



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년07월20일

(11) 등록번호 10-2422965

(24) 등록일자 2022년07월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/185 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/20 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/185 (2013.01)

A61P 25/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2022-0049279

(22) 출원일자 2022년04월21일

심사청구일자 2022년04월21일

(56) 선행기술조사문헌

2013, Sleep Science, 6(1), 9-15

KR101898250 B1

US20030013639 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

재단법인 전남바이오산업진흥원

전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)

(72) 발명자

배동혁

광주광역시 남구 제중로 11, 108동 1206호 (양림동, 양림1단지휴먼시아)

오둘리

전라남도 화순군 화순읍 광덕로 202 부영5차아파트 503동 203호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최석진

전체 청구항 수 : 총 3 항

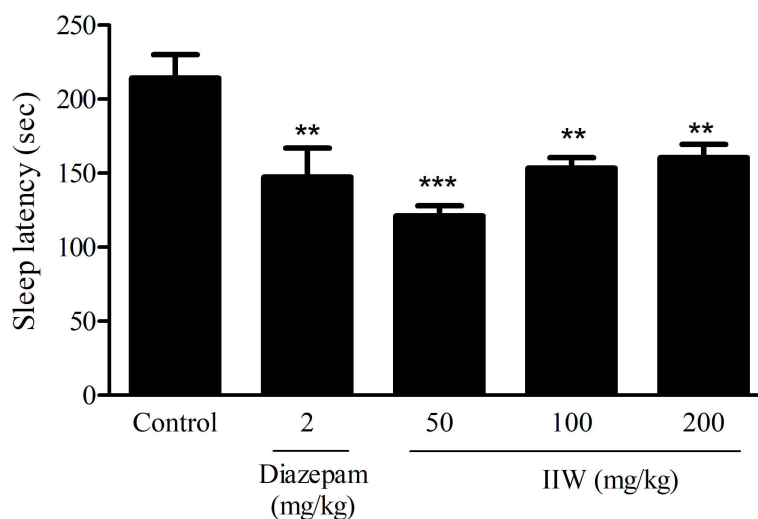
심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 잎 추출물을 포함하는 수면장애 예방 또는 개선용 조성물

(57) 요약

감탕나무(*Ilex integra* Thunb.)를 이용하여 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있는 수면장애 예방 또는 개선용 조성물을 제공함으로써 숙면장애, 수면유지장애, 중도각성, 조기각성, 불면증, 일주기 리듬 수면장애, 사건수면 등의 수면장애 예방용 제품 생산이 가능한 효과가 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61P 25/20 (2018.01)

(72) 발명자

김유진

전남 장흥군 장흥읍 건산남부길 31, 102동 403호

최은진

전라남도 담양군 무정면 내당길 31-2

김문중

광주광역시 광산구 월계로 109 211-504

오교녀

광주 서구 월드컵4강로 28번길 50-18, 101동 406호

김영욱

전라남도 장흥군 장흥읍 동교3길 53

고해주

전남 해남군 해남읍 영빈로78-18 정하에코하임 10
5동1601호

홍지애

광주광역시 동구 계림로 30번길 15, 푸른길 두산위
브 203동 402호

이학성

대전광역시 유성구 엑스포로 448(전민동, 엑스포아
파트) 106-1205

오득실

광주광역시 남구 용정길 49(주월동, 신영루체빌 아
파트) 101-1003

박중석

전라남도 나주시 그린로 276(빛가람동, 빛가람엘에
이치4단지아파트) 408-302

조지웅

전라남도 나주시 강변2길 20(STX칸 중우하나린아파
트) 106-2403

명세서

청구범위

청구항 1

감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 잎 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 수면지속시간 개선용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 잎 열수 추출물은 숙면장애, 수면유지장애, 중도각성, 조기각성, 불면증, 일주기 리듬 수면장애, 사건수면으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 개선하는 것을 특징으로 하는 수면지속시간 개선용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 경피제, 좌제 또는 멸균 주사용 액 중에서 선택되는 어느 하나로 제형화 된 것을 특징으로 하는 수면지속시간 개선용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 부작용이 문제될 가능성이 낮은 천연물 소재를 이용한 수면장애 예방 또는 개선용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 잎 추출물을 포함하는 수면장애 예방 또는 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 일반적으로 성인의 약 30%가 어느 정도 수면장애를 가지고 있으며 10%는 만성 불면증 증상을 호소한다. 이러한 수면장애는 짧은 기대수명과 관련이 있을 뿐 아니라 신체질병과 정신질병에도 부정적인 영향을 가진다.

[0003] 현대인들은 수면장애를 개선하기 위해서 의료기관을 찾기도 하고 베개나 침대와 같은 수면개선 기구를 이용하기도 하지만 이러한 방법은 시간과 노력이 필요하다. 이런 점에서 수면장애를 개선하는데 운동은 저비용이고, 접근하기 쉬우며 약물을 사용하지 않는 치료법이라 할 수 있다.

[0004] 수면에 영향을 주는 생체 내 물질 중 대표적인 물질이 송과세포에서 배출되는 멜라토닌이다. 멜라토닌은 연구된 모든 종에서 하루 중 밤에 정상적으로 합성되고 분비된다. 멜라토닌의 일차적인 생리적 기능은 신체 생리에 낮과 밤의 일상주기에 대한 정보를 전달하는 것이다. 만약 수면장애를 유발하게 되면 손상된 수면의 질은 낮 동안의 낮잠 증가와 더불어 수면-각성 사이클의 진폭을 감소시킨다. 그리고 멜라토닌 분비의 손상과 연관되어질 수도 있다.

[0005] 수면의 질은 멜라토닌이 존재하지 않는 시기인 생물학적 낮과 멜라토닌이 존재하는 시기인 생물학적 밤으로 구분된다. 이것이 멜라토닌의 존재 혹은 부재 때문인지 혹은 다양한 일주기성 시기 때문인지 결정하기 위해 낮 동안 외인성 멜라토닌을 주입한 효과와 밤 동안 내인성 멜라토닌을 억제한 효과를 조사하면 결과는 외인성 멜라토닌 주입은 낮시간 동안 수면 경향을 증가시키고, 밤 동안 내인성 멜라토닌 억제는 수면을 방해한다는 결론을 내릴 수 있다.

[0006] 따라서 멜라토닌은 수면을 조절하는 기전으로 직접적인 효과를 가진다고 할 수 있다. 그러므로 혈중 멜라토닌 농도는 수면구조에 직접적으로 영향을 미치기 때문에 수면을 평가할 수 있는 중요한 지표가 될 수 있다.

[0007] 멜라토닌은 망막에 도달하는 빛의 양에 분비량이 조절되며, 빛의 양이 늘면 멜라토닌 분비가 줄어들고 어두워지

면 늘어나게 된다. 또한, 멜라토닌은 신체의 내부 합성뿐만 아니라 외부적으로 멜라토닌을 복용하면 인체내부에서 인위적 밤이 만들어지고 수면을 유도하는 효과를 가진다.

[0008] 따라서, 멜라토닌은 수면유도제로 사용되고 있으나, 자연에서 충분한 량을 얻기에는 매우 어려운 문제점을 가지고 있었다. 비교적 쉬운 구조를 가지고 있는 멜라토닌은 쉽게 합성되어, 대부분의 멜라토닌은 인공적으로 합성되어 제조, 판매되고 있으나 아직 안정성이 완전히 검증되지 않은 문제점을 가지고 있었다. 이에 천연물 유래의 멜라토닌 함량을 증가시킬 수 있는 수면장애 예방용 제제의 개발이 계속적으로 요구되고 있다.

[0009] 한편, 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.)는 감탕나무과의 상록 활엽 소교목으로 우리나라 전라남도, 경상남도, 제주도 등지의 바닷가 산기슭에 자생하고 있다. 감탕나무는 껍질을 찢어 물에 담가 두면 아교나 송진처럼 끈끈한 감탕이 된다고 해서 붙여진 이름이다. 예전에는 감탕나무 껍질과 잎을 약재로 사용하였으나 요즘은 짙은 녹색의 잎사귀와 열매가 아름다워서 관상용으로 많이 재배되고 있다. 감탕나무의 효능은 항균작용, 화상치료, 요로감염 치료에 사용되어 왔다고 전해지고 있다.

[0010] 본 발명의 발명자들은 수면장애 예방에 효과적인 천연물에 대하여 연구하던 과정에서, 감탕나무 잎 열수 추출물(IIW)을 투여한 마우스 실험군에서 대조군(Control)과 비교하여 입면시간이 유의적으로 감소하였고 수면 지속시간이 유의적으로 증가되었으며, 운동 활동(locomotor activity)이 감소와 더불어 혈액 내의 멜라토닌 함량을 증가시킴으로써 수면유도 효과가 있음을 확인함으로써 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 추출물이 수면장애 예방 또는 개선에 효과가 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 국내 등록특허번호 제10-1336411호에는 쌀 추출물의 수면 장애, 불안 또는 우울증의 개선, 예방 또는 치료를 위한 신규 용도를 제공한다. 쌀 추출물은 종래 수면유도제로 사용되는 의약인 디아제팜과 거의 동일한 수준 또는 향상된 입면시간의 감소, 수면 지속시간의 증가 및 논렘 수면의 증가 효과가 있는 쌀 추출물의 수면 장애, 불안 또는 우울증의 개선, 예방 또는 치료를 위한 신규 용도에 관하여 개시하고 있다.

(특허문헌 0002) 국내 공개특허번호 제10-2021-0031662호에는 옥축서에 추출물은 종래 수면유도제로 사용되는 의약인 케타민 또는 펜토바비탈과 동등 수준 이상의 향상된 입면시간의 감소, 수면 지속시간의 증가 효과가 있다. 옥축서에 추출물은 천연물로서 장기간 사용하여도 세포독성, 내성 또는 의존성과 같은 부작용이 없는 옥축서에 추출물의 수면장애 예방 또는 치료를 위한 신규 용도에 관하여 개시하고 있다.

(특허문헌 0003) 국내 공개특허번호 제10-2019-0102846호에는 창이자 추출물은 종래 수면유도제로 사용되는 의약인 케타민과 거의 동일한 수준 또는 향상된 입면시간의 감소, 수면지속 시간의 증가 효과가 있다. 창이자 추출물은 천연물로서 장기간 사용하여도 세포독성, 내성 또는 의존성이 형성되는 부작용이 없는 창이자 추출물의 수면장애 예방 또는 치료를 위한 신규 용도에 관하여 개시하고 있다.

(특허문헌 0004) 국내 등록특허번호 제10-2262763호에는 강황 추출물, 및 칡 추출물 또는 쌀겨 추출물을 유효성분으로 함유하는 수면 장애의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관하여 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 우리나라의 천연 식물자원을 활용할 목적으로 천연원료인 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.)를 이용하여 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있는 수면장애 예방 또는 개선용 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 잎 열수 추출물을 포함하는 수면장애 예방 또는 개선용 약학 조성물 또는 건강기능식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 감탕나무 잎 추출물은 물, 에탄올, 메탄올 이들의 혼합물로 추출된 것 중에서 선택되는 1종 이상을 추출 용매로 가용한 추출물인 것일 수 있다.

[0014] 본 발명의 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 잎 열수 추출물은 숙면장애, 수면유지장애, 중도각성, 조기각성, 불

면증, 일주기 리듬 수면장애, 사건수면으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 수면장애를 예방 또는 개선하는 수면장애 예방 또는 개선용 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.) 잎 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 경피제, 좌제 또는 멸균 주사용 액 중에서 선택되는 어느 하나로 제형화된 것으로 제조될 수 있다.

발명의 효과

[0016] 감탕나무 잎 열수 추출물 (IIW)을 투여한 마우스 실험군에서 대조군(Control)과 비교하여 입면시간이 유의적으로 감소하였고 수면 지속시간이 유의적으로 증가되었으며, 운동 활동 (locomotor activity)이 감소와 더불어 혈액 내의 멜라토닌 함량을 증가시킴으로써 수면유도 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 사용된 감탕나무 잎 및 추출물을 나타낸다.
 도 2은 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 물 추출물을 투여 시 입면시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
 도 3은 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 물 추출물을 투여 시 수면 지속시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
 도 4은 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 물 추출물을 투여 시 운동 활동을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
 도 5은 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 물 추출물을 투여 시 혈청 멜라토닌 함량 변화를 나타낸 그래프이다.
 도 6은 본원발명의 감탕나무 잎 추출물을 약학적 제형물 또는 건강기능성 식품 제형물로 제조한 예를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 1. 감탕나무 잎 열수 추출물 및 분획물의 제조

[0019] 감탕나무 잎 100 g을 증류수 2 L를 가하고, 환류추출기를 이용하여 100℃에서 3시간 동안 가열하여 추출하였다. 상기 추출된 열수 추출물을 감압 농축 및 동결 건조하여 16.3 g을 얻었다. 도 1은 본 발명의 사용된 감탕나무 잎의 동결건조 파우더를 나타낸다.

[0020] 2. 감탕나무 잎 추출물의 극성용매, 비극성용매 가용 분획물의 제조

[0021] 감탕나무 잎 열수 추출물을 유기 용매를 이용하여 분획물을 제조하였다. 감탕나무 잎의 극성용매, 비극성용매 가용 분획물의 제조는 감탕나무 잎 열수 추출물 40g을 증류수 1L에 완전히 용해시킨 후 분획 여두 깔대기에 넣고 헥산(Hexane) 1L를 첨가하여 water층과 hexane 층을 분리하였고 이와 같은 공정을 3번 반복하였다.

[0022] 동일한 과정을 통해 클로로포름 (chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 부탄올(butanol)을 순차적으로 가하여 각 분획물을 얻었고, 얻어진 각각의 분획물을 감압여과 장치로 여과하여 농축한 후 동결건조하여 용매를 완전히 제거한 뒤 본 실험에 사용하였다.

[0023] 2.1. 헥산 가용성 분획 분리

[0024] 감탕나무 잎 열수 추출물 40g을 1L의 증류수에 완전히 용해시킨 후에 분획 여두 깔대기에 넣고 헥산 1L를 첨가하여 헥산 불용성층(수층)과 헥산가용성층을 분리하였다. 다시 헥산 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 헥산 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0025] 2.2. 클로로포름 가용성 분획분리

[0026] 헥산불용성 분획(수층)에 클로로포름 5L를 가하여 섞은 후에 클로로포름가용성 분획 및 불용성 분획을 분리하였고, 클로로포름 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 클로로포름 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0027] 2.3. 에틸아세테이트 가용성 분획분리

[0028] 클로로포름 불용성 분획(수층)에 에틸아세테이트 5L를 가하여 섞은 후에 에틸아세테이트 가용성 분획 및 불용성 분획을 분리하였고, 에틸아세테이트 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 에틸아세테이트 불

용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

2.4. 부탄올 가용성 분획분리

에틸아세테이트 불용성 분획(수층)에 부탄올 5L를 가하여 섞은 후에 부탄올 가용성 분획 및 불용성 분획을 분리하였고, 부탄올 불용성층을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 부탄올 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

3. 실험동물 및 사육

감탕나무 잎 추출물의 수면장애 예방 또는 개선 평가를 위하여 실험동물로서 생후 5주령 된 수컷 ICR 마우스를 (주)샘타코 (SAMTACO, Korea)부터 구입하여 동물 사육실에서 일정한 조건 (온도: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도: $50 \pm 5\%$, 명암: 12 시간 light/dark cycle)으로 일주일간 적응시킨 후, 사용하였다.

4. ICR 마우스에서 감탕나무 잎 열수 추출물의 입면시간 및 수면 지속시간에 미치는 효과 확인

감탕나무 잎 열수 추출물은 50, 100, 200 mg/kg으로 7일 동안 경구 투여하였으며, 대조군 (control)은 동일 부피의 saline을 투여하였고, 양성대조군으로는 디아제팜(diazepam, Dia)을 2mg/kg b.w.으로 1회 투여하였다. 7일째에 감탕나무 잎 물 추출물을 경구투여 45분 후에 pentobaribital 45mg/kg을 복강주사한 다음 입면시간 및 수면 지속시간을 측정하였다.

입면시간은 상기 pentobaribital 투여 후 정향반사(Righting reflex)를 1분 이상 소실될 때까지의 시간을 말하며, 수면 지속시간은 정향반사가 소실될 때부터 정향반사가 회복될 때까지의 시간을 측정한 것이다.

도 2는 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 열수 추출물을 투여 시 입면시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다. 도 2에 나타난 바와 같이, 감탕나무 잎 열수 추출물 (IIW)을 50, 100, 200mg/kg b.w.로 투여한 실험군이 대조군(Control)과 비교하여 입면시간이 유의적으로 감소된 것을 확인하였다.

도 3은 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 열수 추출물을 투여 시 수면 지속시간을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다. 도 3에 나타난 바와 같이, 감탕나무 잎 열수 추출물(IIW)을 50, 100, 200mg/kg b.w.로 투여한 실험군이 대조군(Control)과 비교하여 수면 지속시간이 유의적으로 증가되는 것을 확인하였다.

5. ICR 마우스에서 감탕나무 잎 열수 추출물의 Open field test 방법을 통한 운동활성(locomotor activity)에 미치는 효과 확인

Open field test (OFT) 는 실험동물의 활동성을 측정하는 평가법으로 OFT 박스는 바닥면에 25분획되어 있는 직경 60 cm x 높이 20 cm 의 네모난 상자에 실험동물을 한 마리씩 넣어서 5분간 자발적으로 이동한 칸의 횟수를 측정하여 각 군마다 평균값을 이용하여 활동성을 비교하였다.

도 4은 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 열수 추출물을 투여 시 운동 활동을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다. 감탕나무 잎 열수 추출물 (IIW) 50, 100, 200mg/kg b.w.에서 대조군 (control)에 비해 운동 활동 (locomotor activity)이 감소됨을 확인할 수 있었다.

6. ICR 마우스에서 감탕나무 잎 열수 추출물의 멜라토닌 (Melatonin) 함량에 미치는 효과 확인

감탕나무 잎 물 추출물을 투여 후 7일째 날에, 마우스로부터 혈청 (serum)를 분리하여 멜라토닌 생성량에 미치는 효과를 확인하였다. 멜라토닌 함량은 LSBio ELISA kit를 사용하여 제조사의 지시에 따라 측정하였다.

도 5은 마우스를 이용하여 감탕나무 잎 열수 추출물을 투여 시 혈청 멜라토닌 함량 변화를 나타낸 그래프이다. 도 5에 나타난 바와 같이, 감탕나무 잎 열수 추출물(IIW)를 50, 100, 200 mg/kg b.w.으로 투여한 결과, 대조군 (Control)과 비교하여 혈액 내의 멜라토닌 함량을 증가시켰으므로 수면유도 효과가 있음을 확인하였다.

7. 감탕나무 잎 추출물을 이용한 약학적 제형물 또는 건강기능성 식품제형물 제조

감탕나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 수면장애 예방 또는 개선용 조성물은 정제 및 캡슐제, 연질 캡슐제, 과립제, 액제 형태로 제조될 수 있다. 도 6은 감탕나무 잎 추출물을 이용한 약학적 제형물 또는 건강기능성 식품 제형물로 제조된 본원발명의 열수추출물 액상 및 캡슐제형을 나타낸다.

본원발명의 실시 형태에 따르면, 상기 조성물이 0.01 내지 99.9중량 %로 포함되도록 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 또는 멸균 주사용 액으로 제형화하여 제조할 수 있다.

산업상 이용가능성

[0047]

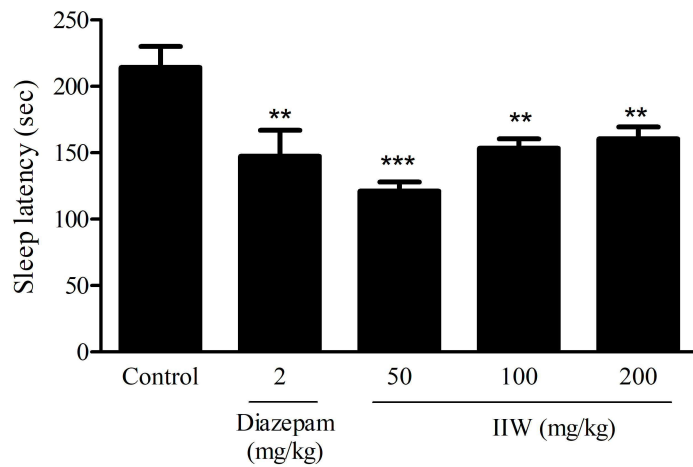
본 발명은 감탕나무(*Ilex integra* Thunb.)를 이용하여 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있는 수면장애 예방 또는 개선용 조성물을 제공함으로써 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있는 수면장애 예방용 제품 생산이 가능하여 산업상 이용가능성이 있다.

도면

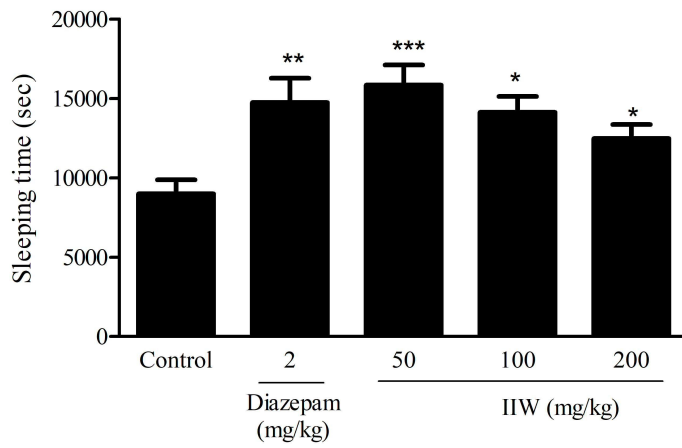
도면1



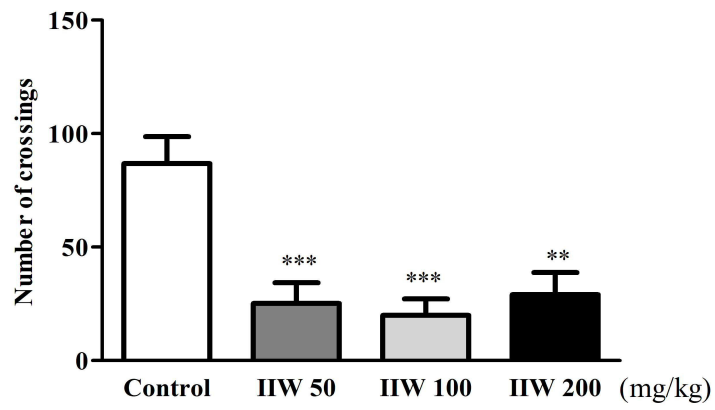
도면2



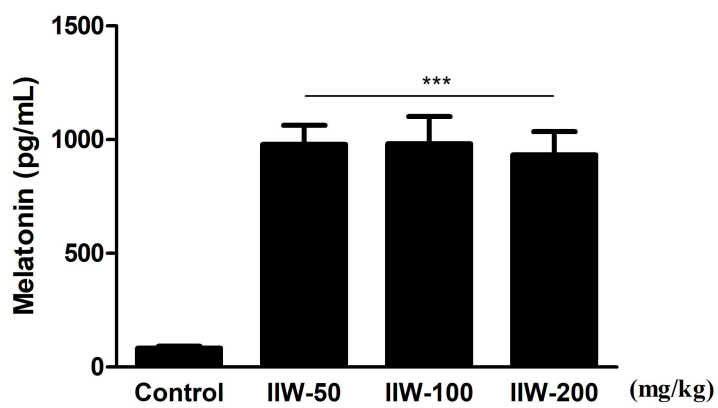
도면3



도면4



도면5



도면6

