



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0100960
 (43) 공개일자 2015년09월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 33/06 (2006.01) *A61K 31/593* (2006.01)
A61K 33/30 (2006.01)
- (52) CPC특허분류(Coo. Cl.)
A61K 33/06 (2013.01)
A61K 31/593 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7022508(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2009년01월28일
 심사청구일자 空
- (62) 원출원 특허 10-2010-7015770
 원출원일자(국제) 2009년01월28일
 심사청구일자 2013년10월01일
- (85) 번역문제출일자 2015년08월20일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2009/005042
- (87) 국제공개번호 WO 2009/095798
 국제공개일자 2009년08월06일
- (30) 우선권주장
 61/023,997 2008년01월28일 미국(US)
- (71) 출원인
 뷰티 펄 그룹 리미티드
 중국 홍콩 구룡 야우 마 테이 19 타크 청 레인 타크 청 코트 쥐/에프 샵 3
- (72) 발명자
 탐, 윤, 카우
 중국 홍콩 뉴 테리토리스 원룽 텐 얀 로드 넘버 2
 페이즈 1 센트럴 파크 타워즈 16층 룸 이
 린, 저
 중국 홍콩 뉴 테리토리스 마 온 산 심포니 베이
 빌라 콘체르토 블럭 8 플랫 1에이치
- (74) 대리인
 김해중

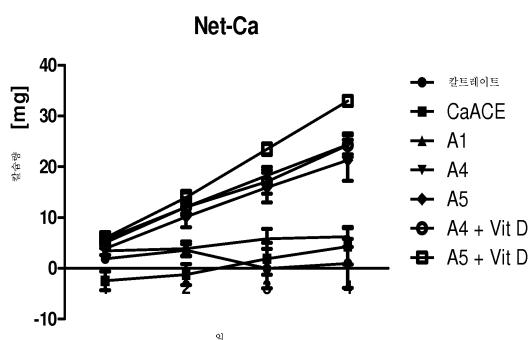
전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 골다공증을 예방 및 개선하기 위한 칼슘, 마그네슘, 아연, 및 비타민 D₃를 포함하는 배합물

(57) 요약

골다공증을 방지하고 치료하기 위한 조성물은 칼슘, 마그네슘 및 아연의 아세테이트 염뿐만 아니라 비타민 D₃를 포함하는 조성물에 의해 제공된다. 상기 아세테이트 염은 진주, 산호 및 쿠과 같은 천연 공급원으로부터 추출되거나 또는 합성 물질을 사용하여 제작될 수 있다. 마그네슘에 대한 칼슘의 중량비는 0.5:1 내지 4:1이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류(Coo. Cl.)
A61K 33/30 (2013.01)

특허청구의 범위

청구항 1

칼슘 함유 공급원 또는 합성 아세트산칼슘 함유 공급원으로부터 추출된 적어도 22.75 중량%의 초기 조성을 포함하고, 상기 초기 조성은 마그네슘 및 아연에 의해 강화되어 적어도 4 중량%의 칼슘, 적어도 5 중량%의 마그네슘, 적어도 0.2 중량%의 아연, 및 적어도 400 IU의 비타민 D₃의 최종 조성을 제공하는 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 칼슘 함유 공급원은 진주, 산호, 굴, 또는 천연 광물인 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 마그네슘이 아세테이트 염 형태인 조성물.

청구항 4

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 아연이 아세테이트 염 형태인 조성물.

청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 마그네슘에 대한 칼슘 중량비 0.5:1 내지 4:1를 포함하는 조성물.

청구항 6

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 마그네슘에 대한 칼슘 중량비 1:1 내지 2:1를 포함하는 조성물.

청구항 7

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 마그네슘에 대한 칼슘 중량비 0.05:1 내지 0.20:1를 포함하는 조성물.

청구항 8

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 마그네슘에 대한 칼슘 중량비

0.05:1 내지 0.1:1을 포함하는 조성물.

청구항 9

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 5~40 mg의 아연을 포함하는 조성물.

청구항 10

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 400 내지 1200 IU의 비타민 D₃를 포함하는 조성물.

청구항 11

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘 및 25 내지 500 mg의 마그네슘을 포함하는 조성물.

청구항 12

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘 및 50 내지 150 mg의 마그네슘을 포함하는 조성물.

청구항 13

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 220 mg의 칼슘당 400 내지 1200 IU의 비타민 D₃을 포함하는 조성물.

청구항 14

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 탄산칼슘보다는 단위 중량당 더욱 생체이용가능한 칼슘을 포함하는 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항중 어느 한 항에 따른 조성물을 인간 또는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 또는 동물에서 골다공증 증상을 개선 또는 예방하는 방법.

청구항 16

제 15항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 방법.

청구항 17

제 15항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함하는 방법.

청구항 18

제1항 내지 제 14항중 어느 한 항에 따른 조성물을 인간 또는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 또는 동물에서 뼈 무기질 밀도를 증가시키는 방법.

청구항 19

제 18항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 방법.

청구항 20

제 18항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함하는 방법.

청구항 21

골다공증 증상을 개선하기 위한 제1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 조성물의 용도.

청구항 22

제 21항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 용도.

청구항 23

제 21항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함하는 용도.

청구항 24

뼈 밀도를 증가시키기 위한 제1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 조성물의 용도.

청구항 25

제 24항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당
50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 용도.

청구항 26

제 24항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함하는 용도.

청구항 27

식이성 칼슘 및 마그네슘 흡수를 증진시키기 위한 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 조성물의 용도.

청구항 28

제 27항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당
50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 용도.

청구항 29

제 27항에 있어서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함하는 용도.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 골다공증을 예방 및 치료하기 위한 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 칼슘, 마그네슘 및 아연의 아세테이트 염과 함께 비타민 D₃을 포함하는 원소성 조성의 배합물을 제공한다. 상기 아세테이트 염은 진주, 산호, 및 굴과 같은 천연 공급원으로부터 추출될 수 있거나 또는 합성 물질을 사용하여 합성될 수 있다.

배경기술

[0002] 본 출원은 2008년 1월 28일 출원된 미국 가출원 번호 61/023,997호를 우선권 주장하고 있다. 이 출원의 전체 내용 및 개시된 내용은 본 출원에 참고로 포함된다.

[0003] 본 출원을 통하여, 다양한 참고문헌이 참고되며 또 이들 문헌의 개시내용은 본 발명이 관련된 종래 기술을 더욱 충분하게 기재하기 위하여 본 출원에 참고로 포함된다.

[0004] 칼슘은 뼈에서 주요 원소이다. 체내 칼슘의 99% 이상이 뼈에 존재한다. 뼈 무기질 함량의 약 80-90%는 칼슘 및 인으로 구성된다. 식품으로부터 칼슘을 적절히 섭취하는 것은 뼈 성장 및 유지에 필수적이다. 골다공증은 뼈 덩어리의 현저한 손실에 의해 유발되는 질병으로서, 골절의 용이성 증가를 초래한다. 이러한 상태는 흔히 35세 이상의 여성에서 흔히 발견된다. 더욱 흔히, 이것은 폐경 후의 여성에서 발견된다(Ilich and Kerstetter, 2000; Ilich et al., 2003).

[0005] 칼슘의 식이 보충은 지난 50년 동안 뼈 건강 유지에서 주요 인자로 생각되어 왔다(Seelig et al., 2004). 그러나, 칼슘 소비 증가의 이득은 뼈 건강에 분명하게 드나지 않고 있었다. 대신, 고 칼슘 섭취는 더 높은 심장병 발병과 관련될 수 있다(Seelig et al., 2004). 심장병 증가 우려는 식이에서 마그네슘에 대한 칼슘의 비율(Ca/Mg)의 지속적인 증가에 기인하였다. Ca/Mg 비는 1900 내지 1940년대에 2/1에서 1960년대에는 >3/1로, 2000년에는 >6/1로 증가하였다. 2000년에서 매일 추천된 섭취량(DRI)은 >3/1 내지 >4/1이었다.

[0006] 뼈 간강에 대한 식이 칼슘의 중요성에 관한 문헌에는 상충되는 보고가 있었다. 헤니(1993b; Heaney, 1993a)는 1988년과 1993년 사이에서 보고된 칼슘의 43개 연구를 검토하였다. 16개 연구는 칼슘이 뼈 손실에 대하여 아무런 영향을 갖지 않는다고 나타내었지만, 칼슘 섭취가 제어된 19건의 위약-제어 연구 중의 16건은 무기질이 뼈 손실을 예방하거나 느리게함을 나타내었다.

- [0007] 에스트로겐 결핍이 칼슘 보충의 효과를 압도하는 기간(Riis et al., 1987)인 폐경한지 5년 이내의 여성을 대상 한 12건의 연구에서, 모두는 칼슘이 현저히 유리한 효과를 가짐을 나타내었다.
- [0008] 노령 여성에서, 뼈 무기질 밀도(BMD) 및 몇 개의 중요한 영양 변수 사이에는 유의한 관계가 존재함을 나타내 보였다: 칼로리 섭취는 다량영양소, 단백질, 칼슘, 마그네슘, 아연 및 비타민 C에 의해 제공되었다(Ilich et al., 2003).
- [0009] 2000년대 초기에는, 매일 칼슘 섭취량은 2,500 mg에 달하였다(Seelig et al., 2004). Ca/Mg 증가는 주로 칼슘 섭취 증가에 기인한 것이고, 마그네슘의 변화에 기인한 것이 아님에 유념해야 한다. 칼슘의 매일 요구량은 최근 재평가되었다(Hunt and Johnson, 2007). 749 mg의 칼슘이라는 평균 섭취량이 필요한 것으로 밝혀졌고, 이는 이전의 평가값 보다 낮은 값이다.
- [0010] 1개 임상 시험에서, 43명의 초기 폐경 후 여성은 임의로 처리군의 하나에 할당하였다: 경피 에스트라디올, 경구 칼슘 (2000 mg/일) 또는 위약. 앞팔, 몸 전체 및 척추에서 뼈 무기질 함량은 에스트라디올 군에서는 동일하게 유지하였다; 그러나, 칼슘 및 위약 군에서는 감소가 있었다. 칼슘은 어떠한 유의한 효과를 나타내지 않았으며 또 칼슘 보충은 피질 골 손실에 대하여 경미한 효과를 가질 것이지만, 해면골에 대해서는 아무런 효과도 없었다.(Riis et al., 1987)
- [0011] 1988년에서 1994년에 걸쳐 실시한 국가 건강 및 영양 검사 조사(National Health and Nutritional Examination Survey: NHANES)에서, 인종, 인체 조성, 운동, 알코올 섭취, 흡연 상태 및 영양 섭취와 같은 변수를 평가하기 위한 예상 모델을 확립하였다(Bass et al., 2006). 영양 섭취는 칼슘, 인, 마그네슘, 철, 아연, 나트륨 및 칼륨과 같은 원소를 포함한다. 20세 이상인 7532명의 여성 중에서 원소 섭취는 골다공증의 예측변수가 아니었다. 평균 칼슘 섭취가 659 mg이고 또 마그네슘 섭취는 241 mg이기 때문에 이러한 관찰은 놀라운 것이 아닐 수 있다. 이들 값은 RDA의 값 각각 1000 mg 및 310 mg 보다 낮았다.
- [0012] 신체적 활동은 척추 뼈 무기질 밀도 증가와 연관이 있었다(Kanders et al., 1988). 활동을 하지 않으면, 척추 뼈 무기질 밀도는 칼슘 섭취에 의존적이었다. 그러나, 칼슘 섭취가 800 내지 1000 mg/일을 초과할 때, 척추 뼈 무기질 밀도는 운동을 하지 않을 시 칼슘 섭취에 의존적이지 않다. 칼슘 섭취가 800 내지 1000 mg/일일 때에는 부가적인 칼슘 소비에 따른 부가적인 효과 없이 뼈 무기질 밀도는 정체(안정기)에 도달하였다. 칼슘의 이러한 천정 효과는 켈로티 및 비그나미니(Celotti and Bignamini (1999))에 의해서도 관찰되었다. 이들은 칼슘 보충은 뼈 건강 유지에 중요하다는 것을 보고하였다. 그러나, 과도한 칼슘량은 무용할 수 있으며 또 고칼슘뇨증과 신장 결석을 초래할 수 있다. 소량의 마그네슘과 함께 보충하는 것이 제안되었다.
- [0013] 무트루 등(Mutlu et al. (2007))은 골감소증에 걸린 폐경 후 여성, 또는 정상적인 뼈 밀도를 갖는 폐경 후 여성과 비교할 때 골다공증에 걸린 폐경 후 여성에서 마그네슘 및 아연 레벨이 최저라는 것을 나타내었다. 칼슘 보충은 아연 흡수, 및 마그네슘과 아연 유지를 감소시킬 수 있다. 이러한 상태는 또한 골다공증의 심각도를 악화시킨다(Ilich and Kerstetter, 2000; Lowe et al., 2002; Abrams and Atkinson, 2003). 칼슘 이외에, 마그네슘, 아연, 망간 및 구리 결핍은 골다공증과 관련이 있다(Saltman and Strause, 1993).
- [0014] 대퇴골 근위부 중의 뼈 중량에 대한 식이의 영향을 판정하기 위하여, 앤그스 등(Angus et al. (1988))은 23-75세인 159명의 백인 여성에서 엉덩이, 척추 및 앞팔에서 14개 영양소 및 뼈 무기질 밀도(BMD)를 측정하였다. 어떤 부위에서도 칼슘 섭취와 뼈 중량 사이에 유의한 상관관계가 발견되지 않았다. 철, 아연 및 마그네슘은 폐경전 여성에서 앞팔 BMD와 긍정적인 상관관계가 있었다. 철 및 마그네슘은 다중회귀 분석에 의해 폐경전 및 폐경후 여성 각각에서 앞팔 BMD의 중요한 예측인자이었다.
- [0015] 폐경 후 여성에서 마그네슘의 이점을 강조하는 한 연구는 Mg/Ca 비율 1.2/1이 0.4/1 비율보다 더욱 효과적이라는 것을 발견하였다(Abraham and Grewal, 1990). 이 연구는 시트르산칼슘 형태의 칼슘 500 mg과 0.4/1 그룹의 경우 산화마그네슘 형태의 마그네슘 200 mg을 또 1.2/1 그룹의 경우 산화 마그네슘 형태의 마그네슘 600 mg을 사용하였다. 이 연구는 6 내지 12개월간 1.2/1 식이를 한 여성은 뼈 무기질 밀도에서 평균 11% 증가를 나타낸 반면에, 나머지 그룹은 0.7%의 미미한 증가를 나타냄을 보여주었다.
- [0016] 젊은 여성에서 마그네슘 보충(250 mg/일)은 칼슘 흡수에 대하여 아무런 효과를 갖지 않는 것으로 밝혀졌다(Basso et al., 2000). 이 연구는 단기간 연구이었다. 따라서, 결과의 타당성은 아직 검증되지 않았다.
- [0017] Ilich(2000)는 다음과 같이 기재하였다:
- [0018] "골다공증은 뼈 중량 감소 및 손상된 마이크로건축 구조를 특징으로 하는 복잡하고, 다인자성 상태로서, 골절

증가를 초래한다. 대부분의 뼈 강도(뼈 중량 및 질)는 유전적으로 결정되지만, 많은 다른 인자(영양, 환경적 및 라이프 스타일)가 또한 뼈에 영향을 준다. 영양은 뼈 중량의 발달 및 유지와 골다공증의 예방과 치료에서 중요한 변경가능한 인자이다. 뼈 무기질 함량의 약 80-90%는 칼슘 및 인으로 구성된다. 단백질, 마그네슘, 아연, 구리, 철, 플루오라이드, 비타민 D, A, C, 및 K와 같은 다른 식이 성분은 정상적인 뼈 대사에 필요한 한편, 흔히 영양분으로 분류되지 않는 기타 섭취 화합물(예컨대 카페인, 알코올, 피토에스트로겐)도 또한 뼈 건강에 영향을 줄 수 있다. 상이한 인자, 즉 영양적, 환경적, 라이프 스타일 및 유전적 인자 사이의 상호작용을 풀면 골다공증 발생 및 뒤이은 골절의 복잡성을 이해하는데 도움을 줄 것이다. 이 논문은 삶의 상이한 단계를 통하여 뼈 건강에 대한 식이 성분의 역할을 고찰한다. 각 영양분은 별개로 논의한다; 그러나 많은 영양분이 상호 의존적이고 또 동시에 유전적 및 환경적 인자와 상호작용한다는 사실을 무시해서는 안 된다. 이러한 상호작용의 복잡성은 아무도 뼈 건강에서 영양분 단독 또는 그룹의 공헌에 관한 무수한 논란이 많거나 또는 일치하지 않는 발견이 존재하는지에 대한 이유가 될 것이다."

[0019] 뼈 건강은 다양한 인자에 의존적이지만, 원소 요건 영역에서, 칼슘과는 별도로, 마그네슘, 인, 아연, 구리, 등과 같은 다른 원소도 또한 뼈 건강을 유지하거나 개선하는데 중요하다는 것을 보여주는 충분한 증거가 존재한다.

[0020] 추천된 매일 허용량(RDA), 허용가능한 섭취량(Allowable Intake; AI) 또는 추천된 매일 섭취량(Recommended Daily Intake; RDI)에서 원소 섭취에 대해 인용된 값에도 불구하고, 소비된 원소 형태에 대해서는 관심을 그다지 두지 않았다. 칼슘 염이 상호교환적으로 사용될 수 있는지 여부는 분명하지 않다. 모든 칼슘 염이 유사하게 만들어지는 것은 아니라는 것을 알 수 있다; 용해도 및 흡수에서 상이점이 존재한다. 생체이용율에서 차이점이 존재한다면, 염으로부터 원소의 흡수가능성은 보다 정확하게 측정되어야 한다.

[0021] 칼슘 염의 용해도가 원소의 생체이용율과는 관련이 없음을 나타내는 보고가 존재하였기 때문에 이러한 이슈는 적절한 관심을 받지 못하였다. 용해성 또는 불용성의 칼슘 염의 흡수는 위산 분비에 의해 영향을 받지 않는다(Bo-Linn et al., 1984). 탄산칼슘이 더 용해성의 칼슘 염으로 전환될 수 있다는 가설은 칼슘 흡수를 향상시키는 위장 중의 염화 칼슘을 시험하였다. 결과는 탄산칼슘 흡수가 위산에 의해 영향을 받지 않음을 나타내었다(Bo-Linn et al., 1984).

[0022] 탄산칼슘, D-젖산 칼슘, L-젖산칼슘 및 굴 껌데기 칼슘의 생체이용율은 염의 용해도와는 독립적이라는 것이 밝혀졌다(Tsugawa et al., 1995). 이 연구는 균형 연구 방법과는 상이한 방법을 이용하였다. 이것은 실제 칼슘 흡수 대신 뇌하수체 갑상선 호르몬(PTH) 등에서 변화를 측정하였다. 칼슘 생체이용율의 정확한 대조는 PTH와 같은 간접 방법을 이용하여서는 달성될 수 없다.

[0023] 헤니(2001)는 3개의 시판되는 칼슘 제품(시판되는 탄산칼슘, 캡슐화된 탄산 칼슘 및 시판되는 시트르산칼슘)에 대한 뇌 분비율이 동일하다고 보고하였다. ^{45}Ca 를 트레이서(tracer)로서 사용하여, 탄산칼슘 및 시트르산칼슘의 분획 흡수값은 낮은 투여량(300 mg 칼슘)에서 서로 그리 상이하지 않다는 것이 밝혀졌다; 그러나, 탄산칼슘으로부터 칼슘 흡수는 약간 상이하지만 시트르산 칼슘보다는 훨씬 더 우수하였다(Heaney et al., 1999).

[0024] 10개의 유기 및 무기 염으로부터 마그네슘 흡수는 쥐에서 시험하였다(Coudray et al., 2005). 마그네슘의 생체이용율은 50 내지 66% 범위였다. 마그네슘 글루코네이트가 가장 높은 값을 제공하였다. 소장 및 대장과 맹장에서 이들 염의 용해도를 측정하였다. 이들 염의 용해도는 장의 근위 영역(proximal section)에서 실제로 매우 높다; 이것은 장관을 따라 pH가 증가함에 따라서 신속하게 저하된다. 이들 마그네슘 염 흡수에서의 차이는 개인별 다양성을 고려하면 그리 중요하지 않을 수 있다.

[0025] 이중 동위원소 수법을 이용하여 강화 식품에서 원소의 생체이용율을 측정하였다(Abrams et al., 2002). 산화 아연 및 황산 아연의 생체이용율에서 아무런 차이가 없었다; 양쪽 모두 거의 24%이다. 철의 생체이용율은 15.9%이었다. 그러나, 황산아연은 철의 생체이용율을 1.5%로 감소시키는 경향이 있었고 또 이 숫자는 중요하다. 강화된 곡류에서 칼슘의 흡수는 28.9% 이었다; 비강화 곡류에서는 30.8 %이었다.

[0026] 이들 관찰에도 불구하고, 모든 칼슘 염이 동일 생체이용율을 갖는 것은 아니라는 것을 보여주는 보고가 있다. 아스코르브산 칼슘의 생체이용율은 탄산칼슘 및 염화칼슘의 생체이용율에 비하여 더 높다(Tsugawa et al., 1999). 생체이용율은 ^{45}Ca 를 이용하여 측정하였다. 상이한 pH 조건하에서 이들 염의 용해도도 또한 측정하였다.

[0027] 아세트산 칼슘의 생체이용율은 ^{45}Ca 를 사용하여 측정하였다(Cai et al., 2004). 아스코르브산칼슘과 비교하여,

아세트산 칼슘의 생체이용율이 월씬 더 낮았다(25 mg 칼슘 로딩시 70% 대 45%). 8개 분획을 포함하는 키네틱 모델(kinetic model)을 이용하여 시간 데이터에 대한 혈장 칼슘을 피팅하였다. 아스코르브산 칼슘의 생체이용율과 아세트산 칼슘의 생체이용율 사이의 차이는 포화성 방법을 통하여 차이에 기여하였다. 아세트산 칼슘의 용해도는 장에서 감소될 수 있는데 이는 아세테이트 염으로부터 칼슘이 장 내의 포스페이트 또는 클로라이드를 석출할 수 있기 때문이라 추정된다. 따라서, 아세트산 칼슘의 생체이용율이 염화칼슘 및 인산 칼슘의 생체이용율과 다르지 않은 것은 놀랍지 않다.

[0028] 10 mg의 아연/일이 추천된 섭취이다(Record et al., 1985). 아연의 추천된 매일 허용량은 6 mg이었다(Smith et al., 1983). 저자들은 추천된 매일 허용량은 추천된 매일 섭취량과 혼동되어서는 안 된다고 경고하였다.

[0029] 아연 흡수는 소장을 통하여 생기며 또 인간에서 투여량 의존적이다(Lee et al., 1989).

[0030] 칼슘, 마그네슘, 아연, 등을 포함하는 칼슘 식이 보충을 위한 특허가 1999년 특허출원되었다(Ellenbogen and Buono, 1999). 사용된 칼슘의 범위는 1000 내지 2500 mg였고 또 사용된 마그네슘의 범위는 50 내지 150 mg였다. 칼슘에 대한 염은 탄산칼슘이다. 사용된 칼슘 및 마그네슘의 양 및 적용된 염의 유형은 본 발명의 그것과 상이하였다. 또한, 마그네슘에 대한 칼슘 비율은 본 발명에 기재된 범위와 비교하여 높았다(6.7 내지 25:1).

[0031] 마이간트 및 스텐저(Meigant and Stenger (2004))는 칼슘 및 비타민 D 혼합물로 이루어진 조성물을 개시하는 미국 특허를 출원하였다. 이 특허는 부형제의 조합물을 사용하는 칼슘 및 비타민 D의 생약 배합물의 제제를 개시한다; 따라서, 본 출원은 마이간트 및 스텐저(2004)의 출원과 공통적인 배경을 갖지 않는다.

[0032] 헨드릭스(Hendricks (2004))는 칼슘 및 인을 함유하는 식이 보충제에 대한 특허를 받았다. 비타민 D를 비롯한 비타민이 또한 보충제에 포함될 수 있다. 헨드릭스는 인과 아마도 비타민 D, 비타민 B₆ 및 비타민 B₁₂의 주요성을 강조하였다. 그러나 본 출원은 인을 포함하지 않는다.

[0033] 메이저 등(Mazer et al. (1997))은 칼슘 글리세로포스페이트, 비타민 D 및 비타민 C를 함유하는 고체 형태 중의 칼슘 보충제에 대한 특허를 허여받았다. 다시, 본 발명은 상기 종류의 칼슘 염을 함유하지 않는다.

[0034] 다른 특허에서, 디칼슘 시트레이트-락테이트의 합성은 시트레이트 및 락테이트의 화학양론적 혼합물을 혼합하여 칼슘 염을 생성하는 것으로 기재되었다(Walsdorf et al., 1991).

[0035] 크루하르 및 존슨(Krumhar and Johnson (2006))은 미세결정성 칼슘 히드록시아파타이트, 단백질(대부분 콜라겐), 인, 지방, 및 기타 무기질로 이루어진 뼈 건강에 대한 식이 보충제를 고안하였다. 이것은 또한 콜레칼시페롤로부터 얻은 비타민 D₃ 및 바람직한 뼈모세포 자극인자인 입리플라본(ipriflavone)을 함유한다. 이를 기본적인 성분 이외에, 상기 조성물은 또한 뼈에서 생기는 것으로 공지된 다양한 다른 무기질, 비타민 C, 및 글루코사민 셀酹이트를 더 포함할 수 있으며, 이들은 모두 건강한 뼈의 성장과 유지에 대하여 유리한 효과를 갖는 것으로 알려져 있다. 인간의 뼈 건강에 이로움을 주는 방법은 식이 보충제를 매일 처방량을 투여하는 것을 포함한다.

[0036] 비타민 A, 베타-카로틴, 니아신, 리보플라빈, 판토텐산, 페리독심, 시아노코발라민, 비오틴, 파라-아미노벤조산, 이노시톨, 콜린, 비타민 C, 비타민 D, 비타민 E, 비타민 K, 봉소, 칼슘, 크롬, 구리, 요오드, 철, 마그네슘, 망간, 몰리브덴, 셀렌, 아연 및 바이오플라보노이드를 포함하는, 여성에 대한 매일의 비타민 및 무기질 보충제가 존재한다. 40세 이하의 여성의 경우, 철이 포함된다. 40세 이상의 여성의 경우, 철은 경우에 따라 포함된다(Sultenfuss, 1996). Ca/Mg 비율은 1000-1500/400-600이다.

[0037] 여성의 식이 필요를 보충하고 무기질 및 비타민의 광범위한 리스트로 이루어진 기본적인 각 성인 인생 단계(폐경전후기 전단계, 폐경전후기 및 폐경기, 또는 폐경 후) 동안 건강상 위험과 관련된 인생 단계를 예방 또는 감소하기 위한 식이 보충제는 특허에 기재되어 있다(Jackson and Blumberg, 1997). 영양소의 상기 리스트는 다양한 공급원으로부터 유도되었고 또 개별 청구항을 지지하는 어떠한 데이터도 없었다. 골다공증 지지에 대해 인용된 특정 원소량이 존재하지만, 염 형태는 특정되지 않았다. 카보네이트, 산화물, 아세테이트 등과 같은 상이 형태의 원소가 사용되면, 이를 영양소의 성능은 생체이용율이 다양하기 때문에 현저히 상이할 수 있다.

[0038] 뼈 건강에 대한 원소로서 칼슘에 대해 관심이 집중되어 왔다. 그러나, 모든 칼슘이 동일한 것은 아니며 또 이들의 상대적 생체이용율은 전신적 순환에 도달하는 분획량을 결정한다. 뼈 건강의 유지에 대해서는, 다른 필수 원소가 필요하다. 상기 원소 사이에 상호작용이 존재할 수 있음을 제시하는 문헌이 존재한다. 흡수, 칼슘 이용 및

그에 따른 뼈 건강에 대한 영향은 체계적으로 조사되지 않았다. 또한, D₃ 및 K₂와 같은 비타민은 칼슘 흡수 및 뼈 무기질 밀도(BMD) 증가에 연루되어 있음을 보여주었다; 그러나, 칼슘, 마그네슘 및 아연과 같은 생체이용가능한 원소와 비타민 사이의 상호작용을 나타내고 있다. 위장관에서 복잡한 환경은 원소의 흡수성을 결정하는데 주요한 역할을 나타낸다. 특히, 양이온 및 음이온은 위장관 (GIT)에서 원소 염의 용해도 변경에 주요한 역할을 발휘할 수 있다. 원소의 생체이용율을 결정하는데 있어 이들 인자의 중요성은 완전히 해결되지 않았다. 본 발명에서, 칼슘, 마그네슘 및 아연의 아세테이트 염 및 비타민 D₃ 최적양을 포함하는 칼슘 보충제가 기재되어 있다. 칼슘의 매일 투여량은 정상적인 칼슘 보충제의 투여량보다 현저히 낮다. 상기 제품은 원소 균형을 결정하는데 중요한 시험관내 및 생체내 모델을 이용하여 고안하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0039] 본 발명은 전술한 바와 같은 문제점을 해결하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0040] 본 발명은 칼슘, 마그네슘, 아연의 아세테이트 염 및 비타민 D₃를 포함하는 식이 보충제를 제공한다. 상기 제제는 물, 위액 및 장액에서 고 용해성이다. 원소 흡수는 높고 또 뼈 건강 유지에 필요한 칼슘 투여량은 통상의 칼슘 투여량의 1/4 내지 1/3으로 보인다.

발명의 효과

[0041] 본 발명에 따르면 전술한 과제를 달성할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 4일간에 걸친 무-칼슘 식이를 받은 래트에서 유지된 칼슘의 평균 누적 실제량(±S.E.M)을 도시한다. 이 연구에 참여한 동물의 7개 군은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. Caltrate™ 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이며 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다. 비타민 D₃의 투여량은 0.8 IU/mg 칼슘이었다.

도 2는 4일간에 걸친 무-칼슘 식이를 받은 래트에서 유지된 마그네슘의 평균 누적 실제량(±S.E.M)을 도시한다. 이 연구에 참여한 동물의 7개 군은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. Caltrate™ 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 아세트산 칼슘(CaACE)은 23.3% 칼슘을 함유하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다. 비타민 D₃ 투여량은 0.8 IU/mg 칼슘이었다.

도 3은 4일간에 걸친 무-칼슘 식이를 받은 래트에서 유지된 마그네슘의 평균 누적 실제량(±S.E.M)을 도시한다. 이 연구에 참여한 동물의 7개 군은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. Caltrate™ 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 아세트산 칼슘(CaACE)은 23.3% 칼슘을 함유하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다. 비타민 D₃ 투여량은 0.8 IU/mg 칼슘이었다.

도 4는 무-칼슘 식이를 받는 동안 처리의 말기에 래트로부터 샘플링된 혈장 칼슘 (A), 마그네슘(B) 및 아연(C) 레벨을 도시한다. 7개 동물 군이 이 연구에 참여하였다; 이 군들은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. CaltrateTM 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 아세트산 칼슘(CaACE)은 23.3% 칼슘을 함유하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다. 비타민 D₃ 투여량은 0.8 IU/mg 칼슘이었다.

도 5는 4일간에 걸친 정상 식이를 받은 래트에서 유지된 칼슘의 평균 누적 실제량(\pm S.E.M)을 도시한다. 이 연구에 참여한 동물의 5개 군은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. CaltrateTM 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 아세트산 칼슘(CaACE)은 23.3% 칼슘을 함유하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 6은 4일간에 걸쳐, 표 34에 기재된 바와 같이, 정상 칼슘 식이를 받은 래트에서 유지된 마그네슘의 평균 누적 실제량(\pm S.E.M)을 도시한다. 이 연구에 참여한 동물의 5개 군은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. CaltrateTM 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 아세트산 칼슘(CaACE)은 23.3% 칼슘을 함유하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 7은 4일간에 걸쳐, 표 34에 기재된 바와 같이, 정상 칼슘 식이를 받은 래트에서 유지된 아연의 평균 누적 실제량(\pm S.E.M)을 도시한다. 이 연구에 참여한 동물의 5개 군은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. CaltrateTM 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 아세트산 칼슘(CaACE)은 23.3% 칼슘을 함유하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 8은 정상 칼슘 식이를 받는 처리 기간의 끝인 5일에 래트로부터 샘플링한 평균 혈장 칼슘(A), 마그네슘(B) 및 아연(C) 레벨을 도시한다. 혈액 샘플은 최종 처리한지 1.5 시간 후에 취하였다. 이 연구에 참여한 동물의 5개 군은 처리 배합물을 따라 이름지었다. 각 군에 있는 동물에 대한 칼슘 투여량은 53 mg/kg이었다. 각 동물은 매일 1 mL의 처리를 받았다. CaltrateTM 군 중의 동물은 혼탁액을 받은 반면에, 다른 군 중의 동물은 용액을 받았다. 아세트산 칼슘(CaACE)은 23.3% 칼슘을 함유하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 9는 4일간에 걸친 무-칼슘 식이와 칼슘의 매일 소비된 투여량을 받은 래트에서 유지된 칼슘의 평균 누적 실제량(\pm S.E.M)을 도시한다. 이 연구에는 3개 동물군이 참여하였다. 각 동물은 하루에 한번씩 처리를 받았다. 각 처리 군에 대한 칼슘의 평균 투여량은 625 mg/kg/일이었다. DI 군 중의 동물은 정상 칼슘 식이를 받은(표 34) 반면에, A1 및 A5 군은 무-칼슘 식이를 받았다(표 34). DI 군의 각 구성원에게 증류수(DI) 1 mL를 위관영양법에 의해 투여하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 10은 4일간에 걸친 무-칼슘 식이와 칼슘의 매일 소비된 투여량을 받은 래트에서 유지된 마그네슘의 평균 누적 실제량(\pm S.E.M)을 도시한다. 이 연구에는 3개 동물군이 참여하였다. 각 동물은 하루에 한 번씩 처리를 받았다. 각 처리 군에 대한 칼슘의 평균 투여량은 625 mg/kg/일이었다. DI 군 중의 동물은 정상 칼슘 식이를 받은(표 34) 반면에, A1 및 A5 군은 무-칼슘 식이를 받았다(표 34). DI 군의 각 구성원에게 증류수(DI) 1 mL를 위관영양법에 의해 투여하였고, 또 1 mL의 처리 용액은 위관 영양법에 의해 다른 군 구성원에게 투여하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 11은 4일간에 걸친 무-칼슘 식이와 칼슘의 매일 소비된 투여량을 받은 래트에서 유지된 아연의 평균 누적 실

체량(±S.E.M)을 도시한다. 이 연구에는 3개 동물군이 참여하였다. 각 동물은 하루에 한 번씩 처리를 받았다. 각 처리 군에 대한 칼슘의 평균 투여량은 625 mg/kg/일이었다. DI 군 중의 동물은 정상 칼슘 식이를 받은(표 34) 반면에, A1 및 A5 군은 무-칼슘 식이를 받았다(표 34). DI 군의 각 구성원에게 중류수(DI) 1 mL를 위관영양법에 의해 투여하였고, 또 1 mL의 처리 용액은 위관 영양법에 의해 다른 군 구성원에게 투여하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 12는 무-칼슘 식이 및 칼슘의 정상적인 매일 투여량을 공급받는 동안 처리 기간의 끝에 래트로부터 샘플링한 혈장 칼슘(A), 마그네슘(B) 및 아연(C) 레벨을 도시한다. 이 연구에는 3개 동물 군이 참여하였다. 각 동물은 하루에 한번씩 처리받았다. 각 처리 군에 대한 칼슘의 평균 투여량은 625 mg/kg/일이었다. DI 군 중의 동물은 정상 칼슘 식이를 받은(표 34) 반면에, A1 및 A5 군은 무-칼슘 식이를 받았다(표 34). DI 군의 각 구성원에게 중류수(DI) 1 mL를 위관영양법에 의해 투여하고 또 1 mL의 처리 용액은 위관영양에 의해 다른 군 구성원에게 투여하였다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다.

도 13은 개별 원소 처리를 받은 래트의 15개 군의 체중 기록이다. 이 처리 군은 각 처리에 따라 이름지었다. 모든 동물은 정상적인 칼슘 식이를 원하는 대로 53 mg/kg의 칼슘을 함유하는 치료 투여량을 하루에 한번 투여받았다(표 34). Caltrate™를 함유하는 배합물은 혼탁액으로 투여되는 반면에, 다른 것들은 용액으로 투여된다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다. 비타민 D₃ 및 비타민 K₂의 투여량은 각각 0.8 IU/mg 칼슘 및 12.75 IU/kg/일이었다. 비스포스포네이트는 알렌드로네이트로서 주어지며 또 투여량은 14 µg/kg/2주이다.

도 14는 3 pQCT 슬라이스로부터 평균한 원위 대퇴골의 해면골 BMD를 도시한다. *: OVX-대조군(p<0.05)과는 현저히 상이함. 15개 래트 군은 개별 원소 처리를 받았다. 처리군은 각 처리에 따라 이름지었다. 모든 동물은 정상적인 칼슘 식이를 원하는 대로(표 34) 53 mg/kg의 칼슘을 함유하는 처리의 투여량을 하루에 한 번씩 투여받았다. Caltrate™를 함유하는 배합물은 혼탁액으로 투여되는 반면에, 다른 것들은 용액으로 투여된다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다. 비타민 D₃ 및 비타민 K₂의 투여량은 각각 0.8 IU/mg 칼슘 및 12.75 IU/kg/일이었다. 비스포스포네이트는 알렌드로네이트로서 주어지며 또 투여량은 14 µg/kg/2주이다.

도 15는 3 pQCT 슬라이스로부터 평균한 경골 근위부의 해면골 BMD를 도시한다. *: OVX-대조군(p<0.05)과는 현저히 상이함. 15개 래트 군은 개별 원소 처리를 받았다. 처리군은 각 처리에 따라 이름지었다. 모든 동물은 정상적인 칼슘 식이를 원하는 대로(표 34) 53 mg/kg의 칼슘을 함유하는 처리의 투여량을 하루에 한 번씩 투여받았다. Caltrate™를 함유하는 배합물은 혼탁액으로 투여되는 반면에, 다른 것들은 용액으로 투여된다. 원소 조성은 A1의 경우 23.3% 칼슘, 0.0012% 마그네슘 및 0.33% 아연이고, A4의 경우 7.51% 칼슘, 7.5% 마그네슘 및 0.38% 아연이고 또 A5의 경우 11.5% 칼슘, 5.64% 마그네슘 및 0.57% 아연이다. 비타민 D₃ 및 비타민 K₂의 투여량은 각각 0.8 IU/mg 칼슘 및 12.75 IU/kg/일이었다. 비스포스포네이트는 알렌드로네이트로서 주어지며 또 투여량은 14 µg/kg/2주이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 정의:

[0044] "생체이용가능한"은 몸에 의해 흡수되어 사용되는 약물 또는 물질의 능력으로 정의된다.

[0045] "생체이용성"은 전신 순환에 도달하는 물질의 속도 및 정도로 정의된다.

[0046] 본 발명은 칼슘, 마그네슘, 아연의 아세테이트 염 및 비타민 D₃를 포함하는 보충제를 기재한다.

[0047] *상기 조성물의 일 구체예에서, 마그네슘에 대한 칼슘의 중량비는 0.5:1 내지 4:1로 존재한다. 예컨대, 본 발명의 조성물은 220 mg의 칼슘 및 55 mg 내지 440 mg의 마그네슘을 포함할 수 있다. 상기 조성물의 바람직한 구체

예에는 마그네슘에 대한 칼슘의 중량비 1:1 내지 2:1로 존재한다. 다른 구체예로서, 본 발명의 조성물은 칼슘에 대한 아연의 중량비 약 0.05:1 내지 약 0.2:1을 포함한다. 바람직한 구체예로서, 본 발명의 조성물은 칼슘에 대한 아연의 중량비를 약 0.05:1 내지 약 0.1:1을 포함한다.

[0048] 본 조성물의 다른 구체예로서, 220 mg의 칼슘 당 40 내지 1200 IU의 비타민 D₃ 가 존재한다.

[0049] 다른 구체예로서, 성인 인간 환자에게 투여될 원소의 매일 투여량은 다음을 포함한다: 50 내지 500 mg의 칼슘, 400 내지 1200 IU의 비타민 D₃, 및 5 내지 40 mg의 아연. 다른 구체예로서, 이러한 매일 투여량은 하루에 오직 1회만 투여될 수 있거나 또는 매일 투여량의 분획 부분들은 그날을 통하여 별개의 할당량으로 투여될 수 있다. 다른 구체예로서, 매일 투여량을 구성하는 조성물의 양은 소비를 위한 물 또는 과일 주스에 용해될 수 있다. 다른 구체예로서, 전체 매일 투여량을 포함하는 조성물의 양은 캡슐화되어 성인 인간 환자에게 투여될 수 있다. 다른 구체예로서, 매일 투여량의 분획 부분들은 전체 매일 투여량이 투여될 때까지 캡슐화되어 별개의 할당량으로 투여될 수 있다.

[0050] 본 발명은 본 발명의 조성물을 인간 또는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는 인간 또는 동물에서 골다공증 증상을 개선하는 방법을 제공한다. 일 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함한다. 바람직한 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 110 mg 내지 220 mg의 칼슘을 포함한다.

[0051] 본 발명은 또한 본 발명의 조성물을 인간 또는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 또는 동물에서 뼈 무기질 밀도를 증가시키는 방법을 제공한다. 일 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함한다. 바람직한 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 110 mg 내지 220 mg의 칼슘을 포함한다.

[0052] 본 발명은 또한 칼슘 함유 공급원 또는 합성 아세트산 칼슘 함유 공급원으로부터 추출한 적어도 22.75 중량%의 초기 조성을 포함하며, 상기 조성은 마그네슘 및 아연에 의해 강화 적어도 4 중량%의 칼슘, 적어도 5 중량%의 마그네슘, 적어도 0.2 중량%의 아연, 및 적어도 400 IU의 비타민 D₃의 최종 조성을 제공하는 조성물을 제공한다.

[0053] 본 발명은 칼슘 함유 공급원 또는 합성 아세트산칼슘 함유 공급원으로부터 추출된 적어도 22.75 중량%의 초기 조성을 포함하며, 상기 초기 조성은 마그네슘 및 아연에 의해 강화되어 적어도 4 중량%의 칼슘, 적어도 5 중량%의 마그네슘, 적어도 0.2 중량%의 아연, 및 적어도 400 IU의 비타민 D₃의 최종 조성을 제공하며, 또 상기 칼슘 함유 공급원은 진주, 산호, 굴, 또는 천연 광물인 조성물을 제공한다.

[0054] 본 발명은 마그네슘이 아세테이트 염 형태인 조성물을 제공한다.

[0055] 본 발명은 아연이 아세테이트 염 형태인 조성물을 제공한다.

[0056] 본 발명은 마그네슘에 대한 칼슘의 중량비가 0.5:1 내지 4:1를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 마그네슘에 대한 칼슘의 중량비가 1:1 내지 2:1를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0057] 본 발명은 0.05:1 내지 0.20:1 범위의 칼슘에 대한 아연의 중량비를 포함하는 조성물을 제공한다. 바람직한 구체예로서, 본 발명은 0.05:1 내지 0.1:1의 마그네슘에 대한 칼슘의 중량비를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0058] 본 발명은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 5-40 mg의 아연을 포함하는 조성물을 제공한다.

[0059] 본 발명은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량 당 400 내지 1200 IU의 비타민 D₃ 를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0060] *본 발명은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘 및 25 내지 500 mg의 마그네슘을 포함하는 조성물을 제공한다. 바람직한 구체예로서, 본 발명은 또한 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘 및 50 내지 150 mg의 마그네슘을 포함하는 조성물을 제공한다.

[0061] 본 발명은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 220 mg 칼슘당 400 내지 1200 IU의 비타민 D₃ 를 포함하는 조성물을 제공한다.

- [0062] 본 발명은 탄산칼슘보다는 단위 중량당 더욱 생체이용가능한 칼슘을 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0063] 본 발명은 상기 조성물을 인간 또는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 또는 동물에서 골다공증 증상을 개선 또는 예방하는 방법을 제공한다.
- [0064] 본 발명은 조성물이 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 인간 또는 동물에서 골다공증 증상을 예방 또는 개선하는 방법을 제공한다. 바람직한 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함한다.
- [0065] 본 발명은 상기 조성물을 인간 또는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 또는 동물에서 뼈 무기질 밀도를 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0066] 본 발명은 조성물이 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 인간 또는 동물에서 뼈 무기질 밀도를 증가시키는 방법을 제공한다. 바람직한 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함한다.
- [0067] 본 발명은 골다공증을 예방 또는 개선하기 위한 상기 조성물의 용도를 제공한다.
- [0068] 본 발명은 조성물이 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는 골다공증 증상을 개선하기 위한 상기 조성물의 용도를 제공한다. 바람직한 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함한다.
- [0069] 본 발명은 뼈 밀도를 증가시키기 위한 상기 조성물의 용도를 제공한다.
- [0070] 본 발명은 조성물이 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는, 뼈 밀도를 증가시키기 위한 상기 조성물의 용도를 제공한다. 바람직한 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함한다.
- [0071] 본 발명은 식이성 칼슘 및 마그네슘 흡수를 용이하기 위한 상기 조성물의 용도를 제공한다.
- [0072] 본 발명은 조성물이 50 내지 500 mg의 칼슘을 포함하는, 식이성 칼슘 및 마그네슘 흡수를 용이하기 위한 상기 화합물의 용도를 제공한다. 바람직한 구체예로서, 상기 조성물은 인간 성인에게 투여되는 매일 투여량당 100 내지 300 mg의 칼슘을 포함한다.
- [0073] 일반적으로 기재된 본 발명은 이하의 실시예를 참조하여 더욱 자세하게 설명되지만, 이러한 실시예는 본 발명의 특정 요지 및 구체예를 예시할 목적으로 포함된 것이고 본 발명을 제한하려는 것은 아니다.
- [0074] **실시예 1**
- 진주 추출물의 배합물**
- [0076] 진주 추출물은 리 및 리(Li and Li)에 의해 보고된 특허 방법에 따라서 제조하였다. 간단히 말해, 진주를 80 내지 120 메시 크기로 분말화하였다. 이 분말을 포화 염화나트륨 용액과 적정된 양의 아세트산의 혼합물에서 침지시켰다. 전류를 몇 일간 더 상기 혼합물에 인가하였다. 물을 사용하여 회석하고 자성화한 후, 혼합물을 여과하고 또 석출하였다. 아세트산칼슘이 풍부한 석출물을 건조시켜 식이 보충제로서 소비될 준비를 하였다. 추출물 중에 존재하는 원소의 상세한 목록은 하기 표 1에 제시되어 있다:

[0077]

(표 1)

진주 추출물의 함량

원소	양, ppm
칼슘	233,000
마그네슘	253
아연	3281
칼륨	1650
망간	1170
나트륨	680
스트론튬	158
몰리브덴	55.4
실리콘	38.0
셀렌	27.9

[0078]

[0079]

이 추출물, A1,은 마그네슘의 아세테이트 염에 의해 강화되어 Ca/Mg 비율 0.5/1 (A6), 1/1 (A4) 및 2/1 (A5)을 제공하였다. 진주 추출물의 주요 원소 함량 및 그의 강화된 혼합물은 하기 표 2에 수록되어 있다:

[0080]

(표 2)

각 배합물에서 각 원소의 함량 (n= 3)

배합물 번호	각 배합물에서 3개 원소의 함량					
	Ca (%)		Mg (%)		Zn (%)	
	측정됨	라벨링된 함량 ^a	측정됨	라벨링된 함량 ^a	측정됨	라벨링된 함량 ^a
A1	23.30±1.26	23.4	0.0253±0.0013	0.0012***	0.328±0.03	0.330
A4	7.65±0.62	7.51	7.56±0.32	7.50	0.372±0.029	0.375
A5	11.5±0.34	11.3	5.41±0.04	5.64	0.556±0.044	0.565
A6	4.58±0.09	4.50	8.29±0.15	8.99	0.256±0.012	0.225

데이터는 평균 ± S.D로 표시한다.

^a 인-허우스 데이터. ***p<0.001

[0081]

[0082]

진주 이외에, 이 실시예에 기재된 방법은 산호, 굴, 무기질 광산 등과 같은 천연 공급원으로부터 다수의 칼슘, 마그네슘 및 아연의 아세테이트 염을 추출하기 위해 이용될 수 있다. 배합물 A1, A4 내지 A6의 상기 조성물은 칼슘, 마그네슘 및 아연의 아세테이트 염의 적절한 양을 혼합함으로써 달성될 수 있었다.

[0083]

실시예 2

[0084]

인공 위액 및 장액 중에서 칼슘의 용해도

[0085]

본 연구의 목적은 인공 위액 및 인공장액 (미국약전)에서 아세테이트 배합물 및 CaltrateTM의 용해도를 측정하고 비교하기 위한 것이었다.

[0086]

인공 위액은 7.0 mL의 진한 염산을 함유하는 1.0L의 탈이온수에 2.0 g의 염화나트륨을 용해시키는 것에 의해 제조하였다. 인공 장액은 77 mL의 0.2 N 수산화나트륨을 함유하는 1.0 L의 탈이온수에 6.8 g의 일염기성 칼륨 포스페이트(KH_2PO_4)를 용해시키는 것에 의해 제조하였다.

[0087]

과량의 각 배합물을 소정 부피의 인공 위액 또는 장액에 부가하였다. 이 혼합물을 37°C에서 1시간 동안 교반하였다. 등분량의 포화 용액을 샘플링하고 또 처리하기 전에 흐석하였다.

[0088]

인공 위액 (pH = 1) 및 장액 (pH = 7) 중의 4개 배합물에서 칼슘의 용해도는 ICP-OES(Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer) (Perkin Elmer Optima 4300DV)에 대해 개발된 방법을 이용하여 시험하

였다. 2개의 시판되는 샘플, CaltrateTM 및 아세트산칼슘은 대조를 위해 평행하게 시험하였다. 결과를 하기 표 3에 나타낸다.

[0089] CaltrateTM과 비교하여, 아세트산 칼슘의 용해도는 인공 위액에서 약 45배 더 높고 또 인공 장액에서 26,000배 더 높다. 대부분 아세트산칼슘을 포함하는 진주 추출물, A1,의 용해도는 인공 위액 및 장액에서 아세트산칼슘의 용해도와 유사하다($p>0.05$). 아세트산 칼슘의 용해도는 pH 의존적이다; 인공 위액과 비교할 때 인공장액에서 더 낮다. 마그네슘은 칼슘이 용해도를 낮추는 경향이 있다. Ca/Mg의 비율이 감소하면, 상기 추출물의 용해도는 A5 > A4 > A6로 감소한다. 그럼에도 불구하고, 용해성이 가장 적은 진주 추출물 배합물인 A6은 인공 위액에서 ~12배 더 용해성이고 또 CaltrateTM의 용해도보다 인공 장액에서 8,500배 더 용해성이다. 따라서, CaltrateTM와는 달리, 아세테이트 염의 용해도는 GIT액에서 이슈가 되어서는 안된다.

[0090] 마그네슘 염의 용해도 프로필은 칼슘의 프로필과 아주 유사하다(표 4). 일반적으로, 마그네슘의 아세테이트 염은 고 용해성이다. 이들은 인공 장액에서보다 인공 위액에서 더욱 용해성이다. CaltrateTM에서 마그네슘 염의 용해도는 낮다. CaltrateTM에서 마그네슘의 용해도는 인공 위액에서 더 높다.

[0091] 아연 염의 용해도 프로필은 염 형태와 환경 조건 사이의 차이의 크기가 덜 급격한 것을 제외하고는 마그네슘 및 칼슘의 용해도 프로필과 유사하다(표 5).

[0092] (표 3)

인공 위액 및 장액에서 칼슘의 포화 용해도 (n=3)

배합물 번호	칼슘의 포화 용해도	
	위액 (g/L)	장액 (g/L)
A1	72.93±4.14	64.97±6.29
A4	33.60±1.18	29.90±2.14
A5	53.97±8.34	45.50±7.24
A6	19.87±3.11	20.90±2.36
아세트산 칼슘	77.73±8.13	68.43±2.55
Caltrate TM	1.70±0.24	0.00246±0.00015

데이터는 평균 ±S.D로 나타낸다.

[0093] (표 4)

인공 위액 및 장액에서 마그네슘의 포화 용해도

배합물 번호	마그네슘의 포화 용해도	
	위액 (g/L)	장액 (g/L)
A1	0.13±0.006	0.13±0.04
A2	0.11±0.01	0.10±0.03
A3	0.12±0.04	0.09±0.01
A4	40.78±2.46	26.57±1.81***
A5	24.97±2.95	19.03±2.73***
A6	49.30±2.61	38.67±4.33***
아세트산 칼슘	0.50±0.07	0.42±0.10
Caltrate TM	0.17±0.17	0.09±0.02

데이터는 평균 ±S.D로 나타낸다 (n=3)

***: $P < 0.001$ 인공 위액에서 용해도와 비교됨

[0094]

[0096] (표 5)

인공 위액 및 장액에서 아연의 포화 용해도

배합물 번호	아연의 포화 용해도	
	위액 (g/L)	장액 (g/L)
A1	1.04±0.16	0.76±0.07*
A2	3.72±0.68	2.14±0.14*
A3	3.25±0.19	2.31±0.08**
A4	2.22±0.17	1.19±0.11***
A5	2.64±0.38	1.64±0.07*
A6	1.54±0.13	1.07±0.11**
아세트산 칼슘	0.60±0.17	0.53±0.14
Caltrate TM	0.33±0.10	0.23±0.08

데이터는 평균 ±S.D로 나타낸다 (n=3)

*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001 인공 위액에서 용해도와 비교됨

[0097] 실시예 3

상이한 배합물에서 칼슘의 용해도에 대한 pH의 효과

위장관은 복잡한 기관이다. 칼슘, 마그네슘 및 아연을 포함한 원소의 용해도를 변경할 수 있는 다수의 인자가 있다; 이들의 흡수율 및 생체이용성도 있다. 실시예 3 - 5는 원소의 용해도에 대하여 현저한 효과를 갖는 것으로 예상된 생리학적 인자의 일부를 강조한다. 용해도 면에서, pH, GIT액에 풍부하게 존재하는 음이온 및 양이온에 대한 4개 시험 배합물(A1, A4, A5 및 A6), CaltrateTM 및 아세트산칼슘의 반응을 평가하였다.

이 실시예에서, 4개 진주 배합물(A1, A4, A5 및 A6), 시판되는 제품 (CaltrateTM) 및 합성화합물(아세트산칼슘, Ca ACE)의 3개 원소의 용해도에 대한 pH (1 내지 9 범위)의 효과를 조사하였다. 용액 pH는 적당한 양의 아세트산(AcOH), 질산(HN03) 또는 수산화 암모늄(NH₄OH)을 사용하여 조절하였다. 포화 용액은 1 내지 9 범위의 최종 pH 값을 갖는 용액에 각 제제를 용해시키는 것에 의해 제조하였다. 생성한 혼합물을 37°C에서 1시간 동안 워터배쓰에서 배양하였다. 각 샘플을 즉시 여과(원심분리를 하거나 하지 않고)하고 그 여액은 원소 분석을 위해 적절한 농도로 회석하였다. 칼슘, 마그네슘, 및 아연의 농도는 ICP-OES를 사용하여 측정하였다. 결과를 표 6-8에 나타낸다. 통계 분석은 원-웨이 ANOVA를 이용하여 실시하였고 또 P 값은 0.05로 설정하였다.

시험한 pH 범위를 통하여, 양쪽 A1 및 아세트산칼슘은 다른 제제에 비하여 용액에서 현저하게 더 높은 칼슘 함량을 나타내었다. CaltrateTM은 최저 칼슘 함량 (p<0.05)을 가졌다. A1 및 아세트산칼슘은 pH 1에서 최고 용해도를 갖는다(표 6).

마그네슘은 용액에서 칼슘 함량에 대하여 음성적인 효과를 갖는다; 용해도 순서는 A5>A4>A6이다. CaltrateTM을 제외하고, pH 1에서 더욱 용해성이 아세트산칼슘 및 A1은 용액 중에서 마그네슘의 용해도에 대하여 아무런 효과를 갖지 않는다(표 7).

유사하게, 용액 중의 아연의 양은 상이한 배합물 중의 아연 함량과 상관관계가 있다(A5>A4>A1>A6)(표 8). 시험한 모든 4개 아세테이트 배합물의 경우, 5보다 높은 pH 값은 pH 2 및 3에서의 용해도보다 더 높은 용해도와 관련된다.

pH는 CaltrateTM을 투여할 때 칼슘 흡수에 대한 이슈가 될 수 있는데, 이는 소장의 pH 값이 6보다 더 높기 때문이다. 이러한 조건하에서, CaltrateTM 중의 탄산칼슘의 용해도는 아주 낮다. 이를 결과는 표 3에 보고된 결과와 일치한다.

[0106] (표 6)

상이한 pH 용액에서 칼슘 용해도 (g/L) (N = 3)

pH	Caltrate™	Ca ACE	A1	A4	A5	A6
1	4.60 ± 0.28	99.0 ± 19.2	101 ± 12.9	37.6 ± 2.5	48.7 ± 2.1	23.3 ± 3.2
2	4.04 ± 0.23	61.3 ± 0.97	64.6 ± 5.1	29.4 ± 2.1	43.5 ± 5.3	22.6 ± 0.54
3	0.507 ± 0.10	75.7 ± 4.8	71.4 ± 22.2	38.0 ± 4.7	48.6 ± 0.98	19.5 ± 2.5
4	0.237 ± 0.03	85.4 ± 5.7	75.3 ± 3.4	38.5 ± 2.9	48.3 ± 0.82	20.8 ± 0.98
5	0.240 ± 0.06	75.6 ± 5.5	65.4 ± 11.8	39.3 ± 4.4	47.4 ± 8.6	24.7 ± 2.5
6	0.317 ± 0.10	76.0 ± 5.9	83.8 ± 12.7	41.2 ± 1.3	52.3 ± 5.0	19.3 ± 2.7
7	0.133 ± 0.05	80.0 ± 3.5	84.2 ± 16.8	34.6 ± 3.3	49.5 ± 8.1	20.6 ± 3.8
8	0.160 ± 0.03	71.2 ± 1.6	78.3 ± 13.0	30.0 ± 3.8	55.3 ± 7.9	19.8 ± 2.0
9	0.227 ± 0.13	74.5 ± 6.8	84.8 ± 8.2	35.8 ± 3.5	50.2 ± 1.5	19.6 ± 4.2

[0107]

[0108] (표 7)

상이한 pH 용액에서 마그네슘 용해도 (g/L) (n = 3)

pH	Caltrate™	Ca ACE	A1	A4	A5	A6
1	0.197 ± 0.015	0.527 ± 0.121	0.173 ± 0.015	34.697 ± 4.836	23.927 ± 1.747	41.797 ± 5.622
2	0.100 ± 0.000	0.360 ± 0.010	0.133 ± 0.006	29.117 ± 2.204	20.020 ± 2.174	39.957 ± 1.050
3	0.133 ± 0.006	0.413 ± 0.035	0.143 ± 0.021	32.640 ± 41.65	21.880 ± 0.849	34.100 ± 5.169
4	0.123 ± 0.012	0.490 ± 0.010	0.173 ± 0.015	33.560 ± 2.606	21.733 ± 0.248	34.153 ± 1.560
5	0.107 ± 0.012	0.500 ± 0.040	0.137 ± 0.012	34.510 ± 2.817	24.367 ± 3.916	45.353 ± 7.294
6	0.110 ± 0.010	0.473 ± 0.076	0.177 ± 0.040	35.747 ± 1.738	24.997 ± 0.817	34.477 ± 4.730
7	0.093 ± 0.006	0.460 ± 0.035	0.153 ± 0.015	30.197 ± 2.818	21.677 ± 3.127	36.983 ± 7.234
8	0.097 ± 0.006	0.433 ± 0.040	0.157 ± 0.015	31.023 ± 6.548	24.953 ± 3.410	34.480 ± 4.046
9	0.097 ± 0.006	0.433 ± 0.045	0.160 ± 0.010	33.473 ± 7.169	23.607 ± 1.055	34.410 ± 6.836

[0109]

[0110] (표 8)

상이한 pH 용액에서 아연 용해도 (g/L) (n = 3)

pH	Caltrate™	Ca ACE	A1	A4	A5	A6
1	0.007 ± 0.006	0.030 ± 0.010	1.283 ± 0.220	1.980 ± 0.256	2.637 ± 0.143	1.440 ± 0.140
2	0.003 ± 0.006	0.013 ± 0.006	0.793 ± 0.093	1.457 ± 0.032	2.220 ± 0.204	1.143 ± 0.025
3	0.000 ± 0.000	0.017 ± 0.006	0.843 ± 0.315	1.593 ± 0.216	2.103 ± 0.134	0.817 ± 0.064
4	0.000 ± 0.000	0.017 ± 0.006	1.137 ± 0.092	1.867 ± 0.078	2.383 ± 0.071	0.933 ± 0.032
5	0.003 ± 0.006	0.017 ± 0.006	0.993 ± 0.195	1.930 ± 0.164	2.790 ± 0.305	1.250 ± 0.193
6	0.000 ± 0.000	0.020 ± 0.000	1.227 ± 0.133	2.063 ± 0.059	2.837 ± 0.135	0.870 ± 0.096
7	0.007 ± 0.012	0.023 ± 0.006	1.237 ± 0.223	1.770 ± 0.132	2.493 ± 0.372	0.990 ± 0.157
8	0.003 ± 0.006	0.027 ± 0.012	1.180 ± 0.180	1.787 ± 0.306	2.903 ± 0.300	0.940 ± 0.082
9	0.007 ± 0.006	0.027 ± 0.006	1.260 ± 0.087	1.970 ± 0.364	2.753 ± 0.133	0.917 ± 0.152

[0111]

실시예 4

시험 제제에서 칼슘, 마그네슘 및 아연의 용해도에 대한 음이온의 효과

이 실시예에서, 칼슘, 마그네슘, 및 아연의 용해도에 대한 비카보네이트 및 포스페이트(HCO_3^- 및 PO_4^{3-})의 효과는 pH 7에서 연구하였다. 또한, pH 1 및 pH 7에서 이를 3개 원소의 흡수에 대한 클로라이드의 효과를 또한 연구하였다. pH 조절 및 용해도 측정을 위해 실시예 3에 기재된 과정을 이용하였다. ICP-OES를 이용하여 칼슘, 마그네슘 및 아연을 정량하였다. 통계적 분석은 원-웨이 ANOVA를 이용하여 실시하였고 또 유의성 레벨은 $p < 0.05$ 로 설정되었다.

A. pH 1에서 클로라이드 효과

[0116] 표 9-11은 pH 1에서 클로라이드 효과의 결과이다. 이 조건은 위장에서 산성 환경을 모방한 것이다. 클로라이드는 pH 1에서 Caltrate™ 중의 칼슘, 마그네슘 및 아연의 용해도에 대하여 가장 강력한 효과를 갖는다(표 9- 11). 200 mM의 Cl⁻ 농도에서, 칼슘의 용해도가 가장 높았다. 최대 마그네슘 및 아연 용해도는 각각 50 mM 및 120 mM의 Cl⁻ 농도에서 도달하였다. 칼슘, 마그네슘 및 아연 용해도 변동은 아세테이트 배합물에서 최소이다: 아세트산 칼슘, A1, A4, A5 및 A6. 최고 Cl⁻ 농도에서 유의한 차이가 얻어졌다($p<0.05$).

(표 9)

pH 1에서 상이한 배합물 중에서 칼슘의 용해도 (g/L)에 대한 Cl⁻ 농도의 효과

Cl ⁻ 농도	Caltrate™	Ca ACE	A1	A4	A5	A6
0 mM	4.597 ± 0.276	98.950 ± 19.224	101.353 ± 12.947	37.637 ± 2.509	48.670 ± 2.102	23.337 ± 3.162
50 mM	8.160 ± 0.497	80.857 ± 10.277	73.950 ± 0.987	29.950 ± 6.933	42.413 ± 12.931	22.290 ± 4.543
100 mM	7.333 ± 1.572	71.060 ± 1.660	85.627 ± 14.191	30.023 ± 4.042	43.853 ± 2.264	24.690 ± 0.746
120 mM	8.157 ± 1.210	76.453 ± 6.196	83.967 ± 0.479	36.883 ± 1.966	50.283 ± 2.977	24.850 ± 1.077
150 mM	5.883 ± 1.416	73.353 ± 1.037	87.340 ± 3.166	39.657 ± 4.659	44.443 ± 5.495	24.647 ± 0.775
180 mM	9.073 ± 0.325	80.977 ± 12.440	88.593 ± 5.579	41.710 ± 2.836	50.343 ± 1.392	26.067 ± 1.891
200 mM	12.123 ± 1.178	77.257 ± 12.364	97.840 ± 12.364	42.313 ± 6.119	63.027 ± 3.406	29.387 ± 4.062

[0118]

(표 10)

pH 1에서 상이한 배합물 중에서 마그네슘의 용해도 (g/L)에 대한 Cl⁻ 농도의 효과

Cl ⁻ 농도	Caltrate™	Ca ACE	A1	A4	A5	A6
0 mM	0.197 ± 0.015	0.527 ± 0.121	0.173 ± 0.015	34.697 ± 4.836	23.927 ± 1.747	41.797 ± 5.622
50 mM	0.357 ± 0.471	0.440 ± 0.075	0.133 ± 0.006	31.420 ± 6.649	20.547 ± 6.525	45.827 ± 6.006
100 mM	0.113 ± 0.012	0.380 ± 0.020	0.157 ± 0.012	35.853 ± 4.215	22.697 ± 1.231	46.900 ± 4.117
120 mM	0.243 ± 0.163	0.420 ± 0.036	0.140 ± 0.017	33.363 ± 2.542	23.333 ± 3.312	48.827 ± 4.095
150 mM	0.220 ± 0.132	0.403 ± 0.012	0.163 ± 0.015	36.037 ± 4.510	21.967 ± 1.260	45.653 ± 2.449
180 mM	0.227 ± 0.134	0.420 ± 0.040	0.160 ± 0.020	38.117 ± 3.356	24.210 ± 0.698	46.070 ± 3.290
200 mM	0.207 ± 0.074	0.427 ± 0.080	0.163 ± 0.006	43.203 ± 4.646	29.410 ± 0.115	81.437 ± 4.319

[0120]

(표 11)

pH 1에서 상이한 배합물 중에서 아연의 용해도 (g/L)에 대한 Cl⁻ 농도의 효과

Cl ⁻ 농도	Caltrate™	Ca ACE	A1	A4	A5	A6
0 mM	0.007 ± 0.006	0.030 ± 0.010	1.283 ± 0.220	1.980 ± 0.256	2.637 ± 0.143	1.440 ± 0.140
50 mM	0.030 ± 0.000	0.027 ± 0.006	0.917 ± 0.156	1.500 ± 0.216	2.073 ± 0.598	1.237 ± 0.110
100 mM	0.130 ± 0.026	0.067 ± 0.025	1.120 ± 0.010	1.683 ± 0.100	2.353 ± 0.057	1.293 ± 0.025
120 mM	0.217 ± 0.047	0.103 ± 0.031	1.113 ± 0.112	1.687 ± 0.196	2.487 ± 0.273	1.363 ± 0.095
150 mM	0.277 ± 0.091	0.073 ± 0.015	1.360 ± 0.144	1.803 ± 0.121	2.320 ± 0.106	1.280 ± 0.046
180 mM	0.180 ± 0.060	0.117 ± 0.031	1.193 ± 0.211	1.927 ± 0.015	2.590 ± 0.061	1.313 ± 0.032
200 mM	0.190 ± 0.056	0.123 ± 0.040	1.413 ± 0.187	2.230 ± 0.265	3.173 ± 0.248	2.083 ± 0.112

[0122]

B. pH 7에서 클로라이드 효과

[0124] pH 7에서, Caltrate™ 중의 칼슘의 용해도는 클로라이드 존재하 pH 1에서의 용해도보다 훨씬 더 낮다(표 9 및 12의 값과 비교). 클로라이드 농도가 증가함에 따라서, Caltrate™ 중의 칼슘의 용해도는 증가한다. pH 및 클로라이드 효과는 아세테이트 배합물에 대하여 현저하지 않다. 일반적으로, 최대 칼슘 용해도는 50 내지 100 mM 사이의 클로라이드 농도에 도달한다.

[0125] 클로라이드 존재하에서, pH는 마그네슘 용해도에 대하여 효과가 적다 (표 10 및 13 사이의 값과 비교). 일반적으로, pH 7에서 마그네슘의 용해도는 모든 배합물에 대하여 약간 더 낮고 또 클로라이드 효과는 현저하지 않다.

[0126] 클로라이드 존재하에서, pH 7에서 Caltrate™ 중의 아연의 용해도는 pH 1에서의 값의 절반 미만이다(11 내지 14

사이의 값과 비교). 그러나, 이 차이는 아세테이트 배합물에서 현저하지 않다. 아연 용해도는 클로라이드 농도가 증가함에 따라서 증가하는 경향이 있다. 최대 아연 용해도는 CaltrateTM를 평가할 때 120 mM 클로라이드에서도 달한다. 아세테이트 배합물의 경우, 최대 아연 용해도는 클로라이드 농도가 200 mM에 도달할 때 발생하였다.

[0127] (표 12)

pH 7에서 상이한 배합물에서 칼슘의 용해도에 대한 Cl⁻ 농도의 효과

Cl ⁻ 농도	Caltrate TM [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0 mM	0.133 ± 0.051	80.017 ± 3.505	84.170 ± 16.834	34.640 ± 3.268	49.497 ± 8.097	20.627 ± 3.821
50 mM	0.340 ± 0.082	99.373 ± 6.182	80.703 ± 13.103	47.473 ± 2.381	61.537 ± 6.436	31.490 ± 2.399
100 mM	0.557 ± 0.040	87.263 ± 13.984	77.660 ± 19.779	47.867 ± 7.511	66.743 ± 13.191	29.053 ± 6.684
120 mM	0.370 ± 0.165	71.440 ± 5.851	61.437 ± 8.616	35.400 ± 0.864	45.060 ± 6.166	22.353 ± 2.351
150 mM	0.567 ± 0.075	70.923 ± 3.240	73.773 ± 12.437	33.017 ± 2.455	42.980 ± 2.603	20.313 ± 2.005
180 mM	0.560 ± 0.165	77.823 ± 12.314	59.720 ± 7.467	34.003 ± 0.846	42.890 ± 5.516	17.490 ± 0.916
200 mM	0.600 ± 0.132	73.930 ± 7.785	84.707 ± 15.685	33.223 ± 2.093	46.403 ± 4.643	18.627 ± 2.238

[0128]

[0129] (표 13)

pH 7에서 상이한 배합물에서 마그네슘의 용해도에 대한 Cl⁻ 농도의 효과

Cl ⁻ 농도	Caltrate TM [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0 mM	0.093 ± 0.006	0.460 ± 0.035	0.153 ± 0.015	30.197 ± 2.818	21.677 ± 3.127	36.983 ± 7.234
50 mM	0.280 ± 0.202	0.503 ± 0.031	0.140 ± 0.020	43.190 ± 2.792	29.203 ± 1.107	56.003 ± 3.989
100 mM	0.280 ± 0.149	0.480 ± 0.017	0.143 ± 0.006	45.253 ± 6.350	30.917 ± 6.111	52.953 ± 14.721
120 mM	0.110 ± 0.026	0.390 ± 0.030	0.147 ± 0.012	31.983 ± 3.302	19.333 ± 2.217	42.463 ± 1.448
150 mM	0.227 ± 0.096	1.750 ± 2.382	0.167 ± 0.015	29.087 ± 0.957	19.383 ± 1.482	42.643 ± 0.446
180 mM	0.253 ± 0.129	0.430 ± 0.046	0.167 ± 0.006	32.633 ± 2.372	19.733 ± 2.149	36.160 ± 10.009
200 mM	0.283 ± 0.107	0.427 ± 0.065	0.203 ± 0.025	32.923 ± 0.802	23.067 ± 2.175	47.133 ± 1.598

[0130]

[0131] (표 14)

pH 7에서 상이한 배합물에서 아연의 용해도에 대한 Cl⁻ 농도의 효과

Cl ⁻ 농도	Caltrate TM [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0 mM	0.007 ± 0.012	0.023 ± 0.006	1.237 ± 0.223	1.770 ± 0.132	2.493 ± 0.372	0.990 ± 0.157
50 mM	0.113 ± 0.006	0.180 ± 0.089	0.997 ± 0.195	2.057 ± 0.189	3.177 ± 0.289	1.457 ± 0.244
100 mM	0.140 ± 0.026	0.213 ± 0.102	0.903 ± 0.280	2.413 ± 0.144	3.063 ± 0.287	1.540 ± 0.380
120 mM	0.050 ± 0.017	0.167 ± 0.202	0.760 ± 0.118	1.573 ± 0.146	1.997 ± 0.254	1.110 ± 0.036
150 mM	0.087 ± 0.025	0.177 ± 0.085	0.987 ± 0.110	2.030 ± 0.615	2.010 ± 0.165	1.177 ± 0.072
180 mM	0.093 ± 0.015	0.143 ± 0.071	0.780 ± 0.151	1.637 ± 0.127	2.090 ± 0.167	1.077 ± 0.163
200 mM	0.093 ± 0.012	0.160 ± 0.079	1.117 ± 0.202	1.663 ± 0.078	1.643 ± 1.217	1.303 ± 0.060

[0132]

C. pH 7에서 비카보네이트 효과

CaltrateTM 중의 칼슘의 용해도는 비카보네이트 농도 증가에 따라 증가하였다(표 15). 그러나, 그 반대는 아세트산칼슘에 대해서도 사실이다. 용해도는 적어도 40% 감소되었다. 모든 진주 추출물 배합물에 대한 감소는 약 20 내지 25%로 적었다.

CaltrateTM에서 마그네슘의 용해도는 비카보네이트 농도와 함께 증가하였다(표 16). 비카보네이트 효과는 아세테이트 배합물에 대해 최소이었다.

CaltrateTM에서 아연의 용해도는 비카보네이트 존재하에서 증가하였다(표 17). 최대 아연 용해도는 70 mM에서 도달하였다. 아세트산칼슘의 경우, 그 경향은 CaltrateTM의 경향과 유사하다. 비카보네이트는 진주 추출물 배합물에 대한 영향이 아주 적다.

[0137] (표 15)

pH 7에서 상이한 배합물에서 칼슘의 용해도에 대한 HCO_3^- 농도의 효과

HCO_3^- 농도	Caltrate™ [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0 mM	0.133 ± 0.051	80.017 ± 3.505	84.170 ± 16.834	34.640 ± 3.268	49.497 ± 8.097	20.627 ± 3.821
50 mM	0.217 ± 0.214	50.243 ± 3.312	72.030 ± 7.103	36.007 ± 3.807	42.577 ± 0.779	21.737 ± 1.255
70 mM	0.213 ± 0.098	62.090 ± 8.524	70.933 ± 4.812	33.420 ± 5.263	42.130 ± 4.734	22.343 ± 0.847
100 mM	0.380 ± 0.075	56.367 ± 9.062	83.640 ± 10.870	34.997 ± 6.049	46.167 ± 4.546	25.260 ± 10.191
120 mM	0.440 ± 0.167	46.023 ± 2.463	67.010 ± 3.767	31.060 ± 2.23	46.973 ± 2.919	20.817 ± 1.664
150 mM	0.433 ± 0.120	70.637 ± 3.622	65.617 ± 1.475	30.410 ± 2.888	41.567 ± 4.620	19.163 ± 1.568
180 mM	0.930 ± 1.290	46.847 ± 2.741	65.270 ± 1.781	28.680 ± 1.362	38.073 ± 3.465	18.870 ± 1.679

[0138]

[0139] (표 16)

pH 7에서 상이한 배합물에서 마그네슘의 용해도에 대한 HCO_3^- 농도의 효과

HCO_3^- 농도	Caltrate™ [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0 mM	0.093 ± 0.006	0.460 ± 0.035	0.153 ± 0.015	30.197 ± 2.818	21.677 ± 3.127	36.983 ± 7.234
50 mM	0.090 ± 0.035	0.297 ± 0.055	0.190 ± 0.056	34.600 ± 4.638	20.427 ± 1.272	48.140 ± 1.653
70 mM	0.093 ± 0.012	0.347 ± 0.031	0.160 ± 0.000	32.057 ± 4.407	22.000 ± 0.141	42.767 ± 0.460
100 mM	0.223 ± 0.111	0.343 ± 0.101	0.167 ± 0.065	41.580 ± 12.984	26.393 ± 4.720	43.883 ± 1.288
120 mM	0.220 ± 0.069	0.303 ± 0.015	0.483 ± 0.551	30.960 ± 2.164	22.877 ± 1.082	46.990 ± 5.278
150 mM	0.227 ± 0.072	0.410 ± 0.061	0.150 ± 0.017	28.950 ± 2.262	18.850 ± 2.169	42.877 ± 7.608
180 mM	0.240 ± 0.095	0.293 ± 0.049	0.163 ± 0.015	30.787 ± 1.021	19.607 ± 1.529	36.957 ± 0.839

[0140]

[0141] (표 17)

pH 7에서 상이한 배합물에서 아연의 용해도에 대한 HCO_3^- 농도의 효과

HCO_3^- 농도	Caltrate™ [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0 mM	0.007 ± 0.012	0.023 ± 0.006	1.237 ± 0.223	1.770 ± 0.132	2.493 ± 0.372	0.990 ± 0.157
50 mM	0.057 ± 0.015	0.050 ± 0.010	0.953 ± 0.101	1.663 ± 0.205	2.010 ± 0.142	1.260 ± 0.017
70 mM	0.070 ± 0.020	0.100 ± 0.061	0.990 ± 0.082	1.560 ± 0.236	2.237 ± 0.099	1.147 ± 0.081
100 mM	0.070 ± 0.017	0.157 ± 0.055	1.190 ± 0.101	2.067 ± 0.654	2.660 ± 0.442	1.193 ± 0.023
120 mM	0.093 ± 0.025	0.210 ± 0.096	0.907 ± 0.042	1.513 ± 0.127	2.290 ± 0.115	1.317 ± 0.182
150 mM	0.087 ± 0.021	0.137 ± 0.083	0.863 ± 0.081	1.427 ± 0.059	1.887 ± 0.144	1.237 ± 0.235
180 mM	0.070 ± 0.017	0.160 ± 0.078	0.933 ± 0.072	1.517 ± 0.119	1.997 ± 0.157	1.023 ± 0.042

[0142]

[0143] *D. pH 7에서 포스페이트의 효과

포스페이트는 Caltrate™에서 칼슘의 용해도에 대하여 미미한 효과를 갖는다 (표 18). 포스페이트 농도가 증가함에 따라서, 칼슘의 용해도는 모든 아세테이트 배합물에서 감소하였다. 최대 감소(40% 이하)는 더 높은 %의 마그네슘을 함유하는 배합물(A4, A5 및 A6)에서도 관찰되었다. 시험된 포스페이트 농도 범위 10,000배를 고려할 때, 칼슘 용해도의 변화는 현저하지 않다.

마그네슘 용해도는 포스페이트 농도가 증가함에 따라서 감소하였다(표 19). 감소(80%)는 Caltrate™에서 마그네슘에 대하여 가장 현저하다. 다른 배합물의 경우, 최대 감소는 약 50%이었다. 다시, 포스페이트의 효과는 시험된 농도 범위를 고려할 때 현저하지 않았다.

3개 원소 중에서, 포스페이트는 아연의 용해도에 대하여 가장 강력한 효과를 갖는다(표 20). 모든 배합물은 동일 정도로 영향을 받았고 또 최대 감소는 약 70%이었다. 시험된 포스페이트 농도 범위를 고려할 때, 포스페이트의 효과는 그리 현저하지 않았다.

[0147] (표 18)

pH 7에서 상이한 배합물에서 칼슘의 용해도에 대한 PO_4^{3-} 농도의 효과

PO_4^{3-} 농도	Caltrate™ [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0.01 mM	0.587 ± 0.200	77.517 ± 6.084	84.270 ± 9.511	34.950 ± 6.725	47.823 ± 3.080	22.287 ± 2.539
1 mM	0.510 ± 0.252	68.220 ± 19.638	56.450 ± 9.879	39.923 ± 10.060	42.363 ± 3.572	23.530 ± 0.159
10 mM	0.430 ± 0.046	78.417 ± 7.046	64.697 ± 9.058	25.703 ± 7.033	41.287 ± 3.584	21.687 ± 1.156
100 mM	0.453 ± 0.158	64.770 ± 1.548	58.607 ± 9.415	25.090 ± 3.181	34.650 ± 6.972	15.437 ± 2.428

[0148] (표 19)

pH 7에서 상이한 배합물에서 마그네슘의 용해도에 대한 PO_4^{3-} 농도의 효과

PO_4^{3-} 농도	Caltrate™ [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0.01 mM	0.280 ± 0.070	0.493 ± 0.025	0.203 ± 0.006	38.017 ± 2.532	24.733 ± 0.886	52.000 ± 5647
1 mM	0.317 ± 0.087	0.450 ± 0.095	0.217 ± 0.031	35.647 ± 10.790	18.583 ± 1.676	48.967 ± 1.486
10 mM	0.240 ± 0.050	0.477 ± 0.035	0.173 ± 0.012	20.837 ± 5.545	18.163 ± 1.368	37.140 ± 2.681
100 mM	0.073 ± 0.006	0.350 ± 0.017	0.127 ± 0.012	21.490 ± 1.830	16.720 ± 4.514	31.163 ± 4.838

[0150] (표 20)

pH 7에서 상이한 배합물에서 아연의 용해도에 대한 PO_4^{3-} 농도의 효과

PO_4^{3-} 농도	Caltrate™ [g/L]	Ca ACE [g/L]	A1 [g/L]	A4 [g/L]	A5 [g/L]	A6 [g/L]
0.01 mM	0.117 ± 0.042	0.190 ± 0.070	1.193 ± 0.097	1.950 ± 0.040	2.750 ± 0.135	1.470 ± 0.154
1 mM	0.100 ± 0.044	0.197 ± 0.110	0.780 ± 0.151	1.800 ± 0.394	1.993 ± 0.093	1.380 ± 0.079
10 mM	0.070 ± 0.010	0.180 ± 0.089	0.767 ± 0.137	0.937 ± 0.253	1.740 ± 0.173	1.023 ± 0.060
100 mM	0.033 ± 0.015	0.053 ± 0.023	0.527 ± 0.119	0.623 ± 0.087	1.013 ± 0.345	0.510 ± 0.131

[0152] [0153] 실시예 5

시험 제제에서 칼슘, 마그네슘 및 아연의 용해도에 대한 양이온의 효과

A. pH 1에서 Na^+ 의 효과

4개 배합물(A1, A4, A5, 및 A6), Caltrate 및 CaACE에서 3개 원소의 용해도에 대한 Na^+ 농도의 효과는 위장 pH (pH=1) 및 장 pH (pH=7)에서 조사하였다. 표 21 및 22는 pH 1에서 시험된 결과를 나타낸다. 모든 배합물의 칼슘 및 마그네슘 용해도에 대한 Na^+ 농도의 현저한 효과는 관찰되지 않았다. 미량의 Zn을 함유하는 Caltrate™ 및 아세트산칼슘에서 아연의 용해도는 나트륨 농도에 따라 현저하게 증가하였다; 그러나, 모든 아세테이트 배합물에 대해서는 어떠한 현저한 차이가 관찰되지 않았다(표 23).

[0157] (표 21)

pH1에서 각 배합물의 칼슘 용해도에 대한 **Na⁺**의 농도의 효과

Na+ 농도(mM)	칼슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	4.597 ± 0.276	98.950 ± 19.224	101.353 ± 12.947	37.637 ± 2.509	48.670 ± 2.102	23.337 ± 3.162
5	5.447 ± 2.061	84.800 ± 13.912	72.233 ± 1.501	36.467 ± 5.173	46.100 ± 0.721	22.000 ± 1.323
10	4.340 ± 0.035	66.967 ± 17.377	80.000 ± 1.852	40.033 ± 4.623	49.833 ± 2.503	27.900 ± 3.736
50	4.640 ± 0.707	90.167 ± 9.343	83.467 ± 3.313	36.633 ± 1.877	49.033 ± 4.452	25.467 ± 0.231
80	5.530 ± 0.946	87.167 ± 3.630	83.067 ± 6.813	37.033 ± 1.069	55.733 ± 5.372	30.600 ± 1.709
100	5.360 ± 0.742	79.233 ± 15.964	84.900 ± 11.609	39.100 ± 5.696	48.733 ± 3.968	25.067 ± 0.153

이들 데이터는 평균 ±S.D.로 표시한다.

시험된 모든 배합물에 대하여 시험된 모든 Na⁺ 농도에서 통계적 차이 없음

[0158] (표 22)

pH1에서 각 배합물의 마그네슘 용해도에 대한 **Na⁺**의 농도의 효과

Na+ 농도 (mM)	마그네슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.197 ± 0.015	0.527 ± 0.121	0.173 ± 0.015	34.697 ± 4.836	23.927 ± 1.747	41.797 ± 5.622
5	0.223 ± 0.006	0.700 ± 0.183	0.283 ± 0.040	36.400 ± 4.854	24.467 ± 1.361	39.933 ± 1.343
10	1.037 ± 1.109	0.483 ± 0.115	0.317 ± 0.050	38.967 ± 5.745	23.900 ± 1.800	49.100 ± 3.305
50	0.807 ± 0.889	0.620 ± 0.115	0.237 ± 0.031	35.733 ± 1.909	22.667 ± 2.055	45.500 ± 2.211
80	1.087 ± 1.264	0.580 ± 0.061	0.960 ± 1.031	35.033 ± 3.625	27.767 ± 3.700	50.900 ± 7.375
100	0.577 ± 0.525	0.497 ± 0.025	0.223 ± 0.032	36.000 ± 5.629	21.267 ± 2.120	46.233 ± 1.401

이들 데이터는 평균 ±S.D.로 표시한다.

시험된 모든 배합물에 대하여 시험된 모든 Na⁺ 농도에서 통계적 차이 없음

[0160] (표 23)

pH1에서 각 배합물의 아연 용해도에 대한 **Na⁺**의 농도의 효과

Na+ 농도 (mM)	아연의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.007 ± 0.006	0.030 ± 0.010	1.283 ± 0.220	1.980 ± 0.256	2.637 ± 0.143	1.440 ± 0.140
5	0.087 ± 0.006	0.123 ± 0.006	0.660 ± 0.128	1.393 ± 0.316	2.180 ± 0.413	1.183 ± 0.121
10	0.173 ± 0.015	0.317 ± 0.106	0.883 ± 0.080	1.767 ± 0.280	2.080 ± 0.160	1.760 ± 0.617
50	0.240 ± 0.053	0.400 ± 0.139	1.023 ± 0.075	1.727 ± 0.060	2.250 ± 0.114	1.410 ± 0.125
80	0.210 ± 0.026	0.397 ± 0.163	0.907 ± 0.211	1.730 ± 0.479	2.613 ± 0.270	1.747 ± 0.015
100	0.223 ± 0.031	0.363 ± 0.095	0.947 ± 0.188	1.490 ± 0.105	2.207 ± 0.506	1.493 ± 0.630

이들 데이터는 평균 ±S.D.로 표시한다.

B. pH 7에서 Na^+ 의 효과

표 24-26은 pH 7에서 나트륨 이온의 효과를 나타낸다. Na^+ 는 일반적으로 칼슘, 마그네슘 및 아연 용해도에 대하여 현저한 효과를 갖지 않는다. Caltrate™ 중의 모든 3개 원소가 pH 7에서 Na^+ 의 존재하에서 겹출될 수 없었다는 것은 언급할만한 가치가 있다.

(표 24)

pH 7에서 각 배합물의 칼슘 용해도에 대한 Na^+ 의 농도의 효과

Na^+ 농도(mM)	칼슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.133 ± 0.051	98.950 ± 19.224	101.353 ± 12.947	37.637 ± 2.509	48.670 ± 2.102	23.337 ± 3.162
10	---	83.300 ± 26.469	67.433 ± 4.460	37.433 ± 4.822	43.800 ± 4.703	39.367 ± 16.110
50	---	69.000 ± 1.015	99.333 ± 21.548	35.533 ± 0.814	48.367 ± 4.359	23.833 ± 2.219
100	---	71.467 ± 10.891	71.433 ± 1.193	36.867 ± 3.139	46.267 ± 1.380	24.567 ± 4.104
140	---	83.067 ± 6.596	68.900 ± 7.400	32.300 ± 1.153	47.200 ± 6.023	25.633 ± 3.754
170	---	72.333 ± 15.467	71.433 ± 0.551	37.567 ± 10.473	43.133 ± 4.876	25.867 ± 3.175

이들 데이터는 평균 ±S.D.로 표시한다.

시험된 모든 배합물에 대하여 시험된 모든 Na^+ 농도에서 통계적 차이 없음

[0166]

(표 25)

pH 7에서 각 배합물의 마그네슘 용해도에 대한 Na^+ 의 농도의 효과

Na^+ 농도 (mM)	마그네슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.093 ± 0.006	0.527 ± 0.121	0.173 ± 0.015	34.697 ± 4.836	23.927 ± 1.747	41.797 ± 5.622
10	---	0.740 ± 0.165	0.110 ± 0.010	35.300 ± 3.579	19.500 ± 1.769	75.167 ± 34.360
50	---	0.427 ± 0.081	0.193 ± 0.015	35.933 ± 5.139	23.000 ± 4.327	52.167 ± 4.852
100	---	0.510 ± 0.066	0.157 ± 0.006	33.267 ± 3.889	20.667 ± 0.493	45.867 ± 3.329
140	---	0.497 ± 0.099	0.157 ± 0.021	28.867 ± 2.255	20.567 ± 2.610	51.000 ± 6.963
170	---	0.530 ± 0.036	0.167 ± 0.021	45.633 ± 11.097	21.600 ± 2.476	53.500 ± 3.650

이들 데이터는 평균 ±S.D.로 표시한다.

[0168]

[0169] (표 26)

pH 7에서 각 배합물의 아연 용해도에 대한 Na^+ 의 농도의 효과

Na^+ 농도 (mM)	아연의 농도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.007 ± 0.012	0.030 ± 0.010	1.283 ± 0.220	1.980 ± 0.256	2.637 ± 0.143	1.440 ± 0.140
10	---	0.213 ± 0.102	0.600 ± 0.040	1.453 ± 0.185	1.543 ± 0.215	2.337 ± 1.351
50	---	0.280 ± 0.118	0.963 ± 0.280	1.700 ± 0.779	2.317 ± 0.798	1.687 ± 0.466
100	---	0.293 ± 0.129	0.707 ± 0.107	1.243 ± 0.211	1.790 ± 0.087	1.667 ± 0.275
140	---	0.320 ± 0.165	0.690 ± 0.137	1.113 ± 0.144	1.770 ± 0.056	1.643 ± 0.402
170	---	0.223 ± 0.102	0.730 ± 0.079	2.230 ± 0.397	1.933 ± 0.838	1.577 ± 0.529

이들 데이터는 평균 ±S.D.로 표시한다.

C. pH 1에서 K^+ 의 효과

칼륨 이온 농도 증가에 따라 칼슘의 용해도가 증가하는 경향이 있다(표 27). 그러나, 대부분의 차이는 통계적으로 상이하지 않다($p<0.05$). A5에서, 칼슘 용해도는 50% 이상 증가하였다; 이 차이는 현저하였다($p<0.05$).

마그네슘 용해도 프로필은 칼슘의 프로필과 유사한 경향을 나타낸다(표 28). 가장 현저한 것은 Caltrate™에 대해 측정된 것이며, 3배 증가한다($p<0.05$). 이 경향은 모든 아세테이트 배합물에 대해 현저하지 않았다.

아연 용해도는 칼륨 농도 증가에 따라 증가하는 경향이 있었다(표 29). 가장 현저한 증가는 Caltrate™에서 아연으로부터 얻어졌다. 유사한 경향은 아세트산 칼슘에 대해 관찰되었다. 이 경향은 진주 추출물 배합물에 대해 미미하였다($p>0.05$).

[0175] (표 27)

pH 1에서 각 배합물의 칼슘 용해도에 대한 K^+ 농도의 효과

K^+ 농도 (mM)	칼슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	4.597 ± 0.276	98.950 ± 19.224	101.353 ± 12.947	37.637 ± 2.509	48.670 ± 2.102	23.337 ± 3.162
2	4.300 ± 0.403	78.933 ± 1.320	71.833 ± 9.338	34.033 ± 1.739	35.833 ± 5.314	24.067 ± 1.474
5	3.607 ± 0.540	71.033 ± 13.079	73.733 ± 3.412	36.967 ± 1.159	47.500 ± 5.272	23.500 ± 1.778
10	6.497 ± 3.381	158.333 ± 40.624	83.733 ± 14.093	40.467 ± 7.823	66.567 ± 21.033	30.867 ± 10.262
15	6.877 ± 0.956	161.667 ± 46.918	92.167 ± 14.793	41.867 ± 7.019	63.333 ± 7.651	26.667 ± 0.473
20	3.567 ± 0.501	100.800 ± 3.811	103.333 ± 15.822	42.633 ± 4.674	103.567 ± 64.463	29.300 ± 3.751

데이터는 평균 ±S.D.로 나타낸다.

[0177] (표 28)

pH 1에서 각 배합물의 마그네슘 용해도에 대한 K^+ 농도의 효과

K^+ 농도 (mM)	마그네슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.197 ± 0.015	0.527 ± 0.121	0.173 ± 0.015	34.697 ± 4.836	23.927 ± 1.747	41.797 ± 5.622
2	0.223 ± 0.087	0.693 ± 0.283	0.203 ± 0.029	34.933 ± 1.716	21.633 ± 4.300	49.700 ± 1.249
5	0.490 ± 0.419	0.453 ± 0.112	0.170 ± 0.030	32.667 ± 2.542	23.433 ± 3.408	43.000 ± 2.406
10	0.703 ± 0.846	0.820 ± 0.193	0.270 ± 0.130	38.733 ± 5.552	30.067 ± 8.429	55.400 ± 18.187
15	0.730 ± 0.912	0.687 ± 0.215	0.327 ± 0.185	41.467 ± 8.617	31.067 ± 4.050	54.800 ± 3.897
20	0.660 ± 0.764	0.650 ± 0.020	0.883 ± 1.140	52.067 ± 2.859	55.733 ± 34.208	54.233 ± 14.632

데이터는 평균 ±S.D로 나타낸다.

[0178] (표 29)

pH 1에서 각 배합물의 아연 용해도에 대한 K^+ 농도의 효과

K^+ 농도 (mM)	아연의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.007 ± 0.006	0.030 ± 0.010	1.283 ± 0.220	1.980 ± 0.256	2.637 ± 0.143	1.440 ± 0.140
2	0.053 ± 0.015	0.077 ± 0.006	0.607 ± 0.108	1.377 ± 0.221	1.937 ± 0.591	1.360 ± 0.122
5	0.173 ± 0.035	0.240 ± 0.075	0.790 ± 0.147	1.297 ± 0.169	2.593 ± 0.821	1.143 ± 0.278
10	0.203 ± 0.058	0.357 ± 0.111	1.127 ± 0.142	1.630 ± 0.185	2.373 ± 0.658	1.627 ± 0.225
15	0.193 ± 0.023	1.307 ± 1.199	1.060 ± 0.600	1.953 ± 0.590	2.963 ± 0.309	1.630 ± 0.161
20	0.167 ± 0.015	0.293 ± 0.093	1.100 ± 0.140	2.500 ± 0.236	5.450 ± 3.159	2.540 ± 1.424

데이터는 평균 ±S.D로 나타낸다.

C. pH 7에서 K^+ 효과

칼륨 농도 증가에 따라 칼슘의 용해도는 증가하는 경향이 있다, 그러나, 그 차이는 유의하지 않다. $p>0.05$ (표 30). Caltrate™를 사용한 제제에서는 칼슘의 용해도는 증가하는 경향이 전혀 검출될 수 없었다.

칼슘의 용해도와 유사한 관찰이 아세테이트 염을 함유하는 모든 배합물에서 마그네슘 및 아연 ($p>0.05$)의 용해도에 대해서도 얻어졌다(표 31-32). Caltrate™를 사용한 제제의 경우 측정가능한 마그네슘 및 아연은 보고되지 않았다.

[0184] (표 30)

pH 7에서 각 배합물의 칼슘 용해도에 대한 K^+ 농도의 효과

K+ 농도(mM)	칼슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	Ca ACE	A1	A4	A5	A6
0	0.133 ± 0.051	98.950 ± 19.224	101.353 ± 12.947	37.637 ± 2.509	48.670 ± 2.102	23.337 ± 3.162
10	---	144.000 ± 14.731	66.800 ± 1.539	32.100 ± 0.361	64.033 ± 8.892	17.100 ± 0.173
50	---	174.467 ± 79.146	68.533 ± 3.259	33.933 ± 2.515	64.867 ± 17.244	19.033 ± 3.630
100	---	156.333 ± 64.361	68.600 ± 5.356	30.500 ± 3.672	82.000 ± 35.508	20.667 ± 2.363
140	---	130.033 ± 32.461	60.400 ± 25.999	56.767 ± 32.771	68.400 ± 7.100	42.000 ± 18.340
170	---	134.567 ± 55.048	126.133 ± 72.997	68.433 ± 29.905	64.800 ± 26.352	30.900 ± 14.912

데이터는 평균 ±S.D로 나타낸다

시험된 모든 배합물에 대해 시험된 모든 K^+ 농도에서 통계적 차이는 없었다

[0185]

[0186] (표 31)

pH 7에서 각 배합물의 마그네슘 용해도에 대한 K^+ 농도의 효과

K+ 농도(mM)	마그네슘의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.093 ± 0.006	0.527 ± 0.121	0.173 ± 0.015	34.697 ± 4.836	23.927 ± 1.747	41.797 ± 5.622
10	---	0.767 ± 0.189	0.140 ± 0.010	32.033 ± 2.829	30.967 ± 2.136	46.800 ± 3.158
50	---	1.027 ± 0.587	0.347 ± 0.316	33.533 ± 2.084	31.867 ± 8.151	48.200 ± 1.253
100	---	0.807 ± 0.278	0.183 ± 0.047	34.067 ± 3.465	39.233 ± 16.350	54.000 ± 2.955
140	---	0.817 ± 0.303	0.160 ± 0.035	57.833 ± 34.279	32.833 ± 5.541	90.467 ± 42.518
170	---	0.760 ± 0.310	0.230 ± 0.062	64.200 ± 26.513	31.333 ± 12.507	61.900 ± 30.685

데이터는 평균 ±S.D로 나타낸다

시험된 모든 배합물에 대해 시험된 모든 K^+ 농도에서 통계적 차이는 없었다

[0187]

[0188] (표 32)

pH 7에서 각 배합물의 아연 용해도에 대한 K^+ 농도의 효과

K^+ 농도 (mM)	아연의 용해도 (g/L)					
	Caltrate™	CaACE	A1	A4	A5	A6
0	0.007 ± 0.012	0.030 ± 0.010	1.283 ± 0.220	1.980 ± 0.256	2.637 ± 0.143	1.440 ± 0.140
10	---	0.293 ± 0.110	0.727 ± 0.064	1.173 ± 0.163	3.243 ± 0.725	1.090 ± 0.070
50	---	0.627 ± 0.437	1.140 ± 0.036	1.447 ± 0.135	3.127 ± 0.720	1.247 ± 0.045
100	---	0.257 ± 0.110	1.197 ± 0.068	1.587 ± 0.106	3.417 ± 1.252	1.460 ± 0.122
140	---	0.387 ± 0.186	0.827 ± 0.506	2.583 ± 0.755	2.747 ± 1.432	2.607 ± 1.301
170	---	0.287 ± 0.142	1.223 ± 0.541	2.437 ± 0.618	2.873 ± 0.771	1.720 ± 0.624

데이터는 평균 ± S.D로 나타낸다

[0189] (표 33)

인간 위액 및 장액에서 철의 농도

Ions	철의 농도 (mM)	
	위액/장액에서 ^a	위액/장액에서 ^a
Na^+	0 – 100 (0 – 80)	(155)
K^+	0 – 10 (0 – 15)	(70 – 150)
H^+	1 – 140 (20 – 120)	(pH 7.7 – 8.2)
Cl^-	100 – 170 (120 – 160)	(30 – 90)
포스페이트 이온		100 까지 **
HCO_3^-		(70 – 130)

*값은 The Digestive System (ISEN 0443062455)로부터 인용되었다. 괄호 안의
값은 The Medical Physiology (ISBN 0781719364)로부터 인용되었다.
**인산 나트륨의 용해도를 기초로 함

[0191] [0192] 실시예 6

칼슘, 마그네슘 및 아연 균형의 생체내 평가

[0193] 균형 연구의 목적은 칼슘, 마그네슘 및 아연 균형에 대한 식이 조건 및 배합물의 효과를 평가하기 위한 것이다.

A. 식이 조건

[0194] 1개는 정상 칼슘 식이이고 다른 하나는 무칼슘 식이인 2개 식이를 연구에 이용하였다. 식이의 영양소 조성은 하기 표 34에 수록한다:

[0195]

[0198] (표 34)

정상 식이 및 무칼슘 식이의 조성

	정상 식이	무 칼슘
단백질 , %	24.0	19.0
지방 , %	4.5 (에테르 추출물) 6.0 (산 가수분해)	10.0
콜레스테롤 , ppm	101	48
섬유 , %	5.3	5.4
탄수화물 , %	21.5 (녹말) 0.2 (글루코오스) 0.2 (프럭토오스) 3.4 (수크로오스) 0.6 (락토오스)	60.6
칼륨 , %	1.20	0.62
나트륨 , %	0.40	0.27
염소 , %	0.70	0.27
칼슘 , %	0.95	0.0
마그네슘 , %	0.25	0.07
아연 , %	0.011	0.0031
철 , ppm	290	60
망간 , ppm	110	65
구리 , ppm	17	23.9
비타민 K, ppm	3.2	10.4
리보플라빈 , ppm	12	20.0
페리독신 , ppm	8.0	16.5

[0199]

B. 재료 및 방법

[0200] 초기 체중이 220 g 내지 250 g인 웅성 SD(Sprague-Dawley) 래트 (약 6-7 주)를 임의로 상이한 처리군으로 나누었다. 모든 래트는 온도 제어되는 방에서 개별 대사성 우리(metabolic cages)에 넣었다. 각 래트는 실험을 하기 전 정상 식이(표 34)에 자유로이 접근할 수 있었다. 양쪽 정상 및 무칼슘 식이(표 34)는 이 세트 연구에 사용되었다. 탈이온수를 자유로이 제공하였다. 모든 래트는 처리 전에 체중을 재었다.

C. 처리

[0201] 2세트의 연구를 실시하였다: a. 정상 식이 및 무칼슘 식이. 각 연구에는 7개의 처리군이 있었다. 35마리 동물을 임의로 처리군의 하나에 할당하였다: Caltrate™, 아세트산칼슘(Ca ACE), A1, A4, A5, A4 + 비타민 D3 및 A5 + 비타민 D3 (군당 n = 5). 정상 식이 연구에 참여한 래트는 정상 식이를 자유로이 받았다. 무칼슘 식이 군에 참여한 래트는 처리하기 전 5일에서 시작하여 처리하는 내내 자유로이 무칼슘 식품을 받았다. 양쪽 연구 군에서, 동물은 5일 동안 하루에 1번씩 투여받았다. 개별 배합물 및 개별 식이에 존재하는 칼슘, 마그네슘 및 아연의 함량은 ICP-OES를 이용하여 측정하였다. 투여량 및 식이 섭취의 값은 원소 균형의 산출을 위해 측정하였다. 칼슘, 마그네슘 및 아연의 평균 매일 식이 섭취는 각각 625, 155 및 10 mg/kg/일이었다. 매일 원소 투여량은 칼슘의 경우 53.14 mg/kg, 마그네슘의 경우 0.38 내지 55 mg/kg/일이고 또 아연의 경우 0.017 내지 2.5 mg/kg/일이었다. 투여하기 전에 각 투여 제제에 비타민 D₃, 1.06 µg/kg/일 (42.512 IU/kg/일; 1IU=0.025 µg)를 부가하였다. 각 투여량에 대한 부형제는 탈이온수이었다. 모든 투여 제제에서 칼슘의 농도는 15.94 mg/mL이었다. 각 제제의 1 mL를 위관 영양에 의해 투여하였다. 체중, 원소 투여량 및 식이 소비는 매일 기록하였다.

D. 샘플 수집, 취급 및 분석

[0202] 동물들은 이 연구를 하기 5일 전에 대사성 우리에서 개별적으로 넣었다. 식품 소비는 매일 평가하였다. 뇨 및 대변을 4일 동안 매일 수집하고 또 칼슘, 마그네슘 및 아연의 함량을 측정하였다. 5일에, 각 동물은 처리를 받았다. 각 동물은 심장 천자(cardiac puncture)를 통하여 혈관화된 시린지를 이용하여 피이크 혈압 수집 바로 전에 마취하였다. 혈액 수집 직후에, 치사량의 이소플루오란을 사용하여 동물을 치사시켰다. 각 혈액 샘플은 실온 1900 rpm에서 원심분리하였다; 혈장을 수집하고 또 분석할 때까지 -20°C에서 저장하였다. 소변을 대사성 우리로부터 수집하고 또 매일 부피를 측정하였다; 탈이온수로 희석하고, 어과하며 또 그 등분량을 분석할 때까지 -20°C에서 저장하였다. 매일의 대변량을 수집하고 동결건조하였다. 각 샘플의 중량을 재고 3부피의 질산 및 1부피의 과염소산의 혼합물을 사용하여 분해시켰다. 매 그램의 건조 대변에 대하여, 10 mL의 산 혼합물을 부가하였다. 각 샘플을 3일간 분해시켰다. 분해된 샘플의 부피를 측정하고 또 등분량의 분해물을 분석할 때까지 -20°C에

서 저장하였다. 혈장 중의 칼슘, 마그네슘 및 아연의 함량은 ICP-OES를 이용하여 측정하였다.

[0206] 매일의 칼슘 균형은 하기 식(1)를 이용하여 산출하였다:

$$\text{Ca 균형} = \text{총 Ca 섭취} (\text{투여량 및 식이성 섭취}) - \text{뇨에서 분비된 Ca} - \text{대변에서 분비된 Ca} \quad (1)$$

[0208] Ca 균형의 %는 하기 식(2)를 이용하여 측정하였다:

$$\% \text{ Ca 균형} = \text{Ca 균형} / (\text{총 Ca 섭취}) \times 100\% \quad (2)$$

[0210] 매일의 섭취 및 분비의 합을 산출에 사용한 것을 제외하고는 상기 식(1) 및 (2)를 이용하여 누적 칼슘 균형 및 % 누적 실제 칼슘 균형을 산출하였다.

[0211] 마그네슘 및 아연에 대한 균형은 상기 식(1) 및 (2)의 개념을 이용하여 또한 산출하였다. 누적 원소 균형 및 % 누적 실제 원소 균형은 상술한 바와 같은 방식으로 산출하였다.

[0212] 일반적으로,뇨 분비는 대변 분비의 5% 미만에 달하였다. 따라서, 대변 분비는 원소 균형의 양을 실질적으로 결정한다.

E. 통계학적 분석

[0214] 모든 결과는 2-웨이 ANOVA를 이용하여 분석하였다. P<0.05는 상당히 다른 것으로 간주되었다. 이 데이터는 표 및 도면에서 각각 평균±S.D. 및 평균±S.E.M으로 제공된다.

F. 결과: 무칼슘 식이

[0216] 표 35는 상기 연구 동안 래트의 체중을 나타낸다. 연구 동물의 대변은 부드러웠고 또 상기 관찰은 낮은 원소 섭취와 관련될 수 있었다. 식이 및 투여량에서 불충분한 원소는 상기 세트의 동물에 대해 체중 증가 감소를 초래 할 수 있었다.

[0217] (표 35)

무 칼슘 식이를 받은 각 처리군에서 래트의 체중 (n = 5)

처리군	래트의 체중 (g)				
	1일	2일	3일	4일	5일
Caltrate™	184.6 ± 7.7	178.6 ± 9.9	177.2 ± 8.8	179.2 ± 13.7	175.4 ± 14.2
Ca ACE	202.4 ± 9.3	194.8 ± 9.3 ^{\$}	196.8 ± 10.9	193.4 ± 11.9 ^{\$}	188.0 ± 12.2 ^{\$}
A1	190.4 ± 11.9	185.6 ± 14.0 [*]	187.6 ± 10.9	186.6 ± 11.3 ^{\$}	182.8 ± 15.4 [*]
A4	188.4 ± 12.9 ^{\$+*}	184.2 ± 13.2 ^{\$+*}	184.0 ± 12.7	182.4 ± 13.5 ^{\$+*}	183.2 ± 14.0 [*]
A5	187.8 ± 8.8 ^{\$#}	184.0 ± 6.0 ^{\$#}	184.2 ± 5.6 ^{\$#}	185.4 ± 6.0 ^{\$+&#}	182.4 ± 9.2 ^{\$#}
A4 + Vit D	207.6 ± 11.9 ^{\$+&}	200.0 ± 5.2 ^{\$+}	198.6 ± 4.5 ^{\$+&}	204.2 ± 4.4 ^{\$+@}	199.8 ± 6.4 ^{\$+&}
A5 + Vit D	204.8 ± 14.4 ^{\$+&%}	195.6 ± 8.3 ^{\$+%}	196.4 ± 7.7 ^{\$+&%}	201.0 ± 5.0 ^{\$+%}	196.8 ± 8.2 ^{\$+*}

\$:P<0.05, Caltrate 와 비교 ; *:P<0.05, Ca ACE와 비교 ; +:P<0.01, A1과 비교 ;

&:P<0.05, A4 와 비교 ; #:P<0.001, A5 와 비교 ;

@:P<0.001, A4 + Vit D 와 비교 ; @:P<0.05, A5 + Vit D 와 비교

[0218]

[0219] 마그네슘 및 아연을 배합물에 부가는 것은 칼슘 보유를 촉진한다. 소량의 마그네슘 및 아연을 갖는 조성인 A1은 더 낮은 칼슘 보유를 갖는다(17%, 표 36); 반면에 칼슘의 보유는 Ca/Mg 비율이 2/1로 증가하면(A5) 현저히 증가하며, 또 칼슘 보유는 49%이다(표 36). A4에서와 같이 고 비율의 마그네슘은 칼슘 보유에 더 많은 변화를 유도하지 않는다(49%, 표 36). 칼슘 보유 측면에서, Ca/Mg 비율 2/1이 최적인 것으로 보인다.

[0220] 비타민 D₃ 부가는 칼슘 보유를 현저히 증가시킨다(도 1 및 표 36). 칼슘 보유는 비타민 D₃를 A5에 부가할 때 62%까지 증가하였다(표 36).

[0221] (표 36)

무 칼슘 식이를 받는 한편 원소 보충제로 처리된 레트에서 칼슘의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 5)

처리군	칼슘의 누적 실제 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
Caltrate™	23.8 ± 15.9*	22.3 ± 16.8	-2.27 ± 40.0	0.734 ± 35.7
Ca ACE	-30.6 ± 51.3	-9.88 ± 26.5	4.88 ± 24.0	11.1 ± 20.0
A1	37.5 ± 18.7*	20.9 ± 15.5	20.8 ± 15.0	17.2 ± 12.1
A4	40.9 ± 19.1*	48.6 ± 13.7*	49.1 ± 10.2\\$*	49.1 ± 7.7\\$*
A5	36.4 ± 24.1*	46.8 ± 19.5*	48.7 ± 18.4\\$*	48.6 ± 19.1\\$*
A4 + Vit D	46.6 ± 22.3*	50.3 ± 10.9*	47.9 ± 14.8\\$*	50.8 ± 11.2\\$*
A5 + Vit D	43.7 ± 19.2*	52.7 ± 11.8*	59.2 ± 7.6\\$+*	62.0 ± 5.2\\$+*

§: P<0.05, Caltrate 와 비교함 ; *: P<0.05, Ca ACE 와 비교함 ; +: P<0.05, A1 와 비교함 ; #: P< 0.05, A4 + Vit D 와 비교함

[0222] [0223] 마그네슘은 마그네슘 균형을 유지하기 위해 필요한 것으로 보인다(표 37). 소량의 마그네슘을 갖는 배합물 (Caltrate™, CaACE 및 A1)은 마그네슘의 실제적 손실을 초래하였다(도 2 및 표 37).

[0224] 비타민 D₃의 부가는 마그네슘의 보유에는 유의한 효과를 갖지 않는다. 마그네슘의 누적 실제 %는 비타민 D₃를 A4 및 A5에 부가한 후에 현저하게 변화하지 않았다(도 2 및 표 37).

[0225] (표 37)

무 칼슘 식이를 받는 한편 원소 보충제로 처리된 레트에서 마그네슘의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 5)

처리군	마그네슘의 누적 실제 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
Caltrate™	-191.9 ± 139.1	-125.6 ± 51.0	-111.8 ± 39.1	-116.5 ± 37.7
Ca ACE	-197.2 ± 105.2	-150.4 ± 88.9	-115.3 ± 62.7	-93.6 ± 37.2
A1	-47.3 ± 22.4\\$*	-67.9 ± 33.3*	-55.2 ± 13.4	-64.4 ± 24.6
A4	66.5 ± 8.7\\$+*	68.1 ± 6.4\\$+*	65.8 ± 5.9\\$+*	60.9 ± 4.7\\$+*
A5	23.7 ± 46.3\\$*	37.6 ± 37.1\\$+*	41.1 ± 34.2\\$+*	39.6 ± 33.3\\$+*
A4 + Vit D	46.3 ± 27.5\\$+*	49.3 ± 18.8\\$+*	49.3 ± 15.3\\$++*	48.9 ± 15.5\\$+*
A5 + Vit D	16.0 ± 20.0\\$*	23.9 ± 21.5\\$+*	28.9 ± 17.9\\$+*	27.2 ± 23.0\\$+*

§: P<0.05, Caltrate 와 비교 ; *: P<0.05, Ca ACE 와 비교 ; +: P<0.05, A1 와 비교

[0226] [0227] 아연의 보유는 아주 다양하다; 이것은 소량의 아연을 함유하는 Caltrate™, 아세트산칼슘 및 A1과 같은 배합물의 경우 특히 사실이었다(표 38). 이 결과는 또한 아연 균형은 아연의 양이 낮을 때 음성으로 될 수 있음을 보여준다.

[0228] 아연을 A4 및 A5와 같은 배합물에 부가하는 것은 아연 균형을 현저히 개선시키지 않았다(표 38). 마그네슘을 배합물에 부가하는 것은 아연 균형이 음성으로 유지하게 할 수 있다(도 3).

[0229] 그러나, 비타민 D₃를 A4 및 A5에 부가하는 것은 아연 균형을 양성으로 만들 수 있다(도 3 및 표 38). 아연에 대한 비타민 D₃의 중요성은 상기 연구 세트로 확실하게 드러난다.

[0230] 도 4는 각 처리 후 혈장 원소 프로필을 도시한다. 원소 처리 후에 어떠한 유의한 차이도 관찰되지 않았다.

[0231] (표 38)

무 칼슘 식이를 받는 한편 원소 보충제로 처리된 래트에서 아연의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 5)

처리군	아연의 누적 실제 퍼센트			
	1일	2일	3일	4일
Caltrate™	-50.6 ± 50.0	-38.7 ± 23.8	-36.9 ± 26.4	-39.5 ± 23.7
Ca ACE	-107.1 ± 85.5	-77.7 ± 59.0	-65.7 ± 66.7	-50.5 ± 46.4
A1	10.1 ± 8.7 ^a	-0.348 ± 22.2 ^a	4.22 ± 7.3 ^a	-2.79 ± 6.4
A4	-61.0 ± 38.8 ^a	-55.3 ± 29.3 ^a	-58.3 ± 24.5 ^a	-33.8 ± 23.9 ^a
A5	-8.05 ± 45.3 ^{ab}	9.737 ± 39.5 ^{ab}	9.96 ± 40.3 ^{ab}	8.76 ± 40.1 ^b
A4 + Vit D	27.2 ± 40.7 ^{ab}	43.7 ± 18.8 ^{ab}	51.2 ± 15.1 ^{ab}	54.2 ± 11.2 ^{ab}
A5 + Vit D	22.8 ± 17.9 ^{ab}	35.8 ± 17.8 ^{ab}	42.9 ± 12.9 ^{ab}	44.6 ± 10.1 ^{ab}

§: P<0.05, Caltrate™ 와 비교 ; *: P<0.05, Ca ACE 와 비교 ; +: P<0.05, M 와 비교

G. 결과: 정상 식이

정상 식이를 한 래트는 체중이 증가하였다(표 39). 원소 처리는 체중 증가에 대한 어떠한 효과를 갖지 않는다(p>0.05).

[0235] (표 39)

정상 칼슘 식이를 한 래트의 체중 (n = 5)

처리군	래트의 체중 (g)				
	1일	2일	3일	4일	5일
Caltrate™	228.8 ± 4.6	232.8 ± 2.6	233.8 ± 3.5	243.6 ± 8.9	243.8 ± 5.1
Ca ACE	242.0 ± 7.4	237.0 ± 12.5	239.2 ± 13.9	238.6 ± 13.9	244.0 ± 12.8
A1	230.0 ± 4.5	233.8 ± 8.0	238.2 ± 6.1	244.6 ± 7.2	244.6 ± 3.5
A4	234.8 ± 7.7	238.6 ± 5.1	238.2 ± 5.9	239.0 ± 5.1	245.8 ± 4.9
A5	239.6 ± 10.3	243.0 ± 13.9	245.4 ± 13.6	245.4 ± 13.4	248.6 ± 14.4

데이터는 평균 ± S.D.로 나타낸다.

칼슘 보유 패턴은 무칼슘 식이를 받은 래트로부터 얻은 패턴과 유사한 것으로 보인다(표 36 및 40 비교); 이는 칼슘 투여량이 약 10%의 동물의 매일 식이성 섭취 (~130 내지 140 mg의 칼슘/일)이라는 사실에도 불구하고 칼슘 균형이 원소 처리에 의존적이라는 것을 제시한다. 이러한 관찰은 최소 흡수성 탄산염 형태로 존재하는 식이성 칼슘이 원소 처리에 의해 향상된다는 것을 제시한다. Caltrate™에 의한 처리는 최소의 효과를 갖는다. Caltrate™는 탄산칼슘만을 함유하기 때문에 이것은 놀랍지 않다. A5를 사용한 처리는 가장 현저한 효과를 갖는다(도 5 및 표 40).

[0238] (표 40)

정상 식이를 받는 한편 원소 보충제로 처리된 래트에서 칼슘의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 5)

처리군	칼슘의 누적 실제 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
Caltrate™	-6.9 ± 24.6	17.3 ± 7.5	21.3 ± 10.0	17.5 ± 10.2
Ca ACE	14.4 ± 24.0	26.9 ± 9.0	30.3 ± 4.9	31.873 ± 3.0
A1	31.4 ± 33.5 ^{\$}	49.2 ± 38.8 ^{\$}	39.2 ± 27.3	31.306 ± 21.9
A4	19.3 ± 12.6	23.7 ± 9.4	26.2 ± 9.6	22.7 ± 7.3
A5	52.1 ± 21.7 ^{\$&}	49.0 ± 19.8 ^{\$}	48.9 ± 20.4	45.3 ± 22.7

^{\$}: P<0.05, Caltrate 와 비교 ; *: P<0.05, Ca ACE 와 비교 ; +: P<0.05, A4 와 비교

상기 연구에 의한 마그네슘의 평균 식이 섭취는 약 35 mg이었다. 모든 연구 군에 대한 마그네슘 균형은 양성이었다(도 6 및 표 41). 이 관찰은 아주 적은 양의 마그네슘을 함유하는 무칼슘 식이를 받은 동물로부터 얻은 관찰과 일치한다(표 37 및 41). 무칼슘 식이 연구는 양성 마그네슘 균형을 위해 마그네슘 섭취가 필요함을 나타낸다(표 37). 원소 배합물 중에 마그네슘의 존재는 마그네슘 균형을 현저히 변경시키지 않았다(표 41). 그러나, 최근의 경향은 아세테이트 배합물(CaACE, A1, A4 및 A5 대 Caltrate™)에 의해 처리된 동물은 일정하게 더 높은 실제 퍼센트의 마그네슘을 갖는다.

[0241] (표 41)

정상 식이를 받는 한편 원소 보충제로 처리된 래트에서 마그네슘의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 5)

처리군	마그네슘의 실제 누적 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
Caltrate™	-2.82 ± 19.6 [%]	23.3 ± 8.1 [%]	27.3 ± 10.0	24.6 ± 6.9
Ca ACE	16.7 ± 17.2 [%]	29.9 ± 3.8	34.3 ± 2.5	37.7 ± 2.7
A1	11.7 ± 11.7 [%]	44.1 ± 30.7	38.9 ± 22.9	31.5 ± 17.0
A4	28.2 ± 9.1 ^{\$}	34.0 ± 7.8	36.8 ± 7.2	35.0 ± 4.4
A5	48.9 ± 25.3	48.9 ± 20.9	50.6 ± 20.1	48.6 ± 21.0

^{\$}: P<0.05, Caltrate 와 비교 ; %P<0.05, A5 와 비교

아연 균형 측면에서 원소 처리 중에서 통계적 차이는 존재하지 않았다(도 7 및 표 42). 원소 배합물을 통하여 투여된 아연의 양은 매일 식이 섭취의 30% 이하이었다. 다량의 마그네슘 부가는 아연 균형을 낮추는 경향이 있으며, A4 처리에 의해 관찰된 경향이다(도 7 및 표 42). 이러한 관찰은 무칼슘 식이 연구에서 관찰된 것과 유사하다(표 38).

무칼슘 식이 연구(표 38)와 대조적으로, 아연 균형은 상기 연구에서 양성이었다(표 42). 이것은 비타민 D₃ 없이 달성되었다(도 4 및 8, 표 38 및 42). 이러한 겉보기상 불일치는 전체 아연 섭취량 및/또는 아연이 소비된 비율에 기인한 것일 수 있다. 기타 영양소와 함께 원소 소비는 12시간 이하로 지속될 수 있는 공급 기간을 통하여 생길 수 있다; 반면에 원소 처리는 볼루스(bolus)로 제공되었다. 장의 벽에 제공된 영양소의 농도 및 비율은 볼루스 투여와 식이성 소비 사이에 큰 차이가 있을 수 있다. 이들 차이는 아연 균형에서 차이를 설명할 수 있을 것이다.

도 8은 개별 원소 처리 후의 칼슘, 마그네슘 및 아연의 혈장 농도를 나타낸다. 원소처리 후 혈장에서 이들 원

소의 농도에서 통계적 차이는 존재하지 않았다($P>0.05$).

[0246] (표 42)

정상 식이를 받는 한편 원소 보충제로 처리된 페트에서 아연의 누적 실제 퍼센트 (군당 $n = 5$)

처리군	아연의 누적 실제 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
Caltrate™	0.67 ± 34.7%	29.5± 7.5	33.8 ± 10.2	32.0 ± 7.8
Ca ACE	27.5 ± 16.0%	40.9 ± 7.3	45.6 ± 5.9	48.4 ± 4.4
A1	26.6 ± 11.2%	50.8 ± 26.8	46.3 ± 20.4	38.7 ± 18.8
A4	17.7 ± 10.3%	24.9 ± 6.3%	27.6 ± 7.2	27.6 ± 5.0
A5	54.7 ± 21.9	52.6 ± 21.7	53.8 ± 21.0	51.2 ± 23.0

%: $P<0.05$, A5와 비교

H. 결과: 매일 소비된 칼슘 투여량을 받는 무칼슘 식이

본 연구의 목적은 칼슘, 마그네슘 및 아연의 매일 섭취량이 원소 처리에 의해 치환될 때 원소 균형을 평가하기 위한 것이었다. 탈이온수(DI)를 자유로이 받는 동물은 정상 칼슘 식이를 먹었다. 이들의 매일 칼슘 섭취를 A1 또는 A5에 의해 치환하는 동물은 무칼슘 식이를 공급받았다. 위관영양 과정은 동물의 체중에 효과를 갖지 않음이 분명하다(표 43). 그러나 원소 처리는 체중에서 현저한 감소를 유도하였다.

[0248] (표 43)

무칼슘 식이 및 매일 소비된 칼슘 투여량을 공급받은 페트의 체중 ($n = 4$)

처리군	페트의 체중 (g)				
	1일	2일	3일	4일	5일
DI 수	200.8 ± 2.50	207.0 ± 3.9	209.0 ± 8.7	209.5 ± 9.9	215.5 ± 11.7
A1	198.0± 9.1	183.5 ± 7.7	178.3 ± 8.1	180.8 ± 10.2	186.0 ± 8.0
A5	194.0 ± 8.2	182.3 ± 7.1	179.8 ± 7.2	179.0 ± 7.7	181.5 ± 6.8

주: A1 및 A5 사이에는 통계적으로 유의한 차이는 없다.
A1과 탈이온수 사이($p<0.001$) 및 A5와 탈이온수($p<0.001$)
사이에는 통계적 차이가 존재한다.

[0251] [0252] 정상 및 무칼슘 식이 연구로부터 얻은 결과와 일치하는 바와 같이, 마그네슘은 칼슘 보유 향상에 미미한 효과를 갖는다(도 9 및 표 44). 칼슘, 아세트산칼슘,의 용해성 형태의 투여는 칼슘 균형을 현저히 향상시켰다(도 9 및 표 44).

[0253]

(표 44)

무칼슘 식이를 받는 한편 매일 소비 투여량의 칼슘으로 처리된 래트에서
칼슘의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 4)

처리군	Ca 실제 누적 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
DI 수	2.87 ± 5.4	3.89 ± 7.6	5.72 ± 4.3	5.41 ± 5.2
A1	46.3 ± 14.7*	37.7 ± 8.9*	37.4 ± 1.3*	42.7 ± 3.1*
A5	54.9 ± 12.7*	56.7 ± 10.3@	50.4 ± 7.5*	47.4 ± 8.0*

*:P<0.05, DI와 비교 ; @:P<0.05m A1 와 비교

[0254]

[0255] 상기 기재한 무칼슘 식이 연구와 일치하게, 양성 마그네슘 균형을 유지하기 위해 마그네슘이 필요하였다(도 10 및 표 45).

[0256]

(표 45)

무칼슘 식이를 받는 한편 매일 소비 투여량의 칼슘으로 처리된 래트에서
마그네슘의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 4)

처리군	Mg의 실제 누적 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
DI 수	-32.2 ± 12.4	-17.0 ± 10.4	-7.9 ± 10.0	-2.59 ± 10.4
A1	-75.9 ± 50.0*	-27.6 ± 27.7	-6.54 ± 19.4	3.6 ± 18.0
A5	18.3 ± 12.7@	14.4 ± 8.6@	7.0 ± 5.2	4.4 ± 8.4

*:P<0.05, DI와 비교 ; @:P<0.05m A1 와 비교

[0257]

[0258] A5와 함께 투여되는 다량의 아연에도 불구하고, 아연 균형은 DI수 군의 아연 균형보다는 현저히 더 낮았고, 이는 장에서 높은 칼슘 및 마그네슘 농도는 아연 흡수를 감소시킬 수 있을 것이라는 다른 지지를 제공한다(도 11 및 표 46). DI 수 및 A1 군 사이에 투여되는 아연의 양은 유사하였다. 그러나, A5과 유사하게, 아연 균형은 DI 수의 아연 균형에 비하여 현저하게 더 낮았다(도 11 및 표 46); 이는 장에서 칼슘의 고용해 농도는 아연 흡수를 방해할 수 있음을 제시한다.

[0259] 도 12는 각 원소 처리 후의 칼슘, 마그네슘 및 아연의 혈장 농도를 도시한다. 이들 프로필에서는 어떠한 통계적 차이도 발견되지 않았다(P>0.05).

[0260] (표 46)

무칼슘 식이를 받는 한편 매일 소비 투여량의 칼슘으로 처리된 래트에서
아연의 누적 실제 퍼센트 (군당 n = 4)

처리군	Zn의 실제 누적 퍼센트 (%)			
	1일	2일	3일	4일
DI 수	-26.5 ± 37.7	-10.8 ± 22.9	-4.45 ± 17.3	-1.80 ± 12.2
A1	-42.9 ± 25.9	-67.3 ± 16.3*	-69.5 ± 7.3*	-58.5 ± 6.2*
A5	23.7 ± 16.2 ^②	-9.09 ± 19.3 ^②	-45.1 ± 11.8*	-63.2 ± 16.2*

*:P<0.05, DI와 비교 ; ②:P<0.05m A1과 비교

[0261]

[0262] 실시예 7

[0263] 이 연구의 목적은 난소절제된 래트 모델에서 뼈 손실율에 대한 염, 무기질 조성 및 비타민의 효과를 평가하기 위한 것이었다.

[0264] 100 g 4.5-개월령 자성 SD(Sprague-Dawley) 래트를 사용하여 12시간 낮밤 주기로 홍콩의 차이니즈 대학에 있는 라보라토리 애니멀 서비스 센터(Laboratory Animal Services Center at the Chinese University of Hong Kong)에 두었다. 정상 칼슘 웰릿과 수돗물에 대한 접근과 함께 자유로운 우리 이동이 허용되었다. 칼슘 매일 소비량은 약 140 mg이었고, 이는 균형 연구에 참여한 동물에서 기록된 것과 유사하다. 자성 래트로부터 난소를 제거하는 난소절제(OVX)는 sham 대조군을 제외하고는 6개월령의 모든 래트 상에서 실시하였다.

[0265] OVX한지 3주후, 모든 래트는 수술의 외상으로부터 회복되었다. 이들 래트를 상이한 처리군 또는 대조군으로 임의로 나누고 또 각 군은 6마리 래트를 갖는다. 4개 칼슘 배합물(A1, A4, A5 및 A6) 그리고 Caltrate™는 본 연구에서 조사하였다. Caltrate™ 군은 원소 처리 대조군으로서 작용하였다. 모든 배합물을 중류수에 용해시키는 한편, Caltrate™는 중류수에 혼탁되었다. 상기 용액 또는 혼탁액은 위관영양에 의해 8주 동안 래트에게 매일 제공되었다. 모든 배합물의 투여량은 53.14 mg/kg/일의 칼슘 투여량을 기본으로 산출하였다. 비타민 D₃ 및 비타민 K₂의 투여량은 각각 12.75 IU/kg/일(800 IU/70 kg 남성/일에 상응) 및 1.71 µg/kg/일 (120 µg/70 kg 남성/일에 상응)이었다. 모든 처리된 래트를 매일 체중을 재고 또 중량 데이터를 기록하였다. 2개 대조군(sham 대조군 및 정상 대조군) 중의 래트에게 동일 부피의 중류수가 제공되었다. 비스포스포네이트에 의한 처리의 경우, 알렌드로네이트(14 µg/kg/2-주)는 2주마다 1회씩 래트의 등에 피하 주사되었다.

[0266] 8주 말기에, 이소플로우란을 사용하여 래트를 마취하였다. 심장 천자를 통하여 혈액 샘플을 취하였다. 이들 래트는 목 탈구에 의해 안락시키고 또 각 래트의 우측 엉덩이, 우측 대퇴골 및 우측 경골을 분석을 위해 수집하였다. 1500 g에서 15분간 원심분리한 혈액 샘플로부터 혈장을 수집하였다. 칼슘, 마그네슘, 및 아연의 혈장 농도는 ICP-OES를 이용하여 측정하였다.

[0267] 결과는 혈장 칼슘 레벨이 sham 대조군(p>0.05)의 혈장 칼슘 레벨과 통계적으로 상이하지 않고 또 그 값은 모두 정상 레벨(90~110 mg/L)에 속함을 보여준다. Mg의 모든 혈장 농도는 정상 범위(18~36 mg/L)내에 있었다. 정상 대조군(수술없이)이 A4+Vit D+Vit K (p<0.05)보다 더 높은 평균값을 갖는 것을 제외하고는 마그네슘 혈장 농도에서 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 유사하게, 모든 래트에서 Zn의 혈장 농도는 약 1.26 mg/L에서 래트 정상 농도에 도달하였다. 정상 대조군중의 래트의 Zn 혈장 농도는 sham 대조군 래트 및 A5+비타민 D 및 A4+비타민 D+ 비타민 K (p<0.05) 처리군에 비하여 현저하게 높았다.

[0268] 상이한 처리군에 대한 체중 변화는 도 13 및 표 37에 나타낸다. 예상된 바와 같이, OVX 래트에서 체중 증가는 정상 래트에 비하여 현저하게 많았다(p<0.05).

[0269] (표 47)

처리한 첫날 및 마지막 날의 체중

	1일	57일
대조군 -SHAM	317±14	344±13
대조군 -NO OVX	278±24	294±23
A1	339±32	371±34
Caltrate	317±22	338±32
A1+VD	340±43	372±49
A4+VD	337±31	371±34
A5+VD	322±26	342±35
A6+VD	337±29	371±39
A4+VD+K	328±19	363±9
A5+VD+K	298±31	331±38
Caltrate+VD+ K	270±25	301±36
BIS+A1+VD	336±20	358±27
BIS+A4+VD	338±14	371±28
BIS+A5+VD	321±34	351±43
BIS+Cal+VD	340±48	368±58

[0270]

[0271]

뼈 무기질 밀도(BMD)에 대한 시험 물질의 효과는 도 15 및 16에 도시한다. A1, A5+Vit D, Bis+Al+Vit D, Bis+A4+Vit D, Bis+A5+Vit D 및 Bis+Caltrate+Vit D군의 원위 대퇴골 BMD 값의 해면골 BMD는 OX 대조군에 비하여 현저하게 높았고(도 14), 이는 이를 처리가 뼈 중량 손실율을 현저하게 느리게 함을 제시한다. 비타민 K의 부가는 뼈 손실율 감소에 아무런 효과를 갖지 않았다. Caltrate™의 값이 통계적으로 상이하게 되기에 충분히 높은 것을 제외하고는 경골 근위부의 해면골 BMD의 평균 값에 대해서 유사한 관찰을 얻었다($p<0.05$, 도 15). 다시, 비타민 K는 아무런 유의한 공헌을 하지 않는다. A5+Vit D에 의한 처리는 원위 대퇴골 및 경골 근위부에서 일정하게 더 높은 BMD를 제공하며, 이는 이 배합물이 다른 원소 배합물에 대하여 이점을 가질 수 있음을 제시한다. 비스포스포네이트의 부가는 일정하게 더 우수한 결과를 제공하였지만, A5+Vit D 및 기타 원소 배합물, 예컨대 A1과 비교할 때 그 차이는 현저하지 않았다(도 15 및 16).

[0272]

A1의 BMD 결과는 A5 + vit D와 유사하였다. 이것은 A1 동물이 상당량의 마그네슘을 함유하는 정상 칼슘 식이를 공급받았기 때문에 놀라운 것은 아니다.

[0273]

이 연구에 사용된 OVX 래트 모델은, OVX 대조군으로부터 얻은 값 및 Sham의 값이 서로 미미하게 상이($P>0.05$)하였다. 때문에, 각 처리 후 최대 굽힘하중 및 파괴에너지의 평가를 허용하지 않았다.

[0274]

실시예 8

원소 배합물의 최적화

[0276]

이 실시예의 목적은 비타민 D₃ 및 칼슘, 마그네슘 및 아연의 아세테이트 염의 최적 혼합물을 제공하는 원소 배합물을 고안하기 위한 것이다.

[0277]

실리그(Seelig) 등에 의해 보고된 연구에서, 식이 중의 고 Ca/Mg 비율은 골다공증과 원하지 않는 심혈관 이상과 관련되어 있다. 지난 50년 동안 높이 식이성 칼슘 섭취는 바람직하지 않을 수 있다. 다른 연구자들은 식이성 칼슘 섭취는 뼈 밀도 결정, 즉 노령 남성 및 여성에서 골다공증에 중요한 인자가 아닐 수 있다고 보고하였다. 마그네슘은 뼈 대사에 중요한 원소로 확인되었는데, 이는 뼈 대사에 관여된 다수의 효소에 마그네슘이 필수적이기 때문이다. 또한, 환자가 골다공증에 걸린 것으로 진단되면, 이들은 혈중 마그네슘 양이 낮다. 또한, 식이성 칼슘은 뼈 밀도를 개선하는 것으로 보여지며, 마그네슘은 언제나 상당량으로 존재한다.

[0278]

문제는 "마그네슘에 대한 칼슘의 최적 비율은 얼마인가", "그 비율은 중요한 것인가" 하는 점이다. 실리그 등은 1900년 초기에 식이 조성물 중에서 2/1의 Ca/Mg 비율은 최소의 심혈관 질병과 관련된다고 보고하였다. 그러나, 마그네슘에 대한 칼슘의 최적 비율은 주의깊게 평가되지 않았다. 해결되어야 할 문제는 칼슘 및 마그네슘 염의 용해도가 다양한 것이다. 표 3에 나타낸 바와 같이, 인공 장액에서 칼슘 용해도에서의 상이함은 25,000배에 달 할 수 있다. 용해도와 칼슘의 생체이용률 사이의 관계는, 몇몇 연구 그룹에 의해 나타낸 바와 같이, 일반적으로 중요하지 않은 것으로 간주되었다. 그러나, 사용된 칼슘 염의 개수는 제한되었다. 한즈릭 등에 의해 보고된 연구에서, 관심을 두고 있는 칼슘의 용해도는 칼슘의 생체이용률에 중요한 역할을 한다. 1개의 동물 결과는 칼슘

흡수가 염 형태에 상당히 의존적이라는 보고를 지지해준다. 탄산칼슘 및 아세트산칼슘 사이에서 생체이용성의 차이는 3배에 달하였다.

[0279] 흥미로운 것은, 마그네슘에 대한 사정도 아주 유사하다는 것이다. 마그네슘 생체이용성의 보고된 범위는 50 내지 67% 범위였다.

[0280] 폐경 후 여성에서 뼈 밀도에 대한 칼슘 및 Ca/Mg 비율의 효과를 평가한 유일한 연구는 아브라함 및 그레월(Abraham and Grewal(1990))에 의해 실시되었다. 그 발견은 Ca/Mg 비율 1/1.2은 1/0.4 보다 훨씬 우수하다는 것이다. 이 연구에 사용된 칼슘의 양은 500 mg이었다. 사용된 칼슘 염은 시트르산 칼슘이었고 또 사용된 마그네슘 염은 산화 마그네슘이었다. 상기 문헌에 따르면, 시트르산 칼슘의 생체이용율은 30%이고 또 이는 탄산칼슘의 생체이용율과는 상이하였다(Heaney et al., 1999). 산화 마그네슘의 생체이용율은 50% (Coudray et al., 2005)이다. Ca/Mg 비율이 칼슘 및 마그네슘의 생체이용가능한 투여량을 사용하여 산출되면, 아브라함 및 그레월(1990)에 의해 이용된 Ca/Mg 비율은 1/2이었을 것이다. 아브라함 및 그레월 연구(1990)는 마그네슘이 골다공증 예방에 중요하다는 것을 확립하였다. 그러나, Ca/Mg에 대한 정확한 비율은 제시되지 않았다. 이것은 다음에 기인할 수 있다: a. 칼슘의 투여량; b. 개별 칼슘 염의 이용성; 및 c. 칼슘 및 마그네슘의 실제 흡수량.

[0281] 우리의 결과는 원소 균형에 대한 칼슘, 마그네슘, 아연, 비타민 D₃ 및 영양 상태 사이에는 복잡한 상호작용이 존재함을 나타낸다(실시예 3 내지 6).

[0282] pH, 양이온 및 음이온 농도와 같은 인자는 칼슘염의 용해도에 상이한 영향을 가질 수 있다 (실시예 3 내지 5). 탄산칼슘 형태의 칼슘의 용해도는 다양한 실험 조건하에서 극히 낮은데, 이는 염이 전체 GIT를 통하여 용해성이 아니기 때문에 칼슘의 흡수가 낮을 것이라는 것을 제시한다. 아세트산칼슘 형태의 칼슘의 용해도는 높으며 또 pH, 양이온 및 음이온에 의해 현저히 영향을 받지 않는다. 양이온은 그 용해도를 증가시키는 경향이 있지만, 비카보네이트, 클로라이드 및 포스페이트와 같은 음이온은 칼슘 용해도를 감소시키는 경향이 있다(실시예 3 내지 5). 시험한 양이온 및 음이온의 농도는 생리학적 범위내에 들고(표 33) 또 양이온 및 음이온에 의한 반대되는 영향이 있기 때문에, 아세트산칼슘은 GIT를 따라 용액에 잔존할 것이다.

[0283] 마그네슘은 칼슘 흡수 및 균형을 증가시키는 것으로 밝혀졌다(실시예 6). 역으로, 칼슘 및 마그네슘은 아연 균형을 감소시키는 경향이 있다. 상호 작용의 세기는 동물의 영양 상태에 따라 다르다. 이를 3개 원소 사이의 복잡한 상호작용은 비타민 D₃의 부가에 의해 무효화될 수 있다.

[0284] 지난 수십년 동안 사용된 칼슘의 투여량은 너무 높으므로 750 mg으로 감소되어야 함이 제시되었다. 탄산칼슘은 투여되는 칼슘의 가장 일반적인 형태이고, 이것은 180 mg의 흡수가능한 칼슘에 상당하므로, 24% 생체이용성에 해당된다(Bo-Linn et al., 1984). 매일 마그네슘 요구량은 310 mg이며 이는 155 내지 186 mg의 생체이용가능한 마그네슘에 상당하며, 유기 마그네슘의 50 내지 60 % 생체이용성으로 추정된다(Coudray et al., 2005).

[0285] 탄산칼슘과 비교할 때 3배 더 높은 아세트산 칼슘 생체이용율을 고려할 때(실시예 6), 아세트산 칼슘으로부터 매일 칼슘 요구량은 아세트산칼슘으로부터 250 mg의 칼슘을 권고한 (Bo-Linn et al., 1984)에 의한 보고의 1/3 일 것이다.

[0286] 본 발명에서, 마그네슘은 칼슘 균형을 향상시키는 것으로 밝혀졌다(실시예 6). 따라서, 배합물 중에 마그네슘을 갖는 것이 필수적이다. 아세트산칼슘 형태인 250 mg의 칼슘을 투여하면, Ca/Mg 비율 2/1 및 1/1은 각각 125 mg 및 250 mg의 마그네슘을 제공할 것이다. 이것은 62.5 내지 125 mg의 흡수가능한 마그네슘에 해당되며, 50% 생체이용성으로 추정된다.

[0287] A5 + 비타민 D₃ 는 OVX 모델에서 뼈 손실을 감소에 가장 훌륭한 평균을 갖는다(도 15 및 16). 이를 결과는 균형 연구에서 얻어진 결과와 일치한다(실시예 6). Caltrate™으로 표시되는 탄산칼슘은 원위 대퇴골 해면골 BMD를 대조용으로 사용할 때 OVX 대조군에 대하여 현저한 개선을 나타내지 않았다(도 14).

[0288] 아연은 뼈 형성에 필수적인 것으로 밝혀졌고 또 추천된 매일 허용량은 20 mg이다. 아연 균형은 영양 상태에 따라 다르다는 것을 알 수 있다(실시예 6). 그러나, 비타민 D₃를 배합물에 혼입하면 양성 아연 균형이 유지될 수 있음도 알 수 있다.

[0289] 비타민 D₃는 장으로부터 칼슘 흡수를 증가시키는 것으로 보고되었다; 이것은 또한 칼슘이 뼈에 분포되는 것을 보조한다(Wasserman, 2004). 우리는 또한 비타민 D₃가 칼슘 및 아연 균형에 필수적이라는 것을 밝혀내었다(실

시예 6). 추천되는 매일 섭취량은 400 내지 800 IU이다. 이 투여량은 강화된 추출물에 혼입된다.

[0290] A5 + 비타민 D₃의 투여는 식이성 칼슘 및 마그네슘의 원소 균형을 개선함이 밝혀졌다(실시예 6). 이러한 관찰은 칼슘 및 마그네슘의 딜 이용가능한 형태가 개선되는 것이기 때문에 중요하다. 이는, 검체가 식이에서 충분한 원소를 갖지 않는 경우, 최적화된 배합물의 저 투여량의 보충 및 식이성 공급원으로부터의 보충이 적절한 매일 원소 요구량을 제공할 것이라는 것을 보여준다. 따라서, 저 투여량의 A5 및 비타민 D₃는 뼈 건강을 유지하고 또 골다공증 예방을 위해 사용될 수 있다.

[0291] 원소의 용해도, 그의 맛 및 투여의 용이성을 고려할 때, 하루에 1회 2g의 A5 (~220 mg 칼슘) + 비타민 D₃는 뼈 건강과 골다공증 예방을 위해 적절한 양의 원소와 비타민 D₃를 제공할 것이다.

참고문헌

Abraham GE and Grewal H (1990) A total dietary program emphasizing magnesium instead of calcium. Effect on the mineral density of calcaneous bone in postmenopausal women on hormonal therapy. *J Reprod Med* **35**:503-507.

Abrams SA and Atkinson SA (2003) Calcium, magnesium, phosphorus and vitamin D fortification of complementary foods. *J Nutr* **133**:2994S-2999S.

Abrams SA, Griffin IJ and Herman S (2002) Using stable isotopes to assess the bioavailability of minerals in food fortification programs. *Food Nutr Bull* **23**:158-165.

Angus RM, Sambrook PN, Pocock NA and Eisman JA (1988) Dietary intake and bone mineral density. *Bone Miner* **4**:265-277.

Bass M, Ford MA, Brown B, Mauromoustakos A and Keathley RS (2006) Variables for the prediction of femoral bone mineral status in American women. *South Med J* **99**:115-122.

Basso LE, Ubbink JB, Delport R, Spies J and Vermaak WJ (2000) Effect of magnesium supplementation on the fractional intestinal absorption of $^{45}\text{CaCl}_2$ in women with a low erythrocyte magnesium concentration. *Metabolism* **49**:1092-1096.

Bo-Linn GW, Davis GR, Buddrus DJ, Morawski SG, Santa Ana C and Fordtran JS (1984) An evaluation of the importance of gastric acid secretion in the absorption of dietary calcium. *J Clin Invest* **73**:640-647.

[0292]

Cai J, Zhang Q, Wastney ME and Weaver CM (2004) Calcium bioavailability and kinetics of calcium ascorbate and calcium acetate in rats. *Exp Biol Med (Maywood)* **229**:40-45.

Celotti F and Bignamini A (1999) Dietary calcium and mineral/vitamin supplementation: a controversial problem. *J Int Med Res* **27**:1-14.

Coudray C, Rambeau M, Feillet-Coudray C, Gueux E, Tressol JC, Mazur A and Rayssiguier Y (2005) Study of magnesium bioavailability from ten organic and inorganic Mg salts in Mg-depleted rats using a stable isotope approach. *Magnes Res* **18**:215-223.

Ellenbogen L and Buono LC (1999) Calcium dietary supplement, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 5,879,698), American Cyanamid Company (Madison, NJ), United States of America.

Hanzlik RP, Fowler SC and Fisher DH (2005) Relative bioavailability of calcium from calcium formate, calcium citrate, and calcium carbonate. *J Pharmacol Exp Ther* **313**:1217-1222.

Heaney RP (1993a) Nutritional factors in osteoporosis. *Annu Rev Nutr* **13**:287-316.

Heaney RP (1993b) Thinking straight about calcium. *N Engl J Med* **328**:503-505.

Heaney RP, Dowell MS and Barger-Lux MJ (1999) Absorption of calcium as the carbonate and citrate salts, with some observations on method. *Osteoporos Int* **9**:19-23.

Heaney RP, Dowell MS, Bierman J, Hale CA and Bendich A (2001) Absorbability and cost effectiveness in calcium supplementation. *J Am Coll Nutr* **20**:239-246.

Hendricks L (2004) Calcium dietary supplement, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 6,790,462), Rhodia Inc. (Cranbury, NJ), United States of America.

Hunt CD and Johnson LK (2007) Calcium requirements: new estimations for men and women by cross-sectional statistical analyses of calcium balance data from metabolic studies. *Am J Clin Nutr* **86**:1054-1063.

Ilich JZ, Brownbill RA and Tamborini L (2003) Bone and nutrition in elderly women: protein, energy, and calcium as main determinants of bone mineral density. *Eur J Clin Nutr* **57**:554-565.

Ilich JZ and Kerstetter JE (2000) Nutrition in bone health revisited: a story beyond calcium. *J Am Coll Nutr* **19**:715-737.

Jackson SD and Blumberg JB (1997) Dietary supplements, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 5,654,011), Energetics, Inc. (New York, NY), United States of America.

Kanders B, Dempster DW and Lindsay R (1988) Interaction of calcium nutrition and physical activity on bone mass in young women. *J Bone Miner Res* **3**:145-149.

Krumhar KC and Johnson HA (2006) Composition for promoting healthy bone structure, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 7,029,703), Metagenics, Inc. (San Clemente, CA), United States of America.

Lee HH, Prasad AS, Brewer GJ and Owyang C (1989) Zinc absorption in human small intestine. *Am J Physiol* **256**:G87-91.

Li J and Li X (1995) Producting method for mineralizing agent of active mineral food, in *State Intellectual Property Office of The P.R.C. (P.R.C. SIPOoT ed)*, Peoples Republic of China.

Lowe NM, Lowe NM, Fraser WD and Jackson MJ (2002) Is there a potential therapeutic value of copper and zinc for osteoporosis? *Proc Nutr Soc* **61**:181-185.

Mazer TB, DeWille NT, Chandler MA, Ragan RJ, Snowden GA, Geraghty ME, Johnson CD and Drayer LR (1997) Calcium supplement, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 5,698,222), Abbott Laboratories (Abbott Park, IL), United States of America.

Meignant C and Stenger E (2004) Therapeutic combination of vitamin and calcium in unitary galenic tablet form, a method of obtaining it, and the use thereof, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 6,716,454), Laboratoire Innothera, Societe Anonyme (Arcueil, FR), United States of America.

Mutlu M, Argun M, Kilic E, Saraymen R and Yazar S (2007) Magnesium, zinc and copper status in osteoporotic, osteopenic and normal post-menopausal women. *J Int Med Res* **35**:692-695.

Record IR, Record SJ, Dreosti IE and Rohan TE (1985) Dietary zinc intake of pre-menopausal women. *Hum Nutr Appl Nutr* **39**:363-369.

Riis B, Thomsen K and Christiansen C (1987) Does calcium supplementation prevent postmenopausal bone loss? A double-blind, controlled clinical study. *N Engl J Med* **316**:173-177.

Saltman PD and Strause LG (1993) The role of trace minerals in osteoporosis. *J Am Coll Nutr* **12**:384-389.

Seelig MS, Altura BM and Altura BT (2004) Benefits and risks of sex hormone replacement in postmenopausal women. *J Am Coll Nutr* **23**:482S-496S.

Smith JC, Jr., Morris ER and Ellis R (1983) Zinc: requirements, bioavailabilities and recommended dietary allowances. *Prog Clin Biol Res* **129**:147-169.

Sulzenfuss S (1996) Daily vitamin and mineral supplement for women, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 5,514,382), United States of America.

[0294]

Tsugawa N, Okano T, Higashino R, Kimura T, Oshio Y, Teraoka Y, Igarashi C, Ezawa I and Kobayashi T (1995) Bioavailability of calcium from calcium carbonate, DL-calcium lactate, L-calcium lactate and powdered oyster shell calcium in vitamin D-deficient or -replete rats. *Biol Pharm Bull* **18**:677-682.

Tsugawa N, Yamabe T, Takeuchi A, Kamao M, Nakagawa K, Nishijima K and Okano T (1999) Intestinal absorption of calcium from calcium ascorbate in rats. *J Bone Miner Metab* **17**:30-36.

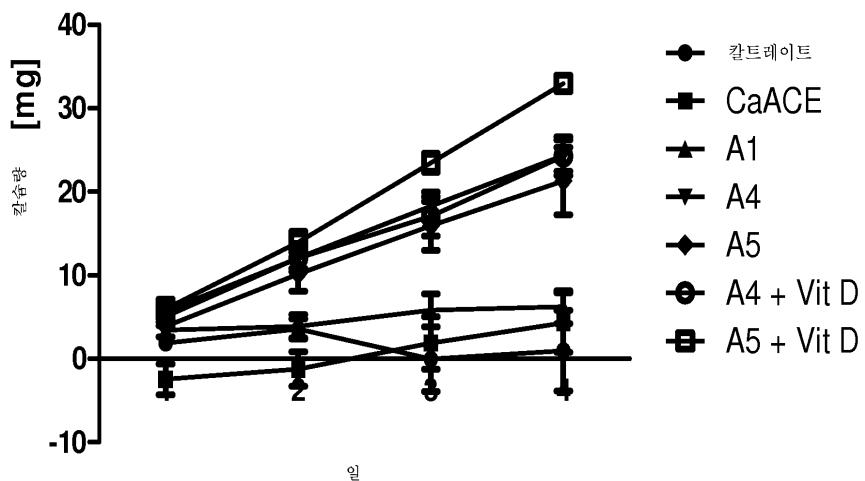
Walsdorf NB, Alexandrides G and Pak CYC (1991) Calcium supplementation by dicalcium citrate-lactate, in (Office USPaT ed, US Patent Number: 5,075,499), Board of Regents, The University of Texas System (Austin, TX) Mission Pharmacal Company (San Antonio, TX), United States of America.

Wasserman RH (2004) Vitamin D and the dual processes of intestinal calcium absorption. *J Nutr* **134**:3137-3139.

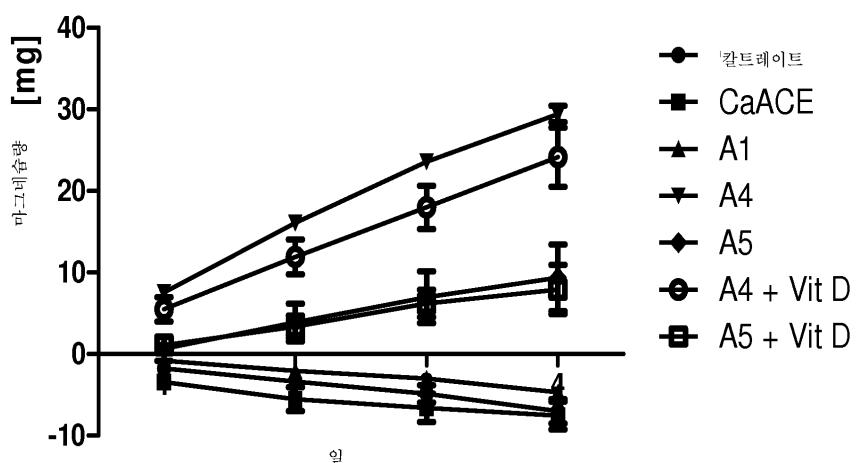
[0295]

도면

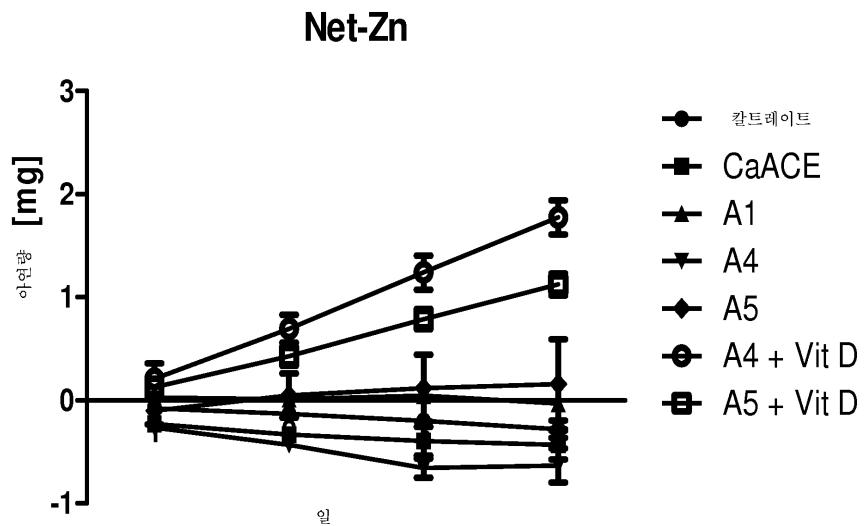
도면1

Net-Ca

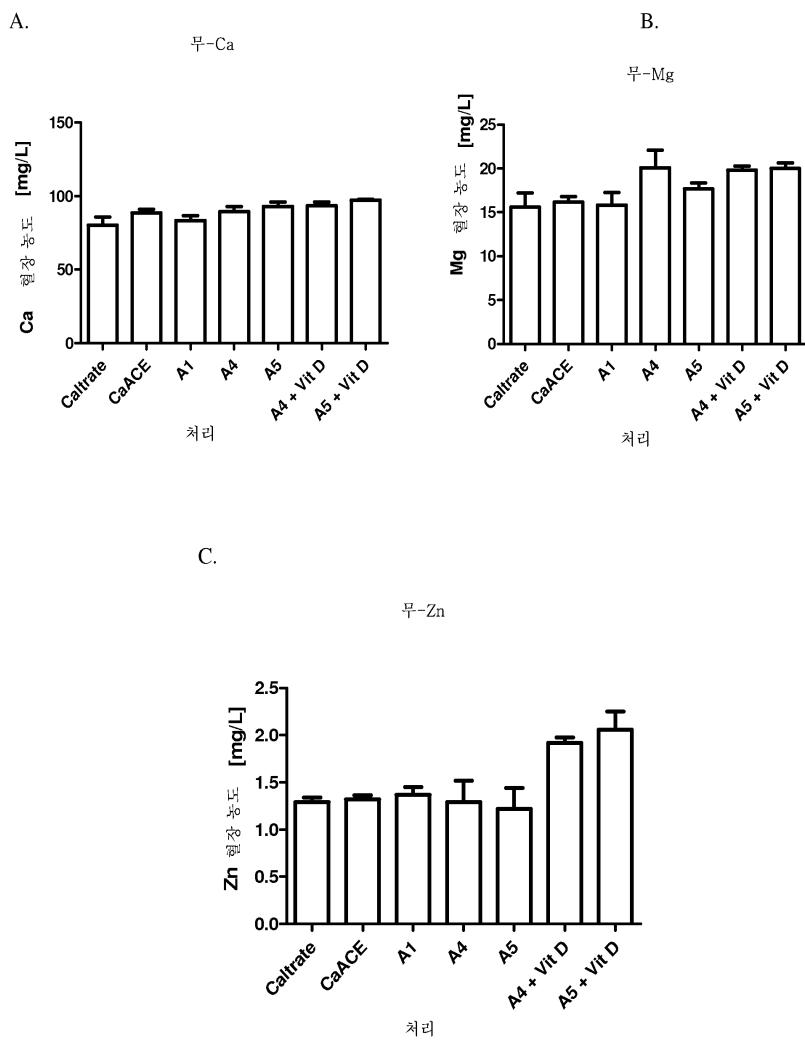
도면2

Net-Mg

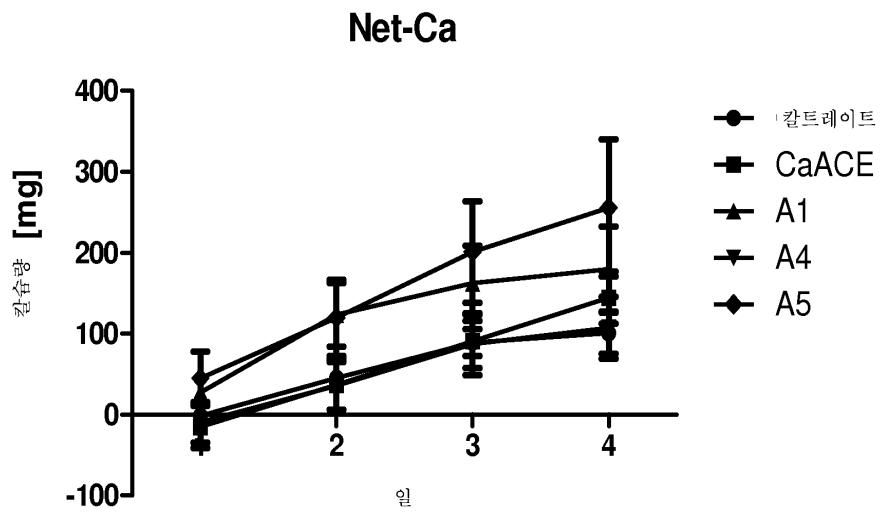
도면3



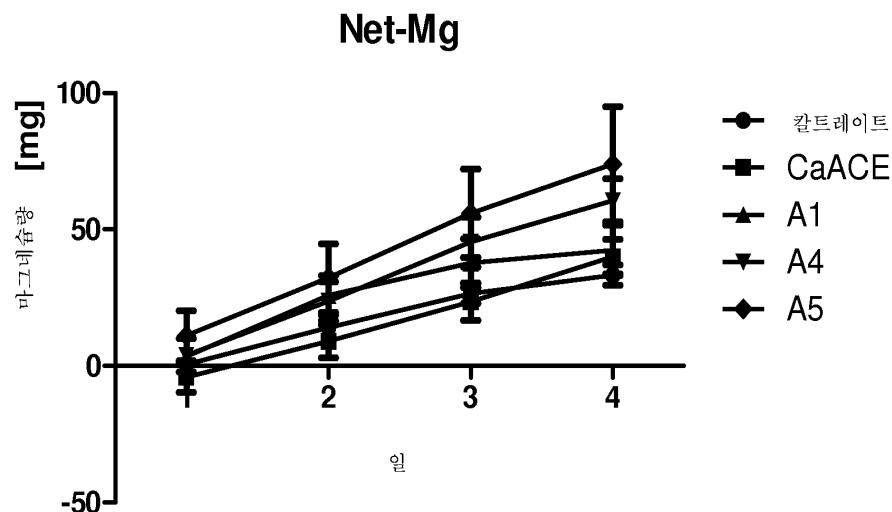
도면4



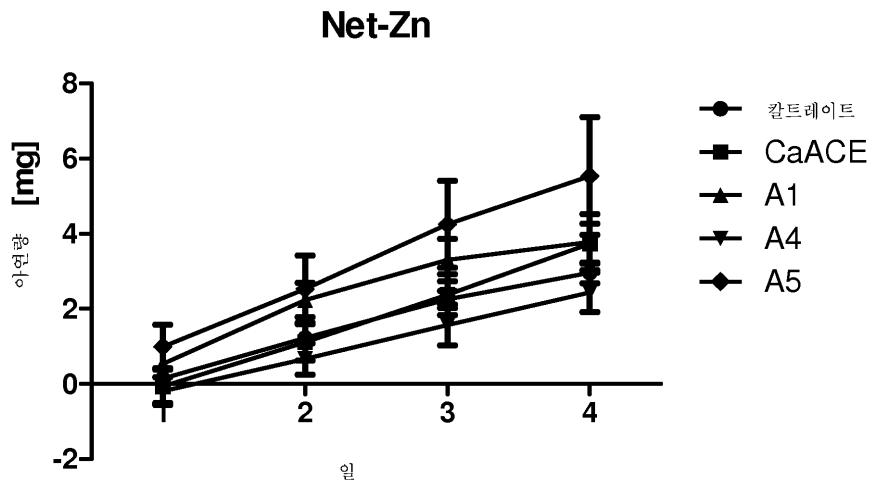
도면5



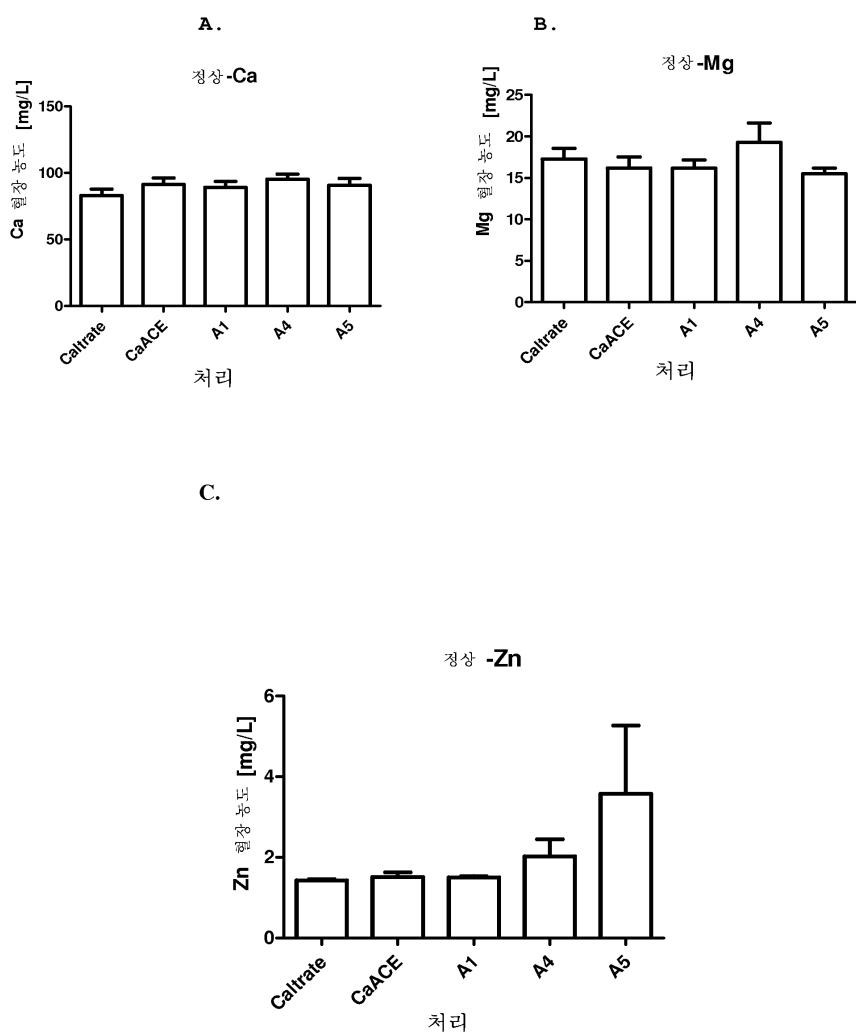
도면6



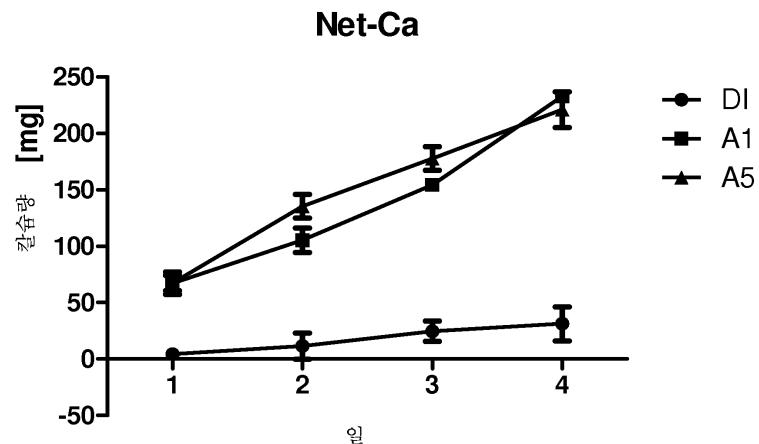
도면7



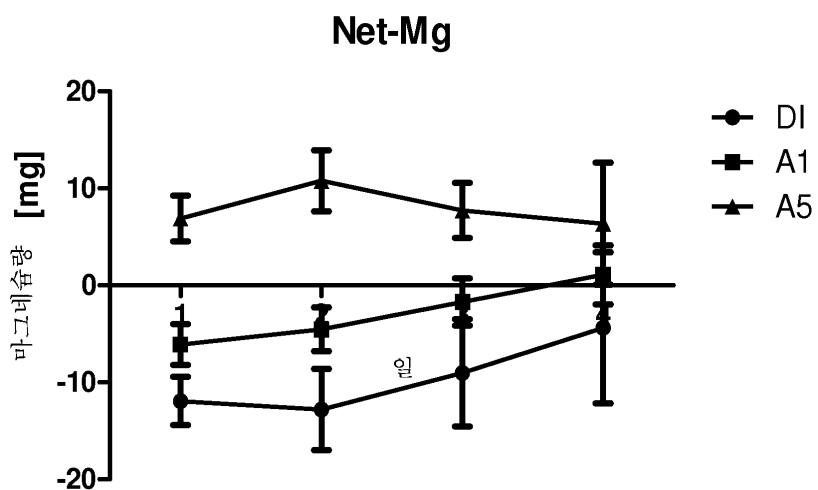
도면8



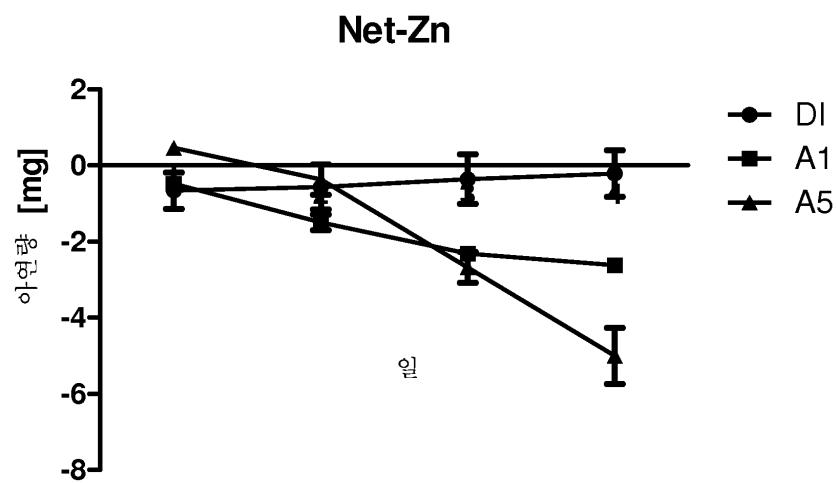
도면9



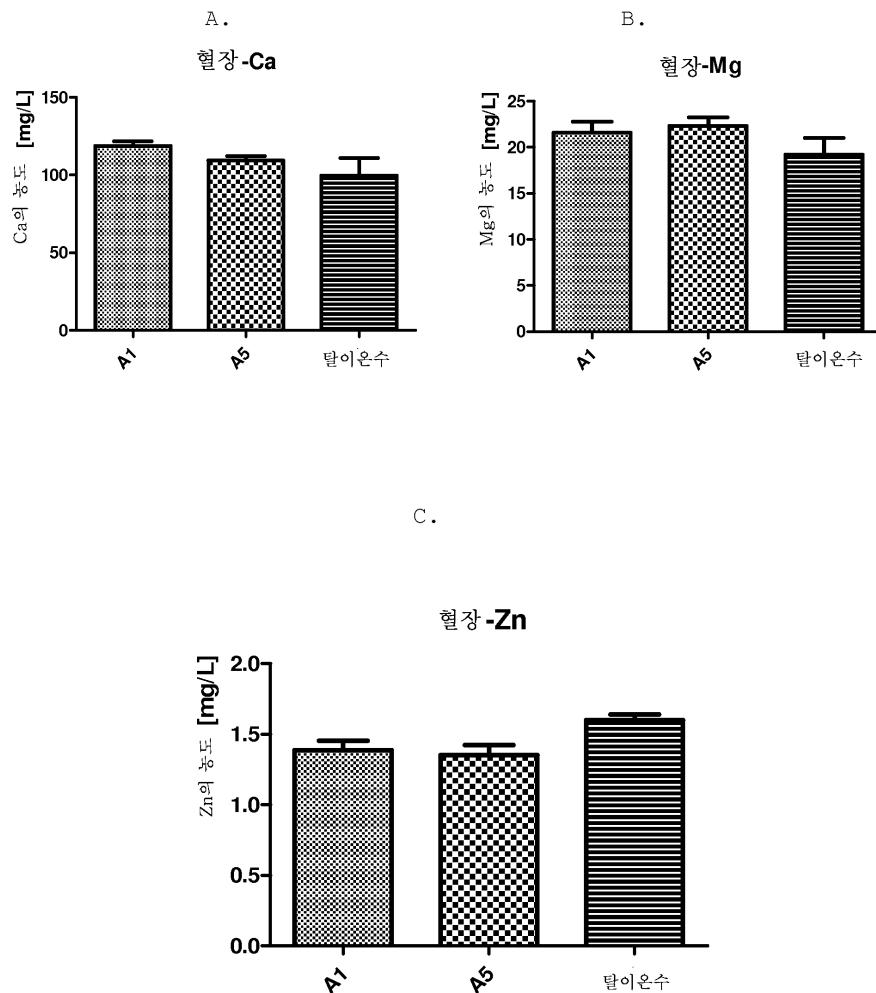
도면10



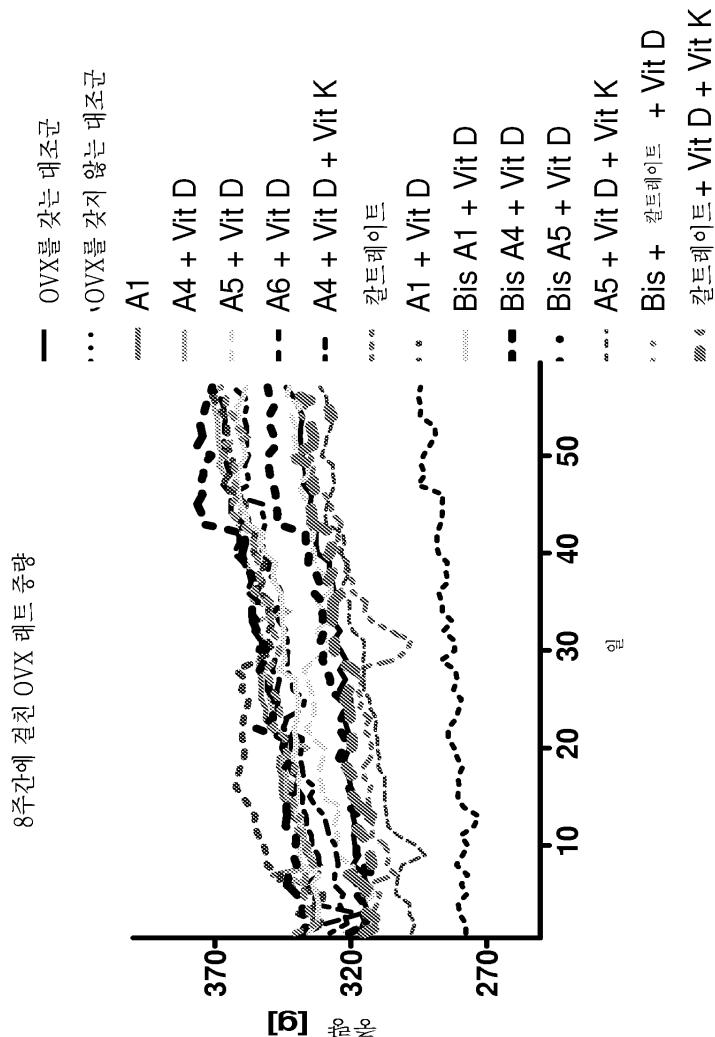
도면11



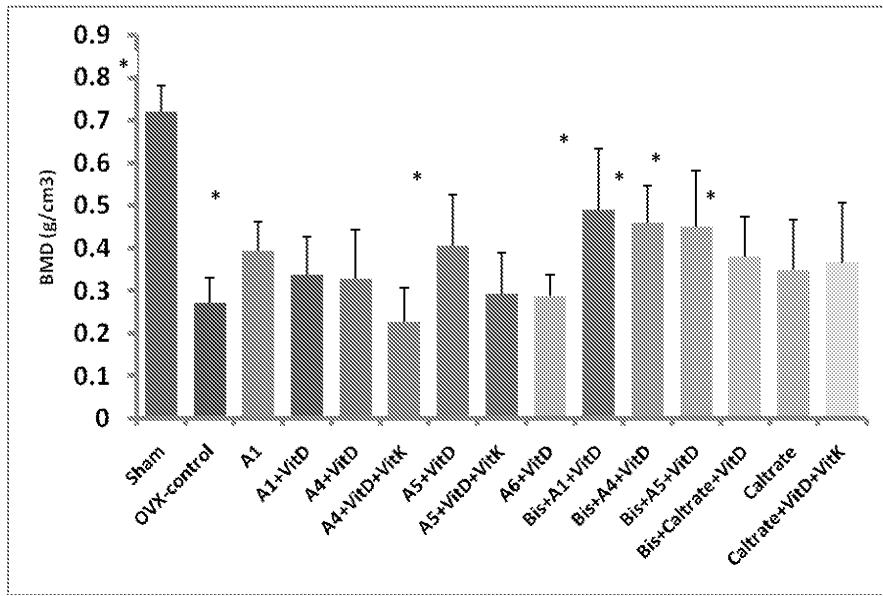
도면12



도면13



도면14



도면15

