



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0116675
(43) 공개일자 2022년08월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/07 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)
A61K 36/074 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/07 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2021-0019807
(22) 출원일자 2021년02월15일
심사청구일자 2021년02월15일

(71) 출원인
주식회사 기운찬
충청남도 천안시 서북구 직산읍 직산로 136, 정밀
가공지원센터 1층
(72) 발명자
박종래
충청남도 천안시 서북구 봉정로 366, 112동 701
호(두정동, 한성3차필하우스아파트)
김현민
충청남도 아산시 배방읍 공원로 69(아산배방엘에
이치4단지) 402동 610호
김야엘
충청남도 아산시 배방읍 모산로 52(배방5차한성필
하우스아파트) 505동 301호
(74) 대리인
특허법인오암

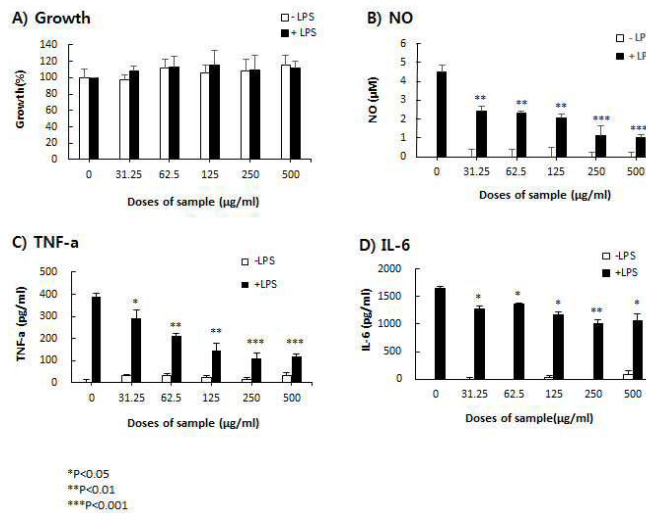
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 복합버섯균사체를 함유하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 복합버섯균사체를 함유하는 인지 기능 개선용 조성물의 제조방법에 관한 것이다. 상기 복합버섯균사체는 기억력 증진, 공간인지 능력 개선, 뇌신경세포에서의 염증반응을 억제하는 효능이 우수하여, 혈관성 치매, 알츠하이머성 치매를 비롯한 노인성 뇌질환의 개선 효과가 우수한 약학 조성물 또는 건강기능식품으로의 제공이 가능하다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

A61K 36/074 (2013.01)

A61P 25/28 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/208 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

차가버섯, 영지버섯, 상황버섯의 복합버섯균사체를 함유하는 것을 특징으로 하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물.

청구항 2

제1항의 조성물을 함유하는 것을 특징으로 하는 치매 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항의 조성물을 함유하는 것을 특징으로 하는 치매 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 4

(제1단계) 차가버섯, 영지버섯, 상황버섯의 자실체 조직을 각각 PDA(Potato Dextrose Agar)에 접종하여 각 버섯을 균사체 상태가 되도록 별도로 배양하는 단계;

(제2단계) 제1단계에서 배양된 각각의 차가버섯, 영지버섯, 상황버섯 3종의 균사체를 PDB(Potato Dextrose Broth)에 혼합 접종하는 단계;

(제3단계) PDB(Potato Dextrose Broth) 배지에 접종된 3종의 균사체를 4~6주간 액체배양하여 복합 배양 균사체를 얻는 단계;

(제4단계) 쌀보리 배지에 제3단계의 배양을 통해 얻은 복합 배양 균사체를 접종하고 배양하는 단계; 및,

(제5단계) 쌀보리 배지에서 배양된 균사체를 4~7주간 추가 액체배양하여 복합버섯균사체를 얻는 단계;

를 포함하여 배양된 복합버섯균사체를 함유하는 것을 특징으로 하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물.

청구항 5

제4항의 조성물을 함유하는 것을 특징으로 하는 치매 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제4항의 조성물을 함유하는 것을 특징으로 하는 치매 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 차가버섯, 영지버섯 및 상황버섯 3종의 복합버섯균사체를 함유하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 목질진흙버섯이라고도 하며, 동의보감에서는 상목이(桑木耳)라는 이름으로 탕액편에 기록되어 있다. 뽕나무 줄기에 자생하며 삿갓 표면을 제외하고는 모두 황색이다. 초기에는 진흙 덩어리가 뭉쳐진 것처럼 보이다가 다 자란 후에는 나무 그루터기에 햇바닥을 내민 모습이어서 수설(樹舌)이라고도 한다. 예로부터 상황버섯은 자궁출혈, 월경불순 등에 이용되어 왔으며 최근에는 종양 억제, 면역력 강화 및 미백에 우수한 효과가 있다고 보고된 바 있다.

[0003] 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)은 여름에 활엽수 뿌리에서 발생한다. 진시황의 불로초라고도 알려져 있고 본초강목에서는 인삼과 함께 이 버섯을 상약의 반열에 올려놓았다. 영지버섯은 강장, 진해, 소종(消腫) 등의 효능이 있어 호흡기 질환, 신경쇠약, 심장병, 고혈압 등에 효과가 있고 콜레스테롤을 낮춰주며 항암 효과가 있다고도

알려져 있다.

- [0004] 차가버섯(*Inonotus obliquus*)은 러시아, 캐나다, 일본 홋카이도와 같은 한랭지역에서 자생하는 자작나무, 오리나무 등에 기생하는 균핵이다. 미국에서도 차가버섯이 특수 천연 물질로 분류되어 미래 제약 및 건강식품으로 개발 중이다. 우리나라에서도 민간에서 위암 환자와 당뇨병 환자에게 차가버섯을 사용한 결과, 그 효과가 기타 버섯류에 비해 뛰어났던 것으로 보고된 바 있다. 그 외에 차가버섯이 신체 저항력 증가, 종양 발생 억제, 미백 등에도 효과가 있다고 보고되어 있다.
- [0005] 한편, 상기 버섯류를 의약품, 기능성 식품의 혼합 원료로서 사용하기 위해서는 자실체인 버섯을 채취하여 사용해야 하지만 버섯 자체가 자연 상태에서 번식이 잘 되지 않는다는 점과, 채취 남용으로 인해 자원 고갈 및 생태계 파괴가 야기된다는 문제점이 있다. 산업적으로 사용할 수 있을 정도로 원료를 공급하기 위해서도 대량의 생산 시설 및 경비가 소요된다는 난점 때문에 대량 생산의 수요를 충족시키지 못하고 있다. 이와 같이, 상기 버섯류는 항암제나 면역 증강제로서 효과가 있음에도 그 공급이 제한적이며 대량 생산 및 속성 생산이 용이하지 않아 널리 활용되지 못하고 있다. 따라서, 상기 버섯들에 대하여, 버섯균의 자실체와 동등한 효과를 나타내는 균사체를 생산할 수 있는 대량 배양방법에 대한 연구가 최근 활발하게 이루어지고 있다.
- [0006] 대한민국 등록특허 제10-922311호에는 차가버섯, 상황버섯, 영지버섯, 꽃송이버섯 및 동충하초 균사체를 복합배양하는 방법이 개시되어 있고, 대한민국 등록특허 제10-1358648호에는 차가버섯, 상황버섯 및 영지버섯의 복합배양방법이, 대한민국 등록특허 제10-1652035호에는 차가버섯, 상황버섯 및 꽃송이버섯의 복합버섯 균사체의 배양방법이 개시되어 있다. 그러나 복합버섯균사체는 그 배양조건에 따라 균사체가 갖는 자체의 효소활성이나 베타글루칸 함량 등에 차이가 있으며 이를 이용하여 식품을 가공할 경우에도 각각 다른 맛과 풍미 등을 낼 수 있다.
- [0007] 우리나라는 급속한 인구의 고령화로 인하여 치매 유병률 또한 급속도로 증가하고 있는데, 치매 위험성에 대한 경각심은 높지만 치매 증상에 대한 인식은 세계 평균보다 낮다는 조사결과도 있다. 특히 치매는 서서히 증상이 진행되기 때문에 조기에 병원을 찾아 정확한 진단을 받을 경우 충분한 호전 가능성이 있음에도 많은 사람들이 치료 시기를 놓치고 단시간에 중증 치매증상으로 발전하기 쉬워 이는 삶의 질이 급격히 떨어지는 것은 물론 가족들까지도 매우 큰 영향을 끼쳐 사회적 문제로도 발전하고 있어 치매의 조기진단은 매우 중요한 요소이다.
- [0008] 뇌는 수백억 개의 신경세포로 이루어져 있으며, 체중의 약 2%를 차지하나 무려 체내 산소의 20%, 포도당의 25%를 소비하는 기관임. 신경세포는 높은 수준으로 이미 분화된 세포이므로 손상에 이은 재생능력은 매우 제한적인데 반하여 산화 스트레스에 의한 손상에 매우 취약하다. 이는, 항산화 기능을 갖는 글루타치온의 함량이 낮고, 신경세포 세포막에는 DHA나 아라키돈산과 같은 불포화 지방산이 많아 과산화에 의한 산화 스트레스를 통해 손상을 입기 쉬운 장기임에 기인한다.
- [0009] 치매는 다양한 원인에 의해 초래된 뇌기능의 손상으로 인해 기억력을 포함한 지남력, 언어능력, 판단력 등 인지 기능이 저하되어 일상생활과 사회생활에 어려움을 초래하는 질병으로, 치매는 크게 3가지 종류로 나누며 각기 다른 원인에 의해 발생한다.
- [0010] 첫 번째로, 알츠하이머 치매는 가장 흔한 치매(약 70%를 차지)로 점진적으로 뇌의 퇴행성 변화가 와서 기억력을 비롯한 뇌의 전반적인 인지기능 저하가 진행되는 질환이다. 아직 질병의 완치는 힘들지만 증상을 개선시키고 진행을 느리게 하는 약제들이 개발되어 있다. 수많은 연구들이 진행되면서 알츠하이머에 관여하는 단백질들이 발견되고는 있으나 그 발병 원인은 아직 명확히 알려지지 않은 상태이다. 다만, 환자들의 사후 뇌 조직을 분석한 결과, 신경세포 사이에 베타-아밀로이드 펩타이드가 축적되어 형성된 아밀로이드 플라크(amyloid plaques)와 신경세포 내의 과인산화된 타우 단백질 필라멘트에 의하여 형성된 신경섬유덩어리(neurofibrillary tangles)의 존재가 보고된 바 있다. 베타 아밀로이드는 펩타이드 36~43 개의 아미노산으로 구성되며, 베타 아밀로이드 펩타이드의 축적은 뇌 손상과 신경섬유덩어리의 발달에 앞서는 조기 병인으로 이제는 정설처럼 받아들여지면서 이와 관련된 활발한 연구가 진행되고 있고, 최근에는 베타 아밀로이드 생성을 억제하거나 제거하는 방법들이 알츠하이머 질환의 치료법으로 연구되고 있다.
- [0011] 혈관성 치매는 뇌혈관 질환으로 인해 뇌조직이 손상되어 발생하는 치매로 고혈압, 당뇨병, 고지혈증, 심장질환 등 뇌졸중의 위험인자를 지닌 경우에 많이 발생한다. 위험인자를 잘 관리하면 예방이 가능하고 조기에 치료하면 더 이상 악화되는 것을 막을 수 있다. 이 외의 치매는 약물 중독, 뇌종양 등 다양한 원인에 의한 기타 달리 분류되지 않는 치매가 있다.
- [0012] 한편, 치매가 아니더라도 인지기능저하 증상이 보이나 일상생활에는 지장을 주지 않을 정도의 증상을 경도인지

기능장애라 하는데, 이 단계에서는 더 이상 진전되지 않는 경우, 점점 더 진행되는 경우, 서서히 회복되는 경우 등 다양한 양상을 나타낸다. 특히 국내 65세 이상 인구의 25%는 경도인지기능장애를 겪고 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 경우 조기 발견 및 치료가 인지기능을 저하시키는 것을 억제하는 데에 가장 큰 도움을 줄 수 있다.

[0013] 이에 본 발명자들은 복합배양 방법을 통해 얻은 3종 버섯의 균사체 및 이를 이용한 조성물이 기억력 증진, 치매 증상 개선 등의 인지개선 기능 효능이 있음을 확인하여 이들 증상의 치료 또는 개선용 조성물로 제공함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1923408호 (발명의 명칭 : 차가버섯, 영지버섯 및 상황버섯 균사체의 복합배양 방법, 출원인 : 주식회사 기운찬, 등록일 : 2018년11월23일)

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-1652035호 (발명의 명칭 : 차가버섯, 상황버섯 및 꽃송이버섯의 복합 버섯 균사체의 생산방법, 출원인 : 주식회사 기운찬, 등록일 : 2016년08월23일)

(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 제10-1358648호 (발명의 명칭 : 버섯 추출물을 이용한 차가버섯, 상황버섯 및 영지버섯의 복합배양방법, 출원인 : 이태봉, 등록일 : 2014년01월28일)

(특허문헌 0004) 대한민국 등록특허 제10-1269410호 (발명의 명칭 : 버섯배지를 이용한 차가버섯, 상황버섯, 영지버섯, 꽃송이버섯 및 동충하초의 복합배양방법, 출원인 : 이태봉, 등록일 : 2013년05월24일)

(특허문헌 0005) 대한민국 등록특허 제10-0922311호 (발명의 명칭 : 활성화된 당 관련 화합물을 함유하는 물질을 생성하는 차가버섯, 상황버섯, 영지버섯, 꽃송이버섯 및 동충하초의 복식 배양 방법, 출원인 : 이태봉, 등록일 : 2009년10월12일)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명의 목적은 차가버섯, 영지버섯 및 상황버섯 3종의 복합버섯균사체를 함유하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0016] 본 발명은 차가버섯, 영지버섯 및 상황버섯 3종의 복합버섯균사체 또는 이의 추출물을 함유하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물에 관한 것이다.

[0017] 상기 조성물은 치매의 예방 또는 치료용 약학 조성물로 이용가능하다. 이에 상기 조성물은 치매의 예방 또는 개선용 건강기능식품으로도 제공할 수 있다.

[0018] 상기 복합버섯균사체는, (제1단계) 차가버섯, 영지버섯, 상황버섯의 자실체 조직을 각각 PDA(Potato Dextrose Agar)에 접종하여 각 버섯을 균사체 상태가 되도록 별도로 배양하는 단계;

[0019] (제2단계) 제1단계에서 배양된 각각의 차가버섯, 영지버섯, 상황버섯 3종의 균사체를 PDB(Potato Dextrose Broth)에 혼합 접종하는 단계;

[0020] (제3단계) PDB(Potato Dextrose Broth) 배지에 접종된 3종의 균사체를 4~6주간 액체배양하여 복합 배양 균사체를 얻는 단계;

[0021] (제4단계) 쌀보리 배지에 제3단계의 배양을 통해 얻은 복합 배양 균사체를 접종하고 배양하는 단계; 및,

[0022] 를 통해 배양된 것일 수 있다.

[0023] 상기 제3단계의 균사체 액체 배양은 상대습도 10~30%, 25~30℃에서 수행하는 것이 바람직하다. 또한 초기 1~2주 동안은 정지배양하되, 하루 주기로 1~2회 동안 1~5분간 교반하는 것이 바람직하며, 이후에는 50~150rpm으로 교

반하며 진탕배양하는 것이 균사체의 배양에 좋다.

- [0024] 상기 제4단계의 쌀보리 배지는 쌀보리를 4-8시간 수침한 후 탈수하고, 탈수된 쌀보리 100 중량부 기준으로 0.5~2 중량부의 탄산칼슘을 첨가 후 120~125℃에서 30분~2시간 동안 멸균하여 얻은 것일 수 있다.
- [0025] 상기 제5단계의 균사체 액체 배양은 상대습도 40~60%, 25~30℃에서 수행하는 것이 바람직하며, 정치배양하되 하루 주기로 1~2회 동안 1~5분간 교반하는 것이 좋다.
- [0026] 본 발명에서 버섯 균사체의 배양에 이용되는 PDA(Potato Dextrose Agar)는 총 부피 1ℓ 기준, 감자전분 3~5g, 텍스트로오스 10~30g, 아가로오즈 10~30g이 포함된 것을 멸균하여 제조한 것일 수 있다. 이 때 물은 잔량으로 총 부피 1ℓ가 되도록 첨가될 수 있다.
- [0027] 상기 멸균은 적어도 1.3~1.7기압에서 120~125℃에서 15~20분 동안 수행하는 것이 바람직하며, 이는 모든 배지의 멸균 조건에 동일하게 적용할 수 있다.
- [0028] PDA(Potato Dextrose Agar)의 가장 바람직한 제조조건은 감자 전분 4g, 텍스트로오스 20g 및 아가로오즈 15g을 총 부피 1ℓ가 되도록 물을 첨가하여 멸균한 것일 수 있다.
- [0029] 또한 본 발명에서 버섯 균사체의 배양에 이용되는 PDB(Potato Dextrose Broth)는 PDA(Potato Dextrose Agar)의 제조 조건에서 아가로오즈 대신 물을 더 추가하여 제조한 것일 수 있다. PDB(Potato Dextrose Broth)의 가장 바람직한 제조조건은 감자 전분 4g 및 텍스트로오스 20g을 총 부피 1ℓ가 되도록 물을 첨가하여 멸균한 것일 수 있다.
- [0030] 상기 제1단계에서 각각의 버섯 자실체를 별도로 배양할 때, 각각의 버섯 자실체 조각을 각각 PDA(Potato Dextrose Agar)에 접종 후 1~3주 동안 25~30℃에서 배양하는 것이 바람직한데, 이 때의 배양기간은 버섯 자실체 개체가 갖는 성장능에 따라 1~3 주 이내에서 적절히 조절할 수 있다. 또한, 이 조건에서의 배양시의 상대습도는 10~60%인 것이 더 좋다. 습도가 10% 미만이거나 60%를 초과하게 되어도 균사체의 성장은 더딜 수 있다.
- [0031] 다만 배양기간이 1주 미만이 되면 균사체가 이후의 액체배양을 활성화할 수 있을 정도로 잘 자라지 않을 수 있고, 3주를 초과하여도 이후의 액체배양시 균사체 배양이 잘 되지 않을 수 있다. 또한 배양 온도가 25℃ 미만이나 30℃를 초과하여도 역시 액체배양시의 균사체 배양에 영향을 주어 바람직하지 않다.
- [0032] 상기 제2단계에서 3종의 균사체를 PDB(Potato Dextrose Broth)에 복합 접종할 때, 제1단계에서 배양된 각 버섯의 균사체를 일정량 비슷한 정도로 접종하기만 하면 되지만, 보다 더 바람직하게는 각각의 배양된 균사체를 평방 0.5~2mm로 절단하고 각 버섯 균사체별로 3~7 절편씩 PDB(Potato Dextrose Broth)에 3종의 균사체를 복합 접종할 수 있다.
- [0033] 상기 제3단계의 균사체 배양은 25~30℃에서 수행하는 것이 바람직한데, 특히, 배양온도가 25℃ 미만이 되면 균사체가 잘 자라지 않을 수 있으며, 30℃를 초과해도 역시 균사체의 배양이 더딜 수 있다. 또한 초기 1~2주 동안은 정치배양하되, 하루 주기로 1~2회 동안 1~5분간 교반하는 것이 바람직하며, 이후에는 50~150rpm으로 교반하며 진탕배양하는 것이 균사체의 배양에 좋다. 한편, 이 조건에서의 배양시의 상대습도는 크게 제한되지는 않으나 바람직하게는 상대습도 10~30%인 것이 더 좋다.
- [0034] 상기 제4단계의 쌀보리 배지에는 제3단계의 배양을 통해 얻은 균사체를 배양액 상태로 1~10ml씩 접종할 수 있다. 이 때 균사체 배양액이 1ml 미만으로 접종되면 균사체 양이 적어 추가배양이 잘 되지 않을 수 있고, 배양액이 10ml를 초과하여 접종하여도 배양이 더 활성화되지는 않아 바람직하지 않다.
- [0035] 상기 제4단계의 쌀보리 배지는 쌀보리를 4-8시간 수침한 후 탈수하고, 탈수된 쌀보리 100 중량부 기준으로 0.5~2 중량부의 탄산칼슘을 첨가 후 120~125℃에서 30분~2시간 동안 멸균하여 얻은 것일 수 있다. 이 때 쌀보리가 물에 충분히 불려지지 않고 4시간 미만으로 수침한 것을 사용하게 되면 균사체 배양시의 수분이 부족하여 쌀보리를 영양원으로 잘 이용하지 못할 수 있고, 8시간 초과하여 수침하는 것은 그 이상의 수분이 쌀보리에 흡수되지는 않기 때문에 제조시간만 지연시키는 효과를 가져와 바람직하지 않다.
- [0036] 상기 제4단계의 배양은 25~30℃에서 수행하는 것이 바람직하다. 배양온도가 25℃ 미만이 되면 균사체가 잘 자라지 않을 수 있으며, 30℃를 초과해도 역시 균사체의 배양이 더딜 수 있다. 또한, 이 조건에서의 배양시의 상대습도는 40~60%인 것이 더 좋다. 습도가 40% 미만이거나 60%를 초과하게 되어도 균사체의 성장은 더딜 수 있다.
- [0037] 상기 3종 복합버섯균사체 추출물은 3종 복합버섯균사체를 물, C1~C4 알코올 또는 이들의 혼합용액을 용매로 하여 추출할 수 있으며, 상기 C1~C4 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 및 이소부탄올로

이루어진 군에서 선택될 수 있다. 보다 바람직하게는 용매로서 물을 이용할 수 있고, 3중 복합버섯균사체의 중량 대비 5~20배 중량의 70~75℃의 열수를 가하여 8~15시간 동안 추출한 후의 액상을 동결건조한 것일 수 있다.

[0038] 상기 3중 복합버섯균사체 포르디 추출물의 제조시 사용되는 물, C1~C4 알코올 또는 이들의 혼합용액은 에리트르 플레움 포르디 사용 중량 기준 1~40배 부피(1kg 기준 1~40 l)를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 5~40배 부피를 사용할 수 있다. 상기 3중 복합버섯균사체 추출물의 추출조건은 20~100℃에서 1분~48시간일 수 있다. 상기 과정은 1~4번까지 반복할 수 있다.

[0039] 또한, 당분야의 통상적인 방법으로서 상기 3중 복합버섯균사체의 물, C1~C4 알코올 또는 이들의 혼합용액 추출 물을 물에 녹인 후에 n-헥산, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 이상의 용매를 사용하여 추가적으로 분획하여 분획물로 제조할 수 있다.

[0040] 또다른 방법으로는, 3중 복합버섯균사체를 물, C1~C4 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출 농축하여 얻은 3중 복합버섯균사체 추출물에, 물을 가하여 현탁한 후, 바람직하게는 3중 복합버섯균사체 추출물의 중량의 1~1000배, 더 바람직하게는 1~500배, 가장 바람직하게는 1~50배의 물을 가하여 현탁한 후, 상기 현탁물에 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 및, 부탄올로 이루어진 군에서 선택되는 용매를 가하여 얻은 에리트르플레움 포르디 분획물로 제조할 수 있다. 상기 3중 복합버섯균사체 분획물은 바람직하게는, 3중 복합버섯균사체를 물, C1~C4 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출 농축하여 얻은 3중 복합버섯균사체 추출물을 물에 현탁한 후 헥산과 혼합하여 얻은 헥산층의 농축물, 상기 헥산층을 제거하고 남은 잔사(물층)에 클로로포름을 혼합하여 얻은 클로로포름층의 농축물, 또는 상기 클로로포름층을 제거하고 남은 잔사(물층)에 에틸아세테이트를 혼합하여 얻은 에틸아세테이트층의 농축물, 상기 에틸아세테이트층을 제거하고 남은 잔사(물층)에 부탄올을 혼합하여 얻은 부탄올층의 농축물, 또는 상기 부탄올층을 제거하고 남은 잔사(물층)의 농축물일 수 있다. 한편, 이 외의 분획조건은 제한되지는 않으나, 상기 3중 복합버섯균사체 추출물에 3중 복합버섯균사체 추출물의 중량의 1~50배의 물을 가하여 현탁물을 제조한 후, 상기 물과 동량의 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 및, 부탄올로 이루어진 군에서 선택되는 용매를 가하여 분획할 수 있다. 또한, 헥산층을 제거한 후 남은 잔사에 클로로포름을 가하고, 클로로포름층을 제거하고 남은 잔사에 에틸아세테이트를 가하고, 에틸아세테이트를 제거하고 남은 잔사에 부탄올을 가할 때에도, 단계적으로 이루어 질 때도 역시 잔사와 동량의 각 용매(클로로포름, 에틸아세테이트 또는 부탄올)를 순차적으로 가하여 분획할 수 있다.

[0041] 상기 추출물 또는 이의 분획물의 제조온도는 20 내지 100℃일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 추출 또는 분획 시간은 특별히 제한되는 것은 아니나, 10분 내지 2일 이내에 추출하는 것이 바람직하며, 추출용 기기로는 통상의 추출기기, 초음파분쇄추출기 또는 분획기를 이용할 수 있다. 이렇게 제조된 추출물 또는 분획물은 열풍건조, 감압건조 또는 동결건조하여 용매를 제거할 수 있다. 또한, 상기 추출물 또는 분획물은 컬럼크로마토그래피를 이용하여 정제하여 사용할 수 있다.

[0042] 상기 추출물은 상법에 따라, 유기용매(알코올, 에테르, 아세톤 등)에 의한 추출, 헥산과 물의 분배, 컬럼크로마토그래피에 의한 방법 등, 식물체 성분의 분리 추출에 이용되는 공지된 방법을 단독 또는 적합하게 조합한 방법을 이용하여 분획 또는 정제하여 사용할 수 있다.

[0043] 상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 이온교환수지 크로마토그래피(ion exchange resin chromatography), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography), 실리카겔 진공 액체 크로마토그래피(silica gel vacuum liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 중에서 선택될 수 있다.

[0044] 본 발명은 3종의 복합버섯균사체, 또는 이의 추출물과 약제학적 부형제를 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 약학 조성물을 제공할 수 있다. 또한 상기 약학 조성물은 치매 예방 또는 치료용 약학 조성물로도 이용가능하다.

[0045] 상기 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트,

탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 본 발명의 복합버섯균사체에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 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, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로글, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0046] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0047] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 복합 배양 균사체는 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0048] 또한, 본 발명은 3종의 복합버섯균사체, 또는 이의 추출물과 각종 식품 부형제를 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 건강기능식품을 제공한다. 또한 상기 건강기능식품은 치매 예방 또는 개선용 건강기능식품으로도 이용가능하다. 상기 균사체는 본 발명의 건강기능식품에 0.001~100 중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스낵류, 면류, 아이스크림, 유제품, 스프, 이온음료, 음료수, 알코올 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제 등이 있다.

발명의 효과

[0049] 본 발명은 복합버섯균사체를 함유하는 인지 기능 개선용 조성물의 제조방법에 관한 것이다. 상기 복합버섯균사체는 기억력 증진, 공간인지 능력 개선, 뇌신경세포에서의 염증반응을 억제하는 효능이 우수하여, 혈관성 치매, 알츠하이머성 치매를 비롯한 노인성 뇌질환의 개선 효과가 우수한 약학 조성물 또는 건강기능식품으로의 제공이 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0050] 도 1은 Bames maze test에서 3종 복합버섯균사체 추출물의 기억력 저하 개선효과를 나타내는 결과 그래프이다.
 도 2는 치매 랫드에서 도피처 탐색 및 정체시간에 미치는 3종 복합버섯균사체 추출물의 영향을 나타내는 결과 그래프이다.
 도 3은 Y maze test에서 3종 복합버섯균사체 추출물의 기억력 회복효과를 나타내는 결과 그래프이다.
 도 4는 Passive avoidance test에서 3종 복합버섯균사체의 기억력 회복효과를 나타내는 결과 그래프이다.
 도 5는 3종 복합버섯균사체에 의한 해마 CA1 영역 신경세포 사멸 억제효과를 나타내는 결과 그래프이다.
 도 6은 BV2 미세아교세포 염증반응에 대한 3종 복합버섯균사체의 억제활성을 나타내는 결과 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0051] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지도록, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0052] <실시예 1. 버섯 균사체의 복합 배양>

[0053] 차가버섯, 영지버섯, 상황버섯의 자실체 조직을 분리하여 PDA에 접종 후, 2주 동안 27~29℃에서 각 버섯의 균사체를 배양하였다. 100ml 단위로 소분된 PDB 배지를 준비한 후, PDA에서 배양된 각각의 버섯 균사체를 메스를 이용하여 평방 1mm로 절단하고, PDB 배지가 담긴 삼각플라스크 1병당 절단한 3종의 균사체를 5절편씩 혼합 접종하였다.

[0054] 각 균사체가 혼합 접종된 배지를 BOD incubator(Bio-Oxygen Demand 배양기, 저온배양기)에서 27~28℃, 습도 20% 조건에서 1주일간 정치 배양하되, 배양하는 동안 매일 1분 정도 교반하였다. 1주일 후에는 복합 접종되어 배양 중인 플라스크를 진탕배양기로 옮겨 27℃, 100rpm에서 4주 동안 배양하여 3종의 복합버섯균사체 배양액을 제조하였다.

[0055] 쌀보리를 6시간 동안 수침한 후 8시간 동안 탈수하고, 탈수된 쌀보리 100g 기준 1g의 탄산칼슘을 첨가하여 골고루 혼합하고 고압멸균기에 121℃에서 1시간 동안 멸균하여 쌀보리 배지를 제조하였다. 멸균 종료 후 25℃로 냉각된 쌀보리 배지 1kg당 5주간 배양된 복합버섯균사체 배양액 5ml씩을 분주하여 접종하였다. 접종 후에는 온도 26~28℃, 습도 45~50%로 유지되는 배양실에서 30일간 배양하였다.

[0056] 배양이 완료된 복합버섯균사체는 쌀보리가 포함된 채로 건조기를 이용하여 57~60℃에서 24시간 동안 건조하고 핀밀분쇄기를 이용하여 분쇄하여 분말로 제조하였다.

[0057] 한편, 이 방법은 대한민국 등록특허 제10-1923408호의 실시예 1에 개시된 방법과 동일하다.

[0058] <비교예 1 내지 8. 비교조건 버섯의 배양>

[0059] 비교예 1

[0060] 실시예 1의 방법에서 3종 버섯의 균사체를 복합접종하는 대신 차가버섯 균사체만 PDB에 단일 접종하여 이후의 배양과정을 동일하게 하였다.

[0061] 비교예 2

[0062] 실시예 1의 방법에서 3종 버섯의 균사체를 복합접종하는 대신 영지버섯 균사체만 PDB에 단일 접종하여 이후의 배양과정을 동일하게 하였다.

[0063] 비교예 3

[0064] 실시예 1의 방법에서 3종 버섯의 균사체를 복합접종하는 대신 상황버섯 균사체만 PDB에 단일 접종하여 이후의 배양과정을 동일하게 하였다.

[0065] 비교예 4

[0066] 실시예 1의 방법에서 PDB 배양 단계를 생략하고, 3종 버섯의 균사체를 바로 쌀보리 배지에 접종하며, 대신 배양 시간을 PDB 배양단계만큼 추가 수행하였다.

[0067] 비교예 5

[0068] 실시예 1의 방법에서 PDB 배양 단계를 수행 후, 다시 새로운 PDB 배지에 재접종 하여 추가적인 액체배양을 30일간 수행하였다 (쌀보리 배지에서 배양하는 과정은 생략).

[0069] 비교예 6

[0070] 대한민국 등록특허 제10-1652035호의 제조예 1 및 실시예 1의 방법으로 차가버섯, 상황버섯 및 꽃송이버섯의 복합버섯균사체를 제조하였다.

[0071] 비교예 7

[0072] 비교예 2와 같이 대한민국 등록특허 제10-1652035호의 제조예 1 및 실시예 1의 방법으로 복합버섯균사체를 제조하되, 꽃송이버섯 대신 영지버섯을 이용하여 복합버섯균사체를 제조하였다.

[0073] 비교예 8

[0074] 대한민국 등록특허 제10-1358648호의 실시예 1의 방법으로 차가버섯, 영지버섯 및 상황버섯 균사체의 복합버섯균사체를 제조하였다.

[0075] <실험예 1. 실험동물 및 세포의 준비>

[0076] SD rat(수컷, 8주령)를 각 군당 7마리씩으로 하여, 3중 복합버섯균사체 5 mg/kg(시료-L) 혹은 15 mg/kg(시료-H)를 증류수 1mL로 희석하여 1일 1회, 총 3주 동안 경구투여하였다. 위약(vehicle)으로서는 증류수(vehicle)를 사용하였다. 각 군의 투여 종료 1일 후 Bilateral common carotid artery occlusion and hypovolemia (2VO/H) 수술을 통하여 혈관성 치매 rat 모델을 제작하고 다음과 같은 실험을 진행하며 대조군(normal)의 결과와 비교하였다.

[0077] 또한 미세아교세포인 BV2 세포의 염증반응에 대한 3중 복합버섯균사체 추출물의 억제활성을 측정하였다.

[0078] <실험예 2. Barnes maze test>

[0079] 바닥으로부터 1.2 m 떨어진, 20개의 원형 구멍이 뚫린 barnes 미로를 준비하고, 원형 구멍들 중 하나의 구멍 아래엔 도피처(platform)를 마련하여 두었다. 미로 위에는 혐오자극의 제공을 위해 LED를 설치하고, 연동된 video-tracking system을 이용하여 동선 추적 및 도피처까지의 도달 시간과 거리 등을 분석하였다.

[0080] 도피처 도달능 평가를 위하여 하루에 한 번씩 4일 간 최대 2분 간 동일 지점으로부터 도피처까지의 이동 내용을 분석에 이용하였다. 반면 도피처 탐색능 평가를 위해서는 4일 간의 도피처 도달능 평가가 끝난 직후 1회적으로 도피처가 있던 구멍에서 도피처를 없앤 후, 2분 동안 미로에서 도피처를 찾기 위한 이동 내용을 분석에 이용하였다.

[0081] 이에 대한 결과는 도 1에 나타내었는데, 모든 군은 1일 차보다 4일 차에 점점 도피처로 도달하는 데 소요된 이동거리와 시간이 점차 짧아지는 것으로 나타났다.

[0082] 그러나 수술에 의해 혈관성 치매가 유발되고 다른 처치를 하지 않은 Vehicle군은 다른 군들보다 이동 거리와 시간의 단축 경사도가 낮은 것으로 관찰되었다.

[0083] 이와 비교하여, 3중 복합버섯균사체 추출물을 투여한 시료-L 투여군과 시료-H 투여군은 Vehicle군보다 이동 거리와 시간이 현저하게 단축된 것으로 확인되었으며, 이러한 경향은 투여 농도에 의존하는 것으로 나타났다.

[0084] 한편 도피처 탐색능 실험에 있어서는, 정상군(Normal)은 도피처가 있던 사분면에 50% 이상 머물며 탐색 활동을 하는 것으로 나타났으나, Vehicle군은 Normal군보다 타겟 사분면에 머문 시간이 유의하게 짧아진 것으로 확인되었다(도 2). 즉 혈관성 치매 유도에 의해 인지기능이 저하되어 도피처를 찾아 그곳에서 머무는 시간이 짧아진 것으로 판단되었다. 이에 반하여 3중 복합버섯균사체 추출물을 투여한 시료-L 및 시료-H 처리군은 비록 농도의 존성은 인정되지 않으나 Vehicle군보다 타겟 사분면에 머문 시간이 유의하게 증가하는 것으로 확인되었다.

[0085] <실험예 3. Y maze test>

[0086] Barnes maze test가 끝난 4일 째에 Y자 모양의 검은 색 플라스틱으로 제작된 미로에 각 rat을 위치시켰다. 각 rat 당 8분 동안 A, B, C로 각각 명칭이 붙은 세 개의 arm으로 이동한 총 횟수(total entries; 운동능력을 시사)와 세 개의 arm으로 번갈아가며 이동한 횟수(spontaneous alternation; 기억력을 시사)를 분석하였다.

[0087] 분석 결과, 모든 군은 total entries 면에서 동일한 결과를 나타내어, 운동능력 면에서는 모든 군이 거의 차이가 없이 동일한 것으로 나타났다(도 3-B). 그러나 자발적 교대(spontaneous alternation)에 있어서는 Vehicle군은 Normal군에 비해 낮은 수치를 나타내어, 기억력이 현저하게 감소된 것으로 판단되었다(도 3-A). 이에 반하여 시료-L과 시료-H 군에 있어서는 Vehicle군과 비교하여 자발적 교대 능력이 유의하게 상승하는 것으로 나타났다. 이는 3중 복합버섯균사체 추출물 투여에 의해 기억력의 감소가 억제되었다는 것을 의미한다.

[0088] <실험예 4. 수동회피실험(passive avoidance test) >

[0089] 위에서 기술한 두 가지 행동 평가가 끝난 직후 각 rat을 수동 회피 검사 상자에 위치시켰다. Rat을 밝은 상자에 넣은 후, 가운데 사이막을 제거하여, 자연스레 어두운 상자로 이동하도록 만들고, 이를 3회 반복하여 마지막 회에서 어두운 상자로 이동하기까지의 속도(step-through latencies; 회피 본능 정도를 시사)를 측정하였다. 이와 동시에 어두운 상자에 3초 동안 전기자극을 주고 rat을 꺼냈다. 24시간 후 각 rat을 밝은 상자에 넣은 후, 사이막을 제거한 후, 어두운 상자로 이동하기까지의 시간(escape latencies; 기억력을 시사)을 분석하였다.

[0090] 분석 결과, 모든 군이 쇼크실 도달시간(step-through latencies)에 있어서 동일한 결과를 보여, 군 간의 실험적 편차는 없었으며, 이는 혐오자극을 기피하는 본능 면에서 각 군 별로 상이하지 않다는 것으로 시사하였다(도 4-A). 그러나 탈출잠복기(escape latency) 면에서 Vehicle군은 Normal군보다 수치가 낮아 학습력과 기억력이 저하

된 것으로 확인되었다(도 4-B). 하지만 3종 복합버섯균사체 추출물을 투여한 시료-L과 시료-H 투여군은 Vehicle 군보다 escape latency 수치가 상승하여 학습력 및 기억력이 향상된 것으로 추정되었다(도 4-B). 특히 투여량이 높은 시료-H 군에서 시료-L 군 보다도 상승도가 높은 것으로 보아, 높은 투여량에서 효과가 안정적인 것으로 판단되었다.

[0091] <실험예 5. 해마 CA1 영역의 생존 신경세포수 측정>

[0092] 모든 행동 검사가 끝나고, rat들을 고정액(4% paraformaldehyde)으로 심장 관류시키고 뇌를 적출하여 해마가 위치하는 부분을 관상면으로 잘라서 파라핀 블록으로 제작하였다. 이를 5 μm 두께로 박절하고, cresyl violet 시약으로 염색함. 광학현미경으로 관찰하면서 해마 CA1 영역 단위 면적(500 μm²) 당 생존한 신경세포의 수를 counting하였다.

[0093] 분석 결과, Normal군은 정상적인 형태의 신경세포가 세포수의 감소 없이 존재하는데 반하여, Vehicle군은 Normal군에 비하여 약 1/4 정도로 신경세포 수가 급감하는 것으로 관찰되었다(도 5-A). 이는 2V0/H 유도에 의해 해마 CA1 영역에 광범위한 세포사멸을 동반하는 혈관성 치매가 발생하였음을 시사하는 것이다. 하지만 3종 복합버섯균사체를 투여한 시료-L과 시료-H 처리군은 Vehicle군보다 해당 영역의 생존 신경세포 수가 투여량에 의존하여 유의하게 증가하였다. 이는 3종 복합버섯균사체 추출물 투여에 의해 혈관성 치매가 억제되어, 이에 동반되는 신경세포의 사멸이 유의하게 감소되었음을 시사하는 것이다.

[0094] <실험예 6. BV2 미세아교세포 염증반응 억제 실험>

[0095] BV2 microglia 세포의 염증반응은 이 세포를 1x10⁴/well이 되도록 96 well plate에 넣은 후, 100 ng/ml의 LPS(Lipopolysaccharide)를 24시간 처리하여 유도하였다. 3종 복합버섯균사체 추출물의 염증억제 활성은, 세포에 LPS를 처리하기 전에 이 시료를 여러 농도(0-500 ug/ml)로 12시간 전처리하여 측정하였다. 항염증 활성은 세포 배양액 중에 분비된 염증매개인자인 Nitric Oxide(NO), TNF-α(Tumor Necrosis Factor-α), IL-6(Interleukin 6) 등을 정량하여 판정하였다.

[0096] 미세아교세포는 뇌에서 염증을 유도하여 치매와 같은 뇌병변을 유발하는 세포로서, 이 세포의 염증반응 억제는 치매 및 인지기능의 개선에 직결된다. LPS로 유도된 BV2 미세아교세포 염증반응에 대해 3종 복합버섯균사체는 NO, TNF-α, IL-6 등 염증매개인자의 생성을 유의하게 억제하였다(도 6). 이 결과를 통해 3종 복합버섯균사체 추출물에 의한 인지기능 개선효과가 미세아교세포의 염증반응 억제와 관련된 것임이 입증된다.

[0097] <실험예 7. 아밀로이드 베타의 응집 저해 활성 확인>

[0098] 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체가 갖는 퇴행성 신경질환 유발원인 물질인 아밀로이드 베타의 응집 완화 효과를 형광분석법(ThioflavinT assay)으로 측정하였다. 아밀로이드 베타 펩티드(Aβ 1-42)는 5 μM의 농도로 사용하였으며, 사용 전 -80 °C에 보관하였다. 각 추출물은 증류수에 시험농도별로 희석하였다. Aβ 1-42 응집 억제 정도를 특정하기 위하여 0.01 M 인산소다 완충용액 92.5 μl에 각 시료 추출물 희석액을 5 μl씩 가하고 5 μM Aβ 1-42 2.5 μl를 가한 뒤, 37 °C에서 26시간 반응시킨 후, 5 μM 티오플라빈T 2,000 μl를 가하여 형광분광 분석기로 측정하였다. 이 때 처리된 각 시료는 최종 농도가 1μg/ml이 되도록 하였다.

[0099] 이에 대한 결과는 표 1에 무처리군의 응집값을 기준으로 대비하여 나타내었는데, 실시예 1의 균사체의 추출물이 아밀로이드 베타의 응집 저해 효과가 우수한 것으로 확인된다.

표 1

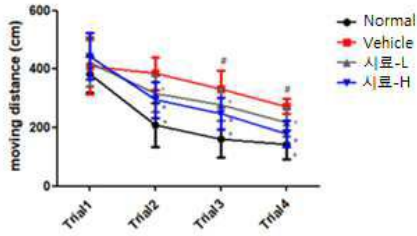
각 균사체 추출물	아밀로이드 응집 억제율
실시예 1	95.38
비교예 1	23.20
비교예 2	33.21
비교예 3	31.25
비교예 4	34.24
비교예 5	45.28
비교예 6	51.34
비교예 7	53.12
비교예 8	54.12

- [0101] <제제예 1. 약학적 제제>
- [0102] 제제예 1-1. 정제의 제조
- [0103] 본 발명 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체 200g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.
- [0104] <제제예 2. 식품 제조>
- [0105] 제제예 2-1. 조리용 양념의 제조
- [0106] 본 발명 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체를 조리용 양념에 1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.
- [0107] 제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조
- [0108] 본 발명 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체를 밀가루에 0.1 중량%로 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.
- [0109] 제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조
- [0110] 본 발명 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체를 스프 및 육즙에 0.1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [0111] 제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조
- [0112] 본 발명 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체를 우유에 0.1 중량%로 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0113] 제제예 2-5. 야채주스 제조
- [0114] 본 발명 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체 0.5g을 토마토주스 또는 당근주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.
- [0115] 제제예 2-6. 과일주스 제조
- [0116] 본 발명 실시예 1의 복합버섯버섯 균사체 0.1g을 사과주스 또는 포도주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

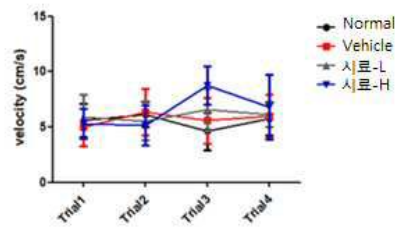
도면

도면1

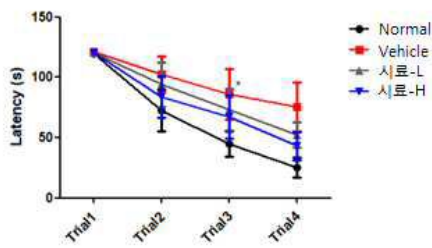
A) 이동거리



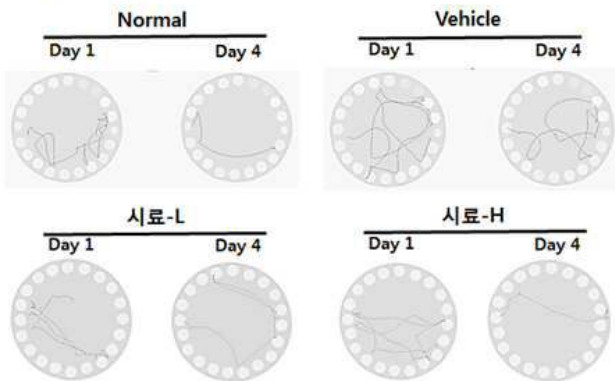
B) 이동속도



C) 도피처 도달시간

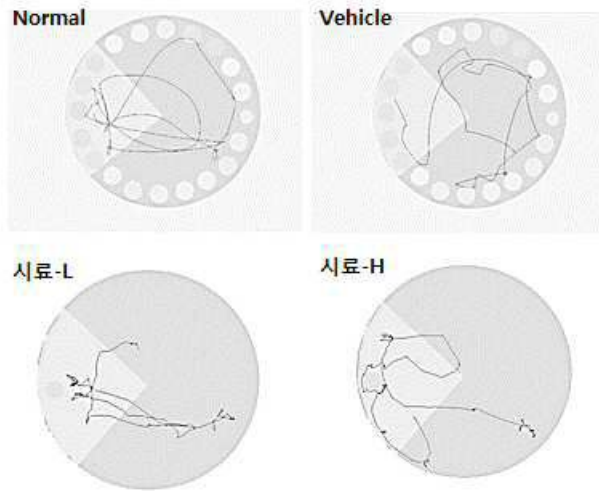


D) 동선 분석

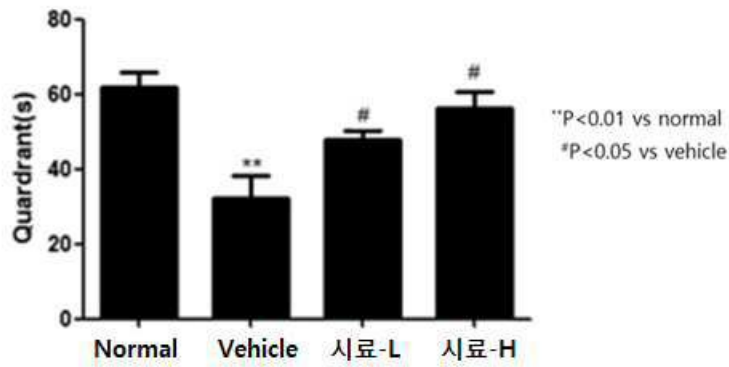


도면2

A) 도피처 탐색 동선

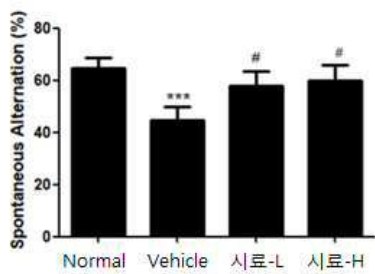


B) 도피처 정체시간

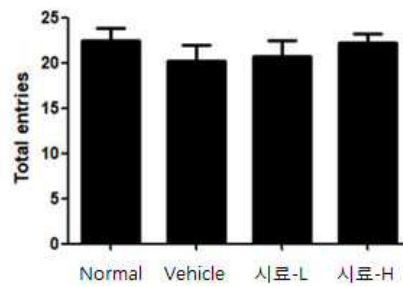


도면3

A) Spontaneous alternation

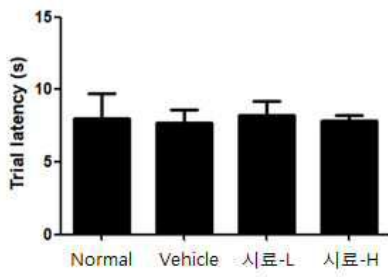


B) Total entries

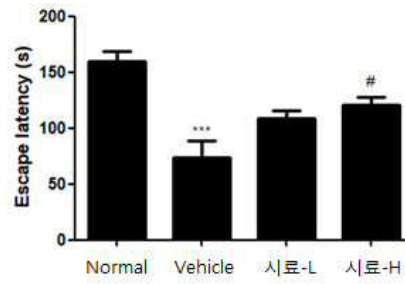


도면4

A) Step-through latency



B) Escape latency

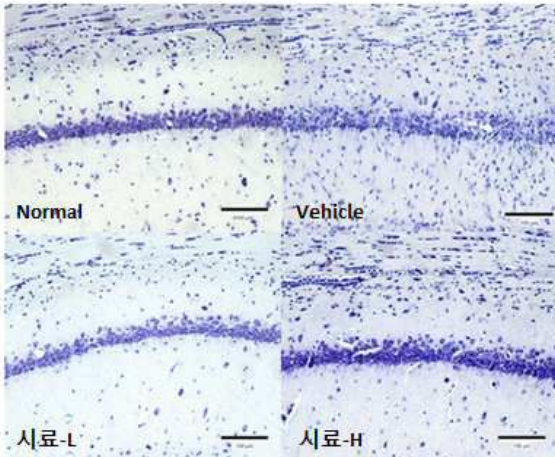


***P<0.001 vs normal

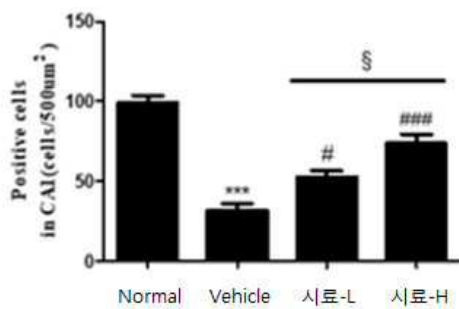
*P<0.05 vs vehicle

도면5

A) 해마 CA1 영역 염색



B) 신경세포 수



***P<0.001; vs vehicle

#P<0.05, ###P<0.01; vs vehicle

§P<0.01; vs 시료-L

도면6

