(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0093226
(43) 공개일자 2007년09월18일

(51) Int. Cl.
A61K 36/60(2006.01) *A61K 36/815*(2006.01)
A61K 36/484(2006.01) *A61P 19/10*(2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-0023104
(22) 출원일자 2006년03월13일
심사청구일자 2006년03월13일

(71) 출원인
한국 한의학 연구원
대전 유성구 전민동 461-24
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 수원캠퍼스내
(72) 발명자
최환수
경기 수원시 팔달구 남창동 53-5
김정숙
서울 강남구 압구정1동 현대아파트 24동 102호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

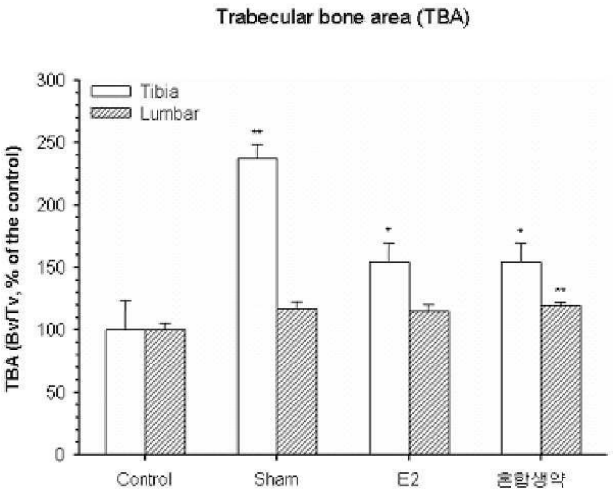
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 혼합 생약재 추출물을 포함하는 골다공증 및 골절 예방 및치료용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용의 혼합 생약재 추출물을 포함하는 골질환 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 자궁 적출 쥐에서 골다공증을 억제하고 골형성을 증가시키는 혼합 생약재 추출물에 관한 것이다. 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 포함하는 조성물은 호르몬의 변화없이 안전하게 골질환 증상을 호전시킬 수 있으므로 기존의 치료제를 대체하여 골질환 예방 및 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

하혜경

서울 도봉구 도봉1동 서울가든아파트 1동 408호

이호영

서울 영등포구 대림1동 941-13

송계용

서울 서초구 방배1동 922-6

이제현

서울 송파구 거여동 562

박동석

서울 송파구 문정2동 훼밀리아파트 210동 1503호

이재동

서울 강남구 대치동 청실아파트 5동 503호

양하루

서울 도봉구 창동 북한산아이파크 520동 803호

특허청구의 범위

청구항 1

골질환 예방 및 치료 효과를 갖는 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용의 혼합 생약재 추출물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 상엽 4 중량부, 구기자 4 중량부, 약콩 4 중량부 및 녹용 1 중량부로 혼합하는 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 3

제 1항에 있어서 골질환은 골다공증, 골절, 골감소증, 구루병 또는 골연화증인 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 추출을 위한 용매는 물, 알코올 또는 이의 혼합물인 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 알코올은 에탄올인 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 추출을 위한 용매는 5 내지 95%의 물과 95 내지 5%의 알코올인 것을 특징으로 하는 혼합 생약재 추출물.

청구항 7

제 1항의 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제 1항의 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 골다공증 예방용 건강식품.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<4> 본 발명은 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용의 혼합 생약재 추출물을 포함하는 골질환 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 자궁 적출 쥐에서 골다공증을 억제하고 골형성을 증가시키는 혼합 생약재 추출물에 관한 것이다.

<5> 상엽(Mori Folium)은 뽕나무과에 속한 뽕나무 *Morus alba* L. 및 동속 근연 식물의 잎을 건조하여 말린 것으로 한의학적으로 소산풍열(疏散風熱), 청선폐열(淸宣肺熱), 청간명목(淸肝明目)의 효능이 있다. 주성분은 루틴(rutin)이며, 기타 성분으로 엑디스테론(ecdysterone), 이노코스테론(inokosterone), 시토스테롤(sitosterol), 모라세틴(moracetin), 스코폴린(scopolin), 스코폴레틴(scopoletin), 이소케르시트로사이드(isoquercitroside), 리날룰(linalool), 벤질 알코올(benzyl alcohol), 미오이노시톨(myoinositol), 유제놀(eugenol), 부틸아민(butylamine), 아세톤(acetone), 트리고넬린(trigonelline), 콜린(choline), 클로로젠산(chlorogenic acid), 푸마르산(fumaric acid), 폴릭산(folic acid), 포르밀테트라하이드로폴릭산(formyltetrahydrofolic acid) 등이 알려져 있다.

<6> 약리작용은 항균작용, 혈당강하 작용, 평활근 이완 작용, 소염 작용, 당뇨 치료 작용 등이 보고되어 있

으나 골질환에 대한 작용은 알려져 있지 않다. 상엽 주사액의 생쥐에 대한 독성은 매우 작고 상엽 0.1 g/ml 주사액을 20 g 생쥐에 복강내 투여할 때의 안전 용량은 사람의 250배이다. 사람 용량의 60배를 생쥐에 매일 복강 주사한 후 21일째에 간과 신, 폐 등을 관찰하였을 때 아무런 손상이 나타나지 않았다(한약약리학, 김호철, 집문당, 2001, p. 105~106)

<7> 구기자(枸杞子, Lycii Fructus)는 가지과에 속한 만성관목(慢性灌木)인 구기자나무(*Lycium chinense* Mill) 또는 기타 동속식물의 열매를 건조한 것이다. 중국에서는 녕하(寧夏) 구기(拘杞, *L. barbarum* L.)를 기원으로 한다. 한의학적 효능으로는 자신보간명목(滋腎補肝明目), 윤폐지해(潤肺止咳)의 효능이 있다. 성분으로는 아미노산, 미량원소, 다당류 베타인(betaine), 비타민 B1, B2, C, 엽산 및 색소류를 주로 함유하고 있다. 주요성분은 다당류와 베타인이 약 1%정도이고 카로틴(carotene)등을 함유한다. 구기자 중의 다당이 주요 유효성분으로 알려져 있다.

<8> 약리작용으로는 면역증강 및 조절작용, 조혈기능 촉진 작용, 항암 작용, 항노화 작용, 지질강하 작용과 간기능 보호 작용, 혈당강하 작용 등이 알려져 있다.

<9> 구기자의 독성은 매우 낮아 구기자 물 추출물은 생쥐에 피하주사하면 LD_{50}은 8.32 g/kg이고 주성분인 베타인 18.74g/kg으로 오히려 추출물의 독성이 더 크다.

<10> 약콩은 서목태 또는 쥐눈이콩이라 부르며 학명은 *Glycine max Merr.* Leguminosae이다. 기원은 검은 콩(*Semen Glycine Nigrae*)으로 제니스테인(genistein), 바이오카닌(biochanin) 및 다이드제인(daidzein)이 미량 함유되어 있다(대한약전외생약규격집, http://www.kfda.go.kr). 성분은 크게 이소플라본(isoflavone)류와 사포닌(saponin)류가 주류를 이루고 있고 쿠마르산(p-Coumaric acid), 쿠메스테롤(Coumestrol), 글라이세올린(Glyceollin IV), 토코페롤(Tocopherol), 퍼롤린(Perlolyrine), 루테인(Lutein), 비타민 A, 비타민 B2, 바이오틴, 이소프로필아민(Isopropylamine), O-β-D-글루코피라노실제틴(Glucopyranosylzeatin), 13-cis-β-카로틴, 각종 아미노산, 이소퀴리티제닌(Isoliquiritigenin), 포르모노네틴(Formononetin), 오노닌(Ononin), 제니스테인(Genistein), 이소퀘르시트린(Isoquercitrin), 피세틴(Fisetin), 4',5,7-트리메톡시이소팔라본(Trimethoxyisoflavone), 제니스틴(Genistin), 4',5,7-트리아네톡시이소플라본(Triacetoxyisoflavone), 다이드제인(Daidzein), 4',7-디아세톡시이소플라본(Diacetoxyisoflavone), 4',7-디메톡시이소플라본(Dimethoxyisoflavone), 아스트라갈린(Astragalin), 캠페롤-3-O-β-D-소포로시드(Kaempferol-3-O-β-D-sophoroside), 퀘르세틴(Quercetin), 루틴(Rutin), 캠페롤(Kaempferol), 소포라플라보놀로시드(Sophoraflavonoloside), 다이드진(Daidzin), 글리시틴(Glycitin), 소이아사포닌(Soyasaponin I~VI), 소이아사포제놀(Soyasapogenol A), 소이아사포제놀(Soyasapogenol E), 루페올(Lupeol), 소이아사포닌(Soyasaponin A3~A6), Ergost-4-en-3-one, Stigmast-4-en-3-one, 캄페스테롤(Campesterol) 및 글리시노프레놀(Glycinoprenol 10) 등도 포함하고 있다.

<11> 녹용(鹿茸, Cervi Cornu Pantotrichum)은 사슴과에 속한 동물인 매화녹(梅花鹿, *Cervus nippon* Temminck) 또는 마녹(馬鹿, *C. elaphus* L.) 및 동속 근연동물의 골화되지 않은 유각을 잘라 건조한 것이다. 한의학적 효능으로는 보신양익정혈(補腎陽益精血), 강근건골(强筋健骨)의 효능이 있다. 성분은 여러 종류의 아미노산이 함유되어 있는데, 그 중에서 프롤린(proline), 리신(lysine), 세린(serine)의 함량이 가장 높다. 녹용의 활성성분은 중에탄올 추출물의 2가지의 성분은 강압 작용이 있다. 그 중의 하나는 라이소포스파티딜콜린(lysophosphatidylcholine, LPC)로서 미리스트산(myristic acid), 팔미트산(palmitic acid), 펜타데카노산(pentadecanoic acid), 팔미톨레산(palmitoleic acid), 스테아르산(stearic acid), 올레산(oleic acid), 리놀레산(linoleic acid), 다투르산(daturic acid)을 비롯한 8종의 지방산으로 구성되어 있다. 부탄올 분획 중에는 우라실(uracil), 하이포잔틴(hypoxanthine), 우레아(urea), 유리딘(uridine), 니아신(niacin) 등이 함유되어 있다. 녹용중의 아민벤조일 알데하이드(aminbenzoyl aldehyde), 하이포잔틴(hypoxanthine), 우라실(uracil)은 모두 강한 모노아민 옥시다제(Monoamine Oxidase, MAO) 활성을 억제하는 작용을 가지고 있다. 녹용의 생대에는 아민류가 다량 함유되어 있는데 그 중에서 스퍼민(spermine), 스퍼미딘(spermidine), 푸트레신(putrescine)이 풍부하다. 녹용의 중대와 하대에는 골화가 많이 진행된 상태이며 스퍼미딘(spermidine)의 함량이 감소되어 있다. 녹용의 상대는 중량의 백분율로 볼 때 가장 적은 부분을 차지하고 있고 아민류 중 스퍼미딘, 푸트레신의 순으로 함유되어 있다. 이 외에도 녹용에는 콘드로이틴 설페이트 A(chondroitin sulfate A)등의 다당류, 갱글리오사이드(gangliosides), 안드로겐(androgen), 에스트라디올(estradiol) 등이 함유되어 있다. 최근에는 녹용 중 펩타이드가 활성성분으로 중시되는데 소염활성이 있는 펩타이드 화합물이 분리되어 있다. 약리작용으로는 단백질과 핵산합성 촉진 작용, 조혈촉진 작용, 심혈관계에 대한 영향, 면역 증강 작용, 성기능 증강

작용, 인체의 작업능률 향상과 항스트레스 작용, 항노화 작용, 항위궤양 작용 등이 알려져 있다.

<12> 독성은 판토크린(Pantocrin)의 LD_{50}은 경구투여한 경우 생쥐에서 117~123mg/kg이며, 흰쥐에서 87.8~91mg/kg이다. 중독된 동물들은 떨림, 안정, 천식, 눈물, 등의 증상이 나타난다. 아급성 독성실험에서 매일 3, 9, 27ml/kg의 판토크린을 흰쥐에게 12주간 복강주사 한 결과 9, 27ml/kg의 용량에서 뚜렷한 섬유성 복막염이 나타났다. 내분비적인 변화는 뚜렷하지 않았다. 고용량의 판토크린은 적혈구 용적, 헤모글로빈, 알부민, 알부민/글로블린 등의 수치를 경미하게 하강시킨다. 판토크린은은 항원성이나 기형형성 작용은 없다.

<13> 골다공증(osteoporosis)은 골(骨)조직의 석회가 감소되어 뼈의 치밀질이 엷어지고 그로 인해 골수강(骨髓腔)이 넓어지고, 증세가 진전됨에 따라 뼈가 약해지기 때문에 작은 충격에도 골절되기 쉽다. 골량은 유전적 요인, 영양 섭취, 호르몬의 변화, 운동 및 생활 습관의 차이 등 여러 가지 요인들에 의해 영향을 받으며, 골다공증의 원인으로는 노령, 운동 부족, 저체중, 흡연, 저칼슘 식이, 폐경, 난소 절제 등이 알려져 있다. 한편 개인차는 있지만 백인보다는 흑인이 골 재흡수 수준(bone resorption level)이 낮아 골량이 더 높으며, 대개 골량은 14~18세에 가장 높고 노후에는 1년에 약 1%씩 감소한다. 특히 여성의 경우 30세 이후부터 골 감소가 지속적으로 진행되며, 폐경기에 이르면 호르몬 변화에 의해 골 감소가 급격히 진행된다. 즉, 폐경기에 이르면 에스트로젠 농도가 급속히 감소하는데, 이 때 IL-7(interleukin-7)에 의한 것처럼 B-임파구(B-lymphocyte)가 다량 생성되어 골수(bone marrow)에 B 세포 전구체(pre-B cell)가 축적되고 이로 인해 IL-6의 양이 증가하여 파골 세포의 활성을 증가시키므로 결국 골량이 감소하게 된다.

<14> 이와 같이 골다공증은 정도에 차이는 있으나 노년층, 특히 폐경기 이후의 여성에게 있어서는 피할 수 없는 증상으로, 선진국에서는 인구가 노령화됨에 따라 골다공증 및 그 치료제에 대한 관심이 점차 증가되고 있다. 또한, 전세계적으로 골질환 치료와 관련되어 약 1,300억 달러의 시장이 형성되어 있는 것으로 알려져 있으며 앞으로 더 증가할 것으로 예상되기 때문에, 세계적인 각 연구 기관과 제약회사에서는 골질환 치료제 개발에 많은 투자를 하고 있다.

<15> 현재 골다공증 치료제로 사용되고 있는 물질로는 에스트로젠(estrogen), 남성화 스테로이드 호르몬(androgenic anabolic steroid), 칼슘 제제, 인산염, 불소 제제, 이프리플라본(Ipriflavone), 비타민 D_3 등이 있다. 또한 1995년 미국 머크사에서는 아미노비스포스포네이트(aminobisphosphonate)를, 1997년 미국 릴리사(Lilly Co.)에서는 선택적인 에스트로젠 수용체 조절기(selective estrogen receptor modulator, SERM)로서의 역할을 하는 라록시펜(raloxifene)을 골다공증 치료제로 개발한 바 있다.

<16> 한편, 종래 골다공증 치료제는 대부분 에스트로겐 계통의 물질로서, 에스트로겐 계통의 물질은 장기 투여할 경우 암, 담석, 혈전증 등의 부작용이 나타나는 것으로 알려져 있다. 그러나 골다공증은 약물의 단기 투여만으로는 치료할 수 없으며 약물의 장기 투여가 필수적이다. 따라서, 약물을 장기 투여할 때에도 상기와 같은 부작용이 없고 에스트로겐을 대체할 수 있을 만큼 우수한 약효를 갖는 새로운 물질의 필요성이 요구되고 있다.

<17> 생약재 추출물을 포함하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물에 관한 특허로는 골분과 골격기능을 호전시키는 한약재로 숙지황, 두충, 우슬, 당귀, 구기자, 육계(肉桂), 속단, 감초, 산사자, 토사자, 상지, 백복령, 인삼, 녹용, 구판주자, 사인 등을 포함하는 골다공증 개선 및 예방용 조성물(대한민국 공개특허 제2005-0072625호), 두충 3.75~15 중량부, 속단 3~15 중량부 및 녹용 3~20 중량부를 포함하는 골다공증 치료용 생약조성물의 제조방법(대한민국 등록특허 472408), 혼합 생약재 추출물 및 이를 포함하는 골다공증 예방 또는치료용 약학적 조성물(대한민국 공개특허 2003-0031418)에 관한 특허가 있다. 그러나 상기 특허들은 본 발명의 혼합 생약재를 일부만 포함하거나 조성이 유사하더라도 골질환 치료 효과가 낮다.

<18> 이에, 본 발명자들은 본 발명의 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용의 혼합 생약재 추출물이 난소제거 흰쥐모델에서 소주골 면적을 현저하게 증가시키므로 골다공증을 예방하고 치료하는데 효과적으로 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<19> 본 발명의 목적은 부작용이 없는 천연 성분인 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용의 혼합 생약재 추출물을 이용한 골다공증과 골절을 비롯한 골질환 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

<20> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 골질환 예방 및 치료 효과를 갖는 상엽, 구기자, 약콩 및 녹

용의 혼합 생약재 추출물을 제공한다.

<21> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

<22> 아울러, 본 발명은 상기 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 건강식품을 제공한다.

<23>

<24> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<25> 본 발명은 골질환 예방 및 치료 효과를 갖는 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용의 혼합 생약재 추출물을 제공한다.

<26> 추출을 위한 용매는 물, 알코올 또는 이의 혼합물로서, 5 내지 95%의 물과 95 내지 5%의 알코올이며 상기 알코올은 바람직하게는 에탄올이다. 본 발명자들은 혼합 생약재 분말을 추출, 여과한 뒤 여과액을 감압 농출 및 동결건조하여 혼합 생약재 추출물을 수득하였다. 본 발명의 바람직한 실시예에서, 혼합 생약재 추출물은 상엽 4 중량부, 구기자 4 중량부, 약콩 4 중량부 및 녹용 1 중량부로 혼합하였다.

<27> 본 발명의 혼합 추출물로 예방 또는 치료가 가능한 골질환으로는 골다공증, 골절, 골감소증, 구루병, 골연화증 등이 있으나 이에 한정되지는 않는다.

<28> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

<29> 본 발명의 혼합 생약재 추출물이 골질환에 나타내는 효과를 알아보기 위하여, 폐경기 이후 제 1형(type I) 골다공증이 일어나는 래트를 대상으로 동물실험을 실시하였다. 구체적으로 난소 적출을 제외한 모든 수술을 행한 샴(sham)군, 난소를 적출하고 약물 투여를 하지 않은 대조군(control) 및 난소 적출술을 시행하고 포유류 에스트로겐인 에스트라다이올(estradiol)을 투여한 대조 약물군(E2)으로 분류한 후, 샴군과 대조군은 음용수를 경구투여하였고, E2군은 17β-에스트라디올을 복강주사하였다. 이후, 본 발명의 혼합 추출물을 경구투여하였다.

<30> 그 결과, 대조군은 샴군과 비교할 때, 급격한 체중의 증가를 나타내었으며, 혼합 추출물 투여군은 대조군과 유사한 체중 증가를 나타내었다. 대조 약물군(E2)의 경우 샴군과 대조군의 중간 정도의 체중 증가 현상을 나타내었다(도 1 참조). 또한, 자궁의 무게는 샴군(정상군)에 비해 대조군에서 급격히 감소하였고, E2의 투여군은 정상군의 1/2 수준 이상으로 회복되었다. 혼합 추출물 투여군은 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다(도 2 참조).

<31> 따라서, 본 발명의 혼합 추출물은 대조군 및 대조 약물군과 비교하여 체중 및 자궁의 무게에 변화를 주지 않아 체내 호르몬의 변화가 없이 안전한 것으로 확인되었다.

<32> 또한, 각 군의 요추골 및 경골에 대해 형태계측학적 분석을 실시하였다. 구체적으로 요추골 및 경골부에서 각 소주의 면적을 계산하고 이로부터 소주골의 면적을 측정하였다.

<33> 그 결과, 난소 적출한 대조군은 샴군(정상군)에 비해 소주골의 면적이 감소되어 골다공증이 유발되었음을 확인하였는데, E2나 혼합 추출물의 투여 후에는 소주골 면적이 증가된 것을 확인하였다(도 3 참조).

<34> 따라서, 본 발명의 혼합 추출물은 체중 및 자궁의 무게에 변화를 주지 않으나 골다공증을 억제하고 골형성을 촉진하므로 체내 호르몬의 변화를 일으키지 않는 안전한 물질로 골질환 치료 및 예방에 이용될 수 있음을 확인하였다.

<35> 본 발명의 골질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 상기 혼합 추출물을 유효성분으로 함유한다. 상기 혼합 추출물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 바람직한 약제학적 제제는 정제, 경질 또는 연질 캅셀제, 액제, 현탁제 등과 같은 경구투여용 제제, 주사용 용액 또는 현탁액과 같은 비경구투여용 주사제 등이 있으며, 이들 약제학적 제제는 약제학적으로 허용 가능한 통상의 담체, 예를 들어 경구투여용 제제의 경우에는 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 가용화제, 현탁화제, 보존제 또는 증량제 등을, 주사제의 경우에는 안정화제, 보존제, 용해보조제, 완충제 또는 등장화제 등을 사용하여 조제할 수 있다.

<36> 본 발명의 골질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물에서, 혼합 추출물의 투여용량은 질환의 중증도, 환

자의 상태, 연령, 성별 및 합병증 등의 다양한 요인에 따라 전문가에 의해 결정될 수 있지만 일반적으로는 성인(체중 약 50 kg)에 대하여 1일에 50 mg 내지 30 g이고, 바람직하기로는 500 mg 내지 5 g의 용량으로 투여될 수 있다. 또, 단위 제형당 상기 혼합 추출물의 1일 용량 또는 이의 1/2, 1/3 또는 1/4의 용량이 함유되도록 하며, 하루 1 내지 6회 투여될 수 있다.

<37> 본 발명의 혼합 추출물의 원료인 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용은 천연약재로서 안전성이 확보되어 있으며, 특히 본 발명의 혼합 추출물을 랫트에 경구 투여하여 독성 실험을 수행한 결과, 독성시험에 의한 50% 치사량(LD_{50})은 적어도 혼합 추출물 10 g/kg 이상인 안전한 물질로 판명되었다.

<38> 아울러, 본 발명은 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환 예방을 위한 건강식품을 제공한다.

<39> 본 발명의 상염 추출물을 식품으로 사용할 경우, 상기 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 혼합 추출물을 식품 또는 음료의 제조 시에 원료에 대하여 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다. 본 발명의 혼합 추출물의 유효용량은 상기 약학적 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

<40> 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 혼합 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

<41> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용을 한정하지는 않는다.

<42> **<실시예 1> 혼합 생약재 추출물의 제조**

<43> 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용(정도약업, 대한민국) 이 각각 4:4:4:1의 비율로 혼합된 혼합 생약재 분말 1.5 kg을 70% 에탄올 수용액 3ℓ에 넣고 실온에서 2일 동안 추출하였다. 2일 후 상기 용액을 거름종이로 여과한 후, 이 과정을 3회 반복하였다. 여과액은 감압 농축하여 에탄올을 제거한 뒤 동결 건조로 수분을 제거함으로써 혼합 생약재 추출물을 수득하였다.

<44> **< 실시예 2 - 실시예 10> 혼합 생약재 추출물 2 - 10의 제조**

<45> 본 발명자들은 하기와 같이 생약재를 혼합하여 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 혼합생약재 추출물 2 내지 10을 제조하였다(표 1).

【표 1】

<46>

실시예	추출물	생약재	중량비
실시예 2	추출물 2	상엽	단독
실시예 3	추출물 3	약콩	단독
실시예 4	추출물 4	구기자	단독
실시예 5	추출물 5	상엽+약콩	1: 1
실시예 6	추출물 6	상엽 +구기자	1: 1
실시예 7	추출물 7	약콩 +구기자	1: 1
실시예 8	추출물 8	구기자 +녹용	4: 1
실시예 9	추출물 9	상엽+약콩+녹용	8:8:1
실시예 10	추출물 10	상엽+구기자+약콩	1:1:1

<47> **<실험예 1> 골다공증 모델의 동물 실험난소 적출 흰쥐에 대한 동물 실험**

<48> 본 발명자들은 골다공증에 대한 동물 실험을 하기 위하여, 폐경기 이후 제 1형(type I) 골다공증이 일어나는 SD(Sprague-Dawley)계 흰쥐의 암컷을 대상으로 하여 난소적출 실험을 수행하였다.

<49> **<1-1> 난소 적출술 및 약물 투여**

<50> 생후 10주된 체중 200~300g 정도의 암컷 흰쥐(Sprague Dawley rat)를 사용하여 샴(sham)군(정상군)을 제외하고 대조군과 시험군의 모든 흰쥐 암컷에서 양측 난소 적출술을 시행하였다. 샴군은 난소 적출을 제외한 모든 수술을 행한 군이고, 대조군(control)은 난소를 적출하고 약물 투여를 하지 않은 군이며, 대조 약물군(E2)는 난소 적출술을 시행하고 포유류 에스트로겐인 에스트라디올(estradiol)을 투여한 군이다.

<51> 난소 적출술은 구체적으로, 케타민(ketamine; 유한양행, 대한민국) 5 ㎎/100g과 자일라진(xylazine; 한국바이엘, 대한민국) 1 ㎎/100g을 흰쥐의 뒷다리 대퇴근에 근육 주사하여 전신 마취시켰다. 정중선(백선)을 중심으로 하복부를 절개하고, 좌우 난소를 적출한 후 항생제(썰파포르테-4, 유니화학 주식회사, 대한민국) 0.1 ㎖을 복강 내에 주입하여 감염을 방지하였다.

<52> 난소를 적출하고 나서 1주간의 회복기를 거친 후 샴군과 대조군은 음용수를 경구투여하였고, E2군은 17β-에스트라디올(Sigma-Aldrich)을 1㎍/㎏/day로 복강주사하였다. 이후, <실시예 1>에서 수득한 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 건조약재 해당량으로 5 g/kg/day로 9주간 경구투여하였다.

<53> **<1-2> 약물투여에 의한 체중 및 조직무게의 변화 측정**

<54> 상기 방법에 의해 난소가 적출된 후 혼합 생약재 추출물 투여된 실험동물의 체중을 매주 측정하고, 일정기간 투여 후 조직무게를 측정하여 샴군과 대조군의 체중과 조직무게를 본페로니 다중 비교법(boneferroni multiple comparison method)으로 비교하였다.

<55> 동물의 체중변화는 도 1에 나타내었으며, 자궁 조직의 무게는 도 2에 나타내었다. 도 1에 나타난 바와 같이, 대조군의 경우 샴군과 비교하여 급격한 체중의 증가를 나타내었으며, 혼합 생약재 추출물의 5g/kg/day의 투여군은 대조군과 유사한 체중 증가를 나타내었다. 대조 약물군(E2)의 경우 샴군과 대조군의 중간 정도의 체중 증가 현상을 나타냈다.

<56> 또한, 도 2에 나타난 바와 같이, 자궁의 무게는 샴군(정상군)에 비해 대조군에서 급격히 감소하였고, E2의 투여군은 정상군의 1/2 수준 이상으로 회복되었다. 혼합 추출물 5g/kg/day 투여군은 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다.

<57> 따라서, 본 발명의 혼합 생약재 추출물은 대조군 및 대조 약물군과 비교하여 체중 및 자궁의 무게에 변화를 주지 않아 체내 호르몬의 변화가 없이 안전한 것으로 판단된다.

<58> **<1-3> 소주골 면적의 형태계측학적 분석**

<59> 각 군의 요추골 및 경골에서 하기와 같은 방법에 의해 형태계측학적 분석을 실시하였다. 정량적 영상 분석기(Quantitative image analysis system, Wild Leitz Co.)의 디지털화 장치(digitizer)를 이용하여 요추골 및 경골부에서 각 소주의 면적을 자동적으로 계산하고 이것으로 각 경골의 근위부에서 성장판의 직하부의 부분 중 가로변의 길이가 성장판 길이의 약 2/3정도 되는 길이로 기준 면적 2 $\times 10^6$ μm^2인 직사각형의 내부에 있는 소주골(trabecula)의 면적을 측정하였다.

<60> 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 난소 적출한 대조군은 샴군(정상군)에 비해 소주골의 면적이 45%로 감소되어 골다공증이 유발되었음을 알 수 있고 E2나 본 발명의 혼합 생약재 추출물의 투여 후에는 소주골 면적이 증가되었다(P<0.05). 혼합 투여군(추출물 1)의 소주골 면적은 대조군의 155%까지 경골의 소주골 면적이 증가되어 E2 투여군과 유사한 효과가 있었다.

【표 2】

<61>

	경골 소주골 면적	요추골 소주골 면적
대조군	100.0±13.2	100.0±5.4
샴군	237.5±10.7	116.4±5.9
E2군	154.5±15.0	115.0±5.1
추출물 1	154.6±11.0	119.5±2.1
추출물 2	129.3±10.3	111.0±3.6
추출물 3	123.2±12.5	110.1±2.3
추출물 4	121.0±11.1	109.4±3.7
추출물 5	138.8±14.0	113.4±3.7
추출물 6	134.5±13.5	112.5±5.9

추출물 7	131.2±12.2	111.2±3.0
추출물 8	141.8±13.5	114.7±3.1
추출물 9	145.8±13.2	115.1±3.2
추출물 10	149.1±14.1	117.8±2.5

<62> **<실험예 2> 독성 검사 및 병리조직학적 관찰**

<63> 래트에 5 g/kg/day의 용량으로 9주간 투여 후 부검하여 약물 투여에 따른 독성 검사를 실시하였다. 채취한 간, 신장, 요추골 및 경골 조직을 10% 포르말린 용액에 고정한 후 포름산 내에서 탈회를 실시하였다. 조직의 관찰 부위를 수술칼로 절단한 뒤 70~100% 알콜과 아세톤에 이르는 단계별 탈수 과정을 거쳐 자일렌으로 청명하고 파라핀 포매를 실시하였다. 파라핀 포매된 골조직을 마이크로톰으로 5㎛로 절단하고 헤마톡실린 및 에오신(hematoxyline & eosin, H&E) 염색을 실시하고, 광학 현미경으로 관찰하였다. 시험물질을 투여한 모든 동물에서 특기할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사, 부검소견 및 각 군간의 조직의 병리학적인 차이는 관찰되지 않았으므로 시험 약물의 투여로 인한 생체 내 독성은 없는 것으로 판단되었다.

<64> **<제제예 1> 연질캅셀제의 제조**

<65> 실시예 1에 따라 조제된 혼합 생약재 추출물 100.0mg, 콩기름 175.0mg, 황납 45.0 mg, 야자경화유 127.5mg, 대두인지질 21.0mg, 젤라틴 212.0mg, 글리세린(비중 1.24) 50.0mg, 디-소르비톨 76.0mg, 파라옥시안식향산메칠 0.54mg, 파라옥시안식향산프로필 0.90mg, 메칠바닐린 0.56mg, 황색 203호 적량의 성분이 1 캅셀 중에 함유되도록 약전 제제총칙중 연질캅셀의 제법에 따라 제조하였다.

<66> **<제제예 2> 정제의 제조**

<67> 실시예 1에 따라 조제된 혼합 생약재 추출물 100.0mg, 옥수수전분 90.0mg, 유당 175.0mg, 엘-하이드록시프로필셀룰로오스 15.0mg, 폴리비닐피롤리돈90 5.0mg 및 에탄올 적량의 원료를 균질하게 혼합하여 습식과립법으로 과립화하고 스테아린산 마그네슘 1.8mg을 가하여 혼합한 후 1정이 400mg이 되도록 타정하였다.

<68> **<제제예 3> 캅셀제의 제조**

<69> 실시예 1에 따라 조제된 혼합 생약재 추출물 100.0mg, 옥수수전분 83.2mg, 유당 175.0mg 및 스테아린산 마그네슘 1.8mg의 원료를 균질하게 혼합하여 1캅셀에 360mg이 함유되도록 충전하였다.

<70> **<제제예 4> 음료의 제조**

<71> 본 발명자들은 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 음료 조성물을 하기와 같이 제조하였다.

<72> 실시예 1에 따라 제조된 혼합 생약재 추출물 0.48 ~ 1.28㎎, 꿀 522㎎, 치옥토산아미드 5㎎, 니코틴산아미드 10㎎, 염산리보플라빈나트륨 3㎎, 염산피리독신 2㎎, 이노시톨 30㎎, 오르트산 50㎎ 및 물 200㎖의 조성 및 함량으로 하여 통상적인 방법을 사용하여 음료를 제조하였다.

발명의 효과

<73> 본 발명의 상엽, 구기자, 약콩 및 녹용의 혼합 생약재 추출물 및 이를 포함하는 조성물은 골다공증, 골절 등의 기타 골질환의 예방 및 치료 부작용이 있는 기존 골질환 예방 및 치료제의 대체 물질로 사용될 수 있을 뿐 아니라 건강식품으로도 활용 가능하다.

<74>

도면의 간단한 설명

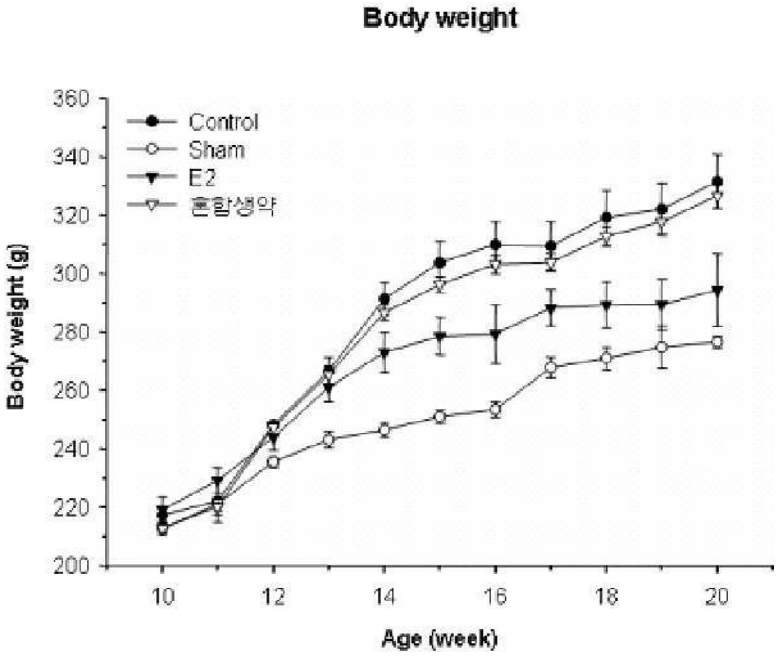
<1> 도 1은 투여군에 따른 체중의 변화를 나타낸 그림이고,

<2> 도 2는 투여군에 따른 자궁 조직의 무게 변화를 나타낸 그림이고,

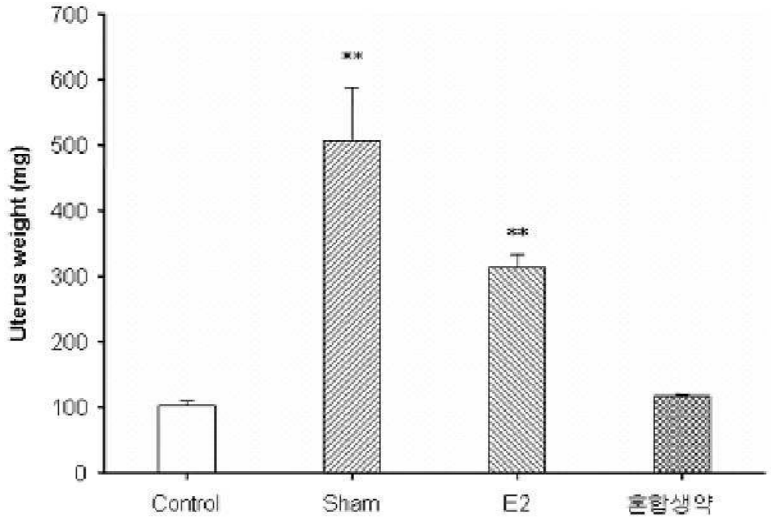
<3> 도 3은 투여군에 따른 소주골 면적의 변화를 나타낸 그림이다.

도면

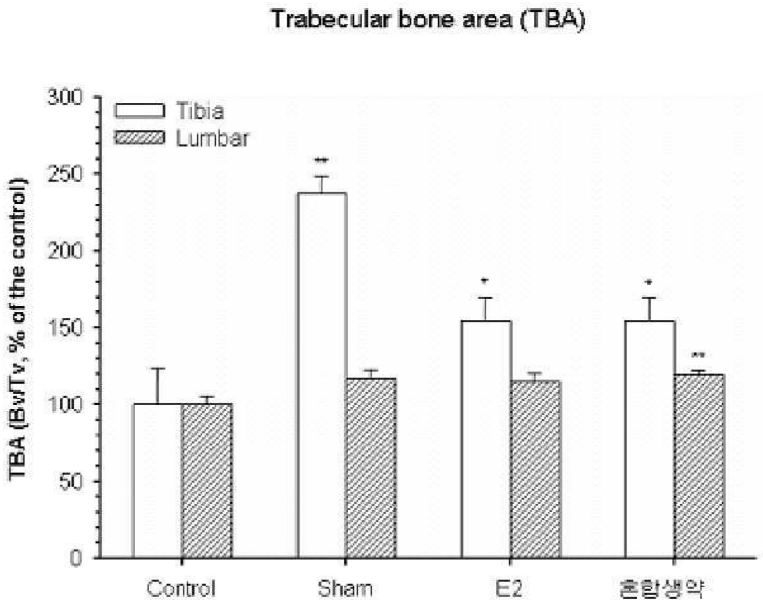
도면1


Body weight
Control
Sham
E2
혼합생약
Body weight (g)
360
340
320
300
280
260
240
220
200
10
12
14
16
18
20
Age (week)

도면2


Uterus weight (mg)
700
600
500
400
300
200
100
0
**
**
Control
Sham
E2
혼합생약

도면3


Trabecular bone area (TBA)
TBA (BvTv, % of the control)
300
250
200
150
100
50
0
Tibia
Lumbar
Control
Sham
E2
혼합생약