



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년01월19일

(11) 등록번호 10-2204912

(24) 등록일자 2021년01월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/258 (2006.01) *A23L 29/00* (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61P 1/16* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/258 (2013.01)
A23L 29/06 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0026760
(22) 출원일자 2019년03월08일
심사청구일자 2019년03월08일
(65) 공개번호 10-2020-0107524
(43) 공개일자 2020년09월16일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020040091606 A*
KR1020130113717 A*
KR1020150046427 A*
KR1020170013170 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 한국인삼공사
대전광역시 대덕구 벚꽃길 71 (평촌동)
(72) 발명자
인교
대전광역시 유성구 가정로 30, 한국인삼공사 한국
인삼연구원
김중환
대전광역시 유성구 가정로 30, 한국인삼공사 한국
인삼연구원
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태평양

전체 청구항 수 : 총 9 항

심사관 : 한정희

(54) 발명의 명칭 **인삼 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 인삼 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 인삼 추출물의 분획물이 간 보호 효과를 나타내므로, 본 발명의 인삼 추출물의 분획물을 의약품, 식품 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A61P 1/16 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A61K 2236/19 (2013.01)

A61K 2236/39 (2013.01)

A61K 2236/55 (2013.01)

(72) 발명자

장경화

대전광역시 유성구 가정로 30, 한국인삼공사 한국
인삼연구원

이미향

대전광역시 유성구 가정로 30, 한국인삼공사 한국
인삼연구원

명세서

청구범위

청구항 1

인삼잎 추출물의 분획물을 포함하는 알코올성 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서,

상기 분획물은 하기 단계로 이루어지는 분획 공정에 의해서 제조된 제1 분획물, 제2 분획물, 제3 분획물, 제4 분획물, 제5 분획물 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이고,

추출 용매가 물일 때, 상기 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물 및 제3 분획물을 포함하고,

추출 용매가 에탄올일 때, 상기 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물, 제4 분획물 및 제5 분획물을 포함하는 약학적 조성물:

인삼 추출물에 염기 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(1)과 비-유기용매층(1)으로 분리하며, 유기용매층(1)만을 분획하여 제1 분획물을 얻는 1차 분획;

1차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(1)에 산 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(2)과 비-유기용매층(2)으로 분리하며, 유기용매층(2)만을 분획하여 제2 분획물을 얻는 2차 분획;

2차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(2)을 농축하여 제3 분획물을 얻는 3차 분획;

1차 분획에서 얻어지는 유기용매층(1)에 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(3)과 비-유기용매층(3)으로 분리하고, 유기용매층(3)만을 분획하여 제4 분획물을 얻는 4차 분획; 및

2차 분획에서 얻어지는 유기용매층(2)에 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(4)과 비-유기용매층(4)으로 분리하고, 유기용매층(4)만을 분획하여 제5 분획물을 얻는 5차 분획.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 분획 공정 전에 인삼 추출물을 컬럼 정제하는 단계를 추가로 포함하며, 상기 컬럼의 고정상은 방향족계 합성 수지인 약학적 조성물.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 컬럼 정제시 사용된 탈착 용매는 물, 유기 용매 및 이의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나인 약학적 조성물.

청구항 6

청구항 5에 있어서,

상기 컬럼 정제시 탈착 용매로서 70%(v/v) 이상 내지 100(%) 미만의 에탄올 수용액 또는 에탄올을 사용하여 얻어진 정제물은 1차 내지 3차 분획 공정을 수행하는 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 5에 있어서,

상기 컬럼 정제시 탈착 용매로서 물 또는 10%(v/v) 내지 60%(v/v) 에탄올 수용액을 사용하여 얻어진 정제물은 6

차 분획 공정을 수행하는 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 4에 있어서,

상기 분획 공정은 6차 분획 단계를 추가로 포함하고,

6차 분획 단계는 인삼 추출물을 컬럼 정제하는 단계 이후에 진행되며,

6차 분획은 물, 유기 용매 및 이의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 용매로 분획하여 제6 분획물을 얻는 것인 약학적 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 6차 분획시 사용된 용매는 80%(v/v) 미만의 에탄올 수용액인 약학적 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

청구항 1에 있어서,

염기 처리시 사용되는 용액은 0.1 내지 20 %(v/v) NaOH 수용액인 약학적 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

인삼잎 추출물의 분획물을 포함하는 알코올성 스트레스로부터의 간 기능 보호용 식품 조성물로서,

분획물은 하기 단계로 이루어지는 분획 공정에 의해서 제조된 제1 분획물, 제2 분획물, 제3 분획물, 제4 분획물, 제5 분획물 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이고,

추출 용매가 물일 때, 상기 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물 및 제3 분획물을 포함하고,

추출 용매가 에탄올일 때, 상기 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물, 제4 분획물 및 제5 분획물을 포함하는 조성물:

인삼 추출물에 염기 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(1)과 비-유기용매층(1)으로 분리하며, 유기용매층(1)만을 분획하여 제1 분획물을 얻는 1차 분획;

1차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(1)에 산 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(2)과 비-유기용매층(2)으로 분리하며, 유기용매층(2)만을 분획하여 제2 분획물을 얻는 2차 분획;

2차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(2)을 농축하여 제3 분획물을 얻는 3차 분획;

1차 분획에서 얻어지는 유기용매층(1)에 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(3)과 비-유기용매층(3)으로 분리하고, 유기용매층(3)만을 분획하여 제4 분획물을 얻는 4차 분획; 및

2차 분획에서 얻어지는 유기용매층(2)에 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(4)과 비-유기용매층(4)으로 분리하고, 유기용매층(4)만을 분획하여 제5 분획물을 얻는 5차 분획.

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인삼 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오갈피나목과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 초본으로 한방에서 사용되는 한약재 중의 하나로 달면서 쓴맛이 있고, 따뜻한 기운을 가지고 있으며, 원기를 보하고 비장을 보호하고, 폐를 튼튼하게 해주는 등 본초학적 효능을 가지고 있다.

[0003] 인삼의 주요 생리활성 물질은 진세노사이드라고도 불리는 사포닌과 정유성분, 폴리아세틸렌, 페놀성분, 배당체 및 산성펩타이드 등이 있으며, 그 밖에도 비타민, 당류, 무기질과 같은 다양한 성분들이 함유되어 있다. 일반적인 인삼의 생리활성 효능은 중추신경계의 작용, 면역기능 강화 작용, 항암 작용 등이 보고되어 있다. 특히 진세노사이드는 지금까지 약 40여 종이 발견되고 있으며 중추신경을 비롯하여 내분비계, 면역계, 대사계 등에 광범위한 영향을 미쳐 신체기능 조절, 즉 생리기능 정상화에 탁월한 효과를 나타내는 것으로 확인되고 있다. 이들 진세노사이드는 서로 비슷한 작용을 하거나 또는 서로 반대되는 작용을 나타내기도 하는데, 특정 성분이 단독으로 또는 여러 종류가 상호작용을 통해서 다양한 효능을 발휘하는 것으로 알려지고 있다.

[0004] 간은 인간의 신체 장기 중 생체 내 대사가 가장 활발하게 일어나는 장기이며, 완충 능력이 큰 기관으로 질환의 초기 단계에서는 그 증상이 잘 나타나지 않다가 상당히 악화된 후에야 질환의 증상을 보이게 된다. 간은 인체에서 혈액의 저장 및 순환, 혈류량 조절과 방어 해독 작용을 하며 정신적 활동과 밀접하게 관련 되어 있다고 알려져 있다. 산업화에 따른 공해 물질, 유독 물질에 우리의 몸은 항상 노출되어 있어 우리의 간은 끊임없는 해독 작용에 시달리고 있으며, 정신적인 스트레스로 인한 간 손상은 심각하다. 정신적 스트레스, 과음, 흡연으로 간 손상을 가중시켜 인체가 방어 해독 작용을 하지 못해 면역체계에 이상을 가져와 다른 질병의 원인이 되기도 한다.

[0005] 간 기능의 손상에 있어서, 특정 간질환에 대한 치료가 거의 불가능할 정도가 되어야 자각 증상이 있는 만큼 그 예방과 발견이 쉽지 않다. 간질환의 원인은 여러 가지가 있으나 그 중에서도 오랫동안의 임상 실험에서 알 수 있듯이 알코올에 의한 간 손상이 대표적이다. 술을 많이 마시면 알코올에 의해 영양 부족과 영양의 불균형 현상이 초래되어 간 기능이 저하되는데, 술에 의한 간 손상은 술의 종류보다 한 번에 마시는 술의 양과 음주 빈도수 등이 문제가 되며, 1회 분량이 그다지 많지 않더라도 매일 계속해서 마시거나 수개월간 폭음을 하는 경우, 간에 큰 부담을 주게 되어 간 기능이 저하되고 심각한 손상을 입게 된다.

[0006] 현재 일반적으로 이용되고 있는 간질환의 치료 방법은 크게 식이 요법과 약제 요법으로 구분된다. 약제 요법의 한 예로 특허문헌 1에는 간질환 치료시 바이페닐다이아마이드 유도체를 사용하는 점이 개시되어 있다. 그러나 간질환은 한가지 원인에 의해서만 발생하는 것이 아니고 여러 요인의 복합적인 작용에 의해 발병하기 때문에, 한가지 작용 기전을 갖는 약제에 의한 것만으로는 높은 치료 효과를 기대할 수 없으며, 현재 사용되고 있는 간질환 치료약은 대량 또는 장기간 투여시에는 부작용이 나타나는 단점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국 공개특허공보 제2014-0128066호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 간 기능을 개선할 수 있고, 인체에 안전한 식물 유래의 물질을 제공하는 것에 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 인삼 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 또는 간 기능 개선용 식품 조성물을 제공한다. 상기 인삼 추출물의 분획물은 하기 단계로 이루어진 공정에 의해 제조된다: 상기 분획물은 하기 단계로 이루어지는 분획 공정에 의해서 제조된 제1 분획물, 제2 분획물, 제3 분획물 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나이다: 인삼 추출물에 염기 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(1)과 비-유기용매층(1)으로 분리하며, 유기용매층(1)만을 분획하여 제1 분획물을 얻는 1차 분획; 1차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(1)에 산 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(2)과 비-유기용매층(2)으로 분리하며, 유기용매층(2)만을 분획하여 제2 분획물을 얻는 2차 분획; 및 2차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(2)을 농축하여 제3 분획물을 얻는 3차 분획.

[0010] 또한, 본 발명은 분쇄된 인삼에 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 글루코아밀라아제 효소를 처리하여 반응시켜 제조된 인삼의 효소 반응물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0011] 아울러, 본 발명은 분쇄된 인삼에 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 글루코아밀라아제 효소를 처리하여 반응시켜 제조된 인삼의 효소 반응물을 포함하는 간 기능 개선용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명의 인삼 유래의 추출물, 추출물의 분획물, 부산물, 효소 반응물은 간 보호 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0014] 1. 인삼 추출물의 분획물의 간질환 예방 또는 치료 용도

[0015] 인삼(*Panax ginseng*)은 식물 분류학상으로 오갈피나목과(Araliaceae)의 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 음지성 초본식물로서 오래 전부터 한방에서 중요한 약재로 사용되었다. 인삼은 일반적으로 가공 방법에 따라 백삼과 홍삼으로 구분되며, 백삼은 발에서 채굴한 가공되지 아니한 인삼 즉, 수삼을 그대로 건조한 것을 지칭하며 홍삼은 수삼을 증숙하여 건조 가공한 것으로 제조 과정에서 사포닌 변형과 아미노산 변화 등 여러 화학적인 변화가 수반된다. 홍삼은 제조 과정에서 가해지는 열에 의해 인삼에 존재하지 않는 진세노사이드 Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 등의 사포닌 성분이 생성되며, 홍삼 특유의 유효 성분은 암 예방 작용, 암세포 성장 억제 작용, 혈압 강하 작용, 뇌신경세포 보호 및 학습 능력 개선 작용, 항혈전 작용, 항산화 작용 등이 우수하다.

[0016] 본 발명은 인삼 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 인삼 추출물의 분획물은 하기 단계로 이루어진 공정에 의해 제조된다: 상기 분획물은 하기 단계로 이루어지는 분획 공정에 의해서 제조된 제1 분획물, 제2 분획물, 제3 분획물 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나이다: 인삼 추출물에 염기 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(1)과 비-유기용매층(1)으로 분리하며, 유기용

매층(1)만을 분획하여 제1 분획물을 얻는 1차 분획; 1차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(1)에 산 처리하고, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(2)과 비-유기용매층(2)으로 분리하며, 유기용매층(2)만을 분획하여 제2 분획물을 얻는 2차 분획; 및 2차 분획 단계에서 얻어진 비-유기용매층(2)을 농축하여 제3 분획물을 얻는 3차 분획.

[0017] 본 발명에 있어서, 추출물은 인삼의 잎, 어린 새싹, 본체, 본체 껍질, 줄기, 줄기 껍질, 뿌리, 뿌리 껍질, 뿌리 줄기, 종자, 열매, 미숙과, 완숙과, 과육, 과피, 꽃, 수술군(androecium), 암술군(gynoecium), 꽃받침, 수술, 꽃잎, 꽃받침 조각, 심피 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나로부터 수득될 수 있다. 또한, 인삼을 증숙하여 얻어진 홍삼으로부터 수득될 수 있다. 상기 인삼의 열매는 완숙과 및 미숙과 중 적어도 하나일 수 있고, 인삼의 열매는 인삼 열매의 종자, 인삼 열매의 과육 및 인삼 열매의 과피로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다. 인삼 열매가 완숙과일 때 과육을 이용하거나, 인삼 열매가 미숙과일 때는 미숙과를 과육, 종자, 과피로 분리하지 않고 인삼 열매 전체를 이용할 수 있다. 인삼의 열매 중 완숙과는 붉은 색을 나타내며, 미숙과는 초록색을 나타낸다. 상기 뿌리줄기는 근경이라고도 하며, 줄기가 지하로 자라나 뿌리와 같은 역할을 하는 것을 나타낸다. 상기 수술군은 하나의 꽃에 있는 수술 전체를 나타내며, 상기 암술군은 하나의 꽃에 있는 암술 전체를 나타낸다. 상기 심피는 꽃의 암술을 만드는 구성요소로 일반적으로 화엽이라고 총칭되는 잎의 변형 형태를 나타낸다. 상기 인삼은 인삼잎, 열매, 홍삼 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나일 수 있으나, 이에 한정되지 아니하며, 인삼의 다른 부위에서 얻어진 추출물을 혼합하여 간 기능 개선의 목적으로 사용할 수 있다.

[0018] 본 발명에서 일컫는 "추출물"은 원료로부터 임의의 방법으로 추출된 물질을 의미하며, 이렇게 추출된 추출액, 이로부터 얻을 수 있는 농축액, 상기 농축액의 건조물 및 분말을 제한 없이 모두 포함하는 의미로 사용된다.

[0019] 상기 추출물은 원료 또는 이의 건조물로부터 추출하여 얻을 수 있으며, 상기 추출물의 원료는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다.

[0020] 상기 추출물을 원료로부터 추출하여 수득할 때, 추출 방법으로는 용매 추출법, 초음파 추출법, 여과법 및 환류 추출법 등 종래 알려진 통상적인 추출 방법을 모두 사용할 수 있으며, 바람직하게는 용매 추출법이나 환류 추출법을 이용함으로써 제조할 수 있다. 상기 추출 과정은 수회 반복할 수 있으며, 이후에 농축 또는 동결건조 등의 단계를 추가적으로 거칠 수 있다. 구체적으로, 수득한 추출물을 감압 농축하여 농축액을 얻고, 상기 농축액을 동결건조시킨 후 분쇄기를 이용하여 고농도의 추출 분말을 제조할 수 있다. 추출물은 추출물을 추가적으로 분획하여 얻은 분획물도 포함한다.

[0021] 상기 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물을 추출용매로 하여 추출될 수 있다. 상기 유기용매는 알코올, 바람직하게는 C₁-C₄의 저급 알코올, 헥산(n-헥산), 에테르, 글리세롤, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 메틸아세테이트, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸아세테이트, 벤젠 및 이들의 혼합용매로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다. 물 및 유기용매의 혼합물을 추출 용매로 사용하는 경우, 물 및 유기용매의 혼합물은 물 및 C₁-C₄의 저급 알코올의 혼합물일 수 있고, 물 및 에탄올의 혼합물일 수 있다.

[0022] 상기 인삼 추출물 제조시 사용된 용매가 에탄올 수용액일 경우, 에탄올 수용액은 10%(v/v) 이상 내지 100%(v/v) 미만의 에탄올 수용액, 에탄올, 10%(v/v) 내지 70%(v/v) 에탄올 수용액, 13%(v/v) 내지 65%(v/v) 에탄올 수용액, 16%(v/v) 내지 60%(v/v) 에탄올 수용액, 19%(v/v) 내지 55%(v/v) 에탄올 수용액, 22%(v/v) 내지 50%(v/v) 에탄올 수용액, 25%(v/v) 내지 40%(v/v) 에탄올 수용액일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 상기 에탄올 수용액이 하한값 미만의 농도일 경우에는 추출물을 제조하더라도 유효성분이 추출되지 않으므로 간질환을 개선시킬 수 없다.

[0023] 상기 분획물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물을 분획 용매로 하여 분획될 수 있다. 상기 유기용매는 알코올, 바람직하게는 C₁-C₄의 저급 알코올, 헥산(n-헥산), 에테르, 글리세롤, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 메틸아세테이트, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸아세테이트, 벤젠 및 이들의 혼합용매로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있고, 프로판올 또는 부탄올일 수 있고, 부탄올일 수 있다.

[0024] 상기 분획 공정은 4차 분획 단계를 추가로 포함할 수 있고, 4차 분획은 1차 분획에서 얻어지는 유기용매층(1)에 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(3)과 비-유기용매층(3)으로 분리하고, 유기용매층(3)만을 분획하여 제4 분획물을 얻는 것일 수 있다.

[0025] 상기 분획 공정은 5차 분획 단계를 추가로 포함할 수 있고, 5차 분획은 2차 분획에서 얻어지는 유기용매층(2)에

산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 유기용매를 처리한 후 유기용매층(4)과 비-유기용매층(4)으로 분리하고, 유기용매층(4)만을 분획하여 제5 분획물을 얻는 것일 수 있다.

- [0026] 상기 분획 공정 전에 인삼 추출물을 컬럼 정제하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 인삼 추출물을 컬럼 정제 분획시에 사용되는 고정상으로는 실리카 겔, 활성 알루미늄, 합성 고분자, 규산마그네슘, 활성탄, 셀룰로오스, 이온 교환 수지 등의 충전제가 이용될 수 있고, 실리카겔 또는 방향족계 합성수지가 충전제로 이용되는 것이 바람직하며, 방향족계 합성수지 사용시 방향족 타입의 합성 흡착제 컬럼일 수 있으며, Diaion HP-20 합성 흡착제가 충전제로 이용되는 것이 더욱 바람직하나, 이에 한정되지 아니한다. 상기 컬럼을 이용한 분리는 원하는 순도의 분획물이 정제될 때까지 1회 내지 수회에 걸쳐 수행할 수 있으며, 필요에 따라 농축, 재결정을 실시할 수 있다.
- [0027] 상기 컬럼 정제시 사용된 탈착 용매는 물, 유기 용매 및 이의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나일 수 있다. 컬럼 정제시 탈착 용매로서 70%(v/v) 이상 내지 100(%) 미만의 에탄올 수용액 또는 에탄올을 사용하여 얻어진 정제물일 경우에는 위 1차 내지 3차 분획 공정을 실시하여 제1 분획물 내지 제3 분획물을 얻고, 컬럼 정제시 탈착 용매로서 물 또는 10%(v/v) 내지 60%(v/v) 에탄올 수용액을 사용하여 얻어진 정제물일 경우에는 하기 6차 분획을 실시하여 제6 분획물을 얻는다.
- [0028] 상기 분획 공정은 6차 분획 단계를 추가로 포함할 수 있고, 6차 분획 단계는 인삼 추출물을 컬럼 정제하는 단계 이후에 진행되며, 6차 분획은 물, 유기 용매 및 이의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 용매로 분획하여 제6 분획물을 얻는 것일 수 있다.
- [0029] 6차 분획시 사용한 용매는 물 및 유기용매의 혼합물일 수 있고, 80%(v/v) 미만의 에탄올 수용액, 79%(v/v) 이하의 에탄올 수용액, 77%(v/v) 이하의 에탄올 수용액일 수 있다.
- [0030] 상기 인삼은 인삼잎, 인삼열매, 홍삼 및 이의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나일 수 있다.
- [0031] 상기 인삼이 인삼잎이고, 추출 용매가 물일 때, 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물, 제3 분획물 및 이의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나일 수 있다.
- [0032] 본 발명의 한 실시예에서는, 인삼잎 물 추출물에 염기 처리하고 부탄올을 처리한 후, 부탄올층만 분리한 제1 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 상기 제1 분획물 제조시 남은 물층을 부탄올로 다시 분획한 후, 부탄올층만 분리한 제2 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 상기 제2 분획물 제조시 남은 물층인 제3 분획물이 간 보호 효과가 우수하였다.
- [0033] 상기 인삼이 인삼잎이고, 추출 용매가 에탄올일 때, 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물, 제4 분획물, 제5 분획물 및 이의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나일 수 있다.
- [0034] 본 발명의 한 실시예에서는, 인삼잎 에탄올 추출물에 염기 처리하고 부탄올을 처리한 후, 부탄올층만 분리한 제1 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 상기 제1 분획물 제조시 남은 물층을 부탄올로 다시 분획한 후, 부탄올층만 분리한 제2 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 제1 분획물을 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 부탄올로 분획한 후 부탄올층만을 분리한 제4 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 제2 분획물을 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 부탄올로 분획한 후 부탄올층만을 분리한 제5 분획물이 간 보호 효과가 높았다.
- [0035] 상기 인삼이 인삼열매이고, 추출 용매가 물일 때, 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물, 제3 분획물 및 이의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나일 수 있다.
- [0036] 본 발명의 한 실시예에서는, 인삼열매 물 추출물에 염기 처리하고 부탄올을 처리한 후, 부탄올층만 분리한 제1 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 상기 제1 분획물 제조시 남은 물층을 부탄올로 다시 분획한 후, 부탄올층만 분리한 제2 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 상기 제2 분획물 제조시 남은 물층인 제3 분획물이 간 보호 효과가 우수하였다.
- [0037] 상기 인삼이 인삼열매이고, 추출 용매가 에탄올일 때, 분획물은 제1 분획물, 제2 분획물, 제4 분획물, 제5 분획물 및 이의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나일 수 있다.
- [0038] 본 발명의 한 실시예에서는, 인삼열매 에탄올 추출물에 염기 처리하고 부탄올을 처리한 후, 부탄올층만 분리한 제1 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 상기 제1 분획물 제조시 남은 물층을 부탄올로 다시 분획한 후, 부탄올층만 분리한 제2 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 제1 분획물을 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 부탄올로 분획한 후 부탄올층만을 분리한 제4 분획물이 간 보호 효과가 높았다. 또한, 제2 분획물

을 산 처리하고, 염기 처리하여 반응을 종결시키며, 부탄올로 분획한 후 부탄올층만을 분리한 제5 분획물이 간 보호 효과가 높았다.

- [0039] 상기 인삼이 홍삼이고, 분획 공정 전에 컬럼 정제하며, 컬럼 정제시 사용한 탈착 용매가 70%(v/v) 이상 내지 100(%) 미만의 에탄올 수용액 또는 에탄올인 경우, 분획물은 제3 분획물일 수 있다.
- [0040] 상기 탈착 용매는 75%(v/v) 이상 내지 100(%) 미만의 에탄올 수용액, 80%(v/v) 이상 내지 100(%) 미만의 에탄올 수용액, 85%(v/v) 이상 내지 100(%) 미만의 에탄올 수용액, 90%(v/v) 내지 이상 100(%) 미만의 에탄올 수용액일 수 있다. 탈착 용매의 농도가 하한값 미만일 경우에는 컬럼 정제하여 얻은 정제물을 상기와 같이 1차 분획 내지 3차 분획하여도 최종 결과물인 제3 분획물이 간 보호 효과가 낮을 수 있다.
- [0041] 본 발명의 한 실시예에서, 홍삼 물 추출물을 HP-20을 고정상으로 하는 컬럼에 넣고, 정치한 후 증류수 및 30%(v/v) 에탄올 수용액을 순차적으로 가하여 용해되어 나오는 용액을 제외하고, 그 후에 에탄올을 가하여 용해되어 나온 정제물을 수집하였다. 수집된 정제물을 1차 내지 3차 분획하여 얻은 제3 분획물이 간 보호 효과가 우수하였다.
- [0042] 상기 인삼이 홍삼이고, 분획 공정 전에 컬럼 정제하며, 컬럼 정제시 사용한 탈착 용매가 물 또는 10%(v/v) 내지 60%(v/v) 에탄올 수용액일 경우, 분획물은 제6 분획물일 수 있다.
- [0043] 상기 탈착 용매는 10%(v/v) 내지 60%(v/v) 에탄올 수용액, 15%(v/v) 내지 55%(v/v) 에탄올 수용액, 20%(v/v) 내지 50%(v/v) 에탄올 수용액, 25%(v/v) 내지 45%(v/v) 에탄올 수용액일 수 있다. 탈착 용매의 농도가 하한값 미만이거나, 상한값을 초과할 경우에는 컬럼 정제하여 얻은 정제물을 상기와 같이 6차 분획하여도 간 보호 효과가 낮을 수 있다.
- [0044] 본 발명의 한 실시예에서, 홍삼 물 추출물을 HP-20을 고정상으로 하는 컬럼에 넣고, 정치한 후 증류수 및 30%(v/v) 에탄올 수용액을 가하여 용해되어 나오는 정제물을 수집하였다. 수집된 정제물을 95%(v/v) 에탄올 수용액 내지 0%(v/v) 에탄올 수용액(물)으로 6차 분획하였고, 얻어진 제6 분획물 중에서도 80%(v/v) 미만의 에탄올 수용액을 분획 용매로 사용한 경우에 간 보호 효과가 우수하였다.
- [0045] 염기 처리시 사용되는 용액은 0.1%(v/v) 내지 20%(v/v) NaOH 수용액, 1%(v/v) 내지 15%(v/v) NaOH 수용액, 1%(v/v) 내지 10%(v/v) NaOH 수용액, 2.5%(v/v) 내지 7%(v/v) NaOH 수용액일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. NaOH 수용액이 하한값 미만일 경우에는 인삼 추출물을 분획하더라도 분획물의 간 보호 효과가 감소할 수 있고, 분획 시간이 24시간 이상으로 길어지는 문제점이 있다. NaOH 수용액이 상한값을 초과하는 경우에는 분획물을 제조하는 작업자가 위험해질 수 있다.
- [0046] 산 처리시 사용되는 용액은 0.01%(v/v) 내지 20%(v/v) 초산 용액, 0.05%(v/v) 내지 15%(v/v) 초산 용액, 0.1%(v/v) 내지 10%(v/v) 초산 용액, 0.1%(v/v) 내지 5%(v/v) 초산 용액일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 초산 용액이 하한값 미만일 경우에는 인삼 추출물을 분획하더라도 분획물의 간 보호 효과가 감소할 수 있다.
- [0047] 본 발명에서 사용되는 용어, "간질환"이란 간이 수행하는 여러 가지 기능 중 한 가지 이상의 기능에 문제가 생겨 정상적으로 대사를 수행할 수 없는 것을 말한다. 간질환에서 가장 많이 나타나는 것은 간염으로 급성 간염과 만성 간염으로 나뉘며, 일반적으로는 급성 간염이 치료하기 쉽고 양성에 속한다. 급성간염은 원인별로 바이러스 성 간염, 알코올성 간염, 중독성 간염 등이 있으며, 간질환 중 현재 가장 많이 발견되는 것은 바이러스에 의한 간염이다. 본 발명의 인삼 추출물의 분획물을 이용하여 치료될 수 있는 간질환은 제한없이 포함될 수 있으나, 구체적으로 간염, 간독성, 담즙울체, 지방간, 간경변, 간허혈, 알코올성 간질환, 간농양, 간성 혼수, 간위축증 및 간암일 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 "예방"은 상기 조성물의 투여로 간질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말하며, "치료"는 상기 조성물에 의해 간질환이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 말한다.
- [0049] 본 발명의 약학적 조성물은 상기 인삼 추출물의 분획물 외에 본 발명이 목적으로 하는 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서, 바람직하게는 상기 인삼 추출물의 분획물의 효과에 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분 등을 추가로 함유할 수 있다. 예를 들어 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 또는 담체를 포함할 수 있다.
- [0050] 상기 약학적 조성물의 투여 경로는 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함되고, 예컨대 도포에 의한 국부투여(topical application) 방식으로 적용될 수 있다. 상

기 비경구는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 병소내 주사 또는 주입기술을 포함한다.

- [0051] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다.
- [0052] 본 발명에서 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 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 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 본 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0053] 본 발명의 약학적 조성물은 간질환의 개선을 목적으로 하는 개체이면 특별히 한정되지 않고, 어떠한 것이든 적용가능하다. 예를 들면, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모로모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등과 같은 인간이 아닌 동물, 인간, 조류 및 어류 등 어느 것에 사용가능하다.
- [0054] 상기 약학적 조성물은 상기 인삼 추출물의 분획물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 상기 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0055] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 연질 캡셀제, 환 등이 포함된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0056] 비경구 투여를 위한 제제로는 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 멸균된 수용액, 액제, 비수성 용제, 현탁제, 에멀전, 시럽, 좌제, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사제제의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타폴라스마제의 피부 외용 약학적 조성물을 제조하여 사용할 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔, 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0057] 상기 약학적 조성물은 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제형화할 수 있다.
- [0058] 상기 약학적 조성물의 투여량은 개체의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 투여 시간, 투여 경로, 배출률, 약물 배합 및 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있다.
- [0059] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다. 또한 상기 약학적 조성물은 성인 기준으로 0.001 내지 200mg/kg 범위 내의 투여량으로 투여될 수 있고, 상기 약학적 조성물이 외용제인 경우에는 성인 기준으로 1.0 내지 3.0mℓ의 양으로 1일 1회 내지 5회 도포하여 1개월 이상 계속하는 것이 좋으나, 상기 투여량은 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.
- [0060] 상기 약학적 조성물을 단위 용량 형태로 제형화하는 경우, 유효성분으로서 본 발명의 인삼 추출물의 분획물은 약 0.01 내지 1,500mg의 단위 용량으로 함유되는 것이 바람직하고, 성인 치료에 필요한 투여량은 투여의 빈도와 강도에 따라 하루에 약 1 내지 500mg 범위가 보통이나 이에 한정되는 것은 아니며, 일부 환자의 경우 더 높은 1일 투여량이 바람직할 수 있다.
- [0061] 또한, 본 발명은 인삼 추출물의 분획물을 포함하는 간 기능 개선용 식품 조성물을 제공한다. '인삼 추출물의 분획물 제조' 방법은 상기 '인삼 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물'에서 서술한 바와 같으므로 설명을 생략한다.
- [0062] 상기 인삼 추출물의 분획물은 상기 건강 기능 식품의 총 중량에 대하여 0.005 중량% 내지 20.0 중량%의 함량으로 함유되는 것이 바람직하고, 0.01 중량% 내지 10.0 중량%의 함량으로 함유되는 것이 보다 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 인삼 추출물의 분획물의 유효 함량이 0.005 중량% 미만일 경우에는 학습장애, 인지장애 및 기억력 손상 등의 증상을 완화시킬 수 없고, 20 중량%를 초과할 경우에는 함유량 증가에 따른 뚜렷한 효능 상승

효과가 떨어져 비경제적이다.

- [0063] 상기 건강 기능 식품은 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 외에 본 발명이 목적으로 하는 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서, 바람직하게는 상기 인삼 추출물의 분획물의 효과에 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분 등을 추가로 함유할 수 있다. 예를 들어 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 또는 담체를 포함할 수 있다.
- [0064] 또한 식품 제조시 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상기 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기 향미제로는 천연 향미제 타우마틴, 스테비아 추출물 및 합성 향미제를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 건강 기능 식품이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 천연 추출액 등이 추가로 포함될 수 있다.
- [0065] 상기 건강 기능 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 인삼 추출물의 분획물을 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 건강 기능 식품을 모두 포함한다.
- [0066] **2. 인삼의 효소 반응물의 간질환 예방 또는 치료 용도**
- [0067] 본 발명은 분쇄된 인삼에 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 글루코아밀라아제 효소를 처리하여 반응시켜 제조된 인삼의 효소 반응물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0068] 상기 인삼은 '1. 인삼 추출물의 분획물의 간질환 예방 또는 치료 용도'에서 서술한 바와 같으므로 설명을 생략한다. 또한, 인삼은 홍삼 제조시 얻어지는 연산품도 포함할 수 있고, 예를 들면 홍삼박을 들 수 있다. 홍삼박은 홍삼 추출물을 제조하고 남은 고형 성분이다.
- [0069] 분쇄된 인삼 100중량부 기준으로, 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 글루코아밀라아제는 각각 0.01중량부 내지 1.0중량부, 0.05중량부 내지 0.7중량부, 0.1중량부 내지 0.5중량부로 첨가될 수 있으나, 이에 한정되지 아니한다. 상기 효소들이 하한값 미만으로 포함될 경우에는 간 보호 효과가 낮을 수 있다. 상기 효소들이 상한값을 초과하여 포함될 경우에는 기질은 한정되어 있고 효소의 작용은 동일하므로 생산비가 높아지는 문제점이 있다.
- [0070] 상기 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 글루코아밀라아제는 각각 동량으로 첨가되는 것일 수 있다. 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 글루코아밀라아제를 처리시에 특정 효소의 양을 적게 처리하거나, 제외하여 처리한 경우에는 간 기능 개선 효과가 낮아질 수 있다. 또한, 제조 수율이 낮아질 수 있다.
- [0071] 효소 반응 온도는 50℃ 내지 60℃일 수 있고, 바람직하게는 52℃ 내지 58℃일 수 있고, 더욱 바람직하게는 54℃ 내지 56℃일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 온도가 상기 범위를 벗어날 경우에는 효소가 완전히 활성화되지 않아, 처리된 효소 중 일부만이 반응하여 제조된 효소 반응물의 간 보호 효과가 낮아진다.
- [0072] 또한, 본 발명은 분쇄된 인삼에 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 글루코아밀라아제 효소를 처리하여 반응시켜 제조된 인삼의 효소 반응물을 포함하는 간 기능 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0073] **3. 홍삼 부산물 또는 홍삼 다당체의 간질환 예방 또는 치료 용도**
- [0074] 본 발명은 홍삼 부산물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 홍삼 부산물을 포함하는 간 기능 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0075] 상기 홍삼 부산물은 홍삼 제조시 얻어지는 연산품인 증삼액 및 토출액 중 적어도 하나일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 상기 증삼액은 인삼을 자숙할 때 인삼의 표면에 맺혔다 떨어지는 액체이다. 상기 토출액은 홍삼 추출액의 침전물이며, 전분질과 홍삼 추출액으로 이루어진 액체이다.
- [0076] 또한, 본 발명은 홍삼 다당체를 포함하는 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 홍삼 다당체를 포함하는 간 기능 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0077] 상기 홍삼 다당체는 홍삼 다당체, 또는 홍삼 다당체의 효소 반응물을 포함한다.
- [0078] 홍삼 다당체는 하기 단계에 의해 제조된다: 홍삼 분말 및 물의 혼합물을 원심분리한 후 상층액을 분리하는 단

계; 상층액에 에탄올을 가하고 정치하여 1차 침전물을 얻는 단계; 상기 1차 침전물과 물의 혼합물에 에탄올을 가하고 정치하여 2차 침전물을 얻는 단계; 상기 2차 침전물을 동결건조하여 홍삼 다당체를 얻는 단계.

[0079] 상기 홍삼 분말 100g 기준으로, 물은 0.1L 내지 3L, 0.5L 내지 2.5L, 0.7L 내지 2L로 첨가될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 물이 하한값 미만으로 포함될 경우 홍삼 다당체 추출 수율이 낮을 수 있다. 물이 상한값을 초과하여 포함될 경우에는 홍삼 다당체의 간질환 개선 효과가 낮을 수 있다.

[0080] 1, 2차 침전물 제조시 온도 조건은 -20℃ 내지 -1℃, -15℃ 내지 -1℃, -10℃ 내지 -1℃, -5℃ 내지 -1℃일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 1, 2차 침전물 제조시 시간 조건은 1시간 내지 48시간, 3시간 내지 40시간, 6시간 내지 30시간, 9시간 내지 20시간일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 상기 1차 침전물 제조시 온도 조건과 시간 조건을 충족하지 않을 경우에는 수득한 홍삼 다당체의 간질환 개선 효과가 낮을 수 있다.

[0081] 홍삼 다당체의 효소 반응물은 하기 단계에 의해 제조된다: 홍삼 다당체와 물의 혼합물에 α-아밀라제 및 아밀로 글루코시다제를 첨가하여 반응시키는 단계.

[0082] 상기 효소 반응 온도는 30℃ 내지 70℃, 35℃ 내지 65℃, 40℃ 내지 60℃, 45℃ 내지 55℃일 수 있으나, 이에 이에 한정하지 않는다. 온도가 하한값 미만일 경우에는 효소 반응이 원활하지 않아 홍삼 다당체의 효소 반응물을 수득하더라도 간 기능 개선 효과가 낮을 수 있다.

[0083] 상기 효소 반응 단계 후에 반응을 종결하는 단계를 추가로 수행될 수 있다. 반응 종결은 효소가 불활성되는 온도인 80℃ 내지 120℃, 85℃ 내지 115℃, 90℃ 내지 110℃, 95℃ 내지 105℃일 수 있으나, 이에 이에 한정하지 않는다. 불활성화되는 온도가 하한값 미만일 경우에는 추가로 효소 반응이 진행되어 유효성분이 감소될 수 있다.

[0084] 반응 종결시 사용되는 용매는 유기용매, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에탄올일 수 있다.

[0085] 상기 홍삼 다당체 2g 중량 기준으로 물은 10ml 내지 200ml, 20ml 내지 180ml, 40ml 내지 160ml, 60ml 내지 140ml일 수 있으나, 이에 이에 한정하지 않는다. 물이 하한값 미만으로 포함될 경우에는 홍삼 다당체의 효소 반응물의 수율이 낮을 수 있다. 물이 상한값을 초과하여 포함될 경우에는 홍삼 다당체의 효소 반응물의 간질환 개선 효과가 낮을 수 있다.

[0086] 상기 효소 처리시 α-아밀라제 300중량부에 대해서, 아밀로글루코시다제 10중량부 내지 200중량부, 30중량부 내지 180중량부, 50중량부 내지 160중량부, 70중량부 내지 140중량부로 포함될 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 아밀로글루코시다제의 처리량이 상기 범위를 만족하지 않으면 얻어진 홍삼 다당체의 효소 반응물의 간 보호 효과가 낮아질 수 있다.

[0087] 상기 '간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물' 및 '간 기능 개선용 식품 조성물'은 상기 '1. 홍삼 추출물의 분획물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료 용도'에 서술한 바와 같으므로 설명을 생략한다.

[0088] 이하, 본 발명을 제조예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0089] 단, 하기 제조예 및 실험예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 제조예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0090] **제조예 1. 인삼 유래 원료의 효소 반응물의 제조**

[0091] **1-1. 인삼잎의 효소 반응물 제조**

[0092] 분말 상태의 원료 100g을 2L 플라스크에 넣고 1.5L 증류수를 가한 후 셀룰라제, 헤미셀룰라제, 글루코아밀라제를 0.2중량%씩 첨가하여 55℃에서 48시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후 효소 반응물을 원심분리하여 상층 액만을 농축/건조하여 인삼잎의 효소 반응물 31.34g을 얻었다.

[0093] **1-2. 인삼 열매의 효소 반응물 제조**

[0094] 원료를 인삼 열매로 한 것 이외에는 제조예 1-1과 동일한 방법으로 인삼 열매의 효소 반응물 58.29g을 얻었다.

[0095] **1-3. 홍삼박의 효소 반응물 제조 - 홍삼 시럽**

[0096] 원료를 홍삼박으로 한 것 이외에는 제조예 1-1과 동일한 방법으로 홍삼박의 효소 반응물 40.30g을 얻었다.

[0097] **제조예 1의 정리:**

[0098] 제조예 1에서 얻어진 각 효소 반응물의 수율을 하기에 나타낸다.

표 1

[0099]

	인삼잎 효소 반응물	인삼열매 효소 반응물	홍삼박 효소 반응물
수득량	31.34g	58.29g	40.30g
수율	31.4%	58.29%	40.30%

[0100] 제조예 2. 인삼잎 추출물의 제조

[0101] 2-1. 인삼잎 물 추출물의 제조

[0102] 인삼잎 분말 100g을 2L 플라스크에 넣고 1.5L 증류수를 가하여 80℃에서 2회 추출 후 추출액을 혼합하여 건조하여 인삼잎 물 추출물 40.7g을 얻었다.

[0103] 2-2. 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물의 제조

[0104] 인삼잎 분말 100g을 2L 플라스크에 넣고 1.5L 30%(v/v) 에탄올 수용액을 가하여 80℃에서 2회 추출후 추출액을 혼합하여 건조하여 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물 41.6g을 얻었다.

[0105] 2-3. 인삼잎 95%(v/v) 에탄올 추출물의 제조

[0106] 인삼잎 분말 100g을 2L 플라스크에 넣고 1.5L 95%(v/v) 에탄올 수용액을 가하여 80℃에서 2회 추출후 추출액을 혼합하여 건조하여 인삼잎 95%(v/v) 에탄올 추출물 34.07g을 얻었다.

[0107] 제조예 2의 정리:

[0108] 제조예 2에서 얻어진 각 추출물의 수율을 하기에 나타낸다.

표 2

[0109]

	인삼잎 물 추출물	인삼잎 30%(v/v) 에탄 올 추출물	인삼잎 95%(v/v) 에탄 올 추출물
추출량	40.7g	41.6g	34.07g
수율	40.7%	41.6%	34.0%

[0110] 제조예 3. 인삼열매 물 추출물의 제조

[0111] 3-1. 인삼열매 물 추출물의 제조

[0112] 인삼 열매 분말 100g을 2L 플라스크에 넣고 1.5L 증류수를 가하여 80℃에서 2회 추출 후 추출액을 혼합하여 건조하여 인삼 열매 물 추출물 60.0g을 얻었다.

[0113] 3-2. 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물의 제조

[0114] 인삼 열매 분말 100g을 2L 플라스크에 넣고 1.5L 30%(v/v) 에탄올 수용액을 가하여 80℃에서 2회 추출후 추출액을 혼합하여 건조하여 인삼 열매 30%(v/v) 에탄올 추출물 64.2g을 얻었다.

[0115] 3-3. 인삼열매 95%(v/v) 에탄올 추출물의 제조

[0116] 인삼 열매 분말 100g을 2L 플라스크에 넣고 1.5L 95%(v/v) 에탄올 수용액을 가하여 80℃에서 2회 추출후 추출액을 혼합하여 건조하여 인삼 열매 95%(v/v) 에탄올 추출물 43.6g을 얻었다.

[0117] 제조예 3의 정리:

[0118] 제조예 3에서 얻어진 각 추출물의 수율을 하기에 나타낸다.

표 3

	인삼 열매 물 추출물	인삼 열매 30%(v/v) 에탄올 추출물	인삼 열매 95%(v/v) 에탄올 추출물
추출량	60.0g	64.2g	43.6g
수율	60.0%	64.2%	43.6%

제조예 4. 홍삼 유래 추출물의 제조

4-1. 홍삼 물 추출물의 제조

6년근 홍삼(*P. ginseng* C.A. Meyer, 뿌리 75%, 잔미 25%) 500g을 원적외선 건조기((주)한국에너지기술, HKD-LAB)를 이용하여 110℃에서 15분간 건조 후 절각하였다. 건조된 홍삼 500g에 6배의 증류수를 가해 85℃에서 10시간 추출하고 추출액을 여과하여 0~10℃로 냉각하였다. 잔사에 대해서는 6배의 증류수를 가해 10시간 추출을 1~4회 추가로 실시하여 추출액을 여과 후 모두 합하여 0~10℃로 냉각하였다. 냉각이 완료된 추출액을 4℃에서 10~20분 동안 6,000rpm으로 원심분리((주)한일사이메드, Supra 22K)하여 침전물을 제거하고 회전감압농축기(BUCHI, R-220)를 이용하여 50~60℃에서 71° Brix가 되도록 농축하였다. 최종적으로 농축액에 멸균된 증류수를 가해 15° Brix로 희석 후 동결건조(OPERON, FDT-12012)하여 홍삼 추출물 분말 230g을 수득하였다.

4-2. 홍삼 물 추출물의 컬럼 분획물의 제조

HP20 25L를 컬럼에 패킹하여 증류수로 씻어준 후, 제조예 4-1에서 수득한 홍삼 물 추출물 2kg을 증류수 5L에 녹여 컬럼에 넣어준 후 30분간 정치하였다. 증류수 55L를 가하여 용출되어 나오는 용액과 30%(v/v) 에탄올 수용액을 20L 가하여 나오는 용액을 혼합하여 컬럼 물 분획물을 제조하였다. 컬럼 물 분획물을 수득한 후에, 컬럼에 추가로 100%(v/v) 에탄올 수용액을 20L 가하고 용해되어 나오는 분획을 혼합하여 컬럼 에탄올 분획물을 제조하였다. 하기에 분획량과 수율을 나타낸다.

표 4

	컬럼 물 분획물	컬럼 에탄올 분획물
분획량	1100g	130g
수율	55%	6.5%

4-3. 홍삼 다당체 및 이의 효소반응물의 제조

홍삼분 100 g을 1L의 증류수에 녹인 후, 3시간 동안 70rpm으로 교반하였다. 교반이 완료된 용액을 600 rpm으로 30분 동안 원심분리하여 상층액만을 분리하였다. 상층액에 3배의 에탄올(95% 발효주정, 대정화금)을 가해 -3℃에서 12시간 동안 냉침하였다. 12시간 후에 600 rpm으로 30분 동안 원심분리하여 1차 침전물을 얻었다. 1차 침전물을 1L 증류수에 녹인 후, 3배의 에탄올을 가해 냉침을 반복하여 얻어진 침전물을 동결건조하여 홍삼 다당체를 제조하였다.

홍삼 다당체 분말 2g을 100ml 증류수에 녹인 용액에 α-아밀라제 300 μl, 아밀로글루코시다제 100 μl를 넣어 50℃에서 하룻밤 동안 효소 반응시켰다. 반응을 종료하기 위해 100℃에서 30분 반응 후 3배의 에탄올을 가하여 냉침 후 침전물을 동결건조하여 홍삼 다당체의 효소반응물을 제조하였다.

4-4. 홍삼 토출액 및 증삼액의 제조

홍삼 토출액은 홍삼 추출액의 침전물이며, 전분질과 홍삼 추출액으로 이루진 액체이며, 증삼액은 인삼을 자숙할 때 인삼의 표면에 맺혔다 떨어지는 액체이다. 구체적으로, 홍삼 토출액은 하기와 같이 제조된다.

6년근 홍삼(*P. ginseng* C.A. Meyer, 뿌리 75%, 잔미 25%) 10kg을 원적외선 건조기((주)한국에너지기술, HKD-LAB)를 이용하여 110℃에서 17분간 건조 후 절각하였다. 건조된 홍삼에 6배의 증류수를 가해 85℃에서 10시간 추출하고 추출액을 여과하여 0~10℃로 냉각하였다. 잔사에 대해서는 6배의 증류수를 가해 10시간 추출을 1~4회 추가로 실시하여 추출액을 여과 후 모두 합하여 0~10℃로 냉각하였다. 냉각이 완료된 추출액을 4℃에서 10~20분 동안 5,000~8,000rpm으로 원심분리((주)한일사이메드, Supra 22K)하여 침전물(토출액)을 회수 후 동결건조(OPERON, FDT-12012)하여 토출액 분말(100g, 1.0%)을 수득하였다.

[0132] **제조예 5. 인삼 유래 추출물의 분획물 제조**

[0133] **5-1. 분획물 1의 제조 - 1차 분획**

[0134] 제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물, 제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물, 제조예 3-1의 인삼열매 물 추출물, 제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물, 제조예 4-2의 홍삼 물 추출물의 컬럼 에탄올 분획물을 원료로 하였다.

[0135] 원료를 각각 200g씩 5% NaOH (99%, Merck) 수용액 5L에 녹인 후 n-BuOH (99.0%, 대정화금) 5L를 가하여 3시간 동안 70rpm으로 교반한 후 1시간 방치하였다. 층 분리 후 BuOH 분획만을 분리하여 회전감압농축기(BUCHI, R-220)를 이용하여 농축 후 FDT-12012(Operon)로 동결 건조하여 분획물 1의 농축액 분말을 제조하였다. 하기에 분획물 1의 제조량과 제조 수율을 나타낸다.

표 5

분획시 사용된 원료	제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물	제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 3-1의 인삼열매 물 추출물	제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 4-2의 홍삼 물 추출물의 컬럼 에탄올 분획물
시료명	분획물 1-1	분획물 1-2	분획물 1-3	분획물 1-4	분획물 1-5
분획량	22.1g	41.2g	14.1g	19.7g	3.2g
수율	11.1%	20.6%	7.1%	9.8%	1.6%

[0137] **5-2. 분획물 2의 제조 - 2차 분획**

[0138] 제조예 5-1에서 분획물 1 제조시 분획물 1을 분리하고, 남은 층인 5% NaOH 분획에 1% 초산(99.7%, 대정화금) 350 ml를 가하여 중화시킨 후 BuOH 5L를 가하여 1시간 동안 200rpm으로 교반하였다. 층 분리가 되면 BuOH층을 회전감압농축기(BUCHI, R-220)를 이용하여 농축 후 FDT-12012(Operon)로 동결 건조하여 부탄올 분획물 2의 농축액 분말을 제조하였다. 하기에 부탄올 분획물 2의 제조량과 제조 수율을 나타낸다.

표 6

1차 분획시 사용된 원료	제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물	제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 3-1의 인삼열매 물 추출물	제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 4-2의 홍삼 물 추출물의 컬럼 에탄올 분획물
시료명	분획물 2-1	분획물 2-2	분획물 2-3	분획물 2-4	분획물 2-5
분획량	22.3g	33.8g	26.0g	39.0g	2.0g
수율	11.2%	16.9%	13.0%	19.5%	1.0%

[0140] **5-3. 분획물 3의 제조 - 3차 분획**

[0141] 제조예 5-2에서 분획물 2를 제조할 때 층 분리된 물층(제조예 5-2에서 부탄올 첨가 후 부탄올 분획만을 수득하고 남은 부분)을 회전감압농축기(BUCHI, R-220)를 이용하여 농축 후 FDT-12012(Operon)로 동결 건조하여 분획물 3의 농축액 분말을 제조하였다. 하기에 분획물 3의 제조량과 제조 수율을 나타낸다.

표 7

1차 분획시 사용된 원료	제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물	제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 3-1의 인삼열매 물 추출물	제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 4-2의 홍삼 물 추출물의 컬럼 에탄올 분획물
시료명	분획물 3-1	분획물 3-2	분획물 3-3	분획물 3-4	분획물 3-5
분획량	79.6g	71.4g	125.0g	135.0g	154g
수율	39.8%	35.7%	62.5%	67.5%	77.0%

[0143] **5-4. 분획물 4의 제조 - 4차 분획**

[0144] 제조예 5-1에서 각 추출물로부터 수득된 분획물 1들을 원료로 하였다. 각 원료를 200ml 1% 초산 수용액(99.7%, 대정화금)에 녹인 후 5시간 동안 환류(reflux)하여 가수분해시켰다. 5시간 후 NaOH 포화수용액(99%, Merck) 1ml을 넣어서 반응을 종결하고, BuOH 200ml을 가하여 교반 후 층분리시켰다. BuOH층을 농축한 후 동결 건조하여 분

획물 4의 농축액 분말을 제조하였다. 하기에 분획물 4의 제조량과 제조 수율을 나타낸다.

표 8

분획시 사용된 원료	제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물 유래의 분획물 1-1	제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물 유래의 분획물 1-2	제조예 3-1의 인삼열매 물 추출물 유래의 분획물 1-3	제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물 유래의 분획물 1-4	제조예 4-2의 홍삼물 추출물의 컬럼에탄올 분획물 유래의 분획물 1-5
시료명	분획물 4-1	분획물 4-2	분획물 4-3	분획물 4-4	분획물 4-5
분획량	9.0g	9.1g	9.1g	9.2g	9.2g
수율	90%	91%	91%	92%	92%

5-5. 분획물 5의 제조 - 5차 분획

제조예 5-2에서 각 추출물로부터 수득된 분획물 2들을 원료로 하였다. 각 원료를 200ml 1% 초산 수용액(99.7%, 대정화금)에 녹인 후 5시간 동안 환류(reflux)하여 가수분해시켰다. 5시간 후 NaOH 포화수용액(99%, Merck) 1ml을 넣어서 반응을 종결하고, BuOH 200ml을 가하여 교반 후 층분리시켰다. BuOH층을 농축한 후 동결 건조하여 분획물 5의 농축액 분말을 제조하였다. 하기에 분획물 5의 제조량과 제조 수율을 나타낸다.

표 9

분획시 사용된 원료	제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물 유래의 분획물 2-1	제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물 유래의 분획물 2-2	제조예 3-1의 인삼열매 물 추출물 유래의 분획물 2-3	제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물 유래의 분획물 2-4	제조예 4-2의 홍삼물 추출물의 컬럼에탄올 분획물 유래의 분획물 2-5
시료명	분획물 5-1	분획물 5-2	분획물 5-3	분획물 5-4	분획물 5-5
분획량	9.2g	9.1g	9.1g	9.1g	9.3g
수율	92%	91%	91%	91%	93%

5-6. 홍삼 물 추출물의 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 제조

제조예 4-2에서 얻어진 컬럼 물 분획물을 0%(v/v)(증류수), 25%(v/v), 50%(v/v), 75%(v/v), 80%(v/v), 85%(v/v), 90%(v/v), 95%(v/v) 에탄올 수용액으로 추가 분획하였다.

구체적으로, 컬럼 물 분획물 분말 100g을 95%(v/v) 에탄올 수용액 (95% 발효주정, 대정화금) 500 ml을 넣어 1시간 교반 후, 600rpm으로 30분 동안 원심분리하여 상층액을 분리하여 농축한 후 동결건조하여 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-1을 제조하였다. 동일한 제조법으로 컬럼 물 분획물 분말을 원료로 하되, 용매를 변경하여 분획물을 제조하였다. 용매 90%(v/v) 에탄올 수용액에 용해되어 얻어진 분획물을 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-2, 85%(v/v) 에탄올 수용액에 용해되어 얻어진 분획물을 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-3, 80%(v/v) 에탄올 수용액에 용해되어 얻어진 분획물을 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-4, 70%(v/v) 에탄올 수용액에 용해되어 얻어진 분획물을 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-5, 50%(v/v) 에탄올 수용액에 용해되어 얻어진 분획물을 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-6, 25%(v/v) 에탄올 수용액에 용해되어 얻어진 분획물을 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-7, 100% 증류수의 용해된 분획물을 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-8로 제조하였다. 하기에 각 분획물의 분획량과 수율을 나타낸다.

표 10

시료명	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-1	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-2	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-3	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-4	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-5	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-6	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-7	컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-8
분획량	0.3 g	6.4 g	13.2 g	10.7 g	8.8 g	16.6 g	20.0 g	17.1 g
수율	0.3 %	6.4 %	13.2 %	10.7 %	8.8 %	16.6 %	20.0 %	17.1 %

실험예 1. 알코올성 스트레스에 대한 간 보호 효과 확인

HepG2 세포를 24시간 배양한 후 알코올 처리를 하여 24시간 동안 배양하였다. 알코올을 처리하여 손상을 유도한 간세포의 경우 세포내 ALT 수치가 정상세포(100%)에 비해 48%로 감소된다. 알코올을 처리하여 손상을 유도한

간세포에 제조예 1 내지 제조예 5에서 얻어진 효소 반응물 또는 인삼 유래 추출물의 분획물을 각각 200 ug/ml 농도로 처리하여 24시간 배양하였으며, ALT assay kit를 이용하여 세포 내의 ALT를 측정하였다. ALT 값이 48% 이상으로 나타나면 처리된 시료에 의하여 간 보호 효과가 나타난 것으로 보았다. 하기에 각 시료별로 세포내 ALT 활성도를 나타낸다.

[0155] 1-1. 인삼잎 유래 효소반응물 또는 추출물의 간보호 효과 확인

[0156] 인삼잎 유래의 효소 반응물과, 추출물의 간 보호 효과를 확인하였다.

표 11

시료	제조예 1-1의 인삼잎 효소 반응물	제조예 2-1의 인삼잎 물추출물	제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 2-3의 인삼잎 95%(v/v) 에탄올 추출물
활성(%)	83	62	70	71

[0158] 표 11에 나타낸 바와 같이, 제조예 1-1의 인삼잎 효소 반응물이 ALT 활성이 높아서 간 보호 효과가 높은 것을 알 수 있다. 제조예 2-1 내지 2-3의 경우와 같이 인삼잎을 물 또는 에탄올로 추출한 경우에도 알코올로 손상된 간세포에 비해서 ALT 수치가 회복되어 간 보호 효과가 있는 것으로 나타났다.

[0159] 1-2. 인삼잎 물 추출물의 분획물 1 내지 5의 간보호 효과 확인

[0160] 인삼잎 유래의 물 추출물, 이의 분획물의 간 보호 효과를 확인하였다.

표 12

시료	제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물	분획물 1-1	분획물 2-1	분획물 3-1	분획물 4-1	분획물 5-1
활성(%)	62	68	52	75	43	45

[0162] 표 12에 나타낸 바와 같이, 인삼잎 물 추출물의 간 보호 효과를 높이고자, 부탄올로 1차, 2차 분획하고, 산처리하여 분획하였으며, 분획 방법에 따라 간 보호 효과가 상이하었다. 부탄올로 1차 분획한 분획물 1-1, 1차 분획 시 분리된 물층을 다시 부탄올로 분획한 분획물 2-1, 2차 분획시 분리된 물층인 분획물 3-1의 경우 간 보호 효과가 있었다. 특히, 분획물 1-1 과 분획물 3-1이 분획시 사용되었던 원료인 제조예 2-1의 인삼잎 물 추출물의 간 보호 효과보다 우수한 것을 알 수 있었다.

[0163] 1-3. 인삼잎 에탄올 추출물의 분획물 1 내지 5의 간보호 효과 확인

[0164] 인삼잎 유래의 에탄올 추출물, 이의 분획물의 간 보호 효과를 확인하였다.

표 13

시료	제조예 2-2의 인삼잎 30%(v/v) 에탄올 추출물	분획물 1-2	분획물 2-2	분획물 3-2	분획물 4-2	분획물 5-2
활성(%)	71	59	70	49	50	80

[0166] 표 13에 나타낸 바와 같이, 인삼잎 에탄올 추출물의 간 보호 효과를 높이고자, 부탄올로 1차, 2차 분획하고, 산처리하여 분획한 결과, 분획물 모두에서 간 보호 효과가 나타났다. 분획 방법에 따라 간 보호 효과가 상이하었으며, 특히 1차 분획시 분리된 물층을 다시 부탄올로 분획한 분획물 2-2, 분획물 2-2를 산처리하여 얻어진 분획물 5-2의 경우 간 보호 효과가 우수하였다.

[0167] 1-4. 인삼열매 유래 효소반응물 또는 추출물의 간보호 효과 확인

[0168] 인삼열매 유래의 효소 반응물과, 추출물의 간 보호 효과를 확인하였다.

표 14

시료	제조예 1-2의 인삼열매 효소 반응물	제조예 3-1의 인삼열매 물추출물	제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물	제조예 3-3의 인삼열매 95%(v/v) 에탄올 추출 물
활성(%)	67	61	56	60

표 14에 나타난 바와 같이, 제조예 1-2의 인삼열매 효소 반응물이 ALT 활성이 높아서 간 보호 효과가 높은 것을 알 수 있다. 제조예 3-1 내지 3-3의 경우와 같이 인삼열매를 물 또는 에탄올로 추출한 경우에도 알코올로 손상된 간세포에 비해서 ALT 수치가 회복되어 간 보호 효과가 있는 것으로 나타났다.

1-5. 인삼열매 물 추출물의 분획물 1 내지 5의 간보호 효과 확인

인삼열매 물 추출물, 이의 분획물의 간보호 효과를 확인하였다.

표 15

시료	제조예 3-1의 인 삼열매 물 추출 물	분획물 1-3	분획물 2-3	분획물 3-3	분획물 4-3	분획물 5-3
활성(%)	61	65	42	91	70	64

표 15에 나타난 바와 같이, 인삼열매 물 추출물의 간 보호 효과를 높이하고자, 부탄올로 1차, 2차 분획하고, 산처리하여 분획하였으며, 분획 방법에 따라 간 보호 효과가 상이하였다. 분획물 1-3, 분획물 3-3, 분획물 4-3, 분획물 5-3의 경우 분획 과정을 통해서 분획시 사용하였던 원료인 제조예 3-1의 인삼열매 물 추출물에 비해서 간 보호 효과가 높아지는 것을 알 수 있다. 반면에, 부탄올 분획 후 남은 물층을 다시 부탄올로 분획한 분획물 2-3의 경우에는 간보호 효과가 낮았다.

1-6. 인삼열매 에탄올 추출물의 분획물 1 내지 5의 간보호 효과 확인

인삼열매 에탄올 추출물, 이의 분획물의 간보호 효과를 확인하였다.

표 16

시료	제조예 3-2의 인 삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물	분획물 1-4	분획물 2-4	분획물 3-4	분획물 4-4	분획물 5-4
활성(%)	56	82	65	58	54	49

표 16에 나타난 바와 같이, 인삼열매 에탄올 추출물의 간 보호 효과를 높이하고자, 부탄올로 1차, 2차 분획하고, 산처리하여 분획하였으며, 분획 방법에 따라 간 보호 효과가 상이하였다. 분획물 1-4, 2-4, 3-4, 4-4는 간 보호 효과가 있었으며, 분획물 1-4, 2-4, 3-4는 분획시 사용되었던 원료인 제조예 3-2의 인삼열매 30%(v/v) 에탄올 추출물에 비해서 간 보호 효과가 개선되었다. 특히, 분획물 1-4, 2-4의 경우에는 간 보호 효과가 우수하였다.

1-7. 홍삼 물 추출물의 분획물 1 내지 3의 간보호 효과 확인

홍삼 물 추출물, 이의 분획물의 간보호 효과를 확인하였다.

표 17

시료	홍삼 물 추 출물	홍삼 물 추출물 의 컬럼 물 분 획물	홍삼 물 추출물 의 컬럼 에탄올 분획물	분획물 1-5	분획물 2-5	분획물 3-5
활성(%)	64	41	28	26	29	70

표 17에 나타난 바와 같이, 홍삼 물 추출물의 간 보호 효과를 개선하고자, 부탄올로 1차, 2차 분획하였다. 분획 방법에 따라 간 보호 효과가 상이하였다. 홍삼 물 추출물의 컬럼 에탄올 분획물을 부탄올로 1차 분획하고, 남은 물층을 다시 부탄올로 2차 분획한 후, 부탄올 분획을 분리하고 남은 물층인 분획물 3-5의 경우 홍삼 물 추출물

보다 간 보호 효과가 개선되었다. 반면에, 홍삼 물 추출물에서 분획된 컬럼 물 분획물, 컬럼 에탄올 분획물, 부탄올 1차 분획으로 얻어진 부탄올 분획인 분획물 1-5와, 분획물 1-5를 제외한 남은 물층인 분획물 2-5의 경우에는 간 보호 효과가 낮은 것으로 나타났다.

[0183] 1-7. 홍삼 물 추출물의 컬럼 물 분획물의 간보호 효과 확인

[0184] 제조예 5-6에서 얻어진 홍삼 물 추출물의 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물의 간 보호 효과를 확인하였다. 하기 표의 분획물 6-1 내지 6-8은 컬럼 물 분획물의 에탄올 분획물 6-1 내지 6-8을 나타낸다.

표 18

시료	홍삼 추출물의 컬럼 물 분획물	분획물 6-1	분획물 6-2	분획물 6-3	분획물 6-4	분획물 6-5	분획물 6-6	분획물 6-7	분획물 6-8
분획시 사용한 에탄올 수용액 농도	-	95%(v/v) 에탄올 수용액	90%(v/v) 에탄올 수용액	85%(v/v) 에탄올 수용액	80% (v/v) 에탄올 수용액	75%(v/v) 에탄올 수용액	50%(v/v) 에탄올 수용액	25%(v/v) 에탄올 수용액	0%(v/v) 에탄올 수용액
활성 (%)	41	41	32	25	26	110	90	87	77

[0186] 표 18에 나타낸 바와 같이, 홍삼 추출물의 컬럼 물 분획물을 용해도가 상이한 에탄올 수용액으로 분획하였을 때, 80%(v/v) 미만의 에탄올 수용액으로 분획하여 얻어진 분획물이 분획시 사용하였던 원료인 홍삼 물 추출물의 컬럼 물 분획물에 비해서 간 보호 효과가 현저히 개선되었다.

[0187] 1-8. 홍삼 유래물의 간보호 효과 확인

[0188] 제조예 4에서 얻어진, 홍삼 물 추출물, 홍삼 다당체, 홍삼 다당체의 효소반응물, 홍삼박의 효소 반응물, 홍삼 토출액, 증삼농축액의 간 보호 효과를 확인하였다.

표 19

시료	홍삼 물 추출물	홍삼다당체	홍삼다당체의 효소 반응물	홍삼박의 효소 반응물	토출액	증삼농축액
활성 (%)	64	76	69	82	65	60

[0190] 표 19에 나타낸 바와 같이, 홍삼 물 추출물을 비롯한 홍삼 유래물에 간 보호 효과가 있는 것을 알 수 있었다. 아울러, 홍삼 가공시 발생되는 부산물 유래의 홍삼 시럽, 토출액, 증삼농축액도 간 보호 효과가 있으므로, 폐기 되어 왔던 홍삼 부산물을 활용할 수 있는 것을 알 수 있다.

[0191] 제조예 6. 약학적 조성물의 제조

[0192] 6-1. 산제의 제조

[0193] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 2 g

[0194] 유당 1 g

[0195] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0196] 6-2. 정제의 제조

[0197] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 100 mg

[0198] 옥수수전분 100 mg

[0199] 유당 100 mg

[0200] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0201] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조 방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

- [0202] **6-3. 캡슐제의 제조**
- [0203] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 100 mg
- [0204] 옥수수전분 100 mg
- [0205] 유당 100 mg
- [0206] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0207] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- [0208] **6-4. 환의 제조**
- [0209] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 1 g
- [0210] 유당 1.5 g
- [0211] 글리세린 1 g
- [0212] 자일리톨 0.5 g
- [0213] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1환 당 4g이 되도록 제조하였다.
- [0214] **6-5. 과립의 제조**
- [0215] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 150 mg
- [0216] 대두추출물 50 mg
- [0217] 포도당 200 mg
- [0218] 전분 600 mg
- [0219] 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 섭씨 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.
- [0220] **제조예 7. 건강식품의 제조**
- [0221] **7-1. 밀가루 식품의 제조**
- [0222] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 0.5 ~ 5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하였다.
- [0223] **7-2. 스프 및 육즙(gravies)의 제조**
- [0224] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 0.1 ~ 5.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [0225] **7-3. 그라운드 비프(ground beef)의 제조**
- [0226] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- [0227] **7-4. 유제품(dairy products)의 제조**
- [0228] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 5~10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0229] **7-5. 선식의 제조**
- [0230] 현미, 보리, 찹쌀, 울무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0231] 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0232] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기

로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

[0233] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0234] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부), 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부), 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물(3 중량부), 영지(0.5 중량부), 지황(0.5 중량부)

[0235] **7-6. 건강음료의 제조**

[0236] 액상과당(0.5%), 올리고당(2%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%)과 같은 부재료와 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 5 g을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 제조하였다.

[0237] **7-7. 야채 주스의 제조**

[0238] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 5 g을 토마토 또는 당근 주스 1,000 ml에 가하여 야채 주스를 제조하였다.

[0239] **7-8. 과일 주스의 제조**

[0240] 본 발명의 인삼 추출물의 분획물 또는 인삼의 효소 반응물 1 g을 사과 또는 포도 주스 1,000 ml에 가하여 과일 주스를 제조하였다.