



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0123861
(43) 공개일자 2016년10월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/30 (2006.01) A23L 1/00 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) A61K 9/48 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23P 10/00 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0054604
(22) 출원일자 2015년04월17일
심사청구일자 2015년04월17일

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
허호진
경상남도 진주시 진주대로 501 경상대학교 농업생명과학대학 응용생명과학부 식품공학전공
진동은
경상남도 진주시 진주대로 501 경상대학교 농업생명과학대학 응용생명과학부 식품공학전공
박선경
경상남도 진주시 진주대로 501 경상대학교 농업생명과학대학 응용생명과학부 식품공학전공
(74) 대리인
최규환

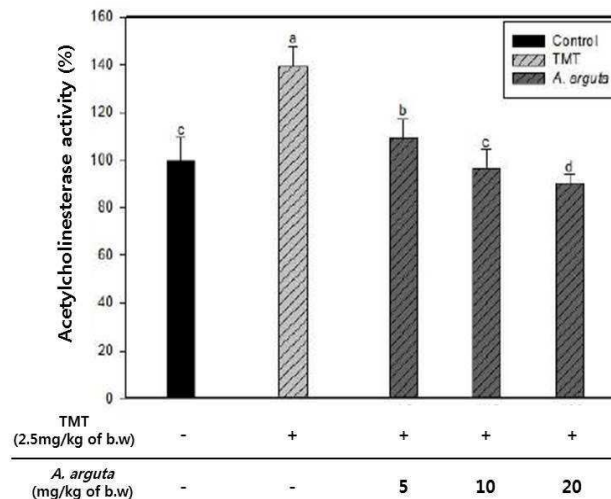
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물 및 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 본 발명의 토종다래 추출물 또는 이의 분획물은 항산화 작용, 지질과산화 억제작용 및 아세틸콜린 분해효소(AChE) 억제효과가 우수하여 뇌신경세포를 효과적으로 보호하며, 알츠하이머 유도 동물모델에서 인지 및 학습 능력에 뛰어난 회복효과를 가지므로, 인지기능 또는 기억능력 예방, 개선 또는 치료 조성물에 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도14



(52) CPC특허분류

A61K 36/185 (2013.01)

A61K 9/20 (2013.01)

A61K 9/48 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

A23V 2300/14 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2013-자유10

부처명 산림청

연구관리전문기관 산림청

연구사업명 산림과학기술개발사업

연구과제명 다래가 갖는 인지 및 기억능력 개선 효과 및 생리활성 성분을 포함한 영양화학 특성 분석

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교

연구기간 2013.06.17 ~ 2016.06.16

명세서

청구범위

청구항 1

토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 토종다래는 오팀센스(Otumsense) 품종인 것을 특징으로 하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 토종다래 추출물은 에탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 분획물은 토종다래 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 아세틸콜린 분해효소(Acetylcholinesterase)의 활성을 저해하는 것을 특징으로 하는 건강기능식품 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 7

토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 토종다래는 오팀센스(Otumsense) 품종인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 토종다래 추출물은 에탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 분획물은 토종다래 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 퇴행성 뇌신경 질환은 알츠하이머성 치매(Alzheimer's disease)인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 추출물 또는 이의 분획물 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 13

제7항에 있어서, 상기 조성물은 캡슐제, 산제, 과립제, 정제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 건강기능식품 또는 약학 조성물로 이용될 수 있는 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 의학 기술의 발달과 생활수준의 향상으로 인간의 평균수명은 지난 반세기 동안 두 배 가까이 연장되었으며, 이로 인하여 전체인구에 대한 노인 인구의 비율이 급속하게 증가되었다. 통계청이 발표한 2005년 자료에 의하면, 현재 우리나라 사람의 평균수명은 78.5세이고 2000년도에 이미 65세 이상의 인구 비율이 약 7%에 달하는 등 급속하게 노령화 사회로 진입하고 있음을 알 수 있다. 또한, 우리나라는 2018년에는 고령사회, 2026년에는 노인 인구의 비율이 20% 이상인 초고령화 사회로 진입할 것으로 예측되고 있다. 그리고 2004년에 12.1%이었던 노년 부양비(65세 이상 인구수/15~64세 인구수)는 2020년에는 21.3%, 2030년에는 35.7%로 높아질 전망이며, 2004년에 생산 가능인구 8.2명당 노인 1명을 부양했다면, 2010년에는 6.8명당 노인 1명, 2020년에는 4.7명당 노인 1명, 2030년에는 2.8명당 노인 1명을 부양하는 셈이 된다. 이는 국가적으로 경제 성장 저하, 국가경쟁력 감소 및 세대 간 갈등 심화로 인한 사회적 부담의 가능성이 커지는 것을 의미한다.

[0003] 이러한 사회적 전망과 현실을 반영하듯 최근에는 노인들에게 많이 이환되는 질환에 관심이 집중되고 있다. 특히, 치매(dementia)는 고령일수록 발병률이 두드러지게 높아 75~84세의 노인의 경우 발병률이 약 20%, 85세 이상의 노인에게는 약 50% 정도에 육박하는 것으로 알려져 있고 질병의 특성상 타인의 보살핌에 절대적으로 의존하여야 하므로 중대한 사회적 관심사로 떠오르고 있다. 또한, 치매로 인한 경제적 손실액이 매우 커지고 있으며, 근로 손실 등의 제반 사항을 모두 고려할 때 우리나라의 경우 치매 치료로 인한 사회적 비용은 3조 4000억~4조 4000억 원으로 추산되고 있다. 그리고, 미국의 경우 치매 치료로 인한 손실 비용이 매년 약 1000~1200억 달러에 달하는 것으로 추정된다. 즉, 사회가 점차 고령화되면서 노인성 치매는 21세기 인류가 해결해야 할 최대의 보건문제로 등장하고 있다. 이에 따라, 치매를 비롯한 인지기능장애의 예방 및 치료가 가능한 기능성 물질 및 식품 등의 개발에 대한 요구가 커지고 있는 실정이다.

[0004] 알츠하이머성 치매(Alzheimer's disease)는 점진적인 인지기능 및 기억능력의 상실을 초래하는 신경퇴행성 질환으로서, 대뇌 기저부의 아세틸콜린(Acetylcholine)성 신경세포의 손상에서 비롯된다는 연구결과에 의해 무스카린성 아세틸콜린 수용체(muscarinic acetylcholine receptor)에 대한 효능제(agonist), 아세틸콜린 생성촉진제, 아세틸콜린 분해효소(Acetylcholinesterase, AChE) 저해제 등 여러 가지 작용기전에 따라 아세틸콜린성 신경세포의 기능을 강화시켜줄 수 있는 약물들이 개발되어 왔다. 실제로 현재 각국에서 사용되고 있는 알츠하이머병 치료제는 이러한 아세틸콜린 분해효소 억제제가 대부분이며, 타크린(tacrine)과 도네페질(donepezil) 등이 이에 속한다. 이 밖에도 리바스티그민(rivastigmin), 갈라타민(galantamine) 등이 사용되고 있다.

[0005] 현재 퇴행성 뇌신경 질환으로서의 인지기능 또는 기억능력 저하 현상 개선을 위한 더욱 효과적인 제제(건강기능성 식품 소재 포함)의 개발 수요가 어느 때보다 높은 시기이다. 결국 치매 발병에 대한 뇌신경 세포의 기작을 대상으로 새로운 다중 기능성 효과(multi-functional effect)를 갖는 소재 개발을 위한 연구가 필요한 실정이다.

[0006] 한편, 다래(*Actinidia arguta*)는 다래나무과(Acinidiaceae) 다래나무속(*Actinidia*) 고부가가치 식물자원으로, 온대지역에서 자라는 자웅이주의 덩굴성 낙엽과수로서 원산지는 중국 양자강 유역으로 과수의 재배지역은 연 최저 기온이 15℃ 이하로 내려가지 않는 지역이면 재배가 가능한 것으로 알려져 있다. 다래의 종류는 세계적으로

2-5속 280~560종이 분포하고 있으며, 우리나라에서 자생되는 토종 다래는 다래(*A. arguta*), 개다래(*A. polygama*), 섬다래(*A. rufa*), 쥐다래(*A. kolomikta*) 등 4종류가 분포한다. 우리나라에 자생하는 토종다래는 내한성과 내병충성이 강한 수종으로 우리나라 산지 전역에 분포하며, 참다래(키위)와 달리 과실 표면에 털이 없어 외피까지 함께 식용이 가능한 것이 특징이다. 과실의 크기는 참다래(키위)와 비교할 때 상대적으로 작으나 당도가 높아 기호성이 좋으며, 각종 무기영양소와 비타민 C 함량이 다른 과실류 보다 비교적 높아 다양한 식품 소재로 활용이 가능하다. 다래는 한방에서 미후도라고도 불리며 열을 내리게 하고 갈증을 멈추게 하며 소화불량 등에 효과가 있는 것으로 알려진다. 특히, 비타민 C가 풍부하여 피로회복이나 괴혈병 예방에도 효과적이며, 동의보감에서 미후도근이라 불리는 다래나무의 뿌리는 소화불량이나 구토, 관절통 치료에도 사용된다. 다래에 관한 국내연구는 자생다래의 수집 및 분류, 증식, 신품종 육성 등에 관한 연구가 주로 이루어진바 있으나, 토종다래 과실 및 수피 등의 추출물을 대상으로 한 생리 활성에 관련된 연구는 미비한 상황이다.

[0007] 한국등록특허 제1382412호에는 항산화 활성을 갖는 다래나무 추출물을 함유하는 조성물에 대해 개시되어 있고, 한국공개특허 제2011-0080470호에 홍삼 추출물 및 약초 발효물을 함유하는 면역 증강용 또는 항산화용 건강식품 조성물에 대해 개시되어 있다. 하지만 본 발명의 토종다래 추출물 또는 이의 에틸아세테이트 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대해서는 알려진 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다. 본 발명에 따른 토종다래 추출물 또는 이의 분획물은 아세틸콜린 분해효소(AChE) 억제효과, 뇌신경 스트레스 저해효과 및 신경세포 보호능력이 우수하여, 인지기능 또는 기억능력 예방, 개선 또는 치료에 이용될 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 토종다래 추출물 또는 이의 분획물은 항산화 작용, 지질과산화 억제작용 및 아세틸콜린 분해효소(AChE) 억제효과가 우수하여 뇌신경세포를 효과적으로 보호하며, 알츠하이머 유도 동물모델에서 인지 및 학습 능력에 뛰어난 회복효과를 가지므로, 인지기능 또는 기억능력 예방, 개선 또는 치료 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 품종의 총 페놀 함량을 측정한 결과이다. A는 토종다래의 품종인 오템센스, 치악 및 스키니그린의 총 페놀 함량; B는 오템센스 품종의 n-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 물 분획물의 총 페놀 함량결과이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 분획물들의 농도별 처리에 따른 ABTS 라디칼 소거활성 측정결과이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 분획물들의 농도별 처리에 따른 DPPH 라디칼 소거활성 측정결과이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 분획물들의 농도별 처리에 따른 환원력 측정결과이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 분획물들의 농도별 처리에 따른 지질과산화 중

간생성물인 말론디알데하이드(malondialdehyde, MDA) 억제활성을 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 농도별 처리에 따른 아세틸콜린 분해효소(Acetylcholinesterase, AChE) 저해활성을 나타낸 것이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 농도별 처리에 따른 효소반응속도 분석결과를 나타낸 것이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 농도별 처리에 따른 산화적 스트레스(oxidative stress) 저해활성을 나타낸 것이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 농도별 처리에 따른 PC12 신경 세포의 세포생존율(cell viability)을 나타낸 것이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 농도별 처리에 따른 뇌신경 세포막 보호효과를 나타낸 것이다.

도 11는 본 발명의 일 실시예에 따른 트리메틸틴(Trimethyltin, TMT)을 이용한 공간지각능력 상실 및 행동성 이상 마우스에 대한 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 회복 능력 평가시험 결과이다. A는 교체행동(Alternation behavior) 및 암(arm)을 통과한 횟수를 나타낸 결과; B는 Y-maze 미로에서의 경로추적(path tracing)을 나타낸 결과이다.

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 트리메틸틴(Trimethyltin, TMT)을 이용한 인지기능 및 단기 기억력 상실 마우스에 대한 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 회복 능력 평가시험 결과이다.

도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 트리메틸틴(Trimethyltin, TMT)을 이용한 공간기억 학습 및 장기기억 능력 상실 마우스에 대한 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 회복 능력 평가시험 결과이다. A는 마우스가 플랫폼(platform)을 찾는데 소요되는 시간 측정; B는 실험 5일째 플랫폼을 제거한 후 플랫폼이 있었던 구간(W zone)을 지나가거나 머무는 시간 측정; c는 이동경로를 나타낸 것이다.

도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스의 뇌 조직 중의 아세틸콜린 분해효소(Acetylcholinesterase, AChE) 활성 측정 결과이다.

도 15는 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스의 뇌 조직 중의 말론디알데하이드(malondialdehyde, MDA) 함량 측정결과이다.

도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스의 뇌 조직 중의 슈퍼옥시드 디스무타아제(superoxidedismutase, SOD) 함량 측정결과이다.

도 17은 본 발명의 일 실시예에 따른 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스의 뇌 조직 중의 산화된 글루타치온(glutathione, GSH) 함량 측정결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0014] 본 발명의 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물에서, 상기 토종다래 추출물은 오텀센스(Otumsense), 치악(Chiak) 또는 스킨그린(Skinny green) 품종으로부터 추출한 것일 수 있으며, 바람직하게는 오텀센스 품종으로부터 추출한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0015] 또한, 본 발명의 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물에서, 상기 토종다래 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 및 이들의 혼합용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매의 추출물일 수 있고, 바람직하게는 에탄올 추출물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0016] 또한, 상기 토종다래 추출물은 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 조정제물 또는 정제물 중 어느 하나를 포함하는 것으로 한다.
- [0017] 또한, 본 발명의 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물에서, 상기 토종다래 추출물은 냉침 추출, 환류 냉각 추출, 가열 추출, 초음파 추출, 냉각 추출 등의 다양한 추출법을 이용하여 추출할 수 있으나, 바람직하게는 환류 냉각 추출이 바람직하다. 상기 추출방법은 유효성분이 파괴되지 않고, 토종다래 추출물로부터 활

성이 높은 분획물을 얻을 수 있다.

- [0018] 본 발명의 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물에서, 상기 분획물은 토종다래 에탄올 추출물로부터 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 또는 물을 이용하여 분획한 것일 수 있으며, 바람직하게는 에틸아세테이트를 이용하여 분획한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0019] 본 발명의 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물은 아세틸콜린 분해효소(Acetylcholinesterase)의 활성을 저해할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 본 발명의 인지기능 또는 기억능력 개선용 건강기능식품 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 상기 건강기능식품 조성물은 인지기능 또는 기억능력을 개선 시키기 위해 섭취할 수 있는 것이면 특별히 제한되지 않는다.
- [0022] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 건강기능식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분은 그의 사용 목적(예방 또는 개선)에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 건강기능식품 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로 사용될 수 있다.
- [0023] 상기 건강기능식품의 종류에 특별한 제한은 없다. 상기 건강기능식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0024] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물은 식품, 특히 기능성 식품으로 제조될 수 있다. 본 발명의 기능성 식품은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 천연 탄수화물 또는 향미제를 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등), 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등), 올리고당, 폴리사카라이드(예컨대, 텍스트린, 시클로텍스트린 등), 또는 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등)인 것이 바람직하다. 상기 향미제는 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등)와 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다.
- [0025] 상기 건강기능식품 조성물 이외에 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 더 함유할 수 있다. 이러한 상기 첨가되는 성분의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강기능식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0026] 또한, 본 발명은 토종다래 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 인지기능 또는 기억능력의 퇴화로 인해 중추신경계의 신경세포에 퇴행성 변화가 유발되는 질환은 퇴행성 뇌신경 질환으로, 대표적인 퇴행성 뇌신경 질환에는 알츠하이머성 치매(Alzheimer's disease), 진행성 핵상마비(Progressive supranuclear palsy), 선조체-흑질 퇴행증(Striatonigral degeneration), 헌팅톤병(Huntington's disease), 근위축성 측색 경화증(Amyotrophic lateral sclerosis: ALS), 피질-기저핵 퇴행증(Cortico-basal ganglionic degeneration), 미만성 루이 소체 질환(Diffuse Lewy body disease), 파킨슨-ALS-치매 복합증(Parkinson-ALS-dementia complex of Guam) 또는 픽병(Pick's disease)이 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0028] 본 발명의 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 약학조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물 또는 이의 분획물을 0.02 내지 80 중량%, 바람직하게는 0.02 내지 50 중량%로 포함할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 약학 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수도 있다.
- [0030] 본 발명에 따른 조성물의 약학적 투여 형태는 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한

집합으로 사용될 수 있다.

- [0031] 본 발명에 따른 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토스, 텍스트로스 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조 혼합물을 들 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 약학 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 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 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템술, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우진지, 글리세로세라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다를 수 있으며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 분획물은 1일 0.0001 내지 100mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 100mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0033] 본 발명의 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 (intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 상기 토종다래 추출물은 오템센스 (Otsense), 치악(Chiak) 또는 스킨니그린(Skinny green) 품종으로부터 추출할 수 있으며, 바람직하게는 오템센스 품종으로부터 추출할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0035] 본 발명의 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 상기 토종다래 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 및 이들의 혼합용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매의 추출물일 수 있고, 바람직하게는 에탄올 추출물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0036] 본 발명의 퇴행성 뇌신경 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 상기 분획물은 토종다래 에탄올 추출물로부터 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 또는 물을 이용하여 분획한 것일 수 있으며, 바람직하게는 에틸아세테이트를 이용하여 분획한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0037] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 의에게 있어 자명한 것이다.
- [0038] **실시예 1. 토종다래 추출물로부터 얻은 용매 분획물들의 총 페놀성 화합물 측정**
- [0039] 토종다래의 품종을 선정하기 위해 80%(v/v) 에탄올을 이용하여 환류냉각 방법을 통해 총 페놀성 화합물 함량을 분석하였다. 그 결과, 도 1A에 개시된 바와 같이 총 페놀성 화합물 함량이 오템센스, 치악 및 스킨니그린 품종은 30.16, 11.91 및 17.00mg GAE/g으로 나타났으며, 80% 에탄올 추출물에서 가장 높은 총 페놀성 화합물 함량을 나타낸 품종은 오템센스 품종으로 분석되었다. 이러한 결과를 바탕으로 오템센스 품종을 최종 추출물로 선정하고 80%(v/v) 에탄올 추출물을 활용하여 극성에 따른 선택적인 폴리 페놀성 화합물들을 추출하기 위하여 용매 계통 추출을 실시하였다. 그 결과, 도 1B에 개시한 바와 같이 토종다래의 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 물 분획물의 총 페놀성 화합물 함량은 68.50, 33.50, 55.41 및 18.86mg GAE/g으로, 헥산 분획물 및 에틸아세테이트 분획물에서 높은 함량을 나타내었다.

[0040] **실시예 2. 토종다래 추출물로부터 얻은 용매 분획물들의 ABTS 라디칼 소거활성 측정**

[0041] 상기 실시예 1의 토종다래의 용매 분획물을 이용하여 ABTS(2,2'-아지노-비스(3-에틸벤즈티졸린-6-술폰산)) 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 도 2에 개시하였다. 토종다래의 용매 분획물들은 양성대조구(positive control)인 비타민 C와 비교하였을 때, 다소 낮은 라디칼 소거활성을 보였으나, 토종다래의 용매 분획물들의 농도가 증가함에 따라 ABTS 라디칼 소거활성이 증가하는 경향을 보였다. 또한, 다른 분획물에 비하여 페놀성 화합물이 많이 함유되어 있는 핵산 분획물 및 에틸아세테이트 분획물에서 각각 61% 및 50%의 높은 ABTS 라디칼 소거활성을 보였다.

[0042] **실시예 3. 토종다래 추출물로부터 얻은 용매 분획물들의 DPPH 라디칼 소거활성 측정**

[0043] 상기 실시예 1의 토종다래의 용매 분획물을 이용하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 도 3에 개시하였다. 토종다래의 용매 분획물들은 양성대조구(positive control)인 비타민 C와 비교하였을 때, 다소 낮은 라디칼 소거활성을 보였으나, 토종다래의 모든 용매 분획물의 농도가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거활성이 증가하는 경향을 보였고, 특히 다른 분획물들에 비하여 핵산 분획물 및 에틸아세테이트 분획물에서 각각 약 50% 및 40%의 높은 DPPH 라디칼 소거활성을 보였다.

[0044] **실시예 4. 토종다래 추출물로부터 얻은 용매 분획물들의 환원력 측정**

[0045] FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power) 시험은 최근에 개발되어진 총 항산화능을 측정하는 방법으로 낮은 pH에서 환원제에 의해 Fe^{3+} -TPTZ(ferric tripyridyltriazine) 복합체가 Fe^{2+} -TPTZ(ferrous tripyridyltriazine)으로 환원되는 원리를 이용한 것으로 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에 착안하여 고안된 방법이다. 이 방법은 흡광도가 증가함에 따라 항산화력이 커지는 것을 의미하는 것으로 토종다래의 용매 분획물을 이용하여 총 항산화력을 측정하였다. 그 결과, 도 4에 개시한 바와 같이 양성대조구(positive control)인 비타민 C에 비해 항산화력이 다소 낮은 것으로 나타났지만, 용매 분획물의 농도가 증가함에 따라 흡광도 역시 증가하였으며 이는 라디칼 소거활성과 유사한 경향을 나타내었다.

[0046] **실시예 5. 토종다래 추출물로부터 얻은 용매 분획물들의 뇌지질 과산화 억제활성**

[0047] 세포막을 구성하고 있는 지질성분은 산화적 스트레스에 취약한 특성을 가지고 있으며, 세포막 손상 및 기타 단백질 손상과도 관계가 있다. 따라서 본 발명에서는 토종다래의 용매 분획물의 마우스 뇌 세포막 지질과산화 억제 활성을 확인하였으며, 토종다래의 용매분획물을 이용한 지질 과산화 억제 활성의 결과는 도 5에 개시하였다. 250 μ g/mL 농도의 모든 분획물은 지질과산화 생성물인 말론디알데하이드(MDA)의 생성에 대하여 양성대조구(positive control)로 사용된 500 μ g/mL 농도의 카테킨(catechin)과 유사한 저해 효과를 나타내었다. 그 이상의 농도에서는 유의적으로 증가하는 경향을 보이지 않는데 이는 측정 흡광도 값을 넘어 그 이상의 흡광도 값을 읽어 내지 못하여 활성차이가 없는 것으로 보이나 실제로는 더 좋은 활성을 보일 것이라 예상할 수 있었다. 본 결과를 토대로 향후 토종다래의 분획물은 산화적 스트레스로 인한 지질의 과산화에 대해 억제효과를 나타내는 기능성 산업 소재로서의 활용 가치를 가질 것으로 판단된다.

[0048] **실시예 6. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 AChE 저해활성**

[0049] 알츠하이머성 치매로부터 유발되는 기억력 상실 및 학습능력 저하 등 각종 인지장애는 주로 대뇌기저부의 아세틸콜린성(acetylcholine) 신경세포의 손상으로부터 기인된다는 가설을 바탕으로 본 발명에서는 토종다래의 에틸아세테이트 분획물의 알츠하이머성 치매에 대한 예방효과를 확인하기 위해 먼저 아세틸콜린 분해효소(AChE) 저해활성을 측정하였다. 그 결과, 도 6에 개시된 바와 같이 1세대 AChE 저해제인 타크린(tacrine)은 1 μ M의 농도에서 63%의 AChE 저해활성을 나타내었으며, 60 μ g/mL 농도의 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 농도범위에서 IC_{50} 을 나타내었으며, 농도 의존적이지는 않았으나 농도가 증가함에 따라 AChE 저해활성이 증가하는 경향을 나타내었다.

- [0050] **실시예 7. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 효소반응속도 분석**
- [0051] 라인위버-버크 그래프(Lineweaver-Burk plot)는 미카리스-멘텐(Michaelis-Menten)의 효소반응 속도식을 적용할 수 있는 효소반응계이며, 효소저해 패턴인 효소반응속도를 측정된 결과는 도 7에 개시하였다. 토종다래 (*Actinidia arguta*)의 에틸아세테이트 분획물은 농도가 증가할수록 라인위버-버크(Lineweaver-Burk) 직선의 Y축에서 교차하지 않는 비경쟁적 저해제의 패턴을 나타내었다. 비경쟁적 저해제는 효소반응에 있어, 효소의 활성 중심에 기질과 비경쟁적으로 결합하는 화합물로서 저해제의 분자구조는 기질의 분자구조와 다소 차이가 있으며, 저해의 정도는 기질과 저해제와의 상대농도에 의존하지 않는다. 따라서 토종다래의 에틸아세테이트 분획물은 인지능 개선 능력을 가지고 천연소재로서의 가치가 있다고 판단하였다.
- [0052] **실시예 8. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 산화적 스트레스에 대한 신경세포 보호효과**
- [0053] 산화적 스트레스로 인해 세포내 생성된 ROS(Reactive oxygen species)는 비형광을 나타내는 DCF-DA(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate)를 산화시켜 형광물질인 DCF로 전환시키는데, 이렇게 전환된 형광물질의 양을 측정하여 세포내 형성된 ROS를 측정하는 방법이다. 먼저 앞선 항산화 결과를 통해 뛰어난 활성을 보여준 에틸아세테이트 분획물을 처리한 다음, 과산화수소(H_2O_2)로 세포의 산화적 손상을 유도하여 DCF 형광강도를 확인하였다. 그 결과, 도 8에 개시된 바와 같이 H_2O_2 를 단독 처리한 구에서는 114.93%로 대조구(control) 100% 대비 약 15%의 형광강도 증가를 보인 반면, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물을 처리한 구에서는 농도가 증가할수록 높은 산화적 손상보호 효과를 보였다. 특히, 50 $\mu g/mL$ 농도의 토종다래 에틸아세테이트 분획물에서는 92.91%로 H_2O_2 대비 약 22% 정도의 ROS 감소율을 보여주어 뛰어난 뇌손상 보호효과를 지니는 것으로 확인되었다.
- [0054] **실시예 9. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 MTT 분석에 의한 세포 생존율 측정**
- [0055] 토종다래의 에틸아세테이트 분획물이 과산화수소(H_2O_2)에 의해 유도된 산화적 스트레스 상태에서 PC12 신경세포에 대한 보호 효과를 측정하였다. 그 결과 도 9에 개시된 바와 같이, 세포 생존율(Cell viability)은 H_2O_2 를 처리한 그룹에서는 대조구 그룹(control group, 100%) 대비 83.12%의 생존율을 나타냈고, H_2O_2 와 비타민 C를 동시에 처리한 그룹에서는 125.82%의 생존율로 약 40% 정도의 신경세포 보호효과를 보였다. 토종다래의 에틸아세테이트 분획물을 처리한 그룹에서는 농도가 증가할수록 세포 생존율이 증가하는 것으로 나타났고, 특히 200 $\mu g/mL$ 의 농도에서는 양성대조구(positive control)로 사용된 200 μM 농도의 비타민 C와 유사한 세포 생존율을 보이는 것을 확인할 수 있었으며 최고 농도에서는 145.16%로 H_2O_2 대비 약 60% 정도의 증가율을 보이는 것으로 나타났다.
- [0056] **실시예 10. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물의 세포막 손상 억제 효과**
- [0057] 과산화수소(H_2O_2)로 유도된 신경세포막 손상에 대한 토종다래의 에틸아세테이트 분획물의 보호효과를 확인하기 위해 신경세포 중에 함유되어 있는 세포질 성분의 LDH(lactate dehydrogenase) 방출량을 측정하였다. 그 결과, 도 10에 개시한 바와 같이 대조구(Control group)의 방출량은 22.07% 정도인 반면, H_2O_2 처리한 시료에서는 84.85%의 방출량을 보여 H_2O_2 에 의해 LDH 방출량이 약 60% 정도 증가하였다. 양성대조구(Positive control)로 쓰인 200 μM 농도의 비타민 C를 처리한 그룹은 36.84%의 LDH 방출량을 보였고, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물의 경우 50~1000 $\mu g/mL$ 의 농도로 처리했을 때 농도가 증가할수록 감소효과를 보여주었다. 특히, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물의 경우 100 $\mu g/mL$ 의 농도에서 200 μM 농도의 비타민 C와 유사한 수준으로 높은 저해효과를 나타내었다.
- [0058] **실시예 11. 트리메틸틴(Trimethyltin, TMT) 주입(injection)을 통한 Y-maze 시험**
- [0059] 본 발명에서는 뇌의 해마부위에 비가역적인 손상을 일으킴으로써 알츠하이머성 치매와 유사한 증상을 나타내는

TMT(Trimethyltin)를 이용하여 공간지각능력과 행동성에 이상증상을 보이는 마우스를 대상으로 Y-maze를 실시하였으며 그 결과는 도 11에 개시하였다. 8분 동안 Y-maze에서의 마우스의 행동을 관찰한 결과, TMT 그룹은 아무것도 처리하지 않은 대조구 그룹(control group, 100%) 대비 82.47%로 현저한 공간지각능력 저하(17.53% 감소)를 보였다. 이에 반해, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 5, 10 및 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹은 각각 103.99, 107.65, 110.21%로 TMT 그룹과 비교하였을 때, 농도가 증가할수록 공간지각 능력이 개선될 뿐만 아니라 대조구 그룹(control group)과 유사하거나 높은 수준으로 나타났다. 또한 8분 동안 마우스들이 Y-maze의 각 암(arm)을 통과한 총 횟수를 나타낸 것으로 마우스의 기본적인 운동능력에는 큰 문제를 보이지 않은 것으로 나타났으며(도 11A), Y-maze 미로에서 불필요한 움직임을 과도하게 보이는 것을 확인하였다(도 11B). 따라서 도 11A 및 11B에서 보여준 결과는 TMT 주입(injection)에 의한 인지결함으로부터 유도된 행동 장애임을 뒷받침해주었다.

[0060] **실시예 12. 트리메틸틴(Trimethyltin, TMT) 주입(injection)을 통한 수동회피시험(passive avoidance test)**

[0061] 상기 실시예 11의 Y-maze 시험에 이어 토종다래의 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스의 인지 기능 및 단기 기억력 회복능을 확인하기 위해 수동회피시험(passive avoidance test)을 실시하였다. 그 결과, 도 12에 개시된 바와 같이 TMT 그룹의 머무름 시간(latency time)은 32.83초로 아무것도 처리하지 않은 대조구 그룹(control group)의 300.00초에 비하여 학습 및 인지기능이 현저히 감소하였다(91.37% 감소). TMT 그룹과 비교하였을 때, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 5, 10 및 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹은 섭취량이 증가함에 따라 인지기능이 크게 회복되는 것으로 나타났다. 특히, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 10 및 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹은 TMT 그룹에 비해 학습 및 인지기능이 개선된 것을 확인할 수 있었고 대조구 그룹(control group)과 유사한 인지기능 및 단기 기억력 회복력이 나타났다.

[0062] **실시예 13. 트리메틸틴(Trimethyltin, TMT) 주입(injection)을 통한 모리스 수중 미로 시험(Morris water maze test)**

[0063] 모리스 수중 미로(Morris water maze) 시험은 실험동물의 공간 기억 학습 능력과 장기 기억능력을 평가하는 방법으로 결과는 도 13에 개시하였다. 4일간의 실험기간(hidden trial) 동안 TMT 그룹에서는 4일간의 반복 실험에서 플랫폼(platform)을 찾는데 걸리는 시간(escape latency) 단축의 폭이 아무것도 처리하지 않은 대조구 그룹(control group)에 비하여 다소 낮은 반면, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 5, 10 및 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹에서는 플랫폼(platform)을 찾는데 소요되는 시간이 크게 감소하였으며, 전체적으로 1일째에 비하여 4일째가 되었을 때 플랫폼(platform)을 찾는데 소요되는 시간이 감소한 것을 확인할 수 있었다(도 13A). 이후 5일째 진행된 프로브 시험(probe test)에서 플랫폼(platform)을 제거한 후 플랫폼(platform)이 있었던 구간(W zone)을 지나가거나 머무르는 시간을 측정하여 공간기억력 및 장기 기억능력을 검사한 결과는 다음과 같다(도 13B). TMT 그룹의 경우 22.00%로 대조구 그룹(control group)의 27.15%과 비교하여 낮은 공간 기억력을 보였으며, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 5, 10 및 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹에서는 각각 25.05, 27.69 및 32.31%로 섭취 농도가 증가할수록 플랫폼(platform)이 있던 구간에 오래 머무르는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 각 그룹의 이동경로를 나타낸 결과는 도 13C에 개시하였다. 이러한 결과들로 토대로 토종다래의 추출물을 섭취한 그룹에서 TMT에 의한 공간 학습 및 기억력 손상이 개선되는 것을 확인할 수 있었다.

[0064] **실시예 14. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스 뇌 조직 중의 AChE(Acetylcholinesterase) 활성 측정**

[0065] Y-maze, 수동회피(passive avoidance) 및 모리스 수중 미로(morris water maze) 실험 종료 후 마우스의 뇌를 적출하여 AChE 활성을 측정하였다. 그 결과, 도 14에 개시한 바와 같이 TMT 그룹은 아무것도 처리하지 않은 대조구(control group, 100.00%) 대비 139.29%로 나타나, TMT로 인해 뇌 해마영역의 AChE의 활성이 증가되는 것으로 나타났다. 또한 낮은 농도에서의 토종다래의 그룹에서는 AChE 활성이 대조구(control group)보다는 높게 나왔지만 토종다래의 모든 그룹에서 AChE 활성을 크게 저해시키는 것으로 나타났다(토종다래의 에틸아세테이트 분획물 5mg/kg of b.w, 109.07%; 10mg/kg of b.w, 96.35%; 및 20mg/kg of b.w, 90.47%). 따라서, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물은 TMT로 유도된 학습 및 인지기능 결함 마우스에서 효과적으로 AChE의 저해활성을 가지는 것으로 판단된다.

[0066] 실시예 15. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스 뇌 조직 중의 MDA(Malondialdehyde) 함량 측정

[0067] 본 실시예 15에서는 토종다래의 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스의 뇌 조직에 존재하는 지질과산화 중간 생성물인 MDA의 함량을 측정하였다(도 15). 아무것도 처리하지 않은 대조구 그룹(Control group)은 2.82nmol/mg 단백질이었으며, TMT 그룹은 이보다 증가한 3.04nmol/mg 단백질로 나타나 TMT에 의해 대부분 지질로 구성되어 있는 뇌 조직의 과산화 생성물이 증가되는 것을 확인하였다. 그러나 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 5, 10 및 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹에서는 농도가 증가함에 따라 MDA의 함량은 줄어드는 것으로 나타났고, 특히 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹은 TMT 그룹대비 20% 정도 줄어드는 것으로 나타났다. 이는 정상 마우스보다 약 9% 정도 감소한 것으로 토종다래의 에틸아세테이트 분획물은 TMT로 인한 뇌 조직의 지질과산화를 감소시키는 효과를 가지고 있는 것으로 확인되었다.

[0068] 실시예 16. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스 뇌 조직 중의 SOD(Superoxide dismutase) 활성 측정

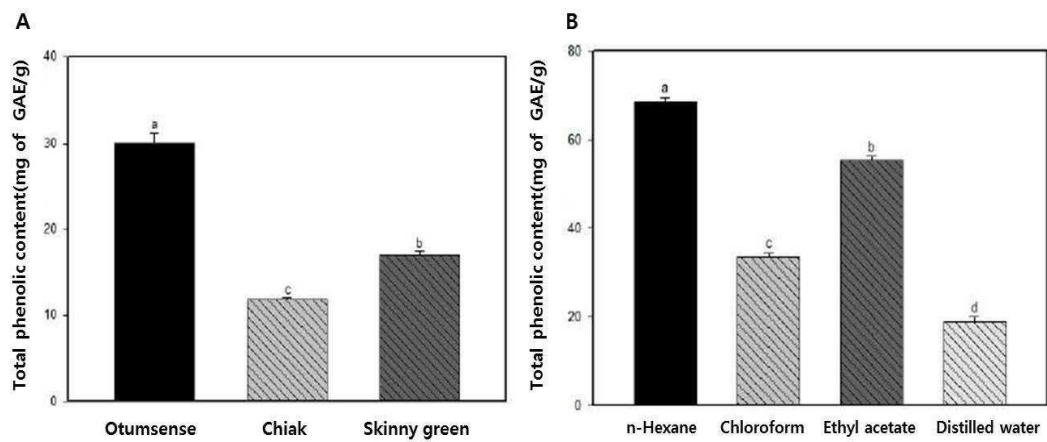
[0069] 항산화 효소 중의 하나인 SOD는 세포에 유해한 환원 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된 과산화수소(H_2O_2)는 페록시다아제(oxidase)나 카탈라아제(catalase)에 의하여 무해한 물 분자와 산소분자로 전환시켜 산소 상해로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져 있다. 또한 SOD는 자유 라디칼을 근본적으로 제거하는 효소이고 다른 종류의 항산화제보다 우수한 효과를 나타내기 때문에 의약품으로서 많은 관심을 일으키고 있으며, 현재 항염증제나 피부노화방지를 위한 미용제제로 화장품 등에 이용되고 있는 실정이다. 실험에 사용한 SOD 분석키트-WST는 기존에 많이 이용되어왔던 잔틴 옥시다아제(xanthine oxidase)의 억제제를 통한 활성 측정법을 이용하면서도 높은 수용성의 테트라졸리움염(tetrazolium salt)과 WST-1(2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt)를 사용한다. WST-1은 슈퍼옥사이드음이온(superoxide anion)과 반응하여 수용성의 포르마잔 염료(formazan dye)를 생성하는 반면, WST-1은 잔틴 옥시다아제(xanthine oxidase)의 환원형과도 반응하지 않을 뿐만 아니라 시토크롬 C(cytochrome C)와 비교했을 때 슈퍼옥사이드음이온(superoxide anion)과의 반응성이 70배나 낮아서 SOD의 농도가 낮은 샘플에서도 높은 감도를 보인다. 도 16의 결과에서, 아무것도 처리하지 않은 대조구 그룹(control group)은 1.10 U/mg 단백질이었으며, TMT 그룹은 이보다 감소한 0.97 U/mg 단백질로 나타났다. 토종다래의 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 그룹 5, 10 및 20(mg/kg of body weight)에서의 SOD 함량은 각각 1.07, 1.32 및 1.72 U/mg 단백질로 나타났으며 특히, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹의 경우에 TMT 그룹의 약 2배의 SOD 활성이 증가된 것을 확인할 수 있었다.

[0070] 실시예 17. 토종다래 추출물로부터 얻은 에틸아세테이트 분획물을 섭취한 마우스 뇌 조직 중의 GSH(Glutathione) 산화 저해 활성 측정

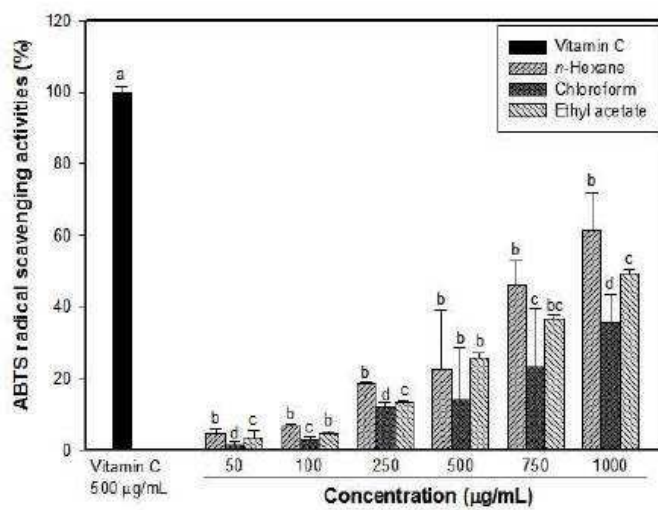
[0071] 뇌 조직의 글루타치온(glutathione)은 산화적 세포손상에 대한 방어 작용을 나타내는 효소인 GSH-퍼옥시다아제(oxidase)와 GST의 기질로 사용되는 물질로 활성산소, 과산화지질 그리고 친전자성 물질들이 세포내에서 최종적으로 무독화되는 과정에 관여하며 세포내 지질과산화물질과 이물질의 제거, 아미노산 수송 및 저장, 간 해독 등 다양한 기능을 수행한다. 도 17에서 아무것도 처리하지 않은 대조구 그룹(control group)의 경우, 총 글루타치온(glutathione)에서 산화된 글루타치온의 양이 10.22%인 것에 비해 TMT 그룹의 경우 18.38%를 나타내어 대조구 그룹(control group)에 비해 산화된 글루타치온의 비율이 증가된 것으로 나타났으며, 토종다래의 에틸아세테이트 분획물 5, 10 및 20(mg/kg of body weight)을 섭취한 그룹은 각각 10.93%, 9.97% 및 8.20%로 글루타치온의 산화 억제 효과가 뛰어난 것으로 나타났다.

도면

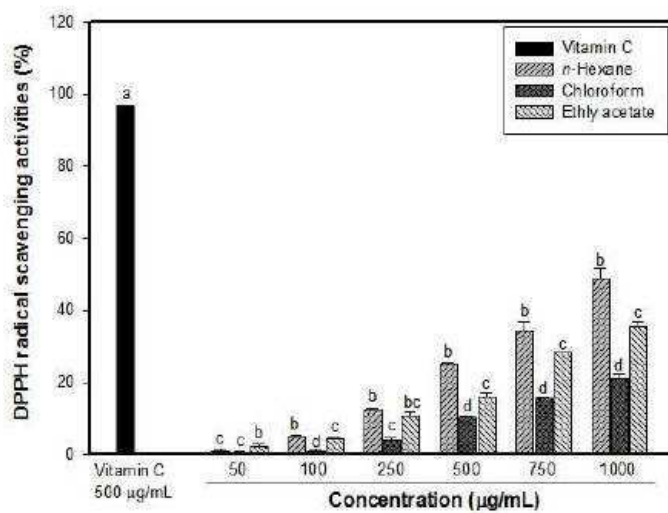
도면1



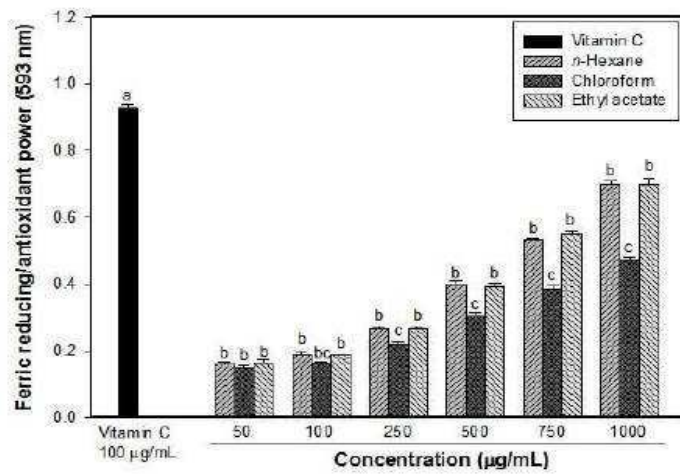
도면2



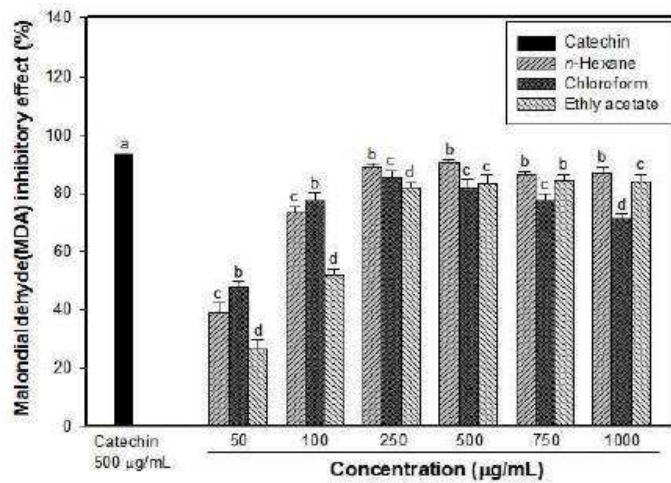
도면3



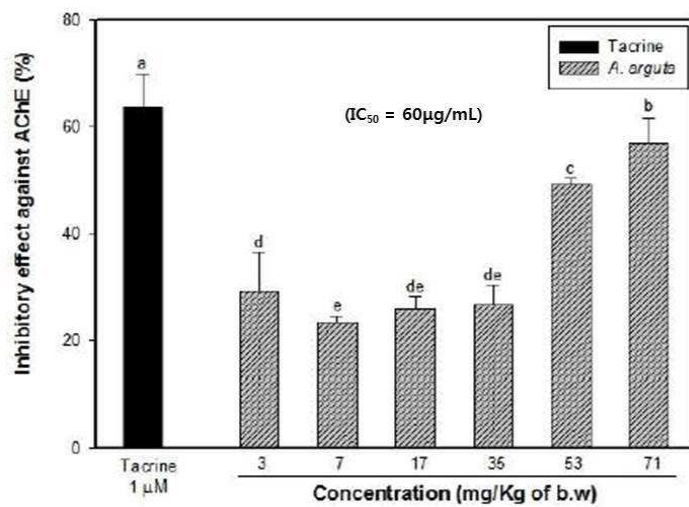
도면4



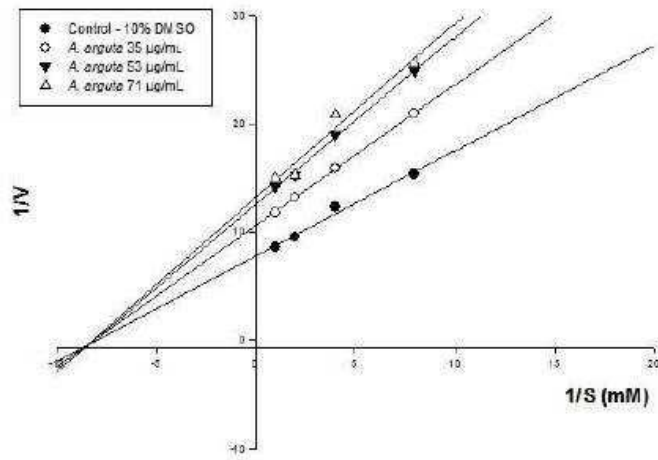
도면5



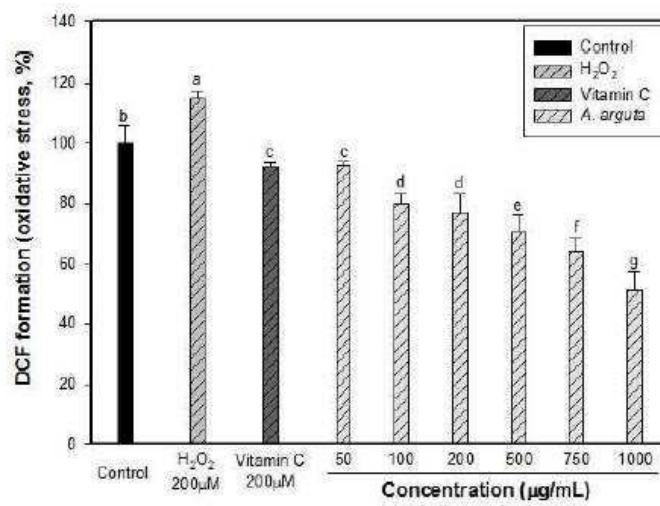
도면6



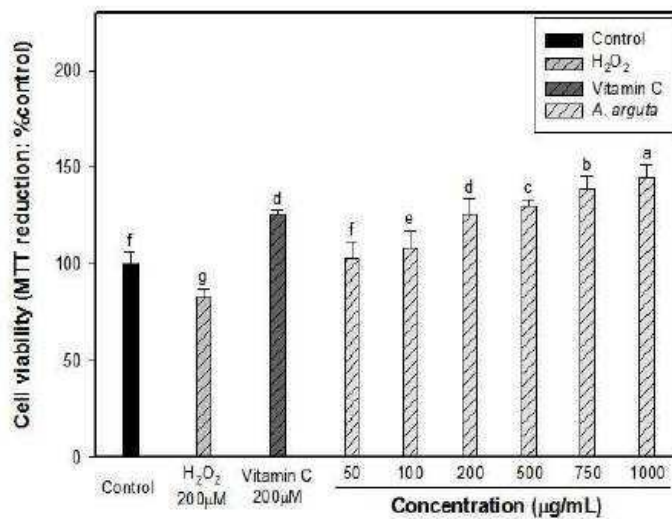
도면7



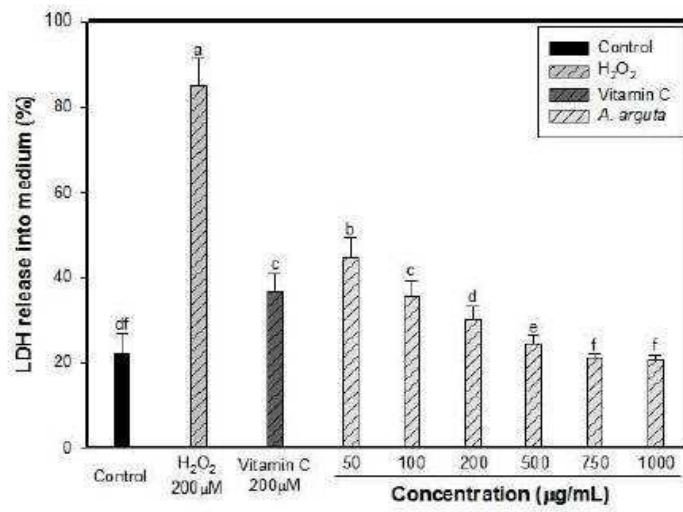
도면8



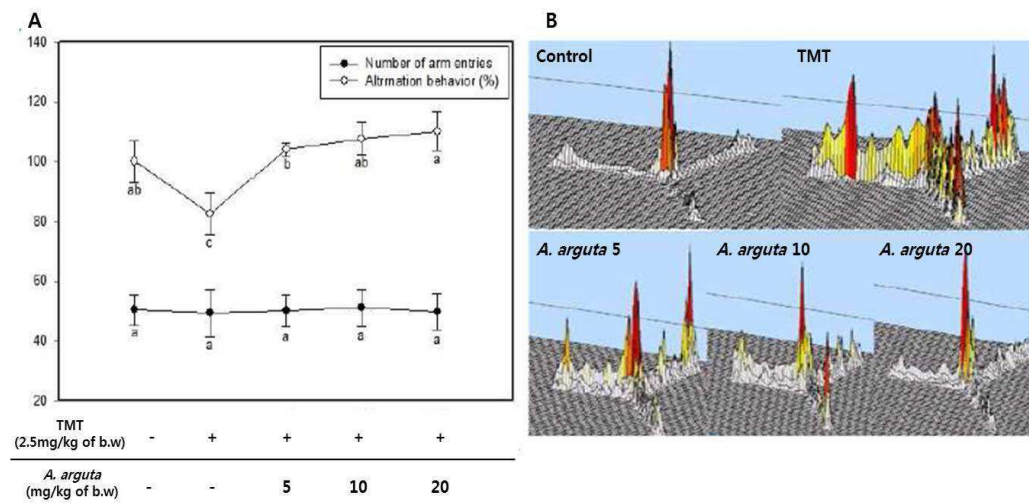
도면9



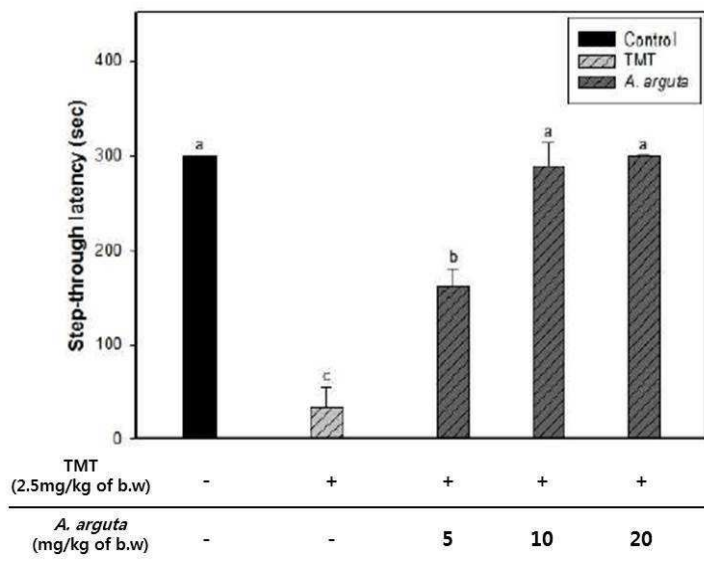
도면10



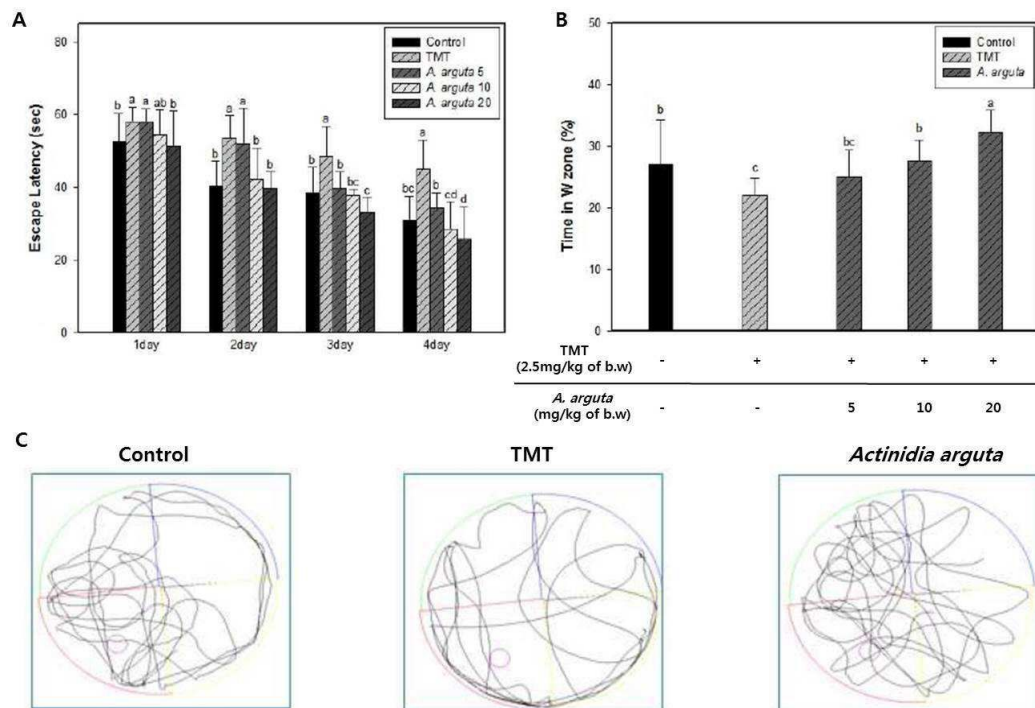
도면11



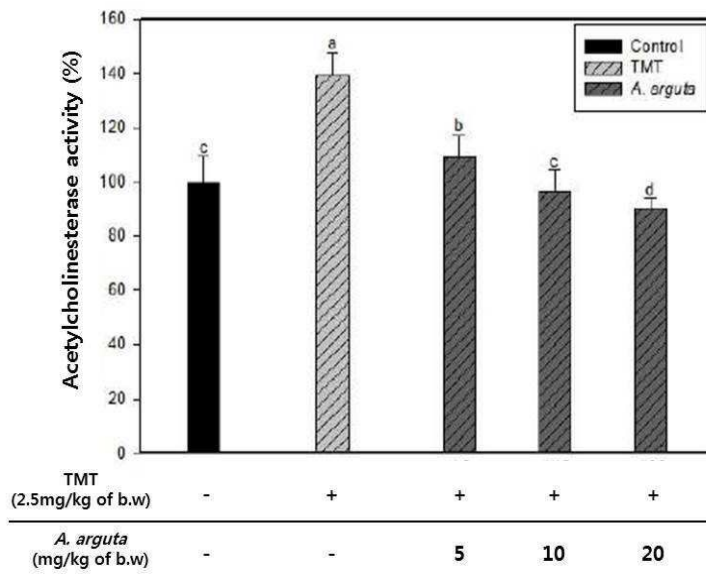
도면12



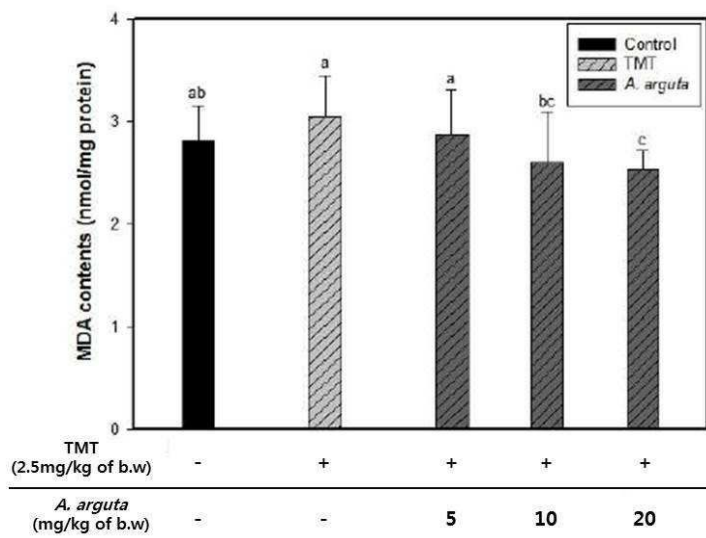
도면13



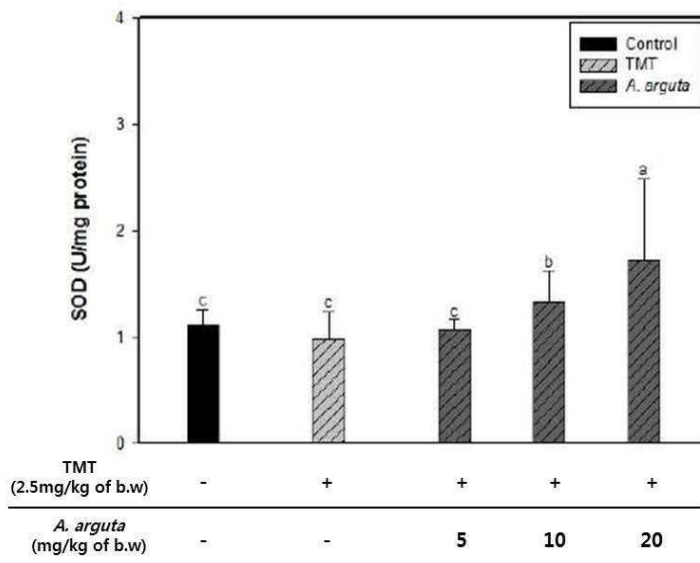
도면14



도면15



도면16



도면17

