



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0029769
(43) 공개일자 2017년03월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/30 (2006.01) A23L 1/00 (2006.01)
A23L 2/38 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 2/38 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0126769
(22) 출원일자 2015년09월08일
심사청구일자 2015년09월08일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
임순성
강원도 춘천시 후석로 334 포스코 더샵아파트
105-301
권신화
경기도 남양주시 호평로 205-5 중흥2차 아파트
1907-1003
(뒷면에 계속)

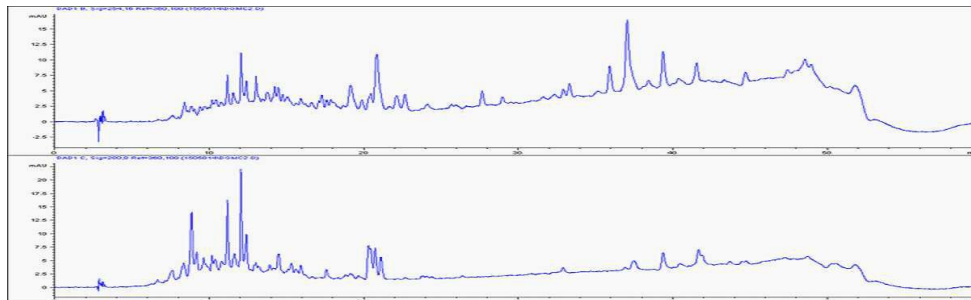
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 아세틸콜린억제 기능을 가지는 으름덩굴추출물 제조방법 및 이를 포함하는 기억력 개선용 식품 조성물

(57) 요약

본 발명은 으름덩굴 추출물을 포함하는 기억력 개선용 식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 으름덩굴 추출물을 포함하는 조성물은 기억력 개선 및 치매와 같은 인지기능 장애의 예방, 개선 및 치료 효과를 나타내는바, 기억력 개선용 식품 등에 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23P 10/00 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

(72) 발명자

이수경

강원도 춘천시 서부대성로 327 동아아파트 102-601

이정미

서울특별시 동대문구 서울시립대로19길 25

이애란

강원도 춘천시 동내면 춘천순환로94번길 12 부영아파트 103-402

전예슬

서울특별시 송파구 양산로8길 8 거여1단지아파트 104-721

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015-D-0026-010100

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업

연구과제명 천연물로부터 아세티콜린에스터라아제 억제 소재 탐색

기 여 율 1/1

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2015.03.01 ~ 2016.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

으름덩굴 추출물의 유효성분으로 포함하는, 기억력 개선 또는 식품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 인지기능 장애는 건망증, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 두부손상에 의한 치매로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 3

상기 건강기능식품은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 으름덩굴 추출물을 포함하는 기억력 개선용 식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 으름덩굴 추출물을 포함하는 조성물은 기억력 개선 및 치매와 같은 인지기능 장애의 예방, 개선 및 치료 효과를 나타내는바, 기억력 개선용 식품 등에 유용하게 사용할 수 있다.

배경 기술

[0002] 사람의 뇌는 대뇌, 소뇌, 중뇌, 간뇌, 연수로 구분된다. 그 중 대뇌와 간뇌로 구성된 전뇌 부분은 정신기능과 창조기능을 관할하며 이곳의 대뇌피질에서 학습과 기억을 담당한다. 두정엽은 머리의 정수리 부분으로 알츠하이머병에서는 이 두정엽 기능이 비교적 초기부터 저하되는 것으로 알려져 있습니다. 측두엽은 뇌의 양 측면의 피질을 말하며 이 부분은 기억력, 학습 능력, 언어 능력 등을 담당하므로 치매에서는 기억력이 떨어지고 언어 표현과 이해 능력이 점차 떨어져가게 되는 원인이 된다. 알츠하이머병과 같은 질병에서는 이 측두엽 부위의 신경세포가 자꾸 죽어서 없어져가는 것이 주요 현상이기 때문입니다.

[0003] 신경전달물질의 하나인 아세틸콜린(acetylcholine: ACh)은 신경세포의 시냅스 크냅의 세포질에서 합성되어 교감 또는 부교감 신경계의 시냅스전 섬유 및 시냅스 후 섬유에서 분비되고, 부교감 신경섬유의 신경절후(postganglion)에 존재하는 무스카린 수용체(muscarin receptor)에 자극신호를 반응시키는 것으로 알려져 있다.

[0004] 아세틸콜린(acetylcholine: ACh)의 기능저하가 치매의 원인으로 작용하는 것으로 보고되어 있다. 아세틸콜린(acetylcholine: ACh)은 아세틸콜린에스테라제(Acetylcholine esterase: AChE)에 의하여 분해되고, choline과 acetyl coenzyme A에서 합성되며 이때 choline acetyltransferase(ChAT)라고 하는 효소가 관계된다. 아세틸콜린은 아세틸콜린에스테라아제라(AChE)는 효소에 의해 분해되므로 아세틸콜린의 수명은 이 효소의 억제제에 의한 것이다. 신경전달 체계인 콜린성 신경계의 기능저하와 인지기능의 손상과 밀접한 관계가 있다는 것이 밝혀지면서 뇌에서 아세틸콜린의 분해효소인 아세틸콜린에스테라아제라(AChE)의 활성을 억제하여 아세틸콜린의 농도를 유지하여 기억력 감퇴 증상을 억제하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 따라서, 아세틸콜린(acetylcholine: ACh)을 생성하는 세포의 퇴행과 아세틸콜린(acetylcholine: ACh)을 분해하는 효소인 아세틸콜린에스테라제(Acetylcholine esterase: AChE)를 억제해야 한다.

[0005] 고령화가 급속히 진행됨에 따라 뇌세포 손상을 동반하는 치매의 일종인 알츠하이머병의 발생률과 유병률이 크게 증가하고 있다. 보건복지부에서 실시한 「2012년 치매 유병률 조사」 결과에 의하면, 급속한 고령화로 치매 유병률은 계속 상승하여 환자수도 2030년에는 약 127만 명, 2050년에는 약 271만 명으로 매 20년마다 약 2배씩 증가할 것으로 추정하고 있다. 치매는 장기간의 치료를 요하는 점과 그 증상의 특성 때문에 생활에 불편함을 주며, 환자의 보호자는 환자의 관리와 보호에 드는 신체적, 심리적, 경제적 부담 또한 크다. 노년인구의 급속한 증가속도와 치매 유병률 추이로 미루어 볼 때, 치매는 사회적, 국가적 해결책이 필요한 과제이다.

[0007] 으름덩굴(*Akebia quinata* (Houtt.) Decaisne)은 으름덩굴과에 속하는 낙엽성 덩굴식물로, 전국 산간지에 산재하고 있으며, 한방에서는 으름덩굴의 줄기를 목통으로 사용하고 있으며 어린잎과 열매는 식용, 뿌리, 가지는 약용으로 쓰인다. 구체적으로 새순과 어린 줄기는 나물로 먹었고, 뿌리, 껍질은 배뇨장애에 효능이 있으며, 열매는 이뇨제, 중풍, 관절염에 효능이 있다. 줄기는 소염성 이뇨제, 소변통, 요도염, 인후통, 정신신경안정제에 효능이 있어 약용으로도 사용되었다.

[0008] 으름덩굴 추출물을 유효성분으로 포함하는 최종당화산물(AGEs) 생성 억제용 피부 외용제 조성물에 대한 연구 및 비만증 치료에 관한 연구 등의 연구가 진행되어 있으나 기억력 개선에 관련해서는 연구된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 예전 같지 않은 기억력 때문에 걱정하는 사람들을 위한 기억력 개선을 위한 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 수행하기 위하여, 본 발명은 으름덩굴 추출물을 포함하는 기억력 개선용 식품 조성물을 제공한다. 또한 으름덩굴 추출물을 포함하는 조성물은 기억력 개선 및 치매와 같은 인지기능 장애의 예방, 개선 및 치료 효과를 나타내는바, 기억력 개선용 식품 등에 유용하게 사용할 수 있다.

[0011] 또한, 정의되는 추출물은 으름덩굴의 잎, 뿌리, 줄기 또는 전초, 바람직하게는 잎의 정제수를 포함한물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매, 바람직하게는 물 또는 물 및 에탄올 혼합용매, 보다 바람직하게는 물 또는 50-99% 물 및 에탄올 혼합용매에 가용한 추출물을 포함한다.

[0012] 이하, 본 발명의 추출물을 수득하는 방법을 상세히 설명한다.

[0013] 본 발명의 추출물은 으름덩굴 가지를 세척, 건조 및 세절하고, 상기 시료 총 중량의 약 10배(w/w)의 정제수를 포함한 물, 주정, 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜, 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물 또는 물 및 에탄올 혼합용매, 보다 바람직하게는 물 또는 70% 물 및 에탄올 혼합용매를 가하여 24시간 동안, 냉침추출법을 수행하여 추출물을 수득하는 제 1단계; 상기에서 얻은 추출물을 여과하고 여과물을 동결 건조시키는 제 2단계의 제조공정을 통하여 본 발명의 추출물을 수득하였다.

[0014] 따라서, 본 발명은 상기의 제조방법으로 얻어진 으름덩굴 추출물을 유효성분으로 함유하는 기억력 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0015] 상기에서 제조된 추출물은 Acetylcholinesterase TLC 발색법을 통한 억제활성 시험, HPLC를 이용한 으름덩굴 추출물의 유효성분 확인, Acetylcholinesterase(AChE) 억제능 시험을 확인하였다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 으름덩굴 추출물은 Acetylcholinesterase(AChE) 억제능 시험 효능을 확인한 바, 기억력 개선 및 치매의 예방에 유용한 약학조성물 및 식품 조성물에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도1은 으름덩굴 70% 에탄올 추출물에서의 Acetylcholinesterase 박층크로마토그램(Thin Layer Chromatography) 발색법을 통한 억제능 시험

도2는 으름덩굴 메틸렌 크로라이드 추출물에서의 Acetylcholinesterase 박층크로마토그램(Thin Layer Chromatography) 발색법을 통한 억제능 시험

도3은 액체크로마토그래피(HPLC) 분석 조건

도4는 액체크로마토그래피(HPLC)를 이용한 으름덩굴 70% 에탄올 추출물의 유효성분 확인 시험

도5는 액체크로마토그래피(HPLC)를 이용한 으름덩굴 메틸렌 크로라이드 추출물의 유효성분 확인 시험

도6는 대조군과 비교하였을 때 으름덩굴 70% ethanol 추출물의 흡광도 증가 억제 그래프

도7는 Acetylcholinesterase(AChE) 억제능 시험(용액법)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0020] 실시예 1. 추출물의 제조

[0021] 으름덩굴 가지 세절한 시료 100g에 10배의 Methylene chloride(메틸렌 크로라이드) 용매로 24시간씩 3회에 걸쳐 추출하였고, 추출 후 시료를 건조하여 70% 에탄올을 사용하여 24시간씩 3회에 걸쳐 실온 침출 추출과정을 수행하였다. 각 추출물을 여과지(Whatman No.6)로 여과하였다. 그 후 에탄올 추출물의 여과액은 45℃에서 감압농축 한 다음 동결 건조하여 으름덩굴 분말 추출물을 제조하였다.

[0023] 실험예 1. Acetylcholinesterase 박층크로마토그램(Thin Layer Chromatography) 발색법을 통한 억제능 시험

[0024] 박층크로마토그램에 시료를 찍은 후 헥산 대 에틸아세테이트 1:1로 전개하여 UV (254, 366 nm)로 관찰 한 뒤, 전개면에 10%의 황산을 분사시켜 100℃에서 건조시켜 band를 확인하였다. Acetylcholinesterase를 모든 시료에 효소가 흥건히 coating 되게끔 뿌린 후 10분간 37℃에서 인큐베이션 하였다. 1-naphthylacetate와 Fast blue를 이용하여 만든 발색제를 충분히 뿌려준 후 37℃에서 인큐베이션하여 활성이 있는 스팟을 확인하였다.

[0025] 발색의 원리는 acetylcholinesterase에 의하여 1-naphthylacetate의 acetate기가 분해되고 생성된 α -naphthol이 fast blue salt B와 반응하여 분홍색을 띄게 된다. 즉 활성물질이 있는 곳에서는 naphthylacetate가 분해되지 못하므로 발색되지 않고 흰색을 띄게 된다.

[0026] 박층크로마토그램 상으로 확인해보았을 때 Methylene chloride(메틸렌 크로라이드) 추출물에서 효과가 있는 것으로 보였으나 Methylene chloride(메틸렌 크로라이드) 추출물에서는 지질 성분이 농축되어 추출되므로 물과 섞이지 않아 효과가 있는 것으로 확인되었다. (도 1, 도 2) 따라서 용액방법으로 실시하였다.

[0038] 실험예 2. HPLC를 이용한 으름덩굴 추출물의 유효성분 확인 시험

[0039] 으름덩굴 10mg을 1ml의 HPLC용 MeOH에 녹인 후 Dionex HPLC를 이용하여 유효성분을 확인하였다. 사용한 칼럼은 Agilent Eecipse XDB C-18 5um(4.6×150mm)이며, A는 0.1% TFA(트리플루오르 아세트산), B는 MeOH(Methanol)으로 하였으며 주입은 10ul의, 흘림 속도(flow)는 0.7ml/분으로 하였으며 총 50분 분석하였다. 그리고 파장은 254, 280nm으로 설정하였으며, 분석의 조건은 아래의 표1. 와 같이 설정하였다. (도 3)

[0040] 으름덩굴 Methylene chloride(메틸렌 크로라이드) 추출물, 70% ethanol 추출물의 HPLC 그래프 확인 (위: 254nm, 아래 : 280nm)하였다. 70% ethanol 추출물의 HPLC 측정 결과 19분의 peak가 주요 성분으로 확인되었다. (도 4)

[0042] 실험예 3. Acetylcholinesterase(AChE) 억제능 시험(용액법)

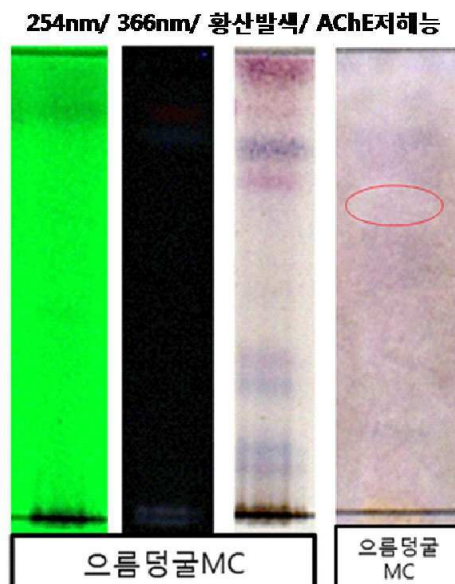
[0043] 본 발명에 따른 으름덩굴 추출물의 아세틸콜린에스테라제의 저해 활성을 확인하기 위해 760 μ l의 100 mM 인산 나트륨(sodium phosphate) 버퍼(pH 8.0)와 다양한 농도(0.10, 0.50, 1.00mg/ml)의 70% 에탄올 추출물 및 Methylene chloride(메틸렌 크로라이드) 추출물 시료를 각각 90 μ l 넣고, 10 μ l의 아세틸콜린에스테라제(6U/mL)를 잘 섞은 후 20 μ l DTNB(20mM) 및 20 μ l ATCh(10mM)을 첨가하여 효소 반응을 시작하였다. 아세틸콜린에스테라제의 아세틸콜린 분해정도는 412nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. (도 6)

[0044] 억제율(%)은 $= \{[(A-B)-(C-D)]/(A-B)\} \times 100$ 으로 계산하였으며, 여기에서 A는 AChE만 존재할 때의 흡광도, B는 AChE와 시료 모두가 부재할 때의 흡광도, C는 AChE와 시료 모두가 존재할 때의 흡광도, D는 시료만 존재할 때의 흡광도이다.

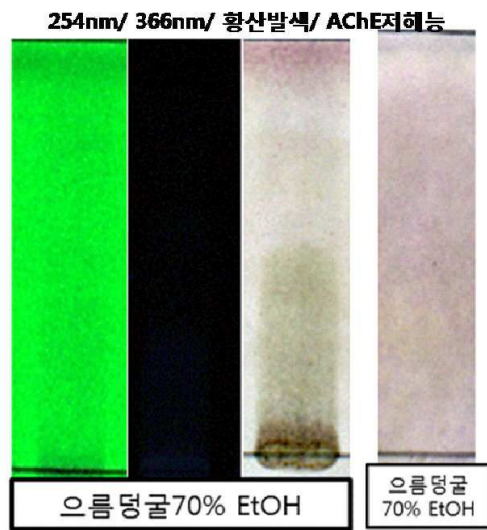
[0045] 추출용매로 하여 추출한 두 추출물을 시료 용액으로 사용하여 아세틸콜린에스테라제의 억제정도를 확인한 결과, 도 7에서와 같이 메틸렌 크로라이드 추출물에서 활성이 보이지 않았으며, 70% 에탄올 추출물에서 농도 의존적으로 높은 아세틸콜린에스테라제의 억제효과를 보이는 것을 확인할 수 있었다.

도면

도면1



도면2

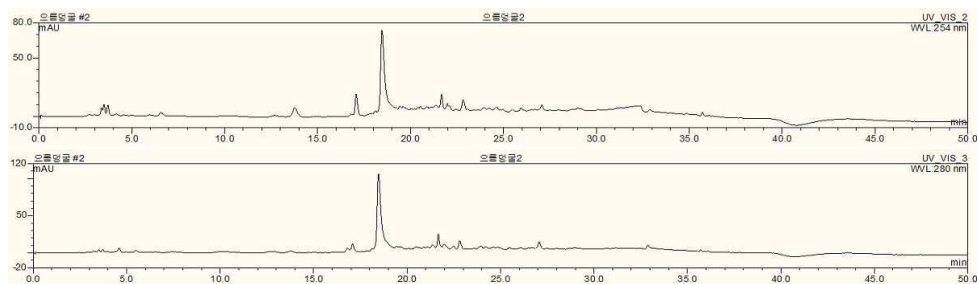


도면3

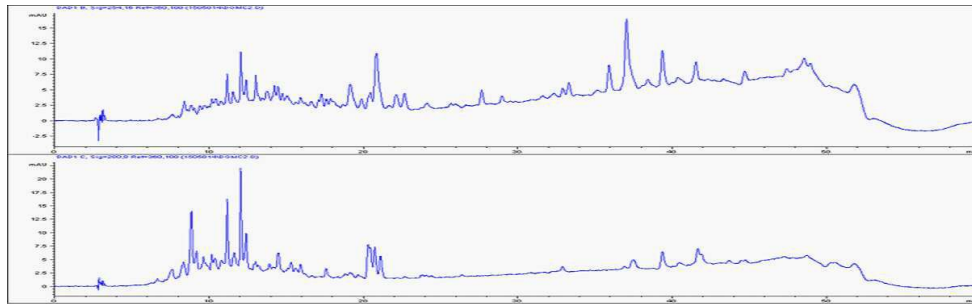
표 1. 분석 조건

Time	A - 0.1% TFA	B - MeOH
0	100	0
5	100	0
10	90	10
15	70	30
25	50	50
35	0	100
40	100	0
50	100	0

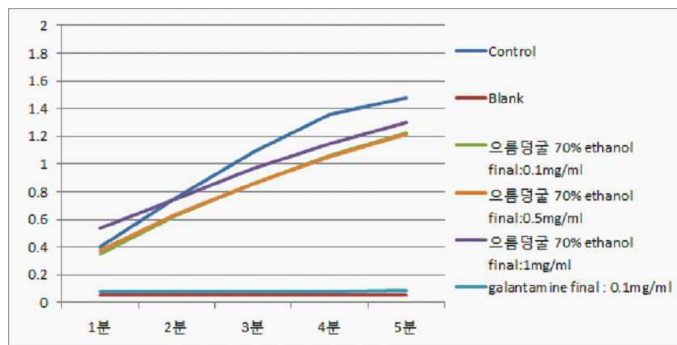
도면4



도면5



도면6



도면7

시료	농도 (mg/ml)	억제율 (%)	50퍼센트 억제되는 농도 (mg/ml)
갈란타민(대조군)	0.01	78.35	0.00431
	0.005	43.73	
	0.001	16.47	
으름덩굴 MC추출물	0.5	36.35	-
으름덩굴 70% Ethanol 추출물	0.5	51.32	0.43
	0.1	29.53	
	0.05	18.32	