



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0042403  
(43) 공개일자 2022년04월05일

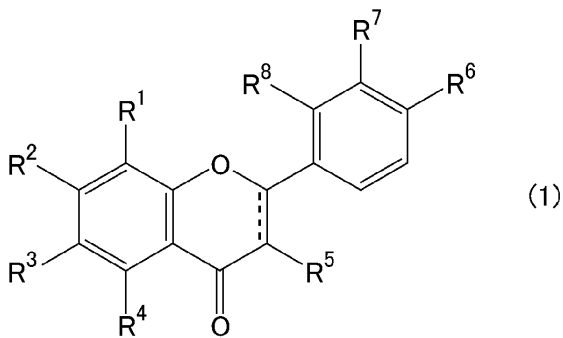
<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 31/352 (2006.01) A61K 31/353 (2006.01) A61P 19/04 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 A61K 31/352 (2013.01) A61K 31/353 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7006304</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2020년07월21일 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2022년02월24일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/JP2020/028306</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2021/024801 국제공개일자 2021년02월11일</p> <p>(30) 우선권주장 JP-P-2019-143144 2019년08월02일 일본(JP)</p>	<p>(71) 출원인 산토리 홀딩스 가부시키키가이샤 일본 오사카후 오사카시 기타쿠 도지마하마 2초메 1방 40고</p> <p>(72) 발명자 오츠카 유타 일본 619-0284 교토후 소라쿠군 세이카쵸 세이카다이 8-1-1 산토리 월드 리서치 센터 나이 후나키 아유타 일본 619-0284 교토후 소라쿠군 세이카쵸 세이카다이 8-1-1 산토리 월드 리서치 센터 나이</p> <p>(74) 대리인 김진희, 김태홍</p>
--	--

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **연골 재생 촉진용 조성물**

(57) 요약

본 발명은, 연골 재생을 촉진하는 연골 재생 촉진용 조성물 및 연골 재생 촉진 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다. 본 발명은, 하기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 유효 성분으로서 포함하는 연골 재생 촉진용 조성물 등에 관한 것이다.



(하기 식 중, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는, 각각 독립적으로 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6</sup>은, 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

(52) CPC특허분류

*A61P 19/04* (2018.01)

*A61P 43/00* (2018.01)

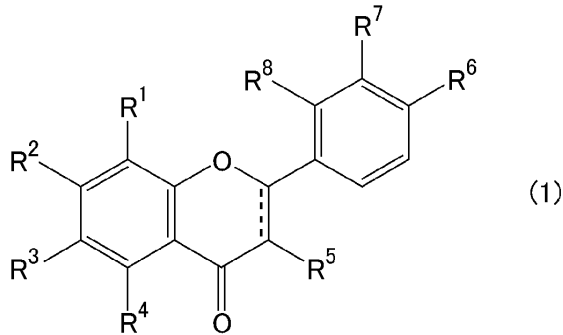
---

명세서

청구범위

청구항 1

하기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 유효 성분으로서 포함하는 연골 재생 촉진용 조성물:



(상기 식 중, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는, 각각 독립적으로 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6</sup>은, 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

청구항 2

제1항에 있어서, 연골세포로의 분화를 촉진하는 연골 재생 촉진용 조성물.

청구항 3

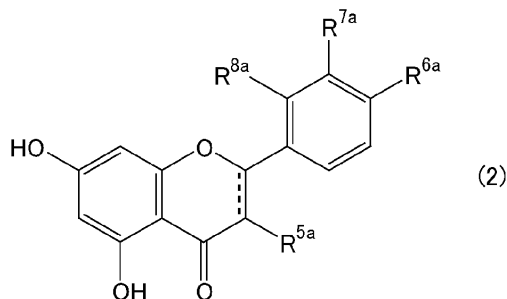
제1항 또는 제2항에 있어서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>3</sup>은 수소 원자를 나타내는 연골 재생 촉진용 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>4</sup>는 수산기를 나타내는 연골 재생 촉진용 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드가, 하기 일반식(2)로 표시되는 플라보노이드인 연골 재생 촉진용 조성물:



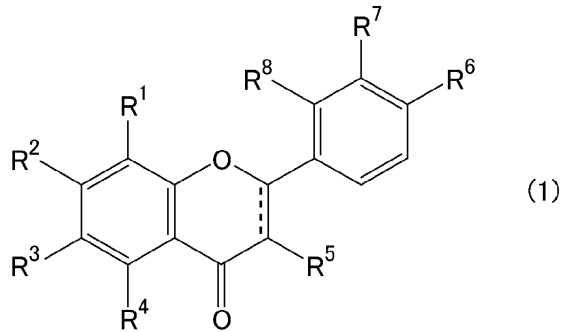
(상기 식 중, R<sup>5a</sup>는 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6a</sup>는 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. R<sup>7a</sup> 및 R<sup>8a</sup>는, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드가, 퀘르세틴, 헤스페레틴, 탁시폴린, 아이소람네티, 에리오딕티올, 루테올린 및 모린으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 연골 재생 촉진용 조성물.

**청구항 7**

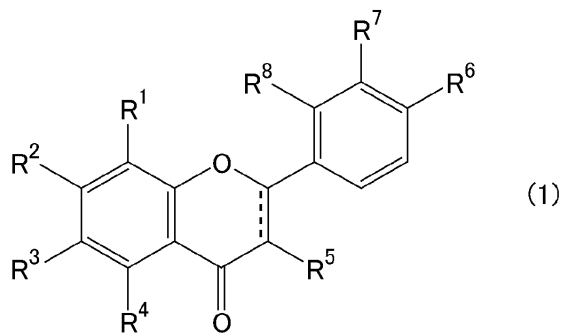
하기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 투여하는 연골 재생 촉진 방법:



(상기 식 중, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는, 각각 독립적으로 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6</sup>은, 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

**청구항 8**

연골 재생을 촉진하기 위한, 하기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 사용:



(상기 식 중, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는, 각각 독립적으로 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6</sup>은, 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 연골 재생 촉진용 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 연골 재생 촉진 방법 등에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 연골은, 연골세포와 그것을 둘러싸는 기질로 이루어진 결합 조직이며, 인간 등의 동물에 있어서 관절, 골격 등을 형성하고 있다. 관절 연골은, 관절의 뼈의 표면을 얇게 덮어, 관절의 움직임을 원활하게 하는 역할을 하며, 나이가 드는 것 등에 의해 연골이 감소하면 관절 기능이 손상되어 버린다.

[0003] 연골의 보호 작용을 갖는 조성물로서, 특허문헌 1에는, 글루코사민과, 식물 소재, 아미노산, 폴리페놀, 비타민

· 미네랄류 등으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 1종의 성분을 유효 성분으로서 함유하는 조성물이 기재되어 있다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

[0004] (특허문헌 0001) 특허문헌 1 : 일본특허공개 제2017-14164호 공보

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0005] 특허문헌 1의 조성물은, 관절 연골세포의 파괴를 억제하는 것에 의해 연골을 보호하는 것이다. 그러나, 나이가 드는 것 등에 의해 일단 연골세포가 파괴되어 버리면, 연골세포의 파괴를 억제하는 것으로는 감소한 연골을 재생시킬 수는 없다. 특허문헌 1에서는, 연골의 재생 촉진에 유효한 물질은 검토되지 않았다.

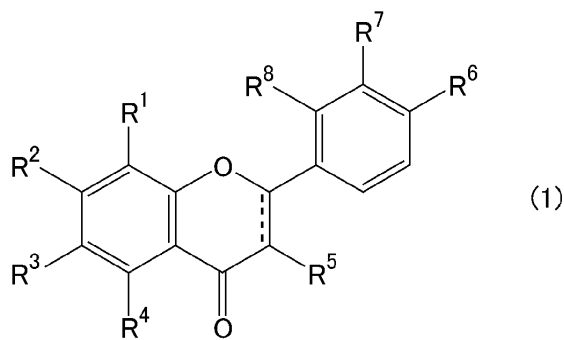
[0006] 본 발명은 연골 재생을 촉진하는 연골 재생 촉진용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다. 또한, 본 발명은 연골 재생 촉진 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

**과제의 해결 수단**

[0007] 본 발명자들은, 상기 과제를 해결하기 위해 예의 검토한 결과, 특정한 구조를 갖는 플라보노이드가 연골세포로의 분화를 촉진하는 작용을 가지며, 연골 재생 촉진에 유용한 것을 발견했다. 연골세포로의 분화를 촉진할 수 있는 기술은, 특히, 연골이 파괴되고, 감소되어 버린 후에도 연골을 재생할 수 있는 유용한 기술이다. 간엽계 줄기세포로부터 연골세포로의 분화를 촉진함으로써, 연골을 증식시켜 연골을 재생할 수 있다.

[0008] 즉, 본 발명은, 이하의 연골 재생 촉진용 조성물, 연골 재생 촉진 방법 등에 관한 것이다.

[0009] [1] 하기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 유효 성분으로서 포함하는 연골 재생 촉진용 조성물.



[0010]

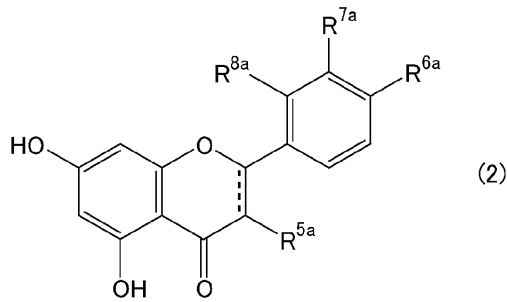
[0011] (상기 식 중, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는, 각각 독립적으로 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6</sup>은, 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

[0012] [2] 연골세포로의 분화를 촉진하는 상기 [1] 에 기재된 연골 재생 촉진용 조성물.

[0013] [3] R<sup>1</sup> 및 R<sup>3</sup>은, 수소 원자를 나타내는 상기 [1] 또는 [2] 에 기재된 연골 재생 촉진용 조성물.

[0014] [4] R<sup>2</sup> 및 R<sup>4</sup>는, 수산기를 나타내는 상기 [1] ~ [3] 의 어느 하나에 기재된 연골 재생 촉진용 조성물.

[0015] [5] 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드가, 하기 일반식(2)로 표시되는 플라보노이드인 상기 [1] ~ [4] 의 어느 하나에 기재된 연골 재생 촉진용 조성물.



[0016]

[0017] (상기 식 중, R<sup>5a</sup>는 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6a</sup>는 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. R<sup>7a</sup> 및 R<sup>8a</sup>는, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

[0018] [6] 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드가, 케르세틴, 헤스페레틴, 탁시폴린, 아이소람네틴, 에리오딕티올, 루테올린 및 모린으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 상기 [1] ~ [5] 의 어느 하나에 기재된 연골 재생 촉진용 조성물.

[0019] [7] 상기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 투여하는 연골 재생 촉진 방법.

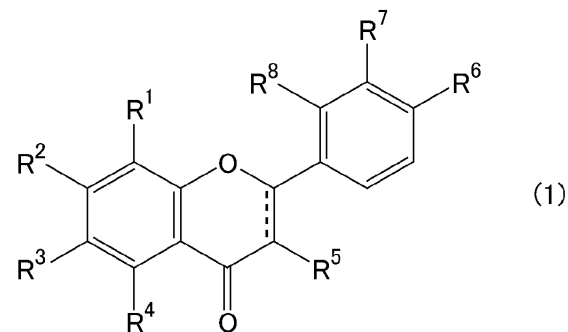
[0020] [8] 연골 재생을 촉진하기 위한, 상기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 사용.

**발명의 효과**

[0021] 본 발명에 의하면, 연골의 재생을 촉진하는 연골 재생 촉진용 조성물이 제공된다. 또한, 본 발명에 의하면 연골 재생 촉진 방법이 제공된다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0022] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 하기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 유효 성분으로서 포함한다. 본 발명에 있어서, 연골은 바람직하게는 관절 연골이다.



[0023]

[0024] (상기 식 중, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는, 각각 독립적으로 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6</sup>은, 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

[0025] 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는 1종이어도 좋고 2종 이상이어도 좋다. 본 명세서 중, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 단순히 플라보노이드라고도 한다.

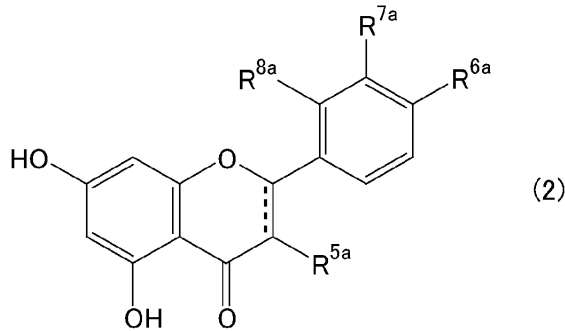
[0026] 일반식(1)에 있어서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>3</sup>은, 바람직하게는 수소 원자이다. R<sup>2</sup> 및 R<sup>4</sup>는, 바람직하게는 수산기이다. R<sup>5</sup>는, 바람직하게는 수소 원자 또는 수산기이다.

[0027] 일반식(1)에 있어서, 탄소수 1~2의 알콕시기는, 메톡시기 또는 에톡시기이며, 바람직하게는 메톡시기이다.

[0028] R<sup>6</sup>은, 바람직하게는 수산기 또는 메톡시기이다. R<sup>7</sup>이 수소 원자를 나타내는 경우, R<sup>8</sup>은 수산기 또는 탄소수 1~2

의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>8</sup>이 수소 원자를 나타내는 경우, R<sup>7</sup>은 수산기 또는 탄소수 1~2의 알콕시기를 나타낸다. R<sup>7</sup>은, 바람직하게는 수소 원자, 수산기 또는 메톡시기이다. R<sup>8</sup>은, 바람직하게는 수소 원자 또는 수산기이다.

[0029] 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드로서, 하기 일반식(2)로 표시되는 플라보노이드가 바람직하다. 일반식(2)로 표시되는 플라보노이드는, 일반식(1)에 있어서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>3</sup>이 수소 원자, R<sup>2</sup> 및 R<sup>4</sup>가 수산기, R<sup>6</sup>이 수산기 또는 메톡시기이며, R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>이, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 메톡시기를 나타내는 화합물이다. 하기 일반식(2)로 표시되는 플라보노이드를 사용하면, 우수한 연골 재생 촉진 효과를 얻을 수 있다.



[0030]

[0031] (상기 식 중, R<sup>5a</sup>는 수소 원자 또는 수산기를 나타낸다. R<sup>6a</sup>는 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. R<sup>7a</sup> 및 R<sup>8a</sup>는, 한쪽이 수소 원자를 나타내고, 다른쪽이 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. 파선은, 결합이 형성되어 있어도 좋고, 형성되어 있지 않아도 좋은 것을 나타낸다.)

[0032] 일반식(2)에 있어서, R<sup>7a</sup>가 수소 원자를 나타내는 경우, R<sup>8a</sup>는 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. R<sup>8a</sup>가 수소 원자를 나타내는 경우, R<sup>7a</sup>는 수산기 또는 메톡시기를 나타낸다. 일양태에 있어서, R<sup>7a</sup>가 수소 원자, 수산기 또는 메톡시기이며, R<sup>8a</sup>가 수소 원자 또는 수산기인 것이 바람직하다.

[0033] 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드로서, 헤스페레틴, 퀘르세틴, 탁시폴린, 아이소람네틴, 에리오디티올, 루테올린, 모린이 바람직하다. 이들 플라보노이드는 연골 재생 촉진 효과가 높다. 이들 플라보노이드는 일반식(2)로 표시되는 플라보노이드이다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 이들 플라보노이드의 1종 또는 2종 이상을 유효 성분으로서 포함하는 것이 바람직하다. 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드로서, 헤스페레틴, 퀘르세틴, 탁시폴린, 아이소람네틴, 에리오디티올, 모린이 보다 바람직하다.

[0034] 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 유래는 특별히 한정되지 않는다. 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는 식물에 포함되기 때문에 식물로부터 추출하여 조제할 수 있다. 플라보노이드는 화학 합성품을 사용할 수도 있다. 본 발명에서는, 본 발명의 효과를 발휘하게 되는 한, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 포함하는 식물의 추출물 등의 식물 유래 원료 등을 조성물에 함유시켜도 좋다.

[0035] 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는, 천연물이나 음식물에 포함되어, 식경험이 있는 화합물이다. 이 때문에 안전성의 관점에서, 상기 플라보노이드는, 예컨대 매일 섭취하는 경우에도 문제가 적다고 생각된다. 본 발명에 의하면, 안전성이 높은 물질을 유효 성분으로서 포함하는 연골 재생 촉진용 조성물을 제공할 수 있다.

[0036] 하기 실시예에 나타내는 바와 같이, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 존재하에 활막세포를 배양하면, 형성되는 연골 펠릿의 중량이 증가했다. 실시예에서 사용한 활막세포에는 간엽계 줄기세포가 포함되어 있고, 그 간엽계 줄기세포가 연골세포로 분화하여 연골 펠릿이 형성된다. 상기 연골 펠릿 중량의 증가는, 간엽계 줄기세포로부터 연골세포로의 분화가 촉진된 것을 의미한다. 따라서, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는, 간엽계 줄기세포의 연골세포로의 분화를 촉진한다. 예컨대, 활막이나 관절 연골 표층에 존재하는 간엽계 줄기세포는, 연골세포로 분화되기 쉽다고 여겨지고 있다. 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는, 예컨대, 활막 유래 간엽계 세포 또는 관절 연골 표층에 존재하는 간엽계 줄기세포의 연골세포로의 분화를 촉진하기 때문에 유용하다.

[0037] 연골세포로의 분화를 촉진하는 것에 의해 연골의 재생을 촉진할 수 있다. 따라서 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는 연골 재생 촉진을 위해 유용하다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 연골세포로의 분화를 촉진하여 연골 재생을 촉진하기 위해 사용될 수 있다. 연골의 재생을 촉진하는 것에 의해 연골을 증가시키는 것이 가

능해진다. 이 때문에 연골 재생을 촉진하는 것은, 예컨대 연골의 감소 예방에 있어서 유용하다. 또한, 연골 재생을 촉진하는 것에 의해 감소한 연골을 수복할 수 있다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 간접계 줄기세포의 연골세포로의 분화 촉진용 조성물로서 사용할 수도 있다.

- [0038] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 치료적 용도(의료 용도) 또는 비치료적 용도(비의료 용도)의 어디에도 적용할 수 있다. 비치료적이란, 의료 행위, 즉 인간의 수술, 치료 또는 진단을 포함하지 않는 개념이다.
- [0039] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 음식품, 의약품, 의약 부외품, 사료 등의 형태로 할 수 있다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 그 자체가 연골 재생 촉진을 위한 음식품, 의약품, 의약 부외품, 사료 등이어도 좋고, 이들에 배합하여 사용되는 소재 또는 제제 등이어도 좋다.
- [0040] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 일례로서, 제의 형태로 제공할 수 있지만, 이 형태에 한정되는 것은 아니다. 그 제를 그대로 조성물로서, 또는, 그 제를 포함하는 조성물로서 제공할 수도 있다. 일양태에 있어서, 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은 연골 재생 촉진제라고도 할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 경구용 조성물, 비경구용 조성물의 어느 것이어도 좋지만, 바람직하게는 경구용 조성물이다. 경구용 조성물로는, 음식품, 경구용 의약품, 의약 부외품, 사료를 들 수 있고, 바람직하게는 음식품 또는 경구용 의약품이며, 보다 바람직하게는 음식품이다.
- [0042] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 본 발명의 효과를 손상하지 않는 한, 상기 플라보노이드에 더하여, 임의의 첨가제, 임의의 성분을 함유할 수 있다. 이들 첨가제 및 성분은, 조성물의 형태 등에 따라서 선택할 수 있고, 일반적으로 음식품, 의약품, 의약 부외품, 사료 등에 사용 가능한 것을 사용할 수 있다. 연골 재생 촉진용 조성물을, 음식품, 의약품, 의약 부외품, 사료 등으로 하는 경우, 그 제조 방법은 특별히 한정되지 않고, 일반적인 방법에 의해 제조할 수 있다.
- [0043] 예컨대 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물을 음식품으로 하는 경우, 상기 플라보노이드에, 음식품에 사용 가능한 성분(예컨대, 식품 소재, 필요에 따라서 사용되는 식품 첨가물 등)을 배합하여 여러가지 음식품으로 할 수 있다. 음식품은 특별히 한정되지 않고, 예컨대, 일반적인 음식품, 건강 식품, 건강 음료, 기능성 표시 식품, 특정 보건용 식품, 병자용 음식품 등을 들 수 있다. 상기 건강 식품, 기능성 표시 식품, 특정 보건용 식품 등은, 예컨대, 세립제, 정제, 과립제, 산제, 캡슐제, 츄어블제, 시럽제, 액제, 유동식 등의 각종 제제 형태로 할 수 있다.
- [0044] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물을 의약품 또는 의약 부외품으로 하는 경우, 예컨대, 상기 플라보노이드에, 약리학적으로 허용되는 담체, 필요에 따라서 첨가되는 첨가제 등을 배합하여, 각종 제형의 의약품 또는 의약 부외품으로 할 수 있다. 그와 같은 담체, 첨가제 등은, 의약품 또는 의약 부외품에 사용 가능한, 약리학적으로 허용되는 것이면 되며, 예컨대, 부형제, 결합제, 붕괴제, 활택제, 향산화제, 착색제 등의 1 또는 2 이상을 들 수 있다. 의약품 또는 의약 부외품의 투여(섭취) 형태로는, 경구 또는 비경구(경피, 경점막, 경장, 주사 등) 투여의 형태를 들 수 있다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물을 의약품 또는 의약 부외품으로 하는 경우, 경구용 의약품 또는 의약 부외품으로 하는 것이 바람직하다. 경구 투여를 위한 제형으로는, 액제, 정제, 산제, 세립제, 과립제, 당의정, 캡슐제, 현탁액, 유제, 츄어블제 등을 들 수 있다. 비경구 투여를 위한 제형으로서, 주사제, 점적제, 첩부제 등을 들 수 있다. 의약품은 비인간 동물용 의약이어도 좋다.
- [0045] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물을 사료로 하는 경우에는, 상기 플라보노이드를 사료에 배합하면 된다. 사료에는 사료 첨가제도 포함된다. 사료로는, 예컨대, 소, 돼지, 닭, 양, 말 등에 이용하는 가축용 사료; 토끼, 래트, 마우스 등에 이용하는 소동물용 사료; 개, 고양이, 작은 새 등에 이용하는 펫 푸드 등을 들 수 있다.
- [0046] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물에 포함되는 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 함유량은 특별히 한정되지 않고, 그 형태 등에 따라서 설정할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물 중의 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 함유량은, 예컨대, 그 조성물 중에 0.0001 중량% 이상이 바람직하고, 0.001 중량% 이상이 보다 바람직하고, 또한, 90 중량% 이하가 바람직하고, 50 중량% 이하가 보다 바람직하다. 일양태에 있어서, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 함유량은, 연골 재생 촉진용 조성물 중에 0.0001~90 중량%가 바람직하고, 0.001~50 중량%가 보다 바람직하다. 상기 함유량은, 상기 플라보노이드를 2중 이상 함유하는 경우는, 이들의 합계 함유량이다.
- [0048] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물의 투여 경로는 특별히 한정되지 않고, 그 형태에 따른 적당한 방법으로 섭취 또는 투여할 수 있다. 일양태에 있어서, 연골 재생 촉진용 조성물은, 경구로 섭취(경구 투여)되는 것이 바람

직하다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물의 투여량(섭취량이라고도 할 수 있다)은 특별히 한정되지 않고, 연골세포로의 분화를 촉진하는 효과, 연골 재생 촉진 효과가 얻어지는 양이면 되며, 투여 형태, 투여 방법 등에 따라서 적절하게 설정하면 된다.

- [0049] 일양태에 있어서, 연골 재생 촉진용 조성물을 인간(성인)에게 섭취시키거나 투여하는 경우, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 투여량은, 1일당 체중 60 kg에서, 바람직하게는 0.1 mg 이상, 보다 바람직하게는 1 mg 이상, 또한, 바람직하게는 8000 mg 이하, 보다 바람직하게는 4000 mg 이하이다. 일양태에 있어서, 플라보노이드의 투여량은, 인간(성인)이라면, 1일당 체중 60 kg에서, 바람직하게는 0.1~8000 mg, 보다 바람직하게는 1~4000 mg이다. 상기 양을 1일 1회 이상, 예컨대, 1일 1회~수회(예컨대 2~3회)로 나눠 섭취시키거나 투여하는 것이 바람직하다. 일양태에 있어서는, 상기 양의 플라보노이드를 인간에게 경구로 섭취시키거나 투여하는 것이 바람직하다. 본 발명의 일양태에 있어서 연골 재생 촉진용 조성물은, 인간에게, 체중 60 kg당, 1일당 상기 양의 플라보노이드를 섭취시키거나 투여하기 위해 사용할 수 있다. 상기 투여량은, 플라보노이드를 2종 이상 사용하는 경우는 이들의 합계량이다.
- [0050] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 계속해서 섭취 또는 투여되는 것이 바람직하다. 상기 플라보노이드는, 계속해서 섭취 또는 투여되는 것에 의해, 보다 높은 연골 재생 촉진 효과가 얻어지는 것이 기대된다.
- [0051] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 연골 재생 촉진에 의해 예방 또는 개선을 기대할 수 있는 증상 또는 질환의 예방 또는 개선에 유용하다. 이러한 증상 또는 질환으로서, 연골의 감소가 원인으로 발증하는 증상 또는 질환을 들 수 있고, 예컨대, 연골의 결손, 연골 손상, 변형성 관절증(변형성 무릎관절증 등) 등을 들 수 있다. 본 명세서에서 증상 또는 질환의 예방은, 증상 혹은 질환의 발증을 방지하는 것, 증상 혹은 질환의 발증을 지연시키는 것, 증상 혹은 질환의 발증율을 저하시키는 것, 증상 혹은 질환의 발증의 리스크를 경감하는 것 등을 포함한다. 증상 또는 질환의 개선은, 대상을 증상 혹은 질환으로부터 회복시키는 것, 증상 혹은 질환을 완화하는 것, 증상의 악화 혹은 질환의 진행을 지연시키는 것 혹은 방지하는 것 등을 포함한다.
- [0052] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물을 섭취시키거나 투여하는 대상(투여 대상이라고도 할 수 있다)은 특별히 한정되지 않는다. 바람직하게는 인간 또는 비인간 포유동물이며, 보다 바람직하게는 인간이다.
- [0053] 일양태에 있어서, 투여 대상으로서, 연골 재생 촉진을 필요로 하거나 희망하는 대상을 들 수 있다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 예컨대, 연골 재생 촉진에 의해 예방 또는 개선을 기대할 수 있는 증상 또는 질환의 예방 등을 목적으로, 심신에 장애가 없는 자에 대하여 사용할 수도 있다.
- [0054] 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물에는, 연골 재생 촉진에 의해 발휘되는 기능이 표시되어 있어도 좋다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물에는, 예컨대, 「연골량의 유지」, 「연골 마모의 억제」 및 「연골 변성의 억제」 등의 1 또는 2 이상의 기능이 표시되어 있어도 좋다.
- [0055] 본 발명의 일실시양태에 있어서, 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 상기가 표시된 식품인 것이 바람직하다. 또한 상기 표시는, 상기 기능을 얻기 위해 이용한다는 취지의 표시이어도 좋다.
- [0056] 일양태에 있어서, 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 연골세포의 배양용 시약 등으로서 사용할 수 있다. 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물은, 배양 연골용 재생 촉진용 조성물일 수 있다. 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 포함하는 배지 중에서 간엽계 줄기세포를 배양하면, 그 세포의 연골세포로의 분화를 촉진할 수 있다. 연골 재생 촉진용 조성물을 연골세포의 배양에 사용하는 경우, 그 사용량은, 배지 중의 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 함유량이, 바람직하게는 0.1~100  $\mu\text{m}$ , 보다 바람직하게는 1~50  $\mu\text{m}$ 이 되는 양을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0057] 본 발명은 이하의 방법 및 사용도 포함한다.
- [0058] 상기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 투여하는 연골 재생 촉진 방법.
- [0059] 연골 재생을 촉진하기 위한, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 사용.
- [0060] 상기 방법 및 사용은, 치료적인 방법 또는 사용이어도 좋고, 비치료적인 방법 또는 사용이어도 좋다. 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 대상에게 투여하면(섭취시키면), 간엽계 줄기세포의 연골세포로의 분화를 촉진할 수 있어, 연골 재생을 촉진할 수 있다. 연골 재생 촉진은, 예컨대, 상기 연골의 결손, 연골 손상, 변형성 관절증(변형성 무릎관절증 등) 등의 증상 또는 질환의 예방 또는 개선에 유용하다.
- [0061] 상기 방법 및 사용에 있어서, 플라보노이드 및 그 바람직한 양태는, 전술한 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물

과 동일하다. 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드 1종을 사용해도 좋고, 2종 이상을 사용해도 좋다. 상기 방법 및 사용에 있어서는, 1일 1회 이상, 예컨대, 1일 1회~수회(예컨대 2~3회), 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 대상에게 투여하는(섭취시키는) 것이 바람직하다. 상기 사용은, 바람직하게는 인간 또는 비인간 포유동물, 보다 바람직하게는 인간에 있어서의 사용이다.

- [0062] 상기 방법 및 사용에 있어서는, 연골 재생 촉진 작용이 얻어지는 양(유효량이라고도 할 수 있다)의 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드를 사용하면 된다. 플라보노이드의 바람직한 투여량이나 투여 대상 등은 전술한 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물과 동일하다. 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는, 그대로 투여해도 좋고, 이것을 포함하는 조성물로서 투여해도 좋다. 예컨대, 전술한 본 발명의 연골 재생 촉진용 조성물을 사용해도 좋다. 일양태에 있어서, 플라보노이드는 경구 투여(섭취)되는 것이 바람직하다.
- [0063] 상기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는, 연골 재생 촉진을 위해 사용되는 식품품, 의약품, 의약 부외품, 사료 등의 제조를 위해 사용할 수 있다. 일양태에 있어서, 본 발명은, 연골 재생 촉진용 조성물을 제조하기 위한, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드의 사용도 포함한다.
- [0064] 실시예
- [0065] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 더욱 자세히 설명하지만, 이것에 의해 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0066] <실시예 1>
- [0067] 구입한 인간 활막세포(도요보(주) 제조, HFLS(정상(Normal)) : 동결세포(성인(adult)), Code No.CA40805a)를 150 mm의 배양 디쉬(Corning사 제조)에 50 세포/cm<sup>2</sup>의 저밀도로 파종하여 14일간 배양했다.
- [0068] 상기 인간 활막세포의 배양은, 이하의 배지에서 행했다.
- [0069] α-MEM(나칼라이 테스크(주) 제조)
- [0070] 10% 소태아혈청(fetal bovine serum)(Sigma-Aldrich사 제조)
- [0071] 항생제-항진균제 혼합 저장 용액(Antibiotic-Antimycotic Mixed Stock Solution)(나칼라이 테스크(주) 제조)
- [0072] 증식시킨 인간 활막세포를 아큐타제(Accutase)(푸나코시(주) 제조)로 박리하고, 20×10<sup>4</sup> 세포의 세포를 포함하는 배지를 폴리프로필렌제의 15 mL 튜브에 넣고 1,000×rpm으로 5분간 원심했다. 회수한 인간 활막세포를 표 1에 나타내는 피험 화합물을 포함하는 배지에서 3주간 배양하고, 형성한 연골 펠릿의 중량을 측정했다(각 N=3). 2일 또는 3일에 1번, 피험 화합물을 포함하는 배지를 교환했다. 또한 피험 화합물은, 디메틸설폭시드(DMSO)(나칼라이 테스크(주) 제조, 최종 농도 0.1%)에 의해 최종 농도가 50 μM이 되도록 배지에 용해시켰다. 피험 화합물에는, 탁시폴린(Sigma-Aldrich사 제조) 또는 헤스페레틴(푸나코시(주) 제조)을 사용했다.
- [0073] 상기 연골 펠릿의 배양에는 이하의 배지를 이용했다. 컨트롤은, 피험 화합물을 포함하지 않는 DMSO를 이하의 배지에 첨가하여 배양했다(DMSO는 최종 농도 0.1%).
- [0074] (배지 조성)
- [0075] DMEM 고-포도당(high-glucose)(Thermo Fisher Scientific사 제조)
- [0076] 50 μg/mL L-아스코르빈산 2-인산 세스퀴마그네슘염 수화물(L-Ascorbic acid 2-phosphate sesquimagnesium salt hydrate)(Sigma-Aldrich사 제조)
- [0077] 40 μg/mL L-프롤린(Proline)(Sigma-Aldrich사 제조)
- [0078] 100 μg/mL 피루브산 나트륨(Sodium pyruvate)(Sigma-Aldrich사 제조)
- [0079] 50 mg/mL ITS+Premix(Corning사 제조)
- [0080] 10 ng/mL 전환 성장 인자(transforming growth factor) β3(Sigma-Aldrich사 제조)
- [0081] 100 nM 덱사메타손(dexamethasone)(Sigma-Aldrich사 제조)
- [0082] 50 ng/mL 골형성 단백질 2(BMP-2)(Sigma-Aldrich사 제조)
- [0083] 평가 결과를 표 1에 나타낸다. 표 1 중, 펠릿 중량(g)은 연골 펠릿의 중량(N=3의 평균)이며, SE는 펠릿 중량의 표준오차이다. 피험 화합물을 첨가한 경우의 연골 펠릿 중량에 관해, 컨트롤의 연골 펠릿의 중량을 100%로 한

상대값을 증가율(%)로서 표 1에 나타냈다. 연골 펠릿 중량으로부터 구한 증가율(%)에 관해, 컨트롤에 대한 유의차를, 스튜던트 t-테스트(Student's t-test) 검정을 이용하여 검정하고, 5% 이하를 유의로 했다. 유의차 검정의 결과를 표 1에 나타낸다. 탁시폴린 및 헤스페레틴에 의해, 컨트롤과 비교하여 연골 펠릿 중량의 유의미한 증가가 확인되었다.

표 1

	펠릿 중량 (g) (Ave)	SE	증가율 (%)	유의차
컨트롤	3.97	0.20	—	—
탁시폴린 (taxifolin)	5.73	0.23	144.5	p<0.05
헤스페레틴(Hesperetin)	5.50	0.10	138.7	p<0.05

[0084]

[0085]

<실시에 2>

[0086]

퀘르세틴(나칼라이 테스크(주)사 제조), 아이소람네틴(푸나코시(주) 제조) 또는 에리오딕티올(푸나코시(주) 제조)을 시험 화합물에 사용하고, 배지 중의 시험 화합물의 최종 농도를 5 μM로 한 것 외에는, 실시예 1과 동일한 방법으로 시험했다. 연골 펠릿의 중량(g)(펠릿 중량(N=3의 평균)), 펠릿 중량의 표준오차(SE)를 표 2에 나타낸다. 컨트롤의 연골 펠릿의 중량을 100%로 한, 시험 화합물을 첨가한 경우의 연골 펠릿의 중량의 상대값을 증가율(%)로서 표 2에 나타낸다. 유의차 검정은 실시예 1과 동일한 방법으로 행하고, 5% 이하를 유의로 했다.

표 2

	펠릿 중량 (g) (Ave)	SE	증가율 (%)	유의차
컨트롤	3.63	0.09	—	—
에리오딕티올 (Eriodictyol)	4.80	0.20	132.1	p<0.05
아이소람네틴 (Isorhamnetin)	5.77	0.09	158.7	p<0.05
퀘르세틴 (Quercetin)	5.90	0.12	162.4	p<0.05

[0087]

[0088]

퀘르세틴, 아이소람네틴, 에리오딕티올에서 130% 이상의 연골 펠릿 중량의 증가가 확인되었다. 퀘르세틴, 아이소람네틴 및 에리오딕티올에서는, 컨트롤과 비교하여 연골 펠릿 중량의 유의미한 증가가 확인되었다.

[0089]

<실시에 3>

[0090]

루테올린(푸나코시(주) 제조) 또는 모린(나칼라이 테스크(주) 제조)을 시험 화합물에 사용하고, 배지 중의 시험 화합물의 최종 농도를 5 μM로 한 것 외에는, 실시예 1과 동일한 방법으로 시험했다. 연골 펠릿의 중량(g)(펠릿 중량(N=3의 평균)), 펠릿 중량의 표준오차(SE)를 표 3에 나타낸다. 컨트롤의 연골 펠릿의 중량을 100%로 한, 시험 화합물을 첨가한 경우의 연골 펠릿의 중량의 상대값을 증가율(%)로서 표 3에 나타낸다. 유의차 검정은 실시예 1과 동일한 방법으로 행하고, 5% 이하를 유의로 하고, 10% 이하를 유의 경향으로 했다. 모린에 의해, 컨트롤과 비교하여 연골 펠릿 중량의 유의미한 증가가 확인되었다. 루테올린에 관해서도, 컨트롤과 비교하여 연골 펠릿 중량의 증가가 확인되었다.

표 3

	펠릿 중량 (g) (Ave)	SE	증가율 (%)	유의차
컨트롤	2.77	0.03	—	—
루테올린(Luteolin)	3.53	0.35	127.71	p<0.1
모린 (Morin)	4.00	0.15	144.58	p<0.05

[0091]

[0092]

활막세포에는 간엽계 줄기세포가 포함되어 있고, 그 간엽계 줄기세포가 연골세포로 분화한다. 실시예 1~3에 있어서 시험 화합물의 첨가에 의해 컨트롤과 비교하여 연골 펠릿 중량이 증가한 것은, 시험 화합물이 간엽계 줄기세포의 연골세포로의 분화를 촉진한 것을 의미한다.

[0093] <비교예 1>

[0094] 표 4에 나타내는 화합물을 피험 화합물에 사용하고, N=1로 시험한 것 외에는, 실시예 1과 동일한 방법으로 시험했다. 컨트롤의 연골 펠릿의 중량을 100%로 한, 피험 화합물을 첨가한 경우의 연골 펠릿의 중량의 상대값을 증가율(%)로서 표 4에 나타낸다. No.1~15의 화합물은 배지 중의 최종 농도를 5 μM, No.16~21의 화합물은 배지 중의 최종 농도를 50 μM로 했다.

표 4

No.	화합물	증가율(%)
1	아스틸빈 (Astilbin)	60.5
2	아피게닌 (Apigenin)	104.7
3	시아니딘 (Cyanidin)	51.2
4	델피니딘 (Delphinidin)	41.9
5	미리세틴 (Myricetin)	69.8
6	다이제인 (Daidzein)	100.0
7	게니스테인 (Genistein)	103.6
8	비오키닌 A (Biochanin A)	21.4
9	에쿠올 (Equol)	81.4
10	7,3',4'-트리히드록시소플라본 (7,3',4'-Trihydroxyisoflavone)	95.3
11	칼리코신 (Calycosin)	95.3
12	포르모노네티 (Formononetin)	100.0
13	3,4,2',4',6'-펜타히드록시칼콘 (3,4,2',4',6'-Pentahydroxychalcon)	110.7
14	4,2',4',6'-테트라히드록시칼콘 (4,2',4',6'-Tetrahydroxychalcon)	117.9
15	이소리퀴리티게닌 (Isoliquiritigenin)	82.1
16	에피카테킨 (Epicatechin)	116.7
17	크리신 (Chrysin)	108.3
18	캠페롤 (Kaempferol)	95.8
19	나린게닌 (Naringenin)	116.7
20	카테킨 (Catechin)	112.5
21	디히드로제니스테인 (Dihydrogenistein)	92.9

[0095]

[0096] 실시예 1~3에서 사용한 피험 화합물은, 상기 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드이며, 비교예 1에서 사용한 화합물은, 일반식(1)과는 상이한 구조의 폴리페놀이다. 실시예 1~3에서 사용한 피험 화합물은, 비교예 1의 화합물보다 간엽계 줄기세포로부터 연골세포로의 분화를 촉진하는 작용이 강했다. 상기로부터, 일반식(1)로 표시되는 플라보노이드는, 우수한 연골세포로의 분화 촉진 작용을 갖는 것이 나타났다.