(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0120760
(43) 공개일자 2011년11월04일

(51) Int. Cl.
A61K 36/752 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0040323
(22) 출원일자 2010년04월29일
심사청구일자 2010년04월29일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원 춘천시 한림대학길 39 한림대학교
(72) 발명자
원무호
강원도 춘천시 신북읍 용산리 147-2
황인구
서울특별시 관악구 봉천11동 180-164 B01호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한라특허법인

전체 청구항 수 : 총 6 항

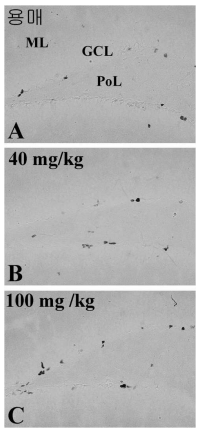
(54) 레몬밤 추출물을 함유하는 신경모세포 분화 촉진용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 레몬밤 추출물을 유효 성분으로 포함하는 신경모세포 분화 촉진용 약학 조성물 및 기능성 식품에 관한 것이다.

본 발명의 레몬밤 추출물은 노화시에 나타나는 신경모세포의 분화 및 증식의 감소를 현저하게 개선함으로써, 노화에 의한 신경세포 분화 및 증식을 촉진시키기 위한 약학적 조성물 및 기능성 식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

유대영

서울특별시 양천구 목5동 목동아파트 411동 504호

유기연

강원도 춘천시 사농동 롯데캐슬더퍼스트아파트 202동 403호

최정훈

강원도 춘천시 후평동 포스코아파트 104동 1502호

이충현

경기도 안양시 만안구 안양6동 395-20

이현주

서울특별시 송파구 송파동 131-17

박옥규

인천광역시 부평구 부평4동 240-24 한솔아파트 102-301

박준하

경기도 양평군 양서면 국수리 217-5번지

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관

연구사업명 지역거점연구단 육성사업

연구과제명 뇌신경세포 보호 및 재생 신소재 발굴 및 응용 연구

기여율

주관기관 강원대학교 산학협력단

연구기간 2009년 04월 01일 ~ 2012년 03월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

레몬밤을 물, C_1 ~ C_4의 저급 알코올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 제조되는 레몬밤 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경모세포의 분화 및 증식 촉진용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 신경모세포는 해마(hippocampus) 치아이랑(dentate gyrus) 과립밑구역(subgranular zone) 유래 신경줄기세포인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 추출은 레몬밤 건조 중량의 1 내지 20배의 용매로 20 내지 150℃ 온도에서 1시간 내지 10일 동안 냉침 추출, 열수 추출, 초음파 추출 또는 환류 냉각 추출하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 유효성분은 약학적 조성물 전체 중량에 대하여 0.01 ~ 50 중량% 포함되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

레몬밤을 물, C_1 ~ C_4의 저급 알코올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 제조되는 레몬밤 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경모세포의 분화 및 증식 촉진용 기능성 식품.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 신경모세포는 해마(hippocampus) 치아이랑(dentate gyrus) 과립밑구역(subgranular zone) 유래 신경줄기세포인 것을 특징으로 하는 기능성 식품.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 레몬밤 추출물을 유효 성분으로 포함하는 신경모세포 분화 촉진용 약학 조성물 및 기능성 식품에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근까지만 해도, 신경세포의 재생은 출생 후에는 거의 나타나지 않는 것으로 알려져 왔으며, 이로 인해 노화, 신경세포 손상 등에 의해서 기능이 저하되면 다시 회복되지 않는 것으로 여겨져 왔다. 그러나 최근의 연구 보고에 의하면 신경세포 재생이 극히 제한된 영역에서 유도되는 것으로 알려졌으며, 이러한 부위는 외측뇌실의 아랫부분인 뇌실밑구역(subventricular zone)과 해마(hippocampus)의 치아이랑(dentate gyrus)에서 과립세포

(granule cell)의 밑부분인 과립밑구역 (subgranular zone)으로 확인되었다(Kempermann et al., 2003; Larsson et al., 2004; Paizanis et al., 2007).

[0003] 이중 해마의 일부분인 과립밑구역(subgranular zone)의 신경세포 재생은 생성된 세포가 이동하여 치아이랑(dentate gyrus)의 과립세포가 되는 것으로 알려져 있으며(Kuhn et al., 1996; Reznikov, 1991; Eckenhoff and Rakic, 1988), 이렇게 생성된 과립세포는 해마의 CA3부분과 연결되어 해마의 고유기능은 기억과 직접적인 연관관계를 맺는 것으로 알려져 있다(Li and Pleasure, 2005). 한편 해마부위는 노화 및 각종 퇴행성 질환에 의해 손상을 쉽게 받는 부위로 알려져 있으며, 특히 노화에 따라서 고유의 기능인 단기 및 일과적 기억이 현저하게 감소되는 것으로 알려져 있다(Scoviller and Milner, J Neurol Neurosurg Psychiatry 20, 11-21, 1957). 이러한 노화에 따른 기능 저하가 과거에는 신경세포의 손상에 의한 것으로 알려져 왔으나, 최근 신경세포 손상 외에 신경세포 재생의 현저한 감소로 인해 해마 기능저하가 나타난다는 보고가 증가하고 있는 실정이다.

[0004] 따라서 과립밑구역 부위에서 신경세포의 재생 및 분화를 촉진시킨다면 노화로 인해 유도되는 해마의 기능성 저하를 줄일 수 있을 뿐 아니라, 신경세포 재생의 촉진으로 인해 노화 및 퇴행성 뇌질환에 의해서 감소되는 신경세포를 어느 정도 보상할 수 있다.

[0005] 레몬밤(*Melissa officinalis*)은 쌍떡잎식물 통화식물목 꿀풀과의 여러해살이풀로 지중해 연안에서 주로 자생하며, 서아시아, 흑해 연안, 중부 유럽에도 일부 자생하는 것으로 알려져 있다. 두통을 가라앉히고 긴장을 풀어 주며, 항바이러스 성분이 있어 전염성이 있는 병에 효과가 있으며, 독버섯 해독, 복통, 위궤양, 생리통 억제, 생리 촉진에 사용되어 왔다. 또한 레몬밤 추출물은 항산화 활동이 큰 것으로 보고되고 있다(Pereira et al., 2009).

[0006] 그러나 레몬밤 추출물이 신경모세포의 분열 및 분화에 관여하는 것과 관련하여서는 아직까지 어떠한 연구도 이루어지지 않은 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이에 본 발명자들은 레몬밤 추출물이 노화 과정에 있는 마우스 해마의 치아이랑 부위에서 신경모세포의 생성 및 분화를 현저하게 증가시키는 것을 확인하고, 이를 통하여 노화에 의하여 신경세포의 재생 및 분화가 감소되는 현상을 개선할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0008] 따라서, 본 발명은 신경모세포의 분화 및 증식을 촉진할 수 있는 레몬밤 추출물을 포함하는 약학 조성물 및 기능성 식품을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 이하 본 발명의 레몬밤 추출물을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물 및 기능성 식품을 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0010] 본 발명에서 신경모세포는 해마(hippocampus) 치아이랑(dentate gyrus) 과립밑구역(subgranular zone) 유래 신경모세포를 의미하며, 세포의 분화는 생성된 줄기세포의 생성, 분열, 분화 및 이동을 포함한다.

[0011] 이하, 본 발명의 추출물을 수득하는 방법을 상세히 설명한다.

[0012] 본 발명의 레몬밤 추출물은, 건조된 레몬밤 잎을 세절하여 건조 중량의 약 1 내지 20배, 바람직하게는 약 2 내지 6배의 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물 또는 에탄올로, 20 내지 150℃, 바람직하게는 70 내지 120℃ 추출온도에서 약 1시간 내지 10일, 바람직하게는 약 2시간 내지 5시간 동안 냉침추출, 열수추출, 초음파 추출, 환류냉각 추출 등의 추출방법, 바람직하게는 냉침 추출방법을 이용하여 수득한 추출액을 여과, 감압농축 또는 건조하여 수득할 수 있다.

[0013] 본 발명의 약학 조성물은 상기 레몬밤 추출물을 유효성분으로 포함하고, 약학 조성물 총 중량에 대하여 0.01 ~ 50% 함유하는 것이 바람직하고, 0.01 ~ 25% 함유하는 것이 더욱 바람직하다. 그러나 상기와 같은 조성은 반

드시 이에 한정되는 것은 아니고, 대상자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.

[0014] 또한 본 발명의 약학 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 투여 형태는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다. 상기 염으로는 약학적으로 허용되는 것이면 특별히 한정되지 않으며, 예를 들어 염산, 황산, 질산, 인산, 불화수소산, 브롬화수소산, 포름산 아세트산, 타르타르산, 젖산, 시트르산, 푸마르산, 말레산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, 톨루엔술폰산, 나프탈렌술폰산 등을 사용할 수 있다.

[0015] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 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, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제 및 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0016] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여 시 피부외용 또는 복강 내, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사 방식을 선택하는 것이 바람직하며, 가장 바람직하게는 경구 투여용으로 사용한다.

[0017] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 레몬밤 추출물의 양을 기준으로 0.1 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 30 내지 80 mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 50 내지 60 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.

[0018] 또한 본 발명의 기능성 식품은 상기 레몬밤 추출물을 포함하며, 이외에 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함할 수 있다.

[0019] 본 발명의 기능성 식품은 줄기모세포의 재생 및 분화 촉진을 위한 목적으로 다양한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 발명의 레몬밤 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.

[0020] 본 발명의 레몬밤 추출물 자체는 독성 및 부작용은 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 성분이다.

[0021] 본 발명의 기능성 식품은, 줄기모세포의 재생 및 분화 촉진을 목적으로 상기 레몬잎 추출물을 다양한 제형의 식품 또는 음료에 첨가하여 제조될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 레몬밤 추출물의 양은 일반적으로 전체 식품 중량의 0.01 내지 100 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료로 제조할 경우 전체 조성물 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

[0022] 본 발명의 기능성 식품을 음료로 제조할 경우 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 것 외에 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0023] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등의 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, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 기능성 식품 100 ㎖당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0024] 상기 외에 본 발명의 기능성 식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 기능성 식품은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0025] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 상기 첨가제의 비율은 제한되지 아니하나, 본 발명의 기능성 식품 100 중량부에 대하여 약 1 내지 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

발명의 효과

[0026] 본 발명의 레몬밤 추출물은 노화시에 나타나는 신경모세포의 분화 및 증식의 감소를 현저하게 개선함으로써, 노화에 의한 신경세포 분화 및 증식을 촉진시키기 위한 약학적 조성물 및 기능성 식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 레몬밤 추출물의 신경모세포 분열 효과를 확인하기 위하여, 용매(물) (A) 또는 레몬밤 추출물 40 mg/kg (B), 100 mg/kg (C)을 4주간 경구 투여한 다음, 치아이랑 조직을 채취하여 Ki67 항체로 염색하여 관찰한 사진이다.

도 2는 레몬밤 추출물의 신경세포 분열 효과를 확인하기 위하여, 용매(물) (A, B) 또는 레몬밤 추출물 40 mg/kg (C, D), 100 mg/kg (E, F)을 4주간 경구 투여 한 다음, 치아이랑 조직을 채취하여 DCX 항체로 염색하여 관찰한 사진이다.

도 3은 용매 또는 레몬밤 추출물을 40 mg/kg, 100 mg/kg으로 4주간 경구 투여한 다음, Ki-67에 염색된 세포수를 나타낸 그래프이다.

도 4는 용매 또는 레몬밤 추출물을 40 mg/kg, 100 mg/kg으로 4주간 경구 투여한 다음, DCX에 염색된 세포수를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 구체적으로 설명하겠는바, 다음 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0029] **제조예 : 레몬밤 추출물의 제조**

[0030] 시장에서 건조된 레몬밤 1 kg을 구입한 후, 분말화하여 100% 에탄올 1 L를 가하여 일주일간 냉침시켰다. 상기 냉침이 끝난 에탄올 추출물은, 감압플라스크에 감압장치(aspirator)를 연결해 플라스크 내부를 감압시킨 다음, 감압플라스크에 연결된 여과기에 넣고 여과하였다.

[0031] 상기 여과되어진 여액을 감압농축기(BUCHI 011, SWITZERLAND)로 감압농축하여 레몬밤 추출물 109.5 g을 얻어 하기 실시예의 시료로 사용하였다.

[0032] **실시예 1 : 레몬밤 추출물의 신경모세포 분열 및 분화 측정**

[0033] 레몬밤 추출물의 줄기세포 분화 촉진 효과를 확인하기 위하여 C57BL/6J 마우스를 대상으로 줄기세포의 분열 및 분화를 각각 Ki67, doublecortin (DCX)로 표지하는 방법을 이용하여 하기와 같이 실험하였다.

[0034] 실험동물은 체중 25 내지 30 g의 수컷 12개월령 C57BL/6J 마우스 20마리를 사용하였고, 오전 7시부터 오후 7시까지 빛을 가하는 일정한 명암주기 하에서 온도 23 ± 2℃, 상대습도 55 ± 10%에서 사육하였으며, 음식과 물은 자유로이 섭취하게 하였다.

[0035] 상기 제조예 1에서 얻은 레몬밤 추출물 12.5, 50 mg을 각각 증류수 2 ml에 용해시킨 뒤, 식도용 바늘을 이용하여 0.2 ml을 4주 간 경구투여(용량은 체중 kg 당 50, 200 mg이 되도록 투여)하였으며, 대조군은 용매인 증류수를 동량 투여하였다.

[0036] 대조군 및 실험군을 투여 4주 후에 우레탄 (urethane, Sigma, 미국)을 체중 kg 당 각각 1 g의 용량으로 복강 내 주사하여 마취시킨 다음, 1,000㎖ 당 헤파린 1,000 IU를 함유한 4℃의 생리식염수를 좌심실로 주입하여 관류 세척하였다. 관류 세척이 끝난 동물은 바로 4℃의 4% 파라포름알데하이드(in 0.1 M phosphate buffer; PB, pH 7.4)로 관류 고정을 하였다.

[0037] 관류 고정이 끝난 동물을 뼈절단기를 이용하여 머리뼈 공간을 열어 뇌를 적출한 다음, 동일 고정액에서 6 시간 동안 후고정하였다. 후고정이 끝난 뇌는 30% 슈크로스 용액(in 0.1 M phosphate buffer)에 넣어 바닥에 가라앉을 때까지 침강 시킨 후, 슬라이드 마이크로톰(sliding microtome, Reichert-Jung, Germany)으로 조직을 30 ㎛ 두께로 잘라 보존액(storing solution)이 들어있는 6웰 플레이트에 넣어 사용시까지 4℃에서 보관하였다.

[0038] 각 조직절편 중에서 해마 부위(hippocampus)가 잘 나와 있는 조직을 선택하고, 조직에 묻어있는 보존액을 세척하기 위해 0.01M PBS로 10분씩 3회 세척한 다음, 조직절편에 존재하는 내인성 페록시다아제(peroxidase)를 제거하기 위하여 0.3% H_2O_2가 용해된 PBS로 30분 동안 반응시켰다. 그 다음, 비특이적인 면역반응을 방지하기 위하여, 상기 반응된 조직절편을 3%의 정상 염소 혈청(normal goat serum)으로 30분간 반응시켰다. 상기 3%의 정상 염소 혈청과 반응을 한 조직절편은 줄기세포를 표지하기 위하여 1 : 1000으로 희석된 래빗 항-Ki-67(Abcam, UK) 및 1: 50으로 희석된 염소 항-DCX(SantaCruz, US)와 각각 4℃에서 48시간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직절편은 각각 1 : 200으로 희석시킨 2차 항체인 항-래빗 IgG(Vector, US) 및 항-염소 IgG(Vector, US)로 2시간 반응시킨 후, 1 : 200으로 희석시킨 3차 항체인 ABC용액(Vector)으로 2시간 반응시켰으며, 3,3'-디아미벤지딘(diaminobezidine, DAB)를 기질로 발색하였다. 각 단계 사이에는 0.01M PBS를 사용하여 10분씩 3회 세척하였다. 상기 3차 반응이 끝난 조직절편은 젤라틴 코팅된 슬라이드 글라스(slide glass)에 도말한 후 실온에서 12시간 동안 건조하였으며, 상기 건조한 조직절편은 통상적인 탈수·투명화 과정을 거쳐 봉입하였다.

[0039] 각 조직들은 디지털 카메라(Axiocam, Cal Zeiss, Germany)가 부착되어 있는 악시오엠1 현미경(AxioM1 microscope, Carl Zeiss, Germany)으로 치아이랑 전체를 200배 또는 400배로 사진 촬영하여 도 1 및 2에 나타내었다.

[0040] 도 1에서 나타나는 바와 같이 A는 용매투여군의 치아이랑 사진이고 B 및 C는 레몬밤 추출물 투여군 (각각 40, 100 mg/kg)의 치아이랑 사진으로 진하게 염색된 세포가 분열하고 있는 신경줄기세포를 의미한다.

[0041] 또한 도 2에서 나타나는 바와 같이 A, B는 용매투여군의 치아이랑 사진이고 C, D (40 mg/kg), E 및 F (100 mg/kg)는 레몬밤 추출물 투여군의 치아이랑 사진으로 진하게 염색된 세포가 분화하는 신경줄기세포를 의미한다. 또한 B, D 및 F는 각각 A, C 및 E를 확대한 사진이다.

[0042] Ki67, DCX에 염색된 세포를 이미지 분석기(Optimas 6.5, CyberMetrics, USA) 프로그램을 사용하여 계수하여 각각 도 3 및 4에 나타냈다. 각 군에 대한 유의성 및 농도에 따른 변화를 검증하기 위해 One-way ANOVA test를 수행하였으며, 데이터는 평균과 표준평균오차로 나타내었다.

[0043] 실험결과, 도 1에서는 용매를 투여한 대조군(A)의 경우 적은 수의 세포에서 Ki67에 염색성을 확인할 수 있었던 반면에, 레몬밤 추출물을 투여한 경우 Ki67에 염색된 분열하는 세포의 수가 급격하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Ki67에 염색된 세포는 40 mg/kg를 투여한 경우(B)보다 100 mg/kg을 투여한 경우(C) 현저하게 많은 것을 확인할 수 있었다.

[0044] 도 3에서와 같이 Ki67에 염색된 분열하는 세포는 40 mg/kg 레몬밤 추출물 투여군에서 용매투여군에 비해 244% 관찰되었으며, 100 mg/kg 투여군에서는 764% 관찰되어 급격한 증가를 확인할 수 있었다.

[0045] 도 2에서와 같이 내인성 신경줄기세포의 신경세포로의 분화에 대한 표지자인 DCX에 대한 염색성은 용매를 투여한 대조군(A 및 B)의 경우와 비교할 때, 레몬밤 추출물을 40 mg/kg (C 및 D) 및 100 mg/kg (E 및 F)을 투여한 실험군에서 DCX에 염색된 세포의 수가 증가하였으며, 신경돌기도 레몬밤 추출물을 투여한 군에서 많은 것을 확인할 수 있었다.

[0046] 도 4에서와 같이 DCX에 염색된 분화하는 신경세포는 30 mg/kg 레몬밤 추출물 투여군에서 용매투여군에 비해

173% 관찰되었으며, 100 mg/kg 투여군에서는 225% 관찰되어 급격한 증가를 확인할 수 있었다.

[0047] 하기에 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0048] **제제예 1. 산제의 제조**

[0049] 레몬밤 추출물 200 mg

[0050] 유당 100 mg

[0051] 탈크 10 mg

[0052] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

[0053] **제제예 2. 정제의 제조**

[0054] 레몬밤 추출물 200 mg

[0055] 옥수수전분 100 mg

[0056] 유당 100 mg

[0057] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0058] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0059] **제제예 3. 캡슐제의 제조**

[0060] 레몬밤 추출물 200 mg

[0061] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0062] 락토오스 14.8 mg

[0063] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0064] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0065] **제제예 4. 액제의 제조**

[0066] 레몬밤 추출물 200 mg

[0067] 이성화당 10 g

[0068] 만니톨 5 g

[0069] 정제수 적량

[0070] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 100㎖로 조절한 후 갈색병에 충진하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0071] **제제예 5. 건강 보조 식품의 제조**

[0072] 레몬밤 추출물 5000 mg

[0073] 비타민 혼합물 적량

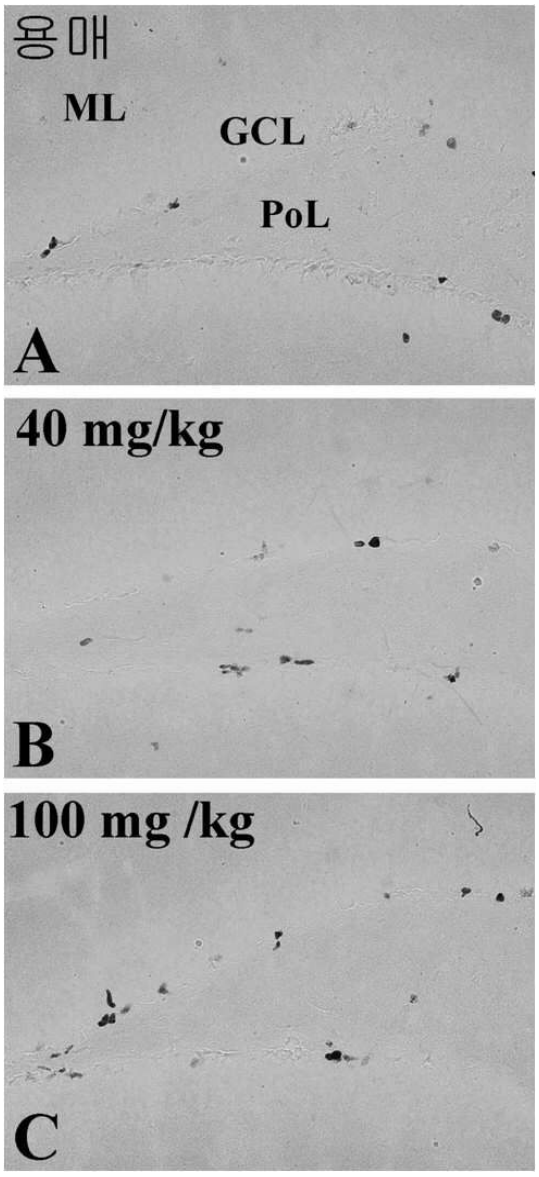
[0074] 비타민 A 아세테이트 70 ㎍

[0075]	비타민 E	1.0 ㎎
[0076]	비타민 B	10.13 ㎎
[0077]	비타민 B	20.15 ㎎
[0078]	비타민 B	60.5 ㎎
[0079]	비타민 B	120.2 ㎍
[0080]	비타민 C	10 ㎎
[0081]	비오틴	10 ㎍
[0082]	니코틴산아미드	1.7 ㎎
[0083]	엽산	50 ㎍
[0084]	판토텐산 칼슘	0.5 ㎎
[0085]	무기질 혼합물	적량
[0086]	황산제1철	1.75 ㎎
[0087]	산화아연	0.82 ㎎
[0088]	탄산마그네슘	25.3 ㎎
[0089]	제1인산칼륨	15 ㎎
[0090]	제2인산칼슘	55 ㎎
[0091]	구연산칼륨	90 ㎎
[0092]	탄산칼슘	100 ㎎
[0093]	염화마그네슘	24.8 ㎎

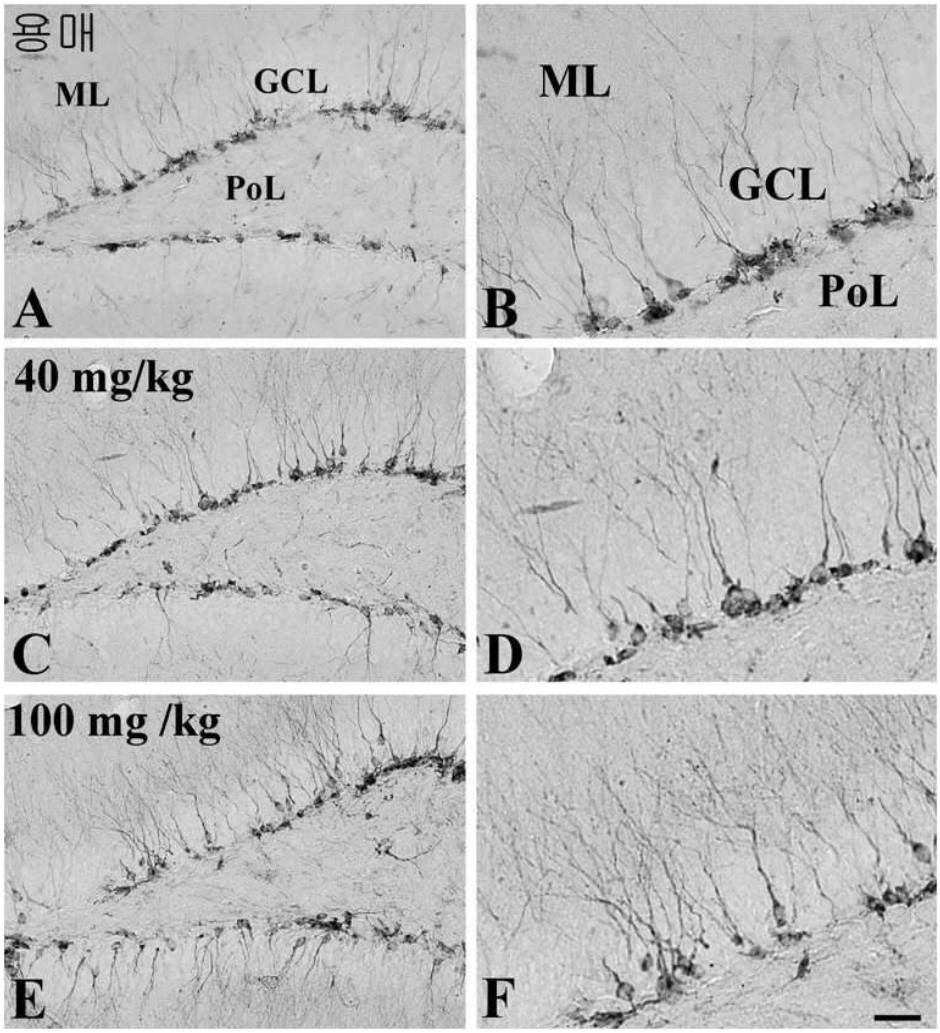
[0094] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

도면

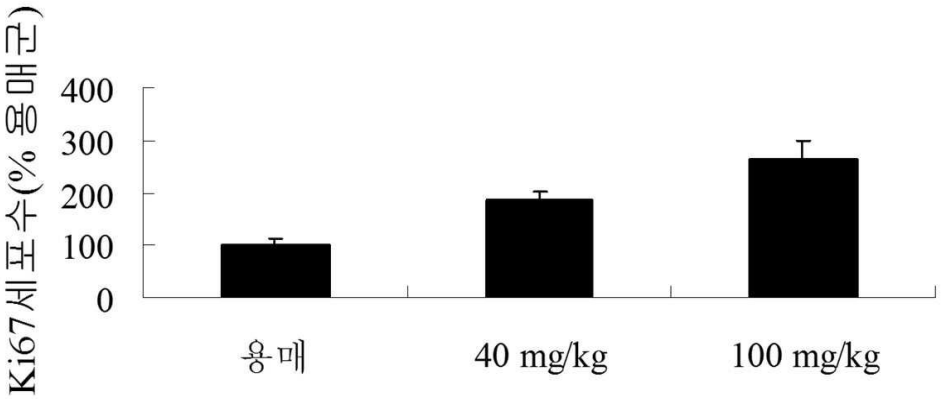
도면1



도면2


용매
ML
GCL
PoL
A
ML
GCL
PoL
B
40 mg/kg
C
D
100 mg /kg
E
F

도면3


Ki67세포수(% 용매군)
400
300
200
100
0
용매
40 mg/kg
100 mg/kg

도면4

