(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0130650
(43) 공개일자 2014년11월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/736 (2006.01) *A61K 31/352* (2006.01)
A61K 31/35 (2006.01) *A61P 9/08* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0129976(분할)
(22) 출원일자 2014년09월29일
심사청구일자 2014년09월29일
(62) 원출원 특허 10-2011-0030274
원출원일자 2011년04월01일
심사청구일자 2011년04월01일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
(72) 발명자
최호영
서울 성북구 화랑로 214, 109동 1301호 (석관동, 래미안석관아파트)
함인혜
서울 강남구 광평로19길 15, 102동 204호 (일원동, 목련타운아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

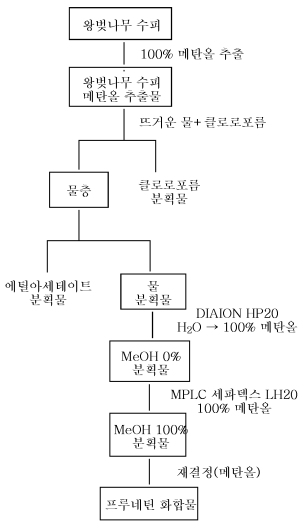
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **왕벚나무 수피 추출물 또는 이로부터 분리한 푸루네틴 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 왕벚나무 수피 추출물 또는 이로부터 분리한 프루네틴 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관 이완용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 내피-결손 및 무결손 환상 대동맥에 수축을 유도하고, 본 발명이 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물을 처리한 결과, 최대이완 효과가 매우 우수하므로 고혈압, 동맥경화, 뇌경색, 심근경색, 말초혈액순환장애, 허혈성 뇌질환, 고지혈증 또는 관상동맥 심장병 등의 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

이경진

서울 동대문구 경희대로 6-1, 3층 (회기동)

이주영

경남 진주시 금산면 송백로 46, 독신자숙소 2201호

특허청구의 범위

청구항 1

왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관확장제.

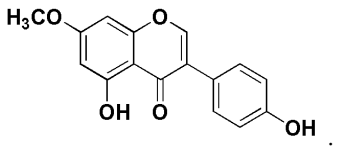
청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 왕벚나무 수피 추출물을 물, C_1~C_4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것을 특징으로 하는 혈관확장제.

청구항 3

하기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 혈관확장제:

[화학식 1]



청구항 4

제3항에 있어서, 상기 프루네틴 화합물은 제1항의 왕벚나무 수피 추출물로부터 분리된 것을 특징으로 하는 혈관확장제.

청구항 5

제3항의 프루네틴 화합물은,

왕벚나무 수피 건조물을 물, C_1~C_4의 알코올, 초산에틸, 염화메틸렌 및 클로로포름으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 왕벚나무 수피 추출물을 얻는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 얻은 왕벚나무 수피 추출물을 물에 현탁시킨 후, 클로로포름을 이용하여 물과 클로로포름 분획물을 분획하고, 상기 물 분획물에 에틸아세테이트를 첨가하여 현탁 시킨 후, 물과 에틸아세테이트 분획물을 분획하는 단계(단계 2);

상기 단계 2에서 얻은 왕벚나무 수피 물 분획물을 물에 현탁 시킨 후, 유출 용매로 물 및 메탄올을 사용하여 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 왕벚나무 분획물을 얻는 단계(단계 3);

상기 단계 3에서 얻은 분획물을 메탄올을 이용하여 크로마토그래피를 수행하여 왕벚나무 MPLC 분획물을 얻는 단계(단계 4); 및

상기 단계 4에서 얻은 분획물을 재결정하여 프루네틴 화합물을 분리, 정제하는 단계(단계 5)를 포함하는 방법에 의해 분리되는 것을 특징으로 하는 혈관확장제.

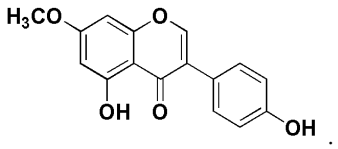
청구항 6

왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관확장용 건강식품.

청구항 7

하기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관확장용 건강식품:

[화학식 1]



.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 왕벚나무 수피 추출물 또는 이로부터 분리한 프루네틴 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 혈관 질환(cardiovascular disease)은 우리나라에서 1970년대부터 주요 사망 원인으로 등장하여 최근에는 사망 원인 1순위를 차지하고 있다. 혈관 질환은 심장질환 및 대동맥과 같은 중심혈관 및 말초혈관의 질환을 포함하는 심장혈관계에 이상이 온 질환을 총칭하며 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증, 심근경색, 심부전, 부정맥, 협심증 등과 같은 질환군을 포함한다. 혈관 질환의 위험요인은 성별, 연령, 가족력 등 선천적으로 타고나는 고정요인(non-modifiable, 유전적인 요인)과 흡연 비만 등 스스로의 노력에 따라 생활 습관을 바꿔 위험을 낮출 수 있는 변동요인(modifiable, 환경적인 요인)으로 나눌 수 있다.

[0003] 이러한 심혈관 질환 관리의 궁극적인 목표는 혈관 질환의 이환율과 사망률을 감소시키는 것으로, 올바른 식생활과 운동 장려를 통한 비만 감소 등의 생활 습관 개선과 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 등과 같은 선행 질병 발견 및 관리가 매우 중요하다.

[0004] 이에, 혈관 질환을 치료하기 위한 치료제로 다양한 연구가 진행되었는데, 일본 등록특허 제3795542호에서는 쌀을 이용한 고혈압 예방 치료제에 관한 것으로 상세하게는 쌀을 효소분해 시키거나 누룩을 첨가하여 유효 성분을 추출하는 고혈압 예방 치료제를 개시하고 있고, 미국 등록특허 제6310100호에서는 페룰린산(ferulic acid) 및 이의 유도체의 약리조성물에 관한 것으로, 페룰린산 및 이의 유도체를 디글리세라이드와 배합하여 상기의 약리 조성물 이외의 영양 보급 조성물 및 식품 조성물을 개시하고 있다. 이 외에도 대한민국 등록특허 제0891762호에서는 삼백초 뿌리 추출물 또는 이로부터 분리된 활성성분을 포함하는 혈관 이완용 조성물에 관한 것으로, 혈관 평활근 이완작용을 통해 우수한 혈압 강하효과를 나타내어 고혈압 및 고혈압의 합병증으로 인한 각종 혈관 질환의 예방 및 치료를 위한 약학 조성물 또는 건강 식품 조성물로 사용될 수 있음을 개시하고 있고, 또한, 대한민국 등록특허 제0937394호에서는 유백피(Ulmus macrocarpa) 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관 이완용 조성물에 관한 것으로서, 항산화 작용 및 혈관 평활근 이완 작용을 통해 우수한 혈압강하 효과를 나타내어 고혈압 및 고혈압의 합병증으로 인한 각종 혈관 질환의 예방 및 치료를 위한 약학 조성물 또는 건강기능 식품으로 사용될 수 있음을 개시하고 있다.

[0005] 벚나무(Prunus serrulata L. var. spontanea Max. wils., Japanese flowering cherry)는 우리나라의 남부지방, 중부지방, 북부지방의 산지 해발 100~1,560 m 의 촌락부근에 자생하는 낙엽교목으로 높이는 20 m 안팎으로 4-5월에 잎보다 꽃이 먼저 피고 흰색 또는 홍색의 꽃은 나무 전체를 뒤덮어 꽃덩어리를 이룬다. 매우 다방면에 이용되며 특히, 독립수, 군식용, 녹음수 및 가로수에 적합하다. 벚나무의 품종은 매우 다양하며 왕벚나무, 올벚나

무, 산벚나무, 가는잎벚나무, 개벚나무, 잔털 벚나무, 털벚나무, 카네이션 벚나무 및 일엽 벚나무 등이 있으며, 특히 가로수로 이용되는 벚나무의 대부분을 차지하고 있는 품종인 왕벚나무(Prunus yedoensis Matsumura)는 제주도 한라산 기슭이 원산지로 수형과 꽃이 아름다워 전국에 식재하고 있으며, 일본으로 건너가 재배되고 있는 낙엽활엽교목이다.

[0006] 왕벚나무(Prunus yedoensis Matsum)는 장미과(Rosaceae) 벚나무속(Prunus L.)에 속하는 식물로 높이가 15m에 달하는 낙엽교목으로서 수피가 평활하며 어린가지에 잔털이 약간 있다. 잎은 호생하며 길이 6 - 12 ㎝로서 표면에 털이 없고 뒷면에 털이 있으며, 가장자리에 예리한 겹으로 된 톱니모양이 있다. 꽃은 4월에 잎 보다 먼저 피고 백색 또는 연한홍색이며, 산방화서에 3 - 6 개의 꽃이 달리고 소화경에 털이 있다. 화축에 포가 있고 꽃받침통은 털이 없으며 열편은 난형 예두이고 암술대에 털이 없으며 열매는 둥글고 6~7 월에 적색에서 흑색으로 익는다(Lee, 1999). 대부분이 북반구 온대 지역에서 자라며, 우리나라에도 전국 산지에 20여종이 있으며, 그 열매는 식용을 하기도 하고, 민간 의학에서는 각기병, 수종, 유선염, 치통과 통경제 등으로 사용하였다. 줄기 및 수피는 기침, 담마진, 우육체 등의 민간약으로 이용되어 왔으며, 줄기의 수피에는 면역력 증가물질이 포함되어 있다는 보고와 항알레르기 효과가 있다는 보고가 있다. 또한, 왕벚나무 수피 추출물의 아토피성 염증 억제 효과가 있다는 보고(강경진, 학위논문, 제주대학교 대학원:의학과, 2007)가 있으나, 아직까지 혈관이완 효과에 대한 보고는 없다.

[0007] 이에, 본 발명자들은 혈관 이완 효과를 가지는 물질을 찾고자 연구한 결과, 왕벚나무 추출물 및 이로부터 분리된 프루네틴 화합물이 혈관 이완 효과가 우수하여 혈관 질환에 유용하게 사용될 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 프루네틴 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 데 있다.

[0010] *본 발명의 다른 목적은 상기 프루네틴 화합물의 제조방법을 제공하는 데 있다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 데 있다.

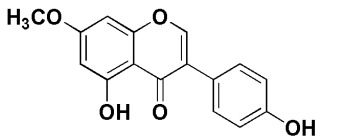
[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 프루네틴 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다:

[0015] [화학식 1]

[0016] 

.

[0017] 나아가, 본 발명은

[0018] 왕벚나무 수피 건조물을 물, C_1~C_4의 알코올, 초산에틸, 염화메틸렌 및 클로로포름으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 왕벚나무 수피 추출물을 얻는 단계(단계 1);

[0019] 상기 단계 1에서 얻은 왕벚나무 수피 추출물을 물에 현탁 시킨 후, 유출 용매로 물 100% 내지 메탄올 100%를 사용하여 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 왕벚나무 분획물을 얻는 단계(단계 2);

[0020] 상기 단계 2에서 얻은 분획물을 메탄올 100%를 이용하여 크로마토그래피를 수행하여 왕벚나무 MPLC 분획물을 얻는 단계(단계 3); 및

[0021] 상기 단계 3에서 얻은 분획물을 재결정하여 프루네틴 화합물을 분리, 정제하는 단계(단계 4)를 포함하는 상기 프루네틴 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명은 왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0023] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0024] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 내피-결손 및 무결손 환상 대동맥에 수축을 유도하고, 본 발명이 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물을 처리한 결과, 최대이완 효과가 매우 우수하므로 고혈압, 동맥경화, 뇌경색, 심근경색, 말초혈액순환장애, 허혈성 뇌질환, 고지혈증 또는 관상동맥 심장병 등의 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 개략도이다.

도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 PE 유도 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 농도 의존성 혈관 이완효과를 나타내는 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 KCl 유도 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 농도 의존성 혈관 이완효과를 나타내는 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 L-NAME로 전처리한 후, PE로 유도된 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 농도 의존성 혈관 이완효과를 나타내는 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 ODQ 또는 메틸렌블루로 전처리한 후, PE로 유도된 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 농도 의존성 혈관 이완효과를 나타내는 그래프이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 인도메타신의 첨가 유무에 따른 PE 유도 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 농도의존성 혈관 이완 효과를 나타내는 그래프이다.

도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 아트로핀의 첨가 유무에 따른 PE 유도 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 농도의존성 혈관 이완 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 글리벤클아미드, TEA 또는 4-아미노피리딘의 존재하에 PE 유도 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 농도의존성 혈관 이완 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 Ca^{2+}의 유무에 따른 PE 유도 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 저해효과를 나타내는 그래프이다.

도 10은 본 발명의 일실시예에 따른 Ca^{2+}의 유무에 따른 KCl 유도 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 저해효과를 나타내는 그래프이다.

도 11은 본 발명의 일실시예에 따른 니페디핀의 존재하에 PE 유도 수축 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물 및 SK&F96365의 효과를 나타내는 도면이다.

도 12는 본 발명의 일실시예에 따른 니페디핀의 존재하에 PE 유도 수축 환형 혈관에 대한 왕벚나무 추출물 및 SK&F96365의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 13은 본 발명의 일실시예에 따른 PE 또는 카페인에 의해 칼슘 방출(IP_3 및 RyR경로)에 대한 왕벚나무 추출물의 저해 효과를 나타내는 그래프이다.

도 14는 본 발명의 일실시예에 따른 Y-27632의 존재 유무에 따른 PE 유도 수축 혈관에 대한 왕벚나무 추출물의 이완 효과를 나타내는 그래프이다.

도 15는 본 발명의 일실시예에 따른 ^{1}H-NMR 스펙트럼을 나타내는 도면이다.

도 16은 본 발명의 일실시예에 따른 ^{13}C-NMR 스펙트럼을 나타내는 도면이다.

도 17은 본 발명의 일실시예에 따른 프루네틴 화합물의 혈관이완효과를 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0027] 본 발명은 왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0028] 본 발명에 따른 조성물에 있어서, 상기 왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피 추출물은 재배한 것, 채취한 것 또는 시판되는 것 등이 제한 없이 사용될 수 있다. 상기 식물은 식물 전체를 이용할 수 있고, 잎, 줄기 또는 뿌리를 각각 이용할 수 있으며, 이중 잎과 줄기를 이용하는 것이 더욱 바람직하다. 상기 왕벚나무(*Prunus yedoensis*) 수피는 생육단계 중 모든 시기가 사용 가능하다.

[0029] 상기 왕벚나무 수피 추출물 추출 시 추출 용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물, 바람직하게는 물, C_1 ~ C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하며, 메탄올 또는 에탄올로 추출하는 것이 더욱 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 상기 추출 용매의 양은 왕벚나무 수피 추출물 건조 중량의 2 ~ 30배로 함이 바람직하고, 20배로 하는 것이 더 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 상기 왕벚나무 수피 추출물을 추출하는 방법은 열수 추출, 침지 추출, 초임계 추출, 아임계 추출, 고온 추출, 고압 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 추출장치를 이용한 방법 또는 XAD 및 HP-20을 포함한 흡착 수지를 이용하는 방법 등 당 업계의 통상적인 추출방법을 사용할 수 있으며, 가온하며 환류 추출 또는 상온에서 추출하는 것이 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다. 상기 왕벚나무 수피 추출물의 추출 회수는 1 ~ 5회인 것이 바람직하며, 3회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다. 초음파 추출 방법으로 1회 ~ 5회 추출될 수 있다. 추출 시 온도는 10 ℃ ~ 100 ℃인 것이 바람직하며 상온인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출 시간은 1시간 ~ 24시간인 것이 바람직하고, 3시간 ~ 7일인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0032] 추출 후 감압 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0033] 이때, 상기 감압 농축은 진공회전증발농축기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는

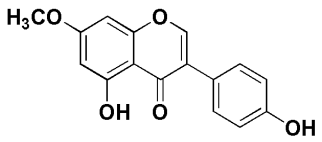
감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무 건조, 상온건조 또는 동결건조를 하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0034] 구체적으로, 상기 왕벚나무 수피를 건조하고, 세절하여 각각 추출용기에 넣고, 메탄올(MeOH)을 넣어 50 ℃온도에서 3일 동안 보관 후, 추출하여 추출액을 얻는다. 왕벚나무 수피 추출물의 추출 효율을 높이기 위하여 상기 과정을 수회 반복 수행할 수 있다. 이후, 상기 추출액을 일정 시간 동안 방치한 다음 거름종이 등으로 여과하여 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물을 제조할 수 있다.

[0035] 상기 방법으로 얻은 추출물들은 진공회전증발 농축기(EYELA, Japan.)를 이용하여 감압 농축하는 단계를 추가적으로 수행할 수 있다.

[0036] 또한, 하기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다:

화학식 1

[0037] 

[0038] 상기 화학식 1의 화합물은 시판되는 것을 이용하거나 왕벚나무 추출물 또는 왕벚나무 분획물로부터 분리하거나, 유기화학적 합성법으로 합성하여 사용할 수 있으며, 일례로써 하기의 단계 1 내지 3을 포함하는 방법에 의해 수행될 수 있다.

[0039] 왕벚나무 수피 건조물을 물, C_1~C_4의 알코올, 초산에틸, 염화메틸렌 및 클로로포름으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 왕벚나무 수피 추출물을 얻는 단계(단계 1);

[0040] 상기 단계 1에서 얻은 왕벚나무 수피 추출물을 물에 현탁시킨 후, 클로로포름을 이용하여 물과 클로로포름 분획물을 분획하고, 상기 물 분획물에 에틸아세테이트를 첨가하여 현탁 시킨 후, 물과 에틸아세테이트 분획물을 분획하는 단계(단계 2);

[0041] 상기 단계 2에서 얻은 왕벚나무 수피 물 분획물을 물에 현탁 시킨 후, 유출 용매로 물 및 메탄올을 사용하여 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 왕벚나무 분획물을 얻는 단계(단계 3);

[0042] 상기 단계 3에서 얻은 분획물을 메탄올을 이용하여 크로마토그래피를 수행하여 왕벚나무 MPLC 분획물을 얻는 단계(단계 4); 및

[0043] 상기 단계 4에서 얻은 분획물을 재결정하여 프루네틴 화합물을 분리, 정제하는 단계(단계 5).

[0044] 이하, 본 발명의 제조방법을 단계별로 살펴본다(도 1 참조).

[0045] 본 발명에 따른 단계 1은 왕벚나무 추출물을 얻는 단계로써, 구체적으로 왕벚나무에 추출용매를 가하여 추출한 후, 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하는 방법을 수행하여 왕벚나무 추출물을 제조할 수 있다.

[0046] 상기 단계 1에 있어서, 왕벚나무 수피는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다.

[0047] 상기 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하고, 상기 알코올로는 C_1 내지 C_4 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하고, 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 더욱 바람직하며, 에탄올을 이용하는 것이 가장 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 추출 방법으로는 여과법, 열수추출, 침지추출, 환류냉각추출 및

초음파추출 등 당업계의 통상적인 방법을 이용할 수 있으며, 열수추출 방법으로 1회 내지 5회 추출하는 것이 바람직하며, 3회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 추출용매는 건조된 왕벚나무 수피 중량에 1 내지 10배 첨가할 수 있으며, 1 내지 5배 첨가하는 것이 바람직하다. 추출온도는 20 내지 100 ℃인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 3 내지 24시간인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0048] 상기 단계 1에 있어서, 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0049] 본 발명에 따른 단계 2는 상기 단계 1에서 얻은 왕벚나무 추출물로부터 클로로포름 및 물로 분획하여 왕벚나무 물 분획물을 얻고, 다시 물 분획물을 에틸아세테이트를 첨가하고 분획하여 왕벚나무의 물 분획물을 얻는 단계이다.

[0050] 본 발명에 따른 일실시 형태에 있어서, 상기 단계 1에서 제조된 왕벚나무 알코올 추출물, 예를 들면 메탄올 또는 에탄올 추출물에 뜨거운 물과 클로로포름을 넣고, 분액깔때기(seperatory funnel)를 이용하여 물층과 유기층으로 분획하고, 다시 물층에 에틸아세테이트를 넣고 분별깔때기를 이용하여 물층과 유기층으로 분획하여 얻은 물 분획물을 감압증류기를 이용하여 감압농축시켜 물 분획물을 수득할 수 있다.

[0051] 본 발명에 따른 단계 3은 상기 단계 2에서 얻은 왕벚나무 물 분획물을 다이아이온 HP-20 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 활성분획물을 분리하는 단계이다.

[0052] 본 발명에 따른 일실시 형태에 있어서, 상기 단계 2로부터 얻은 물 분획물에 대하여 물:메탄올(물 100% ~ 메탄올 100%)을 유출용매로 사용한다이아이온 HP-20 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 분획하고, 물:메탄올(물 100% v/v 분획물)분획물을 활성 분획물로서 다음 단계에 사용하였다.

[0053] 본 발명에 따른 단계 4은 상기 단계 3에서 얻은 활성분획물을 세파덱스 LH-20 중압 컬럼크로마토그래피를 수행하여 상기 화학식 1의 화합물을 얻는 단계이다.

[0054] 본 발명에 따른 일실시 형태에 있어서, 상기 단계 4에서 얻은 활성분획물을 DIAION으로 충전된 컬럼에 로딩하고, 물 100% ~ 메탄올 100%를 용출용매로 이용하여 컬럼크로마토그래피를 수행하고, 다시 세파덱스 LH-20 겔로 충진된 컬럼에 로딩하여 메탄올로 분리하여 본 발명의 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물을 얻을 수 있다.

[0055] 본 발명에 따른 단계 5는 상기 단계 4에서 얻은 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물을 재결정하는 단계이다.

[0056] 본 발명에 따른 일실시 형태에 있어서, 상기 단계 4에서 얻은 프루네틴 화합물을 가열한 메탄올을 이용하여 녹인 뒤, 냉소에 방치하여 얻은 결정을 여과하는 과정을 수행하여 얻을 수 있다.

[0057] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물뿐만 아니라, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물, 라세미체, 또는 입체이성질체를 모두 포함한다.

[0058] 본 발명의 화학식 1의 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오

네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, 하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0059] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 화학식 1의 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다.

[0060] 동량의 화학식 1의 화합물 및 산 수용액 또는 알코올을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조하거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

[0061] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비 용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다.

[0062] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물의 혈관이완 효과를 확인하기 위하여 혈관의 내피-결손 및 무결손 환상 대동맥에 수축을 유도하고, 본 발명이 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물을 처리한 결과, 최대이완 효과가 매우 우수한 것으로 나타났다(표 1 ~ 11 및 도 2 ~ 14 및 도 17 참조).

[0063] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과가 우수하므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0064] 본 발명에 따른 혈관질환은 상기 혈관 질환은 고혈압, 동맥경화, 뇌경색, 심근경색, 말초혈액순환장애, 허혈성 뇌질환, 고지혈증, 관상동맥 심장병 등이 있다.

[0065] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"은 조성물의 투여로 혈관 질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 본 발명에 있어서, "치료"란 조성물의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0066] 본 발명에 있어서 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 제공하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 일반적인 모든 경로를 통하여 경구 또는 비경구 투여될 수 있다. 또한, 조성물은 활성물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[0067] 본 발명에 따른 조성물은 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.

[0068] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명로 표시되는 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0069] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다.

[0070] 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈

(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0071] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

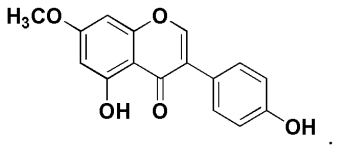
[0072] 구체적으로, 본 발명에 따른 화합물의 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 kg 당 1 내지 50 ㎎, 바람직하게는 1 내지 10 ㎎을 매일 또는 격일 투여하거나 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0073] 나아가, 본 발명은 왕벚나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0074] 상기 추출물은 왕벚나무 수피 추출물을 물, C_1~C_4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출할 수 있고, 바람직하게는 메탄올 또는 에탄올로 추출할 수 있고, 더욱 바람직하게는 메탄올로 추출할 수 있으나 이에 한정하지 않는다.

[0075] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다:

[0076] [화학식 1]

[0077] 

.

[0078] 상기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물은 구입하거나 제조하여 이용할 수 있고, 바람직하게는 왕벚나무 추출물로부터 분리할 수 있으나 이에 한정하지 않는다.

[0079] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물 및 상기 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과가 우수하므로 혈관 질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다(표 1 내지 11, 도 2 내지 14 및 도 17 참조).

[0080] 본 발명에 따른 혈관질환은 상기 혈관 질환은 고혈압, 동맥경화, 뇌경색, 심근경색, 말초혈액순환장애, 허혈성 뇌질환, 고지혈증, 관상동맥 심장병, 동맥경화, 심근경색 등이 있다.

[0081] 본 발명에 따른 조성물은 혈관 질환 예방 및 개선을 목적으로 상기 왕벚나무 추출물 또는 이로부터 분리한 프루네틴 화합물을 식품, 음료 등의 건강보조 식품에 첨가할 수 있다.

[0082] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소시

지, 빵, 비스킷, 떡, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제, 유제품 및 유가공 제품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0083] 본 발명의 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 중의 상기 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0084] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0085] 상기 외에 본 발명의 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0086] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 닥나무로부터 분리된 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0087] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다.

[0088] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것을 뿐, 본 발명을 이에 한정하지 않는다.

[0089] **<실시예 1> 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물의 제조**

[0090] **단계 1: 왕벚나무 추출물의 제조**

[0091] 왕벚나무(P. *Yedoensis*) 수피는 동우당(한국 경북 예천)에서 구입하여 사용하였고, 왕벚나무 3 kg에 100% 메탄올 9 ℓ를 넣고, 3시간 동안 환류기에서 3회 추출하였다. 환류 및 여과 후, 상기 추출물은 감압회전농축기(N-N series, EYELA, 일본)를 이용하여 60 ℃에서 증발시키고, 추출물을 감압 하에 동결 건조하여 왕벚나무 메탄올 추출물을 386.8 g 얻었다. 왕벚나무 메탄올 추출물(1 g)은 디메틸설폭사이드(DMSO; 10 ㎖)에 녹여 사용하였다.

[0092] **단계 2: 왕벚나무 분획물의 제조**

[0093] 상기 단계 1에서 제조된 왕벚나무 수피 추출물 100 g을 증류수 1 ℓ에 녹인 후, 클로로포름, 에틸 아세테이트를 이용하여 순차적으로 분획하고, 각각의 분획물을 감압회전농축기로 농축하여 클로로포름 분획물 6.0 g, 에틸 아세테이트 분획물 40.1 g 및 증류수 분획물을 28.0 g 얻었다.

[0094] **단계 3: 프루네틴 화합물의 제조**

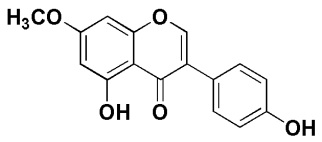
[0095] 유효 성분 추적 분획(activity guided fractionation)의 방법에 의해 상기 단계 2에서 얻은 증류수 분획물을 합성흡착제인 DIAION HP20을 이용한 컬럼크로마토그래피를 물, 50% 메탄올, 80% 메탄올 및 100% 메탄올을 사용하

고, 연속적으로 분리하여 10개의 소분획물(PYH 1~10)로 분획하였다.

[0096] 상기 소분획물 중, 물 100% 분획물을 세파덱스 LH-20겔 및 메탄올을 사용하여 중압 컬럼크로마토그래피를 수행하여 5개의 소분획물(PYH 91~95)을 분리하였다. 그 후, 상기 메탄올 100 % 분획물 중(PYH 95에서 얻은 결정의 여과)를 수행하여 푸루네틴 화합물을 분리하고, 메탄올로 재결정하여 프루네틴 화합물을 얻었다.

[0097] 상기 프루네틴 화합물은 600-MHz 퓨레에-변환(FT) NMR 분광기(모델: VNS; varian, USA)를 사용하여 ^{1}H-NMR 및 ^{13}C-NMR 스펙트럼 분석을 수행하였다. 그 결과 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물은 프루네틴(Prunetin)(Jung et al., 2002)으로 확인되었다(도 15 및 16 참조).

[0098] [화학식 1]

[0099] 

[0100] ^{1}H NMR(DMSO-d_6, 600 MHz) δ 3.864(3H, s), 6.64(1H, s), 6.40(1H, s), 6.84(2H, d, J = 8.4), 7.40(2H, d, J = 8.4), 6.84(2H, d, J = 8.4), 7.40 (2H, d, J = 8.4), 8.40(1H, s)

[0101] ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 150 MHz) δ 153.43(C2), 122.94(C3), 180.842(C4), 162.181(C5), 98.474(C6), 165.644(C7), 92.82(C8), 157.928(C9), 105.852(C10), 121.473(C1'), 130.585(C2'), 115.579(C3'), 154.789(C4'), 115.579(C5'), 130.585(C6'), 56.51(OCH_3)

[0102] **<제조예 1> 혈관 이완 효과 측정을 위한 래트 환상 대동맥의 제조**

[0103] **단계 1: 래트 준비**

[0104] 상기 실시예 1의 왕벚나무 메탄올 추출물의 혈관이완 효과를 측정하기 위하여 SD(Sprague-Dawley)계 수컷 랫트(몸무게 240-260 g; 나라바이오, 서울, 한국)를 사용하였다. 모든 실험방법에서 사용되는 동물은 국립수의과학연구원 및 세계동물보건기구(OIE)에서 발행된 동물 보호 지침서에 의해 사용되었고; 그리고 상기 연구는 경희대학교 실험동물운영위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인되었다(KHUASP(SE)-10-028).

[0105] 상기 래트는 조절된 조건(22±2 ℃; 조명은 07:00 ~ 19:00) 하에 보관되고, 먹이 및 물은 임의로 섭취할 수 있게 하였다.

[0106] **단계 2: 래트 환상 대동맥의 제조**

[0107] 래트는 에테르에 노출시켜 마취시키고, 흉부 대동맥을 적출하고, 적출한 흉부대동맥은 37 ℃로 유지되고, 95% 산소 및 5% 이산화탄소의 혼합가스가 공급되는Krebs-Henseleit 용액(K-H 용액, 조성(mM): NaCl 118.0 mM; KCl 4.7 mM; $MgSO_4$ 1.2 mM; KH_2PO_4 1.2 mM; $CaCl_2$, 2.5 mM; $NaHCO_3$, 25.0 mM; 및 글루코즈 11.1 mM; pH 7.4)에 넣고, 37 ℃로 유지하고, 95% 산소 및 5% 이산화탄소의 혼합가스를 첨가한다. 그 후, 혈관 주위의 결합조직과 지방을 제거하고, 약 2 mm 정도로 잘라 고리형태의 대동맥환을 제조하고, 37 ℃로 유지되는 10 ml의 K-H 용액을 포함하는 유기 챔버에 넣는다. 상기 환상 대동맥을 2개의 텅스텐 스터럽 사이에 끼우고, 등척성 힘 변환장치(isometric force transducer)(Grass Instrument Co., 로드 아일랜드, USA)에 연결하였다. 30분 동안 아무런 자극 없이 혈관 절편을 배양시킨 후, 1.0 g의 휴지장력을 1시간 동안 유지시켰다. 상기 KH-용액을 15분마다 신선한 용액으로 교체하였다. 장력의 변화는 등척성 변환장치에 연결된 데이터 수집장치 시스템(PowerLab, ADI instrument Co., New South Wales, Australia)을 통해 기록되었다. 필요에 따라, 내피(endothelium)는 가는 면봉을 이용하여 혈관의 내강(lumen)을 부드럽게 문질러 제거하였다. 상기 기능적 내피의 존재는 PE(1 μM)로 수축 유도한 혈관 절편을 ACh(10 μM)이 80% 이상 이완시킴을 통해 확인한다.

[0108] **<실험예 1> 내피-무결손 또는 내피-결손 환상 대동맥의 PE(phenylephrine)-**유도 혈관수축에 대한 왕벚나무 수피 추출물의 효과

[0109] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 표준 K-H 용액에서 PE(1 μM)를 사용하여 미리 수축시킨 환상 대동맥 내피의 유무에 따른 농도-의존 이완 효과를 측정하였다. 상기 왕벚나무 수피 추출물의 이완 효과는 PE에 의존하는 백분율 농도를 계산하였다. 그 결과를 하기 표 1 및 도 2에 나타내었다.

표 1

[0110]

	이완(%)	
왕벚나무 수피 추출물 농도 (㎍/㎖)	내피(유)	내피(무)
1	1.5±0.5**	1.0±0.6
2	10.2±1.9**	2.3±1.4
5	35.3±5.0**	9.1±1.4
10	66.9±5.5**	18.2±1.9
20	84.6±3.4**	30.3±3.4
50	92.1±2.7**	38.1±1.1
100	94.0±2.7**	49.4±0.7
*P<0.05, **P<0.01		

[0111] 표 1에 나타낸 바와 같이, 왕벚나무 수피 추출물은 PE(1 μM) 처리하여 사전 수축시킨 환상 대동맥 내피의 존재 유무에 관계없이 둘 다 농도에 의존적 이완제로 야기된다. 그러나, 내피가 있는 환상 대동맥은 내피가 없는 환상 대동맥보다 더 이완되는 것으로 나타났다. 상기 최대 이완 효과는 각각 94.0±2.7% 및 49.4±0.7%이다.

[0112] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과가 우수하므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0113] **<실험예 2> 내피-무결손 또는 내피-결손 환상 대동맥의 KCl-유도 혈관수축에** 대한 왕벚나무 수피 추출물의 효과

[0114] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 표준 K-H 용액에서 KCl(60 mM)를 사용하여 사전 수축시킨 환상 대동맥 내피의 유무에 따른 농도-의존 이완 효과를 측정하였다. 상기 왕벚나무 수피 추출물의 이완 효과는 KCl에 의존하는 백분율 농도를 계산하였다. 그 결과를 하기 표 2 및 도 3에 나타내었다.

표 2

[0115]

	이완(%)	
왕벚나무 수피 추출물 농도 (㎍/㎖)	내피(유)	내피(무)
1	1.5±0.5	0.5±0.5
5	10.8±0.3*	1.1±1.1
10	23.7±2.6*	3.1±2.1
20	33.5±3.0*	7.7±1.6
50	41.9±4.0*	15.4±0.1
100	64.6±5.7*	39.5±1.7

200	82.7±3.8	67.2±6.0
300	90.5±1.0	80.6±3.0
*P<0.05, **P<0.01		

[0116] 표 1에 나타낸 바와 같이, 왕벚나무 수피 추출물은 KCl(60 mM)를 처리하여 사전 수축시킨 환상 대동맥 내피의 존재 유무에 관계없이 둘 다 농도에 의존적 이완제로 야기된다. 그러나, 내피가 있는 환상 대동맥은 내피가 없는 환상 대동맥보다 더 이완되는 것으로 나타났다. 상기 최대 이완 효과는 각각 90.5±1.0% 및 80.6±3.0%이다.

[0117] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과가 우수하므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0118] **<실험예 3> L-NAME를 전처리한 내피-무결손 환상 대동맥에 대한 왕벚나무 수**피 추출물의 효과

[0119] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 산화질소(NO) 합성 과정을 측정하기 위하여 내피가 존재하는 환상 대동맥을 PE(1 μM) 처리하여 수축하기 20분 전에 L-NAME(10 μM)로 사전 배양하였다. 상기 왕벚나무 수피 추출물의 환상 대동맥 이완 효과는 L-NAME를 처리하지 않은 환상 대동맥과 비교하였다. 그 결과를 하기 표 3 및 도 4에 나타내었다.

표 3

[0120]

	이완(%)	
왕벚나무 수피 추출물 농도 (㎍/㎖)	내피(유)	내피(무)
1	1.5±0.5	0.2±0.1
2	10.2±1.9	1.5±0.6**
5	35.3±5.0	5.3±1.7**
10	66.9±5.5	8.0±2.1**
20	84.6±3.4	11.3±3.1**
50	92.1±2.7	17.9±4.5**
100	94.0±2.7	28.1±5.9**
*P<0.05, **P<0.01		

[0121] 표 3에 나타낸 바와 같이, PE(1 μM) 처리하여 사전 수축시킨 내피가 존재하는 환상 대동맥의 이완제는 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물에 의해 유도되어 L-NAME(10 μM)으로 배양하여 상당히 감소하였다. L-NAME의 존재 유무에 따라 최대 이완 효과는 각각 28.1±5.9% 및 94.0±2.7%로 나타났다.

[0122] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과가 우수하며, 특히 혈관 내피에 작용하여 혈관을 이완시키는 효과가 뛰어났다. 그러므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0123] **<실험예 4> ODQ 또는 MB로 전처리한 내피-무결손 환상 대동맥에 대한 왕벚나**무 수피 추출물의 효과

[0124] 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물의 NO-고리형 구아노신 모노포스페이트(cGMP) 경로의 효과를 조사하기 위하여, 내피-무결손 환상 대동맥에 PE(1 μM) 처리에 의한 수축 전에 ODQ(1H-[1,2,4]-옥사다이아졸-[4,3-α]-퀴녹살린-1-온)(10 μM) 또는 MB(메틸렌 블루)(10 μM)로 20분 동안 전처리하였다. 그 결과를 하기 표 4 및 도 5에 나타내었다.

표 4

[0125]

왕벗나무 수피 추출물 농도 (㎍/㎖)	이완(%)		
	대조군	ODQ (10 μM)	MB (10 μM)
1	1.5±0.5	0.9±0.4	0.6±0.2
2	10.2±1.9	2.4±0.9	1.6±0.1
5	35.3±5.0	3.8±0.8**	3.6±0.1*
10	66.9±5.5	5.4±0.6**	16.1±1.9**
20	84.6±3.4	8.5±1.1**	28.9±5.2**
50	92.1±2.7	16.5±0.7**	45.2±6.2**
100	94.0±2.7	34.5±0.6**	69.2±6.5**
*P<0.05, **P<0.01			

[0126] 표 4에 나타낸 바와 같이, PE(1 μM) 처리에 의해 사전 수축시킨 내피-무결손 환상 대동맥의 본 발명의 왕벗나무 수피 추출물로 유도된 이완을 ODQ(10 μM) 및 MB(10 μM)로 배양한 결과, 상당히 감소하는 것으로 나타났다. 이는 ODQ의 유무에 따라, 최대 이완 효과가 각각 34.5±0.6% 및 94.0±2.7%로 나타났고, 또한, MB의 유무에 따라, 최대 이완 효과가 각각 69.2±6.5% 및 94.0±2.7%로 나타났다.

[0127] 따라서, 본 발명의 왕벗나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과가 우수하며, 특히 혈관 내피에 작용하여 혈관을 이완시키는 효과가 뛰어났다. 그러므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0128] **<실험예 5> 인도메타신을 전처리한 내피-결손 환상 대동맥에 대한 왕벗나무** 수피 추출물의 효과

[0129] 본 발명에 따른 왕벗나무 수피 추출물로 유도된 혈관이완에 플로스타시클린(prostacycline)의 관여 유무를 측정하기 위하여, 내피-무결손 환상 대동맥에 PE(1 μM) 처리하여 수축하기 20분 전에 인도메타신(1 μM)을 전처리하였다. 상기 왕벗나무 수피 추출물의 환상 대동맥 이완 효과는 인도메타신을 처리하지 않는 환상 대동맥과 비교하였다. 그 결과를 하기 표 5 및 도 6에 나타내었다.

표 5

[0130]

왕벗나무 수피 추출물 농도 (㎍/㎖)	이완(%)	
	대조군	인도메타신 (1 μM)
1	1.5±0.5	2.0±0.3
2	10.2±1.9	10.9±0.8
5	35.3±50.0	31.5±5.6
10	66.9±5.5	61.0±4.6
20	84.6±3.4	77.2±6.3
50	92.1±2.7	92.7±3.0
100	94.0±2.7	97.6±1.8
*P<0.05, **P<0.01		

[0131] 표 5에 나타낸 바와 같이, 인도메타신(1 μM)으로 배양한 경우, PE(1 μM) 처리에 의해 사전 수축시킨 내피-무

결손 환상 대동맥의 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물로 유도된 이완에는 영향을 주지 못한 것으로 나타났다. 인도메타신의 유무에 따라 최대 이완 효과는 각각 97.6±1.8% 및 94.0±2.7%로 나타났다.

[0132] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과는 프로스타시클린과는 관계가 없음이 확인되었다.

[0133] **<실험예 6> 아트로핀을 전처리한 내피-결손 환상 대동맥에 대한 왕벚나무 수**피 추출물의 효과

[0134] 무스카린 수용체의 활성에 결부시키는 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물에 의해 증가된 NO(일산화 질소) 방출 유무를 측정하기 위하여, 내피-무결손 환상 대동맥에 PE(1 μM) 처리하여 수축하기 20분 전에 아트로핀(1 μM)을 전처리하였다. 상기 왕벚나무 수피 추출물의 환상 대동맥 이완 효과는 아트로핀을 처리하지 않는 환상 대동맥과 비교하였다. 그 결과를 하기 표 6 및 도 7에 나타내었다.

표 6

[0135]

	이완(%)	
왕벚나무 수피 추출물 농도 (㎍/㎖)	대조군	아트로핀 (1 μM)
1	1.5±0.5	2.0±0.5
2	10.2±1.9	5.9±1.0
5	35.3±50.0	32.1±4.5
10	66.9±5.5	75.4±6.6
20	84.6±3.4	92.8±3.8
50	92.1±2.7	91.9±4.5
100	94.0±2.7	91.8±3.4
$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$		

[0136] 표 6에 나타낸 바와 같이, 아트로핀(1 μM)으로 배양한 경우, PE(1 μM) 처리에 의해 사전 수축시킨 내피-무결손 환상 대동맥의 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물로 유도된 이완에는 영향을 주지 못한 것으로 나타났다. 아트로핀의 유무에 따라 최대 이완 효과는 각각 91.8±3.4% 및 94.0±2.7%로 나타났다.

[0137] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과는 무스카리닉 수용체와는 관계가 없음이 확인되었다.

[0138] **<실험예 7> 다양한 K^+ 채널 차단제를 전-처리한 내피-무결손 환상 대동맥에** 대한 왕벚나무 수피 추출물의 효과

[0139] 표준 K-H 용액의 내피-무결손 환상 대동맥은 PE(1 μM)의 첨가 전에 20분 동안 K^+ 채널 차단제인 TEA(5 nM), 글리벤클아미드(10 μM), 또는 4-AP(1 mM)로 전처리하였다. 안정기에 이르면 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물(1~100 ㎍/㎖)을 점증적으로 첨가한다. 환상 대동맥에 대한 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 혈관 이완 효과는 PE에 의존하는 백분율 농도를 계산하였다. 그 결과를 하기 표 7 및 도 8에 나타내었다.

표 7

[0140]

	이완(%)			
왕벚나무 수피 추출물 농도 (㎍/㎖)	대조군	글리벤클아미드 (10 μM)	TEA (5 mM)	4-AP (1 mM)
1	1.5±0.5	1.6±1.1	2.1±0.2	0.4±0.4

2	10.2±1.9	15.4±1.5	3.7±1.3	4.3±0.5
5	35.3±5.0	41.6±0.3	24.0±5.9	26.7±1.9
10	66.9±5.5	71.0±1.9	62.3±7.5	59.5±4.2
20	84.6±3.4	88.5±3.5	89.8±6.8	77.9±3.8
50	92.1±2.7	94.6±1.1	93.7±4.2	87.8±0.2
100	94.0±2.7	96.2±0.8	101.7±2.9	92.7±1.8
$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$				

[0141] 표 7에 나타낸 바와 같이, 글리벤클아미드, TEA 및 4-AP를 포함하는 K+ 채널저해제를 처리한 결과, 내피-무결손 환상 대동맥에 변화가 없는 것으로 나타났다.

[0142] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과는 칼륨채널과는 관계가 없음이 확인되었다.

[0143] **<실험예 8> 세포밖 Ca^{2+}의 유입으로 인한 혈관수축에 대한 왕벚나무 수피 추**출물의 효과

[0144] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 세포밖 Ca^{2+}의 유입으로 인한 혈관수축에 대한 효과를 확인하기 위하여, 하기 두 가지 실험을 수행하였다: (1)수용체-작동 Ca^{2+} 채널(ROCCs)의 평가 및 (2)전류-의존성 Ca^{2+} 채널(VDCCs)의 평가.

[0145] (1) ROCCs 평가 실험

[0146] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물(200 ㎍/㎖)로 10분 동안 전처리한 뒤, Ca^{2+}가 없는 K-H 용액에서, PE(1 μM)에 의한 내피-결손 환상 대동맥의 $CaCl_2$(0.3~10 mM)에 의한 수축성 반응 유도를 확인하였고, 그 결과를 하기 표 8 및 도 9에 나타내었다.

[0147]

[0148] (2) VDCCs 평가 실험

[0149] 수축이 KCl(60 mM)에 의해 유도되는 것을 제외하고는 상기 ROCCs 실험과 동일한 방법으로 수행하였다. 그 결과를 하기 표 9 및 도 10에 나타내었다.

표 8

[0150]

	수축(g)	
$CaCl_2$ 농도(mM)	대조군	왕벚나무 수피 추출물 (200 ㎍/㎖)
0.3	0.25±0.11	$0.10±0.02^{*}$
1	1.43±0.09	$0.29±0.04^{**}$
3	1.77±0.12	$0.41±0.06^{**}$
10	1.83±0.13	$0.41±0.06^{**}$
$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$		

[0151] 표 8에 나타낸 바와 같이, 수용체-작동 Ca^{2+} 채널(ROCCs)에 대한 본 발명에 따른 왕벚나무추출물(200 ㎍/㎖)을 처리한 군에서 $CaCl_2$ 농도에 유의성 있게 수축률이 억제되는 것으로 나타났고, 각각 0.10±0.02, 0.29±0.04, 0.41±0.06 및 0.41±0.06(g)로 나타났다. 또한, 대조군은 0.25±0.11, 1.43±0.09, 1.77±0.12 및 1.83±

0.13(g)으로 나타났다.

표 9

[0152]

	수축(g)	
$CaCl_2$ 농도(mM)	대조군	왕벚나무 수피 추출물 (200 ㎍/㎖)
0.3	0.28±0.06	0.11±0.02
1	0.80±0.03	$0.7\pm0.04^{**}$
3	1.12±0.08	$0.20\pm0.05^{**}$
10	1.30±0.10	$0.26\pm0.08^{**}$
$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$		

[0153] 표 9에 나타낸 바와 같이, 전류-의존성 Ca^{2+} 채널(VDCCs)에 대한 본 발명에 따른 왕벚나무추출물(200 ㎍/㎖)을 처리한 군에서 $CaCl_2$ 농도에 유의성 있게 수축률이 억제되는 것으로 나타났고, 각각 0.11±0.02, 0.7±0.04, 0.20±0.05 및 0.26±0.08으로 나타났고, 또한, 대조군은 0.28±0.06, 0.80±0.03, 1.12±0.08 및 1.30±0.10로 나타났다.

[0154] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 세포밖 Ca^{2+}의 유입으로 인한 혈관수축을 억제하는 효과가 우수하므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0155] **<실험예 9> 니페디핀 존재 하의 PE-유도 수축에 대한 왕벚나무 수피 추출물** 및 SK&F96365의 효과

[0156] ROCCs를 통한 Ca^{2+} 유입에 대한 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 효과를 알아보기 위하여 VDCC 저해제 니페디핀(10 μM)의 존재하에 PE(10 μM)로 유도된 수축을 상기 실시예 1의 왕벚나무 수피 추출물(200 ㎍/㎖) 및 ROCC 저해제 SK&F96365(50 μM)을 투여하여 확인하였다. 그 결과를 도 11 및 12에 나타내었다.

[0157] 도 11 및 12에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물은 SK&F96365와 유사한 수축효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

[0158] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과가 우수하므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0159] **<실험예 10> 세포 내 Ca^{2+}-방출로 인한 혈관수축에 대한 왕벚나무 수피 추출**물의 효과

[0160] 근소포체(SR)로부터 방출된 **Ca^{2+}으로 인한 혈관수축에** 대한 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 효과를 확인하기 위하여 하기 실험을 수행하였다:(1) 특정 세포 내 칼슘 방출 채널인 이노시톨 삼인산 수용체(IR_3R) 채널 및 (2) 리아노딘 수용체(RyR) 채널에 대한 효과 측정.

[0161] (1) IP_3R 경로 실험

[0162] Ca^{2+}가 없는 K-H 용액에서 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물(200 ㎍/㎖)로 10분 동안 전처리한 뒤, PE(1 μM)에 의한 내피-결손 환상 대동맥의 수축성 효과를 확인하였다.

[0163] (2) RyR 경로 실험

[0164] 상기 IP_3R 경로 실험에서 PE(1 μM)를 사용하는 대신에 카페인(20 mM)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법으로 수행하여 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물 효과를 확인하였고, 그 결과를 하기 표 10 및 도 13에 나타내었다.

표 10

[0165]

	수축(g)	
	대조군	왕벚나무 수피 추출물 (200 μg/mℓ)
PE(1 μM)	0.11±0.01	0.06±0.01**
카페인(20 mM)	0.20±0.01	0.21±0.02

[0166] 표 10에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물은 PE에 의한 수축에 처리한 결과, 0.06±0.01 g으로 대조군(0.11±0.01 g)보다 2배 이완되는 것으로 확인되었다.

[0167] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 삼인산 수용체(IR_3R) 채널을 통해 혈관을 이완시키는 효과가 우수하였음을 확인하였다. 그러므로 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0168] **<실험예 11> 로-키나제(Rho-kinase) 경로에 대한 왕벚나무 수피 추출물의 효과**

[0169] 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물의 로-키나제 경로에 대한 효과를 확인하기 위하여 내피-결손 환상 대동맥에 PE(1 μM) 처리에 의한 수축 전에 선택적 로-키나제 저해제인 Y-27632(1 μM)로 15분 동안 전처리하고 난 후, MEPY(10~300 μg/mℓ)을 점증적으로 첨가하였다. 본 발명에 따른 왕벚나무의 혈관긴장완화 효과는 Y-27632와 비교하였다. 그 결과를 하기 표 11 및 도 14에 나타내었다.

표 11

[0170]

	이완(%)	
왕벚나무 수피 추출물 농도 (μg/mℓ)	대조군	Y-27632(1 μM)
10	12.1±6.1	13.2±6.5
20	22.1±9.3	23.9±10.1
50	33.5±4.6	41.8±11.8
100	54.7±0.3	70.4±4.8
200	78.9±1.7	80.1±0.5
300	92.2±1.6	97.0±0.8

[0171] 표 11에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 왕벚나무 수피 추출물은 로-키나제 저해제인 Y-27632의 전처리와 상관없이 유사한 효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

[0172] 따라서, 본 발명의 왕벚나무 수피 추출물 및 프루네틴 화합물은 혈관이완 효과는 로-키나제 경로와는 관계가 없음을 확인하였다.

[0173] **<실험예 12> 내피-무결손 환상 대동맥에 대한 프루네틴의 효과**

[0174] 상기 실시예 2에서 얻는 프루네틴의 혈관이완 효과를 확인하기 위하여 표준 K-H 용액에서 PE(1 μM)로 전처리된 내피-무결손 환상 대동맥에 프루네틴(10^{-9}~10^{-5} M)을 처리하여 측정하였다. 그 결과를 도 17에 나타내었다.

[0175] 그 결과, 프루네틴 10^{-9}~10^{-6} M을 처리한 군에서는 이완효과가 나타나지 않았으나, 프루네틴(10 μM)을 처리한 군에서는 내피-무결손 환상 대동맥을 완전히 이완시키는 것으로 나타났다.

[0176] 따라서, 본 발명에 따른 왕벚나무 추출물 및 프루네틴은 혈관이완 효과가 우수하므로 혈관 이완용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0177] 한편, 본 발명에 따른 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물는 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물을 활성 성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0178] **<제제예 1> 산제의 제조**

[0179] 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 500 ng

[0180] 유당 1 g

[0181] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

[0182] **<제제예 2> 정제의 제조**

[0183] 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 500 ng

[0184] 옥수수전분 100 mg

[0185] 유당 100 mg

[0186] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0187] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0188] ***<제제예 3> 캡슐제의 제조**

[0189] 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 500 ng

[0190] 옥수수전분 100 mg

[0191] 유당 100 mg

[0192] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0193] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0194] **<제제예 4> 주사제의 제조**

[0195] 왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물 500 ng

[0196] 만니톨 180 mg

[0197] $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 26 mg

[0198] 증류수 2974 mg

[0199] 통상적인 주사제의 제조방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.

[0200] **<제제예 5> 건강식품의 제조**

[0201]	왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물	500 ng
[0202]	비타민 혼합물	적량
[0203]	비타민 A 아세테이트	70 ㎍
[0204]	비타민 E	1.0 ㎎
[0205]	비타민	0.13 ㎎
[0206]	비타민 B2	0.15 ㎎
[0207]	비타민 B6	0.5 ㎎
[0208]	비타민 B12	0.2 ㎍
[0209]	비타민 C	10 ㎎
[0210]	비오틴	10 ㎍
[0211]	니코틴산아미드	1.7 ㎎
[0212]	엽산	50 ㎎
[0213]	판토텐산 칼슘	0.5 ㎎
[0214]	무기질 혼합물	적량
[0215]	황산제1철	1.75 ㎎
[0216]	산화아연	0.82 ㎎
[0217]	탄산마그네슘	25.3 ㎎
[0218]	제1인산칼륨	15 ㎎
[0219]	제2인산칼슘	55 ㎎
[0220]	구연산칼륨	90 ㎎
[0221]	탄산칼슘	100 ㎎
[0222]	염화마그네슘	24.8 ㎎

[0223] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0224] **<제조예 2> 건강 음료의 제조**

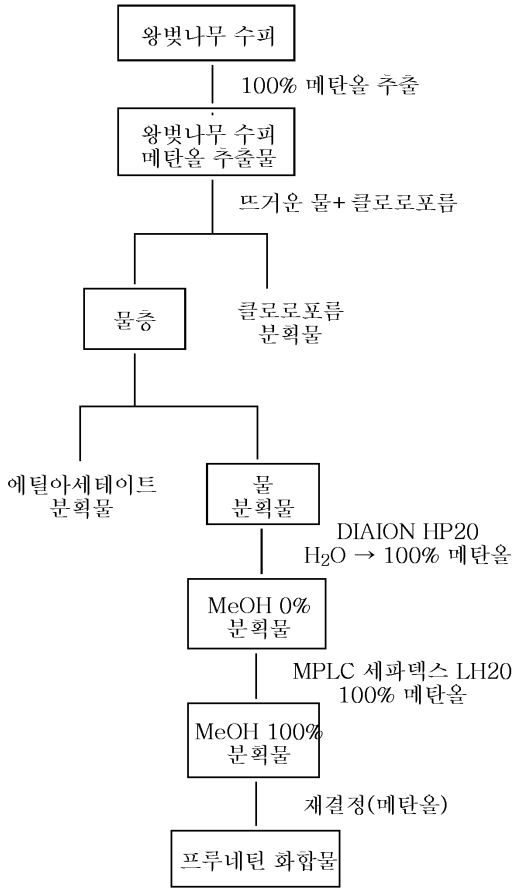
[0225]	왕벚나무 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 프루네틴 화합물	500 ng
[0226]	구연산	1000 ㎎
[0227]	올리고당	100 g
[0228]	매실농축액	2 g
[0229]	타우린	1 g
[0230]	정제수를 가하여 전체	900 ㎖

[0231] 통상의 건강 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 21 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강 음료 조성물 제조에 사용하였다.

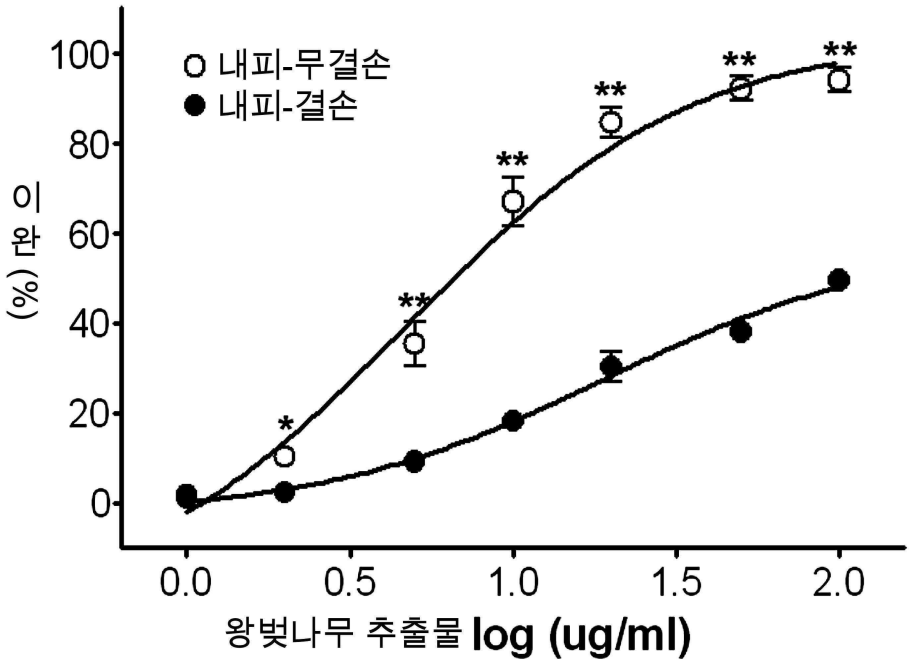
[0232] *상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호 도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

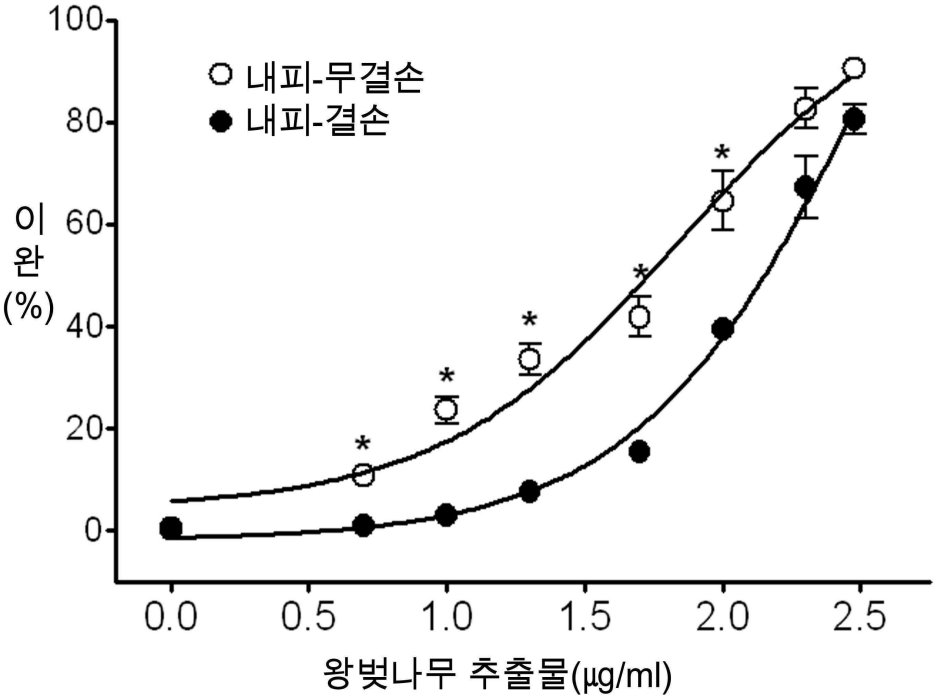
도면1



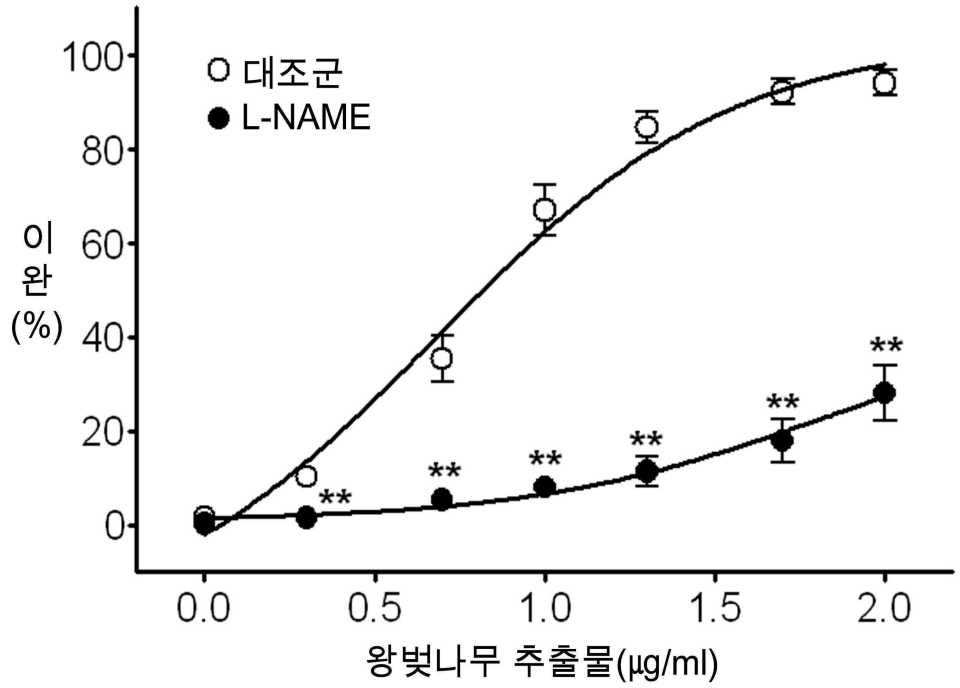
도면2



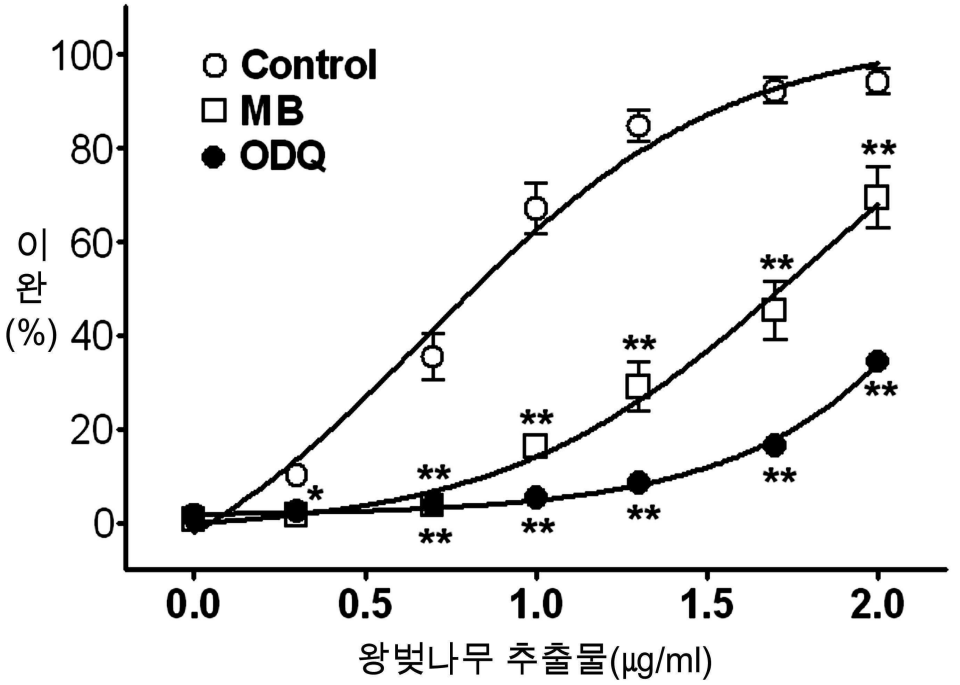
도면3



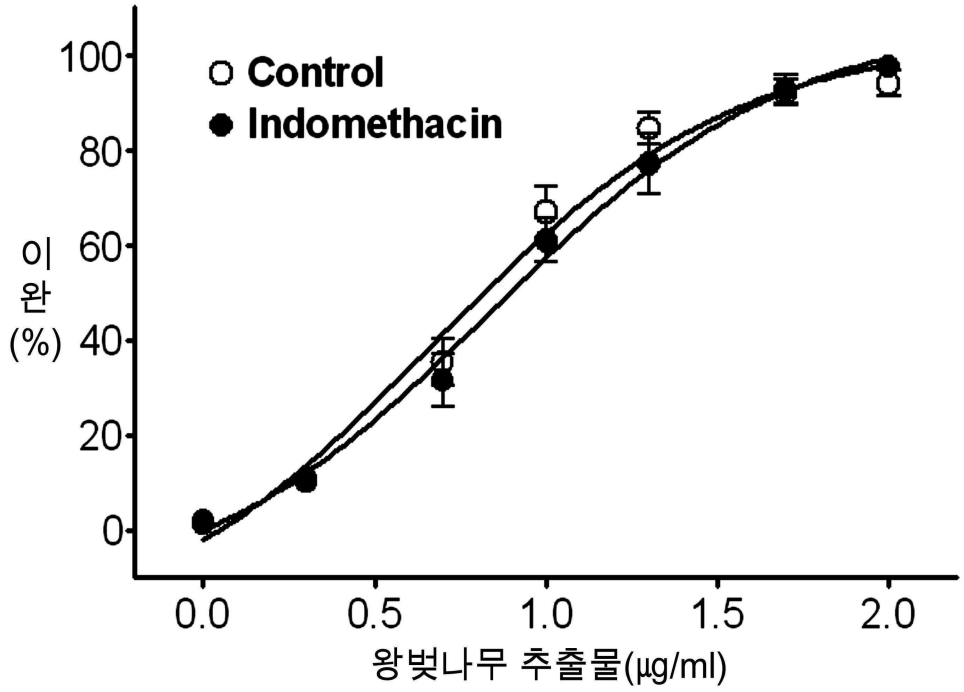
도면4


대조군
L-NAME
이완(%)
100
80
60
40
20
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
왕벚나무 추출물(μg/ml)

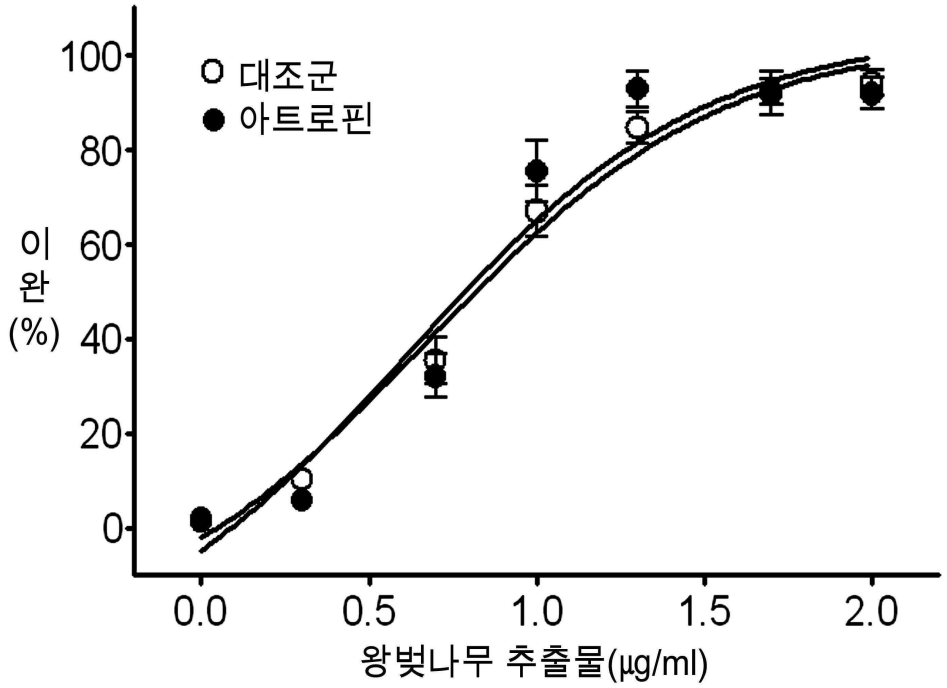
도면5


Control
MB
ODQ
이완(%)
100
80
60
40
20
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
왕벚나무 추출물(μg/ml)

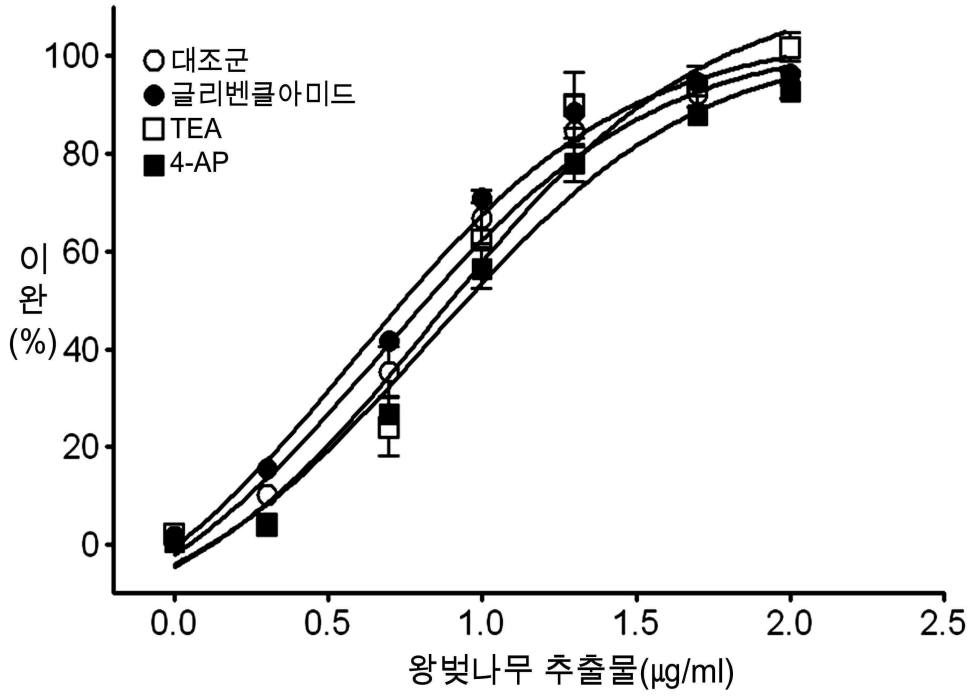
도면6


Control
Indomethacin
이완(%)
100
80
60
40
20
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
왕벚나무 추출물(μg/ml)

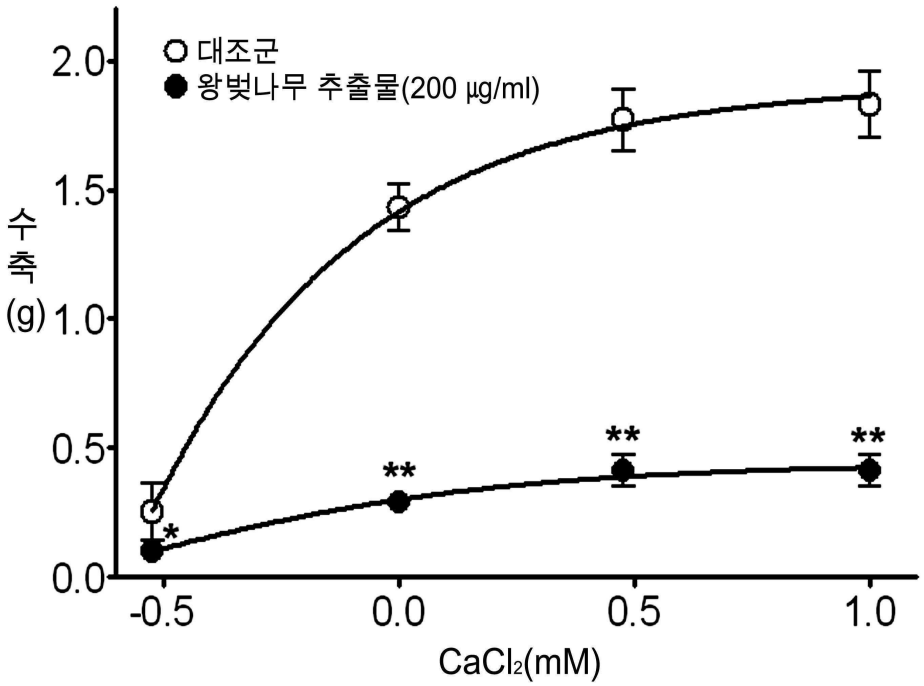
도면7


대조군
아트로핀
이완(%)
100
80
60
40
20
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
왕벚나무 추출물(μg/ml)

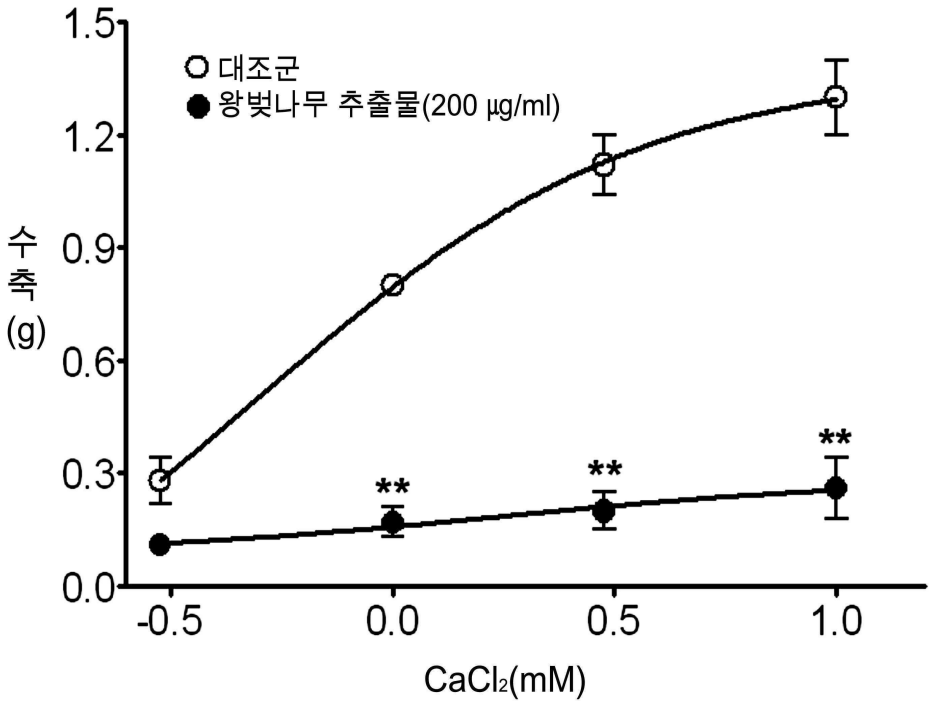
도면8


대조군
글리벤클아미드
TEA
4-AP
이완(%)
100
80
60
40
20
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
왕벗나무 추출물(μg/ml)

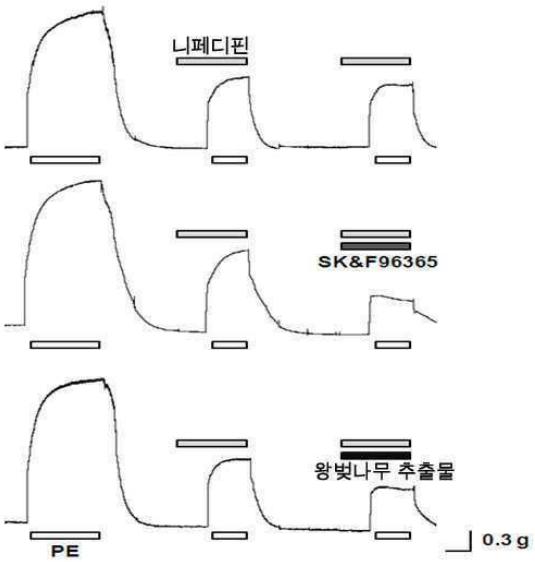
도면9


대조군
왕벗나무 추출물(200 μg/ml)
수축(g)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
*
**
**
**
-0.5
0.0
0.5
1.0
CaCl2(mM)

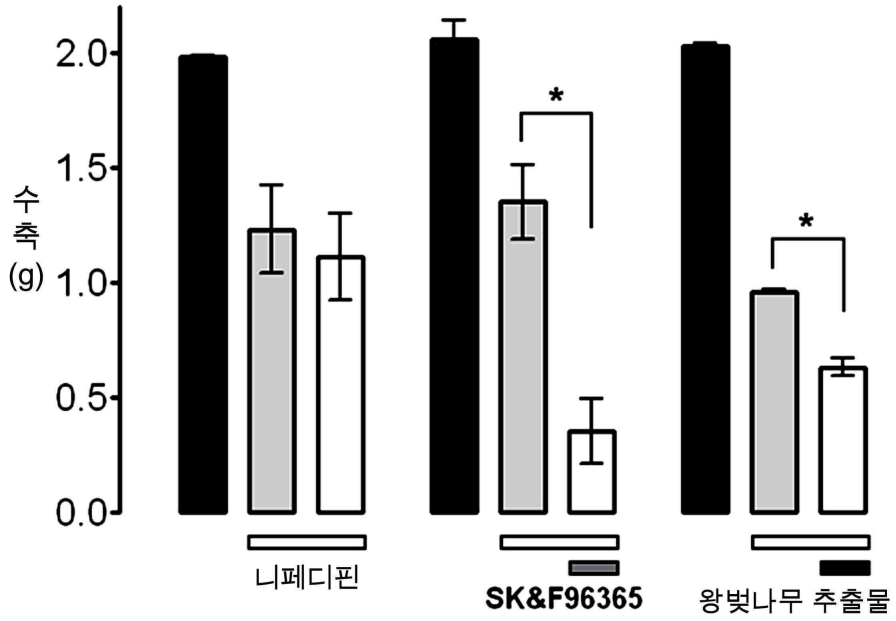
도면10


대조군
왕벗나무 추출물(200 μg/ml)
수축(g)
1.5
1.2
0.9
0.6
0.3
0.0
**
**
**
-0.5
0.0
0.5
1.0
CaCl2(mM)

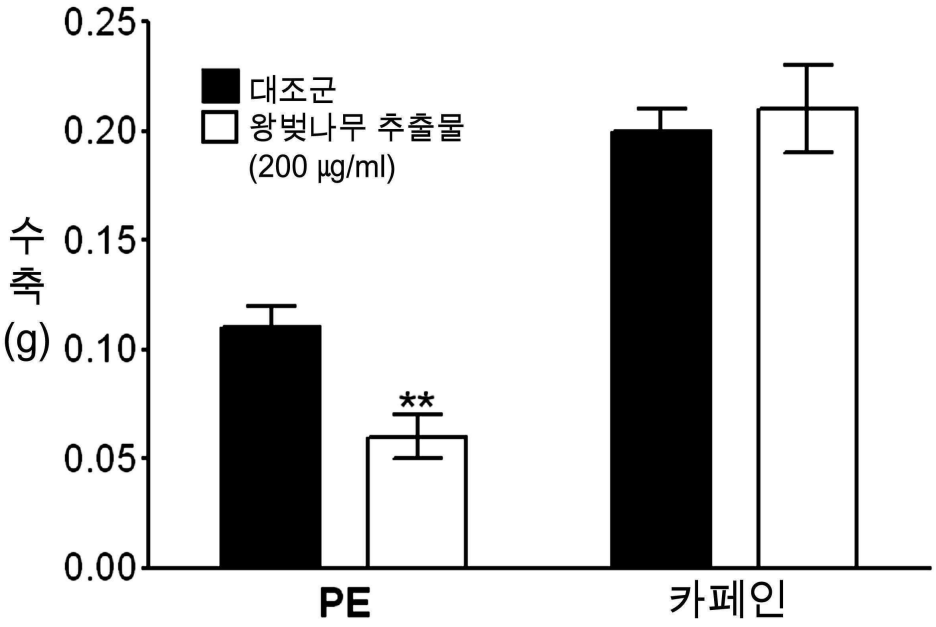
도면11


니페디핀
SK&F96365
왕벗나무 추출물
PE
0.3 g

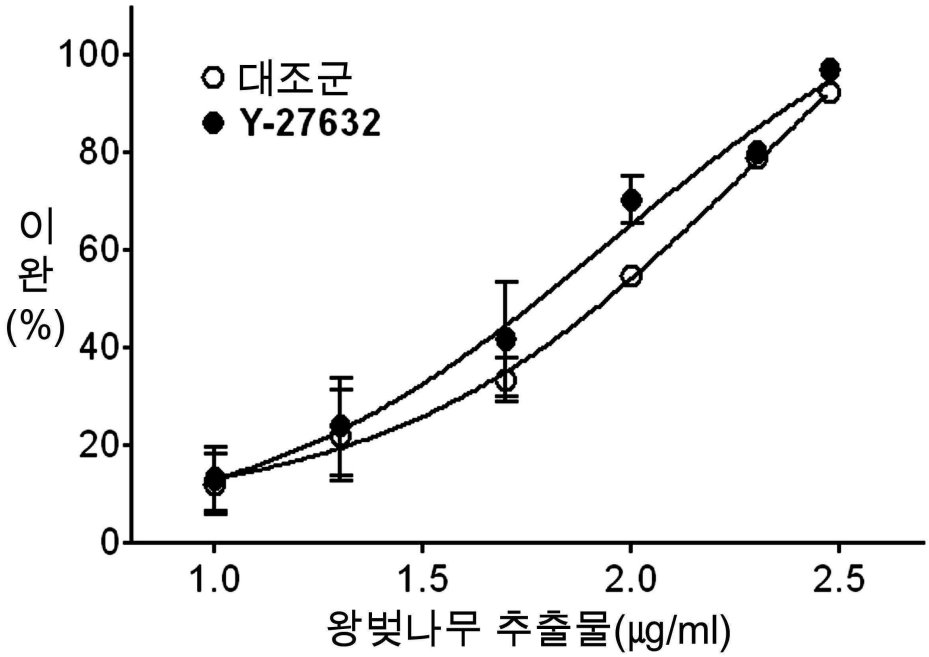
도면12


2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
수축 (g)
*
*
니페디핀
SK&F96365
왕벚나무 추출물

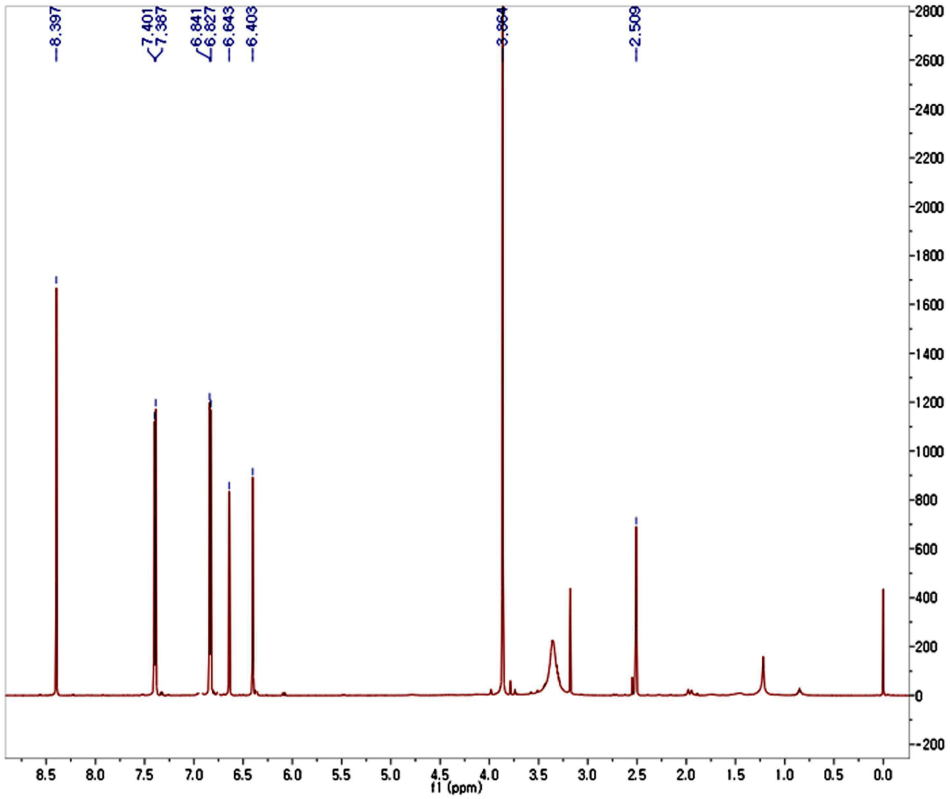
도면13


0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
수축 (g)
대조군
왕벚나무 추출물
(200 μg/ml)
**
PE
카페인

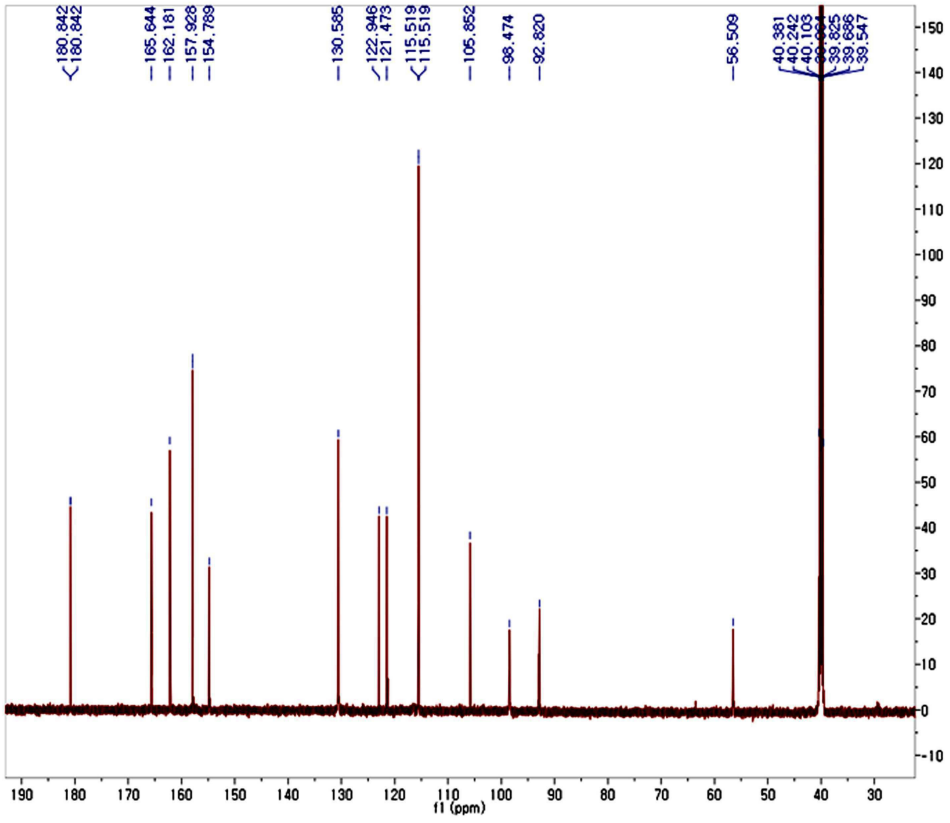
도면14


100
80
60
40
20
0
이완(%)
대조군
Y-27632
1.0
1.5
2.0
2.5
왕벚나무 추출물(μg/ml)

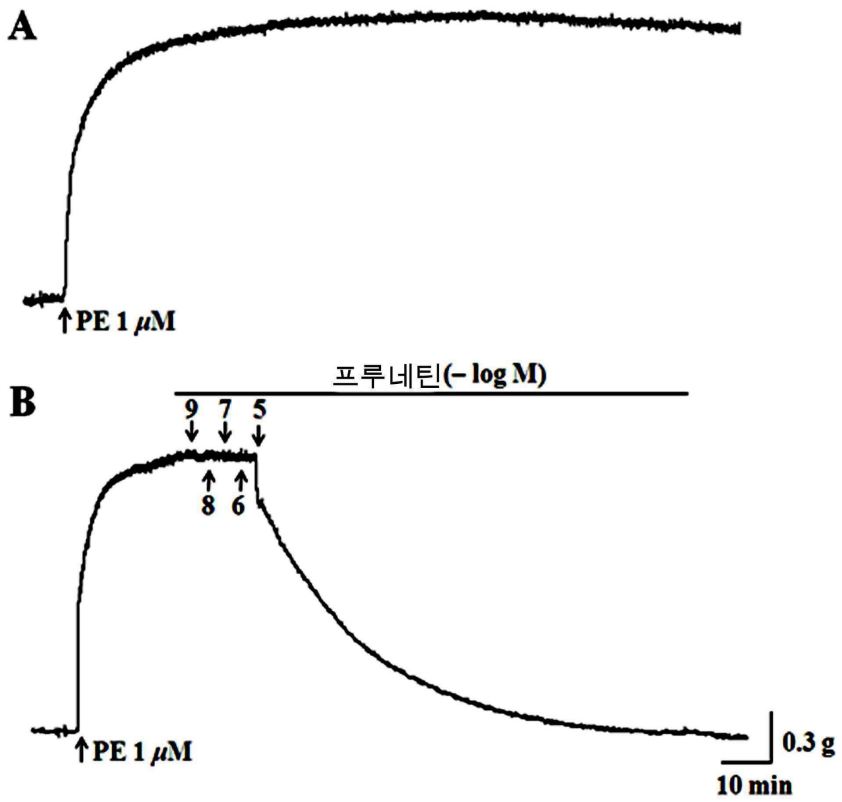
도면15


8.397
7.401
7.387
6.841
6.827
6.643
6.403
3.864
2.509
f1 (ppm)

도면16


180.842
180.842
165.644
162.181
157.928
154.789
130.585
122.946
121.473
115.519
115.519
105.852
98.474
92.820
56.509
40.381
40.242
40.103
39.825
39.686
39.547
f1 (ppm)

도면17


A
PE 1 μM
B
프루네틴(– log M)
9
7
5
8
6
PE 1 μM
0.3 g
10 min