



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년09월20일
(11) 등록번호 10-1780262
(24) 등록일자 2017년09월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/352 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/352 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0107682
(22) 출원일자 2016년08월24일
심사청구일자 2016년08월24일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020070049812 A
KR1020120103324 A

(73) 특허권자
부산대학교 산학협력단
부산광역시 금정구 부산대학로63번길 2 (장전동, 부산대학교)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김관희
대전광역시 유성구 은구비남로 56, 901동 1805호 (노은동, 열매마을 아파트 9단지)
이동호
서울특별시 강남구 삼성로 212, 23동 1402호 (대치동, 은마아파트)
(74) 대리인
김순용

전체 청구항 수 : 총 10 항

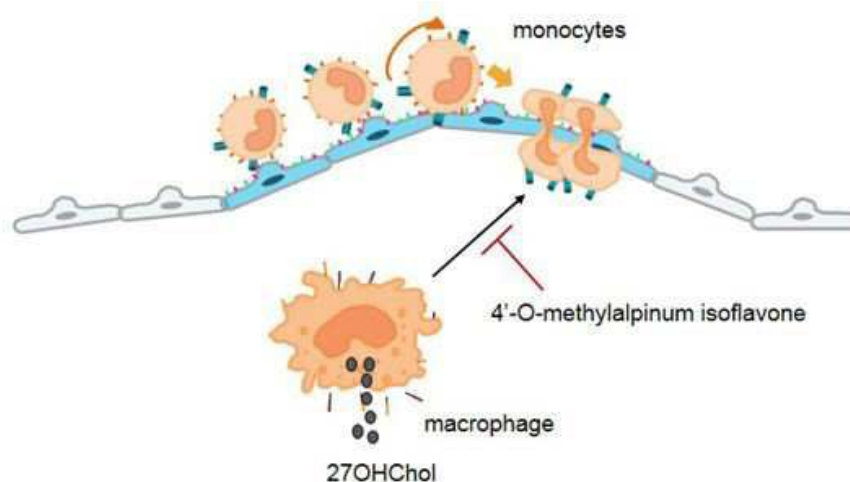
심사관 : 광희찬

(54) 발명의 명칭 4'-O-메틸알피넴 이소플라본을 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 4'-O-메틸알피넴 이소플라본을 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 4'-O-메틸알피넴 이소플라본은 콜레스테롤 산화물에 의한 단백질의 이동을 차단하며, 죽상경화와 관련한 표지분자인 CD137, CD105 및 CD166의 발현을 억제하는 효과가 우수하므로, 죽상경화증을 포함한 심혈관 질환 및 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/326 (2013.01)

(72) 발명자

손용해

부산광역시 해운대구 대천로103번길 47, 제101동
1404호 (좌동, 대림1차아파트)

김보영

경상북도 청도군 각남면 칠성길 215

이정아

부산광역시 기장군 기장읍 차성동로45번길 35, 70
2호

최정윤

경상남도 사천시 주공1길 50, 201동 1005호 (별리
동, 주공아파트)

명세서

청구범위

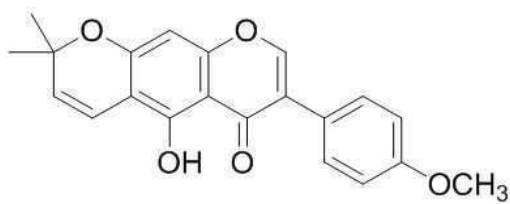
청구항 1

4'-O-메틸알피넴 이소플라본(4'-O-methylalpinum isoflavone)을 유효성분으로 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 4'-O-메틸알피넴 이소플라본은 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[화학식 1]



청구항 3

제1항에 있어서, 상기 4'-O-메틸알피넴 이소플라본은 구지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*) 열매로부터 분리된 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 4'-O-메틸알피넴 이소플라본은 물, C₁-C₄의 알콜 또는 이들의 혼합용매를 이용하여 분리된 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 뇌졸중, 협심증, 심부전, 심근경색, 죽상경화증 및 허혈성 심장질환으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 죽상경화증인 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 4'-O-메틸알피넴 이소플라본은 단핵구(monocyte)의 이동을 억제하는 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 단핵구의 이동은 콜레스테롤 산화물에 의한 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

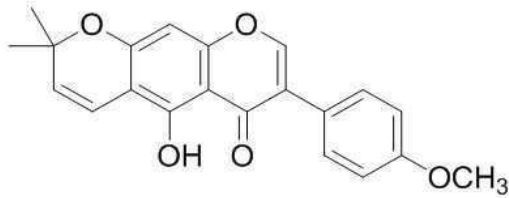
청구항 9

4'-O-메틸알피넴 이소플라본(4'-O-methylalpinum isoflavone)을 유효성분으로 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 4'-O-메틸알피넴 이소플라본은 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는, 심혈관 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

[화학식 1]



발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 4'-O-메틸알피넴 이소플라본을 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 죽상경화(atherosclerosis)는 동맥경화로도 불리우며 관상동맥, 대동맥, 말초동맥에 모두 나타날 수 있으며 혈관내벽에 생기면서 점차 혈관을 좁게 하는 문제점이 있다. 주요 원인은 고지혈증, 고혈압, 당뇨, 흡연, 비만 등이며 본인의 상태에 대한 주기적인 관찰이 필요하다. 죽상경화증으로 인한 혈관 이상은 발생 부위에 따라 다른 질환의 원인이 된다. 뇌혈관에 죽상경화가 발생하면 뇌졸중(뇌경색증, 뇌출혈), 그리고 심장혈관(관상동맥)에 죽상경화가 발생하면 협심증, 심근경색증, 그리고 팔다리 혈관에 죽상경화가 발생하면 말초혈관 질환이 발생한다. 이러한 심혈관질환은 악성신생물(암) 다음으로 한국인의 주요 사망원인이다.

[0003] 죽상경화는 혈관 내 손상으로 인한 죽종, 죽상관 혹은 죽상경화성관 형성이 특징이며 콜레스테롤에 의한 발병기전이 비교적 잘 밝혀져 있다. 혈액에 존재하는 저밀도 지단백 콜레스테롤은 혈관 내벽에 축적되고 콜레스테롤은 혈관 내에서 산화된다. 산화된 콜레스테롤은 염증을 유도하고 결과적으로 단핵구가 혈관 내벽으로 이동한다. 그리고 단핵구는 혈관벽 내에서 콜레스테롤 산화물에 의하여 활성화되어 염증을 증폭시킨다. 이러한 일련의 반응의 결과로 단핵구가 혈관 내벽으로 지속적으로 이동함으로써 죽상경화가 진행되며, 이러한 단핵구의 이동은 죽상경화의 발생 및 발달에 중추적 역할을 한다. 따라서 혈관 내벽으로의 단핵구 이동을 억제하는 방법이 죽상경화 및 심혈관 질환의 차세대 치료법으로 제시되고 있다.

[0004] 죽상경화 플라크에 존재하는 단핵구는 CD137 및 CD105와 같은 표지인자를 발현함으로써 죽상경화를 촉진시킨다. 특히, CD137(4-1BB)은 죽상경화 플라크에 존재하는 단핵구에 상당히 많이 발현되고 CD137의 작용을 억제하는 것이 죽상경화 치료 방법으로 제시되었다. 또한 CD105 (endoglin)는 TGF- β 수용체로써 죽상경화 플라크의 불안정화에 관여한다고 보고된 바 있으며, 이외에도 CD166 (Alcam)의 경우 죽상경화의 표지인자로 죽상경화 조직에 특이적으로 발현된다.

[0005] 27-히드록시콜레스테롤(27-Hydroxycholesterol)(27OHChol)은 죽상경화 플라크에서 발견되는 콜레스테롤 산화물(cholesterol oxides) 중에서 가장 높은 농도로 존재한다. 27OHChol은 대식세포를 활성화시키고 또한 단핵구세포의 이동을 증가시킴으로써 죽상경화를 촉진시킨다. 그리고, 27OHChol은 단핵구의 CD137, CD105 및 CD166의 발현을 증가시킨다.

[0006] 한편, 이소플라본(isoflavone)은 여성호르몬인 에스트로겐과 유사하여 에스트로겐 분비를 유도하는 물질로 '식물성 에스트로겐(phytoestrogen)'이라고도 불리운다. 식물계에는 약 1000종 이상의 다양한 이소플라본이 존재하는 것으로 알려져 있다. 특히 콩과식물에 많이 함유되어 있으며, 최근 이소플라본이 암, 폐경기 증후군 및 골다공증을 포함하는 호르몬 의존성 질병에 대하여 잠재적인 대체요법을 제공할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

[0007] 본 발명자들은 심혈관 질환의 예방 또는 치료를 위한 약물을 개발하기 위하여 천연물 및 이로부터 분리된 화합물에 관하여 연구하던 중, 4'-O-메틸알피넴 이소플라본(4'-O-methylalpinum isoflavone)이 27-히드록시콜레스

테플에 의한 단핵구의 이동을 억제하며, CD137, CD105 및 CD166의 발현을 억제함으로써 죽상경화증을 비롯한 심혈관 질환을 억제하는 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

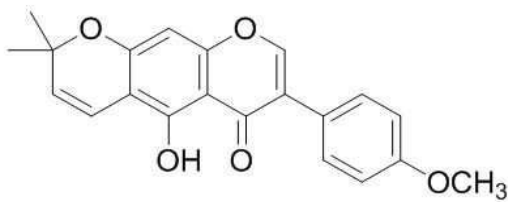
해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 4'-O-메틸알피넴 이소플라본을 유효성분으로 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 4'-O-메틸알피넴 이소플라본(4'-O-methylalpinum isoflavone)을 유효성분으로 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0010] [화학식 1]



[0011]

[0012] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 4'-O-메틸알피넴 이소플라본을 유효성분으로 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명의 4'-O-메틸알피넴 이소플라본은 콜레스테롤 산화물에 의한 단핵구의 이동을 차단하며, 죽상경화와 관련한 표지분자인 CD137, CD105 및 CD166의 발현을 억제하는 효과가 우수하므로, 죽상경화증을 포함한 심혈관 질환 및 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 4'-O-메틸알피넴 이소플라본의 27-히드록시콜레스테롤 작용 억제 과정을 개략적으로 나타낸 도이다.

도 2는 4'-O-메틸알피넴 이소플라본을 처리한 단핵구 세포주의 세포 이동 분석 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 4'-O-메틸알피넴 이소플라본을 처리한 단핵구 세포주의 유세포 분석 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

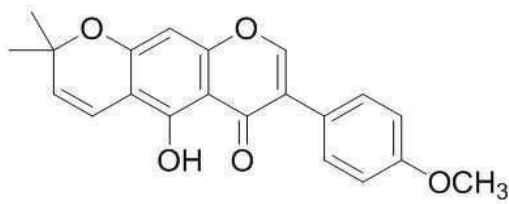
[0015] 본 발명은 4'-O-메틸알피넴 이소플라본(4'-O-methylalpinum isoflavone)을 유효성분으로 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0016] 상기 조성물은 약학적 조성물 및 식품 조성물을 포함한다.

[0017] 이하 본 발명에 관하여 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명의 유효성분인 5-히드록시-7-(4-메톡시페닐)-2,2-디메틸피라노[3,2-g]크로멘-6-온 (5-hydroxy-7-(4-methoxyphenyl)-2,2-dimethylpyrano[3,2-g]chromen-6-one)(C₂₁H₁₈O₅)으로, 하기 화학식 1로 표시될 수 있다.

[0019] [화학식 1]



[0020]

[0021] 상기 화합물은 약학적으로 허용되는 염의 형태로 사용될 수 있으며, 통상의 방법에 의해 제조되는 모든 염, 수화물 및 용매화물이 포함된다.

[0022]

염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가 염은 통상의 방법, 예를 들어 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수혼 화성 유기 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동 몰량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알콜(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고, 이어서 상기 혼합물을 증발시켜 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다. 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, *p*-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레인산 (maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산 (fumaric acid), 만데르산, 프로피온산 (propionic acid), 구연산 (citric acid), 젖산 (lactic acid), 글리콜산 (glycolic acid), 글루콘산 (gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산 (glutaric acid), 글루쿠론산 (glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 히드로아이오딕산 등을 사용할 수 있으며, 이들에 제한되지 않는다.

[0023]

또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은, 예를 들어 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해시키고, 비용해 화합물 염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하나 이들에 제한되는 것은 아니다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[0024]

상기 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 상기 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 예를 들어, 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨 염 등이 포함될 수 있고, 아미노기의 기타 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드로브로마이드, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄술포네이트 (메실레이트) 및 *p*-톨루엔술포네이트 (토실레이트) 염 등이 있으며 당업계에서 알려진 염의 제조방법을 통하여 제조될 수 있다.

[0025]

이소플라본(isoflavone)은 여성호르몬인 에스트로겐과 비슷한 기능을 담당하는 콩단백질의 하나로 '식물성 에스트로겐(phytoestrogen)'이라고도 불리며, 대두에 많이 들어 있다.

[0026]

본 발명의 4'-O-메틸알피넌 이소플라본은 이소플라본의 일종으로 유기 합성의 방법으로 합성하거나 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있으며, 바람직하게는 구지뿔나무(*Cudrania tricuspidata*) 열매 등과 같은 식물로부터 통상적인 추출 및 분획 방법에 의해 분리될 수 있다.

[0027]

본 발명의 4'-O-메틸알피넌 이소플라본을 식물로부터 분리하는 경우 추출 및 분획 용매로서 물, C₁-C₄의 알콜 또는 이들의 혼합용매를 이용할 수 있으며, 바람직하게는 메탄올 또는 에탄올을 이용할 수 있다.

[0028]

상기 심혈관 질환은 뇌졸중, 협심증, 심부전, 심근경색, 죽상경화증 또는 허혈성 심장질환일 수 있으며, 바람직하게는 죽상경화증일 수 있다.

[0029]

상기 죽상경화증은 주로 콜레스테롤에 의하여 발병하는 것으로, 동맥 내피세포의 물리적 또는 생물학적인 손상으로 인하여 내막층이 갈라지거나 얇아져서 혈액 속의 LDL콜레스테롤이 내막의 틈을 비집고 들어가서 내피 아래로 침투하게 되고 이어서 단핵구(백혈구 일종; monocyte)가 조직으로 들어가게 되며, 조직으로 들어간 단핵구가 지방분을 잡아먹는 대식세포의 역할을 함으로써 이러한 일련의 반응의 결과로 단핵구가 혈관 내벽으로 지속적으로 이동하며 점차 혈관이 좁아져 혈류의 장애를 일으키게 된다.

- [0030] 본 발명의 4'-O-메틸알피넨 이소플라본은 콜레스테롤 산화물의 작용을 억제함으로써 죽상경화를 비롯한 심혈관 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.
- [0031] 상기 콜레스테롤 산화물은 바람직하게는 27-히드록시콜레스테롤일 수 있으며, 그 억제 과정을 개략적으로 도 1에 나타내었다.
- [0032] 도 1에 나타난 바와 같이, 4'-O-메틸알피넨 이소플라본은 27-히드록시콜레스테롤에 의한 단핵구의 이동을 차단하며, 죽상경화와 관련한 표지분자인 CD137, CD105 및 CD166의 발현을 억제한다.
- [0033] 본 발명의 조성물은 본 발명의 4'-O-메틸알피넨 이소플라본과 함께 심혈관 질환의 예방 또는 치료의 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 더 함유할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science, 최근, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 것을 사용하는 것이 바람직하다. 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸 히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등이 있다. 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0035] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것이다.
- [0036] 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 4'-O-메틸알피넨 이소플라본은 1일 1 mg/ kg 내지 1000 mg/kg의 양으로 투여할 수 있으며, 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0037] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 조성물은 심혈관 질환의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0039] 본 발명에서, "식품"이란, 질병의 예방 및 개선, 생체방어, 면역, 병후의 회복, 노화 억제 등 생체조절 기능을 가지는 식품을 말하는 것으로, 장기적으로 복용하였을 때 인체에 무해해야 한다.
- [0040] 본 발명의 조성물은 심혈관 질환의 예방 또는 개선을 목적으로 식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 4'-O-메틸알피넨 이소플라본을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 4'-O-메틸알피넨 이소플라본을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 4'-O-메틸알피넨 이소플라본은 원료에 대하여 15중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이

상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0041] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0042] 본 발명의 음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 0.01 내지 10 g, 바람직하게는 약 0.01 내지 0.1 g 이다.

[0043] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0044] 이하 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실험예 및 제제예를 제시한다. 그러나 하기 실험예 및 제제예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 이에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0045] 실험예 1. 세포이동 분석

[0046] 단핵구 세포주인 THP-1 세포는 American Type Culture Collection(ATCC)사에서 구입하여 ATCC에서 권장하는 방법으로 배양하였으며, 27-히드록시콜레스테롤(27-hydroxycholesterol; 27OHChol)을 ResearchPlus사에서 구입하였다.

[0047] 그 후 상기 세포의 이동을 측정하기 위하여 Transwell Permeable Supports (Costar)를 이용하였다. 먼저, THP-1 세포를 배지(대조군), 27OHChol(2 μ g/ml), 27OHChol + 4'-O-메틸알피넴 이소플라본 0.3125 μ g/ml, 27OHChol + 4'-O-메틸알피넴 이소플라본 1.25 μ g/ml, 및 27OHChol + 4'-O-메틸알피넴 이소플라본 5 μ g/ml로 각각 처리하고 48시간 배양한 후에 배지를 분리하였으며, 분리한 배지를 트랜스웰 챔버에 분주하였다. THP-1 세포(5×10^5 세포/100 μ L의 0.1% BSA)를 상부 챔버에 분주하고, THP-1 세포를 포함하는 상부 챔버를 배지가 있는 트랜스웰 챔버에 삽입하였다. 그 후 CO₂ 배양기에서 2시간 동안 배양하고 챔버를 분리하였다.

[0048] 상기 트랜스웰 챔버로 이동한 세포의 수를 Vi-Cell 세포 계수기를 이용하여 측정하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0049] 도 2에 나타난 바와 같이, 27OHChol로 처리한 단핵구 세포의 배지는 단핵구의 이동을 증가시켰으나, 4'-O-메틸알피넴 이소플라본과 27OHChol을 함께 처리한 단핵구 세포의 배지에서는 단핵구의 이동이 차단됨을 확인하였다.

[0050] (** P < 0.001 vs. 대조군; #P<0.05 vs. 27OHChol; ###P<0.001 vs. 27OHChol)

[0051] 실험예 2. 유세포 분석

[0052] 단핵구 세포주인 THP-1 세포는 American Type Culture Collection(ATCC)사에서 구입하여 ATCC에서 권장하는 방법으로 배양하였으며, 27-히드록시콜레스테롤(27-hydroxycholesterol; 27OHChol)을 ResearchPlus사에서 구입하였다.

[0053] 그 후 상기 세포의 유세포 분석을 위하여 FACS canto II(BD)를 이용하여 형광 표지된 세포를 측정하였다. 먼저, THP-1 세포를 배지(대조군), 27OHChol(2 μ g/ml), 27OHChol + 4'-O-메틸알피넴 이소플라본 0.3125 μ g/ml, 27OHChol + 4'-O-메틸알피넴 이소플라본 1.25 μ g/ml, 그리고 27OHChol + 4'-O-메틸알피넴 이소플라본 5 μ g/ml로 각각 처리하고 48시간 배양한다. 배양 후 배양한 각 세포를 수확하여 PBS로 세척하고, 세척한 세포를 CD105, CD137 및 CD166에 대한 일차 항체액에 현탁하여 4 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 두었다. 2시간 후, 세포를 PBS로 세척하고, 형광물질이 표지된, 일차항체에 대한 이차항체를 처리하고 4 $^{\circ}$ C에서 1 시간 동안 두었다. 그 후 PBS로 세척하고, 1% 파라포름알데히드(paraformaldehyde) 500 μ l에 세포를 현탁하고 유세포 분석기로 분석하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0054] 도 3에 나타난 바와 같이, 27OHChol로 자극한 단핵구는 CD105, CD137 및 CD166의 발현이 약 5배 정도 증가하였으나, 4'-O-메틸알피넬 이소플라본과 27OHChol을 함께 처리하는 경우 단핵구의 CD105, CD137 및 CD166의 발현이 4'-O-메틸알피넬 이소플라본의 농도에 비례하여 감소함을 확인하였다.

[0055] 이는 본 발명의 4'-O-메틸알피넬 이소플라본이 27-히드록시콜레스테롤에 의한 단핵구의 이동을 차단하며, 죽상경화와 관련한 표지분자인 CD137, CD105 및 CD166의 발현을 억제함으로써 죽상경화증을 비롯한 심혈관 질환 및 관련 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있음을 의미한다.

[0056] 이하 본 발명의 4'-O-메틸알피넬 이소플라본을 유효성분으로 포함하는 심혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 예방 또는 개선용 식품 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0057] **제제예 1. 약학적 제제의 제조**

[0058] 1. 산제의 제조

[0059]	4'-O-메틸알피넬 이소플라본	20 mg
[0060]	유당	100 mg
[0061]	탈크	10 mg

[0062] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0063] 2. 정제의 제조

[0064]	4'-O-메틸알피넬 이소플라본	10 mg
[0065]	옥수수전분	100 mg
[0066]	유당	100 mg
[0067]	스테아린산 마그네슘	2 mg

[0068] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0069] 3. 캡슐제의 제조

[0070]	4'-O-메틸알피넬 이소플라본	10 mg
[0071]	결정성 셀룰로오스	3 mg
[0072]	락토오스	14.8 mg
[0073]	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg

[0074] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0075] 4. 주사제의 제조

[0076]	4'-O-메틸알피넬 이소플라본	10 mg
[0077]	만니톨	180 mg
[0078]	주사용 멸균 증류수	2974 mg
[0079]	Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	26 mg

[0080] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0081] 5. 액제의 제조

[0082]	4'-O-메틸알피넬 이소플라본	20 mg
[0083]	이성화당	10 g
[0084]	만니톨	5 g

[0085]	정제수	적량
[0086]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	
[0087]	<u>제제예 2. 식품 제제의 제조</u>	
[0088]	<u>1. 건강식품의 제조</u>	
[0089]	4'-O-메틸알피넬 이소플라본	100 mg
[0090]	비타민 혼합물	적량
[0091]	비타민 A 아세테이트	70 g
[0092]	비타민 E	1.0 mg
[0093]	비타민 B1	0.13 mg
[0094]	비타민 B2	0.15 mg
[0095]	비타민 B6	0.5 mg
[0096]	비타민 B12	0.2 g
[0097]	비타민 C	10 mg
[0098]	비오틴	10 g
[0099]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0100]	엽산	50 g
[0101]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0102]	무기질 혼합물	적량
[0103]	황산제1철	1.75 mg
[0104]	산화아연	0.82 mg
[0105]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0106]	제1인산칼륨	15 mg
[0107]	제2인산칼슘	55 mg
[0108]	구연산칼륨	90 mg
[0109]	탄산칼슘	100 mg
[0110]	염화마그네슘	24.8 mg
[0111]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.	
[0112]	<u>2. 건강음료의 제조</u>	
[0113]	4'-O-메틸알피넬 이소플라본	100 mg
[0114]	비타민 C	15 g
[0115]	비타민 E(분말)	100 g
[0116]	젖산철	19.75 g
[0117]	산화아연	3.5 g

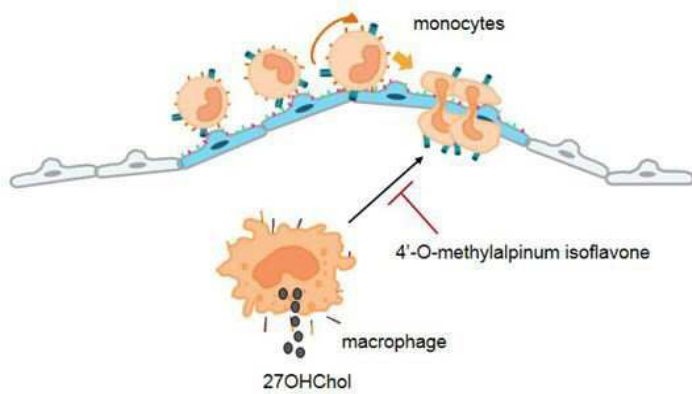
[0118]	니코틴산아미드	3.5 g
[0119]	비타민 A	0.2 g
[0120]	비타민 B1	0.25 g
[0121]	비타민 B2	0.3g
[0122]	물	정량

[0123] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

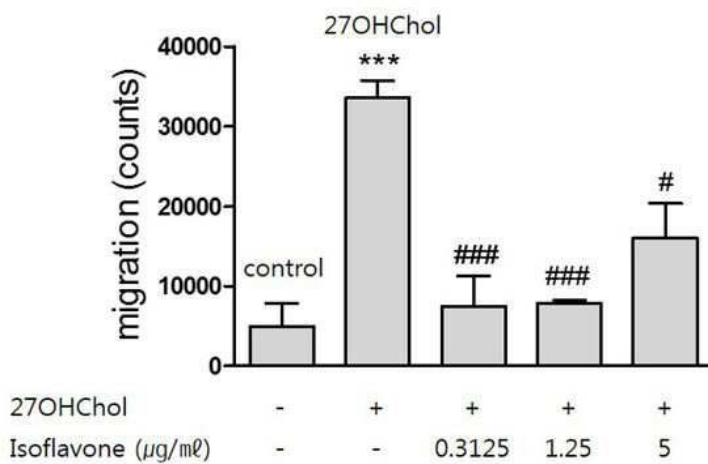
[0124] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

도면1



도면2



도면3

