트레스 유도군)의 열린 통로에 머무른 시간은 정상군에 비해 유의하게 감소한 반면, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 섭취한 시험군의 열린 통로에 머무른 시간은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.

[0076] 상기 결과들을 통해, 본 발명에 따른 참치심장 가수분해물이 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 개선하거나, 스트레스 또는 긴장을 완화하는 데에 바람직하게 작용하는 것을 입증하였다.

[0077] 또한, 본 발명의 참치심장 가수분해물은 광의로는 참치심장 가수분해물을 동물에게 투여할 수 있도록 제형화된 참치심장 가수분해물 가공물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상 가능할 것이다.

[0078] 한편, 본 발명의 식품 조성물은 전체 식품 조성물 총 중량에 대하여 참치심장 가수분해물을 0.001 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 5 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%로 포함할 수 있다.

[0079] 또한, 본 명세서에서 용어 “유효성분으로 함유하는”이란 참치심장 가수분해물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 본 발명의 참치심장 가수분해물의 1일 투여량은, 100 내지 2000 mg/kg일 수 있으며, 바람직하게는 200 내지 1500 mg/kg일 수 있고, 더욱 바람직하게는 250 내지 1000 mg/kg일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 300 내지 800 mg/kg일 수 있고, 가장 바람직하게는 400 내지 600 mg/kg일 수 있다. 본 발명의 참치심장 가수분해물의 투여량의 상기 하한치 미만인 경우에는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효과가 원하는 정도로 나타나지 않을 수 있고, 상기 상한치를 초과하는 경우에는 투여량이 증가하는 만큼 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화 효과가 증가하지 않을 수 있다. 참치심장 가수분해물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 참치심장 가수분해물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0080] 본 명세서에서, 용어 “완화”는 우울, 불안 또는 긴장과 관련된 증상들 및 그 외 스트레스 또는 스트레스로 인해 발생하는 증상들이 질적 또는 양적으로 개선되는 모든 효과를 의미한다.

[0081] 본 발명의 용어 "예방"이란, 상기 우울증 또는 불안장애를 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 것을 의미한다.

[0082] 본 발명의 용어 "치료"란, 달리 언급되지 않는 한, 상기 우울증 또는 불안장애의 증상을 역전시키거나, 완화시키거나, 그 진행을 억제하거나, 또는 예방하는 것을 의미한다.

[0083] 본 발명의 용어 "개선"이란, 본 발명의 참치심장 가수분해물을 포함하는 조성물의 투여로 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 것을 의미한다.

[0084] 본 발명에 따른 식품 조성물은 식품학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 분말, 과립, 정제, 캡슐 등으로 제제화하여 기능성 식품으로 이용조할 수 있다. 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0085] 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.

[0086] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 참치심장 가수분해물뿐만 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 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등]) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 참치심장 가수분해물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0088] 또한, 본 발명의 다른 측면은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 건강기능식품에 관한 것이다.

[0089] 본 발명의 “참치심장 가수분해물”, “우울증”, “불안장애”, “스트레스”, “긴장”, “완화”에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0090] 상기 건강기능식품이란, 참치심장 가수분해물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 나타내는 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 참치심장 가수분해물의 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. 일 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.

[0091] 본 발명의 또 다른 측면은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 사료 첨가제 조성물에 관한 것이다.

[0092] 본 발명의 “참치심장 가수분해물”, “우울증”, “불안장애”, “스트레스”, “긴장”, “완화”에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0093] 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 첨가제 조성물은 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.

[0094] 또한, 본 발명은 상기 사료 첨가제 조성물을 포함하는 사료 조성물에 관한 것이다.

[0095] 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 참치심장 가수분해물을 첨가하여 당업계에 공지된 다양한 형태의 사료로 제조 가능하며, 바람직하게는 농후 사료, 조사료 및/또는 특수사료가 포함될 수 있으나, 이로 한정되지 않는다.

[0096] 농후사료에는 밀, 귀리, 옥수수 등의 곡류를 포함하는 종자열매류, 곡물을 정제하고 얻는 부산물로서 쌀겨, 밀기울, 보릿겨 등을 포함하는 겨류, 콩, 유체, 깨, 아마인, 코코야자 등을 채유하고 얻는 부산물인 깻묵류와 고구마, 감자 등에서 녹말을 뺀 나머지인 녹말찌꺼기의 주성분인 잔존녹말질류 등의 찌꺼기류, 어분, 물고기찌꺼기, 어류에서 얻은 신선한 액상물(液狀物)을 농축시킨 것인 피시솔루블(fish soluble), 육분(肉粉), 혈분, 우모분, 탈지분유, 우유에서 치즈, 탈지유에서 카제인을 제조할 때의 잔액인 훼이(whey)를 건조한 건조훼이 등의 동물질사료, 효모, 클로렐라, 해조류가 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0097] 조사료에는 야초, 목초, 풋베기 등의 생초(生草)사료, 사료용 순무, 사료용 비트, 순무의 일종인 루터베어거 등의 뿌리채소류, 생초, 풋베기작물, 곡실(穀實) 등을 사일로에 채워 놓고 젖산발효시킨 저장사료인 사일리지(silage), 야초, 목초를 베어 건조시킨 건초, 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.

[0098] 본 발명에 따른 상기 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 사료 조성물은 당업계에 공지된 다양한 사료 제조방법에 따라 적절한 유효 농도 범위에서 본 발명의 참치심장 가수분해물을 첨가하여 제조 가능하다.

[0099] 본 명세서에서 용어 “유효성분으로 함유하는”이란 참치심장 가수분해물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 본 발명의 참치심장 가수분해물의 1일 투여량은 100 내지 2000 mg/kg일 수 있으며, 바람직하게는 200 내지 1500 mg/kg일 수 있고, 더욱 바람직하게는 250 내지 1000 mg/kg일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 300 내지 800 mg/kg일 수 있고, 가장 바람직하게는 400 내지 600 mg/kg일 수 있다.

[0100] 본 발명에 따른 사료 조성물은 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화를 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 가능하나, 개 또는 고양이 등의 반려동물인 것이 바람직하다.

[0102] 본 발명의 또 다른 측면은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 우울증 또는 불안장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0103] 본 발명의 “참치심장 가수분해물”, “우울증”, “불안장애”에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0104] 본 발명의 약학 조성물은 다양한 원인에 의하여 발생하는 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 치료하는 효과가 있으나, 바람직하게는 스트레스를 원인으로 하는 우울증 또는 불안장애를 예방 또는 치료하는 효과가 있다.

[0105] 본 발명의 약학 조성물은 우울증 또는 불안장애의 예방 또는 치료 효과와 함께 스트레스 또는 긴장 완화 효과, 바람직하게는 스트레스로 인한 긴장 완화 효과를 수반한다.

[0106] 또한, 본 발명의 또 다른 측면은 참치심장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 스트레스성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0107] 본 명세서에서, 용어 “스트레스성 질환”은 정신적 또는 신체적 스트레스로 인해 발생할 수 있는 질환을 의미하며, 스트레스성 긴장, 스트레스성 불안증, 스트레스성 우울증, 피로 증후군, 공포기억, 정신적 공황, 강박장애, 외상후 스트레스 장애, 정신분열증, 스트레스성 두통, 신경변성 질병, 식사장애, 신경성 식욕부진, 약물중독, 약물 또는 알코올 금단 증후군 내지 스트레스성 정신병 에피소드 등을 모두 포함하는 개념이다.

[0108] 본 발명의 약학 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0109] 상기 약학 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약학 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0110] 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, 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.

[0111] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 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.

[0112] 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.

[0113] 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.

[0114] 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.

[0115] 또한, 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 캅셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0117] 상기 우울증 또는 불안장애의 치료방법은 인간, 또는 인간을 제외한 동물, 특히 포유동물에게 상기 조성물을 투여하는 것으로, 예를 들어 우울증 또는 불안장애를 가진 치료대상 개체에게 상기 조성물을 경구 투여하는 것이다. 상기 치료를 위한 투여량, 투여 방법 및 투여 횟수는 상기 약학 조성물, 의약, 동물용 약학 조성물 또는 동물용 의약의 투여량, 투여 방법 및 투여 횟수를 참고할 수 있다.

[0119] 또한, 본 발명의 또 다른 측면은 하기 단계를 포함하는 항우울, 항불안, 항스트레스 또는 긴장완화용 참치심장 가수분해물의 제조방법에 관한 것이다.

[0120] a) 참치로부터 심장을 분리하는 단계; 및

[0121] b) 상기 참치심장 100 중량부를 기준으로 물 100 내지 500 중량부 또는 부피부, 효소 0.5 내지 3 중량부를 넣고 40 ℃ 내지 70 ℃에서 1 내지 5 시간동안 반응시켜 참치심장 가수분해물을 제조하는 단계;를 포함한다.

[0122] 본 발명의 “참치심장 가수분해물”, “우울증”, “불안장애”, “스트레스”, “긴장”, “완화”에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0124] 이하, 실시예에 의하여 본 발명을 상세히 설명하겠으나, 다음 실시예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0126] **<실시예>**

[0127] **실시예 1: 참치심장 가수분해물의 제조**

[0128] 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*)로부터 심장을 분리하였다. 상기 가다랑어로부터 분리한 심장에서 심실을 제거하고 동맥구(bulbus arteriosus)를 분리하였다(도 1) 상기 참치 동맥구를 흐르는 수돗물에 10분간 세척하는 것을 3회 수행한 후, 거름망을 이용해 물기를 제거하고, 분쇄하여 심장 분쇄물을 수득하였다.

[0129] 상기 심장 분쇄물 100 g에 1.5배 부피의 물과 알칼라제 2.4L FG (Alcalase 2.4L FG)(Novozyme, Denmark) 효소를 원재료(심장 분쇄물) 중량 대비 0.5%(w/w)가 되도록 첨가한 후 진탕배양기에서 60 ℃, 100 rpm, 4 시간 동안 가수분해하였다.

[0130] 상기 참치심장 가수분해물은 85 ℃에서 10분간 효소 실활 후, 원심분리(조건:4 ℃, 10 min, 9,000 rpm)하여 얻

은 상등액을 감압농축(50 ℃)(농축 후 25~30 birx) 및 동결건조하여 참치심장 가수분해물을 제조하였다. 최종 수율은 21%였다.

[0132] **실시예 2: 뉴트라아제**

[0133] 실시예 1과 동일하게 실시하되, 알칼라제 2.4L FG 효소 대신 뉴트라아제 0.8L(Novozymes, Denmark) 효소를 이용하고, 50 ℃에서 가수분해하여 참치심장 가수분해물을 제조하였다. 최종 수율은 15%였다.

[0135] **실시예 3: 프로타멕스**

[0136] 실시예 1과 동일하게 실시하되, 알칼라제 2.4L FG 효소 대신 프로타멕스(Novozymes, Denmark) 효소를 이용하고, 50 ℃에서 가수분해하여 참치심장 가수분해물을 제조하였다. 최종 수율은 18%였다.

[0138] **실시예 4: 알칼라인**

[0139] 실시예 1과 동일하게 실시하되, 알칼라제 2.4L FG 효소 대신 알칼라인 (FoodPro Alkaline)(비전바이오캠)를 이용하여 참치심장 가수분해물을 제조하였다. 최종 수율은 20%였다.

[0141] **실시예 5: 눈다랑어 및 황다랑어 - 심실**

[0142] 실시예 1과 동일하게 실시하되, 가다랑어의 동맥구 대신 눈다랑어 및 황다랑어의 심실을 이용하여 참치심장 가수분해물을 제조하였다.

[0143] 구체적으로, 눈다랑어(Thunnus obesus) 및 황다랑어(Thunnus albacares)로부터 심장을 분리하였다. 상기 눈다랑어 및 황다랑어로부터 분리한 각각의 심장에서 동맥구를 제거하고 심실을 분리하였다(눈다랑어에서 심실:동맥구 중량비는 74:26 이였고, 황다랑어에서 심실:동맥구 중량비는 77:23 이였다.) 각각의 참치 심실을 흐르는 수돗물에 10분간 세척하는 것을 3회 수행한 후, 거름망을 이용해 물기를 제거하고, 분쇄하여 심장 분쇄물을 수득하였다.

[0144] 상기 각각의 참치 심장 분쇄물 100 g에 1.5배 부피의 물 및 알칼라제 2.4L FG (Alcalase 2.4L FG)(Novozyme, Denmark) 효소 0.5%(w/w)를 첨가한 후 진탕배양기에서 60 ℃, 100 rpm, 4 시간 동안 가수분해하였다.

[0145] 상기 가수분해물은 85 ℃에서 10분간 효소 실활 후, 원심분리(조건:4 ℃, 10 min, 9,000 rpm)하여 얻은 상등액을 감압농축(50 ℃)(농축 후 25~30 birx) 및 동결건조하여 심실 가수분해물을 제조하였다. 이후, 상기 눈다랑어의 심실 가수분해물과 황다랑어의 심실 가수분해물을 혼합하였다. 상기 눈다랑어 심실 가수분해물 수율은 14%, 황다랑어 심실 가수분해물 수율은 12%였다.

[0147] **실시예 6: 눈다랑어 및 황다랑어 - 동맥구**

[0148] 실시예 5와 동일하게 실시하되, 참치의 심실 대신 동맥구를 이용하여 참치심장 가수분해물을 제조하였다. 눈다랑어 동맥구 가수분해물 수율은 17%, 황다랑어 동맥구 가수분해물 수율은 18%였다.

[0150] **<시험예>**

[0151] 모든 연구결과들은 3회 반복 후 평균값을 산출하여 나타내었고, SPSS (version 27, Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 Duncan's multiple range test로 각 실험구 간의 유의성($p<0.05$)을 검증하였다.

[0152] *in vitro* **시험**

[0153] **시험예 1: 신경세포 보호 활성**

[0154] **1-1: 코르티코스테론 유도 산화 스트레스에 대한 세포 생존율 개선**

[0155] 마우스 해마세포(HT22)는 한국세포주은행(Seoul, Korea)로부터 구입하였고, 10% FBS, 50 unit/mL 페니실린 및 100 μg/mL 스트렙토마이신을 함유하는 DMEM 배지에서 배양했다. 세포는 5% CO_2 및 37 ℃로 유지되는 인큐베이터에서 배양되었다.

[0156] 상기 해마세포(HT22)를 96 well plate($1x10^4$ cells/well)에 도말하고, 24시간 동안 배양한 후, 실시예 1 내지 5에 따른 참치심장 가수분해물을 각각 농도별(10, 25, 50, 100 ㎍/mL)로 처리하였다. 시료 처리 30분 후 코르티코스테론 500 μM을 처리한 다음 24시간 동안 배양시켰다. DCF-DA를 처리하고, 30분 후, 세포를 DMSO에 용해시키고 fluorescence microplate reader (Infinite 200, Tecan Co., San Jose, CA, USA)로 570 nm에서 분석하였

다(도 3a).

[0157] 도 3a를 살펴보면, 해마세포에 코르티코스테론을 처리한 시험군(VEH)은 대조군(CTL)에 비해 세포 생존율이 유의하게 감소한 반면, 코르티코스테론과 함께 본 발명의 실시예 1 내지 5의 참치심장 가수분해물을 처리한 시험군은 코르티코스테론만 처리한 시험군(VEH)에 비해 세포 생존율이 유의하게 높은 것을 확인할 수 있다.

[0158] **1-2: H_2O_2 및 글루타메이트 유도 산화 스트레스에 대한 세포 생존율 개선**

[0159] 상기 시험예 1-1과 동일하게 실시하되, 코르티코스테론 500 μM 대신 과산화수소 40 mM 또는 글루타메이트(glutamate) 5 mM로 산화 스트레스를 유발하여 실시예 5 및 6의 참치심장 가수분해물 처리에 의한 신경세포 보호 활성을 확인하였다(도 3b).

[0160] 도 3b를 살펴보면, 해마세포에 과산화수소 또는 글루타메이트를 처리한 시험군(VEH)은 각각 대조군(CTL)에 비해 세포 생존율이 유의하게 감소한 반면, 과산화수소 또는 글루타메이트와 함께 본 발명의 실시예 5 및 6의 참치심장 가수분해물을 처리한 시험군은 과산화수소 또는 글루타메이트만 처리한 시험군(VEH)에 비해 세포 생존율이 유의하게 높은 것을 확인할 수 있다.

[0161] 상기한 결과들을 통해, 본 발명의 참치심장 가수분해물은 산화 스트레스에 의한 세포독성으로부터 신경세포를 보호하는 활성이 있음을 알 수 있다.

[0163] ***in vivo* 시험**

[0164] **실험동물**

[0165] ICR 마우스(18-20 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 한국식품연구원 동물관리위원회(KFRI-IACUC, Korea Food Research Institutional Animal Care and Use Committee)의 실험동물 사용지침에 따라 관리하였다.

[0166] **우울, 불안, 긴장 또는 스트레스 유도 동물모델 제작, 시험군 분류 및 시료 투여**

[0167] 실험동물은 체중변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 임의 배치법에 의해 생리식염수를 투여한 정상군, 스트레스 호르몬인 코르티코스테론(corticosterone, CORT)을 투여한 대조군, 실시예 1 내지 6의 참치심장 가수분해물을 투여한 후 코르티코스테론(corticosterone, CORT)을 투여한 시료 투여군으로 나누었으며 실험군마다 10마리씩 사용하였다.

[0168] 구체적으로, 실시예 1 내지 6의 참치심장 가수분해물(500 mg/kg BW)을 각각 5% tween 80-saline 용액을 이용하여 제조하여 실험동물에 하루 1회, 35일 동안 경구투여하였다. 매일 경구투여 30분 후에는 2% tween 80 + 0.2% DMSO-saline 용액으로 제조한 코르티코스테론(CORT, 40 mg/kg BW)을 복강주사하였다.

[0169] 과도한 스트레스 호르몬(corticosterone, CORT)의 투여는 HPA-axis dysfunction을 유도시켜 우울증과 유사한 행동 증상을 나타나게 한다. 이러한 'CORT-induced depressive-like behavior model'은 기능성 소재의 우울증 개선 효능을 평가하기 위해 주로 사용되어지는 실험동물모델이다.

[0170] -8개 군의 마우스-

[0171] 정상군: 5% tween 80-saline 용액 경구투여 후 생리식염수 투여

[0172] 대조군: 5% tween 80-saline 용액 경구투여 후 스트레스 호르몬(CORT) 40 mg/kg 투여

[0173] 실시예 1군 (CORT+A1): 실시예 1의 참치심장 가수분해물 500 mg/kg 경구투여 후 스트레스 호르몬(corticosteron, CORT) 40 mg/kg 투여

[0174] 실시예 2군 (CORT+Neu): 실시예 2의 참치심장 가수분해물 500 mg/kg 경구투여 후 스트레스 호르몬(corticosteron, CORT) 40 mg/kg 투여

[0175] 실시예 3군 (CORT+Pro): 실시예 3의 참치심장 가수분해물 500 mg/kg 경구투여 후 스트레스 호르몬(corticosteron, CORT) 40 mg/kg 투여

[0176] 실시예 4군 (CORT+Alk): 실시예 4의 참치심장 가수분해물 500 mg/kg 경구투여 후 스트레스 호르몬

(corticosteron, CORT) 40 mg/kg 투여

[0177] 실시예 5군 (심실, 또는 SS): 실시예 5의 참치심장 가수분해물 500 mg/kg 경구투여 후 스트레스 호르몬(corticosteron, CORT) 40 mg/kg 투여

[0178] 실시예 6군 (동맥구, 또는 SB): 실시예 6의 참치심장 가수분해물 500 mg/kg 경구투여 후 스트레스 호르몬(corticosteron, CORT) 40 mg/kg 투여

[0180] **시험예 2: 참치심장 가수분해물의 항우울 효과**

[0181] **2-1: 꼬리매달기 시험(Tail suspension test, TST)**

[0182] CORT 투여로 인한 우울, 불안, 긴장 또는 스트레스 유도 동물모델을 이용하여, TST를 통해 실시예의 참치심장 가수분해물이 어떠한 항우울 효능을 나타내는지를 확인하고자 하였다.

[0183] TST는 오후 1시에서 5시 사이의 일정한 시간 내에 진행하였으며, 시험군 당 10 마리(n=10)의 마우스를 사용하였다. TST는 마우스 꼬리 끝 1 cm 정도에 고정 장치를 장착 후, 지면에서 50 cm 떨어진 위치에 매달고, 부동시간 측정 장치(ID-Tech-Bioseb, Chaville, France)를 이용하여 총 6분간 움직임을 관찰하였으며, 움직이지 않고 부동 상태인 부동시간(immobility time)을 측정하여 스트레스 등의 정도를 측정하였다. 마우스의 우울증 유사 행동이 나타나게 되면 TST 부동시간이 유의적으로 증가한다.

[0184] 도 4a 및 도 4b는 각각 정상군, 대조군, 및 실시예 투여군의 TST 부동시간을 나타낸 그래프이다.

[0185] 도 4a에 도시된 바와 같이, 대조군(CORT+VEH)의 부동시간은 CORT를 투여하지 않은 정상군(SHAM)에 비해 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. 반면, 실시예 1군 내지 실시예 4군의 부동시간은 대조군에 비해 유의적으로($p<0.001$) 감소한 것을 확인하였다.

[0186] 또한, 도 4b에 도시된 바와 같이, 대조군(V+C)의 부동시간은 CORT를 투여하지 않은 정상군(V+V)에 비해 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. 반면, 실시예 5군 및 6군의 부동시간은 대조군에 비해 유의적으로 감소한 것을 확인하였다.

[0187] 따라서, 본 발명에 따른 참치심장 가수분해물이 스트레스 또는 우울증을 개선 또는 완화하는 효능을 보이는 것으로 확인되었다.

[0189] **2-2: 강제수영 시험(Forced swimming test, FST)**

[0190] CORT 투여로 인한 우울, 불안, 긴장 또는 스트레스 유도 동물모델을 이용하여, 강제 수영 실험(FST)을 통해 긴급 상황에서의 회피 능력에 대한 항우울 실험을 행동 약리학적 관점에서 수행하였다.

[0191] FST는 높이 25 cm, 지름 14 cm의 실린더에 25±1 ℃ 물을 15 cm의 높이로 채운 후 마우스를 1 마리씩 넣어 강제 수영을 시키고, 6분 동안 캠코더 등의 영상 기록 장치를 이용하여 기록하였다. 기록된 영상은 video-tracking software (Smart 3.0, Panlab, Spain)를 이용하여 초반 2분을 제외하고 후반 4분 동안을 기준으로 마우스가 수면 위에 움직임 없이 가만히 있는 부동시간(immobility time)을 분석하였다.

[0192] 도 5a 및 도 5b는 각각 정상군, 대조군, 및 실시예 투여군의 FST 부동시간을 나타낸 그래프이다.

[0193] 도 5a에 도시된 바와 같이, 대조군(CORT+VEH)의 부동시간은 CORT를 투여하지 않은 정상군(SHAM)에 비해 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. 반면, 실시예 2군 내지 실시예 4군의 부동시간은 대조군에 비해 유의적으로($p<0.05$, $p<0.001$) 감소한 것을 확인하였다. 특히, 실시예 2군(CORT+Neu) 및 3군(CORT+Pro)은 실시예 4군(CORT+Alk)에 비해서도 부동시간이 유의적으로 감소하였다.

[0194] 또한, 도 5b에 도시된 바와 같이, 대조군(V+C)의 부동시간은 CORT를 투여하지 않은 정상군(V+V)에 비해 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. 반면, 실시예 5군(SS) 및 6군(SB)의 부동시간은 대조군에 비해 유의적으로 감소한 것을 확인하였다.

[0195] 따라서, 본 발명에 따른 참치심장 가수분해물이 스트레스 또는 우울증을 개선 또는 완화하는 효능을 보이는 것으로 확인되었다.

[0197] **2-3: 자당 선호도 검사(Sucrose preference test, SPT)**

[0198] 자당 섭취량은 스트레스 또는 우울증 증상 중 하나인 무쾌감(anhedonia) 반응에 대한 대표적인 지표로서, 우울증 유도 동물모델에서는 자당 선호도가 유의적으로 낮아지게 된다.

[0199] 48시간 동안 마우스를 1%의 자당(sucrose)과 물에 적응시켰다. 케이지에 형태가 동일해서 구별할 수 없는 두 개의 병을 설치하였으며, 물과 1%의 자당을 각각 투입하였다. 48시간의 적응기간(sucrose habituation) 후 12시간 동안 케이지에서 물과 먹이를 제거하였다(deprivation period). 12시간 경과 후 케이지에 물과 1%의 자당이 각각 투입된 동일한 형태의 병을 각각 설치하고 6시간 동안 물 또는 1% 자당의 섭취량을 측정하였다. 자당 선호도(sucrose preference)는 하기 식 1에 의해 산출하였으며, 우울 경향을 보일 때 자당 선호도는 감소한다.

[0200] [식 1]

[0201] 자당 선호도(Sucrose preference)(%) = 1% 자당 용액 섭취량/(물 섭취량 + 1% 자당 용액 섭취량)

[0202] 도 6은 정상군, 대조군, 및 실시예 투여군의 자당 선호도를 나타낸 그래프이다.

[0203] 도 6에 도시된 바와 같이, 대조군(CORT+VEH)의 자당 선호도는 CORT를 투여하지 않은 정상군(SHAM)에 비해 유의적으로($p<0.001$) 감소하였다. 반면, 실시예 2군 내지 4군의 자당 선호도는 대조군에 비해 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. 특히, 실시예 2군(CORT+Neu) 및 3군(CORT+Pro)은 실시예 4군(CORT+Alk)에 비해서도 자당 선호도가 유의적으로 증가하였다.

[0204] 따라서, 본 발명에 따른 참치심장 가수분해물이 우울증을 개선 또는 완화하는 효능을 보이는 것으로 확인되었다.

[0206] **2-4: 혈청 코르티코스테론 함량 분석**

[0207] 행동실험을 종료한 뒤, 실험동물을 흡입 마취시킨 다음 복대정맥으로부터 채혈한 후, 원심분리를 통하여 혈청을 분리하였다. 이후, 혈청에 포함된 코르티코스테론의 양을 ELISA assay (MyBioSource, Inc. CA, USA)로 측정하였다.

[0208] 도 7은 정상군, 대조군, 및 실시예 투여군의 혈청 내 코르티코스테론 함량을 측정한 결과이다.

[0209] 도 7에 도시된 바와 같이, 대조군(V+C)의 혈청 내 코르티코스테론 함량은 정상군(V+V)에 비해 유의하게 증가하였다. 반면, 실시예 5군(SS) 및 6군(SB)의 혈청 내 코르티코스테론 함량은 대조군에 비해 유의하게 감소하여, 정상상태 수준으로 회복되었다.

[0210] 즉, 참치심장 가수분해물이 스트레스 및 우울증 완화 효과가 있는 것으로 판단할 수 있다.

[0212] **시험예 3: 뇌유래신경영양인자(BDNF) 측정 시험**

[0213] BDNF는 뇌신경세포의 발달과 분화 및 생존에 필요한 요소로, 학습, 기억, 신경전달물질 발달에 중요한 역할을 나타낸다.

[0214] 모든 실험이 완료된 실험동물을 희생하였다. 이후 뇌를 신속하게 적출한 다음 해마를 분리하여 액체질소에 넣어 동결시키고, -80℃ 초저온냉장고에 넣어 보관하였다. 동결 보관된 뇌 조직에 protease inhibitor(Roche, Mannheim, Germany)가 첨가된 RIPA 용액(Sigma, Missouri, USA)를 넣고 homogenizer로 뇌 조직을 균질화 시킨 후, 4℃, 13,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취해 단백질을 분리하였다. 분리된 단백질의 농도를 BCA protein assay kit (Thermo scientific, Illinois, USA)를 이용하여 정량한 뒤 10 ㎍의 단백질을 95℃에서 5분간 가열한 후 10% gel (Bio-Rad, California, USA)을 이용하여 90 V에서 1시간 30분 동안 전기영동 시켰다. 전기영동 후 gel에 분리된 단백질을 PVDF membrane에 transfer 하였다. 그 후 1 시간 동안 5% skim milk를 이용하여 membrane을 blocking 한 후 BDNF antibody와 α-tubulin antibody를 넣은 후 4℃에서 overnight 동안 반응시켰다. 2차 antibody를 붙인 후 단백질의 함량을 chemiluminescent imaing system (Vilber Lourmat, France)을 이용하여 현상하였다.

[0215] 도 8a 및 도 8b는 정상군, 대조군, 및 실시예 투여군의 BDNF 함량을 측정한 결과이다.

[0216] 도 8a 및 도 8b에 도시된 바와 같이, 대조군(VEH)의 BDNF 함량은 정상군(SHAM)에 비해 유의하게 감소하였다. 반면, 실시예 5군(SS) 및 6군(SB)의 BDNF 함량은 대조군에 비해 유의하게 증가하여, 정상상태보다 높은 수준으로 회복되었다.

[0217] 즉, 참치심장 가수분해물이 스트레스 또는 우울증으로 인해 감소하는 인지기능을 개선시키는 것으로 판단할 수 있다.

[0219] **시험예 4: 참치심장 가수분해물의 항불안 효과**

[0220] **4-1: 개방장 시험(open field test, OFT)**

[0221] CORT 투여로 인한 우울, 불안, 긴장 또는 스트레스 유도 동물모델을 이용하여, 개방장 시험(OFT)을 통해 실시예의 참치심장 가수분해물이 어떠한 항불안 효능을 나타내는지를 확인하고자 하였다.

[0222] 마우스를 개방 범위에 노출시키기 1시간 이상 전에 동일한 환경에 위치하도록 하였다. 30x40x30 cm의 플라스틱 사각상자에 상기 각각의 시험군에 속하는 마우스를 각각 1마리씩 개방 범위의 중앙에 위치하도록 넣고 마우스당 5분씩 이동을 기록하였다. 행동관찰 영상은 비디오카메라를 이용하여 촬영하였고, 이후 비디오 추적 소프트웨어(video tracking software; Smart 3.0, Panlab, Spain)를 이용한 비디오 파일 분석을 통해 마우스가 총 움직인 거리 및 상자의 중앙(center zone)에 머무른 시간을 측정하였다. 수평적 이동 활동력은 마우스의 이동 거리를 통해 판단하였고, 상자 중심부의 15x15 cm 범위를 중앙 부분으로 판단하여 분석하였다. 그 결과를 도 9a(실시예 2군 내지 4군; 효소 종류에 따른 효과) 및 9b(실시예 5군 및 6군; 심장 부위에 따른 효과)에 나타내었다.

[0223] 도 9a에 도시된 바와 같이, 대조군(CORT+VEH)의 총 움직인 거리 및 중앙에 머무르는 시간은 정상군(SHAM)에 비해 유의하게 감소하였다. 반면, 실시예 투여군의 총 움직인 거리 및 중앙에 머무르는 시간은 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, 특히 실시예 2군(CORT+Neu) 및 3군(CORT+Pro)의 총 움직인 거리 및 중앙에 머무르는 시간은 정상군과 유사한 수준으로 회복되었다.

[0224] 또한, 도 9b에 도시된 바와 같이, 대조군(V+C)의 총 움직인 거리 및 중앙에 머무르는 시간은 CORT를 투여하지 않은 정상군(V+V)에 비해 유의적으로($p<0.01$, $p<0.05$) 감소하였다. 반면, 실시예 5군(SS) 내지 6군(SB)의 총 움직인 거리 및 중앙에 머무르는 시간은 대조군에 비해 유의적으로 증가하여 정상군과 유사한 수준으로 회복되었다.

[0225] 따라서, 본 발명에 따른 참치심장 가수분해물이 불안장애를 개선 또는 완화하는 효능을 보이는 것으로 확인되었다.

[0227] **4-2: 고가식 십자 미로 실험(elevated plus maze test)**

[0228] CORT 투여로 인한 우울, 불안, 긴장 또는 스트레스 유도 동물모델을 이용하여, 고가식 십자 미로 시험 통해 실시예의 참치심장 가수분해물이 어떠한 항불안 효능을 나타내는지를 확인하고자 하였다.

[0229] 고가식 십자 미로 장치는 공통의 중앙 플랫폼(5x5cm)으로부터 확장된 두 개의 열린 통로(open arm) (30x5 cm) 및 두 개의 닫힌 통로(closed arm) (5x30 cm, 벽은 15 cm 높이)로 구성되었다. 상기 구조는 대응되는 가지가 서로 마주보도록 배열된 더하기-기호(plus-sign)의 모양으로 형성되었다. 상기 장치는 지면(floor level) 위로 50 cm 올라와 있다.

[0230] 상기 고가식 십자 미로 장치에 상기 각각의 시험군에 속하는 마우스를 넣고 마우스당 5분씩 관찰하였다. 각 마우스는 개별적으로 개방 범위의 중앙에 위치하도록 하였으며, 각 열린 통로 및 닫힌 통로에 머무른 시간을 측정하였다. 행동관찰 영상은 비디오카메라를 이용하여 촬영한 후 비디오 추적 소프트웨어(video tracking software; Smart 3.0, Panlab, Spain)를 이용한 비디오 파일 분석을 통해 매초 단위로 마우스가 머무른 시간을 측정하고, 그 결과를 도 10a(실시예 1군 내지 4군; 효소 종류에 따른 효과) 및 10b(실시예 5군 및 6군; 심장 부위에 따른 효과)에 나타내었다.

[0231] 도 10a 및 도 10b에 도시된 바와 같이, 대조군(CORT+VEH, V+C)의 열린 통로에 머무른 시간(Time in open arm)은 정상군(SHAM, V+V)에 비해 유의하게 감소하였다. 반면, 실시예 투여군의 열린 통로에 머무른 시간은 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, 특히 실시예 2군(CORT+Neu)은 정상군과 거의 유사한 수준으로 회복되었다.

[0232] 또한, 대조군(CORT+VEH, V+C)의 닫힌 통로에 머무른 시간(Time in closed arm)은 정상군(SHAM, V+V)에 비해 유의하게 증가하였다. 반면, 실시예 투여군의 닫힌 통로에 머무른 시간은 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며, 특히 실시예 2군(CORT+Neu) 및 3군(CORT+Pro)은 정상군과 거의 유사한 수준으로 회복되었다.

[0233] 따라서, 본 발명에 따른 참치심장 가수분해물이 불안장애를 개선 또는 완화하는 효능을 보이는 것으로 확인되었다.

[0235] 상기한 결과들은 본 발명의 참치심장 가수분해물이 코르티코스테론(CORT)으로 유도된 우울, 불안, 긴장 또는 스트레스 유도 동물모델에서 나타나는 우울증 및 불안증 행동양상을 개선 또는 치료할 수 있음을 나타낸다. 또한, 본 발명의 참치심장 가수분해물이 스트레스로 인한 긴장을 완화하는데 도움을 줄 수 있음을 나타낸다.

[0237] 하기에 본 발명의 참치심장 가수분해물을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0239] 제제예 1. 산제의 제조

[0240] 실시예 1 내지 6에서 얻은 참치심장 가수분해물 분말 500 mg

[0241] 유당 100 mg

[0242] 탈크 10 mg

[0243] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

[0245] 제제예 2. 정제의 제조

[0246] 실시예 1 내지 6에서 얻은 참치심장 가수분해물 분말 500 mg

[0247] 옥수수전분 100 mg

[0248] 유당 100 mg

[0249] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0250] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0252] 제제예 3. 캅셀제의 제조

[0253] 실시예 1 내지 6에서 얻은 참치심장 가수분해물 분말 500 mg

[0254] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0255] 락토오스 14.8 mg

[0256] 스테아린산 마그네슘 0.2 mg

[0257] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0259] 제제예 4. 주사제의 제조

[0260] 실시예 1 내지 6에서 얻은 참치심장 가수분해물 분말 500 mg

[0261] 만니톨 180 mg

[0262] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0263] $Na_2HPO_4,12H_2O$ 26 mg

[0264] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플 당 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0266] 제제예 5. 액제의 제조

[0267] 실시예 1 내지 6에서 얻은 참치심장 가수분해물 분말 4 g

[0268] 이성화당 10 g

[0269] 만니톨 5 g

[0270] 정제수 적량

[0271] 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 충진하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0273] 제제예 6. 과립제의 제조

[0274] 실시예 1 내지 6에서 얻은 참치심장 가수분해물 분말 1,000 mg

[0275] 비타민 혼합물 적량

[0276] 비타민 A 아세테이트 70 ㎍

[0277] 비타민 E 1.0 mg

[0278] 비타민 B1 0.13 mg

[0279] 비타민 B2 0.15 mg

[0280] 비타민 B6 0.5 mg

[0281] 비타민 B12 0.2 ㎍

[0282] 비타민 C 10 mg

[0283] 비오틴 10 ㎍

[0284] 니코틴산아미드 1.7 mg

[0285] 엽산 50 ㎍

[0286] 판토텐산 칼슘 0.5 mg

[0287] 무기질 혼합물 적량

[0288] 황산제1철 1.75 mg

[0289] 산화아연 0.82 mg

[0290] 탄산마그네슘 25.3 mg

[0291] 제1인산칼륨 15 mg

[0292] 제2인산칼슘 55 mg

[0293] 구연산칼륨 90 mg

[0294] 탄산칼슘 100 mg

[0295] 염화마그네슘 24.8 mg

[0296] 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.

[0298] 제제예 7. 기능성 음료의 제조

[0299] 실시예 1 내지 6에서 얻은 참치심장 가수분해물 분말 1,000 mg

[0300] 구연산 1,000 mg

[0301] 올리고당 100 g

[0302] 매실농축액 2 g

[0303] 타우린 1 g

[0304] 정제수를 가하여 전체 900 mL

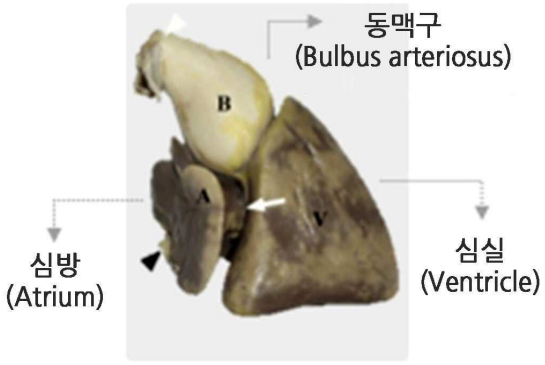
[0305] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.

[0306] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0308] 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



참치 심장의 구조

도면2



원료 세척
참치 심장
(동맥구 혹은 심실)
제거 후 세척
,냉동

분쇄
블렌더를 이용하여
다짐육 정도로 분쇄

효소 첨가
원료대비
1.5배 증류수
05% 단백질 분해효소 첨가

가수분해
50~60℃, 4h,
100rpm

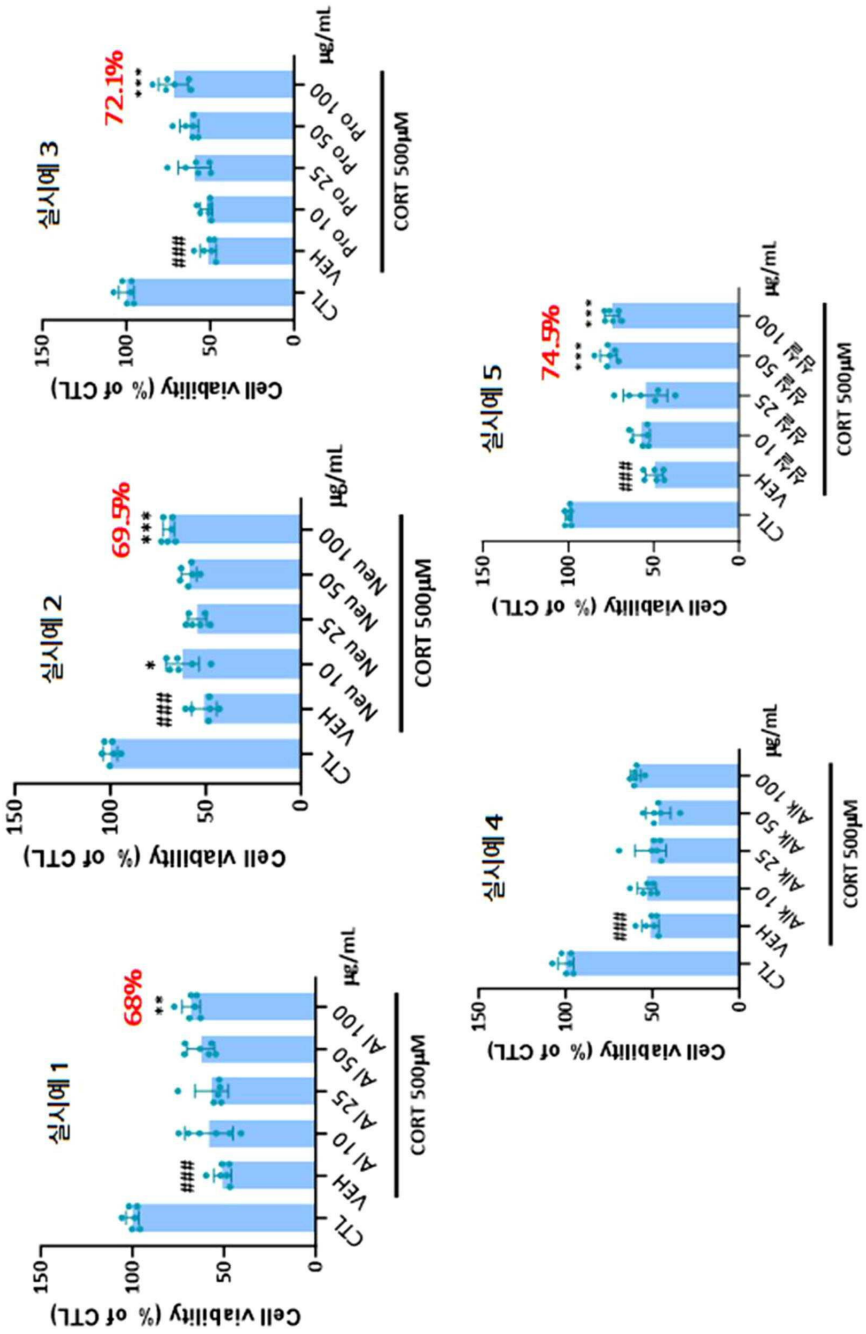
효소 실활
85℃, 10 min

원심분리
4℃, 10 min,
9,000 rpm

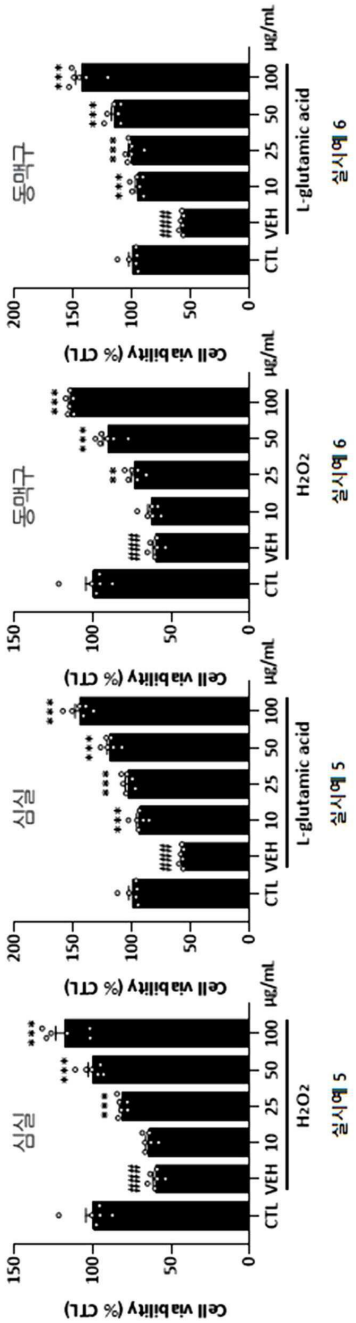
감압농축
50℃ 조건
(농축 후 25~30 birx)

동결건조

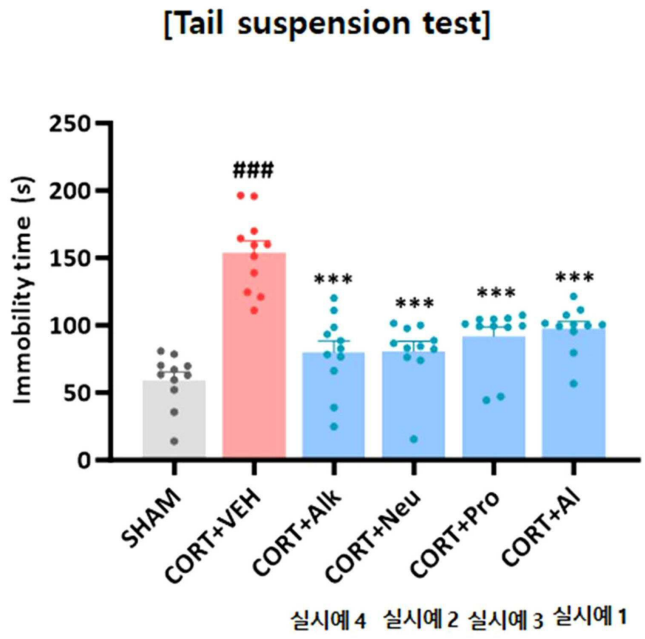
도면3a


실시예 1
실시예 2
실시예 3
실시예 4
실시예 5
Cell viability (% of CTL)
CTL
VEH
CORT 500μM
μg/mL
68%
69.5%
72.1%
74.5%
###
*
**
***

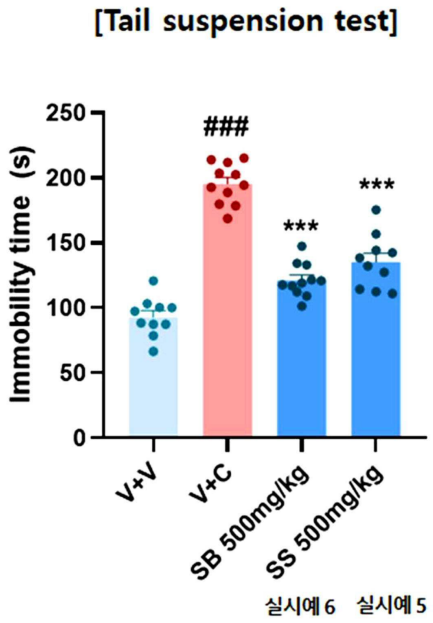
도면3b


심실
동맥구
심실
동맥구
Cell viability (% CTL)
CTL VEH 10 25 50 100 μg/mL
H2O2
L-glutamic acid
실시예 5
실시예 6

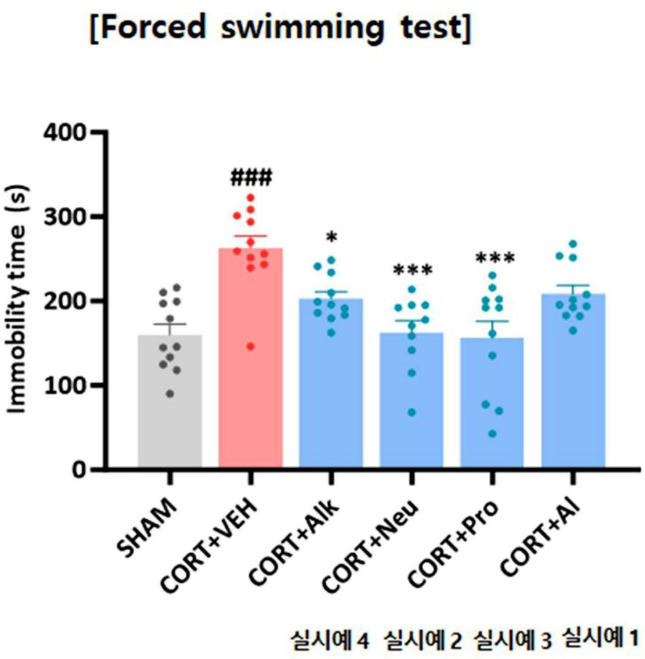
도면4a


[Tail suspension test]
Immobility time (s)
250
200
150
100
50
0
###
***
***
***
***
SHAM
CORT+VEH
CORT+Alk
CORT+Neu
CORT+Pro
CORT+Al
실시예 4
실시예 2
실시예 3
실시예 1

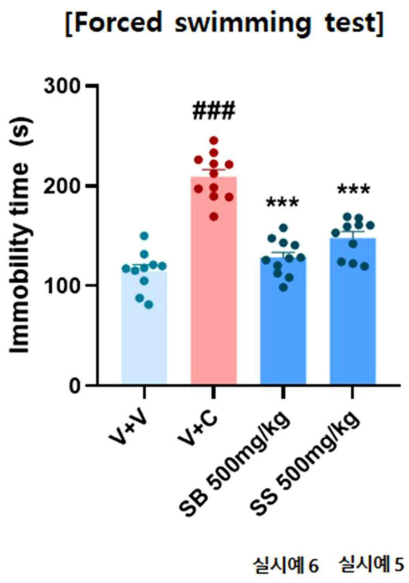
도면4b


[Tail suspension test]
Immobility time (s)
250
200
150
100
50
0
###
***
***
V+V
V+C
SB 500mg/kg
SS 500mg/kg
실시예 6
실시예 5

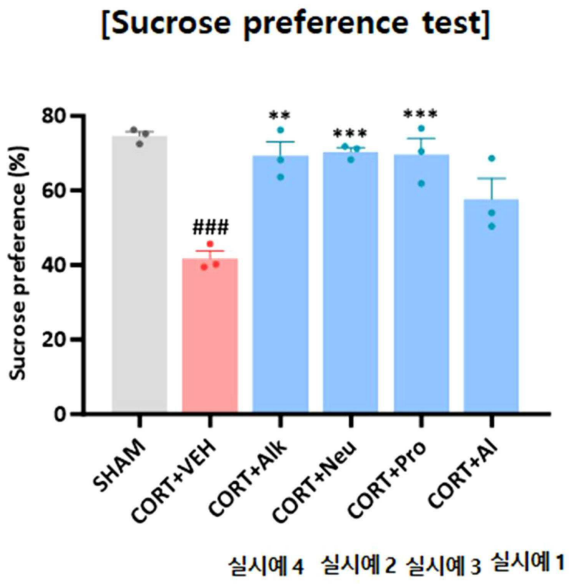
도면5a


[Forced swimming test]
Immobility time (s)
400
300
200
100
0
###
*
***
***
SHAM
CORT+VEH
CORT+Alk
CORT+Neu
CORT+Pro
CORT+Al
실시예 4
실시예 2
실시예 3
실시예 1

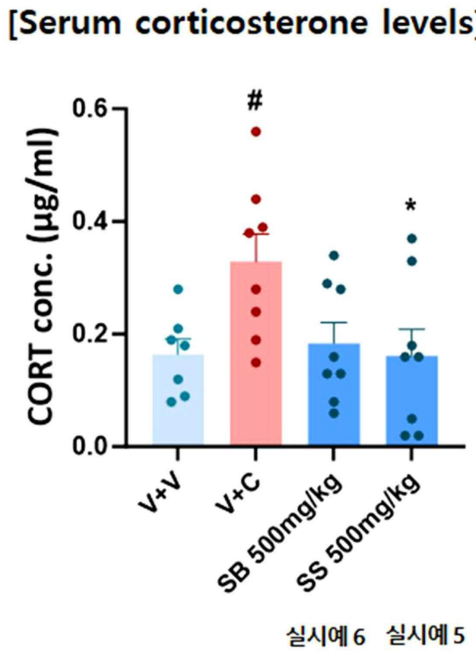
도면5b


[Forced swimming test]
Immobility time (s)
300
200
100
0
###
***
***
V+V
V+C
SB 500mg/kg
SS 500mg/kg
실시예 6
실시예 5

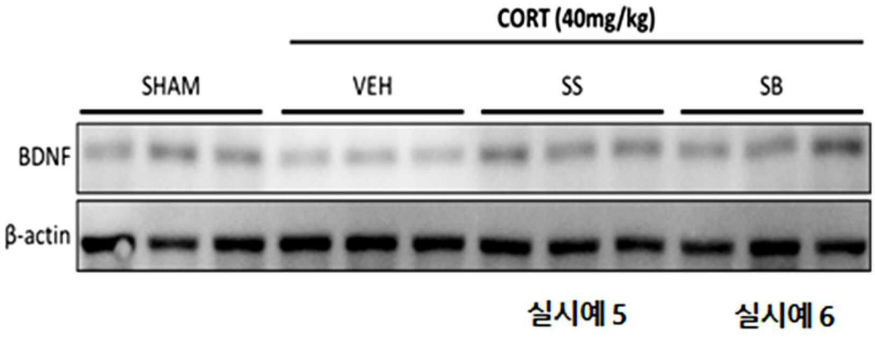
도면6


[Sucrose preference test]
Sucrose preference (%)
80
60
40
20
0
**
***
***
###
SHAM
CORT+VEH
CORT+Alk
CORT+Neu
CORT+Pro
CORT+Al
실시예 4
실시예 2
실시예 3
실시예 1

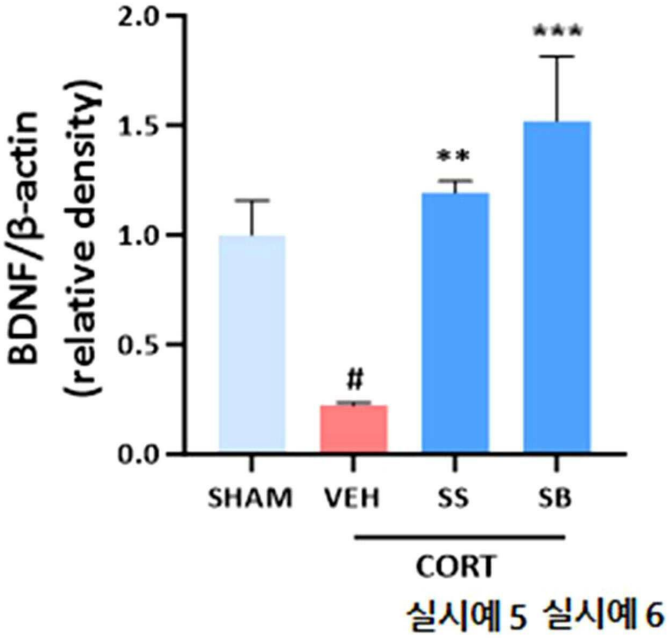
도면7


[Serum corticosterone levels]
CORT conc. (μg/ml)
0.6
0.4
0.2
0.0
#
*
V+V
V+C
SB 500mg/kg
SS 500mg/kg
실시예 6
실시예 5

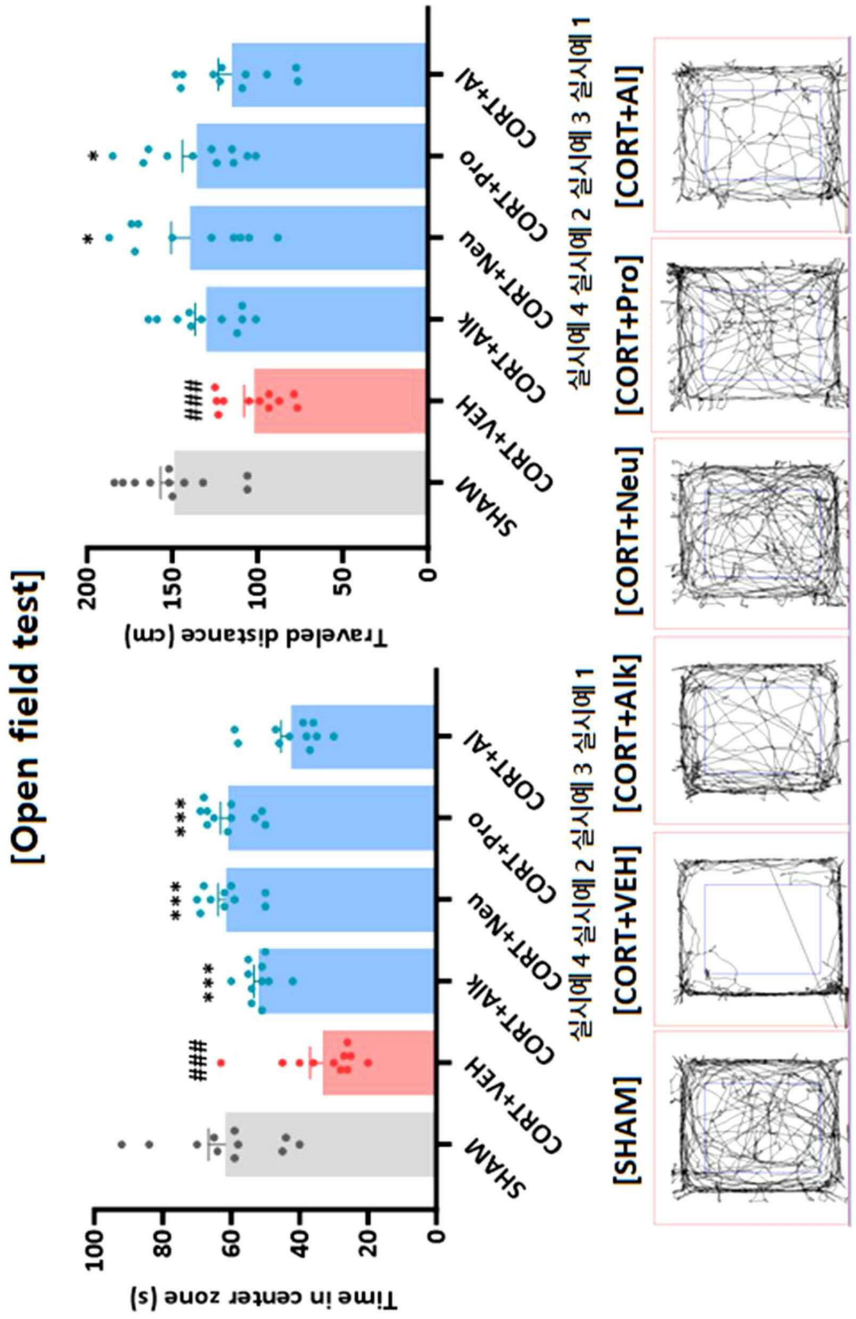
도면8a


CORT (40mg/kg)
SHAM
VEH
SS
SB
BDNF
β-actin
실시예 5
실시예 6

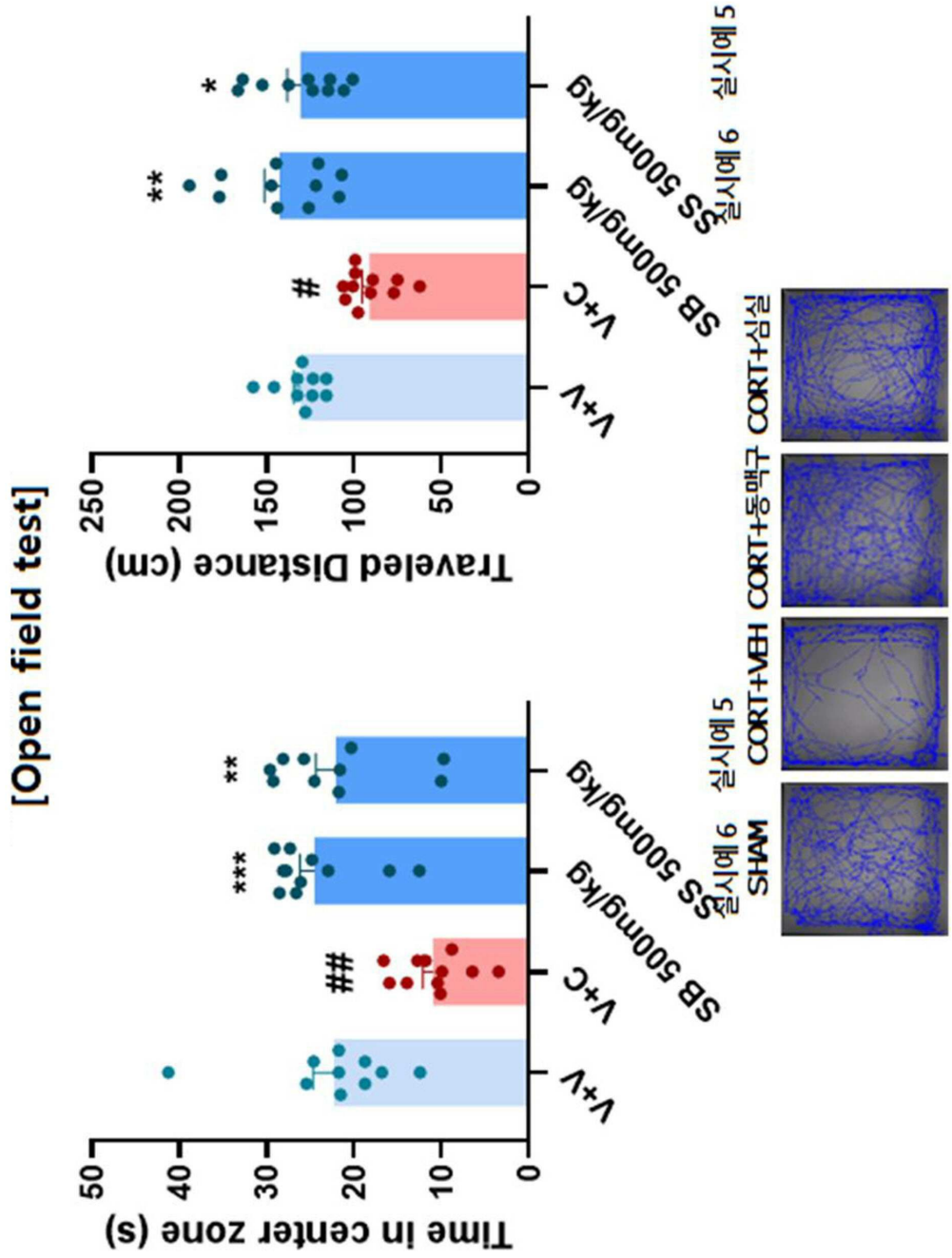
도면8b


BDNF/β-actin
(relative density)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
#
**
***
SHAM
VEH
SS
SB
CORT
실시예 5
실시예 6

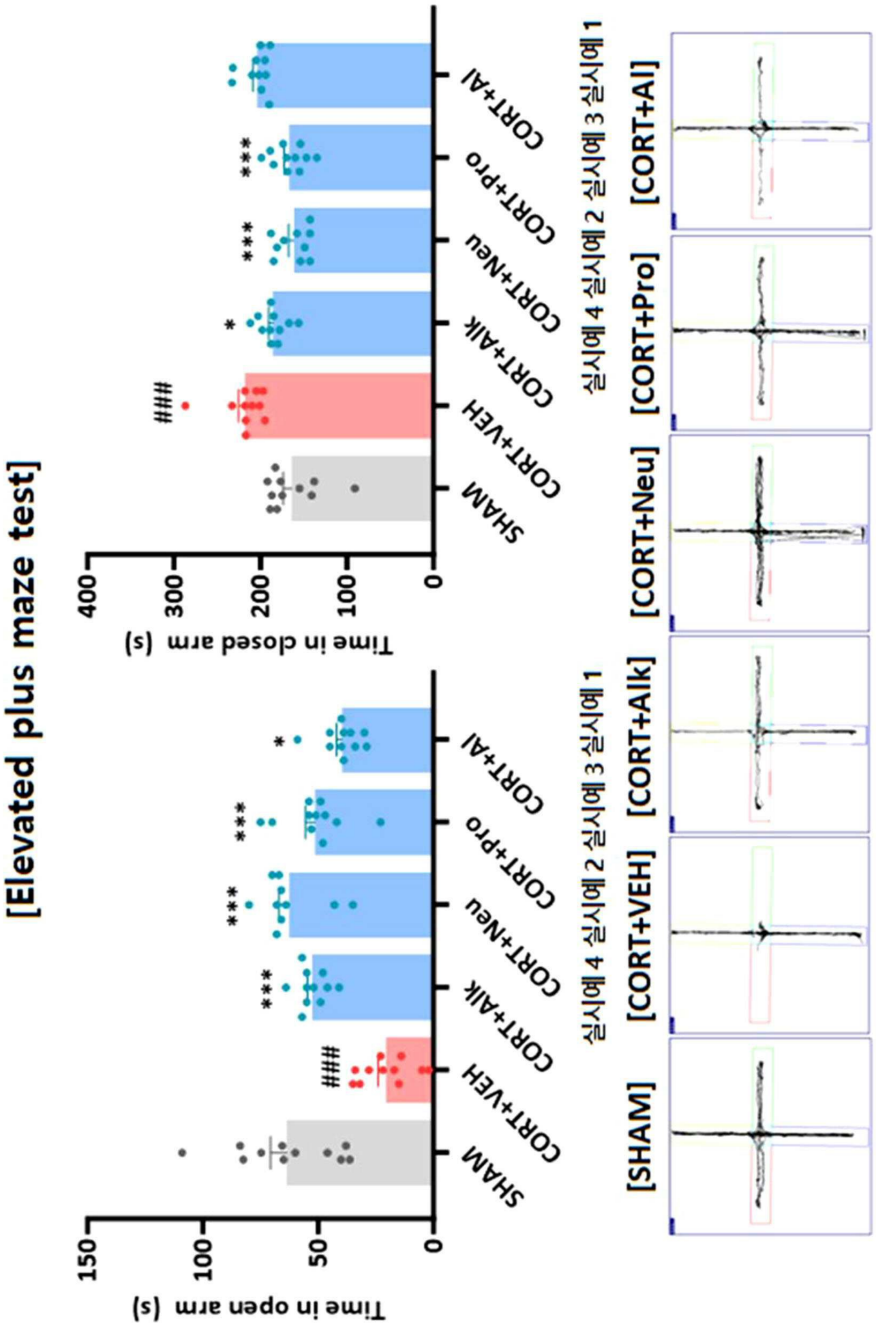
도면9a


[Open field test]
Time in center zone (s)
Traveled distance (cm)
SHAM
CORT+VEH
CORT+Alk
CORT+Neu
CORT+Pro
CORT+Al
실시예 4 실시예 2 실시예 3 실시예 1
[SHAM]
[CORT+VEH]
[CORT+Alk]
[CORT+Neu]
[CORT+Pro]
[CORT+Al]

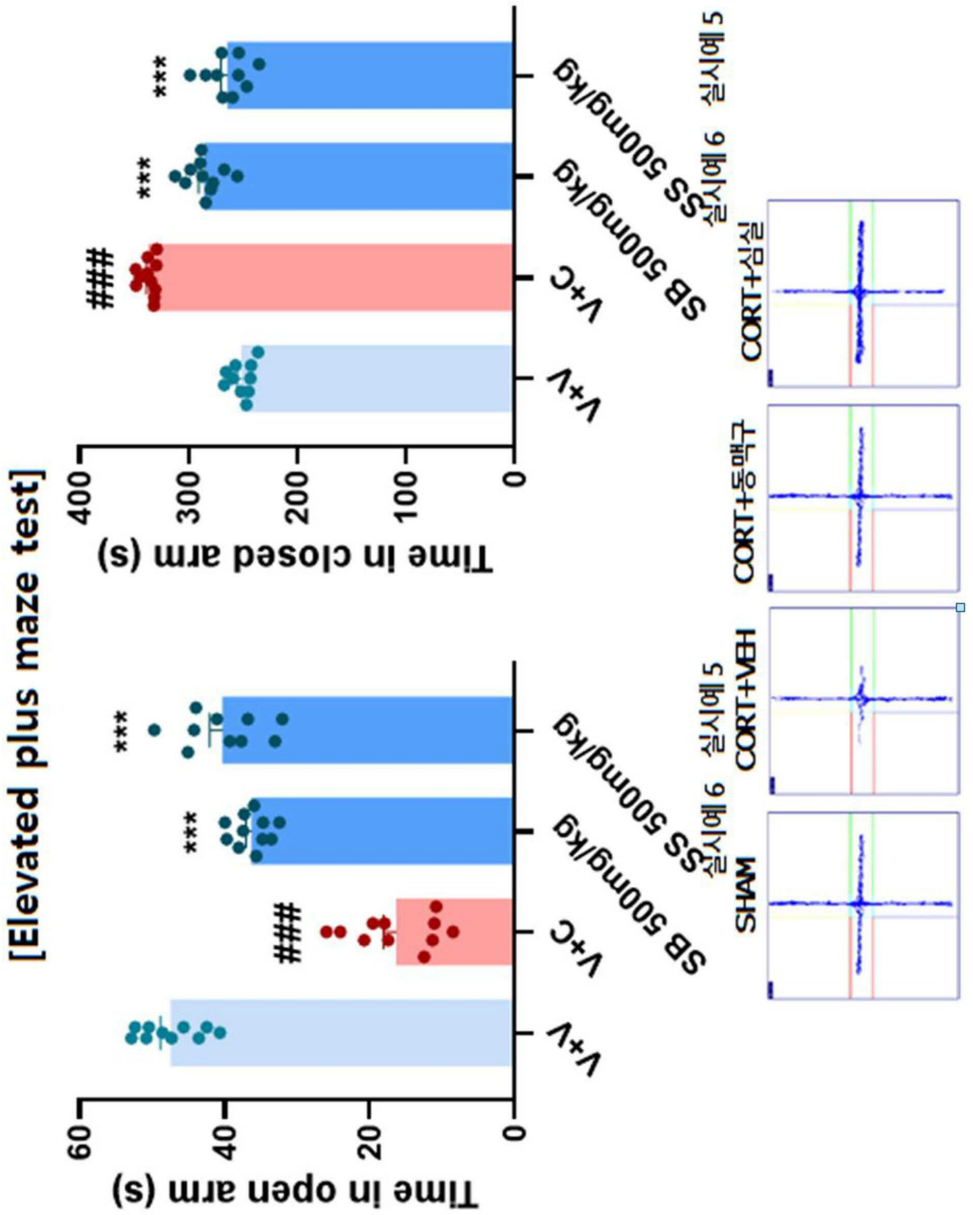
도면9b


[Open field test]
Time in center zone (s)
Traveled Distance (cm)
V+V
V+C
SB 500mg/kg
SS 500mg/kg
실시예 5
실시예 6
SHAM
CORT+VEH
CORT+동맥구
CORT+심실

도면10a


[Elevated plus maze test]
Time in open arm (s)
Time in closed arm (s)
SHAM
CORT+VEH
CORT+Alk
CORT+Neu
CORT+Pro
CORT+Al
###
실시예 4 실시예 2 실시예 3 실시예 1
[SHAM]
[CORT+VEH]
[CORT+Alk]
[CORT+Neu]
[CORT+Pro]
[CORT+Al]

도면10b


[Elevated plus maze test]
Time in open arm (s)
Time in closed arm (s)
V+V
V+C
SB 500mg/kg
SS 500mg/kg
###
***
SHAM
실시예 6
CORT+VEH
실시예 5
CORT+동맥구
CORT+심실