



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0116248
(43) 공개일자 2009년11월11일

(51) Int. Cl.

A61K 36/03 (2006.01) A61K 31/565 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0042087

(22) 출원일자 2008년05월07일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

주식회사 알엔에이

경기 용인시 기흥읍 서천리1 경희대 산업대학관
308

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제
캠퍼스내

(72) 발명자

정대균

경기 성남시 분당구 서현동 시범단지우성아파트
21-1802

김홍희

서울특별시 용산구 이촌동 강촌아파트 106동 140
3호

(뒷면에 계속)

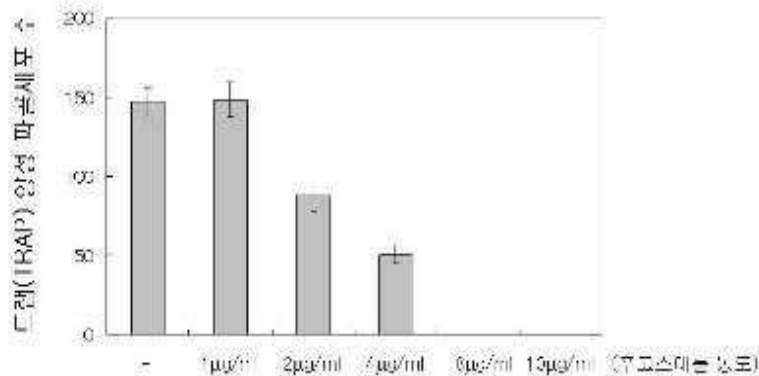
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 미역으로부터 분리한 생리활성 물질

(57) 요약

본 발명은 조골세포와 파골세포의 골대사 불균형에 의하여 발생하는 골다공증의 예방 및 치료를 위하여 미역으로부터 분리한 푸코스테롤의 용도를 제공한다. 골수유래 파골세포로부터 분화하는 파골세포의 분화를 억제하는 물질을 미역으로부터 분리하여 세포 독성이 없는 푸코스테롤로 동정하였다. 본 발명은 푸코스테롤을 함유하는 건강 기능식품 및 약학적조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

백남인

경기도 수원시 영통구 망포동 쌍용아파트 104동
2001호

방면호

경기도 수원시 팔달구 고등동

이정민

경기 성남시 중원구 성남동 4357

박철규

서울특별시 양천구 신정3동 1152-10 201호

김철민

경기 용인시 기흥구 서천동 경희대학교수원캠퍼스
우정원 2365호

한민우

경기도 용인시 기흥구 상하동 강남마을주공아파트
801동 502호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 RIC07-06-04

부처명 지식경제부

연구사업명 지역혁신센터사업

연구과제명 피부생명공학센터

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2007년07월01일~2008년04월24일

특허청구의 범위

청구항 1

미역으로부터 분리된 푸코스테롤의 골다공증 예방 및 치료를 위한 용도

청구항 2

제1항에 있어서, 조성물 총 중량에 대하여 푸코스테롤을 0.01~10% 중량으로 포함하는 건강기능식품

청구항 3

제1항에 있어서, 조성물 총 중량에 대하여 푸코스테롤을 0.01~50% 중량으로 포함하는 약학조성물

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 골다공증(Osteoporosis)은 골조직 내 미세환경 하에 존재하는 조골세포와 파골세포의 불균형에 의해 유발되는데, 지금까지 알려진 보고에 의하면 노화나 여성의 갱년기 장애로 인한 산전후로 보통 일시적으로 일어나지만 외부로부터 병원체의 유입에 따른 항원의 2차적인 T세포 자가면역이 결국 골조직의 파괴를 촉발시키는 요인이 된다고 하나 아직 명확하지 않으며, 현재로는 바이러스나 세균의 감염으로 세포 내 IL-1, IL-6, M-CSF, TGF- β , PTH, Vitamin D3 같은 요인에 의해 파골세포화가 유도된다고 보고되고 있다.
- <2> 또한, 에스트로겐의 고갈과 그로 인한 파골세포 주위의 IL-6의 촉진에 따라 활성화를 유도됨으로 OPG와 RANK의 불균형적인 분비로 인한 파골세포화가 진행되고 다핵세포이면서 TRAP 양성반응을 가진 파골세포가 크게 증식되면 골 단백질분해효소인 Cathepsin K/L 같은 것이 분비하여 골조직에 구성하는 콜라겐(Collagen)과 칼슘의 결합이 붕괴하여 골조직 내 구멍이 형성된 것 같은 질환으로 유발되고 여러 가지 이차적인 요인에 의해 골절이나 디스크 및 골격의 탈출 이완이 초래되어 심한 통증 내지 신경 염증을 동반한 신체 마비를 유발한다. 그로 인한 염증이 유발되고 연골조직을 파괴하는 환경이 조성됨으로 활액막의 붕괴를 촉진하게 되며 상대적으로 통증을 호소하는 악순환이 가속화된다.
- <3> 미역 (*Undaria pinnatifida*.)은 다시마과 (Laminariaceae)에 속하는 갈조류(brown algae)로서 주로 극동 아시아에 서식하는 해양식물이다. 최근에는 기능성 식품으로 미역에 대한 관심이 높아지면서 비만 방지효과와 당뇨 예방, 대장염 및 항암 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 칼슘을 비롯한 인체에 필요한 40여 종의 무기질, 식이섬유, DHA, 리놀산, 비타민 등이 풍부한 알칼리성의 건강식품으로 특유의 색과 기호성이 강한 풍미, 독특한 씹힘성을 가지고 있어 국거리로 이용하거나 다양한 조리 형태로서 즐겨 애용해 왔고 특히 출산 후 산모의 회복을 위해서는 필수 식품으로 섭취하고 있다.
- <4> 푸코스테롤은 내피 세포에서 글루코코르티코이드 리셉터(glucocorticoid receptor)의 감소와 함께 앤지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme) 수치를 감소시키는 것으로 보고되어 왔다(Hagiwara et al., Biochem Biophys Res Commun 139, 348-352 (1986)). 또한 쥐에서 콜레스테롤의 림프적 흡수를 저해했으며(Ikeda et al., J Lipid Res 29, 1573-8152 (1988)), 커블라리아 루나타(*Curvularia lunata*), 스타치보트리스 아트라(*Stachybotrys atra*), 마이크로스포럼 캐니스(*Microsporum canis*)에 대한 항 곰팡이 활성을 나타냈고(Atta-ur-Rahman et al., Phytochemistry 46, 1215-1218 (1997)), P-388 암세포 라인(cancer cell lines)에 대한 사이토톡신 활성을 보여주었다(Tang et al., J Asian Nat Prod Res 4, 95-101 (2002)).
- <5> 이에 본 발명자들은 미역으로부터 파골세포의 분화를 억제하는 물질을 분리하여 푸코스테롤로 동정하여 본 발명을 완성하였다.
- #### 배경 기술
- <6> 파골세포는 단핵세포/대식세포 계열의 조혈모세포에서 기원하여 여러 호르몬, 성장조절 인자, 사이토카인의 영향을 받아 분화하는 것으로 알려져 있으나 그 기전은 아직 명확히 규명되지 않았다. 다만, 시험관 내에서 혼합된 골수세포, 말초혈액의 단핵세포 및 비장세포는 모두 분화하여 파골세포로 분화될 수 있는 것으로 알려져 있

으며 파골세포 발달을 촉진하는 대표적인 물질로는 1 α ,25-디하이드록시비타민 D 3 [1 α ,25-dihydroxyvitamin D 3 ; 1,25-(OH) 2 D 3]가 있다. 또한, 기저세포/조골세포로부터 기인한 어떤 인자가 파골세포를 닮은 다핵세포를 형성하기 위한 전구세포의 융합유도에 필수적임이 보고되었다. 최근 분자생물학의 발달로 인하여 이러한 인자들이 규명되었는데, 대표적인 것으로 NF- κ B 수용체 활성화인자이다.

<7> RANK(Receptor activator of nuclear factor κ B)는 종양괴사인자 수용체족[tumor necrosis factor receptor(TNFR) superfamily]의 일원이다. TNFR은 염증 반응 및 면역 반응과 관련하여 세포 증식, 분화 및 세포자살(apoptosis)에 관여한다. 상기 TNFR에는 제1형 및 제2형 TNF 수용체(TNFR1 및 TNFR2), Fas, CD27, 4-1BB 및 CD30과 같은 세포-표면 수용체 그룹이 포함된다. TNFR의 신호는 수용체와 리간드의 결합에 의해 개시된다(Baker and Reddy, Oncogene, 17, 3261-3270 (1998)). RANK는 수지상 세포에서 최근에 동정된 TNF 수용체로서 T-세포 성장 및 수지상 세포 기능을 증진시키는 작용을 한다(Anderson et al., Nature, 390, 175-179 (1997); Green and Flavell, J. Exp. Med., 189, 1017-1020 (1999)). 또한, 골 대사에 관여하는 것으로 보고된바 있다(Nakagawa et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 253, 395-400 (1998)). RANK 유전자가 결손된 마우스에서는 파골세포의 기능이 저하되어 유발되는 골항진증(osteopetrosis), 치아 맹출의 이상 및 림프절의 결손과 같은 표현형이 나타난다(Li et al., Proc Natl Acad Sci USA 97, 1566-1571 (2000); Dougall et al., Genes Dev 13, 2412-2424 (1999)).

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<8> 골 흡수를 하여 골밀도를 낮추는 파골세포로의 분화를 억제하여 골다공증 예방 및 치료하고자 한다.

과제 해결수단

<9> 미역으로부터 파골세포 분화를 억제하는 분획을 획득하고 동정하여 골다공증 예방 및 치료 물질을 제공한다.

효 과

<10> 본 발명의 미역 추출물로부터 분리된 푸코스테롤 (fucosterol)은 세포 독성 없이 파골세포의 분화를 억제하므로 골다공증을 예방 및 치료할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<11> 본 발명의 푸코스테롤 및 함유 추출물은 하기와 같이 수득할 수 있다.

<12> 본 발명의 푸코스테롤은 미역을 건조 후 마쇄하여 분말화 한 후, 미역 건조 중량의 약 2 내지 20배, 바람직하게는 약 3 내지 5배에 달하는 부피의 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올 및 n-헥산과 같은 극성 용매 또는 이들의 약 1:0.1 내지 1:10의 혼합비를 갖는 혼합용매로, 바람직하게는 물과 메탄올의 1:4의 혼합용매로 20 내지 100 $^{\circ}$ C, 바람직하게는 50 내지 100 $^{\circ}$ C의 추출 온도에서 약 0.5시간 내지 2일, 바람직하게는 1 시간 내지 1일 동안 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 추출방법, 바람직하게는 열수 추출로 1회 내지 5회, 바람직하게는 4회 연속 추출하여 감압여과하고 여과추출물을 진공회전농축기로 20 내지 100 $^{\circ}$ C, 바람직하게는 20 내지 70 $^{\circ}$ C에서 감압농축 하여 물, 저급알콜 또는 이들의 혼합용매에 가용한 미역 조추출물을 수득할 수 있다.

<13> 상기 미역 조추출물은 물에 현탁한 후, 에틸 아세테이트, n-부탄올 순으로 등량의 용매를 이용하여 연속 추출로 미역 각 용매 가용 추출물을 수득할 수 있고, 더욱 구체적으로는 미역 조추출물 즉, 미역 물과 메탄올 혼합용매 추출물을 물에 현탁한 후, 등량의 에틸 아세테이트를 혼합한 후 3차례 분획하여 에틸 아세테이트 가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있으며, 이 수가용성 분획물에 부탄올을 가하여 부탄올 가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있다.

<14> 상기 에틸 아세테이트 가용성 분획물에 대하여 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(SiO₂ column chromatography)를 수행할 수 있으며, 이때 전개용매로는 클로로포름: 메탄올의 혼합용매를 사용하여 농도구배로 용출하면서 크로마토그래피를 수행하여 하기 화학식 1의 화합물인 푸코스테롤을 분리 및 동정할 수 있다.

<15> 푸코스테롤이 골수 유래 대식세포의 파골세포로의 분화 억제 정도를 확인하였으며 이들 세포에 대한 독성이 없음을 확인하여 골다공증의 예방 건강기능식품 및 치료 용도로 약학적 조성물로 사용할 수 있다.

- <16> 따라서 본 발명은 골다공증 예방 효과를 나타내는 상기 푸코스테롤 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 건강기능식품을 제공한다. 이 때, 푸코스테롤을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 식품류 등이 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 화합물의 양은, 일반적으로 본 발명의 건강기능식품 조성물의 경우는 전체 식품 중량의 0.1 내지 15중량 %, 바람직하게는 1 내지 10중량 %로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물에는 100ml를 기준으로 1 ~ 30g, 바람직하게는 3 ~ 10g 비율로 가할 수 있다. 본 발명의 푸코스테롤은 하기 제제 예와 같은 제형으로 투여할 수 있으며, 아래의 제제 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 이에 의해 본 발명의 내용이 제한되는 것은 아니다.
- <17> 상기 본 발명의 푸코스테롤을 포함하는 골다공증 치료용 약학조성물은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용하는 부형제를 더 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 골다공증 치료를 위한 약학조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.01 % ~ 50% 중량으로 포함한다. 본 발명의 화합물을 포함하는 약학조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- <18> 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 약학조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 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. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 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, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- <19> 본 발명의 화합물의 사용량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 일반적으로 0.01 내지 500 mg/kg의 양, 바람직하게는 0.1 내지 100 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다. 또한, 그 화합물의 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- <20> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- <21> 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

실시예

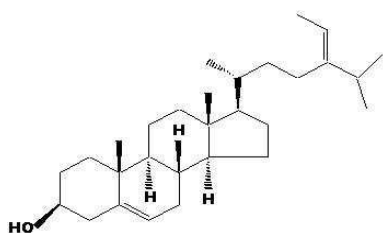
- <22> 1. 미역 조추출물의 제조
- <23> 본 발명에 사용한 미역은 수원 농수산물 시장에서 구입하여 사용하였다. 본 발명의 푸코스테롤은 미역을 건조 후 마쇄하여 분말화 한 후, 5kg을 물과 메탄올의 1:4의 혼합용매 25ℓ를 넣고 70 ℃에서 일정시간 간격(3 시간 씩)으로 4회 반복하여 열수 추출한 후, 여지(와트만사, 미국)로 감압 여과한 다음, 여과 추출물은 진공회전농축기로 40 ℃에서 물과 메탄올의 혼합용매를 제거한 후 추출된 잔사로서 미역 조추출물을 수득하였다.
- <24> 2. 미역 에틸 아세테이트 가용 추출물의 제조
- <25> 상기 실시예 1에서 얻은 미역 조추출물을 물 3ℓ에 현탁한 후 등량의 에틸 아세테이트를 가하여 혼합한 후 3차례 분획하여 수가용성 분획물 및 에틸 아세테이트 가용성 분획물을 얻은 후 건조하여 에틸 아세테이트 가용 추출물 85g을 수득하였다.
- <26> 3. 미역 부탄올 가용 추출물의 제조

<27> 상기 실시예 2에서 얻은 수가용성 분획물에 부탄올 등량을 가하여 혼합한 후 3차례 분획하여 수가용성 분획물 및 부탄올 가용성 분획물을 얻은 후, 가용성 분획물을 건조하여 부탄올 가용 추출물 11.5g을 수득하였다.

<28> 4. 미역 에틸 아세테이트 가용 추출물에서 푸코스테롤의 분리

<29> 상기 실시예 2의 에틸 아세테이트 가용 추출물 85g을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography)를 수행하였다. 이 때 전개용매로서 클로로포름: 메탄올의 혼합용매를 사용하여, 농도구배로 70ml씩 분취하였다. 각 분취액을 TLC로 확인하여 7개의 분획물 (UPE-1~UPE-7)을 얻었다. UPE-2 (9.8g)에 대해서 실리카겔 칼럼 크로마토그래피를 수행하여 11개의 분획 (UPE-2-1~UPE-2-11)을 얻었고, UPE-2-7 (1.2g)을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 하기 화학식 1의 화합물인 푸코스테롤을 분리(145 mg)하였고, 그 성상을 분석하였다.

화학식 1



<30>

<31> 1) 분자구조식: $C_{29}H_{48}O$

<32> 2) 성상: 흰색 결정형

<33> 3) EI/MS m/z : $412[M]^+$, 397, 379, 314, 299, 296, 281, 255

<34> 4) IR ν (MeOH, cm^{-1}) 3430, 2940, 1624, 828

<35> 5) 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 5.34 (1H, d, $J=5.2Hz$, H-6), 5.17 (1H, q, $J=6.8Hz$, H-28), 3.46 (1H, m, H-3), 1.56 (3H, d, $J=6.8Hz$, H-29), 1.02 (3H, s, H-19), 1.01 (3H, d, $J=6.4Hz$, H-21), 1.00 (3H, d, $J=1.4Hz$, H-27), 0.96 (3H, d, $J=1.4Hz$, H-26), 0.76 (3H, s, H-18)

<36> 6) ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ) 146.2 (C-24), 140.3 (C-5), 120.9 (C-6), 115.1 (C-28), 71.6 (C-3), 56.1 (C-14), 55.2 (C-17), 50.8 (C-9), 41.9 (C-13), 41.8 (C-4), 39.6 (C-12), 37.1 (C-1), 36.2 (C-10), 36.1 (C-20), 35.4 (C-22), 34.3 (C-25), 31.5 (C-7, 8), 31.3 (C-2), 28.1 (C-16), 25.5 (C-23), 24.7 (C-15), 22.8 (C-26), 21.4 (C-27), 21.2 (C-11), 19.5 (C-19), 18.8 (C-21), 13.5 (C-29), 11.2 (C-18).

<37> 화합물 1은 흰색의 분말 성분으로써, TLC에 전개하고 10% 황산을 분무, 건조한 후 발색한 결과 짙은 회색으로 발색되었다. IR 스펙트럼에서는 hydroxyl ($3430cm^{-1}$), aromatic ($1624cm^{-1}$)이 관찰되었으며, EI/MS 측정 결과 분자량이 412 (m/z)로 나타났다. 1H -NMR 스펙트럼에서 d_H 5.34 (1H, br. d, $J=5.2Hz$), d_H 5.17 (1H, q, $J=6.8Hz$) signal로부터 2개의 olefinic methine을 확인하였고, d_H 3.46 (1H, m) signal로부터 oxygenated methine을 확인하였다. 또한, d_H 2.32~1.21 사이에서 다수의 methylene과 methine proton signal을 관측하였고, d_H 0.76 (3H, s), d_H 1.02 (3H, s)에서 2개의 singlet, d_H 0.96 (3H, d, $J=1.4$, Hz), d_H 1.00 (3H, d, $J=1.4$, Hz), d_H 1.01 (3H, d, $J=6.4$, Hz), d_H 1.56 (3H, d, $J=6.8$, Hz)에서 4개의 doublet의 methyl proton signal을 관측하였다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서, 탄소 수가 29개이고 methyl carbon이 6개 관측된 점으로부터 sterol 화합물인 것을 확인하였다. d_C 146.2, d_C 140.3, d_C 120.9, d_C 115.1 signal로부터 2개의 이중 결합이 존재하는 것과 d_C 71.6으로부터 oxygenated methine carbon을 확인하였다. 또한, d_C 34.3, d_C 22.8, d_C 19.5, d_C 18.8, d_C 13.5, d_C 11.2에서 6개의 methyl carbon을 확인하였다. 이를 종합 하여 문헌과 비교 분석한 결과, fucosterol로 구조 동정하였다.

- <38> 5. 푸코스테롤의 파골세포 분화 억제능
- <39> 5-6주령 암컷 마우스의 대퇴골과 경골로부터 알파엠이엠 (α-MEM) 배지로 흘러주면서 골수 세포들을 모은다. 적혈구 (red blood cells)를 제거한 후, 100mm 배양 접시에 10% 소태아혈청 (fetal bovine serum)과 30 ng/ml 마크로파지 콜로니형성인자 (M-CSF)를 포함한 배지를 넣고 3일간 배양한다. 3일 후에 림프구 (lymphocytes) 등을 포함한 붙지 않은 세포 등은 제거하고 배양 접시에 붙은 세포를 골수 유래 대식세포로 사용한다. 파골세포 (osteoclasts)를 얻기 위해서 파골세포 분화 배지 [30 ng/ml 마크로파지 콜로니형성인자 (M-CSF)와 200 ng/ml 랭글 (RANKL)]에 3일간 더 키운다. 푸코스테롤의 파골세포 분화억제 효과를 확인하기 위하여 푸코스테롤을 첨가하고 3일 후, 세포를 고정하고 트랩 (TRAP) 염색 (Sigma)을 하여서 세 개 이상의 핵을 가진 트랩 (TRAP) 양성 파골세포의 숫자를 센다.
- <40> 푸코스테롤의 첨가는 농도의존적으로 골수 유래 대식세포의 파골세포로의 분화를 억제하는 것으로 나타났다 (도 1).
- <41> 6. 푸코스테롤의 세포 독성
- <42> 앞선 결과에서 푸코스테롤 (fucosterol)은 랭글 (RANKL)에 의해 유도되는 파골세포 분화를 억제하였다. 혹시 이러한 억제 효과가 푸코스테롤 (fucosterol)이 골수 유래 대식세포의 생존 능력 (viability)에 영향을 주어서 일어난 일인지를 알아보기 위해서, 푸코스테롤 (fucosterol)의 농도에 따른 골수유래대식세포의 생존 능력을 조사하였다. 푸코스테롤 (fucosterol)은 1~20 mg/ml의 여러 가지 농도에서 골수 유래 대식세포의 생존 능력에는 영향을 주지 않았다 (도 2). 따라서 푸코스테롤 (fucosterol)의 파골세포 분화 억제 효과는 세포의 생존 능력에 영향을 미쳐서 일어난 일이 아님을 알 수 있다.
- <43> 7. 푸코스테롤의 파골세포 분화 억제 기전
- <44> 엔팻씨1 (NFAT c1)과 씨-포스 (c-Fos)는 파골세포 분화에 중요한 전사 인자들 (transcription factors)이다. 앞선 결과에서 푸코스테롤 (fucosterol)이 파골세포 분화를 억제하였기 때문에 시간에 따른 두 가지 전사 인자의 단백질 발현양을 조사하였다. 푸코스테롤 10 mg/ml의 존재하에 엔팻씨1 (NFATc1)과 씨-포스 (c-Fos)는 의미 있게 발현이 억제되었다 (도 3). 이런 결과는 푸코스테롤 (fucosterol)의 파골세포 분화 억제 효과가 엔팻씨1 (NFATc1)과 씨-포스 (c-Fos)의 발현 억제 때문임을 알 수 있다.
- <45> 본 발명의 푸코스테롤은 아래와 같은 형태로 건강기능식품을 제조할 수 있으며, 아래의 제제에는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 이에 의해 본 발명의 내용이 제한되는 것은 아니다.
- <46> 제제예 1. 건강 식품의 제조
- <47> 실시예 4의 푸코스테롤.....1000mg
- <48> 비타민 혼합물.....적량
- <49> 비타민 A 아세테이트.....70μg
- <50> 비타민 E.....1.0mg
- <51> 비타민 B1.....0.13mg
- <52> 비타민 B2.....0.15mg
- <53> 비타민 B6.....0.5mg
- <54> 비타민 B12.....0.2μg
- <55> 비타민 C.....10mg
- <56> 비오틴.....10μg
- <57> 니코틴산아미드.....1.7mg
- <58> 엽산.....50μg
- <59> 판토텐산 칼슘.....0.5mg
- <60> 무기질 혼합물.....적량

- <61> 황산제1철.....1.75mg
- <62> 산화아연.....0.82mg
- <63> 탄산마그네슘.....25.3mg
- <64> 제1인산칼륨.....15mg
- <65> 제2인산칼슘.....55mg
- <66> 구연산칼륨.....90mg
- <67> 탄산칼슘.....100mg
- <68> 염화마그네슘.....24.8mg
- <69> 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.
- <70> 본 발명의 푸코스테롤은 아래와 같은 제형으로 투여할 수 있으며, 아래의 제제는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 이에 의해 본 발명의 내용이 제한되는 것은 아니다.
- <71> 제제예 2. 주사제제의 제조
- <72> 실시예 4의 푸코스테롤.....100mg
- <73> 소듐 메타비설파이트.....3.0mg
- <74> 메틸파라벤.....0.8mg
- <75> 프로필파라벤.....0.1mg
- <76> 주사용 멸균증류수.....적량
- <77> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 방법으로 2 ml로 한 후, 2 ml 용량의 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조한다.
- <78> 제제예 3. 정제의 제조
- <79> 실시예 4의 푸코스테롤.....200mg
- <80> 유당.....100mg
- <81> 전분.....100mg
- <82> 스테아린산 마그네슘 적량
- <83> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
- <84> 제제예 4. 캡슐제의 제조
- <85> 실시예 4의 푸코스테롤.....100mg
- <86> 유당.....50mg
- <87> 전분.....50mg
- <88> 탈크.....2mg
- <89> 스테아린산 마그네슘.....적량
- <90> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- <91> 제제예 5. 액제의 제조
- <92> 실시예 4의 푸코스테롤.....1000mg
- <93> 설탕.....20g

- <94> 이성화당.....20g
 <95> 레몬향.....적량

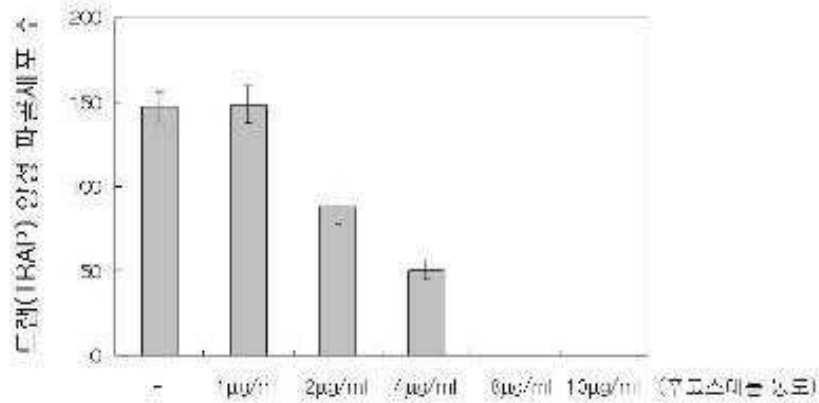
<96> 정제수를 가하여 전체 1000 ml로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조한다.

도면의 간단한 설명

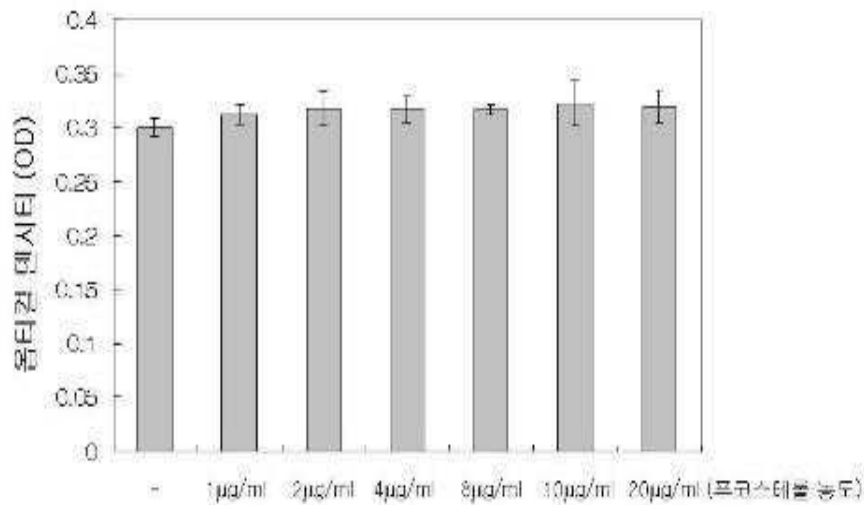
- <97> 도 1은 푸코스테롤의 골수 유래 대식세포의 파골세포로의 분화 억제를 보여주는 도면이다.
 <98> 도 2는 푸코스테롤이 세포 독성이 없음을 보여주는 도면이다.
 <99> 도 3은 푸코스테롤이 파골세포 분화에 중요한 전사인자에 미치는 영향을 보여주는 도면이다.

도면

도면1



도면2



도면3

