



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년10월31일
(11) 등록번호 10-1324076
(24) 등록일자 2013년10월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/688 (2006.01) A61K 35/20 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7006698
(22) 출원일자(국제) 2006년09월22일
심사청구일자 2011년07월13일
(85) 번역문제출일자 2008년03월19일
(65) 공개번호 10-2008-0045718
(43) 공개일자 2008년05월23일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2006/318888
(87) 국제공개번호 WO 2007/034927
국제공개일자 2007년03월29일
(30) 우선권주장
JP-P-2005-00276632 2005년09월22일 일본(JP)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
JP2001128642 A*
JP2005187341 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
유키지루시 메그밀크 가부시키키가이샤
일본 홋카이도 삿포로시 히가시쿠 나에보쵸 6-1-1
(72) 발명자
가토, 켄
일본 3501165 사이타마켄 가와고에시 미나미다이
1-1-2유키지루시 뉴교 가부시키키가이샤 내
미우라, 스스무
일본 3501165 사이타마켄 가와고에시 미나미다이
1-1-2유키지루시 뉴교 가부시키키가이샤 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
송봉식, 정삼영

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 김용원

(54) 발명의 명칭 스펡고미엘린 함유 의약, 음식품 또는 사료

(57) 요약

스펙고미엘린의 신규한 의약 용도를 발견하여, 다양한 질환의 예방제 또는 치료제 및 이들 제를 배합한 음식품 및 음료를 제공하는 것을 과제로 한다. 스펡고미엘린을 유효 성분으로 함유하고, 하기 중 어느 하나의 제인 것을 특징으로 하는 의약: 1)시알로뮤신의 분비 촉진제, 2)숙취 예방제, 3)항알러지제, 4)항산화제, 5)감염 방어제, 6)양모제, 7)탈수초성 질환 치료제, 8)항색소침착제, 9)항염증제 또는 10)학습능 향상제. 상기 제를 배합한 것을 특징으로 하는 음식품 또는 음료. 스펡고미엘린이 젓 유래인 것이 바람직하다.

(72) 발명자

다나카, 레오

일본 3501165 사이타마켄 가와고에시 미나미다이
1-1-2유키지루시 뉴교 가부시키키가이샤 내

우에노, 히로시

일본 3501165 사이타마켄 가와고에시 미나미다이
1-1-2유키지루시 뉴교 가부시키키가이샤 내

우에다, 노리코

일본 3501165 사이타마켄 가와고에시 미나미다이
1-1-2유키지루시 뉴교 가부시키키가이샤 내

하루타, 유코

일본 3501165 사이타마켄 가와고에시 미나미다이
1-1-2유키지루시 뉴교 가부시키키가이샤 내

요시오카, 도시미츠

일본 3501165 사이타마켄 가와고에시 미나미다이
1-1-2유키지루시 뉴교 가부시키키가이샤 내

(30) 우선권주장

JP-P-2006-00068501 2006년03월14일 일본(JP)

JP-P-2006-00256536 2006년09월21일 일본(JP)

특허청구의 범위

청구항 1

스핑고미엘린을 유효 성분으로 함유하는 숙취 예방용 의약.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 스팅고미엘린이 젯 유래인 것을 특징으로 하는 의약.

청구항 3

스핑고미엘린을 유효 성분으로 배합한 것을 특징으로 하는 숙취 예방용 기능성 식품품.

청구항 4

스핑고미엘린을 유효 성분으로 배합한 것을 특징으로 하는 숙취 예방용 기능성 사료.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 스팅고미엘린을 함유하며 신규한 용도를 갖는 의약에 관한 것이다. 더욱 상세하게 설명하면, 본 발명은 스팅고미엘린을 함유하고, 시알로뮤신의 분비 촉진제, 숙취 예방제, 항알러지제, 항산화제, 감염 방어제, 양모제, 탈수초성 질환 치료제, 항색소침착제, 항염증제 또는 학습능 향상제인 의약 및 이들 제를 배합한 식품 또는 사료에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 스팅고미엘린은 인지질의 일종으로서 젯 중에 많이 존재해 있고, 소젯 중에 있어서는 인지질의 약 30%를 차지하고 있다. 스팅고미엘린은 스팅고신과 지방산으로 이루어지는 세라미드 골격에 포스포콜린이 결합된 구조를 가지고 있으며, 뇌나 신경 조직에도 존재하는 것이 알려져 있다. 또한 난황 등의 식품 중에도 약간 포함되는 것이 보고된 바 있다.

[0003] 스팅고미엘린은, 생체 내에서 정보 전달계를 통하여 세포의 증식이나 분화에 영향을 미치고 있음이 알려져 있다. 또한 스팅고미엘린에는 노화에 의한 프로테인키나아제 C 활성의 저하를 억제하는 효과가 있으며, 알츠하이머형 기억 장애의 예방이나 치료에 유효한 것도 시사된 바 있는데(특허 문헌 1), 일반적인 의미에서의 학습능을 향상시키는 효과에 대하여는 전혀 알려져 있지 않다. 더욱이, 노화에 따른 지질의 소화 흡수 기능 개선 작용을 갖는 것이 알려져 있는데(특허 문헌 2), 그 이외의 작용에 대하여는 별로 알려져 있지 않다. 따라서 스팅고미엘린을 유효 성분으로 하는 의약, 식품품이나 사료의 개발이 기대되고 있다.

[0004] 특허 문헌 1: 일본 특허 공개 2003-146883호 공보

[0005] 특허 문헌 2: 일본 특허 공개 평 11-269074호 공보

발명의 상세한 설명

[0006] (발명이 해결하고자 하는 과제)

[0007] 본 발명은 스팅고미엘린의 신규한 의약 용도를 발견하여 다양한 질환의 예방제 또는 치료제로서 유효한 의약 및 이들 제를 배합한 식품품 및 사료를 제공하는 것을 과제로 한다.

[0008] (과제를 해결하기 위한 수단)

[0009] 본 발명자들은 과제를 해결하기 위하여, 스팅고미엘린이 갖는 약리적 효과에 대하여 여러가지로 살펴보았더니, 스팅고미엘린이 새로운 용도로서 시알로뮤신의 분비 촉진 효과, 숙취 예방 효과, 항알러지 효과, 항산화 효과, 감염 방어 효과, 양모 효과, 탈수초성 질환 치료 효과, 항색소침착 효과, 항염증 효과 또는 학습능 향상 효과를 가짐을 발견하고 본 발명을 완성시켰다.

[0010] 즉, 본 발명은 스팅고미엘린을 유효 성분으로 함유하고, 하기 중 어느 하나의 제인 의약: 1)시알로뮤신의 분비

촉진제, 2)숙취 예방제, 3)항알러지제, 4)항산화제, 5)감염 방어제, 6)양모제, 7)탈수초성 질환 치료제, 8)항색소침착제, 9)항염증제 또는 10)학습능 향상제이다.

[0011] 본 발명은 또한 스펡고미엘린이 젓 유래인 것을 특징으로 하는 상기 의약이다.

[0012] 본 발명은 또한 상기 제를 배합한 것을 특징으로 하는 음식품 또는 사료이다.

[0013] (발명의 효과)

[0014] 본 발명에 따르면, 스펡고미엘린을, 1)시알로뮤신의 분비 촉진제, 2)숙취 예방제, 3)항알러지제, 4)항산화제, 5)감염 방어제, 6)양모제, 7)탈수초성 질환 치료제, 8)항색소침착제, 9)항염증제 또는 10)학습능 향상제로 사용할 수 있다.

실시예

[0024] 이하, 실시예 및 시험예를 개시하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 실시예 및 시험예에 있어서 "%"는 특별히 지정하지 않는 한 "중량%"를 의미하는 것으로 한다.

[0025] (실시예 1)

[0026] 유청 단백질 농축물(WPC)의 10% 수용액에 프로테아제를 작용시켜 얻어진 반응액을 클로로포름-메탄올(2:1) 용액으로 추출한 후, 농축하고, 또한 아세톤 추출하여 복합 지질 획분을 얻었다. 다음 이 복합 지질 획분을 플로리실 칼럼 크로마토그래피로, 클로로포름-메탄올 용액으로 단계 추출하여 인지질 획분을 얻었다. 이 인지질 획분을 실리카겔 크로마토그래피로, 클로로포름-메탄올 용액으로 단계 추출하여 얻어진 획분을 동결 건조하여 스펡고미엘린 원료를 얻었다. 이 스펡고미엘린 원료에 대하여 박층 크로마토그래피로 처리한 후, 디트머 시약으로 발색하고, 덴시토메트리법으로 스펡고미엘린 함량을 측정하였더니 95.2%이었다. 이 스펡고미엘린 원료는 그대로 본 발명의 제로서 이용 가능하다.

[0027] (시험예 1)

[0028] 스펡고미엘린의 시알로뮤신 분비 촉진 작용을 일본 특허 공개 2001-206848호 공보의 "시험예 1"의 방법을 이용하여 시험을 행하였다.

[0029] 즉, 대조군(Control)에는 AIN-93G의 표준식을, 스펡고미엘린 투여군(SPM)에는 상기 표준식의 자당의 일부를 본 명세서의 실시예 1에 기재된 스펡고미엘린 원료로 1% 치환한 사료를, 또한 시알릴락토오스 투여군(SL)에는 표준식의 자당의 일부를 시알릴락토오스로 1% 치환한 사료를 각각 투여하였다.

[0030] 7주령의 SD계 수컷 래트(일본 찰스 리버사 제조)를 습도 60%, 실온 24℃, light-dark 컨트럴 12시간의 조건 하에서 사육하였다. 모든 래트는 표준식으로 1주일 예비 사육한 후, 1군 12마리로 이루어지는 3군으로 나누고, 각각의 실험식을 자유롭게 섭취시켜 1주일 사육하였다. 래트의 타액은 실험식 투여후 7일째에 채취하였고, 타액 중의 시알로뮤신 함량을 고속 액체 크로마토그래피로 측정하였다. 각 실험군의 타액 중의 시알로뮤신 함량의 측정 결과를 표 1에 나타내었다. 표 1에 나타낸 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펡고미엘린 투여군은 대조군과 비교하여 시알로뮤신 함량이 현저하게 증가하였으며, 시알릴락토오스 투여군과 비교하여도 증가해 있었다.

표 1

| 투여군 | 시알로뮤신 함량 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) |
|---------|--|
| Control | 21.3±3.5 |
| S P M | 25.2±2.9 |
| S L | 24.9±3.1 |

[0031]

[0032] (시험예 2)

[0033] 스펡고미엘린의 시알로뮤신 분비 촉진 작용을 일본 특허 공개 2001-206848호 공보의 "시험예 2"의 콜레라톡신 결합 저지 활성을 시험하는 방법을 이용하여 시험을 행하였다.

[0034] 본 명세서의 시험예 1의 각 실험군의 타액을 이용하여 콜레라톡신의 결합 저지 활성을 살펴보았다. 0.1% 강글리오시드 GM1 함유 에탄올 용액(w/v) 200 μl 를 96 구멍 ELISA 시험용 플레이트에 첨가한 후, 풍건하여 강글리오시드 GM1을 흡착시켰다. 각 실험군의 타액은 1% 소 혈청 알부민(BSA) 함유 PBS로 10배로 희석한 후, 비오틴 결

합 콜레라독신을 첨가하여 1시간 반응시켰다. 반응액 100 μl를 상기한 ELISA 시험용 플레이트에 첨가하여 30분간 방치후, 상청을 제거하였다. ELISA 시험용 플레이트를 0.05% Tween20을 포함하는 PBS로 수회 세정하고, 비오틴 결합성의 β갈락토시다아제를 첨가하여 일정 시간 방치후, 상청을 제거하였다. 또한 ELISA 시험용 플레이트를 0.05% Tween20을 포함하는 PBS로 수회 세정하고, 4-메틸움벨리페틸갈락토오스를 첨가하여 30분간 반응시킨 후, 생성된 4-메틸움벨리페틸론을 형광 광도계(여기 파장 360nm, 측정 파장 460nm)로 측정하였다. 그리고, 다음 식으로부터 저지율을 산출하였다.

[0035] 저지율(%)={1-(A/B)}×100

[0036] A: 스펅고미엘린 투여군(SPM) 및 시알릴락토오스 투여군(SL)의 형광 강도

[0037] B: 대조군(Control)의 형광 강도

[0038] 결과를 표 2에 나타내었다. 표 2의 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펅고미엘린 투여군의 콜레라독신의 결합 저지 활성은 대조군과 비교하여 매우 높은 것을 알 수 있었다. 더욱이, 스펅고미엘린 투여군의 콜레라독신의 결합 저지 활성은 시알릴락토오스 투여군과 비교하여도 높은 것을 알 수 있었다. 따라서, 스펅고미엘린을 경구 섭취함으로써 타액 중의 시알로뮤신 함량이 증가하고, 그 결과로서 독소 중화능도 증강됨을 알 수 있었다.

표 2

| 투여군 | 저지율 (%) |
|---------|----------|
| Control | 31.4±3.0 |
| S P M | 38.9±3.8 |
| S L | 37.9±2.9 |

[0039]

[0040] 또한, 타액 중의 시알로뮤신 함량의 측정법은 다음과 같이 하였다.

[0041] (1)타액의 채취

[0042] 2시간 이상 절식시킨 래트에 0.2ml의 뱀부탈액을 근육 주사하고, 마취후, 타액 분비 촉진제인 염산 필로카핀(Pilocarpine) 용액을 근육 주사하였다. 3분후부터 래트 혀 아래에 분비된 타액을 오토 피펫에 의해 마이크로 튜브에 채취하고, 이 조작을 정확히 9분간 행하였다. 타액 채취 종료후, 타액 분비 억제제인 0.1% 황산 아트로핀을 0.1ml 주사하고 타액 채취를 종료시켰다.

[0043] (2)시알로뮤신 획분의 회수

[0044] 채취한 타액을 신속하게 0℃ 이하로 냉장한 후, 4℃로 냉각한 원심 분리기로 처리(11,000rpm, 60분간)하여 상청을 얻었다. 상청을 분자량 분획 100,000의 마이크로 투석 튜브에 의해 생리적 식염수로 3일간 투석하고, 내용액을 타액 중의 시알로뮤신 획분으로서 회수하였다.

[0045] (3)시알로뮤신 함량의 정량

[0046] 시알로뮤신 획분에 포함되는 시알로뮤신 함량은 시알산 형광 표지 키트(Takara사 제조)로 정량하였다. 시알로뮤신 획분의 일정량을 시험관에 채취하고, 회전식 증발기로 감압 건조한 후, 2N-아세트산을 가하여 80℃, 3시간 가수분해하였다. 유리된 N-아세틸시알산이나 O-아세틸화시알산에 대해서는 형광 라벨화체인 DMB 시약을 가하고, 55℃에서 2.5시간 반응시킨 후, 고속 액체 크로마토그래피로 정량하였다.

[0047] (시험예 3)

[0048] 스펅고미엘린의 숙취 예방 효과를 일본 특허 공개 2001-199880호 공보의 "실시예 1"의 방법에 의해 시험을 행하였다.

[0049] Wistar계 수컷 래트를 1주일의 예비 사육후 체중 110~120g으로 사용하였다. 실험전 하룻밤 절식하고, 실험중에는 절식, 절수로 하였다. 래트를 알코올 단독 투여군(대조군), 스펅고미엘린 투여군으로 나누고, 1군 5마리로 행하였다.

[0050] 알코올 단독 투여군(대조군)에는 40(v/v)% 에탄올 수용액 10ml/kg을, 스펅고미엘린 투여군에는 40(v/v)% 에탄올 수용액 10ml/kg과 본 명세서의 실시예 1의 스펅고미엘린 원료 2mg/kg을 경구 투여하였다. 투여후, 숙취 증상이 회복될 때까지 관찰을 행하였다.

- [0051] 그 결과, 알코올 단독 투여군(대조군)은 숙취 증상이 회복될 때까지 5시간 소요되었고, 투여하였을 때의 증상이 복와 상태나 비틀거림 보행, 악력 저하가 보인 데 반해, 스펡고미엘린 투여군은 1시간 이내에 숙취 증상이 회복되었고, 투여하였을 때의 증상이 가벼운 비틀거림 보행 정도이었다. 이로부터, 스펡고미엘린은 음주시의 숙취 증상의 방지 효과가 현저한 것이 확인되었다.
- [0052] (시험예 4: 밀착 결합 형성 시험)
- [0053] 스펡고미엘린의 항알러지 작용을 일본 특허 공개 평 8-109133호 공보의 "시험예 1"의 방법에 의해 시험을 행하였다.
- [0054] 배지 중의 강글리오시드 GM3(시그마사 제조) 또는 본 명세서의 실시예 1의 스펡고미엘린 원료의 농도가 각각 2 µg/ml가 되도록 무혈청 배양지 Cosmedium001(코스모 바이오사 제조)에 강글리오시드 GM3 또는 스펡고미엘린을 각각 첨가하였다. 24구멍 마이크로 타이터 플레이트에 Millicell-CM(밀리포어사 제조; 공경 0.4 µm; 0.6cm²)을 설치하고, 막 표면을 콜라겐(고젠사 제조)으로 처리한 후, 인간 결장선암 세포주 Caco-2를 배양하고, 10% FCS 첨가 배지(10% FCS) 및 아무 것도 첨가하지 않은 Cosmedium001(무첨가)로 배양한 경우와 하기의 점에 대하여 비교하였다. 즉, 전기 저항 측정기 Millicell-ERS(밀리포어사 제조)를 이용하여 Millicell-CM 내외의 전기 저항(R)값을 배양 1, 4 및 7일째에 측정하였다. 결과를 도 1에 도시하였다. 도 1에 도시된 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펡고미엘린 첨가 배지(SPM)에서는 강글리오시드 GM3 첨가 배지(GM3)나 10% FCS 첨가 배지와 마찬가지로 R값이 상승하였다. 이로부터, 스펡고미엘린 및 GM3 첨가 배지에서는 Caco-2의 밀착 결합이 진행하여 세포간의 틈이 감소한 것으로 생각된다. 이에 대하여 무첨가 배지에서는 R값이 상승하지 않았다. 따라서, 스펡고미엘린에는 장관 점막 세포를 밀착 결합시키는 효과가 있으며, 체내에의 알러지 물질의 진입을 방지함에 따른 항알러지 작용이 있음을 알 수 있었다.
- [0055] (시험예 5: 분비형 IgA 생산 촉진 시험)
- [0056] 스펡고미엘린의 항알러지 작용을 일본 특허 공개 평 8-109133호 공보의 "시험예 2"의 방법에 의해 시험을 행하였다.
- [0057] 무균적으로 채취한 인간 모유 5ml를 150mM NaCl를 포함하는 10mM 인산 완충액(PBS;Phosphate buffered saline, pH 7.2)으로 2배로 희석한 후, 분리액 [33.4% Conray 400(다이이치 세이야쿠사 제조)과 9% Ficoll(파마시아사 제조)을 5:12로 혼합한 용액] 5ml가 들어간 시험관에 중층하였다. 400×G로 30분간 원심 분리한 후, 림프구가 모여 있는 중간층을 파스퇴르 피펫으로 회수하였다. 림프구를 10ml의 PBS에 분산하여 세정한 후, 150×G로 10분간 원심 분리하였다. 이 세정 조작을 3회 반복한 후, 인슐린(10 µg/ml) 및 트랜스페린(5 µg/ml)을 포함하는 RPMI-1640 배지 12ml를 첨가하고, 3ml씩 샤알레 3장(A;B;C)에 분주하였다. 샤알레 A에는 소 태아 혈청(FCS)을 0.3ml 첨가하고, 샤알레 B에는 본 명세서의 실시예 1의 스펡고미엘린 원료를 3 µg 첨가하고, 샤알레 C에는 아무 것도 첨가하지 않았다.
- [0058] 7일후, 배양액 중의 IgA 함량은 샤알레 A에서 3.89 µg/ml, 샤알레 B에서 3.11 µg/ml, 샤알레 C에서 0.1 µg/ml 미만이었다. 샤알레 A와 B에서는 IgA의 생산량이 높았지만, 샤알레 C에서는 IgA가 거의 생산되지 않았다. 이 결과로부터, 스펡고미엘린에는 림프구의 IgA 생산능을 상승시키는 효과가 있으며, 항알러지 작용이 있음을 알 수 있었다.
- [0059] (시험예 6: 알레르겐 침입 저지 효과 시험)
- [0060] 스펡고미엘린의 항알러지 작용을 일본 특허 공개 평 8-109133호 공보의 "시험예 3"의 방법에 의해 시험을 행하였다.
- [0061] 유아기의 Wistar계 래트(14일령, 체중 20g 전후, 8마리, 일본 찰스 리버사)를 대조군과 스펡고미엘린 투여군(SPM 투여군)으로 나누고, 모두 래트 젖에 근사시킨 조성의 인공 젖으로 사육하였다. SPM 투여군에는 14~20일째에 본 명세서의 실시예 1의 스펡고미엘린 원료로 조제한 스펡고미엘린 용액(1mg/ml)을 마이크로 피펫을 사용하여 50 µl씩 매일 경구 투여하였다. 21일째에는 β-Lg액(10mg/ml)을 100 µl 경구 투여하고, 1시간 후와 2주일 후에 혈액을 채취하였다. 한편, β-Lg 용액과 프로인드 완전 애쥬번트를 혼합하여 유회시키고, 3개월령의 토끼(백색 일본종, 수컷, 기타야마 라베스사 제조)의 피하 3곳(양 등측부 및 둔부)에 주사하여 항β-Lg 혈청을 얻었다. 이 항혈청을 1차 항체로 하여, 양고추냉이 퍼옥시다아제(PO)를표지한 2차 항체와의 샌드위치 ELISA법으로 1시간 후의 혈액을 사용하여 혈중의 β-Lg량을 측정하였다. 또한 2주일 후의 혈액 중의 항β-LgIgE는 β-Lg와 PO 표지한 항래트 IgE 항체(노르딕사 제조)를 사용하여 ELISA법으로 측정하였다. 결과를 하기 표 3에 나타내었

다. 표 3에 나타난 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펅고미엘린을 체중 1kg 대하여 0.1mg/일 이상 투여한 군은 대조군과 비교하여 소화관에서의 β-Lg의 점막 투과성의 현저한 저하가 관찰되고 IgE 생산이 억제되는 점에서, 스펅고미엘린에 항알러지 작용이 있음을 알 수 있었다.

표 3

혈중 β-Lg 및 항 β-Lg 항체의 측정 결과

| | β-Lg(ng/ml) | 항 β-Lg IgE(ng/ml) |
|-----------------------|-------------|-------------------|
| 대조군 | 35.7±16.9 | 470.5 ± 98.7 |
| SPM 투여군 (0.05mg/kg/일) | 38.6±14.7 | 498.2 ± 156.8 |
| SPM 투여군 (0.1mg/kg/일) | 13.4± 6.6 | 190.6 ± 77.8 |
| SPM 투여군 (5.0mg/kg/일) | 5.6± 3.8 | 165.4 ± 65.9 |

평균값±표준편차 (n = 2)

[0062]

(시험예 7)

[0063]

[0064] 스펅고미엘린의 항산화 작용에 대하여 일본 특허 공개 평 11-209756호 공보의 "시험예 1"의 방법에 준하여 시험을 행하였다.

[0065] 스펅고미엘린의 항산화 활성에 대하여 오사와들의 방법(J. Agric. Food Chem., vol. 35, pp. 809-812, 1987)에 의해 측정하였다. 즉, 토끼 보존 혈액에 등량의 등장액(10mM 인산 완충액/152mM 염화나트륨, pH 7.4)을 혼화하고, 4℃, 1,500×g(3,500rpm), 20분간 원심 분리하였다. 이 조작을 3회 반복하여 세정한 혈구에 등량의 저장액(低張液)(10mM 인산 완충액, pH7.4)을 혼화하고, 4℃, 20,000×g(11,000rpm), 40분간 원심 분리하였다. 그리고, 이 조작을 4회 반복하여 얻어진 미지근한 침전 부분(적혈구막 고스트)을 이용하여 항산화 활성을 조사하였다. 본 명세서의 실시예 1의 스펅고미엘린 원료를 이용하여 스펅고미엘린을 각 초발 농도(0mM, 0.01mM, 0.1mM, 1mM, 10mM)가 되도록 조제한 후, 적혈구막 고스트를 혼화하고, 산화제를 더 첨가하여 산화 반응을 행하였다. 이어서, TBA 반응을 행한 후, 532nm에서 흡광도를 측정하여 산화 생성물을 정량하였다. 그리고, 항산화 활성은 스펅고미엘린 무첨가의 경우의 흡광도를 100%로 하고, 각 스펅고미엘린을 첨가한 경우의 흡광도로부터 산출하였다. 또한, 흡광도가 낮아수록 적혈구막 고스트의 산화가 억제되어, 항산화 활성이 높은 것을 나타낸다. 그 결과를 표 4에 나타내었다. 표 4에 나타난 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펅고미엘린은 항산화 작용이 높은 것을 알 수 있었다.

표 4

샘플 농도 (mM)

| | 0 | 0.01 | 0.1 | 1 | 10 |
|--------|------|------|-----|-----|-----|
| 스펅고미엘린 | 100% | 98% | 95% | 80% | 61% |

무첨가의 경우를 100%로 함.

[0066]

(시험예 8)

[0067]

[0068] 스펅고미엘린의 항산화 작용에 대하여 일본 특허 공개 평 11-209756호 공보의 "시험예 2"의 방법에 준하여 시험을 행하였다.

[0069] 스펅고미엘린의 항산화 활성에 대하여 나카야마 등의 방법(Mutation Research, vol. 281, pp.77-80, 1992)에 의해 측정하였다. 즉, 차이나이즈 햄스터 폐 섬유아 세포 V79주를 10% 소 태아 혈청을 포함하는 MEM 배지(Flow Laboratories사 제조)에서 사알레 당 200개의 세포수가 되도록 파종하고, 5% 이산화탄소 존재 하, 37℃에서 5일간 배양하여 시험용 배양 세포로 하였다. 그리고, 스펅고미엘린의 항산화 활성에 대해서는 과산화수소에 의한 콜로니 형성률의 저하를 독성의 지표로 하고, 스펅고미엘린을 시험용 배양 세포에 첨가함으로써 콜로니 형성률의 저하가 어느 정도 회복되었는지를 판정하였다.

[0070] 상기한 시험용 배양 세포를 플레이트 상에 파종하고, 2시간 사전배양(세포 접촉)한 후, 본 명세서의 실시예 1의 스펅고미엘린 원료를 이용하여 각 초발 농도(0mM, 0.01mM, 0.1mM, 1mM, 10mM)가 되도록 조제한 스펅고미엘린 용

액을 첨가하고, 4시간 인큐베이트하여 과산화수소보다 먼저 스팅고미엘린을 세포에 도입시켰다. 다음 과산화수소를 첨가하고, 30분간 반응시켜 세포에 장애를 주었다. 그리고, 반응후 혈청 함유 배지에서 5일간 배양을 행하였다. 또한, 과산화수소의 농도는 콜로니 형성률이 수%~40% 정도로 저하하는 60 μM로 설정하였다. 또한 스팅고미엘린에 대해서도 그 자신의 독성을 미리 조사해 두고, 그 자신의 독성으로 콜로니 형성률이 저하하지 않음을 확인해 두었다. 항산화 활성의 평가는 5일간의 배양후 콜로니 형성을 확인하여 김자(Giemsa) 염색을 행하여 전 콜로니수를 계측하고, 대조인 스팅고미엘린 무첨가이고 과산화수소 무첨가의 경우의 세포 생존율을 100%라 하였을 때의 각각의 세포 생존율(%)로 나타내었다. 또한, 세포 생존율이 높을수록 첨가한 스팅고미엘린의 항산화 활성이 높은 것을 나타낸다. 그 결과를 표 5에 나타내었다. 표 5에 나타낸 결과로부터 명백한 바와 같이, 스팅고미엘린은 항산화 작용이 높음을 알 수 있었다.

표 5

| | 스핑고미엘린 농도 (mM) | | | | |
|--------|----------------|------|-----|-----|-----|
| | 0 | 0.01 | 0.1 | 1 | 10 |
| 스핑고미엘린 | 37% | 38% | 51% | 68% | 72% |

[0071]

[0072] (시험예 9)

[0073] 스팅고미엘린의 감염 방어 작용에 대하여 일본 특허 공개 소 62-208261호 공보에 기재된 방법에 의해 시험을 행하였다.

[0074] · 병원성 대장균으로 인한 설사 발생률 억제 시험

[0075] 시험 동물로서 30일령의 SD계 수컷 래트를 이용하여, 이 래트 10마리로 이루어지는 각 시험군에 본 명세서의 실시예 1의 스팅고미엘린 원료를 이용하여 스팅고미엘린을 0(컨트롤), 0.1, 1.0, 5.0, 10.0mg/일 섭취하도록 조제한 모이를 각각 급여하고, 각 래트에 병원성 대장균을 일정량 주고 설사의 발생률을 조사하였다. 결과를 표 6에 나타내었다. 표 6으로부터 명백한 바와 같이, 스팅고미엘린을 1일 당 1.0mg 이상 투여한 래트에서는 설사 발생률이 현저하게 저하하는 것을 알 수 있었다.

표 6

| 시험군 | 섭취량(mg/일) | 설사 발생률 (%) |
|--------|-----------|------------|
| 컨트롤 | | 100 |
| 스핑고미엘린 | 0.1 | 100 |
| | 1.0 | 40 |
| | 5.0 | 30 |
| | 10.0 | 10 |

[0076]

[0077] (시험예 10)

[0078] 스팅고미엘린의 병원성 대장균 0-157 감염 방지 작용에 대하여 일본 특허 공개 평 2001-2704호 공보의 "시험예 1"의 방법에 준하여 시험하였다.

[0079] · 병원성 대장균 0-157 감염 방지 시험 I

[0080] 5주령의 BALB/c계 무균 마우스(20마리)에 생리 식염수(대조군), 본 명세서의 실시예 1의 스팅고미엘린 원료(SPM군)를 매일 경구 섭취시켰다. 스팅고미엘린의 섭취량은 5mg/일이었다. 섭취 개시로부터 3일째에 마우스 1마리 당 병원성 대장균 0-157을 8.5×10^6 cfu 경구 투여하여 감염시켰다. 감염후에도 스팅고미엘린은 매일 경구 섭취시켰다. 대장균 투여후 8일간 생사를 관찰하고, 병원성 대장균 0-157 투여후 일수에 따른 래트의 생존율을 표 7에 나타내었다. 표 7의 결과로부터 명백한 바와 같이, 무균 마우스의 생존율은 스팅고미엘린의 투여에 의해 높아졌다.

표 7

| | 생존율 (%) | | | | |
|--------|-------------|-----|-----|----|----|
| | 대장균 투여후의 일수 | | | | |
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| 대조군 | 100 | 65 | 50 | 40 | 35 |
| S P M군 | 100 | 100 | 100 | 80 | 70 |

[0081]

[0082] (시험예 11)

[0083] 스펡고미엘린의 병원성 대장균 0-157 감염 방지 작용에 대하여 일본 특허 공개 평 2001-2704호 공보의 "시험예 2"의 방법에 준하여 시험을 행하였다.

[0084] · 병원성 대장균 0-157 감염 방지 시험 II

[0085] 스펡고미엘린의 섭취량을 1일 당 0.1~10mg로 하여 시험예 10과 동일한 방법으로 대장균 투여후 8일째의 마우스의 생존율을 측정하였다. 결과를 표 8에 나타내었다. 표 8에 나타낸 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펡고미엘린을 1.0mg/일 이상 섭취한 군에서는 생존율이 현저하게 향상하였다.

표 8

| 시험군 | 섭취량(mg/일) | 생존율 (%) |
|--------|-----------|---------|
| 컨트롤 | | 35 |
| 스펡고미엘린 | 0.1 | 35 |
| | 1.0 | 65 |
| | 5.0 | 70 |
| | 10.0 | 70 |

[0086]

[0087] (시험예 12)

[0088] 4주령의 무모 마우스(CD-1(ICR)-nu/nu)를 1주일 예비 사육한 후, 표 9에 나타낸 사료로 3주간 사육하였다. 그 결과, 스펡고미엘린을 15% 포함하는 소젖 유래의 인지질 획분을 40mg/일 투여한 군(SPM군)에서 7마리/10마리의 비율로 털이 자라났다. 그에 대하여, 스펡고미엘린을 15% 포함하는 소젖 유래의 인지질 획분을 투여하지 않은 대조군에 있어서는 1마리/10마리의 비율로밖에 털이 자라지 않았다.

표 9

| 성분 | 대조군 | S P M군 |
|--------------|--------|--------|
| 카제인 | 20.0 | 20.0 |
| 소젖 유래 인지질 획분 | | 1.74 |
| 콘유 | 5.0 | 5.0 |
| D L - 메티오닌 | 0.30 | 0.30 |
| 미네랄 혼합물 | 3.50 | 3.50 |
| 비타민 혼합물 | 1.00 | 1.00 |
| 셀룰로오스 | 5.00 | 5.00 |
| 콘스타치 | 15.00 | 15.00 |
| 수크로오스 | 50.20 | 48.46 |
| 계 | 100.00 | 100.00 |

[0089]

[0090] (시험예 13: 스펡고미엘린에 의한 EAE 래트에 대한 효과)

[0091] 스펡고미엘린의 탈수소성 질환 치료 효과에 대하여 일본 특허 공개 평 2-250834호 공보의 "실시예 3"의 방법에 준하여 시험을 행하였다.

- [0092] 탈수초성 질환의 1종, 다발성 경화증 모델인 EAE 래트의 치료 효과를 나타내었다.
- [0093] Lewis 래트(암컷 6주령)를 1군 5마리로 하고, EAE 유발의 항원으로서 동일 계열 래트의 뇌 호모지네이트를 프로인드 완전 애주버트(디프코사 제조)와 동량 혼합한 것을 뇌 호모지네이트 80mg 환산이 되도록 래트의 후지 족척(발바닥)에 면역하였다.
- [0094] 면역 당일부터 18일간 표 9에 나타난 양으로 스펡고미엘린을 복강 내에 투여하고, 매일 체중 측정과 EAE 증상 관찰을 행하였다. EAE의 증상으로서는 6단계 평가하였다. 즉, 0:이상 없음, 1:꼬리 마비, 2:꼬리 마비를 수반한 후지 쇠약, 3:꼬리 마비를 수반한 후지 마비, 4:후지 마비를 수반한 전지 쇠약, 5:사지 마비 또는 전빈사(前瀕死)로 하여 각 증상의 누적 증상에 의해 효과를 판정하였다.
- [0095] 스펡고미엘린의 투여는 본 명세서의 실시예 1의 스펡고미엘린 원료를 멸균 완료한 0.5% 메틸셀룰로오스나트륨 수용액에 1mg/ml 또는 2mg/ml의 농도가 되도록 현탁하고, 이것을 복강내 투여하였다. 대조로서 생리 식염수만을 투여하였다. 결과를 하기 표 10에 나타내었다. 표 10의 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펡고미엘린은 생리 식염수만을 이용한 대조에 비하여 현저하게 EAE의 발증을 억제하였다. 이 결과, 다발성 경화증의 치료나 예방에 유용하게 이용할 수 있음을 알 수 있었다.

표 10

| | 투여량 (mg/kg) | 발증 빈도 | 평균 발병일 | 누적 증상도 (%) | |
|--------|----------------|-------|--------|------------|-----|
| 생리 식염수 | - | 5/5 | 13.0 | 57 | 100 |
| 스펡고미엘린 | 1 | 2/5 | 15.2 | 10 | 18 |
| 스펡고미엘린 | 2 | 2/5 | 14.5 | 11 | 19 |

%는 생리 식염수를 투여한 대조의 누적 증상도를 100%라 하였을 때의 값을 나타냄.

- [0096]
- [0097] (시험예 14:스펡고미엘린의 항체 산생 억제 효과)
- [0098] 스펡고미엘린의 탈수초성 질환 치료 효과에 대하여 일본 특허 공개 평 2-250834호 공보의 "실시예 4"의 방법에 준하여 시험을 행하였다.
- [0099] 스펡고미엘린의 EAE 발증 저지 기구에 대하여 검토를 행하였다. 즉, 시험예 13에 나타난 생리 식염수, 스펡고미엘린 2mg/kg을 투여한 래트에 대하여 14일째에 50% 양 적혈구(SRBC) 0.2ml를 복강내에 투여하고, 18일째에 각 래트에서 비장을 적출하고, 단세포 부유액을 무균적으로 조절하였다. 적혈구를 용혈법에 의해 제거한 후, RPMI-1640 배지에서 세정하고, 2×10^9 개/ml의 세포 밀도의 세포 부유액을 조제하였다.
- [0100] 제른(Jerne)의 방법에 의한 양 적혈구에 대한 플라크 형성 세포를 카운트하여 IgMPFC수로 하였다. 결과를 표 11에 나타내었다. 표 11에 나타난 결과로부터, 스펡고미엘린이 항체 산생 억제 활성을 가짐이 확인되어, 그 활성에 기초하여 EAE 발증 저지를 하는 것으로 생각된다.

표 11

| | 투여량 (mg/kg) | 평균 IgM/10 ³ sp1 (%) | |
|--------|----------------|--------------------------------|-----|
| 생리 식염수 | - | 138 | 100 |
| 스펡고미엘린 | 2 | 27 | 20 |

%는 생리 식염수를 투여한 대조의 평균 IgM/10³sp1을 100%라 하였을 때의 값을 나타냄.

- [0101]
- [0102] (시험예 15)
- [0103] 스펡고미엘린의 항색소 침착 작용에 대하여 일본 특허 공개 평 1-163112호 공보에 기재된 방법에 준하여 시험을 행하였다.
- [0104] 색소 침착을 촉진시키는 물질인 8MOP 처리 광독성 색소침착 Weister Maple GP를 이용하여 ICR계 암컷 마우스(6주령, 1군 5마리)의 털을 깎은 등 부분에 50 μl의 샘플을 1일 1회 약 4cm²의 범위로 8주간 도포하고, 항색소침

착 효과 및 부작용으로서 드러난 표 12에 나타난 색소침착의 정도를 4점 평가법으로(+는 탈색 효과, -는 부작용을 나타냄) 평가하였다. 샘플은 본 명세서의 실시예 1의 스펡고미엘린 원료를 5%가 되도록 용해하여 사용하였다. 또한 아무것도 도포하지 않은 것을 대조로 하였다. 결과를 표 13에 나타내었다. 표 13의 결과로부터 명백한 바와 같이, 스펡고미엘린은 부작용이 없고, 항색소효과가 뛰어난 것을 알 수 있었다.

표 12

탈색 효과 평가 방법

| 판정 | 평가점 | 시감 판정 |
|-------|-----|---------|
| + | 3 | 하얗졌음 |
| ± | 2 | 다소 하얗졌음 |
| - ~ ± | 1 | 약간 하얗졌음 |
| - | 0 | 변화 없음 |

부작용, 색소 침착 등

| 판정 | 평가점 | 시감 판정 |
|-------|-----|-----------|
| - | 0 | 변화 없음 |
| - ~ ± | - 1 | 다소 검어졌음 |
| ± | - 2 | 검어졌음 |
| + | - 3 | 명백하게 검어졌음 |

[0105]

표 13

도포 기간(주)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|
| 스핑크고미엘린 | 0.4 | 0.8 | 1.2 | 1.1 | 0.9 | 0.3 | 0 | 0 |
| 대조 | 0 | 0.2 | 0 | 0 | 0.2 | 0 | 0 | 0 |

[0106]

[0107] (시험예 16)

[0108] 스펡고미엘린의 경구 투여에 의한 항색소침착 작용에 대하여 시험을 행하였다.

[0109] A-1계 암컷 모르모트(체중 약 400g)의 등 부분을 제모하고, 등 부분에 자외선 조사(UVA(max. 360nm) 30.3kJ/m², UVB(max. 312nm) 4.8kJ/m²)를 1일 1회 4일간 행하였다. 그 후 스펡고미엘린을 투여하지 않고 생리 식염수를 모르모트 체중 1kg 당 10g 투여하는 군(A군), 실시예 1의 스펡고미엘린 원료를 스펡고미엘린으로 하여 모르모트 체중 1kg 당 2mg 투여하는 군(B군), 실시예 1의 스펡고미엘린 원료를 스펡고미엘린으로 하여 모르모트 체중 1kg 당 5mg 투여하는 군(C군), 실시예 1의 스펡고미엘린 원료를 스펡고미엘린으로 하여 모르모트 체중 1kg 당 10mg 투여하는 군(D군)의 4시험군(각 군 10마리씩)으로 나누었다. 각각을 매일 1회 준데로 경구 투여하여 4주간 사육하였다. 실시예 1의 스펡고미엘린 원료는 10g의 생리 식염수에 현탁하여 각각 B~D군에 경구 투여하였다. 시료 투여 개시시와 시료 투여 종료시에 모르모트 등 부분 피부의 색소침착에의 영향을 각각 MINOLTA사 제조의 색차계(CHROMA METER CR-200)로 측정하고, 시료 투여 개시시로부터의 명도 회복률을 산출하였다. 결과를 표 14에 나타내었다.

표 14

| 군 | 스핑고미엘린 투여량 (mg/kg) | 명도 회복률 (%) |
|---|--------------------|------------|
| A | 0 | 31 |
| B | 2 | 48 |
| C | 5 | 62 |
| D | 10 | 78 |

[0110]

[0111] 표 14에 나타난 결과로부터, 4주간 경구 투여한 후의 명도 회복률은 A군에서는 31%로 낮았지만, B군에서는 48%, C군에서는 62%, D군에서는 78%로 A군에 비하여 최대 2.5배로까지 상승하였다.

[0112] 이로부터, 스팅고미엘린의 경구 투여에 의해 명도 회복률이 높아지는 것을 알 수 있었다. 즉, 스팅고미엘린의 경구 투여에 항색소침착 효과가 있음이 인정되었다. 또한, 투여량으로는 스팅고미엘린을 모르모트 체중 1kg 당 2mg 이상 경구 투여함으로써 해당 효과가 인정되었고, 5mg 이상 경구 투여하면 그 효과가 현저한 것을 알 수 있었다.

[0113] (시험예 17)

[0114] 스팅고미엘린의 항염증 작용에 대하여 일본 특허 공개 평 1-163125호 공보에 기재된 방법에 의해 시험을 행하였다.

[0115] 스팅고미엘린의 항염증 작용은 카라게닌 족척 부종법에 의해 시험을 행하였다.

[0116] 즉, 원터 등의 방법(Proceedings of the Society for Experimental Biology & Medicine, 111권, 554페이지, 1962)에 따라 Wistar계 수컷 래트(체중, 110~130g, 1군 8마리)에 0.5% 카르복시메틸셀룰로오스 수용액에 현탁시킨, 표 15에 나타난 피험 물질을 경구 투여(100mg/kg)하였다. 1시간 후에 기염 물질로서 1% λ-카라게닌/생리 식염액을 해당 래트 한쪽 후지 족척에 0.1ml 피하 투여하여 부종을 야기시켰다. 기염 물질 투여전 및 투여 후의 일정 시간에 각각의 족척 체적을 측정하고, 족척 용량의 증가율(V1)을 구하였다. 대조군으로서 피험 물질을 함유하지 않는 0.5% 카르복시메틸셀룰로오스 수용액을 투여한 래트에 마찬가지로 λ-카라게닌을 주입하였을 때의 발 용량의 증가율(V0)을 측정하고, $(V0-V1) \times 100 / V0$ 의 계산식에 의해 카라게닌 부종 억제율(%)을 산출하고, 피험 물질의 항염증 활성으로 하였다. 이 값이 클수록 항염증 활성이 높은 것을 나타낸다. λ-카라게닌 주입후 5시간 후의 측정값을 표 15에 나타내었다. 표 15에 나타난 결과로부터 명백한 바와 같이, 스팅고미엘린은 인도메타신이나 시알산 이상으로 강한 부종 억제율을 나타내어 항염증 작용이 강한 것을 알 수 있었다.

표 15

| 피험 물질 | 투여량 (mg/kg) | 억제율 (%) |
|----------------|-------------|---------|
| 스핑고미엘린 (실시에 1) | 100 | 40.2 |
| 인도메타신 | 100 | 37.5 |
| 시알산(젓 유래) | 100 | 38.1 |

[0117]

[0118] (시험예 18)

[0119] (학습능 향상 작용의 확인)

[0120] 실시예 1에서 얻어진 스팅고미엘린 소재를 사용하여, 스팅고미엘린의 경구 섭취에 의한 학습 행동에 미치는 영향을 조사할 목적으로 수미로(水迷路) 실험을 행하였다. 또한, 실험은 일본 특허 공개 평 9-301874호 공보의 "시험예 2"에 기재된 방법을 따랐다. 먼저, 8주령의 SD계 수컷 래트(일본 찰즈리버사)를 표준식(標準食)(AIN-93G)으로 7일간 예비 사육한 후, 1군 6마리로 이루어지는 3군으로 나누고, 표 16에 나타난 조성의 사료를 각각의 군에 10일간 섭취시켰다. 또한, 래트의 사육은 실온 24℃, 습도 60%, light-dark 킷틀 12시간의 조건 하에서 행하였고, 탈이온수를 자유 섭취시켰다.

표 16

사료 조성 (%)

| | 대조군 | 대두 레시틴군 | 본발명군 |
|----------------------|--------|---------|--------|
| α-콘스타치 | 13.2 | 13.2 | 13.2 |
| 콘스타치 | 39.7 | 39.7 | 39.7 |
| 밀크 카제인 | 20.0 | 20.0 | 20.0 |
| 상백당 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| 대두유 | 7.0 | 5.0 | 5.0 |
| 결정 셀룰로오스 파우더 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| 미네랄 혼합 ¹⁾ | 3.5 | 3.5 | 3.5 |
| 비타민 혼합 ²⁾ | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| L-시스틴 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| 중타르타르산 콜린 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| 터셔리부틸히드로퀴논 | 0.0014 | 0.0014 | 0.0014 |
| 대두 레시틴 ³⁾ | | 2.0 | |
| 스핑고미엘린 소재 (실시에 1) | | | 2.0 |

1) AIN-93G 미네랄 혼합, 2) AIN-93G 비타민 혼합, 3) 베이스 LP20 (닛신 오일리오사)

[0121]

[0122]

이어서, 중형 각 120cm, 깊이 40cm의 수조에 T자형 미로를 조합하고, 11곳의 맹로를 배치한 "water filled multiple T-maze"를 만들고, 이시자키의 방법(Ishizaki, Exp. Anim., vol. 27, pp. 9-12 1978)에 의해 수온 23~24℃에서 수미로 실험을 행하였다. 먼저, 시험 전날에 직선 수로에서 5회 시행하여 래트를 순화하였다. 다음 그 다음날부터 수미로에서 4일간 연속적으로 래트 1마리에 대하여 3회씩 시행을 반복하고, 수미로의 출발점부터 목표점에 도달할 때까지의 소요 시간을 측정하였다. 그 결과를 표 17에 나타내었다.

표 17

목표점에 도달할 때까지의 시간(초)

| | 1 일째 | 2 일째 | 3 일째 | 4 일째 |
|---------|-------|-------|------|------|
| 대조군 | 55±14 | 40±12 | 29±7 | 20±5 |
| 대두 레시틴군 | 50±11 | 35±9 | 25±5 | 18±4 |
| 본발명군 | 33±10 | 25±6 | 18±5 | 17±6 |

[0123]

[0124]

수미로 실험 개시 1일째~3일째에 있어서, 출발점부터 목표점에 도달할 때까지의 소요 시간은 본발명군(실시에 1에서 얻어진 스팅고미엘린 소재를 2% 함유하는 사료 섭취군)에서 대조군이나 대두 레시틴군(대두 레시틴 약 95%인 닛신 오일리오사의 베이스 LP20을 2% 함유하는 사료 섭취군)에 비하여 유의하게 짧았다. 이 결과로부터, 스팅고미엘린은 학습능을 향상시키는 작용을 가짐이 명백해졌다.

[0125]

(실시에 2)

[0126]

표 18에 나타낸 배합으로 원료를 혼합후, 상법에 의해 1g으로 성형, 타정하여 본 발명의 의약을 정제로서 제조하였다.

표 18

| | |
|----------------------------------|-------------|
| 함수 결정 포도당 | 83.5 (중량 %) |
| 스핑고미엘린 원료 | 10.0 |
| (함량 10%, 인 지질 500, Fonterra사 제조) | |
| 미네랄 혼합물 | 5.0 |
| 슈가 에스테르 | 1.0 |
| 향료 | 0.5 |

또한, 이 의약 1g 내에는 스팅고미엘린이 10mg 함유되어 있었음.

[0127]

[0128]

(실시에 3)

[0129]

스핑고미엘린 함량 25%의 스팅고미엘린 원료(인지질 700, Fonterra사 제조) 50g을 본 발명의 제로 하여 4950g의 탈이온수에 용해하고, 50℃까지 가열후, TK 호모믹서(TK ROBO MICS; 도쿠슈 기카 고교사 제조)로 6000rpm으로 30분간 교반 혼합하여 스팅고미엘린 함량 250mg/100g의 스팅고미엘린 용액을 얻었다. 이 스팅고미엘린 용액

4.0kg에 카제인 5.0kg, 대두 단백질 5.0kg, 어유 1.0kg, 차조기 기름 3.0kg, 텍스트린 18.0kg, 미네랄 혼합물 6.0kg, 비타민 혼합물 1.95kg, 유화제 2.0kg, 안정제 4.0kg, 향료 0.05kg을 배합하고, 200ml의 레토르트 파우치에 충전하고, 레토르트 살균기(제1종 압력 용기, TYPE: RCS-4CRTGN, 히사카 세이사쿠쇼사 제조)에서 121℃, 20분간 살균하여 본 발명의 제를 배합한 액상 영양 조성물 50kg을 제조하였다. 또한, 이 액상 영양 조성물에는 100g 당 스펅고미엘린이 20mg 포함되어 있었다.

[0130] (실시예 4)

[0131] 스펅고미엘린 함량 10%의 스펅고미엘린 원료(인지질 500, Fonterra사 제조) 10g을 본 발명의 제로 하여 700g의 탈이온수에 용해하고, 50℃까지 가열후, 울트라디스퍼서(ULTRA-TURRAXT-25; IKA 재팬사 제조)로 9500rpm으로 30분간 교반 혼합하였다. 이 용액에 소르비톨 40g, 산미료(酸味料) 2g, 향료 2g, 펙틴 5g, 유청 단백질 농축물 5g, 락트산 칼슘 1g, 탈이온수 235g을 첨가하여 교반 혼합한 후, 200ml의 치어팩에 충전하고, 85℃, 20분간 살균후, 밀전하여 본 발명의 제를 배합한 겔상 식품 5봉(200g 들이)을 조제하였다. 이와 같이 하여 얻어진 겔상 식품은 모두 침전 등은 보이지 않았고, 풍미에 이상은 느껴지지 않았다. 또한, 이 겔상 식품에는 100g 당 스펅고미엘린이 100mg 포함되어 있었다.

[0132] (실시예 5)

[0133] 산미료 2g을 700g의 탈이온수에 용해한 후, 스펅고미엘린 함량 25%의 스펅고미엘린 원료(인지질 700, Fonterra사 제조) 10g을 본 발명의 제로서 용해하고, 50℃까지 가열후, 울트라디스퍼서(ULTRA-TURRAX T-25; IKA 재팬사 제조)로 9500rpm으로 30분간 교반 혼합하였다. 멀티톨 100g, 환원 물엿 20g, 향료 2g, 탈이온수 166g을 첨가한 후, 100ml의 유리병에 충전하고, 90℃, 15분간 살균후, 밀전하고, 본 발명의 제를 배합한 음료 10병(100ml 들이)을 조제하였다. 이와 같이 하여 얻어진 음료는 모두 침전은 보이지 않았고, 풍미에 이상은 느껴지지 않았다. 또한, 이 음료에는 100g 당 스펅고미엘린이 250mg 포함되어 있었다.

[0134] (실시예 6)

[0135] 스펅고미엘린 함량 4%의 스펅고미엘린 원료(SM-4, Corman사 제조) 2kg을 본 발명의 제로서 98kg의 탈이온수에 용해하고, 50℃까지 가열후, TK 호모 믹서(MARK II 160형; 도쿠슈 기카 고교사 제조)로 3600rpm으로 40분간 교반 혼합하여 스펅고미엘린 함량 80mg/100g의 스펅고미엘린 용액을 얻었다. 이 스펅고미엘린 용액 10kg에 대두박 12kg, 탈지 분유 14kg, 대두유 4kg, 콘유 2kg, 팜유 23.2kg, 옥수수 전분 14kg, 소맥분 9kg, 밀기울 2kg, 비타민 혼합물 5kg, 셀룰로오스 2.8kg, 미네랄 혼합물 2kg을 배합하고, 120℃, 4분간 살균하여 본 발명의 제를 배합한 개 사육용 사료 100kg을 제조하였다. 또한, 이 개용 사료에는 100g 당 스펅고미엘린이 8mg 포함되어 있었다.

산업상 이용 가능성

[0136] 본 발명의 스펅고미엘린을 유효 성분으로 하는 다양한 질환의 예방제 또는 치료제인 의약 또는 이들 제를 배합한 식품 또는 사료는 각각의 질환의 예방 또는 치료, 증상의 개선 등에 이용할 수 있어 매우 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 본 발명의 밀착 결합 형성 시험의 결과를 보인 그래프이다.

[0016] (발명을 실시하기 위한 최선의 형태)

[0017] 본 발명에 있어서 사용할 수 있는 스펅고미엘린은 특별히 한정되지 않으며, 화학적으로 합성된 것이나 천연 유래의 것, 예컨대 소젖이나 염소젖 등의 젖 유래의 것 이외에 계란 등의 난황 유래의 것을 들 수 있는데, 젖 유래의 것이 보다 바람직하다. 젖 중에서도 소젖 유래의 스펅고미엘린 원료는 스펅고미엘린의 함량이 25% 이상으로 고농도이며, 저렴한 것도 출시되어 있으므로 특히 바람직하다.

[0018] 또한, 스펅고미엘린은 정제하여 순도를 높인 것을 사용할 수도 있고, 스펅고미엘린을 함유하는 인지질의 형태로 사용할 수도 있다.

[0019] 스펅고미엘린이나 스펅고미엘린 함유 인지질에 대하여는 예컨대 젖이나 유청 단백질 농축물(WPC) 등의 유제품을 에테르나 아세톤으로 추출하는 방법(일본 특허 공개 평 3-47192호 공보)에 의해 얻어지는 젖 유래의 스펅고미엘린 함유 인지질(인지질 중 스펅고미엘린 약 28중량% 함유)을 사용할 수 있다. 또한 버터를 가온 용해함으로써 얻어지는 버터 커드나 버터 세럼을 포함하는 수성 희분을 스펅고미엘린 함유 인지질(인지질 중 스펅고미엘린 약

9중량% 함유)로서 사용할 수 있다. 더욱이, 버터 밀크나 버터 세럼 중에 포함되는 유지방구 피막 획분을 스펡고미엘린 함유 인지질(인지질 중 스펡고미엘린 약 9중량% 함유)로서 사용할 수 있다. 그리고, 이들 스펡고미엘린 함유 인지질을 투석, 유안 분획, 겔 여과, 등전점 침전, 이온 교환 크로마토그래피, 용매 분획 등의 방법에 의해 정제함으로써 순도를 높은 스펡고미엘린을 사용할 수도 있다.

[0020] 본 발명의 의약은 다양한 제형을 갖는 제제로서 사용할 수 있으며, 제형은 특별히 한정되지 않는다. 따라서, 스펡고미엘린 및/또는 스펡고미엘린을 함유하는 인지질을 정제, 캡슐제, 과립제, 산제, 분제, 시럽제 등의 액제 등 다양한 제형의 제제에 배합할 수 있다.

[0021] 또한 본 발명의 식품의 종류도 특별히 한정되지 않으며, 소젖, 가공젖, 소젖 음료, 요구르트, 청량 음료수, 커피 음료, 주스, 치즈, 젤리, 웨하스, 비스킷, 빵, 면, 소시지 등의 식품이나 영양식, 나아가서는 영양 보충용 조성에 배합할 수 있다. 또한 본 발명의 사료의 종류도 특별히 한정되지 않는다.

[0022] 또한, 본 발명의 의약, 식품 및 사료는 스펡고미엘린을 함유하는 것 이외에는 상법에 의해 제조할 수 있다.

[0023] 본 발명에 있어서, 각 약리적 효과를 발휘시키기 위하여는, 용도에 따라 다르지만, 스펡고미엘린으로서 1일 당 일반적으로 0.1~100mg 정도 섭취할 수 있도록 의약, 식품이나 사료에의 배합량 등을 조정하면 된다.

도면

도면1

