



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0062784
(43) 공개일자 2020년06월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/8962 (2006.01) A23L 29/00 (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) A61P 7/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/8962 (2013.01)
A23L 29/065 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0148619
(22) 출원일자 2018년11월27일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
서원대학교산학협력단
충청북도 청주시 흥덕구 무심서로 377-3 (모충동, 서원대학교)
주식회사 바이오폴리텍
충청북도 청원군 북이면 내추옥수길 105
(72) 발명자
김현경
충청북도 청주시 흥덕구 무심서로 377-3, 제2자연관 207호 (모충동, 서원대학교)
이정훈
충청북도 청주시 청원구 오창읍 오창중앙로 13, 110동 401호(우림필류1차아파트)
(74) 대리인
김원준

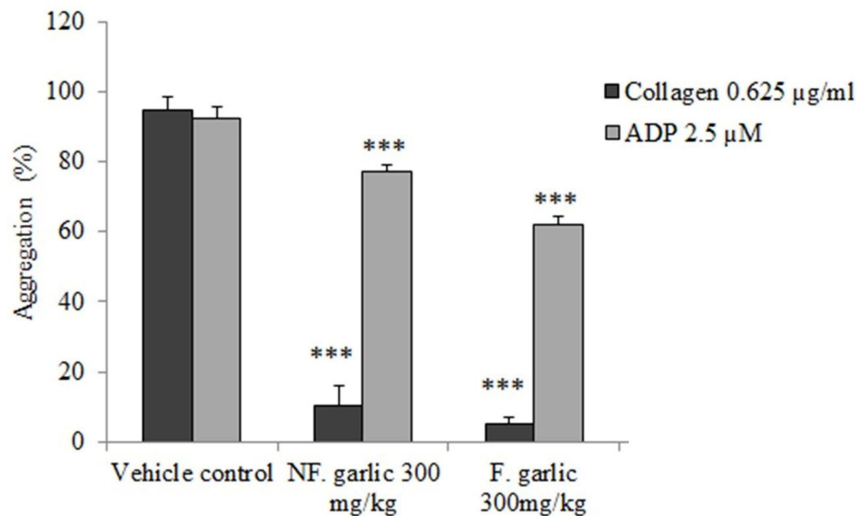
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **발효마늘을 함유하는 항혈전 조성물**

(57) 요약

본 발명은 혈전 질환의 예방 및 치료와 혈행 개선에 유용한 항혈전용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 발효마늘을 유효성분으로 하는 항혈전용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A61P 7/02 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/326 (2013.01)

A23V 2250/212 (2013.01)

A61K 2236/19 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0563925

부처명 중소벤처기업부

연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원

연구사업명 중소기업기술정보진흥원 산학연협력 기술개발사업 기업부설

연구과제명 국내산 농산물 마늘과 키토산 올리고당을 활용한 심혈관계 개선 효능규명 및 웰빙헬스식품 개발화

기 여 율 1/1

주관기관 (주)바이오폴리텍

연구기간 2017.12.01 ~ 2018.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

발효마늘을 유효성분으로 하는 항혈전 약학 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

(A) 60~70℃에서 1~3일간 숙성하는 단계; 및

(B) 숙성된 마늘에 유산균을 접종하여 발효하는 단계;

를 포함하는 공정에 의해 제조되는 것을 특징으로 하는 항혈전 약학 조성물.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 발효마늘은 마늘을 껍질 껌 발효시킨 것을 특징으로 하는 항혈전 약학 조성물.

청구항 4

발효마늘을 유효성분으로 하는 항혈전용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

(A) 60~70℃에서 1~3일간 숙성하는 단계; 및

(B) 숙성된 마늘에 유산균을 접종하여 발효하는 단계;

를 포함하는 공정에 의해 제조되는 것을 특징으로 하는 항혈전 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 혈전 질환의 예방 및 치료와 혈행 개선에 유용한 항혈전용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 최근 인구 고령화와 함께 소득수준의 향상과 라이프 스타일의 변화로 식생활이 서구화되면서, 고콜레스테롤증, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화와 같은 심혈관계 질환이 증가하고 있다. 심혈관계 질환은 개발도상국에서의 주요한 사망원인이다. 병태생리에는 많은 위험 요소가 포함되지만, 혈소판이 심혈관계 질환에서 주요한 역할을 담당하는 주된 병인으로 여겨진다. 혈전은 과도한 혈소판의 응집에 의해 매개되는 병리현상으로, 혈관벽에 붙어서 혈관을 좁히고 혈액의 점도를 변화시켜 혈액순환을 방해하며 궁극적으로 뇌졸중과 심장마비를 야기할 수 있다. 이러한 혈전은 혈관에 생긴 상처부로 드러난 콜라겐 섬유에 혈소판이 점착되어 활성화되고, 혈소판에서 분비되는 세로토닌, 아데노신 디포스페이트(ADP) 및 트롬복산 A2(Thromboxane A2)등이 혈소판의 응집을 유도하는

것에 의해 생성된다.

[0003] 혈소판은 약리학적으로 억제될 수 있으며, 혈전증 발생을 크게 감소시킬 수 있다. 이를 이용하여 많은 항-혈소판 약물들이 심혈관계 질환의 치료에 임상적으로 승인되었다. 그러나 이들 약물은 일부 환자에게는 효과가 없을 뿐 아니라, 위장관 출혈이나 소화성 궤양과 같은 심각한 합병증을 일으킬 수 있어 혈전의 형성을 예방하고, 형성된 혈전을 용해시킬 수 있는 효과적이고 안전한 방법의 개발이 필요하다. 이러한 접근법 중 하나는 항혈전 효능을 갖는 천연물의 사용이나 대체의학에 의한 접근으로, 많은 음식물과 약초들이 항혈전 효과를 나타내어 심혈관질환의 위험을 감소시키는 것으로 보고되고 있다. 일 예로, 땃두릅나무 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈전 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 등록특허 제10-1671847호, 버메뚜기로부터 분리된 화합물을 함유하는 항혈전용 조성물에 관한 등록특허 제10-1811588호를 들 수 있다.

[0004] 한편, 우리나라 토종 농산물인 마늘은 독특한 향미성분으로 인하여 향신료로 오랫동안 사용되어 왔을 뿐 아니라, 암세포 성장 억제 효과, 혈전 생성 지연 효과 및 혈중 콜레스테롤 저하 효과 등의 생리활성을 이용한 민간요법의 치료제로도 사용되어왔다. 그러나 소비행태는 주로 향신료에 국한되어 있으며, 가공 마늘은 전체 마늘의 소비 중 5% 정도에 불과하다. 2003년 중국산 마늘에 대한 수입제한조치의 해제 이후 값싼 중국산 마늘의 수입량이 빠르게 증가하고 있다. 이에, 국내 마늘 재배 농가를 보호하고 수입산 마늘과의 차별화된 특성화를 통해 가공 마늘의 소비량을 증가시킬 수 있는 고품질/고기능성 마늘 가공품에 대한 개발이 절실히 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0005] (특허문헌 0001) 등록특허 제10-1671847호
- (특허문헌 0002) 등록특허 제10-1811588호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해소하기 위하여 부작용이 없어 안전하게 사용할 수 있으면서도, 항혈전 효과가 우수한 항혈전 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0007] 또한 본 발명은 평소 꾸준한 섭취에 의해 혈전을 예방하여 혈행을 개선하고 혈전 관련 질환의 예방에 효과적인 건강기능식품을 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0008] 전술한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 발효마늘을 유효성분으로 하는 항혈전 약학 조성물에 관한 것이다. 발효마늘은 콜라겐이나 ADP 또는 트롬빈에 의해 유도된 혈전 형성을 억제하였으며, 혈소판 활성화의 초기 단계의 특징인 ATP의 분비를 효과적으로 억제하였다. 본 발명의 조성물은 in-vitro에서보다 ex-vivo 테스트에서 더욱 현저한 효과를 나타내어, 실제 동물 또는 인체에 적용되었을 때 우수한 효과를 나타낼 것으로 기대할 수 있다. 특히 콜라겐에 의해 유도된 혈전 억제에 더욱 효과적이었다.
- [0009] 따라서 본 발명의 항혈전 약학 조성물은 혈전 및 혈소판 응집으로 인한 동맥 혈전증, 정맥 혈전증, 간문맥 혈전증, 폐동맥 색전증, 만성정맥허혈, 하지정맥류, 심부정맥혈전증, 협심증, 뇌경색, 및 뇌출혈로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 질환의 예방 및 치료에 효과적으로 사용될 수 있다.
- [0010] 발효마늘은 예를 들면 (A) 60~70℃에서 1~3일간 숙성하는 단계; 및 (B) 숙성된 마늘에 유산균을 접종하여 발효하는 단계;를 포함하는 공정에 의해 제조될 수 있다. 상기 유산균으로는 락토바실러스(Lactobacillus), 락토코쿠스(Lactococcus), 로이코노스톡(Leuconostoc), 페디오코쿠스(Pediococcus) 또는 비피도박테리움(Bifidobacterium) 속의 균주로부터 선택된 하나 이상의 균주를 사용할 수 있다. 발효된 마늘은 그 자체로 사용하거나, 착즙, 건조나 분쇄 등의 방법에 의해 가공하거나, 혹은 별도의 용매를 사용한 추출물로 사용할 수 있다. 가공이나 추출방법은 통상의 천연물질의 가공 및 추출에 사용되는 방법을 적용할 수 있으며, 이에 대한 상세한 설명을 생략하여도 당업자라면 적용형태에 따라 적절한 방법을 선택하여 사용할 수 있을 것이다.

[0011] 본 발명의 조성물은 항혈전용 약제로 이용하기 위하여, 약제학적 분야에서 공지 방법에 의하여 제조될 수 있으며, 그 자체 또는 약학적으로 허용되는 담체(carrier), 부형제(forming agent), 희석제 등과 혼합하여 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여용 제제로 제형화하여 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 유효성분의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 제제의 형태, 환자의 연령, 성별 및 상태, 증상의 정도 등에 따라 적절히 선택될 수 있으며, 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 일반적인 투여량은 0.001mg/kg·일~10g/kg·일이다. 본 발명의 조성물은 독성 및 부작용이 없이 안전하게 사용할 수 있으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있다.

[0012] 본 발명은 또한 발효마늘을 유효성분으로 하는 항혈전용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 발효마늘에 대한 상세한 설명은 약학 조성물에 대한 설명에서와 동일하게 적용될 수 있다.

[0013] 상기 발효마늘은 본 발명의 건강기능식품에 바람직하게는 0.01~100 중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품 조성물의 유효용량은 상기 약학적 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있다. 유효 성분은 항혈전 효능 이외에도 항균, 항콜레스테롤, 항암 효능 등 유용한 생리활성을 나타내며 안전성 면에서도 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 과자, 주류, 초콜릿, 비타민 복합제, 건강기능식품류 등이 있다.

발명의 효과

[0014] 이상과 같이 항혈전 효능을 갖는 본 발명의 조성물은 부작용이 없어 안전하게 사용할 수 있을 뿐 아니라 인체에 유용한 다양한 생리활성을 갖는 것으로 알려져 있어, 항혈전용 약학 조성물 및 건강기능식품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 발효마늘의 시험관 내 항혈전 효능을 보여주는 그래프.
- 도 2는 발효마늘의 생체 외 항혈전 효능을 보여주는 그래프.
- 도 3은 발효마늘의 생체 외 ATP 방출 억제 효능을 보여주는 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하 첨부된 실시예를 들어 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 그러나 이러한 실시예는 본 발명의 기술적 사상의 내용과 범위를 쉽게 설명하기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 한정되거나 변경되는 것은 아니다. 이러한 예시에 기초하여 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 다양한 변형과 변경이 가능함은 당업자에게는 당연할 것이다.

[실시예]

실시예 1 : 발효마늘의 제조

[0019] 마늘은 껍질이 있는 상태로 통마늘 형태로 절단하여 상대습도 60~70%, 70~75℃에서 2주간 숙성하였다. 여기에 *Bacillus subtilis*를 마늘에 대한 중량비로 1%의 비율로 접종하여 30~40℃에서 3일간 발효하였다.

[0020] 발효된 마늘은 분쇄한 후 동결건조하여 하기 실험에 사용하였다.

실시예 2 : 발효마늘의 항혈전 효능 평가

1) 혈소판의 분리

[0023] 흰쥐(Sprague-Dawley, SD 240-260 g)를 Orient Co. (Seoul, Korea)에서 구입하여 약 23±2 ℃ 및 50±10%의 온도와 상대습도를 갖춘 실험동물실에서 실험 전 1 주간 순환 적응시켰다. 각 군당 4마리씩 무작위로 대조구(CTL), 발효마늘 투여구 및 생마늘 투여구로 나누었다. 발효마늘 투여구에는 실시예 1에서 제조한 발효마늘을, 생마늘 투여구에는 생마늘을 각각 300 mg/kg의 농도로 1일 1회 7일동안 반복 경구투여 하였다.

[0024] 마지막 경구 투여 2 시간 후, 심장 천자를 통하여 SD 흰쥐에서 전혈을 채취하고 항응고제인 구연산텍스트로스 용액이 담긴 튜브로 옮겼다. 혈액을 170×g에서 7분 동안 원심분리하여 혈소판이 많은 혈장(PRP)을 얻었다.

PRP를 350×g에서 7분간 원심 분리하여 세척된 혈소판을 분리하였다. Tyrode's 완충액(137 mM NaCl, 12 mM NaHCO₃, 5.5 mM 포도당, 2 mM KCl, 1 mM MgCl₂ 및 NaHPO₄, pH 7.4)을 사용하여 혈소판 농도를 3×10⁸ 세포/mL로 조정하고 하기 혈소판 응집 분석에 사용하였다. 모든 준비 절차는 실온 (23 ± 2℃)에서 수행하였다.

[0025] **2) 시험관 내(in-vitro) 항혈전 효능 평가**

[0026] 상기 1)의 대조군으로부터 분리한 혈소판을 사용하여 시험관 내에서 발효마늘이 혈전 형성에 미치는 효과를 평가하였다. 혈전을 유도하기 위하여 화학콜라겐(말 중에서 유래한 천연콜라겐 섬유소(I형)), ADP(Chrono-log, USA) 또는 트롬빈(Chrono-log, USA)을 처리하였으며, 광투과 응집 검출계(light transmission aggregometer, Chrono-log, USA)를 사용하여 혈소판 응집 효과를 평가하였다.

[0027] 구체적으로, 생체 내 칼슘 농도와 유사한 환경을 조성하기 위하여 세척된 혈소판에 염화칼슘(CaCl₂)을 1 mM의 농도가 되도록 처리하고, 발효마늘을 400 또는 800 µg/mL의 단위로 처리하였다. 대조군에는 염화칼슘(CaCl₂)만을 1 mM의 농도가 되도록 처리하였다. 37℃에서 2분간 해당 시료들을 처리한 후, 혈전을 유도하기 위하여 콜라겐 2.5 µg/mL, ADP 2.5 µM 또는 트롬빈 0.1 U/mL로 자극하였다. 혼합물을 연속적으로 교반하면서 추가로 5분간 배양하였다. 광투과 응집 검출기로 측정된 배양액의 투과도로 응집율을 측정하고 대조군의 응집율을 100%로 하여 그 결과를 도 1에 도시하였다.

[0028] 도 1에서 발효마늘은 콜라겐과 ADP 및 트롬빈에 의해 유도된 혈전 형성을 억제하는 효과를 보여주며, 특히 ADP에 의해 유도된 혈전 억제에 가장 효과적이었다.

[0029] **3) 생체 외(ex-vivo) 항혈전 효능 평가**

[0030] 상기 1)의 대조군과 생마늘 투여구(NF. garlic) 또는 발효마늘 투여구(F.Garlic)로부터 각각 준비한 세척된 혈소판을 37℃에서 교반하면서 콜라겐 0.625 µg/mL 또는 ADP 2.5 µM로 5분간 자극하였다. 이후, 2)와 동일한 방법에 의해 항혈전 효과를 평가하고, 그 결과를 도 2에 도시하였다.

[0031] 도 2는 발효마늘이 생체 외 실험에서 in-vitro 실험보다도 오히려 더욱 현저한 효과를 나타내는 것을 보여주며, 특히 콜라겐에 의해 유도된 혈전 형성을 효과적으로 억제하였다. 또한, 생마늘과 비교하였을 때 발효마늘의 혈전 억제 효과가 더욱 우수하였다.

[0032] **4) ATP 방출에 대한 생체 외(ex-vivo) 효능 평가**

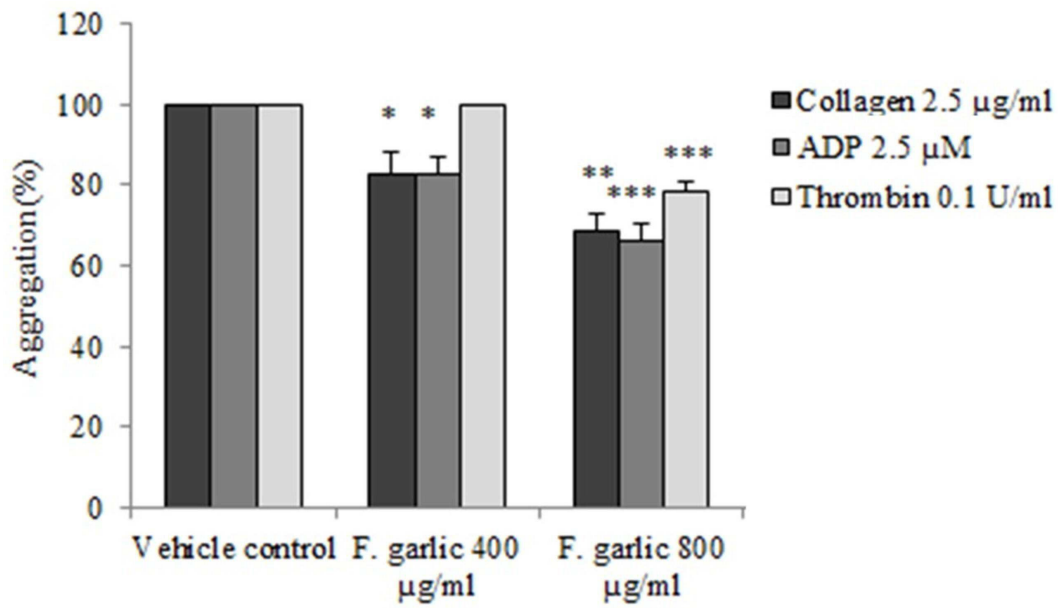
[0033] 활성화된 혈소판은 알파 및 고밀도 과립과 같은 과립의 많은 양을 방출하고 이러한 과립 함량 분비는 세포 내 신호 전달 경로를 포함하여 혈소판 활성화를 향상시킨다. 혈소판 활성화의 초기 단계는 ATP의 빠른 방출을 특징으로 한다. 따라서 콜라겐과 ADP에 의해 유도된 ATP 분비를 평가하였다.

[0034] 이를 위하여 3)에 기재된 방법으로 콜라겐 또는 ADP로 5분간 자극한 혈소판 혼합물을 원심분리하였다. 얻어진 상등액을 ATP분석 키트(Biomedical Research Service Center)를 사용하여 사용자의 매뉴얼에 따라 luminometer (GloMax 20/20, Promega, Madison, WI, USA)로 ATP 분비를 측정하였다.

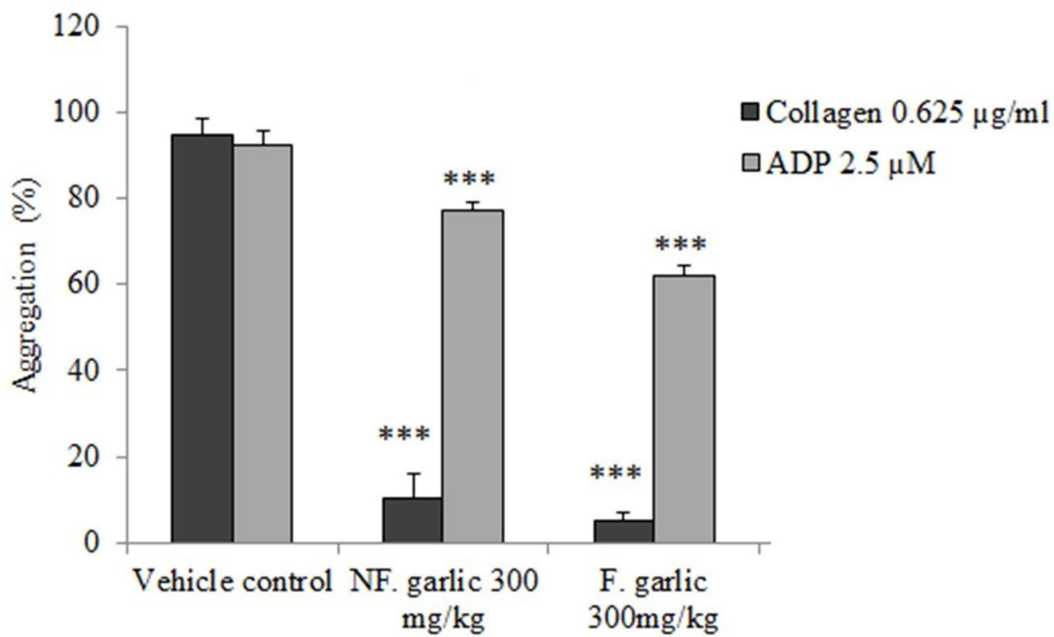
[0035] 도 3은 그 결과를 보여주는 그래프로, 생마늘과 발효마늘은 콜라겐 및 ADP로 자극된 혈소판에서 조밀한 과립으로부터 ATP 방출을 유의적으로 억제하였다. 더 나아가, 콜라겐에 의해 유도된 ATP 분비 억제 효능은 생마늘과 발효마늘이 유사한 정도였으나, ADP에 의해 유도된 ATP 분비 억제는 발효마늘이 생마늘에 비해 우수하였다. 이러한 결과는 생마늘과 발효마늘이 혈소판 과립 분비에 대한 억제 효과를 통해 항 혈소판 효과를 나타냄을 시사한다.

도면

도면1



도면2



도면3

