



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0140765
(43) 공개일자 2017년12월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/81 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/81 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0050708
(22) 출원일자 2017년04월19일
심사청구일자 2017년04월19일
(30) 우선권주장
1020160073221 2016년06월13일 대한민국(KR)

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
임윤숙
서울특별시 동대문구 제기로 131, 105동 2004호 (청량리동, 한신아파트)
이원우
서울특별시 강남구 삼성로51길 37 (대치동, 래미안 대치 팰리스(1단지))
(74) 대리인
특허법인 하나
(뒷면에 계속)

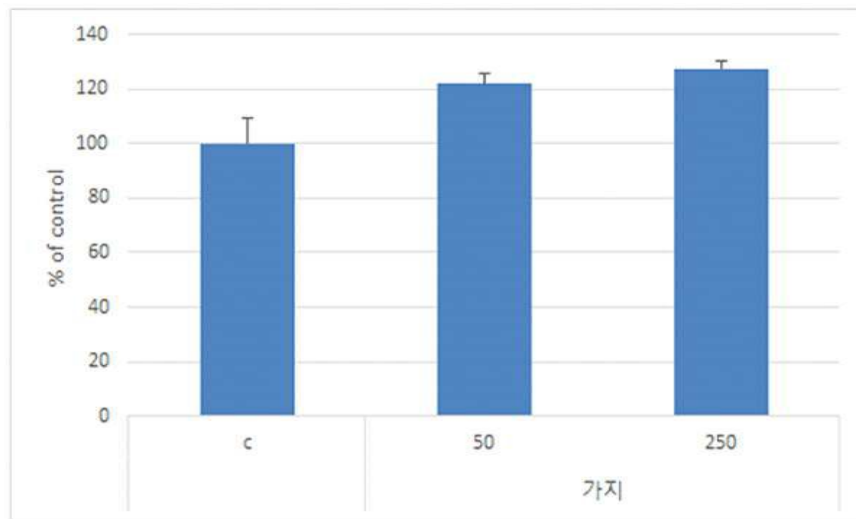
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 가지 추출물을 유효성분으로 함유하는 수명 연장용 조성물

(57) 요약

본 발명의 일 실시예는 가지 추출물을 유효성분으로 포함하는 수명 연장용 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/302 (2013.01)

(72) 발명자

이택환

경기도 양주시 남면 감악산로489번길 26

이윤우

서울특별시 강남구 삼성로51길 37 (대치동, 래미안
대치 팰리스(1단지))

박용운

서울특별시 동작구 장승배기로 134-1 (노량진동)

최가원

서울특별시 강남구 삼성로 151 (대치동, 선경아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

가지 추출물을 유효성분으로 포함하는 수명 연장용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 가지 추출물의 농도가 10 μ g/mL 내지 300 μ g/mL인 수명 연장용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

SOD(superoxide dismutase)의 활성을 증대시키는 수명 연장용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

SIRT1(Sirtuin 1)의 활성을 증대시키는 수명 연장용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 가지 추출물이 효모의 세포 생존능 또는 증식능을 촉진시키는 수명 연장용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 추출 용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물인 수명 연장용 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

약학 조성물 또는 식품 조성물인 수명 연장용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 가지 추출물을 유효성분으로 함유하는 수명 연장용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 항산화 효소를 활성화시킴으로써 수명 연장 효과를 구현할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 과학기술의 발전에 따라 인간의 수명을 연장시키고자 하는 시도가 지속적으로 이루어지면서 생명 연장 과학(life extension science) 분야가 급속도로 조명 받고 있다.

[0003] 이러한 생명 연장 과학과 관련하여 종래에는 항노화와 관련된 연구가 주를 이루었으나, 최근 역노화(reverse aging)와 같이 보다 적극적으로 생명을 연장시키기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 조직재생, 줄기세포, 재생의학, 분자재생, 인공장기와 같은 분야는 이러한 역노화를 대변하는 과학기술 분야에 해당한다고 할 수 있

다.

- [0004] 일각에서는 영양물질, 피부케어, 호르몬요법과 같은 방법을 이용하여 보조적으로 생명 연장을 달성할 수 있다는 전제 하에 지속적인 연구를 수행하고 있으며, 이와 관련하여 미국에서만 연간 500억 규모의 시장이 형성되어 있다.
- [0005] 그러나, 인간의 수명을 연장하기 위한 보조적인 수단이 효과적인지 아직까지 불명확하고, 연구를 진행함에 있어 필연적으로 희생되는 다수의 생물에 대한 윤리적 문제도 상존한다.
- [0006] 또한, 최근 미국 텍사스 대학교에서는 쥐를 대상으로 항생제인 라파마이신(rapamycin)의 수명 연장 효과와 관련된 연구를 수행한 결과, 라파마이신이 인간의 수명을 최대 142세까지 연장할 수 있다는 결과를 제시한 바 있다.
- [0007] 다만, 상기와 같은 라파마이신의 효과에도 불구하고 이를 투여한 실험군의 경우, 신체 길이와 수컷의 생식기 길이가 감소하였고 시력이 감퇴하거나 당뇨가 발병하는 등의 치명적인 부작용이 수반되었기 때문에 임상적인 응용에는 아직까지 한계점이 존재한다.
- [0008] 이와 같이, 인간의 수명을 연장하는 합성 화합물에 대한 연구는 치명적인 부작용을 야기할 수 있기 때문에, 이러한 부작용의 발생 확률이 현저하게 낮은 천연물 대상 연구의 필요성이 대두되고 있다.
- [0009] 한편, 노화의 기전을 설명하는 유력한 학설인 자유라디칼 이론(free radical theory)은 신진대사 과정에서 생성된 활성산소가 다른 분자들과 반응하여 세포구조를 손상시킴으로써 노화를 일으키게 된다는 이론이다.
- [0010] 이에 따르면, 인간은 태어날 때부터 영양소의 산화, 에너지 생성 등의 대사과정을 반복하고 체내에 활성산소를 축적하여 나이가 들면서 세포 대사 이상 내지 돌연변이 세포 증가에 따라 암이나 각종 만성질환이 발병하게 된다.
- [0011] 또한, 활성산소에 의한 산화적 스트레스가 각종 질환이나 노화의 원인이 된다는 연구결과가 지배적이며, 이에 따라 이러한 산화적 스트레스를 억제할 수 있는 항산화제의 중요성이 대두되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 목적은 우수한 수명 연장 효과를 나타내면서도 부작용을 최소화시킬 수 있는 천연물 유래의 항산화 물질을 유효성분으로 포함하는 수명 연장용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명의 일 측면은 가지 추출물을 유효성분으로 포함하는 수명 연장용 조성물을 제공한다.
- [0014] 일 실시예에 있어서, 상기 가지 추출물의 농도가 10 μ g/mL 내지 300 μ g/mL일 수 있다.
- [0015] 일 실시예에 있어서, 상기 조성물이 SOD(superoxide dismutase)의 활성을 증대시킬 수 있다.
- [0016] 일 실시예에 있어서, 상기 조성물이 SIRT1(Sirtuin 1)의 활성을 증대시킬 수 있다.
- [0017] 일 실시예에 있어서, 상기 가지 추출물이 효모의 세포 생존능 또는 증식능을 촉진시킬 수 있다.
- [0018] 일 실시예에 있어서, 상기 추출 용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0019] 일 실시예에 있어서, 상기 조성물이 약학 조성물 또는 식품 조성물일 수 있다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명의 일 측면에 따르면, 천연물인 가지의 추출물을 식품 내지 약학 조성물로 이용함으로써 인공적인 화합물에 의해 발생할 수 있는 부작용을 최소화하면서도 조성물의 수명 연장 효과를 향상시킬 수 있다.
- [0021] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물의 함량이 생 이스트 증식물에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물의 함량이 야생 효모 증식물에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물 및 글루코오스 함량이 효모 증식물에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물의 함량이 항산화 효소 활성화에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물이 칼로리 제한에 따른 세포 생존 능력에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 6 및 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물이 UVB 조사에 따른 세포 생존 능력에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물이 UVB 조사에 따른 활성 산소종 생성량에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물이 Sirt1 효소 활성화에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.
- 도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 가지 추출물 및 다른 식물 추출물의 처리에 따른 효모 증식률을 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0024] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0025] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.
- [0026] 이하, 본 발명의 실시예를 상세히 기술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 한정되지 아니함은 자명하다.
- [0027] 본 발명의 일 측면에 따른 수명 연장용 조성물이 가지 추출물을 유효성분으로 포함할 수 있다.
- [0028] 상기 "수명 연장"은 자연적인 경우에 비해, 개체의 수명을 더 장기간으로 연장하는 것을 의미한다. 예컨대, 상기 "수명 연장"은 유전적 요인과 같은 선천적 또는 후천적 요인에 의해 정해지는 개체의 수명을 연장하는 것을 의미할 수 있다. 구체적으로 상기 "수명 연장"은 개체의 유전적 요인에 의해 발생하는 수명을 제어하는 요인, 예컨대 관련 유전자의 발현 정도, 관련 단백질의 생성 정도를 적절히 제어하여 개체의 수명을 연장하는 것일 수 있고, 환경 등과 같은 후천적 요인에 의해 발생하는 수명 제어 요인을 적절히 제어하여 개체의 수명을 연장하는 것을 포함할 수 있다. 예컨대, 본 명세서에서 상기 "수명 연장"은 생물의 자연적인 죽음의 시기를 지연시키는 것을 의미할 수 있다.

- [0029] 상기 가지(*Solanum melongena*)는 쌍떡잎식물 통화식물목 가지과의 한해살이풀로, 인도 원산이며 열대에서 온대에 걸쳐 재배하고, 열매가 달걀의 형상을 하고 있어 Eggplant라고도 호칭된다.
- [0030] 상기 가지는 다양한 원예품종이 있으며, 각 품종은 세포 유전학적으로 유사하여 잡종의 제도가 용이하다. 또한, 1대 잡종은 세력이 왕성하고 질병에 강할 뿐만 아니라 수확량이 많고 교배 또한 간단하므로 그 이용률이 높은 특징이 있다.
- [0031] 가지의 껍질은 폴리페놀 화합물에 해당하는 자색의 안토시아닌계 색소를 다량 함유하고 있다. 상기 폴리페놀은 분자 내에 하이드록시기(hydroxyl group)를 2개 이상 포함하여 DNA, 단백질 등이 활성산소에 노출되어 손상되는 것을 방지하는 효과가 우수하다.
- [0032] 또한, 상기 가지 추출물은 인체 내의 항산화 물질인 SOD(superoxide dismutase)의 활성을 증대시킬 수 있다. 상기 SOD는 인체 내에서 생성되는 초과산화물(superoxide)과 같은 활성산소에 의한 노출에 따른 세포, 조직의 손상을 방지하는 기능을 수행한다.
- [0033] 상기 SOD는 인체 내에서 구리/아연 SOD(copper/zinc SOD)와 망간 SOD(manganese SOD)의 두 종류로 존재하며, 이들은 각각 세포질과 미토콘드리아에서 활성산소에 의한 손상을 방지함으로써 항산화 및 항염증의 기능을 수행한다.
- [0034] 즉, 상기 가지 추출물은 그 자체로 항산화제로 기능할 뿐만 아니라 인체 내에 존재하는 항산화 물질의 활성을 증대시키므로 그 효율이 배가될 수 있다.
- [0035] 또한, 상기 가지 추출물은 인공 화합물과는 달리 천연물 유래의 항산화 물질을 그대로 이용하는 것이므로, 이의 섭취 내지 투여에 따른 치명적인 부작용의 발생을 최소화할 수 있다.
- [0036] 한편, 추출 공정에 있어서 용매의 종류는 특별히 한정되지 않으며, 필요에 따라 다양한 용매를 사용할 수 있다. 또한, 상기 추출은 상기 용매를 사용하여 냉침, 온침, 가열 등 당해 기술 분야의 통상적인 방법이 사용될 수 있다.
- [0037] 이에 따라, 상기 가지 추출물이 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 추출 용매로 하여 추출될 수 있고, 바람직하게는 물을 추출 용매로 사용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0038] 상기 추출 용매로 물을 사용하는 경우, 안전성을 높일 수 있을 뿐만 아니라, 인체에 무해하기 때문에, 식품이나 의약품의 조성물로 사용하기에 우수한 적합성을 나타낼 수 있으며, 안전성 확보를 위한 엄격한 공정 관리와 같은 비용 증가가 발생하지 않으므로 경제적 효과 또한 우수하다. 따라서, 상기 수명 연장용 조성물은 약학 조성물 또는 식품 조성물일 수 있다.
- [0039] 상기 수명 연장용 조성물이 약학 조성물인 경우 통상적인 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0040] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0041] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.
- [0042] 상기 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 가지 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제, 예컨대, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 또는 젤라틴 등을 혼합하여 조제할 수 있다. 상기 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트, 탈크 같은 윤활제가 사용될 수도 있다.
- [0043] 상기 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있으며, 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0044] 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 사용될 수 있다. 상기 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르가 사용될 수 있다. 상기 좌제의 기제로는 위캡슐

(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이 사용될 수 있다.

- [0045] 상기 가지 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양이 대상체에 투여될 수 있다. 상기 “약제학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0046] 상기 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 바람직하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0047] 상기 수명 연장용 조성물이 식품 조성물인 경우 상기 식품은 육류, 스낵류, 낙농제품, 음료수 등을 예시할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며, 통상적인 건강기능식품을 모두 포함하는 개념으로 이해될 수 있다.
- [0048] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.
- [0049] 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다. 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.
- [0050] 상기 건강기능식품은 수명 연장을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.
- [0051] 상기 건강기능식품은 대상의 수명 연장을 목적으로, 전체 중량 대비 1.0 내지 10.0 중량%의 상기 수명 연장용 조성물을 포함할 수 있다. 상기 수명 연장용 조성물이 1.0 중량% 미만이면 수명 연장 효과가 충분히 구현되지 않을 수 있고 10.0 중량% 초과이면 제품 본연의 품질이 구현되지 않거나 비용 효율이 저하될 수 있다.
- [0052] 또한, 상기 건강기능식품은 대상의 수명 연장을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캡셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.
- [0053] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 가지 추출물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 고미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.
- [0054] 상기 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 가지 추출물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 가지 추출물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0055] 상기 환 형태의 건강기능식품은 가지 추출물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0056] 상기 과립형태의 건강기능식품은 가지 추출물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 고미제 등을 함유할 수 있다.
- [0057] 또한, 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 고미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.
- [0058] 한편, 상기 가지 추출물은 그 농도를 적절한 범위로 조절하여 사용할 수 있고, 구체적으로 상기 가지 추출물의 농도가 10 μ g/mL 내지 300 μ g/mL일 수 있다. 상기 농도가 10 μ g/mL 미만이면 상기 조성물에 포함된 가지 추출물의

함량이 과소하여 수명 연장 효과가 미약할 수 있고, 300 μ g/mL 초과이면 제형 안정성이 저하될 뿐만 아니라 비용 대비 효율이 낮아 경제적 손실이 발생할 수 있다.

[0059] 전술한 바와 같이, 상기 수명 연장용 조성물에 포함된 가지 추출물은 항산화 활성을 증대시킴으로써 대상의 수명 연장 효과를 구현할 수 있고, 특히 이는 효모의 세포 생존능 또는 증식능을 촉진시키는데 탁월한 효과를 나타낼 수 있다. 상기 효모는 야생 효모, 생 이스트(compressed yeast) 등 그 종류는 특별히 한정되지 않는다.

[0060] 구체적으로, 상기 효모는 사카로마이세스(*Saccharomyces*), 사이조사카로마이세스(*Schizosaccharomyces*), 스포로보로마이세스(*Sporobolomyces*), 토루로프시스(*Torulopsis*), 트리코스포론(*Trichosporon*), 워커하미아(*Wickerhamia*), 아쉬바이아(*Ashbya*), 블라스토마이세스(*Blastomyces*), 캔디다(*Candida*), 사이테로마이세스(*Citeromyces*), 크레브로테슘(*Crebrothecium*), 크립토코커스(*Cryptococcus*), 드바리오마이세스(*Debaryomyces*), 에노마이코프시스(*Endomycopsis*), 지오텐리쿰(*Geotrichum*), 한센룰라(*Hansenula*), 클로엑케라(*Kloeckera*), 리포마이세스(*Lipomyces*), 피키아(*Pichia*), 로도스포리둠(*Rhodospiridium*), 또는 로도토룰라(*Rhodotorula*) 속(Genus)의 효모들을 예시할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0061] 또한, 상기 수명 연장용 조성물은 글루코오스의 존재 하에 이의 농도에 의존적으로 효모의 세포 생존능 또는 증식능을 촉진시킬 수 있다. 이는 상기 글루코오스의 농도가 증가할수록 세포 생존능 또는 증식능이 더욱 촉진되는 것을 의미한다.

[0062] 이하, 첨부된 도면을 참고하여 본 발명의 실시예에 관하여 상세히 서술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함을 자명하다.

[0063] 제조예

[0064] 건조 가지 분말 300g을 정제수 500mL에 첨가하여 교반시킨 후, 상온에서 1시간 30분 동안 초음파 추출기를 이용하여 3회 연속으로 추출하였다. 추출물을 여과한 후 동결 건조하여 가지 추출물을 제조하였다.

[0065] 실험예 1 : 가지 추출물의 함량에 따른 생 이스트 증식률 평가

[0066] 3차 증류수 100mL에 시판되는 효모인 생 이스트(compressed yeast) 5g, 및 설탕 10g을 첨가한 후 1시간 동안 상온에서 반응시켜 효모 반응물을 제조하였다.

[0067] 상기 효모 반응물을 1/100로 희석하여 2×10^4 cells/well의 농도로 24 well plate에 분주한 후, 상기 실시예의 가지 추출물을 50 μ g/mL 및 250 μ g/mL의 농도로 각각 첨가하였다. 각각의 배지를 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 배양한 후 microplate reader를 사용하여 575nm에서 각 시료에 대한 흡광도 값을 측정하였고, 각 시료의 흡광도 값을 대조군과 비교함으로써 효모 증식률을 평가하였다(도 1).

[0068] 도 1을 참고하면, 실시예의 가지 추출물은 농도 의존적인 효모 증식률을 나타내었으며, 250 μ g/mL 농도에서 대조군 대비 약 130% 정도의 효모 증식률을 나타내었다.

[0069] 이러한 결과는 천연물 유래의 가지 추출물이 부작용을 최소화하면서도 우수한 수명 연장 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.

[0070] 실험예 2 : 가지 추출물의 함량에 따른 야생 효모 증식률 평가

[0071] 3차 증류수 200mL에 야생 효모 5g, 꿀 5g, 건포도 100g, 및 박력분 소량을 첨가한 후 30 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 반응시켜 효모 반응물을 제조하였다.

[0072] 상기 효모 반응물을 1/10로 희석하여 2×10^4 cells/well의 농도로 24 well plate에 분주한 후, 상기 실시예의 가지 추출물을 50 μ g/mL 및 250 μ g/mL의 농도로 각각 첨가하였다. 각각의 배지를 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 배양한 후 microplate reader를 사용하여 575nm에서 각 시료에 대한 흡광도 값을 측정하였고, 각 시료의 흡광도 값을 대조군과 비교함으로써 효모 증식률을 평가하였다(도 2).

[0073] 도 2를 참고하면, 실시예의 가지 추출물은 그 농도의 증가에 따라 효모 증식률의 증가를 나타내었으며, 250 μ g/mL 농도에서 대조군 대비 약 130% 정도의 효모 증식률을 나타내어 상기 실험예 1과 유사한 결과를 확인하였다.

[0074] 이러한 결과는 상기 가지 추출물의 수명 연장 효과가 특정 종의 효모에 한정되는 것이 아님을 시사한다.

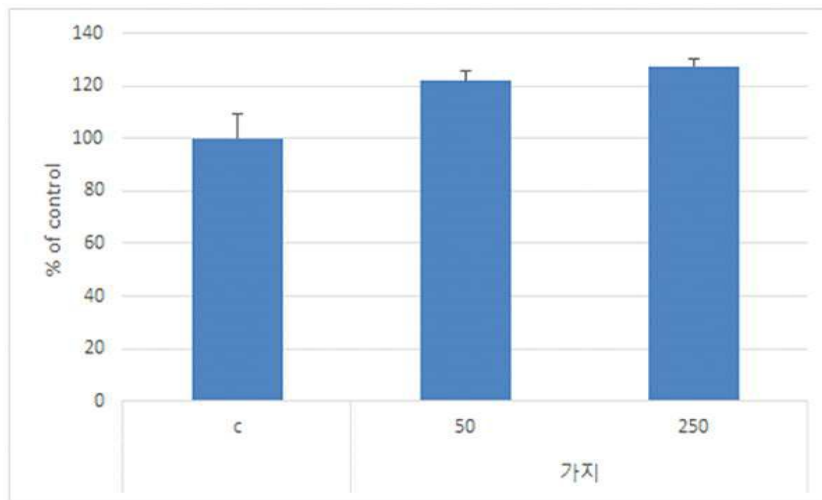
[0075] 실험예 3 : 글루코오스 및 가지 추출물 함량에 따른 효모 증식률 평가

- [0076] 상기 실험에 1의 생 이스트 배지에 글루코오스 함량을 각각 0.1, 1, 5, 10%(w/v)로 달리하여 투입한 후, 각각의 배지에 상기 실시예의 가지 추출물을 50 μ g/mL 및 250 μ g/mL의 농도로 각각 첨가하였다.
- [0077] 이후, 1일 단위로 각각의 배지에 대해 microplate reader를 사용하여 575nm에서 각 시료에 대한 흡광도 값을 측정하였고, 각 시료의 흡광도 값을 대조군과 비교함으로써 효모 증식률을 평가하였다(도 3).
- [0078] 도 3을 참고하면, 가지 추출물 첨가 후 2일이 경과한 시점부터 상기 가지 추출물이 글루코오스 농도에 의존적으로 효모 증식률을 증가시키는 것을 확인하였고, 이러한 결과는 가지 추출물이 효모의 성장을 촉진시키고 수명을 유지시키는 효능이 우수함을 시사한다.
- [0079] **실험예 4 : 가지 추출물 함량에 따른 항산화 효소 활성 평가**
- [0080] 상기 실험에 1의 배지로부터 단백질을 추출한 후 Superoxide dismutase(SOD)의 효소 활성을 측정하였다.
- [0081] 구체적으로, 0.105mM의 잔틴(xanthine) 및 1.1mM의 시토크롬 C(cytochrome C)가 포함된 시약 700 μ L과 상기 단백질을 50 μ L를 혼합한 후, 0.05unit의 잔틴산화효소(xanthine oxidase; XOD) 50 μ L를 첨가하여 XOD 저해 활성을 측정하였다. XOD 저해 활성을 통해 SOD 활성을 계산하였다(도 4).
- [0082] 도 4를 참고하면, 250 μ g/mL 농도의 가지 추출물이 50 μ g/mL 농도의 가지 추출물에 비해 SOD 활성이 미세하게 높은 값을 나타내었으나, 전반적으로 가지 추출물이 처리된 효모는 대조군에 비해 높은 SOD 활성 값을 나타내었다.
- [0083] 상기 결과는 가지 추출물이 항산화 효소 활성을 증가시키며, 이를 통해 수명 연장 효과를 구현할 수 있음을 시사한다.
- [0084] **실험예 5 : 칼로리 제한에 따른 세포 생존능력 평가**
- [0085] 가지 추출물을 처리하고 성장 조건에 따른 효모의 평균 연대수명을 측정하였다.
- [0086] 도 5를 참고하면, 가지 추출물 처리를 하지 않은 대조군의 경우 6일 경과 후 세포 생존율이 35%에 불과하였으나, 100 μ g/mL 농도의 가지 추출물 처리한 실험군의 세포 생존율은 66%에 이르렀으며, 10 μ g/mL, 50 μ g/mL 농도의 가지 추출물을 처리한 실험군의 세포 생존율은 각각 54%와 60%로 측정되었다.
- [0087] 또한, 고칼로리 조건하에서 가지 추출물의 농도를 달리하여 처리하고 세포 생존율을 측정한 결과, 10, 50, 100 μ g/mL 농도의 가지 추출물을 처리한 실험군의 세포 생존율은 각각 48%, 61%, 72%로 측정되었으며, 칼로리 제한 조건 하에서도 가지 추출물의 처리에 따라 효모의 최대 수명이 현저히 증가하였다.
- [0088] **실험예 6 : UVB 조사에 따른 세포 생존능력 평가**
- [0089] 상이한 포도당 조건(2, 5, 0.5%) 하에서 UVB 조사 후 660nm에서의 흡광도의 세기를 측정함으로써 가지 추출물의 수명 연장 효과를 평가하였다.
- [0090] 도 6을 참고하면, UVB 조사에 의해 효모의 세포 생존율은 감소하였으나, 가지 추출물을 함께 처리한 효모의 세포 생존율은 현저히 증가하였다.
- [0091] 또한, UVB 조사 시 가지 추출물의 농도(10 μ g/mL, 50 μ g/mL, 100 μ g/mL)를 달리하여 처리하고 칼로리 제한 유무에 따른 세포 생존율을 측정하였다.
- [0092] 도 7을 참고하면, UVB 조사 시 칼로리 제한을 하지 않은 조건에서 6일 경과 후 세포 생존율을 3%에 불과하였으나, 100 μ g/mL 농도의 가지 추출물을 처리했을 때 세포 생존율은 22%까지 증가하였다.
- [0093] 또한, 고칼로리 조건 및 칼로리 제한 조건에서도 가지 추출물의 처리에 따라 효모의 최대 수명이 현저히 증가하였다.
- [0094] **실험예 7 : UVB 조사에 따른 활성 산소종 생성량 평가**
- [0095] 상이한 포도당 조건(2, 5, 0.5%) 하에서 DCF-DA염색 및 FACS(Fluorescence activated cell sorter) 분석을 이용하여 UVB 조사에 따른 ROS(peroxynitrite anion, hydrogen peroxide, peroxy radical) 총량을 비교하였다.
- [0096] 도 8을 참고하면, 가지 추출물 처리에 따라 ROS의 생성량이 현저히 감소하였다. 상기 결과는 가지 추출물이 활성 산소종의 생성을 억제함으로써 효모세포의 연대수명을 연장시킬 수 있음을 시사한다.
- [0097] **실험예 8 : 가지 추출물 함량에 따른 Sirt1 효소 활성 평가**

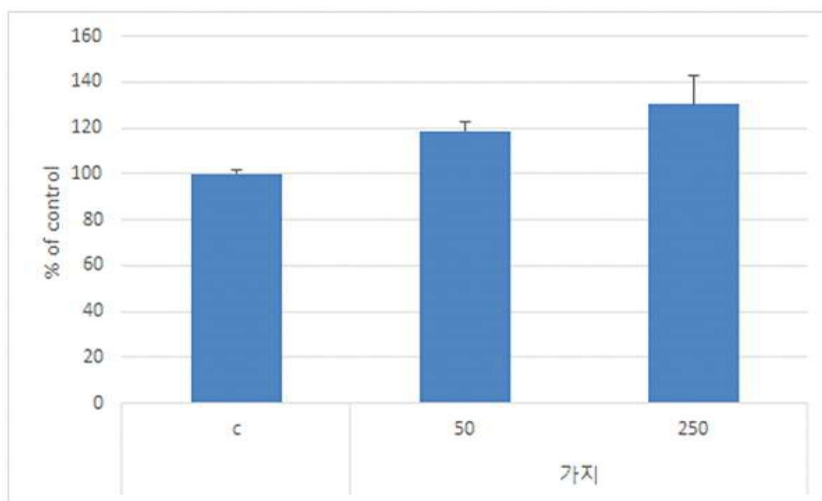
- [0098] 가지 추출물 처리에 따른 Sirt1 활성의 변화를 측정하였다. 최근 암과 노화의 연결된 작용 메커니즘이 알려지면서 그 연결고리로서 yeast에 존재하는 SIR2(Silent Information Regulator 2), homologue인 SIRT1 유전자자가 조명을 받고 있다.
- [0099] 장수유전자의 연구와 관련하여 1999년 MIT의 Guarente 박사팀이 SIR2가 출아 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)의 수명을 연장한다는 내용을 보고한 바 있다.
- [0100] 상기 SIRT는 NAD+(nicotinamide) 의존적인 histone deacetylase로, 노화를 조절하고 식이제한에 의한 수명 증가와 연관된다. 실험쥐를 포함한 동물 모델계에서 식이 제한에 의해 SIRT1의 발현이 증가되었고, SIRT의 과발현에 의해 효모, 예쁜꼬마선충, 초파리의 수명이 증가하며, SIRT의 변이가 있는 경우 식이제한에 의한 수명증가 효과가 나타나지 않았다. 즉, 식이제한의 수명연장 효과는 SIRT와 관련 있는 것으로 보고되며, 상기 효과는 종(species) 간에 보존적이다.
- [0101] 도 9을 참고하면, 가지 추출물(10, 50, 100, 250 µg/mL)은 농도 의존적으로 Sirt1의 효소 활성을 250 µg/mL까지 증가시켰다.
- [0102] 또한, 가지의 주요한 화합물 중 하나인 델피니딘(delphinidin)의 농도(1, 5, 10 µM)를 달리하여 시험한 결과, 양성 대조군으로 사용된 sirt1 활성제인 라즈베라트롤(resveratrol) 보다 Sirt1 활성 증대 효과가 낮은 것으로 평가되었으나, 가지 추출물의 Sirt1 활성 증대 효과는 양성 대조군보다 우수한 것으로 평가되었다.
- [0103] **실험예 9 : 시료 처리에 따른 효모 증식을 비교**
- [0104] 가지 추출물뿐만 아니라 다른 식물 추출물을 처리하고 효모의 세포 증식을 증대 효과를 비교하였다.
- [0105] 도 10을 참고하면, 뽕잎(MB), 가지(EP), 아사이베리(AB), 사과(AP), 칙뿌리(PT) 추출물이 효모의 세포 증식에 미치는 영향을 분석한 결과, 가지 추출물이 효모의 성장속도를 가장 효과적으로 증대시켰으며, 농도 의존적으로 세포의 성장을 증대시켰다.
- [0106] 상기 결과는 가지 추출물이 효모의 노화를 조절할 수 있는 생체 활성 화합물을 함유하고 있으며, 이로 인한 수명 연장 효과가 우수함을 시사한다.
- [0107] 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.
- [0108] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

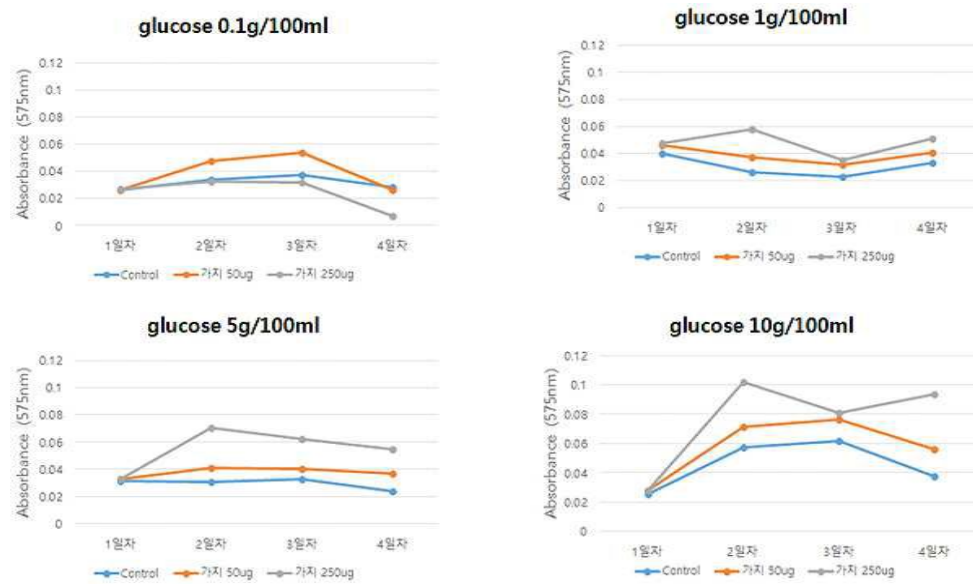
도면1



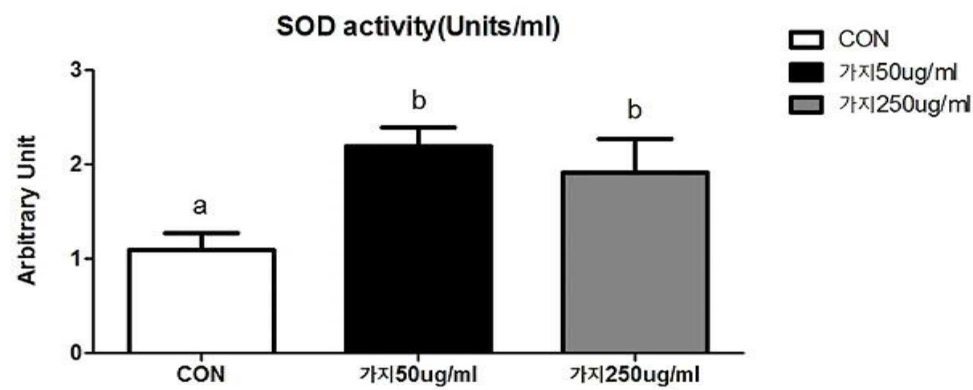
도면2



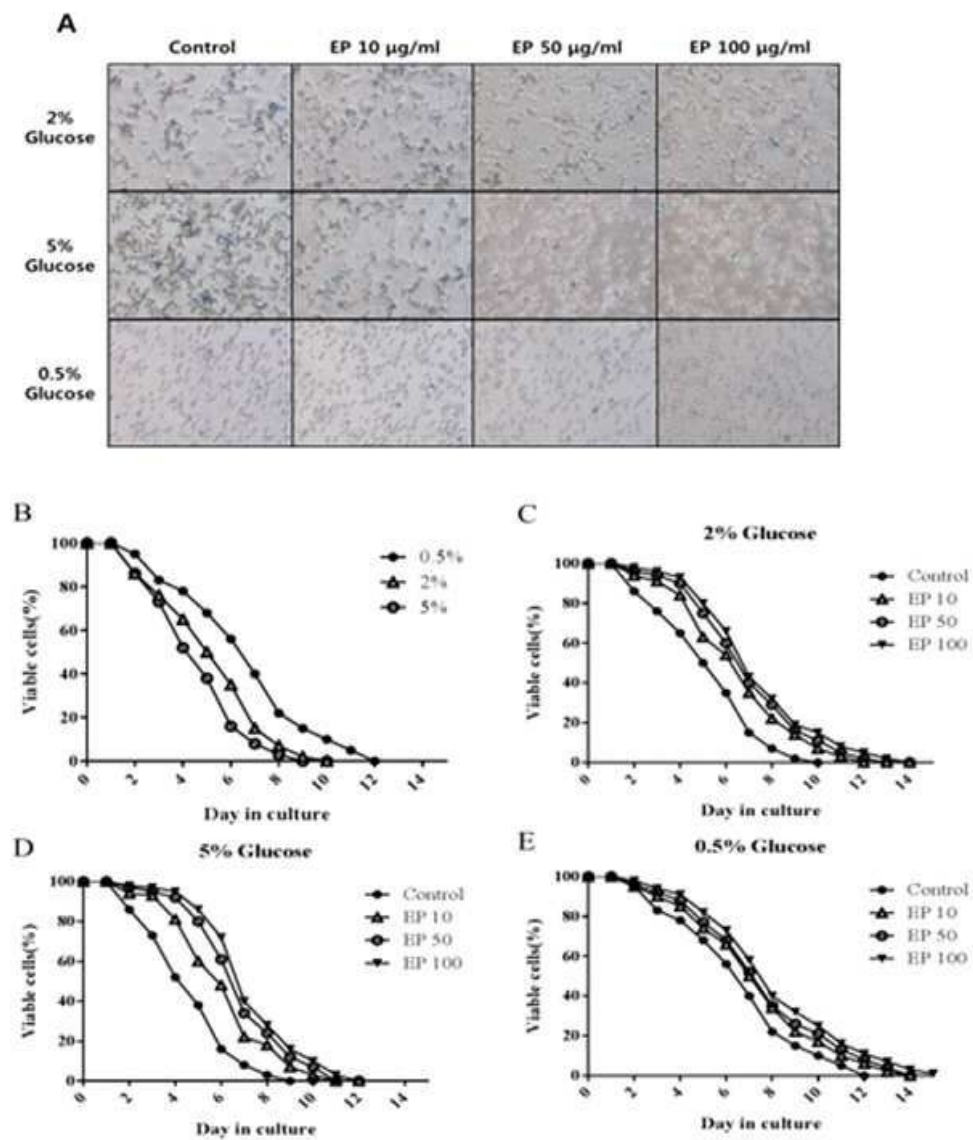
도면3



도면4

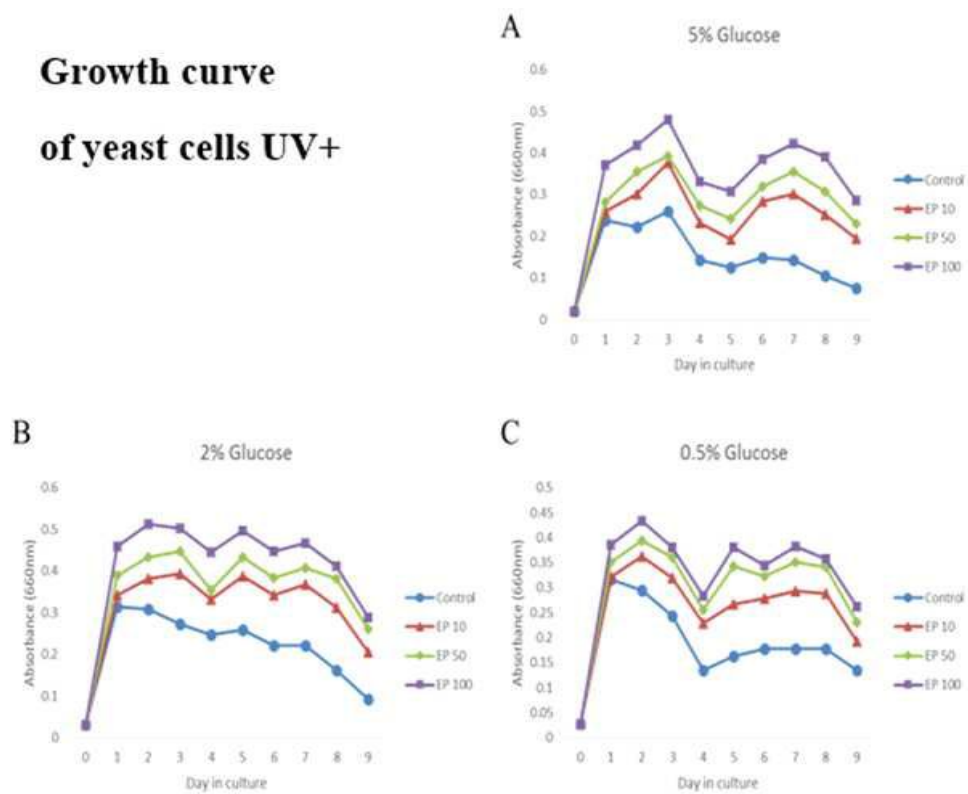


도면5

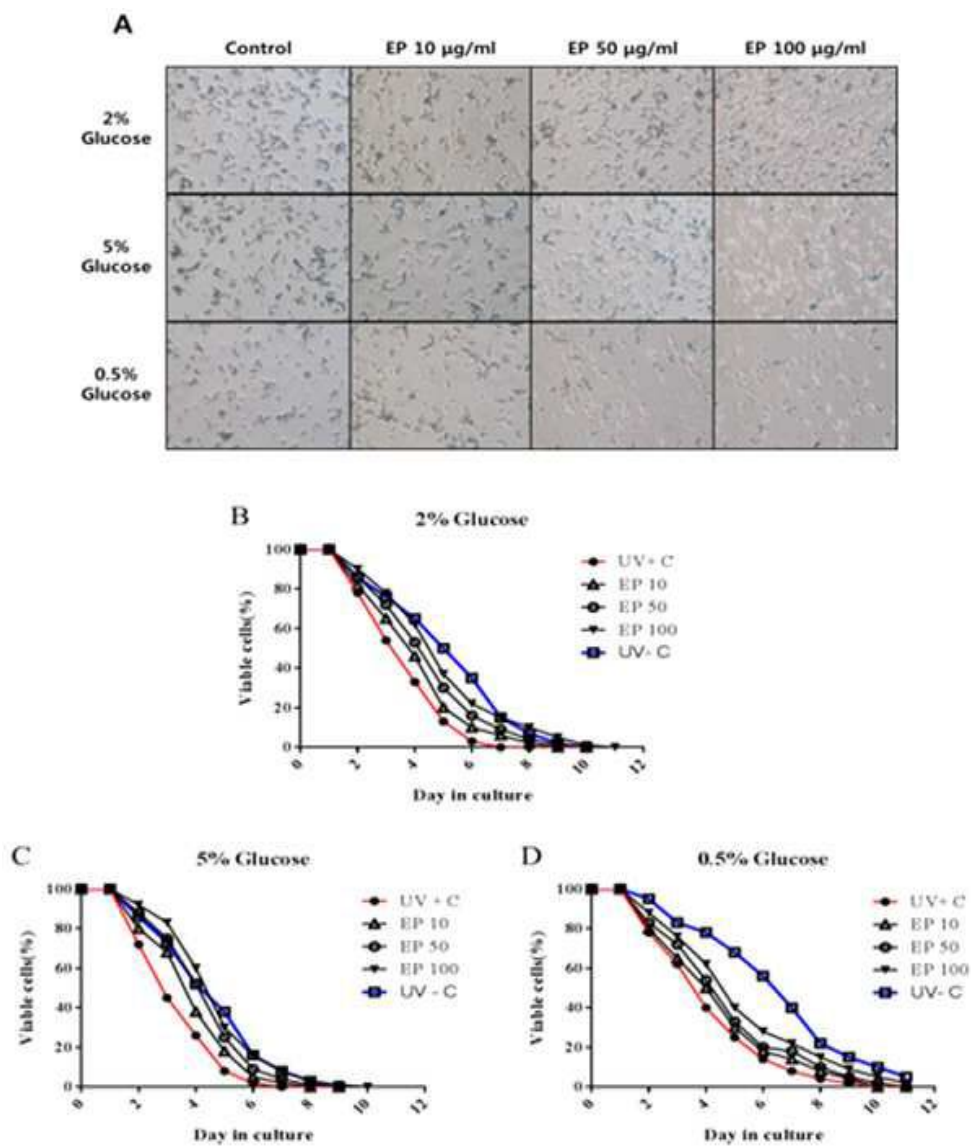


도면6

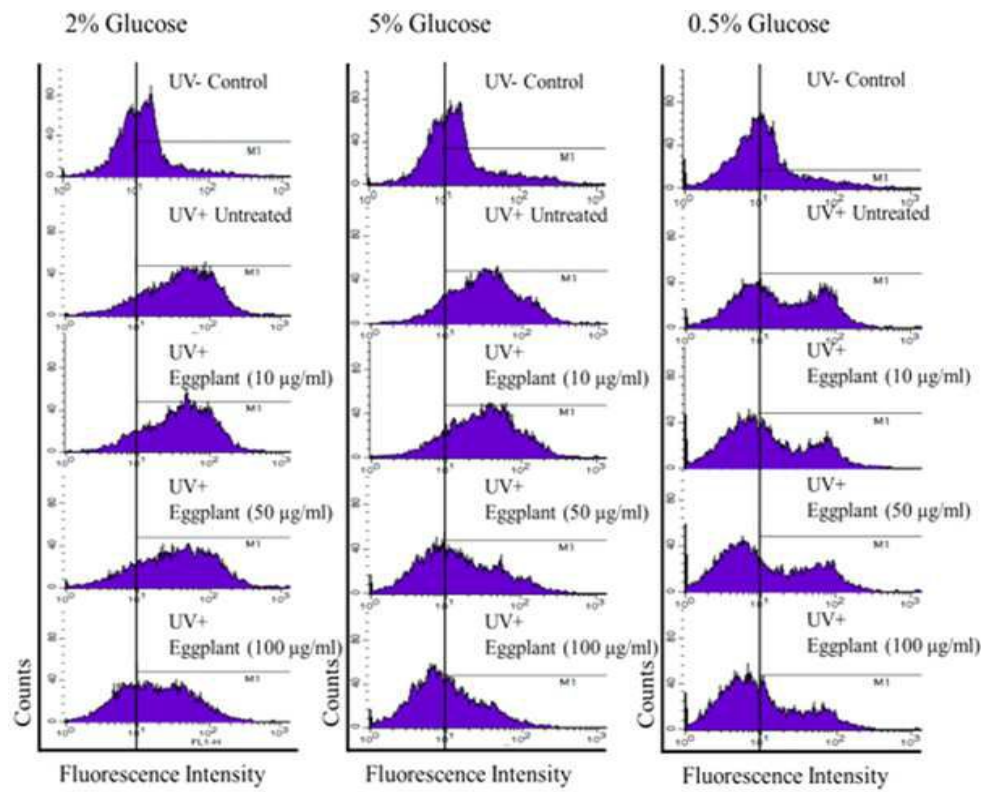
Growth curve of yeast cells UV+



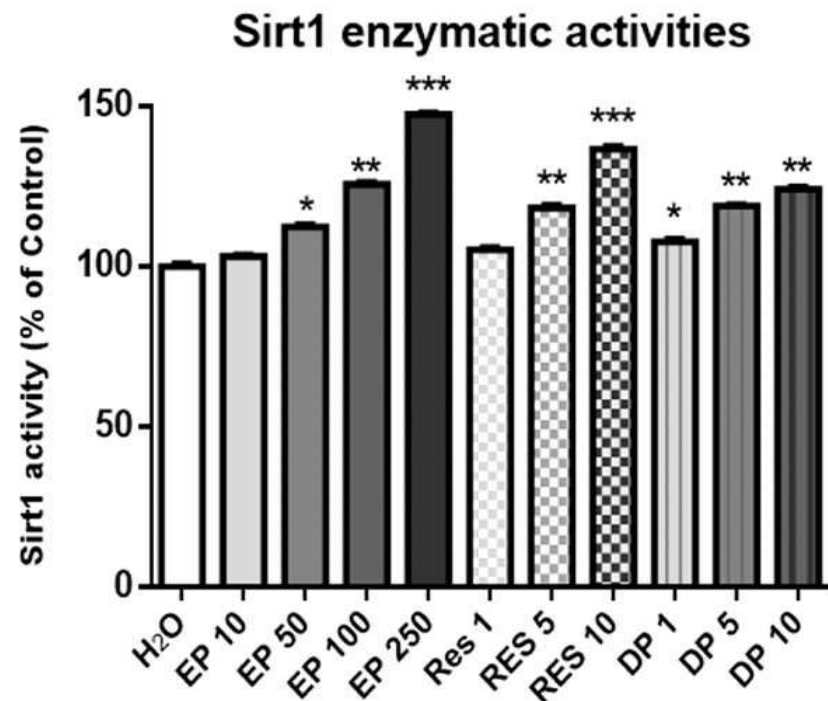
도면7



도면8



도면9



도면10

