



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0135367
(43) 공개일자 2017년12월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/258 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/258 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0067162
(22) 출원일자 2016년05월31일
심사청구일자 2016년05월31일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
정성현
서울특별시 서초구 방배로2길 24-5, 13동 901호 (방배동, 임광아파트)
김고운
서울특별시 영등포구 당산로 95, 106동 103호 (당산동2가, 현대아파트)
고성권
세종시 나리1로 15, 309동 1204호 (한솔동, 첫마을 3단지)
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 5 항

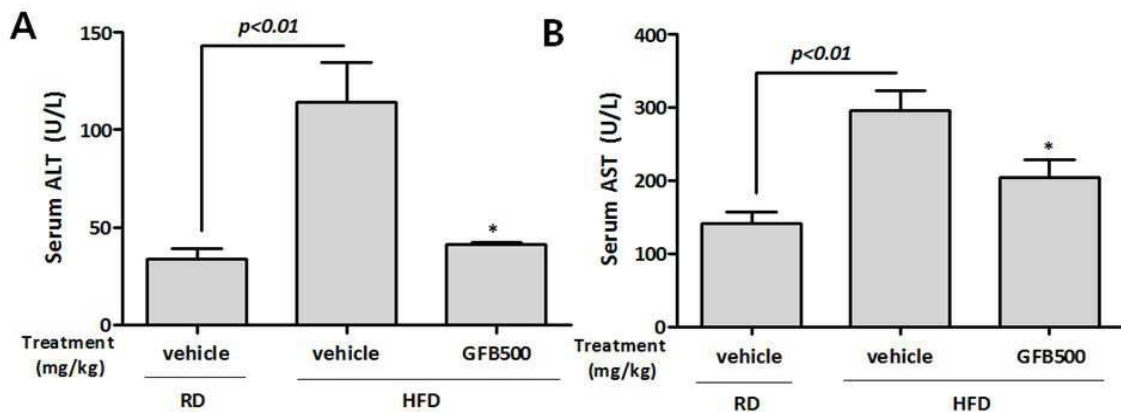
(54) 발명의 명칭 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

본 발명에 따른 조성물은 간 내 지방 축적 억제, 간 조직의 중성지방 감소, 혈중 지방 감소 및 간 기능 개선 등의 작용 효과를 통해 비알코올성 지방간 예방, 치료 및 개선에 현저한 효과를 보인다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

A23V 2300/48 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 114010-03-2-HD030

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원

연구사업명 고부가가치식품기술

연구과제명 인삼꽃대의 생리활성 시험

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2014.08.01 ~ 2017.07.31

명세서

청구범위

청구항 1

인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 인삼 꽃대 추출물은 초음파 추출법에 의해 추출된 인삼 꽃대 추출물인 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 인삼 꽃대 추출물을 조성물 총 중량에 대하여 10 내지 50 중량%로 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 4

인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 인삼 꽃대 추출물은 초음파 추출법에 의해 추출된 인삼 꽃대 추출물인 비알코올성 지방간 예방 및 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0002] 본 발명은 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 지방간은 간에서 지방대사의 장애로 인해 중성지방이 간에 축적되는 상태이며, 간에서 축적된 지질이 차지하는 무게 비중이 5% 이상일 때 지방간으로 정의된다. 주 원인으로는 과도한 음주 및 비만 등을 들 수 있다. 그 중 최근 사회경제적 변화로 인한 현대 사회의 식습관 변화와 깊은 관련이 있는 비알코올성 지방간(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 알코올 섭취와 관계없이 비만, 당뇨병, 고지혈증을 비롯한 여러 가지 인자에 의해서 발병되는 것으로 알려져 있다. 비알코올성 지방간은 단순 지방간을 넘어 간세포의 염증을 나타내는 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis; NASH), 간 섬유화, 간경화 그리고 간암을 포함하는 만성 간질환 발병의 대표적인 원인이다.

[0004] 현재 비알코올성 지방간 치료의 주요 방법은 생활습관 개선으로 비만, 비만-유래 간 경변 그리고 삶의 질을 개선시키는데 목적이 있지만, 꾸준한 체중 관리와 규칙적인 운동을 실천하는 것이 어려워 이러한 목표가 달성되기 힘들고 결과도 만족스럽지 못하다. 인슐린 저항성, 산화적 스트레스, 세포사멸 등 여러 병리적 기전이 비알코올성 지방간 발병에 관여하는 것으로 알려지고 있어 이들 기전에 작용을 나타내는 많은 치료제들이 전임상, 임상적으로 테스트되고 있지만 결과는 아직 해석이 어렵고 만족스럽지 못한 상황이다. 예컨대, 메트포민(metformin), 치아졸리딘다이온(thiazolidinedione) 계의 약제, 스타틴(statin) 계의 약제, 항산화제 등이 시도되었으나, 현재까지 치료제로 확립된 약제는 없으며, 간효소 수치의 부분적 개선에 대한 보고는 있으나 간 조직 검사의 개선을 포함한 포괄적인 치료제로서 인정받는 약제가 미비하다.

[0005] 한편 세계 기능성 식품시장이 확대됨에 따라 우리나라의 주력 기능성 식품 중 하나인 인삼을 활용한 기능성 식품의 수요도 증가하고 있다. 인삼성분의 건강기능식품은 뿌리삼을 주 원료로 하고 있다. 그러나 인삼 가공 재배 및 가공 과정에서 폐기되는 인삼 종자, 인삼 꽃대 등에 대한 연구 방안에 대해서는 현재까지도 그 연구가 매우

적다. 예컨대, 통상의 인삼 재배과정에서 인삼 꽃대는 병의 발생을 억제하고 뿌리 생장을 증진시키기 위하여, 제거되어 폐기되는 부분으로 이러한 인삼 꽃대에 대한 연구개발은 아직 체계적으로 이루어지지 않고 있다.

[0006] 또한 인삼 종자의 경우에도 체계적인 연구가 이루어지지 않고 있으나, 고 등이 인삼종자에는 진세노사이드 Re 성분이 1.65%로서 인삼(0.15%) 보다 약 11배 높은 함량을 나타낸다고 보고(Food Sci. Biotechnol. 17(6), 1379-1382, 2008.)하였고, 인삼 종자 오일이 α -glucosidase 및 α -amylase 저해작용이 있음을 연구하여 논문(Kor. J. Pharmacogn. 47(1), 24-28, 2016.) 및 특허(출원번호 : KR10-2014-0069505)를 출원한 바 있다.

[0007] 현재까지 비알코올성 간질환을 치료하기 위한 약물의 개발이 미비하고 기존의 의약품들은 부작용을 내포하며 치료 효과도 약하여 비알코올성 간질환의 예방, 치료 및 개선을 위해 사용 가능한 적절한 약물이 거의 없다. 따라서 부작용이 비교적 적은 천연 물질을 이용하여 비알코올성 간질환을 개선, 치료 또는 예방하고자 하는 연구들이 다양하게 수행될 필요성이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) KR 10-2014-0080982, 2014. 7. 1.

(특허문헌 0002) KR 10-2013-0143330, 2013.12.31.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공하고자 한다.

[0010] 본 발명은 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명자들은 부가가치를 높이며 기능을 강화한 인삼제품을 개발하기 위해 인삼 재배 및 가공 부산 폐기물인 인삼 꽃대의 추출물이 비알코올성 지방간의 예방 및 치료 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0012] 본 발명은 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명에 따른 약학 조성물은 유효성분으로 인삼 꽃대 추출물을 포함하여 간 내 지방 축적 억제, 간 조직의 중성지방 감소, 혈중 지방 감소 및 간 기능 개선 등의 작용 효과를 통해 비알코올성 지방간 예방 및 치료에 현저한 효과를 보인다.

[0014] 인삼꽃대는 미개화한 인삼 꽃의 꽃봉오리 부위를 포함하며 꽃의 화병부분을 포함하는 것을 말한다. 인삼꽃대는 통상적으로 사용되는 인삼, 예컨대, 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer), 화기삼(*Panax quinquefolium*), 전칠삼(*Panax notoginseng*), 죽절삼(*Panax japonicum*), 삼엽삼(*Panax trifolium*) 또는 히말라야삼(*Panax pseudoginseng*)로부터 얻어질 수 있다.

[0015] 인삼 꽃대는 인삼 보다 높은 진세노사이드 Re 함량을 가지고 구성 성분 측면에서 차이를 가져 일반적으로 약용으로 일반적으로 이용되는 인삼 뿌리와 차이가 있다.

[0016] 본 발명에 있어서 "추출물"은 천연물로부터 그 안의 성분을 뽑아냄으로써 얻어진 물질을 의미하는 것으로, 뽑아내는 방법이나 성분의 종류와 무관하게 모두 포함한다. 예컨대, 물이나 유기용매를 이용하여 천연물로부터 용매에 용해되는 성분을 추출해 낸 것, 천연물의 특정 성분, 예컨대 오일과 같은 특정 성분만을 추출하여 얻어진 것을 포함하며, 본 발명에 따른 바람직한 추출물은 인삼 꽃대의 초음파 추출물이다.

[0017] 인삼꽃대 추출물은 꽃봉오리가 맺힌 건조 또는 미건조 인삼으로부터 인삼꽃대를 채취하여, 채취된 인삼꽃대 중량에 대하여 약 2배 내지 10 배, 바람직하게는 5 내지 10 배의 물, C1 - C4 의 알코올, 및 물과 C1 - C4 의 알코올과의 혼합용매 하에 추출될 수 있다.

[0018] 이러한 추출은 당 분야에 알려진 추출방법, 예컨대, 냉침, 열수추출, 초단파 추출, 초음파 추출, 환류 냉각 추

출 등의 방법으로 수행될 수 있으나, 이에 국한되지 않는다.

- [0019] 추출 온도는 당업자가 선택한 추출 방법에 적절한 온도 범위를 채택할 수 있으며, 예를 들어, 20 내지 150 ℃ 등의 범위에서 수행될 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 또한, 추출시간은 추출방법에 따라 당업자가 적절히 선택할 수 있으며, 약 1 시간 내지 10 일의 범위에서 단회 또는 복수회로 수행될 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 바람직하게는 상기 추출은 상기한 1차 추출용매를 이용하여 실온에서 약 2 일씩 2~3회 추출함으로써 수행될 수 있다.
- [0020] 이렇게 얻어진 추출물은 통상의 방법에 따라 여과하여 불순물을 제거한 액상 형태로 얻거나, 얻어진 액상 형태의 추출물을 통상의 방법에 따라 감압농축 및/또는 건조하여 분말 형태로 얻을 수 있다.
- [0021] 바람직하게, 물, C1~C4 의 알코올, 및 물과 C1~C4 의 알코올과의 혼합용매, 바람직하게 물로 출력 800 내지 1,500 W, 바람직하게 1200 W, 주파수 24 내지 32 KHz, 바람직하게 28 KHz, 70 ℃ 내지 120 ℃, 바람직하게 100 ℃ 조건의 소니케이터에 넣고, 초음파 처리를 16시간 시행하여 감압 하에 농축시켜서 추출물을 얻을 수 있다. 상기 초음파 추출에 의해 특정의 진세노사이드, 예컨대 진세노사이드 F4, Rg3, Rg5, Rg2의 함량을 크게 증가시키며 비알코올성 지방간의 예방 및 치료에 현저한 효과를 가진다.
- [0022] 상기 추출공정은 필요에 따라, 유효성분의 함량이 높은 분획을 얻는 단계를 더 포함할 수 있다. 즉, 상기 1차 추출용매로 추출하여 얻어진 추출물을 물에 분산시킨 후, 적절한 2차 추출용매로 추출하는 단계를 수행함으로써, 생성되는 추출물 중의 유효성분 함량을 더욱 높일 수 있다.
- [0023] 본 발명의 조성물 내 인삼 꽃대 추출물의 함량은 대상체의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 전체 조성물 중량을 기준으로 5 내지 80 중량%, 바람직하게는 10 내지 50 중량%이나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명에 따른 비알코올성 지방간은 간의 지방대사 장애로 지방이 간세포에 과도한 양으로 축적된 상태로 고지방식이, 비만, 당뇨병, 고지혈증, 약물 등으로 인해 야기된다.
- [0025] 본 발명의 조성물은, 위 비알코올성 지방간 예방 및 치료 효과를 위하여 인삼 꽃대 추출물의 중량을 기준으로 1 일 체중 kg 당 100 mg 내지 500 mg 투여하는 것이 바람직하며, 1일 투여량을 2 내지 3회에 나누어 투여하는 것이 바람직하다.
- [0026] 본 발명의 약학 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0027] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 본 발명의 약학 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크와 같은 윤활제도 사용될 수 있다.
- [0028] 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0029] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필레글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 및 젤라틴 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 비경구 투여시 피하주사, 정맥주사 또는 근육내 주사를 통하여 투여될 수 있다.
- [0030] 본 발명은 인삼 꽃대 추출물을 포함하는 비알코올성 지방간 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0031] 본 발명에 따른 건강기능식품은 간 내 지방 축적 억제, 간 조직의 중성지방 감소, 혈중 지방 감소 및 간 기능 개선 등의 작용 효과를 통해 비알코올성 지방간 예방 및 개선에 현저한 효과를 보인다.
- [0032] "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

- [0033] 본 발명의 건강 기능성 식품조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0034] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.
- [0035] 본 발명의 건강기능식품은 비알코올성 지방간을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다. 상기 기재한 것 외에도 모든 식품 형태일 수 있다.
- [0036] 본 발명의 건강기능식품은 인삼 꽃대 추출물 이외에도 보조성분으로 비타민 B, C, E나 베타카로틴, Ca, Mg, Zn 등의 미네랄 함유 화합물이나 레시틴 등의 인지질 또는 말톨, 올리고당, 아미노산 등의 성분 등을 추가로 포함할 수 있으며, 특히, 비타민 C, E 나 베타카로틴, 말톨 등의 성분 2-3개를 혼합하여 사용하면 생체 활성효과를 보장할 수 있어 바람직하다.
- [0037] 또한, 상기 성분에 추가로 미각을 향상시키기 위하여, 공지의 첨가체로써, 매실, 레몬향, 파인애플향 또는 허브향과 같은 천연향료나 천연과즙, 플로로필린, 플로보노이드 등의 천연색소 및 감미성분인 과당, 벌꿀, 당알코올, 설탕 등, 구연산, 구연산나트륨 같은 산미체를 첨가할 수 있다.
- [0038] 또한, 본 발명의 건강기능식품이 음료형태인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.
- [0039] 또한, 본 발명의 건강기능식품은 비알코올성 지방간을 위한 목적으로, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.
- [0040] 예를 들어, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 인삼 꽃대 추출물, 부형제, 결합제, 붕해제, 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축성형할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.
- [0041] 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 인삼 꽃대 추출물, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 인삼 꽃대 추출물, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0042] 환 형태의 건강기능식품은 인삼 꽃대 추출물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0043] 과립형태의 건강기능식품은 인삼 꽃대 추출물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다. 과립형태의 건강기능식품은 12호 (1680 μm), 14호 (1410 μm) 및 45호 (350 μm) 체를 써서 다음 입도시험을 할 때에 12호체를 전량 통과하고 14호체에 남는 것이 전체량의 5.0 %이하이고 또 45호체를 통과하는 것은 전체량의 15.0 %이하일 수 있다.
- [0044] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다.

발명의 효과

- [0045] 본 발명에 따른 조성물은 간 내 지방 축적 억제, 간 조직의 중성지방 감소, 혈중 지방 감소 및 간 기능 개선 등의 작용 효과를 통해 비알코올성 지방간 예방, 치료 및 개선에 현저한 효과를 보인다.

도면의 간단한 설명

- [0046] 도 1은 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 중성 지방 축적 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸다.
- 도 2는 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 체중 변화를 확인한 결과를 나타낸다.
- 도 3은 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 간 조직 내 지방 축적 억제를 확인한 결과를 나타낸다.
- 도 4는 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 간 기능 개선 효과를 확인한 결과를 나타낸다.
- 도 5는 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 혈중 중성 지방 감소 및 간 내 지방 축적 감소 효과를 확인한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0047] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [0048] <실시예 1> 인삼 꽃대 추출물의 제조
- [0049] 인삼꽃대(*Panax ginseng*)는 한국 충북 음성에서 재배(재배자, 남성업) 3년생 인삼화를 2014년 5월에 채집하여 건조하고, 건조한 각 인삼꽃대 세말 2.0kg에 증류수 20ℓ를 가하여 출력 1,200 W, 주파수 28 KHz, 100℃ 규격의 소니케이터에 넣고, 초음파 처리를 11시간 시행하여 감압 하에 농축시켜서 갈색의 추출물을 얻는다.
- [0050] <실시예 2> 초음파 처리 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 세포 내 중성 지방 축적 억제 확인
- [0051] HepG2 Human hepatoma cell line은 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구입하여 사용하였으며, 10% fetal bovine serum (FBS), 100 unit/ml penicillin/streptomycin이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)으로 37℃, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 지방간의 세포 모델을 만들기 위해 HepG2 cell을 6-well plate에 1x10⁵ cell/well로 seeding하고, Seeding 24시간 후 palmitate와 oleate를 1:2 비율로 섞은 유리지방산 (free fatty acid; FFA) 혼합물을 1 mM로 처리하여 1% BSA-DMEM에 세포를 배양하여 지방 축적을 유도하였다.
- [0052] 위 지방 축적 유도 전 세포에 상기 실시예 1의 인삼 꽃대 추출물(GFB)을 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml의 농도로 2시간, 양성 대조군으로 metformin(Met)을 2 mM로 2 시간 처리 후, 각 물질의 처리 상태에서 지방 축적을 유도하여 지방 축적 변화를 Oil red O 및 세포내 중성 지방 측정을 통해 확인하였다.
- [0053] Oil Red O 염색법을 위해 위 염색될 세포를 ice-cold phosphate buffered saline (PBS)로 3회 washing한 후 10% formaldehyde로 1시간 고정하였다. Oil Red O 용액으로 1시간 동안 염색한 다음 3차 증류수로 washing하여 광학현미경 (Olympus CKX41, Tokyo, Japan) 으로 관찰하였다. 관찰 후 isoprophyl alcohol로 세포내 지방에 염색된 Oil Red O를 탈염색한 후 540 nm로 흡광도를 측정하여 세포내의 lipid 축적량을 정량적으로 확인하였다.
- [0054] 또한 세포내 중성지방을 정량적으로 측정하기 위하여 세포를 ice-cold PBS로 2회 washing한 후 lysis buffer (1x PBS, 2% triton X-100)으로 lysed 시켰다. Cell lysate를 원심분리하여 상층액을 취한 후 아산셋트 중성 지방 측정용 시약을 이용하여 중성지방량을 측정하였으며 이때 보정은 단백질 농도로 하였다.
- [0055] 상기 실험 결과를 도 1에 나타내었다.
- [0056] 도 1은 인간 간암 세포에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 의해 지방 축적이 억제됨을 확인한 결과이다. 도 1의 A는 HepG2 세포에서 인삼 꽃대 추출물 처리 후 유리지방산으로 지방축적을 유도하여 Oil Red O 용액으로 염색시킨 결과이며, 도 1의 B는 염색된 Oil Red O 용액을 100 % 이소프로판올로 탈염색하여 정량화한 결과를 나타낸다. 도 1의 A 및 B에서 확인되는 바와 같이, 인삼 꽃대 추출물 처리에 따라 지방축적이 감소함을 확인하였다.
- [0057] 또한 세포 내 트리글리세라이드의 함량 측정 결과를 도 1의 C에 나타내었다. 도 1의 C에서 확인되는 바와 같이, 인삼 꽃대 추출물에 의해 중성지방량의 감소를 확인하였다.
- [0058] 위 결과로부터, 인삼 꽃대 추출물이 지방산에 의한 지방축적을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다.

- [0059] <실시예 3> 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 체중 감소 확인
- [0060] 5주령의 C57BL/6J 마우스를 고지방식이 사육으로 지방간을 유도하여 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물의 약효를 평가하였다. 실험동물은 plastic mouse cage에 보관하여 실험동물실에서 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, light/dark cycle (12/12 hr)의 조건하에서 사육하였고, 물과 사료는 자유로이 섭취하도록 하여 실험시작 전 일주일 동안 환경에 적응시킨 후 실험을 진행하였다. 실험군은 일반식이군 (RD)과 고지방식이군 (HFD) 고지방식에 상기 실시예 1의 인삼 꽃대 추출물을 500 mg/kg/day (HFD + GFB500) 투여한 3개 그룹으로 나누었고, 각 그룹당 개체 수는 8마리로 하였다. 투여 시작 후 실험 종료까지 12주 동안 매 주 식이 섭취량과 몸무게의 변화를 측정하였다.
- [0061] 그 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0062] 도 2의 A는 고지방식이와 인삼 꽃대 추출물 투여 후 12주 동안 체중변화를 기록한 그래프이며, 도 2의 B는 증가된 몸무게를 확인한 결과를 나타낸다. 실험기간동안의 총 무게 증가량을 계산하였을 때 고지방식이 대조군에 비해 HFD + GFB500군에서 21.2 %의 체중 증가의 억제가 확인하였다.
- [0063] 위 결과로부터 인삼 꽃대 추출물이 고지방식이에 의한 몸무게 증가를 억제하는 효과를 확인하였다.
- [0064] <실시예 4> 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 혈중 지질 지표 개선 확인
- [0065] 위 실시예 3의 고지방식이 동물 모델을 이용하여 간의 조직학적 형태 변화를 확인하였다.
- [0066] 간 조직의 형태를 확인하고자 희생 시 적출한 간 조직을 10 % neutral buffered formalin에 고정하고 탈수 및 포매 과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하여 두께 5 μm 의 관상 절편으로 제작하여 hematoxylin과 eosin (H&E) 염색 후 광학현미경으로 형태학적 관찰을 하였다.
- [0067] 그 결과를 도 3에 나타내었다.
- [0068] 도 3은 고지방식이에 의한 간 내 지방축적에 미치는 인삼 꽃대 추출물의 효과를 조직학적으로 확인한 결과이다. 첫 번째 줄은 각 투여군의 간 사진이며, 두 번째 줄은 H&E 염색, 세 번째 줄은 Oil Red O 염색을 한 간 조직의 사진을 나타낸다. H&E 염색과 Oil Red O 염색 모두 일반식이 대조군에 비해 고지방식이 대조군에서 눈에 띄게 많은 지방 축적이 확인되었으며 이는 인삼꽃대 시료를 투여한 그룹에서 크게 감소되는 것을 확인하였다. 이 결과로부터 인삼꽃대 추출물이 고지방식이에 의한 간 내 지방축적을 억제하는 것을 확인하였다.
- [0069] <실시예 5> 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 간 질환 지표 개선 확인
- [0070] 혈액 지표 분석을 위해 상기 실시예 3의 실험동물 희생 전 12시간 절식 후 혈액을 채취하여 원심분리로 혈청을 분리한 후 분석에 사용하였다. 혈중 중성지방과 간 지표지수인 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST)를 측정 키트 (Stanbio Laboratory, Boerne, TX)와 자동분석기 (SMARTLAB, Mannheim, Germany)를 사용하여 측정하였다.
- [0071] 그 결과를 도 4에 나타내었다.
- [0072] 도 4는 고지방식이에 의한 간 기능 저하에 미치는 인삼꽃대 추출물의 효과를 간 기능 지표효소측정을 통해 확인한 결과를 나타낸다. 고지방식이 대조군에서 증가된 간 지표지수 (ALT, AST)가 인삼꽃대 추출물 투여군에서 현저하게 감소됨을 확인하였다. 이 결과로부터 인삼꽃대 추출물이 간 내 지방축적으로 인한 간 기능 저하를 개선한다는 것을 확인하였다.
- [0073] <실시예 6> 고지방식이 동물모델에서 인삼 꽃대 추출물 처리에 따른 중성지방 및 간 내 중성지방 감소 확인
- [0074] 간 조직을 클로로포름과 메틸알코올을 2 : 1 비율로 혼합한 용액에 homogenize후에 50 mM sodium chloride를 넣었다. 4°C 에서 overnight 인큐베이션 후 원심분리하여 지방층을 분리하였다. 지방층을 질소가스로 말린 후 총 지방량을 측정하고 1% Triton X-100 in PBS에 녹여 아산셋트 중성지방 측정용 시액을 이용하여 중성지방량을 측정하였으며 이때 보정은 단백질 농도로 하였다. 또한 간의 무게를 측정하여 총지방량 및 중성 지방량 등을 함께 확인하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- [0075] 도 5는 고지방식으로 인한 혈중 중성지방증가, 간 내 지방축적에 미치는 인삼꽃대 추출물의 효과를 확인한 결과를 나타낸다. 도 5의 A는 혈중 중성지방량을 측정한 결과이며, 인삼꽃대 추출물 투여에 의해 혈중 중성지방량이 현저하게 줄어드는 것을 확인하였다. 또한, 도 5의 B에서와 같이 고지방식으로 인한 간 내 지방축적에 의해 증가된 간 무게가 인삼꽃대 추출물 투여군에서 줄어듦을 확인하였고, 간 조직으로부터 총 지방량과 중성지방량을

측정하였을 때, 각각 도 5의 C 및 도 5의 D와 같이 고지방식이 대조군에 비해 현저히 감소하였다. 위 결과들로부터 인삼꽃대 추출물이 고지방식이에 의한 간 내 지방 축적 억제에 효과가 있다는 것을 확인하였다.

<제제예 1> 정제의 제조

실시예 1의 인삼 꽃대 추출물 200mg

유당.....100mg

전분.....100mg

스테아린산 마그네슘.....적량

상기의 성분을 복합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

<제제예 2> 캡슐제의 제조

실시예 1의 인삼 꽃대 추출물200mg

유당.....50mg

전분.....50mg

탈크.....2mg

스테아린산 마그네슘.....적량

상기의 성분을 복합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

<제제예 3> 액제의 제조

실시예 1의 인삼 꽃대 추출물1000mg

설탕.....20g

이성화당.....20g

레몬향.....적량

정제수를 가하여 전체 1000 ml로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 복합한 다음, 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조한다.

상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 복합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

<제제예 4> 건강기능식품의 제조

실시예 1의 인삼 꽃대 추출물1000 mg

비타민 복합물.....적량

비타민 A 아세테이트.....70 μ g

비타민 E.....1.0 mg

비타민 B1.....0.13 mg

비타민 B2.....0.15 mg

비타민 B6.....0.5 mg

비타민 B12.....0.2 μ g

비타민 C.....10 mg

비오틴.....10 μ g

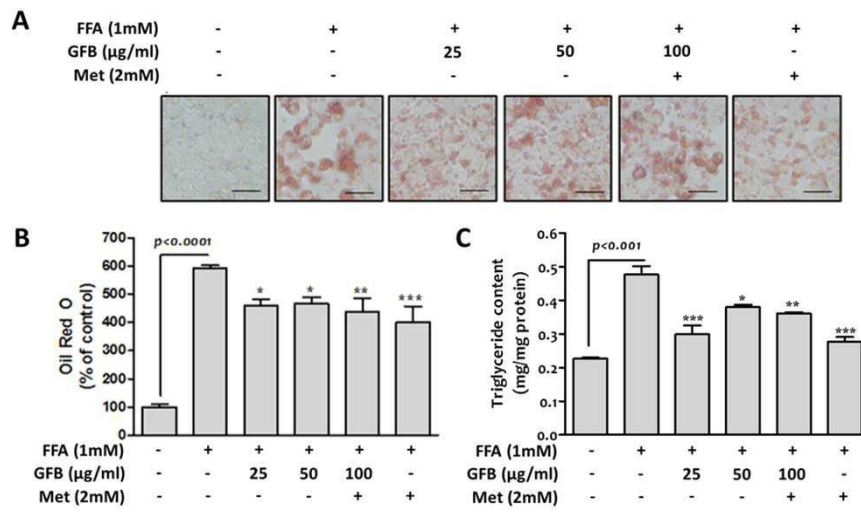
니코틴산아미드.....1.7 mg

엽산.....50 μ g

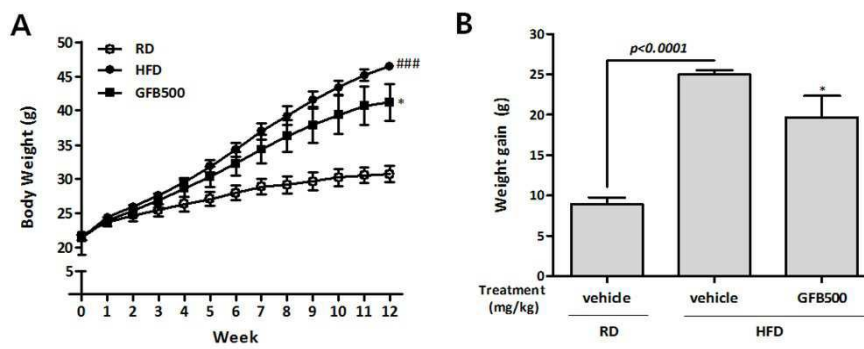
[0109]	판토텐산 칼슘.....0.5 mg
[0110]	무기질 복합물.....적량
[0111]	황산제1철.....1.75 mg
[0112]	산화아연.....0.82 mg
[0113]	탄산마그네슘.....25.3 mg
[0114]	제1인산칼륨.....15 mg
[0115]	제2인산칼슘.....55 mg
[0116]	구연산칼륨.....90 mg
[0117]	탄산칼슘.....100 mg
[0118]	염화마그네슘.....24.8 mg
[0119]	상기의 비타민 및 미네랄 복합물의 조성비는 비교적 건강기능식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 복합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 복합한 다음, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조(예, 영양캔디 등)에 사용할 수 있다.
[0120]	<제제예 5> 건강기능성 음료의 제조
[0121]	실시예 1의 인삼 꽃대 추출물1000 mg
[0122]	구연산.....1000 mg
[0123]	올리고당.....100 g
[0124]	매실농축액.....2 g
[0125]	타우린.....1 g
[0126]	정제수를 가하여 전체.....900 ml
[0127]	통상의 건강기능성 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 복합한 다음, 약 1시간동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.
[0128]	상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 복합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

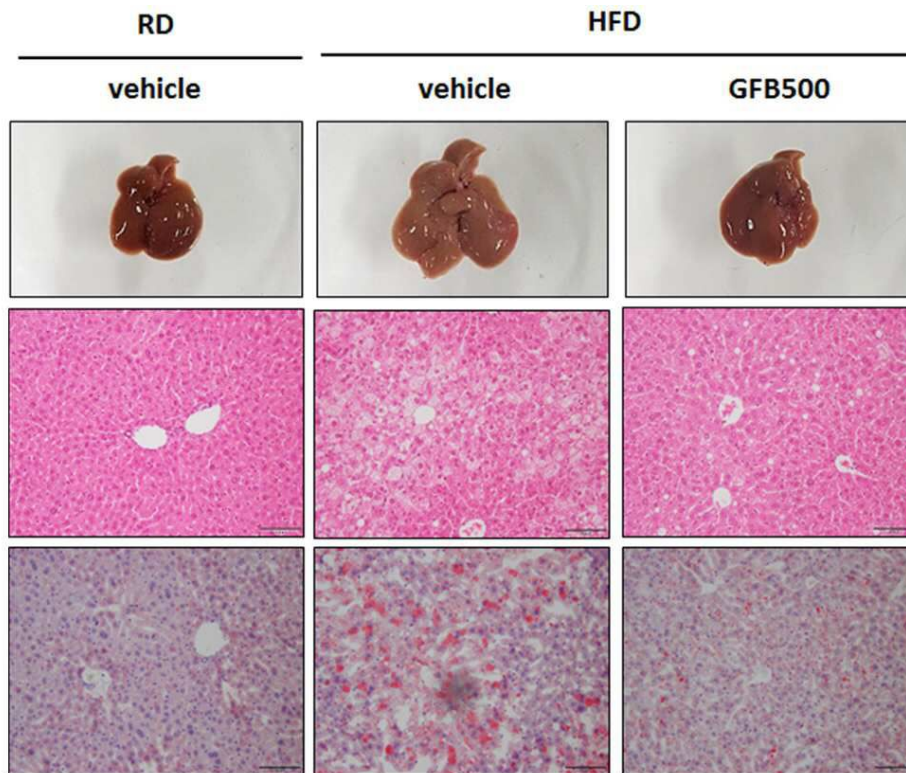
도면1



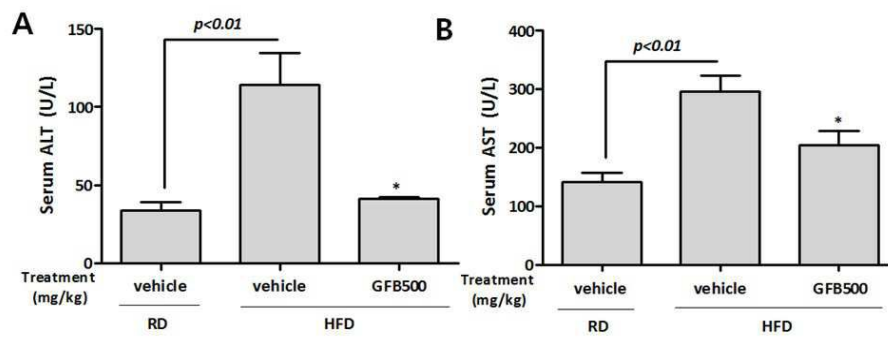
도면2



도면3



도면4



도면5

