



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0124490
(43) 공개일자 2014년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/56 (2006.01) A61K 35/60 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0042048

(22) 출원일자 2013년04월17일

심사청구일자 2013년04월17일

(71) 출원인

(주)뉴메드

서울특별시 동대문구 이문로 88, 301호 302호 (이문동, 민족통일 대통령 빌딩)

(72) 발명자

최진규

서울 광진구 독성로36길 19, 804동 501호 (자양동, 자양8차현대홈타운)

이동현

서울 양천구 목동서로 38, 114동 403호 (목동, 목동1단지아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

안소영

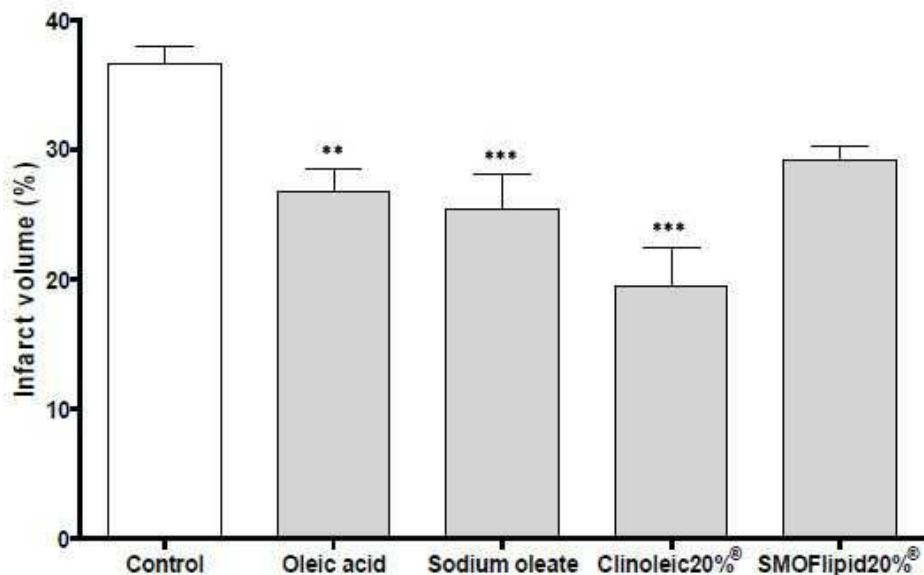
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함하는 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 및/또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 우수한 뇌신경세포 보호 효과를 가지면서도 독성 및 부작용이 없어, 효과적이고 안전하게 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 치료 또는 개선을 위해 사용할 수 있다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

박주연

경기 남양주시 진건읍 진건오남로86번길 58, 103동
1202호 (금강아파트)

송정빈

서울 성동구 무학봉길 92, (하왕십리동)

김호철

서울 동대문구 천장산로11길 17, 204동 1103호 (이
문동, 이문삼성래미안아파트)

특허청구의 범위

청구항 1

난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함하는 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 올리브유, 대두유, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유를 포함하는 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 조성물은 올리브유 0.1 내지 20 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 중쇄트리글리세라이드 0.1 내지 20 중량 %, 및 정제어유 0.1 내지 10 중량 %를 포함하는 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 올리브유, 대두유, 난황 레시틴, 글리세롤 및 올레산나트륨을 포함하는 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 조성물은 올리브유 1 내지 50 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 난황 레시틴 0.01 내지 5 중량 %, 글리세롤 2.25 중량 %, 및 올레산나트륨 0.01 내지 1 중량 %를 포함하는 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 퇴행성 뇌질환은 치매, 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴 무도병, 피크(Pick)병 및 크로이츠펠트-야콥(Creutzfeldt-Jacob)병으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나인 약학적 조성물.

청구항 7

난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함하는 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 건강기능식품은 올리브유 0.1 내지 20 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 중쇄트리글리세라이드 0.1 내지 20 중량 %, 및 정제어유 0.1 내지 10 중량 %를 포함하는 건강기능식품.

청구항 9

제 7항에 있어서, 상기 건강기능식품은 올리브유 1 내지 50 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 난황 레시틴 0.01 내지 5 중량 %, 글리세롤 2.25 중량 %, 및 올레산나트륨 0.01 내지 1 중량 %를 포함하는 건강기능식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 통계청에서 2010년 발표한 자료에 따르면, 우리나라는 2011년 65세 이상 노령인구가 총인구에서 차지하는 비중이 11.4%에 이르렀고, 2050년에는 37.4%가 되어 초고령화 사회에 진입할 것으로 전망되고 있다. 이와 같이 최근 고령화 문제가 사회적인 이슈로 대두됨에 따라 고령인구의 특성이나 주거, 보건, 문화, 여가 등 노인복지 등에 대한 국민의 관심이 높아지고, 이에 대한 통계 수요도 늘어나고 있다. 이러한 변화의 핵심은 노령화 인구의 증가로 인해서 지난 50여 년간 사망의 주된 원인이 되었던 급성 전염성 질병보다는 만성 퇴행성 질병이 더욱 큰

문제로 대두되고 있다는 점이다. 특히, 만성 퇴행성 질병 중에서 뇌혈관 질환에 의한 사망은 단일질환에 의한 사망률 중에서 2위를 기록하고 있는 매우 중요한 질환이다.

[0003] 이러한 뇌혈관 질환은 크게 2가지 형태로 분류될 수 있다. 하나는 뇌출혈 등에서 볼 수 있는 출혈성 뇌질환이고, 다른 하나는 뇌혈관의 폐쇄 등에 의해 나타나는 허혈성 뇌질환이다. 출혈성 뇌질환은 교통사고 등에 의해서 주로 나타나며, 허혈성 뇌질환은 주로 노인에게 자주 나타나는 질환이다.

[0004] 대뇌에 일시적인 뇌허혈이 유발되는 경우, 산소와 포도당의 공급의 차단되어 신경세포에서는 ATP 감소 및 부종(edema)이 발생하며, 결국 뇌의 광범위한 손상이 유발된다. 신경세포의 사멸은 뇌허혈이 있는 후 상당한 시간 경과 후에 나타나는데, 이를 지연성 신경세포사(delayed neuronal death)라고 한다. 지연성 신경세포사는 몽골리안 저빌(Mongolian gerbil)을 이용한 일과성 전뇌 허혈모델(transient forebrain ischemic model)을 통한 실험에서 살펴보면, 5분간 뇌허혈 유도 4일 후 해마(hippocampus)의 CA1 영역에서 신경세포사가 관찰되는 것으로 보고되고 있다(Kirino T, Sano K. Acta Neuropathol., 62: 201-208, 1984; Kirino T. Brain Res., 239: 57-69, 1982).

[0005] 지금까지 가장 널리 알려진 뇌허혈에 의한 신경세포사 기전으로는 2가지가 있다. 하나는 뇌허혈에 의해서 세포 바깥에 과도한 글루타메이트(glutamate)가 축적되게 되며, 이러한 글루타메이트가 세포 내로 유입되어 결국 과도한 세포 내 칼슘의 축적으로 신경세포사가 유발된다는 흥분성 신경세포사 기전(Kang TC, et al., J. Neurocytol., 30: 945-955, 2001)이고, 다른 하나는 허혈-재관류시에 갑작스러운 산소 공급으로 인한 생체 내 라디칼의 증가로 인해 DNA 및 세포질에 손상을 입어 유발된다는 산화성 신경세포사이다(Won MH, et al., Brain Res., 836: 70-78, 1999; Sub AY., Chen YM., J. Biomed. Sci., 5: 401-414, 1998; Flowers F, Zimmerman JJ. New Horiz. 6: 169-180, 1998).

[0006] 이러한 기전적인 연구를 바탕으로 해서 뇌허혈시에 나타나는 신경세포사를 효과적으로 억제하는 물질을 탐색하거나, 물질에 대한 기전을 밝히는 연구가 많이 수행되고 있다. 그러나 아직까지 효과적으로 뇌허혈에 의한 신경세포사를 억제하는 물질은 거의 없는 실정이다.

[0007] 지금까지 유일하게 뇌허혈 치료제로 FDA 공인 시판 중인 조직 플라스미노겐 활성화자(tissue plasminogen activator)는 혈전용해제로서 뇌허혈을 유발시키는 혈전을 녹여 빠른 산소 및 포도당의 공급을 유도하는 물질이다. 따라서 직접적으로 신경세포를 보호하는 것이 아니기 때문에 빠른 사용이 필요하며, 혈전용해제라는 특징 때문에 과량으로 사용 또는 자주 사용하는 경우에는 혈관벽이 얇아져 결국 출혈성 뇌혈관질환을 유발하게 된다. 또한, 초기의 칼슘 유입을 효과적으로 억제하기 위한 칼슘채널 억제제(calcium channel blocker)인 MK-801의 경우 임상적 테스트가 실행되었으나 그 부작용으로 인해 약품을 폐기한 바 있다. 일본에서는 미즈비시사의 edaravone이라는 합성 항산화제가 일본 내에서 임상시험에 성공함으로써 전 세계 하나 밖에 없는 중풍 치료제로서 일본에서만 처방되고 있으며, 연간 3,000억원의 매출을 보이고 있는데, 부작용이 우려되고 있음에도 불구하고 약의 부재로 인하여 사용되고 있다고 할 수 있다.

[0008] 이와 같은 개발 실패의 원인으로 많은 분석이 이루어지고 있으나 대체적으로 천연 자원에서 유래되지 않은 합성 물질인 것이 중요한 이유로 설명되고 있다. 따라서 천연물에 존재하는 후보 물질을 이용한 개발이 매우 중요하다고 할 수 있다. 본 발명자들은 HP074 85% 알콜 추출물 및 그 핵산 분획물이 흰쥐를 이용한 일시적 국소뇌허혈 모델과 일시적 전뇌허혈 모델에서 유의한 보호 효능이 있음을 확인하였다(대한민국 특허출원 제10-2005-0076324). 또, 핵산 분획물의 성분인 올레산이 국소 뇌허혈 모델에서 우수한 신경보호효능이 있음을 확인하였으며 또한 in vivo 와 in vitro 상에서 그 기전을 확인하였다.

[0009] 본 발명자는 올레산이 독성으로 인해 사망률을 증가시킨다는 것을 확인하였고, 그 원인은 여러 동물모델에서 폐부종을 일으킨다는 수많은 문헌에 의한 근거로써 추정된다(Mediators Inf.lamm. 2012;2012:956509. doi: 10.1155/2012/956509. Epub 2012 Nov 13)(Chin Med J 2011;124(21):3476-3480). 올레산을 이용한 폐부종유발모델에 관한 문헌도 보고되어있다. 생체외 시험에서 올레산은 적혈구세포의 파괴(용혈현상)를 일으키며, 따라서 올레산을 과량 섭취하거나 정맥주사시 유해할 수 있다(Pharm Res 1994; 11: 513 517). 또한 올레산의 LD50 값은 정맥내의 랫트 2.4 mg/kg의 낮은 편으로 독성이 알려져있다. 올레산은 free fatty acid 형태이며, 올리브유에 포함된 올레산은 triglyceride로 존재하는데 free fatty acid 증가는 포도당 신생(gluconeogenesis)을 촉진하고 간과 근육의 인슐린 저항성을 유도하며 인슐린 분비 장애를 초래하는데 이처럼 free fatty acid로 인한 장애가 지질독성(lipotoxicity)이다(Endocrinology 2013 154: 89-101). 또한 비용과 안전성면에서 실용화 하는데에는 여전히 해결해야 할 문제점들이 많이 남아있다.

[0010] 천연물로서 올리브유는 올레산을 주성분으로 하고 있으며 일반적으로 비자극성이고 독성이 없는 물질로써 받아들여진다. 올리브유의 LD50값은 정맥내의 마우스 1320 mg/kg 로써 올레산에 비해 아주 높아 안전하다고 평가할 수 있다. 또 올리브유의 주성분인 올레산 은 트리글리세라이드 형태로써 자유 지방산 형태에 비해 안전하다고 알려져 있다. 올리브유를 섭취하면 혈장 내의 올레산 농도가 높아져 뇌졸중의 위험이 감소된다는 역학조사는문이 보고되어있다(Neurology. 2011 Aug 2;77(5):418-25). 또한 올리브유 섭취 후 항산화, 항염증의 효과와 platelet aggregation을 감소시킨다는 문헌이 보고되어있다(The Scientific World JOURNAL (2010) 10, 1180.1191), (Neuroscience Letters 471 (2010) 89.93). 따라서 올리브유의 뇌신경보호효과는 올레산의 활성 때문임을 알 수 있으며, 올레산의 약리학적 기전은 문헌에 보고하였다(Neuroscience Letters 464 (2009) 93.97).

[0011] 이에 본 발명자는 올리브유를 함유하는 조성물로서 안전하고 효과적인 치료제를 개발하고자 연구한 결과 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 독성과 부작용이 없어 안전한 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함하는 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0014] 난황 레시틴은 난황에서 얻은 인지질 성분인 레시틴을 말한다.

[0015] 글리세롤은 시정식 $\text{CH}_2\text{OHCH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$, 분자량 92.09382g/mol, 비중 1.2644g/cm³(15℃), 녹는점 17.8℃, 끓는점 290℃의 물질이다. 무색 투명하고 단맛이 나는 끈기 있는 액체로 흡습성이 강하다.

[0016] 올레산나트륨은 올레산의 나트륨염을 말한다.

[0017] 중쇄트리글리세라이드는 탄소수가 8-12개인 지방산으로서, 글리세롤에 3분자의 지방산이 에스테르 합한 것을 말한다.

[0018] 정제어유는 수산동물 유지를 정제한 것을 말한다.

[0019] 올리브유는 올리브나무(감람나무)의 과실에 함유된 기름으로 과육을 직접 압착(壓搾) 또는 추출(抽出)하여 얻은 식물성 기름이다. 올리브유의 지방산 조성은 불포화지방산인 올레산(oleic acid)의 함량이 약 76%, 리놀레산이 약 8%, 포화지방산인 팔미트산이 약 12%, 스테아르산이 약 2% 포함되어 있다.

[0020] 대두유는 대두(함유량 18~20%)에서 채유되는 반 건성유이다. 대두유의 지방산 조성은 불포화 지방산인 리놀레산이 약 55% 포함되어 있다.

[0021] 본 발명의 바람직한 구현예로서, 상기 조성물은 올리브유 0.1 내지 20 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 중쇄트리글리세라이드 0.1 내지 20 중량 %, 및 정제어유 0.1 내지 10 중량 %를 포함한다. 보다 바람직하게는 상기 조성물은 올리브유 6 중량 %, 대두유 6 중량 %, 중쇄트리글리세라이드 6 중량 %, 및 정제어유 3 중량 %를 포함한다. 상기 조성 비율은 본 발명자들이 우수한 뇌신경세포 보호 효과를 발휘하면서 낮은 독성 및 부작용을 나타내는 조성 비율에 대해 연구한 결과 발견한 조성 비율에 해당한다. 본 발명의 가장 바람직한 조성물로서 프레지니우스카비코리아사에서 제조/판매하는 스모프립드 20% 주사(SMOFlipid20% Injection)을 사용할 수 있다.

[0022] 본 발명의 바람직한 구현예로서, 상기 조성물은 올리브유 1 내지 50 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 난황 레시틴 0.01 내지 5 중량 %, 글리세롤 2.25 중량 %, 및 올레산나트륨 0.01 내지 1 중량 %를 포함한다. 보다 바람직하게는 상기 조성물은 올리브유 16 중량 %, 대두유 4 중량 %, 난황 레시틴 1.2 중량 %, 글리세롤 2.25 중량 %, 및 올레산나트륨 0.03 중량 %를 포함한다. 상기 조성 비율은 본 발명자들이 우수한 뇌신경세포 보호 효과를 발휘하면서 낮은 독성 및 부작용을 나타내는 조성 비율에 대해 연구한 결과 발견한 조성 비율에 해당한다. 본 발명의 가장 바람직한 조성물로서 박스티사에서 제조/판매하는 클리노레익 20% 주사(Clinoleic 20%)

Injection)을 사용할 수 있다.

[0023] 상기 퇴행성 뇌질환은 치매, 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴 무도병, 피크(Pick)병 및 크로이츠펠트-야콥(Creutzfeldt-Jacob)병으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있다. 그러나 퇴행성 뇌질환의 종류는 이에 해당되지 않으며, 본 발명의 조성물의 뇌신경 보호 효과로 혜택을 볼 수 있는 질병은 모두 포함된다.

[0024] 본 발명은 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함하는 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 개선용 건강 기능식품을 제공한다.

[0025] 본 발명의 바람직한 구현예로서, 상기 건강기능식품은 올리브유 0.1 내지 20 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 중쇄트리글리세라이드 0.1 내지 20 중량 %, 및 정제어유 0.1 내지 10 중량 %를 포함한다. 보다 바람직하게는 상기 건강기능식품은 올리브유 6 중량 %, 대두유 6 중량 %, 중쇄트리글리세라이드 6 중량 %, 및 정제어유 3 중량 %를 포함한다. 상기 조성 비율은 본 발명자들이 우수한 뇌신경세포 보호 효과를 발휘하면서 낮은 독성 및 부작용을 나타내는 조성 비율에 대해 연구한 결과 발견한 조성 비율에 해당한다. 본 발명의 가장 바람직한 건강기능식품으로서 프레지니우스카비코리아사에서 제조/판매하는 스모프리피드 20% 주사(SMOFlipid20% Injection)을 사용할 수 있다.

[0026] 본 발명의 바람직한 구현예로서, 상기 건강기능식품은 올리브유 1 내지 50 중량 %, 대두유 0.1 내지 20 중량 %, 난황 레시틴 0.01 내지 5 중량 %, 글리세롤 2.25 중량 %, 및 올레산나트륨 0.01 내지 1 중량 %를 포함한다. 보다 바람직하게는 상기 건강기능식품은 올리브유 16 중량 %, 대두유 4 중량 %, 난황 레시틴 1.2 중량 %, 글리세롤 2.25 중량 %, 및 올레산나트륨 0.03 중량 %를 포함한다. 상기 조성 비율은 본 발명자들이 우수한 뇌신경세포 보호 효과를 발휘하면서 낮은 독성 및 부작용을 나타내는 조성 비율에 대해 연구한 결과 발견한 조성 비율에 해당한다. 본 발명의 가장 바람직한 건강기능식품으로서 박스터사에서 제조/판매하는 클리노레익 20% 주사(Clinoleic 20% Injection)을 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0027] 본 발명의 조성물은 우수한 뇌신경세포 보호 효과를 가지면서도 독성 및 부작용이 없어, 효과적이고 안전하게 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방, 치료 또는 개선을 위해 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 중대뇌동맥폐쇄모델에서 랫트에 생리식염수를 투여한 대조군 및 올레산, 올레산나트륨 용액, Clinoleic20%[®]와 SMOFlipid20%[®]를 정맥투여한 실험군의 뇌조직 절편을 TTC 염색법으로 관찰한 결과를 나타내는 사진이다.

도 2는 중대뇌동맥폐쇄모델에서 대조군 및 올레산, 올레산나트륨 용액, Clinoleic20%[®]와 SMOFlipid20%[®]를 정맥 투여한 실험군에서 뇌조직 손상율(뇌경색비율)을 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 본 발명자들은 다양한 비율로 올리브유 및 기타 지질을 혼합하여 제조한 조성물들의 뇌신경 보호 효과를 관찰한 결과, 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함하는 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 중대뇌동맥폐쇄모델(MCAo)에서 뇌허혈에 의한 신경세포 손상에 대하여 뇌신경세포 보호효과가 우수하고, 투여 후 사망률이 낮게 나타나 독성 및 부작용이 적은 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0030] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0031] 약학적 조성물

[0032] 본 발명의 약학적 조성물은 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함한다.

[0033] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 바람직하게는 비경구, 더욱 바람직하게는 정맥내로 투여될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등

의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

- [0034] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 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.
- [0035] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서 본 발명의 조성물은 1일 0.1 내지 1000 mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 다만, 상기 투여량의 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명의 조성물은 뇌졸중 또는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0037] **건강기능식품**
- [0038] 본 발명은 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 포함하는 뇌졸중 및 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0039] 본 발명의 건강기능식품은 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유를 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 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 구성 성분은 식품의 총중량에 대하여 0.01 내지 50 중량%로 첨가할 수 있다.
- [0040] 또한, 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없다. 본 발명의 약학적 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 음료, 껌, 비타민 복합제, 드링크제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.
- [0041] 본 발명의 음료 조성물은 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, 수크로스 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.
- [0042] 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.
- [0043] **제조 방법**
- [0044] 본 발명의 약학적 조성물 및 건강기능식품은 통상의 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상의 물질, 올리브유 및 대두유, 선택적으로는 약학적 또는 식품학적으로 허용되는 부형제, 희석제 내지 기타 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다.
- [0045] 일례로, 올리브유, 대두유, 중쇄트리글리세라이드, 및 정제어유와 증류수를 혼합하여 제조하였다. 상기 조성물을 homogenizer를 이용해 혼합하였다. 그 후 High pressure homogenizer를 이용하여 수 회 더 혼합 과정을 거쳐 본 발명의 조성물을 제조하였다.
- [0046] 또 다른 예로서, 올리브유, 대두유, 난황 레시틴, 글리세롤, 및 올레산나트륨과 증류수를 혼합하여 제조하였다. 상기 조성물을 homogenizer를 이용해 혼합하였다. 그 후 High pressure homogenizer를 이용하여 수 회 더 혼합 과정을 거쳐 본 발명의 조성물을 제조하였다.
- [0047] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0048] <실시예>

[0049] 본 발명의 난황 레시틴, 글리세롤, 올레산나트륨, 중쇄트리글리세라이드 및 정제어유로부터 구성된 군으로부터 선택한 2종 이상, 올리브유 및 대두유를 포함하는 조성물로서 프레지니우스카비코리아사에서 제조/판매하는 스모프리피드 20% 주사액(SMOFlipid20% Injection, 이하 SMOFlipid20%[®]) 및 박스터사에서 제조/판매하는 클리노레이크 20% 주사액(Clinoleic 20% Injection, 이하 Clinoleic20%[®])을 사용하였다. SMOFlipid20%[®] 100 ml 중에는 정제 대두유 6 g, 정제올리브유 6 g, 중쇄트리글리세라이드 6 g, 정제어유 3 g이 포함되어 있다. Clinoleic20%[®] 100 ml 중에는 정제 올리브유 16 g, 정제 대두유 4 g, 정제 난황레시틴 1.2 g, 글리세롤 2.25 g, 올레산나트륨 0.03 g이 포함되어 있다.

[0050] <비교예>

[0051] 본 발명의 Clinoleic20%[®] 및 SMOFlipid20%[®]와 효과를 비교하기 위한 조성물로서 올레산 및 올레산나트륨 용액을 사용하였다.

[0052] 올레산은 Sigma aldrich korea로부터 구입하여 사용하였다(Catalog No. 01008).

[0053] 올레산나트륨(sodium oleate)은 올레산의 나트륨 염이며 올레산과 달리 분말상이어서 올레산보다 수용성이 높다. 올레산나트륨은 Sigma aldrich korea로부터 구입하여 사용하였다(Catalog No. 07501). 올레산나트륨 10 mg에 글리세롤 0.25 ml을 넣고 vortex 후 및 3차 증류수(Millipore DQ-3)와 혼합하여 총 부피 10 ml가 되도록 한 후 3시간 동안 초음파 분해기(sonicator)를 이용하여 분쇄하여 올레산나트륨 용액을 제조하였다.

[0054] <실험예 1> 본 발명의 조성물의 뇌신경세포 보호효과 확인-중대뇌동맥색소모델(MCAO)

[0055] <1-1> 실험동물의 준비

[0056] 실험동물로 300 g 내외의 8주령의 스프라그-다울리계(sprague-dawley, 샘타코, 대한민국) 수컷 랫트를 구입하여 사료와 물을 충분히 공급하면서 실험환경에 적응하도록 하였다. 1주일 정도의 적응기간을 준 후, 동물실험을 수행하였다.

[0057] <1-2> 중대뇌동맥색소모델의 제작

[0058] 국소 뇌허혈에 의한 신경세포 손상에 대하여 올레산, 올레산나트륨 용액, Clinoleic20%[®] 및 SMOFlipid20%[®]의 뇌신경세포 보호 효과를 측정하기 위하여 응용된 혈관 내 봉합사 삽입법(intraluminal suture method)을 사용하였다(Zea Longa, *et al.*, *Stroke*, 20: 84-91, 1989).

[0059] 구체적으로, 먼저 22 mm의 4-0 나이론 봉합사의 끝 부분에서 약 5-8 mm 길이를 실리콘으로 코팅되 지름이 0.36 mm가 되게 제작하여 실험에 사용하였다. 실시예 <1-1>에서 준비한 랫트를 70% N₂O와 30% O₂가 섞인 혼합가스에 5%의 이소플루란(isoflurane)으로 전신마취를 한 후, 한쪽은 채혈을 위한 주사기를, 다른 한쪽은 혈압측정용 프로브(probe)를 삽입하여 혈압을 관찰하였으며, 채혈을 한 후 혈당 및 혈액가스를 분석하여 관찰하였다.

[0060] 목 전방 부위 중앙의 피부를 절개하고 오른쪽 경동맥과 외경동맥(ECA)을 분리하였다. 외경동맥 분지인 상부갑상선동맥과 후두동맥을 전기소작기로 소작하고 내경동맥의 분지인 익돌근구개동맥을 전기소작하고 외경동맥을 자르고 프로브를 외경동맥에서 내경동맥으로 삽입되 총경동맥분지에서 약 18~19 mm 정도 삽입한 후 실로 고정하였다. 피부절개부위를 다시 봉합한 후 마취에서 자연회복시켰다. 모든 실험군은 당일과 같은 마취수를 유발하였으며 수술은 체온이 37±0.5℃가 되게 유지하면서 관찰하였다. 수술 90분 후 상기와 같은 방법으로 재마취하여 프로브를 후퇴시켜 재관류시켰다.

[0061] 재관류 후 24시간 후에 경추탈골 시키고, 2분 이내에 뇌를 적출하여 2 mm 두께로 6개의 절편을 얻었다. 2% TTC(triphenyltetrazolium chloride) 용액이 들어 있는 12 웰 플레이트(well plate)에 조직을 충분히 담그고 37℃에서 30분 동안 방치한 후, 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)로 고정시켜 조직을 관찰하였다. 모든 수술과정은 수술현미경하에서 시행하였으며, 마취는 이소플루란을 2%로 계속 유지하면서 체온이 37℃ 이하로 떨어지지 않도록 램프를 이용하여 체온을 유지시켰다. 염색된 뇌 조직은 디지털 카메라로 하나씩 촬영한 후 컴퓨터로 옮겼고, 이미지 분석프로그램인 옵티마스 6.5(Optimas 6.5, Bioscan)를 이용하여 뇌경색 비율(%)을 하기 수학적 1로 계산하였다. 이때, 교정된 뇌경색의 부피(mm³)는 하기 수학적 2로 계산하였다.

[0062] [수학식 1]

[0063] 뇌경색 비율(%) = $(A-B/A) \times 100$

[0064] A: 정상 좌반구의 부피(mm³)

[0065] B: 교정된 뇌경색의 부피 (mm³)

[0066] [수학식 2]

[0067] 교정된 뇌경색의 부피(mm³) = (정상 좌반구의 부피)-(손상 반구의 정상 부위 부피)

[0068] <1-3> Clinoleic20%[®], SMOFlipid20%[®], 올레산 및 올레산나트륨 용액의 투여

[0069] 허혈 유발 직후 실시예로서 Clinoleic20%[®] (지방산 기준) 200 mg/kg, SMOFlipid20%[®] (지방산 기준) 500 mg/kg, 비교예로서 올레산 100 mg/kg, 올레산나트륨 용액 3 mg/kg의 농도로 랫트 체중 100 g당 0.3 ml씩의 부피로 정맥 투여하였으며, 대조군은 같은 부피의 생리식염수를 투여하였다.

[0070] <1-4> 뇌신경 보호 효과 확인

[0071] Clinoleic20%[®], SMOFlipid20%[®], 올레산 및 올레산나트륨 용액 각각의 뇌조직 및 뇌신경세포 보호 효과를 측정 한 결과, 대조군에 비하여 상기를 각각 투여한 군들은 신경세포가 사멸되어 TTC로 염색되지 않은 부위의 면적이 적었고, 신경세포가 손상되지 않아 TTC로 염색된 흑적색 부위의 면적이 넓은 것을 알 수 있었다. 참고로, TTC로 뇌조직을 염색하면 손상으로 인하여 조직이 사멸한 부위는 염색이 되지 않아 흰색으로 나타나며, 정상 부위의 조직은 염색이 되어 흑적색으로 나타난다(도 1).

[0072] 중대뇌동맥 폐쇄로 유발한 뇌신경세포 사멸에 대한 보호 작용을 평가한 결과 모든 투여군에서 유의적인 효능이 나타났으나, 특히 Clinoleic20%[®] 투여군에서 47%의 높은 뇌신경 보호 효과가 나타났다(p<0001)(도 2).

[0073] <실험예 2> 안전성 확인 - 개체 사망률 확인

[0074] 모든 투여군에서 퇴행성 뇌질환 유발 직후, 투여한 후부터 희생하기 전까지 사망한 동물 수를 측정하여 사망률을 계산하였다.

[0075] 하기 표 1은 중대뇌동맥폐쇄모델에서 대조군 및 실험군에서 사망률을 나타낸 표이다.

[0076] [표 1]

Group	No. of Operations	No. of deaths	Death Rate
Oleic acid	116	21	18.1%
Sodium oleate	37	8	21.6%
Clinoleic20%	114	5	4.3%
SMOFlipid20%	21	0	0%

[0077]

[0078] 표 1에 나타난 바와 같이 뇌경색유발 랫트에 올레산을 투여한 실험군의 경우, 투여를 받은 116마리 중 21마리가 사망하여 사망률 18.1%를 나타내었고, 올레산나트륨 용액 투여를 받은 37마리 중 8마리 가 사망하여 사망률이 21.6%로써 높게 나타났다. 반면, Clinoleic20%[®] 투여군은 88마리 중 2마리가 사망하여 사망률 4.3%를 나타내었고, SMOFlipid20%[®] 투여군은 한 마리도 사망하지 않았다.

도면

도면1



도면2

