

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0146708

(43) 공개일자 2021년12월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 33/16 (2016.01) A23L 17/00 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/16 (2016.08)

A23L 17/00 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0063856

(22) 출원일자 2020년05월27일

심사청구일자 2020년05월27일

(71) 출원인

세종대학교산학협력단

서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)

서도비엔아이 주식회사

경기도 화성시 팔탄면 제암고주로 134-18

(72) 발명자

김원석

서울시 강남구 압구정로61길 37, 72동 1108호 (압구정동, 한양아파트)

엄주태

경기도 수원시 팔달구 세지로174번길 24-19, 401호 (인계동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인이상

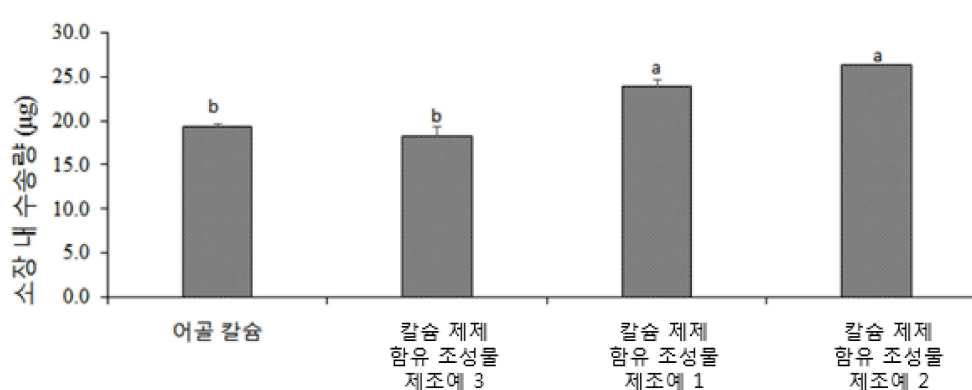
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 칼슘 보충용 조성물

(57) 요약

칼슘 보충용 조성물 을 제공한다. 칼슘 보충용 조성물은 칼슘 제제 100 중량부, 및 중합체성 메타인산나트륨 1 내지 20 중량부를 함유한다. 이러한 칼슘 보충용 조성물은 소화액 내 칼슘의 용해도를 증가시킬 수 있으며, 나아가 체내 칼슘 흡수율 또한 향상시킬 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/306 (2013.01)

(72) 발명자

김일환

서울시 강남구 압구정로 321, 31동 801호 (압구정동, 한양아파트)

심순미

경기도 성남시 분당구 동판교로 156, 909-902

이다연

서울특별시 송파구 송파대로 567 잠실 주공아파트 515동 201호

오정호

경기도 수원시 장안구 이목로 24 SK 스카이라이프 124동 1004호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 D191941

과제번호 D191941

부처명 경기도

과제관리(전문)기관명 (재)경기도경제과학진흥원

연구사업명 경기도기술개발사업

연구과제명 Alaska Pollock Fish Bone 유래 고기능성 칼슘제제 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 서도비엔아이(주)

연구기간 2019.05.01 ~ 2020.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

칼슘 제제 100 중량부; 및

중합체성 메타인산나트륨 1 내지 20 중량부를 함유하는 칼슘 보충용 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 칼슘 제제는 어골 칼슘인 칼슘 보충용 조성물.

청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 어골 칼슘은 명태로부터 얻어진 어골 칼슘인 칼슘 보충용 조성물.

청구항 4

청구항 2에 있어서,

상기 어골 칼슘은 수 내지 수십 μm 의 평균 입자크기를 갖는 칼슘 보충용 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 중합체성 메타인산나트륨은 중합도가 8 내지 13인 칼슘 보충용 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 중합체성 메타인산나트륨은 선형, 가지형, 또는 환형 및 선형 혼합의 형태를 갖는 칼슘 보충용 조성물.

청구항 7

청구항 1 또는 청구항 6에 있어서,

상기 중합체성 메타인산나트륨은 ^{31}P NMR 상에서 중간- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적 대비 말단- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적의 비가 20 내지 50%인 칼슘 보충용 조성물.

청구항 8

청구항 1 또는 청구항 6에 있어서,

상기 중합체성 메타인산나트륨은 산성을 나타내는 칼슘 보충용 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 중합체성 메타인산나트륨은 강산성을 나타내는 칼슘 보충용 조성물.

청구항 10

청구항 1에 있어서,

락토오스 1 내지 20 중량부; 및

비타민 D3 10,000 내지 100,000 IU를 더 포함하는 칼슘 보충용 조성물.

청구항 11

어골 칼슘 100 중량부;

^{31}P NMR 상에서 중간- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적 대비 말단- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적의 비가 20 내지 50%인 중합체성 메타인산나트륨 1 내지 20 중량부;

락토오스 1 내지 20 중량부; 및

비타민 D3 10,000 내지 100,000 IU를 함유하는 칼슘 보충용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 칼슘제에 관한 것으로, 보다 상세하게는 칼슘 보충용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 칼슘은 인체 내에 다섯번째로 풍부한 원소이다. 칼슘은 신경 및 근육 기능을 비롯하여 여러 생리적 작용에 중요한 역할을 한다. 인체내 칼슘의 약 98% 내지 99%는 골조직에서 발견되기 때문에, 칼슘의 결핍 및 대사 결핍은 통상적으로 골다공증으로 나타날 수 있다.

[0003] 골다공증을 치료 또는 예방하기 위해, 많은 칼슘-함유 화합물 및 조성물들이 영양 보충제로서 사용되어 왔다. 일 예로서, 탄산 칼슘 또는 인산 칼슘 등의 칼슘 제제가 알려져 있다. 그러나, 칼슘 제제 섭취시 흡수율이 높지 못하다는 단점이 있다. 이를 해결하기 위해, 칼슘 제제를 나노화하는 방법이 개발되었다(KR 공개특허 제2015-0142724호). 그러나, 여전히 체내 흡수율을 더 향상시킬 것이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 따라서, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 체내 칼슘 흡수율이 향상된 칼슘 보충용 조성물을 제공함에 있다.

[0005] 본 발명의 기술적 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 기술적 과제를 이루기 위하여 본 발명의 일 측면은 칼슘 보충용 조성물 을 제공한다. 칼슘 보충용 조성물은 칼슘 제제 100 중량부, 및 중합체성 메타인산나트륨 1 내지 20 중량부를 함유한다.

[0007] 상기 칼슘 제제는 어골 칼슘일 수 있다. 상기 어골 칼슘은 명태로부터 얻어진 어골 칼슘일 수 있다. 상기 어골 칼슘은 수 내지 수십 μm 의 평균 입자크기를 가질 수 있다.

[0008] 상기 중합체성 메타인산나트륨은 중합도가 8 내지 13일 수 있다. 상기 중합체성 메타인산나트륨은 선형, 가지형, 또는 환형 및 선형 혼합의 형태를 가질 수 있다. 상기 중합체성 메타인산나트륨은 ^{31}P NMR 상에서 중간- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적 대비 말단- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적의 비가 20 내지 50%일 수 있다. 상기 중합체성 메타인산나트륨은 산성 구체적으로, 강산성을 나타낼 수 있다.

[0009] 상기 칼슘 보충용 조성물은 락토오스 1 내지 20 중량부, 및 비타민 D3 10,000 내지 100,000 IU 를 더 포함할 수 있다.

[0010] 상기 기술적 과제를 이루기 위하여 본 발명의 일 측면은 칼슘 보충용 조성물 의 다른 실시예를 제공한다. 본 실시예에 따른 칼슘 보충용 조성물은 어골 칼슘 100 중량부; ^{31}P NMR 상에서 중간- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면

적 대비 말단- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적의 비가 20 내지 50%인 중합체성 메타인산나트륨 1 내지 20 중량부; 락토오스 1 내지 20 중량부; 및 비타민 D3 10,000 내지 100,000 IU 를 함유한다.

발명의 효과

[0011] 상술한 바와 같이 본 발명에 따른 칼슘 보충용 조성물은 소화액 내 칼슘의 용해도를 증가시킬 수 있으며, 나아가 체내 칼슘 흡수율 또한 향상시킬 수 있다.

[0012] 그러나, 본 발명의 효과들은 이상에서 언급한 효과로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨의 ^{31}P MAS NMR (magic angle spinning nuclear magnetic resonance) 스펙트럼을 나타낸다.

도 2는 헥사메타인산 나트륨(sodium hexametaphosphate, SHMP) ^{31}P MAS NMR 스펙트럼을 나타낸다.

도 3은 메타인산나트륨과 구연산을 사용한 인산칼슘 용해 실험 결과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 칼슘제제의 소화 용해성 평가에 따른 어골 칼슘, 칼슘제제 함유 조성물 제조예 1에 따른 조성물, 칼슘제제 함유 조성물 제조예 2에 따른 조성물, 및 칼슘제제 함유 조성물 제조예 3에 따른 조성물의 소화 용해성을 보여주는 그래프이다.

도 5는 소장 세포 (Caco-2) 내 수송 평가에 따른 소장 세포내 칼슘 수송량을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되어지는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다.

[0016] 본 발명의 일 실시예에 따른 칼슘 보충용 조성물은 칼슘 제제와 메타인산나트륨을 함유한다. 구체적으로, 칼슘 제제 100 중량부에 대해 메타인산나트륨을 1 내지 20 중량부, 일 예로서 5 내지 15 중량부 함유할 수 있다.

[0017] 상기 칼슘 제제는 화학적으로 합성된 탄산염 일 예로서, 탄산칼슘, 젖산칼슘, 인산칼슘, 구연산칼슘이거나; 혹은 자연에서 얻어진 천연의 인산칼슘 또는 탄산칼슘인 해조칼슘, 패각칼슘, 유청칼슘, 난각칼슘, 꼬막칼슘, 어골칼슘; 또는 이들 중 둘 이상의 혼합물일 수 있다. 일 예로서, 상기 칼슘 제제는 어골칼슘일 수 있다. 구체적으로, 명태(Alaska Pollock) 특히 북태평양산 명태로부터 얻어진 어골칼슘일 수 있다. 일 실시예에서, 칼슘 제제는 마이크로미터 수준의 평균 입자크기 일 예로서 수 내지 수십 μm 의 평균 입자크기를 갖는 마이크로칼슘일 수 있다. 다른 실시예에서, 칼슘 제제는 나노미터 수준의 평균입자크기, 구체적으로 수십 내지 수백 nm 일 예로서, 50 내지 200 nm의 평균 입자크기를 갖는 나노칼슘일 수 있다. 이러한 어골칼슘은 화학합성 칼슘 제제 또는 패각 칼슘에 비해, 인산칼슘 외에 미네랄이 다량 함유되어 있어 칼슘 섭취에 따른 부작용을 줄일 수 있는 장점이 있다. 또한, 어골칼슘은 인산칼슘이므로 위산과의 반응에 의해 이산화탄소를 발생시키지 않으며, 또한 위와 장에서 제산 작용을 유발하지 않을 수 있다.

[0018] 상기 메타인산나트륨은 하기 화학식 1로 나타내어지는 중합체성 메타인산나트륨으로, 중합도가 6 내지 15, 일 예로서 8 내지 13, 구체적으로는 10 내지 12 혹은 11 내지 13일 수 있다.

[0019] [화학식 1]

[0020] $(\text{NaPO}_3)_n$

[0021] 상기 화학식에서 n은 6 내지 15, 일 예로서 8 내지 13, 구체적으로는 10 내지 12일 수 있다.

[0022] 상기 메타인산나트륨은 환형, 선형, 가지형, 혹은 이들 중 둘 이상의 혼합형태를 가질 수 있다. 이러한 메타인산나트륨은 일 예로서, ^{31}P NMR 상에서 중간- PO_4 그룹을 나타내는 피크의 면적 대비 말단- PO_4 그룹을 나타내는

피크의 면적의 비가 20 내지 50% 혹은 25 내지 45%, 구체적으로는 30 내지 40%, 더 구체적으로는 33 내지 37%을 나타낼 수 있다. 환형 메타인산나트륨의 경우 말단-PO₄ 그룹을 나타내는 피크는 크게 나타나지 않는 반면 본 발명 일 실시예에 따른 메타인산나트륨은 말단-PO₄ 그룹을 나타내는 피크의 면적이 비교적 큰 것을 고려할 때, 본 발명 일 실시예에 따른 메타인산나트륨은 선형, 가지형, 또는 환형 및 선형 혼합 형태를 가질 수 있다. 상기 환형 및 선형의 혼합 형태는 다수개의 메타인산기들(metaphosphate groups)이 환형으로 결합되고, 환형으로 배열된 메타인산기들 중 일부에 선형의 메타인산기들이 결합된 형태를 의미할 수 있다.

[0023] 또한, 상기 메타인산나트륨은 강산성 내지 중성의 pH 구체적으로, 약 1 내지 7.5의 pH를 나타낼 수 있다. 일 예에서 상기 메타인산나트륨은 산성의 pH 구체적으로 약 1 내지 4의 pH, 나아가 강산성의 pH 구체적으로 약 1.5 내지 2.5의 pH를 나타낼 수 있다.

[0024] 이러한 칼슘 보충용 조성물은 경구섭취용으로, 위와 소장에서 소화된 후 소화액에서 칼슘 제제의 높은 용해도, 다시 말해서 소화액 내에서 용해되어 있는 칼슘의 함량을 향상시킬 수 있다. 이는 상기 메타인산나트륨이 칼슘 제제의 용해도 향상에 기여하는 것으로 판단되며, 특히 상기 메타인산나트륨이 중합체성 메타인산나트륨이고, ³¹P NMR 상에서 중간 PO₄ 그룹을 나타내는 피크의 면적 대비 말단 PO₄ 그룹을 나타내는 피크의 면적의 비가 20 내지 50%을 나타낼 때 혹은 본 발명 일 실시예에 따른 메타인산나트륨은 선형, 가지형, 또는 환형 및 선형의 혼합 형태의 형태를 가질 때 소화액 내에서 더 우수한 칼슘 제제 용해도를 나타낼 수 있다.

[0025] 나아가, 상기 칼슘 보충용 조성물은 소장 세포 내 흡수율 또한 우수할 수 있다. 이는 상기 메타인산나트륨이 칼슘 제제의 용해도 향상 뿐 아니라 용해된 칼슘 제제가 소장 세포 내로 흡수되는 것을 방해하지 않고 오히려 촉진시키기 때문인 것으로 추정되었다. 이를 위해 상기 메타인산나트륨은 중합체성 메타인산나트륨이고, ³¹P NMR 상에서 중간-PO₄ 그룹을 나타내는 피크의 면적 대비 말단-PO₄ 그룹을 나타내는 피크의 면적의 비가 20 내지 50%을 나타내거나, 혹은 선형, 가지형, 또는 환형 및 선형 혼합의 형태를 가질 수 있다.

[0026] 추가적으로, 상기 칼슘 보충용 조성물 내에 칼슘 흡수 촉진제를 더 포함할 수 있다. 상기 칼슘 흡수 촉진제는 상기 칼슘 제제 100 중량부에 대해 1 내지 20 중량부, 일 예로서 5 내지 15 중량부 로 함유될 수 있으며, 당류 및/또는 비타민 D일 수 있다. 당류는 칼슘의 능동수송 과정에서의 에너지원으로써 사용되며, 락토오스 일 수 있고, 상기 칼슘 제제 100 중량부에 대해 약 1 내지 20 중량부, 일 예로서 5 내지 15 중량부 로 함유될 수 있다. 비타민 D는 칼슘의 장내 흡수 및 수송 과정에서 칼슘 결합 단백질(calbindin)의 활성을 촉진하여 칼슘의 흡수를 촉진하는 것으로, 특히 비타민 D3일 수 있으며, 상기 칼슘 제제 100 중량부에 대해 약 10,000 내지 100,000 IU 구체적으로, 약 20,000 내지 50,000 IU, 더 구체적으로는 약 30,000 내지 40,000 IU로 포함될 수 있다.

[0027] 상기 칼슘 보충용 조성물 내에 칼슘 흡수 촉진제가 더 포함되는 경우, 칼슘의 흡수율이 더욱 향상될 수 있다.

[0029] 상기 칼슘 보충용 조성물은 칼슘 제제 분말과 메타인산나트륨 분말을 혼합하여 혼합 분말로 제조될 수 있다. 또한, 상기 칼슘 보충용 조성물은 추가적으로, 당류 분말 및/또는 비타민 D 분말을 더 혼합한 혼합 분말로 제조될 수 있다. 나아가 상기 칼슘 보충용 조성물은 상기 혼합 분말을 압착한 타정 형태를 가지도록 제조될 수 있다.

[0030] 다른 예에서, 상기 칼슘 보충용 조성물은 상기 혼합 분말을 적절한 용매 일 예로서 증류수 내에 용해한 후 고형분을 제외한 상층액을 얻고, 상층액을 건조 일 예로서 동결건조하여 제조할 수도 있다.

[0032] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실험예(example)를 제시한다. 다만, 하기의 실험예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것일 뿐, 본 발명이 하기의 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0034] 메타인산나트륨 제조예

[0035] 다이소듐다이하로스포이트(Na₂H₂P₂O₇)와 인산(H₃PO₄)을 증류수 내에서 1:2의 몰비로 670 °C에서 반응시켜 메타인산나트륨을 얻었다.

- [0037] 도 1은 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨의 ^{31}P MAS NMR (magic angle spinning nuclear magnetic resonance) 스펙트럼을 나타낸다. 한편, 도 2는 헥사메타인산 나트륨(sodium hexametaphosphate, SHMP) ^{31}P MAS NMR 스펙트럼을 나타낸다.
- [0038] 도 1을 참조하면, 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨은 약 -10.4 ppm에서 말단- PO_4 (end- PO_4 , 하나의 O 원자를 공유함) 그룹을 나타내는 피크를 또한 약 -24.8 ppm에서 중간- PO_4 (middle- PO_4 , 두개의 O 원자를 공유함) 그룹을 나타내는 피크를 보여주는 것을 알 수 있다. 이에 더하여, 중간- PO_4 피크 면적에 대한 말단- PO_4 피크 면적의 비는 약 34.6%를 나타내었다. 이러한 정보로부터 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨의 중합도는 약 10-13인 것으로 계산되었다.
- [0039] 한편, 도 2를 참조하면, 헥사메타인산 나트륨은 약 -19.2 ppm에서 중간- PO_4 그룹을 나타내는 피크를 보여주나 말단- PO_4 는 거의 나타나지 않는 것을 알 수 있다. 이는 상기 헥사메타인산 나트륨이 6개의 메타인산 (metaphosphate)이 환형으로 배열되었기 때문인 것으로 추정되었다.
- [0041] 한편, 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨은 약 1.8 내지 2.2의 pH 즉, 강산성을 나타낸 반면, 헥사메타인산나트륨은 6.5 내지 7.1의 pH 즉, 중성을 나타내었다. 이 때, pH는 100 ml의 증류수 내에 메타인산나트륨을 1g을 넣고 용해시킨 후 측정하였다.
- [0042] 또한, 칼슘 킬레이트 적정법에 따라 실험하였을 때, 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨은 약 350 내지 450의 칼슘붕쇄력($\text{mg}(\text{CaCO}_3)/\text{g}$ (메타인산나트륨))을 나타낸 반면, 헥사메타인산 나트륨은 약 200 내지 300의 칼슘붕쇄력을 나타내었다.
- [0043]
- [0044] 어골칼슘 제조예
- [0045] 알레스카 폴락으로부터 얻어진 세척된 어골 100g과 수돗물 300g을 혼합한 후, 110 °C에서 1시간 동안 고압증기 멸균하였으며, 혼합물의 온도를 40 °C로 낮추고 혼합물에 0.3 wt% 알칼라아제(Alcalase)를 첨가한 후, 약 14시간 동안 700rpm으로 교반하였다. 교반 후 어골을 클렌징을 통해 살에서 분리한 후 24시간 말렸다. 이 후, 건조된 어골은 1,000 °C에서 1시간 동안 석회화하여 어골칼슘 분말을 얻었다.
- [0047] 나노화된 어골칼슘 제조예
- [0048] 상기 어골칼슘 제조예를 통해 얻은 어골칼슘 분말을 비드밀(지름 0.1mm)을 사용하여 약 2시간 동안 습식 연삭하여 나노화된 어골칼슘 분말을 얻었다. 얻어진 어골칼슘 분말은 약 120 nm (D0.5)의 평균 입자 크기를 나타내었다.
- [0050] 칼슘제제 용해 실험예 : 산 제제를 달리함
- [0051] 제3 인산칼슘($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) 1g을 100ml의 물에 넣은 뒤, 산 제제를 0.5g씩 주기적으로 첨가하면서 제3 인산칼슘이 모두 용해될 때의 산 제제 첨가량을 확인하였다. 산 제제는 상기 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨과 구연산이었다.
- [0053] 도 3은 메타인산나트륨과 구연산을 사용한 인산칼슘 용해 실험 결과를 나타낸 그래프이다.
- [0054] 도 3을 참조하면, 구연산의 경우 5g을 첨가했을 때 pH 2.85에서 제3 인산칼슘이 완전히 용해되었다. 반면, 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨이 경우 3.5g을 첨가했을 때 제3 인산칼슘이 완전히 용해된 것을 알 수 있었다. 또한, 구연산과 메타인산나트륨 각각이 첨가된 양이 3g 이상일 때, 메타인산나트륨을 첨가한 경우 더 낮은 pH를 나타내었다. 이러한 결과로부터, 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨은 칼슘의 용해를 위해 필요한 양이 더 적어 더 효율적으로 칼슘을 용해시킬 수 있음을 알 수 있다.

[0056] 칼슘제제 용해 실험예 : 인산칼슘 제제를 달리함

[0057] 하기 표 1의 칼슘제제 1g을 100ml의 물에 넣은 뒤, 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨을 0.5g씩 주기적으로 첨가하면서 칼슘제제가 모두 용해될 때의 메타인산나트륨 첨가량을 확인하였다. 칼슘제제는 제3 인산칼슘, 상기 어골칼슘 제조예에서 얻어진 어골칼슘, 상기 나노화된 어골칼슘 제조예에서 얻어진 나노화된 어골칼슘, 해조칼슘(Marigot Ltd.) 및 산호칼슘(Amicogen 社)을 사용하였다.

[0059] 하기 표 1은 메타인산나트륨 첨가에 따른 칼슘 제제별 용해도를 나타낸다.

표 1

칼슘 제제	칼슘 제제가 용해되었을 때까지 소모된 메타인산나트륨 량
제3 인산칼슘	3.5 g
어골칼슘	3.0 g
나노화된 어골칼슘	3.5 g
해조칼슘	4.5 g
산호칼슘	4.0 g

[0061] 표 1을 참조하면, 상기 어골칼슘 제조예에서 얻어진 어골 칼슘의 경우 제일 적은양인 3.0g의 메타인산나트륨에 의해 쉽게 용해되는 것을 알 수 있다.

[0062] 칼슘제제 함유 조성물 제조예 1

[0063] 상기 어골칼슘 제조예에 따른 어골칼슘 분말 약 0.06g에 상기 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨 약 0.006g을 혼합하여 혼합 분말 형태의 칼슘제제 함유 조성물을 제조하였다.

[0065] 칼슘제제 함유 조성물 제조예 2

[0066] 상기 어골칼슘 제조예에 따른 어골칼슘 분말 약 0.06g과 상기 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨 약 0.006g에 더하여, 락토오스 (Hilmar Ingredients 社) 약 0.006g 과 비타민 D3 (DSM 社) 약 19.2 IU를 더 혼합한 것을 제외하고는 칼슘제제 함유 조성물 제조예 1과 동일한 방법을 사용하여 혼합 분말 형태의 칼슘제제 함유 조성물을 제조하였다.

[0068] 칼슘제제 함유 조성물 제조예 3

[0069] 상기 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨 0.006g 대신에 헥사메타인산 나트륨(sodium hexametaphosphate, SHMP) 0.006g을 사용한 것을 제외하고는 칼슘제제 함유 조성물 제조예 1과 동일한 방법을 사용하여 칼슘제제 함유 조성물을 제조하였다.

[0071] 칼슘원소 함량 분석예

[0072] 칼슘원소 함량은 ICP-OES(inductively coupled plasma optical emission spectrometry)법을 사용하여 분석하였다. 이를 위해 각 시료를 70 ℃에서 2vol% 질산으로 30분간 전처리하고, axial mode로 317.933 nm 파장에서 칼슘원소 함량을 분석하였다. 분석시, plasma gas flow는 아르곤 15 L/min, Auxillary gas는 0.2 L/min, Nebulizer gas는 0.6 L/min으로 조절였다.

[0074] 소화모사시스템을 통한 소화 용해도 평가예

[0075] 상기 어골칼슘 제조예에 따른 어골칼슘 분말 약 0.06g, 상기 칼슘제제 함유 조성물 제조예 1에 따른 조성물, 상

기 칼슘제제 함유 조성물 제조에 2에 따른 조성물, 또는 상기 칼슘제제 함유 조성물 제조에 3에 따른 조성물의 각각을 인산완충생리식염수 (Phosphate-buffered saline, PBS) 6mL에 넣고 용해시켰다.

[0076] 얻어진 용액 내에 펩신(pepsin) 8mL을 첨가하고, 염화수소(hydrogen chloride)을 사용하여 pH를 2로 조절한 상태로 37 °C에서 60분간 200 rpm으로 교반하여 위장 내 소화 조건을 모방하였다. 또한, 소장 내 소화 조건을 모방하기 위해서, 상기 결과물 내에 탄산수소나트륨(sodium bicarbonate)을 넣어 pH를 5.3 으로 조절한 상태에서, 판크레아틴(pancreatin) 4mL, 리파아제(lipase) 4mL, 바일산(bile acid) 4mL를 첨가한 후, 수산화나트륨(Sodium hydroxide)을 사용하여 pH를 7로 조절하고, 37 °C에서 120분간 200 rpm으로 교반하였다. 그 결과, 소화액을 얻었다. 각 소화액 내의 칼슘원료의 함량은 상기 칼슘원소 함량 분석예를 통해 분석하였다.

[0078] 도 4는 칼슘제제의 소화 용해성 평가에 따른 어골 칼슘, 칼슘제제 함유 조성물 제조에 1에 따른 조성물, 칼슘제제 함유 조성물 제조에 2에 따른 조성물, 및 칼슘제제 함유 조성물 제조에 3에 따른 조성물의 소화 용해성을 보여주는 그래프이다. 소화 전 어골칼슘 분말은 1g 당 칼슘원소를 약 381mg 함유하는 것으로 나타났으며, 이에 대비하여 소화 후 남은 결과물인 소화액에 용해된 칼슘원소의 함량의 백분율을 소화 용해성(%)로 나타내었다.

[0079] 도 4를 참조하면, 소화후 칼슘의 용해도 즉, 소화 용해성이, 어골칼슘 자체는 약 4중량%인 반면, 칼슘 제제 함유 조성물 제조에 3에 따른 조성물은 약 8.6 중량%, 그리고 칼슘 제제 함유 조성물 제조에 1 및 2에 따른 조성물들은 약 10.1 중량%인 것으로 나타났다.

[0080] 이러한 결과로부터, 어골칼슘 자체를 소화한 경우에 비해 어골칼슘에 산 제제로서 메타인산나트륨을 추가한 경우 소화후 칼슘의 용해도가 향상되는 것을 알 수 있다. 나아가, 산 제제로서 메타인산나트륨 제조에 따른 메타인산나트륨을 사용하는 경우 소화후 칼슘의 용해도는 약 10.1 중량%로 크게 향상되는 것을 알 수 있다.

[0081] 소장 세포 (Caco-2) 내 수송 평가

[0082] 장내 상피세포 (Caco-2 cell)은 American Type Culture Collection에서 얻었다. 세포는 10% FBS, 1% p/s를 포함한 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) 배양액을 통해 37 °C, CO₂ 5%의 대기조건에서 계대배양되었다. 계대 번호 (passage number) 37~39번 사이의 Caco-2 세포 2 x 10⁵ 개를 바닥에 12개의 미세기공이 형성된 미세기공 멤브레인(microporous membrane)을 구비하는 12 transwell에 7~14일간 배양하여 90~100% confluency 상태를 만들었다. TEER(transepithelial electrical resistance) 값은 Millicel ERS-2 system을 이용하여 측정하였고 TEER 값이 250Ω/cm²을 초과하는 셀을 칼슘 수송 실험에 사용하였다. 소화 용해도 평가에 의 소화모사시스템을 거친 소화액 샘플의 상층액을 혈청 및 칼슘이 들어있지 않은 DMEM을 사용해 1:10의 비율로 희석시킨 후, 희석액 0.5 mL을 상기 confluency 상태에 있는 장내 상피세포의 상층부(apical side)에 투여하였다. 이후, 혈청 및 칼슘이 들어있지 않은 DMEM 1.5mL을 투여하였다.

[0083] 2시간 경과 후 상기 미세기공 멤브레인(microporous membrane) 하부에서 장내 상피세포의 세포막을 통과해서 나온 기저액(basal media)를 취하여 칼슘의 양을, 상기 칼슘원소 함량 분석예와 동일한 방법으로 측정하였다.

[0085] 도 5는 소장 세포 (Caco-2) 내 수송 평가예에 따른 소장 세포내 칼슘 수송량을 나타낸 그래프이다.

[0086] 도 5를 참조하면, 소장 세포내 칼슘 수송량 즉, 칼슘 흡수량은, 어골 칼슘 만 소화시킨 경우에는 19.3 μg이었으나, 칼슘 제제 함유 조성물 제조에 1에 따른 조성물을 소화시킨 경우에는 23.8 μg으로 증가되었고, 나아가 칼슘 제제 함유 조성물 제조에 2에 따른 조성물을 소화시킨 경우에는 26.5 μg 으로 크게 증가했다. 한편, 칼슘 흡수량이 칼슘 제제 함유 조성물 제조에 3에 따른 조성물을 소화시킨 경우에는 18.2 μg 으로 오히려 감소하는 결과를 보여주었다.

[0087] 도 4 및 도 5를 함께 참조하면, 헥사메타인산나트륨을 함유하는 조성물 즉, 칼슘 제제 함유 조성물 제조에 3에 따른 조성물은 소화되었을 때 칼슘의 용해도가 어골 칼슘이 소화되었을 때 대비 증가하였으나, 소장 내 흡수율은 어골 칼슘이 소화되었을 때 대비 오히려 감소한 것으로 보아, 헥사메타인산나트륨의 경우 소화액 내에서 용해된 칼슘이 소장 내로 흡수되지 못하도록 방해하는 것으로 판단되었다.

[0088] 그러나, 메타인산나트륨 제조에 따른 메타인산나트륨을 함유하는 조성물 (조성물 제조에 1)의 경우, 소화액 내에서 칼슘의 용해도를 증가시킬 뿐 아니라 소장 내 흡수율도 향상된 것으로 미루어 볼 때, 메타인산나트륨 제

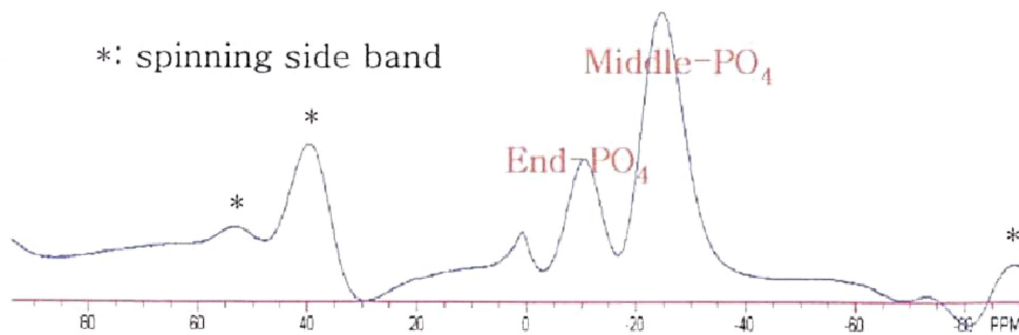
조예에 따른 메타인산나트륨이 소화액 내 용해된 칼슘을 소장 세포 내로 흡수되는 것을 방해하지 않고 오히려 촉진시키는 것으로 이해되었다.

[0089] 나아가, 메타인산나트륨 제조예에 따른 메타인산나트륨과 더불어 락토오스 와 비타민 D3을 더 함유하는 조성물 (조성물 제조예 2)의 경우, 소화액 내 칼슘 용해도가 조성물 제조예 1에 따른 조성물과 유사하였으나, 소장 내 흡수율은 더 향상된 것으로 미루어 볼 때, 락토오스와 비타민 D3가 소화액 내 용해된 칼슘을 소장 세포 내로 흡수를 더욱 촉진시키는 것을 확인할 수 있었다.

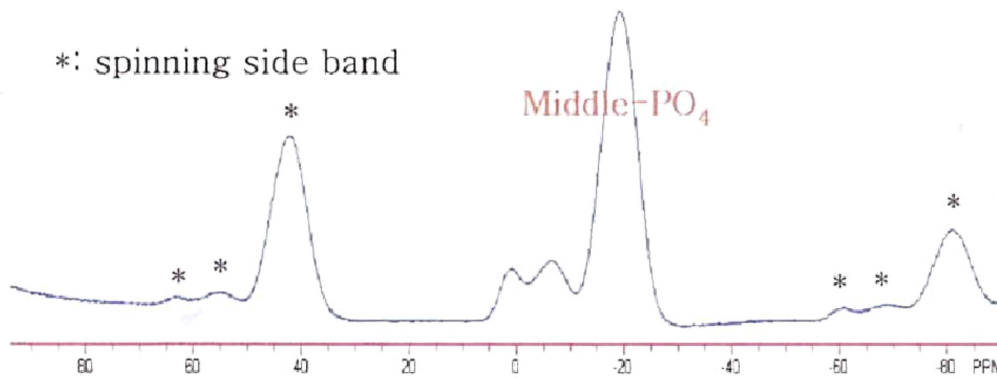
[0091] 이상, 본 발명을 바람직한 실시예를 들어 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 상기 실시예에 한정되지 않고, 본 발명의 기술적 사상 및 범위 내에서 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러가지 변형 및 변경이 가능하다.

도면

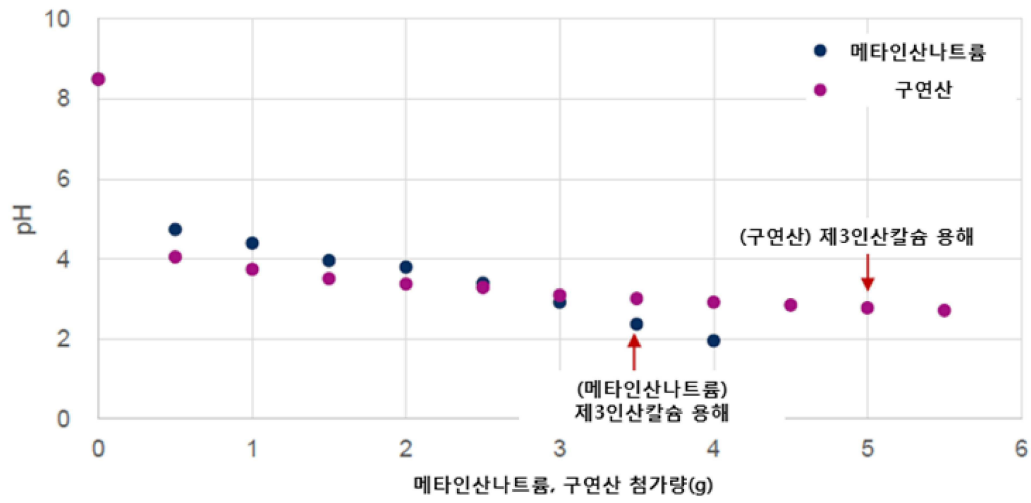
도면1



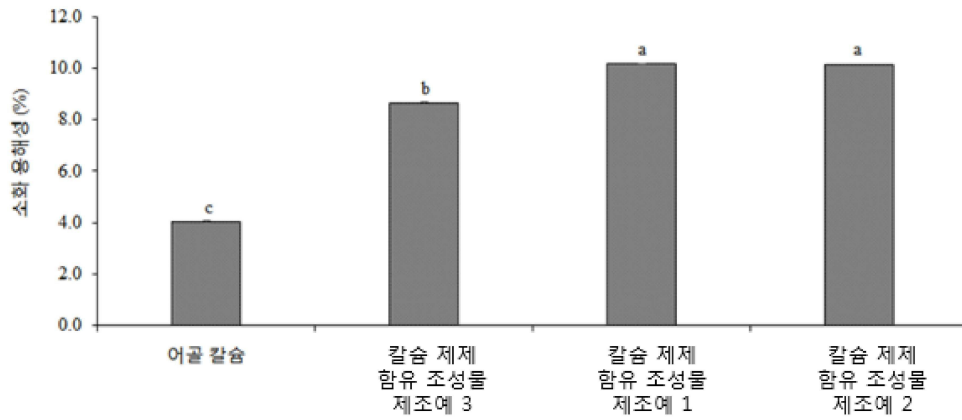
도면2



도면3



도면4



도면5

