



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년11월21일
(11) 등록번호 10-1799770
(24) 등록일자 2017년11월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) A23L 33/125 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 33/125 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0061182
(22) 출원일자 2017년05월17일
심사청구일자 2017년05월17일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020100120614 A*
KR1020160138927 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
주식회사 장생도라지
경상남도 진주시 금곡면 정자천로15번길 5
(72) 발명자
정혜광
대전광역시 유성구 반석서로 98, 609동 1102호 (반석동, 반석마을6단지아파트)
김용안
대전광역시 유성구 엑스포로 448, 405동 803호(전민동, 엑스포 4단지 아파트)
(74) 대리인
특허법인 공간

전체 청구항 수 : 총 3 항

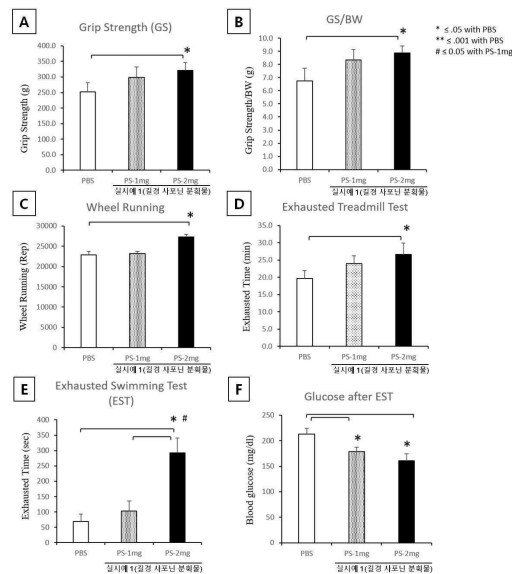
심사관 : 염금희

(54) 발명의 명칭 길경 사포닌 분획물을 포함하는 운동수행능력 증강용 조성물

(57) 요약

본 발명은 길경 사포닌 분획물을 포함하는 운동수행능력 증강용 조성물에 관한 것으로, 상기 길경 사포닌 분획물은 근력 및 지구력을 향상시키는 효과가 우수하므로 운동수행능력 증강용 건강기능식품으로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/316 (2013.01)

(72) 발명자

진순우

대전광역시 유성구 문화원로 119, 1동 707호(봉명동, 봉명시티빌)

정영철

경상남도 진주시 초장로14번길 27, 101동 1702호(초전동, 푸르지오아파트)

이영춘

경상남도 진주시 도동천로 120, 104동 901호(상대동, 상대한보아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0443713

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 충남대학교 산학협력단

연구사업명 중소기업청 기술개발사업 (도약)

연구과제명 길경 유래 사포닌을 이용한 근 기능 개선을 통한 운동수행능력 향상 소재개발 및 상품화

기 여 율 1/1

주관기관 (주) 장생도라지

연구기간 2016.11.01 ~ 2017.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

디아피-플라티코사이드 E(deapi-platycoside E), 플라티코사이드 E(platycoside E), 플라티코딘 D₃(platycodin D₃), 플라티콘산 A(platyconic acid A), 플라티코딘 D₂(platycodin D₂) 및 플라티코딘 D(platycodin D)를 20~50 중량%로 함유하는 길경 사포닌 분획물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 운동수행능력 증강용 건강 기능식품.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 길경 사포닌 분획물은

(1공정) 길경을 알코올 또는 알코올 수용액으로 추출하여 길경 추출물을 얻는 단계;

(2공정) 상기 1공정의 길경 추출물을 물에 현탁하고 이온교환 크로마토그래피에 가한 다음, 알코올 수용액으로 분획하여 1차 길경 조사포닌을 얻는 단계;

(3공정) 상기 1차 길경 조사포닌을 물에 현탁하고 역상 크로마토그래피에 가한 다음, 알코올 수용액으로 분획하여 2차 길경 조사포닌을 얻는 단계;

(4공정) 상기 2차 길경 조사포닌에 알코올을 더하고 여과한 다음, 여액에 에틸아세테이트를 더하고 재여과하여 3차 길경 조사포닌을 얻는 단계; 및

(5공정) 상기 3차 길경 조사포닌을 물에 현탁하고 역상 크로마토그래피에 가하여 알코올 수용액으로 분획한 다음, 농축 및 순상 크로마토그래피로 분획하여 길경 사포닌 분획물을 얻는 단계;

로 제조하는 것을 특징으로 하는 운동수행능력 증강용 건강기능식품.

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 운동수행능력 증강은 근력 또는 지구력을 향상시키는 것을 특징으로 하는 운동수행능력 증강용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 길경 사포닌 분획물을 포함하는 운동수행능력 증강용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 근력이란 근육이나 근조직이 발휘할 수 있는 최대의 힘을 의미하며, 운동수행능력은 이러한 근력을 이용하여 일상생활 또는 스포츠에서 수행되는 신체동작을 빠르게, 강하게, 오래, 능숙하게 할 수 있는 능력을 말한다. 선천적으로 신체에 장애가 있거나 병원에 장기간 누워있는 등의 후천적인 이유로 근육이 소실되었을 경우, 근력이 감소하여 운동수행능력이 줄어들게 되므로 운동수행능력을 증강시키는 것이 요구되며, 운동선수의 경우 경기력 향상을 위해 운동수행능력을 증강시키는 것이 요구된다.

[0003] 운동수행능력을 증강시키기 위한 방법으로서, 운동 종목에 따른 과학적인 훈련, 식이요법, 기술장비의 개선 및

운동능력 향상 보조제(ergogenic aids) 등이 사용되고 있다. 상기 방법 중, 운동능력 향상을 위한 기능성 보조제와 관련된 연구는 동서양을 막론하고 활발하게 수행되고 있다. 그러나, 서양에서 사용하는 운동능력 향상 보조제들은 카페인, 아나볼릭 스테로이드 등으로 대부분이 부작용을 갖고 있으며, 도핑의 위험성도 있다. 이에, 최근에는 안전성이 보장된 천연물을 이용하여 기능성 보조제를 개발하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있으나 아직 미비한 실정이므로, 운동수행능력을 효과적으로 증강시키면서도 부작용이 없는 보조제에 대한 연구가 요구된다.

[0004] 길경(*Platycodon grandiflorum*)은 초롱꽃과의 도라지의 뿌리 또는 주피를 제거하여 만든 약재로, 뿌리가 단단하고 곧기 때문에 길경이라는 이름이 붙여졌다. 한국, 일본, 중국 등 동아시아 등지에 많이 분포하고 있으며, 주된 성분으로는 사포닌(saponin) 계열이 잘 알려져 있다.

[0005] 길경 사포닌 성분으로서 플라티코디게닌(platycodigenin)의 배당체로 플라티코딘(platycodin) A, C, D, D2와 2종의 모노아세테이트 플라티코딘 D3, 디아피(deapi)-플라티코딘 D3가 보고되었으며, 폴리갈락산(polygalacic acid)의 배당체로 폴리갈라신(polygalacin) D와 2종의 모노아세테이트, 폴리갈라신 D2와 모노아세테이트가 있고, 플라티코젠산(platycogenic acid) A의 배당체로 메틸 플라티코네이트 A, 메틸-2-메톡시 플라티코네이트 A 등 10 여종의 트리테르펜 사포닌이 보고되었다. 그 외 아글리콘으로 플라티코젠산 B 및 C가 보고된 바 있다 (Ouyang et al., 2011).

[0006] 길경의 생리활성으로는 간경화 억제(Choi, J. H. et al., Food Chem Toxicol., 56, 231-239, 2013), 항비만 및 인슐린 저항성 완화(Lee, C. E. et al., Evid Based Complement Alternat Med., 2012, 759143, 2012), 알레르기성 아토피 피부염 억제(Choi, J. H. et al., Environ Toxicol Pharmacol. 33(3), 446-452, 2012), 항암 효과(Hong, S. H. et al., Journal of Life Science, 24(11), 1244-1251, 2014) 등이 보고되었다.

[0007] 한편, 천연물을 이용한 운동수행능력 증강과 관련된 선행문헌으로서, 한국등록특허 제10-1191081호에는 운동수행능력 증강 및 피로억제 효과를 갖는 겨우살이 추출물을 개시하였고, 한국등록특허 제10-1675064호에는 복합추출물을 함유하는 운동수행능력 증강 및 체력증진용 조성물을 개시하였고, 한국등록특허 제10-1120996호에는 진세노사이드 Rg3 및 Rg2를 포함하는 운동능력증진 및 피로회복 증진용 조성물이 개시된 바 있다. 또한, 길경에 대한 선행문헌으로서, 한국공개특허 제10-2016-0138927호에는 길경 추출물을 함유하는 근육 질환 예방 및 치료용 또는 근 기능 개선용 조성물이 개시되었으며, 한국등록특허 제10-1034596호에는 근력약화, 근위축, 구음장애, 연하장애의 증상을 개선, 지연시키기 위한 조성물을 개시하였으나, 본 발명과 같이 길경 사포닌 분획물이 운동수행능력 증강 효과가 있음을 확인한 이전 보고는 아직 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2016-0138927호, 길경 추출물을 함유하는 근육 질환 예방 및 치료용 또는 근 기능 개선용 조성물, 2016년 12월 06일, 공개.

(특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-1191081호, 운동수행능력 증강 및 피로억제 효과를 갖는 겨우살이 추출물, 2012년 10월 09일, 등록.

(특허문헌 0003) 한국등록특허 제10-1675064호, 복합추출물을 함유하는 운동수행능력 증강 및 체력증진용 조성물, 2016년 11월 04일, 등록.

(특허문헌 0004) 한국등록특허 제10-1120996호, 진세노사이드 Rg3 및 Rg2를 포함하는 운동능력증진 및 피로회복 증진용 조성물, 2012년 02월 21일, 등록.

(특허문헌 0005) 한국등록특허 제10-1034596호, 근력약화, 근위축, 구음장애, 연하장애의 증상을 개선, 지연시키기 위한 조성물, 2011년 05월 04일, 등록.

비특허문헌

[0009] (비특허문헌 0001) Azad, M. et al., Effect of acute and chronic eccentric exercise on FOXO1 mRNA expression as fiber type transition factor in rat skeletal muscles, Gene, 584(2), 180-184, 2016.

- (비특허문헌 0002) Choi, J. H. et al., Platycodi Radix suppresses development of atopic dermatitis-like skin lesions, Environ Toxicol Pharmacol. 33(3), 446-452, 2012.
- (비특허문헌 0003) Choi, J. H. et al., Platycodi Radix attenuates dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats by inducing Nrf2-mediated antioxidant enzymes, Food Chem Toxicol., 56, 231-239, 2013.
- (비특허문헌 0004) Hong, S. H. et al., Effects of Platycodon grandiflorum on the Induction of Autophagy and Apoptosis in HCT-116 Human Colon Cancer Cells, Journal of Life Science, 24(11), 1244-1251, 2014.
- (비특허문헌 0005) Koh, T. J., Physiology and mechanisms of skeletal muscle damage, Skeletal Muscle Damage and Repair, 3-12, 2008.
- (비특허문헌 0006) Lee, C. E. et al., Long-Term Consumption of Platycodi Radix Ameliorates Obesity and Insulin Resistance via the Activation of AMPK Pathways, Evid Based Complement Alternat Med., 2012, 759143, 2012.
- (비특허문헌 0007) Lin, H. F. et al., Panax ginseng and salvia miltiorrhiza supplementation abolishes eccentric exercise-induced vascular stiffening: a double blind randomized control trail, BMC Complement Altern Med., 16, 168, 2016.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 길경 사포닌 분획물을 포함하는 운동수행능력 증강용 건강기능식품을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 길경 사포닌 분획물을 유효성분으로 포함하는 운동수행능력 증강용 건강기능식품에 관한 것이다.

[0012] 상기 길경 사포닌 분획물은,

[0013] (1공정) 길경을 알코올 또는 알코올 수용액으로 추출하여 길경 추출물을 얻는 단계;

[0014] (2공정) 상기 1공정의 길경 추출물을 물에 현탁하고 이온교환 크로마토그래피에 가한 다음, 알코올 수용액으로 분획하여 1차 길경 조사포닌을 얻는 단계;

[0015] (3공정) 상기 1차 길경 조사포닌을 물에 현탁하고 역상 크로마토그래피에 가한 다음, 알코올 수용액으로 분획하여 2차 길경 조사포닌을 얻는 단계;

[0016] (4공정) 상기 2차 길경 조사포닌에 알코올을 더하고 여과한 다음, 여액에 에틸아세테이트를 더하고 재여과하여 3차 길경 조사포닌을 얻는 단계; 및

[0017] (5공정) 상기 3차 길경 조사포닌을 물에 현탁하고 역상 크로마토그래피에 가하여 알코올 수용액으로 분획한 다음, 농축 및 순상 크로마토그래피로 분획하여 길경 사포닌 분획물을 얻는 단계; 로 제조한다.

[0018] 상기 길경 사포닌 분획물의 제조공정에서 사용되는 알코올로는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 등을 이용할 수 있으며, 상기 크로마토그래피는 이온교환 크로마토그래피(ion exchange chromatography), 역상 크로마토그래피(reversed phase chromatography), 순상 크로마토그래피(normal phase chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC) 등을 이용할 수 있다.

[0019] 상기 이온교환 크로마토그래피는 이온교환수지가 충전 되어 있는 컬럼 크로마토그래피로, 상기 이온교환수지는 디아이온 HP-20(diaion HP-20), SP825, AXT204, XAD1600T, MN200, SP70, SP710 등에서 선택하여 사용할 수 있고, 바람직하게는 디아이온 HP-20이다.

[0020] 또한, 상기 1공정에서, 추출물의 추출시간은 특별히 제한되는 것은 아니며, 추출용 기기로는 통상의 추출기기,

초음파분쇄추출기 또는 분획기를 이용할 수 있다.

[0021] 상기 4공정은 불필요한 고형분을 제거하기 위하여 에틸아세테이트를 더하고 침전한 다음 상층액만 얻은 후 재여과하는 단계를 포함하며, 상기 여과시 먼, 나일론 등을 이용하여 입자를 걸러 내거나 한외여과, 냉동여과법, 원심분리법 등을 사용하는 것도 가능하며, 여과에 이용되는 공지의 방법을 단독 또는 적합하게 조합한 방법을 이용할 수 있다.

[0022] 상기 과정을 통해 얻은 길경 사포닌 분획물은, 디아피-플라티코사이드 E(deapi-platycoside E), 플라티코사이드 E(platycoside E), 플라티코딘 D₃(platycodin D₃), 플라티콘산 A(platyconic acid A), 플라티코딘 D₂(platycodin D₂) 및 플라티코딘 D(platycodin D)을 20~50중량%로 함유하며, 바람직하게는 25~35중량%를 함유한다. 그러나, 상기 범위를 벗어나서 디아피-플라티코사이드 E, 플라티코사이드 E, 플라티코딘 D₃, 플라티콘산 A, 플라티코딘 D₂ 및 플라티코딘 D이 20중량% 미만으로 포함되는 경우, 근력 및 지구력을 향상시키는 운동수행능력의 증강 효과가 현저하게 낮아 바람직하지 않고, 50중량%를 초과하는 경우에는 제조비용 대비 운동수행능력이 증강되는 효과 상승 폭이 크지 않아, 경제적이지 않으므로 바람직하지 않다.

[0023] 또한, 이때 상기 디아피-플라티코사이드 E는 5~15중량%, 플라티코사이드 E는 15~30중량%, 플라티코딘 D₃는 10~20중량%, 플라티콘산 A는 10~20중량%, 플라티코딘 D₂는 5~15중량% 및 플라티코딘 D는 20~40중량%가 혼합되어, 길경 사포닌 분획물에 20~50중량%로 포함된다.

[0024] 상기 운동수행능력 증강은 근력 또는 지구력을 향상시키는 것을 특징으로 한다.

[0025] 본 발명은 길경 사포닌 분획물을 포함하는 운동수행능력 증강용 건강기능식품을 제공하며, 상기 건강기능식품은 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 또는 가공한 식품을 지칭하는 것으로, 예를 들어 건강보조식품, 기능성 식품, 영양제, 보조제 등을 모두 포함한다.

[0026] 또한, 본 발명의 건강기능식품은 건강기능식품법 상으로 허용하는 부형제와 섞어 산제, 정제, 캡슐제, 환제, 과립제, 분말, 액제 등의 형태를 포함할 수 있으며, 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제가 첨가될 수 있다. 상기 분획물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다. 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 0.01~0.04g, 바람직하게는 약 0.02~0.03g이다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그밖에 본 발명의 건강기능식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강기능식품 100 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

발명의 효과

[0027] 본 발명은 길경 사포닌 분획물을 포함하는 운동수행능력 증강용 조성물에 관한 것으로, 상기 길경 사포닌 분획물은 근력 및 지구력을 향상시키는 효과가 우수하므로 운동수행능력 증강용 건강기능식품으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 본 발명 실시예 1에 대한 기능성분을 HPLC로 분석하여 나타낸 결과이다.

도 2는 본 발명 실시예 1을 4주 동안 경구 투여 한 마우스의 악력(도 2A), 체중 당 악력(도 2B), 휠 런닝(도 2C), 탈진 트레드밀 운동(도 2D), 탈진 수영 운동(도 2E) 및 탈진 수영 운동 후의 혈당 수치(도 2F)를 측정한 결과이다.

도 3은 본 발명 실시예 1을 4주 동안 경구 투여 한 마우스의 PAX7(도 3A), SDH(도 3B) 및 myostatin(도 3C)의 단백질 발현량을 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

<실시예 1. 길경 사포닌 분획물의 제조>

사포닌의 손실을 최소화하기 위해서 흐르는 물에 가볍게 세척하고 분쇄한 길경((주) 장생도라지) 6kg에 70%(v/v) 에탄올 수용액 60ℓ를 더하여 일주간 상온에서 정치시킨 다음 여과지로 여과하였다. 상기 과정에서 획득한 길경 70% 에탄올 수용액 추출물을 감압농축 한 후 물에 현탁시키고, 이온교환 컬럼 크로마토그래피(Diaion HP-20 resin 사용)에 흡착시켰다. 이후, 물로 충분히 씻어 당 화합물과 아미노산류들을 제거시킨 다음, 흡착되어 있는 사포닌성분과 기타물질들을 90%(v/v) 에탄올 수용액으로 용출시킴으로써 순도 60~80%의 1차 길경 조사포닌(crude-saponins) 1,257g을 얻었다.

상기 과정에서 얻어진 1차 길경 조사포닌을 정제수 12ℓ에 현탁하고 역상 컬럼 크로마토그래피(C18-resin)에 흡착시킨 다음, 물과 3%(v/v) 아세트니트릴 수용액 60ℓ로 충분히 씻어 당 화합물과 아미노산류들을 제거하였다. 이후, 흡착되어 있는 사포닌성분과 기타 물질들을 90%(v/v) 메탄올 수용액으로 용출시켜 순도 90% 이상의 2차 길경 조사포닌 143.3g을 얻었다. 상기 2차 길경 조사포닌을 에탄올 1.5ℓ에 녹인 후 여과지로 여과하여 얻은 여액에 에틸아세테이트 15ℓ를 더하고 교반하였다. 교반 후, 정치하여 고형분이 석출되기를 기다린 다음, 다시 재여과하여 3차 길경 조사포닌 135.75g을 얻었다.

상기 3차 길경 조사포닌을 증류수로 현탁하고 역상 크로마토그래피에 흡착시킨 후, 40%(v/v) 메탄올 수용액, 50%(v/v) 메탄올 수용액, 60%(v/v) 메탄올 수용액, 70%(v/v) 메탄올 수용액 및 80%(v/v) 메탄올 수용액의 각 용매를 10ℓ씩 사용하여 용출시켰다. 상기 과정에서 얻어진 메탄올 수용액 농도별 분획물을 농축하고 건조시킨 후 순상 크로마토그래피(silica)를 이용하여 분획하고 그 분획물을 수득함으로써 본 발명 실시예 1의 길경 사포닌 분획물을 얻었다.

상기 실시예 1의 기능성분을 HPLC로 분석한 결과를 표 1 및 도 1에 나타내었으며, 또한, 하기 비교예 1의 과정으로 제조된 길경 열수 추출물의 기능성분을 표 1에 나타내었다.

표 1

조건	DPE	PE	PD ₃	PA	PD ₂	PD	6 saponins
실시예 1	31.51 ^a ±0.02 ^b	72.90 ±0.02	43.81 ±0.04	37.88 ±0.07	33.56 ±0.06	88.76 ±0.06	308.41 ±0.12
비교예 1	1.05 ^a ±0.01 ^b	2.41 ±0.01	1.00 ±0.01	1.08 ±0.03	0.87 ±0.00	1.31 ±0.00	7.73 ±0.05
DPE : deapioplatycoside E, PE : platycoside E, PD ₃ : platycodin D ₃ , PA : platyconic acid A, PD ₂ : platycodin D ₂ , PD : platycodin D ^a : unit of mg/g, ^b : standard deviation(n=3)							

상기 표 1을 참고하면, 본 발명의 길경 사포닌 분획물인 실시예 1은 상기 6가지 사포닌의 함량이 308.41mg/g로 확인되었으나, 길경 열수 추출물인 비교예 1은 상기 6가지 사포닌의 함량이 7.73mg/g로 확인되었다. 또한, 상기 표 1에는 나타내지 않았으나, 비교예 2의 길경 알코올 추출물의 경우에는 상기 6가지 사포닌의 함량이 15mg/g내외로 확인되어, 본 발명의 길경 사포닌 분획물인 실시예 1은 기능성분의 함량이 다량 함유됨을 확인할 수 있었다.

<비교예 1. 길경 열수 추출물의 제조>

사포닌의 손실을 최소화하기 위해서 흐르는 물에 가볍게 세척하고 분쇄한 길경((주) 장생도라지) 6kg에 정제수

90 ℓ 를 더하여 80℃에서 6시간 동안 추출한 후 여과하여 길경 열수 추출물인 비교예 1을 얻었다.

[0039] <비교예 2. 길경 알코올 추출물의 제조>

[0040] 사포닌의 손실을 최소화하기 위해서 흐르는 물에 가볍게 세척하고 분쇄한 길경((주) 장생도라지) 6kg에 70%(v/v) 에탄올 수용액 60 ℓ 를 더하여 일주간 상온에서 정치시킨 다음 여과지로 여과하고, 농축하여 길경 70% 에탄올 수용액 추출물인 비교예 2를 얻었다.

[0041] <실험예 1. 운동수행능력평가>

[0042] 충남대학교 동물실험윤리위원회의 승인(CNU-00684) 하에, 6주령의 ICR 마우스 수컷(중앙실험동물㈜)을 온도 23 ±2℃ 및 습도 50±10%의 조건에서 일주일간 순화 하였으며, 사료 및 수분공급은 자유 급식하였고, 총 4주 동안 진행하였다.

[0043] 길경 사포닌 분획물 투여에 따른 운동수행능력의 변화를 측정하기 위하여, 먼저, 상기 과정에서 순화된 마우스를 무작위로 선택한 다음, 실시예 1의 길경 사포닌 분획물(1, 2mg/kg/day) 또는 생리식염수(대조군)를 4주 동안 경구 투여하였으며, 이때 각 군은 8마리로 하였다.

[0044] 이후, 각 마우스에 대한 운동수행능력 변화를 근력 및 지구력으로 구분하여, 하기 실험예 1-1 내지 1-3과 같이, 최대 힘의 발휘를 평가하기 위한 근력 측정으로서 악력 평가를 실시하였고, 지속적인 근력 유지능력을 평가하기 위한 지구력 측정으로서 휠 런닝, 탈진 트레드밀 운동 및 탈진 수영 운동을 평가하여, 길경 사포닌 분획물 투여에 따른 운동수행능력 변화를 확인하였다.

[0045] 실험예 1-1. 근력 평가-악력 측정

[0046] 근력을 평가하기 위해, 마우스가 악력 시험 장치를 잡게 한 후 마우스의 꼬리를 잡고 뒤로 잡아당길 때 나타나는 앞발과 뒷발의 최대 악력을 측정하였다. 악력은 4회 반복 측정한 후 최대값을 사용하였으며, 이를 도 2A 및 2B에 나타내었다.

[0047] 도 2A 및 2B를 참고하면, 본 발명의 실시예 1을 4주 동안 경구 투여하는 경우, 악력 및 체중 당 악력이 농도 의존적으로 증가하여, 근력을 증가시키는데 유용한 조성물임을 확인할 수 있었다.

[0048] 실험예 1-2. 지구력 평가-휠 런닝(wheel running), 탈진 트레드밀 운동 및 탈진 수영 운동 측정

[0049] 지구력을 평가하기 위해, 휠 런닝, 탈진 트레드밀 운동 및 탈진 수영 운동을 실시하였으며, 먼저, 휠 런닝을 측정하기 위해 Wheel system(자체 제작, 지름 34cm, 둘레 109.9cm)을 사용하였다. 휠 런닝은 마우스의 야행성을 고려하여 18:00~10:00(16시간)동안 적용하였고, 각 그룹별로 하루당 한 마리씩 테스트를 실시하여 도 2C에 나타내었다.

[0050] 다음으로, 탈진 트레드밀 운동은 트레드밀(자체제작)을 이용하여, 16°의 경사도에서 16.67m/min의 속도로 3분간 적응 시킨 뒤, 3분 간격으로 1.67m/min씩 속도를 올려, 각 그룹별 마우스에 대한 운동능력을 도 2D에 나타내었다.

[0051] 탈진 수영 운동은 지름 17cm, 높이 27cm 규격의 물통을 사용하며, 물의 온도는 27℃로 유지하였고, 수면의 높이는 20cm로 마우스의 꼬리가 물통 바닥에 닿지 않을 정도로 하였다. 강제 수영의 운동 강도를 높이기 위하여 마우스 몸무게의 10%에 해당하는 추를 꼬리에 매달아 테스트를 실시한 후, 이에 대한 결과를 도 2E에 나타내었다.

[0052] 도 2C 내지 2E의 결과를 참고하면, 본 발명의 실시예 1을 마우스에 4주 동안 경구 투여하는 경우, 휠 런닝, 탈진 트레드밀 운동 및 탈진 수영 운동을 지속하는 능력이 대조군(무처리군)에 비해 모두 증가한 것임을 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명의 길경 사포닌 분획물을 투여하는 경우 근력 및 지구력을 향상시키는 효과가 우수하므로, 운동수행능력 증강용 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

[0053] 실험예 1-3. 탈진 수영 운동 후 혈당 확인

[0054] 상기 실험예 1-2의 탈진 수영 운동 종료 직후, 마우스 꼬리에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하고 이를 도 2F에 나타내었다.

[0055] 도 2F를 참고하면, 길경 사포닌 분획물을 투여한 마우스의 경우, 혈당량이 농도 의존적으로 감소하였는데, 이는 탈진까지 유도된 근육 운동, 즉, 장시간의 근육 운동을 유지하기 위한 에너지원으로써 혈중 포도당을 효율적으로 사용하였기 때문이다. 반면, 상기 도 2F에는 나타내지 않았으나, 비교예 2의 길경 알코올 추출물을 4주 동안

경구 투여하는 경우, 본 발명의 실시예 1과는 다르게, 대조군과 유사한 수치의 혈당량을 나타내었다.

[0056] 따라서, 이러한 결과로부터 본 발명의 길경 사포닌 분획물을 사용하는 것이 장시간의 운동을 유지할 수 있는 에너지 대사 능력을 증가시키는데 우수한 조성물임을 알 수 있었다.

[0057] **<실험예 2. 운동수행능력 향상 관련 바이오마커의 확인-PAX7, SDH 및 myostatin>**

[0058] 운동수행능력 향상과 관련된 바이오마커 중 PAX7(paired box protein 7)은 골격근의 줄기세포활성 인자로서, 활성화되면 골격근의 재생을 조절하며, 운동에 의해 증가하는 것으로 알려져 있다. 또한, SDH(succinate dehydrogenase)는 숙신산의 탈수소반응에 의하여 푸마르산 생성 반응을 촉매하는 효소로 미토콘드리아의 전자전달계 또는 시트르산회로에 존재하며, 장기간의 유산소 운동에 의해 증가하는 것으로 알려져 있다. Myostatin은 골격근에서 분비되는 대표적인 마이오카인(myokine)으로, 골격근 성장에 반대로 작용하는 것으로 알려졌다. 이에, 웨스턴 블롯을 통해 PAX7, SDH 및 myostatin의 단백질 발현량을 측정하여 운동수행능력 향상 여부를 확인하였다.

[0059] 먼저, 실시예 1의 길경 사포닌 분획물(1, 2mg/kg/day) 또는 대조군(PBS 처리군)을 4주 동안 경구 투여한 동물의 근육 및 세포를 파쇄하여 단백질을 추출하였다. 이후, 60 μ g의 단백질을 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)에서 분리시킨후, PVDF 멤브레인으로 이동시켰다. 상기 PVDF 멤브레인에 5% skim milk를 더하여 1시간 동안 블로킹한 다음, 4 $^{\circ}$ C에서 12시간 이상 1차 항체(PAX7 : Cell Signaling Technology, Inc., SDH : Santa Cruz Biotechnology, Inc., Myostatin : RND, Inc.)를 처리하였다. 이후, 상온에서 3시간 동안 2차 항체(rabbit polyclonal : Cell Signaling Technology, Inc.)로 반응시킨 후, 웨스턴 블롯 전용키트(chemiluminescence kit, BioFact)를 사용하여 단백질이 전이된 멤브레인의 분석을 실시하고, 이를 도 3에 나타내었다.

[0060] 도 3의 결과를 참고하면, 길경 사포닌 분획물을 처리하는 경우, PAX7 및 SDH의 단백질 발현량은 대조군(무처리군)에 비해 농도 의존적으로 증가하였으며, myostatin의 단백질 발현량은 농도 의존적으로 감소하여, 운동 지속 효과가 증가하는 조성물임을 알 수 있었다.

[0061] **<제제예 1. 산제의 제조>**

[0062] 본 발명의 실시예 1(길경 사포닌 분획물) 2g, 유당 1g을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0063] **<제제예 2. 정제의 제조>**

[0064] 본 발명의 실시예 1(길경 사포닌 분획물) 100mg, 옥수수전분 100mg, 유당 100mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0065] **<제제예 3. 캡슐제의 제조>**

[0066] 본 발명의 실시예 1(길경 사포닌 분획물) 100mg, 옥수수전분 100mg, 유당 100mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0067] **<제제예 4. 환제의 제조>**

[0068] 본 발명의 실시예 1(길경 사포닌 분획물) 90mg, 찹쌀전분 5mg 및 정제수 5mg 및 흡습성을 저해하는 첨가제로서 텍스트린, 말토덱스트린, 옥수수전분, 미결정셀룰로오스(MCC)를 소량 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 100mg의 환제를 만들었다.

[0069] **<제제예 5. 건강기능식품의 제조>**

[0070] 본 발명의 실시예 1(길경 사포닌 분획물) 20g, 비타민 혼합물 적량, 비타민 A 아세테이트 70 μ g, 비타민 E 1.0mg, 비타민 B1 0.13mg, 비타민 B2 0.15mg, 비타민 B6 0.5mg, 비타민 B12 0.2 μ g, 비타민 C 10mg, 비오틴 10 μ g, 니코틴산아미드 1.7mg, 엽산 50 μ g, 판토텐산 칼슘 0.5mg, 무기질 혼합물 적량, 황산제1철 1.75mg, 산화아연 0.82mg, 탄산 마그네슘 25.3mg, 제1인산칼륨 15mg, 제2인산칼슘 55mg, 구연산칼륨 90mg, 탄산칼슘 100mg, 염화 마그네슘 24.8mg을 섞어 과립으로 제조하였으나, 용도에 따라 다양한 제형으로 변형시켜 제조할 수 있다. 또한, 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 제조할 수 있다.

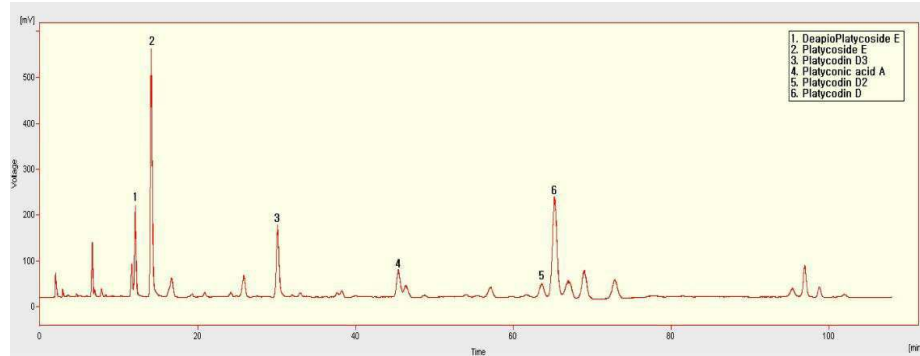
[0071] **<제제예 6. 건강기능성 음료의 제조>**

[0072]

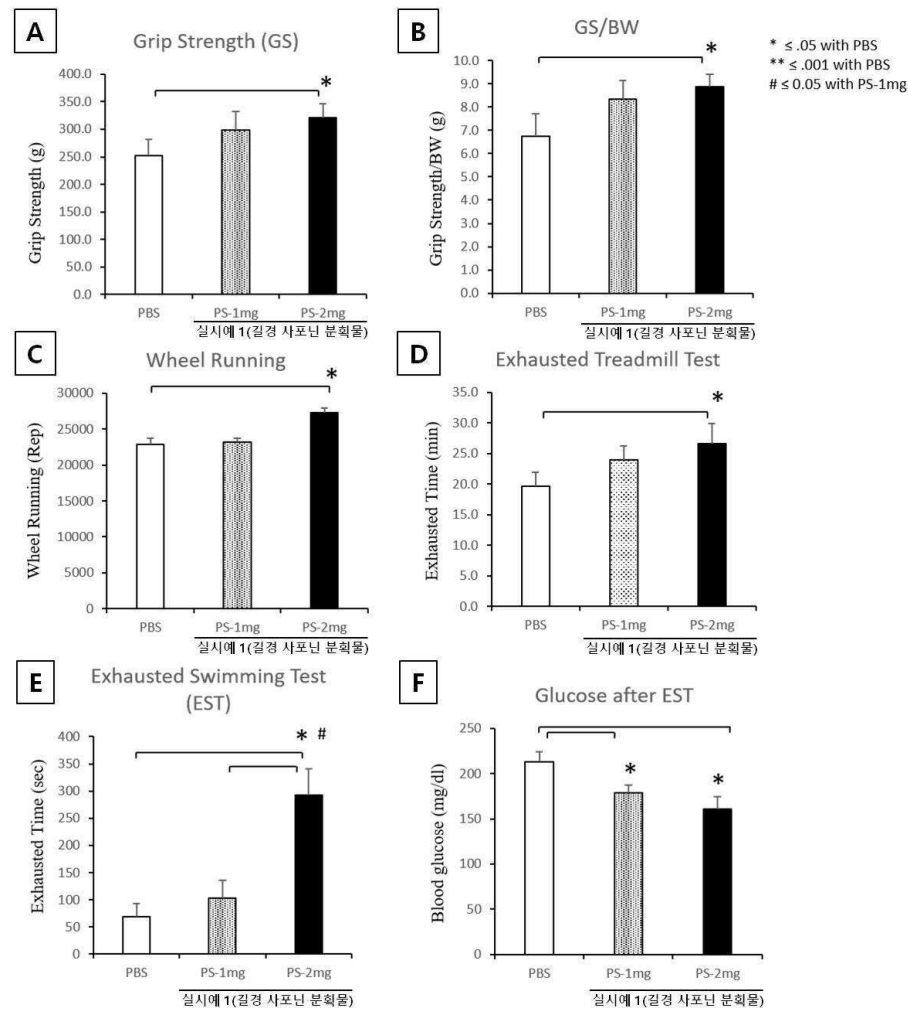
본 발명의 실시예 1(길경 사포닌 분획물) 1g, 구연산 0.1g, 프락토올리고당 100g, 정제수 900g을 섞어 통상의 음료 제조방법에 따라 교반, 가열, 여과, 살균, 냉장하여 음료를 제조하였다.

도면

도면1



도면2



도면3

