



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0017640
(43) 공개일자 2013년02월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/344 (2006.01) A23L 1/29 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0080204

(22) 출원일자 2011년08월11일

심사청구일자 2011년08월11일

기술이전 희망 : , 실시권하여, 기술지도

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

강일준

강원도 춘천시 퇴계로 168, 주공2차 아파트 209동 403호 (퇴계동)

최단비

강원도 춘천시 한림대학길 1, 생명과학관 5층 8528호 (옥천동, 한림대학교)

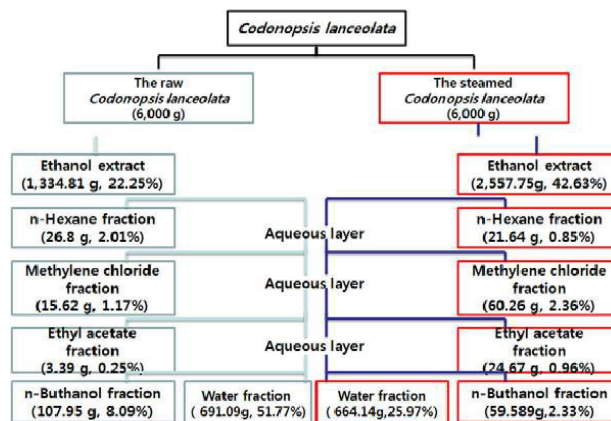
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물을 포함하는 치매 예방 또는 치료 및 인지능 개선용 약학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물

(57) 요약

본 발명은 알츠하이머질병(Alzheimer's Disease)의 예방, 치료 및 인지능 개선을 목적으로 생더덕과 찐더덕 추출물 및 분획물은 아세틸콜린에스터라제의 활성을 저해함으로써 뇌에서 분비되는 아세틸콜린의 농도를 증가시켜, 콜린성 신경기능 퇴화로 인한 알츠하이머병의 예방 및 치료에 효과적이다. 또한 생더덕과 찐더덕 추출물 및 분획물을 포함하는 것을 특징으로 하는 치매 예방 또는 치료 및 인지능 개선용 약학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2010-0027548

부처명 교육과학기술부

연구사업명 기초연구사업(중견연구자지원사업)

연구과제명 치매예방을 위한 인지능력 향상 및 뇌신경세포 보호 활성을 지닌 식품유래 key compound의
분리 동정과 기전연구

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2010.09.01 ~ 2011.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물을 포함하는 치매 예방 또는 치료 및 인지능 개선용 약학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물

청구항 2

제 1항에 있어서, 생더덕과 찐더덕의 추출물은 70% 에탄올 추출물인 조성물

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 생더덕과 찐더덕은 아세틸콜린에스테라제의 활성을 저해함으로써 아세틸콜린의 신경전달을 도움을 특징으로 하는 알츠하이머병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 치매질환은 알츠하이머형 치매증, 뇌혈관성 치매증, 픽병, 크루츠펔트-야콥병, 두부손상에 의한 치매 및 파킨슨병을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물

청구항 5

제 1 항에 따른 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물을 유효성분으로 포함하고 통상의 약제학적으로 허용 가능한 담체와 혼합하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 뇌신경 세포보호 및 알츠하이머병의 예방과 퇴행성 신경계 뇌질환의 예방 및 치료용 조성물

청구항 6

청구1항에 있어서, 상기 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물을 0.1 내지 99 중량%로 함유하는 치매 예방 또는 치료 및 인지능 개선용 약학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 생더덕, 찐더덕 추출물 및 분획물을 유효성분으로 함유하는 치매 억제용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 치매는 기억력 장애, 판단력 상실 등 정신기능의 전반적인 장애가 나타나는 것을 특징으로 하며, 인간의 삶을 황폐하게 하는 질환이다. 우리나라 65세 이상 노인에게서 치매 유병율은 약 8%정도이며, 현재 우리나라 노인인구는 약 430만 명으로 약 35만 명 정도의 치매노인이 있을 것으로 추정된다. (서울특별시 치매센터) 특히 인구 고령화에 따라 치매 환자의 수가 급격히 증가할 것으로 예상되어 치매에 따른 대책 마련이 시급한 실정이다. 게다가 노인 진료비가 계속 늘고 있는 가운데 2010년 노인 치매 진료비가 전년대비 32%나 급증한 것으로 나타났다. 건강보험심사평가원은 2010년 진료비통계지표를 발표하면서 2010년 65세 이상 노인 진료비가 13조 7847억 원으로 전년 대비 14.5% 증가했으며, 그 가운데 알츠하이머병인 치매 진료비가 2903억 원으로 32.2% 증가해 가장 높은 증가율을 기록했다고 밝혔다. (건강보험심사평가원)

[0003] 치매의 종류 중 71%로 가장 큰 부분을 차지하고 있는 알츠하이머병 (Alzheimers Disease : AD)이라는 노인성 치매질환은 아직까지 발병원인이 정확하게 밝혀지지 않았지만, 알츠하이머병 환자의 뇌조직을 관찰해보면 콜린성 신경의 손상이 심각하게 일어난 것이 확인된다. 이와 같이 알츠하이머병의 원인을 콜린성 신경의 손상에 맞추어 설명하는 설을 콜린 가설 (Cholinergic Hypothesis in Alzheimers disease)이라 하며, 최근 이를 바탕으로 하여 아세틸콜린의 기능저하를 유도하는 아세틸콜린에스테라제의 활성을 저해시키려는 시도가 많이 이루어지고 있다. 현재 알츠하이머병의 치료제로 사용되는 약물은 아세틸콜린에스테라제 저해제로서 tacrine, donepezil,

rivastimine 그리고 galantamine 등이 있다. 이 중에 가장 최근에 FDA의 승인을 받아 사용되는 것이 갈란타민(galantamine)이다. 갈란타민은 아세틸콜린의 분해를 막아 시냅스에서의 아세틸콜린 농도를 유지시킴으로써 저하된 인지기능을 개선시키는 효과를 나타낸다. 하지만 갈란타민은 독성과 부작용으로 그 효능과 안전성이 의심되고 있으며, 이와 같은 부작용은 대중들의 의심과 두려움을 높여주고 있다. 그러므로 보다 안전하고 효능이 우수한 천연 기능성 소재 개발이 요구되고 있는 실정이다.

[0004] 천연 기능성 소재의 개발은 알츠하이머병의 치료뿐만 아니라 알츠하이머병의 예방으로 보다 안전하고 우수한 효능의 제품 개발이 가능할 것으로 사료된다.

[0005] 더덕(沙蔘, *Codonopsis lanceolata* Traut)은 한국, 중국 및 일본의 산간지방에서 야생하는 초롱꽃과의 다년생 초본으로서 도라지와 함께 일반 식용으로 널리 이용되고 있는 산채식물이다(Maeng and Park, 1991). 식품 의약품 안전청의 식품공전 원재료 분류에서 야생식물류로 분류되어 주원료인 뿌리는 식용이 가능하며 한방에서는 인삼 대용 생약으로 쓰인다. 더덕은 기호식품으로도 상당한 호평을 받는 식품일 뿐 아니라 중요한 건강식품으로 애용되어왔으며 한방에서는 강장제, 진해, 거담제등으로서 인삼 대용 생약으로 사용되고 있다(Maeng and Park, 1990).

[0006] 더덕의 성분에 관해서는 일종의 사포닌이 존재한다는 것이 확인 되었으며(Kim et al., 1975), 더덕으로부터 terpenoid 성분들을 분리 동정한 결과 squalene의 cyclic product인 cycloartenol임을 밝혀보고 되었다. 또, 1974년에 한국산 더덕 중의 glucoside를 분리하고 그 aglycone을 동정하였다. 더덕은 뿌리에 사포닌이 많은 것이 특색이며 물에 잘 녹고 거품이 일어나는 물질이다. 사포닌이란 식물계에 널리 존재하는 배당체에서 당이 아닌 부분이 여러 고리화합물로 이루어진 것을 말한다. 더덕의 사포닌은 기침을 멎게 하고 가래를 삭이는 효과가 있다. 그래서 기관지염, 편도선염, 인후염 등 호흡기질환에 좋은 식품으로 인정받고 있다. 감기로 인해 열이 나고 갈증이 심해 물을 자주 마시는 경우에도 도움이 된다. 위, 폐, 비장, 신장 등 내장기관을 튼튼히 하고 피로를 없애는 강장효과 뿐 아니라 여성의 월경불순, 피부미용에 탁월한 효과가 있으며 모유분비를 촉진시키는 효과도 있다.(Young Hee Kim, Antioxidant Activity of saponin from Dodok, 상명대학교 공학기술 연구소)

[0007] 한편, 수증기로 찌는 과정을 거친 천연 추출물의 경우에는 인체에 유해한 유기용매를 사용하지 않고 천연물 내의 유효성분 함량 추출율을 증가시키고 활성화된 유효성분에 의해 여러 가지 생리 활성이 기대되고 있다.

[0008] 특히 인삼을 보면 발효 인삼, 홍삼, 백삼 등 가공하는 방법에 따라 다양하게 이용되고 있으며, 이런 과정을 거침으로 인삼에는 존재하지 않는 사포닌의 생성 및 사포닌 성분의 증가 등의 다양한 효능을 얻는 것으로 보고되고 있다. 이처럼 찐더덕은 생더덕에 비해 다양한 효능을 얻을 수 있으며, 같은 천연 추출물이라도 다른 기능을 얻을 수 있을 것이라고 사료된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 알츠하이머병의 원인인 아세틸콜린에스테라제의 억제능에 우수하고 비자극성인 치매 억제 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 생더덕과 찐더덕에서 추출한 추출물 및 분획물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하며, 아세틸콜린에스테라제 활성 저해효과를 통하여 치매 예방 또는 치료 및 인지능 개선 효과가 있는 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명에서 사용되는 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물은 천연물에서 유래한 치매 억제 조성물이라는 측면에서 그 의의가 있으며 이를 적극적으로 활용할 경우 치매 치료 및 예방에 대한 조성물로서 널리 활용될 수 있으며 나아가 국민 건강에 기여 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 생더덕과 찐더덕 추출물 및 분획물 수율을 나타낸 도이다.

도 2는 생더덕과 찢더덕의 추출물 및 분획물의 HPLC 조건을 나타낸 도이다.

도 3은 생더덕과 찢더덕의 추출물 및 분획물의 HPLC 패턴 비교한 도이다.

도 4는 생더덕과 찢더덕의 추출물 및 EtOAc 분획물의 함량비교를 나타낸 도이다.

도 5는 생더덕 및 찢더덕 추출물 및 분획물의 아세틸콜린에스테라제 활성 저해 효과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 실시예를 통해 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하고자 한다.

실시예

시료제조예 1. 생더덕과 찢더덕 제조

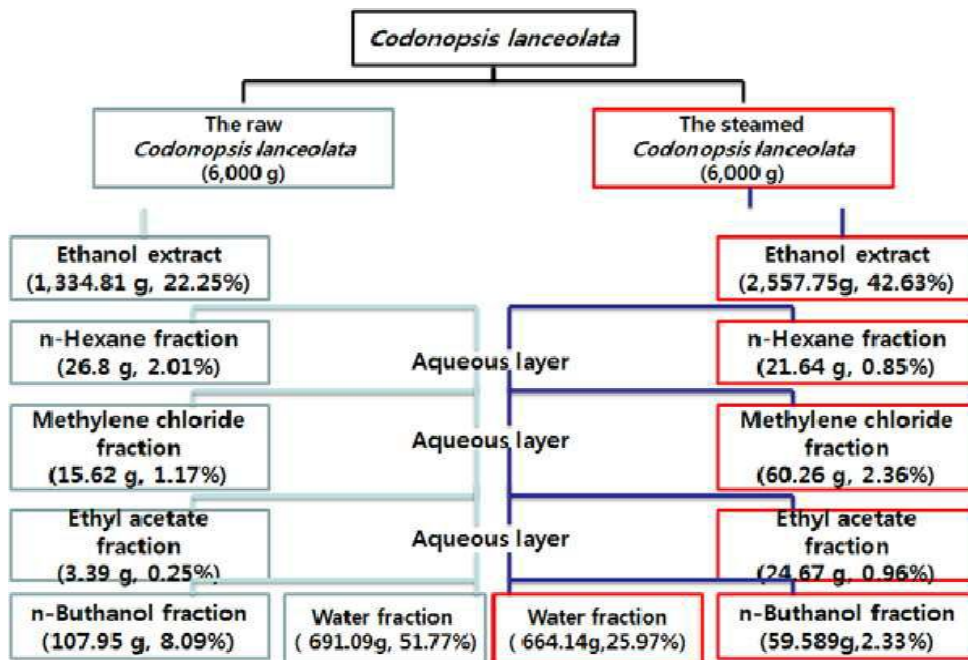
본 실험재료는 2010년 신정상회(강원도 홍천군)에서 말린 더덕을 구매하여 생더덕의 시료로 사용하였고, 찢더덕은 생더덕을 깨끗이 수세하여 열풍건조기 60에서 3 시간 건조한 뒤 105에서 3시간 autoclave하였다. 이 과정을 3번 반복하였으며, 열풍건조기에 60에서 완전히 건조하여 찢더덕 시료로 사용하였다.

시료제조예 2. 생더덕과 찢더덕 추출물 제조

생더덕과 찢더덕 각 6 kg에 70% 에탄올을 첨가 후, 70에서 2시간씩 3회 반복 온침추출하였고, Whatman filter No2.로 여과하였다. 여과액을 감압농축기로 용매를 제거한 후 동결건조하여 최종의 생더덕(1,334.81 g, 22.25%)과 찢더덕 (2,557.75 g, 42.63%)의 70% 에탄올 추출물을 얻었다.

시료제조예 3. 생더덕과 찢더덕 분획물 제조

70% 에탄올 추출하여 얻은 생더덕과 찢더덕은 증류수에 혼합시켜 동량의 n-Hexane(Hex)을 가하여 충분히 흔들어진 후, 일정시간 분리시켰다. 이 과정을 3회 이상 반복하여 얻은 Hex층을 여과한 후 감압하여 최종 Hex 분획물을 얻었다. 이와 같이 비극성에서 극성용매순으로 methylene chloride(MC), ethyl acetate(EtOAc), n-Buthanol(BuOH), water로 순차 분획하여 최종 분획물을 얻었다. 생더덕은 Hex분획물(26.8 g, 2.01%), MC분획물(15.62 g, 1.17%), EtOAc분획물(3.39 g, 0.25%), BuOH분획물(107.95 g, 8.09%), Water분획물(691.09 g, 51.77%)을 얻었다. 찢더덕은 Hex분획물(21.64 g, 0.85%), MC분획물(60.26 g, 2.36%), EtOAc분획물(24.67 g, 0.96%), BuOH분획물(195 g, 7.62%), Water분획물(664.14 g, 25.97%)을 얻었다.



도 1. 생더덕과 찢더덕 추출물 및 분획물 수율

[0023] 실시예 1. 생더덕과 찐더덕 추출물 및 분획물의 HPLC (High Performance Liquid Chromatography) 패턴 비교

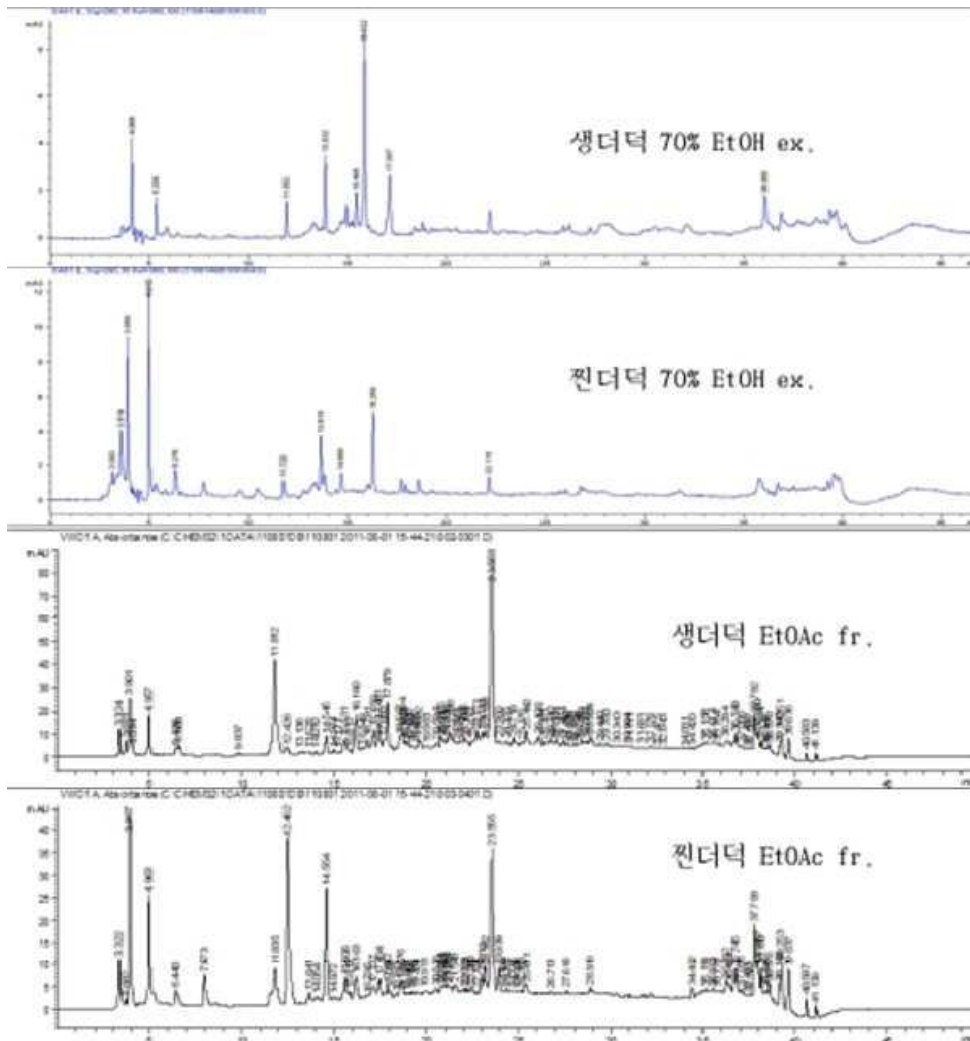
[0024] 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물의 시료를 동일 농도(1 mg/mL)로 HPLC용 methanol에 녹여 0.45m syringe filter하여 vial에 담아 하기 도 2의 조건을 토대로 하여 HPLC로 확인하였다.

HPLC	Instrument	Agilent 1200 series
	column	YMC(ODS-AQ 5 μ m, 12nm, Japan)
	Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile
	Gradient	28 min 100%B, 33 min 100%B, 38 min 0%B, 48 min 0%B
	Flow rate	0.8 mL/min
	wavelength	280nm

[0025]

[0026] 도 2. 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물의 HPLC 조건

[0027] 시료조제 예 1, 2, 3에서 제조한 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물에 대한 HPLC 패턴을 통하여 서로 구성성분이 상의함을 확인하였다. 그 결과를 하기 도 3에 나타내었다.



[0028]

[0029] 도 3. 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 분획물의 HPLC 패턴 비교

[0030] 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 EtOAc 분획물을 HPLC 패턴을 통해 살펴 본 결과, 동일하지 않은 peak(70% EtOH ex. retention time: 3.093, 3.519, 4.943, 6.276, 11.72, 13.618, 14.66, 16.268, EtOAc fr. retention

time:7.973)이 나타난 것을 알 수 있고, 하기 도 4을 통하여 동일한 위치에 나타나는 peak들의 경우도 그 함량 비교값(면적 비교값)을 통하여 생더덕과 찐더덕의 추출물과 EtOAc 분획물의 성분이 상이함을 확인하였다.

		생더덕 70% EtOH-ex.	찐더덕 70% EtOH-ex.	(찐더덕 70% EtOH-ex./ 생더덕 70% EtOH-ex.)X100	생더덕 EtOAc	찐더덕 EtOAc	(찐더덕EtOAc /생더덕 EtOAc)X100
1	min.		3.093	∞	3.324	3.322	103.1%
	area		13.3		91.7	94.5	
2	min.		3.519	∞	3.901	3.887	134.2%
	area		33.8		204.1	274	
3	min.	4.066		0	4.957	4.963	147.9%
	area	15.9			143.1	211.6	
4	min.		4.943	∞	6.435	6.44	127.3%
	area		43.7		42.8	54.5	
5	min.	5.289		0		7.963	∞
	area	6.2				83.6	
6	min.		6.276	∞	11.812	11.835	23.0%
	area		11		684.3	157.6	
7	min.		11.72	∞	12.426	12.462	409.6%
	area		7.4		115.7	473.9	
8	min.	11.852		0	14.545	14.554	163.2%
	area	6.9			140.4	229.2	
9	min.		13.618	∞	17.879	17.872	18.3%
	area		16.8		307	56.1	
10	min.	13.832		0	23.558	23.555	36.2%
	area	16.7			948.2	343.1	
11	min.		14.66	∞	37.792	37.793	91.4%
	area		8.4		192.8	176.3	
12	min.	15.832		0	39.636		0
	area	49.6			95.5		
13	min.		16.268	∞			
	area		26.8				
14	min.	17.087		0			
	area	36.068					

도 4. 생더덕과 찐더덕의 추출물 및 EtOAc 분획물의 함량비교

실시에 2. 생더덕 및 찐더덕 추출물 및 분획물의 아세틸콜린에스터라제 활성 저해 효과

상기 시료조제에 1, 2, 3에서 제조한 생더덕과 찐더덕 추출물 및 분획물은 실시에 1을 통해서 서로 상이한 성분이 있음을 확인하였다. 다음으로 상기 추출물 및 분획물에 대한 아세틸콜린에스터라제 활성 저해 효과를 확인하였다.

AChE 활성측정법은 acetylthiocholine을 기질로 사용하는 Ellman 방법을 변형하여 분석하였다. 96 well micropalate에 0.1M phosphate buffer(pH 8.0) 50 L에 sample 10 L, enzyme 10 L 첨가하고, substrate solution 70 L(500 M Acetylthiocholine iodide, 1 mM dithiobisnitrobenzoic acid(DTNB)를 첨가 한 후 405nm에서 ELISA reader로 측정하였다.

아세틸콜린에스터라제 저해능은 다음의 수학적 식 1에 의해 계산되었다.

수학적 식 1

억제율(%)=(1-(SC-SR)/(EC-ER))X100

EC: enzyme control

ER: enzyme reaction

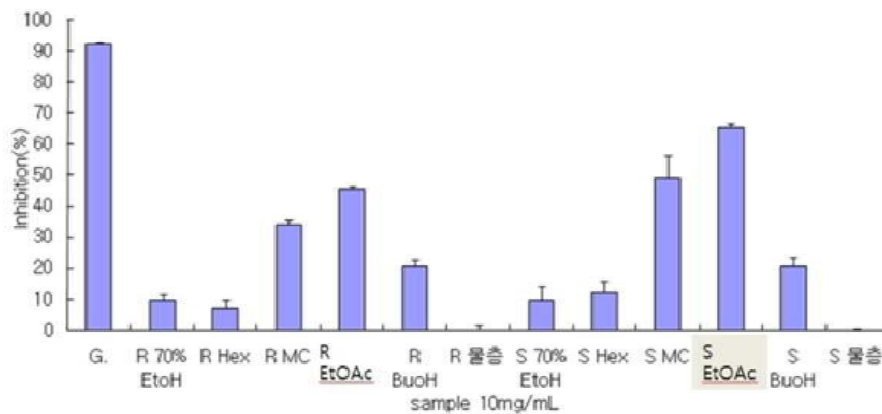
[0042] SC: sample control

[0043] SR: sample reaction

[0044]

[0045] 하기 도 5에서 보듯이, 찌더덕 추출물 및 분획물은 우수한 아세틸콜린에스터라제 저해활성을 나타내었으며, 특히 찌더덕 EtOAc 분획물은 가장 높은 아세틸콜린에스터라제 저해활성을 나타내었다. 이는 수증기로 찌는 천연의 공정 과정을 통해 더덕의 유효성분이 증대된 것으로 사료 될 수 있으며, 생더덕과 찌더덕의 추출물 및 분획물, 특히 찌더덕 EtOAc 분획물은 치매 억제와 치료 및 예방에 대한 조성물로서 널리 활용될 수 있다. 하기 도 5에서 대조군으로 사용한 galantamine은 G로 나타내었으며, 생더덕은 R (Row *Codonopsis lanceolata*)로 나타내었고, 찌더덕은 S (Stemed *Codonopsis lanceolata*)로 나타내었다.

[0046]

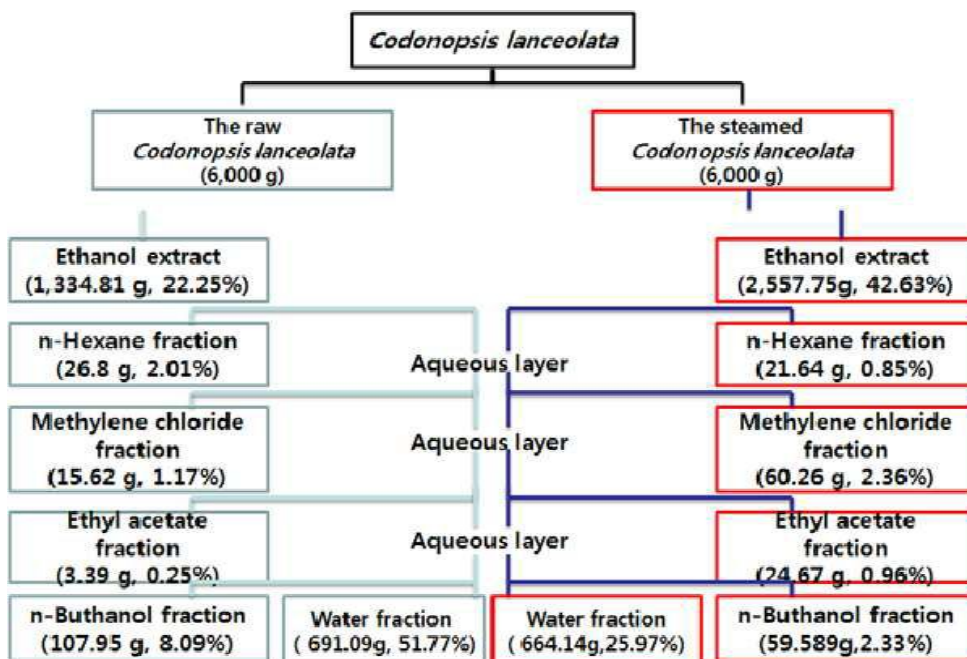


[0047]

[0048] 도 5. 생더덕 및 찢더덕 추출물 및 분획물의 아세틸콜린에스터라제 활성 저해 효과

도면

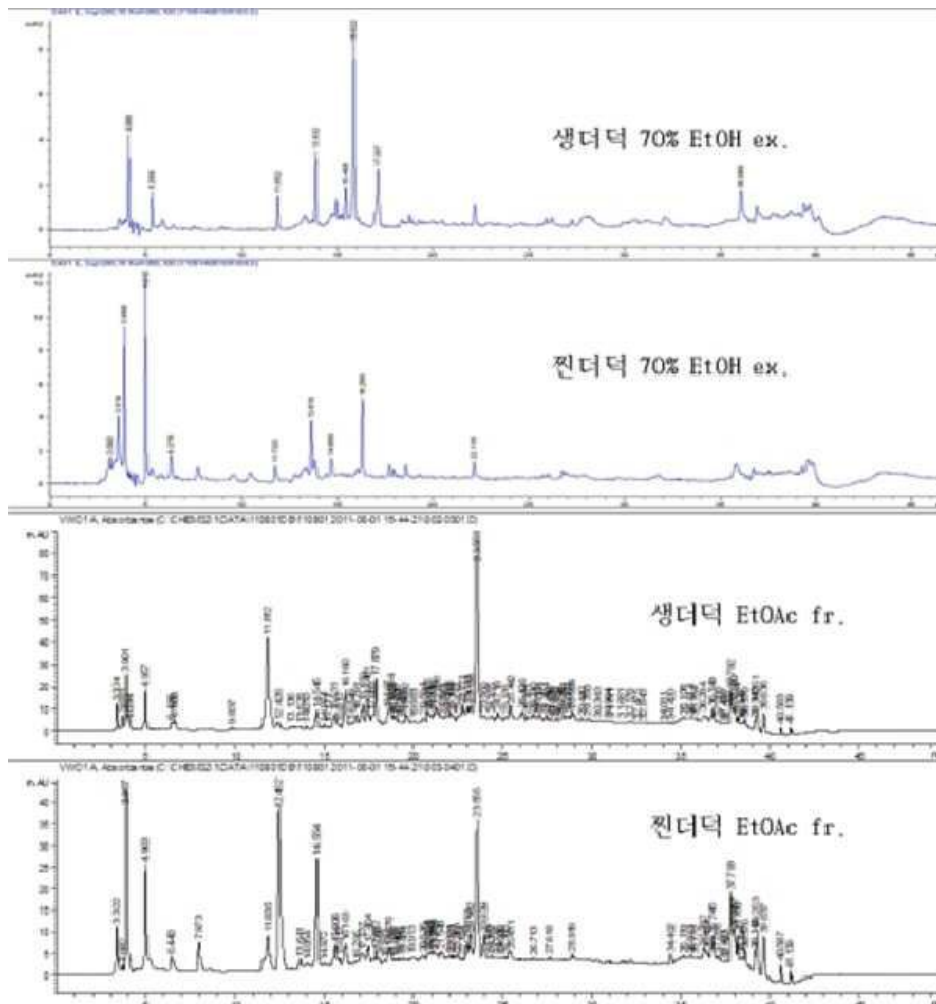
도면1



도면2

Instrument	Agilent 1200 series	
HPLC	column	YMC(ODS-AQ 5 μ m, 12nm, Japan)
	Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile
	Gradient	28 min 100%B, 33 min 100%B, 38 min 0%B, 48 min 0%B
	Flow rate	0.8 mL/min
	wavelength	280nm

도면3



도면4

		생더덕 70% EtOH-ex.	전더덕 70% EtOH-ex.	(전더덕70% EtOH-ex./ 생더덕70% EtOH-ex.)X100	생더덕 EtOAc	전더덕 EtOAc	(전더덕EtOAc /생더덕 EtOAc)X100
1.	min.		3.093	∞	3.324	3.322	103.1%
	area		13.3		91.7	94.5	
2.	min.		3.519	∞	3.901	3.887	134.2%
	area		33.8		204.1	274	
3.	min.	4.066		0	4.957	4.963	147.9%
	area	15.9			143.1	211.6	
4.	min.		4.943	∞	6.435	6.44	127.3%
	area		43.7		42.8	54.5	
5.	min.	5.289		0		7.963	∞
	area	6.2				83.6	
6.	min.		6.276	∞	11.812	11.835	23.0%
	area		11		684.3	157.6	
7.	min.		11.72	∞	12.426	12.462	409.6%
	area		7.4		115.7	473.9	
8.	min.	11.852		0	14.545	14.554	163.2%
	area	6.9			140.4	229.2	
9.	min.		13.618	∞	17.879	17.872	18.3%
	area		16.8		307	56.1	
10.	min.	13.832		0	23.558	23.555	36.2%
	area	16.7			948.2	343.1	
11.	min.		14.66	∞	37.792	37.793	91.4%
	area		8.4		192.8	176.3	
12.	min.	15.832		0	39.636		0
	area	49.6			95.5		
13.	min.		16.268	∞			
	area		26.8				
14.	min.	17.087		0			
	area	36.068					

도면5

