



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0169920
(43) 공개일자 2023년12월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/125 (2016.01) A61K 31/704 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/125 (2020.05)
A61K 31/704 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0175897(분할)
(22) 출원일자 2023년12월06일
심사청구일자 2023년12월06일
(62) 원출원 특허 10-2020-0148925
원출원일자 2020년11월09일
심사청구일자 2020년11월09일
(30) 우선권주장
1020190141870 2019년11월07일 대한민국(KR)

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
김윤희
서울특별시 강남구 삼성로51길 37 대치동 래미안 대치팰리스 107동 1301호(대치동, 래미안 대치 팰리스(1단지))
권혁만
경기도 수원시 팔달구 영통동 1036-5 201호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

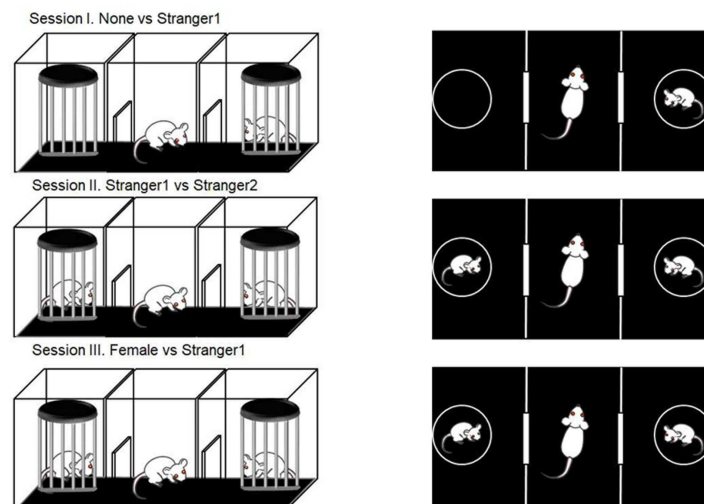
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 소야사포닌-I 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 신경정신질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 소야사포닌-I(soyasaponin-I)을 포함하는 신경정신질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 소야사포닌-I은 자폐증 모델에서 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하고 시냅스 재생을 촉진하여 사교성 및 사회적 인지 능력 저하를 개선하는 바, 신경정신질환, 특히 사교성 결핍을 보이는 신경정신질환의 예방, 치료 또는 개선 용도로 제공될 수 있다.

대표도 - 도4a



(52) CPC특허분류

A61P 25/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/322 (2013.01)

김정희

서울특별시 강남구 학동로68길 30 102동 701호 (삼성동, 삼성동중앙하이츠빌리지)

(72) 발명자

이혜미

서울특별시 동대문구 회기로12길 33 1층 A호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711112253
과제번호	2019R1A2C1006630
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	기초과학 중견연구
연구과제명	mTORC2 활성 저해를 통한 자폐 증상 제어 연구
기 여 율	1/3
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711105810
과제번호	2017M3A9B3061952
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	원천기술개발사업/바이오·의료기술개발사업
연구과제명	중추신경질환 치료를 위한 미세환경 적중기술 개발 및 실용화
기 여 율	1/3
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2017.06.30 ~ 2022.06.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711092058
과제번호	2017R1A2B4003355
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	생명과학단 중견연구
연구과제명	eIF2 α의 선제적 인산화에 의한 항염증 효과에 관한 연구
기 여 율	1/3
과제수행기관명	한국외국어대학교
연구기간	2017.03.01 ~ 2020.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

소야사포닌-I 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 자폐증 또는 ADHD의 예방 또는 개선용 식품 조성물로서,

상기 소야사포닌-I은 사교성 또는 사회적 인지 능력을 개선하는 것인, 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 식품은 건강기능식품인 것인, 식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 소야사포닌-I은 해마에서 시냅스 형성을 촉진하는 것인, 식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 소야사포닌-I은 콜린성 또는 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하는 것인, 식품 조성물.

청구항 5

소야사포닌-I 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 자폐증 또는 ADHD의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로,

상기 소야사포닌-I은 사교성 또는 사회적 인지 능력을 개선하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 소야사포닌-I은 해마에서 시냅스 형성을 촉진하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 소야사포닌-I은 콜린성 또는 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항의 조성물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 자폐증 또는 ADHD의 예방 또는 치료 방법.

발명의 설명

기술분야

- [0001] 본 발명은 소야사포닌-I 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 신경정신질환의 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [0003] 신경정신질환(neuropsychologic disease)이란 뇌 신경전달물질의 불균형과 유전·사회적·환경적 요인이 복합적으로 작용해 사고와 감정, 행동에 이상이 생긴 상태를 의미하며, 우울증, 불안장애, 조현병, 의존증, 뇌전증, 자폐증, ADHD(Attention Deficit Hyperactivity Disorder), 뇌발달장애, 정신지체 등이 주요 신경정신질환에 해당한다.
- [0004] 자폐증 등 중증 신경정신질환은 현대 사회에서 크게 증가하고 있다. 특히 최근 연구에서는 한국에서 자폐증이 2.6%까지 증가하였으며 이는 주로 부모 중 부계의 나이, 담배 및 알콜 섭취 등 현대 사회의 스트레스 증가가 원인인 것으로 분석된 바 있다. 자폐증, ADHD, 뇌발달장애, 정신지체 등 사회성 결핍 신경발달장애 환자의 경우 해마(hippocampus)의 세포층이 얇아진 것이 진단되므로, 해마 세포의 재생을 촉진함으로써 병증을 근본적으로 치료할 수 있다. 이에, 많은 제약회사가 이의 치료 약물과 치료법을 개발하기 위해 연구개발 중이나 아직 상업화된 것이 없는 실정이다.
- [0005] 해마는 직접적이고 연속적으로 내후각 피질에 연결되어 있는 하위 영역으로 구성된다. 내후각 피질은 NMDA 수용체를 통해 중요한 흥분성 입력을 치아 이랑(dentate gyrus, DG)의 과립 뉴런으로 전달한다. 경험 의존적인 등쪽(dorsal) 해마는 공간 기억과 관련이 있고 배쪽(ventral) 해마 영역은 불안이나 감정적 반응과 관련이 있다. 사회적 행동은 개인이 동일한 중에서 인식될 때 발생하는 접근, 조사, 공격 및 마운팅(mounting)과 같은 다양한 종류의 상호 작용에 대한 일반적인 용어이다. 다른 개인과의 사회적 인식과 친밀감은 사회적 행동의 전제 조건이다. 사회적 행동 반응을 위한 여러 가지 기본 신경 회로가 주로 후각 기관과 시상 하부(hypothalamus)에 의해 생쥐에서 연구되었다. 설치류는 또한 해마의 완전성에 의존하는 사회적 인지 기억을 보여주는 것으로 나타났다. 해부학적으로, 더 높은 감각 정보는 내후각 피질로부터 DG, 해마 내부의 하위 필드(subfield)로서 피라미드 세포(pyramidal cells)가 모여있는 CA3(Cornu Ammonis 3) 및 CA1(Cornu Ammonis 1) 하위 영역에 지속적으로 도달한다. 다른 연구에서 CA3-NR1 KO 마우스를 사용한 해마 활성화에서 냄새 특정 경험의 변화는 CA3 NMDA 수용체와 관련이 있는 것으로 입증되었다(K. Kent., et al., CA3 NMDA receptors are required for experience-dependent shifts in hippocampal activity, *Hippocampus*, 02 July 2007, 17(10):1003-1011). 또한, 20 년 동안 해마 축의 연결성, 처리 가변성 및 복잡성이 분명해짐에 따라 후각이 설치류에서 사회적 정보가 형성되고 전달되는 주된 감각이라는 점을 감안할 때, 사회적 측면과 관련된 기억의 초기 처리 및 인코딩에 복부 CA3가 관련되어 있다고 보고되었다(Moser EI., et al., Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annu Rev Neurosci* 31:69-89. 2008; Fanselow MS, (2010) From contextual fear to a dynamic view of memory systems. *Trends Cogn Sci* 14:7-15.; Jones, MW., & McHugh, TJ. (2011). Updating hippocampal representations: CA2 joins the circuit. *Trends in Neurosciences*, 34, 526 - 535.; Strange BA., et al. Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nat. Rev. Neurosci.* 2014;15:655-669.).
- [0006] 한편, 소야사포닌(Soyasaponin)은 소야사포제놀(soyasapogenol)과 같은 다양한 화학적 및 당 사슬 구조이며 하나 또는 두 개의 다당류 사슬을 가진 올레이트(oleate)형 아글리콘을 갖는 트리 테르펜 배당체(triterpene glycoside)로 구성된다. 최근 대두 사포닌은 여러모로 주목을 받고 있다. 소야사포닌-I(소야사포닌-B)는 항암 효과, 항 바이러스, 간 보호, 항산화, 항염, 항 돌연변이 생리 활성, 항 대장염(colitic), 간 보호 및 에스트로겐 유사 효과를 가지는 것으로 알려져 있다. 그러나, 아직까지 자폐증, ADHD, 뇌발달장애, 정신지체 등 사회성 결핍 신경발달장애를 나타내는 신경정신질환으로 인한 사교성 및 사회적 인지 능력 저하에 대한 소야사포닌의 효과에 대해서는 알려진 바 없다.
- [0007] 이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 신경정신질환으로 인한 사교성 및 사회적 인지 능력의 저하를 개선하기 위해 예의노력하던 중, 소야사포닌-I가 신경정신질환으로 인한 사교성 및 사회적 인지 능력 저하에 대해 개선 효과가 있는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명의 하나의 목적은 소야사포닌-I 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 신경정신질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 조성물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 것을 포함하는 신경정신질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 하나의 목적은 소야사포닌-I 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 신경정신질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 다른 하나의 목적은 소야사포닌-I 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 신경정신질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 이하에서는, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 한편, 본 발명에서 개시되는 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술되는 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 할 수 없다. 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 발명에 기재된 본 발명의 특정 양태에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.
- [0016] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는 소야사포닌-I 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 신경정신질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0018] 본 발명에서 용어, "신경정신질환(neuropsychologic disease)"은 뇌 신경전달물질의 불균형과 유전·사회적·환경적 요인이 복합적으로 작용해 사고와 감정, 행동에 이상이 생긴 상태를 의미하며, 신경정신질환에 속하는 우울증, 불안장애, 조현병, 의존증, 뇌전증, 자폐증, ADHD(Attention Deficit Hyperactivity Disorder), 뇌발달장애, 정신지체 등이 주요 신경정신질환에 해당한다. 특히, 자폐증, ADHD, 뇌발달장애, 정신지체 등 사회성 결핍 신경발달장애 환자의 경우 해마(hippocampus)의 세포층이 얇아진 것이 진단되는 것으로 알려져 있다.
- [0019] 본 발명에 있어서, 상기 신경정신질환은 우울증, 불안장애, 조현병, 의존증, 뇌전증, 자폐증, ADHD, 뇌발달장애 및 정신지체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 본 발명에서 용어, "소야사포닌(Soyasaponin)"은 소야사포제놀(soyasapogenol)과 같은 다양한 화학적 및 당 사슬 구조이며 하나 또는 두 개의 다당류 사슬을 가진 올레에이트(oleate)형 아글리콘을 갖는 트리 테르펜 배당체(triterpene glycoside)로 구성된다. 소야사포닌의 일종인 소야사포닌-I(소야사포닌-B)는 항암 효과, 항 바이러스, 간 보호, 항산화, 항염, 항 돌연변이 생리 활성, 항 대장염(colitic), 간 보호 및 에스트로겐 유사 효과를 가지는 것으로 알려져 있다. 본 발명에 있어서, 상기 소야사포닌-I는 콩(대두)으로부터 유래하는 것일 수 있으나, 상기 콩 외 다른 식물로부터 분리 또는 화학적으로 합성된 소야사포닌-I를 배제하는 것이 아니며, 산업적으로 사용가능한 소야사포닌-I 라면 제한 없이 포함할 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 소야사포닌-I 뿐만 아니라 소야사포닌-I의 약학적으로 허용 가능한 염을 추가로 포함할 수 있다. 상기 염의 종류는 특별히 제한되지는 않는다. 다만, 개체, 예컨대 포유류에게 안전하고 효과적인 형태인 것이 바람직하나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 상기 용어, "약학적으로 허용 가능한"은 의약학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 또는 알레르기 반응

등을 유발하지 않고 원하는 용도에 효과적으로 사용 가능한 물질을 의미한다.

- [0025] 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"이란 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨, 칼륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 소야사포닌-I를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 이때, 상기 조성물에 포함되는 소야사포닌-I의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 90 중량%로, 바람직하게는 0.001 중량% 내지 50 중량%를 포함할 수 있다.
- [0027] 상기 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있으며, 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 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. 경구투여를 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. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다.
- [0030] 본 발명에서 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수해/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 약학적 조성물은 1일 1 내지 50mg/kg으로, 바람직하게는 1 내지 10mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 다양한 포유동물에 다양한 경로로 투여할 수 있으며, 투여의 방식은 당업계의 통상적인 방법이라면 제한없이 포함하며, 예를 들어, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0031] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 인간에 적용되는 의약품뿐만 아니라, 동물 의약품의 형태로도 사용될 수 있다.
- [0033] 상기 소야사포닌-I은 콜린성 또는 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하는 것일 수 있다.
- [0034] 상기 소야사포닌-I은 해마에서 시냅스 형성을 촉진하는 것일 수 있다.
- [0035] 또한, 상기 소야사포닌-I은 사교성 또는 사회적 인지 능력을 개선하는 것일 수 있다.
- [0036] 본 발명의 일 구현예에서는 이보텐산(Ibotenic acid, IBO)에 의해 유도되는 자폐증 모델을 제작하고 이를 이용하여 소야사포닌-I의 사교성 및 사회적 인지 능력 저하 개선 효과를 확인하였다.

- [0037] 상기 IBO는 쥐의 뇌내에 주입시 선조체(striatum), 해마(hippocampus) 형성, 흑질(substantia nigra) 및 조롱박피질(piriform cortex)의 뉴런을 손상시키는 화합물으로써, 이를 투여함으로써 자폐증을 유도할 수 있으며 (Miyuki Sadamatsu, Congenital Anomalies 2006; 46, 1-9, Review of animal models for autism: implication of thyroid hormone), 이외에도 해마의 손상과 관련된 ADHD, 뇌발달장애, 정신지체 등 사회성 결핍 신경발달장애를 유도할 수 있다.
- [0038] 구체적으로, 2 개 사물의 새로운 사물 인식 테스트(2-Object novel object recognition task, NOR) 행동 실험에서 상기 자폐증 모델은 IBO가 투여됨에 따라 인식 기억 및 호기심이 감소하였으나, 소야사포닌-I(Soya 98 %) 투여군은 인식 기억 및 호기심이 회복되었다(도 2).
- [0039] 열린 필드 테스트 및 3 개의 챔버에서의 행동 실험에서 상기 자폐증 모델은 IBO가 투여됨에 따라 사교성 및 사회적 성 선호도가 감소하였으나, Soya 98 % 투여군은 사교성 및 사회적 성 선호도가 회복되었다(도 3 및 4).
- [0040] 또한, 상기 자폐증 모델은 IBO가 투여됨에 따라 뇌내 배쪽 해마의 CA3에서 뉴런, 신경교세포, 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 수가 감소하였으나, Soya 98 % 투여군은 상기 뉴런, 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 수가 증가하고 글루타메이트성 뉴런의 시냅스 수가 증가하여 시냅스와 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 재생이 촉진되는 것을 확인하였다(도 5 및 6).
- [0041] 이와 같이, 본 발명은 소야사포닌-I이 자폐증 모델에서 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하고 시냅스 재생을 촉진하여 사교성 및 사회적 인지 능력 저하를 개선함으로써 신경정신질환, 특히 사회성 결핍을 보이는 신경정신질환의 예방 또는 치료에 효과가 있음을 최초로 밝힌 것에 의의가 있다.
- [0042]
- [0043] 본 발명에서 용어, "예방"은 상기 조성물의 투여에 의해 신경정신질환을 억제하거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "치료"는 상기 조성물의 투여에 의해 신경정신질환에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0045] 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신경정신질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.
- [0046] 여기에서 사용되는 용어는 전술한 바와 같다.
- [0048] 본 발명에서 용어, "개체"는 신경정신질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 제외한 모든 동물을 의미하며, 본 발명의 약학적 조성물을 신경정신질환의 의심 개체에 투여함으로써, 개체를 효율적으로 치료할 수 있다.
- [0049] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 신경정신질환의 의심 개체에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 투여 경로는 표적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있으며, 이에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [0051] 본 발명의 약학적 조성물은 신경정신질환을 예방 또는 치료 목적으로 하는 개체이면 특별히 한정되지 않고, 어떠한 개체에도 적용가능하다. 예를 들면, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등과 같은 비인간동물, 조류 및 어류 등 어느 것이나 사용할 수 있으며, 상기 약학적 조성물은 비 경구, 피하, 복강 내, 폐 내 및 비강 내로 투여될 수 있고, 국부적 치료를 위해, 필요하다면 병변 내 투여를 포함하는 적합한 방법에 의하여 투여될 수 있다. 본 발명의 상기 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0053] 본 발명의 다른 하나의 양태는 소야사포닌-I 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 신경정신질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

- [0054] 여기에서 사용되는 용어는 전술한 바와 같다.
- [0056] 본 발명에서 용어, "개선"은 상기 조성물을 이용하여 신경정신질환의 의심 및 발명 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 말한다.
- [0057] 본 발명의 식품 조성물은 소야사포닌-I 뿐만 아니라 소야사포닌-I의 식품학적으로 허용 가능한 염을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물에 포함될 수 있는 식품학적으로 허용 가능한 염은 식품학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성되는 산부가염 또는 염기에 의해 형성되는 금속염이 유용하다. 하나의 예로, 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있다. 무기산으로는 염산, 황산, 브롬산, 아황산 또는 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 말레인산, 푸마산, 글루콘산, 메탄술폰산 등을 사용할 수 있다. 또한, 금속염으로는 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속염, 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 사용할 수 있다. 그러나 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0058] 본 발명의 식품 조성물은 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 상기 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있다.
- [0059] 본 발명의 식품 조성물에 포함할 수 있는 성분으로는, 필수 성분으로 유효성분을 함유하는 외에 다른 성분에는 특별히 제한이 없으며 통상의 식품과 같이 여러 생약 추출물, 식품 보조 첨가제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 식품 조성물에서 유효성분의 함량은 사용 목적(예방, 개선 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 이때, 상기 조성물에 포함되는 유효성분의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 조성물 총 중량에 대하여 0.01 중량% 내지 20 중량%로, 바람직하게는 1 중량% 내지 10 중량%를 포함할 수 있다.
- [0060] 또한, 상기 식품 보조 첨가제는 당업계에 통상적인 식품 보조 첨가제, 예를 들어 향미제, 풍미제, 착색제, 충전제, 안정화제 등을 포함할 수 있다.
- [0061] 상기 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 이외에 향미제로서 천연 향미제(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [0062] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충전제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일즙스 및 과일 즙스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [0063] 본 발명에서 상기 건강보조식품은 건강기능식품 및 건강식품 등을 포함할 수 있다.
- [0064] 상기 건강 기능(성) 식품(functional food)이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 "기능(성)"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다.
- [0065] 본 발명의 식품 조성물을 포함하는 식품은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나다.
- [0067] 본 발명의 다른 하나의 양태는 소야사포닌-I 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 신경정신질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다.

- [0068] 여기에서 사용되는 용어는 전술한 바와 같다.
- [0070] 본 발명에서 용어, "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미한다.
- [0071] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박 류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0073] 본 발명의 사료 조성물은 포유류, 가금류, 어류 및 갑각류를 포함하는 다수의 동물 식이 즉, 사료에 적용할 수 있다. 구체적으로, 상업용으로 중요한 돼지, 소, 염소 등의 포유류, 코끼리, 낙타 등의 동물원 동물, 개, 고양이 등의 가축에게 사용할 수 있다. 상업적으로 중요한 가금류에는 닭, 오리, 거위 등이 포함되며, 송어와 새우와 같은 상업적으로 사육되는 어류 및 갑각류를 포함 할 수 있다.
- [0075] 본 발명의 사료 조성물은 투여를 위해서 소야사포닌-I 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염 이외에 추가로 구연산, 푸마르산, 아디프산, 젖산 등의 유기산; 인산칼륨, 인산나트륨, 중합 인산염 등의 인산염; 폴리페놀, 카테킨, 토코페롤, 비타민 C, 녹차 추출물, 키토산, 탄닌산 등의 천연 항산화제 중 1종 이상을 혼합하여 사용할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 또는 율활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.
- [0076] 또한, 본 발명의 사료 조성물은 보조성분으로 아미노산, 무기염류, 비타민, 항산화제, 향진균제, 항균제 등과 같은 각종 보조제 및 분쇄 또는 과쇄된 밀, 보리, 옥수수 등의 식물성 단백질 사료, 혈분, 육분, 생선분 등의 동물성 단백질 사료, 동물성 지방 및 식물성 지방 같은 주성분 이외에도 영양 보충제, 성장 촉진제, 소화 흡수 촉진제, 질병 예방제와 함께 사용될 수 있다.
- [0078] 상기 사료용 조성물은 사료 첨가제를 포함할 수 있다. 본 발명의 사료 첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당한다.
- [0080] 본 발명의 사료 조성물을 사료 첨가물로 사용할 경우, 상기 사료 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 사료 조성물의 투여 형태는 비독성 제약상 허용 가능한 담체와 조합하여 즉시 방출 또는 서방성 제형으로 제조할 수 있다. 이러한 식용 담체는 옥수수 전분, 락토스, 수크로스, 프로필렌 글리콜일 수 있다. 고체형 담체의 경우에는 정제, 산제, 토로키제 등의 투여 형태일 수 있으며 액체형 담체의 경우에는 시럽제, 액체 현탁액제, 에멀전제, 용액제 등의 투여 형태일 수 있다. 또한, 투여제는 보존제, 윤화제, 용액 촉진제, 안정화제를 함유할 수 있으며 다른 질환의 예방, 치료 또는 개선상 유용한 물질을 함유할 수도 있다.

발명의 효과

- [0082] 본 발명에 따른 소야사포닌-I(Soyasaponin-I)은 자폐증 모델에서 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하고 시냅스 재생을 촉진하여 사교성 및 사회적 인지 능력 저하를 개선하는 바, 신경정신질환, 특히 사회성 결핍을 보이는 신경정신질환의 예방, 치료 또는 개선 용도로 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0084] 도 1은 약물 투여 기간 동안의 실험 모식도(A) 및 체중 증가 패턴을 나타낸 도(B)이다.

도 2는 새로운 사물 인식 테스트(2-Object novel object recognition task, NOR) 테스트 결과를 나타낸 그래프이다. 목표 영역에서 보낸 시간은 IBO 군에서 Sham 군의 약 53%(48 초)로 감소하였으며, Soya 98% 투여군과 Don 투여군에서 IBO 군에 비해 약 1.7배 증가하였다(* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 IBO 군 대비, ## p <0.01 Sham 군 대비). 3은 소야사포닌 투여 후 사회성을 조사하기 위해 열린 공간에서 행동 측정한 결과, IBO 군에서 사회적 상호 작용 영역에서의 접촉 시간은 Sham 군보다 유의하게 짧았으며, IBO투여군에 비해 Soya 98% 투여군에서 접촉 시간이 크게 증가하였다(* p <0.05 IBO 군 대비, #p <0.05 Sham 군 대비).

도 4는 소야사포닌 투여 후 사회성과 사회적 인식 정도를 측정하기 위해 3 개의 챔버 실험을 수행하였다. (A) 3 개의 챔버 설계 및 구역을 나타낸 모식도이다. (B) 세션 I에서 측정된 이동 경로 및 그래프이다. 낮선 쥐 1의 원통 우리에서 보낸 시간을 빈 우리에서 보낸 시간과 비교했을 때 IBO 군은 Sham 군의 약 60%로 현저한 감소를 나타내었다. 또한 Soya 98% 투여군과 Don군에서는 Sham군보다도 더 증가하였다(* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 IBO 군 대비, ## p <0.01 Sham 군 대비). (C) 세션 II에서 측정된 이동 경로 및 그래프이다. 처음 만난 낮선 쥐 2가 있는 구역에서 보낸 시간은 IBO 군에서 Sham 군의 약 57%로 (110 초) 감소하였다. 낮선 쥐 1(session1에서 만났던 쥐)과 낮선 쥐 2 사이의 시간차는 IBO 군에 비해 Soya 98% 투여군에서 유의하게 증가하였다(* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 IBO 군 대비, #p <0.05, ### p <0.001 Sham 군 대비). (D) 사회적 성적 선호도를 측정하기 위한 세션 III에서 IBO 군은 암컷 구역에서 보낸 시간이 Sham 군의 약 66%로 단축되었고, Soya 98 % 투여군은 IBO 군에 비해 약 1.4배 증가되었고 Don 투여군은 1.8배 증가하였다(* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 IBO 군 대비, ## p <0.01 Sham 군 대비).

도 5는 소야사포닌 투여 후 배쪽 해마 CA3의 뉴런과 신경교세포의 변화를 나타낸 도이다(A-B). (A) 배쪽 해마 CA3의 뉴런은 신경세포의 핵을 염색하는 NeuN 항체로, 신경교세포는 GFAP로 형광염색하고, 전체 세포핵은 DAPI로 염색하였다. (B) 배쪽 CA3에서 NeuN 양성 세포는 IBO 군에서 Sham rns의 약 40% 로 현저히 감소하였으며 (Sham 군에 비해 #p <0.01), Soya 98% 투여군 및 Don 투여군은 IBO 군에 비해 1.7배 이상 크게 증가하였고(Ibo 군에 비해 #p <0.05), 신경교세포 마커인 GFAP는 유의한 차이를 보이지 않았다.

도 6A 및 B는 소야사포닌 투여 후 배쪽 해마 CA3의 콜린성 뉴런과 글루타메이트성 뉴런의 변화를 나타낸 도이다. (A) 배쪽 해마 CA3의 콜린성 뉴런은 ChAT 효소에 대한 항체로, 글루타메이트성 뉴런은 vesicular Glutamate transporter(vGluT1)에 대한 항체로 형광 염색하였다. (B) ChAT 양성 세포의 경우 IBO 군은 Sham 군에 비해 40% 이하로 현저하게 감소하였고(Sham 군에 비해 #p <0.001), IBO 군에 Soya 98%를 투여하거나 Don 투여군에서 거의 Sham군과 유사한 수준으로 증가하였다(Ibo군에 비해 #p <0.05). vGluT1 발현 세포는 IBO 군이 Sham 군의 50% 정도로 감소하였으며(Sham 군에 비해 #p <0.001), Soya 98% 투여군(약 1.8배) 및 Don 투여군(약 1.6배)은 IBO 군에 비해 크게 증가하였다(Ibo군에 비해 #p <0.01).

도 6C 및 D는 소야사포닌 투여 후 배쪽 해마에서 글루타메이트성 뉴런의 시냅스 형성 정도를 나타낸 도이다. (C) 시냅스 형성 정도는 시냅스 전 신경에서 발현하는 시냅신(synapsin)-I에 대한 항체로 형광염색하여 변화를 나타냈다. (D) 배쪽 해마 CA3에서 글루타메이트성 뉴런의 시냅스 형성은 Ibo군에서 5배 이상 감소하였고(Sham군에 비해 ** p <0.05), Soya 98% 투여군은 IBO 군에 비해 4배 이상 증가하였으며(Ibo군에 비해 #p <0.01), Don 투여군에서는 Sham군보다 더 크게 증가했다(Ibo군에 비해 #p <0.001).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0085] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0087] 실시예 1. 이보텐산(Ibotenic acid, IBO)에 의해 유도되는 자폐증 모델 제작

[0088] 이전 연구에서 이보텐산(Ibotenic acid, IBO)을 이용해 마우스에서 해마의 여러 부위에 손상을 주고 사회적 인지 능력을 확인하거나(Kogan et al, Hippocampus 2000; 10: 47-56, Long-Term Memory Underlying Hippocampus-Dependent Social Recognition in Mice), 배측 해마가 사회성과 관련이 있다고 보고한 논문도 있으며(May-Britt Moser and Edvard I. Moser, Hippocampus 1998, 8:608-619, Functional Differentiation in the Hippocampus), IBO에 의해 유도되는 자폐증 동물모델이 알려져 있는 바(Miyuki Sadamatsu, Congenital Anomalies 2006; 46, 1-9, Review of animal models for autism: implication of thyroid hormone), 이에 따

라 측뇌에 IBO를 3군데 정위 주입하여 자폐증 모델을 제작하였다.

[0089] 6주령 수컷 스프라그-돌리(Sprague-Dawley) 흰쥐(200~250 g)는 오리엔트 동물 사육 센터(경기도 찰스 리버 연구소)에서 구입하였다. 흰쥐는 사회적 스트레스를 피하기 위해 우리당 2~3 마리씩 무작위로 수용하였다. 사육 조건은 일정한 온도($23 \pm 2^\circ\text{C}$), 습도($60 \pm 10\%$) 및 12 시간의 명암주기를 유지하였으며 물과 사료에 자유롭게 접근할 수 있도록 하였다.

[0090] 흰쥐에 내후각 피질(entorhinal cortex)에서 입력되는 신경 신호를 수신하는 치아 이랑(dentate gyrus, DG)의 과립 세포와 해마 CA 영역의 피라미드 세포를 파괴하는 IBO를 내후각 피질에 정위 투여하여 자폐증 모델을 제작하였다. 구체적으로, 흰쥐를 에퀴텐신(equitensin)(350mM 펜토바르비탈 나트륨(pentobarbital sodium), 250mM 염소 수화물(chloral hydrate), 85 mM MgSO 및 40 % 프로필렌 글리콜(propylene glycol)을 포함하는 10 % 에탄올)로 마취시켰다. 정위 장치(stereotaxic device, Stoelting Co., U.S.A.)의 절치대(incisor bar)를 이간선(interaural line) 아래 3.4 mm에 배치하고 주사 바늘 각도를 시상면(sagittal) 중앙에서 오른쪽으로 10 위치에 고정하였다. 정위 장치를 사용하여 흰쥐 내후각 피질에 IBO(1 mg/ml)를 1.5 μl 씩 3 부위에 주입하였다. IBO는 첫 번째, AP : -8.4, ML : -4.8, DV : -4.6; 두 번째, AP : -8.4, ML : -4.8, DV : 2.3; 세 번째, AP : -8.8, ML : -3.65, DV : -3.4의 3 개 위치에 주입되었다.

[0091] 상기 2~3 번의 IBO 주입 후 무작위로 Sham 군(음성대조군), IBO 군(양성대조군), Soya 98%(소야사포닌-I(Soyasaponin-I) 순도 98%) 투여군, Don(도네페질(donepezil)) 투여군으로 각 rns를 분류하였다. IBO군, Soya 98%군, Don군은 측뇌 내후각 피질에 IBO를 정위 주입한 후, 일주일 동안의 휴식 기간을 제공하였으며 그 후 각 약물은 7 일 동안 경구 투여하였다. Sham 군과 IBO 군은 식염수를 경구 투여하였고, Soya 98% 투여군은 10mg/kg의 soya 98%를 투여하였으며, Don 투여군은 1mg/kg의 도네페질을 투여하였다.

[0093] 실시예 2. 소야사포닌 투여에 따른 체중 변화

[0094] IBO에 의해 유도된 자폐증 모델에서 소야사포닌의 효과를 확인하기 위해, 6주령 쥐에 IBO를 주입하고 1 주일 동안 휴식기를 준 다음 1 주일 동안 실시예 1의 약물을 각각 경구 투여하였다(도 1A). 약물 투여 중 체중을 측정하고 그 결과를 그래프로 나타내었다.

[0095] 그 결과, 1 주일 동안 평균 체중에서 Sham 군($306.12 \pm 5.41\text{g}$), IBO 군($297.27 \pm 4.46\text{g}$), Soya 98 % 투여군($308.94 \pm 5.41\text{g}$), Don 투여군($295.66 \pm 5.18\text{g}$) 사이에 유의한 차이가 없음을 확인하였다(도 1B). 이에, 실시예 1의 약물 투여에 따른 건강 문제가 없음을 확인하였다.

[0097] 실시예 3. 소야사포닌 투여에 따른 호기심 회복

[0098] IBO에 의해 유도된 자폐증 모델을 이용하여 소야사포닌이 인식 기억 및 호기심 회복에 영향을 미치는지를 행동 실험을 통해 확인하였다. 구체적으로, 인식 기억 및 호기심을 확인하기 위해 2 개 사물의 새로운 사물 인식 테스트(2-Object novel object recognition task, NOR)를 수행하였다.

[0099] NOR은 검은 색 아크릴로 구성된 마우스 열린 필드 경기장($100 * 100 * 40\text{cm}$)에서 두 개의 사물을 이용하여 수행되었으며, 이를 통해 설치류의 인식 기억 및 호기심을 평가하였다. 마우스를 환경에 적응시키기 위해 경기장에서 10 분 동안 자유롭게 움직이도록 한 다음 10 분 동안 두 개의 동일한 물체에 접근하도록 유도하였다. 1 시간 후 익숙해진 경기장과 익숙해진 사물, 새로운 사물에 노출시켰다. 각 개체 영역을 검색하는 데 소요된 경로와 시간은 ethovision 3.1 프로그램으로 분석하였다. 새 사물이 위치한 영역에 머무른 시간이 기록되었고 진입선은 우리(cage) 기준 10cm 둘레로 설정하였다.

[0100] 그 결과, NOR의 표적 구역에서 보낸 시간은 Sham 군은 104.64 ± 12.28 , IBO 군은 55.96 ± 8.88 , Soya 98 % 투여군은 94.54 ± 8.67 , Don 투여군은 95.31 ± 12.68 이었다(도 3A). 표적 구역에 머무른 시간은 Sham 군에 비해 IBO 군에서 상당히 감소하였으며($p = 0.002$), IBO 군에 비해 Soya 98 % 투여군($p = 0.003$) 및 Don 투여군($p = 0.011$)에서 크게 증가하였다(도 2).

[0101] 상기의 행동 테스트를 통해 IBO 군은 자폐증 발현에 의해 인식 기억 및 호기심이 감소한 것과 대조적으로, Soya 98 % 투여군과 Don 투여군은 자폐증 발현에 의한 인식 기억 및 호기심이 회복된 것으로 확인되었다.

[0103] **실시예 4. 소야사포닌 투여에 따른 사회성과 사회적 인식 행동 회복**

[0104] IBO에 의해 유도된 자폐증 모델의 사회성과 사회적 인식의 결핍이 소야사포닌을 투여했을 때 회복될 수 있는지를 행동 측정을 통해 확인하였다. 구체적으로, 열린 필드 테스트에서 사회성을 실험하였다(도 3).

[0105] 흰쥐를 30 분 동안 기록 환경에 적응시킨 후, 10 분 동안 블랙 아크릴로 구성된 열린 필드 테스트 공간에 적응시켰다. 낮선 쥐를 후각과 최소한의 접촉을 허용하는 원통형 우리에 넣고 도 3과 같이 테스트 공간에 배치하였다. 시험 대상 쥐의 움직임을 10 분 동안 기록하고 ethovision 3.1 프로그램으로 분석하였다. 그리고 낮선 쥐가 놓인 원통 주변 10cm를 설정하여 사회성을 측정하였다.

[0106] 그 결과, 표적 구역에서 보내는 시간이 Sham 군은 266.62 ± 13.60 이었고 IBrns그룹은 201.48 ± 23.63 으로 Sham 군에 비해 크게 감소한 것으로 나타났다($p = 0010$). 반면, Soya 98 % 투여군은 257.72 ± 11.47 로 IBO rns에 비해 표적 구역에서 보내는 시간이 크게 증가하였다($p = 0.044$). rnsn 그룹은 250.04 ± 26.60 으로 IBrns그룹에 비해 증가했지만 유의미하지 않았다.

[0108] 사회성, 사회적 인식 및 사회적 성적 선호도를 확인하기 위한 3 개의 챔버 실험은 실험 장소는 투명한 아크릴 벽으로 이루어지고 작은 문이 있는 3 개의 챔버로 구성되고 각 챔버는 길이 50cm x 폭 100cm x 높이 50cm이었다. 원통형 우리를 통해 시험 대상 쥐의 낮선 쥐에 대한 후각 및 최소 접촉을 허용하였다. 시험 전에 시험 대상 쥐는 중간 챔버에 배치되었고 양쪽 문을 닫고 5 분 동안 적응시켰다. 테스트는 세션 I, II 및 III으로 나누어 수행하였다(도 4a).

[0110] 1) 세션 I: 빈 공간(none) vs 낮선 쥐 1(stranger1)

[0111] 사회성을 확인하기 위해, 두 개의 원통형 우리를 각 가장자리 챔버에 배치하되, 하나는 낮선 쥐가 있고 다른 하나는 비어 있도록 하였다. 시험 대상 쥐는 중간 챔버에 배치되었고 3 개의 챔버에서 자유롭게 이동하였으며 10 분 동안 2 개의 우리에 접근할 수 있었다. 쥐의 움직임은 기록되어 ethovision 3.1프로그램을 통해 빈 공간과 낮선 쥐 1영역으로 나뉘 각 영역에서 보낸 시간이 측정되었다(도 4b).

[0113] 2) 세션 II: 낮선 쥐 1 vs 낮선 쥐 2

[0114] 새로운 대상에 대해 새로운 사회성을 구축하고 이미 사회성을 형성한 대상에 대한 사회적 인식 능력을 분석하기 위해, 세션 I에서 새로웠던 우리에 새로운 쥐를 추가하여 낮선 쥐 2를 추가하였다. 시험 대상 쥐가 세 개의 챔버에 모두 접근할 수 있도록 두 개의 문을 모두 연 후, 시험 대상 쥐를 중간 챔버에 배치하여 10 분 동안 자유롭게 움직이도록 하였다. 쥐의 움직임은 기록되어 ethovision 3.1프로그램을 통해 낮선 쥐 1 및 낮선 쥐 2 영역으로 나누어 분석되었다(도 4c).

[0116] 3) 세션 III: 성적 선호도

[0117] 암컷 쥐에 대한 접촉을 분석하여 성적 선호와 사회적 인식을 확인하기 위해, 암컷 및 수컷(낮선 쥐 1쥐 2를 각 챔버의 원통형 우리에 배치하고 시험 대상 쥐가 더 자주 접촉하는 우리 및 시간을 확인하였다. 쥐의 움직임은 녹화 되어서 ethovision 3.1 프로그램을 통해 세션별 각 우리에 대한 접근 시간 및 빈도로 분석되었다(도 4d).

[0119] 세션 I에서 빈 영역과 낮선 쥐를 포함하는 영역으로 나누어 각 영역에서 보낸 시간으로 분석한 결과, 낮선 쥐 표적 구역에서 보낸 시간은 Sham 군은 216.52 ± 5.41 , IBO 군은 130.56 ± 17.74 로 IBO 군은 Sham 군에 비해 현저하게 감소하였다($p = 0.001$). Soya 98 % 투여군은 247.04 ± 34.34 ($p = 0.000$), Don 투여군은 245.04 ± 36.36 ($p = 0.000$)으로 IBO 군에 비해 낮선 쥐가 있는 구역에서 보낸 시간이 크게 증가하였다(도 4b).

[0120] 세션 II에서 이미 사회성을 형성한 쥐(stranger1)에 비해 새로운 낮선 쥐 2(stranger2)를 인식하여 사회성을 더 잘 형성하는지를 측정한 결과, 낮선 쥐 2 구역에서 보낸 시간은 Sham 군은 259.62 ± 15.01 , IBO 군에서 148.78 ± 17.78 으로, IBO 군이 Sham 군에 비해 상당히 감소하였다($p = 0.000$). Soya 98% 투여군과 Don 투여군은 낮선

쥐 2에서 보내는 시간이 상당히 증가하였다. 한편, 낮선 쥐 1과 낮선 쥐 2에서 보낸 시간을 비교하면 Sham 군은 91.82 ± 8.00 , 259.62 ± 15.01 ($p = 0.000$), Soya 98% 투여군은 110.78 ± 12.48 , 189.38 ± 10.26 ($p = 0.000$)으로 IBO 군에 비해서 크게 증가하였다. Don 투여군에서는 각각 79 ± 8.37 및 195.4 ± 18.16 ($p = 0.000$)이었다(도 4c).

[0121] 세션 III에서 사회적 성 선호도를 확인한 결과, Sham 군은 170.5 ± 12.39 , IBO 군은 113.8 ± 16.12 으로 IBO 투여군에서 암컷 구역에서 보내는 시간이 크게 감소하였으며, Soya 98% 투여군은 160.42 ± 24.06 ($p = 0.032$), Don 투여군은 204.26 ± 25.22 ($p = 0.000$)로 Soya 98% 투여군 및 Don 투여군은 IBO 군에 비해 유의하게 증가하였다(도 4d).

[0122] 이를 통해, 소야사포닌-I의 투여는 사회성과 사회적 인식 행동을 회복시킴을 알 수 있다.

[0124] 실시예 5. 소야사포닌 투여에 따른 배쪽 해마 CA3의 뉴런 변화

[0125] IBO에 의해 유도된 자폐증 모델에서 NeuN 및 GFAP, vGluT1 및 ChAT을 면역염색하여 배쪽 해마 CA3의 뉴런의 변화를 확인하였다. 구체적으로, 쥐를 4 % 파라포름알데히드(paraformaldehyde)로 관류(perfused)하고 뇌를 적출하였다. 뇌를 4 °C에서 4 시간 동안 고정시킨 후 30 % 슈크로스(sucrose)-PBS에서 4 °C에서 48 시간 동안 탈수시켰다. 크라이오 섹션 솔루션(Optimal Cutting Temperature)을 사용하여 뇌를 블록 형태로 냉동하고 -80 °C 냉동고에 보관하였다. 조직을 Cryosection기를 이용하여 30um 두께의 관상 절편으로 제작하고 저장 용액(30 % 글리세롤(glycerol), 30 % 에틸렌 글리콜(ethylene glycol)을 포함하는 PBS)에 넣어서 4 °C 냉장고에 보관하였다. 이후, 0.5 % Triton X-100-PBS에 20 분 동안 투과시키고, 10 % 말과 당나귀 혈청과 3 % BSA, 0.1 % Triton X-100-PBS 용액에 넣고 1 시간 동안 실온에서 항체의 비특이적 결합을 차단한 후, 뉴런 마커인 NeuN (1 : 700), 신경교세포의 마커인 GFAP(glial fibrillary acidic protein) (1 : 700), vGluT1(1 : 700) 또는 ChAT(1 : 200)을 1 차 항체로 첨가하여 4°C에서 16 시간 동안 염색하였다. Alexa 488(1 : 700)을 결합한 2 차 항체를 사용하였고 세포핵은 DAPI(1 : 4000)로 대조 염색하였다. 면역염색된 절편을 공초점 레이저 현미경 (LSM700, Carl zeiss; Oberkochen, Germany)을 사용하여 스캔하고 사진을 찍었다.

[0126] 상기 면역염색은 뇌 AP -5.5 ~ -6.7mm 부위에서 0.3mm마다 뇌 절편을 수집하여 수행되었다. 강도는 Image J 프로그램 사용하여 측정하였다.

[0127] 그 결과, NeuN 양성 세포 수는 Sham 군에서 276.18 ± 22.20 , IBO 군은 114.81 ± 5.03 로 IBO 군에서 Sham 군에 비해 유의하게 감소하였다($p = 0.002$) (도 5). 또한 Soya 98%군(204 ± 28.14) ($p=0.024$)과 Don 투여군(214.5 ± 28.23) ($p=0.018$)에서 IBO군에 비해 유의하게 증가하였다. 그러나, GFAP 염색된 세포 수에는 차이가 없었다. (Sham 군에 비해 $\#p < 0.05$)(도 5).

[0128] 또한, vGluT1의 강도는 IBO를 내후각 피질에 주입한 군과 Sham 군을 비교하여 계산하였다. 그 결과, 배쪽 CA3에서 측정된 vGluT1 강도는 Sham 군은 24.232, IBO 군은 11.227으로, IBO를 투여했을 경우 전체적으로 vGluT1 발현 정도가 감소하였으며, vGluT1 양성 세포는 Sham 군에서 59.12 ± 1.96 , IBO 군에서 28.56 ± 3.63 로 측정되었으며 IBO 군은 Sham 군에 비해 유의하게 감소하였다($p = 0.000$). Soya 98% 투여군은 50.37 ± 2.35 ($p=0.001$), Don 투여군은 45.56 ± 2.82 ($p=0.005$)으로 모두 IBO 그룹에 비해 증가하는 경향을 나타내었다(도 6a, b).

[0129] ChAT 양성 세포의 경우에도 Sham 군은 41.12 ± 1.94 , IBO 군은 15.25 ± 1.08 으로, IBO 군은 Sham 군에 비해 유의하게 감소하였다. ($p=0.001$), Soya 98% 투여군에서 37.37 ± 0.94 ($p=0.012$), Don 투여군에서 37.81 ± 1.58 ($p=0.012$)로 IBO 군에 비해 유의하게 증가하였다(도 6a, b).

[0131] 또한, 소야사포닌 투여 후 배쪽 해마에서 글루타메이트성 뉴런의 시냅스 형성 정도를 시냅스 전 신경에서 발현하는 시냅신(synapsin)-I에 대한 항체로 형광염색하였다. 배쪽 해마 CA3에서 글루타메이트성 뉴런의 시냅스 형성은 Ibo군에서 5배 이상 감소하였고 (Sham군에 비해 $** p < 0.05$), Soya 98% 투여군은 IBO 군에 비해 4배 이상 증가하였으며 (Ibo군에 비해 $\#p < 0.01$), Don 투여군에서는 Sham군보다 더 크게 증가했다(Ibo군에 비해 $\#p < 0.001$)(도 6c, d).

[0133] 이를 통해, 소야사포닌-I의 투여는 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하여 시냅스 재생을 촉진함을

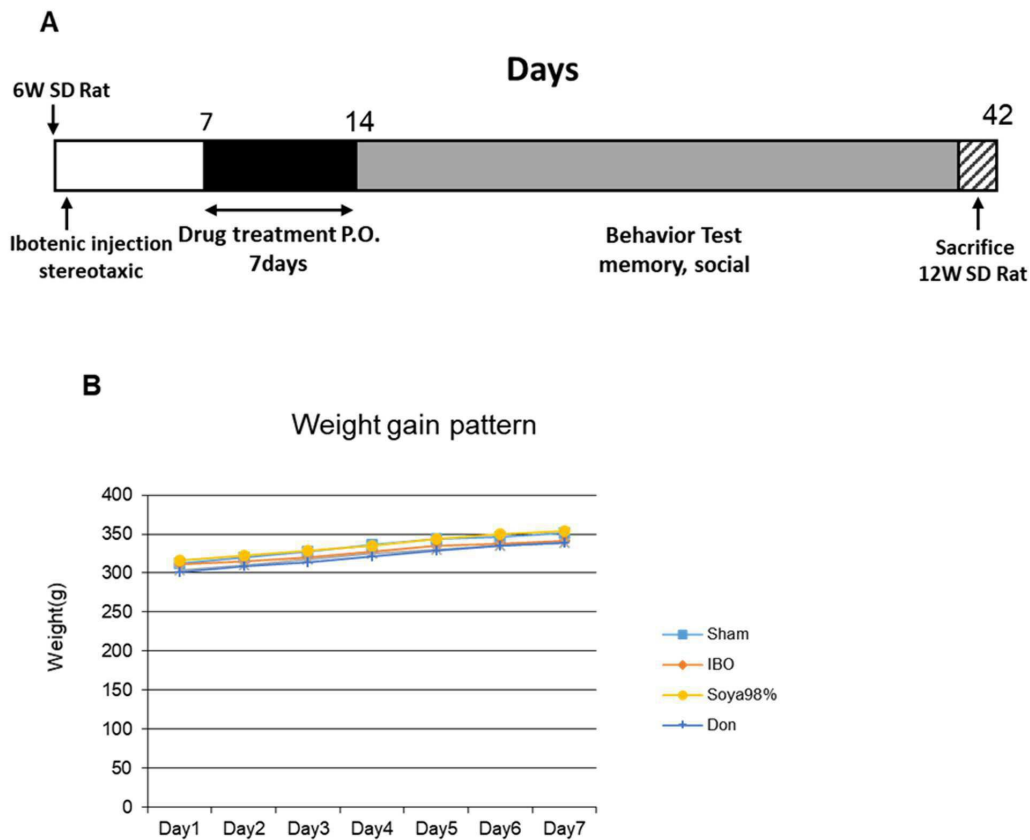
알 수 있다.

[0135] 상기 실시예들의 결과에 따라, 소야사포닌-I은 자폐증 모델에서 콜린성 및 글루타메이트성 뉴런의 재생을 촉진하고 시냅스 재생을 촉진하여 사교성 및 사회적 인지 능력 저하를 개선하는 바, 신경정신질환, 특히 사회적 결핍을 보이는 신경정신질환의 예방 또는 치료용 조성물로 제공될 수 있다.

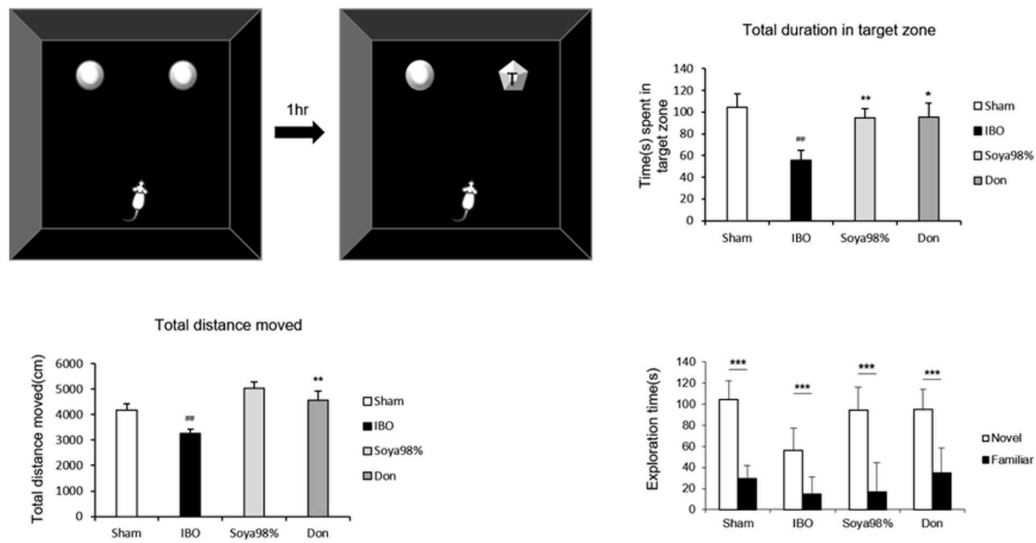
[0137] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1

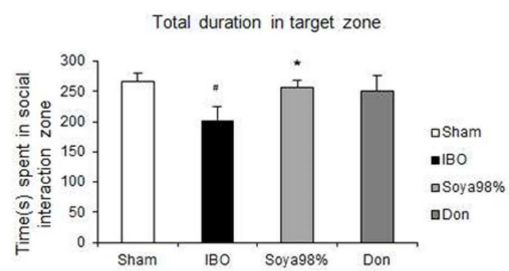
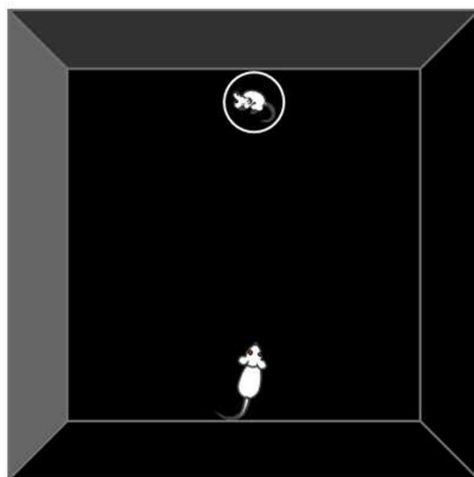
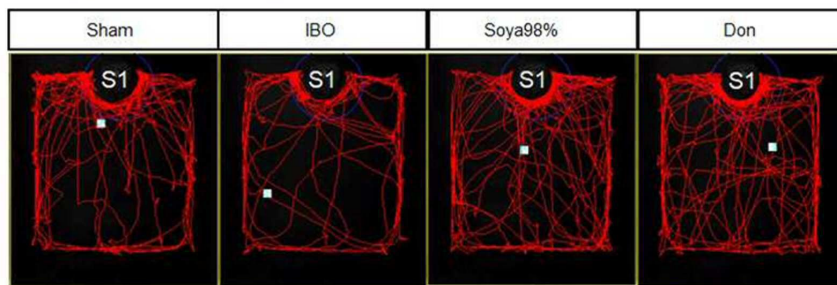


도면2

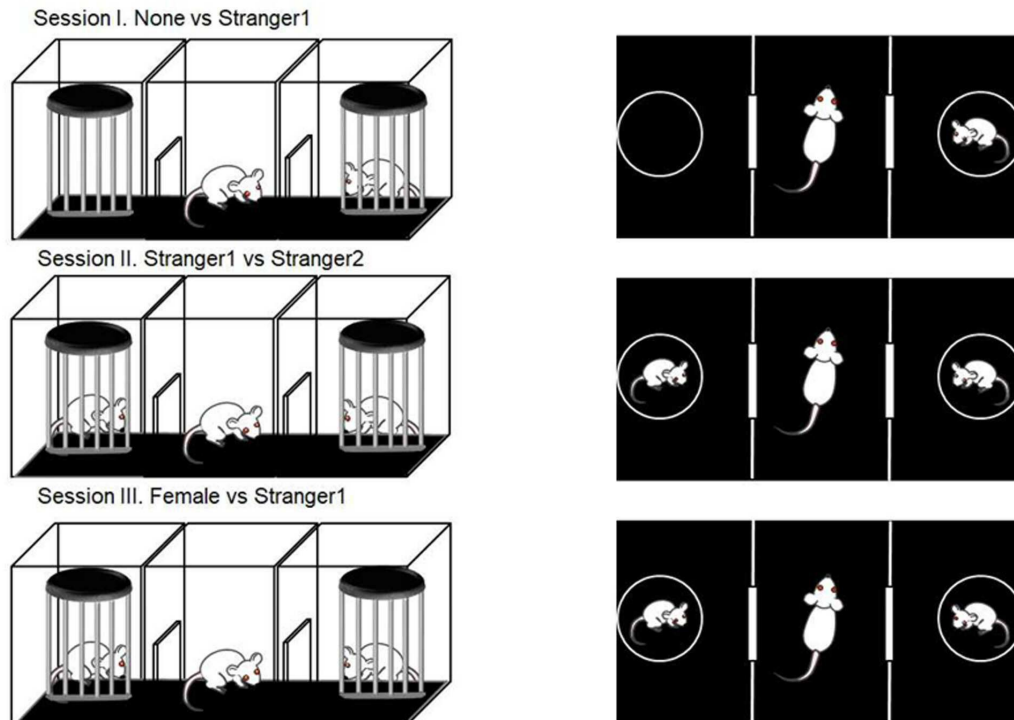


도면3

Sociability test in the open field arena

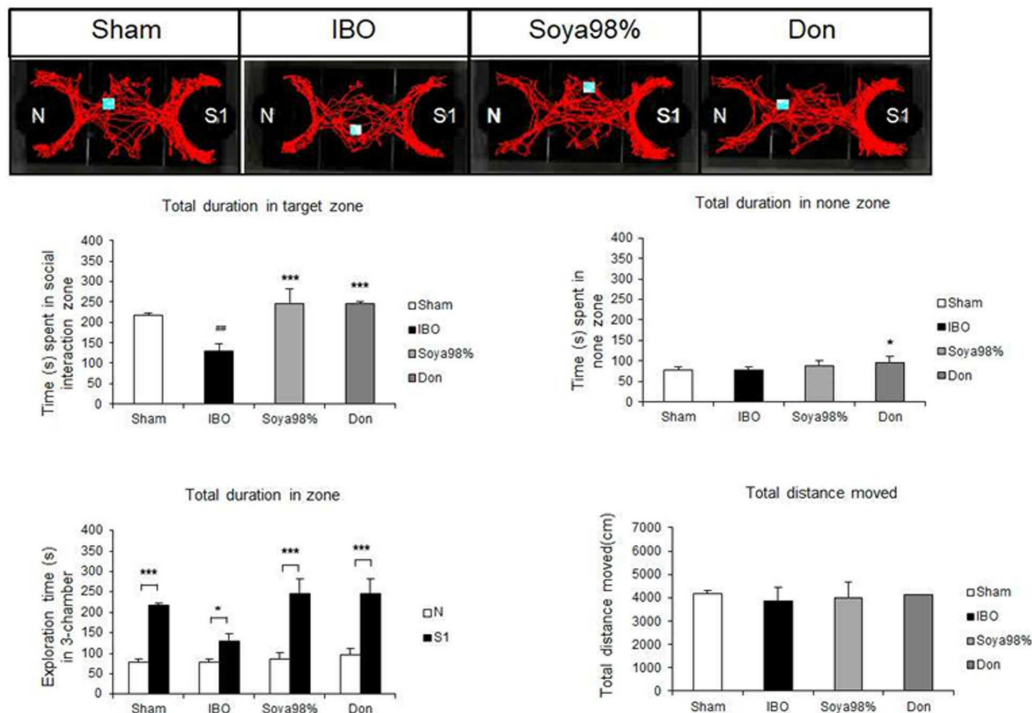


도면4a



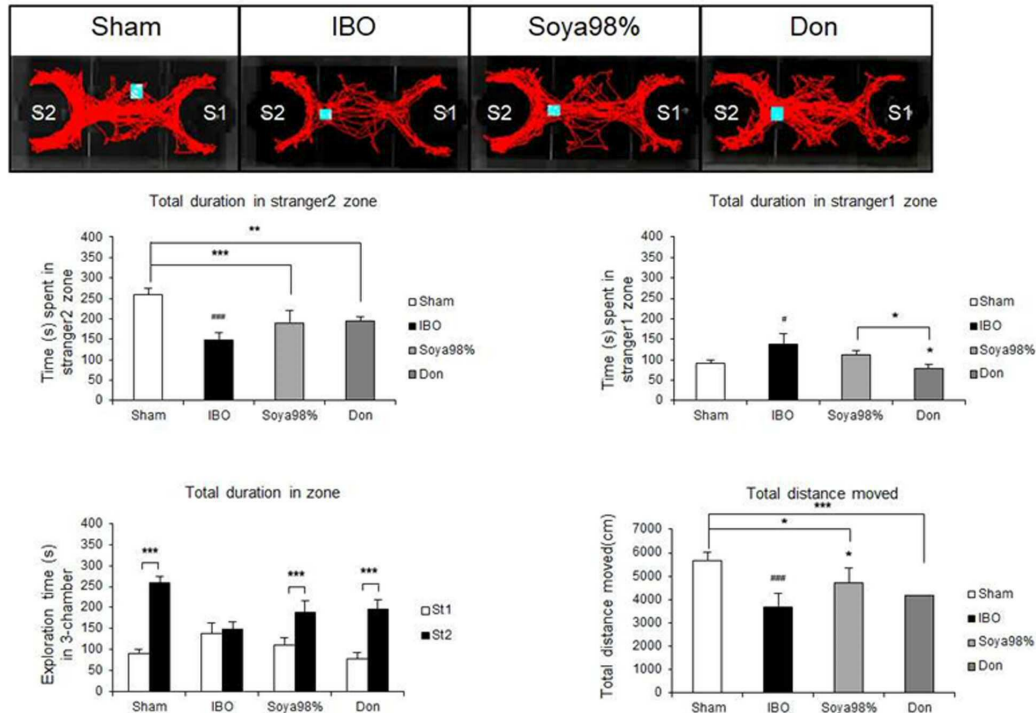
도면4b

Session I. None vs Stranger1



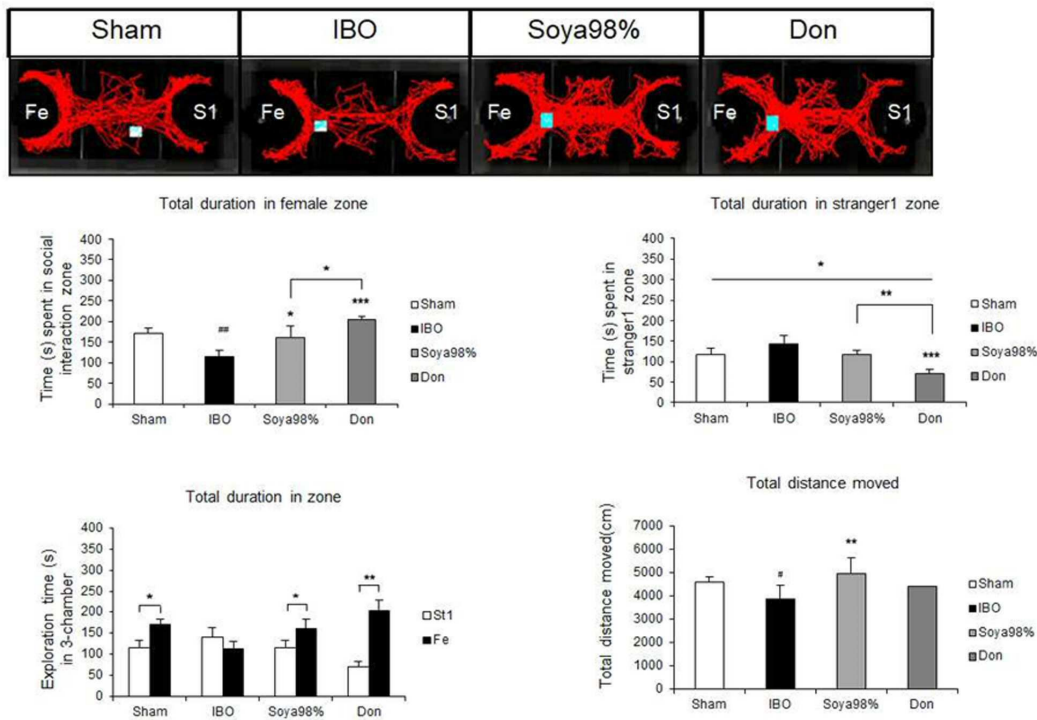
도면4c

Session II. Stranger1 vs Stranger2

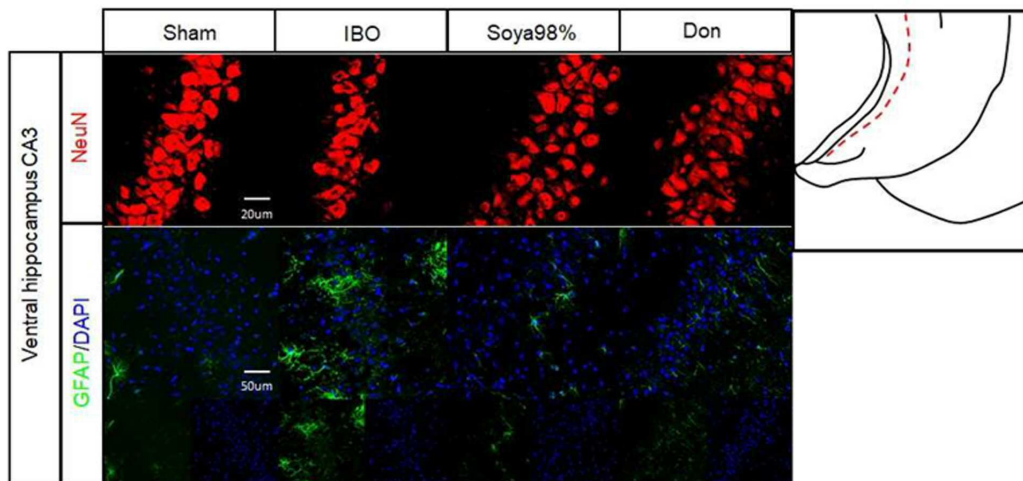


도면4d

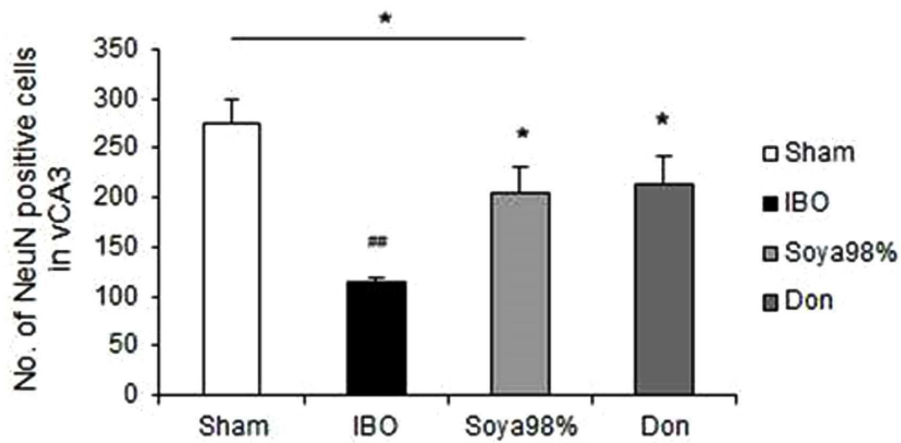
Session III. Female vs Stranger1



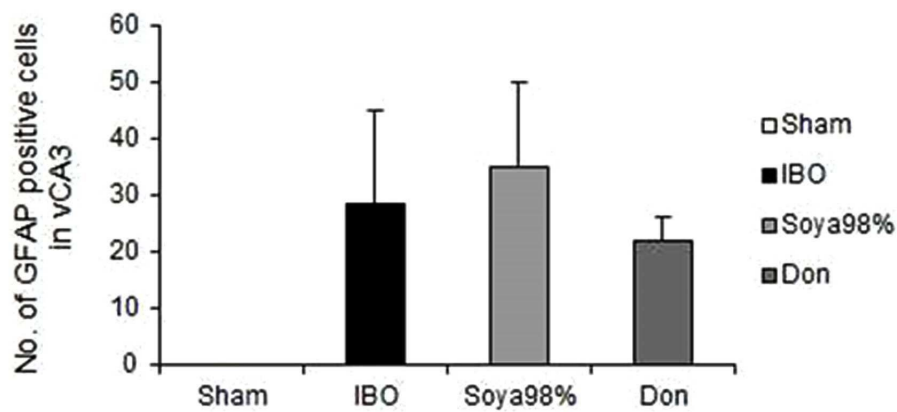
도면5a



도면5b

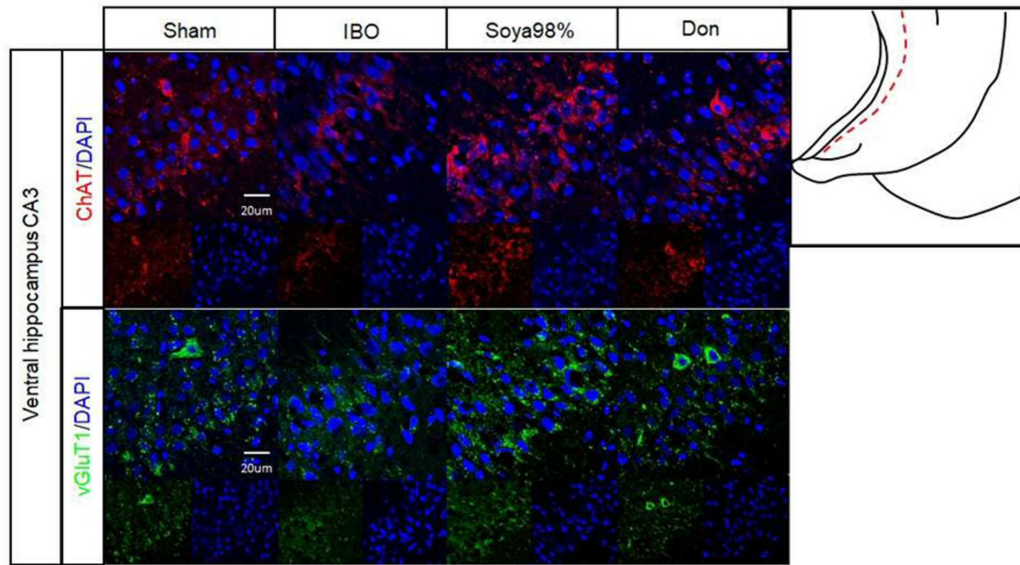


NeuN positive cells in ventral CA3

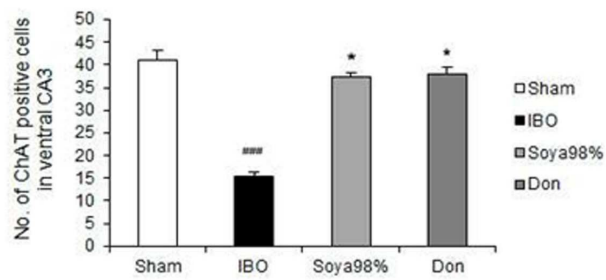
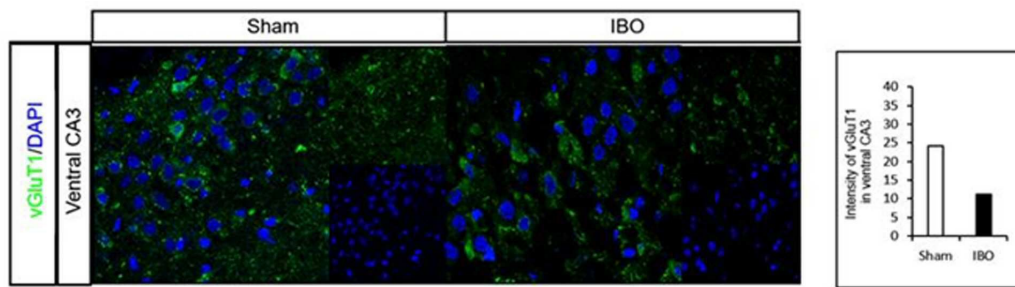


GFAP positive cells in ventral CA3

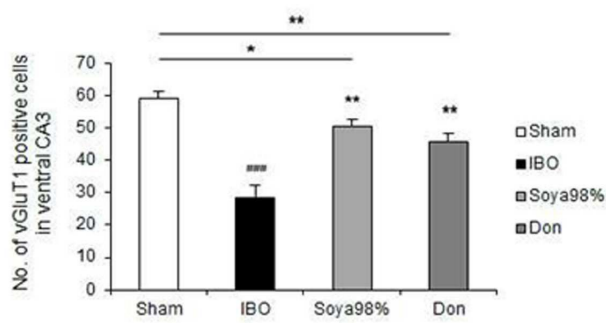
도면6a



도면6b

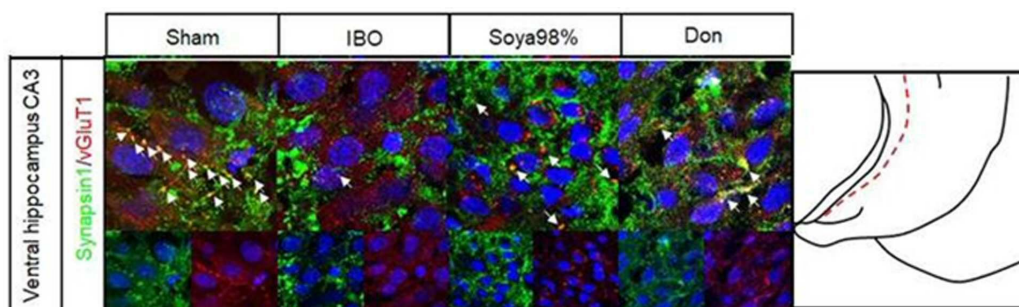


ChAT positive cells in ventral hippocampus CA3



vGluT1 positive cells in ventral hippocampus CA3

도면6c



도면6d

