



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0042768
(43) 공개일자 2015년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/536 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)

A61K 36/282 (2006.01) A61K 36/60 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/536 (2013.01)

A23L 1/3002 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0046023(분할)

(22) 출원일자 2015년04월01일

심사청구일자 2015년04월01일

(62) 원출원 특허 10-2013-0091705

원출원일자 2013년08월01일

심사청구일자 2013년08월01일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

류종훈

서울특별시 강남구 삼성로 150, 101동 609호 (대치동, 미도아파트)

정재훈

경기도 남양주시 퇴계원면 퇴계원로50번길 17, 201동 511호 (강남아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

안소영

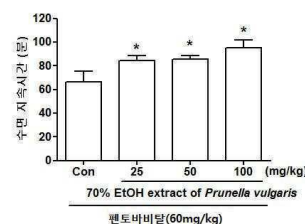
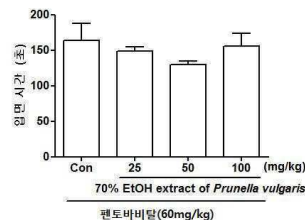
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 생약 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 단센수를 포함하는 신경안정용 약학적 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다. 또한 본 발명은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 하고초 추출물, 애엽 추출물, 상엽 추출물, 길초근 추출물 및 하고초 추출물에서 분리한 단센수는 입면시간을 단축하고 수면시간을 연장하므로써 수면을 질을 개선하여 불면증 및 불안증을 예방 또는 치료하는 효과가 우수하므로 천연 신경안정제로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 36/282 (2013.01)

A61K 36/60 (2013.01)

(72) 발명자

장대식

서울특별시 성북구 월계로36길 27, 102동 201호 (장위동, 꿈의숲대명투첸아파트)

우현

대구광역시 수성구 수성로 400, 407호 (수성동4가, 수성우방팔레스아파트)

안영제

경상북도 경주시 황성로27번길 24, 202동 1105호 (황성동, 현대아파트2차)

권구영

서울특별시 동작구 여의대방로62길 23, 102동 503호 (대방동, 우정아파트)

박세진

경기도 안성시 공도읍 서동대로 4079, 110동 1401호 (주은풍림아파트)

김현지

서울특별시 용산구 장문로45바길 13 (보광동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 311031-3

부처명 농림수산식품부

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원

연구사업명 고부가 가치 식품기술 개발사업

연구과제명 섬오가피등 국내자생 소재를 이용한 우울 및 불면 개선용 건강기능소재 및 제품 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2011.09.29 ~ 2013.09.28

명세서

청구범위

청구항 1

단센수(Danshensu)를 포함하는 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 단센수는 하고초(*Prunella vulgaris*)로부터 분리된 것인, 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 단센수는 불면증을 예방 또는 치료하는 것인, 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 단센수는 불안증을 예방 또는 치료하는 것인, 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 불안증은 공황장애, 범불안장애, 강박장애, 사회공포증, 대인공포증 및 외상후 스트레스 장애로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 하고초(*Prunella vulgaris*), 상엽(*Mori Folium*), 애엽(*Artemisia princeps*) 및 길초근(*Valeriana fauriei*) 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 추가로 포함하는 것인, 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 추출물은 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 추출물인 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 알코올은 30 내지 99.9% 알코올인 신경안정용 약학적 조성물.

청구항 9

단센수를 포함하는 신경안정용 건강기능식품.

청구항 10

제9항에 있어서, 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 추가로 포함하는 신경안정용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 단센수를 포함하는 신경안정용 약학적 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

[0002] 또한 본 발명은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 하고초(*Prunella vulgaris*)는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 초본인 꿀풀(*Prunella vulgaris* var. *lilacina*)의 화수이다. 이 약물은 예로부터 중국, 일본, 한국의 동양 의학권 및 유럽에서 민간약으로 널리 사용되었는데, 동양에서는 간경화 및 고혈압에 사용되었고, 유럽에서는 17세기부터 인후 염증 감소, 해열, 창상 치료 촉진 등에 이용되었다. 최근 하고초의 항알러지, 항염증, 항산화, 항미생물, 항바이러스 등의 생리활성 작용이 보고되었으며, 하고초의 성분 중 하나인 단센수(danshensu)는 아밀로이드 베타 유도의 치매 모델에서 신경보호 효과와 염증모델에서 폐의 미소순환개선효과 등이 보고되었다.

[0004] 상엽(*Mori folium*)은 뽕나무 및 동속 근목식물의 잎을 건조한 것으로 맛은 고감하고 성질은 한하며 폐, 간경에 들어간다. 잎에는 루틴(rutin), 퀘서틴(queracetin), 모라세틴(moracetin), 베타-시토스테롤(β -sitosterol), 캄페스테롤(campesterol), 루페올(lupeol), 미오이노시놀(yoinositol), 이노코스테론(inokosterone) 등이 함유되어 있다. 상기 상엽은 양혈조습(피의 열을 없애고 수분을 줄여줌), 거풍명목(풍기운을 없애고 눈을 맑게 해줌), 말복 지도한(분말로 복용하면 식은땀을 없앰) 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 본초강목 등의 동양의약서에 상백피, 누에고치 등과 함께 소갈증에 효과가 있음이 기록되어 있다[정보섭 및 신민교; 도해향약(생약)대사전, 영림사, pp 545 - 546, 1998].

[0005] 애엽(*Artemisia princeps*)은 국화과(compositae)에 속하는 다년생 초본식물로서, 그 추출물은 혈액응고시간을 연장시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다(약학회지 28(2): 69-77, 1984). 또한 애엽에서 추출된 플라본(flavone)은 항암활성(Chem. Pharm. Bull. 32(2): 723; 1984), 혈소판응집 억제작용(Zhongguo Zhongyao Zazhi, 17(6): 353, 1992), 항진균활성(J. of Chemical Ecology, 19(11), 1993)을 가지며, 항보체작용을 하여 숙주의 방어체계를 도와 알러지 및 염증 치료에 효과가 있고(Chem. Pharm. Bull. 33(5): 2028-2034, 1985), 혈압강화작용과 진정작용(Indian J. Med. Res. 60, 1972)이 있는 것으로 보고된 바 있다. 그 외에도 애엽에서 추출된 유파틸린(eupatilin)은 항종양제(WO 8803805), 건선치료제(WO 8803800), 알러지치료제(JP 84155314) 및 아구창(apthous ulcer)치료제(CA 2065496 AA) 등의 용도가 공지되어 있다.

[0006] 길초근(*Valeriana fauriei*)은 광릉 귀오좁풀(*Valeriana fauriei* var. *dasycarpa* Hara), 넓은잎 귀오좁풀(*Valeriana officinalis* L. var. *latifolia* Miq.)의 뿌리 및 근경이다. 귀오좁풀은 산 속, 강변, 냇가 등에서 자생하는 반음지성 초본류로서 특유의 향취를 가지고 있다.

[0007] 그러나, 지금까지 단센수, 하고초 추출물, 상엽 추출물, 애엽 추출물 또는 길초근 추출물의 신경안정작용에 대해서는 알려진 바 없다.

[0008] 신경불안에 의한 정신질환은 직접적인 치료비용 뿐만 아니라 간접비용 또한 매우 크기 때문에 사회, 문화적으로 큰 부담이 되고 있다. 미국 국립정신보건원(NIMH)에 따르면 자살을 포함한 정신질환은 전체 질병 부담물의 15% 이상을 차지하고 있고 액수로는 매년 2,050 억 달러에 이르고 있으며 특히 불안, 수면장애 및 우울증은 현대인의 정신질환 중 대부분을 차지하고 있다.

[0009] 불안이란 광범위하게 매우 불쾌한, 그리고 막연히 불안한 느낌으로, 관련된 신체증상(가슴 두근거림, 진땀 등) 및 행동증상(과민성, 서성댐 등)을 동반하는 것이다. 불안은 인체를 보호하기 위한 방어시스템의 하나이나 자율신경계를 흥분시키므로 불안감이 너무 잦으면 쉽게 피로해진다. 또한 스트레스, 과로 등으로 교감신경이 활성화되면 불안장애로 발전될 수 있다. 불안증세는 모든 신경정신과 영역에서 가장 일반적인 질환으로서 전체 인구의 약 3~8% 정도가 불안증세로 고통받고 있다고 알려져 있다. 따라서 불안으로 인한 고통 제거 및 인간의 삶의 질

항상과 불안장애로 인한 사회적, 개인적 비용 감소가 요구되고 있다.

- [0010] 불안에 대한 치료약물의 연구는 오래된 약물의 재평가 및 적응증의 확대뿐만 아니라 새로운 약물의 개발, 특히 세로토닌 재흡수 억제제 등의 개발에 관심이 모아지고 있다. 그러나 임상적으로 유효한 항불안 약물들은 항불안의 효과뿐만 아니라 진정, 금단 현상의 유발등의 부작용 때문에 사용에 신중을 기해야 하는 단점이 있다.
- [0011] 정상적인 수면은 건강한 삶에 필수 불가결한 요소로, 수면은 인간 수명의 1/3을 차지한다. 그러나 현대인들은 업무과다, 스트레스, 노화, 생활환경 및 질환 등의 다양한 원인으로 성인 중 10% 이상이 수면장애를 호소하며 성인의 1/3 정도는 일생동안 어떤 형태로든 수면장애를 경험한다고 한다. 수면장애는 흔히 신경정신질환의 초기 증상으로 나타나며 일부 정신질환은 수면생리의 특징적인 변화를 동반한다. 미국 수면 협회(National Sleep Foundation)의 통계에 따르면 미국인의 60%가 때때로 수면장애를 겪으며, 미국 교통안전 위원회에서는 이러한 수면장애로 인해 연간 약 10,000 건의 교통사고가 발생하고 이로 인해 1,500명 이상이 사망하는 등 심각한 사회 문제로 인식되고 있다.
- [0012] 현재 상용되는 대표적 항불안제는 벤조디아제핀(benzodiazepine), 디아제팜(diazepam), 옥사제팜(oxazepam), 프라제팜(prazepam), 로라제팜(lorazepam), 알프라졸람(alprazolam), 헬라제팜(helazepam), 클로나제팜(clonazepam) 등이 있으며, 이들 약물들은 주로 진정 및 수면유도의 목적으로도 사용된다(윤도준, 정신과 약물의 부작용, 대한의사협회지,38(10), pp1196-1202, 1995). 이중 벤조디아제핀은 가장 흔히 사용하는 항불안제로, 효과가 즉각 나타나지만 습관성과 중독성이 단점으로 전문의의 치료에 따라 약을 사용하지 않으면 증상이 재발하거나 금단증상이 나타나며, 다른 부작용으로 졸음, 운동실조, 기립성 저혈압, 호흡 억제, 두통, 만성수면장애, 간질환 등이 나타난다고 보고되고 있다. 이처럼 현재 신경안정을 위하여 불안과 수면장애 치료를 위해 많이 사용되고 있는 약물들은 장기 연용에 의해 내성과 의존성이 생기며, 기억 감퇴, 감각기능의 마비, 호흡기능의 억제와 같은 부작용을 동반하는 것으로 알려져 있고, 민간요법의 경우 그 효능 검증의 기준이 적절하게 마련되어 있지 않아 객관적인 효능 평가가 어려운 단점이 있다. 따라서, 이런 불안증과 수면장애 개선할 수 있는 신경안정제를 대체하기 위하여 생약을 이용한 천연의약품에 대한 필요성이 대두되고 있다.
- [0013] 따라서 생체에 안전하고 항불안 및 항불면 효과를 가진 생약 추출물을 이용한 기존의 신경안정제를 대체할 수 있는 신경안정제의 개발이 절실히 요망되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0014] 본 발명의 목적은 단센수를 포함하는 신경안정용 약학적 조성물 및 건강기능식품을 제공하는 것이다.
- [0015] 또한 본 발명의 목적은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물 및 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 본 발명자들은 생약 추출물을 이용한 신경안정제를 개발하기 위하여 여러가지 생약 추출물의 항불안, 항불면 효과를 확인한 결과, 하고초 추출물, 애엽 추출물, 상엽 추출물, 길초근 추출물 및 하고초 추출물에서 분리한 단센수가 입면시간을 감소시키고 수면 지속시간을 증가시키는 등 항불안, 항불면 효과를 나타내는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.
- [0017] 따라서 본 발명은 단센수를 포함하는 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0018] 또한 본 발명은 상기 단센수가 하고초로부터 분리된 것인, 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0019] 또한 본 발명은 상기 단센수가 불면증을 예방 또는 치료하는 것인, 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0020] 또한 본 발명은 상기 단센수가 불안증을 예방 또는 치료하는 것인, 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0021] 또한 본 발명은 상기 불안증이 공황장애, 범불안장애, 강박장애, 사회공포증, 대인공포증 및 외상후 스트레스 장애로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.

- [0022] 또한 본 발명은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 추가로 포함하는 것인, 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0023] 또한 본 발명은 상기 추출물이 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 추출물인 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한 본 발명은 상기 알코올이 30 내지 99.9% 알코올인 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0025] *본 발명의 다른 양태로 본 발명은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0026] 또한 본 발명은 상기 추출물이 불면증을 예방 또는 치료하는 것인 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0027] 또한 본 발명은 상기 불면증이 적응성불면증, 알코올 의존성 불면증, 불안장애에 의한 불면증 및 우울증에 의한 불면증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0028] 또한 본 발명은 상기 추출물이 하고초 및 길초근 혼합 추출물인 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0029] 또한 본 발명은 상기 하고초 및 길초근 혼합 추출물이 1:1 내지 5:1의 질량비로 혼합된 것인 불면증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0030] 또한 본 발명은 상기 추출물이 하고초 및 애엽 혼합 추출물인 불면증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0031] 또한 본 발명은 상기 하고초 및 애엽 추출물이 1:1 내지 5:1의 질량비로 혼합된 것인 불면증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0032] 또한 본 발명은 상기 추출물이 상엽 및 애엽 혼합 추출물인 불면증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0033] 또한 본 발명은 상기 상엽 및 애엽 추출물이 20:1 내지 4:1의 질량비로 혼합된 것인 불면증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0034] 또한 본 발명은 상기 추출물이 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 추출물인 불면증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0035] 본 발명의 또다른 양태로 본 발명은 단센수를 포함하는 신경안정용 건강기능식품을 제공한다.
- [0036] 또한 본 발명은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 추가로 포함하는 신경안정용 건강기능식품을 제공한다.
- [0037] 또한 본 발명은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

- [0038] 본 발명의 하고초 추출물, 애엽 추출물, 상엽 추출물, 길초근 추출물 및 하고초 추출물에서 분리한 단센수는 입면시간을 단축하고 수면시간을 연장하므로써 수면을 질을 개선하여 불면증 및 불안증을 예방 또는 치료하는 효과가 우수하므로 천연 신경안정제로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0039] 도 1은 하고초(*Prunella vulgaris*) 70% 에탄올 추출물의 입면시간 및 수면지속시간 개선효과를 나타낸 도이다.
- 도 2는 길초근(*Valeriana fauriei*) 70% 에탄올 추출물의 입면시간 및 수면지속시간 개선효과를 나타낸 도이다.
- 도 3은 애엽(*Artemisia princeps*) 70% 에탄올 추출물의 입면시간 및 수면지속시간 개선효과를 나타낸 도이다.

도 4는 애엽(*Artemisia princeps*) 99.9% 에탄올 추출물의 입면시간 및 수면지속시간 개선효과를 나타낸 도이다.

도 5는 상엽(*Mori Folium*) 70% 에탄올 추출물의 입면시간 및 수면 지속시간 개선효과를 나타낸 도이다.

도 6은 하고초 및 길초근 혼합 추출물의 입면시간 및 수면지속시간 개선효과를 나타낸 도이다(하고초: 길초근=4:1(A), 하고초: 길초근=2:1(B))

도 7은 하고초 및 애엽 혼합 추출물의 입면시간 및 수면지속시간 개선효과를 나타낸 도이다(하고초: 애엽=2:1(C), 하고초: 애엽=1:1(D)).

도 8은 상엽 및 애엽 혼합 추출물의 입면시간 및 수면지속시간 개선효과를 나타낸 도이다(상엽: 애엽=8:1(A), 상엽: 애엽=16:1(B), 상엽: 애엽=4:1(C)).

도 9는 단센수의 입면시간 및 수면 지속시간 개선효과를 나타낸 도이다.

도 10은 십자미로측정법을 이용한 단센수의 항불안 효과 확인 결과를 나타낸 도이다.

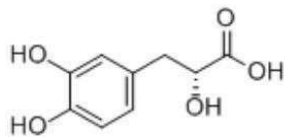
도 11은 홀 보드 실험법을 이용한 단센수의 항불안 효과 확인 결과를 나타낸 도이다.

도 12는 로타로드 실험법을 이용한 단센수의 근이완 작용 확인 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 본 발명은 단센수(dansheusu)를 포함하는 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.

[0041] 상기 단센수는 항불안 및 항불면 효과가 우수하여 신경안정제로 유용하게 이용될 수 있으며, 하기 화학식 (1)로 표시되는 화합물이다.



[0042]

[0043] 화학식 (1)

[0044] 단센수는 여러 종류의 생약으로부터 수득될 수 있으며, *Prunella vulgaris*, *Prunella vulgaris* var. *lilacina*, *Salvia miltiorrhiza* 또는 이들의 혼합물로부터 수득될 수 있고 바람직하게는 *Prunella vulgaris* var. *lilacina*의 화수인 하고초로부터 분리하여 수득될 수 있다. 또한 본 발명의 단센수는 시중에서 판매되는 것을 구입하여 이용할 수 있다.

[0045] 상기 단센수는 수면에 이르기까지의 입면시간을 감소시키고 수면에 든후 잠이 든 상태가 지속되는 수면지속시간을 증가시키는 등 불면증을 예방 또는 치료하는 효과가 우수하다.

[0046] 또한 상기 단센수는 불안증을 예방 또는 치료하는 효과가 우수하다. 상기 불안증은 공황장애, 범불안장애, 강박장애, 사회공포증, 대인공포증 및 외상후 스트레스 장애로 이루어진 군으로부터 선택된 1종이상일 수 있다.

[0047] *또한 상기 신경안정용 약학적 조성물은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 추가로 포함하는 것일 수 있다. 상기 생약 추출물을 추가로 포함하면 각 생약 추출물이 가진 단점을 보완하여 신경 안정 효과를 증가시킬 수 있다.

[0048] 상기 추출물은 수, 알코올, 에틸아세테이트, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜 및 이들의 혼합용매(예를 들어, 함수알코올, 함수글리세린, 함수에틸렌글리콜, 함수프로필렌글리콜, 함수 부틸렌글리콜)중에서 선택된 것일 수 있고, 수, 탄소수 1 내지 4의 무수알코올 또는 함수알코올에서 선택된 용매로 추출되는 것이 바람직하며, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[0049] 상기 알코올은 30 내지 99.9%의 알코올인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 30%, 70% 또는 99.9% 알코올일 수 있다.

[0050] 상기 단센수는 신경안정을 위하여 약 성인 1일 1mg 내지 120mg의 용량으로 단회 내지 수회 투여가 가능하며, 바람직하게는 30mg 내지 120mg의 용량으로 단회 내지 수회투여가 가능하다. 그러나 상기 단센수의 투여량은 환자

의 중증, 나이, 성별, 체중 등의 환자의 상태와 약물의 제형, 투여경로 및 투여 기간에 따라 적절하게 조절될 수 있다.

- [0051] 또한 본 발명은 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0052] 본 발명의 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물은 항불안 효과, 항불면 효과 등을 통하여 수면 모델에서 입면시간 및 수면 지속시간을 효과적으로 개선하였으므로 신경안정효과가 매우 우수하고 다양한 원인에 기인한 불면증을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0053] 상기 하고초, 상엽, 애엽 및 길초근 추출물은 단일 추출물에서도 신경안정작용을 확인할 수 있으며, 1종 이상을 혼합하여 혼합 추출물로 사용하는 경우 각 단일 추출물을 보완하여 수면의 질을 더욱 개선할 수 있는 등 바람직한 상가 작용을 나타낼 수 있다. 상기 혼합 추출물은 1종 이상의 생약제를 혼합하여 추출하거나 1종이상의 생약제의 추출물을 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0054] 상기 하고초는 화수, 꽃, 뿌리 및 전초를 포함하나 이 중 화수 부위를 사용하는 것이 바람직하다.
- [0055] 본 발명의 추출물은 당업계에서 공지된 통상적인 방법을 이용하여 추출하여 수득가능하며 바람직하게는 다음과 같은 방법을 통해 추출할 수 있다
- [0056] 예를 들어, 건조한 하고초, 길초근, 상엽 또는 애엽 시료 중량의 약 1 내지 100배(v/w), 바람직하게는 약 5 내지 20배(v/w)의 물, C₁ 내지 C₄의 저급 알콜 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매, 보다 바람직하게는 물 및 에탄올 혼합용매, 보다 더 바람직하게는 60 내지 99.9% 에탄올을 가하여 30 내지 110℃, 바람직하게는 50 내지 100℃에서 1시간 내지 5시간, 바람직하게는 1시간 내지 3시간 동안 냉침추출, 열수추출, 초음파 추출, 환류냉각추출, 가열추출 등의 추출방법, 바람직하게는 초음파 추출법 또는 환류냉각추출법으로 추출한 후, 그 여과물을 여과하고 감압농축 및 건조하여 본 발명의 추출물을 수득할 수 있다.
- [0057] 따라서, 본 발명은 건조한 하고초 중량의 약 1 내지 100배(v/w)의 물, C₁ 내지 C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매를 가하여 30 내지 110℃에서 1시간 내지 5시간, 동안 냉침추출, 열수추출, 초음파 추출, 환류냉각추출, 또는 가열추출법으로 추출하는 제 1단계; 그 여과물을 여과하고 감압농축 및 건조하는 제2단계를 포함하여 추출물을 수득할 수 있다.
- [0058] 상기 신경안정은 바람직하게는 항불면 효과를 바탕으로 한 불면증의 예방 또는 치료효과일 수 있으며, 상기 불면증은 적응성불면증, 알코올 의존성 불면증, 불안장애에 의한 불면증 및 우울증에 의한 불면증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0059] 상기 적응성 불면증은 특수한 환경, 스트레스 등에 의한 불면증을 말하며, 알코올 의존성 불면증은 알코올에 의하여 수면지속시간이 짧아져 수면 후반기에 자주 잠에서 깨어나게 되는 불면증이다. 또한 불안장애에 의한 불면증은 신경정신질환과 관련된 불면증으로 강박신경증등의 환자에서 주로 확인되는 불면증이다.
- [0060] 상기 추출물은 하고초 및 길초근 혼합 추출물일 수 있다.
- [0061] 상기 혼합 추출물은 하고초 및 길초근이 1:1 내지 10:1 질량비, 바람직하게는 1:1 내지 5:1의 질량비로 혼합된 것일 수 있다.
- [0062] 상기 하고초 및 길초근의 혼합 추출물은 입면시간은 감소시키고 수면지속 시간은 연장시킬 수 있어 수면의 질을 다각도로 개선하는 효과가 우수하다.
- [0063] 또한 상기 추출물은 하고초 및 애엽 혼합 추출물일 수 있다.
- [0064] 상기 혼합 추출물은 하고초 및 애엽이 1:1 내지 5:1의 질량비로 혼합된 것일 수 있으나, 바람직하게는 1:1 내지 2:1의 질량비로 혼합된 것일 수 있다. 특히 애엽 추출물에 대한 하고초 추출물의 비율이 높아지는 경우 수면유도효과가 감소될 수 있다.
- [0065] 상기 하고초 및 애엽의 혼합 추출물은 입면시간 단축에 매우 효과적인 애엽 추출물이 포함되어 입면시간은 감소시키고 수면지속 시간은 연장시킬 수 있으므로 수면의 질을 다각도로 개선하는 효과가 우수하여 보다 양질의 수면 유도 효과를 나타낼 수 있다.

- [0066] 또한 상기 추출물은 상업 및 애엽 혼합 추출물일 수 있다.
- [0067] 상기 혼합 추출물은 상업 및 애엽이 20:1 내지 1:1 질량비, 바람직하게는 16:1 내지 4:1의 질량비로 혼합된 것일 수 있다.
- [0068] 상기 상업 및 애엽의 혼합 추출물은 입면시간 단축에 매우 효과적인 애엽 추출물이 포함되어 상업 단일 추출물에 비하여 입면시간이 효과적으로 감소되는 등 수면 유도 효과가 우수하여 보다 양질의 수면 유도 효과를 나타낼 수 있다.
- [0069] 상기 추출물은 수, 알코올, 에틸아세테이트, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜 및 이들의 혼합용매(예를 들어, 함수알코올, 함수글리세린, 함수에틸렌글리콜, 함수프로필렌글리콜, 함수 부틸렌글리콜)중에서 선택된 것일 수 있고, 수, 탄소수 1 내지 4의 무수알코올 또는 함수알코올에서 선택된 용매로 추출되는 것이 바람직하며, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.
- [0070] 상기 알코올은 30 내지 99.9%의 알코올인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 30%, 70% 또는 99.9% 알코올일 수 있다.
- [0071] 상기 하고초, 상업, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물은 신경안정을 위하여 약 성인 1일 0.5g 내지 5g의 용량으로, 바람직하게는 1g 내지 3g의 용량으로 투여할 수 있다. 투여는 단회 또는 수회로 선택적으로 이루어질 수 있다. 그러나 상기 투여량은 환자의 증증, 나이, 성별, 체중 등의 환자의 상태와 약물의 제형, 투여경로 및 투여 기간에 따라 적절하게 조절될 수 있다.
- [0072] 본 발명의 신경안정용 약학적 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0073] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 본 발명의 약학적 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘, 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제도 사용될 수 있다.
- [0074] 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0075] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 및 젤라틴 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 비경구 투여시 피하주사, 정맥주사 또는 근육내 주사를 통하여 투여될 수 있다.
- [0076] 또한 본 발명은 단센수를 포함하는 신경안정용 건강기능식품을 제공한다.
- [0077] 상기 건강기능식품은 하고초, 상업, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 추가로 포함할 수 있다.
- [0078] 또한 본 발명은 하고초, 상업, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 포함하는 신경안정용 건강기능식품을 제공한다.
- [0079] 본 발명의 건강기능식품은 상기 하고초, 상업, 애엽 및 길초근 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 함량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 추출물은 식품의 총중량에 대하여 1 내지 5 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100ml을 기준으로 0.02 내지 10g, 바람직하게는 0.3 내지 1g의 비율로 가할 수 있다.
- [0080] 또한, 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없다. 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 음료, 껌, 비타민 복합제, 드링크제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

- [0081] 본 발명의 건강기능식품은 건강기능음료일 수 있으며, 상기 음료는 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트릴톨 등의 당알콜이다. 또한, 상술한 것 이외의 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.
- [0082] 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 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.
- [0083] 이상 본 명세서에 기재된 수치값은 달리 명시되어 있지 않은 한 균등범위까지 포함하는 것으로 해석되어야 한다.
- [0084] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예 또는 실험예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [0085] 모든 실험 결과는 ANOVA (one way analysis of variance)를 이용하여 통계 처리하였고, 유의성이 인정될 경우 Student-Newman-Keuls Test를 사용하여 $P < 0.05$ 수준 이하에서 유의성 검정을 실시하였다.
- [0086] **실시예 1. 펜토바비탈에 의해 유도된 수면 모델을 이용한 하고초 추출물의 수면효과**
- [0087] **1.1. 하고초 추출물의 제조 및 마우스 준비**
- [0088] 경동시장(Seoul, Korea)에서 건조된 하고초를 구입하여 화수만을 분리한 뒤 가정용 분쇄기(mixer)를 이용하여 분말화하였다. 상기 분말에 70% 에탄올 10배량(v/v)을 가하여 60℃에서 초음파 추출장치(POWERSONIC 420, 화신테크)로 2시간 동안 2회 추출하였다. 추출액을 탈지면으로 여과 후, 감압농축기(N-1000, EYELA)로 감압 농축하고, 동결건조기(FDU-2000, EYELA)로 동결건조하여 하고초 추출물 분말을 얻었다. 동결 건조한 분말을 -70℃ 냉동고에 보관하고, 실험시 10% 트윈80 용액에 녹여 사용하였다. 하고초 추출물의 수득률은 23.13%였다.
- [0089] 실험에 사용될 6주령의 ICR 마우스(26-28g)는 (주)오리엔트(Seoul, Korea)에서 공급받아 경희대학교 약학대학의 소독케이지(clean cage)에 약 5일간 적응시켜 사용하였으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 온도(23 ± 1 °C), 습도(60 ± 10 %) 및 명암주기(12 시간)는 자동으로 조절되도록 하였다.
- [0090] **1.2. 하고초 추출물 처리**
- [0091] 상기 1.1과 같이 추출하여 제조된 하고초 추출물을 이용하여 수면 유도 실험을 실시하였다. 하고초 추출물을 10% 트윈 80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 녹인 후 여러가지 용량(25, 50, 100 mg/kg)으로 마우스에 경구 투여하였고, 대조군에는 10% 트윈 80을 투여하였다. 투여 한 시간 뒤에, 실험군 및 대조군 마우스에 생리식염수에 녹인 펜토바비탈(펜토탈소디움 주사액(500 mg/vial), (주)원일약품)을 복강투여하였다. 각 그룹은 8 내지 10마리의 생쥐를 사용하였으며, 18시간 내지 24시간 절식시켰다.
- [0092] **1.3. 수면유도 효과의 측정 및 결과**
- [0093] 수면 유도의 효과는 입면시간 및 수면 지속시간으로 평가할 수 있다. 수면의 확인 여부를 위한 정좌반사의 판단을 용이하게 하기 위해 수면제인 펜토바비탈을 투여하였으며, 트윈 80 투여 후 펜토바비탈을 복강 투여한 대조군과 하고초(*Prunella vulgaris*) 추출물을 경구투여한 후 펜토바비탈을 투여한 실험군을 각각 개체별로 독립된 공간에 옮겨 입면시간(onset time) 및 수면지속시간(duration time)을 측정하였다. 입면시간은 마우스가 정좌반사가 없어질 때까지의 시간으로 간주하였고, 수면지속시간은 다시 정좌반사가 나타날 때까지의 시간으로 설정하였다. 펜토바비탈 투여 후 10분이 지나도 수면행동이 나타나지 않은 마우스는 실험에서 제외하였다.
- [0094] 수면 유도 효과를 측정한 결과를 도 1에 나타내었다.

도 1에 나타난 바와 같이, 대조군에 비하여 하고초 추출물을 투여한 실험군의 수면 지속시간이 유의하게 증가하였다. 하고초 추출물을 투여한 실험군의 입면시간 역시 대조군에 비해 감소하였다. 이를 통해 하고초 추출물이 입면시간 및 수면시간을 개선하는 항불면 효과가 있음을 확인하였다.

실시에 2. 펜토바비탈에 의해 유도된 수면 모델을 이용한 길초근, 애엽, 상업 추출물의 수면효과 관찰

2.1 생약 추출물의 제조

상기 실시예 1.1 과 동일한 방법으로 길초근, 애엽, 상업을 약용부위만 분리하여 70% 또는 99.9% 추출물을 제조하였으며 수득률은 표 1에 나타내었다. 각 추출물의 수득률은 길초근 30.46%, 애엽 15.0%, 상업 19.5%로 나타났다.

[표 1]

생약	추출용매의 농도	수득률(%)
길초근	70%	30.5
애엽	70% 99.9%	15.5 11.8
상업	70%	19.5

2.2. 생약 추출물 처리

2.1에서 추출한 추출물을 10% 트윈 80 (Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 녹인 후 70% 에탄올 길초근 추출물 100, 200, 400mg/kg, 70% 에탄올 애엽 추출물 25, 50mg/kg, 99.9% 에탄올 애엽 추출물 50, 100, 200mg/kg, 70% 에탄올 상업 추출물 100, 200mg/kg와 같은 다양한 용량으로 경구 투여하였고 대조군에는 10% 트윈 80을 경구 투여하였다. 투여 한 시간 뒤에 실험군 및 대조군 마우스에 생리식염수에 녹인 펜토바비탈을 복강투여하였다. 상기 실시예 2.1에서 제조한 생약 추출물에 대해서 수면 실험을 실시하였고 각 그룹은 8 내지 10마리의 생쥐를 사용하였으며, 18시간 내지 24시간 절식시켰다.

2.3. 수면유도 효과의 측정 및 결과

길초근, 애엽 또는 상업 추출물 또는 트윈 80을 경구투여하고 한 시간 후 마우스에게 펜토바비탈을 복강 투여하고 각 개체를 독립된 공간에 옮겨 입면시간(onset time) 및 수면지속시간(duration time)을 상기 실시예 1.3과 같은 방법으로 측정하였다.

결과를 도 2 내지 도 5에 나타내었다.

도 2에 나타난 바와 같이, 길초근의 70% 에탄올 추출물을 투여한 실험군은 대조군과 비교하여 입면 시간이 유의적으로 감소하였으며, 수면지속시간 역시 대조군과 비교하여 유의적으로 증가하였다.

도 3에 나타난 바와 같이, 애엽의 70% 에탄올 추출물을 투여한 실험군 모두에서 대조군과 비교하여 입면시간이 효과적으로 감소되었으며 25mg/kg 용량에서도 뛰어난 입면시간 감소 효과를 보였다.

도 4에 나타난 바와 같이, 애엽의 99.9% 에탄올 추출물을 투여한 실험군에서는 대조군과 비교하여 입면시간이 매우 효과적으로 감소되었으며 모든 투여 용량에서 입면 시간 단축 효과가 뛰어난 것을 확인하였다.

또한 애엽의 70% 및 99.9% 에탄올 추출물 투여 실험군 모두에서 애엽 추출물이 특히 입면 시간의 감소에 효과적인 것을 알 수 있었다.

도 5에 나타난 바와 같이, 상업의 70% 에탄올 추출물을 투여한 결과 수면 지속시간이 대조군에 비하여 농도 의존적으로 증가하였다. 즉, 상업은 불면증 개선에 있어서 수면지속시간을 증가시키는데 효과적인 것을 알 수 있

었다.

실시에 3. 펜토바비탈에 의해 유도된 수면 모델을 이용한 하고초를 포함하는 혼합 추출물의 수면 효과 관찰

3.1. 혼합추출물의 제조

실시에 1 및 2에서 추출한 추출물들을 10% 트윈 80 (Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 녹인 후 여러 가지 용량을 배합하였다. 혼합 추출물의 혼합 비는 표 2에 나타내었다. 모든 혼합 추출물에는 하고초 추출물이 포함되도록 하였다.

[표 2]

실험군	하고초 추출물(mg)	기타 생약추출물(mg)	혼합 질량비
A	50	길초근 12.5	4:1
B	50	길초근 25	2:1
C	50	애엽 25	2:1
D	25	애엽 25	1:1

3.2. 수면 유도 효과의 측정 및 결과

혼합 추출물 또는 트윈 80을 경구투여하고 한 시간 후, 마우스에게 펜토바비탈을 복강 투여하고 각 개체를 독립된 공간에 옮겼다. 각 그룹은 8 내지 10마리의 생쥐를 사용하였으며, 18시간 내지 24시간 절식시켰다. 입면시간(onset time) 및 수면지속시간(duration time)을 상기 1.3과 동일한 방법으로 측정하여 혼합 추출물의 수면 유도효과를 관찰하였다.

결과를 도 6 및 도 7에 나타내었다.

도 6에 나타난 바와 같이, 하고초와 길초근의 혼합 추출물은 4:1, 2:1 혼합 추출물 투여군(A, B) 모두에서 입면 시간을 효과적으로 단축시켰으며, 수면 지속시간 또한 증가하는 것을 확인하였다.

또한 도 7에 나타난 바와 같이, 하고초와 애엽의 혼합 추출물을 투여한 실험군(C, D) 모두에서 대조군에 비해서 입면시간이 유의적으로 감소되고, 수면 지속시간 또한 유의적으로 증가되는 것을 확인하였다. 특히 하고초 단일 추출물이 수면 지속시간은 효과적으로 증가시키고, 애엽 추출물이 입면 시간을 효과적으로 단축시키므로, 이를 혼합한 하고초 및 애엽 혼합 추출물은 수면을 효과적으로 개선할 수 있었다.

하고초를 포함하는 혼합 추출물의 불면증 치료효과를 관찰한 결과, 각각의 단일 추출물 투여와 비교하여 혼합 추출물을 사용하는 경우 수면유도 효과 지표인 입면시간 및 수면지속시간을 동시에 효과적으로 개선함으로써 보다 양질의 수면 유도 효과를 나타낼 수 있음을 확인하였다.

실시에 4. 펜토바비탈에 의해 유도된 수면 모델을 이용한 상엽 및 애엽 혼합 추출물의 수면유도 효과 관찰

4.1 혼합 추출물의 제조 및 투여

*실시에 2에서 추출한 상엽 및 70% 에탄올 애엽 추출물들을 10% 트윈 80 (Polyoxyethylene sorbitan monooleate: Sigma, U.S.A.)에 녹인 후 표 3에 나타난 바와 같이 여러 가지 용량을 배합하여 경구 투여하고 대조군에는 10% 트윈 80을 경구 투여한 후 한 시간 뒤에 생리식염수에 녹인 펜토바비탈을 마우스에 복강투여하였다. 각 개체는 독립된 공간에 옮겨졌고, 각 그룹은 8 내지 10마리의 생쥐를 사용하였으며, 18시간 내지 24시간 절식시켰다.

[표 3]

실험군	상엽 추출물(mg)	애엽 추출물(mg)	혼합비
A	200	25	8:1
B	200	12.5	16:1
C	100	25	4:1

4.2. 수면 유도 효과의 측정 및 결과

입면시간(onset time) 및 수면지속시간(duration time)을 상기 1.3과 동일한 방법으로 측정하였다. 펜토바비탈 투여 후 10분이 지나도 수면행동이 나타나지 않은 마우스는 실험에서 제외하였다.

결과를 도 8에 나타내었다.

도 8에 나타난 바와 같이, 상엽과 애엽의 혼합 추출물을 투여한 실험군(A-C)모두에서 입면시간은 감소하였으며, 수면 지속시간은 증가하였다. 실시예 2에서 확인한 바와 같이 상엽은 수면 지속시간을 증가시키는 효과가 우수하고, 애엽은 입면시간 개선 효과가 우수하므로, 상엽과 애엽의 혼합 추출물은 수면지속시간 및 입면시간을 모두 개선하여 수면의 질을 효과적으로 개선할 수 있음을 확인하였다.

실시예 5. 펜토바비탈에 의해 유도된 수면 모델을 이용한 단센수의 수면효과 관찰

5.1. 단센수의 분리 및 정제

하고초(*Prunella vulgaris* var. *lilacina*) 70% 에탄올 추출물(285.4g)에 대해 H₂O:MeOH 용매(1:0→7:3, v/v, 마지막 100% MeOH)를 이동상으로 하고, Diaion HP-20을 고정상으로 한 컬럼 크로마토그래피를 실시(6.2×78.4 cm)하여 총 15개의 분획물로 나누었다. 나누어진 분획물 중 분획물 3(10.58g)에 대하여 혼합용매(EtOAc:MeOH:H₂O=7.5:2:0.5, v/v, 마지막 100% MeOH)를 이동상으로 하고, 실리카 겔(70-230 mesh)을 고정상으로 한 컬럼 크로마토그래피(6.5×32.5 cm)를 실시하여 총 6개의 소분획물로 나누었다. 소분획물 3-5(4.18g)를 100% H₂O 용매를 사용하여 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(3.4×38.5cm)를 통해 9개로 나누었다. 얻어진 분획물 중 3-5-2번에서 메탄올 결정으로 화합물 1(264.2mg)을 분리하였다. 또한 소분획물 3-5-4(390mg)에서 MPLC(C₁₈, 43g, MeOH-H₂O gradient)를 실시하여 화합물 1(300mg)을 추가로 분리하였다. 화합물 1을 동정하기 위하여 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR 데이터 분석을 수행하였으며, 얻어진 결과는 기존문헌에 수록된 자료와 비교분석하였다 [XJ. Gu, YB. Li, P. Li, SH. Qian, JA. Duan. Studies on Chemical constituents of *Prunella vulgaris*. China Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 32(10), 923-926], [YP. Zhang, HY. Chen, WX. Cheng, Y. Feng, ZJ. Tang, LJ. Yang, J. Li. Studies on the Chemical Constituents of *Salvia miltiorrhiza* of Lijiang J. Chinese Medicinal Materials, 2008, 31(2), 226-229].

NMR 결과를 분석한 결과 하고초 추출물로부터 분획된 화합물 1은 단센수(danshensu)인 것으로 확인되었다. 이후 분리한 단센수를 실험에 이용하였다.

5.2. 수면 유도 효과 측정 및 결과

5.1에서 분리한 성분을 0.9% 생리식염수(Biopure, SOD001)에 녹인 후 여러 가지 용량(1, 10 mg/kg)으로 경구 투여하였고 대조군에는 0.9% 생리식염수를 경구 투여하였다. 투여 한 시간 뒤에 마우스에게 생리식염수에 녹인 펜토바비탈을 복강투여하였다. 각 그룹은 8 내지 10마리의 생쥐를 사용하였으며, 18시간 내지 24시간 절식시켰다. 입면시간(onset time) 및 수면지속시간(duration time)을 상기 1.3과 동일한 방법으로 측정하여 단센수의 수면 유도 효과를 관찰하였다. 펜토바비탈 투여 후 10분이 지나도 수면행동이 나타나지 않은 마우스는 실험에서

제외하였다.

[0137] 결과를 도 9에 나타내었다.

[0138] 도 9에 나타난 바와 같이, 모든 실험군에서 대조군에 비하여 입면시간이 감소하는 것을 확인하였으며, 특히 수면 지속시간의 경우 단센수 10mg/kg을 투여한 군에서 뚜렷하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0139] **실시에 6. 십자 미로법에 의한 항불안 효과의 관찰**

[0140] 단센수가 항불면 작용 외에도 추가적인 항불안 효능이 있는지 여부를 확인하기 위하여 십자 미로법을 수행하였다. 십자 미로법에 실험군으로 사용될 마우스에 실시예 5.1에서 분리한 단센수를 0.9% 생리식염수(Biopure, SOD001)에 녹인 후 여러 가지 용량(1, 3, 10 mg/kg)으로 경구 투여하였다. 양성 대조군에는 디아제팜(디아제팜 주사액(10 mg/2ml/amp), (주원일약품) 1mg/kg을 투여하였으며, 대조군에는 0.9% 생리식염수를 투여하였다. 각 그룹은 10마리의 생쥐를 사용하였다.

[0141] 마우스의 십자 미로 측정법에 사용되는 미로는 53cm 높이의 십자 형태의 미로로서, 길이 30cm, 너비 5cm의 사방이 개방되어 있고 마주보고 있는 두 길과 같은 길이와 너비로 중앙부위를 제외한 전 부분이 막혀 있는 두 길이 25cm²의 중앙부위를 중심으로 교차되어 있는 미로이다. 상기 미로에 마우스의 시선이 열린 길의 바깥을 향하도록 하여 놓은 후, 마우스가 자발적으로 열린 길 또는 막힌 길을 택하여 머무르도록 하여 각 길에 머무른 시간을 일정시간(5분)동안 측정하는 방법을 통해 마우스에서 항불안 효능을 측정하였다.

[0142] 결과를 도 10에 나타내었다.

[0143] 도 10에 나타난 바와 같이, 1, 3, 10 mg/kg을 투여한 모든 실험군에서 대조군에 비해 열린길에서 머무른 시간과 빈도가 증가하였다. 또한, 총 행동거리는 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과를 통해 단센수가 행동성에는 영향을 미치지 않으면서 항불안 효과가 있음을 확인하였다.

[0144] **실시에 7. 홀 보드 실험법에 의한 단센수의 항불안 효과 관찰**

[0145] 항불안 효과를 확인하기 위한 홀 보드 실험법을 수행하기 위하여 실시예 5.1과 동일한 방법으로 제조한 단센수를 1, 3, 10 mg/kg 용량으로 경구 투여하였다. 양성 대조군에는 디아제팜 1 mg/kg을 투여하였으며, 대조군에는 0.9% 생리식염수를 투여하였다. 각 그룹은 10마리의 생쥐를 사용하였다.

[0146] 가로와 세로 20 cm, 두께 2.2 cm의 지름 3 cm의 동일한 16개의 구멍이 4열 4행으로 뚫려 있는 회색의 플렉시 판넬에 마우스가 홀 보드의 중앙에 위치하도록 놓은 후 구멍에 머리를 넣어 잠기도록 넣는 횟수를 5분동안 측정하는 방법으로 홀 보드 실험법을 수행하였다.

[0147] 결과를 도 11에 나타내었다.

[0148] 도 11에 나타난 바와 같이, 단센수를 경구투여한 마우스는 대조군에 비하여 구멍을 들여다보는 횟수가 뚜렷하게 증가되었으며, 3, 10mg/kg을 투여한 군은 양성 대조군인 디아제팜 투여군과 비슷한 수준의 횟수를 나타내는 것을 확인하였다. 이를 통해 본 발명의 단센수는 양성대조군인 디아제팜과 비슷한 수준의 항불안 효과를 가지고 있을 것으로 예측되었다.

[0149] **실시에 8. 로타로드 실험법에 의한 단센수의 근이완 작용 유무의 관찰**

[0150] 디아제팜과 같은 항불안제는 불안 증세를 완화시키나 근육을 이완시키는 효과가 수반되는 것으로 알려져 있다. 본 발명의 단센수 역시 항불안 작용과 함께 근이완 효과가 수반되는지 여부를 확인하기 위하여 로타로드 실험법을 수행하였다.

[0151] 우선 실시예 5.1과 동일한 방법으로 제조한 단센수를 마우스에 1, 3, 10 mg/kg 용량으로 경구 투여하였다. 양성 대조군에는 디아제팜 1mg/kg을 투여하였으며, 대조군에는 0.9% 생리식염수를 투여하였다. 각 그룹은 10마리의 생쥐를 사용하였다.

[0152] 로타로드 실험법을 위하여 지름이 3cm인 거친 표면으로 이루어진 원형의 자동회전 로드 실험기구에 마우스가 실

험자를 등지도록 올려놓은 뒤, 2분간 관찰하여 로드가 30 rpm의 속도로 돌고 있는 상태에서 마우스가 처음 떨어지기까지 버틴 시간, 총 떨어진 횟수를 측정하여 투여한 약물이 마우스의 근육에 이완 작용을 나타내는지 확인하였다. 로타로드 실험법에 사용된 마우스는 실험시간 24시간 전에 전실험을 통하여 2분간 30rpm의 속도로 돌고있는 로드위에서 버틸 수 있도록 훈련된 것만을 선별하여 실험에 사용하였다.

결과를 도 12에 나타내었다.

도 12에 나타낸 바와 같이 디아제팜과 달리 단센수를 투여한 군과 대조군 간에 로드에서 떨어지기까지 걸린 시간과 총 떨어진 횟수가 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이러한 결과를 통해 본 발명의 단센수는 디아제팜과 같은 항불안제와는 달리 근육에는 영향을 미치지 않으면서 항불안 효능이 나타남을 확인하였다.

이와 같은 결과를 종합적으로 고려하면 단센수는 항불안, 항불면 효과가 뛰어나 신경안정제로 사용할 수 있음을 알 수 있다.

제제예 1. 산제의 제조

실시에 1 내지 5의 생약추출물 또는 단센수	20 mg
유당	100 mg
탈크	10 mg

상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전 하여 산제를 제조한다.

제제예 2. 정제의 제조

실시에 1 내지 5의 생약추출물 또는 단센수	10 mg
옥수수전분	100 mg
유당	100 mg
스테아린산 마그네슘	2 mg

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

제제예 3. 캡슐제의 제조

실시에 1 내지 5의 생약추출물 또는 단센수	10 mg
결정성 셀룰로오스	3 mg
락토오스	14.8 mg
마그네슘 스테아레이트	0.2 mg

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

제제예 4. 주사제의 제조

실시에 1 내지 5의 생약추출물 또는 단센수	10 mg
만니톨	180 mg
주사용 멸균 증류수	2974 mg
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	26 mg

[0178] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0179] **제제예 5. 액제의 제조**

[0180] 실시예 1 내지 5의 생약추출물 또는 단센수 10 mg

[0181] 이성화당 10 g

[0182] 만니톨 5 g

[0183] 정제수 적량

[0184] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬 향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전 하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0185] **제제예 6. 건강 식품의 제조**

[0186] 실시예 1 내지 5의 생약추출물 또는 단센수 1000 mg

[0187] 비타민 혼합물 적량

[0188] 비타민 A 아세테이트 70 μ g

[0189] 비타민 E 1.0 mg

[0190] 비타민 B1 0.13 mg

[0191] 비타민 B2 0.15 mg

[0192] 비타민 B6 0.5 mg

[0193] 비타민 B12 0.2 μ g

[0194] 비타민 C 10 mg

[0195] 비오틴 10 μ g

[0196] 니코틴산아미드 1.7 mg

[0197] 엽산 50 μ g

[0198] 판토텐산 칼슘 0.5 mg

[0199] 무기질 혼합물 적량

[0200] 황산제1철 1.75 mg

[0201] 산화아연 0.82 mg

[0202] 탄산마그네슘 25.3 mg

[0203] 제1인산칼륨 15 mg

[0204] 제2인산칼슘 55 mg

[0205] 구연산칼륨 90 mg

[0206] 탄산칼슘 100 mg

[0207] 염화마그네슘 24.8 mg

[0208] 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.

[0209] 제제예 7. 건강 음료의 제조

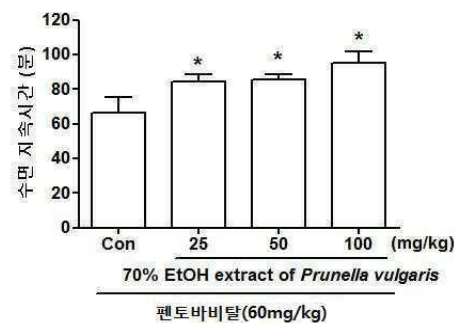
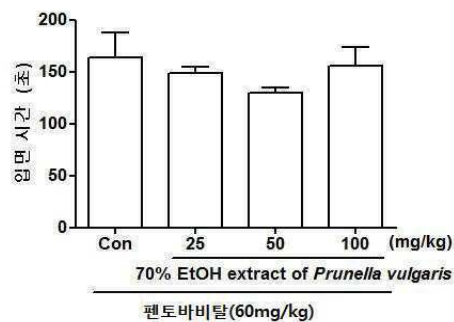
[0210]	실시예 1 내지 5의 생약추출물 또는 단센수	1000 mg
[0211]	구연산	1000 mg
[0212]	올리고당	100 g
[0213]	매실농축액	2 g
[0214]	타우린	1 g
[0215]	정제수를 가하여	전체 900 ml

[0216] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

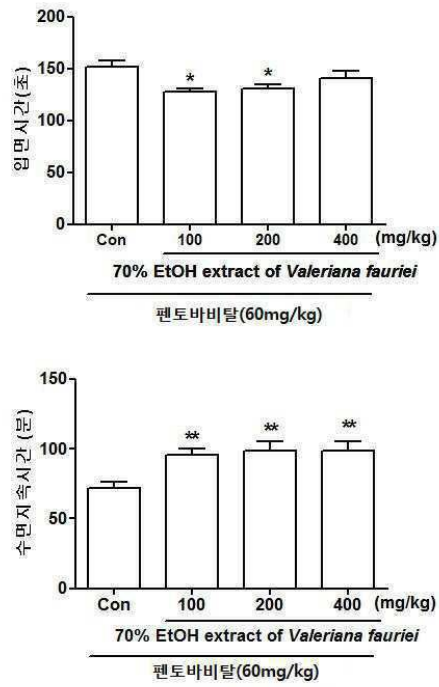
[0217] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

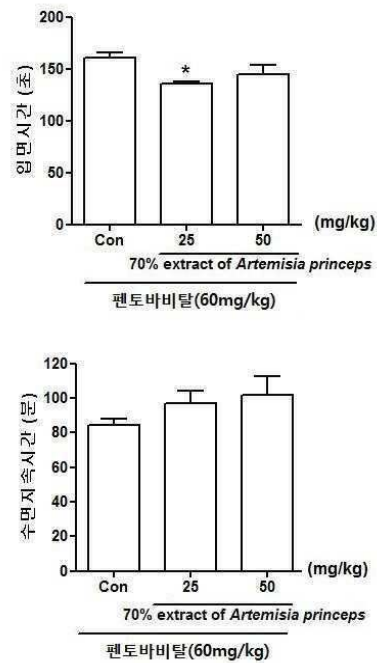
도면1



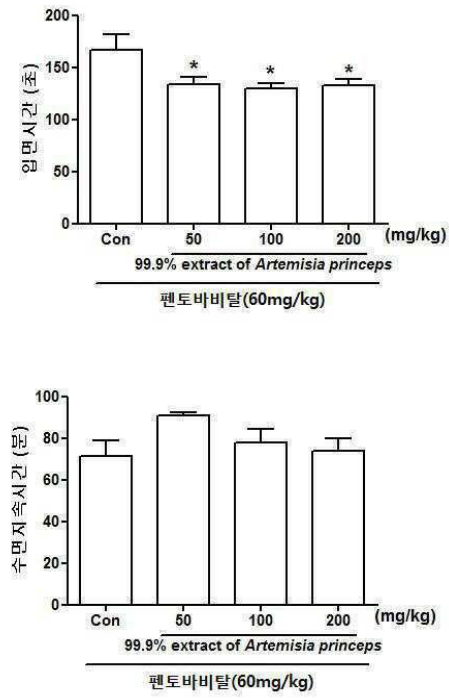
도면2



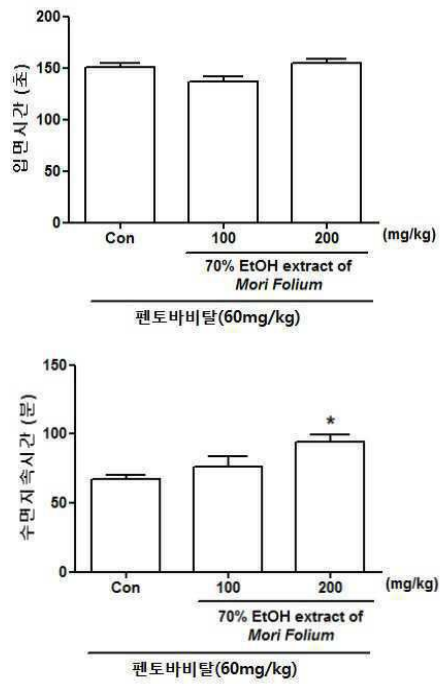
도면3



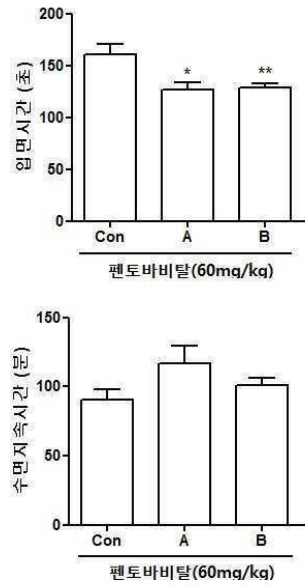
도면4



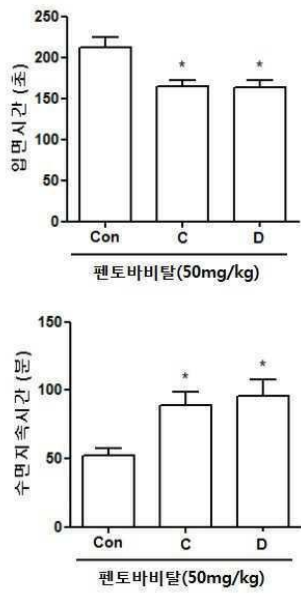
도면5



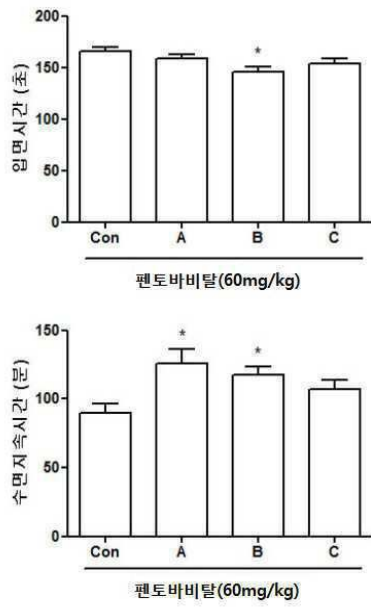
도면6



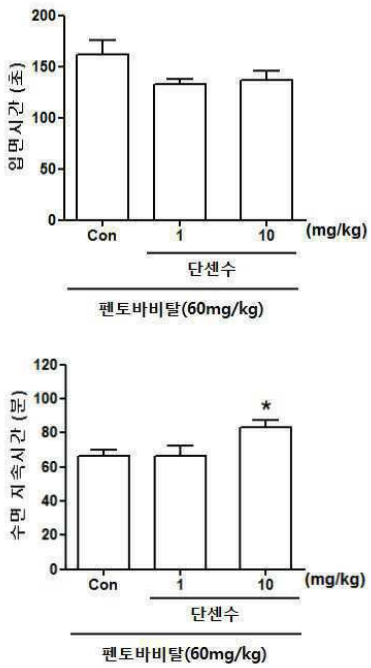
도면7



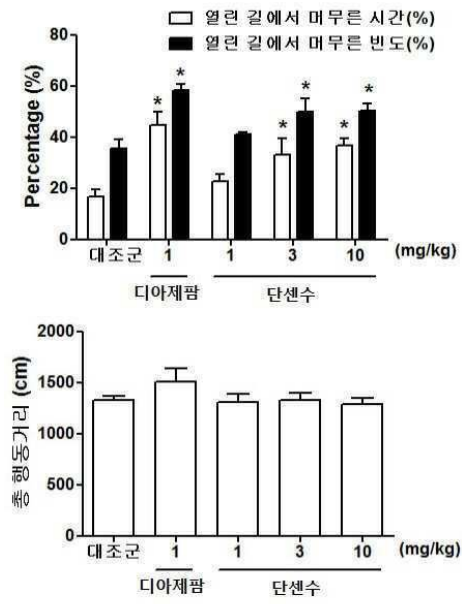
도면8



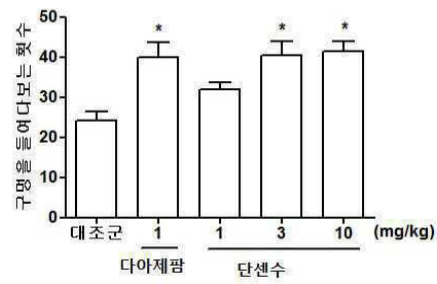
도면9



도면10



도면11



도면12

