



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0045256
(43) 공개일자 2016년04월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/185 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0140470
(22) 출원일자 2014년10월17일
심사청구일자 2014년10월17일

(71) 출원인
주식회사 뉴트리플랜
경기도 파주시 조리읍 능안로266번길 29
재단법인 전남생물산업진흥원
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)
(72) 발명자
강남길
경기도 용인시 기흥구 구교동로118번길 7, 107동
403호(마북동, 구성자이3차아파트)
이민재
경기도 하남시 감초로 208-15
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
신동인

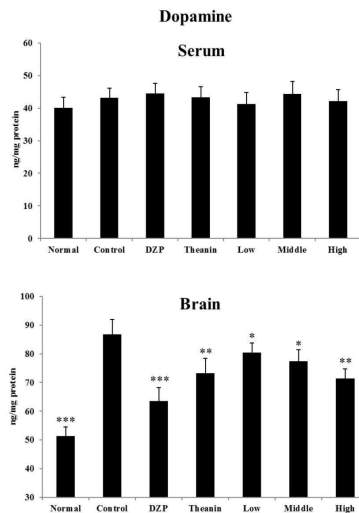
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스, 우울증 또는 치매 치료 및 예방을 위한 조성물**

(57) 요약

본 발명은 비타민나무 추출물을 함유하는 조성물에 관한 것으로, 정신적 스트레스를 유발한 마우스를 이용한 동물 실험에서 마우스의 뇌 및 혈중 도파민(dopamine), 노르아드레날린(noradrenaline) 및 코르티코스테론(corticosterone)의 수준(level)을 저하시키고, 세로토닌(serotonin)의 수준(level)이 증가시킴을 확인하여 정신적 스트레스 관련 질환에 대한 억제, 예방 및 치료에 유용함을 확인하였다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

정창식

전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136, 102동
402호(성은연립주택)

김선오

광주광역시 북구 양일로 52-1, 201동 1003호 (연제
동, 연제2차 아파트)

배동혁

전라남도 화순군 화순읍 오성로 558, 303동 1106호
(서라3차아파트)

김지혜

전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 80, 동국빌라 B동
201호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 112112-3

부처명 농림수산식품부

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원

연구사업명 고부가가치식품기술개발사업

연구과제명 소재화
비타민나무(갈매보리수나무) 열매와 잎을 활용한 정신적/육체적 피로개선 기능성식품 원료

기여율 1/1

주관기관 (주)뉴트리플랜

연구기간 2012.12.18 ~ 2015.12.17

명세서

청구범위

청구항 1

비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 치료 및 예방용 약학조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 비타민나무는 열매, 줄기, 잎, 꽃, 뿌리 또는 전초임을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 주정, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 극성용매임을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 정신적 스트레스관련 질환은 우울증, 불면증, 과다수면증, 기면증, 호흡곤란 수면장애, 일주기 리듬 수면장애, 악몽, 야경증, 또는 몽유증임을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 5

비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방용 건강기능식품.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 건강기능식품 형태는 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 침출차, 건강보조 식품, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료 형태인 건강기능식품.

청구항 7

비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방용 건강보조식품.

청구항 8

비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방용 식품첨가제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명의 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성물은 정신적 스트레스를 유발한 마우스를 이용한 동물 실험에서 마우스의 뇌 및 혈중 도파민, 노르아드레날린, 세로토닌(5-HT), 및 코르티코스테론 수준을 감소시킴으로써, 정신적 스트레스에 저항하는 효과가 탁월하므로 스트레스 관련 질환 또는 피로에 대한 억제, 예방 및 개선에 유용하다.

배경 기술

- [0002] [문헌 1] Charney, D. S. : Neuroanatomical circuits modulating fear and anxiety behaviors. Acta. Psychiatr. Scand. Suppl. 417, 38(2003);
- [0003] [문헌 2] Millan, M. J. : The neurobiology and control of anxious states. Prog. Neurobiol. 70, 83 (2003)
- [0004] [문헌 3] Sugimoto, Y, et al., : Effects of extracts and neferine from the embryo of Nelumbo nucifera seeds on the central nervous system. Phytomedicin. 15, 1117 (2008);
- [0005] [문헌 4] Arago, G. F., et al., : A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of alpha and beta-amyrin from Protium heptaphyllum (Aubl.) March. Pharmacol. Biochem. Behav. 85, 827

(2006).

- [0006] [문헌 5]Kalivas, P. W. and Duffy, P. : Selective activation of dopamine transmission in the shell of the nucleus accumbens by stress. Brain Res. 675, 325 (1995);
- [0007] [문헌 6] Tidey, J. W. and Miczek, K. A. : Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study. Brain Res. 721, 140 (1996).
- [0008] [문헌 7]Gesto, M., Soengas, J. L. and Miguez, J. M. : Acute and prolonged stress responses of brain monoaminergic activity and plasma cortisol levels in rainbow trout are modified by PAHs (naphthalene, beta-naphthoflavone and benzo(a)pyrene) treatment. Aquat. Toxicol. 86, 341 (2008).
- [0009] [문헌 8]Buffalari, D. M. and Grace, A. A. : Chronic cold stress increases excitatory effects of norepinephrine on spontaneous and evoked activity of basolateral amygdala neurons. Int. J. Neuropsychopharmacol. 12, 95 (2009).[문헌 9] Saito, T., et al., : Effect of chronic cold exposure on noradrenergic modulation in the preoptic area of thermoregulation in freely moving rats. Life Sci. 83, 79 (2008).
- [0010] [문헌 10]Lapiz-blum, M. D., et al., : Chronic intermittent cold stress and serotonin depletion induce deficits of reversal learning in an attentional set-shifting test in rats. Psychopharmacology (Berl) 202, 329 (2009).
- [0011] [문헌 11]Parker, C. C. et al., : Restraint stress and exogenous corticosterone differentially alter sensitivity to the sedative-hypnotic effects of ethanol in inbred long-sleep and inbred short-sleep mice. 녹차추출물과 테아닌 복합물의 신경전달물질 조절을 통한 항스트레스 효과 249 Vol. 53, No. 5, 2009 Alcohol. 42, 477 (2008)
- [0012] [문헌 12]Swiergiel, A. H., et al., : Effects of chlordiazepoxide on footshock- and corticotropin-releasing factor-induced increases in cortical and hypothalamic norepinephrine secretion in rats. Neurochem. Int. 52, 1220 (2008)
- [0013] [문헌 13]Komiya, M., Takeuchi, T. and Harada, E. : Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. Behav. Brain Res. 17. 172, 240 (2006).
- [0014] [문헌 14] Seo, J. et al., : Anxiolytic -like effects of obovatol isolated from Magnolia obovata:Involvement of GABA/benzodiazepine receptors complex. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 31, 1363 (2007)
- [0015] [문헌 15] 대한민국 특허등록 10-0008014호
- [0016] [문헌 16] 대한민국 특허등록 10-0012695호
- [0017] [문헌 17] 대한민국 특허등록 10-0008675호
- [0018] [문헌 18] Journal of antimicrobial chemotherapy, L. C. Chiang, W. Chiang, M. C. Liu and C. C. Lin, Vol. 52, pp 194 ~ 198, 2003
- [0019] [문헌 19]J. Agric. Food Chem., Vol.47, pp 3480 ~ 3488
- [0020] [문헌 20] J. of Chromatography A, Chu Chen, 1154, pp 250 ~ 259

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0021] 본 발명은 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 치료 및 예방을 위한 조성물에 관한 것이다.
- [0022] 스트레스는 예로부터 만병의 근원으로 일컬어지고 있으며, 특히 현대사회에서는 학업, 업무, 결혼, 육아 등의 사회적 요인, 날씨, 교통 등의 주변 환경적 요인 등 다양한 원인으로 인하여 남녀노소를 불문하고 과도하게 발

생하고 있기 때문에 매우 중요한 사회적 문제로 인식되고 있다.

- [0023] 우리 사회가 급격히 발전하고 다변화 되면서 현대인에게 요구되는 역할들이 증대됨에 따라, 여러 가지 스트레스로 인한 범불안 장애 및 정신질환을 호소하는 사람들이 증가하고 있다. 보건복지부가 발표한 '2006년도 정신질환실태 역학조사'에 따르면, 2006년 1년간 한 가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 '정신질환 일년 유병율'은 17.1 %로 나타났다. 이는 18세 이상 64세 이하 성인 6명 중 1명 꼴이며, 2006년 현재 평생동안 한가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 '정신질환 평생 유병율'은 성인 3명 중 1명인 30%로 나타났다. 최근 과도한 학구열 또는 각종 스트레스로 인한 청소년 정신질환이 늘고 있는 추세를 감안한다면 전체 인구의 유병율은 더욱 높다고 할 수 있겠다.
- [0024] 불안증과 스트레스를 유발하는 데는 생체내 신경전달물질 및 호르몬이 밀접한 관련이 있다. 외부 자극 및 스트레스에 대해 체내에서는 시상하부에서 신경전달물질 및 호르몬의 분비를 관장하는데, 시상하부에서 중추신경계의 신호전달을 통하여 각 신경말단에서 도파민(dopamine) 및 노르아드레날린(noradrenaline), 세로토닌(serotonin) 등과 같은 신경전달물질의 유리를 조절함으로써 감정상태, 심박동수, 혈압 및 골격근의 혈류 증가 등과 같은 생리활성을 조절하게 된다. 그리고 hypothalamic-pituitary-adrenal(HPA) axis system 을 통하여 혈액으로의 호르몬 분비가 이루어지는데, 이는 시상하부에서 뇌하수체, 부신으로 이어지는 호르몬의 circulation system 으로, 어떠한 외부 자극 또는 스트레스를 받게 되면, 시상하부에서 부신피질 자극 호르몬 방출인자(corticotropin-releasing factor; CRF)를 분비하게 된다. 뇌하수체의 CRF 와 특이적으로 결합하는 수용체에 이 호르몬이 결합하게 되면 부신피질자극호르몬(adrenocorticotrophic hormone;ACTH)을 분비한다. ACTH는 혈액 및 림프절을 통해 부신에 도착하게 되어 피질에서 코르티코스테론(corticosterone)과 같은 스테로이드 호르몬과 수질에서 카테콜아민(catecholamine) 류의 신경전달물질을 혈액으로 방출하여, 심박동수, 혈압 및 에너지 대사 등의 조절에 관여하게 되며, 역조절 피드-백 기전(negative feedback regulation)을 통하여 이들 인자들의 분비를 조절한다.(1,2Charney, D. S. : Neuroanatomical circuits modulating fear and anxiety behaviors. Acta. Psychiatr. Scand. Suppl. 417, 38(2003); 2) Millan, M. J. : The neurobiology and control of anxious states. Prog. Neurobiol. 70, 83 (2003).)
- [0025] 현재 임상에서는 약물치료와 장기적 정신치료를 병행해 불안증을 치료하고 있으며, 약물치료의 경우에는 주로 디아제팜(diazepam), 로라제팜(lorazepam), 클로나제팜(clonazepam), 알프러졸람(alprazolam)과 같은 벤조디아제팜(benzodiazepine) 계통의 항불안 약물들을 주로 사용되고 있고, 아자피론(azapirone) 계의 부스피론(buspiron)은 선택적으로 세로토닌(serotonin) 수용체에 작용하여서 선택적으로 불안증후를 완화시킬 수 있는 약물로 사용이 되고 있다. 또한 최근에는 이러한 약물의 부작용을 보완할 수 있는 천연물로부터 유래한 스트레스 조절물질의 연구가 활발히 진행되어 오고 있으며,3,4Sugimoto, Y, et al., : Effects of extracts and neferine from the embryo of Nelumbo nucifera seeds on the central nervous system. Phytomedicin. 15, 1117 (2008); 4) Arago, G. F., et al., : A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of alpha and beta-amyrin from Protium heptaphyllum (Aubl.) March. Pharmacol. Biochem. Behav. 85, 827 (2006).) dopamine과 serotonin이 주요 조절 물질로서 호르몬으로서 연구되고 있다.
- [0026] 스트레스와 관련된 신경전달물질의 변화와 불안/스트레스와의 관계를 살펴보면, 우선 도파민(dopamine)의 경우 카테콜아민(catecholamine) 형태의 신경전달물질의 일종으로 뇌신경 세포의 흥분 전달역할을 하며, 주의 집중, 긴장, motivation 상태를 주로 조절한다고 알려져 있고, 과다하게 분비될 경우 정신분열과 같은 질환을 유발하게 되며, 부족하게 될 경우 파킨슨 질병과 같은 운동장애를 유발한다고 알려져 있다. 도파민 시스템(Dopamine system) 의 경우 스트레스에 대해 민감하게 반응을 하며, 여러 가지 급성 스트레스는 도파민(dopamine)의 유리를 증가시킨다고 보고되어 있으며,7,8Kalivas, P. W. and Duffy, P. : Selective activation of dopamine transmission in the shell of the nucleus accumbens by stress. Brain Res. 675, 325 (1995); 8) Tidey, J. W. and Miczek, K. A. : Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study. Brain Res. 721, 140 (1996).) 나프탈렌(naphthalene), 베타나프토폴라본(betanaphthoflavone) 및 벤조피렌(benzopyrene)과 같은 엔도톡신(endotoxin)에 의한 스트레스에 급, 만성으로 노출되었을 경우에도 도파민(dopamine)과 도파민(dopamine)의 아민 대사체(amine metabolites)인 DOPAC(3,4-dihydroxyphenylacetic acid) 등이 증가한다고 보고되어 있다.9Gesto, M., Soengas, J. L. and Miguez, J. M. : Acute and prolonged stress responses of brain monoaminergic activity and plasma cortisol levels in rainbow trout are modified by PAHs (naphthalene, beta-naphthoflavone and benzo(a)pyrene) treatment. Aquat. Toxicol. 86, 341 (2008).)
- [0027] 노르아드레날린(Noradrenaline) 또한, HPA axis system 에 의해 스트레스에 적응하기 위하여 부신피질에서 분비

되는 신경전달물질로, 교감신경을 활성화시켜 혈압, 심박동수, 호흡수 등 스트레스나 불안감이 생길 경우 생리적으로 나타나는 현상을 조절하는 역할을 한다. 콜드 스트레스(Cold stress)를 통하여 스트레스 상태를 실험동물에 유도할 경우 노르에피네프린(norepinephrine) 유리를 증가시키고, basolateral amygdala 의 neuronal activity 를 활성화시킨다고 보고되어 있으며,10Buffalari, D. M. and Grace, A. A. : Chronic cold stress increases excitatory effects of norepinephrine on spontaneous and evoked activity of basolateral amygdala neurons. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 12, 95 (2009.) Saito 등이 발표한 연구에도 급성 cold stress 상태에서 noradrenaline의 분비가 증가하여 medial preoptic area 를 조절하여 체온을 유지한다고 알려졌다.1111) Saito, T., et al., : Effect of chronic cold exposure on noradrenergic modulation in the preoptic area of thermoregulation in freely moving rats. *Life Sci.* 83, 79 (2008.)

[0028] 세로토닌(Serotonin)의 경우 간헐적 cold stress를 유도하였을 경우 serotonin의 level 이 감소되며, 세로토닌 (serotonin) 결핍이 학습능력과 주의력을 떨어뜨린다는 연구결과가 보고되어 있으며,12Lapiz-blumh, M. D., et al., : Chronic intermittent cold stress and serotonin depletion induce deficits of reversal learning in an attentional set-shifting test in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 202, 329 (2009.) 선천적으로 수면시간이 긴 마우스와 짧은 마우스를 이용하여 구속 스트레스(restraint stress)를 유도하여 corticosterone의 level과 ethanol의 안정작용(sedative)이 미치는 영향을 연구한 결과에서도 급성 및 반복 구속 실험에서 corticosterone 의 level 이 상승한 것을 확인할 수 있었다.13Parker, C. C. et al., : Restraint stress and exogenous corticosterone differentially alter sensitivity to the sedative-hypnotic effects of ethanol in inbred long-sleep and inbred short-sleep mice. *녹차추출물과 테아닌 복합물의 신경전달물질 조절을 통한 항스트레스 효과* 249 Vol. 53, No. 5, 2009 *Alcohol.* 42, 477 (2008)).

[0029] 그리고 현재 임상적으로 흔히 사용되는 항불안 약물인 benzodiazepine 류의 약물들을 사용하여 본 실험에서 측정된 신경전달 물질들의 level을 측정해 본 연구결과들에 의하면, electric foot shock 과 microdialysis 를 이용, 뇌내에 CRF를 주입할 경우 비처리군인 대조군에 비하여 norepinephrine이 300% 이상 수치가 상승하였으며, 대표적인 benzodiazepine 계통 약물인 chlordiazepoxide를 5 mg/kg 복강주사로 처리하였을 경우 상승된 norepinephrine 수치를 유의적으로 감소시키는 것으로 밝혀졌다.14Swiergiel, A. H., et al., : Effects of chlordiazepoxide on footshock- and corticotropin-releasing factor-induced increases in cortical and hypothalamic norepinephrine secretion in rats. *Neurochem. Int.* 52, 1220 (2008.) 그러나 이러한 약물들은 지나친 안정효과(sedative effect), 근이완, 불면증, 약물의존성등을 초래하므로 이를 극복하기 위해 천연물을 이용한 연구들이 진행되고 있다. Komiya 등은 lemon oil 향을 이용한 anti-stress 효능을 마우스의 serotonin과 dopamine 활성 측정을 통하여 측정한 결과, lemon oil 향이 dopamine의 활성을 억제하며, serotonergic neuron 활성을 증가시켜 항스트레스 효능이 있음을 보였으며,15) Oh16Komiya, M., Takeuchi, T. and Harada, E. : Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. *Behav. Brain Res.* 17. 172, 240 (2006).등은 후박(Magnolia obovata) 추출물에서 GABA/benzodiazepine receptor가 연관된 항불안 효능을 보고한 바 있다(16) Seo, J. et al., : Anxiolytic-like effects of obovatol isolated from Magnolia obovata: Involvement of GABA/benzodiazepine receptors complex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 31, 1363 (2007). 이와 같은 연구 결과들을 비교할 때 스트레스/불안 유도시 도파민(dopamine), 노르아드레날린(noradrenaline) 및 코르티코스테론(corticosterone)의 수준(level)이 증가하고, 세로토닌(serotonin) 의 수준(level)이 감소하는 것을 알 수 있었다.

[0030] 종래의 기술로 대한민국 특허등록 10-0008014호에서는 시상하부-뇌하수체-부신 축의 기본 활성을 감소시켜 수면 및 수면-관련 거동에 영향을 주는 방법에 관해 개시하여 수면과 스트레스의 주요 대사산물인 코르티솔과의 관계를 확인하였다. 또한, 대한민국 특허등록 10-0012695호에서는 노근추출물을 함유하는 스트레스 완화, 피로회복 또는 운동수행능력 증강용 식품조성물에 관하여 개시하였고, 대한민국 특허등록 10-0008675호에서는 노근, 모과 및 미강 추출물을 함유하는 피로회복 또는 스트레스 억제용 식품 조성물에 관하여 개시하였으나, 천연식물자원을 이용하여 수면부족 및 스트레스와 관련된 기술 및 연구는 미미하다.

[0031] 비타민나무(일명, 갈매모리수나무 또는 산자나무로 지칭됨; Hippophae rhamnoides)는 보리수과(Elaeagnaceae)의 식물로서, 영국 동부와 남동부 해안의 모래언덕에 많으며, 유럽과 아시아의 산악지대, 중국의 내몽고지역과 러

시아의 시베리아지역, 캐나다의 오지 등의 저온이며 척박한 지역에 자생하는 식물로서, 식물 유래 플라보노이드나 당화 플라보노이드의 약리 활성에 대해서는 많이 알려져 있다(Journal of antimicrobial chemotherapy, L. C. Chiang, W. Chiang, M. C. Liu and C. C. Lin, Vol. 52, pp 194~198, 2003). 여러 연구자들에 의하여 산자나무의 유효성분에 관련된 연구가 많이 진행되어 왔다. 특히, 산자나무 열매에서 각종 천연 비타민(A, B, C, E, P, K)의 함량을 정량 및 정성분석하였으며, 각종 아미노산들의 함량 및 각종 유용 금속류의 함유량을 분석하였다. 또한, 각종 영양소의 함유량에 관한 연구와 산자나무 열매를 식품으로 이용하기 위한 기초자료로 열매관련 물성 연구가 진행되었다(J. Agric. Food Chem., Vol.47, pp 3480~3488). 그리고 중국을 중심으로 하여, 산자나무 Hippophae rhamnoides ssp. sinensis 15종, Hippophae rhamnoides ssp. yunnanensis 7종, Hippophae rhamnoides ssp. wolongensis 5종, Hippophae rhamnoides ssp. stellatopilosa 4종, Hippophae rhamnoides ssp. tibetana 3종에서 유래한 여러 가지 플라보노이드들을 HPLC 표준화작업에 의해 12종의 플라보노이드로 분류하여 이들의 다양성을 보고 하였다(J. of Chromatography A, Chu Chen, 1154, pp 250~259). 그리고 중국을 중심으로 여러 지역에서 자생하고 있는 각종 산자나무들로부터 성분 분리연구를 수행하여 분리된 12종의 플라보노이드들의 함량을 비교한 바 있다.

[0032] 그러나, 상기 문헌의 어디에도 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스관련 질환에 대한 억제활성에 대하여 개시되거나 교시된 바가 없다.

[0033] 이에 따라, 본 발명자들은 본 발명은 스트레스에 의한 스트레스 억제에 탁월한 천연물을 찾고자 연구한 결과, 비타민나무 추출물은 정신적 스트레스를 유발한 마우스를 이용한 동물 실험에서 마우스의 뇌 및 혈중 도파민(dopamine), 노르아드레날린(noradrenaline) 및 코르티코스테론(corticosterone)의 수준(level)을 저하시키고, 세로토닌(serotonin)의 수준(level)이 증가시킴을 확인하여 정신적 스트레스관련 질환에 대한 억제, 예방 및 치료에 유용함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0034] 상기 목적을 해결하기 위해 본 발명은 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 치료 및 예방용 약학조성물을 제공한다.

[0035] 또한 본 발명은 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방용 건강기능식품을 제공한다.

[0036] 본원에서 정의되는 상기 비타민나무는 열매, 줄기, 잎, 꽃, 뿌리, 전초 등, 바람직하게는 줄기 또는 잎 부위, 보다 바람직하게는 잎부위를 포함한다.

[0037] 본원에서 정의되는 상기 추출물은 물, 주정, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 극성용매, 바람직하게는 물 및 주정 혼합용매, 보다 바람직하게는 물 또는 20 내지 90% 물 및 주정 혼합용매에 가용한 추출물을 포함한다.

[0038] 본원에서 정의되는 상기 스트레스관련 질환은 정신적 스트레스로 기인한 질환을 통칭하며, 구체적으로는 우울증, 불안증, 불면증, 과다수면증, 기면증, 호흡곤란 수면장애, 일주기 리듬 수면장애, 악몽, 야경증, 몽유증 등의 수면장애, 보다 구체적으로는 우울증, 불안증 또는 불면증을 포함한다.

[0039] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0040] 본 발명의 비타민나무 열매, 줄기, 꽃, 뿌리, 전초 등, 바람직하게는 줄기 또는 잎 재료를 동결 건조하여 마쇄한 후 시료 중량의 약 1 내지 100배, 바람직하게는 약 2 내지 20배에 달하는 부피의 물, 주정, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 극성용매, 바람직하게는 물 및 주정 혼합용매, 보다 바람직하게는 물 또는 1: 1-10 혼합비의 물 및 주정 혼합용매로 20 내지 120℃, 바람직하게는 30 내지 80℃에서 약 1 내지 72시간, 바람직하게는 2 내지 12시간 동안에서 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 추출방법을 사용하여, 바람직하게는 열수 추출하여 추출한 후 감압여과 및 농축하여 본 발명의 비타민나무

추출물들을 수득할 수 있다.

- [0041] 또한 본 발명은 상기 제조방법 및 상기 제조방법으로 제조된 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 치료 및 예방을 위한 약학 조성물 및 건강기능식품을 제공한다.
- [0042] 상기에서 제조된 비타민나무 추출물은 정신적 스트레스를 유발한 마우스를 이용한 동물 실험에서 마우스의 뇌 및 혈중 도파민(dopamine), 노르아드레날린(noradrenaline) 및 코르티코스테론(corticosterone)의 수준(level)을 저하시키고, 세로토닌(serotonin)의 수준(level)이 증가시킴을 확인하여 정신적 스트레스관련 질환에 대한 억제, 예방 및 치료에 유용함을 확인하였다.
- [0043] 본 발명의 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 생약 추출물을 0.01 내지 99% 중량으로 포함한다.
- [0044] 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0046] 본 발명에 따른 추출물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 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, 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, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 적어도 면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 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, 비수용용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수용용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 추출물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 추출물은 1일 0.01 mg/kg 내지 10 g/kg으로, 바람직하게는 1 mg/kg 내지 1 g/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 그러므로 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명의 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 및 직장 또는 정맥등의 방법을 통하여 투여 할 수 있다.
- [0049] 또한 본 발명은 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방을 위한 건강기능식품을 제공한다.
- [0050] 본 발명의 추출물을 포함하는 건강기능식품은 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방을 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 침출차, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.
- [0051] 따라서 또한, 본 발명은 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방 건강보조식품을 제공한다.
- [0052] 따라서 또한, 본 발명은 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스 관련 질환의 개선 및 예방 식품첨가제를 제공한다.

- [0053] 본 발명의 추출물을 첨가 가능한 식품형태는 캔디류의 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제 또는 건강보조 식품류인 식품 등을 포함한다.
- [0054] 본 발명의 추출물은 스트레스 억제 및 예방을 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물의 양은 일반적으로 본 발명의 건강식품 조성물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.
- [0055] 본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물의 혼합물을 함유하는 것 외에 액체 성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등)) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.
- [0056] 상기 외에 본 발명의 조성물은 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, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

발명의 효과

- [0057] 본 발명의 비타민나무 추출물은 정신적 스트레스를 유발한 마우스를 이용한 동물 실험에서 마우스의 뇌 및 혈중 도파민(dopamine), 노르아드레날린(noradrenaline) 및 코르티코스테론(corticosterone)의 수준(level)을 저하시키고, 세로토닌(serotonin)의 수준(level)이 증가시킴을 확인하여 정신적 스트레스관련 질환에 대한 억제, 예방 및 치료에 유용한 약학 조성물 또는 건강 기능 식품을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0058] 도 1은 약물처리 과정을 나타낸 도이며;
- 도 2는 비타민나무 추출물의 전기충격에 의한 스트레스 유도 마우스에서의 뇌 및 혈중 도파민 수준에 미치는 영향을 나타낸 도이며;(데이터는 평균(mean latencies) ± S.D. (n = 10)으로 표시하고. *** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05 vs control임);
- 도 3는 비타민나무 추출물의 전기충격에 의한 스트레스 유도 마우스에서의 뇌 및 혈중 노르아드레날린 수준에 미치는 영향을 나타낸 도이며;(데이터는 평균(mean latencies) ± S.D. (n = 10)으로 표시하고. *** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05 vs control임);
- 도 4는 비타민나무 추출물의 전기충격에 의한 스트레스 유도 마우스에서의 뇌 및 혈중 5-HT 수준에 미치는 영향을 나타낸 도이며;(데이터는 평균(mean latencies) ± S.D. (n = 10)으로 표시하고. *** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05 vs control임);
- 도 5는 비타민나무 추출물의 전기충격에 의한 스트레스 유도 마우스에서의 뇌 및 혈중 코르티코스테론 수준에 미치는 영향을 나타낸 도이며;(데이터는 평균(mean latencies) ± S.D. (n = 10)으로 표시하고. *** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05 vs control임);

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0059] 이하, 본 발명을 하기 참고예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0060] 단, 하기 참고예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 참고예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0061] **실시예 1. 비타민나무 줄기 및 잎 추출물의 제조**

[0062] 1-1. 물 추출물의 제조

[0063] 비타민나무 잎 (㈜참농비타민, 전남 장흥) 30 kg을 48시간 동안 동결 건조하여 저온건조하여 선별과정을 마친 후 분말화하고 상기 비타민나무 잎 분말 중량의 20배 부피의 물을 첨가하고 100℃에서 5시간 동안 추출기 (COSMOS660, 경서기계산업)로 환류추출 한 후 100 mesh의 여과망이 부착된 여과조를 이용하여 여과한 후 상등액을 감압 및 농축한 후에 동결 건조하여 비타민 나무 잎 열수 추출물(이하 HPW라 함)을 수득하여 하기 실험의 시료로 사용하였다.

[0064] 1-2. 주정 추출물의 제조

[0065] 비타민나무 잎 (㈜참농비타민, 전남 장흥) 30 kg을 48시간 동안 동결 건조하여 저온건조하여 선별과정을 마친 후 분말화하고 상기 비타민나무 잎 분말 중량의 20배 부피의 40% 주정을 첨가하고 100℃에서 5시간 동안 추출기 (COSMOS660, 경서기계산업)로 환류추출 한 후 100 mesh의 여과망이 부착된 여과조를 이용하여 여과한 후 상등액을 감압 및 농축한 후에 동결 건조하여 비타민 나무 줄기 주정 추출물(이하 HPL라 함)을 수득하여 하기 실험의 시료로 사용하였다.

[0066] **실험예 1. 비타민나무 추출물의 스트레스 완화 효과 확인**

[0067] 상기 실시예에서 얻은 비타민나무 추출물의 족부 전기충격(electric foot shock)으로 스트레스를 유도한 후 혈청 및 뇌 주요 조직에서의 스트레스 관련 신경전달물질 및 호르몬(dopamine, noradrenaline, serotonin, corticosterone)의 함량 변화 측정을 통한 정신적 스트레스 완화 효과를 확인하기 위하여 문헌에 기재된 방법을 응용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다 (Sang-Ki Park et al., Combination of Green Tea Extract and L-Theanine Alleviates Electric Foot Shock Induced Stress by Modulating Neurotransmitters in MiceYakhak Hoeji Vol. 53, No. 52, pp41~249, (2009))

[0068] 1-1. 실험동물 및 시료

[0069] 생후 6주 된 수컷 ICR mouse (20 ~ 25 g)를 중앙실험동물(주)로부터 구입하여, 1주간 순화시키면서 일반증상을 관찰하였고, 체중을 측정하여 건강한 것만을 선별하여 사용하였다. 실험동물은 충북대학교 실험동물연구지원센터에서 GLP 수준의 관리기준에 따라 수용하고, 관리, 투여, 실험을 실시하였다. 실험기간 중의 실험동물은 격리용 마우스 케이지당 3마리씩 수용하였고, 사육실 환경조건은 실내온도 23±3℃, 상대습도 55±10%, 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시), 조도 150~200 lux로 조절되었다. 물과 실험동물용 사료는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였고, 시료를 물에 녹여 투여하기 위해 1일 평균 물 섭취량을 측정하였다.

[0070] 1-2. 시험물질 투여 및 용량 (표 1 및 도 1 참조)

[0071] 실험동물은 평균 체중과 분산이 균일하도록 군을 분리하고 각 군당 10마리로 하였으며, 양성대조군으로 디아제팜 (diazepam, Cat# D0899, Sigma, St. Louis, USA)을 2 mg/kg. b.w. 용량으로 스트레스 유도 30분 전에 1회 복강투여하였다. 테아닌 (teanin)과 비타민나무잎 열수 추출물의 경우 1일 1회 경구투여하였으며 총 31일 동안 투여하였다.

표 1

[0072] treatment schedule

Group	electric shock	concentration
Normal	-	non-treatment
Control	+	non-treatment
Diazepam	+	2mg/kg, b.w. (I.P.)*
Teanin	+	4mg/kg, b.w
low	+	50 mg/kg, b.w
middle	+	150 mg/kg, b.w
high	+	300 mg/kg, b.w
*b.w: body weight		
**I.P: intraperitoneally		

[0073] 1-3. 스트레스 유도를 위한 전기자극

[0074] 실험동물에 스트레스를 유도하는 방법으로서 문헌에 기재된 족부 전기충격(electric foot shock) 방법을 이용하였다. (Sang-Ki Park et al., Combination of Green Tea Extract and L-Theanine Alleviates Electric Foot Shock Induced Stress by Modulating Neurotransmitters in MiceYakhak Hoeji Vol. 53, No. 52, pp41~249, (2009))

[0075] 시험물질 투여 종료 후 족부 전기충격을 30분간 5초 간격으로 1초간 0.6 mA의 전기충격을 가하여 스트레스를 유도한 후 마우스를 부검, 혈액 및 뇌를 적출하였다.

[0076] 시료 (theanin 및 비타민나무잎 열수 추출물)는 실험전일인 총 31일동안 경구투여 하였으며, diazepam의 경우 전기충격을 가하는 31일 제에만 복강투여 하였다.

[0077] 1-4. 혈액 및 뇌의 채취 및 보관

[0078] 스트레스 유도 후 5분 안에 실험동물을 에테르(ether)로 마취시킨 후 복부를 절개하여 1 ml syringe 로 복대동맥에서 심정지 직전까지 혈액을 채취하여 heparin 이 코팅되어 있는 blood collection vacutainer (BD, NJ, USA)에 넣어 잘 섞어준 후 상온에서 2시간을 방치하였다. 그 후 4℃, 15000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액(plasma)을 분리하여 냉동보관(-20℃)하였다.

[0079] 혈액이 제거된 마우스로부터 brain을 적출하였고, 여기에 200-500 µl의 extraction buffer (0.3 M sucrose, 0.15 mM spermine, 0.5 mM spermidine, 10 mM HEPES (pH 7.9), 1.5 mM MgCl2, 10mM KCl, 0.5mM DTT, 0.2mM PMSF, 0.1% protease inhibitor, 0.1% phosphatase inhibitor, 0.5% NP 40)를 넣어 균질화시킨 후 최종 부피가 1 ml이 되도록 extraction buffer를 가해 잘 혼합한 뒤 2시간 동안 4℃에서 lysis시켰다. 여기에 반응이 끝나면 시료를 1.5 ml tube에 담아 3분씩 5번 동안 vortex하고 4℃, 15,000 rpm에서 15분간 원심분리 한 후 상등액을 취하였다.

[0080] 1-5. 생화학적 분석

[0081] 분리/적출된 혈액 및 뇌조직내 dopamine(DA), noradrenaline(NE), serotonin(5-HT), corticosterone(CS)의 함량을 ELISA로 측정하였는데, Dopamine (Dopamine ELISA Kit, Cat# KA1887, Abnova Corp, Taipei City, Taiwan), Norepinephrine (Norepinephrine ELISA Kit, Cat# KA1891, Abnova Corp, Taipei City, Taiwan), Serotonin (Serotonin ELISA Kit, Cat# KA1894, Abnova Corp, Taipei City, Taiwan), Corticosterone (Corticosterone ELISA Ki, Cat# KA0468, Abnova Corp, Taipei City, Taiwan)은 각각의 kit를 이용하여 제조사에서 제공한 실험방법에 따라 분석 하였다.

[0082] 1-6. 통계학적 분석

[0083] 실험의 결과는 평균 ± 표준편차로 표기하였고, 각 그룹간 차이는 Student's t-test 분석법을 사용하여 통계학적인 유의성을 판정하였으며 p값이 0.05 미만 (*p<0.05), 0.01 미만 (**p<0.01), 0.001 미만 (**p<0.001)인

경우를 구별하여 통계학적으로 유의성을 판단하였다.

[0084] 1-7. 실험 결과

[0085] 상기 실험 결과, 혈중 dopamine 수치는 스트레스 자극 전과 후에 유의적 차이가 없었으며, 양성대조군인 DZP theanin의 경우에도 별다른 변화를 확인 할 수 없었다. 시료인 비타민나무잎 열수 추출물을 투여한 군 모두 유의적 변화가 없었다. 뇌조직에서의 dopamine 수치는 30분 동안의 전기자극만을 준 control군 (86.72 ± 5.21 ng/mg protein)의 경우 뇌에서의 dopamine 수치가 스트레스 자극을 주지 않은 무처리군 (51.32 ± 3.15 ng/mg protein)과 비교하여 유의적으로 크게 증가한 것을 확인 하였다. 그리고 시료인 비타민나무 열수 추출물을 농도 별로 처리 하였을 때, Low, Middle, High 군에서 각각, 80.41 ± 3.42 , 77.43 ± 3.94 , 71.42 ± 3.41 ng/mg protein으로 농도 의존적으로 dopamine 수치가 감소하는 것을 확인하였다. 양성대조군인 DZP (63.52 ± 4.72 ng/mg protein)와 theanine (73.31 ± 5.15 ng/mg protein)의 경우에도 증가된 dopamine 수치가 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. 스트레스에 의해 증가된 dopamine 수준은 비타민나무 열수 추출물에 의해 유의적으로 감소하였다. (도 2 참조)

[0086] Electric Foot Shock로 정신적 스트레스를 가한 후, 비타민나무잎 열수 추출물이 serum 에서의 noradrenalin 수준에 미치는 영향을 측정하였다. 30분 동안의 전기자극만을 준 control군 (71.52 ± 7.32 ng/mg protein)의 경우 혈중에서의 noradrenalin 수치가 스트레스 자극을 주지 않은 무처리군 (32.51 ± 4.74 ng/mg protein)과 비교하여 유의적으로 크게 증가한 것을 확인 하였다. 그리고 시료인 비타민나무 열수 추출물을 농도별로 처리 하였을 때, Middle, High 군에서 각각, 56.41 ± 3.94 , 54.17 ± 4.12 ng/mg protein으로 농도 의존적으로 noradrenalin 수치가 감소하는 것을 확인하였다. 양성대조군인 DZP (45.73 ± 4.32 ng/mg protein)와 theanine (53.35 ± 3.24 ng/mg protein)의 경우에도 증가된 noradrenalin 수치가 유의적으로 감소하였다. 뇌조직에서의 noradrenalin 수치도 전기자극만을 준 control군 (105.11 ± 7.52 ng/mg protein)의 경우 스트레스 자극을 주지 않은 무처리군 (31.47 ± 3.15 ng/mg protein)과 비교하여 유의적으로 크게 증가한 것을 확인 하였다. 그리고 시료인 비타민나무 열수 추출물을 농도별로 처리 하였을 때, Low, Middle, High 군에서 각각, 87.43 ± 5.15 , 88.13 ± 3.94 , 78.32 ± 4.51 ng/mg protein으로 농도 의존적으로 noradrenalin 수치가 감소하는 것을 확인하였다. 양성대조군인 DZP (62.72 ± 6.14 ng/mg protein)와 theanine (81.12 ± 5.15 ng/mg protein)의 경우에도 증가된 noradrenalin 수치가 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. 스트레스에 의해 증가된 noradrenalin 수준은 비타민나무 열수 추출물에 의해 유의적으로 감소하였다. (도 3 참조)

[0087] serum 에서의 5-HT 수준에 미치는 영향을 측정하였을 때, 30분 동안의 전기자극만을 준 control군 (10.33 ± 2.46 ng/mg protein)의 경우 뇌에서의 5-HT 수치가 스트레스 자극을 주지 않은 무처리군 (21.31 ± 2.11 ng/mg protein)과 비교하여 유의적으로 크게 감소한 것을 확인하였다. 그리고 시료인 비타민나무 열수 추출물을 농도 별로 처리 하였을 때, High 군에서 17.12 ± 3.14 ng/mg protein으로 5-HT 수치가 유의적으로 증가 하는 것을 확인하였다. 양성대조군인 DZP (28.43 ± 3.31 ng/mg protein)와 theanine (16.64 ± 2.14 ng/mg protein)의 경우에도 감소한 5-HT 수치가 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. 뇌조직에서의 5-HT의 수준도 전기자극만을 준 control군 (14.43 ± 5.21 ng/mg protein)의 경우 뇌에서의 5-HT 수치가 스트레스 자극을 주지 않은 무처리군 (34.42 ± 3.15 ng/mg protein)과 비교하여 유의적으로 크게 감소한 것을 확인 하였다. 그리고 시료인 비타민나무 열수 추출물을 농도별로 처리 하였을 때, 각각 Middle, High 군에서 23.35 ± 3.94 , 32.35 ± 3.41 ng/mg protein으로 5-HT 수치가 유의적으로 증가 하였다. 양성대조군인 DZP (42.36 ± 4.72 ng/mg protein)와 theanine (28.42 ± 3.36 ng/mg protein)의 경우에도 감소한 5-HT 수치가 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. 특히 DZP의 경우, 무처리군 수준으로 5-HT 함량이 크게 증가 하였으며, 스트레스에 의해 감소한 5-HT 수준은 비타민나무 열수 추출물에 의해 유의적으로 다시 증가하였다. (도 4 참조)

[0088] Electric Foot Shock로 정신적 스트레스를 가한 후, 비타민나무잎 열수 추출물이 serum 에서의 corticosterone 수준에 미치는 영향을 측정하였다. 30분 동안의 전기자극만을 준 control군 (32.25 ± 2.89 ng/mg protein)의 경우 뇌에서의 corticosterone 수치가 스트레스 자극을 주지 않은 무처리군 (9.51 ± 3.15 ng/mg protein)과 비교하여 유의적으로 크게 증가한 것을 확인 하였다. 그리고 시료인 비타민나무 열수 추출물을 농도별로 처리 하였을 때, Middle, High 군에서 각각, 24.73 ± 3.94 , 24.43 ± 3.41 ng/mg protein으로 corticosterone 수치가 유의적으로 감소 하는 것을 확인하였다. 양성대조군인 DZP (13.36 ± 2.35 ng/mg protein)와 theanine (21.14 ± 3.24 ng/mg protein)의 경우에도 증가한 corticosterone 수치가 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. 뇌조직에서의 corticosterone의 수준도 30분 동안의 전기자극만을 준 control군 (1562 ± 140.32 ng/mg

protein)의 경우 뇌에서의 corticosterone 수치가 스트레스 자극을 주지 않은 무처리군 (154.35 ± 35.36 ng/mg protein)과 비교하여 유의적으로 크게 증가한 것을 확인 하였다. 그리고 시료인 비타민나무 열수 추출물을 농도별로 처리 하였을 때, Low, Middle, High 군에서 각각, 1251.36 ± 84.42, 1152.36 ± 84.35, 1095.45 ± 79.64 ng/mg protein으로 corticosterone 수치가 유의적으로 감소 하는 것을 확인하였다. 양성대조군인 DZP (625.32 ± 105.35 ng/mg protein)와 theanine (984.43 ± 94.35 ng/mg protein)의 경우에도 증가한 corticosterone 수치가 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. 스트레스에 의해 감소한 corticosterone 수준은 비타민나무 열수 추출물에 의해 유의적으로 감소하였다. (도 5 참조)

[0089] 결론적으로 비타민나무 추출물은 정신적 스트레스를 유발한 마우스를 이용한 동물 실험에서 마우스의 뇌 및 혈 중 도파민(dopamine), 노르아드레날린(noradrenaline) 및 코르티코스테론(corticosterone)의 수준(level)을 저하시키고, 세로토닌(serotonin) 의 수준(level)이 증가시킴을 확인하여 정신적 스트레스 억제에 효과가 있는 기능성 소재로써 판단되며, 향후 대사적 기작관련 연구를 추가 수행하여 기능성 소재로써 매우 유용하게 이용될 수 있다.

[0090] 하기에 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0091] **제제예 1. 산제의 제조**

[0092] HPW ----- 200 mg

[0093] 유당 ----- 100 mg

[0094] 탈크 ----- 10 mg

[0095] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0096] **제제예 2. 정제의 제조**

[0097] HPL ----- 200 mg

[0098] 옥수수전분 ----- 100 mg

[0099] 유당 ----- 100 mg

[0100] 스테아린산 마그네슘 ----- 2 mg

[0101] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0102] **제제예 3. 캡셀제의 제조**

[0103] HPW ----- 200 mg

[0104] 결정성 셀룰로오스 ----- 3 mg

[0105] 락토오스 ----- 14.8 mg

[0106] 마그네슘 스테아레이트 ----- 0.2 mg

[0107] 통상의 캡셀제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡셀제를 제조한다.

[0108] **제제예 4. 주사제의 제조**

[0109] HPL ----- 200 mg

[0110] 만니톨 ----- 180 mg

- [0111] 주사용 멸균 증류수 ----- 2974 mg
- [0112] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ----- 26 mg
- [0113] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0114] **제제예 5. 액제의 제조**

- [0115] HPW ----- 200 mg
- [0116] 이성화당 ----- 10 g
- [0117] 만니톨 ----- 5 g
- [0118] 정제수 ----- 적량
- [0119] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0120] **제제예 6. 건강 식품의 제조**

- [0121] HPL ----- 1000 mg
- [0122] 비타민 혼합물 ----- 적량
- [0123] 비타민 A 아세테이트 ----- 70 μg
- [0124] 비타민 E ----- 1.0 mg
- [0125] 비타민 B1 ----- 0.13 mg
- [0126] 비타민 B2 ----- 0.15 mg
- [0127] 비타민 B6 ----- 0.5 mg
- [0128] 비타민 B12 ----- 0.2 μg
- [0129] 비타민 C ----- 10 mg
- [0130] 비오틴 ----- 10 μg
- [0131] 니코틴산아미드 ----- 1.7 mg
- [0132] 엽산 ----- 50 μg
- [0133] 판토텐산 칼슘 ----- 0.5 mg
- [0134] 무기질 혼합물 ----- 적량
- [0135] 황산제1철 ----- 1.75 mg
- [0136] 산화아연 ----- 0.82 mg
- [0137] 탄산마그네슘 ----- 25.3 mg
- [0138] 제1인산칼륨 ----- 15 mg
- [0139] 제2인산칼슘 ----- 55 mg
- [0140] 구연산칼륨 ----- 90 mg
- [0141] 탄산칼슘 ----- 100 mg
- [0142] 염화마그네슘 ----- 24.8 mg

[0143] 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.

[0144] **제제예 7. 건강 음료의 제조**

[0145] HPW ----- 1000 mg

[0146] 구연산 ----- 1000 mg

[0147] 올리고당 ----- 100 g

[0148] 비타민나무농축액 ----- 2 g

[0149] 타우린 ----- 1 g

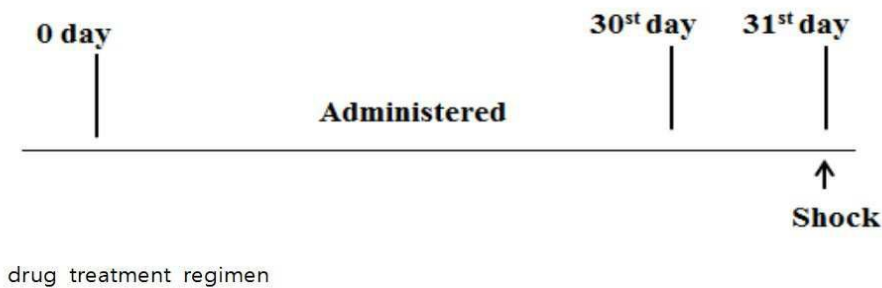
[0150] 정제수를 가하여 ----- 전체 900 ml

[0151] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

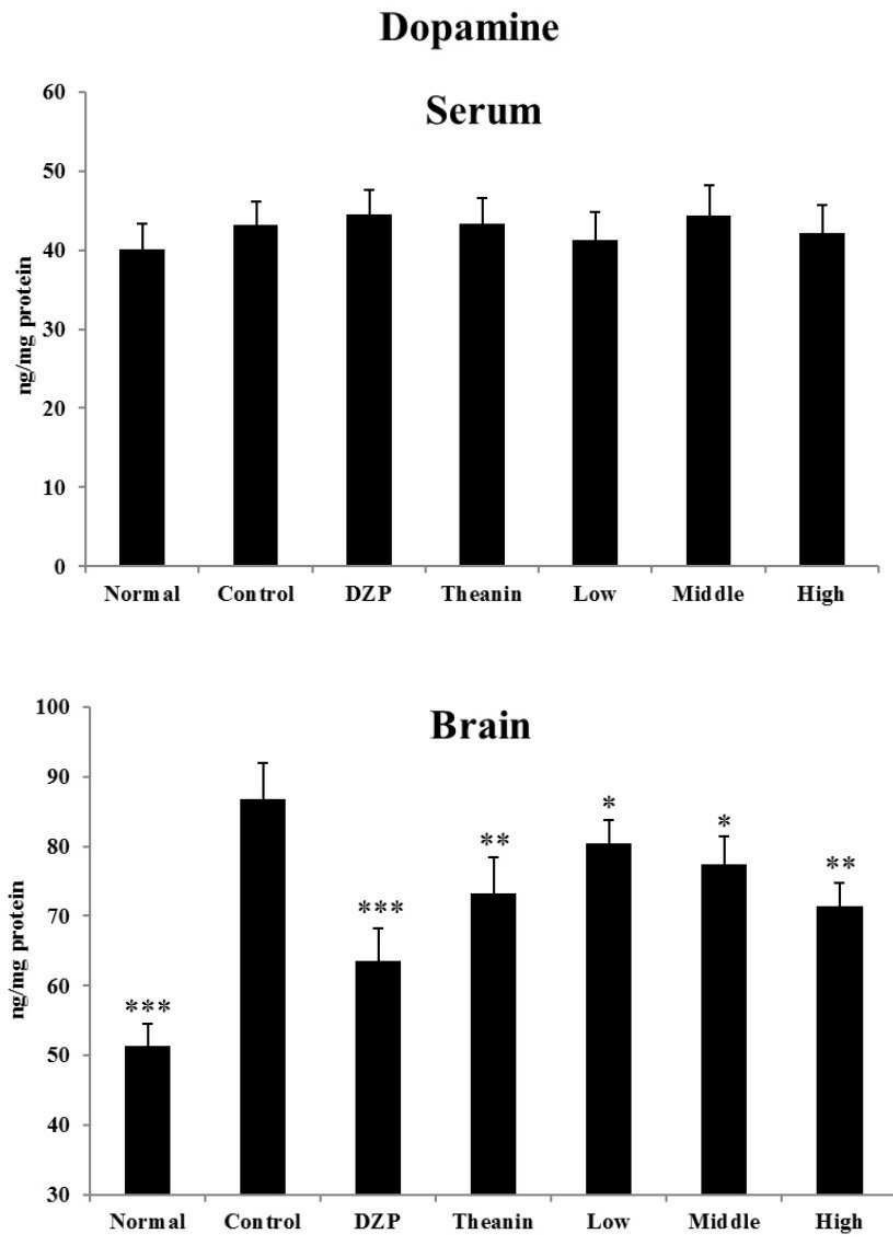
[0152] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

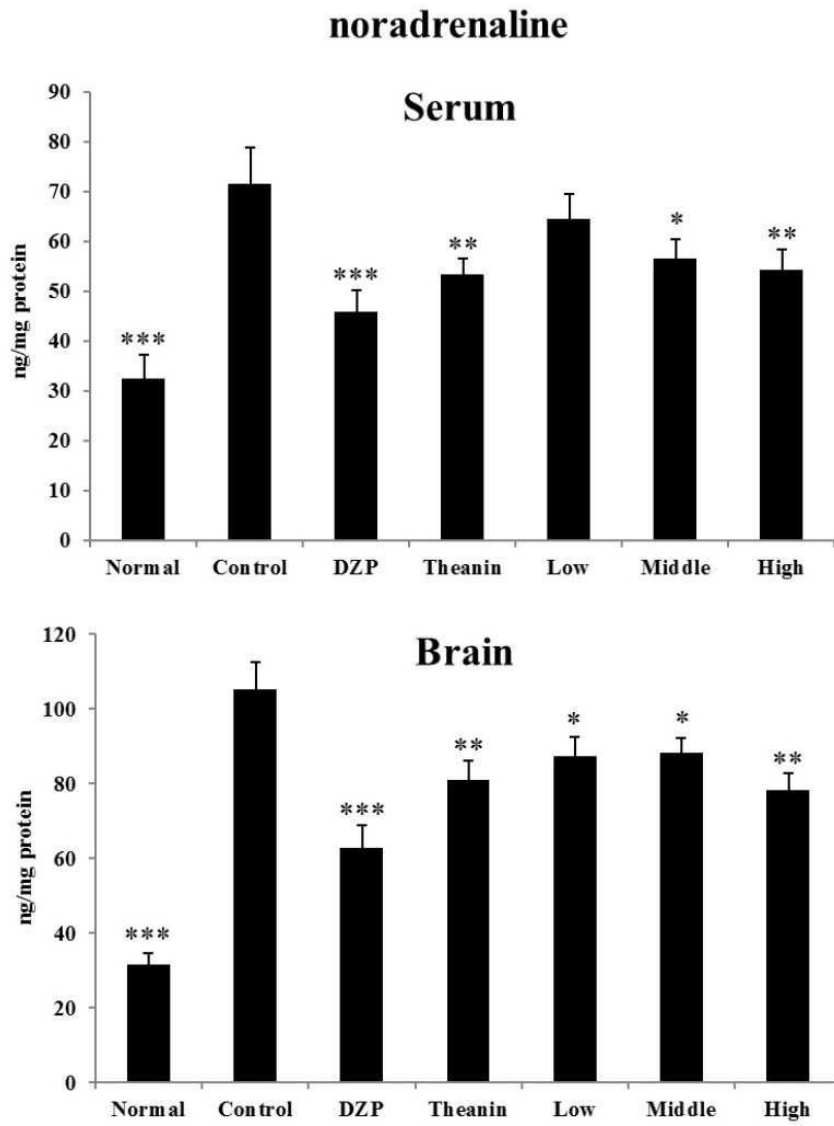
도면1



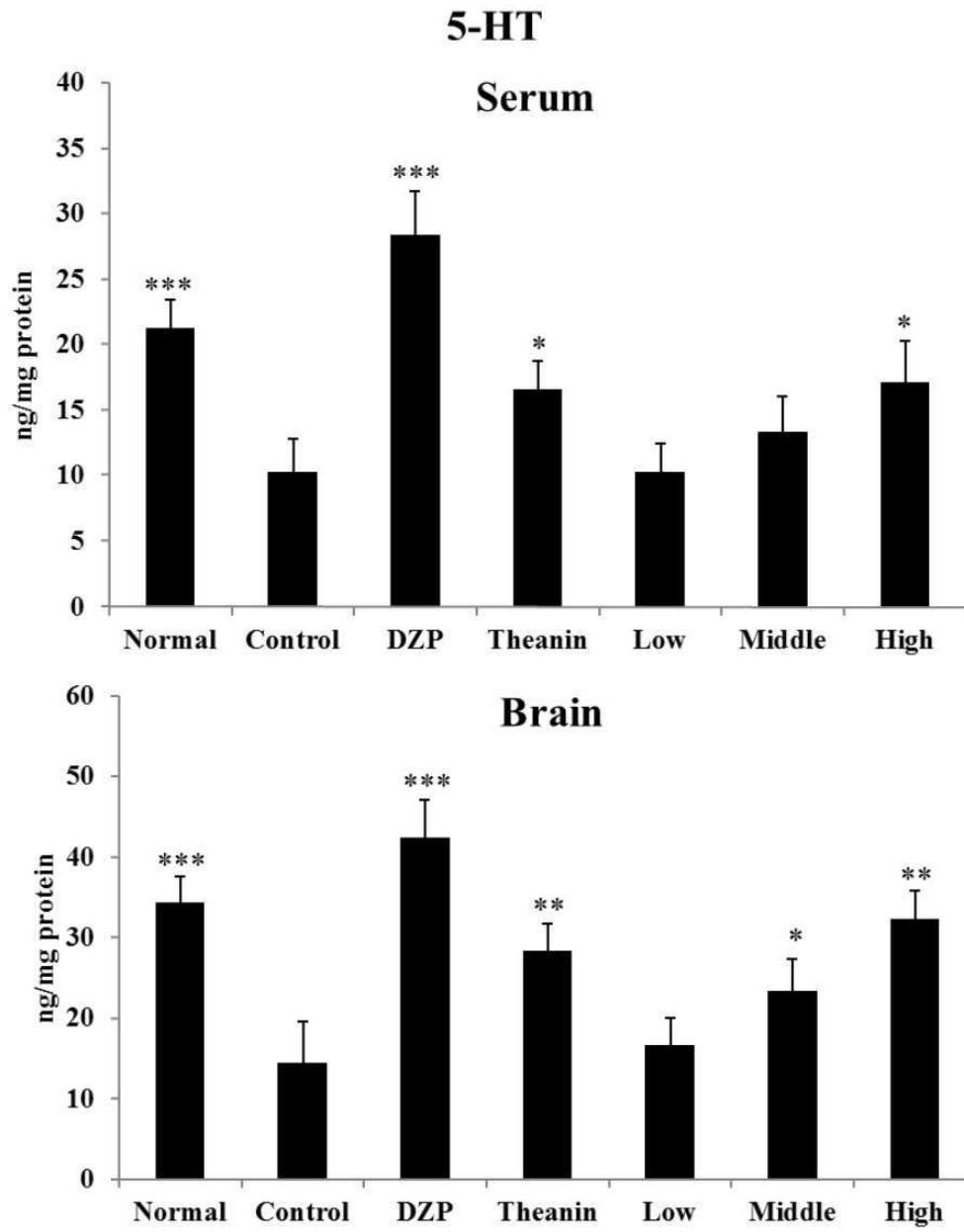
도면2



도면3



도면4



도면5

