



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0049274

(43) 공개일자 2015년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/899 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0129583

(22) 출원일자 2013년10월29일

심사청구일자 2014년09월17일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

김명옥

경상남도 진주시 가호로44번길 7 대동아파트 102동 303호

류수노

서울 종로구 대학로 86, (동숭동, 한국방송통신대학)

(74) 대리인

이원희

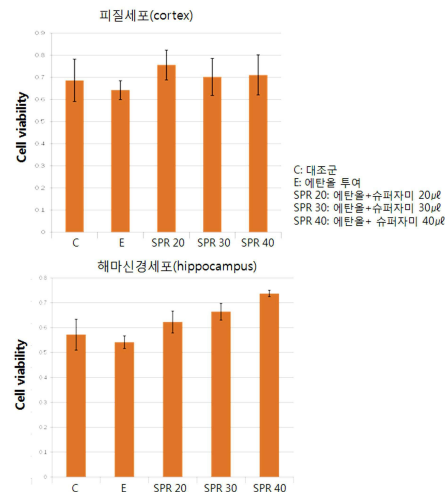
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 슈퍼자미(super purple rice), 큰눈자미(keunnunjamibyeo) 및 홍미(red rice) 추출물이 항산화 폴리페놀 성분인 안토시아닌 및 GABA 함량이 높고, 퇴행 유발된 세포 및 동물모델에서 신경세포의 보호 및 분화를 촉진하고, 신경세포사멸을 유의적으로 억제하는 효과를 나타냄을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물은 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도5



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012-0009521

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 미래유망 융합기술 파이오니어사업

연구과제명 치매(뇌기능항진 조절) 치료 천연신물질 소재개발-나노담체 적합형 약물 기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교

연구기간 2012.09.01 ~ 2018.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 쌀은 슈퍼자미(super purple rice), 큰눈자미(keunnunjamibyeo) 및 홍미(red rice)로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

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

청구항 4

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

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 신경세포 사멸을 억제하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 쌀은 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물.

청구항 8

제 6항에 있어서, 상기 조성물은 신경세포 사멸을 억제하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물, 및 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 쌀은 주로 아시아 국가의 주요 식량자원 중의 하나로서 영양적으로 에너지 공급원으로서 인식되어 왔다. 그러나 최근 쌀의 생리적 효능이 규명되면서, 기능성 쌀 개발에 대한 연구가 활발해지고 있다. 특히 만성질환자가 많은 서구에서는 쌀에 대한 관심이 높아지고 있으며, 미국 암 연구소(NCI)의 Designer Food Program에서는 암 예방 식품 소재 40가지 안에 현미가 선정되기도 하였다(U.S. National Cancer Institute, 1991). 그리고 최근에는 기능성 소재에 대한 관심이 급증하면서 기능성이 부여된 특수미에 대한 관심이 높아지고 있다(Kim et al., 2011). 특수미 중 유색미는 품종이 개량된 고기능성 쌀로서 독특한 향미와 각종 무기질, 비타민 불포화지방산 및 단백질 등이 함유되어 있어 항암, 항산화 작용과 면역기능을 강화시켜 노화 방지, 특정 질병 예방 등 건강기능성 소재로서의 이용치가 높다(Seo et al., 2008). 유색미의 색소는 적갈색에서 흑자색이 이르는 다양한 안토시아닌 색소이다. 특히, 쌀에 존재하는 안토시아닌은 시아니딘-3-글루코시드(Cyanindin-3-Glucoside) 및 페오니딘-3-글루코시드(Peonidin-3-Glucoside) 등이 많이 보고되고 있다. 유색미의 색소분획은 높은 항산화 활성과 항암 활성, 그리고 염증 발생에 대한 억제 활성 등이 보고되고 있다(Stoclet et al., 2004).

[0003] 한편, 생명과학 및 의학의 급속한 발전으로 인간의 평균 수명이 늘어나며, 장노년 인구의 비중이 점차 늘어남에 따라 새로운 사회적 문제들이 부각되고 있다. 특히 노인성 신경계 질환들, 특히, 뇌졸중 (stroke), 알츠하이머 병(Alzheimer's disease, AD), 파킨슨병 (Parkinson's disease, PD)은 치명적인 신경계의 기능장애로 나타나는 데, 이를 막을 수 있는 효과적인 방법이 없는 현 실정에서는 삶의 질저하 및 막대한 의료비의 지출 등으로 주변 가족에게 상당한 정신적인 부담을 주고 있다.

[0004] 알츠하이머 병의 경우 60세 이상의 노인 중 2%에서 나타나고 있으며 이로 인해 미개발 국가로의 의료기술이 확산되고 있으나 노년인구의 증가로 2025년에는 약 2003 만명의 환자가 발생할 것으로 예상되고 있다(<http://www.alz.co.uk/>). 뇌졸중의 경우 2025 년에 약 1500 만명의 환자가 발생할 것으로 추정된다. 미국의 경우 1997년에 400 만명의 AD 환자와 300 만명의 뇌졸중 환자가 보고되어 약 \$1,300억이 소요되었는데, 이를 토대로 추정해 보면 상기 두 질환으로 인한 의료경비는 2003년에 약 \$4,000억 (520조원)이 필요하다. 국내에서도 장노년층에서 발생하는 뇌질환이 사망의 주 원인이 되는데, 국가 경제 및 의학의 발전과 함께 더욱 심각한 경제 적 문제로 대두될 것은 명확하다.

[0005] 뇌신경 질환인 알츠하이머 질환(Alzheimer's Disease: 이하 "AD"라 칭함)은 점진적인 신경세포의 퇴화로 인해 인지능력 상실을 가져오는 치매의 50에서 70%를 차지하는 가장 일반적인 질병이다. AD는 뇌에 존재하는 판단, 기억, 언어기능을 담당하는 부분에 손상이 생겨서 기억력이 없어지고, 의식의 불분명해지며, 사고력, 계산력, 판단력, 상식 등의 대뇌기능이 장애를 나타내기 때문에 직업 및 일상 사회생활을 하기 어려워지게 된다.

[0006] AD로 사망한 환자의 두뇌에서는 노인성 플라그(senile plaque)와 신경원섬유의 엉킴(neurofibrillary tangle s)이 병리학적 특성으로 나타난다. 노인성 플라그는 세포 외부에 단백질과 죽은 세포 등이 축적되어 형성되는 것으로, 주 구성 성분은 β -아밀로이드(β -amyloid)라는 펩티드이다. 그리고 응집체의 주요 구성 요소는 타우 (Tau)라 부르는 단백질의 한 형태이다. 타우 단백질은 중추신경계에서 서로 붙어서 신경세포의 내부구조를 단 단하게 하는 구조물 역할을 한다. 하지만, 치매 환자의 뇌에서는 이런 타우 단백질이 화학적으로 변성을 일으 키고 마치 실타래기에 얽히듯이 서로 얽혀서 제 역할을 못하게 된다. 이로 인해 타우 단백질은 서로 떨어져 신 경세포 사이의 연결을 떨어뜨리게 되고 결국 신경세포는 죽게 된다.

[0007] 현재까지 AD에 관한 연구는, 주로 β -아밀로이드 생성 억제제 또는 항산화제 같은 신경세포 독성 저해제들을 이 용한 AD 예방 및 치료제가 개발되었다. 현재 니코틴 수용체 작용제(Nicotin receptor agonist)인 ABT-418; 무 스카린 수용체 작용제(Muscarin receptor agonist)인 자노멜린(Xanomeline), YM-976; 아세틸콜린 전구체인 레 시틴(Lecithin), 아세틸-L-카니틴(Acetyl-L-carnitine); 금속 킬레이터(Metal chelator)인 데스페리옥사민 (Desferrioxamine), 리오퀴놀(Lioquinol); 베타-시트 차단제(Beta-sheet breaker)인 iA β 5, iA β 11; 항산화제 (Antioxidant)인 비타민 E(Vitamine E), 은행잎추출물(Ginkgo Biloba), 멜라토닌(Melatonin), 아이디비논

(Idebenone); sAPP 방출제(releasing agent)인 니코틴(Nicotine), 아세틸콜린(Acetylcholine), 카바콜(Cabachol); β 세크레타제 또는 γ 세크레타제 억제제(inhibitor)인 OM99-1, OM99-2, OM99-3, Z-VLL-CHO; 항염증제(Anti inflammatory agent)인 NSAID(Ibuprofen, Indomethacine); 호르몬(Horemone)인 에스트로겐(Estrogen); 백신인 AN-1792; 콜레스테롤(Cholesterol) 저하제인 심바스타틴(Simvastatin), 아트로바스타틴(Atrovastatin) 등이 개발되고 있으나, 아직 효과가 약간의 병리적 증상을 완화 또는 진행 정도를 늦추는 정도로만 있거나, 자체의 독성 때문에 실제 적용이 어려운 물질이 대부분이어서 안정적인 AD 치료제의 개발이 시급한 실정이다.

[0008]

이에 본 발명자들은 안정적인 AD 치료 물질을 찾기 위해 노력한 결과, 슈퍼자미(super purple rice), 큰눈자미(keunnunjamibyeo) 및 홍미(red rice) 추출물이 항산화 폴리페놀인 안토시아닌 및 GABA 함량이 높고, 퇴행 유발된 세포 및 동물모델에서 신경세포의 보호 및 분화를 촉진하고, 신경세포사멸을 유의적으로 억제하는 효과를 나타냄을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료에 유용하게 이용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009]

본 발명의 목적은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0010]

본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0011]

또한, 본 발명은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0012]

본 발명은 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 슈퍼자미(super purple rice), 큰눈자미(keunnunjamibyeo) 및 홍미(red rice) 추출물이 항산화 폴리페놀인 안토시아닌 및 GABA 함량이 높고, 퇴행 유발된 세포 및 동물모델에서 신경세포의 보호 및 분화를 촉진하고, 신경세포사멸을 유의적으로 억제하는 효과를 나타내므로, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물은 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013]

도 1은 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물의 GABA 함량을 나타낸 도이다.

도 2는 퇴행된 사람 신경세포에서 항산화 폴리페놀 고함유 쌀인 슈퍼자미(super purple rice), 큰눈자미(keunnunjamibyeo) 및 홍미(red rice) 추출물의 신경보호 효과를 나타낸 도이다:

C: 대조군;

E: 에탄올을 처리한 신경세포군;

E + 20 μ l: 에탄올을 포함한 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 20 μ l를 처리한 신경세포군;

E + 30 μ l: 에탄올을 포함한 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 30 μ l를 처리한 신경세포군; 및

E + 40 μ l: 에탄올을 포함한 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 40 μ l를 처리한 신경세포군.

도 3은 퇴행된 사람 신경세포에서 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물의 신경세포사멸 억제 효과를 나타낸 도이다:

- 1: 대조군;
- 2: 에탄올을 처리한 신경세포군;
- 3: 에탄올을 포함한 큰눈자미 추출물을 처리한 신경세포군;
- 4: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 추출물을 처리한 신경세포군; 및
- 5: 에탄올을 포함한 홍미 추출물을 처리한 신경세포군.

도 4는 퇴행된 사람 신경세포에서 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물의 혼합물의 신경세포사멸 억제 효과를 나타낸 도이다:

- 1: 대조군;
- 2: 에탄올을 처리한 신경세포군;
- 3: 에탄올을 포함한 큰눈자미 및 슈퍼자미 추출물의 혼합물을 처리한 신경세포군;
- 4: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 및 홍미 추출물의 혼합물을 처리한 신경세포군; 및
- 5: 에탄올을 포함한 홍미 및 큰눈자미 추출물의 혼합물을 처리한 신경세포군.

도 5는 태아 랫트의 피질세포(cortex) 및 해마 신경세포(hippocampus)에서 슈퍼자미 추출물의 신경 보호 효과를 나타낸 도이다:

C: 대조군;

E: 에탄올을 처리한 세포군;

SPR 20: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 추출물 20 μ l를 처리한 세포군;

SPR 30: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 추출물 30 μ l를 처리한 세포군; 및

SPR 40: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 추출물 40 μ l를 처리한 세포군.

도 6은 태아 랫트의 피질세포에서 슈퍼자미 추출물의 세포사멸 억제 효과를 나타낸 도이다:

- 1: 대조군;
- 2: 에탄올을 처리한 태아 랫트의 피질세포군;
- 3: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 400 μ l를 처리한 피질세포군;
- 4: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 600 μ l를 처리한 피질세포군; 및
- 5: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 800 μ l를 처리한 피질세포군.

도 7은 태아 랫트의 해마 신경세포에서 슈퍼자미 추출물의 세포사멸 억제 효과를 나타낸 도이다:

- 1: 대조군;
- 2: 에탄올을 처리한 태아 랫트의 해마 신경세포군;
- 3: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 400 μ l를 처리한 태아 랫트의 해마 신경세포군;
- 4: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 600 μ l를 처리한 태아 랫트의 해마 신경세포군; 및
- 5: 에탄올을 포함한 슈퍼자미 800 μ l를 처리한 태아 랫트의 해마 신경세포군.

도 8은 퇴행성 뇌질환 랫트에서 슈퍼자미 및 큰눈자미 추출물에 의한 세포사멸 관련 단백질 발현 억제 효과를 나타낸 도이다:

C: 대조군;

E: 에탄올을 투여한 군;

Su1: 슈퍼자미 1:1 군;

Su2: 슈퍼자미 1:5 군;

Bi1: 큰눈자미 1:1 군; 및

Bi2: 큰눈자미 1:5 군.

도 9는 치매유발 랫트에서 슈퍼자미 추출물에 의한 세포사멸 억제 효과를 나타낸 도이다:

대조군: 정상 랫트군;

β -아밀로이드(β -amyloid): 치매유발 랫트군; 및

β -아밀로이드+슈퍼자미 추출물: 슈퍼자미 추출물 투여한 치매유발 랫트군.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

상기 쌀은 슈퍼자미(super purple rice), 큰눈자미(keunnunjamibyeo) 및 홍미(red rice)로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

본 발명의 유효성분인 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다:

1) 항산화 폴리페놀 고함유 쌀에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계;

3) 단계 2)의 여과물을 감압 농축하는 단계; 및

4) 단계 3)의 농축물을 건조하는 단계.

본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 1)의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀은 재배한 것 또는 시판되는 것을 제한없이 사용할 수 있다. 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀은 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올로는 C_1 내지 C_2 의 저급 알코올 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 상기 추출용매를 건조된 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 분량의 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 2 내지 3배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출 온도는 20℃ 내지 100℃인 것이 바람직하며, 20℃ 내지 50℃인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 또한 추출시간은 1 내지 48시간이 바람직하며, 2 내지 10시간이 더욱 바람직하고, 2 내지 5시간이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 3)의 감압농축은 진공 감압 농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

상기 퇴행성 뇌질환은 치매, 알츠하이머, 뇌졸중, 중풍, 헌팅턴병, 피크병 및 크로이츠펔트-야콥병으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

- [0026] 상기 조성물은 신경세포 사멸을 억제하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0027] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미에서 각각 슈퍼자미 에탄올 추출물, 큰눈자미 에탄올 추출물 및 홍미 에탄올 추출물을 제조하고 HPLC 분석을 수행한 결과, 상기 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물에서 항산화 폴리페놀 성분인 안토시아닌 및 GABA 함량이 높음을 확인하였다(도 1 참조).
- [0028] 또한, 본 발명자들은 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경세포 독성에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 에탄올을 처리한 퇴행된 사람 HT22 세포주에 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 처리하고 MTT 분석을 수행한 결과, 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 처리한 세포군의 세포 생존 능력이 증가하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물이 에탄올성 중독 및 신경퇴행을 억제하여 신경세포 보호 및 분화를 촉진함을 확인하였다(도 2 참조).
- [0029] 또한, 본 발명자들은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경세포사멸에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 에탄올을 처리한 퇴행된 사람 HT22 세포주에 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 단독 처리, 또는 큰눈자미 및 슈퍼자미, 슈퍼자미 및 홍미, 및 홍미 및 큰눈자미를 동시 처리하고 annexin-V/PI 염색법을 수행한 결과, 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물 단독 처리 세포군, 및 큰눈자미 및 슈퍼자미, 슈퍼자미 및 홍미 동시 처리 세포군에서 세포 사멸이 현저하게 감소하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경 퇴행으로부터 신경세포 보호 및 세포사멸 억제 효과가 있음을 확인하였다(도 3 및 도 4 참조).
- [0030] 또한, 본 발명자들은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 퇴행성 뇌질환 랫트의 신경세포에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 에탄올을 투여한 임신한 랫트의 태아 뇌 피질세포(cortex) 및 해마세포(hippocampus)에 슈퍼자미 추출물을 처리하고 MTT 분석 및 annexin-V/PI 염색법을 수행한 결과, 슈퍼자미 추출물 처리한 태아 뇌 피질 세포군 및 해마세포군의 생존 능력이 증가하고, 세포사멸이 감소하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경세포 파괴 및 신경세포사멸을 억제함을 확인하였다(도 5 내지 도 7 참조).
- [0031] 또한, 본 발명자들은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 퇴행성 뇌질환 랫트에서 신경세포사멸 관련 단백질 발현에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 퇴행성 뇌질환 랫트에 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 경구투여 후, 뇌 조직 용해물을 수득하여 웨스턴 블롯팅(western blotting)을 수행한 결과, 슈퍼자미 및 큰눈자미 투여 퇴행성 뇌질환 랫트군에서 Bax 및 Cyt-C 단백질 발현 감소, 및 Bcl-2 단백질 발현 증가를 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 신경세포의 사멸을 억제하여 신경퇴행을 완화함을 확인하였다(도 8 참조).
- [0032] 또한, 본 발명자들은 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 치매유발 랫트의 신경세포사멸에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 치매유발 랫트에 슈퍼자미 추출물을 경구투여 후, 뇌의 해마를 이용해 해마톡실린-에오진(H&E) 염색을 수행한 결과, 슈퍼자미 추출물을 투여한 치매유발 랫트 뇌의 해마에서 신경세포사멸이 억제되는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 치매 진행을 완화함을 확인하였다(도 9 참조).
- [0033] 따라서, 본 발명의 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물은 항산화 폴리페놀 성분인 안토시아닌 및 GABA 함량이 높고, 퇴행 유발된 세포 및 동물모델에서 신경세포의 보호 및 분화를 촉진하고, 신경세포사멸을 유의적으로 억제하는 효과를 나타내므로, 퇴행성 뇌질환 예방 및 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.
- [0034] 상기 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0035] 상기 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 상기 본 발명의 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 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, 메틸

셀룰로즈, 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 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 혼합생약재에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 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(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0037] 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 상기 조성물은 1일 0.0001 내지 1 g/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 200 mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0038] 또한, 본 발명은 향산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0039] 상기 쌀은 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0040] 상기 조성물은 신경세포 사멸을 억제하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0041] 본 발명의 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물은 향산화 폴리페놀 성분인 안토시아닌 및 GABA 함량이 높고, 퇴행 유발된 세포 및 동물모델에서 신경세포의 보호 및 분화를 촉진하고, 신경세포사멸을 유의적으로 억제하는 효과를 나타내므로, 퇴행성 뇌질환 예방 및 개선용 건강식품 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

[0042] 본 발명의 건강식품은 상기 향산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0043] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 비스킷, 떡, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0044] 본 발명에 따른 향산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 중의 상기 향산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량으로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0045] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 향산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0046] 상기 외에 본 발명의 식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0047] 이하, 본 발명을 실시예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.

[0048] 단, 하기 실시예 및 제조예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 제조예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0049] <실시예 1> 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물 제조

[0050] <1-1> 쌀 추출물 제조

[0051] 슈퍼자미(super purple rice)(국립종자원 등록번호 제 01-0001-270호), 큰눈자미(keunnunjamibyeo)(국립종자원 등록번호 제 01-0001-268호) 및 홍미(red rice)를 건조 후 곱게 마쇄하였다. 2.4 kg의 상기 쌀 조말을 80% 에탄올(DUKSAN, Korea) 60 ℓ로 20 분 동안 초음파처리(sonication)하여 2회 추출한 후 감압 농축하여 각각 슈퍼자미 에탄올 추출물, 큰눈자미 에탄올 추출물 및 홍미 에탄올 추출물을 제조하였다.

[0052] <1-2> HPLC를 이용한 쌀 추출물 성분 확인

[0053] 상기 실시예 <1-1>에서 제조한 쌀 추출물의 성분을 확인하기 위하여, HPLC 분석을 수행하여 안토시아닌 및 GABA의 함량을 정량하였다.

[0054] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 일반 흰쌀에 비해 슈퍼자미 및 홍미에서 기능성 물질인 안토시아닌 및 GABA 함량이 현저히 높은 것을 확인하였다(도 1).

[0055] <실시예 2> 실험동물 준비

[0056] <2-1> 퇴행성 뇌질환 랫트의 제조

[0057] 수컷(n=40) 스프래그-돌리(Sprague-Dawley) 랫트(350 내지 380 g 몸무게, 경상대, 신경생물학 실험실)는 온도-통제 환경 6 시에서부터 20 시까지 사료와 함께 광선하에 적응시켰다. 상기 랫트는 10% 에탄올(처리군, n=30) 또는 식염수(대조군, n=10)를 구강으로 8 주 동안 투여하여 퇴행성 뇌질환 랫트를 제작하였다.

[0058] <2-2> 치매동물모델의 제조

[0059] 수컷(n=40) 스프래그-돌리(Sprague-Dawley) 랫트(350 내지 380 g 몸무게, 경상대, 신경생물학 실험실)는 온도-통제 환경 6 시에서부터 20 시까지 사료와 함께 광선하에 적응시켰다. 상기 랫트는 β -아밀로이드(β -amyloid) 또는 식염수(대조군, n=10)를 주입하여 치매유발 랫트를 제작하였다.

[0060] <2-3> 임신한 17.5일에 태아 랫트의 뇌로부터 피질(cortex) 세포 및 해마(hippocampus) 신경세포 분리 및 배양

[0061] 암컷(n=40) 스프래그-돌리(Sprague-Dawley) 랫트(350 내지 380 g 몸무게, 경상대, 신경생물학 실험실)는 온도-통제 환경 6시에서부터 20 시까지 사료와 함께 광선하에 적응시켰다. 임신한 랫트는 10% 에탄올(처리군, n=30) 또는 식염수(대조군, n=10)를 구강으로 섭취하였다. 시간에 맞춰 임신한(임신 0.5일과 같은 수정한 날) 랫트는 임신 17.5일에 희생시키고 태아의 두개골을 해부하여 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)을 포함한 미리 데운(pre-warmed) L-15 배지(Sigma, Saint Louis, USA)로 2 번 세척하고, 상기 두개골에서 뇌를 적

출하였다. 적출한 뇌는 2 번 세척하고 뇌척수막을 벗겨냈다. 해마(hippocampus) 및 피질(cortex)은 분리하여 코니칼 튜브(conical tube)에 옮겨 담고, L-15 배지를 첨가한 후, 파이펫(pipette)을 이용해 분쇄하였다. 상기 분쇄된 피질은 1200 rpm, 3 분 동안 원심분리한 후, 세포가 포함되어 있는 상층액은 새로운 코니칼 튜브에 옮겨 담고, 덩어리(pellet)는 새로운 L-15 배지를 첨가하여 상기 과정을 2 번 반복하였다. 최종 상층액을 1400 rpm, 5 분 동안 원심분리하여 덩어리를 획득하고, 획득한 덩어리는 10% 우태혈청(fetal bovine serum, FBS), 1 mM L-글루타민(L-glutamine), 1 mM 피루브산나트륨(sodium pyruvate), 및 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)을 포함한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM) 배지를 혼합하여 세포배양 디쉬(dish)로 옮겨 해마 신경세포 및 피질세포를 배양하여 분리하였다.

[0062] <실시예 3> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 신경세포에 미치는 영향

[0063] <3-1> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 처리한 신경세포에서 신경보호 효과 확인

[0064] 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경세포 독성에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 퇴행된 사람 HT22 세포주를 이용하여 MTT 분석을 수행하였다.

[0065] 구체적으로, 96 웰 플레이트에 10^5 세포/100 μ l의 퇴행된 사람 HT22 세포로 배양하고 100 mM 에탄올을 24 시간 전 처리한 후, 상기 실시예 <1-1>에 기재된 방법으로 획득한 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 농도별로 하루 동안 처리하였다. 이후, 웰에 15 μ l의 염색용액(dye solution, 3-[4,5-dimethyl thiazol-2yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide: MTT)을 첨가하여 37°C, CO₂ 배양기에서 4시간 동안 배양하였다. 반응을 정지시키기 위하여 100 μ l씩의 정지용액(stop solution)을 각 웰에 첨가하고 다시 1시간 동안 37°C에 방치한 후 상기 웰 플레이트를 ELISA 판독기(reader)에 옮겨 570 nm에서 OD 값을 측정하였다.

[0066] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 처리한 세포군은 에탄올만 처리한 세포군에 비해 세포 생존능이 현저하게 증가하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올성 중독 및 신경퇴행을 억제하여 신경세포 보호 및 분화를 촉진함을 확인하였다(도 2).

[0067] <3-2> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 처리한 신경세포에서 세포사멸 억제 효과 확인

[0068] 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경세포사멸에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 퇴행된 사람 HT22 세포주를 이용하여 annexin-V/PI 염색법을 수행하였다.

[0069] 구체적으로, 상기 실시예 <3-1>과 같이 HT22 세포주에 100 mM 에탄올을 전 처리한 후, 상기 실시예 <1-1>에 기재된 방법으로 획득한 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 처리하고 annexin-V/PI 염색법을 수행하였다(도 3). 또한, 상기와 같이 에탄올을 전 처리한 후, 큰눈자미 및 슈퍼자미, 슈퍼자미 및 홍미, 및 홍미 및 큰눈자미를 동시에 처리하고 annexin-V/PI 염색법을 수행하였다(도 4). 상기 염색법은 이론상으로 세포가 죽을 때 세포막에 존재하고 있는 phosphatidic serin(PS)이 외부로 뒤집어져 돌출되는 것을 이용하여 PS과 annexin-V가 결합되는 것을 이용한 방법이다. PI의 경우에는 핵에 결합되는 물질인데 세포가 심하게 죽으면 세포막에 구멍이 생기고 핵이 외부에 노출되어 PI가 결합하게 되는 것이다. annexin-V/PI는 세포의 사멸상태를 상세하게 확인할 수 있다.

[0070] 그 결과, 도 3 및 도 4에 나타난 바와 같이, 에탄올을 처리한 세포군의 세포사멸이 증가하는 반면, 슈퍼자미, 큰눈자미 및 홍미 추출물을 단독 처리한 세포군, 큰눈자미 및 슈퍼자미를 동시에 처리한 세포군 및 슈퍼자미 및 홍미를 동시에 처리한 세포군의 세포사멸이 현저하게 감소하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 및 쌀 추출물의 혼합물이 에탄올에 의한 신경세포사멸을 억제함을 확인하였다(도 3 및 도 4). 따라서 상기 <실시예 3>의 결과들을 통해 상기 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경 퇴행으로부터 신경세포를 보호하고 신경세포의 사멸을 억제함을 확인하였다.

[0071] <실시예 4> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 퇴행성 뇌질환 랫트에 미치는 영향

[0072] <4-1> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 처리한 퇴행성 뇌질환 랫트에서 신경보호 효과 확인

[0073] 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 퇴행성 뇌질환 랫트의 신경세포에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 에탄올

을 투여한 임신한 랫트의 태아 뇌세포를 이용하여 MTT 분석을 수행하였다.

[0074] 구체적으로, 상기 실시예 <2-3>에 기재된 방법으로 획득한 태아 피질세포 및 해마 신경세포에 상기 실시예 <3-1>과 같이 슈퍼자미 추출물을 농도별로 하루 동안 처리하고 MTT 분석을 수행하였다.

[0075] 그 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이, 슈퍼자미 추출물을 처리한 피질세포군 및 해마 신경세포군 모두 에탄올만 처리한 세포군에 비해 세포 생존능이 현저하게 증가하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올에 의한 신경세포 파괴를 완화하는 것을 확인하였다(도 5).

[0076] **<4-2> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 처리한 퇴행성 뇌질환 랫트에서 신경세포사멸 억제 효과 확인**

[0077] 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 퇴행성 뇌질환 랫트의 신경세포사멸에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 에탄올을 투여한 임신한 랫트의 태아 뇌세포를 이용하여 annexin-V/PI 염색법을 수행하였다.

[0078] 구체적으로, 상기 실시예 <4-1>과 같이 태아 피질세포(도 6) 및 해마 신경세포(도 7)에 슈퍼자미 추출물을 농도별로 처리하고, 상기 실시예 <3-2>와 같이 annexin-V/PI 염색법을 수행하였다.

[0079] 그 결과, 도 6 및 도 7에 나타낸 바와 같이, 에탄올을 투여한 임신한 랫트의 태아 피질세포군 및 해마 신경세포군의 세포사멸이 증가하는 반면, 슈퍼자미 추출물을 처리한 피질세포군 및 해마 신경세포군 모두 세포사멸이 현저하게 감소하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 퇴행성 뇌질환에 의한 신경세포사멸을 억제함을 확인하였다(도 6 및 도 7).

[0080] **<4-3> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 처리한 퇴행성 뇌질환 랫트에서 세포사멸 관련 단백질 발현 억제 효과 확인**

[0081] 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 신경세포사멸 관련 단백질 발현에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 퇴행성 뇌질환 모델을 이용하여 웨스턴 블롯팅(western blotting)을 수행하였다.

[0082] 구체적으로, 상기 실시예 <2-1>에 기재된 방법으로 획득한 퇴행성 뇌질환 랫트에 슈퍼자미 1:1 및 1:5 또는 큰눈자미 1:1 및 1:5로 8 주 동안 경구투여한 후, 상기 랫트를 희생시키고 뇌를 적출하여 뇌조직 용해물(lysate)을 수득하였다. 상기 수득한 뇌조직 용해물에 단백질의 농도는 BCA 단백질 분석 키트(Protein Assay Kit)(Pierce, Rockford, IL)를 이용하여 측정하였다. 30 내지 60 μ g의 단백질 시료를 12% SDS-PAGE 겔(gel)을 이용하여 분리한 후, Immobilon-P Transfer Membrane(Millipore Corporation, Billerica, MA)으로 전달시켰다. 5% 탈지분유(skim milk)로 30분간 블라킹(blocking)한 후, 각 인자의 일차 항체를 4℃에서 하루 동안 처리하였다. 상기 막에 붙은 일차 항체(primary antibody)에 HRP가 접합된 이차 항체(HRP-conjugated secondary antibody)를 붙이고, 이를 Immobilon Western Chemiluminescent HRP Substrate(Millipore Corporation)을 이용하여 확인하였다. 일차 항체로 Bax, Bcl-2, Cyt-C 및 β -actin를 사용하였다.

[0083] 그 결과, 도 8에 나타낸 바와 같이, 슈퍼자미를 처리한 군 및 큰눈자미를 투여한 군에서 Bax 및 Cyt-C 단백질의 발현이 감소하고, Bcl-2 단백질의 발현이 증가하는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 신경세포의 사멸을 억제하여 신경 퇴행을 완화함을 확인하였다(도 8). 따라서 상기 <실시예 4>의 결과들을 통해 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 에탄올성 중독 및 신경 퇴행으로부터 신경세포를 보호하고 신경세포의 사멸을 억제함을 확인하였다.

[0084] **<실시예 5> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 투여한 치매유발 랫트에서 세포사멸 억제 효과 확인**

[0085] 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 치매유발 랫트의 신경세포사멸에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 투여한 치매유발 랫트의 뇌 조직을 이용해 헤마톡실린-에오진(H&E) 염색을 수행하였다.

[0086] 구체적으로, 상기 실시예 <2-1>에 기재된 방법으로 제조된 치매유발 랫트에 상기 실시예 <1-1>에 기재된 방법으로 획득한 슈퍼자미 에탄올 추출물을 구강으로 투여한 후, 뇌조직을 적출하였다. 상기 적출한 뇌의 해마를 이용해 헤마톡실린-에오진(H&E) 염색하여 현미경으로 관찰하고 촬영하였다.

[0087] 그 결과, 도 9에 나타낸 바와 같이, 치매유발 랫트 뇌의 해마에 비해 슈퍼자미 추출물을 투여한 치매유발 랫트

뇌의 해마에서 신경세포 사멸이 억제되는 것을 확인함으로써, 상기 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물이 신경세포 사멸을 억제하여 β -아밀로이드 단백질 축적으로 인한 치매 진행을 완화하는 것을 확인하였다(도 9).

하기에 본 발명의 조성물을 위한 제조예를 예시한다.

<제조예 1> 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 약학적 제제의 제조

<1-1> 산제의 제조

본 발명의 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물 2 g
 유당 1 g
 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

<1-2> 정제의 제조

본 발명의 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물 100 mg
 옥수수전분 100 mg
 유 당 100 mg
 스테아린산 마그네슘 2 mg
 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

<1-3> 캡슐제의 제조

본 발명의 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물 100 mg
 옥수수전분 100 mg
 유 당 100 mg
 스테아린산 마그네슘 2 mg
 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

<1-4> 환의 제조

본 발명의 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물 1 g
 유당 1.5 g
 글리세린 1 g
 자일리톨 0.5 g
 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1 환 당 4 g이 되도록 제조하였다.

<1-5> 과립의 제조

본 발명의 항산화 폴리페놀 성분 고함유 쌀 추출물 150 mg
 대두 추출물 50 mg
 포도당 200 mg

- [0116] 전분 600 mg
- [0117] 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 섭씨 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.
- [0118] <제조예 2> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 건강식품의 제조
- [0119] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.
- [0120] <2-1> 밀가루 식품의 제조
- [0121] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물의 0.5 내지 5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하였다.
- [0122] <2-2> 스프 및 육즙(gravies)의 제조
- [0123] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물의 0.1 내지 5.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [0124] <2-3> 그라운드 비프(ground beef)의 제조
- [0125] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물의 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- [0126] <2-4> 유제품(dairy products)의 제조
- [0127] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물의 5 내지 10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0128] <2-5> 선식의 제조
- [0129] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0130] 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0131] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.
- [0132] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 누에 체액을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.
- [0133] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부),
- [0134] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),
- [0135] 본 발명의 누에 체액(3 중량부),
- [0136] 영지(0.5 중량부),
- [0137] 지황(0.5 중량부)
- [0138] <제조예 3> 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물을 유효성분으로 함유하는 건강음료의 제조
- [0139] <3-1> 건강음료의 제조

[0140] 액상과당(0.5%), 올리고당(2%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%)과 같은 부재료와 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 5 g을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 제조하였다.

[0141] <3-2> 야채 주스의 제조

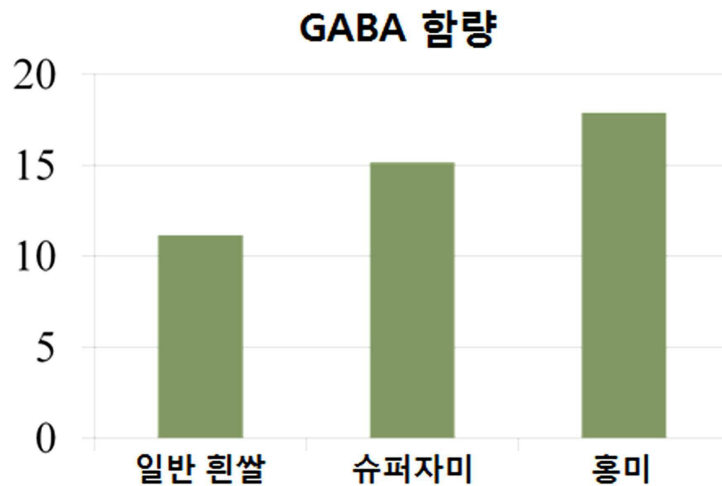
[0142] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 5 g을 토마토 또는 당근 주스 1,000 ml에 가하여 야채 주스를 제조하였다.

[0143] <3-3> 과일 주스의 제조

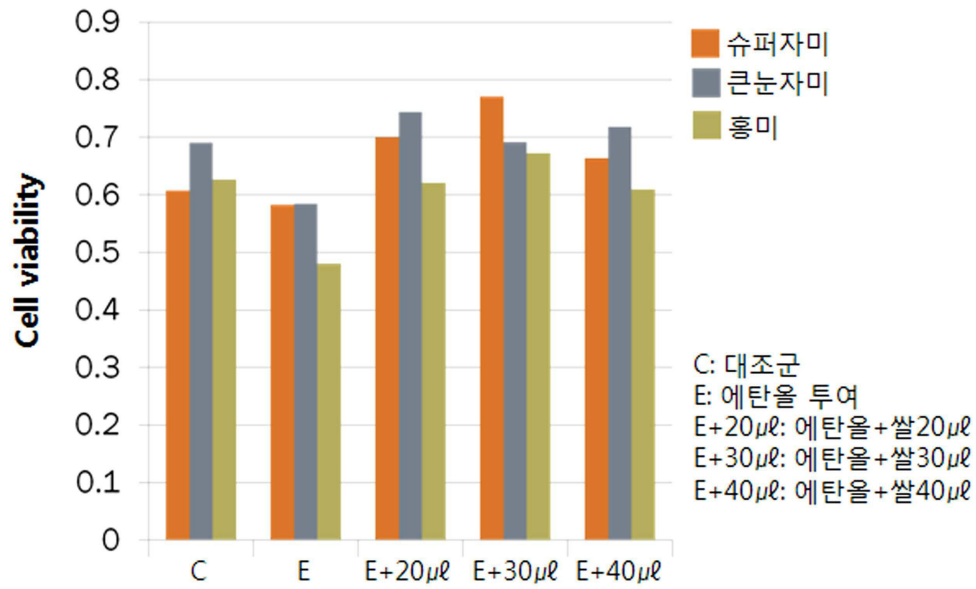
[0144] 본 발명의 항산화 폴리페놀 고함유 쌀 추출물 1 g을 사과 또는 포도 주스 1,000 ml에 가하여 과일 주스를 제조하였다.

도면

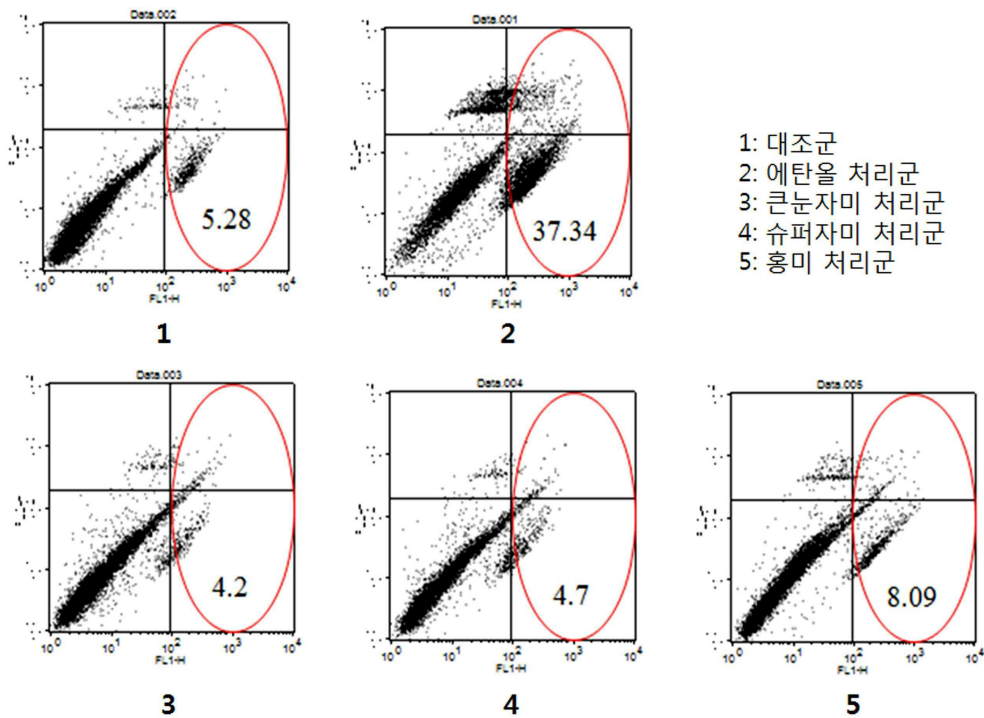
도면1



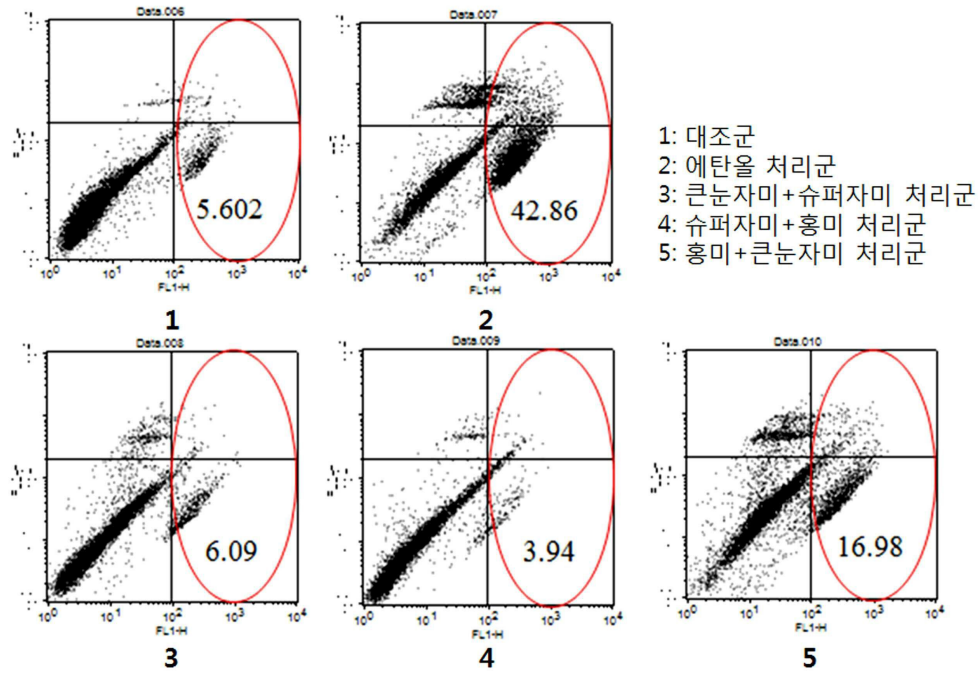
도면2



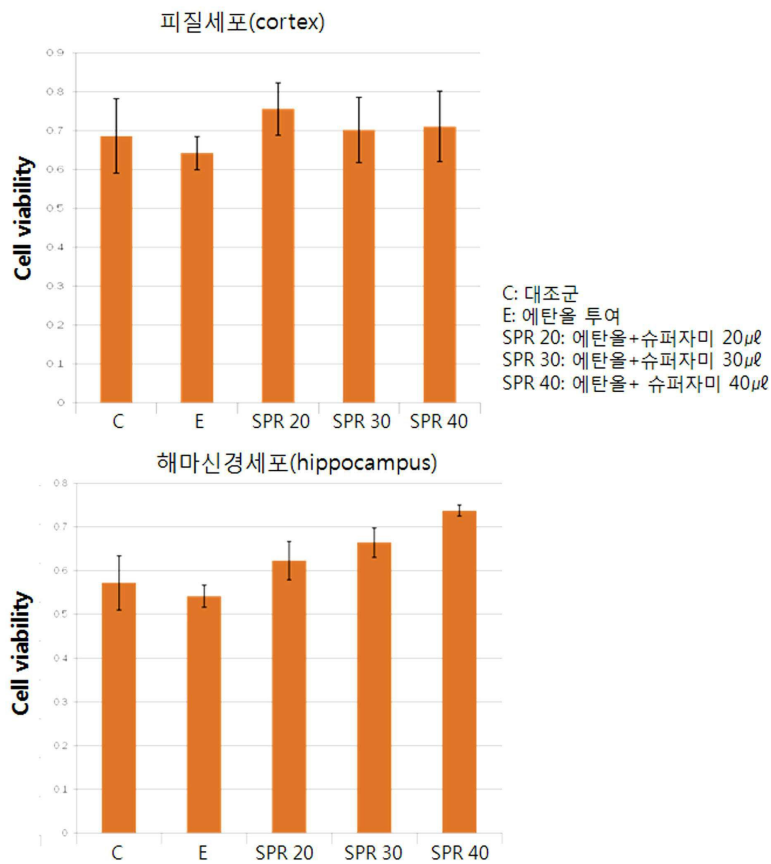
도면3



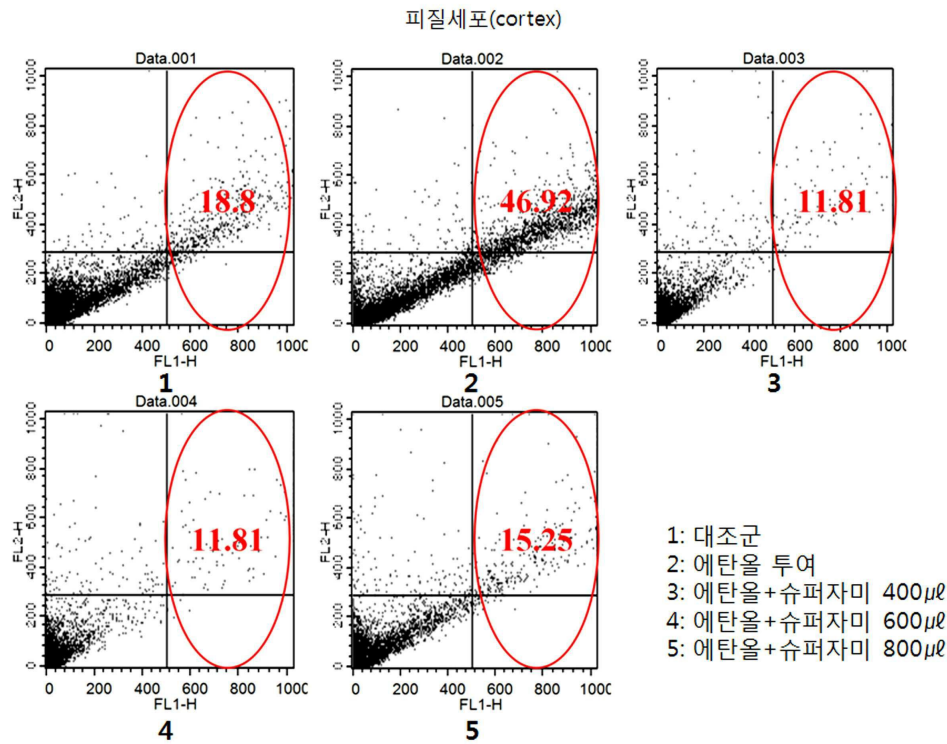
도면4



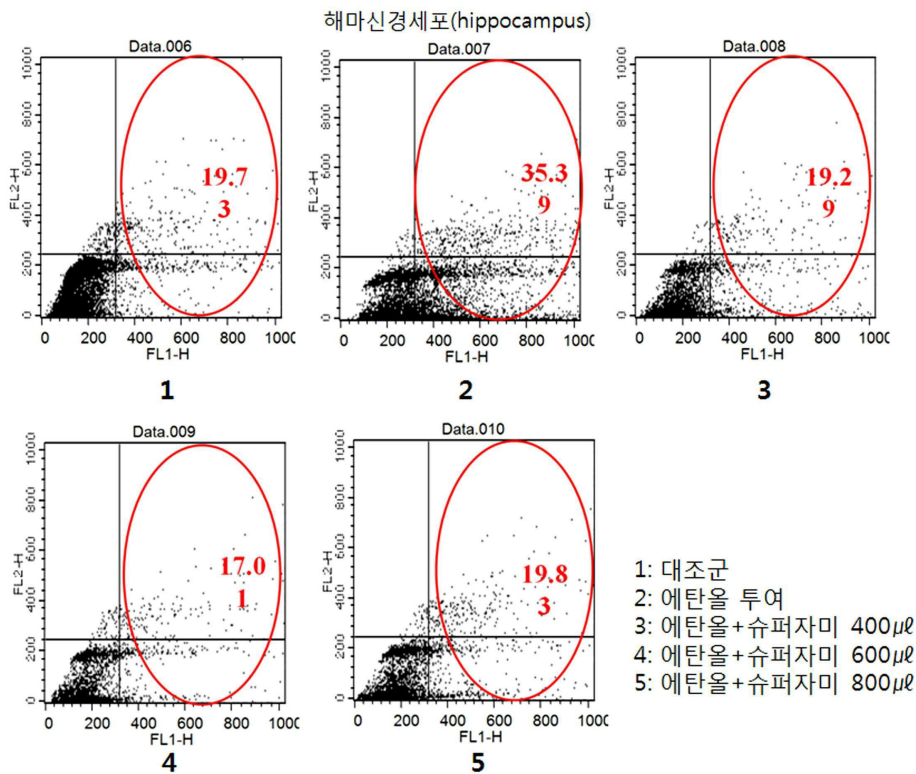
도면5



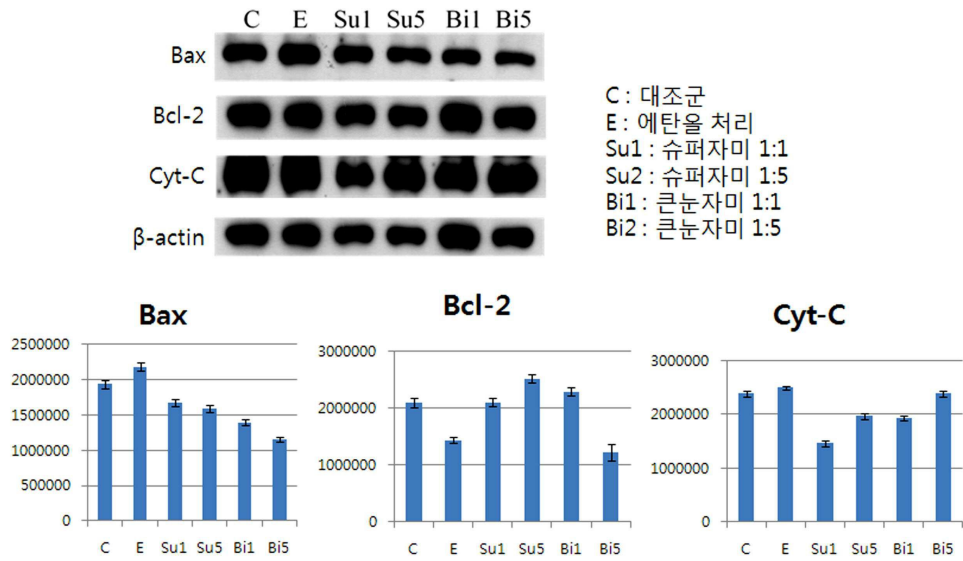
도면6



도면7



도면8



도면9

