



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0077739
(43) 공개일자 2011년07월07일

(51) Int. Cl.

A61K 36/484 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0134388

(22) 출원일자 2009년12월30일

심사청구일자 2009년12월30일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내

(72) 발명자

김동현

서울특별시 강남구 압구정동 369-1 현대 20-902

양정화

서울특별시 성동구 행당동 344 행당신동아아파트 8-1503

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

유수미

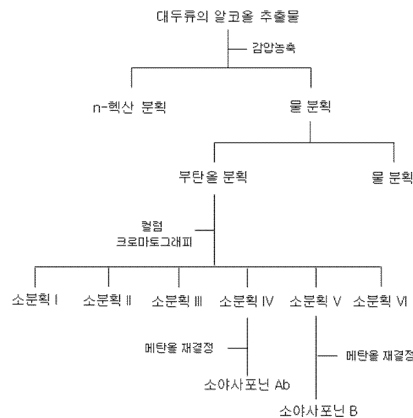
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 대두류의 소야사포닌 추출물 또는 그로부터 분리된 화합물을 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제

(57) 요약

본 발명은 대두류의 소야사포닌 추출물, 그로부터 분리된 소야사포닌 Ab 또는 소야사포닌 Bb, 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물, 또는 그로부터 분리된 소야사포닌 A 또는 소야사포닌 B를 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제에 관한 것이다. 본 발명에 따른 상기 추출물들 및 화합물들은 기억력 증가, 뇌손상 개선 및 신경세포 재생 효과가 있어, 기억력 감퇴 또는 뇌손상의 치료 또는 예방에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

장서영

서울특별시 은평구 불광3동 400-22 3층

한명주

서울특별시 강남구 압구정동 369-1 현대 20-902

김윤희

서울특별시 강남구 대치동 청실아파트 6-606

특허청구의 범위

청구항 1

대두류의 소야사포닌 추출물을 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 2

제1항에 있어서, 대두류가 콩, 발아콩 또는 콩나물인 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 3

제1항에 있어서, 대두류의 소야사포닌 추출물이

- (i) 대두류를 알코올로 추출하고 여과하여 감압 농축시켜 대두류의 알코올 추출물을 수득하는 단계;
- (ii) 대두류의 알코올 추출물을 물에 현탁하고 헥산으로 분획하여 물 분획을 수득하는 단계;
- (iii) 물 분획을 부탄올로 분획하여 부탄올 분획을 수득하는 단계를 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 4

제3항에 있어서, 알코올이 메탄올 또는 에탄올인 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 5

제3항에 있어서, 단계 (ii)와 (iii) 사이에 물 분획을 에틸아세테이트로 분획하여 다시 물 분획을 수득하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 6

소야사포닌 Ab 또는 소야사포닌 Bb를 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 7

대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 8

제7항에 있어서, 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물이

- (i) 대두류를 알코올로 추출하고 여과하여 감압 농축시켜 대두류의 알코올 추출물을 수득하는 단계;
- (ii) 대두류의 알코올 추출물을 물에 현탁하고 헥산으로 분획하여 물 분획을 수득하는 단계;
- (iii) 물 분획을 부탄올로 분획하여 부탄올 분획을 수득하는 단계; 및
- (iv) 부탄올 분획을 유산균으로 발효시키는 단계를 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 9

제8항에 있어서, 알코올이 메탄올 또는 에탄올인 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 10

제8항에 있어서, 유산균이 비피도박테리움 브레브, 락토바실루스 아시드필루스 또는 락토바실루스 불가리쿠스인 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 11

제8항에 있어서, 단계 (ii)와 (iii) 사이에 물 분획을 에틸아세테이트로 분획하여 다시 물 분획을 수득하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

청구항 12

소야사포게놀 A 또는 소야사포게놀 B를 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 대두류의 소야사포닌 추출물 또는 그로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 대두류의 소야사포닌 추출물, 그로부터 분리된 소야사포닌 Ab 또는 소야사포닌 Bb, 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물, 또는 그로부터 분리된 소야사포게놀 A 또는 소야사포게놀 B를 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 콩(*Glycine max* L. Merr)과 발아콩은 우리 나라를 포함한 동아시아를 중심으로 각 지역의 식문화에 맞춰 매우 다양한 품종들이 재배되고 있다. 콩은 용도에 따라 일반용(된장, 두부, 두유), 기름용(콩기름), 콩나물용(두채용 또는 나물콩) 등으로 구분하며, 우리 나라에서 가장 많이 이용하는 장콩 혹은 메주콩으로 불리는 일반용 콩은 주로 된장, 간장, 두부 또는 두유의 원료로 사용된다.

[0003] 콩은 단백질을 함유하고 있으며, 불포화 지방산 함량도 높아 식용유 중 그 비중이 매우 높다. 또한 콩에는 전분이 거의 없고, 자당(sucrose; 2.5 ~ 8.2%), 라피노스(raffinose; 0.1 ~ 0.9%), 스타키오스(stachyose; 1.4 ~ 4.1%) 등의 당류와 함께 이소플라본(isoflavone), 사포닌(saponin) 등이 함유되어 있다.

[0004] 콩 섭취량이 비교적 높은 아시아인보다 콩 섭취가 적은 서양인들에서 전립선암, 유방암 등을 포함한 여러 질환의 발병률이 높은 것으로 나타나 콩의 식품영양학 측면뿐 아니라 생리활성 부분에서 많은 관심을 받고 있다.

[0005] 콩의 생리활성과 관련해 그 동안 보고되었고 그 중 가장 많은 비중을 차지하는 것은 이소플라본류를 대상으로 한 것이다.

[0006] 전통적으로 콩 관련 식품을 많이 섭취하는 사람들에게서 유방암, 대장암, 그리고 전립선암 등의 발병률이 크게 낮은 이유를 이소플라본의 생리활성 기능에서 찾는 이유도 바로 이소플라본의 활성이 그만큼 높기 때문이다. 이소플라본은 여성호르몬인 에스트로겐과 비슷한 구조를 가지며 유사한 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서 식물성 에스트로겐이 다량 함유된 콩을 이용해 갱년기 관련한 여러 증상 완화나 예방 목적의 제품으로 개발하고자 하는 시도가 활발하게 이루어지고 있다.

[0007] 한편, 콩과 발아콩에 함유되어 있는 소야사포닌 A(Soyasaponin A)는 도 1에 도시되어 있는 바와 같이 C-3와 C-22 두 곳에 당을 지니고 있는 비스데스모사이드(bisdesmoside) 사포닌이다. 소야사포닌 A는 초기에는 쓰고 떫은 맛의 원인물질로 알려졌으나, 최근 우수한 항산화기능이 밝혀지면서 다시 주목받고 있다.

[0008] 또한 그룹(Group) B와 E에 속하는 소야사포닌은 C-3 한 곳에만 당이 부착된 모노데스모사이드(monodesmoside) 사포닌으로 알려져 있으며, 그룹 B 사포닌 중에는 C-22 위치에 2,3-디히드로-2,5-디히드록시-6-메틸-4 H -피란-4-온(2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one: DDMP)가 결합된 형태의 종류도 있는 것으로 밝혀졌다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0009] 본 발명자들은 콩과 콩나물을 포함한 대두류의 소야사포닌 추출물이 기억력 증가, 뇌손상 개선 및 신경세포 재생 효과가 있음을 알아내고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 대두류의 소야사포닌 추출물을 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 대두류의 소야사포닌 추출물로부터 분리된 소야사포닌 Ab 또는 소야사포닌 Bb를 유

효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제를 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 발효 추출물로부터 분리된 소야사포게놀 A 또는 소야사포게놀 B를 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제를 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0014] 본 발명은 대두류의 소야사포닌 추출물을 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제에 관한 것이다.

[0015] 상기 대두류로는 콩, 발아콩 뿐만 아니라 콩나물 등도 사용할 수 있다.

[0016] 상기 대두류의 소야사포닌 추출물은 도 2에서 보듯이,

[0017] (i) 대두류를 알코올로 추출하고 여과하여 감압 농축시켜 대두류의 알코올 추출물을 수득하는 단계;

[0018] (ii) 대두류의 알코올 추출물을 물에 현탁하고 헥산으로 분획하여 물 분획을 수득하는 단계; 및

[0019] (iii) 물 분획을 부탄올로 분획하여 부탄올 분획을 수득하는 단계를 포함하여 제조할 수 있다.

[0020] 상기 단계 (i)에서 대두류로는 대두류 자체 또는 대두류의 가공물, 예를 들어 콩 분말, 콩나물 줄기의 분쇄물 등을 사용할 수 있다. 또한 상기 알코올로는 탄소수 1 내지 4개의 직쇄형 또는 분지형 알코올, 바람직하게는 메탄올 또는 에탄올을 사용할 수 있다.

[0021] 상기 단계 (i)의 추출은 실온 내지 100℃, 바람직하게는 약 60 내지 90℃에서, 1 내지 6시간 동안 환류시켜 수행하는 것이 바람직하다.

[0022] 단계 (ii)와 (iii) 사이에 물 분획을 에틸아세테이트로 분획하여 다시 물 분획을 수득하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0023] 상기 단계 (iii)에서 수득한 부탄올 분획은 소야사포닌을 주성분으로 함유하며, 상기 단계 (iii) 다음에 부탄올 분획을 감압 농축 및 건조시키는 단계를 추가로 포함하는 것이 바람직하다.

[0024] 다른 한편으로, 본 발명은 상기 대두류의 소야사포닌 추출물로부터 분리된 소야사포닌 Ab 또는 소야사포닌 Bb ('I'이라고도 함)를 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제에 관한 것이다.

[0025] 상기 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb는 도 2에서 보듯이, 상기 대두류의 소야사포닌 추출물을 컬럼 크로마토그래피한 다음 메탄올로 재결정하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 상기 대두류의 소야사포닌 추출물을 실리카겔 컬럼 상에서 클로로포름, 메탄올 및 물의 혼합용매를 사용하여 컬럼 크로마토그래피한 다음, 메탄올로 재결정하거나, 상기 대두류의 소야사포닌 추출물을 실리카겔 컬럼 상에서 클로로포름, 메탄올 및 물의 혼합용매를 사용하여 컬럼 크로마토그래피하고, 역상 컬럼 상에서 아세토니트릴과 물을 구배 모드(gradient mode)로 사용하여 중압 액체 크로마토그래피한 다음 메탄올로 재결정하여 제조할 수 있다.

[0026] 또 다른 한편으로, 본 발명은 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제를 제공하는 것이다.

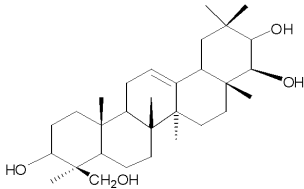
[0027] 상기 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물은 상기 대두류의 소야사포닌 추출물을 유산균으로 발효시켜 제조할 수 있다.

[0028] 상기 유산균으로는 스트렙토코쿠스 페시움(*Streptococcus faecium*), 스트렙토코쿠스 페카일스(*Streptococcus faecalis*), 락토바실루스 아시드필루스(*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실루스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*), 비피도박테리움 브레브(*Bifidobacterium breve*), 비피도박테리움 롱구(*Bifidobacterium longum*) 등, 바람직하게는 비피도박테리움 브레브, 락토바실루스 아시드필루스 또는 락토바실루스 불가리쿠스를 사용할 수 있다.

[0029] 또 다른 한편으로, 본 발명은 상기 발효 추출물로부터 분리된 소야사포게놀 A 또는 소야사포게놀 B를 유효성분으로 포함하는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제에 관한 것이다.

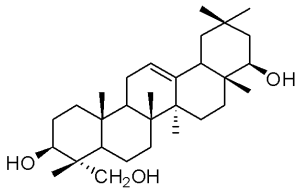
[0030] 상기 소야사포게놀 A 및 소야사포게놀 B는 각각 하기 화학식 1 및 2로 나타내며, 소야사포게놀 A 및 소야사포게놀 B로부터 당류가 분리된 화합물이다.

[0031] [화학식 1]



[0032]

[0033] [화학식 2]



[0034]

[0035] 상기 소야사포게놀 A 및 소야사포게놀 B는 상기 발효 추출물을 컬럼 크로마토그래피한 다음, 메탄올로 재결정하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 상기 발효 추출물을 역상 컬럼 상에서 아세토니트릴과 물을 구배 모드로 사용하여 중압 액체 크로마토그래피한 다음 메탄올로 재결정하여 제조할 수 있다

[0036] 본 발명에 따른 대두류의 소야사포닌 추출물, 그로부터 분리된 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb, 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물과 그로부터 분리된 소야사포게놀 A 및 소야사포게놀 B는 기억력 저하 및 뇌손상 동물모델에서 기억력 증가 및 신경세포의 재생 효과를 나타내었다.

[0037] 따라서, 본 발명에 따른 상기 추출물들 및 화합물들은 기억력 감퇴 또는 뇌손상의 치료 또는 예방용 약제학적 조성물, 특히 기억력 감퇴, 치매, 알츠하이머병 또는 파킨슨병의 치료 또는 예방용 약제학적 조성물로 사용될 수 있다.

[0038] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 경구적으로 (예를 들면, 복용 또는 흡입) 또는 비경구적으로 (예를 들면, 주사, 경피흡수, 직장투여) 투여될 수 있으며, 주사는 예를 들면, 정맥주사, 피하주사, 근육내주사 또는 복강내주사일 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 투여 경로에 따라, 정제, 캡슐제, 과립제, 파인 서브틸라 (fine subtilae), 분제, 설하 정제, 좌약, 연고, 주사제, 유탁액제, 현탁액제, 시럽제, 분무제 등으로 제형화될 수 있다. 상기 여러 가지 형태의 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 각 제형에 통상적으로 사용되는 약제학적으로 허용되는 담체(carrier)를 사용하여 공지기술에 의해 제조될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체의 예는 부형제, 결합제, 붕해제(disintegrating agent), 윤활제, 방부제, 향산화제, 등장제(isotonic agent), 완충제, 피막제, 감미제, 용해제, 기제(base), 분산제, 습윤제, 현탁화제, 안정제, 착색제 등을 포함한다.

[0039] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 약제의 형태에 따라 다르지만, 본 발명의 추출물 또는 화합물을 약 0.01 내지 100 중량%로 포함한다.

[0040] 본 발명의 약제학적 조성물의 구체적인 투여량은 치료되는 사람을 포함한 포유동물의 종류, 체중, 성별, 질환의 정도, 의사의 판단 등에 따라 다를 수 있다. 바람직하게는, 경구투여의 경우에는 하루에 체중 1kg당 활성성분 0.01 내지 500 mg이 투여되고, 비경구투여의 경우에는 하루에 체중 1kg당 활성성분 0.01 내지 100 mg이 투여된다. 상기 총 일일 투여량은 질환의 정도, 의사의 판단 등에 따라 한번에 또는 수회로 나누어 투여될 수 있다.

[0041] 또한, 본 발명에 따른 상기 추출물들 및 화합물들은 기억력 감퇴 또는 뇌손상의 치료 또는 예방용 건강기능식품, 특히 기억력 감퇴, 치매, 알츠하이머병 또는 파킨슨병의 치료 또는 예방용 건강기능식품으로 사용될 수 있다. 건강기능식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액제, 에멀전, 시럽제 등의 경구형 제제 형태이거나, 캔디, 과자, 껌, 아이스크림, 면류, 빵, 음료 등 일반적인 식품에 첨가될 수 있다.

[0042] 본 발명의 건강기능식품은 형태에 따라 통상적인 방법으로 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 감미제, 방향제, 보존제, 계면활성제, 윤활제, 부형제 등을 적절히 사용하여 제조될 수 있다.

[0043] 상기 건강기능식품의 제조에 있어서 본 발명의 추출물 또는 화합물의 함량은 건강기능식품의 형태에 따라 다르지만, 약 0.01 내지 100 중량%의 농도이다. 본 발명의 건강기능식품은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있다.

효 과

[0044] 본 발명에 따른 대두류의 소야사포닌 추출물, 그로부터 분리된 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb, 대두류의 소야사포닌 추출물의 발효 추출물과 그로부터 분리된 소야사포닌 A 및 소야사포닌 B는 기억력 감퇴 또는 뇌손상 개선제로서, 기억력 감퇴 또는 뇌손상의 치료 또는 예방용 약제학적 조성물 또는 건강기능식품으로 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0045] 이하, 실시예에 의해 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오직 본 발명을 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업자에게 있어서 자명하다.

[0046] 실시예 1: 콩으로부터 소야사포닌 추출물의 제조

[0047] 콩 분말 5 kg을 메탄올 (15 L)로 80℃에서 5시간 동안 추출하고 여과한 후 감압 농축한 다음, 남은 잔사를 메탄올 (15 L)로 80℃에서 5시간 동안 재추출하고 여과하였다. 여과된 메탄올 추출액을 감압 농축하여 메탄올 추출물 150 g을 얻었다. 메탄올 추출물 150 g을 증류수 (1.5 L)로 현탁한 후, 동량(v/v)의 n-헥산 (1.5 L)을 가하고 진탕 방치한 후 n-헥산층과 수층을 분리하였다. n-헥산층을 제거하고 수층에 동량(v/v)의 에틸아세테이트 (1.5 L)를 가하고 진탕 방치한 후 에틸아세테이트층과 수층을 분리하였다. 에틸아세테이트층을 제거하고 수층에 동량(v/v)의 n-부탄올 (1.5 L)을 가하고 진탕 방치한 후, 수층을 제거하고 n-부탄올층을 농축하여 n-부탄올 분획 40 g을 얻었다.

[0048] 실시예 2: 콩으로부터 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb의 분리

[0049] 실시예 1에서 수득한 소야사포닌 추출물 40 g에 대하여 CHCl_3 : MeOH : H_2O (65 : 35 : 10)의 용출용매로 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피 (10 cm×50 cm, 70-230 mesh, Merck)를 실시하여 6개의 소분획을 얻었다. 용출된 각 소분획 I 내지 VI은 전개용매 CHCl_3 : MeOH : H_2O (65 : 35 : 10)로 박막 크로마토그래피(thin layer chromatography: TLC; 실리카겔 60 F₂₅₄, Merck, Germany)하고 5% 황산으로 발색시켜 각각 R_f 0.8, 0.65, 0.6, 0.5, 0.36 및 0.2에서 물질을 확인하였다.

[0050] 소분획 IV (150mg)과 소분획 V (250 mg)을 각각 메탄올로 재결정하여 백색의 무정형 분말을 수득하였다. 각각의 분리된 화합물을 ^1H -NMR 및 ^{13}C -NMR을 이용하여 구조를 동정한 결과, 소분획 IV로부터 분리한 화합물은 소야사포닌 Ab(도 3 및 도 4), 소분획 V로부터 분리한 화합물은 소야사포닌 Bb (도 5 및 도 6)임을 확인하였다.

[0051] 소야사포닌 Ab

[0052] FAB-MS m/z : 1436 [M-H]⁻

[0053] 소야사포닌 Bb

[0054] FAB-MS m/z : 941 $[M+H]^+$

[0055] **실시예 3: 콩나물로부터 소야사포닌 추출물의 제조**

[0056] 콩나물의 줄기 300 g을 분쇄기 (Hallde cutter VCB-61)로 2분간 분쇄한 후, 1.5 L의 메탄올을 가하여 80℃에서 5시간 동안 추출하고 여과한 후 감압 농축한 다음, 남은 잔사에 1.5 L의 메탄올을 가하여 80℃에서 5시간 동안 재추출하고 여과하였다. 여과된 메탄올 추출액을 감압 농축하여 메탄올 추출물 65 g을 얻었다. 메탄올 추출물 65 g을 증류수 (1.5 L)로 현탁한 후, 동량(v/v)의 n-헥산 (1.5 L)을 가하고 진탕 방치한 후 n-헥산층과 수층을 분리하였다. n-헥산층을 제거하고 수층에 동량(v/v)의 에틸아세테이트 (1.5 L)를 가하고 진탕 방치한 후 에틸아세테이트층과 수층을 분리하였다. 에틸아세테이트층을 제거하고 수층에 동량(v/v)의 n-부탄올 (1.5 L)을 가하고 진탕 방치한 후, 수층을 제거하고 n-부탄올층을 농축하여 n-부탄올 분획 19 g을 얻었다.

[0057] **실시예 4: 콩나물로부터 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb의 분리**

[0058] 실시예 3에서 수득한 소야사포닌 추출물 19 g에 대하여 $CHCl_3$: MeOH : H_2O (65 : 35 : 10)의 용출용매로 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피 (10 cm×50 cm, 70 ~ 230 mesh, Merck)를 실시하여 3개의 소분획을 얻었다. 분리된 각 소분획 I 내지 III은 전개용매 $CHCl_3$: MeOH : H_2O (65 : 35 : 10)로 TLC하고 5% 황산으로 발색시켜 각각 Rf 0.81, 0.62 및 0.32에서 물질을 확인하였다.

[0059] 그런 다음, 소분획 II (8.7 g)를 중압 액체 크로마토그래피(middle pressure liquid chromatography: MPLC)로 재분리하였다. 이때, 컬럼은 Ultra pack (RP-18, 300x37 mm, Yamazen Co. Ltd., Japan)을 사용하였고, 용출용매로는 아세토니트릴 : 물을 구배 모드(gradient mode)로 사용하였다. 구체적으로, 최초 5%의 아세토니트릴에서 100%의 아세토니트릴까지 아세토니트릴의 비율을 직선적으로 증가시켰고, 8 ml/분의 유속으로 2시간 동안 실시하여 6개의 소분획을 얻었다. 용출된 각 소분획 II-1 내지 II-6은 TLC (RP-18 F_{254s}, Merck, Germany)로 확인하였으며, 전개용매로는 MeOH : H_2O (80 : 20)에 0.1% 아세트산을 첨가하여 사용하였다. 각 소분획을 메탄올로 재결정하여 소분획 II-4 (250 mg)와 소분획 II-5 (280 mg)로부터 각각 백색 무정형의 분말을 얻었다. 각각의 분리된 화합물을 ^1H -NMR 및 ^{13}C -NMR을 이용하여 구조를 동정한 결과, 소분획 II-4로부터 분리한 화합물은 소야사포닌 Ab, 소분획 II-5로부터 분리한 화합물은 소야사포닌 Bb임을 확인하였다.

[0060] **실시예 5: 유산균 발효 추출물의 제조**

[0061] 실시예 3에서 수득한 소야사포닌 추출물을 물에 5 mg/ml 농도로 녹이고, 5 mg/ml 농도의 유산균(비피도박테리움 브레브(Bifidobacterium breve)) 배양균체를 넣어 37℃에서 3일 동안 배양하여 발효시켰다.

[0062] 발효액 1 L에 동량(v/v)의 n-부탄올 (1 L)을 가하여 진탕 방치한 후, 물층은 제거하고 n-부탄올층을 농축하여 발효 추출물 1.2 g을 얻었다.

[0063] **실시예 6: 소야사포게놀 A 및 소야사포게놀 B의 제조**

[0064] 실시예 5에서 수득한 발효 추출물을 중압 액체 크로마토그래피 (MPLC)하였다. 이때, 컬럼은 Ultra pack (RP-18, 300x37 mm, Yamazen Co. Ltd., Japan)을 사용하였고, 용출용매로는 아세토니트릴 : 물을 구배 모드로 사용하였다. 구체적으로, 최초 5%의 아세토니트릴에서 100%의 아세토니트릴까지 아세토니트릴의 비율을 직선적으로 증가시켰고, 8 ml/분의 유속으로 2시간 동안 실시하여 2개의 소분획을 얻었다. 용출된 각 소분획은 TLC (RP-18 F_{254s}, Merck, Germany)로 확인하였으며, 전개용매로는 MeOH : H_2O (80 : 20)에 0.1% 아세트산을 첨가하여 사용하였다. 각 소분획을 메탄올로 재결정하여 소분획 I (15 mg) 및 소분획 II (28 mg)으로부터 각각 백색 무정형의 분말을 수득하였다. 각각의 분리된 화합물을 LC-MS/MS를 이용하여 구조를 동정한 결과, 소분획 I로부터 분리한 화합물은 소야사포게놀 A(도 7), 소분획 II로부터 분리한 화합물은 소야사포게놀 B(도 8)임을 확인하였다.

[0065] **실험예 1: 스코폴라민으로 유도한 동물 모델 실험**

[0066] 스코폴라민 ((-)-scopolamine hydrobromide, 시그마사)은 무스카리닉 신경시냅스 억제제로서, 기억력 저하 모델에서의 증진 효과를 확인하기 위해 사용되는 대표적인 약물이다.

[0067] **실험예 1-1: 수동회피실험**

[0068] 수동회피실험에 들어가기 전, 25±2g의 수컷 생쥐 (ICR mouse)를 22±1℃에서 12시간을 주기로 명암을 조절하며 3일간 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 수동회피실험시, 각각의 실험군은 10마리씩 구성하였으며, 음성대조군 및 정상군은 10% 트윈-80 (Tween 80, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노올리에이트, 시그마사)을 경구투여하고, 양성대조군은 아세틸콜린 에스터라제의 강력한 저해제이자 알츠하이머병 치료제로 승인된 타크린 (tacrine, 9-아미노-1,2,3,4-테트라하이드로아크리딘, 시그마사)을 10 mg/kg 용량으로 경구투여하였다. 약물군에서는 소야사포닌 및 소야사포게놀을 5, 10, 20, 40 mg/kg 농도로, 대두류의 소야사포닌 추출물 및 발효 추출물을 10, 20, 50, 100 mg/kg 농도로 1회 경구투여하였다. 정상군을 제외한 음성 및 양성대조군과 약물군에서는 무스카리닉 신경시냅스 억제제인 스코폴라민 ((-)-scopolamine hydrobromide, 시그마사)을 경구투여를 한 지 한 시간 후 0.9 mg/kg 농도로 복강투여하여 기억력 감퇴를 유도하였고, 30분이 지난 후 서틀 박스 시스템 (정도비엔피사)을 사용하여 학습 (learning)과 실험 (testing)을 나누어 시행하였다

[0069]

[0070] **(1) 학습 (learning)**

[0071] 각 실험군에 해당 시료를 마지막으로 투여한 시점으로부터 30분 후, 조명으로 밝게 한 구획에 쥐를 놓고 10초의 탐색시간을 준 후 문을 열어 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다. 쥐가 어두운 구획으로 들어가면 문을 닫고, 0.5mA의 스크램블된 충격이 3초 동안 그리드 바닥을 통해 흐르게 함으로써 어두운 구획으로 가면 전기 충격 (foot shock)이 가해진다는 것을 학습하게 하였다. 이때, 길로틴 문이 열린 후 120초 이내에 어두운 구획으로 들어가지 않는 쥐는 실험에서 제외시켰고, 문이 열린 후 쥐가 어두운 구획으로 들어갈 때까지의 시간을 측정하였다.

[0072] **(2) 실험 (testing)**

[0073] 상기 단계 (1)의 학습 후 24시간이 지났을 때, 쥐를 다시 조명으로 밝게 한 구획에 놓고 10초의 탐색시간 후 문을 열어주었다. 문을 연 시점으로부터 쥐가 어두운 구획으로 들어갈 때까지의 도달시간 (latency time)을 300초까지 측정하였으며, 300초가 넘도록 어두운 구획으로 들어가지 않으면 수동회피반응 시간을 300초로 결정하고 도달시간을 측정하였다.

[0074] 실시예 2에서 수득한 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb, 실시예 6에서 수득한 소야사포게놀 A 및 소야사포게놀 B, 실시예 1에서 수득한 대두류의 소야사포닌 추출물, 실시예 5에서 수득한 발효 추출물에 대한 측정 결과를 각각 도 9 내지 14에 나타내었다.

[0075] 도 9 내지 14로부터, 본 발명에 따른 소야사포닌 Ab, 소야사포닌 Bb, 소야사포게놀 A, 소야사포게놀 B, 소야사포닌 추출물 및 발효 추출물이 모두 기억력 증진 효과가 있음을 확인하였다.

[0076] **실험예 1-2: Y자형 미로실험**

[0077] Y자형 미로 측정장치는 3개의 통로(arm)가 뻗어 알파벳 Y자 모양을 하고 있으며, 각 가지는 길이 25 cm, 높이 14 cm, 폭 5 cm이고 동일한 각도로 위치하였다. Y자형 미로의 한 통로의 끝에 실험동물의 머리 부분이 향하도록 두고 8분 동안 자유롭게 통로를 돌아다니도록 하면서, 실험자가 동물에게 노출되지 않도록 주의하였다.

[0078] 수동회피실험과 마찬가지로 각각의 실험군은 10마리씩 구성하였으며, 음성대조군 및 정상군은 10% 트윈-80 (Tween 80, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노올리에이트, 시그마사)을 경구투여하고, 양성대조군은 아세틸콜린 에스터라제의 강력한 저해제이자 알츠하이머병 치료제로 승인된 타크린 (tacrine, 9-아미노-1,2,3,4-테트라하이드로

아크리딘, 시그마사)을 10 mg/kg 용량으로 경구투여하였다. 약물군에서는 실시예 2에서 수득한 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 B를 10 mg/kg 농도로 1회 경구투여하였다. 정상군을 제외한 음성 및 양성대조군과 약물군에서는 무스카리닉 신경시냅스 억제제인 스코폴라민 ((-)-scopolamine hydrobromide, 시그마사)을 경구투여를 한 지 한 시간 후 0.9 mg/kg 농도로 복강투여하여 기억력 감퇴를 유도하였고, 30분이 지난 후 Y자형 미로에 넣어주었다.

[0079] 8분간 동물의 움직임을 기록하고 동물의 뒷발까지 통로로 들어간 경우를 통과한 것 (arm entry)으로 보았다. 동물의 움직임을 교차횟수 (alternation)로 나타내는데, 교차횟수란 동물이 연속적으로 3개의 통로를 통과하였을 때 한 번 교차한 것으로 정의하였고, 자발적인 교차행동량 (spontaneous alternation)은 실제 교차횟수와 최대 가능한 교차횟수 (즉, 총 교차횟수에서 2를 뺀 값)의 백분비로 나타내었다.

[0080] 그 결과를 도 15에 나타내었으며, 본 발명에 따른 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb가 기억력 증진 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

[0081] 실험예 1-3: 수중미로실험

[0082] 원형의 물탱크 (지름 100 cm, 높이 35 cm)에 온도 23℃의 물을 15cm 깊이로 채우고, 물에는 식용색소를 넣어 실험동물이 플랫폼 (platform, 지름 4.5 cm, 높이 14.5 cm)을 볼 수 없도록 한 후, 플랫폼 상단이 수면 0.5 cm 밑에 위치하도록 하였다. 물탱크 주변의 4방향에는 위치를 확인할 만한 표식을 붙여서 실험동물이 공간 기억력을 기를 수 있도록 설계하였다.

[0083] 실험동물이 공간기억력을 기를 수 있도록 하는 훈련 (training trial)은 1일 4회씩 5일간 연속적으로 실시하였고, 원형 물탱크의 주변 표식 4가지를 각각의 출발점으로 하면서 진행하였다. 각각의 실험군은 10마리씩 구성하였으며, 매일 음성대조군 및 정상군은 10% 트윈-80 (Tween 80, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노올리에이트, 시그마사)을 경구투여하고, 양성대조군은 아세틸콜린 에스터라제의 강력한 저해제이자 알츠하이머병 치료제로 승인된 타크린 (tacrine, 9-아미노-1,2,3,4-테트라하이드로아크리딘, 시그마사)을 10 mg/kg 용량으로 경구투여하였다. 약물군에서는 실시예 2에서 수득한 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 B를 10 mg/kg 농도로 1회 경구투여하였다. 정상군을 제외한 음성 및 양성대조군과 약물군에서는 무스카리닉 신경시냅스 억제제인 스코폴라민 ((-)-scopolamine hydrobromide, 시그마사)을 경구투여를 한 지 한 시간 후 0.9 mg/kg 농도로 복강투여하여 기억력 감퇴를 유도하였고, 30분이 지난 후 수중미로실험을 위한 물탱크에 넣어주었다.

[0084] 일단 생쥐가 플랫폼을 찾으면 약 10초간 플랫폼에 머무르도록 두었다가 원래의 케이지(cage)로 돌아가 있도록 하고, 1분 후 다음 훈련을 실시하였다. 만일 생쥐가 60초 이내에 플랫폼을 찾지 못하면 이를 플랫폼에 10초간 두어서 주변 표식을 이용하여 플랫폼의 위치를 기억할 수 있도록 유도하였다.

[0085] 훈련이 끝난 동물을 대상으로, 마지막 훈련 24시간 후에 프로브 테스트 (probe test)를 실시하였다. 이때는 플랫폼을 제거하고 60초 동안 실험동물의 행동을 녹화하여 플랫폼이 놓여 있던 4분원에 머무는 시간을 측정하여 도 16에 나타내었다.

[0086] 도 16으로부터 본 발명에 따른 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 Bb가 기억력 증진 효과가 있음을 확인하였다.

[0087] 실험예 2: 이보텐산으로 유도한 동물모델 실험

[0088] 이보텐산 (ibotenic acid, 시그마사)은 버섯류 (*Amanita muscaria*, *Amanita pantherina*)에 존재하는 신경독성 물질로서, 쥐나 랫의 뇌에 직접 주입되었을 때 강력한 신경세포의 손상을 야기한다고 알려져 있다.

[0089] 실험예 2-1: 수동회피실험과 Y-자형 미로실험

[0090] 랫(rat)을 이용한 기억력 손상 모델 수술은 공지된 방법[참고문헌: Ueki et al., Journal of the Neurological Sciences, 125, 14-21, 1994); Park et al., Journal of Neurochemistry, 74, 244-253, 2000]에 따라 수행되었다.

[0091] 구체적으로, 350mM 소듐 펜토발비탈(sodium pentobarbital), 250mM 클로랄 하이드레이트(chloral hydrate), 85mM 황산마그네슘(MgSO₄) 및 40% 프로필렌 글라이콜(propylene glycol)을 10% 에탄올에 용해시킨 후, 2 ml/kg의 부피만큼 실험동물에게 경구투여하여 마취를 하였다. 그런 다음, 실험동물을 입체정위두부 고정대

(stereotaxic device, 스텔링사)에 고정시킨 후 대천문(bregma)으로부터의 좌표를 정확히 읽어내어 두개골에 드릴로 구멍을 내고, 뇌주입기를 주입하여 (first, AP:-8.4mm, ML:-4.8mm, DV:-4.6 to -4.8mm; second, AP:-8.4mm, ML:-4.8mm, DV:-2.6 to -2.8mm; third, AP:-8.8mm, ML:-3.65mm, DV:-4.8mm) 대뇌 외피의 정확한 위치에 1 μ l/분의 속도로 이보텐산 (동물당 1.5 μ l, 1 mg/ml, 시그마사)을 주입하였다.

[0092] 정상군은 생리식염수 (PBS)를 이보텐산 대신 주입하였고, 각 실험군당 실험동물 수는 3마리로 하였다. 이보텐산을 주입하여 기억력 손상 모델을 만든 지 1주일 후부터 소야사포닌들을 5, 10, 20 mg/kg 농도로 5일간 경구 투여하였고, 경구투여 후 실험에 1과 동일한 방법으로 수동회피실험과 Y-자형 미로실험을 수행하였다.

[0093] 실시예 2에서 수득한 소야사포닌 Bb에 대한 수동회피실험 결과를 도 17에 나타내었다.

[0094] 도 17로부터, 본 발명에 따른 소야사포닌 Bb가 이보텐산으로 유도한 뇌손상 동물모델에서도 기억력 증진 효과가 있음을 확인하였다.

[0095] 실시예 2에서 수득한 소야사포닌 Bb에 대한 Y-자형 미로실험 수행 결과를 도 18에 나타내었다.

[0096] 도 18로부터, 본 발명에 따른 소야사포닌 Bb가 이보텐산으로 유도한 뇌손상동물모델에서도 기억력 증진 효과가 있음을 확인하였다.

[0097] 실험예 2-2: 면역학적 조직 염색 실험

[0098] 생리식염수 (PBS)를 주입한 정상군, 음성대조군 및 약물군(소야사포닌 Bb 5, 10, 20 mg/kg 투여군)의 실험동물에서 혈액을 제거하기 위하여 펌프와 연결된 바늘을(20 gage size) 심장의 좌심실에서 대동맥 방향으로 꽂고 우심방을 절개하여 혈액이 다시 심장으로 들어가지 않도록 하였다. 펌프를 이용하여 얼음에 담긴 생리식염수 (PBS, pH 7.4) 200 ml를 관류시킨 후, 4% 파라포름알데하이드 (paraformaldehyde in PBS) 400 ml를 관류시켜 조직을 고정시키고 신속하게 두개골을 열어 뇌조직을 얻은 후, 4 시간 동안 4% 파라포름알데하이드 (paraformaldehyde in PBS, pH 7.4)에서 고정시킨 후 (각 뇌조직당 25ml의 용액), 30% 슈크로스(30% sucrose-PBS, pH 7.4)에서 탈수과정을 거쳤다.

[0099] 탈수과정을 거친 뇌조직을 동결절편하기 위하여 저온유지장치(cryostat)내의 온도를 -22 $^{\circ}$ C로 설정하고 절편용 용제 (OCT compound)로 조직을 동결 고정시킨 후 35 μ m로 절편하였다. 절편한 조직샘플은 저장용 용액 (30% 글리세롤, 30% 에틸렌 글리콜 in PBS, pH 7.4)에 담가서 4 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

[0100] 자유-부유 방법 (free-floating method)으로 형광염색을 하기 위하여, 동결절편한 조직을 아크릴 24 웰로 옮겨 PBS로 3번 씻어 준 다음, 0.5% 트리톤 X-100 (Triton X-100 in PBS) 용액으로 25분간 교반기에서 반응시켰다. 그런 다음, 미리 37 $^{\circ}$ C로 가열한 2N HCl 용액에 조직을 옮긴 다음 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰다. 그런 다음, 생리식염수 (PBS, pH 7.4)에 0.1% 트리톤 X-100, 3% 소혈청알부민 (bovine serum albumin: BSA)로 3번 세척한 후, 생리식염수 (PBS, pH 7.4)에 10% 정상 당나귀 혈청 (normal donkey serum)/정상 말 혈청 (normal horse serum)이 용해된 용액에서 비특이적 면역반응에 대한 블로킹 (blocking) 단계를 1시간 동안 진행하고, 4 $^{\circ}$ C에서 생리식염수 (PBS)에 1%의 농도로 용해된 BSA 용액에 희석된 1차 항체(primary antibody)를 16시간 동안 부착시켰다. 이때 사용된 항체는 BrdU(BD bioscience, 1:500), Nestin(1:1000), TuJ1(Sigma, 1:1500), GFAP(Chemicon, 1:700), ChAT(Chemicon, 1:500), GAD67(Chemicon, 1:2000), VGluT1(Chemicon, 1:500), TH(Chemicon, 1:700)이었다. 이후 1차 항체에 상보적인 2차 항체를 실온 (22 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C)에서 45분간 부착하였다. 이때 사용된 2차 항체는 형광 표지된 Cy3(Jackson, 1:500), FITC(Chemicon, 1:500), Alexa488(Molecular probe, 1:700)이었다. 그런 다음, 프로피디움 아이오다이드 (propidium iodide: PI)를 포함한 생리식염수 (PBS, 1:1000)로 세척한 후 슬라이드글라스 위에 올려 수성마운트를 이용하여 봉입한 후, 조직관찰용 컨포칼 현미경 (confocal laser microscope; LSM510, 칼자이스사)으로 확인하였다.

[0101] 이중(double) 촬영한 슬라이드에서 DiI로 표지된 이식한 hMSCs의 수를 카운트하고 각 분화 표지자인 ChAT, GAD65/67, VGluT1, NeuN, GFAP, O4의 FITC(fluorescein isothiocyanate)로 표식된 각각의 세포수를 카운트하여 각 실험동물의 해마 내 분화 표지자의 수를 DiI 수로 백분율하였다. 이때 모양과 위치가 정확히 일치되고 세포의 모양을 하고 있는 FITC의 수를 카운팅하였다. BrdU 세포 수 측정은 대조염색된 신호의 핵부위에 신호가 잡히는 세포를 카운트하였으며, BrdU는 핵 모양으로 둥근 형태를 띄고 있으며 조직의 가장자리나 찢어진 부분에서 나타나는 비특이적 신호는 세지 않았다. 데이터 분석은 일원배치분산분석(Anova)에 의해 대조군과 실험군을 비교하였다.

- [0102] BrdU 염색 결과를 도 19에 나타내었다. 도 19로부터 소야사포닌 Bb 투여군에서 BrdU가 현저하게 증가됨을 확인할 수 있었다.
- [0103] ChAT 염색 결과를 도 20 및 21에 나타내었다. 도 20 및 21로부터 소야사포닌 Bb 투여군에서 콜린성 신경세포가 현저하게 증가됨을 확인할 수 있었다. 따라서 본 발명에 따른 소야사포닌들이 뇌손상세포의 재생력을 증가시키는 효과를 가짐을 알 수 있었다.
- [0104] GAD65/67 염색 결과를 도 22 및 도 23에 나타내었다. 도 22 및 23으로부터 소야사포닌 Bb 투여군에서 GABAergic[GABA(gamma-aminobutyric acid)계] 세포가 증가되어 뇌손상세포의 재생효과가 있음을 확인할 수 있었다.

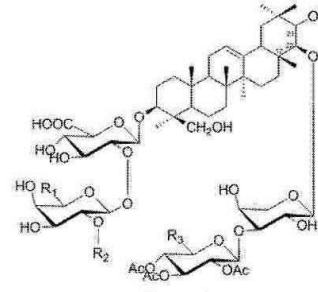
도면의 간단한 설명

- [0105] 도 1은 다양한 소야사포닌의 화학식을 나타낸 도면이다(Glc: 글루코피라노실(glucopyranosyl); Rha: 람노피라노실(rhamnopyranosyl); Ac: 아세틸(acetyl); DDMP: 2,3-디히드로-2,5-디히드록시-6-메틸-4 H -피란-4-온).
- [0106] 도 2는 대두류의 알코올 추출물로부터 소야사포닌을 주성분으로 함유하는 소야사포닌 추출물(부탄올 분획)을 수득하고, 이로부터 유효성분인 소야사포닌 Ab 및 소야사포닌 B를 분리하는 공정의 일례를 나타낸 도면이다.
- [0107] 도 3은 실시예 2에서 소분획 IV로부터 분리한 화합물의 ^1H NMR 스펙트럼(DMSO- d_6)을 나타낸 도이다.
- [0108] 도 4는 실시예 2에서 소분획 IV로부터 분리한 화합물의 ^{13}C NMR 스펙트럼(DMSO- d_6)을 나타낸 도이다.
- [0109] 도 5는 실시예 2에서 소분획 V로부터 분리한 화합물의 ^1H NMR 스펙트럼(DMSO- d_6)을 나타낸 도이다.
- [0110] 도 6은 실시예 2에서 소분획 V로부터 분리한 화합물의 ^{13}C NMR 스펙트럼(DMSO- d_6)을 나타낸 도이다.
- [0111] 도 7은 실시예 6에서 소분획 I로부터 분리한 화합물의 LC-MS/MS 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [0112] 도 8은 실시예 6에서 소분획 II로부터 분리한 화합물의 LC-MS/MS 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [0113] 도 9는 실험예 1-1에서 소야사포닌 Ab를 5 mg/kg(SA5), 10 mg/kg(SA10), 20 mg/kg(SA20), 40 mg/kg(SA40) 농도로 투여하여 수동회피실험을 수행한 결과(이동시간)를 정상군, 음성대조군(스코폴라민) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0114] 도 10은 실험예 1-1에서 소야사포닌 B를 5 mg/kg(SB5), 10 mg/kg(SB10), 20 mg/kg(SB20), 40 mg/kg(SB40) 농도로 투여하여 수동회피실험을 수행한 결과(이동시간)를 정상군, 음성대조군(스코폴라민) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0115] 도 11은 실험예 1-1에서 소야사포게놀 A를 5 mg/kg(SC5), 10 mg/kg(SC10), 20 mg/kg(SC20), 40 mg/kg(SC40) 농도로 투여하여 수동회피실험을 수행한 결과(이동시간)를 정상군, 음성대조군(스코폴라민) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0116] 도 12는 실험예 1-1에서 소야사포게놀 B를 5 mg/kg(SD5), 10 mg/kg(SD10), 20 mg/kg(SD20), 40 mg/kg(SD40) 농도로 투여하여 수동회피실험을 수행한 결과(이동시간)를 정상군, 음성대조군(스코폴라민) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0117] 도 13은 실험예 1-1에서 소야사포닌 추출물을 10 mg/kg(Sex10), 20 mg/kg(Sex20), 50 mg/kg(Sex50), 100 mg/kg(Sex100) 농도로 투여하여 수동회피실험을 수행한 결과(이동시간)를 정상군, 음성대조군(스코폴라민) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0118] 도 14는 실험예 1-1에서 소야사포닌 추출물의 발효 추출물을 10 mg/kg(Sfex10), 20 mg/kg(Sfex20), 50 mg/kg(Sfex50), 100 mg/kg(Sfex100) 농도로 투여하여 수동회피실험을 수행한 결과(이동시간)를 정상군, 음성대조군(스코폴라민) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0119] 도 15는 실험예 1-2에서 소야사포닌 Ab(SA10) 및 소야사포닌 B(SB10)를 각각 10 mg/kg 농도로 투여하여 Y자형 미로실험을 수행한 결과(자발적인 교차행동량 (spontaneous alternation))를 정상군(nor), 음성대조군(sco) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.

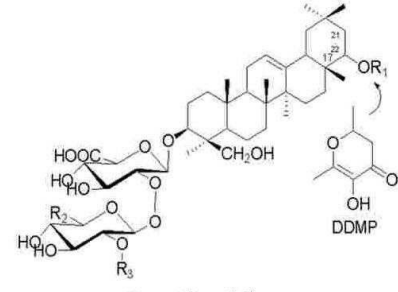
- [0120] 도 16은 실험예 1-3에서 소야사포닌 Ab(SA)및 소야사포닌 B(SB)를 각각 10 mg/kg 농도로 투여하여 수중미로실험을 수행한 결과(유영시간(swimming time))를 정상군(nor), 음성대조군(sco) 및 양성대조군(TC10)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0121] 도 17은 실험예 2-1에서 소야사포닌 B를 5 mg/kg(SB5), 10 mg/kg(SB10), 20 mg/kg(SB20) 농도로 투여하여 수동회피실험을 수행한 결과(이동시간)를 정상군(nor) 및 음성대조군(IB0)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0122] 도 18은 실험예 2-1에서 소야사포닌 B를 5 mg/kg(SB5), 10 mg/kg(SB10), 20 mg/kg(SB20) 농도로 투여하여 Y자형 미로실험을 수행한 결과(자발적인 교차행동량 (spontaneous alternation))를 정상군(nor) 및 음성대조군(IB0)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0123] 도 19는 실험예 2-2에서 소야사포닌 B를 5 mg/kg(SB5), 10 mg/kg(SB10), 20 mg/kg(SB20) 농도로 투여한 뇌조직의 BrdU 염색 결과(BrdU 세포 수)를 정상군(nor) 및 음성대조군(IB0)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0124] 도 20은 실험예 2-2에서 소야사포닌 Bb를 5 mg/kg(SB5), 10 mg/kg(SB10), 20 mg/kg(SB20) 농도로 투여한 뇌조직의 ChAT 염색 결과(ChAT 평균 강도)를 정상군(nor) 및 음성대조군(IB0)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0125] 도 21은 실험예 2-2에서 소야사포닌 Bb를 5 mg/kg(SA5), 10 mg/kg(SA10), 20 mg/kg(SA20) 농도로 투여한 뇌조직의 ChAT 염색 결과(컨트칼 현미경 사진)를 정상군(nor) 및 음성대조군(IB0)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0126] 도 22는 실험예 2-2에서 소야사포닌 Bb를 5 mg/kg(SB5), 10 mg/kg(SB10), 20 mg/kg(SB20) 농도로 투여한 뇌조직의 GAD65/67 염색 결과(GAD65/67 세포 수)를 정상군(nor) 및 음성대조군(IB0)과 비교하여 나타낸 도이다.
- [0127] 도 23은 실험예 2-2에서 소야사포닌 Bb를 5 mg/kg(SA5), 10 mg/kg(SA10), 20 mg/kg(SA20) 농도로 투여한 뇌조직의 GAD65/67 염색 결과(컨트칼 현미경 사진)를 정상군(nor) 및 음성대조군(IB0)과 비교하여 나타낸 도이다.

도면

도면1



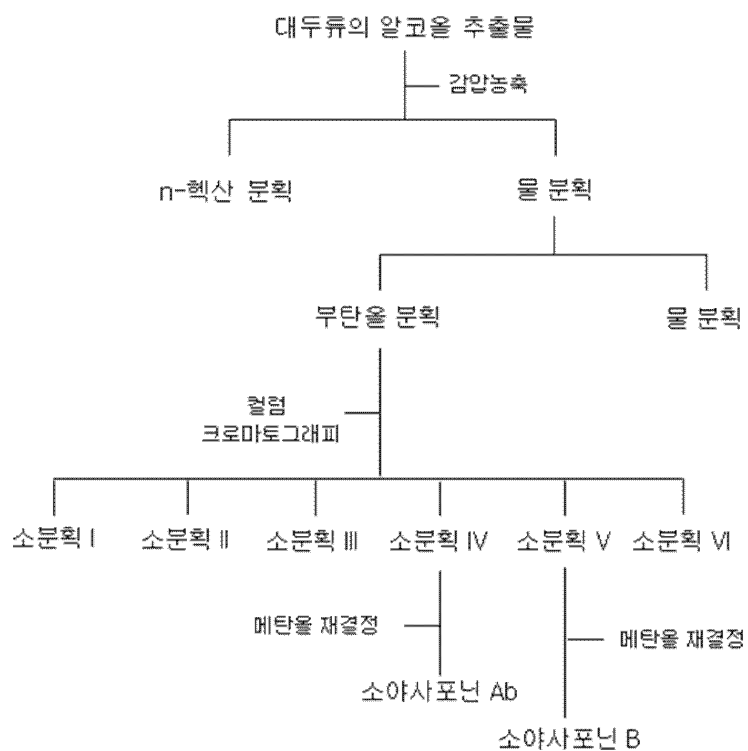
Group A



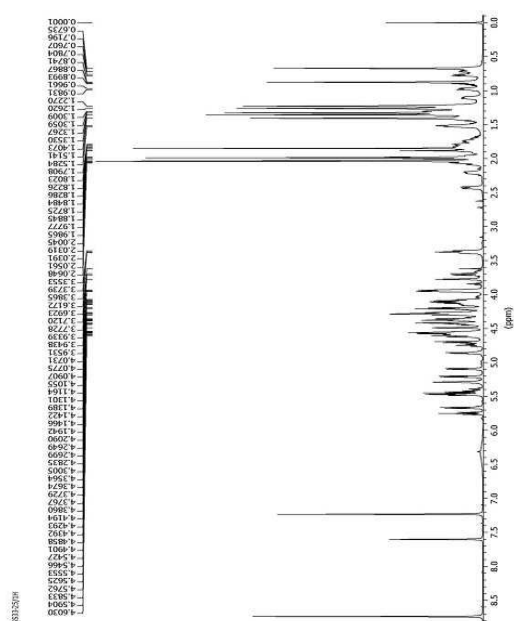
Group B and E

		MW	R1	R2	R3
Group A	Soyasaponin Aa	1364	CH ₂ OH	β-D-Glc	CH ₂ OAc
	Soyasaponin Ab	1436	CH ₂ OH	β-D-Glc	H
	Soyasaponin Ac	1420	CH ₂ OH	α-L-Rha	CH ₂ OAc
	Soyasaponin Ad	1406	H	β-D-Glc	CH ₂ OAc
	Soyasaponin Ae	1202	CH ₂ OH	H	H
	Soyasaponin Af	1274	CH ₂ OH	H	CH ₂ OAc
	Soyasaponin Ag	1172	H	H	H
	Soyasaponin Ah	1202	H	H	CH ₂ OAc
Group B	Soyasaponin Ba(V)	958	OH	CH ₂ OH	β-D-Glc
	Soyasaponin Bb(I)	942	OH	CH ₂ OH	α-L-Rha
	Soyasaponin Bc(II)	912	OH	H	α-L-Rha
	Soyasaponin Bb (III)	796	OH	CH ₂ OH	H
	Soyasaponin Bc (IV)	766	OH	H	H
DDMP	Soyasaponin βg	1068	DDMP	CH ₂ OH	β-D-Glc
	Soyasaponin βa	1038	DDMP	CH ₂ OH	α-L-Rha
	Soyasaponin γg	922	DDMP	H	α-L-Rha
	Soyasaponin γa	892	DDMP	CH ₂ OH	H
	Soyasaponin αg	1084	DDMP	H	H
Group E	Soyasaponin Bd	956	O	CH ₂ OH	β-D-Glc
	Soyasaponin Be	940	O	CH ₂ OH	α-L-Rha

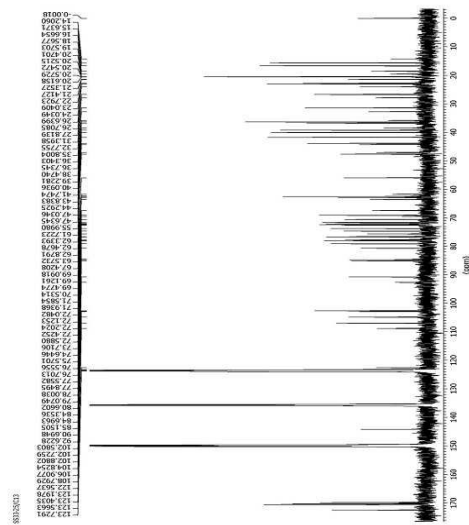
도면2



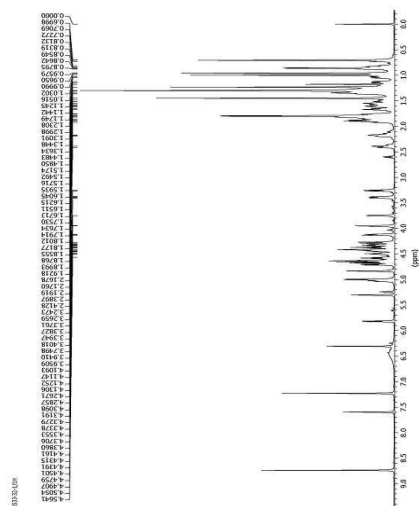
도면3



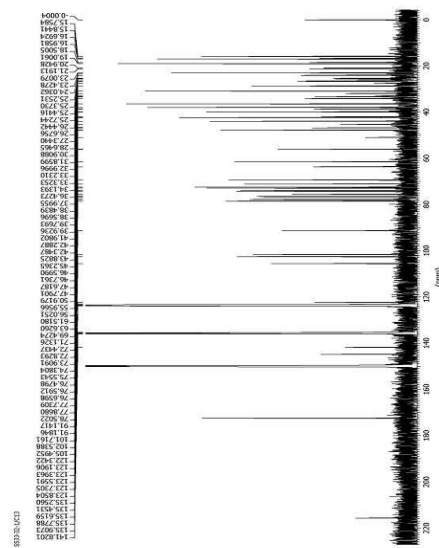
도면4



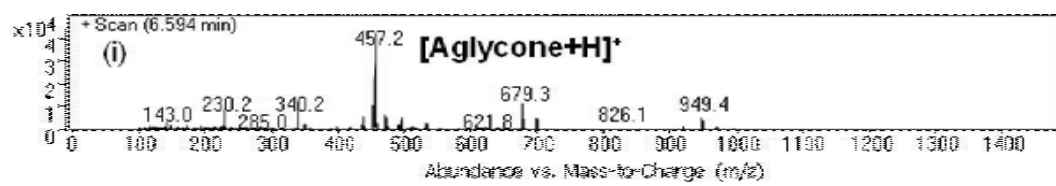
도면5



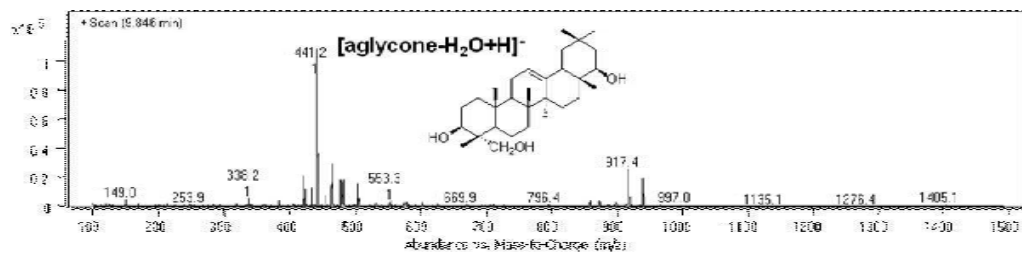
도면6



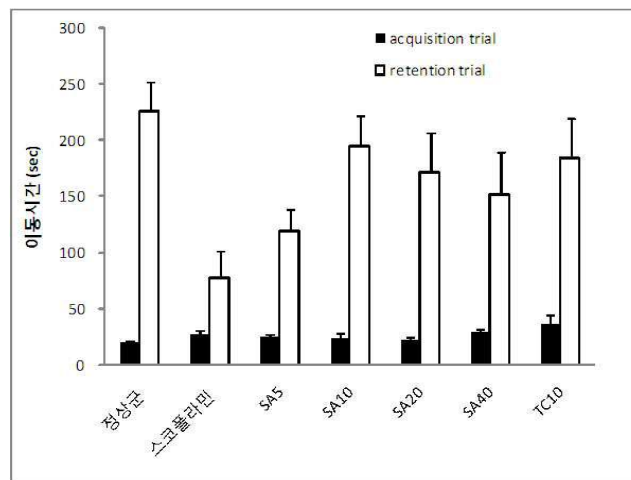
도면7



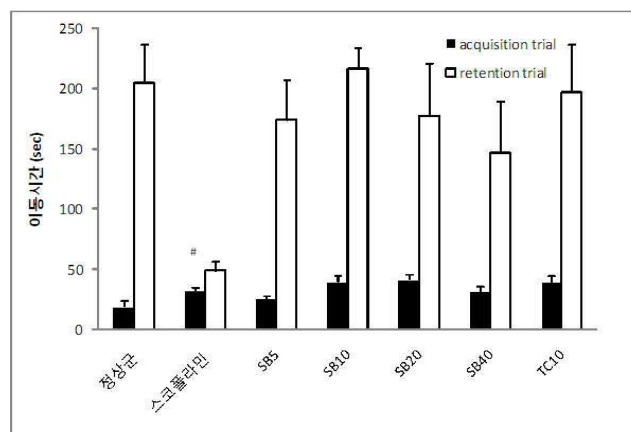
도면8



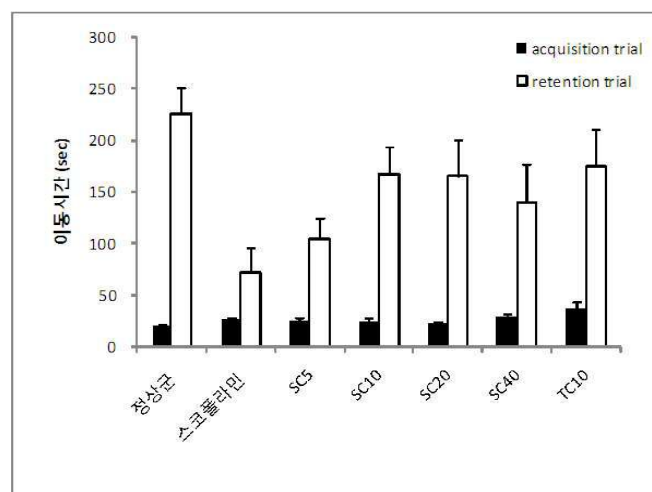
도면9



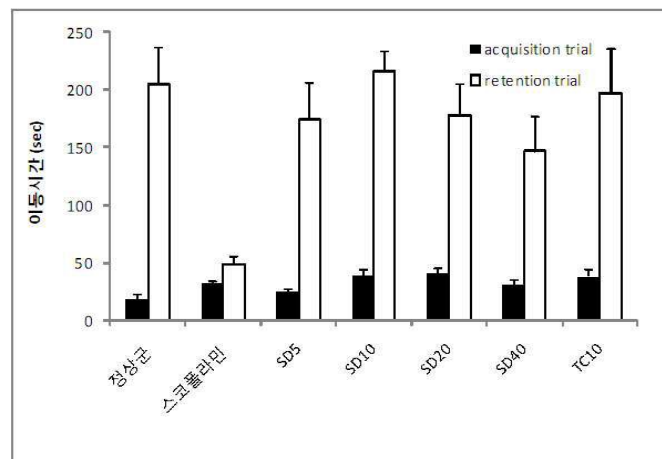
도면10



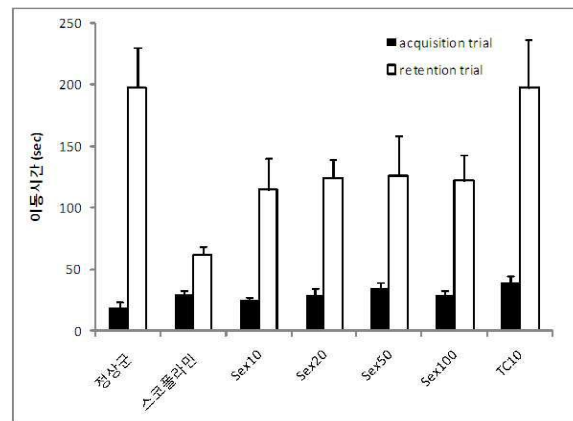
도면11



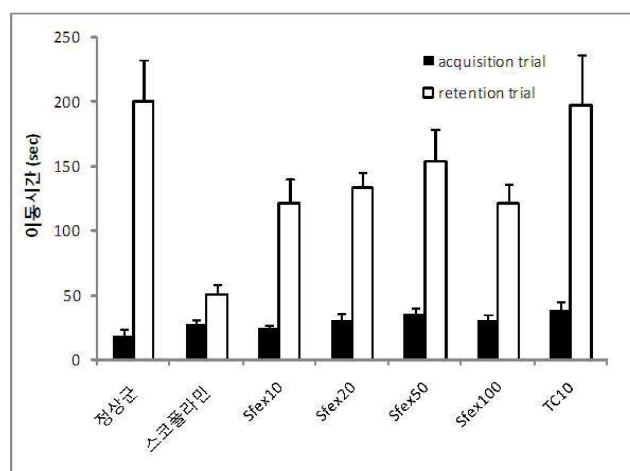
도면12



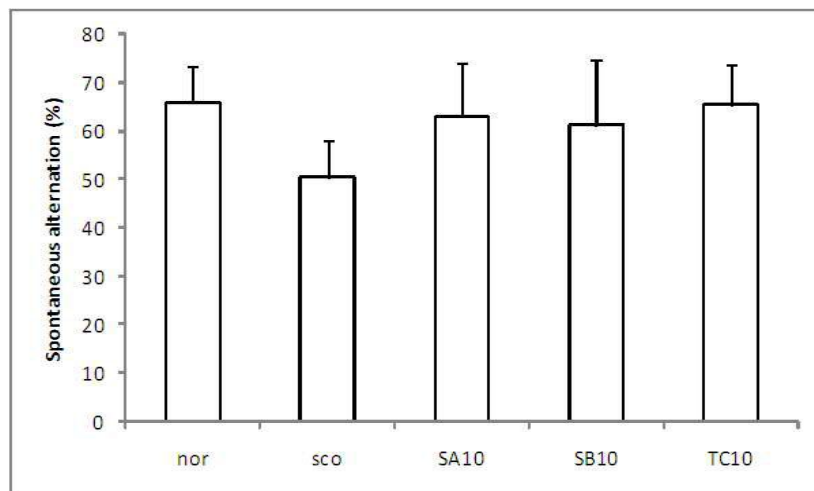
도면13



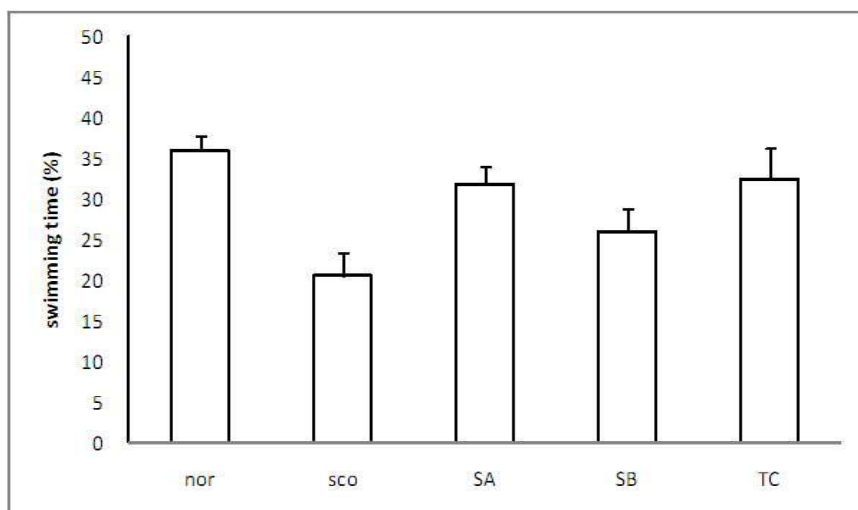
도면14



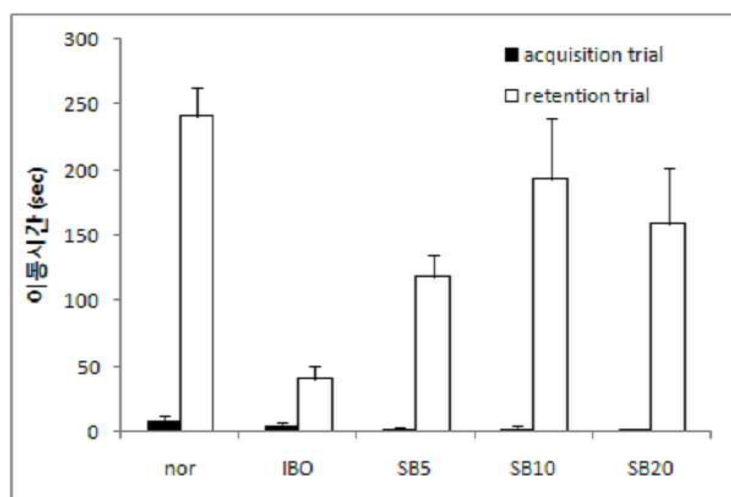
도면15



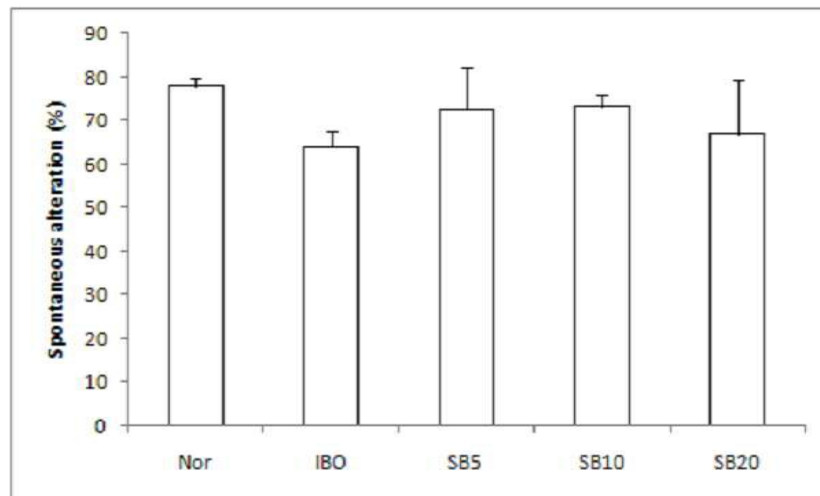
도면16



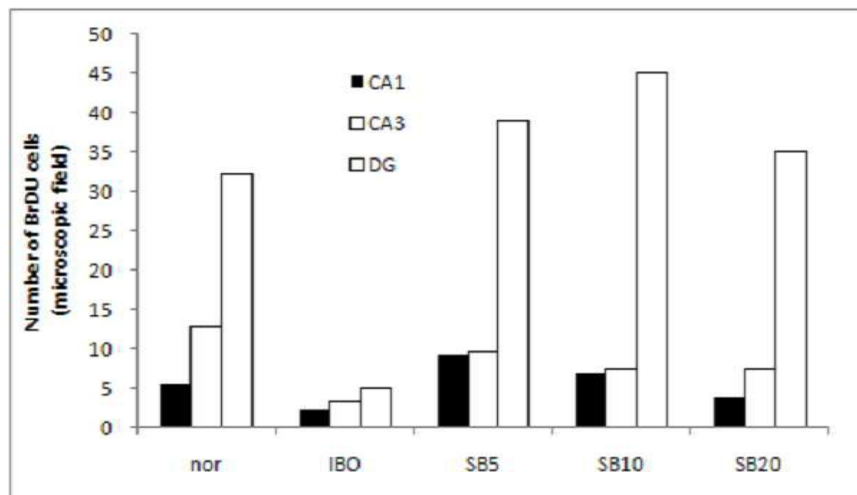
도면17



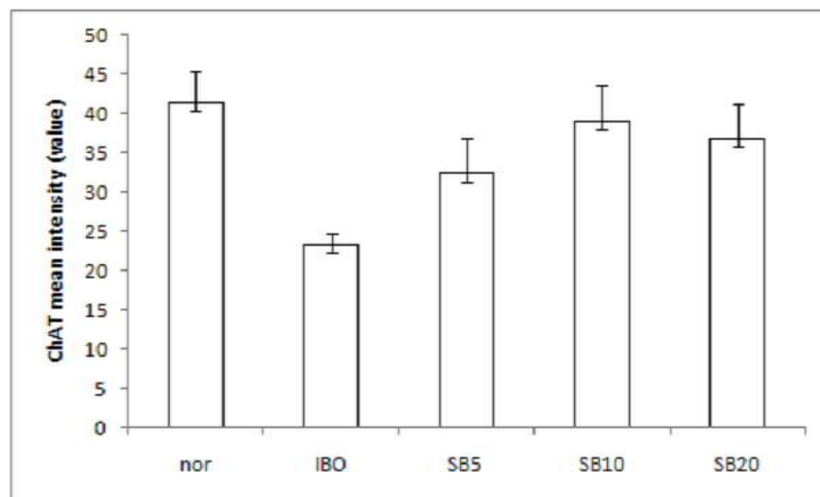
도면18



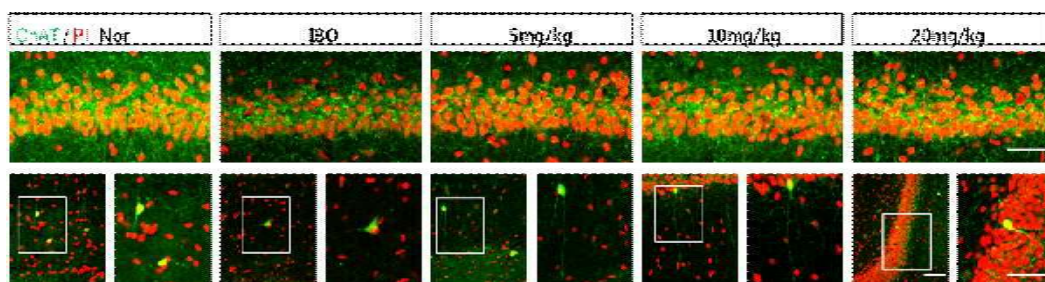
도면19



도면20

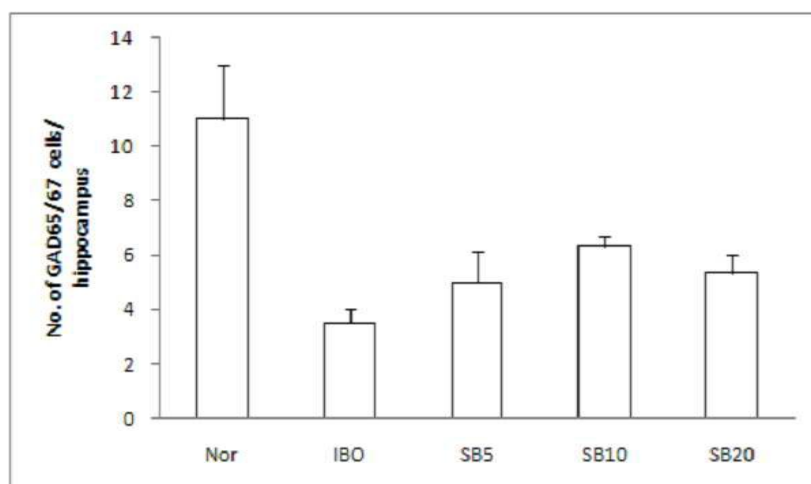


도면21

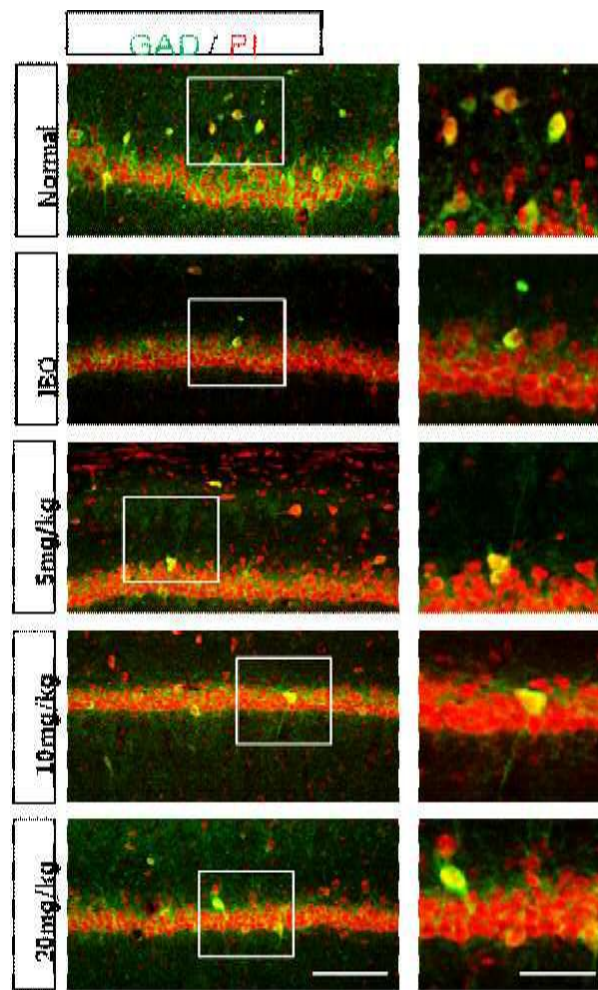


Bar
upper 50um
50um, 50um

도면22



도면23



Bar
Upper:100um
Down : 50um