



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0071833  
(43) 공개일자 2016년06월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 36/232* (2006.01) *A61K 9/14* (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2014-0179501  
(22) 출원일자 2014년12월12일  
심사청구일자 2014년12월12일

(71) 출원인  
강원대학교산학협력단  
강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)  
(72) 발명자  
강위수  
강원도 춘천시 후석로 325, 105동 1306호  
조현종  
서울특별시 중랑구 망우로 346 한일써너스빌 102  
동 1402호  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
김정수

전체 청구항 수 : 총 10 항

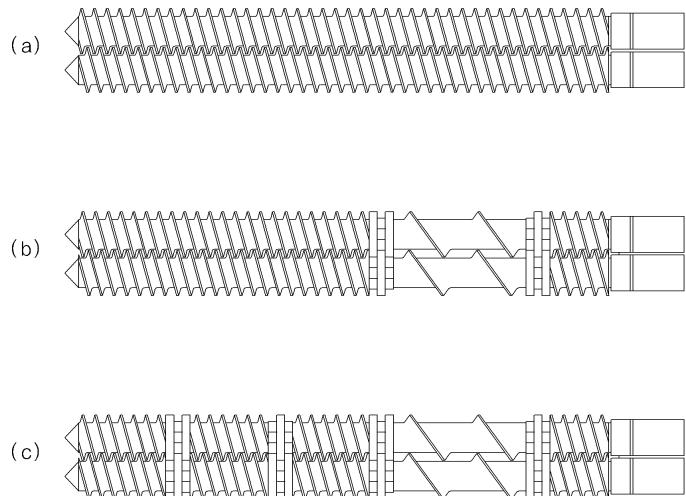
(54) 발명의 명칭 **용융압출하여 제조된 당귀-고체분산체 및 그 제조방법**

### (57) 요 약

본 발명은 용융압출법으로 제조된 당귀-고체분산체 및 그 제조방법에 관한 것으로, (a) 당귀를 분쇄하여 당귀 분말을 제조하는 단계, (b) 미립 분쇄기를 이용해 상기 당귀분말을 미립 분쇄하여 미립 당귀분말을 제조하는 단계 및 (c) 상기 미립 당귀분말을 고전단력의 용융압출기를 이용해 용융압출하여 고체분산체를 제조하는 단계를 포함한다.

본 발명에 따른 당귀-고체분산체는 용융압출되어 당귀에 포함된 유효 약리성분이 외부로 유출되어 식이섬유와 함께 콜로이드 형태로 존재하고 가용화되어, 종래의 당귀 분쇄 분말에 비해 난용성 성분인 테커신 및 테커시놀 안젤레이트의 물 용해도가 증가되어 복용량을 감소시킬 수 있고, 복약 순응도를 높일 수 있다.

### 대 표 도 - 도2



(72) 발명자  
조동하  
강원도 춘천시 퇴계로 220-20, 305-802(현대아파트)

박경배  
강원도 춘천시 강원대학길 1

이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
과제고유번호 C1011329-01-01  
부처명 교육부  
연구관리전문기관 강원대학교 산학협력단  
연구사업명 산학협력선도대학육성사업  
연구과제명 열용융 압출법에 의한 당귀의 유효약리성분 가용화 기술개발  
기여율 1/1  
주관기관 강원대학교 산학협력단  
연구기간 2014.07.01 ~ 2015.01.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- (a) 당귀를 분쇄하여 당귀 분말을 제조하는 단계;
- (b) 미립 분쇄기를 이용해 상기 당귀분말을 미립 분쇄하여 미립 당귀분말을 제조하는 단계; 및
- (c) 상기 미립 당귀분말을 고전단력의 용융압출기를 이용해 용융압출하여 고체분산체를 제조하는 단계;를 포함하는 당귀-고체분산체 제조방법.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 단계 (b)는 -15 내지 -20°C의 온도 및 10,000rpm 이상의 로터 회전 속도로, 직경 210mm 크기의 분쇄매체 (grinding media)를 포함하는 미립 분쇄기를 이용하여 수행되는 것을 특징으로 하는 당귀-고체분산체 제조방법.

#### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 미립 당귀분말은 입자크기가 40 내지 100  $\mu\text{m}$ 인 것을 특징으로 하는 당귀-고체분산체 제조방법.

#### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 단계 (c)는 80 내지 100°C의 온도에서 수행되는 것을 특징으로 하는 당귀-고체분산체 제조방법.

#### 청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 고전단력의 용융압출기는,

직경이 1 내지 3mm의 압출다이를 포함하여 이루어진 것을 특징으로 하는 당귀-고체분산체 제조방법.

#### 청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 고전단력의 용융압출기는,

복수 개의 니딩디스크(kneading disk) 블력부가 도입된 스크류를 포함하여 상기 미립 당귀분말에 고전단력을 가해 상기 고체분산체를 제조할 수 있는 것을 특징으로 하는 당귀-고체분산체 제조방법.

#### 청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 고체분산체는 입자크기가 10  $\mu\text{m}$ 이하인 것을 특징으로 하는 당귀-고체분산체 제조방법.

#### 청구항 8

제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 기재된 방법으로 제조된 당귀-고체분산체 및 담체를 포함하는 약학 조성물.

#### 청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 담체는 계면활성제, 수용성 중합체 또는 약제학적으로 허용되는 첨가제로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

### 청구항 10

제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 기재된 방법으로 제조된 당귀-고체분산체를 유효성분으로 포함하는 기능성 식품.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 용융압출하여 제조된 당귀-고체분산체 및 그 제조방법에 관한 것으로, 당귀의 유효 약리성분의 가용화(solubilization)를 증가시켜 생체이용률이 높은 당귀-고체분산체를 제조하는 방법에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 참당귀(*Angelica gigas* Nakai, AGN)는 한국, 일본 및 중국을 포함하는 동아시아 국가에서 전통 생약재로 이용되어져 왔다. 또한, 유럽과 북 아메리카에서는 기능성 식품으로 제조되어 상용화되고 있다. 이러한 참당귀는 항박테리아 작용, 항암 작용, 항염증 작용, 신경보호 작용 및 골다공증 치료 작용 등과 같은 다양한 기능을 하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 참당귀의 뿌리와 잎에서 확인된 화합물은 피라노쿠마린유도체(pyranocoumarins)인 데커신(decursin, D), 데커시놀안젤레이트(decursinol angelate, DA), 데커시놀(decursinol, DOH), 프란침진(prantschimgin), 안젤리놀(angelinol), 아가실린(agasyllin); 단순 쿠마린 유도체(simple coumarins)인 스코폴레틴(scopoletin), 웜벨리페론(umbelliferone); 퓨로쿠마린유도체(furocoumarins)인 베르가프텐(bergapten), 잔토톡신(xanthotoxin), 임페라토린(imperatorin), 이소임페라토린(isoimperatorin), 마르메신(marmesin), 마르메시닌(marmesinin), 노다케닌(nodakenin), 노다케네틴(nodakenetin), 컬럼비아네틴(columbianetin), 컬럼비아네틴- $\beta$ -D-글루코사이드(columbianetin- $\beta$ -D-glucoside), 데메틸수베로신(demethylsuberosine); 다른 형태의 쿠마린유도체(other coumarins)인 페우세다논(peucedanone), 프레닐레틴(prenyletin), 스킴민(skimmin), 아피오실스킴민(apiosylskimmin), 이소아피오실스킴민(isoapiosylskimmine), 매그놀리오사이드(magnolioside), 6''-아세틸노다케닌(6''-acetylnodakenine), 7-히드록시-6-(2R-히드록시-3-메틸벗-3-에틸)-쿠마린(7-hydroxy-6-(2R-hydroxy-3-methylbut-3-ethyl)coumarin); 프탈라이드유도체(phthalides)인 링구스틸라이드(ligustilide), Z-부틸리넨페르탈라이드(Z-butyrideneephthalide), 부틸프탈라이드(butylphthalide); 휘발성 화합물(volatil compounds)인 2,4,6-트리메틸헵탄(2,4,6-trimethyl heptane), 노난(nonane), 언데칸(undecane), 피넨(pinene), 마이르센(myrcene), 리모넨(limonene),  $\beta$ -펠란드렌( $\beta$ -phellandrene), 엘레몰(elemol),  $\beta$ -유데스몰( $\beta$ -eudesmol), 베르베놀(verbenol), 스파틀레놀(spathulenol), 캠펜(campene); 폴리아세틸렌유도체(polyacetylenes)인 옥타데카-1,9-디엔-4,6-디인-3,8-디올(octadeca-1,9-dien-4,6-diyn-3,8,18-triol, 18-acetoxy-octadeca-1,9-dien-4,6-diyn-3,8-diol); 플라보노이드(flavonoids)인 쿼세틴(quercetin), 미리세틴(myricetin), 카테친(catechin), 유기산(organic acids), 페룰산(ferulic acid), 도데카논산(dodecanoic acid), 9,12-옥타데칸산(9,12-octadecanoic acid); 폴리사카라이드(polysaccharide)인 안젤란(angelan), 25kDa 폴리사카라이드(25kDa polysaccharide); 및 폐놀성분(phenolics) 등이다. 당귀의 주요한 유효 약리성분은 쿠마린 유도체로서, 수-난용성이며, 그 양은, D는 18.7 ~ 44.8 mg/g, DA는 11.1 ~ 36.8 mg/g 및 DOH는 0.083 ~ 0.431 mg/g 정도이다.

[0004] 상기한 유효 약리성분들 중에서도 D 및 DA는 에탄올 용매 추출시 당귀 1g 당 D는 50 mg/g, DA는 42 mg/g 정도 추출되었으나, 물 추출시 당귀 1g 당 D는 1.2 mg/g, DA는 1.4 mg/g로 추출되어, D 및 DA가 물에서는 추출율이 상대적으로 낮았다.

[0005] 현재, 당귀에 포함된 유효 약리성분을 추출하기 위해 다양한 방법이 이루어지고 있으며, 현재까지는 당귀의 유효 약리성분을 추출하기 위해서 알코올을 일반적으로 사용하고 있다. 일례로, 알코올 추출의 경우에는 당귀 1g 당 50 mg 정도의 양으로 추출할 수 있으므로, 건조 당귀 약 20g으로부터 추출 가능하다는 계산이 된다.

[0006] 그러나, 알코올의 잠재적인 독성 때문에 한국과 중국에서는 당귀로부터 유효 성분을 추출하기 위해서 열수(hot

water)를 사용하여 왔다. 그러나, 상기 기재한 바와 같이 D 와 DA는 에탄올로 당귀 1g 당 약 50 mg 정도를 추출 할 수 있으나 물로는 같은 조건에서 1 mg 정도만 추출되므로, 열수 추출은 생약재로부터 유효 약리성분을 추출하기에는 적합하지 않은 방법이다.

[0007] 따라서, 유기용매를 사용하지 않고, D 및 DA의 에탄올 추출율을 나타낼 수 있는 방법을 개발하기 위해서는 유효 약리성분 가용화 및 용출율을 증진시키는 새로운 기술 개발이 필요하다.

[0008] 최근에는 수-난용성 의약품의 용해도를 증가시키기 위해서, 화학적 또는 물리적 변형 및 담체(carrier) 시스템 등의 다양한 방법이 시도되고 있다. 이와 같은 과정의 일환으로 유기용매를 이용하여 당귀에 포함된 유효 약리성분을 추출하여 당귀가 가지는 유효 약리성분의 생체 이용률을 증진시키고자 하는 시도가 있었으나, 유기용매를 이용한 방법은 추출 과정 후 버려지는 유기용매에 의한 환경 오염의 발생 우려가 있고, 복잡한 추출 과정을 거쳐야 하기 때문에 제조 비용이 증가하는 단점이 있다.

[0009] 또한, 당귀에 포함된 유효 약리성분의 추출을 위해서 시도되었던, 극세 진동을 이용한 초음파 추출 방법 역시 당귀의 높은 생리 활성 및 면역 활성에 비해 시간과 제조 비용이 커서 효율적이지 못한 단점이 있다.

[0010] 따라서, 유기용매를 사용하지 않으면서, 적어도 당귀를 에탄올로 추출하는 정도의 추출 효율을 나타낼 수 있는 방법을 개발하기 위해서는 유효 약리성분 추출을 개선하고 가용화를 증진시키는 새로운 기술에 대한 개발이 필요한 상황이다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) (선행특허 0001) 한국공개특허 10-2013-0020390 (공개일 : 2013.02.27)

(특허문헌 0002) (선행특허 0002) 한국공개특허 10-2007-0084796 (공개일 : 2008.08.27)

(특허문헌 0003) (선행특허 0003) 한국공개특허 10-2004-0084936 (공개일 : 2004.10.06)

(특허문헌 0004) (선행특허 0004) 한국공개특허 10-2009-0129563 (공개일 : 2009.12.17)

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0012] 본 발명은 상기한 바와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 유기 용매를 사용하지 않고 용융압출하여 당귀에 포함된 유효 약리성분의 가용화를 증가시켜 생체 이용률이 현저히 향상된 당귀-고체분산체 제조방법을 제공하고자 하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0013] 전술한 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명은 (a) 당귀를 분쇄하여 당귀 분말을 제조하는 단계, (b) 미립 분쇄기를 이용해 상기 당귀분말을 미립 분쇄하여 미립 당귀분말을 제조하는 단계 및 (c) 상기 미립 당귀분말을 고전단력의 용융압출기를 이용해 용융압출하여 고체분산체를 제조하는 단계를 포함하는 당귀-고체분산체 제조방법을 제안한다.

[0014] 또한, 상기 단계 (b)는 -15 내지 -20°C의 온도 및 10,000rpm 이상의 로터 회전 속도로, 직경 210mm 크기의 분쇄 매체(grinding media)를 포함하는 미립 분쇄기를 이용하여 수행되는 것을 특징으로 한다.

[0015] 또한, 상기 미립 당귀분말은 입자크기가 40 내지 100  $\mu\text{m}$ 인 것을 특징으로 한다.

[0016] 또한, 상기 단계 (c)는 80 내지 100°C의 온도에서 수행되는 것을 특징으로 한다.

[0017] 또한, 상기 고전단력의 용융압출기는, 직경이 1 내지 3mm의 압출다이를 포함하여 이루어진 것을 특징으로 한다.

[0018] 또한, 상기 고전단력의 용융압출기는, 복수 개의 니딩디스크(kneading disk) 블럭부가 도입된 스크류를 포함하여 상기 미립 당귀분말에 고전단력을 가해 상기 고체분산체를 제조할 수 있는 것을 특징으로 한다.

- [0019] 또한, 상기 고체분산체는 입자크기가 10  $\mu\text{m}$ 이하인 것을 특징으로 한다.
- [0020] 또한, 본 발명은 상기에 기재된 당귀-고체분산체 제조방법으로 제조된 당귀-고체분산체 및 담체를 포함하는 약학 조성물을 제안한다.
- [0021] 또한, 상기 담체는 계면활성제, 수용성 중합체 또는 약제학적으로 허용되는 첨가제로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 한다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기에 기재된 당귀-고체분산체 제조방법으로 제조된 당귀-고체분산체를 유효성분으로 포함하는 기능성 식품을 제안한다.

### 발명의 효과

- [0023] 본 발명에 따른 용융압출법을 이용한 당귀-고체분산체 제조방법은 당귀를 미립 분말로 분쇄한 후, 고전단력으로 용융압출하여 고체분산체를 제조하는 저비용의 간단한 공정으로 이루어져, 유기 용매에 의한 별도의 추출과정이 없어 친환경적이고 경제적인 방법이다.
- [0024] 또한, 본 발명에 따른 당귀-고체분산체는 미립 분말을 고전단력으로 용융압출하여 당귀 내부의 난용성 유효성분이 외부로 유출된 후 분산되어 식이섬유에 콜로이드화되어 융합된 상태로 존재하기 때문에 물에 용해되었을 때 용출률이 매우 높아 생체이용률이 향상된다.

### 도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 본 발명에 따른 당귀-고체분산체 제조를 위해 사용되는 용융압출기를 모식적으로 보여주는 개념도이다.
- 도 2은 본 발명에 따른 당귀-고체분산체 제조를 위해 사용되는 용융압출기에 포함된 스크류를 나타내는 도면이다.
- 도 3은 조파쇄 당귀분말, 미립 당귀분말 및 고전단력 고체분산체의 입자표면을 SEM으로 촬영한 이미지이다.
- 도 4는 조파쇄 당귀분말, 미립 당귀분말 및 고전단력 고체분산체의 입자표면 형태를 SEM으로 더욱 확대하여 촬영한 이미지이다.
- 도 5는 에탄올 추출물, 미립 당귀분말 및 고전단력 고체분산체를 투여한 각각의 랙트의 혈장에서 검출된 DOH의 농도 변화를 나타내는 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 이하, 본 발명을 상세히 설명하도록 한다.
- [0027] 본 발명에서는 당귀에 포함된 난용성 유효 성분의 가용화를 증가시킬 수 있도록 당귀를 미립 당귀분말로 분쇄하여 당귀 입자의 단위 용적당 표면적을 증가시키고, 용융압출하여 고체분산체로 제조하여 당귀 입자로부터 난용성 유효 성분의 가용화를 증가시켜 생체이용률이 높은 당귀-고체분산체를 제조하고자 한다.
- [0028] 이를 위해 본 발명에 따른 당귀-고체분산체 제조방법은 (a) 당귀를 분쇄하여 당귀 분말을 제조하는 단계, (b) 미립 분쇄기를 이용해 상기 당귀분말을 미립 분쇄하여 미립 당귀분말을 제조하는 단계 및 (c) 상기 미립 당귀분말을 고전단력의 용융압출기를 이용해 용융압출하여 고체분산체를 제조하는 단계를 포함하여 이루어진다.
- [0029] 상기 단계 (a)는 당귀를 분쇄하여 당귀 분말을 제조하는 단계로서, 건조된 당귀 줄기 및 뿌리를 조 크러셔(jaw crusher) 또는 자이러토리 분쇄기(gyratory crusher) 등의 공지된 분쇄기를 이용하여 당귀를 분쇄하여 당귀 분말을 제조한다.
- [0030]

- [0031] 상기 단계 (b)는 미립 분쇄기를 이용해 상기 당귀분말을 미립 분쇄(ultra fine crushing)하여 미립 당귀분말을 제조하는 단계이다.
- [0032] 이때, 상기 당귀분말을 미립 분쇄하기 위한 미립 분쇄기는 공지된 다양한 형태의 제품을 사용할 수 있으며, 5 내지  $-20^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 10,000rpm 이상의 로터 회전 속도로, 직경 210mm 크기의 분쇄매체(grinding media)를 포함하는 미립 분쇄기를 이용하는 것이 바람직하며, 상기한 미립 분쇄기를 이용하여 분쇄된 미립 당귀분말은 40 내지 100  $\mu\text{m}$ 의 입자크기를 가진다.
- [0033] 상기 단계 (c)는 상기 미립 당귀분말을 고전단력의 용융압출기를 이용해 용융압출하여 고체분산체를 제조하는 단계이다.
- [0034] 도 1은 본 발명에 따른 당귀-고체분산체 제조를 위해 사용되는 용융압출기를 모식적으로 보여주는 개념도이다.
- [0035] 도 1을 참조하면, 본 발명에 따른 용융압출기는 원료 공급부, 스크류, 바렐부 및 압출다이(die)를 포함하며 이를 이용해 미립 당귀분말을 용융압출할 수 있다.
- [0036] 그리고, 용융압출하여 당귀-고체분산체를 성형하기 위해선, 용융압출기의 온도 조절, 스크류의 배열에 따른 전 단력, 스크류의 회전속도, 압출다이의 직경 크기 등의 다양한 요소를 조절하여 용융압출된 고체분산체의 물리·화학적 특성을 조절할 수 있다.
- [0037] 또한, 상기 고전단력의 용융압출기는, 복수 개의 니딩디스크(kneading disk) 블러부가 도입된 스크류를 포함하여 용융압출과정에서 상기 미립 당귀분말에 고전단력을 가해 상기 고체분산체를 제조할 수 있다.
- [0038] 도 2은 본 발명에 따른 당귀-고체분산체 제조를 위해 사용되는 용융압출기에 포함된 스크류를 나타내는 도면이다.
- [0039] 도 2 (c)를 참조하면, 본 발명에 따른 고전단력의 용융압출기는 공지된 풀플라이트스크류(full flight screw)에서 복수 개의 니딩디스크 블러부를 특징적으로 도입하여 고전단력을 가할 수 있도록 고안된 고전단력 스크류인 것으로 도 2(c)에 나타난 바와 같은 형태적 특징을 가지며 이와 같은 배열을 가진 고전단력 스크류를 포함하는 용융압출기를 고전단력 용융압출기라 한다.
- [0040] 이와 비교하여, 본 발명에서는 저전단력 스크류라는 것을 함께 사용하기로 한다. 도 2 (a)에 나타낸 저전단력 스크류는 고전단력 스크류 플라이트에 비해서 낮은 전단력을 가할 수 있는 스크류로서 스크류의 날개각도가 50 내지  $70^{\circ}$ 로 이루어지고, 전단력을 증가시킬 수 있는 니딩디스크 블러부를 포함하고 있지 않아 상기 고전단력의 스크류에 비해 전단력이 떨어지는 스크류를 말하는 것이다.
- [0041] 그리고, 도 2 (b)에 나타낸 중전단력 스크류는 상기 고전단력 스크류에 비해서 니딩디스크 블러부의 갯수가 적어 고전단력 스크류에 비해 전단력이 떨어지는 스크류를 말하는 것이다.
- [0042] 본 단계에서는 상기 고체분산체를 제조하기 위해서 수분을 25% 정도로 포함하는 상기 미립 당귀분말을 용융압출기에 투입하고 80 내지  $100^{\circ}\text{C}$ 의 온도를 유지하여 용융압출하는 것이 바람직하다.
- [0043] 또한, 상기한 고전단력 스크류를 150rpm의 속도로 회전시켜 미립 당귀분말을 용융압출하는 것이 바람직하고, 직경이 1 내지 3mm의 압출다이를 통해 고체분산체를 수득할 수 있으며, 압출다이의 직경은 1mm인 것이 더욱 바람직하다.
- [0044] 상기한 바와 같이 하여 제조된 고체분산체는 10  $\mu\text{m}$ 이하의 입자크기를 가지며, 용융압출되어 미립 당귀분말이 더욱 미분화되고 다수의 기공이 형성되어 난용성 유효 성분의 수용해도가 향상되는 효과를 가진다.
- [0045] 또한, 당귀 입자 내부의 난용성 유효성분의 화학적 변화가 유도되며, 특히, 난용성 유효성분인 D 및 DA가 분자 수준에서 외부로 유출 후 분산되어 외부의 식이섬유와 콜로이드 형태로 융합되어 있어, 물에서의 용출률이 향상되며, 이러한 물리·화학적 특성 변화로 인해 당귀의 유효성분인 D 및 DA의 생체 이용률 증가 효과를 기대할 수 있게 된다.

- [0046] 또한, 본 발명은 상기한 당귀-고체분산체 제조방법으로 제조된 당귀-고체분산체 및 담체로 이루어진 약학 조성물을 제안한다.
- [0047] 상기한 담체는 계면활성제, 수용성 중합체 또는 약제학적으로 허용되는 첨가제 중 하나 이상을 포함하여 이루어지는데, 보다 상세히 설명하면, 상기한 계면활성제는 지방산 에스테르계, 천연 식물성 오일, 에틸렌 글리콜계 반응생성물 또는 글리세롤 등으로 이루어져 약학 조성물을 제조시 첨가하여 당귀-고체분산체의 탈수로 인해 상대적으로 불안정성을 해소하여 당귀-고체분산체에 포함된 유효성분의 물성의 안정성 및 저장성을 향상시킬 수 있다.
- [0048] 또한, 상기 수용성 중합체는 다당류, 셀룰로오스계, 고분자 다당체 또는 산화물 공중합체 등으로 이루어져 약학 조성물을 제조시 첨가하여 당귀-고체분산체의 흐름성 및 물성을 향상시킬 수 있으며, 상기 약제학적으로 허용되는 첨가제는 당귀-고체분산체를 경구투여용으로 제조하기 위해서 부형제 또는 활택제 등과 같은 약제학적 첨가제를 추가로 첨가하여 생리학적 동등조건에서 겉보기 용해도가 증가한 경구투여용 당귀-고체분산체 약학 조성물을 제조하여 이용할 수 있다.
- [0049] 또한, 본 발명은 당귀-고체분산체를 유효성분으로 포함하는 기능성 식품을 제안한다.
- [0050] 본 발명에 따른 당귀-고체분산체는 이를 고형분으로 포함하도록 액상추출하여 기능성 음료로 제조하거나, 당귀-고체분산체를 티백 등의 보관용기에 담아 손쉽게 음용할 수 있는 침출차의 형태를 가지는 기능성 식품으로 제조할 수 있다.
- [0051] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 이를 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.
- [0052] <실시예>
- [0053] (1) 원료 및 재료 준비
- [0054] 당귀를 평창의 지역시장에서 구입하였으며, 경산에 있는 한국한방산업진흥원(Korea Promotion Institute for Traditional Medicine Industry, Gyeongsan, Korea)에서 D, DA, 및 DOH의 표준 시료를 구했다. 실험에 사용된 모든 용매는 HPLC 등급을 사용했다. 다른 모든 화학물질들은 분석 등급을 사용하여, 추가적 정제 과정 없이 사용하였다.
- [0055] (2) 당귀-고체분산체의 제조
- [0056] 당귀를 55 °C 오븐에서 24시간 동안 건조하고, 실온에서 냉각시켰다. 당귀 시료를 밀링하기 전까지 4 °C에서 보관하였다. 당귀 시료를 핀 크러셔(pin crusher, Myungsung Machine, Seoul, Korea)를 이용하여 당귀 분말(coarse powder)로 분쇄하고, 조분말을 저온 터보 밀기(turbo mill, HKP-05; Korea Energy Technology Co., Ltd., Seoul, Korea)로 미립 분쇄 후 분류하였다. 미립 당귀분말을 고회전 속도의 임펠러(impeller)를 통과시킨 후에 미립 분쇄하였고, 3 단계로 구성되는 스테이터 분류 시스템(stator classifier system)에서 원심력과 항력을 사용하여 당귀분말 입자를 분류했다. 미립 당귀분말(ultra fine powder)을 제조하는 과정에서는 로터(rotor) 속도를 10,500 rpm으로 설정하고, 분쇄 매체의 직경은 210 mm인 것을 사용했다. 밀링 챔버(milling chamber)의 온도는 -18 °C를 유지했다.
- [0057] 고체분산체를 제조하기 위해서, 미립 당귀분말을 트윈 스크류 압출기(STS-25HS twin-screw extruder)를 사용하여 전단력을 달리하여 압출시켰다. 배열이 다른 각각의 스크류를 사용하여 저전단력, 중전단력 및 고전단력을 구현했다. 용제로서 물을 함께 투입하였다.
- [0058] 열용융압출기의 스크류의 속도는 150 rpm으로 하고, 바렐부의 온도는 하기 표 1에서와 같이 조절하여 진행하였다. 제조된 고체분산체는 40 °C 오븐에서 건조하였다.

[0059] &lt;실험예&gt;

[0060] (1) 제조된 당귀-고체분산체의 입자 크기 분석

당귀 입자의 평균 크기는 입자 크기 분석기(particle size analyzer, Mastersizer-2000; Malvern Ins., Ltd., Worcestershire, UK)를 이용하여 측정했다. 입자 크기 측정을 위해서, 준비된 당귀 입자를 1 : 400 (w/v)의 비율로 10 mL 증류수에 분산시켜 혼탁액을 만들었다. 혼탁액은 실온에서 3분간 연속적으로 교반하였으며, 90°의 산란각으로 25 °C에서 측정하였다. 모든 시료에 대하여 9번을 측정하였으며, 평균 입자 크기를 하기 표 1에 나타냈다.

[0062] [표 1] 제조된 당귀분말 및 고체분산체의 평균 입자 크기

제형	입자 크기 ( $\mu\text{m}$ )			
	$d(0.1)$	$d(0.5)$	$d(0.9)$	평균 = 표준편차
1. 당귀분말	33.6	276.9	721.1	$329.3 \pm 2.4$
2. 미립 당귀분말	7.9	37.9	102.9	$47.9 \pm 2.5$
3. 저전단력 고체분산체	11.8	61.5	170.6	$78.0 \pm 2.5$
4. 중전단력 고체분산체	8.7	36.1	88.8	$44.9 \pm 2.2$
5. 고전단력 고체분산체	8.3	34.9	86.5	$42.3 \pm 2.2$

[0063] [0064] 단, 각각의 수치는 표준편차를 포함하여 나타낸 것임(mean  $\pm$  SD).

표 1 및 도 2에 나타난 바와 같이, 용융압출법 이전 단계인 당귀분말 또는 미립 당귀분말의 경우에는 고전단력 고체분산체보다 입자 크기가 큰 것을 알 수 있었다. 입자 직경 감소는 단위 용적당 입자 표면적 증가로 이어지며, 입자로부터 수-난용성 유효 활성 성분의 물에 대한 용해도(또는 물 추출률)가 증가되는 효과를 가져온다. 특히, 본 실험에서는 열용융압출기에 시료를 넣기 위해 반드시 미립 당귀분말로 분쇄하는 과정이 필요하였다.

[0065] [0066] 전단력 세기가 증가함에 따라 평균 입자 직경이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 특히, 고전단력 고체분산체의 경우에는 평균 입자 크기가 약 42  $\mu\text{m}$ 로서 매우 작은 값의 입자 크기를 가지는 것을 확인할 수 있었다.

[0067] (2) 고체분산체 혼탁액의 상층액에서의 입자 크기 측정

제조된 각 고체분산체 0.3 g을 30 mL의 증류수에 혼탁시키고, 제조된 혼탁액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상층액(supernatant)을 얻었다. 빛 산란 분광기(light-scattering spectrophotometer, ELS-Z; Otsuka Electronics, Tokyo, Japan)를 이용하여 상층액에 포함된 고체분산체의 입자 크기 및 다분산성 지수(polydispersity index)를 측정하여 표 2에 나타냈다.

[0068] [표 2] 고체분산체 혼탁액 내에서의 입자 크기 및 다분산성 지수(n=3)

	직경 (nm)	다분산성 지수
당귀분말	$506.4 \pm 56.4$	$0.31 \pm 0.03$
미립 당귀분말	$676.9 \pm 21.7$	$0.38 \pm 0.01$
저전단력 고체분산체	$664.8 \pm 103.1$	$0.39 \pm 0.05$
중전단력 고체분산체	$443.3 \pm 23.5$	$0.28 \pm 0.02$
고전단력 고체분산체	$495.0 \pm 67.9$	$0.30 \pm 0.03$

[0069] [0070] 표 2에 나타난 바와 같이, 혼탁액 내에서 미립 당귀분말은 당귀분말에 비해 입자 직경이 작게 나타났으며, 고전단력 당귀-고체분산체는 500nm 이하의 직경을 가지는 입자가 형성되어 당귀분말 및 미립 당귀분말보다 입자 직

경이 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0072] 다분산성 지수는 입자의 분산도를 나타내는 지수로서, 이에 의해 입도 분포가 좁은지 넓은지를 평가할 수 있다. 측정 결과, 모든 제형에 있어서 다분산성 지수 값이 0.2 ~ 0.3 정도로 측정되어, 입자가 고르게 형성되었음을 알 수 있었다.

[0073] 이는 물 및 당귀 분말을 투입하여 열용융압출법을 진행하는 동안, 당귀 세포의 셀룰로오스 성분들이 기질 (matrix)로 작용하고, 기질에 난용성 유효 성분이 분산되면서 나노입자가 생성된 것으로 추정된다.

[0074] 이상의 결과와 같이, 고체분산체의 입자 직경이 감소하면 이에 따라 표면적이 증가하기 때문에, 결과적으로 입자 크기의 감소는 난용성 성분의 물에 대한 용해도 향상에 기여할 것이라는 사실을 알 수 있다.

### [0075] (3) SEM 분석

[0076] 가속 전압이 5kV로 설정된 SEM(scanning electron microscopy, JEOL, JSM-6380, Japan)을 사용하여 시료 표면의 형태를 조사하였다. 각 시료를 탄소 테이프(carbon tape)를 사용하여 SuS 판(SuS stage)에 올려 두고, 공기 주입하에 90초 동안 백금 코팅하였다. SEM 촬영 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

[0077] 도 3 및 도 4에 나타난 바와 같이, 전반적으로 입자는 불규칙한 모양을 보였으나, 당귀분말에 비해 미립 당귀분말의 경우 입자 크기가 현저히 감소한 것을 확인할 수 있다.

[0078] 특히, 고전단력 고체분산체의 경우에는 입자 표면에 수많은 세공이 형성된 것을 확인할 수 있었다. 이는, 분쇄 후 고전단력에 의한 용융압출법으로 성형하면, 열용융압출시 당귀 입자의 물리·화학적 특성이 변하는 생각된다. 특히, 고전단력 고체분산체 입자 표면에 존재하는 수많은 세공은 당귀 입자의 수분 흡수력 증진과도 연관지을 수 있다.

### [0079] (4) 수분흡착지수(Water Absorption Index, WAI), 수분용해지수(Water Solubility, WS) 및 팽윤력(Swelling Power, SP) 측정

[0080] 당귀 고체분산체의 수분 흡수 관련 지수를 평가하여 고체분산체의 유효성분 추출과 관련된 기초 근거를 제공하기 위하여, 수분 흡수 관련 지수를 평가하였다. WSI는 세 차례 반복하여 측정하였다. 각 시료를 실온에서 1시간 동안 30 mL의 중류수에 혼탁시켜 천천히 교반하고, 3000 rpm에서 20분간 원심분리했다. 무게를 알고 있는 중발 접시에 상층액을 부었다. WAI, WS 및 SP를 하기 수학식을 이용하여 계산하였으며, 표 3에 그 결과를 나타냈다. WAI는 건조 시료 중량에 대한 습과 침전물의 비를 나타내고, WS는 상층액에 추출된 시료의 중량비를 나타낸다.

#### [0081] [수학식]

$$\text{수분흡착지수 (WAI)} = \frac{\text{습과 침전물 중량}}{\text{건조 시료 중량}}$$

$$\text{수분용해지수 (WS, \%)} = \frac{\text{건조 상층액 중량}}{\text{건조 시료 중량}}$$

$$\text{팽윤력 (SP)} = \frac{\text{습과 침전물 중량}}{\text{건조 시료 중량} \times \left(1 - \frac{\text{수용해도}(\%)}{100}\right)}$$

[0082]

[표 3] 제조된 당귀 및 당귀-고체분산체의 WSI, WS 및 SP (평균±표준편차)

제형	WAI	WS (%)	SP
1. 당귀분말	7.41 ± 0.50	35.69 ± 0.94	11.52 ± 1.31
2. 미립 당귀분말	4.27 ± 0.41	41.54 ± 1.24	7.31 ± 1.28
3. 저전단력 고체분산체	4.75 ± 0.42	43.35 ± 1.49	7.65 ± 1.42
4. 중전단력 고체분산체	4.63 ± 0.93	45.21 ± 1.28	7.61 ± 0.88
5. 고전단력 고체분산체	4.18 ± 0.83	48.10 ± 1.30	7.08 ± 0.41

[0084]

표 3에 나타난 바와 같이, 미립 당귀분말의 경우 당귀분말에 비해 입자 크기가 작으므로 입자의 물에 대한 용해도가 증가해 WAI는 감소하고, WS는 증가하였다. 저전단력에서 고전단력 시료로 갈수록 같은 원리에 의해 WAI는 감소하고 WS는 증가하였다.

[0085]

특히, 고전단력 고체분산체의 경우에는, 저전단력 고체분산체에 비하여, WAI가 4.18로서 수분흡착지수가 현저히 감소하였고, WS가 48.10으로서 수분용해지수가 현저히 증가하였으며, SP가 7.08로서 팽윤력이 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0086]

#### (5) 당귀분말 및 고체분산체의 물에서의 추출률 측정

[0087]

제조된 당귀분말 0.3 g 또는 고체분산체 0.2 g을 30 mL 증류수에 넣고 혼합한 후, 교반기에 넣고, 40 °C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하여 상층액과 침전물을 분리하였다. 상층액을 진공 증발기(vacuum-evaporator)에서 건조하였다. 제조된 각 시료의 D와 DA를 정량 분석하기 위해서 HPLC(high-performance liquid chromatography, HPLC; LC-20AT, Shimadzu Scientific Instruments, Tokyo, Japan)로 분석하였고, 그 실험 조건은 하기 표 4에 나타내었다. D와 DA를 함유한 표준 시료(10, 20, 40, 60 and 80 µg/mL of D and DA)를 제조하여 검량선(calibration curve)을 만들었다.

[0088]

#### [표 4] D와 DA의 HPLC 분석 조건

Instrument	Shimadzu LC-20AT HPLC system	
Column	C18 column (Kinetex, 100 × 4.6 mm, 2.6 µm, Phenomenex)	
Detector	C18 컬럼 (Kinetex, 100 × 4.6 mm, 2.6 µm, Phenomenex)	
Solvent A	0.4 % 염산을 포함하는 수용액	
Solvent B	아세토니트릴	
Flow rate	1 mL/min	
Injection volume	10 µL	
Gradient elution system	%A	%B
Initial	33	67
15 min	45	55
30 min	55	45
40 min	80	20
45 min	33	67
60 min	33	67

[0089]

상기의 방법으로 유효 약리성분인 D 및 DA의 물에서의 추출률(용해도)을 측정하여 표 5에 나타내었다.

[0092] [표 5] 각 시료로부터 물 추출된 D 및 DA의 양

제형	D (mg/g)	DA (mg/g)
1. 당귀분말	1.20	1.42
2. 미립 당귀분말	1.85	2.08
3. 저전단력 고체분산체	2.64	2.08
4. 중전단력 고체분산체	4.16	3.59
5. 고전단력 고체분산체	5.43	4.72

[0093] [0094] 표 5에 나타난 바와 같이, 미립 당귀분말의 경우 당귀분말에 비해 D 및 DA의 물에서의 추출률이 증가하였다. 고체분산체 제조시 전단력이 증가할수록 D 및 DA의 물에서의 추출률 역시 현저히 증가하였다. 특히, 고전단력 고체분산체의 경우에는 D의 추출량이 5.43 mg/g, DA의 추출량이 4.72 mg/g으로서 저전단력 고체분산체 및 중전단력 고체분산체에 비하여 현저히 향상된 물 추출량을 나타냈다. 물에서의 D 및 DA 추출률 증진은 경구 투여 후 위장관 내에서 용출률 향상으로 연결될 수 있다.

[0095] (6) 다양한 pH 조건에서의 D 및 DA의 용해도 측정

[0096] [0097] 제조된 각각의 고체분산체를 pH 1.2 또는 pH 6.8의 완충용액 30 mL과 혼합하였다. 혼합물을 40 °C에서 2시간 동안 교반기에서 교반하였다. 혼합물을 여과하여 상층액과 침전물을 분리하였다. 상층액을 진공건조기에서 건조하였다. 제조된 고체분산체 각 제형에서의 D 및 DA의 함량을 HPLC로 정량 분석하였다. 정량 분석에 사용된 HPLC(HPLC; LC-20AT, Shimadzu Scientific Instruments, Tokyo, Japan) 분석 조건은 상기 표 6과 같다.

인공 위액 (pH 1.2) 및 인공 장액 (pH 6.8) 환경에서, 각 고체분산체로부터 당귀의 난용성 성분인 D 및 DA의 용출률을 평가하여 하기 표 6에 나타냈다.

[0098] [표 6] 위액 (pH 1.2) 및 장액 (pH 6.8) 환경에서의, D 및 DA의 용출률(mg/g, w/w)

제형	pH 1.2		pH 6.8	
	D (mg/g)	DA (mg/g)	D (mg/g)	DA (mg/g)
에탄올 추출물	0.73 ± 0.09	0.64 ± 0.08	1.48 ± 0.19	1.33 ± 0.18
당귀분말	1.32 ± 0.30	1.74 ± 0.41	1.32 ± 0.01	1.70 ± 0.01
미립 당귀분말	0.91 ± 0.03	1.40 ± 0.05	1.04 ± 0.01	1.62 ± 0.01
저전단력고체분산체	2.16 ± 0.15	3.39 ± 0.25	2.19 ± 0.17	3.38 ± 0.26
중전단력고체분산체	2.78 ± 0.14	4.37 ± 0.22	1.90 ± 0.12	2.89 ± 0.19
고전단력고체분산체	2.08 ± 0.07	2.14 ± 0.07	2.28 ± 0.06	2.34 ± 0.05

[0100] [0101] 표 6에 나타난 바와 같이, 열용융압출법으로 전단력을 가해 제조한 시료의 경우 당귀분말 및 미립 당귀분말보다 D 및 DA의 용출률이 높게 나타났다.

이상과 같이, 인공 위액 및 인공 장액의 pH 환경에서 유효성분인 D 및 DA의 용출이 증가된 결과에 따라, 당귀 제형을 경구 투여하는 경우에 고체분산체를 투여하면 난용성 유효성분인 D 및 DA가 위장액에 보다 효과적으로 용출될 수 있을 것임을 예측할 수 있었다.

[0102] (7) 랫트에서의 약물동력학적 특성 분석

[0103] 수컷 SD 랫트(Sprague-Dawley rat, 무게 250 ± 5 g, Orient Bio, Sungnam, Korea)에서 생체 내 약물 동역학

연구를 수행하였다. 혈액 채취를 위해 마취 하에서 좌측 대퇴부 동맥에 폴리에틸렌튜브(polyethylene tube, PE-50, Becton Dickinson Diagnostics, MD, USA)를 삽관하였다.

[0104] 실시예에서 제조한 각 고체분산체 제형을 100 mg/kg 에탄올 추출물에 해당하는 용량으로 경구 투여하였다. 주사 후, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 240 및 480 분에 200  $\mu$ L의 혈액 시료를 대퇴부 동맥으로부터 채혈하였다. 채혈한 혈액 시료를 4 °C, 16,000 rpm에서 2.5분간 원심분리하고, 일정 부분(70  $\mu$ L)의 상층액인 혈장 시료를 분석 할 때까지 -70 °C에 보관하였다.

[0105] 랫트 혈장 중 DOH의 농도를 액체 크로마토그래피 텐덤 질량분석 시스템(liquid chromatography-tandem mass(LC-MS/MS) system)으로 측정하였다. 혈장 시료 50  $\mu$ L에, 5  $\mu$ L의 로잘탄(LST, 내부 표준 물질) 용액(10  $\mu$ g/mL) 및 아세토니트릴을 첨가한 후, 5분간 와류 교반(vortex-mix)하였다. 그 후, 16,000 rpm에서 5분간 원심 분리한 후, 상층액(5  $\mu$ L)을 HPLC(Agilent Technologies 1260 Infinity HPLC system Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) 시스템이 장착된 액체크로마토그래피 텐덤 질량 분석기에 주입하였다. 크로마토그래피는 Synergi™ 4  $\mu$  Hydro-RP 80 Å 컬럼(75 × 2.0 mm; Phenomenex, CA, USA) 및 C18 가드 컬럼(C18 guard column; 4 × 2.0 mm; Phenomenex, CA, USA)을 이용하여 분리하였다. 이동상은 아세토니트릴 및 5mM 포름산 암모늄 완충액(70:30, v/v)을 사용하였고, 유속은 0.4 mL/분이었다. ESI 소스 설정은 수동으로 최적화하였다: 가스 온도, 가스 유량, 분무기의 압력 및 모세관 전압은, 각각 300 °C, 11 L/분, 15 psi 및 4000 V였다.

[0106] 과편 전압(fragmentor voltage)는 DOH에 대하여 m/z 247.1에서 229.1이었으며, LST에 대하여는 m/z 423.4에서 207.3이었다. 과편화 전압 및 충돌 에너지는 각각 DOH에 대하여는 96 V 및 16 V, LST는 115 V 및 20 V였다. DOH 및 LST의 머무름 시간(retention time)은 각각 0.71분 및 0.47분이었다. 데이터 수집과 처리는 정량분석 소프트웨어(MassHunter Workstation Software Quantitative Analysis, Version B.05.00; Agilent Technologies)로 수행하였다. DOH의 약물동력학적 파라미터(매개변수)는 윈Nonlin 프로그램(WinNonlin program, Version 3.1; Pharsight, Mountain View, CA, USA)으로 산출하였다.

[0107] 본 약동학 실험에서는 D 및 DA의 혈중 농도가 아닌, DOH의 혈중 농도를 측정하였다. 이는, 당귀의 난용성 성분인 D 및 DA의 경우, 경구 투여시 소장에서 흡수된 후 간에서 DOH로 대사되기 때문에, 고체분산체를 경구 투여한 후 DOH를 측정하여 각 고체분산체의 흡수율을 평가하였다. OH의 혈중 약물 농도 곡선을 도 5에 나타냈으며, 계산된 약물동력학적 파라미터는 표 7에 나타냈다.

[0108] [표 7] 체내 DOH의 약물동력학적 파라미터 ( $n \geq 3$ )

매개 변수	에탄올 추출물	미립 당귀분말	고전단력 당귀 고체분산체
AUC ( $\mu$ g·min/mL)	$151.40 \pm 58.29$	$784.27 \pm 174.27^{\#}$	$973.14 \pm 85.80^{\#}$
$C_{max}$ (ng/mL)	$724.51 \pm 340.80$	$2978.75 \pm 1432.02^{\#}$	$3090.92 \pm 633.51^{\#}$
$T_{max}$ (min)	60 (30-120)	120 (60-120)	90 (60-120)
$F_{rel}$ (%)	100	518	643

[0109]

# $p < 0.05$ , 에탄올 추출물 군과 비교

[0110]

\* $p < 0.05$ , 미립 당귀분말 군과 비교

[0111]

+ $p < 0.05$ , 고전단력 당귀-고체분산체와 비교

[0112]

표 7에 나타난 바와 같이, 경구 투여 후 고전단력 당귀-고체분산체에서는 에탄올 추출물보다 6.43배 높은 상대 생체이용률( $F_{rel}$ )을 보였다.

[0113]

또한, 최고 혈중 농도( $C_{max}$ )도 미립 당귀분말 및 고전단력 당귀-고체분산체에서 에탄올 추출물에 비해 통계적으로

로 유의성 있게 혈중 농도가 높은 것을 확인할 수 있었다.

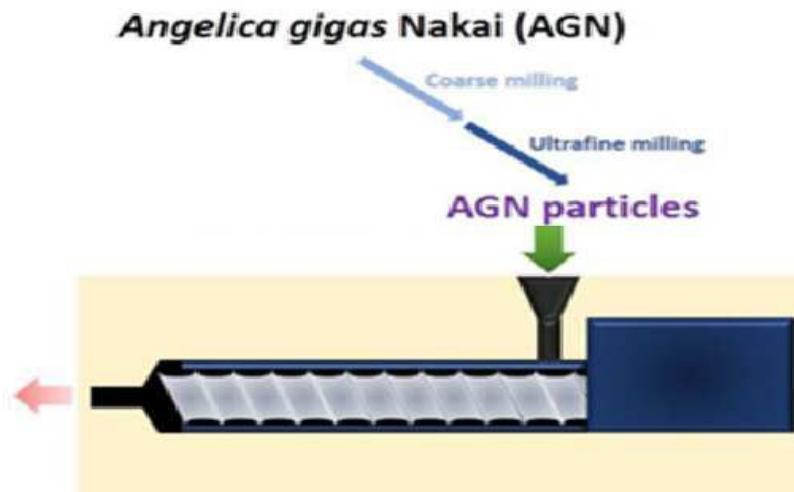
[0115] 그리고, 도 5에 나타난 바와 같이 고전단력 당귀-고체분산체에서 경구 투여한 랫트의 혈장에서 검출된 DOH의 농도가 에탄올 추출물에 비해 현저히 높은 것을 확인할 수 있다.

[0116] 따라서, 혈장에서 검출된 DOH의 농도가 높은 것으로 미루어 볼 때, 고전단력 당귀-고체분산체의 생체이용률이 높을 것을 예상할 수 있다.

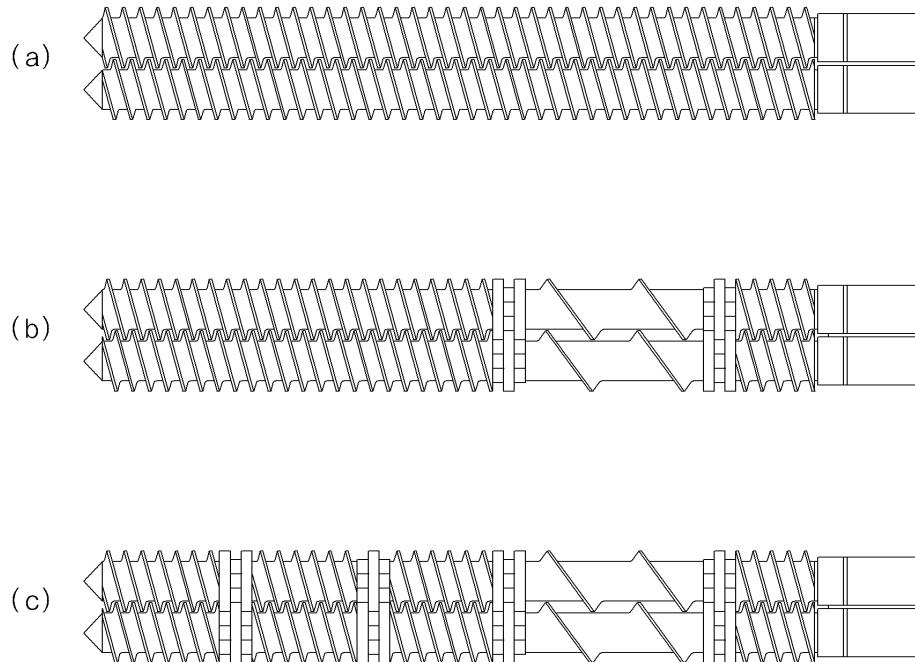
[0117] 이상과 같이, 고전단력 당귀-고체분산체에서 DOH의 상대 생체이용률이 상승하는 이유는 앞서 살펴본 바와 같은, 좁은 입자 크기 분포를 갖는 500 nm 이하의 나노입자 혼탁액 생성 및 pH 6.8에서의 유효 약리성분의 용출률을 증가에 의한 것으로 추측할 수 있다. 고전단력 당귀-고체분산체에서와 같이 상대 생체이용률이 증가하면, 제형 복용시 약리 효과 발현을 위한 1회 복용량을 줄일 수 있고, 이에 따라 상대적인 치료 효과를 증진시킬 수 있다는 장점이 있다.

## 도면

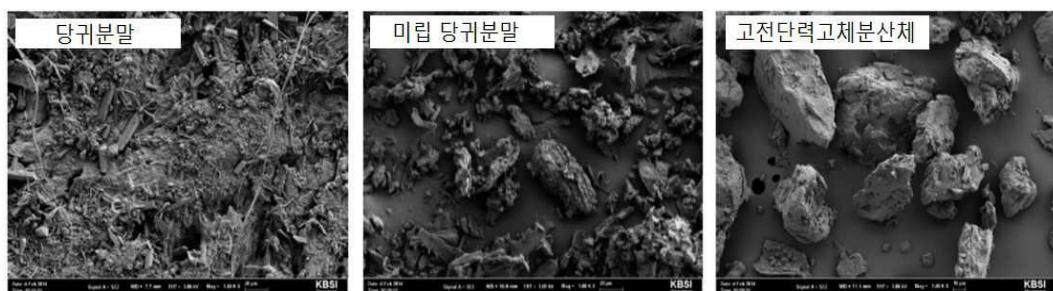
### 도면1



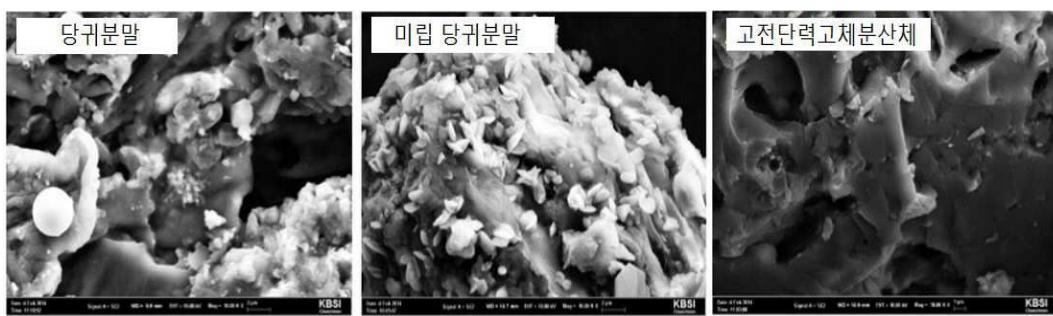
도면2



도면3



도면4



## 도면5

