



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0028607
(43) 공개일자 2011년03월21일

(51) Int. Cl.

A61K 36/906 (2006.01) A61K 31/121 (2006.01)

A61K 31/12 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0015450(분할)

(22) 출원일자 2011년02월22일

심사청구일자 2011년02월22일

(62) 원출원 특허 10-2008-0114964

원출원일자 2008년11월19일

심사청구일자 2008년11월19일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내

(72) 발명자

김선여

서울특별시 강남구 대치동 1014-3 대치삼성아파트 113-901

하상근

부산광역시 사상구 모라2동 우성아파트 106동 610호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

오국진

전체 청구항 수 : 총 4 항

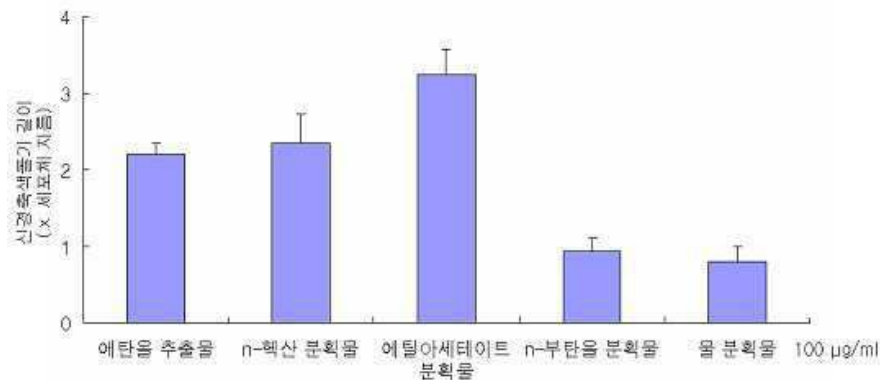
(54) 쇼가울을 포함하는 학습 또는 기억력 증진용 조성물

(57) 요약

본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가울; 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물 또는 기억력 증진용 약학 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가울을 유효성분으로 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화용 식품 조성물 또는 학습 또는 기억력 증진용 식품 조성물을 제공한다.

생강 추출물 또는 쇼가울을 포함하는 본 발명에 따른 약학 조성물 및/또는 식품 조성물은 학습 장애 또는 기억력 장애를 예방 또는 치료할 수 있으며, 또한 학습 또는 기억력을 증진시킨다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

류중훈

서울특별시 강남구 대치동 511 (24/3) 한보미도맨
션 101동 609호

오명숙

경기도 성남시 분당구 수내2동 파크타운롯데아파트
133동 901호

정서영

경기도 고양시 일산서구 주엽동 205-501

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10524

부처명 서울시정개발연구원

연구관리전문기관 서울시정개발연구원

연구사업명 기술기반 구축사업

연구과제명 노인성 질환계 천연물 신약 클러스터 조성 사업

기여율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

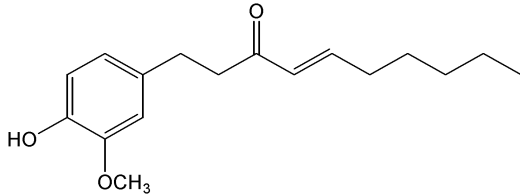
연구기간 2007.12.01 ~ 2008.11.30

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 예방 또는 치료를 위한 경구투여용 약학 조성물.

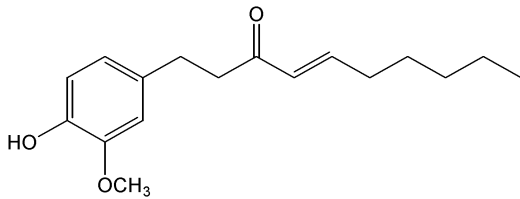
<화학식 1>



청구항 2

하기 화학식 1의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 기억력 증진을 위한 경구투여용 약학 조성물.

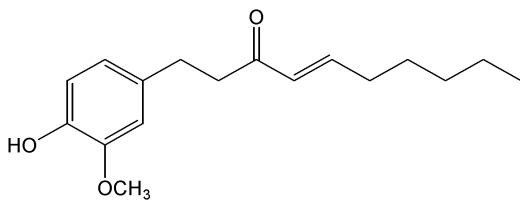
<화학식 1>



청구항 3

하기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화용 식품 조성물.

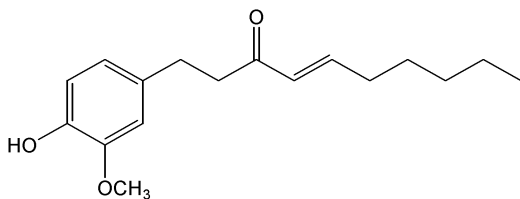
<화학식 1>



청구항 4

하기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는, 학습 또는 기억력 증진용 식품 조성물.

<화학식 1>



명세서

기술 분야

- [0001] 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가올; 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물 또는 기억력 증진용 약학 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가올을 유효성분으로 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화용 식품 조성물 또는 학습 또는 기억력 증진용 식품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 기억이란 주위환경으로부터 얻은 새로운 정보나 학습된 경험, 지식을 습득하여 이를 뇌의 특정부위에 부호화하여 저장하고 이를 다시 회상하는 과정을 말한다(William F Ganong; Ganong's 생리학, 서울, 한우리, p289, p291-292, 1999). 기억의 과정은 습득, 부호화, 강화, 유지, 회상의 여러 단계로 구분된다.
- [0003] 현대사회는 복잡하고 전문화되는 추세이며 그에 따라 많은 정보량과 학습량이 요구되므로 효과적인 두뇌활동이 필요하게 된다. 또한 많은 사람들이 노화 및 질병에 의한 기억력의 감퇴로 고통받고 있으며 인간의 수명이 연장되어 감에 따라 고도의 정신활동이 요구되고 있다. 이러한 상황을 적절히 대처하기 위하여 두뇌를 맑게 하고 기억력을 증진시켜 정신활동을 필요로 하는 등의 노력이 다양하게 시도되고 있고 이러한 기능을 효과적으로 증진시킬 수 있는 의약품, 기능성 식품 등의 개발이 당업계에 요구되고 있다.
- [0004] 대한민국 특허공개 제10-2007-0015372호는 인지, 집중, 학습 및(또는) 기억의 손상의 예방 및(또는) 치료에 유용한 6-아미노-5-시아노-피리미딘-4-온 유도체를 개시한 바 있다. 또한, 대한민국 특허등록 제10-0838253호는 로가닌 또는 그의 염이 학습 장애 또는 기억력 장애의 예방 또는 치료 효과가 있음을 개시한 바 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명자들은 안전성이 확보된 천연물 추출물 또는 천연물 유래의 화합물을 대상으로 학습 능력 및/또는 기억력 증진 활성에 대한 다양한 검색을 수행하였다. 그 결과, 생강 추출물이 우수한 학습 능력 및/또는 기억력 증진 효과를 갖는다는 것을 발견하였으며, 또한, 생강에 함유된 것으로 알려져 있는 매운 맛 성분 중 하나인 쇼가올(shogaol)이 우수한 학습 능력 및/또는 기억력 증진 효과를 갖는다는 것을 발견하였다.
- [0006] 따라서, 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가올; 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물 또는 기억력 증진용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0007] 또한, 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가올을 유효성분으로 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화용 식품 조성물 또는 학습 또는 기억력 증진용 식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명의 일 태양에 따라, 생강 추출물 또는 쇼가올(shogaol); 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물이 제공된다.
- [0009] 본 발명의 다른 태양에 따라, 생강 추출물 또는 쇼가올; 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 기억력 증진용 약학 조성물이 제공된다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 태양에 따라, 생강 추출물 또는 쇼가올을 유효성분으로 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화용 식품 조성물이 제공된다.
- [0011] 본 발명의 다른 태양에 따라, 생강 추출물 또는 쇼가올을 유효성분으로 포함하는, 학습 또는 기억력 증진용 식품 조성물이 제공된다.

발명의 효과

- [0012] 생강 추출물 또는 쇼가올을 포함하는 본 발명에 따른 약학 조성물 및/또는 식품 조성물은 학습 장애 또는 기억력 장애를 예방 또는 치료할 수 있으며, 또한 학습 또는 기억력을 증진시킨다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 C6 세포에서 생강의 에탄올 추출물, n-헥산 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물, 및 물 분획물을 처리하여 얻은 조건배지를 PC12 세포에 처리한 후, 신경축색돌기의 성장길이를 관찰한 결과로서, 생강 추출물의 신경돌기 성장(neurite outgrowth) 효과를 평가한 결과를 나타낸다.
- 도 2는 C6 세포에서 쇼가올을 0.1, 1, 5, 10, 그리고 20 μM 농도로 처리하여 얻은 조건배지(conditioned media)를 이용하여 신경성장인자를 정량분석한 결과로서, 쇼가올의 신경성장인자의 분비 유도 효과를 평가한 결과를 나타낸다.
- 도 3은 C6 세포에서 쇼가올을 처리하여 얻은 조건배지를 PC12 세포에 처리한 후, 신경축색돌기의 성장을 관찰한 결과로서, 쇼가올의 신경성장인자 분비 유도 효과를 평가한 결과를 나타낸다.
- 도 4는 ICR mice에서 쇼가올을 5mg/kg을 투여한 후 인지능력 향상을 측정하기 위한 수동 회피 실험(passive avoidance task)의 결과로서, 쇼가올의 인지능력 향상효과를 평가한 결과이다.
- 도 5는 ICR mice에서 생강 추출물을 50mg/kg을 투여한 후 인지능력 향상을 측정하기 위한 수동 회피 실험(passive avoidance task)의 결과로서, 생강 추출물의 인지능력 향상효과를 평가한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 본 명세서에서, "학습(learning)" 이라 함은 자신의 행동을 지각하고 변화시킬 수 있는 능력 또는 행동을 말하며, 공간지각력, 인지력, 집중력 등을 포함한다.
- [0015] "학습 장애(learning disorder 혹은 learning disability)"라 함은 지능 지수와 관계없이 다양한 원인, 예를 들어 우울증, 불안증, 강박증, 사회환경적 요인(가정불화, 빈곤, 결손가정, 스트레스) 등에 의해 "학습" 능력이 정상인에 비해 낮아진 상태를 말하며, 공간지각력 저하, 인지력 저하, 집중력 저하, 아동 등의 학업 성취도 저하 등을 포함한다.
- [0016] "기억" 또는 "기억력" 이라 함은 주위 환경으로부터 얻은 새로운 정보나 학습된 경험, 지식을 습득하여 뇌의 특정부위에 부호화하여 저장하고 이를 다시 회상할 수 있는 능력을 말한다.
- [0017] "기억력 장애(memory disorder 혹은 memory deficiency)" 라 함은 외상, 주의력 결핍, 노화, 질병 등의 다양한 원인에 의하여 상기 "기억력"이 정상인에 비해 낮아진 상태를 말하며, 건망증(amnesia), 집중력 장애, 공간지각력 손실, 학습능력의 둔화, 인지력 상실 등을 포함한다.
- [0018] 본 발명에 의해, 생강 추출물 또는 쇼가올이 학습 장애 또는 기억력 장애를 예방 또는 치료할 수 있으며, 또한 학습 또는 기억력을 증진시키는 것이 새롭게 발견되었다. 3일간 생강 추출물 또는 쇼가올을 투여 후 수동 회피 시험을 수행한 결과, 생강 추출물 또는 쇼가올을 투여한 경우 현저히 증가된 학습 및/또는 기억력을 나타내었다.
- [0019] 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가올; 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 포함한다. 또한, 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가올; 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 기억력 증진용 약학 조성물을 포함한다.
- [0020] 상기 생강 추출물은 생강을 $C_1 \sim C_4$ 의 알콜, n-헥산, 에틸 아세테이트, n-부탄올, 클로로포름, 및 이들의 혼합용매로 이루어진 군으로부터 선택된 추출용매로 추출하는 단계를 포함하는 추출공정을 수행하여 얻어질 수 있다. 더욱 바람직하게는 상기 생강 추출물은 생강을 에탄올로 추출하여 얻어진 에탄올-추출물일 수 있다. 상기 추출용매의 사용량은 크게 제한되는 것은 아니며, 예를 들어 생강의 분말 시료 1 중량에 대하여 약 1 내지 10배 부피, 바람직하게는 약 1 내지 5배 부피의 비율로 사용될 수 있다. 또한, 상기 추출은 약 7일 내지 20일, 바람직하게는 약 7일 내지 10일 동안, 냉침 추출, 열수 추출, 초음파 추출, 환류 냉각 추출 등의 추출방법으로 수행될 수 있다. 바람직하게는 상기 추출은 실온(약 25 $^{\circ}\text{C}$)에서 냉침 추출법에 의해 수행될 수 있으며, 또한 상기 추출과정은 단회 또는 복수회 수행할 수 있고, 바람직하게는 약 3회 정도 반복 수행할 수 있다. 얻어진 추출액은 필요에 따라 통상의 방법, 예를 들어 약 20 내지 100 $^{\circ}\text{C}$, 바람직하게는 약 30 내지 70 $^{\circ}\text{C}$ 에서, 감압 농축하거나 감압 건조함으로써, 액상 또는 분말 형태로 생강 추출물을 얻을 수 있다.
- [0021] 상기 생강 추출물은 유효성분의 함량을 높이기 위하여 추가의 추출공정을 수행하여 얻어질 수 있다. 즉, (a) 생강을 $C_1 \sim C_4$ 의 알콜로 추출하는 단계; 및 (b) 단계(a)에서 얻어진 추출물에 물 및 n-헥산을 가하여 추출하고, 얻어지는 n-헥산층을 분리하는 단계를 포함하는 추출공정(및 필요에 따라 추가의 크로마토그래피 분획공정)을

행함으로써 유효성분의 함량이 높은 생강 추출물을 얻을 수 있다. 또한, 선택적으로 (a) 생강을 C₁~C₄의 알콜로 추출하는 단계; (b') 단계(a)에서 얻어진 추출물에 물 및 n-헥산을 가하여 추출하고, 얻어지는 수층을 분리하는 단계; 및 (c) 단계(b')에서 얻어진 수층에 에틸 아세테이트를 가하여 추출하고, 얻어지는 에틸 아세테이트층을 분리하는 단계를 포함하는 추출공정(및 필요에 따라 추가의 크로마토그래피 분획공정)을 수행하거나, 혹은 (a) 생강을 C₁~C₄의 알콜로 추출하는 단계; (b') 단계(a)에서 얻어진 추출물에 물 및 n-헥산을 가하여 추출하고, 얻어지는 수층을 분리하는 단계; (c') 단계(b')에서 얻어진 수층에 에틸 아세테이트를 가하여 추출하고, 얻어지는 수층을 분리하는 단계; 및 (d) 단계(c')에서 얻어진 수층에 n-부탄올을 가하여 추출하고, 얻어지는 n-부탄올층 또는 수층을 분리하는 단계를 포함하는 추출공정(및 필요에 따라 추가의 크로마토그래피 분획공정)을 수행함으로써 유효성분의 함량이 높은 생강 추출물을 얻을 수 있다. 바람직하게는 상기한 바와 같이 에틸 아세테이트층을 분리하는 단계를 포함하는 추출공정 즉, 에틸 아세테이트 분획을 사용할 수 있다.

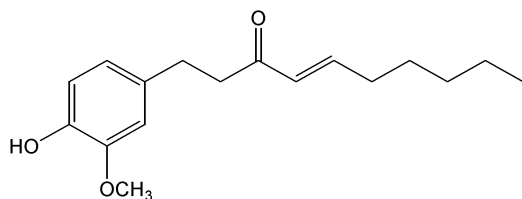
[0022] 상기 추가의 추출공정[즉, 단계(b), (b'), (c), (c'), 및 (d)]는 실온(약 25 °C)에서 냉침 추출법에 의해 수행될 수 있으며, 또한 상기 추출과정은 단회 또는 복수회 수행할 수 있고, 바람직하게는 약 3회 정도 반복 수행할 수 있다. 얻어진 추출액은 필요에 따라 통상의 방법, 예를 들어 약 20 내지 100 °C, 바람직하게는 약 30 내지 70°C에서, 감압 농축하거나, 필요에 따라 동결건조함으로써, 액상 또는 분말 형태로 생강 추출물을 얻을 수 있다.

[0023] 또한, 상기 추가의 추출공정을 수행한 이후, 필요에 따라 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 이용한 분획공정을 수행할 수도 있다. 상기 분획은 헥산과 에틸아세테이트 혼합용매 (Hexane : EtOAc = 30:1→1:11)와 에틸아세테이트와 메탄올 혼합용매(EtOAc : MeOH = 25:1→1:2)를 단계적으로 극성을 높여가는 용출용매 시스템으로 용출시키는 과정을 수회 반복함으로써, 수행될 수도 있다.

[0024] 상기 생강 추출물은 또한 초임계 추출법을 이용하여 얻을 수 있다. 초임계 추출은 60~350 bar, 더욱 바람직하게는 약 300 bar의 압력에서, 5 분 ~ 24 시간 동안, 더욱 바람직하게는 약 6 시간 동안, 30~80 °C에서, 더욱 바람직하게는 약 50 °C에서 수행될 수 있다. 또한, 이산화탄소의 유속은 10~50 g/분, 더욱 바람직하게는 약 30 g/분으로 유지시킬 수 있으나, 크게 제한되는 것은 아니다. 상기 초임계 추출은 단회 혹은 복수회(예를 들어, 2~4 회) 수행할 수 있다. 생강 추출물을 포함하는 이산화탄소는 분리기의 중간부에 도입되어 압력이 약 50-60 bar로 강하되어 용해도가 급격히 떨어지게 되며, 분리기는 상단과 하단에 약 40 °C의 히팅자켓과 약 5 °C 이하의 냉각자켓에 의해 감싸여 하단의 추출물과 액체 이산화탄소와 상단의 기체 이산화탄소로 분리된다. 상단의 기체 이산화탄소는 차콜 필터 등의 필터를 걸쳐 냉각기에 의해 액화되어 다시 펌프를 통해 추출기로 순환된다.

[0025] 또한, 본 발명의 일 구현예에서, 쇼가올을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 상기 쇼가올은 6-쇼가올로도 칭해지며, 그 화학명이 (E)-1-(4-히드록시-3-메톡시페닐)데카-4-엔-3-온[(E)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)dec-4-en-3-one]으로서, 하기 화학식 1의 구조를 갖는다.

화학식 1



[0026] 상기 쇼가올은 생강으로부터 분리될 수 있으며, 예를 들어, 유럽특허 제EP1506958호 등을 비롯한 다양한 합성방법이 공지되어 있다.

[0028] 본 발명에 따른 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하여 다양한 형태, 예를 들어 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구용 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화될 수 있다. 특히 바람직하게는 경구용 제형으로 제제화될 수 있다.

[0029] 상기 약제학적으로 허용가능한 담체는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그

네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함한다. 또한, 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 포함한다. 경구용 고형 제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스 (sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 포함할 수 있으며, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구용 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등을 포함하며, 물, 리퀴드 파라핀 등의 희석제, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다. 비경구용 제제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제를 포함하며, 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르류 등을 포함한다. 좌제의 기제로는 위텍솔(witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0030] 본 발명의 약학조성물에 함유되는 생강 추출물 또는 쇼가올의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 상기 쇼가올은 1일 0.01 내지 500 mg/kg, 바람직하게는 10 내지 200 mg/kg의 용량으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다. 또한, 생강 추출물은 1일 0.01 내지 500 mg/kg, 바람직하게는 10 내지 200 mg/kg의 용량으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다. 또한, 본 발명의 약학 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 쇼가올 또는 생강 추출물을 0.001 내지 50 % 중량백분율로 포함할 수 있다.

[0031] 본 발명은 생강 추출물 또는 쇼가올을 유효성분으로 포함하는, 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화용 식품 조성물을 포함한다. 또한, 본 발명은 쇼가올을 유효성분으로 포함하는, 학습 또는 기억력 증진용 식품 조성물을 포함한다. 상기 식품 조성물에 있어서, 생강 추출물은 상기에서 설명한 바에 따라 얻을 수 있다.

[0032] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. 상기 "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0033] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0034] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.

[0035] 본 발명의 식품 조성물은 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화를 목적으로 또는 학습 또는 기억력 증진을 목적으로, 조성물 총 중량에 대하여 생강 추출물 또는 쇼가올을 0.01 내지 95 %, 바람직하게는 1 내지 80 % 중량백분율로 포함할 수 있다. 또한, 학습 장애 또는 기억력 장애의 개선 또는 증상완화를 목적으로 또는 학습 또는 기억력 증진을 목적으로, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.

[0036] 예를 들어, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 생강 추출물 또는 쇼가올, 부형제, 결합제, 봉해제, 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.

[0037] 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 생강 추출물 또는 쇼가올; 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 생강 추출물 또는 쇼가올; 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0038] 환 형태의 건강기능식품은 생강 추출물 또는 쇼가올, 부형제, 결합제, 봉해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.

[0039] 과립형태의 건강기능식품은 상기 생강 추출물 또는 쇼가올, 부형제, 결합제, 봉해제 등의 혼합물을 적당한 방법

으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0040] 본원 발명의 상기 부형제, 결합제, 봉해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다 (대한약전 해설편, 문성사, 한국약학대학 협의회, 제 5 개정판, p33-48, 1989).

[0041] 이하, 본 발명을 실시예 및 시험예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 시험예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예 및 시험예에 한정되는 것은 아니다.

[0042] 실시예 1. 생강 추출물의 제조

[0043] 생강 1 kg을 갈아서 5 리터의 에탄올을 넣고 초음파 추출을 1시간 동안 수행한 후, 여과하여 여액을 분리하였다. 상기 여과에 의해 얻어진 고형물을 다시 에탄올에 넣고 초음파 추출을 1시간 동안 수행한 후, 여과하여 다시 여액을 분리하였다. 상기 과정을 2회 더 반복하였다. 얻어진 여액을 모두 합하여 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤 동결건조를 통해 수분을 완전히 제거하여 생강 추출물 200 g을 얻었다.

[0044] 상기에서 얻어진 에탄올-추출물 200 g을 증류수 1000 ml를 가하여 균일하게 잘 현탁한 후 n-헥산 1000 ml를 가하고, 분획 과정을 거쳐 n-헥산층을 분리하였다. 얻어진 n-헥산층을 감압농축하여 헥산을 제거하고 동결건조를 통해 건조하였다. 이 과정을 3회 반복 수행하여 헥산 분획물 60 g을 얻었다. 또한, 남은 수층에 에틸 아세테이트 1000 ml를 가하여 에틸 아세테이트층을 분리하였다. 얻어진 에틸 아세테이트층을 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤 동결건조를 통해 수분을 완전히 제거하였다. 이 과정을 3회 반복 수행하여 에틸 아세테이트 분획물 50 g을 얻었다. 또한, 남은 수층에 n-부탄올 1000 ml를 가하여 n-부탄올층을 분리하였다. 얻어진 n-부탄올층을 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤 동결건조를 통해 수분을 완전히 제거하였다. 이 과정을 3회 반복 수행하여 n-부탄올 분획물 18 g을 얻었다. 또한 남은 수층을 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤 동결건조하여 물 분획물 43 g을 얻었다.

[0045] 실시예 2. 생강 추출물의 제조

[0046] 초임계 추출법을 이용하여 생강 추출물을 제조하였다. 생강을 갈아, 건조시킨 시료 200g을 초임계 추출기 내부에 충전시키고 300 bar 및 50 °C의 조건에서 6 시간씩 2회 추출하였다. 이때 이산화탄소의 유속은 30 g/분으로 유지시켰고, 분리기의 중간부 압력은 50-60 bar로 설정하였고, 상단의 히팅자켓의 온도는 40 °C로 설정하였으며, 하단의 냉각자켓의 온도는 5 °C 이하로 설정하였다. 분리기 상단의 기체 이산화탄소는 차콜필터를 걸쳐 냉각기에 의해 액화되어 다시 펌프를 통해 추출기로 순환시켰다. 상기과 같이 초임계 추출을 수행하여 생강 추출물 4.32 g을 얻었다.

[0047] 시험예 1.

[0048] 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)를 분비한다고 알려져 있는 쥐의 신경교종세포(glioma) C6 세포주와, 신경성장인자에 대하여 신경세포(neuron)와 유사하게 신경축색돌기(neurite)를 성장시키는 것으로 알려져 있는 쥐의 크롬친화성세포종(pheochromocytoma) PC12 세포주를 이용하였다. C6 세포와 PC12 세포는 모두 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였다(각각 KCLB No. 10107 및 21721). C6 세포는 3.4 g/L의 탄산수소나트륨(NaHCO₃, sodium bicarbonate), 10% 소태아혈청(fetal bovine serum) 및 페니실린-스트렙토마이신 항생제(10000 U/ml) 1%가 보충된 DMEM 배지(Gibco BRL, 미국)를 사용하여 배양하였으며, PC12 세포는 2.0 g/L의 탄산수소나트륨, 10% 말혈청(horse serum), 5% 우태혈청 및 페니실린-스트렙토마이신 항생제(10000 U/ml) 1%가 보충된 RPMI1640 배지(Gibco BRL, 미국)를 사용하여 배양하였다. 사용한 소태아혈청 및 말혈청은 사용하기 전 55°C에서 30분간 비활성시켜 사용하였고, 양 세포 모두 70%의 습도와 37°C의 온도가 유지되고, 5%의 이산화탄소가 공급되는 세포 배양기에서 배양하였다. PC12 세포의 경우, 폴리-디-라이신(Poly-D-lysine, Sigma)을 PBS 완충용액(pH 7.2)에 50 µg/ml의 농도로 희석한 다음, 1시간 동안 표면을 코팅한 후 PBS 완충용액으로 세 번 세척한 배양용기에서 배양하였다. 쇼가울은 WAKO사 (일본)에서 구입하여 사용하였다.

[0049] 시험예 1-1. C6 세포에서 생강 추출물의 신경성장인자 분비유도에 미치는 효과

[0050] 0.25% 트립신(Trypsin)-EDTA(Gibco BRL, 미국)를 처리하여 100 mm 배양용기에 부착된 C6 세포를 이탈시킨 후, 10 ml 의 신선한 배지를 첨가하여 세포현탁액을 만든 후, 세포수 측정기를 이용하여 살아있는 세포수를 측정 및 계산하였다. 계산한 값을 바탕으로 100 mm 배양접시에 2×10^6 개의 세포가 포함되도록 분주하였다. 24시간 배양 후, 기존의 배지를 제거하고 실시예 1에서 얻어진 에탄올 추출물, n-헥산 분획물, 에틸아세테이트 분획물, n-부탄올 분획물, 및 물 분획물을 각각 100 ug/ml의 농도로 첨가한 2% 우태혈청의 DMEM 배지 10 ml로 교환해주었으며, 다시 24시간 동안 배양한 후 배지를 각각 얻었다. 얻은 배지를 1500 rpm 에 10분간 원심분리한 후, 상층액을 다시 모았으며, 이 배지(조건배지, conditioned media)를 PC12 세포 처리에 사용하였다.

[0051] PC12 세포는 6 well 배양접시에 well 당 10^5 개의 세포가 포함되도록 분주하였다. 배양한지 24시간 후, PBS 완충 용액에 희석한 2 ng/ml 의 신경성장인자와 C6 세포에서 얻은 조건배지를 함께 처리하였고, 2일에 한번 씩 새로운 신경성장인자와 조건배지로 교환해주었으며, 6일 동안 배양하면서 현미경으로 관찰하였다. 조건배지를 4일간 처리한 후, 웰당 10개의 세포를 무작위로 선정하여 현미경 사진을 찍고, 세포에서 신경축색돌기가 보이지 않으면 0으로, 신경축색돌기의 길이가 세포체의 지름과 같으면 1로, 그리고 세포체 지름의 2배 길이로 성장하면 2로 하는 형식으로 세포체의 지름에 대한 신경축색돌기 길이의 값을 수치화하였다. 상기 시험을 3회 반복하여 그 결과를 평균±오차로 나타낸 결과는 도 1과 같다.

[0052] 도 1의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 에탄올 추출물을 처리하였을 때, 세포체의 길이에 대하여 2.21 ± 0.13 배, n-헥산 분획물을 처리하였을 때 2.35 ± 0.38 배, 에틸아세테이트 분획물을 처리하였을 때 3.24 ± 0.34 배, n-부탄올 분획물을 처리하였을 때 0.93 ± 0.17 배, 그리고 물 분획물을 처리하였을 때 0.81 ± 0.19 배의 신경축색돌기의 성장을 나타내었다. 상기 결과로부터 생강 추출물이 성장인자 분비 활성을 가짐을 알 수 있으며, 특히 에틸아세테이트 분획물이 가장 큰 효과를 가지고 있음을 알 수 있다.

[0053] 시험예 1-2. C6 세포에서 쇼가울의 신경성장인자 분비유도에 미치는 효과

[0054] 실험예 1-1과 동일한 방법으로 C6 세포를 분주한 후, 0.1, 1, 5, 10, 및 20 μ M 의 쇼가울을 처리하여 조건배지를 만들었다.

[0055] 쇼가울에 의해 C6 세포에서 분비된 신경성장인자는 신경성장인자 측정 kit(DY556, R&D system, 미국)에 조건배지를 처리하여 정량하였다. 쇼가울이 신경성장인자 분비 유도에 미치는 영향을 알아보기 위해, C6 세포에 쇼가울을 처리한 후 배양하여 얻은 조건배지에서 신경성장인자를 정량분석하였으며, 그 결과는 도 2와 같다.

[0056] 도 2의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 대조군(control) 과 비교하여 쇼가울을 0.1 μ M 처리하였을 때 105.46 ± 7.27 %, 1 μ M 처리하였을 때 112.72 ± 3.67 %, 5 μ M을 처리하였을 때 112.97 ± 4.97 %, 10 μ M 을 처리하였을 때 119.44 ± 5.18 %, 그리고 20 μ M 을 처리하였을 때는 124.81 ± 5.61 %의 신경성장인자 분비를 보였다. 쇼가울의 농도를 증가시킬수록 신경성장인자의 분비량도 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며, 20 μ M에서 가장 다량을 분비함을 알 수 있다. 위의 결과는 세 번의 반복실험 결과를 평균±오차로 나타낸 것이다.

[0057] 시험예 1-3. PC12 세포에서 쇼가울의 신경축색돌기 성장에 미치는 효과

[0058] PC12 세포는 실험예 1-1과 동일한 방법으로 분주 및 배양하였으며, 배양한지 24시간 후, 역시 위와 동일한 방법으로 신경성장인자 및 조건배지를 PC12 세포에 처리하였다. 처리 후 4일 째에 현미경으로 PC12 세포를 관찰한 결과는 도 3과 같다.

[0059] 도 3의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 쇼가울을 20 μ M 처리하였을 때, PC12 세포의 신경축색돌기의 성장이 증가하였으며, 이는 쇼가울이 우수한 신경성장인자 분비 활성을 가짐을 나타낸다.

[0060] 시험예 2.

[0061] 수컷 ICR 마우스 25-28g를 분양받아 경희대학교 동서의학대학원의 동물 사육실에서 7일 간 사육하여 적응시켜 사용하였으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 온도 (22 ± 2 °C), 습도 (53 ± 3 %) 및 명암주기 (12 시

간)는 자동적으로 조절되도록 하였다. 쇼가올은 WAKO사 (일본)에서 구입하여 사용하였다.

[0062] **시험예 2-1. 쇼가올의 인지능력 향상 효과**

[0063] 마우스를 각 군당 10 마리씩 2 군으로 나누었다. 제1군(대조군)은 10% 디메틸 설펍사이드(dimethyl sulfoxide)를 마우스 체중 kg당 5mL로 3일간 경구 투여하였고, 제2군은 10% 디메틸 설펍사이드에 녹인 쇼가올을 5 mg/kg의 양으로 3일간 경구투여 하였다. 1일 1회로 3일간 경구투여하고 마지막 경구투여 1 시간 후 수동 회피 시험(passive avoidance task)을 다음과 같이 수행하였다.

[0064] 수동 회피 시험은 내부구조가 두 개의 동일한 공간으로 구분되어 있는 시험 장치에서 첫째 날 가운데에 문을 사이에 두고 한쪽은 불을 켜놓고 다른 한쪽은 어두운 상태에서 밝은 쪽에서 먼저 10초간 머무르게 한 후 사의의 문을 열어주고 시험동물이 어두운 공간으로 이동할 때 발바닥에 0.25 mA의 전기 자극을 주었다. 24 시간 후 같은 방법으로 수동 회피 시험을 진행하고 이때 밝은 곳에 머무르는 시간을 측정하였다. 그 결과는 도 4와 같다.

[0065] 대조군은 165.50 ± 23.39 초를 나타내어 전기충격으로 인한 기억력이 유지되었고 쇼가올 5 mg/kg 투여군은 240.63 ± 24.14 초를 나타내어 체류시간을 유의성 있게 증가시켰다($p < 0.05$).

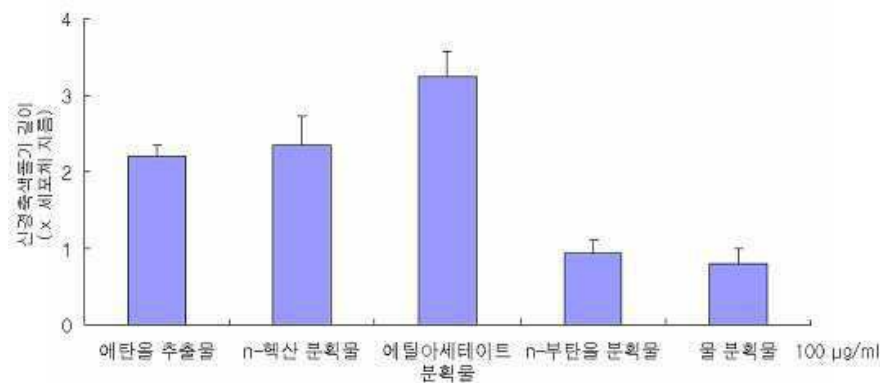
[0066] **시험예 2-2. 생강 추출물의 인지능력 개선 효과**

[0067] 마우스를 각 군당 10 마리씩 2 군으로 나누었다. 제1군(대조군)은 10% 디메틸 설펍사이드(dimethyl sulfoxide)를 마우스 체중 kg당 5mL로 3일간 경구 투여하였고, 제2군은 10% 디메틸 설펍사이드에 녹인 생강추출물(실시예 2에서 제조한 생강 추출물)을 50 mg/kg의 양으로 3일간 경구투여 하였다. 1일 1회로 3일간 경구투여하고 마지막 경구투여 1 시간 후 수동 회피 시험(passive avoidance task)을 시험예 2-1과 동일한 방법으로 수행하였다. 그 결과는 도 5와 같다.

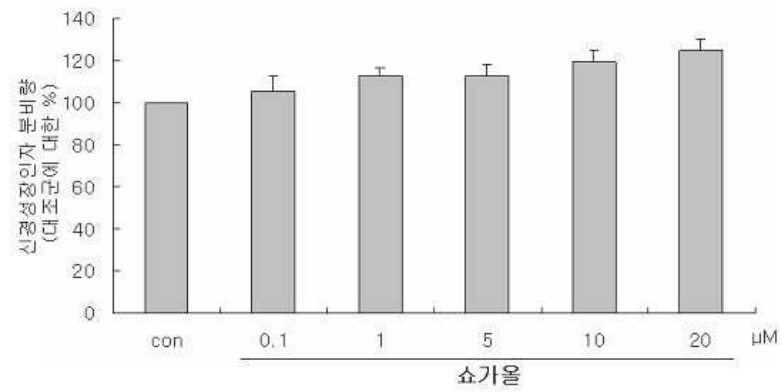
[0068] 대조군은 165.50 ± 23.39 초를 나타내어 전기충격으로 인한 기억력이 유지되었고 생강추출물 50 mg/kg 투여군은 237.43 ± 17.35 초를 나타내어 체류시간을 유의성 있게 증가시켰다($p < 0.05$).

도면

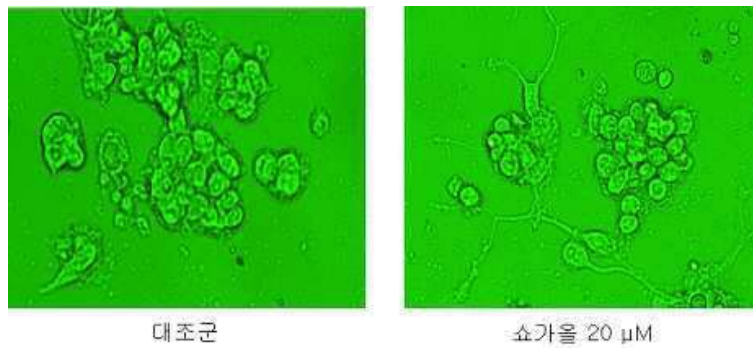
도면1



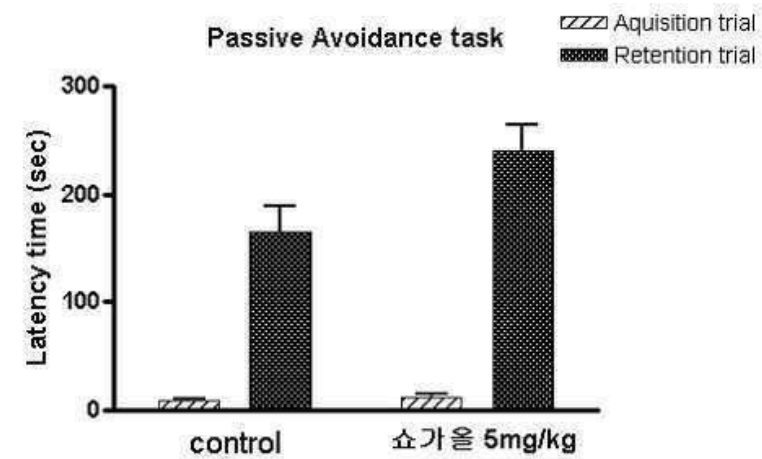
도면2



도면3



도면4



도면5

