



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2011년09월15일
(11) 등록번호 10-1064961
(24) 등록일자 2011년09월07일

(51) Int. Cl.

A61K 36/14 (2006.01) A61K 36/15 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01) A23L 1/29 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0128919

(22) 출원일자 2010년12월16일

심사청구일자 2010년12월16일

(56) 선행기술조사문헌

JP61227530 A*

KR1020090096035 A*

KR1020050051053 A

KR1020050105122 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

재단법인 전라남도생물산업진흥재단

전남 나주시 동수동 산15-1

(72) 발명자

이동욱

전라남도 장흥군 장흥읍 건산리 670 수창아트빌
203호 30-1

김선오

광주광역시 북구 연제1동 현대아파트 101-605

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인아이엠

전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 이선화

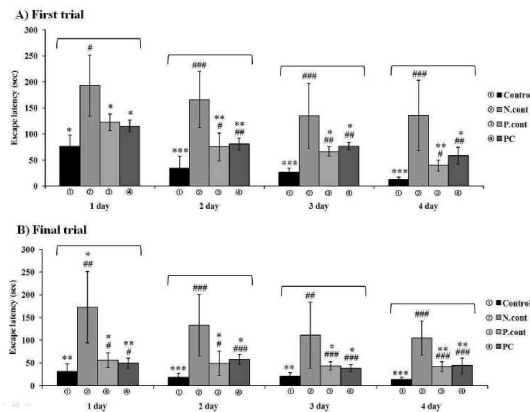
(54) 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학조성물 및 기능성 건강식품

(57) 요약

본 발명은 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 편백나무 등을 포함하는 침엽수에서 추출된 정유추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학조성물 및 기능성건강식품에 관한 것이다.

본 발명의 약학조성물을 투여 받게 되면 인지능력 향상과 퇴행성 뇌질환의 예방, 퇴행성 뇌질환 증상의 개선 및 치료효과를 나타내는데, 특히 베타 아밀로이드로 유발된 퇴행성 뇌질환의 인지기억능과 운동협응력을 향상시키므로, 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료를 위해 유용할 뿐만 아니라 정상인의 학습력과 기억력을 증진시킬 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

배동혁

광주광역시 남구 양림동 휴먼시아아파트 103-902

오교녀

전라남도 장흥군 장흥읍 우산리 16-1 성은연립
102-208

나주련

전라남도 장흥군 안양면 기산리 756

설희진

광주광역시 남구 봉선동 무등2차아파트 203-806

특허청구의 범위

청구항 1

편백나무, 잣나무, 측백나무 또는 화백나무 중 어느 하나의 가지 및 잎을 물로 추출한 추출액 중 오일층을 분리하여 얻어진 정유추출물을 유효성분으로 하고, 1일당 투여량은 상기 정유추출물이 0.01 mg/kg 내지 10 g/kg 포함되는 함량으로서 경구투여되는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 정유추출물은 상기 조성물 총 중량의 0.1 내지 100 중량% 포함되는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

제 1 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 퇴행성 뇌질환은 베타 아밀로이드로 유발된 퇴행성 뇌질환으로서 치매 또는 알츠하이머 질환을 포함하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 7

편백나무, 잣나무, 측백나무 또는 화백나무 중 어느 하나의 가지 및 잎을 물로 추출한 추출액 중 오일층을 분리하여 얻어진 정유추출물을 총중량의 0.01 내지 15 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 기능성건강식품.

청구항 8

삭제

청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 기능성건강식품이 음료인 경우 상기 정유추출물이 상기 음료 100 ml당 0.02 내지 10 g 포함되는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 기능성건강식품.

청구항 10

편백나무, 잣나무, 측백나무 또는 화백나무 중 중 어느 하나의 가지 및 잎을 물로 추출한 추출액 중 오일층을 분리하여 얻어진 정유추출물을 총중량의 0.01 내지 15 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는 기억력증진용 기능성건강식품.

청구항 11

삭제

청구항 12

제 10 항에 있어서,

상기 기능성건강식품이 음료인 경우 상기 정유추출물이 상기 음료 100 ml당 0.02 내지 10 g 포함되는 것을 특징으로 하는 기억력증진용 기능성건강식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 침엽수로부터 추출된 정유추출물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학조성물 및 기능성건강식품에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 치매는 뇌의 만성적 진행성 변성질환에 의해 흔히 기억장애 및 기타 지적기능의 상실이 일어나는 임상 증후군을 말하며 좀 더 넓은 의미로는 지적 황폐화뿐 만 아니라 행동 이상 및 인격 변화를 초래한다. 환자를 수용하는 수동적인 방법으로는 도저히 사회 경제적 부담을 감당할 수가 없으므로 예방제 및 원인 치료제를 개발하는 적극적인 시도를 해야 한다 (곽동일, 노인생 치매, 노인정신의학 1(1):3-15, 1997).

[0003] 그러나 현재까지는 알츠하이머 질환의 근본적인 발병원인을 치료할 수 있는 치료제는 개발되어 있지 않으며, 일반적인 치료제로서 사용 가능한 것으로는 아세틸콜린 에스테라제 저해제인 화이자사의 아리셉트(Aricept), 노바티스사의 엑셀론(Exelon), 그리고 안센사의 레미니(Reminyl)과 최근에 미국 FDA로부터 허가를 받은 NMDA 수용체의 길항제 기전의 룬드백사의 에빅사(Ebixa: Memantine)가 있다. 그러나 아세틸콜린 에스테라제 저해제의 경우는 감퇴된 인지 능력을 개선해 줄 뿐 알츠하이머 질환의 근본적인 발병 원인을 치료하지는 못한다.

[0004] 또한, 단지 일부 환자의 경우에서 일시적인 증세 완화 효과를 보이며, 그 약효가 오래 지속되지 못하므로 근본적인 치료제라 하기 어렵다. 또한 질환의 특성상 장기 복용을 요하게 되는데, 상기 의약품들의 경우 간 독성, 구토, 식욕감퇴를 비롯한 여러 가지 부작용을 수반하는 것 또한 문제점으로 드러나고 있다.

[0005] 따라서 치매질환의 진행 과정을 막아 줄 수 있는 치료제의 개발이 시급한 과제가 되고 있다. 이를 위해서 많은 다국적 제약회사들이 이 분야에 대한 연구 개발에 막대한 투자를 하고 있으며 특히 알츠하이머 질환의 근본적인 발병 원인으로 추정되고 있는 40여개의 아미노산으로 구성된 베타 아밀로이드의 생성량을 감소시키는 베타 또는 감마 시크리테아제 저해제의 개발이 그 주종을 이루고 있다. 국내의 경우 알츠하이머 질환에 대한 기초 연구는 어느 정도 이루어지고 있으나 치매 치료제 개발 그 자체의 경우는 거의 전무한 실정이라고 여겨진다.

[0006] 또한, 치매의 병리조직학적 소견은 세포 외 노인반(extracellular senile plaque)과 세포 내 신경섬유 다발(intracellular neurofibrillary tangles), 특정 신경부위 손상, 시냅스퇴화(synaptic degeneration) 등을 특징으로 한다. 노인반의 주요 구성성분은 β -amyloid로서 fibrillar 및 β -sheet 구조로 응집되는 경향이 있다. 알츠하이머병의 원인에 대해서 여러 가지 설들이 제기되고 있으며 그 중 가장 유력한 가설로는 β -amyloid protein(A β)의 축적을 들 수 있는데, 알츠하이머병 초기에 A β 는 apoptosis pathway를 활성화시켜 신경퇴행을

유도하는 것으로 알려져 있다. 즉, A β 는 membrane blebbing 및 DNA 손상에 의한 cell shrinkage, nuclear apoptotic bodies의 생산, DNA ladder 등 apoptosis의 전형적인 모습을 나타낸다. 또한 과인산화된 tau protein의 침착에 의한 신경퇴행이 발생한다.

[0007] 한편, 피톤치드는(pytoncide)는 그리스어로 pyton(식물)과 살균력을 의미하는 cide(살인자)를 합성한 말로서 "식물이 분비하는 살균물"을 의미하는데 방향성이 있는 항생물질의 총칭으로 사용되기도 하는 테르핀(terpene)계통의 유기 화합물을 말한다. 이러한 피톤치드는 미생물에는 유독 하지만 인체에는 유익하며 사소한 피로나 감기는 숲 속에 머물러 있으면 치료 된다고 하여 유럽에서는 산림요법이 성행한다. 피톤치드는 특히 편백나무, 잣나무, 소나무 등 침엽수에서 많이 발산되는데 향기가 좋고 살균성, 살충성이 있을 뿐 아니라 인체에 독특한 작용을 하고 있다. 예를 들어 피톤치드를 발산하는 침엽수 중 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 노송나무라고도 하며, 겉씨식물 구과목 측백나무과의 상록교목으로서, 일본이 원산지이지만 개발을 통해 우리나라 남부 지방에서 조림수종으로 널리 재배되고 있는데, 편백나무 특유의 향으로 인해 탈취제, 향균제 등으로 사용되고 있다.

[0008] 한편, 피톤치드를 포함한 침엽수 정유추출물과 관계된 연구는 초기단계인데 "산림의 공기를 맑게 할 정도의 살균력이 과연 질병을 치료할 수 있을까" 하는 의문이 제기되기는 하지만 피톤치드가 스트레스 완화작용, 강한 항균작용, 소취작용 및 유해한 성분의 중화, 진정작용, 알레르기 및 피부 질환 개선 작용, 면역기능 증대 효능을 갖는다고 알려져 있다.

[0009] 하지만, 피톤치드가 포함된 침엽수 정유추출물이 베타 아밀로이드로 유발된 퇴행성 뇌질환의 알츠하이머병을 비롯하여 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료에 유효하다는 연구가 진행된 바는 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명자들은 상기와 같은 종래 기술의 제반 단점과 문제점을 해결하기 위해 노력한 결과 침엽수 정유추출물의 섭취 또는 흡입이 베타 아밀로이드로 유발된 퇴행성 뇌질환의 개선에 효과가 뛰어난 것을 확인하여 침엽수 정유추출물의 새로운 용도를 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0011] 따라서, 본 발명의 목적은 베타 아밀로이드로 유발된 퇴행성 뇌질환의 개선과 인지능력향상, 운동협응력의 회복 등 퇴행성 뇌질환 치료에 유효한 효과를 갖는 약학조성물 및 기능성건강식품을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 퇴행성 뇌질환의 예방에도 뛰어난 효과가 있는 약학조성물 및 기능성건강식품을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 정상인의 학습력과 기억력을 증진시킬 수 있는 약학조성물 및 기능성건강식품을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 목적들은 이상에서 언급한 목적들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 목적들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 침엽수로부터 추출된 정유추출물을 유효성분으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

[0016] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 침엽수는 편백나무, 소나무, 잣나무, 측백나무, 화백나무를 포함한다.

[0017] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 정유추출물은 물, 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출액 중 오일층을 분리하여 얻어진다.

[0018] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 정유추출물은 상기 조성물 총 중량의 0.1 내지 100 중량% 포함된다.

[0019] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 약학조성물의 1일당 투여량은 상기 정유추출물이 0.01 mg/kg 내지 10 g/kg 포함되는 함량이다.

[0020] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 퇴행성 뇌질환은 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 헌팅턴 질환, 피크(Pick) 질환 또는 크로이츠펠트-야콥(Creutzfeldt-Jakob) 질환을 포함한다.

[0021] 또한, 본 발명은 편백나무, 소나무, 잣나무, 측백나무, 화백나무를 포함하는 침엽수로부터 추출된 정유추출물을

포함하여 퇴행성 뇌질환을 예방 및 개선용 기능성건강식품을 제공한다.

- [0022] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 정유추출물은 상기 기능성건강식품 총중량의 0.01 내지 15 중량%로 포함된다.
- [0023] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 기능성건강식품이 음료인 경우 상기 정유추출물이 상기 음료 100 ml당 0.02 내지 10 g 포함된다.
- [0024] 또한, 본 발명은 편백나무, 소나무, 잣나무, 측백나무, 화백나무를 포함하는 침엽수로부터 추출된 정유추출물을 포함하여 학습능력과 기억력을 향상시키는 것을 특징으로 하는 기억력증진용 기능성건강식품을 제공한다.
- [0025] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 정유추출물은 상기 기능성건강식품 총중량의 0.01 내지 15 중량%로 포함된다.
- [0026] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 기능성건강식품이 음료인 경우 상기 정유추출물이 상기 음료 100 ml당 0.02 내지 10 g 포함된다.

발명의 효과

- [0027] 본 발명은 다음과 같은 우수한 효과를 갖는다.
- [0028] 먼저, 본 발명의 약학조성물 및 기능성건강식품에 의하면 베타 아밀로이드로 유발된 퇴행성 뇌질환의 개선과 인지능력향상, 운동협응력의 회복 등 퇴행성 뇌질환 치료에 유효한 효과를 갖는다.
- [0029] 또한, 본 발명의 약학조성물 및 기능성건강식품에 의하면 퇴행성 뇌질환의 예방에도 뛰어난 효과가 있다.
- [0030] 또한, 본 발명의 약학조성물 및 기능성건강식품에 의하면 정상인의 학습력과 기억력을 증진시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 본 발명의 실시예에서 얻어진 약학조성물이 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 공간 지각능력의 저하에 개선 효능을 보임을 모리스 워터 메이즈 테스트 (Morris water maze test)로 평가하여 결과를 나타낸 그래프,
- 도 2는 본 발명의 실시예에서 얻어진 약학조성물이 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 공간 지각능력의 저하에 개선 효능을 보임을 프로브 테스트 (Prove test)로 평가하여 결과를 나타낸 그래프,
- 도 3은 본 발명의 실시예에서 얻어진 약학조성물이 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 혐오자극에 대한 공포 기억 능력의 저하에 개선 효능을 보임을 소극적 회피 테스트 (Passive avoidance test)로 평가하여 결과를 나타낸 그래프,
- 도 4는 본 발명의 실시예에서 얻어진 약학조성물이 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 균형감각과 운동협응력 저하에 개선 효능을 로타로드 테스트 (Rotarod test)로 평가하여 결과를 나타낸 그래프,
- 도 5는 본 발명의 실시예에서 얻어진 약학조성물이 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 균형감각과 운동협응력 저하에 개선 효능을 버티칼 폴 테스트 (Vertical pole test)로 평가하여 결과를 나타낸 그래프,
- 도 6는 본 발명의 실시예에서 얻어진 약학조성물이 뇌의 해마 부위에 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 아세틸콜린 (Acetylcholine) 수치의 감소를 억제함을 나타낸 그래프,
- 도 7는 본 발명의 실시예에서 얻어진 약학조성물이 뇌의 해마 부위에 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 아세틸콜린에스테라아제 (Acetylcholinesterase) 활성의 증가를 억제함을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 본 발명에서 사용되는 용어는 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어를 선택하였으나, 특정한 경우가 출원인이 임의로 선정한 용어도 있는데 이 경우에는 단순한 용어의 명칭이 아닌 발명의 상세한 설명 부분에 기재되거나 사용된 의미를 고려하여 그 의미가 파악되어야 할 것이다.
- [0033] 이하, 첨부한 도면 및 바람직한 실시예를 참조하여 본 발명의 기술적 구성을 보다 구체적으로 설명하나, 이는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위를 어떤 식으로든 제한하고자 하는 것은 아니다. 즉, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화 될 수도 있다. 명세서 전체에 걸쳐 본 발명

을 설명하기 위해 사용되는 동일한 참조번호는 동일한 구성요소를 나타낸다.

- [0034] 본 발명의 기술적 특징은 침엽수 정유추출물의 섭취 또는 흡입이 베타 아밀로이드로 유발된 퇴행성 뇌질환의 개선에 뛰어난 효과를 가질 뿐만 아니라 정상인의 학습력 및 기억력을 향상시킬 수 있다는 침엽수 정유추출물의 새로운 용도에 있다.
- [0035] 따라서, 본 발명은 침엽수로부터 추출된 정유추출물을 유효성분으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.
- [0036] 여기서, 퇴행성 뇌질환은 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 헌팅턴 질환, 피크(Pick) 질환 또는 크로이츠펠트-야콥(Creutzfeldt-Jakob) 질환을 포함하고, 침엽수는 침엽수에 속하는 모든 수목을 포함하지만 편백나무, 소나무, 잣나무, 측백나무, 화백나무인 것이 바람직하다.
- [0037] 또한, 정유추출물은 물, 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출액 중 오일층을 분리하여 얻어지는 것이다. 즉, 건조 상태 침엽수 잎과 가지를 침엽수 중량의 5 내지 10배, 바람직하게는 5 내지 15배 (w/v)의 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올 등의 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로 처리하여 용매추출법, 용출법, 탄산가스 추출법, 저온 압출법 등의 통상적인 추출방법을 통해 추출한 후 포집관의 오일이 용매층과 완전히 분리될 때까지 약 10분간 방치하여 오일층만을 회수하여 본 발명의 정유추출물을 수득할 수 있다. 특히 침엽수가 편백나무이고, 용매가 물인 경우에는 수증기 증류법을 이용하여 70 내지 120℃(바람직하게는 80 내지 110℃)에서 1 내지 6시간(바람직하게는 3 내지 6시간) 동안 추출하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0038] 약학조성물에 포함되는 정유추출물의 함량은 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있지만 약학조성물 총 중량의 0.1 내지 100 중량% 포함되는 것이 바람직하다.
- [0039] 또한, 본 발명의 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학조성물은 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있는데, 이러한 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 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, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0040] 본 발명의 약학조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 (intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다. 따라서 본 발명의 약학조성물은 공지된 방법에 따라 제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 이에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 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, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0041] 또한, 본 발명에 따른 약학조성물의 1일당 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 약학조성물은 정유추출물이 0.01 mg/kg/day 내지 10 g/kg/day 포함되는 함량으로, 바람직하게는 1 mg/kg 내지 1 g/kg으로 투여하는 것이 좋다. 여기서 kg은 체중을 의미하므로, 체중 60kg인 사람에게 투여할 경우 1일 투여량에 포함된 정유추출물은 0.6mg 내지 60g일 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다.

- [0042] 또한, 본 발명의 퇴행성뇌질환 예방 및 증상개선용 기능성건강식품과 기억력 증진용 기능성건강식품은 편백나무, 소나무, 잣나무, 측백나무, 화백나무를 포함하는 침엽수로부터 추출된 정유추출물을 포함하는데, 정유추출물은 건강보조식품 총중량의 0.01 내지 15 중량%로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0043] 여기서, 기능성건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.
- [0044] 특히 기능성건강식품이 음료인 경우 정유추출물의 함량은 기능성건강음료 100 ml당 0.02 내지 10 g이고, 바람직하게는 0.3 내지 1 g이다.
- [0045] 여기서, 기능성건강음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 정유추출물을 함유하는 것 외에 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0046] 특히, 천연 탄수화물이 상기 기능성음료 100 ml당 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g 더 포함될 수 있는데, 천연 탄수화물의 예로는 포도당, 과당을 포함하는 단당류, 말토스, 슈크로스 등의 이당류, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 다당류 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜을 들 수 있다.
- [0047] 경우에 따라서는 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [0048] 또한, 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. 그밖에 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수도 있다. 이러한 모든 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [0049] 실시예 1
- [0050] 1. 정유추출물 제조
- [0051] 건조 상태 편백나무 잎과 가지 5 kg에 정제수 25 L를 가하여 100℃에서 6시간 동안 SDE 장치에서 추출한 후 포집관의 오일이 물층과 완전히 분리될 때까지 약 10분간 방치하여 오일층만을 회수하여 정유추출물을 수득하였다.
- [0052] 2. 정유추출물을 함유하는 약학조성물 제조
- [0053] 수득된 정유추출물 100%로 약학조성물1을 제조하였다. 이 때 약학조성물1의 1일당 투여량은 약학조성물1 2mg/kg/day이다.
- [0054] 실시예 2
- [0055] 담체로 약제학적 분야에서 사용하는 하기와 같은 통상적인 부형제를 혼합하여 균일하게 한 후 100g씩 충전하였다. 즉 과당 4g, β- 씨클로 텍스트린 적량, flavor 적량, 안식향산 나트륨 0.08g, 파라옥시안식향산메칠 0.01g, 파라옥시안식향산프로필 0.001g, 정제수 적량을 넣어 총량이 100g 이 되게 한 후 1일 투여량 당 실시예1에서 추출된 정유추출물 100ug/kg/day가 포함되는 약학조성물2를 제조하였다.
- [0056] 실험예 1
- [0057] 하기 표 1과 같이 실험군을 구성하였다. 여기서 실험군 쥐의 체중은 500g이다.

표 1

| Group | 유발물질 | Dose (μ g, i.c.v.) | 실험물질 | Dose (mg/kg B.W.) | Sex | No. of animal |
|---------|------------------|-------------------------|---------------|-------------------|------|---------------|
| Control | 인공뇌척수액 | 4 | Saline | 0 | Male | 1101 ~ 1110 |
| N.cont | β -amyloid | 4 | Saline | 0 | Male | 1201 ~ 1210 |
| P.cont | β -amyloid | 4 | Donepezil HCl | 1 | Male | 1301 ~ 1310 |
| PC | β -amyloid | 4 | 약학조성물 | 2 | Male | 1401 ~ 1410 |

[0058]

[0059]

[0060]

[0061]

[0062]

[0063]

[0064]

[0065]

순화 및 군 분리한 다음 실험군 PC 에 대하여 실험물질로 실시예1에서 얻어진 약학조성물1을 유발물질 투여 전인 실험기간 5주 동안 주 7회 2mg/kg/day 농도별로 기화 시켜 흡입 시켰다. 한편, 대조실험군 N.cont는 하기와 같이 유발물질인 β -amyloid 만이 투여되었고, 대조실험군 P.cont는 유발물질인 β -amyloid를 투여하여 치매를 유발한 후 알츠하이머 형태의 경등도, 중등도 내지 중증 치매증상의 치료 및 혈관성 치매(뇌혈관질환을 동반한 치매)증상의 개선 약물인 Donepezil HCl 1mg/kg B.W.을 경구투여 하였다.

실험물질 4주간 투여 후 실험군 쥐에 sodium pentobarbital (50mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후 입체정위수술장치 (stereotaxic apparatus)를 이용하여 내측 중격(AP:-0.2, L: \pm 0.3, H:-6.2)위치에 amyloid beta peptide 1-40을 4 μ g 투여하였다.

미세주입은 1ml gas-tight glass syringe(Hamilton, Reno, NV, USA)에 perfusion pump (Pump 22, Harvard Apparatus, South Natick, MA, USA)를 이용하여 2.0 μ l/min 유속으로 10 μ l 주입 후에 5분간 방치한 다음 syringe를 제거하였다. 대조실험군 Control은 손상약물 대신 145mM NaCl, 2.7mM KCl, 1.2mM CaCl₂, 1.0mM MgCl₂로 만든 인공 뇌척수액을 같은 방식으로 주입하였다.

실험예 2

실험예1과 같이 처리된 실험군을 대상으로 모리스 수중 미로 테스트는 하기와 같이 문헌(Morris R. Developments of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat. J. Neurosci. Meth. 1984; 11: 47-60)에 개시된 바와 같이 실행 하였고, 그 평가결과를 도 1에 도시하였다. 도 1에서 'A'는 하루 중 첫 번째 시도 (trial)만을 'B'는 하루 중 마지막 4번째 시도만을 나타내었다. 또한, 도 1 내지 도 7에서 p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001 vs control group. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 vs the A β ₁₋₄₀-injected group이다.

수중 미로 테스트에 사용된 수조는 지름이 180 cm 이고 높이가 60 cm인 원통형 수조이며, 시험 기간 동안 탈지 분유를 희석한 23 \pm 2 $^{\circ}$ C의 물을 채워 사용하였다. 수조 안에는 수면에서 1 cm 아래에 투명한 플랫폼을 장치하였으며, 수조 바깥쪽에 네 개의 표지를 장치하였다. 실험동물의 운동궤적은 비디오 트래킹 시스템을 통하여 분석하였다. 각 시험(trial) 기간 동안 실험동물은 무작위로 선택된 지점에서 플랫폼을 보지 못하는 쪽을 향하여 수조안에 넣어졌다. 각 시험에서는 실험동물이 수조로 넣어진 후 플랫폼을 찾는 시간을 기록하게 되며, 실험동물이 플랫폼을 찾으면 10 초간 플랫폼 위에서 머무르게 한 후 케이지로 옮겼다. 각 시험은 베타 아밀로이드를 투여한 3일 후부터 4일간, 하루 네 번 실행되었다.

본 실험 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 베타 아밀로이드만을 투여한 음성 대조군(N.cont)에서는 평균 플랫폼을 찾는 시간이 유의하게 증가 하였지만 본 발명의 약학조성물1을 5주 동안 흡입한 실험군(PC)에서는 베타 아밀로이드로 인한 공간 지각력의 저하가 큰 폭으로 유의하게 억제되었으며, 그 효과는 Donepezil HCl가 경구투여된 양성대조군(P.cont)과 유사함을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 약학조성물1은 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 공간 지각능력의 저하에 개선 효능을 보임을 알 수 있다.

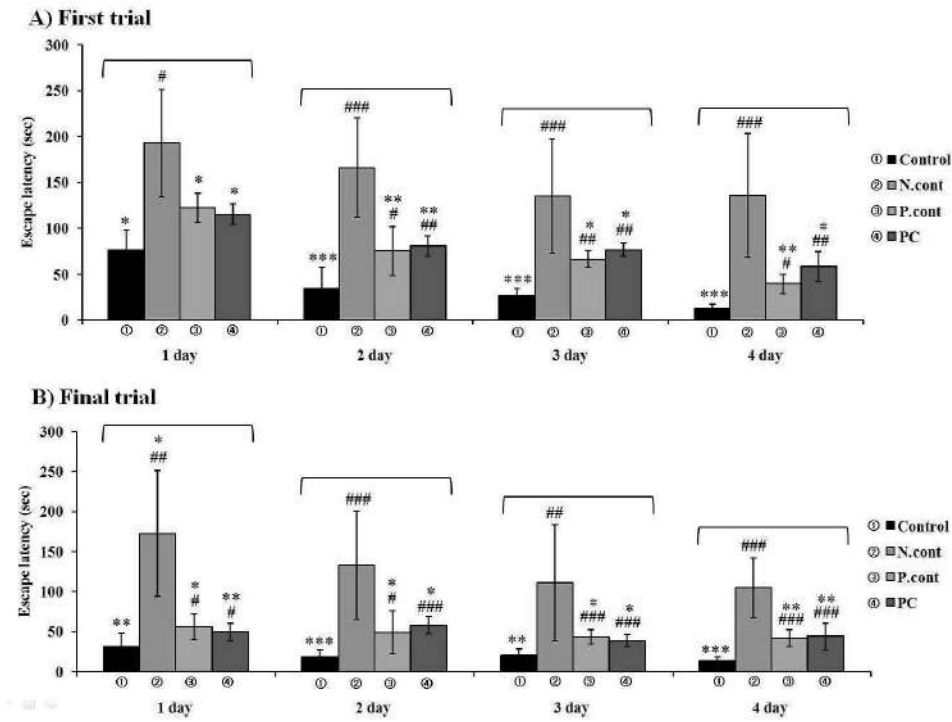
- [0066] 실험예 3
- [0067] 실험예1과 같이 처리된 실험군을 대상으로 베타 아밀로이드 투여 7일 후에 프로브 테스트를 진행하였고, 그 결과를 도 2에 도시하였다. 플랫폼을 제거한 후, 90초 동안 하여금 수조 안을 수영하게 하면서 플랫폼이 있던 분면(4분면 중)에서 소비한 시간을 기록하는 방법으로 수행 되었다.
- [0068] 본 실험 결과, 도 2에서 나타난 바와 같이, 베타 아밀로이드만을 투여한 음성대조군(N. cont)에서는 정상군(control)에 비해 플랫폼이 있었던 분면에서 머무는 시간이 유의적으로 크게 감소된 되었다. 하지만 본원발명의 약학조성물1을 5주 동안 흡입한 실험군(PC)에서는 타겟 분면에서 머무는 시간이 유의적으로 증가하여, 베타 아밀로이드로 인한 공간기억력의 저하가 억제된 것을 확인 할 수 있었다. 그 효과는 Donepezil HCl가 경구투여된 양성대조군(P.cont)과 유사함을 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명의 약학조성물1은 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 공간 지각능력의 저하에 개선 효능을 보임을 알 수 있다.
- [0069] 실험예 4
- [0070] 실험군 PC 에 대하여 실험물질로 실시예2에서 얻어진 약학조성물2를 유발물질 투여 전인 실험기간 5주 동안 주 7회 100ug/kg/day 농도로 경구투여를 실시한 것을 제외하면, 실험예1과 동일하게 처리된 실험군을 대상으로 소극적 회피 테스트(Passive avoidance test)가 Geini Avoidance system (San Diego Instrument, San Die해, CA)를 이용하여 실행되었고, 그 결과는 도 3에 도시되었다.
- [0071] 상기 시스템은 바닥에 쇼크발생기가 장치되어진 2개의 공간으로 이루어져 있으며 두 공간의 사이에는 기요틴 도어(guillothine door)가 있다. 습득시험에서는 실험동물을 한 공간에 넣은 후 20초간 적응 시키고, 20초 후 실험동이 넣어진 공간에 불이 켜지면서 가운데의 기요틴 도어가 열리게 된다. 실험동물이 불이 켜지지 않은 반대편 공간으로 들어가는 즉시 기요틴 도어가 닫히면서 전기 쇼크 (0.3 mA, 3s, 1회)가 주어지게 된다. 24시간 후 보류 시험에서는 실험동물을 시작 공간에 다시 넣고 불을 켜 후, 반대쪽 공간으로 가는 시간을 기록하게된다 (최대 300초).
- [0072] 도 3에 도시된 바와 같이, 베타 아밀로이드만을 투여한 음성 대조군(N.cont)에서는 혐오자극을 기억하는 공포 학습 능력이 저하되어 시작 공간에서 머무는 시간이 정상군(control)에 비해 유의적으로 크게 감소되었음을 알 수 있다. 하지만 본 발명의 약학조성물2가 5주 동안 경구 투여된 실험군(PC)에서는 학습 능력의 저하가 억제되어 유의적으로 음성대조군과 비교하여 증가한 것을 확인할 수 있었다. 또한 그 효과는 Donepezil HCl가 경구투여된 양성대조군(P.cont)과 유사함을 알 수 있었다.
- [0073] 따라서, 본 발명의 약학조성물2 또한 베타 아밀로이드의 투여로 유도된 혐오자극에 대한 공포 기억 능력의 저하에 개선 효능을 보임을 알 수 있다.
- [0074] 실험예 5
- [0075] 실험예1과 같이 처리된 실험군을 대상으로 실험 전날 1분간 2회 씩 10 rpm으로 회전하는 원통 위에서 강제로 걷게 하여 실험 전 training을 시킨 후, 다음날 15 rpm으로 회전하는 원통위에서 걷게 하여 보행을 멈추고 떨어지는 시간을 측정하여 로타로드 테스트(Rotarod test)를 수행하였고, 그 결과를 도 4에 도시하였다.
- [0076] 도 4로부터 알 수 있듯이, 베타 아밀로이드만을 투여한 음성 대조군(N.cont)에서는 치매의 일반적인 증상인 균형감각과 운동협응력이 감소하여 원통 위에서 걷는 시간이 정상군(control)에 비해 유의적으로 크게 감소되었다. 하지만 본원발명의 약학조성물1을 흡입한 실험군(PC)에서는 균형력과 운동협응력 저하가 억제되어 유의적으로 음성대조군(N.cont)과 비교하여 큰 폭으로 증가한 것을 확인하였다. 그 효과는 Donepezil HCl가 경구투여된 양성대조군(P.cont)과 유사함을 확인할 수 있었다.
- [0077] 실험예 6
- [0078] 실험군 PC 에 대하여 실험물질로 실시예2에서 얻어진 약학조성물2를 유발물질 투여 전인 실험기간 5주 동안 주 7회 100ug/kg/day 농도로 경구투여를 실시한 것을 제외하면, 실험예1과 동일하게 처리된 실험군을 대상으로 실험 전날 45° 각도의 막대기 중심부에 동물을 올려놓은 후, 균형을 잃고 떨어질 때까지의 소요시간을 측정하여

버티칼 폴 테스트(vertical pole test)를 수행하였고, 그 결과는 도 5에 도시하였다.

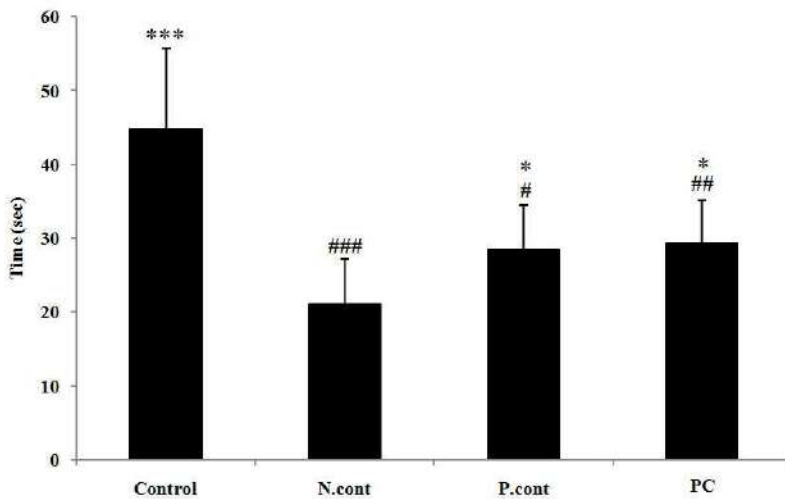
- [0079] 도 5에 나타난 바와 같이, 베타 아밀로이드만을 투여한 음성 대조군(N.cont)에서는 치매의 일반적인 증상인 균형감각과 운동협응력이 감소하여 원통 위에서 걷는 시간이 정상군(control)에 비해 유의적으로 크게 감소되었다. 하지만 본원발명의 약학조성물2가 경구 투여된 실험군(PC)에서는 균형력과 운동협응력 저하가 억제되어 유의적으로 음성대조군(N.cont)과 비교하여 큰 폭으로 증가한 것을 확인하였다. 그 효과는 Donepezil HCl가 경구투여된 양성대조군(P.cont)과 유사함을 확인할 수 있었다.
- [0080] 실험예 7
- [0081] 실험예1과 같이 처리된 실험군을 대상으로 아세틸콜린(Acetylcholine) 함량과 아세틸콜린에스테라아제(Acetylcholinesterase) 활성을 하기와 같은 방법으로 측정하고, 그 결과를 도 6 및 도 7에 도시하였다.
- [0082] 뇌조직에서 아세틸콜린의 측정은 alkaline hydroxylamine을 가진 *o*-acyl 유도물의 반응을 기초로 측정했다. 뇌조직을 50 μ l를 취하여 1% hydroxylamine(Sigma, USA) 50 μ l를 첨가, 혼합한 후 HCl을 이용하여 pH를 1.2 \pm 0.2로 조절하여 FeCl₃(10% in 0.1 N HCl)을 500 μ l 첨가한 후 혼합하고 530nm에서 흡광도를 측정하여 acetylcholine의 활성(ng/mg protein)을 측정하였다.
- [0083] 아세틸콜린에스테라아제의 측정은 Microplate well에 0.1 M Tris buffer, pH 8.0(Trizma HCl+Trizma base)을 300 μ l, 0.01 M dithionitrobenzoic acid(DTNB; Sigma, USA) 20 μ l, enzyme suspension(뇌조직 균질물) 10 μ l을 연속적으로 첨가하고 흡광도 측정직전에 기질인 0.1 M acetylthiocholine chloride(Sigma, USA) 10 μ l를 첨가하고, 96 well microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도 변화를 5분 동안 관찰하여 Acetylcholinesterase의 활성(unit/min/mg protein)을 측정했다.
- [0084] 도 6으로부터, 베타 아밀로이드만을 투여한 음성 대조군(N.cont)에서는 기억과 학습능력에 관여하는 신경전달물질인 아세틸콜린 수치의 저하가 유도되었음을 알 수 있었다. 또한, 도 7에 도시된 바와 같이 이는 아세틸콜린 분해 효소인 아세틸콜린에스테라아제의 증가와 동반 되었으며, 이러한 결과들은 베타 아밀로이드의 투여가 콜린성 시스템의 기능저하를 유도하였음을 의미한다.
- [0085] 하지만 본원발명의 약학조성물1을 흡입한 실험군에서는 아세틸콜린의 수준이 음성대조군(N.cont)에 비하여 유의적으로 증가 하였으며, 아세틸콜린에스테라아제의 활성 또한 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 또한 그 효과는 Donepezil HCl가 경구투여된 양성대조군(P.cont)과 거의 준하는 것을 알 수 있었다.
- [0086] 이와 같은 결과는 본원 발명의 약학조성물1의 흡입이 콜린성 시스템의 기능저하를 억제함으로써 인지기억능을 개선시킴을 의미하는 것으로 해석될 수 있다.
- [0087] 상술된 실험결과들은 본 발명의 약학조성물이 퇴행성 뇌질환을 예방하거나 증상을 치료하는데 도움을 줄 뿐만 아니라 기억력 증진에 유효한 효과를 갖는 것을 보여준다.
- [0088] 즉 본 발명의 약학조성물을 흡입 또는 경구 투여의 방법으로 미리 투여하게 되면 뇌가 베타 아밀로이드에 노출되더라도 본 발명의 약학조성물이 미리 투여되지 않고 베타 아밀로이드에 노출된 군에 비해 인지기억능과 운동협응력을 향상되어 퇴행성 뇌질환이 예방되고 발병하더라도 상대적으로 증상이 개선되는 것을 보여주기 때문이다.
- [0089] 따라서, 상술된 바와 같이 본 발명의 정유추출물을 유효성분으로 포함하는 기능성건강식품은 정유추출물에 다른 식품 또는 식품 첨가물을 함께 포함하여 제조되어, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있는데, 본 발명의 기능성건강식품을 수시로 섭취하게 되면 퇴행성뇌질환을 예방 및 개선할 수 있을 뿐만 아니라 학습력 및 기억력 증진에 유의한 효과가 있어 특히 수험생들에게 좋은 기능성건강식품이 될 수 있다.
- [0090] 본 발명은 이상에서 살펴본 바와 같이 바람직한 실시 예를 들어 도시하고 설명하였으나, 상기한 실시 예에 한정되지 아니하며 본 발명의 정신을 벗어나지 않는 범위 내에서 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 다양한 변경과 수정이 가능할 것이다.

도면

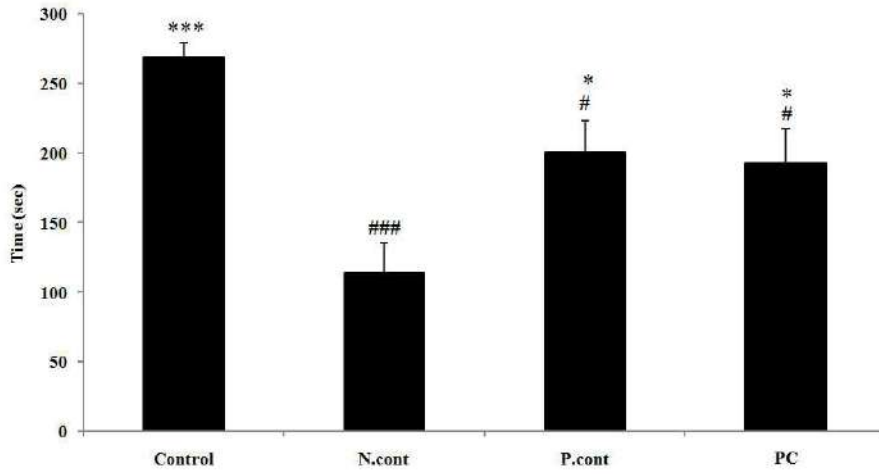
도면1



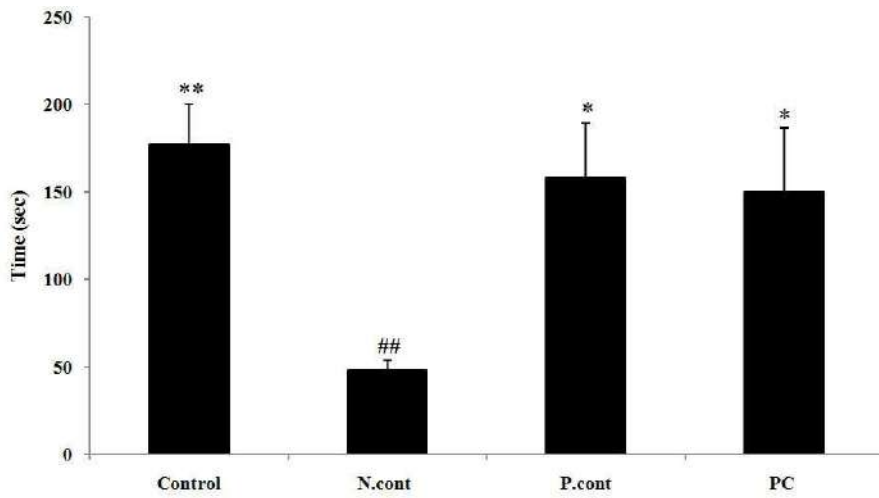
도면2



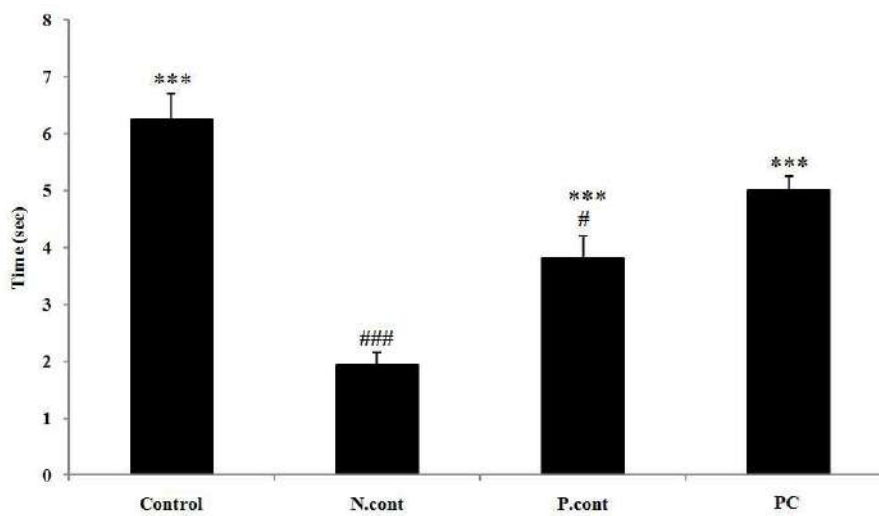
도면3



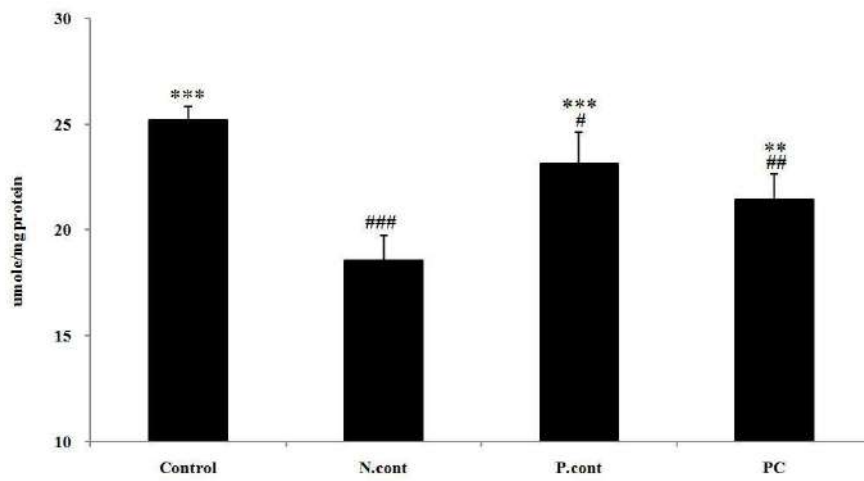
도면4



도면5



도면6



도면7

