



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0010084
(43) 공개일자 2020년01월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/21 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 31/716 (2006.01) A61K 31/737 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/21 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2019-0086296

(22) 출원일자 2019년07월17일

심사청구일자 2019년07월17일

(30) 우선권주장

1020180084054 2018년07월19일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김현수

서울특별시 노원구 덕릉로86길 29-25 (중계동)

(74) 대리인

특허법인 무한

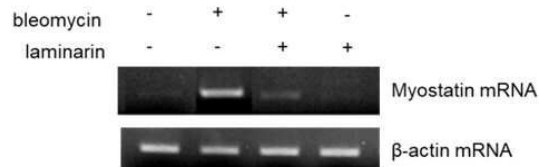
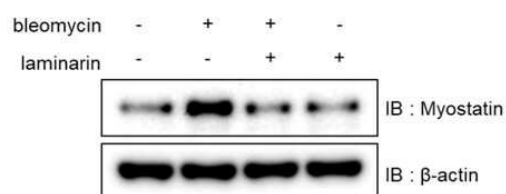
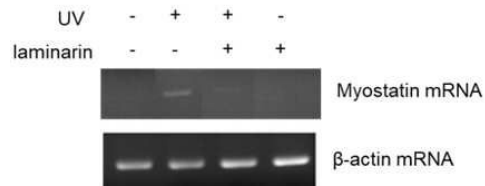
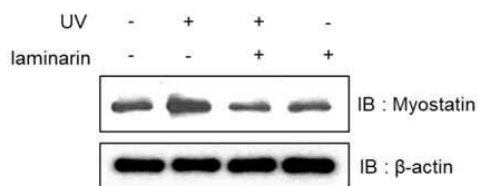
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **함초 추출물을 함유하는 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요약

본 발명의 일 실시예에 따르면, 함초 추출물을 유효성분으로 함유하는, 근감소증의 예방 또는 치료용 조성물이 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/716 (2013.01)

A61K 31/737 (2013.01)

A61P 21/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/316 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

함초 추출물을 유효성분으로 함유하는, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 함초 추출물은 라미나린(laminarin) 또는 후코이단(fucoidan)을 포함하는, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현을 억제하는, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현은 블레오마이신(bleomycin)에 의한 것인, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현은 UV에 의한 것인, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

MURF1(Muscle RING-finger protein-1) mRNA 또는 단백질 발현을 억제하는, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

함초 추출물을 유효성분으로 함유하는, 근감소증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 함초 추출물을 유효성분으로 함유하는 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 근감소증의 개념은 1989년 Irwin Rosenberg가 'sarcopenia'라는 용어를 도입하면서 시작된 것으로, 그리스어에서 기원을 보면 근육을 의미하는 “sarco”와 감소되어 있다는 뜻의 “penia”가 합성된 단어이다. 근감소증은 노화와 연관되어 근육량의 감소에 따른 근력의 저하를 의미한다. 여기에서 “근육(muscle)”이란 골격근(skeletal muscle)을 의미하고 평활근(smooth muscle)과는 관계가 없다. 즉, 근감소증은 주로 사지에 분포한 골격근의 감소(loss of skeletal muscle mass)를 의미하며, 악성종양의 말기 등에서 나타나는 현저한 근육 소실 상태인 악액질(cachexia), 독감 등 급성질환으로 인한 근육소모(muscle wasting), 혹은 근육자체의 질병(primary muscle disease)과는 구별된다.

[0004] 최근 65세 이상의 고령의 연령층이 가파르게 증가하면서 골다공증과 근감소증의 유병률도 빠르게 증가되고 있다. 근육량의 점진적인 감소는 40대 이후부터 발생하여 70대까지 매 10년마다 8%씩의 감소가 일어난다고 추정되며, 그 이후로는 더욱 급격한 감소가 발생하여 10년마다 15%까지 발생할 수 있다는 것이 알려져 있다. 많은 추적 연구를 통해서 노인에서 발생하는 생리적 변화는 다양하며, 일반적으로 연령이 증가함에 따라 근육량과 골밀도가 동시에 감소한다는 것이 밝혀졌다.

[0005] 한편, 근감소증의 치료방법으로 크게 3가지를 들 수가 있다. 첫 번째는 운동이다. 운동은 단기적으로 골격근의 단백질 합성 능력을 증가시키며, 노인들의 근육의 힘이나 운동성을 증가시킨다고 보고되고 있다. 그러나 장기적 치료방법에 부적절하다. 두 번째는 약물치료로서 테스토스테론(Testosterone) 또는 아나볼릭 스테로이드(anabolic steroid)의 사용이 가능하나 이는 여성에게는 남성화를 유도하며, 남성의 경우 전립선 증상(prostate symptoms) 등 부작용을 나타낸다. 다른 승인된 처방법으로 DHEA(dehydroepiandrosterone)와 성장 호르몬이 있는데 SARMS(Selective Androgen Receptor Modulators)을 포함하는 부위에서 치료법으로 가능하다는 연구가 보고된 바 있다. 또한, 식이요법이 치료법으로 알려져 있지만 영양평가에 의하면 영양실조나, 현대 식습관은 적당한 총체질량(total body mass)을 유지하기 위해 부적절하다.

[0006] 마이오스타틴(myostatin)은 TGF- β 의 superfamily군에 속하는 폴리펩타이드(polypeptide) 성장인자이다. TGF- β 는 다량의 이소폼(isoform)을 가지고 있으며, 이는 세포의 증식(proliferation), 세포사멸(apoptosis), 분화, 뼈의 형성 및 유지에 관여하는 것으로 알려져 있다(Massague & Chen, 2000). 마이오스타틴은 그 중 growth differentiation factor(GDF) 8번에 속하며, 조직의 성장 및 발달에 관여하고, Smad 신호 전달계를 활성화시켜 작용한다. 또한, p21 유전자에 의해 세포주기 및 전구세포의 증식을 억제하여 골 형성 및 재생에도 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다. 마이오스타틴은 주로 골격근세포에서 생성되어 자가분비 방식으로 근육 소실 및 근력감소를 야기하며, 근 비대에 관여하는 IGF-1이나 Follistatin의 발현을 억제함으로써 근아세포(myoblast)에서의 단백질 합성 및 세포 증식을 억제한다는 것으로 알려져 있다.

[0007] 한편, 함초는 높이 10~30cm 정도로 길쭉하게 자라다가 가지가 마주나게 갈라진다. 줄기가 처음에는 짙은 녹색이나 노란빛을 띠다가 가을이 되면 붉은색으로 변하며 작은 선인장처럼 통통한 다육질이며 비대하다. 잎은 퇴화하여 거의 보이지 않고 막질의 작은 비늘 조각이 있다. 8~9월 가지의 위쪽 마디에서 꽃이 3개씩 핀다. 화피는 다육질로 통통하고 1~2개의 수술과 2개의 암술대가 있다. 열매는 포파로 화피에 싸이며 검은색의 종자가 있다. 바닷물이 드나드는 갯벌 근처나 내륙 염분지에서 무리 지어 자라는 1년생 초본이다. 한방학적으로는 몸 안에 쌓인 독소와 숙변을 없애고, 암, 자궁근종, 축농증, 고혈압, 저혈압, 요통, 당뇨병, 기관지천식, 갑상선 기능저하, 갑상선 기능 항진, 피부병, 관절염 등 갖가지 난치병에 탁월한 치료효과를 지니고 있다고 알려져 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 근육 소실 및 근력감소를 야기하는 마이오스타틴 발현을 억제함으로써 근감소증을 치료할 수 있는 물질을 발굴하기 위해 예의 노력한 결과, 함초 성분이 마이오스타틴 단백질의 생산 및

mRNA 발현의 증가를 억제하여 근감소증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있음을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

- [0010] 본 발명의 목적은 함초 추출물을 유효성분으로 함유하는 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적은 함초 추출물을 유효성분으로 함유하는 근감소증의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0012] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 함초 추출물을 유효성분으로 함유하는, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.
- [0015] 일 측에 따르면, 상기 함초 추출물은 라미나린(laminarin) 또는 후코이단(fucoidan)을 포함할 수 있다.
- [0016] 일 측에 따르면, 상기 약학적 조성물은 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현을 억제할 수 있다.
- [0017] 일 측에 따르면, 상기 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현은 블레오마이신(bleomycin)에 의한 것일 수 있다.
- [0018] 일 측에 따르면, 상기 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현은 UV에 의한 것일 수 있다.
- [0019] 일 측에 따르면, 상기 약학적 조성물은 MURF1(Muscle RING-finger protein-1) mRNA 또는 단백질 발현을 억제할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 함초를 유효성분으로 함유하는, 근감소증의 예방 또는 개선용 식품 조성물이 제공된다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명의 함초를 유효성분으로 함유하는 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 근육 소실 및 근력감소에 직접적으로 영향을 미치는 마이오스타틴 단백질의 생산 및 mRNA 발현이 증가하는 것을 억제하므로, 보다 근본적인 근감소증의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.
- [0023] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 라미나린 및 후코이단 처리 시 UV에 의해 증가한 마이오스타틴 발현이 억제되는 효과를 확인한 것이다.
- 도 2는 라미나린 및 후코이단 처리 시 블레오마이신에 의해 증가한 마이오스타틴 발현이 억제되는 효과를 확인한 것이다.
- 도 3은 라미나린 및 후코이단 처리 시 UV에 의해 증가한 MURF1(Muscle RING-finger protein-1) 단백질 발현이 억제되는 효과를 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

- [0027] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.
- [0028] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0029] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 함초 추출물을 유효성분으로 함유하는, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.
- [0031] 본 명세서에서 사용된 용어, "함초(*Salicornia herbacea*)"는 통통마디의 한방학적 약재이름으로, 석죽목 명아주과에 속하는 염생식물(halophyte)을 의미한다.
- [0032] 본 명세서에서 사용된 용어, "추출물"은 식물의 추출 처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 회석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다. 본 발명의 함초 추출물은 바람직하게 추출 후 건조 분말 형태로 제조되어 사용될 수 있다. 또한, 상기 함초 추출물은, 함초의 천연, 잡종 또는 변종 식물로부터 추출될 수 있고, 식물 조직 배양물에서도 추출이 가능하며, 잎, 줄기, 뿌리, 꽃, 열매 등의 부위에서 추출한 추출물을 포함한다.
- [0033] 상기 함초 추출물은 라미나린(laminarin) 또는 후코이단(fucoidan)을 포함할 수 있다.
- [0034] 본 명세서에서 사용된 용어, "라미나린(laminarin)"은 갈조류의 세포벽 속에 들어있는 탄수화물로, 고등식물의 녹말에 해당하는 저장성 다당류이다.
- [0035] 본 명세서에서 사용된 용어, "후코이단(fucoidan)"은 갈조류에 함유된 점질성 다당류로, 후코스(Fucose)라는 기본당과 황산기가 결합되어 있는 물질이다.
- [0036] 본 명세서에서 사용된 용어, "예방"이란 조성물의 투여로 근감소증의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0037] 본 발명에서 용어, "치료"란 조성물의 투여로 근감소증의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [0038] 본 발명의 약학적 조성물에 포함된 라미나린과 후코이단은 마이오스타틴(myostatin) mRNA 또는 단백질 발현과 MURF1(Muscle RING-finger protein-1) 단백질 발현을 억제할 수 있는데, 특히 블레오마이신 처리 또는 UV 자극에 의한 마이오스타틴 발현의 증가를 감소시킬 수 있다(도 1 내지 도 3 참조). 상기 블레오마이신(bleomycin)은 항 종양 항생물질로서 편평 상피암이나 악성 림프종 등에 유효한 항암제로 사용되거나, 노화유발인자로 알려진 물질이다.
- [0039] 본 발명의 약학적 조성물은 약제로 이용되기 위해서 약제학적 분야에서 공지된 방법에 의해 제조될 수 있으며, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 회석제, 안정화제, 방부제 등과 혼합하여 분말, 과립, 정제, 캡슐제, 또는 주사제 등의 제형으로 제조되어 사용될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 활성성분 외에 서방성 목적으로 사용되는 기제를 포함하여 활성성분의 방출이 천천히 일어나도록 서방형 제제로 제조될 수 있다.
- [0040] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 아울러, 펩티드 제제에 대한 경구투여용으로 사용되는 다양한 약물전달물질을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코오스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제

및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸 -또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0041] 상기 희석제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유, 땅콩유와 같은 식물성유 등의 비수성 용매나 염수(바람직하게는 0.8%의 염수), 완충 매질을 포함한 물(바람직하게는 0.05M의 인산염 완충액) 등의 수성 용매 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0042] 상기 부형제로는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 나트륨 클로라이드, 무수 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0043] 상기 안정화제로는 소르비톨, 만니톨, 전분, 수크로스, 텍스트란, 글루타메이트, 글루코스 등의 탄수화물이나 분유, 혈청 알부민, 카제인 등의 동물성, 식물성 또는 미생물성 단백질 등의 단백질을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0044] 상기 방부제로는 티메로살, 메르티올레이트, 젠타마이신, 네오마이신, 니스타틴, 암포테리신 B, 테트라사이클린, 페니실린, 스트렙토마이신, 폴리믹신 B 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0045] 본 발명의 약학적 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있으며, 예를 들어 경구 또는 비경구로 투여될 수 있다. 비경구적인 투여 방법으로는 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0046] 본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화될 수 있다.

[0047] 본 발명의 약학적 조성물의 총 유효량은 단일 투여량 (single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량 (multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 요법에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 이는 제제화 방법, 투여경로 치료횟수 뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 증상, 투여시간 및 방법 등 다양한 요인들을 고려하여 결정될 수 있다. 이러한 점을 고려할 때, 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 본 발명의 조성물의 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 있어 특별히 제한되지 아니한다.

[0048] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 함초 추출물을 유효성분으로 함유하는, 근감소증의 예방 또는 개선용 식품 조성물이 제공된다.

[0049] 본 발명에서 용어, "개선"이란 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0050] 또한, 본 발명의 식품 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15중량% 이하, 바람직하게는 10중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0051] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0052] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하기로 한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 목적으로 기술된 것으로서, 본 발명의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.

[0054] 실시예 1. UV 조사에 의해 유발된 근감소증 억제 효과 검증

[0055] C2C12 근육 전구세포 (ATCC, US)를 10% FBS가 포함된 DMEM에 배양하였다. 이때 Cell은 60파이 dish에 3×10^5 cells로 seeding 하였다. seeding 후 다음 날 라미나린과 후코이단을 각각 처리하여 1시간 동안 방치하였다. 1시간 경과 후 growth media(10% FBS DMEM)를 제거하고, PBS로 세척하였다. PBS를 제거한 다음 UV cross-linker (UVP CL-1000)에 Plate 뚜껑을 제거한 상태로 $3J/m^2$ 의 UV를 조사하였다(0 day). CO_2 Incubator에서 24시간 동안 incubation하고, 같은 방법으로 growth media를 제거하여 PBS 세척을 진행한 다음 $3J/m^2$ 의 UV를 조사하였다(1 day).

[0056] 다음날, 같은 시간에 harvest 하고(2 day) 웨스턴 블롯을 이용하여 세포 용해물 내 근육양 조절 표적 단백질인 마이오스타틴 및 MURF1 단백질의 발현 변화를 측정하였다. 마이오스타틴은 Anti-GDF8(Genetex, GTX32624), MURF1은 항-MURF1 항체(Abcam, ab172479)를 사용하고, 단백질 로딩 대조군으로는 Beta-actin 항체 (Enogene E12-041-4)를 사용하여 비교 분석하였다.

[0057] RNA는 RNeasy Mini Kit (Qiagen, US)를 이용하여 분리하고, AMV Reverse Transcriptase (Promega, US) 이용하여 cDNA를 합성한 다음, PCR로 cDNA를 통해 myostatin mRNA 발현 정도를 확인하였다. PCR 조건은 95℃에서 5분 동안 초기 변성, i) 95℃에서 5초 동안 변성, ii) 62.8℃에서 10초 동안 어닐링 및 iii) 72℃에서 10분 동안 최종 연장의 순서로 수행하였다. mRNA 발현의 검출은 하기 프라이머를 이용하였다.

표 1

구분		염기서열(5'→3')
Myostatin	Forward	gcactggtatttggcagagt
	Reverse	ttcagcccatcttctcctgg
Beta-actin	Forward	gtcgtaccacaggcattgtg
	Reverse	ctctcagctgtggtggtgaa

[0059] 그 결과, 도 1 내지 도 3에 나타난 바와 같이 UV 조사에 의해 증가한 마이오스타틴 및 MURF1의 발현이 라미나린 및 후코이단을 처리함에 따라 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0060] .

[0061] 실시예 2. 블레오마이신에 의해 유발된 근감소증 억제 효과 검증

[0062] C2C12 근육 전구세포 (ATCC, US)를 10% FBS가 포함된 DMEM에 배양하였다. 이때 Cell은 60파이 dish에 3×10^5 cells로 seeding 하였고, seeding 후 블레오마이신(bleomycin)을 처리하여 1시간 동안 방치하였다.

[0063] 그 다음, 라미나린과 후코이단을 각각 처리하여 1시간 동안 방치하고, growth media(10% FBS DMEM)를 제거 후 PBS로 세척하였다. 세척 후 웨스턴 블롯법을 이용하여 세포 용해물 내 근육양 조절 표적 단백질인 마이오스타틴 및 MURF1의 발현 변화를 측정하였다. 마이오스타틴의 발현은 Anti-GDF8(Genetex, GTX32624)을 사용하고, 단백질 로딩 대조군으로는 Beta-actin항체 (Enogene E12-041-4)를 사용하여 비교 분석하였다.

[0064] RNA는 RNeasy Mini Kit (Qiagen, US)를 이용하여 분리하고, AMV Reverse Transcriptase (Promega, US) 이용하여 cDNA를 합성한 다음, PCR로 cDNA를 통해 myostatin mRNA 발현 정도를 확인하였다. PCR 조건은 95℃에서 5분 동안 초기 변성, i) 95℃에서 5초 동안 변성, ii) 62.8℃에서 10초 동안 어닐링 및 iii) 72℃에서 10분 동안 최종 연장의 순서로 수행하였다. mRNA 발현은 상기 실시예 1에 기재한 것과 동일한 프라이머를 사용하여 확인하였다.

[0065] 그 결과, 도 1 및 도 2에 나타난 바와 같이 블레오마이신 처리에 의해 증가한 마이오스타틴의 발현이 라미나린 및 후코이단을 처리함에 따라 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0066] 상기 실시예들의 결과를 통해, 함초 추출물의 라미나린 및 후코이단 성분이 근육양 조절에 관련된 지표 단백질인 마이오스타틴과 MURF1의 발현을 억제함으로써 근감소증의 예방 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있음을 알 수 있다.

[0068] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다

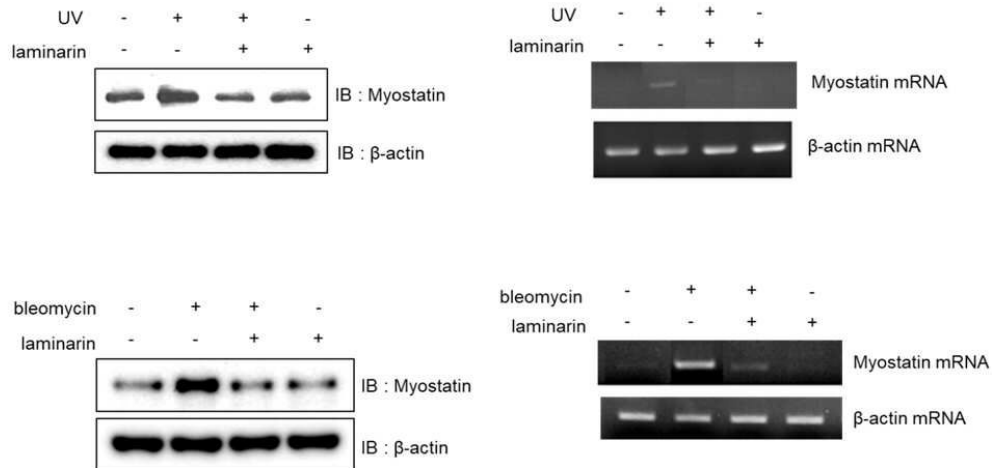
른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

[0069]

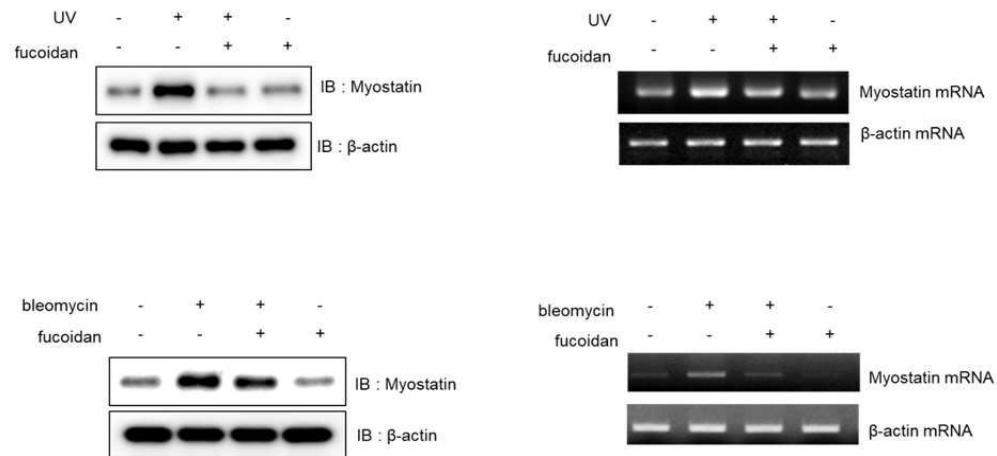
그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

도면1



도면2



도면3

