(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0109332
(43) 공개일자 2014년09월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 36/238* (2006.01) *A61K 36/23* (2006.01)
*A61P 25/28* (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0025710
(22) 출원일자 2014년03월04일
심사청구일자 2014년03월04일
(30) 우선권주장
1020130022625 2013년03월04일 대한민국(KR)

(71) 출원인
**경희대학교 산학협력단**
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
(72) 발명자
**조성훈**
서울 송파구 도곡로62길 11-14, (잠실동)
**이영혁**
서울특별시 동대문구 회기로16길 5-10
**최민지**
서울 성북구 종암로24길 35, 201동 603호 (종암동, 종암2차SK뷰아파트)
(74) 대리인
**이원희**

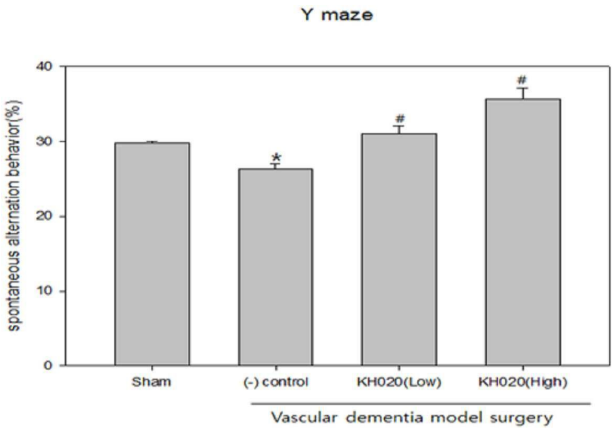
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지기능 장애의 예방 또는 치료용 조성물**

## (57) 요 약

본 발명은 갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지기능 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 및 인지기능 장애의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명의 갯기름나물 추출물을 포함하는 조성물은 학습능력을 향상시키고 기억력 및 인지기능을 증진시키는 효능을 가지며 인체에 부작용을 발생시키지 않으므로, 치매를 비롯한 다양한 인지장애를 예방, 치료 또는 개선하기 위한 의약품 또는 건강기능식품에 적용하여 이용할 수 있다.

*대 표 도* - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

| | |
|---|---|
| 과제고유번호 | 2011-0006220 |
| 부처명 | 교육과학기술부 |
| 연구사업명 | 선도연구센터, 기초의과학분야 |
| 연구과제명 | 항암효능 한방소재개발 |
| 기 여 율 | 1/1 |
| 주관기관 | 경희대학교 암예방소재개발 센터 |
| 연구기간 | 2009.03.01 ~ 2012.02.29 |

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는, 인지기능 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것인 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 알코올은 에탄올인 것인 조성물.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 인지기능 장애는 건망증, 알츠하이머병, 치매, 파킨슨병인 것인 조성물.

### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 치매는 혈관성 치매인 것인 조성물.

### 청구항 6

갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는, 인지기능 장애의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

## 명 세 서

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지기능 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 및 인지기능 장애의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 다양한 뇌질환 중에서도 치매(dementia)는 가장 광범위한 세포 손상을 유발하는 질환으로 퇴행성 정신장애를 동반하며, 특히 기억력 장애, 판단력 상실 등의 주요 증상이 잘 알려져 있으며, 환자 본인에게는 물론 가족 및 사회에도 막대용 비용을 초래하는 질환이다.

[0003] 치매는 크게 뇌혈관의 협착이나 폐색으로 생기는 혈관성 치매와 베타아밀로이드 단백질이 뇌 내에 축적되어 발병하는 것으로 알려진 알츠하이머성 치매, 그리고 이들 두 가지 원인이 복합적으로 작용하여 생기는 혼합형 치매로 나눌 수 있다. 그 중에서 가장 많은 비율을 차지하는 치매 유형은 알츠하이머성 치매이며, 혈관성 치매 환자가 그 다음을 차지한다. 그러나, 알츠하이머성 치매 환자의 40%에서 혈관성 치매의 특성을 보이는 환자가 보고되고 있으므로 혈관성 치매의 심각성은 매우 크다고 할 수 있다. 특히 알츠하이머성 치매로 사망한 환자의 사후검시과정에서 혈관성 치매의 징후를 보이는 뇌조직 이상이 발견된다는 점은 의미하는 바가 크다.

[0004] 혈관성 치매는 허혈이나 혈전으로 발생하는 뇌혈관 질환에서 기인하거나 심혈관질환이나 순환계의 혈류방해로 발생하는 뇌 손상이 기억, 인지, 행동에 직접적으로 관장하는 부위인 경우 발병하게 된다. 따라서 증상으로 구분하자면 인지적 기능의 손상을 명시하며, 특히 일상생활유지에 직접적인 방해를 받는 경우 더욱 문제가 된다.

혈관성 치매는 뇌 혈류를 감소시키는 여러 원인들에 의하여 뇌조직 손상이 유발되고, 결과적으로 인지기능의 장애가 동반되는 증후군으로서 대표적인 뇌 질환 중 하나이다. 인성의 황폐화가 일어나므로 가족들은 물론 사회적으로 유발되는 비용이 상당하게 되며, 환자 개인적으로는 행동이상, 인격변화를 초래하여 정서적 기능상실과 사회적 또는 직업적 기능의 장애로 독립된 사회인으로서의 역할 및 지위를 잃어버리게 만든다. 혈관성 치매를 유발하는 원인은 혈전, 저산소증, 혈관병변 등의 뇌혈관 질환으로 고혈압, 죽상 경화증, 당뇨병, 흡연, 알코올 중독 등의 위험인자가 병인으로 주요하게 작용하는 것으로 알려져 있다. 혈관성 치매는 복잡한 진단기준, 단일 질환이라기보다 서로 연관성이 없어 보이는 이질적인 증후들의 집합 양상, 병력의 다양성, 위험인자들의 복잡성의 이유로 연구수행을 명확하게 하기 어려운 점이 있어, 현재까지 그 연구 성과가 답보상태에 놓여 있다.

[0005] 현재까지 치매의 원인과 병인론 그리고 그 치료법에 대한 광범위하고 다양한 연구가 진행되었지만, 원인규명이 미비하고 효과적인 치료법의 개발 또한 미진하다는 평가들이 다수이다. 현재 사용되는 치매 치료제는 대부분 퇴행성 치매의 증상을 완화시키는 정신퇴행 완화 물질에 불과하며, 이들 중 대부분은 소염작용을 주로 하는 약물로 간독성과 소화기관의 점막을 손상시키는 등 부작용이 상당하며, 궁극적인 원인치료 라기보다는 대증적인 요법에 국한되어 있다는 한계가 있다. 또한, 이러한 약물들은 치매의 치료를 가능하게 해주는 약물이 아닌 그 진행이나 증세를 일시적으로 경감시켜 주는 것에 불과하다. 더욱이 신경세포의 사멸이 진행될수록 약물의 효과는 저하되며, 중증 치매의 경우 그 효과는 더욱 미약하다.

[0006] 한편, 식물을 이용한 새로운 특용작물 발굴 노력에 힘입어 그 생산량은 해마다 증가하고 있으나, 현재로써는 착유 공정 등 단순 가공처리만을 거쳐 일반 첨가 소재로 사용하고 있거나, 일부 한방 의약품에 추출물 형태로 첨가되고 있어 그 활용도가 낮은 실정이다. 그러나 약용 식물에는 치매를 포함한 다양한 인지기능 장애의 예방 활성이 있을 것이라고 기대되는 활성물질의 존재 가능성이 높고 한방에서는 예로부터 수종의 식물을 상기 질환의 예방 등에 사용해 오고 있어, 이를 건강기능식품의 소재로 개발할 경우 식물의 부가가치가 증가될 것으로 사료된다. 따라서, 다양한 식물로부터 치매 등의 예방 또는 개선을 위한 식품선도소재를 탐색하고 동물실험에서 효과를 검증한 다음 기능성 식품으로 응용할 수 있는 기술을 개발함으로써, 건강기능식품 개발에 이르는 체계적인 연구의 수행이 필요하다.

[0007] 이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 인지기능 장애, 구체적으로는 치매의 예방, 개선 또는 치료 효과를 나타내면서 부작용이 적고 인체에 무해한 천연물을 찾고자 예의 노력한 결과, 갯기름나물의 추출물이 치매 유발 동물모델에서 인지력의 증가를 가져와 치매를 포함한 인지기능 장애에 대한 효능이 있음을 확인하고, 이를 이용하여 약제 또는 건강기능식품에 적용할 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

## *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

[0008] 본 발명의 하나의 목적은 갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지기능 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지기능 장애의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

### *과제의 해결 수단*

[0010] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지기능 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명에서 사용되는 용어 "갯기름나물(*Peucedanum japonicum* Thunberg)"은, 산형과에 속하는 다년생 초본으로서, 세계적으로는 일본, 대만, 중국, 필리핀 등 동아시아의 해변에 자생하고, 우리나라에서는 대개 제주도

해안, 서해안의 강하언구나 바닷가 습지에 자생하는 식물이다. 상기 갯기름나물은 미역방풍, 목단방풍, 산방풍, 목방풍, 식방풍이라고 부르기도 하며, 상기 방풍이란 바람을 막는다는 뜻으로 풍병을 치료하는 데 있어서 가장 중요한 약재라는 뜻이다.

[0012] 본 발명에서 상기 식방풍은 갯기름나물과 혼용되어 사용될 수 있으며, 식방풍은 해열, 진통 등의 효능이 알려져 있으며, 그 구성성분으로는 휘발성 정유, 만니톨(mannitol), 고미배당체, 유기산(organic acid) 등이 알려져 있다. 식방풍의 어린 순은 나물 등의 식용으로 사용되며, 뿌리는 갯방풍(Glehnia littoralis Fr. Schm.)과 함께 한약재의 방풍대용으로 이용하는 약용식물의 하나이다.

[0013] 갯기름나물에서 분리된 쿠마린(coumarin) 계의 물질들은 항경련, 항알레르기 효과나 항혈소판 활성 등의 약리활성이 있다고 보고되어 있다. 또한, 갯기름나물의 잎으로부터 루틴(Rutin), 네오클로로게닉산(Neochlorogenic acid), 크립토클로로겐산(Cryptochlorogenic acid), 클로로겐산(Chlorogenic acid) 등이 동정되어 보고되었는데, 이들은 항산화 활성을 나타내는 성분들로 알려져 있다.

[0014] 이 밖에도, 갯기름나물과 관련하여, 부종억제효과, 혈관이완효과, 당뇨치료효과 등 다양한 효과들이 연구되고 있으나, 아직까지 치매 등 인지기능 장애와 관련된 질환에 대한 효과가 보고된 바는 없었다. 이에 본 발명자들은 본 발명을 통하여 본 발명의 갯기름나물 추출물이 인지기능 장애의 개선 효과가 있음을 밝힌 것이다.

[0015] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물"은, 생약을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다.

[0016] 본 발명의 추출물은 추출용매로 추출하거나 추출용매로 추출하여 제조한 추출물에 분획용매를 가하여 분획함으로써 제조할 수 있다. 상기 추출용매는 이에 제한되지는 않으나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매 등을 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올이나, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매, 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 또한, 바람직하게는 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 상기 용매로서 물을 이용한 추출물 및 물과 에탄올의 혼합용매를 이용한 추출물을 제조하였다.

[0017] 상기 갯기름나물 추출물은 당업계에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있으며, 구체적으로 추출의 방법은 이에 제한되지는 않으나, 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 온침 추출, 가압 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법 등을 사용할 수 있다. 또한, 상기 추출 방법으로 제조한 추출물 즉, 조추출액에 분획용매를 가한 후, 예컨대 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 순서로 용매를 가한 후에 층분리한 각각의 분획물을 수득하는 방법을 수행할 수도 있다.

[0018] 또한, 상기 추출물은 추출 또는 분획 과정을 수행한 이후, 감압 여과 과정을 수행하거나 추가로 농축 및/또는 동결건조를 수행하여 농축하거나 용매를 제거할 수 있으며, 상기 수득한 갯기름나물 추출물은 사용 시까지 급속 냉동 냉장고에 보관할 수 있다.

[0019] 본 발명에서 사용되는 용어 "인지기능"은 지식과 정보를 효율적으로 조작하는 능력으로서, 본 발명의 목적상 인지기능 장애는 상기와 같은 인지기능이 저하되어 생기는 상태, 그에 따른 질환, 그를 증상으로 하는 모든 질환을 포함할 수 있는 개념으로써, 바람직하게는 뇌 신경세포의 손상으로 발생하는 장애를 의미할 수 있다. 본 발명의 인지기능 장애에는 건망증, 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 치매, 또는 파킨슨병(Parkinson's disease) 등이 포함될 수 있으며, 바람직하게는 치매일 수 있으며, 보다 바람직하게는 혈관성 치매일 수 있다.

[0020] 본 발명에서 사용되는 용어 "치매(dementia)"는, 후천적으로 기억, 언어, 판단력 등의 여러 영역의 인지 기능이 감소하여 일상 생활을 제대로 수행하지 못하는 임상 증후군을 의미하며, 다양한 원인에 의하여 뇌기능이 손상되면서 이전에 비해 인지 기능이 지속적으로 전반적으로 저하되어 일상생활에 상당한 지장이 나타날 수 있다. 상기 치매의 원인 질환은 세분화할 경우 70여 가지에 이르나, 다양한 치매 원인 질환 중 알츠하이머병이라 불리는 노인성 치매 및 중풍 등으로 인해 생기는 혈관성 치매가 주요 종류이며, 이 밖에도 루이체 치매, 전측두엽 퇴행, 파킨슨병 등의 퇴행성 뇌질환들과 정상압 뇌수두증, 두부 외상, 뇌종양, 대사성 질환, 결핍성 질환, 중독성 질환, 감염성 질환 등 다양한 원인 질환에 의해 치매가 발생할 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 실시예에서는 일반적으로 혈관성 치매의 동물모델로 활용하고 있는 양측 총경동맥을 결찰하여 만

성 뇌혈류 감소가 유발된 마우스를 이용하여, 갯기름나물의 효능을 확인하고자 하였으며, 그 결과 갯기름나물이 상기 동물모델에서 인지력을 증가시키고(도 1), 학습 및 기억력을 증가시킴을 확인함으로써(도 2), 갯기름나물 추출물이 치매를 포함한 인지기능 장애의 예방 또는 치료 등에 효과적으로 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0022] 또한, 추가적으로 상기 동물모델의 해마 및 전전두엽에서의 GFAP 및 NeuN 단백질 발현량을 확인하였으며, 본 발명의 갯기름나물이 GFAP 발현량을 감소시키고(도 3 및 4), NeuN 발현량을 증가시킴을 확인함으로써(도 5 및 6), 그에 따라 갯기름나물이 전반적인 기억 및 학습 능력, 인지장애 등에 대하여 효과적인 작용을 할 수 있음을 확인하였다.

[0023] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"은, 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여에 의해 인지기능 장애의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 상기 약학 조성물의 투여에 의해 인지기능 장애의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0024] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 발명의 용어 "약학적으로 허용가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 생리식염수, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 덱스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜 및 리퀴드 파라핀으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용가능하다. 상기 성분들은 상기 유효성분인 갯기름나물 추출물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.

[0025] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제로는 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. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[0027] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 그 투여용량에 특별한 제약은 없고, 체내 흡수도, 체중, 환자의 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 유효량 범위를 고려하여 제조하도록 하며, 이렇게 제형화된 단위 투여형 제제는 필요에 따라 약제의 투여를 감시하거나 관찰하는 전문가의 판단과 개인의 요구에 따라 전문화된 투약법을 사용하거나 일정 시간 간격으로 수회 투여할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 약학 조성물은 갯기름나물 추출물의 양을 기준으로 1일 0.0001 내지 1000mg/kg으로, 보다 바람직하게는 0.01 내지 100mg/kg으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.

[0028] 따라서, 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 인지기능 장애의 치료 방법을 제공할 수 있다.

[0029] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는, 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내

투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 용어 "개체"는, 인지기능 장애가 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미한다.

[0030] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 갯기름나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지기능 장애의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0031] 본 발명의 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 갯기름나물 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상의 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있으며, 본 발명의 조성물은 친환경적이며 안정성 면에서 문제가 없기 때문에 혼합량에 큰 제한은 없다.

[0032] 본 발명의 용어 "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말하며, 상기 성분에 의해 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 방지와 회복 등 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수 있도록 설계되고 가공된 식품을 말하는 것으로서, 상기 건강식품용 조성물은 질병의 예방 및 질병의 회복 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다. 상기 건강기능식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 건강기능식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0033] 본 발명의 건강기능식품은 갯기름나물 추출물을 포함하여 인지기능 장애의 예방 또는 개선 효과를 달성할 수 있는 한, 모든 종류의 식품을 모두 포괄할 수 있는 개념이다. 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품(예: 조제유류, 영,유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예: 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예:스낵류), 유가공품(예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예: 과실, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 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 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0035] 또한, 인지기능 장애의 예방 또는 개선의 효과를 목적으로 하는 건강기능식품에 있어서, 유효성분인 갯기름나물 추출물의 함유량은 제한이 없으나, 상기 갯기름나물 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 포함될 수 있으며, 음료 조성물의 경우 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1g의 비율로 포함될 수 있다.

## *발명의 효과*

[0036] 본 발명의 갯기름나물 추출물을 포함하는 조성물은 학습능력을 향상시키고 기억력 및 인지기능을 증진시키는 효능을 가지며 인체에 부작용을 발생시키지 않으므로, 치매를 비롯한 다양한 인지장애를 예방, 치료 또는 개선하기 위한 의약품 또는 건강기능식품에 적용하여 이용할 수 있다.

## *도면의 간단한 설명*

[0037] 도 1은 총경동맥 결찰을 통한 치매 유발 동물모델에서 Y자형 미로 검사를 수행하여 변경 행동력을 측정한 결과이다. sham, 치매를 유발하지 않은 군; (-)control, 치매를 유발한 후 증류수를 투여한 군; KH020(low), 치매를 유발한 후 1일당 100mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군; KH020(high), 치매를 유발한 후 1일당 400mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군. * $p<0.05$ sham과 비교; # $p<0.05$ (-)control과 비교.

도 2는 총경동맥 결찰을 통한 치매 유발 동물모델에서 수동 회피 검사를 수행하여 학습 및 기억력을 측정한 결과이다. sham, 치매를 유발하지 않은 군; (-)control, 치매를 유발한 후 증류수를 투여한 군; KH020(low), 치매

를 유발한 후 1일당 100mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군; KH020(high), 치매를 유발한 후 1일당 400mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군.

도 3은 해마에서의 GFAP 단백질 발현량을 측정한 결과이다. 치매를 유발하지 않은 군; (-)control, 치매를 유발한 후 증류수를 투여한 군; KH020(low), 치매를 유발한 후 1일당 100mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군; KH020(high), 치매를 유발한 후 1일당 400mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군.

도 4는 전전두엽에서의 GFAP 단백질 발현량을 측정한 결과이다. 치매를 유발하지 않은 군; (-)control, 치매를 유발한 후 증류수를 투여한 군; KH020(low), 치매를 유발한 후 1일당 100mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군; KH020(high), 치매를 유발한 후 1일당 400mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군.

도 5는 해마에서의 NeuN 단백질 발현량을 측정한 결과이다. 치매를 유발하지 않은 군; (-)control, 치매를 유발한 후 증류수를 투여한 군; KH020(low), 치매를 유발한 후 1일당 100mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군; KH020(high), 치매를 유발한 후 1일당 400mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군.

도 6은 전전두엽에서의 NeuN 단백질 발현량을 측정한 결과이다. 치매를 유발하지 않은 군; (-)control, 치매를 유발한 후 증류수를 투여한 군; KH020(low), 치매를 유발한 후 1일당 100mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군; KH020(high), 치매를 유발한 후 1일당 400mg/kg의 갯기름나물 추출물을 투여한 군.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0038] 이하, 하기 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0039] **실시예 1: 갯기름나물 추출물의 제조**

[0040] **1-1: 물 용매를 이용한 열수추출법에 의한 갯기름나물 추출물 제조**

[0041] 전라남도 여수에서 수확한 갯기름나물(*Peucedanum japonicum* Thunberg)을 건조시켜 추출물을 제조하였다. 분쇄한 상태의 갯기름나물 100g을 1ℓ의 증류수에 가하여 잘 교반한 다음, 90~95℃의 온도에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 이후, 여액을 분리하고, 55~65℃로 상기 추출물을 감압 농축한 후, 동결 건조시켜 생약조성물 분말 엑스 21.2g을 얻었다.

[0042] **1-2: 물-알코올 혼합 용매를 이용한 열수추출법에 의한 갯기름나물 추출물 제조**

[0043] 상기 실시예 1-1과 동일하게 분쇄된 갯기름나물 100g에 1ℓ의 25% 에탄올을 가하여 잘 교반한 다음, 80~90℃의 온도에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 이후, 여액을 분리하고, 55~65℃로 상기 추출물을 감압 농축한 후, 동결 건조시켜 생약조성물 분말 엑스 19.5g을 얻었다.

[0044] **실시예 2: 치매 동물모델 제작**

[0045] 본 발명의 갯기름나물 추출물의 인지기능 장애에 대한 효과를 확인하기 위하여, 양측 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발시킨 동물모델을 제작하였다.

[0046] 구체적으로, 총경동맥 결찰에 의하여 뇌세포사멸 및 신경세포 손상을 유발시킨 동물모델을 제조하기 위하여, C57BL/6 마우스를 24시간 절식시킨 후, 졸레틸(zoletil)과 럼푼(rompun)이 2:1로 혼합된 마취약으로 마취한 후, 양쪽 총경동맥을 결찰하여 혈관성 치매 동물모델을 제작하였다.

[0047] **실시예 3: Y자형 미로 검사**

[0048] 단기기억형태의 순간 공간 인지력을 평가하기 위하여, 실시예 2에서 제작한 동물모델을 치매 유발 일주일 후에,

Y자형 미로 검사(Y-maze test)를 수행하였다.

[0049] Y자형 미로 검사에 이용되는 기구는 3개의 가지(arm)로 구성되어 있으며, 각 가지의 길이는 42cm, 넓이는 3cm, 높이는 12cm이고, 3개의 가지가 접하는 각도는 120° 이다. 모든 실험 장치는 검정색의 폴리비닐 플라스틱(polyvinyl plastic)으로 구성하였으며, 각 가지를 A, B, C로 정한 후 한쪽 가지에 마우스를 조심스럽게 올려놓고 8분동안 자유롭게 움직이게 한 다음, 마우스가 들어간 가지를 기록하였다. 이때, 꼬리까지 완전히 들어갔을 경우에 한하여 유효한 것으로 인정하였으며, 갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 3개의 서로 다른 가지에 차례로 들어간 경우(ABC, CAB, BCA)에 실제 변경(actual alternation)으로 간주하여 1점씩을 부여하였다. 이를 통하여 3가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되는 변경 행동력을 계산하였으며, 다음과 같은 수학식에 의해 계산하였다.

[0050] 변경 행동력(%)

[0051] = 실제 변경(actual alternation) / 최고 변경(maximum alternation) × 100

[0052] (최고 변경: 총 입장 횟수 - 2)

[0053] 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발한 후, 일주일 간 상기 실시예 1-1에서 제조한 갯기름나물 추출물을 각각 1일에 100mg/kg (low dose) 및 400mg/kg (high dose)씩 투여한 동물모델을 이용하여 상기 변경행동력을 계산하였다. 이때, 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발하지 않은 실험군(sham)과 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발한 후 증류수(DW)만을 투여한 실험군((-)control)을 대조군으로서 사용하였다.

[0054] 그 결과, 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발한 동물모델의 경우, 변경 행동력이 낮아지는 것을 확인할 수 있었으며, 그에 반해 갯기름나물 추출물을 투여한 경우, 낮아진 변경 행동력이 회복되고, 높은 농도의 갯기름나물 추출물을 투여한 실험군에서는 오히려 치매를 유발하지 않은 실험군에 비해 더 높은 수준의 변경 행동력을 보이는 것을 확인하였다(도 1).

[0055] 이러한 결과를 통하여, 혈관성 치매가 유발되는 경우 발생할 수 있는 단기기억형태의 순간 공간 인지력의 감소를 갯기름나물 추출물이 증가시켜 완화시킬 수 있음을 확인함으로써, 갯기름나물 추출물이 치매와 같은 인지기능의 개선 및 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

[0056] **실시예 4: 수동 회피 검사**

[0057] 설치류의 작업기억 능력(working memory ability)을 측정하는 방법으로서 수많은 연구자들이 학습 및 기억력 측정을 위하여 널리 이용하고 있는 수동 회피 검사를 통하여, 갯기름나물 추출물의 효과를 확인하고자 하였다. 실험은 기존의 LeDoux의 방법을 응용하여 시행하였다. 먼저, 실험 시작 1시간 전에 마우스를 행동관찰실로 옮기고 약물을 투여한 후 안정시켰다.

[0058] **4-1: Training trial**

[0059] 왕복상자의 우측 방에 불을 켜고 마우스의 머리가 단두대 문(Guillotine door)의 반대쪽으로 향하여 살며시 내려놓았다. 마우스를 10초간 탐색시킨 후 Guillotine door를 열어 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다. 마우스는 방을 탐색하다가 본능적으로 어두운 좌측 방으로 이동하게 되는데, 이 때 Guillotine door가 열린 후 40초 이내에 어두운 쪽으로 들어가지 않는 마우스는 실험에서 제외시켰다. 일단 마우스가 어두운 쪽으로 들어가면 Guillotine door가 닫히고 0.5mA의 전기 충격이 3초 동안 그리드(grid) 바닥을 통해 흐르게 되고 마우스는 이를 기억하게 된다. Guillotine door가 열린 후 마우스가 어두운 쪽으로 들어갈 때까지의 시간을 측정하였다.

[0060] **4-2: Test trial**

[0061] Test trial은 Training trial이 끝난 후, 24시간 후에 장기기억에 미치는 약물 투여군의 효과를 확인하고자 실시하였다. 마우스를 왕복상자에 넣고 10초 동안 탐색시킨 후 Guillotine door가 열리고 어두운 쪽으로 마우스의

네 발이 다 들어가는데 걸리는 시간 (머무름 시간; latency time)을 300초까지 측정하였다. 어두운 쪽으로 가는데 걸리는 시간이 길수록 수동 회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다.

[0062] 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발한 후, 일주일 간 상기 실시예 1-1에서 제조한 갯기름나물 추출물을 각각 1일에 100mg/kg (low dose) 및 400mg/kg (high dose)씩 투여한 동물모델을 이용하여 학습 및 기억력을 측정하였다. 이때, 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발하지 않은 실험군(sham)과 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발한 후 증류수(DW)만을 투여한 실험군((-)control)을 대조군으로서 사용하였다.

[0063] 그 결과, 총경동맥 결찰을 통하여 치매를 유발한 동물모델의 경우, 학습 및 기억력이 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었으며, 그에 비해 갯기름나물 추출물을 투여한 실험군에서는 어두운 방의 전기자극에 대한 공포를 기억함으로써 어두운 방으로 가기를 주저하는 시간이 유의하게 길어진 것을 확인할 수 있었다(도 2).

[0064] 이러한 결과를 통하여, 혈관성 치매가 유발되는 경우 발생할 수 있는 학습 및 기억력의 감소를 갯기름나물 추출물이 증가시켜 완화시킬 수 있음을 확인함으로써, 갯기름나물 추출물이 치매와 같은 인지기능의 개선 및 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

[0065] **실시예 5: 단백질 발현량 분석**

[0066] 상기 동물모델에 의한 갯기름나물의 기억 및 학습력, 인지기능의 개선 효과를 확인하였는바, 추가로 혈관성 치매 동물모델에서의 신경 관련 단백질의 발현량을 분석하여 그 활성을 보다 명확하게 확인하고자 하였다.

[0067] 구체적으로, 상기의 동물 행동 검사가 끝나고 마우스를 $CO_2$로 안락사시킨 후, 뇌를 적출하여 해마(hippocampus) 및 전전두엽(prefrontal cortex)에서의 단백질 발현량을 분석하기 위한 정량법으로서 전기영동을 통한 웨스턴 블랏을 실시하였다. 상기 해마는 학습 및 기억 등의 인지기능에 중요한 역할을 하며, 전전두엽은 순차적인 계획 등을 포함한 의사 결정에 관여하는 부위로서, 본 발명의 갯기름나물 추출물이 상기 해마 및 전전두엽에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

[0068] 상기 웨스턴 블랏은 여러 단백질의 혼합물로부터 특정 단백질에 대한 항체를 이용한 항원-항체 반응을 통해 특정 단백질을 찾아내고자 하는 기법으로서, SDS-폴리아크릴아미드 겔(polyacrylamide gel) 상에서 전기영동을 수행하고, 이후 전기영동을 마친 겔 내의 단백질을 PVDF(Polyvinylidene fluoride)지에 이동시킨 후, GFAP(Glial fibrillary acidic protein) 및 NeuN(Neuronal nuclear antigen)을 항체로 반응하여, 발색시켜 해당 단백질의 발현량을 측정하였다. 대조군으로 액틴(actin)을 사용하였다.

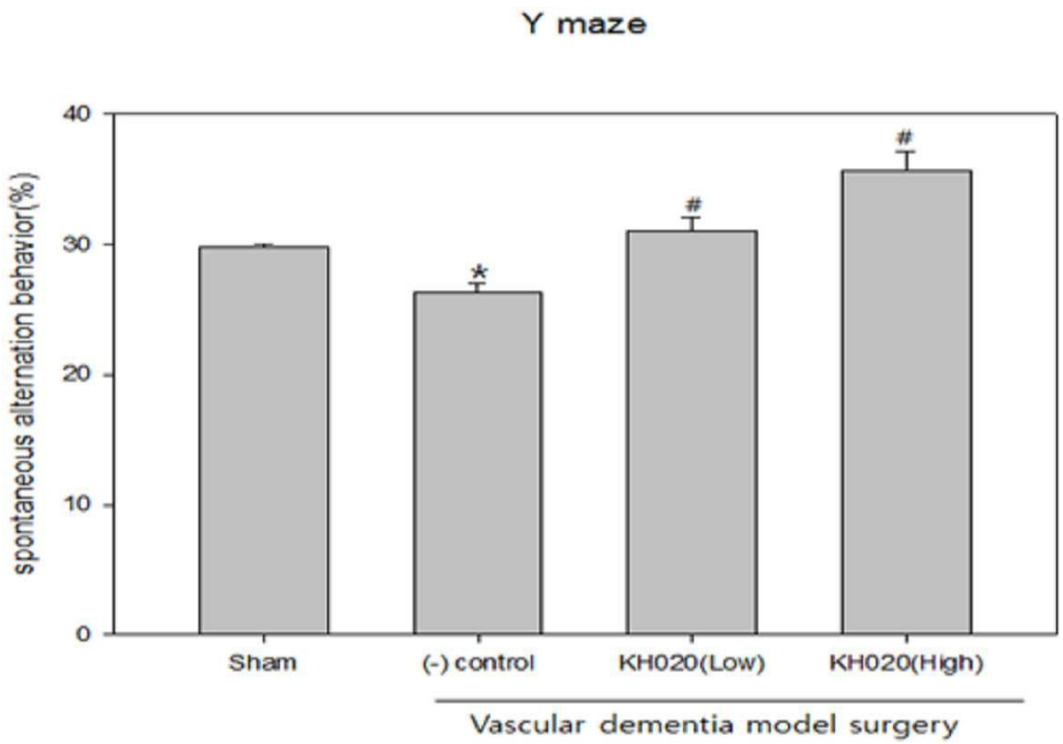
[0069] 먼저 GFAP의 단백질 발현량 분석 결과, 해마와 전전두엽 모두에서, 치매를 유발한 동물모델의 경우 GFAP 발현량이 증가하지만, 갯기름나물 추출물을 투여한 경우 GFAP 발현량이 다시 감소하는 것을 확인할 수 있었다(도 3 및 4). GFAP는 성상세포(astrocyte)에서 나타나는 단백질로서, 상기와 같은 결과를 통해 치매 동물모델에서 총경동맥 결찰을 통해 발생되는 해마 및 전전두엽의 염증반응을, 갯기름나물 추출물이 억제할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0070] 또한, NeuN의 경우에는, 해마와 전전두엽 모두에서, 치매를 유발한 동물모델의 경우 신경세포의 사멸이 일어나 NeuN 발현량이 감소하지만, 갯기름나물 추출물을 투여한 경우에는 신경세포 사멸을 보호함으로써 NeuN 발현량이 다시 증가됨을 확인할 수 있었다(도 5 및 6). 즉, 갯기름나물 추출물은 신경세포 사멸을 보호하는 작용을 함으로써, 인지기능을 향상시킬 수 있다는 것을 알 수 있었다.

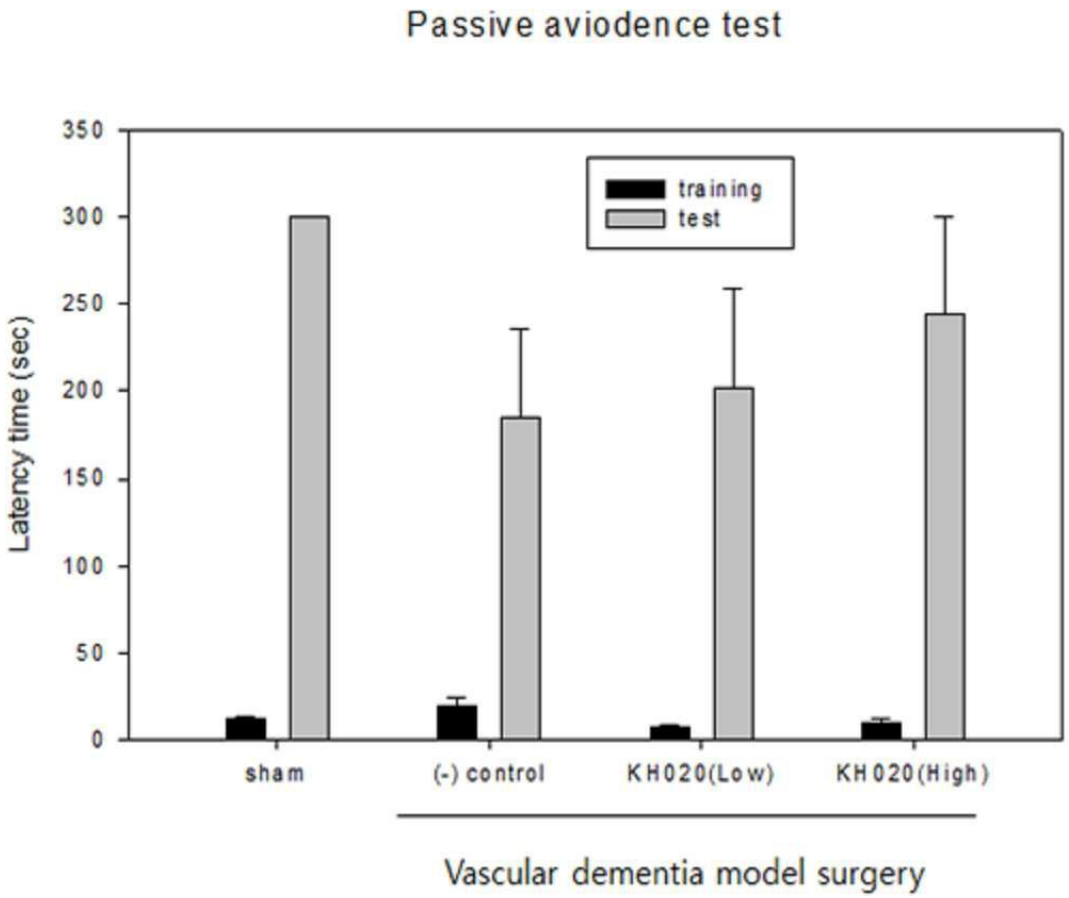
[0071] 상기와 같은 결과를 통하여, 본 발명의 갯기름나물 추출물은 해마 및 전전두엽의 기능을 보호함으로써 기억력 및 인지기능 증진과 같은 효과를 가질 수 있음을 알 수 있었다.

도면

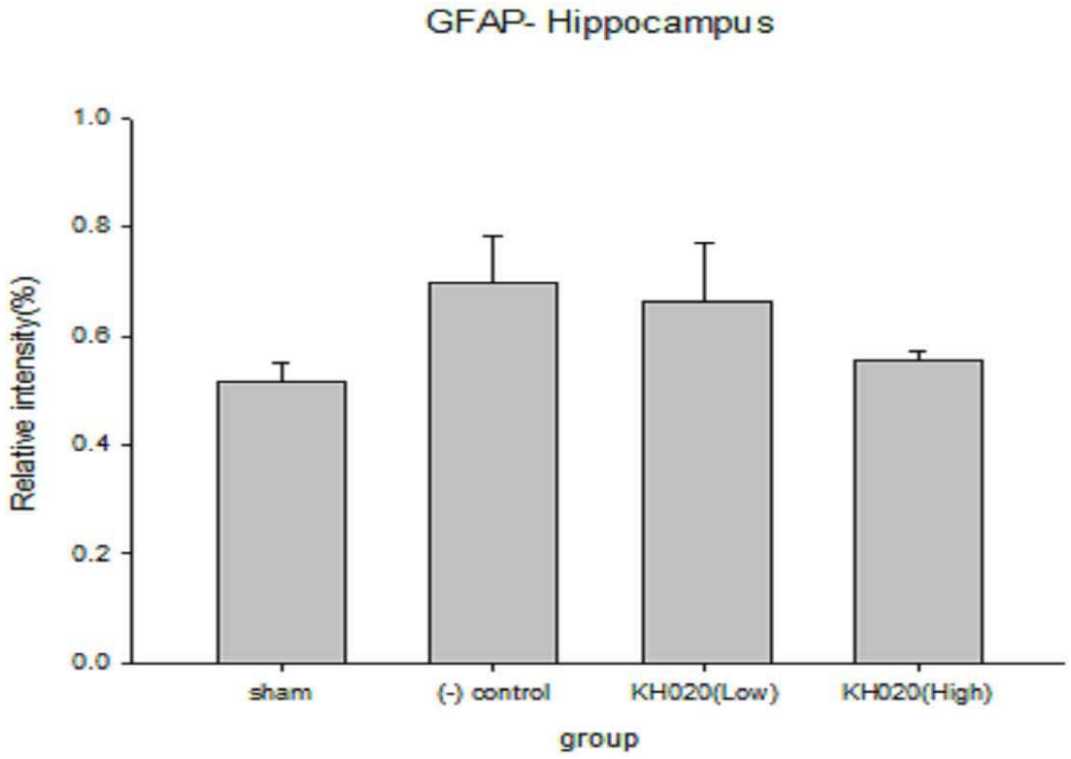
도면1


Y maze
spontaneous alternation behavior(%)
40
30
20
10
0
*
#
#
Sham
(-) control
KH020(Low)
KH020(High)
Vascular dementia model surgery

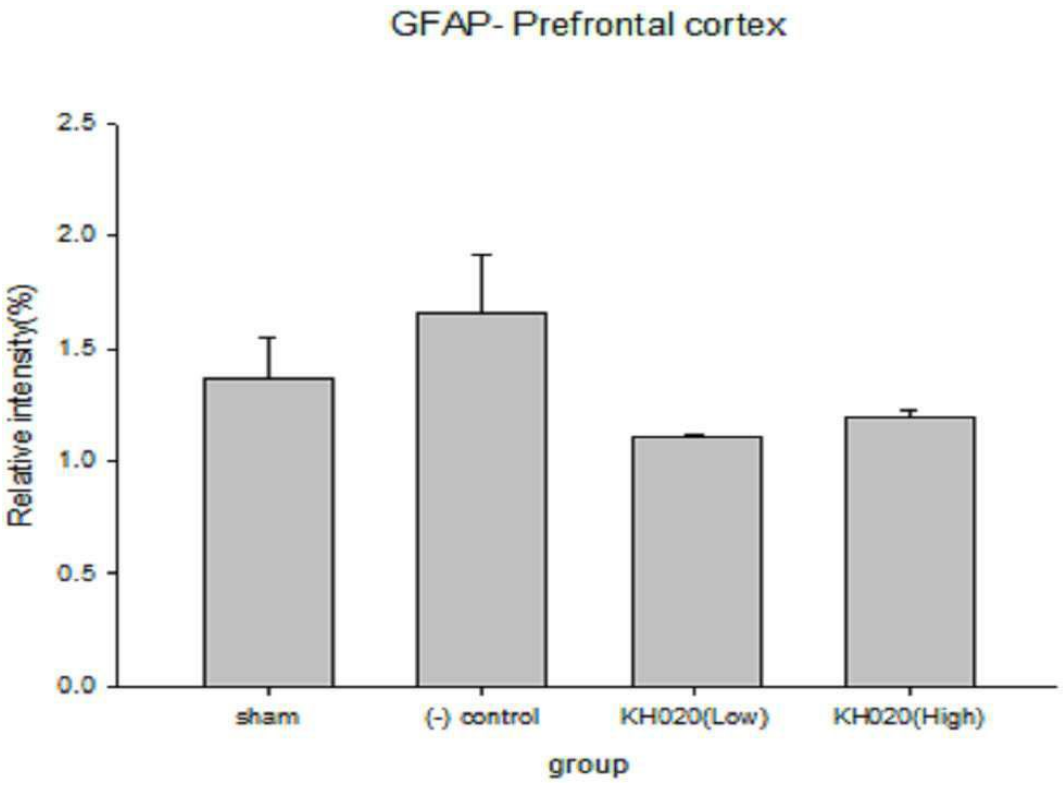
도면2


Passive aviodence test
Latency time (sec)
350
300
250
200
150
100
50
0
training
test
sham
(-) control
KH020(Low)
KH020(High)
Vascular dementia model surgery

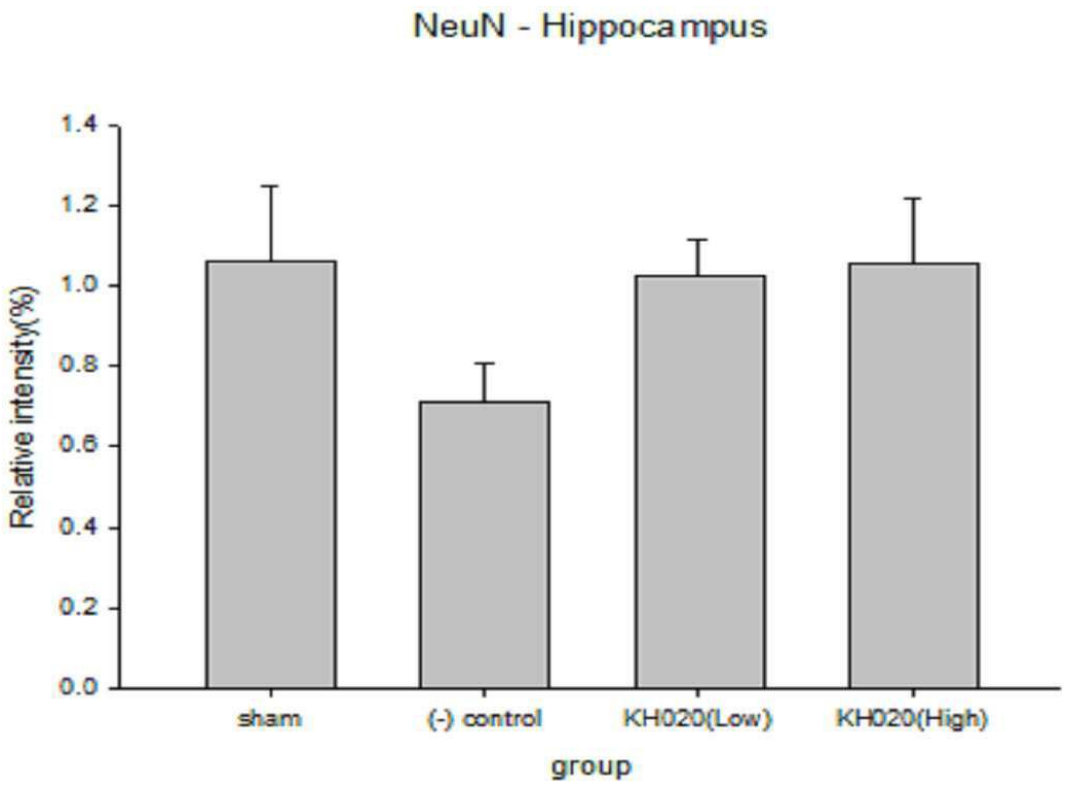
도면3


GFAP- Hippocampus
Relative intensity(%)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
sham
(-) control
KH020(Low)
KH020(High)
group

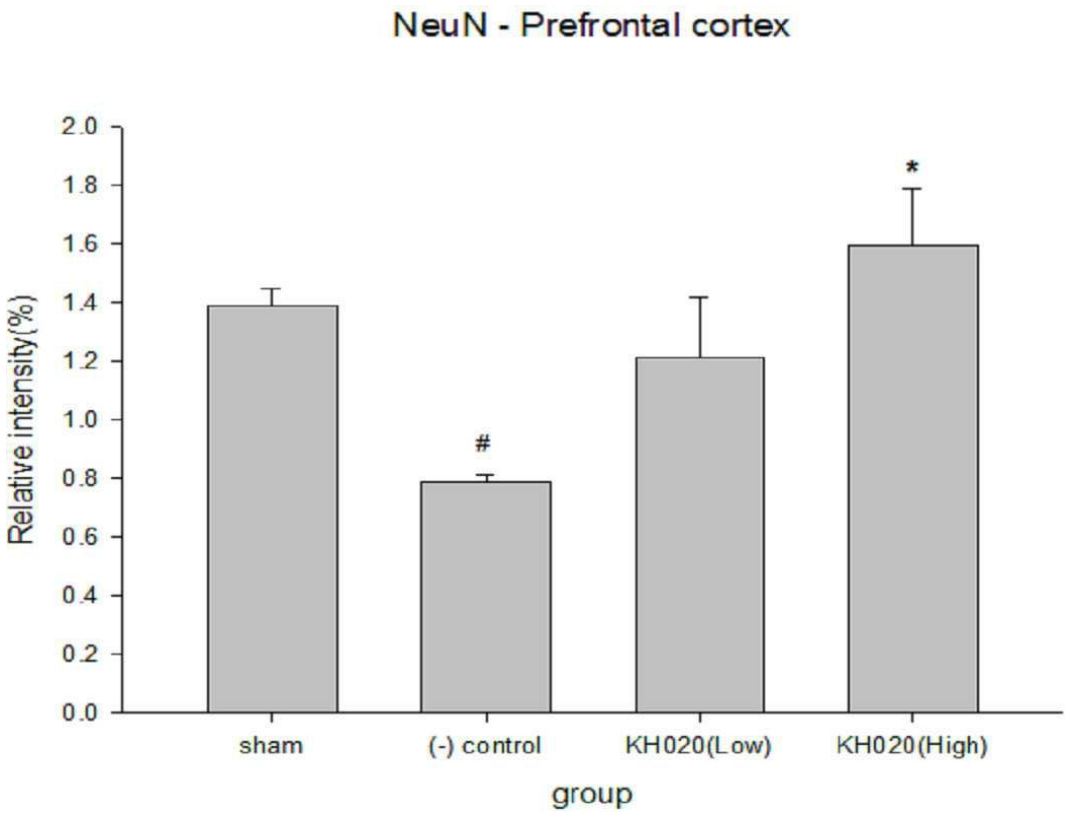
도면4


GFAP- Prefrontal cortex
Relative intensity(%)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
sham
(-) control
KH020(Low)
KH020(High)
group

도면5


NeuN - Hippocampus
Relative intensity(%)
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
sham
(-) control
KH020(Low)
KH020(High)
group

도면6


NeuN - Prefrontal cortex
Relative intensity(%)
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
#
*
sham
(-) control
KH020(Low)
KH020(High)
group