(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월17일
(11) 등록번호 10-2216651
(24) 등록일자 2021년02월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/48 (2006.01) *A23K 10/12* (2016.01)
A23L 29/00 (2016.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/48 (2013.01)
A23K 10/12 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2020-0052892
(22) 출원일자 2020년04월29일
심사청구일자 2020년04월29일
(56) 선행기술조사문헌
KR101950969 B1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
(72) 발명자
이기원
서울특별시 관악구 난곡로 66, 107동 1504호(신림동, 대우신림2차푸르지오아파트)
서상우
서울특별시 관악구 인헌12길 46-1, 202동 301호(봉천동, 은천아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
리앤목특허법인

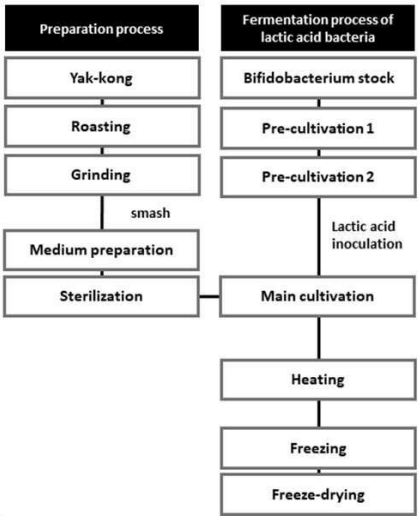
전체 청구항 수 : 총 7 항 심사관 : 고일영

(54) 발명의 명칭 **약콩 발효물을 포함하는 신경질환 예방 및 기억력 개선용 조성물**

(57) 요 약

일 양상에 따른 조성물은 한국인 영유아 유산균으로 발효한 약콩 발효물을 포함하고 있는 것으로, 신경질환 예방 및 기억력 개선에 이용될 수 있다. 구체적으로, 신경세포 사멸을 억제하여 퇴행성 뇌질환을 예방하고 기억력을 개선하는 효과가 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23L 29/065 (2016.08)
A23L 33/105 (2016.08)
A61P 25/28 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)
A23Y 2300/21 (2013.01)
A61K 2236/19 (2013.01)

(72) 발명자
양희
서울특별시 송파구 송이로15길 31(가락동, 가락2차 쌍용아파트)
허철성
경기도 용인시 기흥구 용구대로2394번길 27, 106동 901호(마북동, 삼성래미안1차아파트)
윤정한
강원도 춘천시 삭주로 89-6, 101동 101호(후평동, 현대맨션)
김재환
강원도 춘천시 행촌로 14, 208동 308호(퇴계동, 현대2차아파트)
이태경
경기도 의정부시 동일로466번길 3, 101동 401호(신곡동, 서해아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711076774
과제번호 2018R1A2A1A05078707
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 한국 유아 장내 유래 유산균 발효 기술 기반 고기능성 발효 식품소재 개발
기 여 율 1/3
과제수행기관명 서울대학교
연구기간 2018.09.01 ~ 2019.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711084164
과제번호 2018R1A2A1A05078707
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 한국 유아 장내 유래 유산균 발효 기술 기반 고기능성 발효 식품소재 개발
기 여 율 1/3
과제수행기관명 서울대학교
연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711110730
과제번호 2018R1A2A1A05078707
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 한국 유아 장내 유래 유산균 발효 기술 기반 고기능성 발효 식품소재 개발
기 여 율 1/3
과제수행기관명 서울대학교
연구기간 2020.03.01 ~ 2021.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 에탄올로 추출한 약콩발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 발효물은 발효 여과물 또는 발효 추출물을 포함하는 것인 퇴행성 신경질환 개선용 조성물.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 발효 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것인 퇴행성 신경질환 개선용 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 알코올 중독(alcoholism), 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson's disease), 루게릭병(Lou Gehrig's disease), 헌팅턴병(Huntington's disease), HIV 연관 치매(HIV-associated dementia), 루이체 치매(Lewy body dementia), 다발성 경화증(multiple sclerosis), 프리온 질환(Prion disease), C형 니이먼-픽씨병 (Niemann-Pick Type C, NPC) 및 간질(epilepsia) 질환으로 이루어진 것으로부터 선택되는 것인 퇴행성 신경질환 개선용 조성물.

청구항 6

약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 에탄올로 추출한 약콩발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 식품 조성물.

청구항 7

약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 에탄올로 추출한 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 사료 조성물.

청구항 8

약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 에탄올로 추출한 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 약콩 발효물을 포함하는 신경질환 예방 및 기억력 개선용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 기억력은 뇌가 정보를 받아들여 저장했다가 필요할 때 꺼내어 쓰는 능력을 의미한다. 기억은 대뇌변연계의 양측두엽에 존재하는 해마에 저장되는데, 해마의 신경세포가 손상되면 기억 능력 또한 감퇴하게 된다. 따라서 이

로 인한 기억력 저하를 막기 위하여 관련된 신경세포의 손상을 억제하고 신경세포를 활성화시키는 것이 필요하다.

[0004] 신경 세포의 손상을 유발하는 요인은 산화적 스트레스, 면역력 저하, 유전적 요인, 염증반응 등 다양하다. 이 중 산화적 스트레스는 신경세포를 손상시키는 주요 원인 중 하나로서 신경세포 내 활성산소종(ROS)를 증가시켜 활성산소종의 항상성을 파괴함으로써 신경세포의 손상을 야기한다.

[0005] 이러한 기술적 배경 하에서 천연물 유래의 기억력 개선 및 신경질환 예방용 조성물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나(KR 공개특허 10-2020-0008977), 아직은 미비한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 일 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 다른 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 또 다른 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 또 다른 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 일 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 조성물을 제공한다.

[0013] 본 명세서 내 용어, "약콩"은 껍질이 까맣고 크기는 보통 검은콩보다 작은 소립 검정콩을 말하며, 쥐눈이콩, 소청자, 약선콩, 다원콩, 소청 2호 등이 있으며 보통 검은콩보다 훨씬 작지만, 이소플라본 계열 유용성분인 제니스테인(genistein)과 다이드제인(daidzein)이 다른 검은 콩 보다 월등히 많이 포함되어 있다.

[0014] 상기 약콩은 발효 전, 전처리된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 약콩은 로스팅(roasting), 또는 분쇄를 수행하여 전처리된 것일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 전처리가 로스팅인 경우, 상기 로스팅은 100 내지 300℃의 온도 조건에서, 5 내지 30 분 동안 수행된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 로스팅은 100 내지 300℃, 100 내지 250℃, 100 내지 200℃, 100 내지 150℃, 150 내지 300℃, 150 내지 250℃, 150 내지 200℃, 200 내지 300℃, 160 내지 300℃ 또는 160 내지 250℃의 조건에서 수행된 것일 수 있다. 또한, 상기 로스팅은 5 내지 30 분, 5 내지 25 분, 5 내지 20 분, 5 내지 15 분, 5 내지 10 분, 7 내지 30 분, 7 내지 20 분, 또는 10 내지 30 분 동안 수행된 것일 수 있다. 이때, 로스팅 온도가 상기 범위 미만인 경우, 약콩의 향미가 유지되지 못하고, 퇴행성 신경질환 예방 및 기억력 개선 효능이 저하되는 문제점이 있으며, 상기 범위를 초과하는 경우, 약콩의 쓴맛이 강해지는바, 소비자 선호도가 감소하는 문제점이 있다. 또한, 로스팅 시간이 상기 범위 미만인 경우, 식품조성물로 적용할 경우 맛의 안정성이 유지되지 못하는 문제점이 있으며, 상기 범위를 초과하는 경우, 약콩이 탄화되는 문제점이 있다.

[0015] 본 명세서 내 용어, "비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주"는 한국인 영유아의 분변으로부터 분리된 것으로서, 베타-글루코시다아제(β-glucosidase)의 생산 능력이 우수한 바, 쌀, 보리, 우유, 콩, 인삼 등과 해조류, 목질계 등을 포함하는 바이오매스 천연물에 대해 미생물 대사를 통해 유용물질로 생물 전환하는데 효과적으로 이용될 수 있다.

[0016] 일 구체예에 있어서, 상기 발효물은 발효 여과물 또는 발효 추출물을 포함하는 것일 수 있다.

[0017] 본 명세서 내 용어, "발효물"은 유산균을 이용하여 원재료를 물리적, 화학적인 방법으로 변성 또는 변형시키

는 것을 의미하며, 자연 하에서는 몇 만년이 걸려야 바뀔 수 있는 것을 단 며칠 또는 몇 개월 만에 원하는 결과물을 얻을 수 있는 분해 과정을 의미한다. 구체적으로, 상기 발효물은 약콩을 유산균 배양배지에 혼합하고 유산균을 접종 및 발효시켜 생산된 발효산물로서, 상기 유산균은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주인 것일 수 있다.

[0018] 상기 발효물은 상기 유산균에 의해 발효된 산물을 의미할 뿐만 아니라 약콩을 유산균으로 발효시킨 후 여과한 발효 여과물 또는 발효물을 용매로 추출한 발효 추출물을 포함하는 것일 수 있다.

[0019] 본 명세서 내 용어, "발효 추출물"은 상기 발효물을 추출하여 생성된 유용한 물질 자체를 의미할 수 있으며, 보다 구체적으로 발효 균주 및 발효물이 공존하는 발효 균주 배양 배지로부터 발효 균주를 원심분리하여 제거한 발효물, 상기 배양 배지로부터 발효 균주를 여과시킨 발효물, 상기 배양 배지로부터 발효 균주를 멸균 처리하고 이를 여과시킨 발효물, 상기 발효물을 희석시킨 희석액, 상기 발효물을 건조시킨 건조물을 추출하여 생성된 물질을 모두 포함할 수 있다. 본 명세서 내에서 용어 발효 추출물은 약콩 발효 추출물과 혼용될 수 있다.

[0020] 일 구체예에 있어서, 상기 발효 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것일 수 있다.

[0021] 일 구체예에 있어서, 상기 발효 추출물은 60% 내지 80% 에탄올로 추출한 것일 수 있다.

[0022] 상기 추출은 상기 균주로 발효된 약콩을 물, C1 내지 C4 저급알코올 또는 이들의 혼합물로 추출한 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 약콩의 추출에 사용되는 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것일 수 있다. 추출시 약콩을 세절한 후 물, 알코올 또는 이의 혼합물을 약콩 무게의 2배 내지 20배를 첨가하여 추출하는 것일 수 있다. 예를 들어, 3배 내지 10배를 첨가하여 추출하는 것일 수 있다. 추출온도는 30℃ 내지 100℃, 60℃ 내지 100℃. 30℃ 내지 90℃, 30℃ 내지 80℃, 60℃ 내지 90℃, 또는 60℃ 내지 80℃인 것일 수 있다. 추출시간은 1시간 내지 10시간, 2시간 내지 8시간, 2 내지 5시간, 3 내지 7시간 또는 4 내지 6시간인 것일 수 있다. 추출방법은 냉침, 초음파 추출 또는 환류 냉각 추출방법이 모두 이용 가능하다. 추출 횟수는 1회 내지 5회, 2회 내지 4회, 3 내지 5회 반복 추출하는 것일 수 있다.

[0023] 상기 약콩 발효 추출물은 60 내지 80% 에탄올로 추출한 것일 수 있다. 일 구체예에 있어서, 상기 약콩 발효물의 추출 조건에 따라 퇴행성 신경질환 예방 및 기억력 개선 효과를 비교한 결과, 열수 발효 추출물, 및 5% 내지 70% 에탄올로 추출된 발효 추출물 모두 우수한 효과를 나타내었고, 특히, 70% 에탄올로 추출된 발효 추출물이 가장 높은 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0024] 일 구체예에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 알코올 중독(alcoholism), 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson's disease), 루게릭병(Lou Gehrig's disease), 헌팅턴병(Huntington's disease), HIV 연관 치매(HIV-associated dementia), 루이체 치매(Lewy body dementia), 다발성 경화증(multiple sclerosis), 프리온 질환(Prion disease), C형 니이먼-픽씨병 (Niemann-Pick Type C, NPC) 및 간질(epilepsia) 질환으로 이루어진 것으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[0025] 다른 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 식품 조성물을 제공할 수 있다.

[0026] 일 구체예에 따른 퇴행성 신경질환 예방 및 기억력 개선용 식품 조성물에 있어서, 상기 약콩 발효물을 식품 조성물의 첨가물로 사용하는 경우 이를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 예방, 건강 또는 치료 등의 각 사용 목적에 따라 적합하게 결정할 수 있다.

[0027] 식품 조성물의 제형은 산제, 과립제, 환, 정제, 캡슐제의 형태뿐만 아니라 일반 식품 또는 음료의 형태 어느 것이나 가능하다.

[0028] 상기 식품의 종류에는 특별히 제한은 없고, 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸콜렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함할 수 있다.

[0029] 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 상기 약콩 발효물은 원료 100 중량부에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가할 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을

목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 또한 본 발명은 천연물로부터의 분획물을 이용하는 점에서 안전성 면에서 문제가 없으므로 상기 범위 이상의 양으로도 사용할 수 있다.

[0030] 일 구체예에 따른 식품 조성물 중 음료는 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드 및 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명에 따른 음료 100 mL당 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g일 수 있다.

[0031] 상기 외에 일 구체예에 따른 퇴행성 신경질환 예방 및 기억력 개선용 식품 조성물은 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 탄산화제를 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 퇴행성 신경질환 예방 및 기억력 개선용 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 제한되지 않으나 상기 식품 조성물 100 중량부 대비 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0033] 다른 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 사료 조성물을 제공한다.

[0034] 상기 사료 조성물은 투여를 위해서 약콩 발효물 이외에 추가로 구연산, 푸마르산, 아디프산, 젖산 등의 유기산; 인산칼륨, 인산나트륨, 중합 인산염 등의 인산염; 폴리페놀, 카테친, 토코페롤, 비타민 C, 녹차 추출물, 키토산, 탄니산 등의 천연 항산화제 중 1종 이상을 혼합하여 사용할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 또는 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0035] 또한, 상기 사료 조성물은 보조성분으로 아미노산, 무기염류, 비타민, 항산화제, 항진균제, 항균제 등과 같은 각종 보조제 및 분쇄 또는 파쇄된 밀, 보리, 옥수수 등의 식물성 단백질 사료, 혈분, 육분, 생선분 등의 동물성 단백질 사료, 동물성 지방 및 식물성 지방 같은 주성분 이외에도 영양 보충제, 성장 촉진제, 소화 흡수 촉진제, 질병 예방제와 함께 사용될 수 있다.

[0036] 상기 사료 조성물을 사료 첨가물로 사용할 경우, 상기 사료 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 사료 조성물의 투여 형태는 비독성 제약상 허용 가능한 담체와 조합하여 즉시 방출 또는 서방성 제형으로 제조할 수 있다. 이러한 식용 담체는 옥수수 전분, 락토스, 수크로스, 프로필렌 글리콜일 수 있다. 고체형 담체의 경우에는 정제, 산제, 토로키제 등의 투여 형태일 수 있으며 액체형 담체의 경우에는 시럽제, 액체 현탁액제, 에멀젼제, 용액제 등의 투여 형태일 수 있다. 또한, 투여제는 보존제, 윤화제, 용액 촉진제, 안정화제를 함유할 수 있으며 다른 염증 질환 개선제 및 바이러스 예방상 유용한 물질을 함유할 수도 있다.

[0037] 상기 사료 조성물은 포유류, 가금류, 어류 및 갑각류를 포함하는 다수의 동물 식이 즉, 사료에 적용할 수 있다. 상업용으로 중요한 돼지, 소, 염소 등의 포유류, 코끼리, 낙타 등의 동물원 동물, 개, 고양이 등의 가축에게 사용할 수 있다. 상업적으로 중요한 가금류에는 닭, 오리, 거위 등이 포함되며, 송어와 새우와 같은 상업적으로 사육되는 어류 및 갑각류를 포함 할 수 있다.

[0039] 또 다른 양상은 약콩에 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 LDTM 8102 (KCTC13392BP) 균주를 접종하여 발효시킨, 약콩 발효물을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 신경질환 개선용 약학 조성물을 제공한다.

[0040] 본 명세서 내 용어, "약학 조성물"이란, 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각의 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽 등의 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 구체적으로, 점안투여하기 적합한 형태, 예를 들어, 점안제, 크림제, 연고제, 겔제 또는 로션제로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0041] 상기 약학 조성물은, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함하는 창상 예방 또는 치료용 약학 조성물의 형태로 제조될 수 있는데, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occuring carrier)를 포함할 수 있다.

[0042] 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 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.

[0043] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 상엽 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 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 사용될수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0045] 일 양상에 따른 조성물은 신경질환 예방 및 기억력 개선에 이용될 수 있다. 구체적으로, 신경세포 사멸을 억제하여 퇴행성 뇌질환을 예방하고 기억력을 개선하는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102(수탁번호: KCTC13392BP)를 이용하여 약콩 발효물을 제조하는 공정을 대략적으로 나타낸 도면이다.

도 2는 약콩 미발효물과 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis) KCTC5854 유산균 (Ref.)을 이용하여 발효한 실시예 1의 약콩 발효물의 신경세포 보호 활성 효과를 MTT assay를 통해 비교 측정한 결과이다.

도 3은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis) KCTC5854 유산균 (Ref.)을 이용한 비교예 1의 약콩 발효물과 실시예 1의 약콩 발효물의 신경세포 보호 활성 효과를 MTT assay를 통해 비교 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0050] **[실시예]**

[0051] **실시예 1. 약콩 발효물의 제조**

[0052] 한국인 유아의 분변에서 분리한 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102(수탁번호: KCTC13392BP)를 이용하여 약콩 발효물을 제조하였다. 구체적으로, 글리세롤과 혼합하여 -80℃에서 냉동 보관 중인 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102(수탁번호: KCTC13392BP) 보존액을 MRSC 배지에 접종하여 37℃, 혐기 조건에서 20 내지 24시간 동안 정치하는 전 배양 과정을 수행하였다. 이후, 50 g/L의 약콩 분말에 전 배양 과정을 수행하여 활성을 높인 상기 균주 배양액을 접종한 후, 37℃로 유지된 혐기 조건에서 진탕배양 하였다. 발효 과정에서 수집된 시료들을 열처리 공정을 거쳐 동결건조 하였고, 상기 시료를 0.5 g 당 10㎖의 비율로 0, 5, 10, 30, 50, 및 70% 발효주정(식물성 알코올)을 각각 첨가하여 75℃에서 2시간 동안 중탕한 후, 각각 추출하였다. 이후, 상온에서 1시간 정도 방치하여 식힌 뒤, 5000 rpm으로 10분 간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 분리된 상층액을 0.2 ㎛ syrine filter를 이용하여 여과하고, 40℃ 감압농축기에서 주정을 모두 제거한 후 동결건조하여 분말화 하였다. 이후, 상기 동결건조된 분말을 50% DMSO에 용해하여 약콩 발효 물로 사용하였다. 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis.) LDTM 8102(수탁번호:

KCTC13392BP)를 이용하여 약콩 발효물을 제조하는 전반적인 공정을 도 1에 나타내었다.

[0054] **비교예 1. 약콩 발효물의 제조**

[0055] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis) KCTC5854 유산균 (Ref.)을 이용하여 약콩을 발효하였다는 점을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 약콩 발효물을 제조하였다.

[0057] **[실험예]**

[0058] **실험예 1. 약콩 발효물의 신경세포 보호 효과의 확인**

[0059] 상기 실시예 1 의 약콩 발효물의 신경세포 보호 효과를 확인하고, 실시예 1과 약콩 미발효물과 그 효과를 비교하기 위하여 하기와 같은 실험을 실시하였다.

[0060] 식품의약품안전처의 건강기능식품 기능성 평가 가이드라인에서 제시하는 바이오마커인 신경세포 생존율 분석을 수행하였다. 약콩 발효물이 산화적 스트레스로부터 신경세포 사멸 억제에 미치는 영향을 확인하기 위해 쥐 해마 신경세포주(immortalized mouse hippocampal cell)인 HT-22 세포를 96-well plate에 분주(seeding)하고 neurobasal로 24시간 동안 배양시킨 후, 24시간 동안 starvation을 통해 세포 상태를 동일화시킨 다음 과산화수소(H_2O_2) 35 μM 와 실시예 1 및 약콩 미발효물 샘플을 40 및 80 $\mu g/m\ell$씩 처리하여 22시간 동안 배양하였다. 그 후 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromide) 용액을 10 $\mu\ell$씩 넣고 2시간 동안 반응시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 확인하였다.

[0061] 그 결과 도 2에 나타난 바와 같이, 약콩 미발효물보다 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis) KCTC5854 유산균 (Ref.)을 이용하여 발효한 실시예 1의 약콩 발효물이 신경세포 사멸을 억제함으로써 신경세포를 더욱 효과적으로 보호하는 것을 확인할 수 있었다.

[0063] **실험예 2. 약콩 발효물의 신경세포 보호 효과의 확인**

[0064] 상기 실시예 1 의 약콩 발효물의 신경세포 보호 효과를 확인하고, 실시예 1과 다른 유산균을 이용하여 제조된 비교예 1과 그 효과를 비교하기 위하여 하기와 같은 실험을 실시하였다.

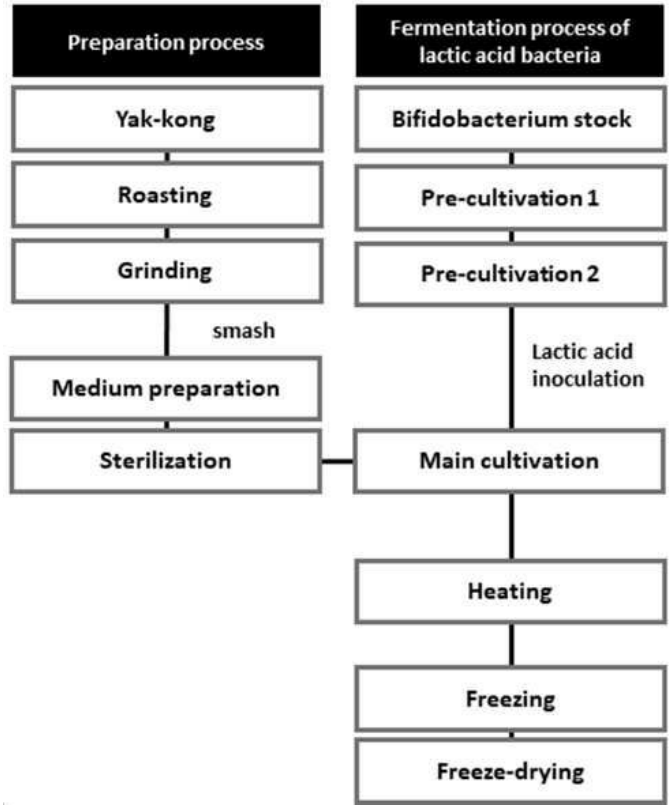
[0065] 식품의약품안전처의 건강기능식품 기능성 평가 가이드라인에서 제시하는 바이오마커인 신경세포 생존율 분석을 수행하였다. 약콩 발효물이 산화적 스트레스로부터 신경세포 사멸 억제에 미치는 영향을 확인하기 위해 쥐 해마 신경세포주(immortalized mouse hippocampal cell)인 HT-22 세포(실험예 1 대비 더 젊은 세포)를 96-well plate에 분주(seeding)하고 neurobasal로 24시간 동안 배양시킨 후, 24시간 동안 starvation을 통해 세포 상태를 동일화시킨 다음 과산화수소(H_2O_2) 40 μM 와 실시예 1 및 비교예 1의 약콩 발효물 샘플을 40 및 80 $\mu g/m\ell$씩 처리하여 22시간 동안 배양하였다. 그 후 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromide) 용액을 10 $\mu\ell$씩 넣고 2시간 동안 반응시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 확인하였다.

[0066] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스(*Bifidobacterium animalis subsp.* Lactis) KCTC5854 유산균 (Ref.)을 이용한 비교예 1의 약콩 발효물보다 실시예 1의 약콩 발효물이 신경세포 사멸을 억제함으로써 신경세포를 더욱 효과적으로 보호하는 것을 확인할 수 있었다.

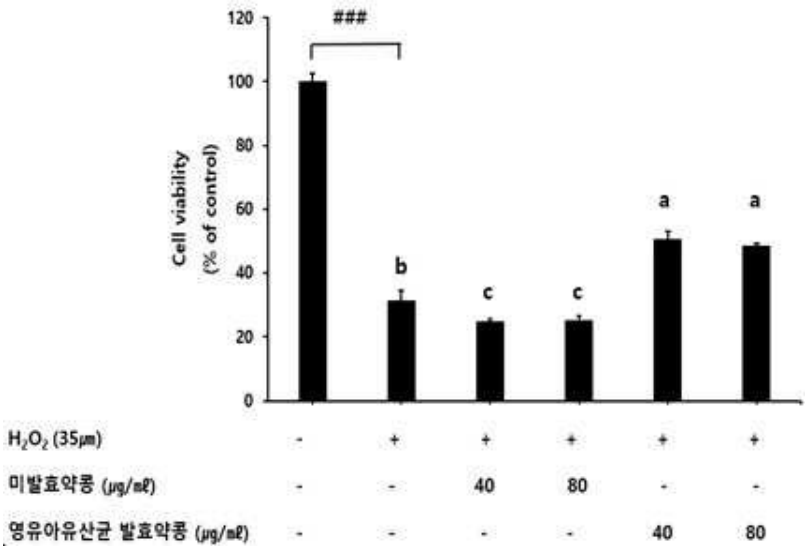
[0067] 즉, 상기 결과로부터 일 양상에 따른 실시예 1의 약콩 발효물은 발효되지 않은 약콩 추출물뿐만 아니라, 다른 종류의 유산균을 이용하여 발효된 약콩 발효물에 비해서도 현저히 증가된 퇴행성 신경질환 예방 및 기억력 개선 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다.

도면

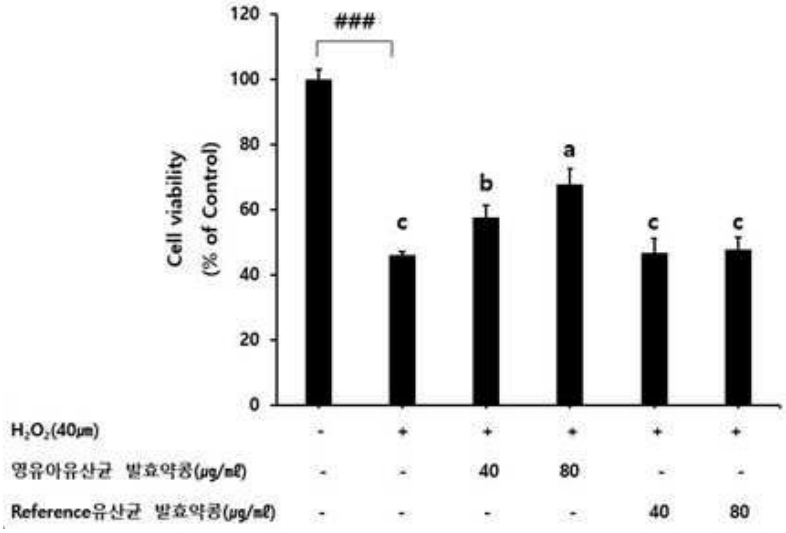
도면1


Preparation process
Yak-kong
Roasting
Grinding
smash
Medium preparation
Sterilization
Fermentation process of lactic acid bacteria
Bifidobacterium stock
Pre-cultivation 1
Pre-cultivation 2
Lactic acid inoculation
Main cultivation
Heating
Freezing
Freeze-drying

도면2


###
Cell viability (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
a
a
b
c
c
H2O2 (35㎛)
미발효약콩 (㎍/㎖)
영유아유산균 발효약콩 (㎍/㎖)

도면3


###
Cell viability
(% of Control)
120
100
80
60
40
20
0
a
b
c
c
c
H2O2(40μm) - + + + + +
영유아유산균 발효액농(μg/ml) - - 40 80 - -
Reference유산균 발효액농(μg/ml) - - - - 40 80

도면4

삭제