

식품의 수면증진 기능성 클레임과 평가 방법

Potential claims and evaluation methods for sleep-promoting effects of foods

조승목*, 한대석, 김진경¹, 윤민석, 양혜진, 김지영

Suengmok Cho*, Daeseok Han, Jinkyong Kim¹, Minseok Yoon, Hyejin Yang, Jiyoung Kim

한국식품연구원 기능평가연구단

Functionality Evaluation Research Group, Korea Food Research Institute

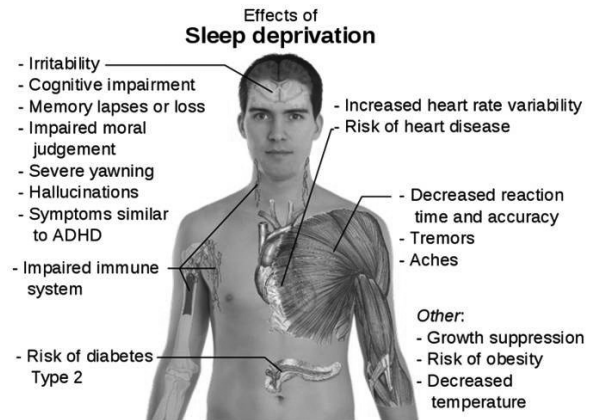
¹KGC라이프앤진

¹KGClifengin

1. 서론

수면은 건강을 유지하는 데 있어서 가장 필수적이고 중요한 생리현상이다(1). 수명의 1/3이라는 긴 시간 동안 우리가 수면을 취한다는 것만으로도 그 중요성을 쉽게 알 수 있다. 불면증과 같은 수면장애나 지속적인 수면부족은 심혈관, 면역력과 같은 신체적 건강은 물론이고 기억, 학습, 기분과 같은 정신적 건강에도 나쁜 영향을 미치게 된다(2)(그림 1). 따라서, 수면장애는 건강과 삶의 질을 떨어뜨리는 가장 큰 원인 중의 하나이다. 또한, 수면장애와 수면부족은 졸음운전과 같은 안전사고와 업무능력 저하도 야기시켜 큰 사회적 비용도 초래하게 된다. 세계 최악의 사고로 잘 알려진 체르노빌 원전 및 알래스카 기름유출 사고들도 근무자들의 수면장애로 인해 발생한 것으로 잘 알려져 있다.

수면의 중요성에도 불구하고 최근 선진국을 중



출처: [http://en.wikipedia.org/wiki/Sleep_deprivation\(3\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Sleep_deprivation(3))

그림 1. 수면부족이 미치는 신체적 및 정신적건강에 대한 영향

심으로 불면증이 만연하고 있어 국민보건 상 큰 문제로 대두되고 있다. 세계적으로 성인의 10-15% 정도가 만성 불면증에 시달리고 있으며, 25-35% 정도는 간헐적 불면증을 겪는 것으로 조사되고 있다(4). 최근에는 우리나라도 불면증 유행률

Corresponding Author: Suengmok Cho
Functionality Evaluation Research Group, Korea Food Research Institute
1201-62, Anyangpangyo-Ro, Bundang, Sungnam 463-746, Republic of Korea
TEL: +82-31-780-9314
FAX: +82-31-709-9876
E-mail: smcho@kfri.re.kr

이 서구 선진국 수준에 근접해 가고 있는 실정이다. 불면증 해결을 위해 일반적으로 수면제가 처방되고 있는데, 벤조다이아제핀(benzodiazepine) 또는 비벤조다이아제핀(non-benzodiazepine) 계열의 GABA_A 수용체에 작용하는 약물과 항우울제(antidepressant) 및 항히스타민제(antihistamine) 등이 있다(5). 수면제는 인지기능저하와 주간졸림과 같은 부작용 및 의존성으로 인해 4주 이상의 장기간 섭취는 권장되지 않고 있다(6). 수면제외에도 수면증진 기능성 식품, 기능성 침구류 등 수면장에 관련 시장이 세계적으로 급성장하면서 최근에는 수면 경제(sleeponomics)이라는 신조어가 만들어지기도 하였다.

수면증진 기능성식품은 미국, 유럽 등 서구 선진국에서 오래 전부터 연구가 이루어져 왔으며, 다양한 제품들이 현재 판매되고 있다. 최근 들어 불면증이 크게 증가하면서 수면제의 대체제 및 보조제로써 더욱 인기를 모으고 있다. 서구권에서는 valerian, hop, kava-kava, St. John's wort, chamomile 등 천연식물 추출물 및 활성성분에 대한 수면증진 기능성에 대한 연구가 활발하게 이루어져 왔으며, 중국과 일본에서도 관련 연구가 최근 활발하게 이루어지고 있다. 하지만, 국내에서는 아직까지 관련 연구가 미흡한 실정이며, 식품과학 분야에서의 접근은 더욱 그러하다. 최근 국내에서도 수면의 질을 높이고자 하는 사회적인 요구가 증가하면서 수면증진 기능성식품에 대한 식품업계의 관심이 모아지고 있는 추세이다. 따라서, 본고에서는 식품의 수면증진 기능성 클레임과 평가 방법에 대해서 알아보려고 한다.

2. 식품의 수면증진 기능성 클레임

본고에서 「건강기능식품」이라는 국내의 법적인 용어 대신에 수면증진 「기능성식품」이라고 표현하였다. 이는 국내에서 아직 수면증진과 관련된 개별 인정을 식품의약품안전처로부터 받은 사례가 없어 오해의 소지를 줄이기 위함이다.

불면증이 만연하고 수면증진 기능성식품에 대한 요구가 증가하면서 세계적으로 식품 또는 식품 성분의 수면증진 기능성 클레임에 대한 검토가 다양하게 이루어져 왔다. 유럽 International Life Sciences Institute(ILSI)에서 수행한 기능성 식품평가 프로젝트인 Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods(PASSCLAIM)에서 수면증진 기능성에 대해 가능한 3가지 클레임들이 아래와 같이 제시되었다(7).

- Helps restful sleep (편안한 수면에 도움을 준다)
- Improves a good night's sleep (밤에 자는 잠을 증진시킨다)
- Improves sleep quality (수면의 질을 증진시킨다.)

수면에 대한 클레임들은 우선 의약품인 수면제와의 차별성을 고려한 것으로 보이며, 비교적 완화된 표현으로 기능성 식품으로써 충분히 사용 가능한 클레임으로 판단된다. 불면증을 치료하는 것이 아니라 일상적인 수면의 질을 증진시키거나 건강한 수면에 도움을 줄 수 있는 측면을 강조하고 있다. 또한 수면과 관련된 biomarker로써 뇌파(electroencephalography, EEG), 근전도도(electromyography, EMG), 설문조사 등을 제시하였다. PASSCLAIM은 유럽의 영양 건강 강조 표시에 있어서 중요한 근거가 되기 때문에 그 의미가 크다고 볼 수 있다.

미국에서는 valerian, kava-kava 등 다양한 허브제품들이 수면증진 dietary supplement로 판매되고 있다. 미국의 FDA는 dietary supplement의 수면증진 기능성에 대해 가능한 클레임과 가능하지 않는 클레임에 대한 예를 표 1과 같이 들고 있다. 수면 보조제로서의 기능성, 간헐적인 불면의 경감, 휴식의 촉진을 가능한 클레임으로 보고 있는데, 이 또한 PASSCLAIM과 마찬가지로 질병에 대한 클레임과 차별화시켜 식품으로써의 완만한 기능성을 부각시키기 위한 것으로 보인다. 캐나다의 경우 valerian과 같은 다양한 허브제품들이 natural health product로 허가를 받아 판매되고 있다. 대부분 미

표 1. Examples of acceptable and non-acceptable structure/function claim statements for dietary supplement products

Acceptable structure/function claims	Non-acceptable claims
'Night-time sleep aid'; 'For the relief of occasional sleeplessness'; 'Promotes relaxation'.	'Help you fall asleep if you have difficulty falling asleep'; 'Help to reduce difficulty falling asleep' (these are disease claims because, unless the context makes clear that the product is only for occasional sleeplessness, they imply treatment of insomnia).

출처: Claim statements for natural products: The United States market, International Trade Centre, 2011.(8)

국의 기능성클레임과 유사한 경우가 많으며, traditional herbal medicine, insomnia와 같은 조금 더 강화된 표현을 쓰기도 한다.

중국의 경우는 식품 위생법에 근거를 두고 있는 보건식품등록관리규정에 따라 2013년 기준 27개의 기능성 클레임이 있는데, 이중에 수면개선 기능(改善睡眠功能, sleep improvement)이 명시되어 있다(9, 10). 중국의 보건식품 중 일부 품목들은 인체 적용시험을 거쳐야만 승인이 가능하나 수면개선 보건식품은 동물실험만으로 신청이 가능하며, 추가적인 인체 시험 결과는 요구하지 않고 있다.

3. 수면증진 기능성식품 연구개발 흐름

기능성식품의 연구개발 흐름은 일반적으로 그림 2와 같이 효능 스크리닝, in vitro 및 in vivo 효능 평가, 기능(지표)성분 분리, 작용기작 규명, 공정 개발, 원료 표준화, 인체적용시험 등으로 이루어진다. 이를 바탕으로 수면증진 기능성식품의 전반적인 연구개발 흐름에 대해 간략히 언급하여 수면증진 기능성 평가 방법에 대한 이해를 돕고자 한다.

우선 수면증진 기능성을 평가하고자 하는 대상의 수에 따라 스크리닝 방법이 달라질 수 있다. 특정한 식품 추출물 및 소규모 라이브러리의 경우

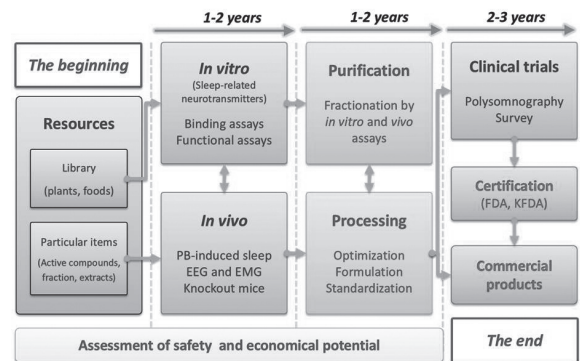


그림 2. 수면증진 기능성식품 연구개발 흐름도

동물실험을 이용하며 효능 탐색이 가능하며, pentobarbital 유도수면 시험이 주로 사용된다. 대규모 라이브러리의 경우 수면과 관련된 신경전달물질 수용체에 대한 결합 활성 평가(binding assay)와 수용체에 대한 효능제(agonist) 또는 길항제(antagonist)로서의 작용 기능 평가(functional assay) 같은 세포 실험이 적합하다. 단일 물질을 기반으로 하는 수면제 개발에는 2가지 모두 사용될 수 있지만 다양한 성분이 혼재되어 있는 식품 추출물의 경우는 수용체 작용기능 평가에서 결과를 얻기가 쉽지 않아 결합활성 평가가 유용할 수 있다. 그리고 스크리닝 결과 선정된 대상 소재들은 안전성 및 경제성 검토를 통해 신중하게 본격적인 연구에 들어가는 것이 바람직하다.

In vitro 평가 방법에서 선정된 대상 소재의 경우 수면증진 기능성을 가질 수 있는 가능성만을 가지고 있으며, blood-brain barrier(BBB) 투과성을 알 수 없기 때문에 동물에서의 효능 확인이 매우 중요하다. In vivo 수면증진 기능성 평가 방법은 주로 설치류를 이용한 pentobarbital 유도수면 시험과 수면 구조 및 프로파일 분석이 일반적으로 이용되고 있다. Pentobarbital 유도수면 시험은 방법이 간단하고 빠른 시일내에 결과를 얻을 수 있는 수면증진 동물효능 평가 방법으로 잘 알려져 있다. 하지만 수면 구조와 질의 변화, 부작용 등을 평가할 수 없어 뇌파를 이용한 수면 구조 및 프로파일

의 분석도 요구된다. 수면증진 작용기작을 규명하기 위하여 특정한 신경전달물질수용체가 결핍된 knockout 마우스를 사용하거나 microarray 등의 기법이 이용되기도 한다.

작용기작 규명과 원료 표준화를 위해서는 기능(지표)성분의 분리와 효능 평가가 필수적이다. 대부분 효율적인 연구진행을 위해 세포 실험을 통해 기능성분을 추적하고 있는데, 수면증진 기능성에 있어서는 세포 실험과 동물실험을 병행하여 추적하는 것이 성공 확률을 높일 수 있다. 특히, 수용체 결합활성 평가를 이용하여 추적하는 경우에는 대상 소재가 효능제 또는 길항제로서 작용할지 알 수 없기 때문에 동물실험에서의 확인이 요구된다.

인체적용시험에서의 수면증진 기능성은 일반적으로 수면다원검사(polysomnography) 및 설문조사(survey)를 통해 평가되고 있다. 수면다원검사는 고가의 분석비용이 소요되지만 뇌파 분석을 통해 수면효율, 입면 시간, 깊은 수면 등 객관적인 평가가 가능하여 최근 널리 이용되고 있다. 특히, 수면의 경우 주관적인 만족이 매우 중요하게 고려되기 때문에 피츠버그 수면 설문지(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI), 수면 일기 등의 설문조사도 필수적으로 병행되고 있다. 해외에서 이루어진 수면증진 기능성식품 인체적용시험의 경우 대부분 수면다원검사와 설문조사를 병행하여 연구가 이루어지고 있다. 인체적용시험의 경우 설문조사를 통해 가능성과 적정 유효농도를 평가한 후 수면다원검사에 들어가는 것도 효율적인 방법이 될 수 있다.

4. In vitro 스크리닝방법

수면은 매우 복잡한 생리현상으로 GABA, serotonin, histamine, adenosine 등 다양한 신경전달 물질들과 밀접하게 관련되어 있으며, 작용기작이 다른 다양한 수면제들이 현재 출시되었거나 개발되고 있다. 수면을 유도하는 성분을 찾기 위해 이러한 신경전달물질수용체에 대한 결합활성을 우선

적으로 평가하는 경우가 많다. 방사선 동위원소를 사용하는 radio-ligand binding assay는 간편하고 재현성 있는 결과를 얻을 수 있어 수용체 결합활성을 측정하는데 가장 널리 이용되고 있다. 주로 그림 3과 같이 방사선 동위원소가 표지된 물질(기존의 알려진 결합물질, radio-ligand)과 시험하고자 하는 물질을 경쟁적으로 수용체에 결합시키는 competitive binding assay가 사용되고 있다. 분석 결과 radioactivity가 낮은 경우 radio-ligand가 그만큼 결합하지 못했기 때문에 시험물질의 결합능력이 우수한 것을 의미한다. Radio-ligand를 이용한 binding assay는 신경전달물질수용체의 종류에 따라 약간의 차이는 있으나 protocol이 거의 유사하다. 특정 신경전달물질의 수용체가 다량으로 분포하고 있는 뇌조직이나 발현된 세포의 membrane을 만들고 여기에 radio-ligand와 시험물질을 동시에 반응시킨 후 결합하지 못한 radio-ligand를 glass fiberfilter를 이용하여 제거한다. 이후 liquid scintillation analyzer를 이용하여 radioactivity를 측정한다. 농도별 측정값으로부터 IC₅₀을 계산하여 결합활성이 우수한 소재들을 스크리닝할 수 있다.

신경전달물질수용체에 대한 결합 활성이 우수한 소재의 경우 수면증진 효과를 나타낼 가능성을 가지지만 효능제로 작용할지 길항제로 작용할지는 알 수 없다. 따라서, 결합 활성 평가후에 patch clamp와 같은 전기생리학(electrophysiology) 기법

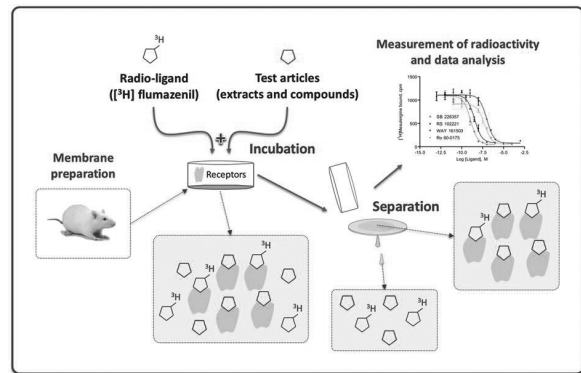


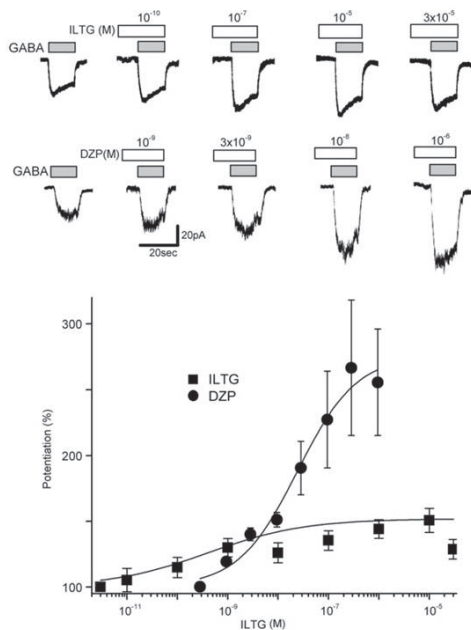
그림 3. 수용체 결합활성 평가시험(receptor binding assay)의 개요

이나 calcium imaging 기법을 이용한 작용 기능 평가(functional assay)가 필요하다. 특히, 식품 추출물의 경우 다양한 성분이 혼재되어 있어 실험시 원하는 결과가 나오지 않는 경우가 많아 분리된 단일성분을 이용하는 것이 좋다. 단일성분 기반의 의약품 개발의 경우에는 GABA 수용체에 대한 작용 기능 탐색의 경우 개구리의 난모세포(oocyte) 및 신경세포를 이용한 전기생리학적기법으로 고속 대량 스크리닝을 한다. 그림 4는 patch clamp 기법을 이용한 플라보노이드 성분인 isoliquiritigenin의 GABA 수용체 효능제로써의 효과를 나타낸 그래

프이다. 한편, serotonin, histamine과 같은 G protein coupled receptor(GPCR)의 경우에는 cAMP, IP3, calcium의 변화를 감지할 수 있는 fluorometric imaging plate reader(FLIPR)을 이용하여 탐색하기도 한다.

5. 동물효능 평가방법

모든 기능성식품 연구에 있어서 기능성을 명확히 밝히기 위해서는 세포 실험에서의 결과를 동물실험에서 확인하는 것이 매우 중요하지만, 특히 수면증진 기능성에 있어서는 동물실험의 중요성이 매우 크다. 신경전달물질 수용체 결합활성만을 평가한 경우 효능제 또는 길항제로써의 가능성을 알 수 없으며, 작용 기능을 나타내는 활성 물질이라도 BBB를 통과하지 못하여 실제 수면효과를 나타내지 못할 수 있기 때문이다. 또한, 세포 실험에서는 효과가 없는 물질이라도 경구 투여후 그것의 대사체가 수면을 유도할 수 있기 때문에 중요한 샘플의 경우 세포 실험에서 효과가 없다고 해도 동물실험을 해볼 필요성이 있다. 동물실험에서 수면과 관련된 GABA, histamine 등의 수용체가 결핍된 knockout 마우스를 사용하여 수면유도 작용 기작을 규명할 수도 있다. 본고에서는 가장 기본적인 방법인 pentobarbital 유도수면 시험과 수면의 질을 평가할 수 있는 수면 구조와 프로파일 분석 방법에 대해 알아보하고자 한다.



Concentration-potential relationships for isoliquiritigenin (ILTG) and diazepam (DZP) on dorsal raphe neurons. The upper traces show potentiation of a 2×10^{-6} MGABA response by ILTG and DZP. After 3-min pretreatments, various concentrations of ILTG or DZP were simultaneously applied with GABA. The traces for ILTG and DZP were taken from different set of neurons. The graph represents the concentration-augmentation relationship of ILTG (squares) and DZP (circles). Each point is the average of 5 or 6 neurons.

출처: Cho et al., 2011, Biochem. Biophys. Res. Commun., 413(4), 637-642. (11)

그림 4. 전기생리학적기법을 이용한 신경세포의 GABA 수용체 활성 평가에

5. 1. Pentobarbital 유도수면 시험(중국 보건식품제도의 시험방법 기준)

마우스 또는 랫트를 이용한 pentobarbital 유도수면시험(pentobarbital-induced sleep test)은 수면증진 기능성을 평가하는데 있어서 가장 기본적으로 이용되고 있는 방법이다. 일반적으로는 랫트보다 마우스가 주로 이용되고 있다. Pentobarbital 유도수면 시험은 방법이 간단하고 단기간에 실험 결과를 얻을 수 있다는 장점이 있어 비교적 적은 라이브리(100개 이하)를 스크리닝할 수 있는 동물효

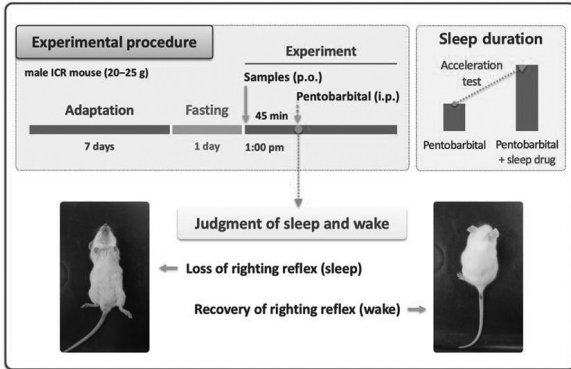


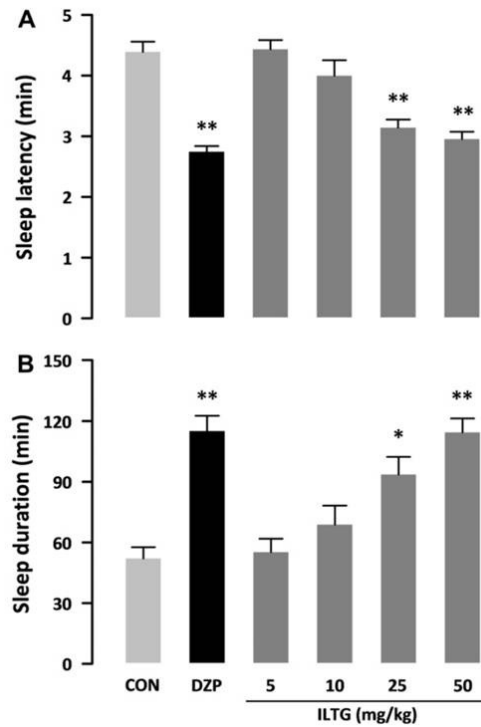
그림 5. Pentobarbital 유도수면시험(pentobarbital-induced sleep test) 방법

능 평가 방법이다. 하지만 동물을 다루는 실험 경험이 축적되지 못하면, 실험자에 따라 실험오차가 매우 커 통계적으로 유의한 결과를 얻기가 쉽지 않다. 중국의 보건식품 중 수면개선 보건식품은 동물실험만으로도 그 가능성을 인정받을 수 있는데 바로 pentobarbital 유도수면 시험 결과를 요구하고 있다. 제출해야 하는 실험 결과들은 아래의 3가지와 같다.

- pentobarbital로 유도된 설치류 수면의 잠복기 감소
- pentobarbital로 유도된 설치류 수면의 수면시간 연장
- 수면유도 역치 이하 농도의 pentobarbital에 의한 수면 유도

상기 3가지 실험 중 2가지에서 유의적인 효과가 있으며, 직접적인 수면 작용이 없는 경우 수면개선 가능성이 있다고 인정하고 있다. 직접적인 수면 작용이 없다는 것을 밝히기 위해서는 사실 추가적인 동물실험 결과 제출이 요구된다고 볼 수 있다. Pentobarbital 유도수면 시험방법을 쉽게 이해할 수 있도록 그림 5에 도식화하여 나타내었으며, 자세한 방법을 설명하면 다음과 같다.

- 1) Pentobarbital 유도수면 시험은 그룹당 8-10 마리의 마우스 또는 랫트를 사용하며, 실험전 24시간 동안 동물을 절식시켜 오후 1시에서 6시 사이의 일정한 시간 내에 진행한다.



Effects of isoliquiritigenin (ILTG) on sleep latency (A) and sleep duration (B) induced by the hypnotic dose (45 mg/kg, i.p.) of pentobarbital in mice. The mice received pentobarbital 45 min after oral administration of 0.5% CMC-saline (CON, 10 ml/kg), diazepam (DZP, 2 mg/kg), and ILTG. Each column represents the mean \pm SEM values ($n=10$). * $p<0.05$ and ** $p<0.01$ was considered to be statistically significant as compared to the control group (Dunnett's test).

- 1) 그래프 A는 수면유도역치농도(hypnotic dosage)에서의 0.5% CMC-saline (CON, 대조군, 10 ml/kg), diazepam (DZP, 긍정대조군, 2 mg/kg)과 시료처리군의 수면잠복기를 나타내며 B는 수면시간을 나타낸다.
- 2) 시료처리군을 농도별로 경구투여한 후 pentobarbital을 복강주사하였을 때 용량 의존적으로 수면잠복기가 감소되고 수면시간이 증가한 것을 확인할 수 있다.
- 3) 본 실험을 통하여 pentobarbital로 유도된 설치류 수면의 잠복기와 수면시간을 평가하여 수면증진 효과를 평가할 수 있다.

출처: Cho et al., 2011, Biochem. Biophys. Res. Commun., 413(4), 637-642. (11)

그림 6. 수면유도역치 농도(hypnotic dosage)에서의 pentobarbital 유도수면 시험결과 예

- 2) 모든 시료는 pentobarbital 투여 45분 전에 경구투여(p.o.) 하며, pentobarbital은 40-50 mg/

Effects of ECK-E on rate of sleep onset and sleep duration in mice induced by sub-hypnotic dose (30 mg/kg, i.p.) of pentobarbital.

Groups	Dose (mg/kg)	No. falling asleep / total	Rate of sleep onset (%)	Sleep duration (min)
CON		2 / 12	17	7.3 ± 1.1
DZP	2	12 / 12	100	55.4 ± 4.8 ***
ECK-E	100	7 / 12	58	12.7 ± 2.1
	250	8 / 12	67	15.1 ± 4.4
	500	10 / 12	83	19.7 ± 3.4
	1000	11 / 12	92	38.7 ± 6.3 *

The rate of sleep onset (%) = No. falling asleep/Total No. × 100. Sleep duration is expressed as mean ± SEM. Abbreviations: CON, control group; DZP, diazepam; ECK-E, *Ecklonia cava Kjellman* ethanol extract. * $p < 0.05$, significant as compared to the control group (Dunnett's test). *** $p < 0.001$, significant as compared to the control group (Dunnett's test).

- 1) 본 그래프는 pentobarbital을 수면유도역치 이하 농도(sub-hypnotic dosage)로 처리하여 수면유도율과 수면시간을 나타낸 것이다.
- 2) 시료처리군을 농도별로 경구투여한 후 pentobarbital 30 mg/kg의 농도에서 복강주사하였을 때 대조군은 수면유도율이 0% 이지만, 시료처리군은 용량의 존적으로 수면유도율과 수면시간이 증가한것을 확인할 수 있다.
- 3) 본 실험을 통하여 역치이하 농도의 pentobarbital로 유도된 설치류 수면유도율을 평가하여 수면증진기능성을 나타낼 수 있다.

출처: Cho et al., 2012, Food Chem., 132(3), 1133-1142. (12)

그림 7. 수면유도역치이하 농도(sub-hypnotic dosage)에서의 pentobarbital 유도수면 시험결과 예

Sleep-inducing effects of pentobarbital, DZP and plant extracts in mice.

Groups	Dose (mg/kg)	No. falling asleep / total	Sleep duration (min)
Pentobarbital	30	0 / 15	-
	45	15 / 15	39.6 ± 3.9
DZP	2	0 / 15	-
LE	1000	0 / 15	-
SE	1000	0 / 15	-

DZP: diazepam, LE: licorice ethanol extract, SE: silk tree ethanol extract. Data of sleep duration represent the mean ± SEM (n = 15).

- 1) 본 그래프는 pentobarbital (30, 45 mg/kg), diazepam (DZP, 긍정대조군, 2 mg/kg)과 시료처리군의 직접적인 수면효과를 나타낸것이다.
- 2) Pentobarbital은 역치이하농도(30 mg/kg)에서는 직접적인 수면효과가 나타나지 않지만 역치이상 농도(45 mg/kg)에서는 수면효과가 나타났음을 알 수 있다.
- 3) 대표적인 수면제인 diazepam과 시료처리군에서는 수면효과가 나타나지 않아 마취제인 pentobarbital 처럼 직접적인 수면유도 작용은 없는것을 확인할 수 있다.

출처: Cho et al., 2010, J. Ethnopharmacol., 132(1), 225-232. (13)

그림 8. 직접적인 수면유도 효과 시험 예

- kg(hypnotic dosage, 수면유도 역치농도)의 농도로 복강 주사(i.p.) 한다.
- 3) Pentobarbital 처리 후 각각의 개체를 독립된 공간에 옮겨 수면 잠복기(sleep latency)와 수면 시간(sleep duration)을 측정한다.
- 4) 수면잠복기는 pentobarbital을 복강주사한 후 정반사(righting reflex)를 1분 이상 상실할 때까지의 경과시간으로 간주하고, 수면시간은 다시 정반사를 회복할 때까지의 시간으로 설정한다.

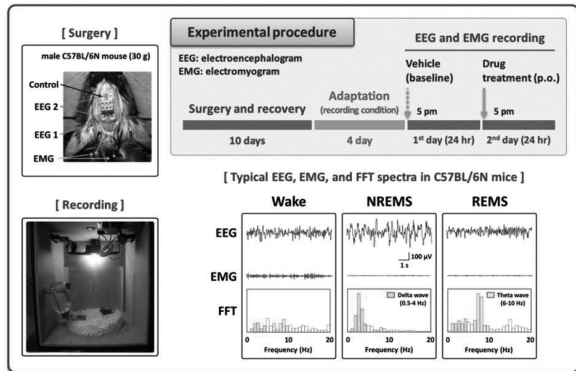
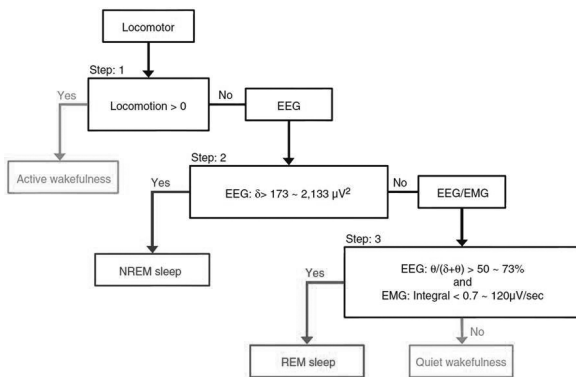


그림 9. 수면 구조 및 프로파일 분석실험 개요



출처: Kohtoh et al., 2008, Sleep Biol. Rhythms, 6, 163-171. (17)

그림 10. Fast Fourier transform(FFT) algorithm에 의한 분석 흐름도

본 실험은 일종의 수면유도 효력증진 실험으로 볼 수 있는데 시험물질이 마취제인 pentobarbital로 유도되는 수면을 더욱 증진시킬 수 있는지를 평가하는 것이다. 본 실험에서 샘플에 잔류 용매가 있거나 독성을 띄는 경우에도 효능이 나타나는 경우가 있어 이에 대한 주의가 필요하다. 이해를 돕기 위해 논문의 pentobarbital 유도수면 시험 결과들을 그림 6-8에 나타내고 간략한 설명을 첨부하였다.

5. 2. 수면 구조 및 프로파일 분석

Pentobarbital 유도수면 시험은 간단하게 수면증진 효능 평가를 할 수 있다는 장점은 있지만 깊은 수면이 증가하였는지 또는 주간에도 졸림 현상이

나타나는지 등 자세한 정보에 대해서는 전혀 알 수가 없다. 따라서, 수면 구조(sleep architecture) 및 프로파일(profile) 분석을 통한 효능 평가가 필요하다. 수면 구조 및 프로파일 분석은 수면-각성주기나 수면의 질을 평가할 수 있어 수면 증진 효과를 보다 정확하고 구체적으로 평가할 수 있는 가장 중요한 평가 방법이다(14). 이러한 수면 구조 및 프로파일의 변화는 EEG/EMG의 분석을 통해 이루어지며, 주로 C57BL/6 마우스 및 SD 랫트가 이용된다. 또한, 수용체 knockout 마우스를 사용하거나 기존에 작용기작이 밝혀진 약물들을 이용하여 작용기작도 규명할 수 있다(15,16). 하지만 EEG/EMG 레코딩을 위한 외과적인 수술이 필수적이고 최소 한달 이상의 긴 시간이 요구된다. 특히, 안정적인 결과를 도출하기 위해서는 외과 수술, 뇌파 레코딩 및 수면 구조분석에 대한 오랜 경험이 필요하다.

마우스의 수면 구조 및 프로파일 분석방법을 쉽게 이해할 수 있도록 외과 수술-회복-뇌파기록-분석의 주요 단계들을 그림 9에 도식화하여 나타내었으며 자세한 방법은 다음과 같다.

- 1) C57BL/6 마우스(28-30 g)를 1주일간 적응시킨 후 EEG/EMG 측정을 위해 전극삽입수술을 실시한다. 마우스를 마취시킨 후 뇌정위기(stereotaxic instrument)에 두부를 고정하고 EEG/EMG를 레코딩할 수 있는 headmount(기성품 또는 자체 제작품)를 삽입한다. 이때, EEG를 측정하기 위한 스크류가 대뇌피질을

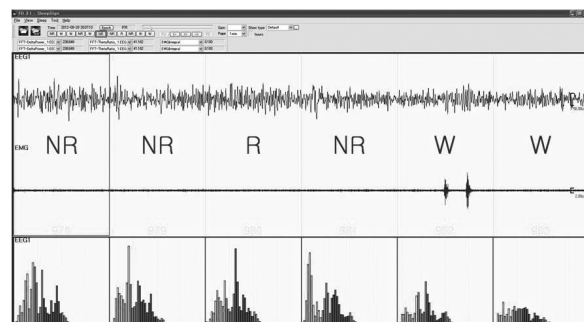
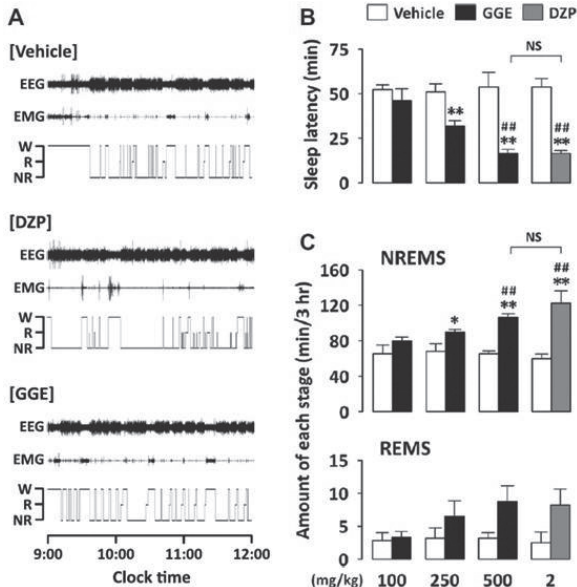


그림 11. SleepSign 프로그램을 이용한 수면 구조 분석 사례

손상시키지 않도록 주의해야하며, EMG 측정
을 위한 전선을 목근육에 잘 고정 시켜야



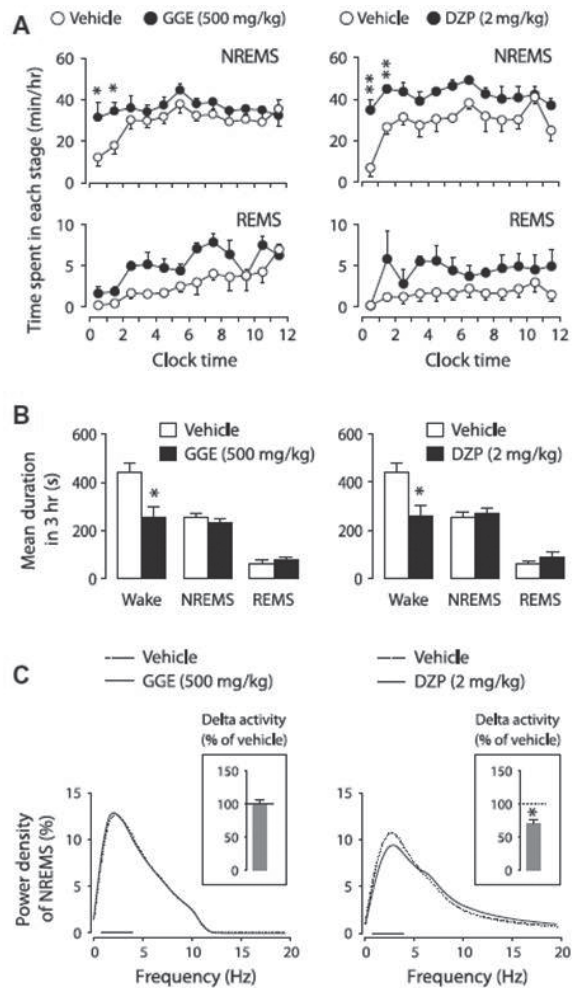
(A) Representative examples of EEG and EMG signals and corresponding hypnograms in mice treated with vehicle, GGE, or DZP. (B) Effects of GGE and DZP on sleep latency. (C) Total time spent in NREMS and REMS for 3 h after drug administration. Each column represents mean \pm SEM (n = 8). ** $p < 0.01$, compared with vehicle (unpaired Student's t-test). ## $p < 0.01$, significant compared with 100 mg/kg GGE (Dunnett's test). Abbreviations: DZP, diazepam; EEG, electroencephalogram; EMG, electromyogram; GGE, *Glycyrrhizaglabra* ethanol extract; NREMS (NR), non-rapid eye movement sleep; NS, not significant; REMS (R), rapid eye movement sleep; Wake (W), wakefulness.

- 1) 그래프 A는 수면유도 EEG/EMG 및 hypnogram의 전형적인 모양을 나타내고 그래프 B는 입면시간을 나타냈으며 그래프 C는 NREM 수면 및 REM 수면시간을 나타낸다.
- 2) 시료처리군을 농도별로 경구투여한 후 각각의 대조군과 비교해 보면 용량 의존적으로 입면시간이 감소하고 NREM 수면시간이 증가함을 확인할 수 있다.
- 3) 또한 긍정대조군인 diazepam (DZP, 2 mg/kg)과 비교하여 보았을 때 500 mg/kg 농도에서 비슷한 수면증진효과를 나타냄을 확인할 수 있다.
- 4) 본 실험을 통하여 입면시간 및 수면구조를 분석하여 수면증진효과를 평가할 수 있다.

출처: Cho et al., 2012, *Biorg. Med. Chem.*, 20, 3493-3501 (18)

그림 12. 뇌파와 근전도도의 전형적인 모형과 입면시간 및 수면시간 분석의 예

- 한다. 이후 dental cement로 headmount를 단단히 고정시키고 봉합하여 수술을 마무리한다.
- 2) 수술부위의 소독 및 항생제투여를 3일 동안 실시하여 염증을 예방하고 일주일간의 회복기간을 둔다.
 - 3) 회복후 수면에 영향을 미치는 환경적인 요인을 최소화하기 위해 실제 EEG/EMG를 측정할 조건에서 3-4일간 적응시킨다. EEG/EMG는 시료 경구투여 후 뇌파측정 장치를 이용하



(A) Time courses of NREMS, REMS, and Wake after GGE and DZP administration. (B) Effects of GGE and DZP on the mean durations of each sleep stage. (C) EEG power density during NREMS.

- 1) 본 그래프는 시간대별 수면구조의 변화, mean duration 및 EEG power density를 나타낸 것이다.
- 2) 시료처리군 및 긍정대조군인 DZP은 수면 초반 2시간 동안 NREM 수면을 유의적으로 증가하였지만 2시간 이후 시료처리군은 대조군과 큰 차이가 없어 자연적인 수면을 유도한 반면 DZP은 수면효과가 지속되어 수면제에서 나타나는 부작용을 확인할 수 있다.
- 3) 시료처리군 및 DZP 모두 NREM 및 REM의 mean duration을 변화시키지 않고 wake의 mean duration을 감소시켰는데 이는 각성상태의 유지를 억제시켰다는 것을 의미한다.
- 4) NREM 수면에서의 delta activity는 수면의 질을 평가하는 중요한 척도인데 시료처리군의 경우 delta activity의 변화가 없는 반면 DZP의 경우 delta activity가 유의적으로 감소하여 수면의 질을 저하시킴을 확인할 수 있다.
- 5) 본 실험을 통하여 시간대별 수면구조의 변화와 delta activity 분석을 통한 수면의 질을 평가하여 수면부작용의 유무를 확인할 수 있다.

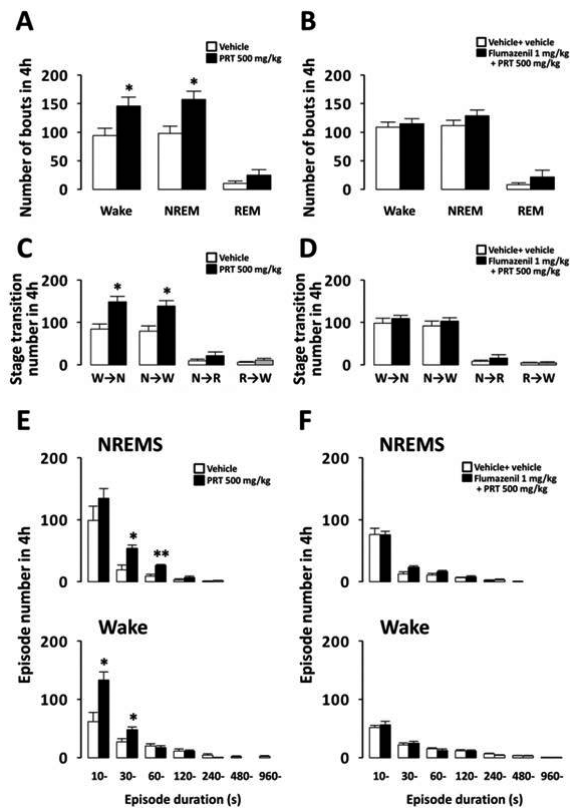
출처: Cho et al., 2012, Bioorg. Med. Chem., 20, 3493-3501 (18)

그림 13. 시간대별 수면 구조의 변화, mean duration 및 EEG power density 분석의 예

여 주간 혹은 야간의 시작 시점부터 측정하는데 주로 설치류의 활동성이 강한 야간시간대의 시작 시점부터 측정한다. EEG의 측정은 외부의 소음이 완벽히 차단된 상태에서 이루어져야 하며, 온도와 습도는 각각 24°C 및 55%가 적당하다.

- 4) 수면 구조 및 프로파일 분석은 그림 10과 같이 fast Fourier transform(FFT) 알고리즘에 의해 이루어지며, 보통 10초 단위로 wakefulness (Wake, W), rapid eye movement (REM, R) 수면, non-rapid eye movement (NREM, NR) 수면으로 구분한다(그림 11).

REM 수면은 안구가 빠르게 움직이는 상태의 수면을 뜻하는 것으로 이 단계에서 꿈을 꾸기 때문에 꿈 수면이라고도 한다. 수면 중에도 깨어있는 뇌파가 나타나 역설수면(paradoxical sleep)이라고도 한다. NREM 수면은 안구가 움직이지 않는 수면을 말하는데 이 단계에서 델타파가 나타나며 깊은 수면이 이루어진다. 보통 NREM 수면은 깊이에 따라 1-3 단계 또는 1-4 단계로 구분하기도 한다. 깊은 수면인 3-4 단계를 slow-wave sleep이라고도 한다. 설치류인 마우스 또한 인간과 마찬가지로



Characteristics of sleep-wake episodes caused by PRT and flumazenil. Data shown are means \pm SEM (n = 6). *p < 0.05, **P < 0.01, compared with vehicle (unpaired Student's t-test).

- 1) 본 그래프는 Number of bouts, stage transition number 및 episode number를 나타낸 것이다.
- 2) 시료처리군 NREM과 Wake의 bouts의 수를 증가시켰고 wake (W)에서 NREM sleep (N)으로 그리고 N에서 W로 변환되는 횟수가 증가되었으며 또한 30-50초 및 60-110초 동안 NREM 수면을 유지한 episode number가 증가하였고 10-20초 및 30-50초 동안 wake를 유지한 episode number도 증가함을 확인할 수 있었다.
- 3) 이러한 경향들은 dark phase 동안에 이루어져야 할 wakefulness의 유지를 방해한다는 것을 의미하며 이는 수면을 증진시켰음을 의미한다(19).
- 4) Number of bouts, stage transition number 및 episode number 모두 flumazenil에 의해 수면증진 효과가 억제되어 나타나 시료가 GABA_A-benzodiazepine 수용체에 작용하여 수면을 증진시킨다는 것을 확인할 수 있었다.
- 5) 본 실험을 통하여 수면증진 효과 및 작용기작을 확인할 수 있다.

그림 14. Number of bouts, stage transition number 및 episode number 분석의 예

이러한 수면 구조를 가지고 있어 동물실험으로 분석이 가능하다. EEG/EMG를 이용한 수면 구조 및 프로파일 분석에는 SleepSign (Kissei Comtec Co., Ltd., Japan)이 가장 널리 이용되고 있다. 실험동물의 수면단계는 아래와 같은 특징을 가지고 있다.

- NREM sleep: low-frequency (0.5-4 Hz), high-amplitude EEG with low amplitude EMG
- REM sleep: mostly of theta waves (6-10 Hz), low-amplitude with low to medium EMG
- Wake: high-frequency (>10 Hz), low-amplitude EEG with medium to high EMG

측정된 EEG/EMG는 이러한 특징들로 분류되어 각 단계별 수면 시간, 시간대별 수면 시간, 입면 시간, EEG power density, NREM delta activity 등으로

다양하게 분석된다. 수면 구조 및 프로파일 분석결과들을 그림 12-14에 나타내고 간략한 설명을 첨부하였다.

6. 인체적용시험

식품의 수면증진 기능성 평가를 인체적용시험을 통해 진행할 때에는 고려해야 할 사항이 많다. 수면장애의 원인이 여러 가지이고 그 원인에 따라 수면장애의 진단이 달라지며, 기능성 식품으로써 적합한 수면장애 대상자를 선정하여 타당한 연구 방법으로 효능을 검증해야 하기 때문이다. 본고에서는 수면증진 기능성 식품의 인체적용시험을 위한 대상자 선정 시 고려해야 할 점과 기능성 평가

표 2. Insomnia definition

ICSD-2 General Criteria for Insomnia:

1. A complaint of difficulty initiating sleep, difficulty maintaining sleep, or waking up too early or sleep that is chronically unrestorative or poor in quality.
In children, the sleep difficulty is often reported by the caretaker and may consist of observed bedtime resistance or inability to sleep independently.
2. The above sleep difficulty occurs despite adequate opportunity and circumstances for sleep.
3. At least one of the following forms of daytime impairment related to the nighttime sleep difficulty is reported by the patient: fatigue or malaise; attention, concentration, or memory impairment; social or vocational dysfunction or poor school performance; mood disturbance or irritability; daytime sleepiness; motivation, energy, or initiative reduction; proneness for errors or accidents at work or while driving; tension, headaches, or gastrointestinal symptoms in response to sleep loss; concerns or worries about sleep.

DSM-IV-TR Criteria for Primary Insomnia:

1. The predominant complaint is difficulty initiating or maintaining sleep, or nonrestorative sleep, for at least 1 month.
2. The sleep disturbance (or associated daytime fatigue) causes clinically significant distress or impairment in social, occupational, or other important areas of functioning.
3. The sleep disturbance does not occur exclusively during the course of Narcolepsy, Breathing-Related Sleep Disorder, Circadian Rhythm Sleep Disorder, or a Parasomnia.
4. The disturbance does not occur exclusively during the course of another mental disorder (e.g., Major Depressive Disorder, Generalized Anxiety Disorder, a delirium).
5. The disturbance is not due to the direct physiological effects of a substance (e.g., a drug of abuse, a medication) or a general medical condition.

ICD-10 Criteria for Nonorganic Insomnia:

A condition of unsatisfactory quantity and/or quality of sleep, which persists for a considerable period of time, including difficulty falling asleep, difficulty staying asleep, or early final waking. Insomnia is a common symptom of many mental and physical disorders, and should be classified here in addition to the basic disorder only if it dominates the clinical picture.

출처: Mai and Buysse, 2008, Sleep Med. Clin., 3, 167-174 (20)

방법에 대해 살펴보고자 한다.

6.1 대상자 선정

수면장애를 구분하는 기준에는 국제수면장애분류(International Classification of Sleep Disorder, ICSD-2, 2005), 미국 정신의학회가 발행한 정신장애 진단 및 통계 편람 제4판(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-IV-TR, 2000), 그리고 세계보건기구(WHO)의 ICD-10(International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 1992)이 있다(20). 이 중 현재임상에서 널리 사용되고 있는 DSM-IV의 분류기준으로 수면장애의 종류를 살펴보면, 수면장애를 원발성(일차성) 수면장애, 다른 정신장애와 관련이 있는 수면장애, 기타 수면장애로 분류하고 있다. 이 중에서도 원발성 수면장애는 수면이상(dyssomnia)과 수면수반증(parasomnia)으로 구분된다. 수면이상의 경우 불면증(insomnia), 과다수면증(hypersomnia), 기면병(narcolepsy), 수면 무호흡증(sleep apnea), 일주기 리듬수면장애 등으로 세분화되며, 수면수반증의 경우에는 악몽, 야경증, 몽유증 등으로 나눌 수 있다(21). 또한 기타 수면장애의 경우에는 신체질환 또는 물질-유발성의 수면장애를 말한다. 이처럼 수면장애는 수면 중 나타나는 이상증상이나 잠재적 위험까지 포괄하기 때문에 그 종류가 다양하고 범주가 매우 광범위한데, 이러한 수면장애들 중 기능성식품으로 적용이 가능한 수면장애는 원발성 수면장애 중 불면증(insomnia)이라 할 수 있다.

불면증(insomnia)이란 입면 또는 수면 유지의 어려움, 일어나는 것과 원기회복의 어려움 그리고 낮 동안의 기능저하 등의 증상이 뚜렷한 신체적 또는 정신적 상태와는 관계없이 발생하는 것이 특징으로 가장 흔하고 널리 알려진 수면장애이다(20). 하지만 불면증으로 진단을 받은 환자의 경우 그 증상에 차이가 크고 전문가의 처방에 의한 장기 치료가 필요한 경우가 많기 때문에 모든 불면증환

자가 수면증진 기능성 식품인 체적용시험의 대상자가 될 수 없다. 국내에서는 아직 수면증진 기능성식품의 인체적용시험을 위한 가이드라인이 없는 상태이므로 식품을 이용한 임상시험의 선행연구를 잘 고찰해 보고 대상자 선정기준을 설정하는 것이 필요하다. 수면 관련 임상연구들을 살펴보면, 불면증 진단 기준에 근거한 전문의의 수면장애 여부 판단과 수면의 질을 측정 도구를 통한 수면장애 상태를 종합하여 대상자 선정기준을 설정하고 있다. 여기서 주의깊게 살펴보아야 할 점은 기능성 식품의 인체적용시험일 경우에는 불면증의 진단 기준과 수면장애 상태 기준 모두를 대상자 선정 기준의 필수 사항으로 적용하지 않는다는 점이다. 그 이유는 의약품이 필요할 수 있는 대상자를 기능성 식품의 인체적용시험대상자로 선정하는 것은 임상윤리적으로 문제가 될 수 있고 기능성 식품이 가질 수 있는 효능의 범위가 고려되었기 때문일 것으로 사료된다.

6.2 기능성 평가방법

수면증진 기능성 평가를 위한 가장 중요한 지표(바이오마커)는 수면의 질을 측정하는 것이다. 수면의 질을 측정 방법으로는 수면다원검사와 같은 객관적 평가 방법과 자가 보고 형식의 설문지와 수면일지 등의 주관적 평가 방법이 있다(22). 수면다원검사는 수면과 관련된 여러 가지 생리적인 지표기록을 통해 수면 생리에 대한 정보를 제공하며 전문가의 해석 작업이 필요하다. 자가 보고 형식의 설문지의 경우 대부분이 외국어로 개발되었기 때문에, 이를 평가 도구로 사용할 때에는 신뢰도와 타당도가 입증된 한국어 번역본을 선택하는 것이 중요하다. 이러한 도구를 이용한 선행 연구를 살펴보면, 수면의 질이 개인의 건강상태 및 삶의 질과 중요한 상관관계가 있으며(23, 24), 수면에 대한 주관적 평가와 객관적 평가에 대한 연구결과에서 불면증에 대한 주관적 평가와 수면다원검사상의 객관적 평가간에 유의한 관계가 없다는 점과

(25), 수면의 문제가 있는 대상자가 실제 수면다원 검사를 통해 확인된 결과보다 본인의 증상을 과대평가하는 경향이 있음(26)을 알 수 있다. 따라서 수면의 질을 측정하고자 할 때에는 대상자와 연구 환경, 그리고 연구목적에 따라서 주관적인 평가 방법과 객관적인 평가 방법을 통한 수면 생리 부분을 구분하여 지표를 결정해야 하며, 이 두 가지를 다각적으로 평가하는 것도 고려해 보아야 할 것이다(27). 수면 임상연구에 사용하고 있는 대표적인 수면 평가 도구를 살펴보면 다음과 같다.

수면다원검사(Polysomnography, PSG)

수면다원검사는 수면상태의 생리적 변화를 연속으로 기록할 수 있는 임상신경생리학 검사방법으로 대개는 하루 밤 동안에 걸쳐 뇌파, 안전도, 근전도 등의 신경생리, 심장 및 호흡기, 기타 생리적, 신체적 변인들을 동시에 기록하게 된다. 수면다원검사는 포괄적이고 정확한 수면 양상을 살펴볼 수 있어 가장 신뢰도와 타당도가 높은 객관적 측정 방법으로 사용되고 있다(28). 하지만 수면다원검사는 비용이 많이 들고, 특정한 장치와 장소가 필요하기 때문에 많은 대상자수로 진행해야 하는 임상연구에서는 적용하기에 어려움이 있다.

피츠버그 수면의 질 평가 도구(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)

피츠버그 수면의 질 평가 도구는 국내외적으로 가장 널리 사용하고 있는 도구 중 하나로 총 19문항으로 이루어진 자가 보고 형식의 설문지이다. 지난 한 달간의 수면시간과 입면에 걸리는 시간(sleep latency), 주관적인 수면의 질(subjective sleep quality), 수면 지속시간(sleep duration), 일상적인 수면의 효율성(habitual sleep efficiency), 수면과 관련된 문제(sleep disturbance), 수면 약물 사용(use of sleeping medication), 낮동안의 기능 부전(daytime dysfunction) 등 7개의 구성요소로 평가할 수 있다.

추가로 함께 사는 사람이 측정하는 5문항은 포함시키지 않고 임상정보를 얻는데 활용한다. 총점은 각 문항의 점수화 방법에 따라 0~21점 사이가 되며, 5점 이상인 경우 '수면 문제있음'으로 판별한다(28, 29).

리즈 수면 평가 설문지(Leeds Sleep Evaluation Questionnaire, LSEQ)

리즈 수면 평가 설문지는 총 10가지 문항으로 이루어져 있고, 각 문항은 양극단에 반대가 되는 구절이 쓰여있는 Visual Analog Scale(VAS)로 측정한다. 잠드는 양상, 수면의 질, 깨는 양상, 깬 후의 행동 등 수면과 관련된 4 영역에 관하여 질문한다. 이 설문지는 주로 약물의 효과를 평가하는 연구에서 활용해 왔는데, 선행 약물효과를 본 연구를 살펴보면 영역별로 똑같은 효과를 나타내지는 않는 것으로 나타나 설문 전체점수로 수면상태의 변화를 보기보다는 각 영역별로 분리하여 측정하는 것이 바람직하다(29, 30).

수면일지(Sleep diaries)

수면일지는 일상적인 수면습관을 기록하는 것으로 수면 각성시간, 수면 지속시간과 매일의 수면-각성시간의 변화에 대해 정보를 얻을 수 있다. 수면일지는 불면증을 진단하는 용도는 아니며, 임상에서는 1-2주간의 수면일지 작성을 통해 환자의 수면-각성시간의 변화를 추적하는데 이용한다(20, 22).

7. 결론

OECD 국가 중 자살률 1위라는 불명예를 가지고 있는 우리나라는 우울증과 스트레스가 만연하고 있으며, 가장 빠르게 고령화되어가고 있다. 우울증과 스트레스는 불면증을 유발하고, 불면증은 노인 건강에 있어서 우울증과 함께 가장 큰 문제



가 되고 있다. 미국의 경우는 1990년에 국립수면 재단(National Sleep Foundation)을 설립하여 수면의 중요성에 대해 국민들에게 지속적으로 홍보하고 있다. 하지만 우리나라의 경우 아직 정부차원에서 수면에 대한 중요성을 비중있게 인식하고 있지 못한 실정이다. 최근에는 웰빙과 로하스에 이어 힐링이 트렌드로 떠오르면서 건강한 수면에 대한 관심도 크게 증가하고 있다. 비단 불면증의 증가뿐만 아니라 건강한 수면을 통한 건강 증진을 위해서라도 수면에 대한 중요성은 앞으로 더욱 부각될 것으로 전망된다.

수면장애의 증가와 건강한 수면에 대한 사회적 요구로 인해 국내에서도 최근 수면과 관련된 식품들이 출시되고 있으며, 이미 해외시장에서 널리 판매되고 있는 제품들을 수입하고자 하는 업계의 움직임도 활발하다. 현재까지 식품의약품안전처로부터 수면증진과 관련된 기능성을 인정받은 사례가 없으며, 현재 출시된 몇몇 제품들은 수면과 관련된 직접적인 클레임 없이 제품명과 마케팅을 활용해 판매되고 있다. 이미 소비자들은 수면을 증진시키거나 불면증에 도움을 얻고자 이들 식품을 구입하고 있기 때문에 이에 대한 객관적인 바이오마커를 설정하고 효능을 평가하여 개별인정형 건강기능식품이라는 제도권으로 들여와 관리할 필요성이 대두되고 있다. 해외의 기능성식품 제도 및 현황을 볼 때, 과학적이고 객관적인 평가 체계가 갖추어진다면, 수면증진 기능성도 충분히 개별인정 등록이 가능할 것으로 판단된다.

지금까지 국내 식품 또는 제약업체들의 경우 수면에 도움이 된다고 이미 알려진 식물 추출물이나 성분들을 조합하여 제품을 개발하고 있으며, 효능 평가를 통한 자체적인 연구개발은 드문 실정이다. 따라서, 본고의 언급한 방법 및 내용이 국내업체들의 수면증진 기능성 식품연구개발에 있어 미약하나마 좋은 정보가 되었으면 하는 바램이다. 흔히, 건강하기 위해서는 잘 먹고 잘 자야 한다는 말이 있다. 지극히 상식적이고 일상적인 말이지만 우리는 그동안 잘 먹는 것에만 관심을 가져온 것

은 아닐까 싶다. 이제는 잘 자는 것에 대한 관심이 필요한 때인 것 같다.

참고문헌

- (1) Krueger JM, Rector DM, Roy S, Van Dongen HP, Belenky G, Panksepp J. Sleep as a fundamental property of neuronal assemblies. *Nat. Rev. Neurosci.* 9: 910-919 (2008)
- (2) Imeri L, Opp MR. How (and why) the immune system makes us sleep. *Nat. Rev. Neurosci.* 10: 199-210 (2009)
- (3) http://en.wikipedia.org/wiki/Sleep_deprivation (2013)
- (4) Doghramji K. The epidemiology and diagnosis of insomnia. *Am. J. Manag. Care.* 12: 214-220 (2006)
- (5) Borja NL, Daniel KL. Ramelteon for the treatment of insomnia. *Clin. Ther.* 28: 1540-1555 (2006)
- (6) Thomas R, Christopher D. Evolution of insomnia: Current status and future direction. *Sleep Med.* 5: S23-S30(2004)
- (7) Claim statements for natural products: The United States market, International Trade Centre (2011)
- (8) Westenhoefer J, Bellisle F, Blundell JE, de Vries J, Edwards D, Kallus W, Milon H, Pannemans D, Tuijelaars S, Tuorila H. PASSCLAIM – Mental state and performance. *Eur. J. Nutr.* 43:II/85–II117 (2004)
- (9) 광노성, 김어지나, 김영래. 건강기능식품개념, 기능성범위 및 표시 광고합리화에 대한 연구. 식약청 및 한국보건사회연구원 정책보고서 (2007)
- (10) China State Food and Drug Administration (<http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0001/>) (2013)
- (11) Cho S, Kim S, Jin Z, Yang H, Han D, Baek NI, Jo J, Cho CW, Park JH, Shimizu M, Jin YH. Isoliquiritigenin, a chalcone compound, is a positive allosteric modulator of GABA_A receptors and shows hypnotic effects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 413: 637-642 (2011)
- (12) Cho S, Yang H, Jeon YJ, Lee CJ, Jin YH, Baek NI, Kim D, Kang SM, Yoon M, Yong H, Shimizu M, Han D. Phlorotannins of the edible brown seaweed *Ecklonia cava Kjellman* induce sleep via positive allosteric modulation of gamma-aminobutyric acid type A-benzodiazepine receptor: A novel neurological activity of seaweed polyphenols. *Food Chem.* 132: 1133-1142 (2012)
- (13) Cho SM, Shimizu M, Lee CJ, Han DS, Jung CK, Jo JH, Kim YM. Hypnotic effects and binding studies for GABA_A and 5-HT_{2C} receptors of traditional medicinal plants used in Asia for insomnia. *J. Ethnopharmacol.* 132: 225-232 (2010)
- (14) Huang F, Xiong Y, Xu L, Ma S, Dou C. Sedative and hypnotic activities of the ethanol fraction from *Fructus Schisandrae* in mice and rats. *J. Ethnopharmacol.*

- 110: 471-475 (2007)
- (15) Huang ZL, Mochizuki T, Qu WM, Hong ZY, Watanabe T, Urade Y, Hayaishi O. Altered sleep-wake characteristics and lack of arousal response to H₃ receptor antagonist in histamine H₁ receptor knockout mice. *PNAS*. 103: 4687-4692 (2006)
- (16) Qu WM, Yue XF, Sun Y, Fan K, Chen CR, Hou YP, Urade Y, Huang ZL. Honokiol promotes non-rapid eye movement sleep via the benzodiazepine site of the GABA_A receptor in mice. *Br. J. pharmacol.* 167: 587-598 (2012)
- (17) Kohtoh S, Taguchi Y, Matsumoto N, Wada M, Huang ZL, Urade Y. Algorithm for sleep scoring in experimental animals based on fast Fourier transform power spectrum analysis of the electroencephalogram. *Sleep Biol. Rhythms*. 6: 163-171 (2008)
- (18) Cho S, Park JH, Pae AN, Han D, Kim D, Cho NC, No KT, Yang H, Yoon M, Lee C, Shimizu M, Baek NI. Hypnotic effects and GABAergic mechanism of licorice (*Glycyrrhizaglabra*) ethanol extract and its major flavonoid constituent glabrol. *Bioorg. Med. Chem.* 20: 3493-3501 (2012)
- (19) Omori K, Kagami Y, Yokoyama C, Moriyama T, Matsumoto N, Masaki M, Nakamura H, Kamasaka H, Shiraishi K, Kometani T, Kuriki T, Huang ZL, Urade Y. Promotion of non-rapid eye movement sleep in mice after oral administration of ornithine. *Sleep Biol. Rhythms*. 10: 38-45 (2012)
- (20) Mai E, Buysse DJ. Insomnia: Prevalence, Impact, Pathogenesis, Differential Diagnosis, and Evaluation. *Sleep Med. Clin.* 3:167-174 (2008)
- (21) 전상희, 장정미. 수면장애에 관한 동서의학적 고찰 및 국내 간호 연구분석. *동서간호학 연구지* 15:43-53 (2009)
- (22) 손연정, 박진희, 윤현경, 김선희. 국내수면질 관련 양적 연구동향 및 측정도구분석. *성인간호학회지* 21:691-704 (2009)
- (23) Briones B, Adams N, Strauss M, Rosenberg C, Whalen C, Carskadon M, Roebuck T, Winters M, Redline S. Relationship between sleepiness and general health status. *Sleep*. 19:583-588(1996)
- (24) Pilcher JJ, Ginter DR, Sadowsky B. Sleep quality versus sleep quantity: relationships between sleep and measures of health, well-being and sleepiness in college students. *J.Psychosom. Res.* 42:583-596 (1997)
- (25) Rosa RR, Bonnet MH. Reported chronic insomnia is independent of poor sleep as measured by electroencephalography. *Psychosom. Med.* 62:474-482 (2000)
- (26) Perlis ML, Giles DE, Mendelson WB, Bootzin RR, Wyatt JK. Psychophysiological insomnia: the behavioural model and a neurocognitive perspective. *J Sleep Res.* 6:179-188 (1997)
- (27) 신수진, 황은희. 불면증을 호소하는 성인의 주관적 수면평가와 객관적수면평가. *대한임상건강증진 학회지* 8:141-149 (2008)
- (28) Buysse DJ, Ancoli-Israel S, Edinger JD, Lichstein KL, Morin CM. Recommendations for a standard research assessment of insomnia. *Sleep*. 29:1155-1173 (2006)
- (29) 최희정, 김성재, 김범중, 김인자. 수면장애연구와 실무를 위한 한국어 자가보고 수면측정도구. *재활간호학회지* 15:1-10 (2012)
- (30) Tarrasch R, Laudon M, Zisapel N. Cross-cultural validation of the Leeds sleep evaluation questionnaire (LSEQ) in insomnia patients. *Hum.Psychopharmacol.* 18:603-610 (2003)