



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년06월03일
(11) 등록번호 10-2671740
(24) 등록일자 2024년05월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2022.01) A23L 33/105 (2016.01)
A23L 33/135 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2022.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2021-0081711
(22) 출원일자 2021년06월23일
심사청구일자 2021년06월23일
(65) 공개번호 10-2022-0170631
(43) 공개일자 2022년12월30일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020040087802 A*
KR1020200112840 A*
권유리 외 5명, 한국식품영양과학회지 43(3):
389~396(2014)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 에치와이
서울특별시 서초구 강남대로 577 (잠원동)
(72) 발명자
라계현
경기도 시흥시 은계중앙로 325
최일동
경기도 용인시 기흥구 금화로58번길 10
(74) 대리인
박혁
(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 4 항

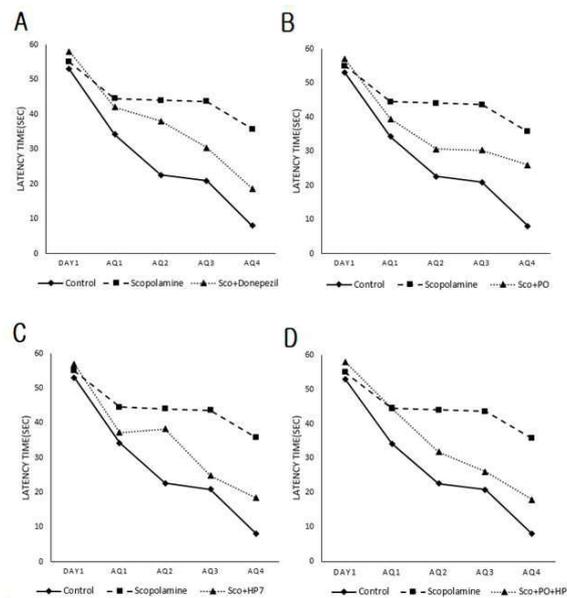
심사관 : 장은경

(54) 발명의 명칭 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7을 포함하는 인지기능 개선용 식품 조성물

(57) 요약

본 발명은 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 상기 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7을 포함하는 조성물은 염증유발인자인 아밀로이드 베타를 억제하고 인지 능력 개선 효과가 있으므로 인지 능력 개선용 식품 조성물 또는 뇌 신경질환 개선용 조성물로 활용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/135 (2016.08)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/322 (2013.01)
A23V 2300/14 (2013.01)
A23V 2400/165 (2023.08)

심재중

경기도 용인시 수지구 신봉2로 26 신봉자이1차 11
4동 1002호

이정열

경기도 양평군 서종면 통점길 63

(72) 발명자

허건

경기도 수원시 영통구 센트럴타운로 85번길

박수동

경기도 용인시 기흥구 사은로126번길 33, 신창이선
빌 205-1903

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1545019135
과제번호	318027042HD040
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	고부가가치식품기술개발(R&D)
연구과제명	프로바이오틱스 및 인지기능 개선 소재 함유 유제품 생산 및 산업화
기여율	1/1
과제수행기관명	주식회사 에치와이
연구기간	2019.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7을 포함하는 인지 능력 개선용 식품 조성물로,
상기 락토바실러스 파라카제이 HP7은 기탁번호 KCTC 13143BP로 기탁된 균주인 것인,
식품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,
상기 쇠비름 추출물은 쇠비름의 잎, 줄기, 꽃, 열매 및 진초로 이루어진 균에서 선택되는 어느 하나 이상의 부위에서 추출되는 것인,
인지 능력 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,
상기 추출물은 물, C₁~C₄의 알코올 및 이들의 혼합용매로 이루어진 균으로부터 선택된 추출용매로 추출한 것인,
인지 능력 개선용 식품 조성물.

청구항 4

쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7을 포함하는 뇌 신경질환 개선용 식품 조성물로,
상기 뇌 신경질환은 알츠하이머 질환 및 기억 장애인 것인,
상기 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7은 기탁번호 KCTC 13143BP로 기탁된 균주인 것인,
식품 조성물.

청구항 5

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7을 포함하는 인지기능 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인지기능의 능력을 상실하는 인지기능 장애는 치매(dementia)와 경도인지장애(mild cognitive impairment)로 나눌 수 있다. 경도인지장애의 발생 이전에 이미 신경세포를 사멸시키는 과정이 진행되고 있지만, 이 시기에는 일

상생활을 영위하는데 지장이 없고, 정신기능도 정상적으로 유지되어 정상 노화로 인한 기억력 장애와 구별하기 어렵다. 따라서 경도인지장애의 상태는 현재 정상과 알츠하이머병의 중간 정도의 인지기능의 장애를 의미하고, 매년 15% 정도가 치매의 증상으로 발전하게 된다. 이에 따라, 치매는 2050년에 세계 치매 환자가 21013년 대비 3.1배인 1억 명을 넘을 것으로 전망되어 사회적 관심사로 떠오르고 있다.

[0003] 치매는 특정 질환명이 아니고 여러 원인으로 인한 뇌손상으로 기억력을 대표로한 여러 인지기능 장애가 생겨 예전 수준의 일상생활을 유지할 수 없는 상태를 나타내는 포괄적인 용어이다. 이 중, 치매의 주요 원인 질환으로 퇴행성 뇌질환인 알츠하이머는 치매의 50% 이상을 차지하며, 알츠하이머로 인한 비가역적인 행동과 인성의 변화, 사고능력의 저하와 같은 증상의 정확한 원인과 치료법이 밝혀지지 않았지만, 신경전달체제인 콜린성 신경계의 기능저하와 염증반응에 의한 베타-아밀로이드(β -amyloid) 단백질 축적 및 산화성 스트레스 등이 보고되었다(Lancet, 21, 1403, 1976; J. Biol. Chem., 273, 29719, 1988; Science, 262, 689, 1993).

[0004] 그러나, 현재까지 치매의 원인 및 그 치료법에 대한 광범위하고 다양한 연구가 진행되었지만, 원인규명이 미비하고 효과적인 치료법의 개발 또한 미진하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 공개공보 제10-2018-0130868호(2018.12.10)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 일 양상은 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7로 이루어진 균에서 하나 이상 선택되는 것을 포함하는 인지 능력 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 다른 양상은 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7로 이루어진 균에서 하나 이상 선택되는 것을 포함하는 뇌 신경질환 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 일 양상은 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7로 이루어진 균에서 하나 이상 선택되는 것을 포함하는 인지 능력 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 상기 쇠비름은 쌍떡잎식물 중심사목 쇠비름과의 한해살이풀로, 오행초, 마치해, 산산채, 장명채, 돼지풀, 도둑풀, 발비름이라고도 할 수 있으며, 온대 지역에서 열대지역까지 걸쳐 분포할 수 있다.

[0010] 일 구체예에 따르면, 상기 쇠비름 추출물은 쇠비름의 잎, 줄기, 꽃, 열매 및 전초로 이루어진 균에서 선택되는 어느 하나 이상의 부위에서 추출되는 것일 수 있다.

[0011] 일 구체예에 따르면, 상기 추출물은 물, C₁-C₄의 알코올 및 이들의 혼합용매로 이루어진 균으로부터 선택된 추출용매로 추출한 것일 수 있다. 예를 들면, 물로 열수 추출한 것일 수 있다.

[0012] 상기 추출물은 열수추출, 냉침 추출, 환류 냉각추출 또는 초음파 추출 등의로 사용 방법을 사용하여 추출할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0013] 상기 락토바실러스 파라카제이 HP7은 MRS 한천평판배지에서 37℃ 에서 2일간 배양했을 때 구균 형태로 운동성이 없으며, 포자 형성능력이 없고, 그람(Gram) 염색시 양성을 띠는 특성을 가질 수 있다. 또한, 균의 형태는 원형으로 볼록할 수 있으며, 매끄러운 표면을 가지는 형태일 수 있다. 상기 락토바실러스 파라카제이 HP7은 최적 생장 온도는 37℃ 이며, 생장 가능 생육온도는 20~45℃ 일 수 있으며, 생장 가능 pH는 4.5 내지 10이나 최적의 생장 pH는 5.0 내지 6.0이며, 통성 혐기성일 수 있다. 상기 락토바실러스 파라카제이 HP7은 대한민국 등록공보 제 10-1823459호에서 기탁번호 KCTC 13143BP로 개시된 것일 수 있다.

[0014] 상기 하나 이상 선택되는 것은 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 중 하나를 포함하는 것일 수도 있고, 쇠비름 추출물과 락토바실러스 파라카제이 HP7을 포함하는 것일 수도 있다.

- [0015] 상기 인지는 지식과 정보를 효율적으로 조작하는 능력으로, 뇌를 이용해 생각하고, 말하고, 기억하고, 판단하고, 실행하는 모든 과정을 의미한다. 상기 인지 능력은 기억력, 학습능력 또는 공간지각능력일 수 있으며, 상기 기억력은 장기기억력 또는 단기기억력일 수 있다.
- [0016] 상기 개선은 상기 쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7로 이루어진 균에서 하나 이상 선택되는 것을 포함하는 조성물을 이용하여 인지 능력 퇴화 또는 저하가 의심되거나 이미 퇴화 또는 저하가 일어난 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 의미하는 것이다.
- [0017] 본 발명의 조성물이 식품 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로써 쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7 외에, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어, 말토오스, 수크로오스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어, 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 향미제로서 천연 향미제[타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.
- [0018] 예를 들어, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 녹용 추출물의 유산균 발효물 외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액 및/또는 감초 추출액 등이 추가로 포함될 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명의 식품 조성물은 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, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0020] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 본 발명의 식품 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0021] 일 구체예에 따르면 상기 식품 조성물은 건강기능식품, 기능성 음료, 야채주스, 발효유일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0022] 다른 양상은 쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7로 이루어진 균에서 하나 이상 선택되는 것을 포함하는 뇌 신경질환 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0023] 상기 쇄비름, 쇄비름 추출물, 추출물, 락토바실러스 파라카제이 HP7 및 식품 조성물에 대한 설명은 상기 개시되어 있는 것과 동일하다.
- [0024] 일 구체예에 따르면, 상기 뇌 신경질환은 알츠하이머 질환, 헌팅턴 무도병, 파킨슨 질환, 노인성 치매, 전두측두성 치매, 혈관성 치매, 우울증, 기억 장애, 주의력 장애 및 인지기능 장애인 것일 수 있다.
- [0025] 상기 개선은 쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7로 이루어진 균에서 하나 이상 선택되는 것을 포함하는 조성물을 이용하여 뇌 신경질환의 발병을 억제 또는 지연시키거나, 뇌 신경질환을 호전시키는 모든 행위를 의미한다.

발명의 효과

- [0026] 본 발명에 따른 쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7을 포함하는 조성물은 염증유발인자인 아밀로이드 베타를 억제하고 인지 능력 개선 효과가 있으므로 인지 능력 개선용 식품 조성물 또는 뇌 신경질환 개선용 조성물로 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 모리스 수중미로에서 학습 시험을 한 데이터로, A는 양성대조군, B는 쇄비름 추출물 투여군, C는 락토바실러스 파라카제이 HP 투여군, D는 쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP 투여군을 양성대조군 및 인지 저하군과 비교한 데이터이다. (Control: 대조군, Scopolamine: 인지저하군, Sco+Donepezil: 양성대조군, Sco+PO: 쇄비름 추출물 투여군, Sco+HP7: 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군, Sco+HP7+PO: 쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군 이하 동일)
- 도 2는 모리스 수중미로에서 추적 시험을 한 데이터를 그래프로 나타낸 것이다.

도 3은 각 처리군의 마우스들의 행동실험이 끝난 후, 마우스들의 뇌에서 뇌유래영양인자인 BDNF의 수치를 확인한 데이터이다.

도 4는 각 처리군의 마우스들의 행동실험이 끝난 후, 마우스들의 뇌에서 염증 유발 인자인 β -아밀로이드의 수치를 확인한 데이터이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통해 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0030] **실시예 1. 쇄비름 추출물 제조**

[0031] 건조된 쇄비름 전초 100g을 분쇄하여 증류수 1,000mL와 함께 95°C에서 6시간 이상 환류 및 교반 추출하였다. 추출한 쇄비름 열수추출물을 20 mesh의 1차 진동체 여과 후 2차 퍼라이트(perlite)로 흡착 및 여과한후, 건조하여 분말 형태의 쇄비름 추출물을 얻었다.

[0033] **실시예 2. 동물 실험 준비**

[0034] C57BL/6 마우스 30마리를 이용하여 인지 개선 시험을 하였다. 마우스를 무작위로 6마리씩 하기 표 1과 같이 6개의 처리군으로 나눴다.

표 1

처리군	투여 시료 종류 및 투여량
대조군	무처리
인지저하군	Scopolamine 1 mg/kg 투여
양성대조군	Scopolamine 1 mg/kg 및 Donepezil 5 mg/kg 투여
쇄비름 추출물 투여군	Scopolamine 1 mg/kg 및 쇄비름 추출물 100 mg/kg 투여
락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군	Scopolamine 1 mg/kg 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 10^8 CFU/mice 투여
쇄비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군	Scopolamine 1 mg/kg, 락토바실러스 파라카제이 HP7 10^8 CFU/mice 및 쇄비름 추출물 100 mg/kg 투여

[0036] 상기 마우스 36마리 중 대조군을 제외한 30마리는 스코폴라민(Scopolamin)을 1mg/kg으로 8 일차에서 13일차까지 매일 동일한 시간에 복강 내 투여(i.p)하여 기억력 장애를 유도하였다. 또한, 각 처리군의 투여 시료에 따라 1 일차에서 13일차까지 시료를 투여하였다. 도네페질(Donepezil)은 경구로 투여하였고, 쇄비름 추출물은 100 mg/kg으로 경구투여 하였으며, 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*) HP7은 마우스당 10^8 CFU로 PBS 10 ml에 희석하여 경구투여 하였다.

[0038] **실시예 3. 모리스 수중 미로 시험-학습 시험(Acquisition test) 및 추적 시험(Probe test)**

[0039] 모리스 수중 미로 시험은 모리스에 의해 고안된 방법을 기초로 실시하였다. 직경 90cm, 높이 45cm 스테인레스에 22°C 물을 채워 수면 높이를 30cm가 되도록 하였다. 직경 9cm의 플랫폼은 수면 아래 1cm 지점에 위치하도록 하였다.

[0040] 학습시험은 8일차부터 5일간 실시하였고, 일자별로 플랫폼에 도달하는 시간을 비교하여 인지능의 정도를 평가하였다. 첫날은 한 방향에서 플랫폼에 도달한 시간을 기록하였고, 다음날(AQ1)부터 총 4일동안 하루에 4번의 훈련을 실시하였다. 한 개체 당 전체 수영시간은 60초로 설정하였으며, 60초 이내에 플랫폼을 찾은 개체는 10초가 플랫폼 위에서 머무르도록 하여 이때의 latency는 60초로 하였다.

[0041] 13일차에는 추적시험을 실시하여 공간지각능력(latency to target)을 측정하였다. 결과는 각 처리군의 평균값으로 도출하였으며, 분석은 SMART VIDEO TRACKING Software(Panlab, USA)을 이용하여 실시하였다.

[0042] 학습시험 결과는 도 1에서 보이는 바와 같이, 무처리군의 경우 학습시험 첫날(8일차) 플랫폼에 도달하는 시간이 53초였으나, 다섯째 날인 AQ4(12일차)에는 8초 대를 기록하였다. 반면, 스코폴라민만 처리한 인지저하군에서는 다섯째 날인 AQ4에도 약 35초정도로 플랫폼에 도달하는 시간 감소가 무처리군 대비 현저히 저하되었다는 것을

확인하였다. 학습 5일차(AQ4)를 기준으로 보았을 때, 쇠비름 추출물 투여군의 경우 25초, 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군의 경우 18초, 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군의 경우 17초인 것을 확인하였으며, 이를 통해 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7이 스코폴라민 처리로 인한 인지저하를 억제하는 것을 확인하였다.

[0043] 추적시험 결과는 도 2에서 보이는 바와 같이, 대조군의 경우 8초인 반면, 인지저하군의 경우 41초로 플랫폼에 도달한 시간이 현저히 증가한 것을 확인하였다. 그러나 쇠비름 추출물 투여군, 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군, 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군의 경우 양성대조군과 비슷할 정도로 플랫폼에 도달하는 시간이 감소되는 것을 확인하였으며, 그 중 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군의 경우 11초로 양성대조군 대비 플랫폼에 도달하는 시간이 현저히 감소되는 것을 확인하였다.

[0045] **실시예 4. 해마 내 β -아밀로이드 감소 효과 확인**

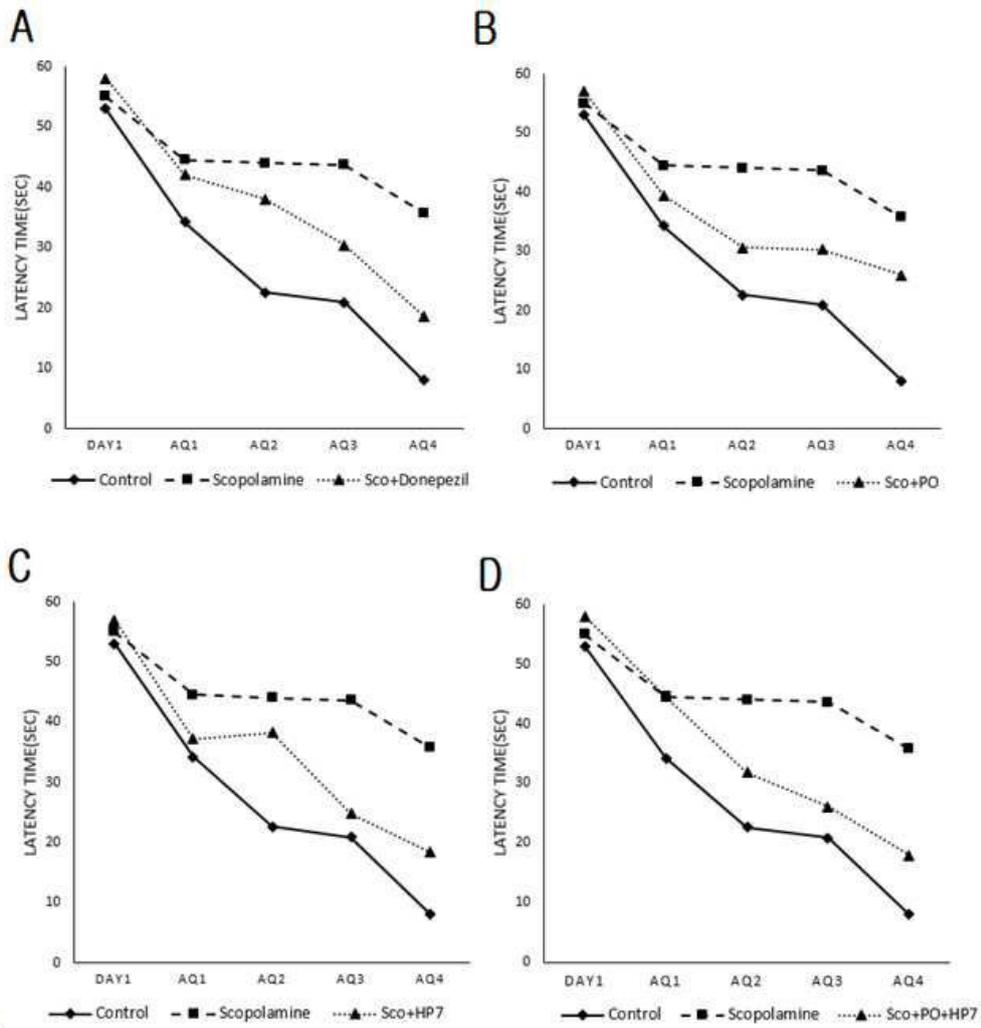
[0046] 모든 행동 실험이 종료된 후, PBS를 사용하여 관류를 실시하고 뇌를 적출하였다. 적출한 뇌에서 해마(hippocampus)만 분리하여 -70°C 에 보관하였다. 분리한 마우스의 뇌 해마조직을 균질화한 후 Elisa kit(R&D systems, USA)를 이용하여 뇌유래영양인자인 BDNF와 염증유발인자인 $\text{A}\beta 40$ 을 측정하였다.

[0047] 그 결과, 도 3에서 보이는 바와 같이, 인지저하군에서는 284 pg/ml로 떨어지는 반면, 쇠비름 추출물 투여군, 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군, 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군의 경우 BDNF 농도가 인지저하군 대비 현저히 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 그 중 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군의 경우 양성대조군의 수치인 403 pg/ml보다 현저히 증가한 수치인 423 pg/ml를 나타내는 것을 확인하였다.

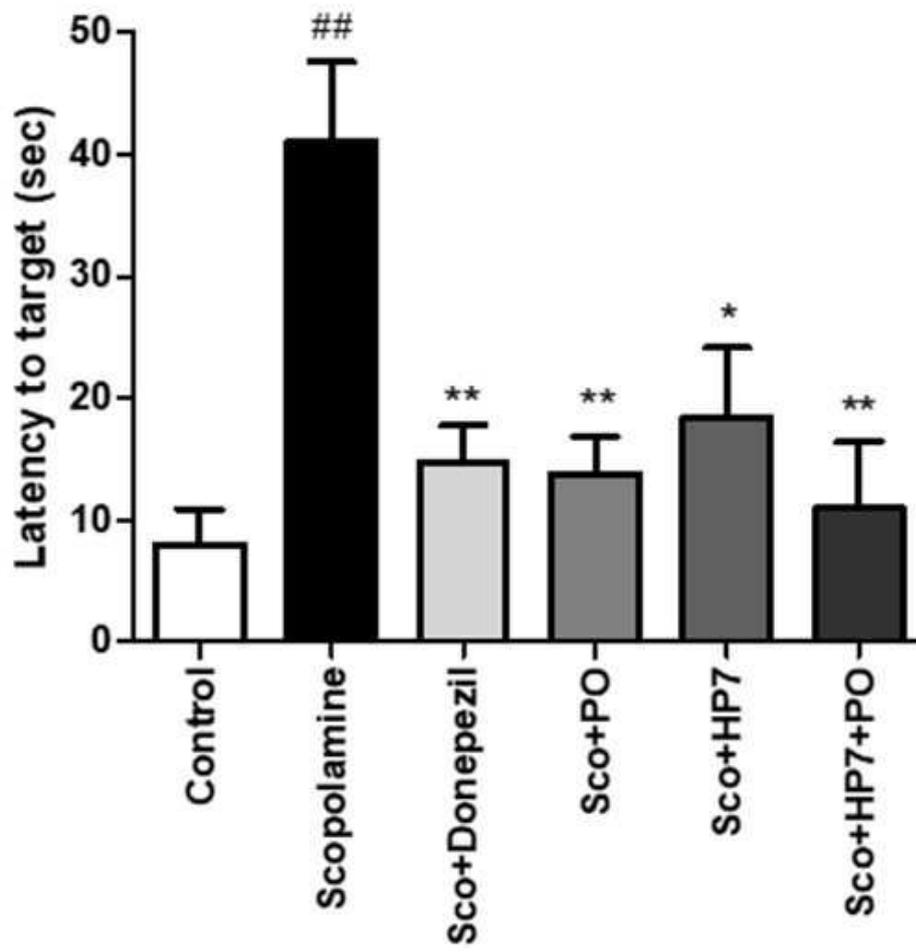
[0048] 또한, 도 4에서 보이는 바와 같이, $\text{A}\beta 40$ 의 경우에는 쇠비름 추출물 투여군, 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군, 쇠비름 추출물 및 락토바실러스 파라카제이 HP7 투여군 모두에서 대조군 및 양성대조군보다도 더 낮은 수치를 나타내는 것을 확인하였다.

도면

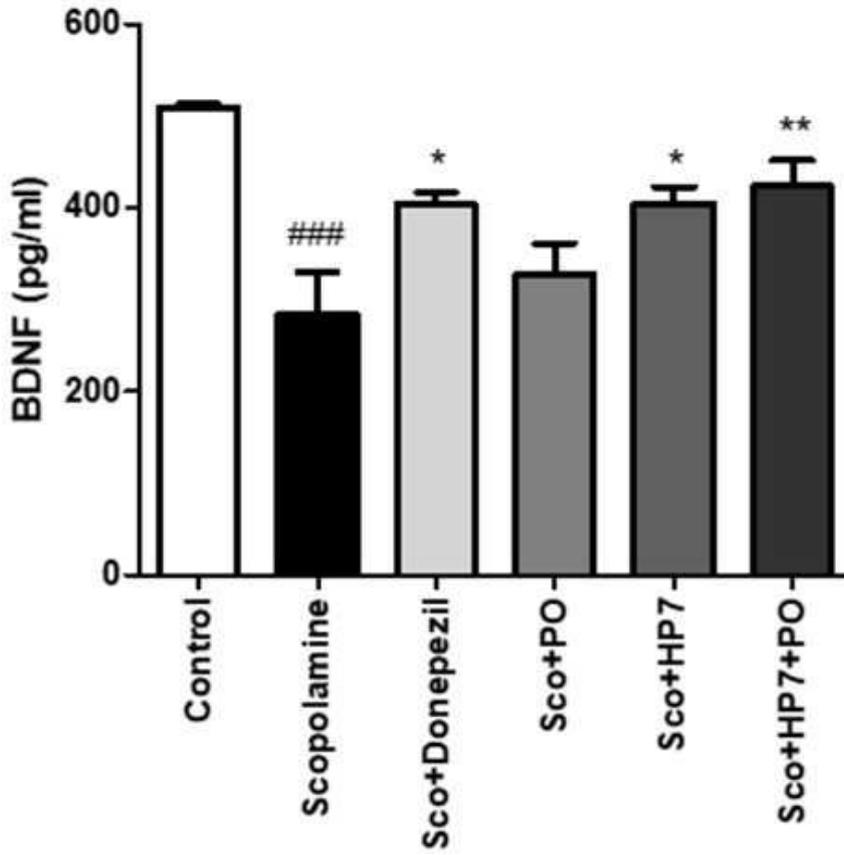
도면1



도면2



도면3



도면4

