



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0124353
(43) 공개일자 2016년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/489 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/489 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0054339
(22) 출원일자 2015년04월17일
심사청구일자 2015년04월17일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
조성훈
서울특별시 송파구 도곡로62길 11-14 (잠실동)
이화영
인천광역시 남구 석정로126번길 23 103동 603호 (송의동, 한화꿈에그린아파트)
권용주
서울시 영등포구 의사당대로 110, 미성아파트A-115
(74) 대리인
특허법인 하나

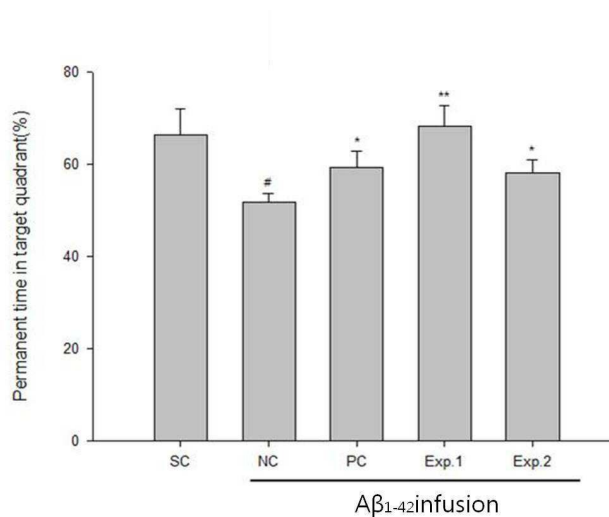
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 피각 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 피각(*Sophora japonica* L.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용, 및 인지 기능 개선용 약학적 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로 본 발명의 피각 추출물은 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델에서 Y자 미로형 검사(Y-maze test)와 모리스 수중 미로 행동 검사(Morris water maze test)를 통해 유의한 효과가 있음을 확인함으로써, 상기 피각 추출물이 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용, 및 인지기능 개선용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 2236/30 (2013.01)

A61K 2236/33 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2007-0054931

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 선도연구센터지원사업(MRC)

연구과제명 암예방소재개발연구센터

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2015.03.01 ~ 2016.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 물, C₁ 내지 C₂ 저급 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 C₁ 내지 C₂ 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 퇴행성 뇌질환은 치매, 알츠하이머, 뇌졸중, 중풍, 헌팅턴병, 파킨슨, 및 크로이츠펔트-야콥병으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

괴각 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물.

청구항 6

괴각 추출물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 개선용 약학적 조성물.

청구항 7

괴각 추출물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 개선용 건강식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용, 및 인지 기능 개선용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 알츠하이머 질병(Alzheimer's disease)은 치매 환자 본인에게는 물론 가족 및 사회에도 막대한 비용을 초래하는 질환이다. 고령화 사회에 들어서면서 노화에 대한 관심과 더불어 이에 관련된 질병, 뇌졸중, 알츠하이머 치매

등의 뇌신경질환들이 증가하고 있다. 다양한 뇌질환 중에서도 치매(dementia)는 가장 광범위한 세포 손상을 유발하는 질환으로 퇴행성 정신장애를 동반하며, 특히 기억력 장애, 판단력 상실 등의 주요증상이 잘 알려져 있다. 치매의 원인은 다양해서 뇌혈관의 협착이나 폐색으로 생기는 혈관성 치매(20% ~ 30%)와 베타아밀로이드 단백질이 뇌 내에 축적되어 발병하는 것으로 알려진 알츠하이머성 치매(50%), 그리고 이들 두 가지 원인이 복합적으로 작용하여 생기는 혼합형 치매(15% ~ 20%)로 크게 나눌 수 있다. 내원하는 환자 중 가장 많은 비율을 차지하는 치매 유형은 알츠하이머성 치매이며, 최근 연구에 따르면 2050년에는 85명 중 1명의 비율로 이 질환에 걸릴 것이고, 이중 43%는 집중 치료를 받아야한다는 보고가 있다(Prabhulkar S, Piatyszek R, et al. J Neurochem., 2012, 122, 374-381).

[0005] 알츠하이머 질병은 크게 유전성 알츠하이머 질병(familial Alzheimer's disease, FAD)과 산발성 알츠하이머 질병(sporadic Alzheimer's disease, SAD)으로 분류된다. 유전성 알츠하이머 질병은 전체 알츠하이머 질병 환자의 5 % ~ 10 % 정도를 차지하며, 원인 유전인자로 알려진 프레세닐린 1(presenilin 1, PS1), 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein, APP), 및 프레세닐린 2(presenilin 2, PS2)에 돌연변이가 일어났을 경우 100 % 알츠하이머 질병으로 발병하게 된다. 산발성 알츠하이머 질병은 알츠하이머 질병 환자의 대부분을 차지하며, 아포지단백질E(apolipoprotein E, ApoE)나 알파-2 매크로글로불린(Alpha-2 macroglobulin, A2M)에 돌연변이가 일어났을 때 알츠하이머 질병으로 진단할 확률이 높아지는 위험인자는 밝혀져 있으나, 현재까지 발병의 정확한 원인은 알려진 것이 없다.

[0007] 알츠하이머 질병의 병리학적 특징으로는 신경세포의 외부에 축적되는 노인 반점(senile plaques), 신경세포의 세포체 내에 엉켜진 실 뭉치처럼 보이는 신경 섬유 덩어리(neurofibrillary tangles), 및 신경세포의 손실(neuronal loss) 등을 들 수 있다. 이러한 병리학적 특징은 유전성 알츠하이머 질병 및 산발성 알츠하이머 질병의 모든 경우에 나타나며, 이 중 노인 반점의 주요 구성 요소로는 응집된 아밀로이드 베타 펩티드(amyloid beta peptide, A β)라는 독성단백질이 밝혀져 있다. 아밀로이드 베타 펩티드는 아밀로이드 전구 단백질의 비정상적인 절단으로부터 생성된 40 내지 42개의 아미노산으로 이루어진 불용성 펩티드이다. 또한, 아밀로이드 베타 펩티드의 과다 축적은 유전성 알츠하이머 질병 및 산발성 알츠하이머 질병의 모든 경우에 공통적 현상으로 나타난다고 보고되어 있다. 따라서 아밀로이드 베타 펩티드는 알츠하이머 질병의 주요 병원성 물질(pathogenic material)로 간주 되고 있다. 알츠하이머 질병의 전반적인 발병과정은 프레세닐린 1, 2 유전자(PS 1, 2)의 돌연변이가 발생하면 베타-세크레타제(β -secretase)에 의해 아밀로이드 전구 단백질이 비정상적으로 절단되고 아밀로이드 베타 펩티드가 생성된다. 생성된 아밀로이드 베타 펩티드에 의해 뇌신경세포의 괴사가 일어나며, 이로 인해 알츠하이머 질병이 발병하게 된다고 알려져있다.

[0009] 현재까지 치매의 원인과 치료법에 대한, 광범위하고 다양한 연구가 진행되어 왔으나, 원인 규명이 미비하고 효과적인 치료법의 개발이 아직 미진한 수준이다. 비록 알츠하이머 질병의 치료제로서 타크린(tacrine), 리바스티그민(rivastigmine), 갈란타민(galantamine), 도네페질(donepezil), 및 메만틴(memantine)가 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)로부터 인가되었지만, 현재 사용되는 치매 치료제는 대부분 퇴행성 치매의 증상을 완화 시키는 정신퇴행 완화 물질에 불과하며, 이들 중 대부분은 소염작용을 하는 약물로서 간 독성과 소화기관의 점막을 손상시키는 등의 부작용이 있으며, 궁극적인 원인치료라기보다는 대중적인 요법에 국한되어 있다는 한계가 있다. 아세틸콜린(acetylcholine)성 신경전달물질은 뇌 인지기능의 향상을 유도하는 약물인데, 치매 증상의 진행이나 증세를 일시적으로 경감시켜 주는 것에 불과하다. 더욱이 신경세포의 사멸이 진행될수록 약물의 효과는 저하되며, 중증치매의 경우 그 효과는 없다. 또한, 현재까지 연구된 알츠하이머 질병의 약물들은 글루타민산 수용체 길항제, 항산화제, 칼슘 혹은 나트륨, 등의 이온채널 차단제 등을 이용한 것이 대부분이며 아직까지 효과적인 약물이 개발되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 획기적인 아이디어 전환과 새로운 신개념의 치료제 발굴이 요구되고 있다.

[0011] 괴각(*Sophora japonica* L.)은 회화나무 열매로서, 회화나무는 콩과 식물에 속하는 낙엽교목이다. 우리나라와 중국이 원산지로서 전국 각지에 분포하고 있으며, 관상용·공업용·식용·약용으로 이용된다. 민간 및 한방에서는 향염, 지혈, 고혈압, 치질, 및 습진 치료에 탁월한 효능을 지닌 나무이며, 예로부터 장기간 복용 시 눈이 밝

아지고, 수염과 머리카락이 희어지지 않고 장수한다고 할 만큼 훌륭한 약성을 지닌 나무로 알려져 있다. 그 꽃과 열매는 괴실, 괴자, 괴두, 괴화, 및 괴각으로 불리며, 괴각의 주성분은 9개의 플라보노이드(flavonoid)와 이소플라보노이드(isoflavonoid) 화합물이 함유되어 있는데, 여기에는 소포라플라보노로지데지니스테인(sophoraflavonolsidegenistein), 소포라비오사이드(sophorabioside), 캄프레롤(kaempferol), 루틴(rutin), 및 글루코사이드-C(glucoside-C) 등이 있으며, 어린 열매 속에 루틴의 함량이 1.76%에 달하며, 고지혈증 개선, 항산화 작용, 항불안 작용, 폐경기증후군 개선에 효과가 있음이 알려져있다.

[0013] 한편, 괴각과 관련된 선행기술로서, 괴각 메탄올 추출물이 항 불안작용을 나타냄이 알려져있고(정지옥 외, Korean J. Food Preservation., 2012, 19(5), 767-773), 대한민국 공개 특허 제 2005-0089182호에는 괴각 추출물의 항암 효과를 개시하고 있으며, 대한민국 공개 특허 제 2005-0050728호에는 괴각 추출물의 골대사질환 치료 효과를 개시하고 있으나, 괴각 추출물의 알츠하이머 질병을 포함하는 퇴행성 뇌질환에 대한 효과는 알려진 바 없다.

[0015] 이에, 본 발명자들은 부작용이 적은 천연물질을 이용하여 퇴행성 뇌질환 치료제를 개발하기 위하여 노력하던 중, 본 발명의 괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물은 알츠하이머 질병 유발 동물 모델에서 유의적인 치매 및 인지기능 개선 효과를 나타냄을 확인함으로써, 상기 괴각 추출물을 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 인지기능 개선용 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 본 발명의 목적은 괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물을 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용, 및 인지기능 개선용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 본 발명은 괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 괴각 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0021] 또한, 본 발명은 괴각 추출물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 개선용 약학적 조성물을 제공한다.

[0022] 아울러, 본 발명은 괴각 추출물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0024] 본 발명의 괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물은 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델에서 Y자 미로형 검사(Y-maze test)와 모리스 수중 미로 행동 검사(Morris water maze test)를 통해 유의한 효과가 있음을 확인함으로써, 본 발명의 괴각 추출물을 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용, 및 인지기능 개선용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 알츠하이머 질병(Alzheimer's disease) 유발 마우스 모델에서 괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물의 투여로 인한 보행활동량을 나타낸 도이다:

Dist average(Distance average): 마우스의 보행활동량;

SC(Sham control): 아밀로이드 베타 펩티드(Amyloid beta₁₋₄₂ peptide)를 주입하지 않은 마우스군;

NC(Negative control): 아밀로이드 베타 펩티드를 주입하고, 도네페질(Donepezil)을 미처리한 마우스군;

PC(Positive control): 아밀로이드 베타 펩티드를 주입하고, 도네페질을 처리한 마우스군;

Exp.1(Experiment 1): 아밀로이드 베타 펩티드를 주입하고, 본 발명의 괴각 추출물을 100 mg/kg의 농도로 투여한 마우스군;

Exp.2(Experiment 2): 아밀로이드 베타 펩티드를 주입하고, 본 발명의 괴각 추출물을 600 mg/kg의 농도로 투여한 마우스군.

도 2는 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델에서 괴각 추출물의 투여로 인한 인지기능 개선 효과를 나타낸 도이다.

도 3은 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델에서 괴각 추출물의 투여로 인한 학습 및 기억력의 개선 효과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0027] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0029] 본 발명은 괴각(*Sophora japonica* L.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0030] 상기 괴각 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:
- [0031] 1) 괴각에 추출 용매를 가하여 추출하는 단계;
- [0032] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계;
- [0033] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 괴각의 추출물을 제조하는 단계.
- [0034] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 괴각은 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다.
- [0035] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 추출 용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물 및 유기 용매를 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올로는 C₁ 내지 C₂ 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출용매를 건조된 괴각 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4 내지 6배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20℃ 내지 100℃ 인 것이 바람직하고, 20℃ 내지 40℃인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48시간인 것이 바람직하며, 15 내지 30시간인 것이 더욱 바람직하고, 24시간인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러, 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 상기 수득한 괴각 추출물은 사용 시까지 급속 냉동 냉장고(deep freezer)에 보관할 수 있다.
- [0037] 상기 퇴행성 뇌질환은 치매(dementia), 알츠하이머 질병(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 중풍, 헌팅턴 병(Huntington's disease), 피크병(Pick's disease), 및 크로이츠펠트-야콥병(Creutzfeldt-Jakob disease)으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0039] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 괴각 추출물을 제조한 다음, 괴각 추출물의 인지장애 개선 효과를 확인하기 위하여, 아밀로이드 베타 펩티드(Amyloid beat₁₋₄₂ peptide)를 뇌에 주입시킨 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델에 괴각 추출물을 투여한 뒤, 모리스 수중 미로 검사(Morris water maze test)를 수행한 결과, 알츠하이머 질병이 유발되는 경우 발생할 수 있는 학습 및 기억력의 감소를 완화시킬 수 있음을 확인함으로써, 괴

각 추출물이 알츠하이머성 치매의 개선 및 치료 효과가 있음을 확인하였다(도 3 참조).

- [0040] 따라서 본 발명의 피각 추출물은 알츠하이머 질병 완화 효과를 나타냄으로써, 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물로 사용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 피각 추출물을 함유하는 조성물은 상기 성분에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효 성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이드실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말 셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 텍스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 ~ 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0044] 즉, 본 발명의 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 피각 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose), 락토오스(Lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비 경구 투여할 수 있으며, 비 경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하다. 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설을 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다.
- [0046] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설을 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 피각 추출물의 양을 기준으로 0.0001 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 0.001 내지 10 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0049] 또한, 본 발명은 피각 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0050] 본 발명의 피각 추출물은 알츠하이머 질병이 유발되는 경우 발생할 수 있는 학습 및 기억력의 감소를 완화함으로써, 퇴행성 뇌질환의 예방 및 개선용 건강식품 조성물로 사용될 수 있음을 확인하였다.
- [0052] 본 명세서의 "건강기능식품"이란 일상 식사에서 결핍되기 쉬운 영양소나 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분 (기능성 원료)을 사용하여 제조한 것으로, 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 식품으로 식품의약품안전처장이 정한 것을 의미하나, 이에 한정되지 않으며 통상적인 의미의 건강식품을 배제하는 의미로 사용된 것이 아니다.
- [0053] 본 발명의 피각 추출물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적

인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중의 상기 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취시에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0054] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 피각을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 단당류, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 이당류, 예를 들어 말토스, 수크로스 등; 및 다당류, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제{타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)} 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 g 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0055] 상기 외에 본 발명의 피각 추출물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 피각 추출물은 천연 과일 주스 및 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0056] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 피각 추출물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0058] 또한, 본 발명은 피각 추출물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 개선용 약학적 조성물 및 건강식품 조성물을 제공한다.

[0059] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 피각 추출물의 인지장애 개선 효과를 확인하기 위하여, 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델을 제조하여 피각 추출물을 투여한 결과, 피각 추출물이 마우스의 보행활동량에는 영향을 미치지 않고, 자발적인 변경(spontaneous alternation)을 증가시켜 인지장애 개선 효과가 있음을 확인함으로써(도 1 및 도 2 참조), 알츠하이머 질병 완화 효과를 나타내는 인지기능 개선용 약학적 조성물 및 건강식품 조성물로 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0061] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해서 상세히 설명한다.

[0062] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해서 한정되는 것은 아니다.

[0064] <실시예 1> 피각 추출물의 제조

[0065] <1-1> 피각 물 추출물의 제조

[0066] 전라남도 여수에서 수확한 피각을 건조시켜 본 발명에 사용하였다. 분쇄한 상태의 피각 100 g을 1 ℓ의 증류수에 가하여 잘 교반한 다음 90 내지 95℃를 유지하는 추출온도에서 3시간 동안 환류 추출한 후 여액을 분리하였고, 55 내지 65℃로 피각 추출물을 감압 농축한 후, 동결 건조시켜 피각 물 추출물 분말 엑스 21.2 g을 얻었다.

[0068] <1-2> 피각 30% 알코올 추출물의 제조

[0069] 상기 실시예 <1-1>과 동일한 방법으로, 분쇄된 피각 550 g에 3 ℓ의 30% 에틸 알코올(ethyl alcohol)을 가해 잘 교반한 다음, 열을 가해 80 내지 90℃를 유지하는 추출 온도에서 3시간 동안 환류 추출한 후 여액을 분리하였고, 55~65℃에서 피각 추출물을 감압 농축한 후, 동결 건조시켜 피각 30% 알코올 추출물 분말 엑스 139.5 g을

얻었다.

[0071] <실시예 2> 알츠하이머 질병(Alzheimer's disease) 유발 동물 모델의 제조

[0072] 아밀로이드 베타 펩티드(Amyloid beta₁₋₄₂ peptide)를 주입한 알츠하이머 질병 유발 동물 모델(Amyloid beta₁₋₄₂ infused mouse model)을 제조하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0073] 구체적으로, C57BL/6 마우스를 조레틸(Zoletil)과 럼폰(Rompun)이 2:1로 혼합된 마취약으로 마취한 후, 뇌의 해마 CA1 지역(coordinates: -2.3 mm anterior/posterior, 1.8 mm medial/lateral and -1.75 mm dorsal/ventral from Bregma)에 아밀로이드 베타 펩티드를 주입하여, 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델을 제조하였다.

[0075] <실험예 1> 피각 추출물의 보행활동량에 대한 효과 확인

[0076] 상기 <실시예 1>의 방법으로 추출된 피각 추출물이 마우스의 기본적인 운동성 및 움직임의 변화에 영향이 있는지 관찰하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0077] 구체적으로, 일반 운동 활성 검사는 마우스를 50 cm× 50 cm× 50 cm의 흰색 아크릴 박스에 넣고, 영상추적시스템(video tracking system, Smart program v.2.5.21)을 이용하여 10분 동안 행동을 측정하였으며, Open field를 9등분 하여 가운데 영역을 central zone으로 설정하였다.

[0078] 상기 <실시예 2>의 방법으로 제조된 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델에 퇴행성 뇌질환 치료제인 도네페질(Donepezil) 1 mg/kg, 본 발명의 피각 추출물 100 mg/kg 또는 600 mg/kg 또는 대조군인 증류수를 각각 투여한 후, 자발운동량을 이용한 보행활동량을 측정하였다.

[0079] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 알츠하이머를 유발한 후 증류수, 피각 추출물, 도네페질을 투여한 동물 모델의 경우, 알츠하이머를 유발하지 않은 동물모델과 비교하였을 때 유의미한 차이가 있음이 나타나지 않았으므로 약물투여로 인한 보행활동량에는 변화가 없음을 알 수 있었다(도 1).

[0080] 이러한 결과를 통하여, 약물투여를 통해 발생할 수 있는 운동기능에는 문제가 없음을 나타냄으로써, 피각 추출물이 보행활동량에는 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었고, 하기 실험예의 신빙성을 확인할 수 있었다.

[0082] <실험예 2> 피각 추출물로 인한 인지장애 개선 효과 확인

[0083] 상기 <실시예 1>에서 제조한 피각 추출물의 단기 기억 형태로서 순간 공간 인지력을 평가하기 위하여, 상기 <실시예 2>에서 제조한 알츠하이머 질병 유발 마우스 모델을 이용한 Y자 미로형 검사(Y-maze test)를 수행하였다.

[0084] 구체적으로, Y자 미로형 검사에 이용되는 기구는 세 개의 가지(arm)로 구성되어 있으며 각 가지의 길이는 42 cm, 넓이는 3 cm, 높이는 12 cm이고 세 개의 가지가 접하는 각도는 120° 이다. 모든 실험 장치는 검정색의 폴리비닐 플라스틱(polyvinyl plastic)으로 구성되어 있으며, 각 가지를 A, B, C로 정한 후 한쪽 가지에 마우스를 조심스럽게 놓고 8분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음 마우스가 들어간 가지를 기록하였다. 이때, 꼬리까지 완전히 들어갔을 경우에 한하며, 갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 세 개의 서로 다른 가지에 차례로 들어간 경우(ABC, CAB, BCA; 실제 변경, actual alternation), 1점씩을 부여하였다. 변경 행동력(alternation behavior)은 세 개의 가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되며, 다음의 수학적식에 의해 계산하였다.

[0085] [수학적식]

[0086] 변경 행동력 (%)

[0087] = 실제 변경(actual alternation)/ 최고 변경(maximum alternation) × 100

[0088] (최고 변경: 총 입장횟수-2)

[0089] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 아밀로이드 베타 펩티드를 뇌에 직접 주입(1.2 μg/mouse, i.c.v) 함으로서 유발된 음성 대조군의 변경 행동력이 주입하지 않은 대조군에 비해 통계적으로 유의성 있게 감소하였음을 확인하였다(p<0.05). 반면, 피각 추출물 투여군에서는 자발적인 변경(spontaneous alternation)이 음성대조군에 비

해 유의성 있게 증가하였다($P<0.05$). 자발적인 변경이 증가한다는 것은 학습 및 기억력이 회복되었다는 것을 의미한다. 반면 각 구역으로 들어가는 총 횟수를 나타내는 총 진입(total entry)에서는 변화가 없는 것으로 나타나므로 자발적인 변경이 마우스의 활동성 변화에 의해 나타난 것이 아님을 확인하였다(도 2).

[0091] <실험예 3> 피각 추출물의 알츠하이머 질병 완화 효과 확인

[0092] 본 발명의 피각 추출물의 알츠하이머 질병 완화 효과를 확인하기 위하여 설치류의 공간학습 및 기억력(spatial learning and memory)을 측정하는 방법으로서 널리 이용되고 있는 수동 회피 검사인 모리스 수중 미로 검사(Morris water maze test)를 수행하였다.

[0093] 구체적으로, 하기 실험은 기존의 모리스의 방법을 응용하여 시행하였다. 먼저, 실험 시작 1시간 전에 마우스를 행동 관찰실로 옮기고 안정시켰다. 미로(maze)의 제원은 지름 90 cm, 높이 32.5 cm이며 플랫폼(white platform)의 지름은 5 cm로 구성되어 있다. 수중 미로의 주변은 비디오 카메라와 연결된 컴퓨터 시스템과 수온 조절용 장치 등 공간단서들을 항상 일정하게 유지시켰다. 그런 다음, 미로에 물을 채우고 마우스가 플랫폼을 볼 수 없도록, 물 높이의 1 cm 밑에 설치하였다. 상기 미로에 4개의 마커(marker)를 이용하여 4분원이 되도록 나누어서 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW)로 구분하였고, 미로의 한 4분원에 플랫폼을 설치하였다. 모리스 수중 미로 검사는 6일 동안 진행하는데, 첫째 날에는 각 마우스들이 물에 대하여 적응을 할 수 있도록 1분간 미로 안에서 자유로이 수영하도록 하고, 이때 플랫폼은 설치하지 않았으며, 두 번째 날부터 5일째 되는 날까지는 하루에 각각의 마우스가 1일 4회씩 10분 간격으로 1분 동안 미로에서 수영하도록 하였다. 두 번째 되는 날부터 5일째 되는 4일간 1회의 실험방법은, 이미 미로 안에 설치한 플랫폼에 1분 이내에 1초간 올라가 있는 마우스는 실험을 마치고, 1분 이내에 플랫폼을 찾지 못하거나 플랫폼에 10초간 올라가 있지 않은 마우스는 실험종료 후 인위적으로 1-초간 플랫폼에 올려둔 후 실험을 종료하며, 이때 플랫폼의 위치는 같은 자리에 고정시켰다. 6일째 되는 날에는 플랫폼을 미로에서 제거한 후, 플랫폼이 있던 분원에 마우스가 머문 시간을 측정하였다. 모리스 수중 미로 검사에서 마지막 날인 제 5일째 기억검사를 시행하기 위해 플랫폼을 제거한 후 60초간 자유 수영을 실시하고, 이를 Smart program을 통하여 총 시간 중 플랫폼에 있었던 4분원에 머무는 시간을 %로 측정하였다.

[0094] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 각 군의 기억력 측정결과는 대조군(Sham)은 $64.274 \pm 5.030954\%$, 아밀로이드 베타 펩티드 투여군(음성 대조군)은 $51.618 \pm 1.420522\%$, 아밀로이드 베타 펩티드 + 도네페릴(1 mg/kg) 투여군(양성 대조군)은 $59.222 \pm 2.917772\%$, 아밀로이드 베타 펩티드 + 피각 추출물 100 mg/kg 투여군(Exp.1)은 $67.428 \pm 4.094657\%$, 아밀로이드 베타 펩티드 + 피각 추출물 600 mg/kg 투여군(Exp.2)은 $58.75 \pm 2.574205\%$ 로 집단 간 유의성($P<0.05$) 있는 차이를 보였다(도 3). 이러한 결과를 통하여, 알츠하이머 질병이 유발되는 경우 발생할 수 있는 학습 및 기억력의 감소를 피각 추출물이 완화시킬 수 있음을 확인함으로써, 피각 추출물이 알츠하이머 질병의 개선 및 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

표 1

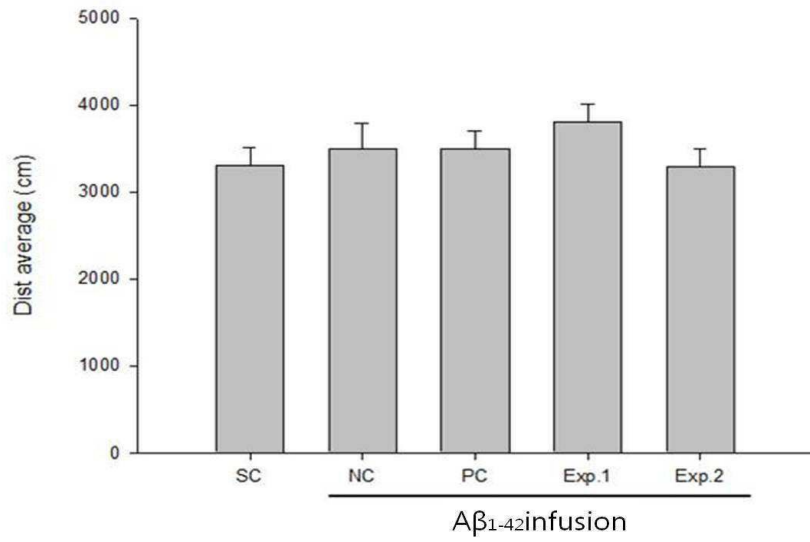
군	A β 주입(A β infusion)	4분원에 머문 시간(%)
대조군(Sham)	x	64.274 ± 5.030954
음성	o	$51.618 \pm 1.1420522^{\#}$
양성	o	$59.222 \pm 2.917772^*$
Exp. 1	o	$67.428 \pm 4.094657^{**}$
Exp. 2	o	$58.75 \pm 2.574205^*$

[0096]

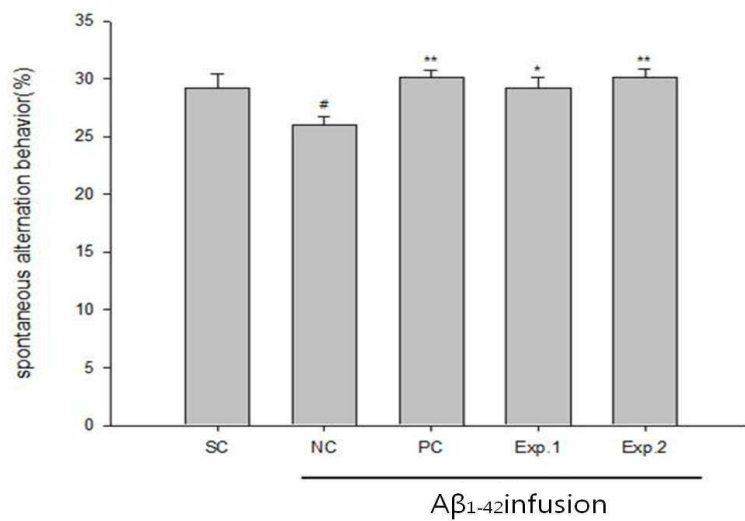
[0097] 각각의 값은 평균 S.E.M.을 나타낸다. 대조군(Sham)과 비교하여 [#]p< 0.05, A β -주입된 군과 비교하여 *p< 0.05를 나타낸다.

도면

도면1



도면2



도면3

