



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0038187
(43) 공개일자 2020년04월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/03 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/03 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0119732
(22) 출원일자 2019년09월27일
심사청구일자 2019년09월27일
(30) 우선권주장
1020180117653 2018년10월02일 대한민국(KR)

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
덕성여자대학교 산학협력단
서울특별시 도봉구 삼양로144길 33 (쌍문동)
(72) 발명자
김진희
서울특별시 종로구 평창문화로 156, 105동 502호
(평창동, 평창동 롯데캐슬 로잔)
최수임
서울특별시 노원구 노원로18길 19, 201동 802호(하계동, 하계2차현대아파트)
허호진
경상남도 진주시 금산면 중장로154번길 49, 107동 901호(진주금산두산위브아파트)
(74) 대리인
특허법인태백

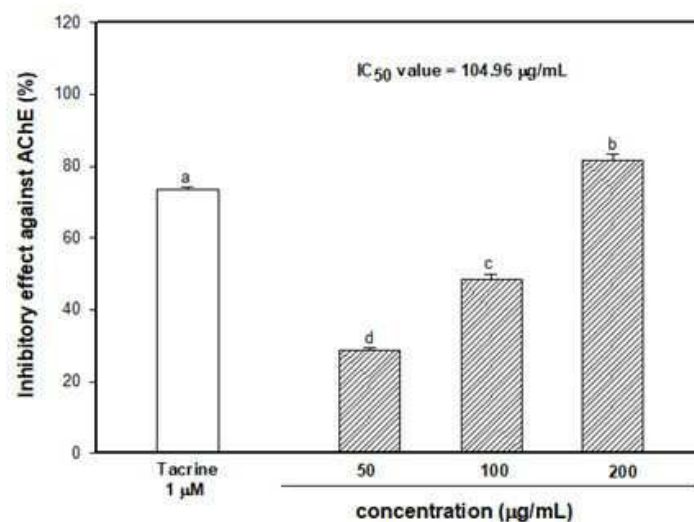
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 감태 추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지 기능 장애 예방 또는 개선용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물이 3:7 내지 4:6 중량비로 혼합된 이루어진 감태 추출물 혼합물이 활성산소 생성 및 아세틸콜린 분해효소 활성을 억제하여 신경세포를 보호하는 효과를 나타내는 것을 확인함에 따라, 상기 감태 추출물 혼합물을 인지기능 장애 예방 또는 개선용 약학조성물 및 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강식품으로 제공할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 25/28 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/202 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20170297

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 해양수산과학기술진흥원

연구사업명 해양수산생명공학기술개발사업

연구과제명 해양자원유래 고령친화형 글로벌 기능성식품소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 덕성여자대학교

연구기간 2017.04.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 감태추출물 혼합물은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물은 3:7 내지 4:6 중량비로 혼합된 것을 특징으로 하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 감태 주정추출물은 50 내지 90% 에탄올 수용액으로 추출된 것을 특징으로 하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 감태 산분해추출물은 0.1 내지 10 농도(N)의 산화합물로 6 내지 15시간 산분해된 것을 특징으로 하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 산화합물은 염산, 인산, 황산 및 아세트산으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 감태추출물 혼합물은 활성산소 생성 및 아세틸콜린 분해효소 활성을 억제하여 신경세포를 보호하는 것을 특징으로 하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 인지기능 장애는 건망증, 알츠하이머병, 헌팅턴 병, 혈관성 치매, 파킨슨병 및 크로이츠펔트-야코프병으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물.

청구항 8

감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 9

감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사람의 뇌는 학습, 기억, 운동 등을 총괄하는 중요한 부위로서 신경세포들이 서로 연결되어 거대한 신경망을 형

성하는 데, 이 신경망이 학습과 기억을 포함하는 신경계적 기반이 된다.

[0003] 그러나 다양한 원인에 의해 유해 활성산소종(Reactive Oxygen Specise; ROS)이 과다하게 생성되어 체내에 축적 되면, 세포에 산화적 손상을 주어 세포퇴화와 세포괴사 등을 유도한다. 정상적인 경우 체내 제거 기전인 슈퍼옥사이드 디스무타아제(superoxide dismutase; SOD), 카탈라아제(catalase), 카로티노이드(carotenoid) 및 글루타티온(glutathione) 등에 의해 제거되지만, 체내에 남아있는 ROS는 뇌 신경세포의 퇴화와 사멸을 유도하여 올바른 신경망 형성에 부정적인 영향을 미쳐 학습능력과 기억력을 저하시키며, 심할 경우 파킨슨씨병, 알츠하이머와 같은 퇴행성 뇌질환을 유발시킨다.

[0004] 또한, 뇌의 학습, 기억과 같은 인지능력은 아세틸콜린(acetylcholine; ACh)과 같은 신경전달물질에 의해 나타난다. 신경세포 말단에서 분비되는 ACh는 학습과 같은 외부자극을 시냅스의 수용체를 통해 정상적으로 신호를 전달한 뒤 아세틸콜린에스테라아제(acetylcholinesterase; AChE)에 의해 아세테이트(acetate)와 콜린(choline)으로 분해되어 다시 부분 재흡수된다. 이러한 과정을 콜린성 시스템(cholinergic system)이라 하며 알츠하이머 환자들의 대부분은 이 과정에서 심각한 문제가 일어난다고 알려져있다.

[0005] 현재까지 알츠하이머병의 근본적인 치료방법은 개발되지 않았지만, 각국에서 사용되고 있는 치료제로는 아세틸콜린에스테라아제 억제제가 대부분이며 이는 병의 진행을 완전히 막을 수 없고, 약간의 병리적 증상을 완화시키거나 진행 정도를 늦추는 효과만 있다. 이 계열의 약물로는 도네페질(donepezil), 리바스티그민(rivastigmine), 갈란타민(galantamine), 타크린(tacrine) 등이 있다. 치료제의 개발과정에 있어, 전 세계적으로 아세틸콜린에스테라아제가 가장 많이 약리작용점으로 채택되고 있는 연구 추세에 따라, 여러 천연물을 이용하여 부작용이 적고 그 효과가 우수한 아세틸콜린에스테라아제 억제제의 약제 및 기능성 소재를 개발할 필요가 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국공개특허 제10-2016-0088165호 (2016.07.25. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 천연물인 감태 추출물 혼합물을 아세틸콜린에스테라아제 억제제로 제공하여 부작용이 적고 우수한 아세틸콜린에스테라아제 억제 효과를 나타내는 기능성 소재로 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지 기능 장애 예방 또는 개선용 조성물을 제공한다.

[0009] 본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지 기능 장애 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강식품을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명에 따르면, 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물이 3:7 내지 4:6 중량비로 혼합된 이루어진 감태 추출물 혼합물이 활성산소 생성 및 아세틸콜린 분해효소 활성을 억제하여 신경세포를 보호하는 효과를 나타내는 것을 확인함에 따라, 상기 감태 추출물 혼합물을 인지기능 장애 예방 또는 개선용 약학조성물 및 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강식품으로 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물의 아세틸콜린에스테라아제 억제활성을 확

인한 결과로, 감태 주정추출물은 에탄올 추출물이며, 감태 산분해추출물은 0.1N HCl 가수분해물이다.

도 2는 아밀로이드-β에 의해 유도된 인지/기억력 장애 동물모델에서 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물의 개선 효과를 확인하기 위해 수행된 Y-maze 시험 결과로, 도 2A는 자발적인 변행동 능력 및 암 입장 수를 나타낸 결과이며, 도 2B는 각 그룹의 경로를 추적한 결과로, 결과 값은 평균 ± SD (n=9)로 나타냈었으며, p<0.05를 통계적으로 유의한 값으로 판단하였다.

도 3은 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물에 의한 단기 기억능력 및 학습능력 효과를 확인하기 위해 수행된 수동 회피반응 시험 결과로, 상기 결과 값은 평균 ± SD (n=9)로 나타냈었으며, p<0.05를 통계적으로 유의한 값으로 판단하였다.

도 4는 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물에 의한 단기 기억능력 및 학습능력 효과를 확인하기 위해 수행된 수중 미로 시험 결과로, 도 4A는 훈련 시간동안 도피 잠재기(Escape latency) 결과이며, 도 4B는 검사 시행 동안 W존 내에 시간이며, 도 4C는 검사 시행 동안 경로를 추적한 결과로, 상기 결과 값은 평균 ± SD (n=9)로 나타냈었으며, p<0.05를 통계적으로 유의한 값으로 판단하였다.

도 5는 아밀로이드-β에 의해 유도된 콜린성 시스템 기능 장애에 대한 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물의 영향을 확인한 결과로, 도 5A는 생쥐 뇌 조직에서 아세틸콜린 (ACh) 농도를 확인한 결과이며, 도 5B는 생쥐 뇌 조직에서 아세틸콜린에스테라제 (AChE) 발현 수준을 확인한 결과로, 상기 결과 값은 평균 ± SD (n=9)로 나타냈었으며, p<0.05를 통계적으로 유의한 값으로 판단하였다.

도 6은 아밀로이드-β에 의해 유도된 인지기능 장애에 대한 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물의 영향을 확인하기 위해, 생쥐 뇌 조직에서 MDA 함량을 확인한 결과로, 상기 결과 값은 평균 ± SD (n=9)로 나타냈었으며, p<0.05를 통계적으로 유의한 값으로 판단하였다.

도 7은 아밀로이드-β에 의해 유도된 인지기능 장애에 대한 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물의 영향을 확인한 결과로, 도 7A 및 도 7B는 생쥐 뇌 조직에서 각각 아밀로이드-β (Aβ) 및 p-Tau의 단백질 발현 수준을 확인한 결과로, 상기 결과 값은 평균 ± SD (n=5)로 나타냈었으며, p<0.05를 통계적으로 유의한 값으로 판단하였다.

도 8은 아밀로이드-β에 의해 유도된 세포사멸 신호과정에 대한 감태 주정추출물(ECE)와 감태 산분해추출물(ECH)의 4:6 혼합물의 영향을 확인한 결과로, 생쥐 뇌 조직에서 카스파제-3의 단백질 발현 수준을 확인하였으며, 상기 결과 값을 평균 ± SD (n=3)로 나타내고, p<0.05를 통계적으로 유의한 값으로 판단하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0014] 감태는 갈조식물 다시마목 미역과의 해조류로 주로 제주도 일대 및 일부 남해안에 분포하여 2-3년간 성장하는 다년생 식물로 알긴산, 요오드 및 칼륨 등의 영양소가 많이 함유되어 있는 건강식품자원으로 본 발명의 발명자들은 천연생물인 감태의 다양한 생리활성을 연구하던 중 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 혼합물이 아세틸콜린에스테라아제 활성을 효과적으로 저해하는 것을 확인함에 따라, 본 발명을 완성하였다.
- [0015] 본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지 기능 장애 예방 또는 개선용 조성물을 제공할 수 있다.
- [0016] 보다 상세하게 상기 감태 주정추출물은 50 내지 90% 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있으며, 보다 바람직하게는 70% 에탄올 수용액일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0017] 또한, 상기 감태 산분해추출물은 0.1 내지 10 농도(N)의 산화합물로 6 내지 15시간 산분해된 것일 수 있으며, 상기 산화합물은 염산, 인산, 황산 및 아세트산으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [0018] 보다 바람직하게는 1N 염산으로 12시간 동안 산분해된 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0019] 상기 감태추출물 혼합물은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물은 3:7 내지 4:6 중량비로 혼합된 것일 수 있다. 보다 바람직하게는 상기 조성물은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물이 4:6 중량비로 혼합된 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

- [0020] 상기 조성물은 활성산소 생성 및 아세틸콜린 분해효소 활성을 억제하여 신경세포를 보호하는 것일 수 있다.
- [0021] 본 발명의 실시예에 따르면, 알츠하이머성 치매로부터 유발되는 기억력 상실 및 학습력 저하 등 각종 인지장애는 주로 대뇌 기저부의 콜린(choline)성 신경세포의 손상으로부터 기인됨에 따라, ECE:ECH 혼합물(4:6)에 대한 인지개선 효과를 확인하기 위해, 아세틸콜린 아이오다이드(Acetylcholine iodide)를 기질로 사용하여 신경세포 PC-12 세포의 아세틸콜린에스테라아제(AChE) 저해 활성을 확인하였다.
- [0022] 균질화된 PC-12 세포 배양액 10 μ L에 감태추출물 혼합물 10 μ L을 넣어 37℃에서 15분간 사전 인큐베이션한 후, 50 mM 인산나트륨(sodium phosphate) 완충용액에 용해시킨 Ellman's reaction mixture [0.5 mM acetylthiocholine, 1 mM 5,5' dithiobis(2-nitro benzoic acid)] 70 μ L을 첨가한 후 405 nm에서 10분 동안 2분 간격으로 흡광도를 확인하고, 저해페턴 분석은 감태추출물 혼합물과 기질인 Ellman's reaction mixture(125, 250 및 500 μ M)와의 반응성을 통하여 AChE에 대한 억제 형태를 확인한 결과, 도 1과 같이 ECE:ECH 4:6 혼합물의 IC₅₀ 값은 약 104.96 μ g/mL인 것으로 확인되었으며, 종래 알츠하이머 치료제인 타크린(Tacrine)보다 우수한 AChE 억제 활성이 나타나는 것이 확인되었다.
- [0023] 상기 결과로부터 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물은 인지기능 및 기억력을 개선시키고, 인지기능 장애를 예방하거나 치료하기 위한 조성물로 제공될 수 있음이 확인되었다.
- [0024] 상기 인지기능 장애는 건망증, 알츠하이머병, 헌팅턴 병, 혈관성 치매, 파킨슨병 및 크로이츠펔트-야코프병으로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0025] 본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 치료용 약학조성물은 통상적인 방법에 따라 주사제, 과립제, 산제, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 겔, 현탁제, 유제, 점적제 또는 액제로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형을 사용할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 다른 구체예에서, 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 장애 예방 또는 치료용 약학조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제, 붕해제, 감미제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 향미제, 향산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0028] 구체적으로 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 사용할 수 있으며, 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 있으며 흔히 사용되는 단순 희석제인 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, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 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.
- [0029] 본 발명의 일실시예에 따르면 상기 약학 조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 대상체로 투여할 수 있다.
- [0030] 상기 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물의 바람직한 투여량은 대상체의 상태 및 체중, 질환의 종류 및 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 달라질 수 있으며 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 본 발명의 일실시예에 따르면 이에 제한되는 것은 아니지만 1일 투여량이 0.01 내지 200 mg/kg, 구체적으로는 0.1 내지 200 mg/kg, 보다 구체적으로는 0.1 내지 100 mg/kg 일 수 있다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고 수회로

나누어 투여할 수도 있으며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

- [0031] 본 발명에 있어서, 상기 '대상체'는 인간을 포함하는 포유동물일 수 있으나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 또한, 본 발명은 감태 주정추출물 및 감태 산분해추출물로 이루어진 감태추출물 혼합물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강식품을 제공할 수 있다.
- [0033] 상기 건강식품은 상기 감태추출물 혼합물 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0034] 상기 건강식품에 함유된 화합물의 유효용량은 상기 치료제의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.
- [0035] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제등을 들 수 있다.
- [0037] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0039] <실시예 1> 감태추출물 혼합물 제조

[0040] 1. 감태 주정추출물(ECE) 제조 및 성분 분석

- [0041] 감태는 제주도 애월읍에서 7-9월에 채취한 것을 사용하였다. 감태 원물을 정제수에 침지하여 3회 세척하여 염분을 제거한 후 열풍건조기 (45~55℃)에서 12시간 건조하여 분말화하였다. 감태건조분말 (30 kg)에 70% 주정알콜을 10배수 (v/v)로 가한 후, 순환추출기를 이용하여 60℃, 12시간 추출하였다. 추출물은 연속 원심분리기 (13,500 rpm)를 이용하여 여과하였고, 상등액을 회수한 후 감압농축하여 동결건조하였다.
- [0042] 상기 감태 주정추출물(ECE) 약 20mg에 95% 에탄올을 넣어 정확하게 20mL 용액을 준비하고, 상기 용액을 실린지 필터(MCE membrane, 0.45μm, 13mm)로 여과한 후 액체크로마토그래피법(HPLC system)에 따라 분석하였다.
- [0043] 상기 HPLC는 CAPCELL PAK C18 (250 X 4.6mm, 5μm) 컬럼을 이용하여, 주입량 20 μl, 유속 1.0 mL/min, 이동상으로 A solvent는 0.1% TFA가 포함된 물, B solvent는 0.1% TFA가 포함된 아세토나이트릴(Acetonitrile)을 이용하여 55분간 분석하고 흡광 파장 230 nm에서 확인하였다.

[0045] 2. 감태 산분해추출물(ECH) 제조 및 성분 분석

- [0046] 감태는 제주도 애월읍에서 7-9월에 채취한 것을 사용하였다. 감태 원물을 정제수에 침지하여 3회 세척하여 염분을 제거한 후 열풍건조기 (45~55℃)에서 12시간 건조하여 분말화하였다. 감태 건조분말에 0.1N HCl을 가한 후, 12시간 산분해를 거쳤다. 산분해물을 데칸터로 여과한 후 상등액에 동량의 주정알콜을 가하여 12시간 침지시켰다. 반응물을 연속원심분리기로 여과한 후 침전물을 회수하고 동결건조하였다.
- [0047] 상기 감태 산분해추출물 (ECH) 100mg을 플라스크에 취한 후 전처리 용매 10 ml을 넣고 용해시켜 1시간 동안 초음파 추출한 후 실린지 필터(MCE membrane, 0.45μm, 13mm)로 여과하였다. 상기 여과된 용액을 Waters_XTERRA_RP18_ 5 μm, 4.6 * 250 mm 컬럼을 이용하여, 주입량 10 μl, 유속 1.0 mL/min, 이동상으로 0.2 % 아세트산이 포함된 80 % MeOH, pH 7.0 용액을 흘려 15분간 분석을 수행하여 흡광 파장 210 nm에서 측정하였다.

[0049] 3. 다양한 혼합비율에 따른 감태추출물 혼합물

- [0050] 앞서 제조된 감태 주정추출물(ECE)과 감태 산분해추출물(ECH)을 각각 10:0 내지 0:10 비율로 혼합하여 감태추출물 혼합물(w/w)을 제조하였다.
- [0052] <실시에 2> 신경세포 내 산화스트레스 생성 억제 효과(DCF-DA assay)
- [0053] 신경세포에 H₂O₂를 처리하여 세포 내 ROS 함량을 측정하여 ECE, ECH 및 혼합물의 세포 내 항산화 활성을 확인했다.
- [0054] 감태추출물 혼합물을 신경세포 MC-IXC 세포 및 PC-12 세포에 각각 처리하여 24시간 동안 사전 인큐베이션(pre-incubation)하고, 그 후 H₂O₂를 3시간 동안 처리하였다.
- [0055] H₂O₂ 처리 후, 빛을 차단한 상태에서 DCF-DA(40 μ L/well)를 처리하고 40분 후 형광강도 (fluorescence strength; DCF content)를 측정하였다.
- [0056] 형광도는 형광광도계(fluorometer를) 이용하여 485 nm(excitation filter)와 535 nm(emission filter)에서 파장을 측정하였다.
- [0057] 그 결과, 표 1과 같이 PC-12 세포의 H₂O₂ 처리군(136.44%)은 대조군(100.00%) 대비 약 36% 증가된 세포 내 산화적 스트레스 수준을 나타내었고, 감태 주정추출물 (ECE; 103.53%)과 감태 산분해추출물 (ECH; 136.29%)을 비율별로 처리한 결과 3:7-4:6 비율의 혼합물(평균 92.23%)에서 가장 낮은 세포 내 산화적 스트레스 수준을 나타냈다.
- [0058] 또한, MC-IXC 세포의 H₂O₂ 처리군(208.25%)에서는 대조군(100.00%) 대비 약 108.25% 증가된 세포 내 산화적 스트레스 수준이 확인되었고, 감태 주정추출물 (ECE; 136.91%)과 감태 산분해추출물 (ECH; 213.53%)을 비율별로 처리한 결과 4:6 비율(110.78%)에서 가장 낮은 세포 내 산화적 스트레스 수준이 확인되었다.
- [0059] 특히, ECE : ECH (4:6) 혼합물은 양성 대조군으로 사용된 비타민 C(vitamin C; 116.14%)보다 상대적으로 높은 세포 내 항산화 효과를 나타내는 것이 확인되었다.

표 1

[0060]

시험군		DCF formation (oxidative stress, % of control)	
		PC-12 cell	MC-IXC
대조군		100.00 $\pm$ 3.88 ^{bc}	100.00 $\pm$ 2.41 ⁱ
H ₂ O ₂ (200 μ M) 처리군		136.44 $\pm$ 3.74 ^a	208.25 $\pm$ 0.24 ^b
Vitamin C 200 μ M 처리군		92.55 $\pm$ 1.42 ^e	116.14 $\pm$ 1.56 ^{fg}
ECE : ECH 혼합비율 (100 μ g/mL)	0:10	136.29 $\pm$ 2.69 ^a	213.53 $\pm$ 1.19 ^a
	1:9	98.10 $\pm$ 2.11 ^{cd}	131.87 $\pm$ 3.26 ^d
	2:8	94.27 $\pm$ 1.32 ^{de}	117.25 $\pm$ 0.37 ^{fg}
	3:7	91.19 $\pm$ 2.41 ^e	117.59 $\pm$ 0.36 ^f
	4:6	92.46 $\pm$ 0.68 ^e	110.78 $\pm$ 0.61 ^h
	5:5	92.07 $\pm$ 4.04 ^e	115.02 $\pm$ 2.49 ^g
	6:4	93.20 $\pm$ 1.24 ^e	117.33 $\pm$ 0.90 ^{fg}
	7:3	94.79 $\pm$ 2.21 ^{de}	118.43 $\pm$ 0.93 ^f
	8:2	95.44 $\pm$ 0.11 ^{de}	126.28 $\pm$ 1.06 ^e
	9:1	101.03 $\pm$ 2.81 ^{bc}	131.14 $\pm$ 1.32 ^d
	10:0	103.53 $\pm$ 0.84 ^b	136.91 $\pm$ 0.04 ^c

[0061] ECE: 감태주정추출물, ECH: 감태산분해추출물

[0063] <실시예 3> 산화적 스트레스에 대한 세포 생존율 확인

[0064] H₂O₂로 유도된 산화적 스트레스에 대한 신경세포(PC-12 및 MC-IXC 세포) 보호 효과는 세포생존율로 확인하였다.

[0065] ECE, ECH 및 혼합물 처리 24시간 후, 200 μM H₂O₂를 처리하여 3시간 배양하였다. 3시간 후, MTT 스탁 용액 (stock solution)을 처리하여 37℃에서 2시간 인큐베이션한 후, 모든 배지를 제거하였다. 배지 제거 후, DMSO 100 μL을 첨가하고 microplate reader(680, Bio-rad, Japan)를 이용하여 570 nm(determination wave)와 630 nm(reference wave)에서 흡광도를 측정하였다.

[0066] 그 결과, 표 2와 같이 PC-12 세포의 H₂O₂ 처리군(68.71%)에서는 대조군(100.00%) 대비 약 31.29%의 세포 사멸율이 확인되었으며, 양성 대조군으로 사용한 비타민 C(77.69%) 처리군에서는 약 8.98% 증가된 생존율을 나타냈다.

[0067] 한편, 감태 산분해추출물(ECH)이 처리된 세포에서는 63.42% 세포 사멸율이 나타남에 따라, 상기 감태 산분해추출물은 세포 보호효과를 나타내지 못하는 것이 확인되었다. 또한, 감태 주정추출물 (ECE)에서는 35.50%의 세포 생존율로 H₂O₂ 처리군보다 더 낮은 세포 생존율이 나타난 반면, ECE : ECH 비율별 혼합물에서는 3:7 비율에서 73.22%로 증가된 세포 생존율이 확인되었다.

[0068] MC-IXC 세포의 경우, H₂O₂ 처리군(62.68 %)에서는 대조군 대비 약 37.32%의 세포 사멸율을 나타내었으며, 양성 대조군인 비타민 C(82.43%) 처리군에서는 약 19.78% 증가된 생존율이 확인되었다.

[0069] 한편, 감태 산분해추출물(ECH)이 처리된 세포군에서는 67.67%의 생존율로 세포 보호효과를 나타내지 못하는 것으로 나타났으며, 감태 주정추출물이 처리된 세포군에서는 47.19%의 세포 생존율로 H₂O₂ 처리군보다 더 낮은 세포 생존율을 나타냈다.

[0070] 반면, ECE:ECH 혼합물이 처리된 세포군 중 4:6 비율로 처리된 세포군에서 H₂O₂ 처리군 대비 약 15.91%의 증가된 세포 생존율이 확인되었다.

[0071] 상기 결과들로부터 감태주정추출물(ECE)와 감태산분해추출물(ECH)은 단독 처리 시에 산화적 스트레스에 대한 신경세포 보호효과를 나타내지 못하는 반면, 혼합물(4:6)로 처리될 경우 개선된 신경독성 완화 효과를 나타내는 것이 확인되었다.

표 2

[0072]

시험군	Cell viability (% , control)	
	PC-12 cell	MC-IXC
대조군	100.00±1.77 ^a	100.00±2.90 ^a
H ₂ O ₂ (200 μM) 처리군	68.71±0.72 ^d	62.68±1.25 ^{ef}
Vitamin C 200 μM 처리군	77.69±1.44 ^b	82.43±1.44 ^b

ECE : ECH 혼합비율 (100 μ g/mL)	0:10	63.42 $\pm$ 2.64 ^e	67.67 $\pm$ 2.35 ^{de}
	1:9	63.91 $\pm$ 0.47 ^e	74.01 $\pm$ 1.88 ^{cd}
	2:8	67.42 $\pm$ 2.35 ^d	72.04 $\pm$ 2.77 ^{cd}
	3:7	73.22 $\pm$ 1.97 ^c	68.61 $\pm$ 3.37 ^{de}
	4:6	69.64 $\pm$ 2.72 ^d	78.59 $\pm$ 2.18 ^{bc}
	5:5	62.49 $\pm$ 4.03 ^e	66.74 $\pm$ 7.43 ^{de}
	6:4	60.31 $\pm$ 3.20 ^f	58.73 $\pm$ 6.24 ^f
	7:3	54.38 $\pm$ 3.16 ^g	57.90 $\pm$ 2.72 ^f
	8:2	50.30 $\pm$ 1.80 ^h	55.92 $\pm$ 7.53 ^f
	9:1	45.98 $\pm$ 2.01 ⁱ	47.40 $\pm$ 5.46 ^g
	10:0	35.50 $\pm$ 2.51 ^j	47.19 $\pm$ 5.90 ^g

[0073] ECE: 감태주정추출물, ECH: 감태산분해추출물

[0075] <실시예 4> 신경세포주 PC-12 세포에서의 아세틸콜린에스테라아제(Acetylcholine esterase) 저해 효과 확인

[0076] 알츠하이머성 치매로부터 유발되는 기억력 상실 및 학습력 저하 등 각종 인지장애는 주로 대뇌 기저부의 콜린(choline)성 신경세포의 손상으로부터 기인됨에 따라, ECE:ECH 혼합물(4:6)에 대한 인지개선 효과를 확인하기 위해, 아세틸콜린 아이오다이드(Acetylcholine iodide)를 기질로 사용하여 신경세포 PC-12 세포의 아세틸콜린에스테라아제(AChE) 저해 활성을 확인하였다.

[0077] PC-12 세포배양액을 12,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 상등액을 제거하고, 균질화 완충용액 [1M NaCl, 50 mM MgCl₂, 1% Triton X-100, 10 mM Tris-HCl로(pH 7.2)] 2 mL를 첨가하여 Glass-Col homogenizer로 균질화하였다.

[0078] 균질화된 세포배양액을 12,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하여 상등액을 얻었다. 상기 상등액 10 μ L에 감태추출물 혼합물 10 μ L을 넣어 37℃에서 15분간 사전 인큐베이션한 후, 50 mM 인산나트륨(sodium phosphate) 완충용액에 용해시킨 Ellman's reaction mixture [0.5 mM acetylthiocholine, 1 mM 5,5' dithiobis(2-nitro benzoic acid)] 70 μ L을 첨가한 후 405 nm에서 10분 동안 2분 간격으로 흡광도를 확인하였다.

[0079] 저해패턴 분석은 감태추출물 혼합물과 기질인 Ellman's reaction mixture(125, 250 및 500 μ M)와의 반응성을 통하여 AChE에 대한 억제 형태를 측정하고, Lineweaver-Burk plot 방법으로 결과를 나타냈다.

[0080] 그 결과, 도 1과 같이 ECE:ECH 4:6 혼합물의 IC₅₀ 값은 약 104.96 μ g/mL인 것으로 확인되었으며, 종래 알츠하이머 치료제인 타크린(Tacrine)보다 우수한 AChE 억제 활성이 나타나는 것이 확인되었다.

[0082] <실시예 5> 아밀로이드- β 유도성 인지/기억력 장애 동물 정립 및 기억력 개선 효능 평가

[0083] 아밀로이드- β 유도성 인지/기억력 장애 동물모델에서 감태추출혼합물(감태주정추출물(ECE):감태산분해추출물(ECH)=4:6)의 기억 및 학습능력 손상에 대한 개선효과를 확인하고자 행동학적 실험을 진행하였다.

[0085] 1. Y-maze 시험

[0086] 단기기억 형태의 공간인지력을 평가하기 위하여 Y-maze 시험을 수행하였다.

[0087] 그 결과, 도 2와 같이 8분 동안 마우스들이 Y-maze의 각 구역에 들어간 총 횟수(number of arm entries)는 유사한 경향을 나타냈으며, 이를 통해서 마우스들의 기본적인 운동능력에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났

다. 변경행동능력(alternation behavior) 결과에서 정상대조군(normal control, NC; 60.86%) 대비 아밀로이드- β 그룹(A β)은 50.31%로 공간인지력의 저하를 나타냈다. 반면, 양성대조군으로 사용된 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG) 및 도네페질 섭취군(Donepezil, DP)은 각각 58.08%, 54.84%로 변경행동능력이 개선된 것을 확인할 수 있었다. 또한, 감태추출혼합물 섭취군에서는 변경행동능력이 개선된 것을 확인할 수 있었으며, 특히 감태추출혼합물 10 mg/kg of body weight 섭취군(M10) 및 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20)에서는 60.11% 및 67.15%로 양성대조군 보다 우수하며, 정상대조군(normal control, NC)과 유사한 수준으로 회복되는 것으로 나타났다.

[0088] 도 2B는 동물모델의 움직임에 대한 모식도로, 정상대조군(normal control, NC)에서는 각 arm에서의 비슷한 움직임 경향을 나타내는 반면, 아밀로이드- β 그룹(A β)에서는 한 쪽 구역에 치우친 경향을 나타냈고, 양성대조군 및 감태추출혼합물 섭취로 인하여 이러한 경향성이 회복됨을 확인하였다.

[0090] 2. 수동 회피반응 시험(Passive avoidance test)

[0091] 단기 기억능력 및 학습능력을 확인하기 위해 수동 회피반응 시험을 수행하였다. 그 결과, 도 3과 같이 아밀로이드- β 그룹(A β ; 9.11%)은 정상대조군(normal control, NC; 100.00%) 대비 단기 기억능력 및 학습능력이 현저하게 감소된 결과를 나타냈으며, 양성대조군인 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG) 및 도네페질 섭취군(Donepezil, DP)에서는 70.22% 및 61.67%로 단기 기억능력 및 학습능력이 개선되었음을 확인하였다. 또한, 감태추출혼합물 중 10 및 20 mg/kg of body weight 섭취군(M10 및 M20)에서는 각각 85.78%, 87.44%로 양성대조군 보다 다소 높은 단기 기억능력 및 학습능력 개선 효과를 나타냈다.

[0093] 3. 수중미로 실험(Morris water maze test)

[0094] 공간학습능력 및 장기기억력을 확인하기 위한 Morris water maze 시험을 수행하였다.

[0095] 그 결과, 도 4A와 같이 Hidden 시험 기간 동안 모든 실험군의 도피대를 찾아가는 시간(escape latency)은 시험이 진행됨에 따라 감소되는 것을 확인할 수 있었다. Hidden 시험 마지막 날(Day 4)의 결과에서 아밀로이드- β 그룹(A β)은 정상대조군(normal control, NC; 19.43 sec) 대비 47.76 sec로 도피대를 찾아가는 시간이 오래 걸리는 것을 확인 하였고, 감태추출혼합물 중 10, 20 mg/kg of body weight 섭취군(M10 및 M20)은 각각 20.80, 17.87 sec로 양성대조군인 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG; 23.26 sec) 및 도네페질 섭취군(Donepezil, DP; 22.21 sec)과 더불어 정상대조군(normal control, NC)과 통계적으로 유의적인 결과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[0096] 한편, Hidden 시험 후 도피대에 대한 기억력을 확인하기 위하여 probe 시험을 수행하고 도피대가 존재한 W zone에 머무르는 시간을 계산하였다.

[0097] 그 결과, 도 4B와 같이 정상대조군(normal control, NC; 23.35%) 대비 아밀로이드- β 그룹(A β)은 15.21%로 감소된 공간학습능력 및 장기기억력에 대한 결과를 나타냈고, 양성대조군인 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG) 및 도네페질 섭취군(Donepezil, DP)은 각각 22.24%, 24.44%로 개선된 결과 값을 나타냈다.

[0098] 또한, 감태추출혼합물 중 5 mg/kg of body weight 섭취군(M5)은 19.91%로 양성대조군 대비 다소 낮은 기억력을 나타내었지만, 농도 10 및 20 mg/kg of body weight 섭취군(M10 및 M20)에서는 각각 25.15%와 26.34%로 정상대조군(normal control, NC)과 유의적인 결과 값을 나타냈다.

[0099] Probe 시험에서 동물모델의 움직임을 나타낸 모식도 도 4C를 참고하면, 아밀로이드- β 그룹(A β)에서 도피대가 존재하였던 W zone에서의 움직임이 정상대조군(normal control, NC) 대비 감소한 반면, 양성대조군 및 감태추출혼합물 그룹에서는 다소 증가한 경향을 나타냄을 확인할 수 있었다.

[0100] 상기 결과들로부터 감태추출물 혼합물이 아밀로이드- β 로 유도된 기억/학습능력 손상 개선에 도움을 줄 수 있음이 확인되었다.

[0102] <실시예 6> 인지/기억력 개선 효과를 나타내는 마우스 뇌 조직에서 관련 단백질 변화 및 작용기작 확인

[0103] 1. 콜린성 시스템 확인 (Cholinergic system)

- [0104] 아밀로이드- β 유도성 인지/기억력 장애 동물모델에 대한 감태추출혼합물의 개선 효과를 평가하기 위해 마우스 뇌 조직에서 아세틸콜린(acetylcholine; ACh) 함량 및 아세틸콜린에스테라제(acetylcholinesterase; AChE) 발현량을 측정하였다.
- [0105] 그 결과, 도 5A와 같이 정상대조군(normal control, NC)이 3.19 nmole/mg of protein, 아밀로이드- β 그룹(A β)이 2.11 nmole/mg of protein으로 정상대조군(normal control, NC) 대비 아밀로이드- β 처리에 의하여 ACh 함량이 감소한 것을 확인할 수 있었다. 반면, 양성대조군인 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG; 2.52 nmole/mg of protein) 및 도네페질 섭취군(Donepezil, DP; 2.31 nmole/mg of protein)의 ACh 함량은 아밀로이드- β 그룹(A β)에 비해 유의적으로 증가하였으며, 우수한 AChE 저해효과를 보여준 감태추출혼합물 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20)은 2.82 nmole/mg of protein으로 양성대조군보다 다소 증가된 ACh 함량을 나타냈다.
- [0106] 또한, 뇌 조직에서의 AChE 발현량을 측정한 결과, 도 5B와 같이 아밀로이드- β 그룹(A β ; 0.91)은 정상대조군(normal control, NC; 0.64) 대비 41.83% 증가된 발현량을 나타냈다. 반면, 감태추출혼합물 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20; 0.71)은 양성대조군인 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG; 0.77) 및 도네페질 섭취군(Donepezil, DP; 0.75)과 비교시 다소 높거나 유의적인 함량을 나타냈다.
- [0107] 상기 결과들로부터 감태추출혼합물은 효과적으로 콜린성 시스템을 개선함으로써 아밀로이드- β 에 의해 손상된 인지/기억력을 개선시킬 수 있음이 확인되었다.
- [0109] 2. 마우스 뇌 조직에서 산화스트레스 개선 효과 확인
- [0110] 뇌 조직에서 활성산소종에 의해 증가되는 지질과산화물(malondialdehyde; MDA) 함량을 확인하였다.
- [0111] 그 결과 도 6과 같이 정상대조군(normal control, NC; 1.82 nmole/mg of protein)의 MDA 함량 대비 아밀로이드- β 그룹(A β)은 2.08 nmole/mg of protein으로 나타나 아밀로이드- β 에 의해 MDA 함량이 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. 반면, 양성대조군인 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG; 1.87 nmole/mg of protein)과 도네페질 섭취군(Donepezil, DP; 2.06 nmole/mg of protein)을 비교하였을 때에는 참당귀추출물이 MDA 생성을 효과적으로 억제시키는 것으로 사료된다. 또한, 감태추출혼합물 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20)의 MDA 함량은 1.82 nmole/mg of protein으로 정상대조군(normal control, NC)과 유의적인 함량을 나타내었다.
- [0113] 3. 아밀로이드- β 및 타우(Tau) 관련 신호과정 개선 효과 확인
- [0114] 알츠하이머 환자의 뇌에서는 정상인의 뇌와 달리 여러 원인에 의해 과도한 아밀로이드- β 생성을 유발하게 되어 노인반점이 형성되며, 이와 더불어 신경세포의 소실을 가져오게 되어 인지학습에 문제가 생기고 행동장애, 기억장애 등이 유발하게 된다. 뇌 조직에서 다양한 산화적 스트레스나 염증의 발생은 아밀로이드- β 의 생성을 유도하는 것으로 알려져 있다. 또한, 알츠하이머 환자의 뇌에서 발견되는 주요한 특징으로 뉴런의 축색 돌기에서 신경섬유 다발(neurofibrillary tangle; NFT)이 관찰되는데, 이러한 NFT 생성의 원인은 과 인산화 된 타우에 의하여 생성되는 것으로 알려져 있다. 이러한 NFT의 축적은 축색돌기를 손상시킴에 따라 시냅스에서의 신경전달 기능을 손상시킬 뿐만 아니라, 세포의 사멸을 유도하여 인지/기억력의 장애를 유발한다. 따라서 아밀로이드- β 유도성 인지/기억력 장애 동물모델에 대한 감태추출혼합물의 개선 효과를 확인하기 위하여 아밀로이드- β 및 p-타우의 발현량을 측정하였다.
- [0115] 그 결과는 도 7A와 같이 아밀로이드- β 로 인지/기억력 장애가 유발된 마우스 뇌 조직에서의 아밀로이드- β 단백질 발현량은 정상대조군(normal control, NC; 0.94) 대비 아밀로이드- β 그룹(A β ; 1.18)에서 약 26.31% 증가된 것을 확인할 수 있었다. 반면, 감태추출혼합물 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20; 0.86)에서 가장 낮은 발현량을 나타내었으며, 양성대조군인 참당귀추출물 섭취군(Angelica gigas, AG; 0.87) 및 도네페질 섭취군(Donepezil, DP; 0.95)에서 다소 개선된 결과를 나타내었다.
- [0116] 또한, 도 7B와 같이 인산화된 타우의 단백질 발현량은 정상대조군(normal control, NC; 0.53) 대비 아밀로이드- β 그룹(A β ; 0.74)에서 약 38.39% 증가되었으나, 감태추출혼합물 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20)에서는 0.34로 가장 낮은 발현량을 나타내었으며, 이를 통하여 아밀로이드- β 처리에 의해 타우의 인산화가 억제된 것이 확인되었다.

[0117] 상기 결과들로부터 감태추출혼합물의 인지/기억력 개선 효과는 A β 및 Tau 과 인산화 억제 효과에 의한 것으로 확인되었으며, 감태추출혼합물은 인지기능 개선소재로의 활용가능성이 있음이 확인되었다.

[0119] 4. 아밀로이드- β 및 세포사멸 (Apoptosis) 신호과정 개선 효과 확인

[0120] 세포사멸(apoptosis)과 관련된 주요한 촉진/억제 단백질들은 미토콘드리아 내·외부에 존재하며, 세포사멸 신호과정 (apoptosis signaling pathway)에 의하여 활성화 되는 것으로 알려져 있다. 특히, Bax 및 Bad 등의 단백질의 발현 증가 및 Bcl-2 및 Bcl-xL 등의 단백질은 감소됨에 따라 미토콘드리아 막 투과성이 높아지고, 시토크롬(cytochrome) C를 세포기질(cytosol)로 방출하며 카스파제(caspase)-9/3/7 등의 단백질을 활성화시킴으로써 세포사멸을 유발하게 된다. 따라서 미토콘드리아와 관련된 세포사멸 신호과정을 확인하였다.

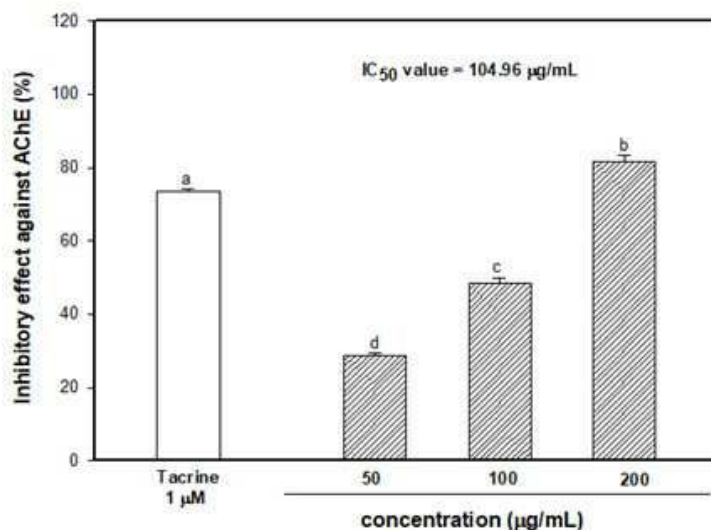
[0121] 그 결과, 도 8과 같이 아밀로이드- β 로 인지/기억력 장애가 유발된 마우스의 뇌 조직에서는 정상대조군(normal control, NC) 대비 카스파제-3의 활성이 증가되는 것으로 나타났다. 반면, 감태추출혼합물 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20)은 이러한 미토콘드리아 관련 세포사멸 신호과정에서 카스파제-3을 감소시켜 뇌 신경세포의 세포사멸을 억제시키는 것이 확인되었다.

[0122] 상기 결과로부터 감태추출혼합물 20 mg/kg of body weight 섭취군(M20)은 미토콘드리아의 기능 및 이와 관련된 세포사멸 신호과정을 회복시킴으로써 아밀로이드- β 로 유도된 세포사멸 신호과정을 개선함으로써 인지/기억력을 개선시키는 것으로 제안될 수 있다.

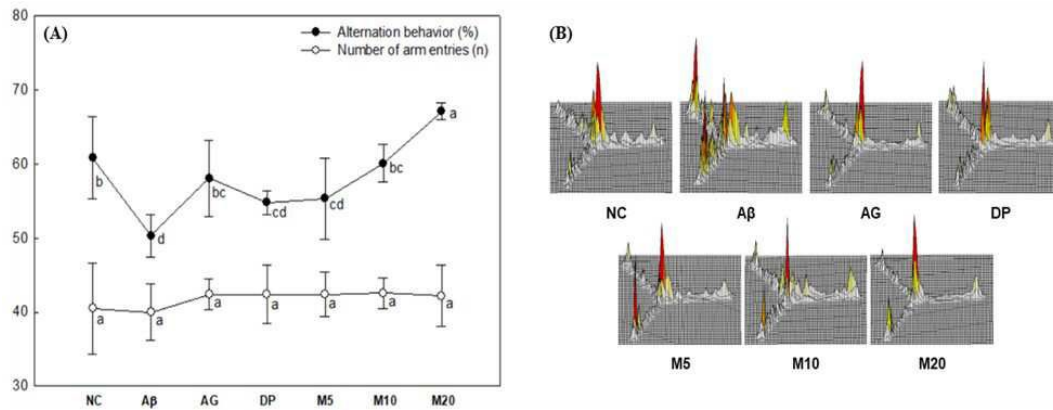
[0124] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

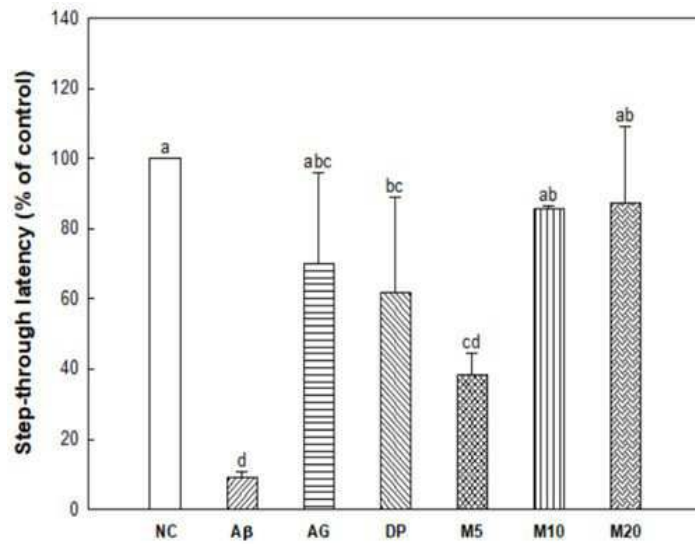
도면1



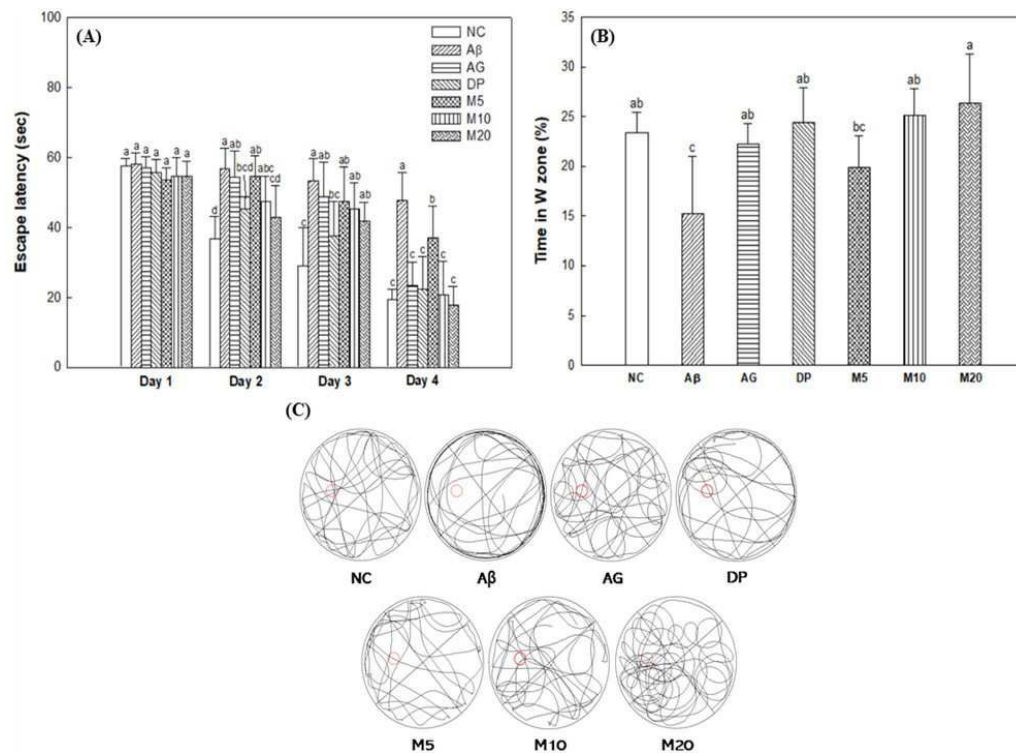
도면2



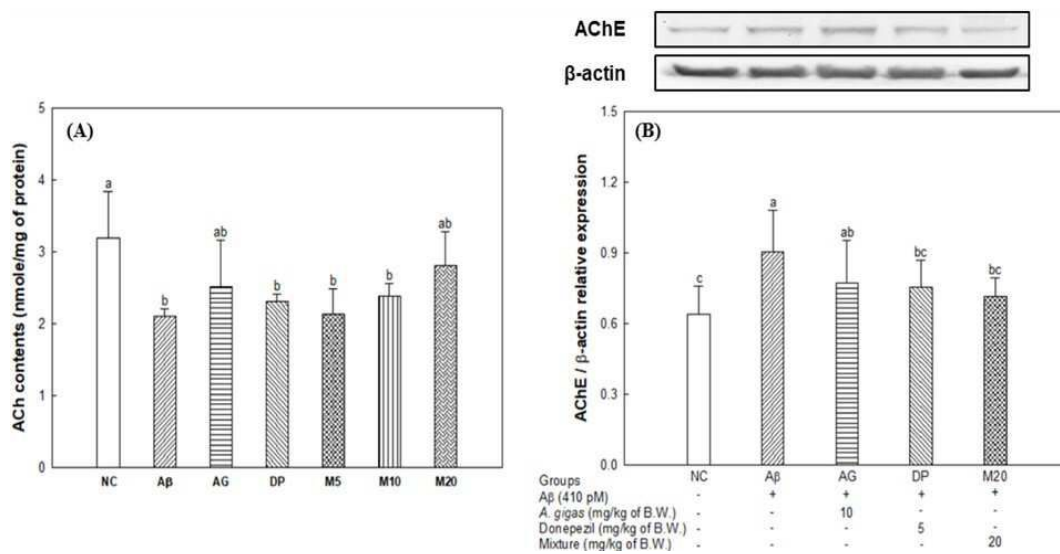
도면3



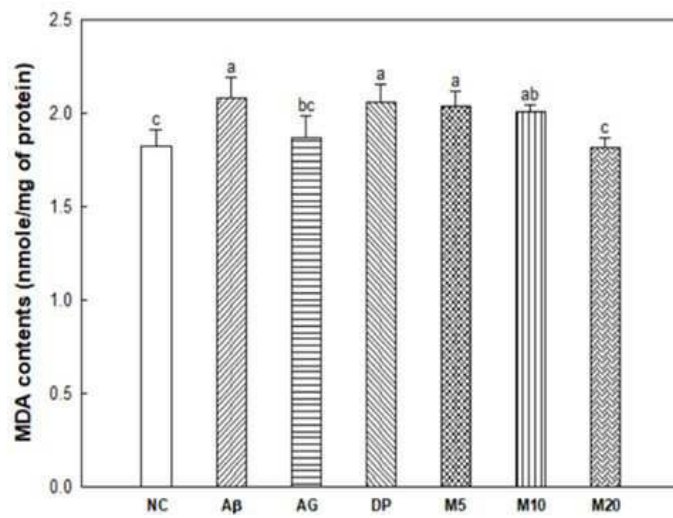
도면4



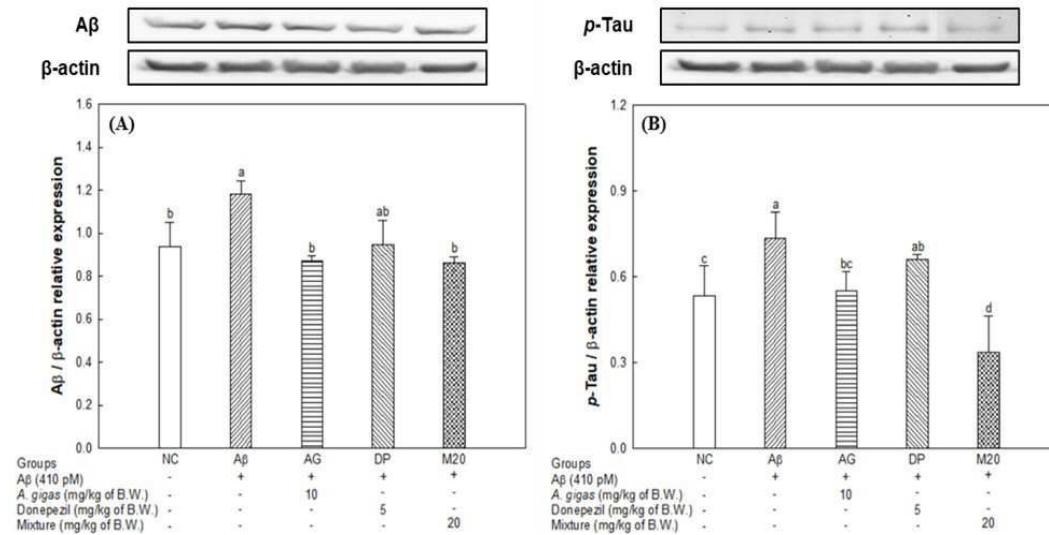
도면5



도면6



도면7



도면8

