

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2022-0108321
(43) 공개일자 2022년08월03일(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/62 (2015.01) *A23L 29/00* (2016.01)
A23L 33/10 (2022.01) *A61P 13/08* (2006.01)(52) CPC특허분류
A61K 35/62 (2013.01)
A23L 29/065 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2021-0011181

(22) 출원일자 2021년01월27일

심사청구일자 2021년01월27일

(71) 출원인
에이치엠오건강드림영농조합법인
충청남도 태안군 태안읍 안면대로 208-37(72) 발명자
손진성
충청남도 태안군 태안읍 안면대로 208-53(74) 대리인
이상문, 박천도

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **남성 전립선질환의 예방, 개선 또는 치료용에 있어서 곰벵이 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물****(57) 요약**

본 발명은 곰벵이 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 질환의 예방, 개선, 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 곰벵이 추출물은 요도 평활근 및 전립선 평활근의 이완효과가 우수하므로, 곰벵이 추출물을 함유하는 본 발명의 조성물은 전립선 질환의 예방, 개선 또는 치료용 건강기능식품 또는 의약품 소재로 유용하게 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

- A23L 33/10 (2022.01)
- A61P 13/08 (2018.01)
- A23V 2002/00 (2013.01)
- A23V 2200/30 (2013.01)
- A23V 2250/204 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1450006114
과제번호	P0006114
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술진흥원
연구사업명	광역협력권산업육성사업(R&D)
연구과제명	흰점박이꽃무지 자원을 활용한 고령친화형 향노화 기능성식품 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	에이치엠오건강드림영농조합법인
연구기간	2018.10.01 ~ 2021.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

곰팡이 추출물을 활성 성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 전립선 질환의 예방, 개선, 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

곰팡이 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는 전립선 질환의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 3

제 1항 및 제 2항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 곰팡이 추출물은

고구마 껍질 분말, 사과 껍질 분말 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 사료를 먹인 곰팡이로 추출한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1항 및 제 2항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 곰팡이 추출물은

고구마 껍질 분말, 사과 껍질 분말 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나에 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus Casei*)를 중량 대비 5중량부가 되도록 투입하여 37℃에서 7일간 발효 처리하여 얻은 고상 발효물을 100℃에서 30분간 다시 스팀 살균 처리하여 발효를 억제한 사료를 먹인 곰팡이로 추출한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 1항 및 제 2항 중 어느 한 항에 있어서, 전립선 질환은 전립선 비대증 또는 전립선 비대에 의한 하부요로증인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제 1항 및 제 2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 곰팡이 추출물은 요도 평활근 또는 전립선 평활근을 이완시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 남성 전립선질환의 예방, 개선 또는 치료용에 있어서 곰팡이 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전립선은 남성에게만 존재하는 기관으로서, 방광 바로 아래에 위치하여 요도를 둘러싸고 있는 호두알 크기의 호르몬 기관이다. 전립선 전면의 가까운 쪽으로 요도가 비스듬히 관통하고 있다. 전립선 양쪽의 사정관은 요도의 뒤쪽에서 실질(parenchyma)을 관통하고 있으며, 전립선 실질은 3개의 선엽으로 분리되어 있다. 사정관 관통부를

기준으로 위쪽이 증엽이고, 그 아래쪽 뒤는 요도를 중심으로 좌우의 측엽이다. 관포상의 구조이며, 선조직과 간질로 대별된다. 이 간질에서 30~50개의 소선엽으로 분리되고, 이로부터 배설관이 후부 요도 정구의 양쪽에 개구되어 있다. 전립선은 고환, 정낭과 함께 생식기능을 담당하는 성 부속기관 중의 하나이다.

[0003] 전립선은 남성 정액의 액체성분 중 약 1/3을 만들어내며, 상기 전립선액은 고환에서 만들어진 정자에 영양을 공급할 뿐만 아니라, 사정된 정액을 고화를 방지하여 정자의 운동성을 증가시킴으로써 정자의 수태능력을 돕는다. 또한, 전립선액은 알칼리성이기 때문에 여성 나팔관의 강산성을 중화시켜 나팔관에 도달한 정자가 무사히 난자와 수정할 수 있도록 돕는 등 정자활동에 중요한 매개체 역할을 한다.

[0004] 또한, 전립선은 요도가 건조해지지 않도록 여러 가지 분비물을 만들어 내는 장기로, 남성 호르몬인 안드로젠과 밀접한 관련이 있다. 분비가 증가함에 따라 점점 커지는데, 20~30대의 전립선이 50대까지 유지되다 그 이후부터 비대해진다. 이것을 양성 전립선 비대증이라고 하며, 호르몬 치료로 크기를 정상으로 돌려놓았다 하더라도 부작용의 위험이 크고, 호르몬 치료를 멈추면 곧 원상 복귀되기 때문에 완치하기 어렵다. 이와 같은 양성 전립선 비대증(Benign prostatic hyperplasia, BPH)은 노화와 성호르몬의 불균형의 영향으로 요도 주위 전립선 '샘조직'이 커져 요도를 압박하여 배뇨증상이 나타나는 질환으로, 남성의 50세 이후 발병이 급격히 일어나는 남성 질환이다.

[0005] 최근 우리나라에서 전립선 비대증 질환자의 증가율이 매년 20%를 상회할 정도로 가파른 증가 추세이며, 전립선 이행대 부분의 평활근(smooth cell)과 상피세포(epithelial)의 과도한 증식으로 야기되고, 전립선 비대증은 하부요로증상을 동반하는데, 이는 비대해진 전립선에 의한 해부학적 폐색과 전립선 평활근을 수축시키는 α1-수용체에 의한 기능적 폐색에 기인하는 것으로 알려져 있다. 폐색에 의한 주요 증상으로는 소변줄기가 가늘고 약해지는 세뇨 또는 약뇨, 소변을 시작할 때 한참 기다려야 하는 지연뇨, 소변 중 의지와 관계없이 중단되는 배뇨중단, 소변 후 물방울처럼 떨어지는 배뇨 말기 적하, 및 잔뇨감 등이 대표적이다. 전립선 비대의 다양한 기전 중에서 대표적인 기전은 남성호르몬인 테스토스테론(testosterone, T)과 디하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone, DHT)이 관련되어 있다고 알려져 있다.

[0006] 이와 같은 전립선 질환의 예방과 치료에 대하여 다양한 연구가 시도되고 있으며, 본 발명자는 곰뽕이 추출물이 유효한 효과를 보임을 확인하여 본 발명에 이르게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 공개 특허 제10-2020-0069131호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 곰뽕이 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 질환의 예방, 개선, 또는 치료용 조성물, 상세하게는 요도 평활근 이완뿐만 아니라, 전립선 이완 효과가 우수한 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 과제를 달성하기 위하여 본 발명은 곰뽕이 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 질환의 예방, 개선, 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0010] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 조성물은 약학적 조성물일 수 있으며, 그 투여 제형은 정제, 시럽제 등과 같은 경구 투여 제형, 패치제, 연고제 등과 같은 경피 투여 제형, 주사제 등 본 발명이 속하는 기술 분야에 알려진 것이라는 특별한 제한은 없다.

[0011] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 조성물은 건강식품 조성물일 수 있으며, 본 발명의 건강식품 조성물을 이용하여 제조할 수 있는 식품의 형태는 본 발명이 속하는 기술 분야에 알려진 것이라는 특별한 제한은 없다.

[0012] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 조성물에 있어서, 상기 곰뽕이 추출물은

[0013] 고구마 껍질 분말, 사과 껍질 분말 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 하나를 사료로 먹인 굼벵이를 이용하여,

[0014] 더욱 바람직하게

[0015] 고구마 껍질 분말, 사과 껍질 분말 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 하나에 락토바실러스 카제이 (*Lactobacillus Casei*)를 중량 대비 5중량부가 되도록 투입하여 37℃에서 7일간 발효 처리하여 얻은 고상 발효물을 100℃에서 30분간 다시 스팀 살균 처리하여 발효를 억제한 사료를 먹인 굼벵이로 추출한 것임을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명은 굼벵이 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 질환의 예방, 개선, 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 굼벵이 추출물은 요도 평활근 및 전립선 평활근의 이완효과가 우수하므로, 굼벵이 추출물을 함유하는 본 발명의 조성물은 전립선 질환의 예방, 개선 또는 치료용 건강기능식품 또는 의약품 소재로 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하 본 발명을 상세하게 설명하기로 한다.

[0018] 본 발명은 굼벵이 추출물을 유효성분으로 함유하는 전립선 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0019] 상기 굼벵이는 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis*)의 유충으로서 동의보감에서 간암, 간경화, 간염, 누적된 피로 해소 등을 포함하여 시력 감퇴, 백내장, 악성종기, 구내염, 파상풍, 중풍 등의 성인병을 치료하는 데 효과가 있다고 적혀 있는 등 전통 한약재이다.

[0020] 상기 굼벵이를 추출하여 얻어진 추출물에 대해서는 대한민국 등록특허공보 10-1852840호에 굼벵이 효소 처리물, 갈색거저리 유충의 효소 처리물, 인진쑥 추출물, 민들레 추출물 및 엉겅퀴 추출물을 함유함으로써 간 보호의 효과를 나타내는 조성물이 개시되어 있으며, 대한민국 등록특허공보 10-0377252호에는 굼벵이류(매미, 풍뎅이, 사슴벌레, 뽕나무나방의 유충)에서 열수 침출한 추출물과 영지버섯의 열수침출 추출물을 포함하는 항암용 식품이 개시되어 있다.

[0021] 상기 선행기술을 살펴보면, 굼벵이를 플라보자임(Flavozyme), 알칼라아제(Alcalase) 또는 프로테아제(Protease)에서 선택되는 효소로 처리하거나 열수 침출함으로써 추출물을 얻고 있으며, 이를 통하여 간 보호 및 항암 효과를 얻고 있다.

[0022] 이와는 별도로 굼벵이가 당뇨와 관련한 효과가 있다는 점이 민간에 널리 알려져 있으며, 혈당 강하 효과도 우수하며(곤충 프로테오글라이칸 분리정제 및 의약소재화 연구, 국립농업과학원, 2013), 또한, 대한민국 등록특허공보 10-1888549호에는 굼벵이를 주원료로 하여 늪은 호박 추출액, 구기자 추출액, 백복령 추출액, 차전자 추출액, 당귀 추출액 및 취 추출액을 조성 비율에 따라 일정량씩 조합한 혼합 추출액을 키토산으로 표면 코팅하여 집적화한 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 저하 효과가 우수한 다이어트 음료를 개시하고 있다.

[0023] 다만, 전립선 질환에 대한 효과는 전혀 개시되어 있지 않다.

[0024] 상기 굼벵이 추출물은 하기의 단계를 포함하는 방법에 의해 제조할 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.

[0025] (1) 굼벵이에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0026] (2) 단계 (1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

[0027] (3) 단계 (2)의 여과한 추출물을 감압 농축하고 건조하여 추출물을 제조하는 단계.

[0028] 상기 단계 (1)에서 추출용매는 물, C1~C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물 중에서 선택하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 C1~C4의 저급 알코올이고, 더욱더 바람직하게는 70%(v/v) 에탄올이지만 이에 한정하지 않는다.

[0029] 상기 제조방법에 있어서, 추출방법은 여과법, 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 본 발명이 속하는 기술 분야에 공지된 모든 통상적인 방법을 이용할 수 있다. 상기 추출용매는 건조된 굼벵이 중량의 1~20배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 5~15배 첨가하는 것이다. 추출온도는 4 내지 50℃인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 0.5~10시간인 것이 바람직하며, 0.5~5시간이

더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

- [0030] 상기 방법에 있어서, 단계 (3)의 감압농축은 진공 감압 농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무 건조 또는 동결 건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0031] 상기 전립선 질환은 전립선 비대증 또는 전립선 비대에 의한 하부요로증인 것이 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니며, 요도 평활근 또는 전립선 평활근을 이완시킴으로써, 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 전립선 질환을 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 유효성분인 곰팡이 추출물은 혈관 평활근 세포의 이완, 요도 또는 전립선 평활근을 이완시킬 수 있으며, 상기 혈관 평활근 세포의 이완은 NOS 조절에 의한 것이 특징이며, 전립선 평활근의 이완은 칼륨 채널을 활성화하여 과 분극 조절을 통해 이루어진다.
- [0033] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 질환의 정도에 따라 그 범위가 다양하게 사용할 수 있다.
- [0035] 곰팡이의 다양한 사료를 개발하는 과정에서 완성된 것으로서 본 발명의 효과를 더욱 강화하기 위하여, 상기 곰팡이 추출물을 제조하기 위한 곰팡이는
- [0036] 고구마 껍질 분말, 사과 껍질 분말 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 하나를 사료로 먹인 곰팡이를 이용하여,
- [0037] 더욱 바람직하게
- [0038] 고구마 껍질 분말, 사과 껍질 분말 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 하나에 락토바실러스 카제이 (*Lactobacillus Casei*)를 중량 대비 5중량부가 되도록 투입하여 37℃에서 7일간 발효 처리하여 얻은 고상 발효물을 100℃에서 30분간 다시 스팀 살균 처리하여 발효를 억제한 사료를 먹인 곰팡이로 추출한 것임을 특징으로 한다.
- [0039] 상술한 바와 같은 사료는 곰팡이용 톱밥 사료에 혼합하여 곰팡이에게 섭취시키는 방식이며, 이 때 곰팡이용 톱밥 사료에 본 발명에서 제조한 사료를 중량대비 1/25 포함시키는 것이 바람직하다.
- [0040] 또한, 본 발명에서는 곰팡이 출하 7 ~ 14일 전에 곰팡이 톱밥 사료를 공급을 중지하면서 본 발명에서 제조한 사료만을 곰팡이에게 섭취시키는 방식으로 하여 그 효과를 더욱 높일 수 있다.
- [0041] 본 발명에 따른 조성물은 약학 조성물일 수 있는데, 이 경우 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함하여 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 시럽제 등의 경구 투여 제형, 연고제, 패치제, 좌제 형태의 경피 투여 제제, 주사제 등의 제형으로 사용될 수 있다. 그러나 이에 한정되는 것은 아니며 본 발명이 속하는 기술 분야에 알려진 제제 기술이라면 특별한 제한 없이 이용 가능하다.
- [0042] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 건강식품 조성물일 수 있는데, 이 경우 통상적으로 이용되는 식품 첨가물을 함유하여 다양한 형태의 식품으로 제조될 수 있는 것으로서 본 발명이 속하는 기술 분야에 알려진 것이라는 특별한 제한은 없다.
- [0043] 이하, 구체적인 실시예 및 비교예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하기로 한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명을 보다 명확하기 이해시키기 위한 것일 뿐하기 실시예로 본 발명의 보호 범위가 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 보호 범위는 특허청구범위에 의하여 해석되어야 하고, 그와 균등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

[0044] **실시예 1. 곰팡이 추출물의 제조**

[0045] 곰팡이 5.0kg을 분쇄한 후 70%(v/v) 에탄올 50ℓ를 가하여 80℃에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 상기 추출액을 어드벤텍 2호(Advantec No. 2, 110 mm) 여과지로 감압 여과하여 불용성 물질을 제거한 후 냉각 콘덴서가 장착된 농축기를 사용하여 40℃에서 감압 농축하였다. 감압 농축된 추출물의 용매를 완전히 제거하기 위하여 정제수 3ℓ를 넣어 현탁한 후 동결건조기를 이용하여 453.6g의 70%(v/v) 에탄올 추출물(수율 9.1%)을 얻었다.

[0046] **실시예 2. 곰팡이 추출물의 제조**

[0047] 실시예 1과 동일하며, 다만 건조한 고구마 껍질 분말로 제조한 사료 먹인 곰팡이를 이용한 것에 차이가 있다.

[0048] **실시예 3. 곰팡이 추출물의 제조**

[0049] 실시예 2와 동일하며, 다만 건조한 고구마 껍질 분말 대신에 사과 껍질 분말을 이용한 것에 차이가 있다.

[0050] **실시예 4. 곰팡이 추출물의 제조**

[0051] 실시예 1과 동일하며, 다만 건조한 고구마 껍질 분말 100중량부에 5중량부의 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus Casei*)을 첨가하여 36℃에서 7일간 발효처리를 수행한 후 100℃에서 30분간 스팀 가열 처리하여 멸균시켜 제조한 사료 먹인 곰팡이를 이용한 것에 차이가 있다.

[0052] **실시예 5. 곰팡이 추출물의 제조**

[0053] 실시예 4와 동일하며, 다만 건조한 고구마 껍질 분말 대신 사과 껍질 분말을 사용한 것에 차이가 있다.

[0054] **시험예 1. 혈관 절편을 이용한 폐 대동맥(pulmonary aorta)의 이완 효과 검증**

[0055] 실험동물은 체중 300~350gm인 8주령 수컷 또는 암컷 SD(Sprague Dawley) 랫트를 CO₂ 가스가 들어있는 테시케이터에서 1~2분간 마취시키고, 경추탈구법(Cervical dislocation) 이후, 신속하게 정중선을 따라 절개한 후 하행 대동맥을 절단하여 사혈을 시키고 흉대 대동맥(thoracic artery)을 적출하여, Kreb's 용액에서 혈관 내 응괴를 제거하고 가는 곤충 핀(insect pin)으로 실리콘 코팅된 페트리디쉬(silicon coated petri dish)에 고정하였다.

[0056] 동맥조직은 실리콘이 코팅된 페트리디쉬(silicon coated petri dish)에서 ice-cold modified Kreb's 용액 안에서 50X 배율의 실체현미경(Nikon SMZ-2T)을 이용하여 지방조직 및 결합조직을 제거하였다.

[0057] 실험의 조건에 따라,EDRF (endothelium-derived relaxing factor)의 효과를 차단하기 위해 동맥혈관 내에 면사를 넣어 내피세포를 긁어내어 Endothelium-denuded artery preparation을 준비하거나, 상기 과정을 생략하고 Endothelium-attached artery preparation을 준비하였다. 혈관 내피세포를 제거 시에 혈관평활근의 손상이 일어나지 않도록 주의하였으며, 제거 유무는 혈관 장력실험 시에 1μM의 카바밀콜린(Carbamylcholine)을 투여함으로써 혈관 이완반응이 일어나지 않는 것으로 내피세포의 존재 유무를 확인하였다. 준비된 조직은 2~3mm 길이의 작은 절편으로 잘라 수축실험에 사용하였다.

[0058] 동맥 절편은 Kreb's 용액으로 채운 20 용량의 organ bath에 수직으로 텅스텐 와이어로 제작한 두 개의 삼각형 고리에 장착되어 상하로 고정하여 한쪽은 organ bath 하단에, 다른 한쪽은 Isometrictransducer(havard bioscience 52-9503 tension transducer)에 연결하였다. 혈관조직은 실험기간 동안 95%의 O₂와 5%의 CO₂ 혼합가스를 지속적으로 공급하여 pH를 7.4가 되도록 유지하였고, 순환 수조를 이용하여 37℃로 항온을 유지하였다. 등장성 수축은 디지털/아날로그 변환기 (Powerlab PL3504/P, ADI instruments)를 통해 컴퓨터에 저장하였으며, 이후 LabChart Pro (ADI insturments)를 이용하여 기록 및 분석하였다.

[0059] 동맥 절편을 고정 후, 10분 간격으로 장력을 0.5g씩 증가시켜 적정 기저장력에 도달하게 하였다. 적정 기저장력은 예비실험을 통하여 20mM KCl 투여시 가장 큰 수축반응을 일으키는 최소한의 장력으로 결정하였으며, 전 실험에 걸쳐서 2.0g를 기저장력으로 설정하고 실험에 적용하였다. 2.0g의 장력을 가하여 기본 장력을 만들고, 60분 정도Kreb's 용액 내에서 안정화시켰다. 기저 장력이 더 이상 변하지 않고 흥부 대동맥 절편이 완전히 평형이 이루어졌다고 판단된 60mM KCl을 투여하여 조직의 정상적인 근수축능력을 확인하고 60mM KCl에 의하여 수축한 근수축의 정도를 이후에 처치하는 페닐레프린(Phenylephrine) 수축과 비교하여 각 조직 간의 차이를 통계적으로 최소화하였다. 60mM KCl 처치 후, 2회 세척하고 30분을 기다린 후 혈관 장력이 다시 기저장력에 도달하게 되면 1μM의 페닐레프린(Phenylephrine)을 투여하여 수축반응을 유도하였다. 2번째 페닐레프린(Phenylephrine) 처치 시에 내피세포의 존재 유무를 확인하기 위하여 1μM 카바밀콜린(carbamylcholine)을 처치하여 혈관 평활근의 이완 유무를 확인하였다.

[0060] 동맥 절편의 안정화 이후, 1 μ M의 페닐레프린(Phenylephrine)을 처리하여 수축 반응이 최고점에 도달하도록 하고, 그 상태가 지속적으로 유지되었을 때, 준비된 1, 10, 20, 100, 200, 400, 600 μ g/ml의 굽벙이 추출물을 각각 organ bath에 축적되도록 첨가하여 각 시료에 대한 혈관의 수축력의 변화를 확인하여 그 결과를 표 1에 나타냈다.

[0061] 각각의 vehicle들은 organ bath 내에서 그 최고 농도가 0.1%(v/v)를 넘지 않는 농도로 처리되었으며, 실험을 통하여 이들 농도에서의 혈관 평활근의 등척성 장력의 변화는 기록되지 않았다.

표 1

[0062]

	추출물 농도(μ g/ml)					
	1	10	20	100	200	600
실시예 1	100	98.1 \pm 0.2	91.1 \pm 0.2	88.7 \pm 0.3	64.8 \pm 0.3	42.5 \pm 0.5
실시예 2	100	97.4 \pm 0.2	90.2 \pm 0.2	69.8 \pm 0.3	51.1 \pm 0.1	35.2 \pm 0.3
실시예 3	100	97.3 \pm 0.1	89.5 \pm 0.3	69.1 \pm 0.2	51.3 \pm 0.2	34.9 \pm 0.4
실시예 4	100	96.8 \pm 0.1	88.2 \pm 0.1	60.2 \pm 0.1	43.5 \pm 0.2	31.1 \pm 0.2
실시예 5	100	96.4 \pm 0.2	89.0 \pm 0.2	61.7 \pm 0.3	43.6 \pm 0.1	30.8 \pm 0.2

[0063] 적출된 흉부 대동맥 절편에 1 μ M 페닐레프린(Phenylephrine)을 가하여 수축을 유발한 후 굽벙이 추출물을 1, 10, 20, 100, 200, 400 및 600 μ g/ml의 용량으로 organ bath에 축적되도록 첨가하여 혈관 평활근의 이완을 관찰한 결과는 실시예 1에서 200 μ g/ml의 농도에서부터, 실시예 2 내지 5의 경우에는 100 μ g/ml 혈관의 이완이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것을 확인하였으며, 실시예 2 내지 3보다 발효 사료를 먹인 실시예 4 내지 5에서 증강된 효과를 보였다.

[0064] 또한, 상기 적출된 흉부 대동맥 절편에 NOS(nitric oxide synthase) 저해제인 5 μ M의 L-NAME(NG-nitro-L-arginine methyl ester)을 전처리하고, 1, 10, 20, 100, 200, 400, 600 μ g/ml의 굽벙이 추출물을 처리하여 혈관이완 효과를 확인하고, 전처리 없이 굽벙이 추출물을 처리한 경우와 비교하여 그 결과를 표 2에 나타냈다.

표 2

[0065]

	추출물 농도(μ g/ml)					
	1	10	20	100	200	600
실시예 1 전처리	100	98.1 \pm 0.2	96.1 \pm 0.2	88.7 \pm 0.3	80.1 \pm 0.3	55.2 \pm 0.5
실시예 1	97.5 \pm 0.2	94.2 \pm 0.3	88.1 \pm 0.1	79.5 \pm 0.2	68.8 \pm 0.2	49.5 \pm 0.1
실시예 2 전처리	100	97.4 \pm 0.2	90.2 \pm 0.2	82.8 \pm 0.3	75.1 \pm 0.1	52.2 \pm 0.1
실시예 2	97.1 \pm 0.2	90.5 \pm 0.1	81.2 \pm 0.2	65.5 \pm 0.2	52.5 \pm 0.2	40.5 \pm 0.2
실시예 3 전처리	100	98.3 \pm 0.2	95.4 \pm 0.3	88.4 \pm 0.3	80.2 \pm 0.3	55.3 \pm 0.5
실시예 3	97.2 \pm 0.2	90.5 \pm 0.4	80.3 \pm 0.1	65.1 \pm 0.3	52.1 \pm 0.2	39.7 \pm 0.3

[0066] L-NAME를 전처리한 경우는 L-NAME를 전처리하지 않는 것에 비해 흉부 대동맥 혈관 이완 효과가 감소한 것을 확인할 수 있었으며, 이로부터 굽벙이 추출물이 혈관 내피 세포 내의 NOS(nitric oxide synthase)을 활성화함으로써, 혈관 이완 효과를 나타내는 것으로 판명되었으며, 본 시험은 발효 사료를 먹인 실시예 4와 5에서는 실시하지 않았으나 유사한 기전으로 보이는 것은 자명한 사항이다.

[0067] **시험예 2: 전립선 배측엽 절편을 이용한 전립선 이완효과 확인**

[0068] 체중이 300~350gm인 8주령 수컷 또는 암컷 Sprague Dawley(SD) 랫트를 CO₂ 가스가 들어있는 테시케이터에서 1~2분간 마취시키고, 경추탈구법(Cervical dislocation) 이후, 신속하게 방광과 근위부 요도 부위를 적출하여 전립선 주변부의 capsular muscle 층을 깨끗하게 제거하였다. 실험에서 사용한 생리학적 용액은Kreb's 용액을 사용하였다.

[0069] 주변 지방조직 및 결합조직을 제거하였다. 인체 조직과 다르게, 흰쥐에서 적출되어진 전립선 조직은 교감신경계(Noradrenaline)와 부교감신경계(Acetylcholine)에 의해서 평활근 수축을 유발하는 것으로 알려져 있으므로,

조직의 적출에 유의하여야 한다. 배측엽(Noradrenaline sensitive muscle)을 적출하여 실험에 사용하였다.

[0070] 조직은 silicon coated petri dish에서 ice-cold solution안에서 실체현미경 (Nikon SMZ-2T)을 이용하여 지방 조직과 결합조직을 제거하였다. 이후 3~5mm 길이의 절편으로 잘라 근수축실험에 사용하였다. 근육 절편은 텅스텐 와이어로 제작한 고리에 단일 실크 섬유로 매듭을 지어 장착하였다. 두 개의 텅스텐 고리 중 한쪽은 organ bath 하단에, 다른 한쪽은 Isometric transducer(havard bioscience 52-9503)에 연결하였다. 전립선 조직은 실험기간 동안 95% O₂와 5%의 CO₂ 혼합가스를 지속적으로 공급하여 생리학적 pH를 유지하도록 하였다. 등장성 수축은 디지털/아날로그 변환기(Powerlab PL3504/P, ADIinstruments)를 통해 컴퓨터에 저장하였으며, 이후 LabChart Pro(ADI insturments)를 이용하여 기록 및 분석하였다.

[0071] 적출된 전립선 배측엽 조직에, 1 μM의 페닐레프린(Phenylephrine)을 처리하여 수축반응이 최고점에 도달하도록 하고, 그 상태가 지속적으로 유지되었을 때, 준비된 1, 10, 20, 100, 200, 400, 600 μg/ml의 굼벵이 추출물을 각각 organ bath에 축적되도록 첨가하여 각 시료별 수축력의 변화를 확인하여 그 결과를 표 3에 나타냈다.

표 3

[0072]

	추출물 농도(μg/ml)					
	1	10	20	100	200	600
실시예 1	100	88.2±0.2	75.1±0.2	61.7±0.3	44.8±0.3	32.5±0.5
실시예 2	100	95.2±0.2	74.2±0.2	42.1±0.3	29.3±0.1	7.2±0.1
실시예 3	100	95.1±0.3	73.8±0.3	42.5±0.1	28.9±0.1	7.3±0.2
실시예 4	100	94.8±0.1	72.4±0.3	33.1±0.2	10.3±0.3	2.1±0.1
실시예 5	100	94.2±0.2	73.1±0.1	32.5±0.3	10.2±0.2	2.3±0.3

[0073] 표 3에 개시한 바와 같이 실시예 1에서는 200 μg/ml, 실시예 2 내지 5에서는 100 μg/ml의 농도 이상에서 혈관의 이완이 통계적으로 유의하게 증가하였다는 것을 확인하였으며, 발효 사료를 먹인 실시예 4 및 5에서 실시예 2와 3보다 더욱 우수한 효과를 보였다.

[0074] **시험예 3: 배측 절편을 이용하여, 칼륨 채널(potassium channel)을 통한 전립선 이완 효과 확인**

[0075] 상기 시험예 2에서 적출된 흰쥐의 전립선 배측엽 절편에 1 μM의 페닐레프린(Phenylephrine)을 가하여 수축을 유발한 후, 1mM의 TEA(tetraethylammonium) 전처리하고, 1, 10, 20, 100, 200, 400, 600 μg/ml의 굼벵이 추출물을 organ bath에 축적되도록 첨가하여 전립선 평활근의 이완 효과를 확인하여 그 결과를 표 4에 나타냈다.

표 4

[0076]

	추출물 농도(μg/ml)					
	1	10	20	100	200	600
실시예 1	100	98.2±0.2	96.4±0.2	87.1±0.3	79.5±0.3	58.2±0.5
전처리						
실시예 1	96.4±0.2	93.5±0.3	85.1±0.1	72.1±0.2	63.8±0.2	44.5±0.1
실시예 2	100	97.3±0.2	90.4±0.2	82.5±0.3	75.3±0.1	52.5±0.1
전처리						
실시예 2	95.1±0.2	90.2±0.1	75.2±0.2	62.1±0.2	47.5±0.2	38.5±0.2
실시예 3	100	96.4±0.2	91.5±0.1	81.8±0.1	75.2±0.1	51.4±0.2
전처리						
실시예 3	95.1±0.2	90.2±0.1	77.8±0.2	60.9±0.3	49.4±0.2	37.9±0.1

[0077] 표 4에 개시한 바와 같이, 전처리를 하지 않고 굼벵이 추출물을 처리한 경우와 비교하여 전처리를 한 경우에는 전립선 배측엽 절편에서의 이완 효과가 줄어드는 것으로부터 본 발명의 굼벵이 추출물은 칼륨 채널(potassium channel)의 활성화를 통한 과분극 조절이 이루어지는 것으로 판단하였다.

[0078] **시험예 4: 음경해면체 절편을 이용한 전립선 이완효과 확인**

[0079] 적출된 음경해면체 절편에 1 μM의 페닐레프린(Phenylephrine)을 가하여 수축을 유발한 후, 1, 10, 20, 100, 200, 400, 600 μg/ml의 굼벵이 추출물을 organ bath에 축적되도록 첨가하여 음경해면체 평활근의 이완을 확인하

여 그 결과를 표 5에 나타냈다.

표 5

[0080]

	추출물 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	1	10	20	100	200	600
실시예 1	100	97.1 \pm 0.2	91.4 \pm 0.2	84.1 \pm 0.3	63.9 \pm 0.3	42.1 \pm 0.5
실시예 2	100	97.2 \pm 0.1	90.1 \pm 0.1	64.2 \pm 0.3	50.8 \pm 0.1	30.2 \pm 0.1
실시예 3	100	97.3 \pm 0.2	90.1 \pm 0.1	65.7 \pm 0.2	49.7 \pm 0.2	29.6 \pm 0.4
실시예 4	100	96.2 \pm 0.3	90.1 \pm 0.1	51.4 \pm 0.1	37.8 \pm 0.2	21.2 \pm 0.3
실시예 5	100	95.2 \pm 0.2	90.1 \pm 0.1	51.2 \pm 0.2	37.8 \pm 0.2	21.3 \pm 0.1

[0081]

표 5에 개시한 바와 같이 바와 같이 실시예 1에서는 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 실시예 2 내지 5에서는 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서부터 음경해면체 평활근의 이완이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것을 확인하였다.