(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0014981
(43) 공개일자 2018년02월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/54 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/54 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0098506
(22) 출원일자 2016년08월02일
심사청구일자 2016년08월02일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
조성훈
서울특별시 동대문구 경희대로 23, 한방병원 2층 신경정신과 외래 (회기동, 경희의료원)
김윤나
대전광역시 유성구 엑스포로 448, 102동 602호 (전민동, 엑스포아파트)
(74) 대리인
특허법인 하나

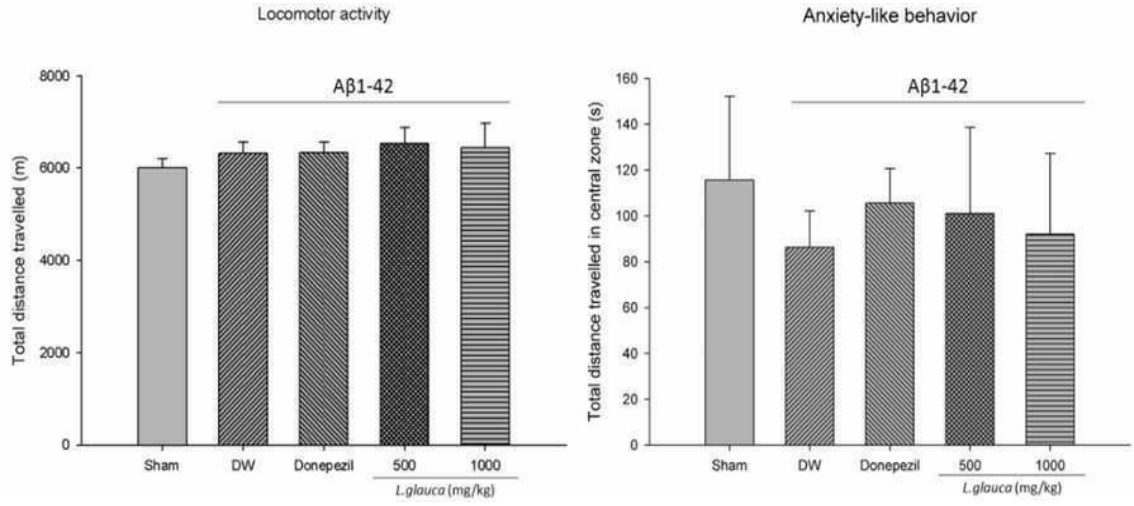
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **산호초 추출물을 함유하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명의 일 실시예는 산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 9/0053 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2013R1A1A1063477
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 신진연구자지원
연구과제명 신약개발을 위한 별아교세포의 우울증 기전탐색연구
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2013.11.01 ~ 2016.10.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 추출물은 물, 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 또는 이들의 혼합 용매로 추출된 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 알코올은 40 내지 70%(v/v) 농도의 에탄올인 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

경구적 전달, 비경구적 전달의 형태로 투여되는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 퇴행성 신경질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군에서 선택되는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 7

산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 신경세포 보호용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 산호초 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 생활환경과 식생활 패턴의 변화 등으로 현대인들은 생체조직의 노화를 비롯한 퇴행성 신경질환에 관심이 커지고 있다. 특히, 급속한 노령 인구의 증가에 따라, 뇌, 척추, 말초신경의 손상을 포함한 퇴행성 신경질환이 점차 증가하고 있는 추세이다. 퇴행성 신경질환은 허혈에 기인한 신경손상 및 활성산소에 의한 신경손상과 관련된 질환을 포함한다.

[0003] 신경세포는 발생 및 시냅스를 재구성하는 과정에서 끊임없이 세포사멸하며, 스트레스와 세포독성 약물에 의한 세포사멸이 퇴행성 신경질환의 주요 요인이 된다. 산화적 스트레스는 퇴행성 신경질환의 유발원인과 많은 연관관계를 가진 것으로 알려져 있으며, 최근 연구에 따르면 만성적인 스트레스 및 산화적 스트레스는 시상하부-뇌하수체-부신피질계, 해마, 선조체, 흑질 그리고 전뇌피질 부위에서 산화적 스트레스를 유발하여 세포사멸을 증가시키고 뉴런 및 성장인자를 감소시켜 퇴행성 신경질환을 초래하는 것으로 보고된 바 있다.

[0004] 산소에서 유리되는 자유라디칼은 조직 손상의 주요 원인으로 알려져 있다. 신경독성과 관련된 산화적 라디칼은 과산화수소, 과산화수소 음이온, 수산화기 등이 있으며, 과산화수소가 중추신경계의 세포사멸 유발에 있어서 가장 중요한 물질로 손 꼽힌다.

[0005] 뇌신경세포에서 활성산소종(Reactive Oxygen Species)은 산화적 스트레스에 의해 생성되고, 이는 미토콘드리아에서의 시토크롬 C의 유리와 카스파아제-3 활성화를 일으켜 세포사멸을 유발한다. 동시에 활성산소종은 글루타메이트, 특히 NMDA 수용체를 활성화하여 메타보트로피칼 케스케이드(metabotrophical cascade)에 의한 Ca^{2+} 이온의 증가를 야기하고, 세포내 Ca^{2+}의 증가는 카스파아제-2를 활성화하여 DNA를 손상시킨다.

[0006] 세계적으로 고령인구의 비중은 점차 증가하고 있다. 우리나라도 2010년 기준 65세 이상 인구의 비율이 11%로 상승하였고, 2018년에는 고령사회, 2026년에는 초고령 사회로 접어들 것으로 예견되며, 고령인구의 노인성 질병의 해결이 시급한 사회적 문제로 대두되고 있다.

[0007] 특히, 노인성 치매질환의 약 절반을 차지하는 알츠하이머병은 현재 효과적인 치료방법과 예방방법이 없으며, 고령화 사회에 있어서 시급히 해결해야 할 신경질환에 해당한다.

[0008] 하지만, 세포 이식, 외과적 수술 등 다양한 퇴행성 신경질환 치료법은 위험요소와 부작용을 내포하며, 손상 기전의 복잡성 등으로 실질적으로 신경세포의 손상을 보호하는 치료제는 개발되지 못하고 있는 실정이다.

[0009] 조직플라스미노겐 활성자(tissue plasminogen activator)는 FDA 공인 시판 중인 뇌허혈 치료제로서 뇌허혈을 유발시키는 혈전을 녹여 빠른 산소 및 포도당 공급을 유도하는 혈전 용해제이다. 그러나, 조직플라스미노겐 활성자는 직접적으로 신경세포를 보호하는 것이 아니기 때문에 신속한 사용이 요구되며, 과량의 사용이나 자주 사용시에는 혈관벽이 얇아져 출혈성 뇌혈관질환을 유발할 수 있는 문제가 있다.

[0010] 또한, MK-801은 초기의 세포 내 칼슘 유입을 효과적으로 저해하여 글루타메이트 유도 세포독성을 억제하는 것으로 알려졌으나, 임상시험 결과 부작용이 발견되어 폐기된 바 있다.

[0011] 국내의 경우에는 다수의 천연 물질이 뇌졸중의 예방에 효과가 있는 건강식품으로 시판되고 있으나, 과학적인 검증을 거치지 않은 것이 다수이며, 건강식품 남용의 원인으로 손꼽히기도 한다.

[0012] 한편, 한의학에서 주로 사용하는 한약재들은 발병 원인 및 증상이 복합적으로 나타나는 만성, 난치성 질환의 예방 및 치료에 있어 멀티 타겟 기전에 의해 보다 근본적인 치료제로서의 가능성이 대두되고 있다.

[0013] 또한, 이러한 한약재를 원료로 사용하는 치료제의 경우 화학 약품 사용에 따라 발생할 수 있는 다양한 부작용을 최소화할 수 있기 때문에, 현존하는 의약품 성분의 대체 소재로 주목받고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 목적은 천연물 유래의 성분을 함유하여 부작용을 최소화하면서도 퇴행성 신경질환의 개선 효과가 우수한 조성물을 제공하는 것이다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 천연물 유래의 성분을 포함하는 퇴행성 신경질환 개선용 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0016] 본 발명의 일 측면에 따르면, 산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.

[0017] 일 실시예에 있어서, 상기 추출물은 물, 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 또는 이들의 혼

합 용매로 추출될 수 있다.

[0018] 일 실시예에 있어서, 상기 알코올은 40 내지 70%(v/v) 농도의 에탄올일 수 있다.

[0019] 일 실시예에 있어서, 경구적 전달, 비경구적 전달의 형태로 투여될 수 있다.

[0020] 일 실시예에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸증(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)으로 구성된 군에서 선택될 수 있다.

[0021] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품이 제공된다.

[0022] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 신경세포 보호용 조성물이 제공된다.

발명의 효과

[0023] 본 발명의 일 측면에 따르면, 약학적 조성물 내지 건강기능식품의 일 성분으로 천연 한약재인 산호초 추출물을 사용함으로써 부작용을 최소화하면서도 퇴행성 신경질환 개선 효과를 향상시킬 수 있다.

[0024] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 마우스의 기본적인 운동성 및 움직임을 관찰한 결과이다.

도 2는 Y자 미로형 시험(Y-maze test)을 통해 마우스의 단기기억을 평가한 결과이다.

도 3은 모리스 수중 미로 시험을 통해 알츠하이머 유도 마우스의 escape latency를 측정한 결과이다.

도 4는 모리스 수중 미로 시험을 통해 알츠하이머 유도 마우스의 플랫폼 체류시간을 측정한 결과이다. (a)는 베타 펩타이드 주입 이전 마우스의 체류시간을 측정한 것이고, (b)는 베타 펩타이드 주입 이후 마우스의 체류시간을 측정한 것이다.

도 5는 플랫폼에서 알츠하이머 유도 마우스가 이동한 경로를 관찰한 것이다. 실험시 탈출 플랫폼은 우측 하단의 분원(황색)에 위치하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 판례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.

[0027] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0028] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.

[0029] 이하, 본 발명의 실시예를 상세히 기술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 한정되지 아니함은 자명하다.

[0030] 본 발명의 일 측면에 따른 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0031] 본 발명자들은 신경세포 보호 활성을 갖는 우수한 식물 생약을 발굴하기 위해, 다양한 생약 원료에 대한 추출 방법을 구체화하였으며 신경세포 보호 활성이 극대화된 상기 신경세포 보호용 조성물을 개발하였다.

[0032] 상기 "산호초(*Lindera glauca Blume*)"는 녹나무과(Lauraceae)의 식물로서 '연수목, 또는 백동백나무'로도 호칭된다. 상기 산호초는 주로 중부 이남 산 50 내지 1,100m 고지의 기슭 및 바닷가 양지바른 곳에 서식한다. 상기 산호초는 잎과 열매를 약용부위로 사용할 수 있다. 상기 산호초의 열매는 관절통, 근육통, 두통, 소화 불량, 산후통 등의 치료에 사용되며, 잎은 생즙으로 타박상, 골절, 또는 상처에 사용되어 왔다.

[0033] 그러나, 상기 산호초의 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환과 같은 퇴행성 신경질환의 개선 효과와 관련한 작용 기전이나 효능은 현재까지 알려진 바 없으며, 본 발명자들은 상기 산호초 추출물의 신경세포 보호 효과를 규명하고자 하였다.

[0034] 상기 산호초 추출물은 6-OHDA(6-hydroxydopamine), LPS(lipopolysaccharide) 아밀로이드-베타(amyloid-β) 등의 신경독성 물질로부터 세포를 보호하여 퇴행성 신경질환을 효과적으로 완화 또는 개선할 수 있다.

[0035] 상기 "추출물"은 용매와 추출재료를 특정 조건하에서 접촉시킴으로써 추출재료에 함유된 유효성분이 전이된 용매를 지칭하는 것으로, 상기 추출물은 산호초에 대한 추출 공정에 의해 원료 내의 유효 성분을 포함할 수 있다.

[0036] 상기 "퇴행성 신경질환(neurodegenerative disease)"은 나이가 들어감에 따라 발생하는 신경퇴행성 질환 중, 뇌에서 발생하는 질환을 의미한다. 현재까지 발병 원인이 명확하게 규명된 것은 아니지만, 뇌와 척수의 특정 뇌세포군이 서서히 기능을 상실하고, 뇌신경계의 정보전달에 핵심적인 역할을 하는 뇌신경세포의 사멸, 뇌신경세포 간의 정보를 전달하는 시냅스의 형성이나 기능상 문제, 뇌신경 전위의 이상적 증감 등에 의해 야기되는 것으로 보고된다.

[0037] 상기 퇴행성 신경질환은 신경세포의 점진적인 구조적, 기능적인 손실로 인해 운동 및 감각기능의 손상, 기억, 학습, 연산 추리 등의 고차원적인 기능이 저해 또는 손실되는 포괄적인 병태를 의미할 수 있다. 상기 퇴행성 신경질환은 신경계의 특정부위를 주로 침범하여 치매, 추체외로 이상, 소뇌 이상, 감각 장애, 운동 장애 등의 증상을 동반하며, 동시에 여러 부위가 침범되어 복합적으로 나타날 수 있다.

[0038] 상기 퇴행성 신경질환은 상기 퇴행성 신경질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸증(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease)일 수 있으나, 신경세포의 손상에 의해 발생되는 질환 또는 병태라면 특별히 제한되지 않는다.

[0039] 상기 "예방"은 동물의 병리학적 세포의 발생 또는 세포의 손상, 소실의 정도의 감소를 의미한다. 예방은 완전할 수 있으며 또는 부분적일 수도 있다. 이 경우에는 개체 내의 병리학적 세포의 발생 또는 신경세포의 사멸이나 손실 등이 상기 퇴행성 신경질환 예방 및 치료용 조성물을 사용 하지 않은 경우와 비교하여 감소하는 현상을 의미할 수 있다. 또한, 상기 "치료"는 퇴행성 신경질환의 하나 이상의 증상을 개선하거나, 증상의 진행을 저지하는 것을 의미하며, 통상적으로 사용되는 치료의 의미를 포괄할 수 있다.

[0040] 상기 산호초 추출물은 화학물질 등과 달리 천연물 유래의 물질을 그대로 이용하는 것이므로, 이의 섭취 내지 투여에 따른 치명적인 부작용의 발생을 최소화할 수 있다.

[0041] 상기 추출 공정에 있어서 용매의 종류는 특별히 한정되지 않으며, 필요에 따라 다양한 용매를 사용할 수 있다. 또한, 상기 추출은 상기 용매를 사용하여 냉침, 온침, 가열 등 당해 기술 분야의 통상적인 방법이 사용될 수 있다.

[0042] 일 실시예에 있어서, 상기 혼합 추출물은 물, 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출될 수 있으나, 바람직하게는 40 내지 70% 농도의 에탄올을 용매로 사용할 수 있다.

[0043] 상기 원료에 포함된 유효 성분은 용매의 극성에 따라 추출 비율이 상이해질 수 있으며, 상기 에탄올은 생약재의 생리 활성 물질의 추출에 있어서 선택성이 뛰어나므로 상기 에탄올 추출에 의해 최적의 신경 보호 효과가 구현될 수 있다.

[0044] 상기 추출 용매로 에탄올을 사용하는 경우, 안정성을 높일 수 있을 뿐만 아니라, 인체에 무해하기 때문에 식품이나 의약품의 소재로서 사용하기 적합하며 안정성 확보를 위한 엄격한 공정 관리와 같은 비용 증가가 발생하지 않으므로 경제적 효과 역시 제고할 수 있다.

[0045] 또한, 물과 에탄올은 극성이 상이하여, 각 극성에 따라 추출되는 유효성분이 상이할 수 있으므로 최적의 신경 보호 효과가 구현될 수 있도록 상기 에탄올의 농도를 적절히 제어할 수 있다. 다만, 상기 에탄올은 농도가 70%(v/v) 초과이면 적정한 수율이 구현되지 않을 수 있고, 농도가 40%(v/v) 미만이면 신경 보호 효과를 나타내는 유효 성분이 충분하게 추출되지 않을 수 있으므로 상기 알코올의 농도를 상기 범위 내에서 적절히 조정할 수 있다.

[0046] 상기 퇴행성 신경질환 예방 및 치료용 조성물은 경구적 전달, 비경구적 전달의 형태로 투여될 수 있다.

[0047] 상기 퇴행성 신경질환 예방 및 치료용 조성물은 전신 또는 국소 투여할 수 있으며, 상기 투여는 경구 투여 및 비경구 투여를 포함할 수 있다. 상기 상기 신경세포 보호용 조성물이 치료제로서 투여되는 경우, 적절한 투여 형태를 제공하도록 적합한 양의 약학적으로 허용되는 비히클 또는 담체와 함께 제형화될 수 있다.

[0048] 따라서, 상기 퇴행성 신경질환 예방 및 치료용 조성물은 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다

[0049] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0050] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.

[0051] 상기 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 산호초 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제, 예컨대, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 또는 젤라틴 등을 혼합하여 조제할 수 있다. 상기 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제가 사용될 수도 있다.

[0052] 상기 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있으며, 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0053] 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 사용될 수 있다. 상기 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르가 사용될 수 있다. 상기 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이 사용될 수 있다.

[0054] 상기 산호초 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양이 대상체에 투여될 수 있다. 상기 "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0055] 상기 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 바람직하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0056] 본 발명의 다른 측면은 산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0057] 즉, 상기 조성물은 약학 조성물 뿐만 아니라 식품 조성물일 수도 있다. 이러한 경우 상기 식품은 육류, 스낵류, 낙농제품, 음료수 등을 예시할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며, 통상적인 건강기능식품을 모두 포함하는 개념으로 이해될 수 있다.

[0058] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을

사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.

[0059] 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다.

[0060] 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.

[0061] 상기 건강기능식품은 퇴행성 신경질환 개선을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.

[0062] 상기 건강기능식품은 퇴행성 신경질환 개선을 목적으로, 전체 중량 대비 1.0 내지 10.0 중량%의 상기 조성물을 포함할 수 있다. 상기 조성물이 1.0 중량% 미만이면 퇴행성 신경질환 개선 효과가 충분히 구현되지 않을 수 있고 10.0 중량% 초과이면 제품 본연의 품질이 구현되지 않거나 비용 효율이 저하될 수 있다.

[0063] 또한, 상기 건강기능식품은 퇴행성 신경질환 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캅셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.

[0064] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 산호초 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.

[0065] 상기 캅셀 형태의 건강기능식품 중 경질캅셀제는 통상의 경질캅셀에 가지 추출물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질캅셀제는 산호초 추출물 또는 이의 분획물, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0066] 상기 환 형태의 건강기능식품은 산호초 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 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.

[0067] 상기 과립형태의 건강기능식품은 산호초 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0068] 또한, 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.

[0069] 본 발명의 또 다른 일 측면은 산호초(*Lindera glauca Blume*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 신경세포 보호용 조성물을 제공한다. 상기 산호초 추출물의 작용, 효과 및 상기 조성물의 추가 성분에 관해서는 전술한 것과 같다.

[0070] 이하, 첨부된 도면을 참고하여 본 발명의 실시예에 관하여 상세히 서술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.

[0072] <u>실시예 : 산호초 추출물 제조</u>

[0073] 건조 후 분쇄된 산호초를 70% 에탄올에 투입하고, 80 내지 90℃의 온도에서 3시간 동안 환류 추출한 후 여액을 분리하였다. 55 내지 65℃에서 상기 추출물을 감압농축한 후, 동결 건조시켜 생약조성물 분말 엑스 19.5g을 수득하였다.

[0075] <u>실험예 1 : 일반 운동 활성 시험(Open field test)</u>

[0076] 마우스의 기본적인 운동성 및 움직임을 관찰하고자 일반 운동 활성 시험을 수행하였다.

[0077] 상기 시험을 위해 아밀로이드 베타 펩타이드 주입 동물모델(Amyloid beta1-42 infused mouse model)을 구축하였다.

[0078] C57BL/6 마우스를 졸레틸 및 럼푼이 2:1로 혼합된 마취약으로 마취한 후 뇌의 해마 CA1 영역에 Amyloid beta1-42 펩타이드를 주입하여(coordinates: -2.3mm anterior/posterior, ±1.8mm medial/lateral and -1.75mm dorsal/ventral from Bregma) 신경 손상(알츠하이머)을 유발하였다.

[0079] 상기 마우스를 흰색 아크릴 박스(50×50×50㎝)에 넣고 영상추적시스템(video tracking system, smart v.2.5.21)을 이용하여 10분 동안 행동을 관찰하였으며, Open field를 9등분하여 가운데 영역을 central zone으로 설정하였다.

[0080] 상기 알츠하이머 유도 마우스에 Donepezil 1mg/kg, 산호초 추출물 500mg/kg, 1000mg/kg 또는 대조군인 증류수를 각각 투여한 후, 자발운동량을 이용한 보행활동량을 측정하였다.

[0081] 알츠하이머를 유발한 후 증류수를 투여한 동물모델의 경우, 알츠하이머를 유발하지 않은 동물모델과 비교하였을 때 유의미한 차이가 관찰되지 않았으며 약물투여로 인한 보행활동량에는 유의적 변화가 없었다(도 1).

[0082] 즉, 상기 결과는 약물 투여에 따라 운동기능이 저하되지 않았으며, 산호초 추출물이 보행활동량에는 영향을 미치지 않았음을 시사한다.

[0084] <u>실험예 2 : Y자 미로형 시험(Y-maze test)</u>

[0085] 단기기억형태의 순간 공간 인지력을 평가하고자 Y자 미로형 시험을 수행하였다.

[0086] 상기 시험에 이용되는 기구는 세 개의 arm으로 구성되며, 각 arm의 길이는 42cm, 넓이는 3cm, 높이는 12cm이고 세 arm이 접하는 각도는 120° 이다.

[0087] 모든 실험 장치는 검정색의 폴리비닐 플라스틱으로 구성되며, 각 가지를 A, B, C로 정한 후 한쪽 가지에 마우스를 위치시키고 8분 동안 자유롭게 움직이게 한 후 마우스가 들어간 가지를 기록하였다.

[0088] 꼬리까지 완전하게 들어간 경우에 한하여 1회 이상 기록하였다. 세 개의 서로 다른 가지에 차례로 들어간 경우(ABC, CAB, BCA; 실제 변경, actualalternation) 1점씩을 부여하였다. 변경 행동력(alternation behavior)은 3가지 모두에 순차적으로 들어가는 것으로 정의되며, 하기 수학식에 의해 계산하였다.

[0090] [수학식]

[0091] 변경 행동력(%) = 실제변경(actualalternation) / 최고변경(maximum alternation) × 100

[0092] (최고변경 : 총 입장횟수 - 2)

[0094] 실험 결과, 아밀로이드 베타 펩타이드를 뇌에 직접 주입(1.2㎍/mouse, i.c.v)하여 신경 손상이 유발된 음성 대조군의 변경 행동력은 양성 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다($p<0.05$).

[0095] 반면, 산호초 추출물이 투여된 군의 자발적인 변경(spontaneous alternation)은 음성대조군에 비해 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). 자발적인 변경(Spontaneous alternation)의 증가는 학습 및 기억력이 회복을 시사한다(도 2).

[0096] 반면 각 구역으로 들어가는 총 횟수를 나타내는 총 진입(total entry)은 변화되지 않았으므로 쥐의 활동성 변화에 의해 상기 자발적인 변경(spontaneous alternation)이 야기되지 않은 것으로 해석된다.

[0098] <u>실험예 3 : 모리스 수중 미로 시험(Morris water maze test)</u>

[0099] 설치류의 공간학습 및 기억력(spatial learning and memory)을 측정하는 방법으로서 널리 사용되는 수동 회피 시험을 통하여, 산호초 추출물의 신경세포 보호 효과를 확인하였다.

[0100] 실험은 기존의 Morris의 방법을 응용하였다. 실험 1시간 전에 마우스를 행동 관찰실에 위치시킨 후 안정시켰다.

[0101] maze의 제원은 지름 90cm, 높이 32.5cm이며 플랫폼(white platform)의 지름은 5cm로 구성된다. 수중미로의 주변은 비디오카메라와 연결된 컴퓨터 시스템 및 수온조절용 장치 등 공간 단서들을 일정하게 유지시켰다. maze에 물을 채우고 마우스가 플랫폼을 볼 수 없도록 물 높이의 1cm 밑에 설치하였다. Maze에는 4개의 마커(marker)를 이용하여 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW) 4 분원으로 구분하였고, maze의 한 4분원에 플랫폼을 설치하였다.

[0102] Morris 수중미로 시험은 6일 동안 진행하였으며, 첫째 날에는 마우스가 물에 적응을 할 수 있도록 1분간 maze 안에서 자유로이 수영하도록 하고, 플랫폼은 설치하지 않았다.

[0103] 둘째 날부터 5일째 되는 날까지 마우스가 1일 4회씩 10분 간격으로 1분 동안 maze에서 수영하도록 하였다.

[0104] 둘째 날부터 4일간 1회의 실험은 이미 maze 안에 설치한 플랫폼에 1분 이내에 10초간 올라가 있는 쥐는 실험을 종료하였으며, 1분 이내에 플랫폼을 찾지 못하거나 플랫폼에 10초간 올라가 있지 않은 쥐는 실험종료 후 인위적으로 10초간 플랫폼에 올려둔 후 실험을 종료하였다. 이때 플랫폼의 위치는 같은 자리에 고정시켰다. 6일째 되는 날에는 플랫폼을 maze에서 제거한 후 플랫폼이 있던 분원에 쥐가 머문 시간을 측정하였다.

[0105] Morris 수중미로 학습에서 마지막 날인 5일째 되는 날 기억검사를 시행하기 위해 플랫폼을 제거한 후 60초간 자유 수영을 실시하고 이를 Smart program을 통하여 총 시간 중 플랫폼에 있었던 4분원에 머무는 시간을 비율(%)로 측정하였다.

[0106] 실험군 및 대조에서 아밀로이드 베타 펩타이드 주입 이전 escape latency는 시간 경과에 따라 점차 감소하였다.

[0107] 반면, 아밀로이드 베타 펩타이드 주입 후, 증류수를 투여한 음성 대조군의 escape latency는 현저히 증가한 반면, 산호초 추출물을 농도 별로 투여한 실험군 및 Donepezil을 투여한 양성 대조군의 escape latency는 현저하게 증가하지 않았으며 종전과 동등한 수준으로 유지되었다(도 3).

[0108] 또한, 총 시간 중 플랫폼의 4분원에 머무는 시간의 비율(%)을 측정한 결과 아밀로이드 베타 펩타이드 주입 이전 실험군 및 대조군 간 유의적인 차이는 없었으나, 아밀로이드 베타 펩타이드 주입 후 음성 대조군의 4분원에 머무는 시간은 현저히 감소하였다. 반면, 실험군 및 양성 대조군은 음성 대조군과 비교하여 4분원에 머무는 시간이 현저히 높은 수준으로 유지되었다(도 4).

[0109] 베타 펩타이드 주입 후 실험군 및 대조군의 이동 경로를 관찰한 결과, 음성 대조군은 escape 플랫폼과 무관한 방향으로 이동하였으나, 실험군 및 양성 대조군의 기억력은 높은 수준으로 회복되었다(도 5).

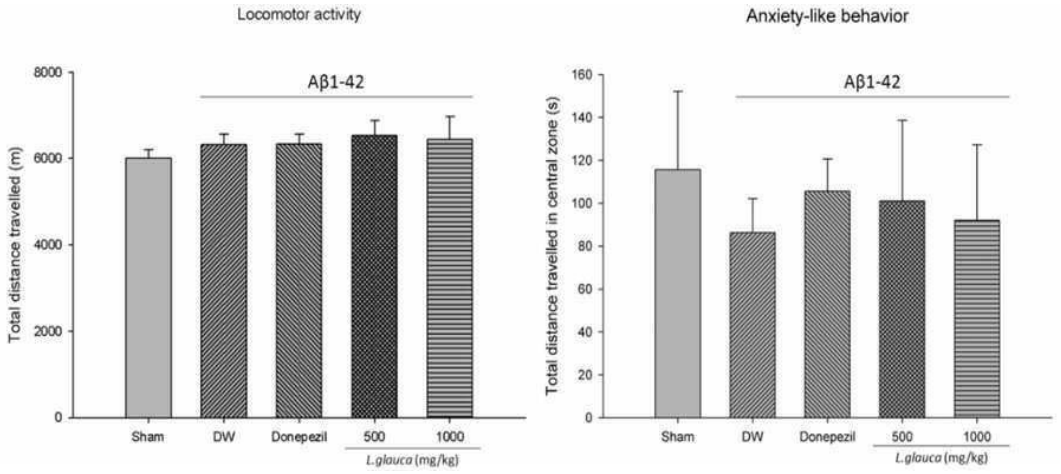
[0110] 상기 결과는 산호초 추출물이 아밀로이드- 펩타이드에 의한 신경세포 사멸을 유의적으로 억제하여 우수한 뇌신경세포 보호능을 가지고, 퇴행성 신경질환을 효과적으로 완화 또는 개선시킬 수 있음을 시사한다.

[0111] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

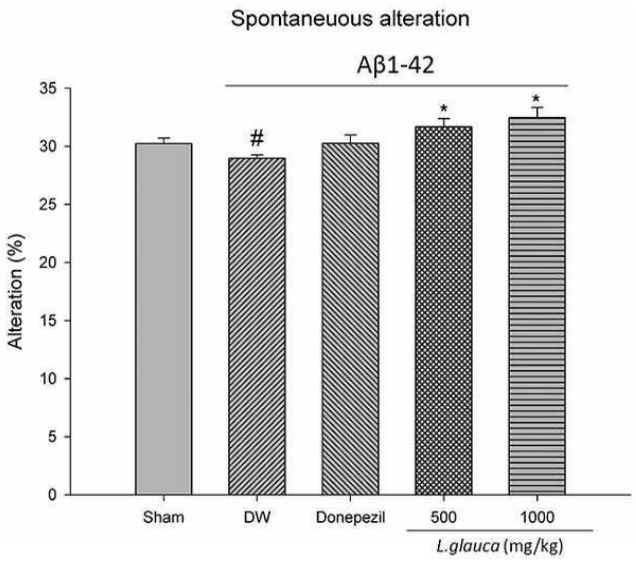
[0112] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

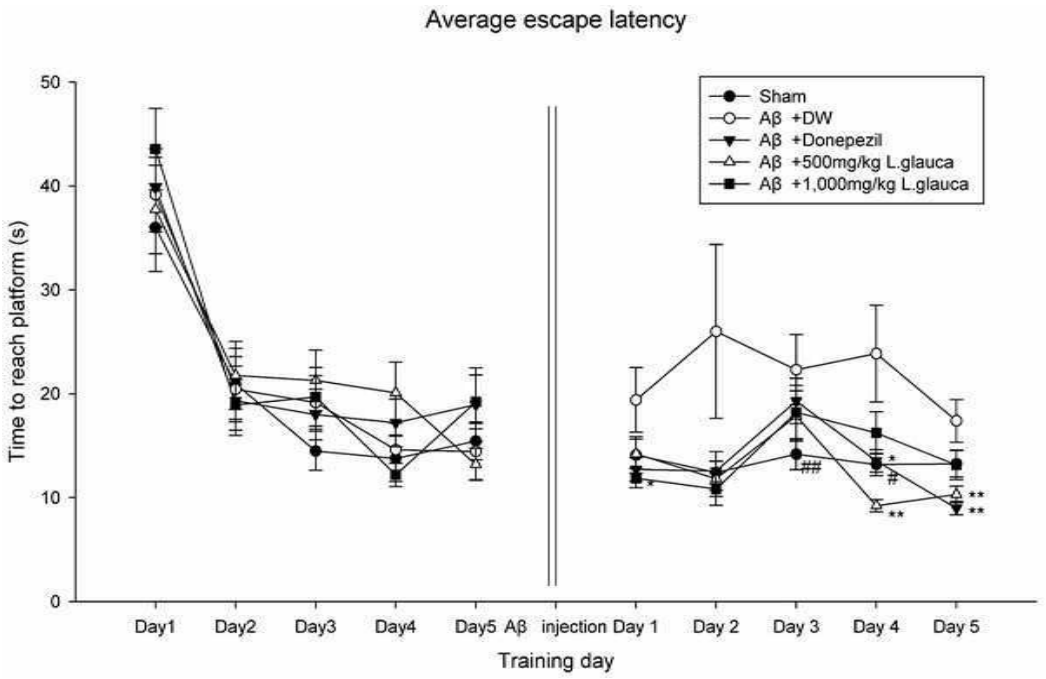
도면1


Locomotor activity
Aβ1-42
Total distance travelled (m)
8000
6000
4000
2000
0
Sham
DW
Donepezil
500
1000
L.glauca (mg/kg)
Anxiety-like behavior
Aβ1-42
Total distance travelled in central zone (s)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
Sham
DW
Donepezil
500
1000
L.glauca (mg/kg)

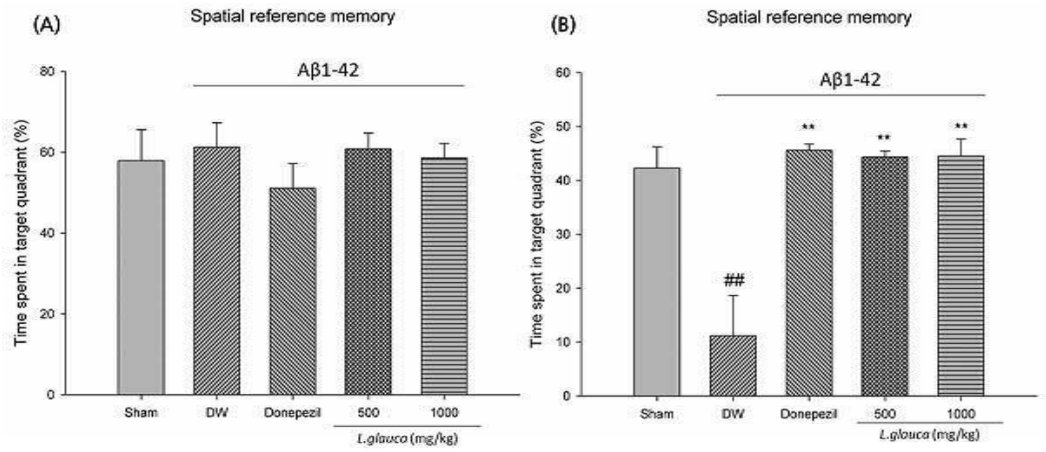
도면2


Spontaneuous alteration
Aβ1-42
Alteration (%)
35
30
25
20
15
10
5
0
#
*
*
Sham
DW
Donepezil
500
1000
L.glauca (mg/kg)

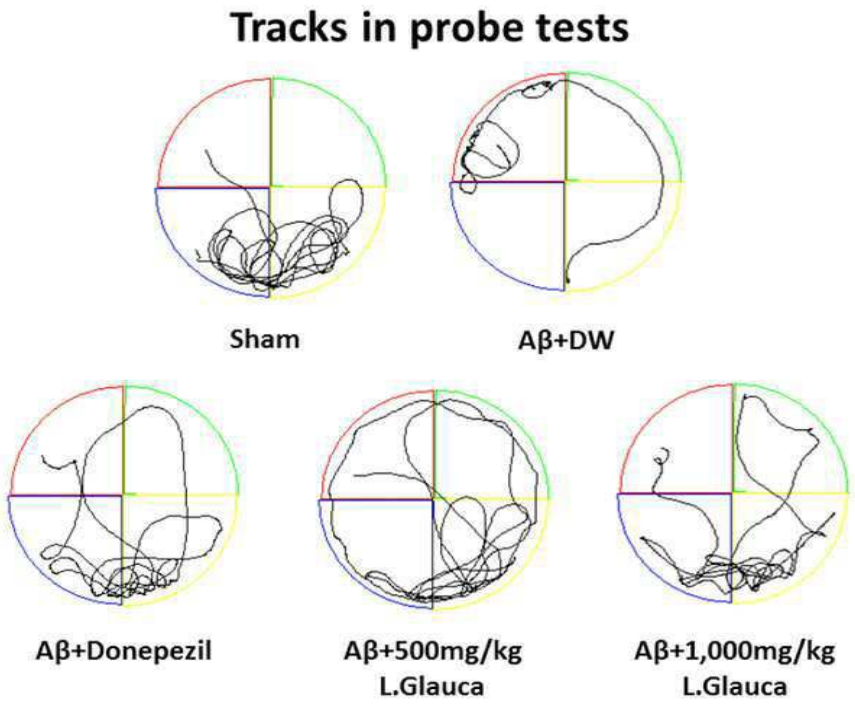
도면3


Average escape latency
Time to reach platform (s)
Training day
Sham
Aβ +DW
Aβ +Donepezil
Aβ +500mg/kg L.glauca
Aβ +1,000mg/kg L.glauca
Day1
Day2
Day3
Day4
Day5
Aβ injection
Day 1
Day 2
Day 3
Day 4
Day 5

도면4


(A)
Spatial reference memory
Aβ1-42
Time spent in target quadrant (%)
Sham
DW
Donepezil
500
1000
L.glauca (mg/kg)
(B)
Spatial reference memory
Aβ1-42
Time spent in target quadrant (%)
Sham
DW
Donepezil
500
1000
L.glauca (mg/kg)

도면5


Tracks in probe tests
Sham
Aβ+DW
Aβ+Donepezil
Aβ+500mg/kg
L.Glauca
Aβ+1,000mg/kg
L.Glauca