(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년12월06일
(11) 등록번호 10-1926271
(24) 등록일자 2018년11월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/889 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 31/522 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/889 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0114079
(22) 출원일자 2017년09월06일
심사청구일자 2017년09월06일
(56) 선행기술조사문헌
Zhongduo Yang 외. Acetylcholinesterase inhibitory activity of the total alkaloid from traditional Chinese herbal medicine for treating Alzheimer's disease. Med Chem Res. 2012, Vol. 21, pp. 734-738*
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 8 항

(73) 특허권자
세종대학교산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
(72) 발명자
심순미
경기도 성남시 분당구 동판교로 156 금호어울림 909동 902호
최은혜
서울특별시 광진구 능동로 209
임상륜
서울특별시 광진구 능동로 209
(74) 대리인
특허법인이상

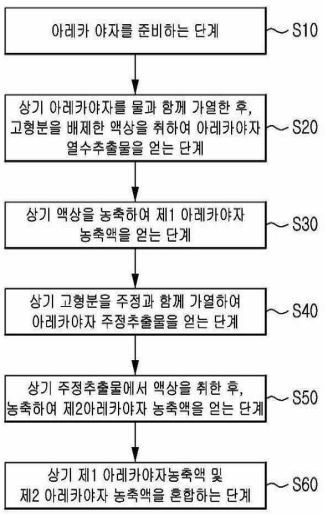
심사관 : 김미화

(54) 발명의 명칭 **유효 성분의 함량 증진을 위한 아레카 야자 추출물 제조방법 및 이 추출물을 함유하는 알츠하이머 예방용 조성물**

(57) 요 약

유효 성분의 함량 증진을 위한 아레카 야자 추출물 제조방법 및 이 추출물을 함유하는 알츠하이머 예방용 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 아레카 야자 추출방법은, 아레카 야자를 준비하는 단계, 아레카 야자를 물과 함께 가열한 후, 고형분을 배제한 액상을 취하여 아레카 야자 열수추출물을 얻는 단계, 액상을 농축하여 제1 아레카 야자 농축액을 얻는 단계, 고형분을 주정과 함께 가열하여 아레카 야자 주정추출물을 얻는 단계, 주정추출물에서 액상을 취한 후, 농축하여 제2 아레카 야자 농축액을 얻는 단계, 제1 아레카 야자 농축액 및 제2 아레카 야자 농축액을 혼합한 혼합액을 얻는 단계를 포함할 수 있다. 본 발명에 따르면, 아레카 야자로부터 유효성분인 카페인 및 테아크린을 동시에 높은 함량으로 추출할 수 있으면서, 보다 친환경적인 추출방법을 제공할 수 있다. 또한, 이에 의하여 제조된 아레카 야자 추출물을 포함하는 알츠하이머 예방용 조성물을 제공할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/522 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
JP2011162518 A
KR1019980008044 A
JP2011105696 A
KR1020170003056 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

아레카 야자를 준비하는 단계;

상기 아레카 야자를 물과 함께 가열한 후, 고형분을 배제한 액상을 취하여 아레카 야자 열수추출물을 얻는 단계;

상기 액상을 농축하여 제1 아레카 야자 농축액을 얻는 단계;

상기 고형분을 주정과 함께 가열하여 아레카 야자 주정추출물을 얻는 단계;

상기 주정추출물에서 액상을 취한 후, 농축하여 제2 아레카 야자 농축액을 얻는 단계; 및

상기 제1 아레카 야자 농축액 및 제2 아레카 야자 농축액을 혼합한 혼합액을 얻는 단계를 포함하는, 아레카 야자 추출물 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 주정은 20%(v/v) 내지 40%(v/v)의 농도를 갖는 것인, 아레카 야자 추출물 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 가열은 물의 끓는점 이하의 온도에서 수행되는 것인, 아레카 야자 추출물 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 혼합은, 상기 열수추출물의 액상 및 상기 주정추출물의 액상의 혼합인 것인, 아레카 야자 추출물 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 아레카 야자는 열매인 것인, 아레카 야자 추출물 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 혼합액은 카페인 및 테아크린을 함유하는 것인, 아레카 야자 추출물 제조방법.

청구항 7

카페인 및 테아크린을 유효성분으로 함유하는 아레카 야자 추출물을 포함하되, 상기 카페인 및 테아크린의 각 함량은 상기 추출물 1g 대비 50mg 내지 100mg(dry weight)으로 함유되는 것이고,

아밀로이드 베타 응집 억제용인 것인, 알츠하이머 예방용 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 카페인 및 테아크린의 각 함량은 상기 추출물 1g 대비 80mg 내지 100mg(dry weight)으로 함유되는 것인,

알츠하이머 예방용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 추출물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 아레카 야자 추출물 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 현대 경쟁사회에서 각자의 업무에 보다 오랫동안 집중하여 업무 효율성을 높이기 위한 하나의 방법으로, 카페인(Caffein, 1, 3, 7-trimethylxanthine)의 각성 효과를 기반으로 하는 음료 또는 식품에 대한 수요가 날로 증가하고 있다.

[0003] 카페인(Caffein, 1, 3, 7-trimethylxanthine)은 잘 알려진 퓨린 알칼로이드(purine alkaloid)로, 예를 들어, 마테 (Ilex paraguariensis), 과라나 (Paullinia cupana), 코코아 (Theobroma cacao) 등과 같은 많은 식물 종으로부터 유래하며, 차 종 (Camellia senensis var. senensis, Camellia taliensis)과 커피 종 (Coffea arabica, Coffea liberica, Coffea dewevrei)등에서 추출된다.

[0004] 이러한, 카페인은 중추 신경계를 자극하여 기분을 좋게 만들고 근육의 힘을 증가시키며, 피로를 감소시키고 기억력을 좋게 하는 등 다양한 신체 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0005] 그러나, 과도한 카페인 섭취는 불면증, 고혈압, 불안증, 카페인 중독(caffeinism syndrome) 등의 각종 부작용들을 야기할 수 있음이 널리 알려짐에 따라, 최근에는 많은 사람들이 카페인 함유 음료 또는 식품에서 저카페인 또는 무카페인을 찾게 되었으며, 카페인의 대체 물질 개발에도 많은 연구가 진행되고 있다.

[0006] 그러나, 현재까지 천연 원료에 함유된 카페인 또는 카페인의 대체 성분과, 이를 얻기 위한 추출법 등에 대한 연구가 미미한 실정이다. 또한, 선행문헌 <J. Exp. Biomed. Sci. 2010, 16(4): 271~277 "Biological activities of Solvent Fractions Isolated from Areca catechu L">에 따르면, 아레카 팜(areca palm)으로부터 카페인 등의 성분을 추출하는 종래의 추출법이 서술되어 있는데, 상기 추출법은 물로 추출한 후 납을 이용한 침전작용과 클로로포름 및 메탄올 등의 강한 유기 용매를 사용하여 비환경친화적이고 섭취에 안전하지 못하다는 문제점이 있다.

[0007] 따라서, 보다 친환경적이고 식용 가능하면서도, 천연 식물 유래 카페인 또는 카페인 대체성분의 함량을 보다 증대시킬 수 있는 새로운 추출방법에 대한 개발이 시급하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2006-0119032호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 아레카 야자로부터 유효성분인 카페인 및 테아크린을 동시에 높은 함량으로 추출할 수 있으면서, 보다 친환경적인 추출방법을 제공함에 있다. 또한, 이에 의하여 제조된 아레카 야자 추출물을 포함하는 알츠하이머 예방용 조성물을 제공함에 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 이루기 위하여 본 발명의 일 측면은 아레카 야자 추출물 제조방법을 제공한다. 상기 아레카 야자 추출물 제조방법은, 아레카 야자를 준비하는 단계, 상기 아레카 야자를 물과 함께 가열한 후, 고형분을 배제한 액상을 취하여 아레카 야자 열수추출물을 얻는 단계, 상기 액상을 농축하여 제1 아레카 야자 농축액을 얻는 단

계, 상기 고형분을 주정과 함께 가열하여 아레카 야자 주정추출물을 얻는 단계, 상기 주정추출물에서 액상을 취한 후, 농축하여 제2 아레카 야자 농축액을 얻는 단계 및 상기 제1 아레카 야자 농축액 및 제2 아레카 야자 농축액을 혼합한 혼합액을 얻는 단계를 포함할 수 있다.

[0011] 상기 주정은 20%(v/v) 내지 40%(v/v)의 농도를 갖는 것일 수 있다. 상기 가열은 물의 끓는점 이하의 온도에서 수행되는 것일 수 있다. 상기 혼합은, 상기 열수추출물의 액상 및 상기 주정추출물의 액상의 혼합인 것일 수 있다. 상기 아레카 야자는 열매인 것일 수 있다. 상기 혼합액은 카페인 및 테아크린을 함유하는 것일 수 있다.

[0012] 상기 과제를 이루기 위하여 본 발명의 다른 측면은 알츠하이머 예방용 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 카페인 및 테아크린을 유효성분으로 함유하는 아레카 야자 추출물을 포함할 수 있다. 상기 조성물은 아밀로이드 베타의 응집 억제용인 것일 수 있다.

발명의 효과

[0013] 본 발명에 따르면, 아레카 야자로부터 유효성분인 카페인 및 테아크린을 동시에 높은 함량으로 추출할 수 있으면서, 보다 친환경적인 추출방법을 제공할 수 있다. 또한, 이에 의하여 제조된 아레카 야자 추출물을 포함하는 알츠하이머 예방용 조성물을 제공할 수 있다.

[0014] 본 발명의 기술적 효과들은 이상에서 언급한 것들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 효과들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 아레카 야자 추출물 제조방법을 순서대로 나타낸 모식도이다.

도 2는 테아크린 및 카페인 표준 용액의 동시 분리분석 액체 크로마토그래피 분석 결과를 나타낸 것이다.

도 3a 및 도 3b는 본 발명의 비교예 및 제조예들에서 테아크린 및 카페인의 함량을 분석한 것이다.

도 4는 본 발명의 실험예에 따른 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하, 첨부된 도면을 참고하여 본 발명에 의한 실시예를 상세히 설명하면 다음과 같다.

[0017] 본 발명이 여러 가지 수정 및 변형을 허용하면서도, 그 특정 실시예들이 도면들로 예시되어 나타내어지며, 이하에서 상세히 설명될 것이다. 그러나 본 발명을 개시된 특별한 형태로 한정하려는 의도는 아니며, 오히려 본 발명은 청구항들에 의해 정의된 본 발명의 사상과 합치되는 모든 수정, 균등 및 대용을 포함한다.

[0019] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 아레카 야자 추출물 제조방법을 순서대로 나타낸 모식도이다.

[0020] 도 1을 참조하면, 아레카 야자(areca palm)를 준비한다(S10). 상기 아레카 야자는 잎, 열매 또는 잎과 열매를 포함하는 아레카 야자 식물 전체부를 사용할 수 있으며, 일 예로, 상기 아레카 야자는 열매를 사용할 수 있다. 구체적으로, 상기 아레카 야자 열매를 수확한 후, 세척하여 건조시킬 수 있다. 예를 들어, 수확된 아레카 야자 열매를 흐르는 물, 일 예로, 증류수에 세척한 다음 음건(air drying)시킬 수 있다.

[0021] 건조된 아레카 야자를 분말 형태로 분쇄할 수 있다. 예를 들어, 상기 아레카 야자는 분쇄기 등을 사용하여 10 메쉬 내지 50 메쉬, 구체적으로, 30 메쉬 이하 크기의 분말 형태로 분쇄될 수 있다.

[0022] 상기 아레카 야자 분말을 물과 함께 가열한 후, 고형분을 배제한 액상을 취하여 아레카 야자 열수추출물을 얻는다(S20). 상기 물은 증류수, 구체적으로 초순수 워터(Deionized water)일 수 있으며, 상기 물은 상기 아레카 야자 10 중량 대비 100 내지 400 중량, 구체적으로, 200 내지 400 중량, 일 예로, 300 중량으로 혼합될 수 있다.

[0023] 상기 가열은 온도 및 압력 등의 조건을 일정 범위로 유지시킨 상태에서 수행될 수 있으며, 일 예로, 상기 가열은 항온수조를 이용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 가열은 상압(약 1 atm)조건에서, 물의 끓는점 이하의 온도, 구체적으로, 70℃ 내지 100℃, 더 구체적으로, 80℃ 내지 90℃, 일 예로 85℃의 온도에서 수행될 수 있다. 또한, 상기 가열은 70rpm 내지 90rpm, 일 예로, 80rpm의 회전속도를 유지한 상태에서 수행될 수 있다. 상기 가열은 30분 내지 90분, 구체적으로, 50분 내지 70분, 일 예로, 60분 동안 수행될 수 있다.

[0024] 상기 열수 추출 이후, 추출액을 여과하여 상기 고형분 및 액상을 각각 따로 보관할 수 있다.

[0025] 상기 액상을 농축시켜 제1 아레카 야자 농축액을 얻는다(S30). 예컨대, 상기 농축은 감압농축법, 구체적으로는 진공 분위기에서 가열 감압농축법을 사용할 수 있다. 상기 가열 감압농축은 예를 들어, 약 40℃ 내지 80℃, 일 예로 55℃의 온도에서 수행할 수 있다.

[0026] 상기 고형분을 주정, 즉, 에탄올(ethanol) 수용액과 함께 가열하여 아레카 야자 주정추출물을 얻는다(S40). 상기 주정은 추출 공정 이후에 추출물을 식용가능 하도록 하기 위하여, 상기 에탄올이 물 보다 적은 양으로 함유된 것을 사용할 수 있다. 예를 들어, 상기 주정의 농도는 50%(v/v) 미만, 구체적으로, 20%(v/v) 내지 40%(v/v), 일 예로, 30%(v/v)의 농도인 것일 수 있다. 상기 주정은 상기 고형분 10 중량 대비 200 중량 내지 400 중량, 일 예로, 300 중량으로 혼합될 수 있다.

[0027] 상기 가열 조건은 전술된 열수추출 조건과 가열 시간을 제외하고는 유사 또는 동일하게 수행될 수 있다. 이로써, 기존 추출법에 비하여 아레카 야자 추출 공정을 보다 간소화시킬 수 있다. 예컨대, 주정 추출시 가열 온도는 물의 끓는점 이하의 온도, 구체적으로, 70℃ 내지 100℃, 더 구체적으로, 80℃ 내지 90℃, 일 예로 85℃의 온도에서 수행될 수 있다. 상기 주정 추출의 가열시간은 20시간 내지 28시간, 일 예로, 24시간 동안 수행될 수 있다.

[0028] 상기 아레카 야자 주정추출물에서 잔류하는 고형분을 제거한 후의 액상을 농축하여 제2 아레카 야자 농축액을 제조할 수 있다(S50). 예컨대, 상기 농축은 감압농축법, 구체적으로는 진공 분위기에서 가열 감압농축법을 사용할 수 있다. 상기 가열 감압농축은 예를 들어, 약 40℃ 내지 80℃, 일 예로 55℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0029] 상기 제1 아레카 야자 농축액 및 상기 제2 아레카 야자 농축액을 혼합한 혼합액을 얻을 수 있다(S60). 예를 들어, 상기 제1 농축액 및 상기 제2 농축액을 4:6 내지 6:4, 일 예로, 5:5의 중량비로 혼합시킬 수 있다. 경우에 따라서는, 상기 혼합은 각 농축과정 전의 상기 열수추출물의 액상분 및 상기 주정추출물의 액상분의 혼합일 수도 있다. 이 경우, 상기 액상분들을 혼합한 이후에 농축 공정을 수행할 수 있다.

[0031] 본 발명의 아레카 야자 추출방법은, 상기 아레카 야자 내 유효 성분인, 퓨린 알칼로이드, 구체적으로, 카페인(caffeine) 및 테아크린(Theacrine, 1, 3, 7, 9-tetramethyluric acid)을 동시에 높은 함량으로 추출할 수 있다. 상기 테아크린(Theacrine, 1, 3, 7, 9-tetramethyluric acid)은 수용성이며, 카페인과 같이 주요 퓨린 알칼로이드로, 카페인과 화학적 구조가 유사하며 메틸 그룹을 추가로 가지고 있다. 테아크린은 섭취 후에 혈액 순환 시스템으로 흡수된 뒤, 혈관내관문(blood-brain barrier)을 통과하여 뇌 조직에서 검출되는데, 이러한 테아크린은 중추 신경계, 구체적으로, 뇌 기능에 있어 항산화, 항염, 항진통, 항우울증 등과 같은 약리작용을 나타내며, 특히, 알츠하이머의 예방 효과를 나타낸다. 뿐만 아니라, 테아크린은 정신적인 스트레스에 의해 생긴 피로를 줄이는 의학 효능을 가진다. 이러한 테아크린은 카페인과 달리 불면증, 고혈압, 불안증과 같은 부작용은 나타내지 않는 것으로 알려져 있다.

[0032] 다시 말해서, 본 발명의 아레카 야자 추출물, 구체적으로, 상기 제1 아레카 야자 농축액 및 상기 제2 아레카 야자 농축액의 혼합액은 카페인 및 테아크린을 높은 함량으로 함유함으로써, 카페인의 효능을 유지하면서도 카페인의 부작용을 크게 줄일 수 있는 효과를 발휘할 수 있다.

[0033] 또한, 상기 제2 아레카 야자 농축액은, 상기 아레카 야자를 열수 추출한 후에 형성된 잔여 고형분을 주정으로 한 차례 더 추출한 추출물로써, 단일 용매를 사용한 추출물, 즉, 아레카 야자 열수추출물 또는 아레카 야자 주정추출물에 비하여 카페인(caffeine) 및 테아크린(theacrine)의 추출 함량을 보다 증대시킬 수 있다.

[0034] 나아가, 본 발명의 아레카 야자 추출방법은, 기존의 아레카 야자 추출법과 같이 섭취에 안전하지 못한 유기 용매를 사용하는 것이 아닌, 식용 가능한 용매, 일 예로, 물 또는 주정을 사용함으로써 보다 친환경적인 추출방법을 제공할 수 있다. 또한, 본 발명의 아레카 야자 추출물 내 유효성분인 카페인 및 테아크린은 구체적으로, 뇌 기능에 있어 항산화, 항염, 항진통, 항우울증 등과 같은 약리작용을 나타내며, 특히, 이상 단백질인 베타 아밀로이드의 응집을 억제시킴으로써 알츠하이머 예방에 있어 우수한 효과를 발휘한다.

[0036] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 본 발명에 따른 바람직한 실험예를 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되어지는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다.

[0037] <제조예 1: 아레카 야자 열수추출물(단일 용매)제조>

[0038] 아레카 야자(원산지: 태국산) 열매를 수확한 후, 증류수에 세척하여 음건한 다음, 30 mesh 이하의 크기가 되도록 분쇄하였다. 분쇄된 아레카 야자 20g을 초순수 워터(DI water) 600ml에 넣고, 항온 수조에서 80rpm, 85℃, 1

시간 동안 열처리하여 아레카 야자 열수추출물을 제조하였다. 상기 열수추출물에서 고형분을 배제한 액상만을 취하여, 항온 수조를 이용하여 55℃로 온도를 조절하면서 진공 상태에서 감압농축기로 농축하여 100ml의 제1 농축액을 제조하였다.

[0040] <제조예 2: 아레카 야자 주정추출물(단일 용매)제조>

[0041] 추출 용매로 30%v/v의 주정을 사용한 것을 제외하고는, 전술된 제조예 1과 동일한 방법으로 아레카 야자 주정추출물(농축액)을 제조하였다.

[0043] <제조예 3: 아레카 야자 추출 혼합물 제조>

[0044] 전술된 제조예 1에서 제조된 아레카 야자 열수추출물에서 액상만을 취하여 따로 저장하였다. 한편, 제조예 1의 상기 고형분을 30%(v/v) 농도의 주정 500ml에 넣고, 80rpm, 85℃에서 24시간 동안 열처리하여 아레카 야자 주정추출물을 제조하였다. 그런 다음, 상기 주정추출물에서 고형분을 배제한 액상만을 취하여, 항온 수조를 이용하여 55℃로 온도를 조절하면서 진공 상태에서 감압농축기로 농축하여 100ml의 제2 농축액을 제조하였다. 그 다음에, 상기 제조예 1의 제1 농축액과 상기 제조예 3의 제2 농축액을 5:5로 혼합하였다.

[0046] <비교예: 아레카 야자 유기용매(물+클로로포름 및 메탄올) 추출물 제조> (기존 추출법)

[0047] 건조된 아레카 야자(Areca palm)(태국산) 샘플을 파우더 형태로 분쇄한 뒤, 10g을 취하여 물 200 ml와 혼합한 다음 배양기에서 85° C, 30분 동안 추출하였다. 이후, 추출물을 여과한 다음, 진공상태에서 감압농축기로 농축하여 50 mL의 농축액을 제조하였다. 농축액의 pH를 7.8로 조절한 뒤, 화학적 침전물이 생기지 않을 때까지 20% Pb(OAc)2·Pb(OH)2용액을 농축액에 혼합하였다. 이후, 동량의 클로로포름으로 농축액을 3회 더 추출한 뒤, 필터(상품명: C18 Sep-pak)로 여과하였다. 그런 다음, 클로로포름을 증발시킨 후, 메탄올(MeOH/H_2O(1:9, v/v))을 첨가하여 한번 더 추출하였다.

[0049] 도 2는 테아크린 및 카페인 표준 용액의 고속액체 크로마토그래피(High performance liquid chromatography, HPLC) 분석 결과를 나타낸 것이다.

[0050] 도 2를 참조하면, 테아크린 및 카페인은 유지 시간(retention time, R.T)이 각각 23.66분, 26.30분에서 분리되었다. 테아크린 함량을 테아크린 표준용액의 R.T값(23.66분)과 표준 곡선(R^2=1)에 근거하였다. 카페인 역시 테아크린과 동일하게 카페인 표준용액의 R.T값(26.30분)과 표준곡선(R^2=1)에 근거하였고, 또한, 정확한 데이터 측정을 위하여 추출액에 표준품을 주입하여 분석을 진행하였다.

[0052] 도 3a 및 도 3b는 비교예(기존 추출법)와 제조예 1 내지 3에 따른 추출물에서 테아크린 및 카페인의 함량을 분석한 것이다.

[0053] 분석 방법으로는, 비교예 및 제조예 1 내지 3의 농축액들을 20분 동안 14000rpm으로 원심분리한 뒤 상층액을 0.45 ㎛ PVDF 여과지로 여과시킨 후 분석에 이용하였다. 각 추출물에서 테아크린 및 카페인을 분리해내기 위하여, 컬럼(C18 Column (4.6×150 mm, 5 μm, Phenomenex, USA))이 장착된 고속액체 크로마토그래피(High performance liquid chromatography, HPLC)(LCQ fleet, Thermo scientific, USA)을 사용하였다. 이동상은 A (95.95:0.05 v/v H_2O/85% H_3PO_4), B(아세토니트릴(Acetonitrile))가 사용되었으며, 유속은 0.8 mL/min, 농도 구배 (0 내지 4분, 2% solvent B; 4 내지 21분, 2% to 9% solvent B; 21 내지 32분, 9% to 23% solvent B and 32 내지 45분, 23% solvent B), 주입량은 20 μL로 설정되었다. UV 파장(UV wavelength)은 231nm로 하여 분석하였으며, 테아크린 및 카페인의 함량은 표준화 곡선(standard calibration curve)에 의해 정량되었다.

[0055] 도 2, 도 3a 및 도 3b를 함께 참조하면, 비교예, 즉, 유기용매 추출물의 경우, 테아크린과 카페인 함량은 각각 0.0835mg/g 및 0.167mg/g의 함량이 추출되었으며, 제조예 1, 즉, 열수추출물의 경우, 테아크린과 카페인 함량은 각각 37.73±0.18mg/g 및 34.08±0.1mg/g(dry weight)으로 측정되었다. 제조예 2, 즉, 주정추출물의 경우, 테아크린과 카페인 함량은 각각 36.27 ± 0.21 mg/g, 44.13 ± 0.26 mg/g (dry weight)로 측정되었다. 한편, 제조예 3, 즉, 열수추출물 및 주정추출물의 혼합물은 88.82mg/g의 테아크린과 94.3mg/g의 카페인의 함량이 측정되었다.

[0056] 즉, 아레카 야자 열수추출물 및 상기 열수추출물로부터 얻어진 주정추출물의 혼합물에서, 각각의 단일 용매 추출물보다 테아크린 및 카페인의 함량이 약 2배 이상으로 월등히 높게 측정되었음을 확인할 수 있다.

[0058] <실험예: 카페인 및 테아크린의 아밀로이드 베타(amyloid beta) 응집(aggregation) 생성 억제 효과 실험>

[0059] 전술된 제조예 3의 추출물을 인산 완충액(Phosphate buffer) 25μM로 일정 농도로 희석한 후, 아밀로이드 베타 응집 실험을 수행하였다. 또한, 상기 아밀로이드 베타 응집 억제 효과를 측정하기 위하여 티오플라빈 T(ThT) 형광 분석(Thioflavin T (ThT) fluorescence assay)을 수행하였다.

[0060] 실험군으로 희석된 제조예 3의 추출물(테아크린 농도는 4.0ppm, 카페인 농도는 3.8ppm 이었음)을 준비하고, 같은 농도의 테아크린 및 카페인의 표준품으로 대조 실험하였다. 25μM의 아밀로이드 베타1-42 9μL을 각 샘플의 1μL와 섞은 뒤 배양기(black 96-well)에서 24시간 동안 배양되었다. 배양기(96-well)는 증발을 최소화하기 위해 뚜껑을 덮어서 사용되었다. 배양이 끝난 뒤, ThT 용액(50mM 글리신(glycine) 과 버퍼액(Na-22 buffer(pH 8.5)) 의 조성으로 이루어진) 200μL을 각 wall에 첨가하여 실험을 진행하였다. 여기 파장(Excitation wavelength) 및 방출(emission wavelength)는 각각 446nm 와 490 nm였다. 실험은 삼반복으로 진행되었다.

[0062] 도 4는 본 발명의 실험예에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.

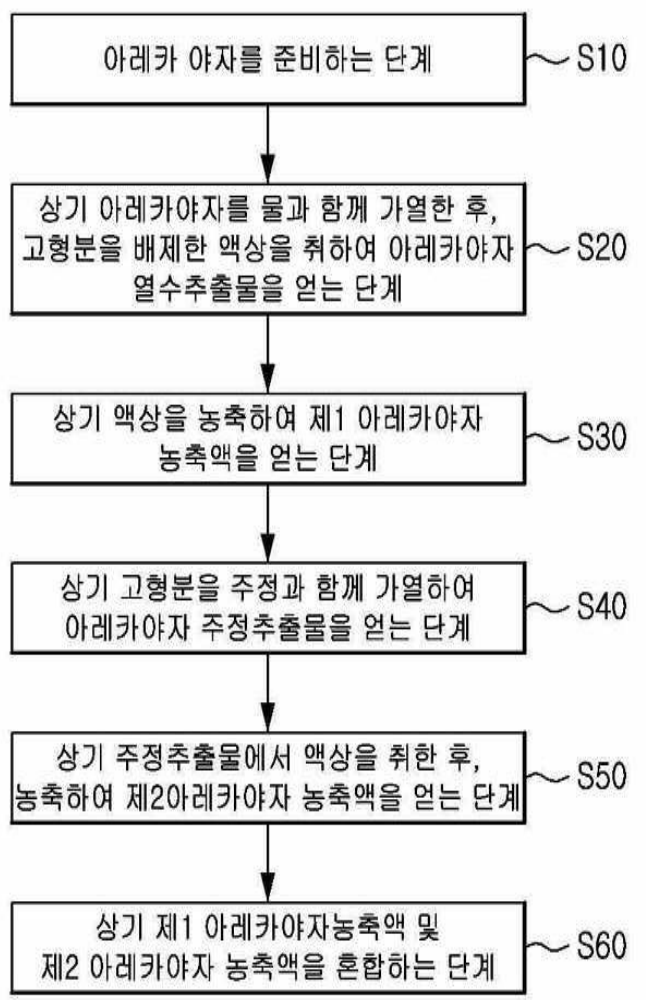
[0063] 도 4를 참조하면, 제조예 3, 즉, 테아크린 및 카페인이 동시 추출된 아레카 야자 추출물의 경우, 테아크린 또는 카페인을 각각 단독 처리하였을 경우에 비하여, 베타-아밀로이드(β-amyloid)의 응집율을 약 80% 가량까지 감소시키는 것을 알 수 있다. 나아가, 제조예 3은 테아크린 또는 카페인을 각각 단독 처리한 것을 더한 경우보다 베타-아밀로이드(β-amyloid)의 응집 억제 효과가 월등히 높음을 확인할 수 있다. 이로써, 상기 제조예 3, 즉, 테아크린 및 카페인을 유효성분으로 포함하는 아레카 추출물은 베타-아밀로이드(β-amyloid)의 응집 억제 효과에 있어 시너지를 발휘하는 것으로 해석될 수 있다.

[0064] 이에 따라, 본 발명에 따른 아레카 야자 추출물, 즉, 테아크린 및 카페인을 유효 성분으로 함유하는 아레카 야자 추출물은, 상기 유효 성분이 알츠하이머 예방 효과에 있어서 우수한 기능성을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

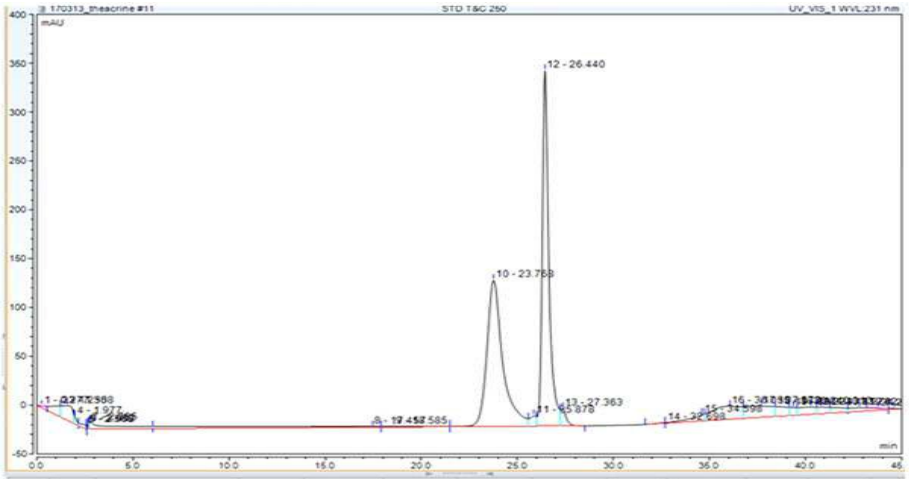
[0066] 한편, 본 명세서와 도면에 개시된 본 발명의 실시 예들은 이해를 돕기 위해 특정 예를 제시한 것에 지나지 않으며, 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다. 여기에 개시된 실시 예들 이외에도 본 발명의 기술적 사상에 바탕을 둔 다른 변형 예들이 실시 가능하다는 것은, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명한 것이다.

도면

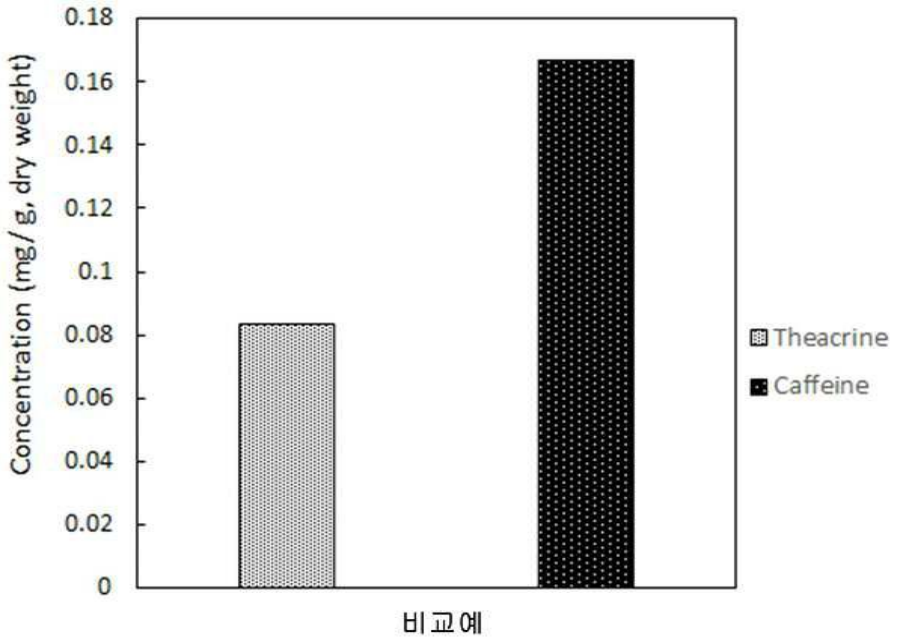
도면1


아레카 야자를 준비하는 단계
S10
상기 아레카야자를 물과 함께 가열한 후, 고형분을 배제한 액상을 취하여 아레카야자 열수추출물을 얻는 단계
S20
상기 액상을 농축하여 제1 아레카야자 농축액을 얻는 단계
S30
상기 고형분을 주정과 함께 가열하여 아레카야자 주정추출물을 얻는 단계
S40
상기 주정추출물에서 액상을 취한 후, 농축하여 제2아레카야자 농축액을 얻는 단계
S50
상기 제1 아레카야자농축액 및 제2 아레카야자 농축액을 혼합하는 단계
S60

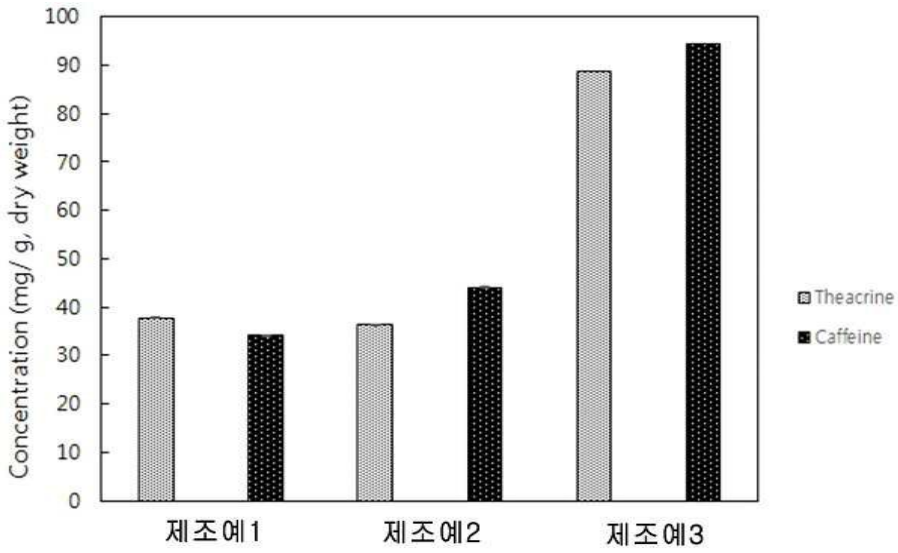
도면2


12 - 26.440
10 - 23.758
13 - 27.363

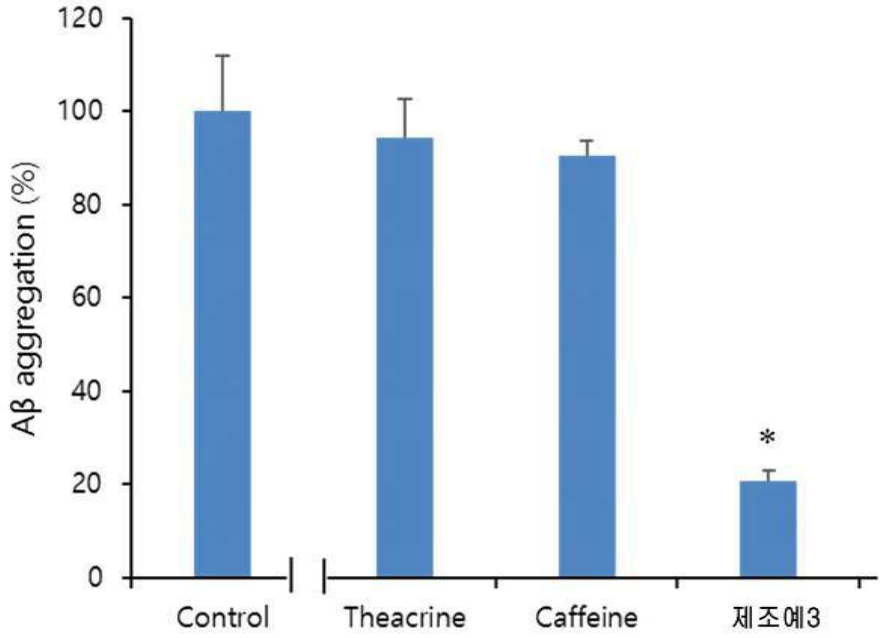
도면3a


0.18
0.16
0.14
0.12
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
0
Concentration (mg/ g, dry weight)
Theacrine
Caffeine
비교예

도면3b


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Concentration (mg/ g, dry weight)
Theacrine
Caffeine
제조예1
제조예2
제조예3

도면4


120
100
80
60
40
20
0
Aβ aggregation (%)
*
Control
Theacrine
Caffeine
제조예3