(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0122655
(43) 공개일자 2017년11월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/899 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 36/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/899 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0049331
(22) 출원일자 2017년04월17일
심사청구일자 2017년04월17일
(30) 우선권주장
1020160051333 2016년04월27일 대한민국(KR)

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
강세찬
경기도 성남시 분당구 정자로 143, 202동 1202호 (정자동, 한솔마을LG아파트)
장선필
서울특별시 강남구 헌릉로590길 63, 511동 603호 (세곡동, 세곡리엔파크5단지)
권정은
경기도 수원시 영통구 반달로 76, 204호 (영통동)
(74) 대리인
안소영

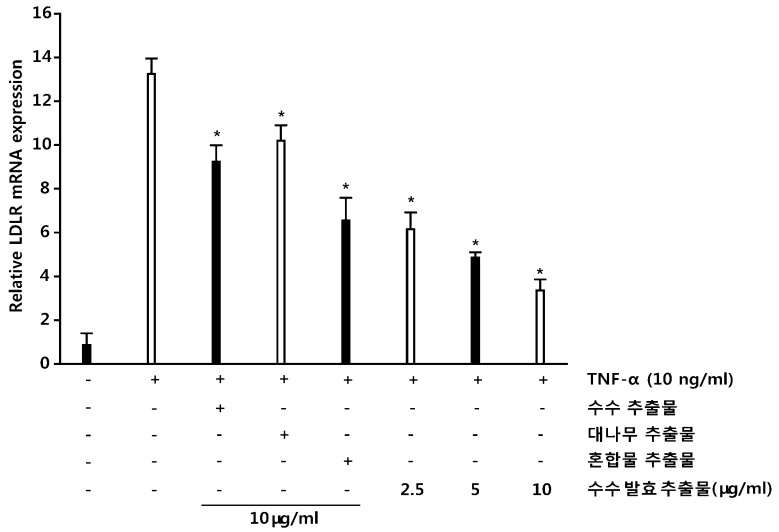
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **혈관 질환 예방 및 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 혈관 질환 예방 및 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 혈관 질환 예방 및 치료용 조성물은 혈관 염증 관련 인자들의 발현 억제, LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor) 발현 억제, VEGF 발현 증진 등에서 현저한 효과를 보여 혈관 질환의 개선, 예방 및 치료 용도로 사용 가능하다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61K 36/06 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/326 (2013.01)
A61K 2236/19 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 R0004029
부처명 산업통상자원부
연구관리전문기관 제주지역사업평가단
연구사업명 경제협력권산업육성사업
연구과제명 수수 유래 노화방지 이너뷰티 제품개발
기 여 율 1/1
주관기관 (주)단정바이오
연구기간 2015.06.01 ~ 2018.04.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

수수(*Sorghum bicolor*)의 황국균 발효 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 혈관 질환은 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 관상동맥질환, 뇌혈관질환, 말초혈관질환, 대동맥질환, 뇌경색, 심근경색, 말초혈액순환장애 및 허혈성 뇌질환으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 혈관질환은 동맥경화 또는 고지혈증인 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 황국균은 *Aspergillus oryzae* NK 균주인 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 수수는 수수의 낟알인 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 6

수수(*Sorghum bicolor*)의 황국균 발효 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 혈관 질환은 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 관상동맥질환, 뇌혈관질환, 말초혈관질환, 대동맥질환, 뇌경색, 심근경색, 말초혈액순환장애 및 허혈성 뇌질환으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 혈관질환은 동맥경화 또는 고지혈증인 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 황국균은 *Aspergillus oryzae* NK 균주인 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 10

제6항에 있어서, 상기 수수는 수수의 낟알인 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0002] 본 발명은 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 최근 서구화된 식습관과 운동부족으로 인해 성인병의 발병이 증가하고 있으며, 그 중 동맥경화, 고지혈증 및 이로 인한 다양한 합병증의 발생 인구는 해마다 증가하고 있는 추세이다. 동맥경화 및 고지혈증은 다양한 합병증

과 함께 환자 삶의 질을 크게 떨어뜨리는 문제를 유발하기 때문에, 치료 및 관리가 무척 중요한 질병이다.

[0004] 혈관의 건강을 지키기 위해서는 혈압을 조절하고 혈관 내 이물질의 침착을 막는 것이 가장 중요하다. 혈압은 심장의 박동과 함께, 혈관 내피세포와 근육세포의 수축과 이완이 유기적으로 조절되면서 유지된다. 혈관에 압력이 가해지거나 혈류량이 증가할 때 혈관이 적절하게 이완하지 못하면, 혈압이 상승하고, 그로 인해 고혈압, 부정맥, 심장마비, 동맥경화 등의 혈관 질환들이 발생한다.

[0005] 혈관건강을 유지하기 위한 방법은 혈관 내 이물질의 축적을 막는 것이다. 특히, 혈관 내 죽종 (atheroma) 생성과 유도에 영향을 미치는 다양한 세포부착분자(cell adhesion molecule, CAM) 중 ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1) 및 VCAM-1(vascular cell adhesion molecule-1)의 발현을 억제하는 것은 혈관 건강유지를 위한 중요한 요소이다. 한편, 사람 혈관 내피세포(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)에서 종양괴사인자-알파(TNF-α)에 의해 증가된 ICAM-1과 VCAM-1의 발현을 저해하는 것은 죽상동맥경화의 개선에 도움이 될 수 있는 것으로 보고되었다.

[0006] 또한, 동맥경화는 동맥벽에 지질과 섬유질 요소가 축적되어 진행되는 염증성 질환으로서 혈장 저밀도 지질 단백질(low-density lipoprotein: LDL)의 증가가 그 주요 원인이다. 따라서, 위와 같은 혈장 저밀도 지질 단백질 및 이의 수용체들의 발현 감소를 통해서도 혈관 건강의 유지가 가능하다.

[0007] 현재까지 동맥경화, 고지혈증을 비롯한 다양한 혈관 질환을 치료하기 위한 약물은 이미 많이 개발되어 있으나, 기존의 의약품들은 부작용을 내포하고 있고, 일부 약물은 심각한 부작용을 수반하여 그 사용이 제한되기도 하였다. 그리하여, 부작용이 비교적 적은 천연 물질을 이용하여 동맥경화를 치료 또는 예방하고자 하는 연구들이 다양하게 수행되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) KR10-2016-0045665 2016.04.27

(특허문헌 0002) KR10-2015-0050391 2015.05.11

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 본 발명은 수수 및 대나무 복합 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명은 또한 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0012] 본 발명은 또한 수수 및 대나무 복합 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명자들은 혈관 질환의 예방 및 치료를 위한 천연물 소재의 약물 또는 건강기능식품을 개발하기 위해 예의 노력한 결과, 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 수수 및 대나무 복합 추출물이 혈관 질환 개선에 현저한 효과를 보임을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0014] 본 발명은 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명에 있어서, 수수(*Sorghum bicolor*)는 벼과에 속하는 일년생 작물이다. 높이는 1.5~3m이며, 표면은 굳고 흰색의 납질물이 있으며 속이 차 있다. 줄기에는 10~13개의 마디가 있고 줄기 끝에 이삭이 달린다. 잎은 마주나고 길이 50~60cm, 너비 5cm 정도로 1줄기에 10개 정도 달린다. 처음에는 잎과 줄기가 녹색이나 차츰 붉은 갈색으로 변하는 특징을 가진다. 수수 재배는 북한 지역이 비교적 재배면적이 넓으며 한국에서는 강원 및 경기에서 일부 재배되고 있다. 본 발명에 따른 수수의 사용 부위는 수수의 낟알들이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0016] 상기 수수는 국내외에서 저비용으로 원료 확보가 용이하며 구입하거나 직접 채취한 것을 사용할 수 있다.

[0017] 본 발명에 있어서, 황국균(*Aspergillus oryzae*)이란 누룩곰팡이의 대표균으로 청주, 일본식 된장, 간장류 제조에 사용되는 균주이다. 집락은 처음에는 백색인데 분생자가 생기면 황색에서 황록색으로 되고 오래되면 갈색으로 된다. 전분 당화력, 단백 분해력이 강한 특성을 가진다. 바람직하게 본 발명에 따른 황국균은 *Aspergillus oryzae* NK 균주이나, 이에 제한되지 않는다.

[0018] 황국균(*Aspergillus oryzae*)은 인체에 무독성이며, 수수 발효에 사용하는 경우 혈관 질환의 예방 및 치료에 현저한 효과를 발생시킨다.

[0019] 즉, 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물은 황국균 발효 처리를 하지 않은 일반 수수 추출물과 대비하여 혈관 질환의 개선, 예방 및 치료에 현저히 우수한 효과를 나타내며, 특히, 혈관 염증 관련 인자들의 발현 억제, LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor) 발현 억제, VEGF 발현 증진 등에서 현저한 효과를 가져, 이에 기인한 혈관 질환 치료에 우수한 활성을 나타낸다.

[0020] 본 발명에 있어서, 수수의 황국균 발효 추출물의 제조는 1) 수수의 용매 추출 단계; 및 2) 수수의 황국균 발효 추출 단계를 포함한다.

[0021] 상기 1) 수수의 용매 추출 단계는 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 추출 방법 등을 사용하여 제조할 수 있으며, 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하다. 추출 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이의 혼합물, 바람직하게는 물, 에탄올, 에탄올 수용액을 사용하는 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출 용매의 양은 수수의 총중량의 0.5 내지 15 배로 한다. 또한, 필요에 따라 차광 및/또는 가온(예를 들어, 온침) 조건 하에서 수행될 수도 있다. 바람직하게, 상온에서 2~48시간 동안 바람직하게는 2~36시간 동안 추출하는 것을 1 내지 4회 반복할 수 있다.

[0022] 상기 2) 수수의 황국균 발효 추출 단계는 1) 수수의 용매 추출 단계에 의해 추출된 수수에 추가의 정제 공정 없이 바로 수수를 포함하는 용매 총중량에 대하여 0.5 중량 % 내지 15 중량 %, 바람직하게 2 중량 % 내지 10 중량 %로 접종하여 발효를 수행하거나, 통상의 정제 방법에 의해 정제된 수수 추출물에 물, 탄소수 1~4의 알코올, 탄소수 1~4의 알코올 수용액으로 이루어진 군으로부터 선택된 용매를 첨가하여 2배 내지 15배의 비율로 녹이고 황국균을 수수를 포함하는 용매 총중량에 대하여 0.5 중량 % 내지 15 중량 %, 바람직하게 1 중량 % 내지 10 중량 %로 접종하여 발효를 수행할 수 있다. 상기 발효는 28 ℃ 내지 40 ℃, 바람직하게 37 ℃에서 24시간 내지 72시간, 바람직하게 48 시간 배양하여 발효를 수행할 수 있다.

[0023] 배양물은 고온에서 1분 내지 1시간동안 멸균하여 효소를 불활성화시킬 수 있으며, 원심분리 등을 통해 상층액만을 취할 수 있다. 분리된 상층액은 감압농축을 통해서 액상 또는 분말 형태의 수수의 황국균 발효 추출물로 제조될 수 있으며, 이를 동결건조하여 분말형태로 제조될 수 있다.

[0024] 본 발명은 수수 및 대나무 복합 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명에서 대나무는 외떡잎식물 벼목 화본과(벼과, Poaceae) 대나무아과(Bambusoideae)에 속하는 여러해살이 식물의 총칭으로 키가 큰 왕대속 종류를 의미한다. 위나라, 본 중국 등지에 다양한 종들이 자생하고 있다. 본 발명에 있어서 대나무는 우리나라 대표 죽종인 왕대로부터 선택될 수 있으며, 보다 바람직하게는 3-5년생 왕대(*Phyllostachys bambusoides* Starf)이다.

[0026] 본 발명에서 수수는 앞서 살핀바와 같다.

[0027] 본 발명의 수수 및 대나무 복합 추출물은 각각의 수수 또는 대나무 추출물과 대비하여 혈관 질환의 개선, 예방 및 치료에 현저히 우수한 효과를 나타내며, 특히, 혈관 염증 관련 인자들의 발현 억제, LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor) 발현 억제, VEGF 발현 증진 등에서 현저한 효과를 가져, 이에 기인한 혈관 질환 치료에 우수한 활성을 나타낸다.

[0028] 본 발명에서 수수 및 대나무 복합 추출물은 수수 및 대나무의 건조 물질을 먼저 혼합한 후 추출한 복합 추출물이거나, 수수 및 대나무를 각각 추출한 후 이를 혼합한 복합 추출물일 수 있다.

[0029] 수수, 대나무 또는 이들 모두의 추출은 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 추출 방법 등이 사용될 수 있고, 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하다. 추출 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이의 혼합물, 바람직하게는 물, 에탄올, 에탄올 수용액을 사용하는 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출 용매의 양은 수수, 대나무 또는 이들 모두의 총중량의 0.5 내지 15 배로 한다. 또한, 필요에 따

라 차광 및/또는 가온(예를 들어, 온침) 조건 하에서 수행될 수도 있다. 바람직하게, 상온에서 2~48시간 동안 바람직하게는 2~36시간 동안 추출하는 것을 1 내지 4회 반복할 수 있다. 상기 추출된 추출물들은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기 등을 이용하여 농축될 수 있으며 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조 방법 등을 이용하여 건조될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0030] 상기 수수 및 대나무 복합 추출물의 질량비는 1:1 내지 2:1, 바람직하게 1:1인 것이 바람직하다. 상기 질량비를 가지는 경우, 혈관 질환의 예방 및 치료에 더욱 현저한 효과를 보인다.

[0031] 상기 기재된 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 수수 및 대나무 복합 추출물을 포함하는 약학 조성물에 대해서는 하기와 같이 설명된다.

[0032] 본 발명에 있어서 "혈관 질환"은 혈관내피세포에 물리적, 산화적 및 염증 손상을 비롯한 다양한 손상이 가해져 혈관 조직이 손상·소실됨으로써 혈류의 흐름 및 혈류량에 이상이 생기는 모든 질환을 의미한다. 구체적으로는, 본 발명의 조성물로 예방 또는 치료될 수 있는 혈관 질환은 동맥경화, 고지혈증, 고혈압, 관상동맥질환, 뇌혈관질환, 말초혈관질환, 대동맥질환, 뇌경색, 심근경색, 말초혈액순환장애 및 허혈성 뇌질환을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0033] 상기 약학 조성물은 혈관 질환에 의해 증가된 혈관 염증, LDLR 등을 감소시키며, VEGR 등의 혈관 신생 인자들을 증진시킴으로써 혈관 질환을 예방 및 치료하는 효과가 있다.

[0034] 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 약학 조성물은 조성물의 총 중량에 대하여 0.1 내지 50 중량%로 포함하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0035] 본 발명의 수수 및 대나무 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 약학 조성물은 조성물의 총 중량에 대하여 0.1 내지 50 중량%로 포함하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0036] 본 발명의 약학 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0037] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 본 발명의 약학 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크와 같은 윤활제도 사용될 수 있다.

[0038] 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0039] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필레글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 및 젤라틴 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 비경구 투여시 피하주사, 정맥주사 또는 근육내 주사를 통하여 투여될 수 있다.

[0040] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 수수 및 대나무 복합 추출물을 포함하는 약학 조성물은 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 다만, 상기 투여량의 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0041] 본 발명은 또한 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0042] 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물은 발효 전 수수 추출물과 대비하여 혈관 질환의 예방 및 개선에 현저히 우수한 효과를 나타내며, 특히, 혈관 염증 관련 인자들의 발현 억제, LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor) 발현 억제, VEGF 발현 증진 등에서 현저한 효과를 가져, 이에 기인한 혈관 질환의 예방 및 개선에 우수한 활성을 나타낸다.

[0043] 본 발명은 또한 수수 및 대나무 복합 추출물을 포함하는 혈관 질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0044] 본 발명의 수수 및 대나무 복합 추출물은 수수 또는 대나무 단독 추출물과 대비하여 혈관 질환의 예방 및 개선에 현저히 우수한 효과를 나타내며, 특히, 혈관 염증 관련 인자들의 발현 억제, LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor) 발현 억제, VEGF 발현 증진 등에서 현저한 효과를 가져, 이에 기인한 혈관 질환의 예방 및 개선에 우수한 활성을 나타낸다.

[0045] 위 건강 기능 식품에 관하여, 상기 약학 조성물에 기재된 내용이 적절히 변형되어 포함될 수 있다.

[0046] 상기 기재된 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 수수 및 대나무 복합 추출물을 포함하는 건강기능식품에 대해서는 하기와 같이 설명된다.

[0047] 상기 건강기능식품은 혈관 질환 환자의 혈관 상태를 정상에 가깝도록 조절하거나 정상인이 혈관 질환을 가지지 못하도록 예방하는 효과를 가진다.

[0048] 본 발명의 건강기능식품은 본 발명의 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0049] 상기 건강기능식품 내의 유효성분의 함량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 추출물은 식품의 총 중량에 대하여 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있다.

[0050] 본 발명의 건강기능식품의 종류에는 특별한 제한이 없다. 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 건강기능식품의 예로는 음료, 껌, 비타민 복합제, 드링크제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0051] 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

발명의 효과

[0052] 본 발명의 혈관 질환 예방 및 치료용 조성물은 혈관 염증 관련 인자들의 발현 억제, LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor) 발현 억제, VEGF 발현 증진 등에서 현저한 효과를 보여 혈관 질환의 개선, 예방 및 치료 용도로 사용 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0053] 도 1은 수수의 황국균 발효 추출물 처리에 따른 VCAM-1의 발현 억제를 확인한 결과를 나타낸다.

도 2는 수수의 황국균 발효 추출물, 수수 및 대나무 복합 추출물 처리에 따른 LDLR의 발현 억제를 확인한 결과를 나타낸다.

도 3은 수수 및 대나무 복합 추출물 처리에 따른 LDLR의 발현 억제를 확인한 결과를 나타낸다.

도 4는 수수 및 대나무 복합 추출물 처리에 따른 VEGF의 발현 증진을 확인한 결과를 나타낸다.

도 5는 수수 및 대나무 복합 추출물 처리에 따른 IL-6의 발현 억제를 확인한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0054] 이하, 하기 실시예 및 실험예에 의해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니며, 이는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것으로 해석되어야 할 것이다.

[0055] **실시예 1. 수수의 황국균 발효 추출물의 제조**

[0056] 강원도 횡성 지역에서 재배된 수수(*Sorghum bicolor*) 낟알을 입수하여 건조시켰다. 건조된 1 kg의 수수의 낟알을 실온에서 재차 건조한 후, 분쇄하여 50% 에탄올을 10 L 가하고 실온에서 1 일 동안 추출하였다. 추출 후 *Aspergillus oryzae (A. oryzae)* NK 균(출처 : 서울약품(주)) 배양액을 총 양의 1% 첨가하여 50rpm으로 37℃에서 48시간 동안 발효가 일어나도록 진탕배양하고 이 배양액을 농축하여, 수수의 황국균 발효 추출물을 제조하였다.

[0057] **실시예 2. 수수 및 대나무 복합 추출물의 제조**

[0058] 건조된 대나무 (*Phyllostachys bambusoides* Starf) 잎 1 kg을 실온에서 건조한 후, 분쇄하여 50% 에탄올 10 L

가하고 실온에서 1일 동안 추출한 후 동결건조 하였다.

[0059] 또한, 강원도 횡성 지역에서 재배된 수수(*Sorghum bicolor*) 낟알을 입수하여 건조시켰다. 건조된 1 kg의 수수의 낟알을 실온에서 재차 건조한 후, 분쇄하여 50% 에탄올을 10 L 가하고 실온에서 1 일 동안 추출한 후 동결건조 하였다.

[0060] 위 수수 추출물과 대나무 추출물을 1:1의 비율로 혼합하여 수수 및 대나무 복합 추출물을 제조하였다.

[0061] **실시예 3. 수수의 황국균 발효 추출물의 VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) 발현 억제 효과 확인**

[0062] VCAM-1 단백질 발현 억제를 웨스턴블랏(western blot) 방법으로 측정하였다.

[0063] 섬유아세포(Human dermal fibroblast)를 2×10^5 cells/ml의 농도로 60 mm 디쉬(dish)에 배양하고 약 85% 수준에 도달할 때까지 배양하였다. TNFα를 2시간동안 처리하여 염증을 유도한 후 100, 200 μg/ml의 시료를 24시간 동안 처리하였다. 섬유아세포가 배양된 배지 내의 총 단백질 양은 브래드포드(bradford)법을 이용하여 정량하였다. 추출된 단백질은 10% SDS-폴리아크릴아미드 겔에 전기영동 시킨 후 니트로셀룰로오스 세포막(nitrocellulose membrane)으로 겔의 단백질을 전이시켰다. 멤브레인이 더 이상 다른 미지의 단백질에 의해 오염이 되지 않도록 5% 탈지분유을 이용하여 1시간 동안 상온에서 반응시키고, VCAM-1의 1차 항체를 5% 탈지분유에 1:1000의 비율로 희석하여 2시간동안 상온에서 반응시켰다. 1차 항체 반응 후 10분씩 3회에 걸쳐 TBST(Trisbuffer Saline Tween 20)로 흔들어주며 세척하였다. VCAM-1의 1차 항체를 인지하는 2차 항체를 5% 탈지분유에 1:1000이 되도록 희석하여 1시간 동안 상온에서 반응시키고 1차 항체 때와 마찬가지로 10분씩 3회에 걸쳐 TBST(tris-buffer saline Tween 20)로 흔들어주며 세척한 다음 화학발광법(chemiluminescence)으로 현상하였다.

[0064] 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1에서 확인되는 바와 같이, TNFα 처리에 따라 증가된 VCAM-1의 발현이 수수의 황국균 발효 추출물 처리에 따라 현저히 감소되는 것이 확인되었다. 특히, 이러한 감소 효과는 황국균 발효 처리를 하지 않은 수수 추출물과 대비하여서도 현저히 감소되는 것으로, 수수의 황국균 발효 추출물 처리에 따른 혈관 염증 감소 효과가 확인되었다.

[0065] **실시예 4. 수수의 황국균 발효 추출물, 수수 및 대나무 복합 추출물의 LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor) 발현 억제 효과 확인**

[0066] 혈관 내 지질을 유입해 고지혈 및 동맥경화를 유발하는 인자로 알려진 LDLR(Low-Density Lipoprotein Receptor)의 억제 효과를 확인하기 위해, MOVAS-1 세포에 TNF-α (10 ng/ml)와 10 μg/ml의 농도의 수수, 대나무, 수수 및 대나무 복합 추출물, 또는 수수의 황국균 발효 추출물을 24 시간동안 동시 처리 하였다. 세포에서 RNA를 분리 한 후 real-time PCR를 통해 LDLR의 mRNA 발현양을 확인하였다. 프라이머 서열로는 하기 서열을 사용하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0067]

LDLR Forward primer	5′-GCGTGAAATTGCGCTGGACCGTC-3′ (서열번호 1)
LDLR Reverse primer	5′-TCACAGACGAACTGCCGAGAGATGC-3′(서열번호 2)

[0068] 도 2에서 확인되는 바와 같이, TNF-α 에 의해 확연히 LDLR의 mRNA 발현이 증가되었고, 10 μg/ml의 농도로 추출물 처리에 따라 LDLR 의 mRNA 발현이 감소하였다. 특히, 수수의 황국균 발효 추출물은 농도 의존적으로 현저하게 LDLR의 mRNA의 발현을 감소시키는 것이 확인되었으며, 수수 및 대나무 복합 추출물에 의한 시너지 효과보다도 더 큰 감소를 보였다.

[0069] 또한, LDLR을 억제하는 것으로 잘 알려져 있는 은행 잎 추출물과 홍국 추출물을 양성 대조군으로 하여 동일 실험을 다시 수행하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0070] 도 3에서 확인되는 바와 같이, TNF-α 에 의해 확연히 LDLR 의 mRNA 발현이 증가되었고, 수수 및 대나무 복합물 추출물에서 현저하게 LDLR의 mRNA의 발현이 감소가 확인되었다. 이러한 LDLR의 감소는 수수 또는 대나무 단독 추출물보다 현저할 뿐만 아니라, LDLR을 감소시키는 것으로 알려진 은행잎 추출물, 홍국 추출물의 양성 대조군보다도 더 현저한 효과인 것으로 확인되었다.

[0071] **실시예 5. 수수 및 대나무 복합 추출물의 VEGF(Vascular endothelial growth factor) 발현 증진 효과 확인**

[0072] 세포성장에 관련 있는 VEGF(Vascular endothelial growth factor)의 mRNA 발현양을 real-time PCR를 통해 확인하였다.

[0073] 실험을 위하여 10 μg/ml의 농도로 수수, 대나무 또는 이들의 복합 추출물을 HUVEC 세포에 24 시간 동안 처리 후, 세포에서 RNA를 분리하여 하기 기재된 서열을 이용하여 RT-PCR을 수행하였고, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0074]

VEGF Forward primer	5′-cggcgaagagaagagacaca-3′ (서열번호 3)
VEGF Reverse primer	5′-ggaggaaggtcaaccactca-3′(서열번호 4)

[0075] 도 4에서 확인되는 바와 같이, VEGF의 mRNA 발현양은 10 μg/ml의 농도의 수수 단독 추출물 또는 대나무 단독 추출물에서 거의 효과 없었지만 수수 및 대나무 복합 추출물에서는 현저하게 있게 VEGF 의 mRNA 발현양이 증가함이 확인되었다.

[0076] **실시예 6. 수수 및 대나무 복합 추출물의 IL-6 억제 효과 확인**

[0077] 수수 및 대나무 복합 추출물의 염증 억제 효과를 확인하기 위하여, 염증성 싸이토카인인 IL-6의 발현량을 측정하였다.

[0078] 마우스 혈관 세포인 MOVAS-1(mouse smooth muscle cell-1)를 1×10^4 cells/well 씩 ELISA용 Immunoplate에 분주 후, 염증 유발 물질인 TNF-α (10 ng/ml) 와 10 μg/ml 의 농도의 수수, 대나무 또는 이들의 복합 추출물을 24시간 동안 동시 처리한 후, 상등액 안에서 염증성 싸이토카인인 IL-6의 발현양을 확인하여 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0079] 도 5에서 확인되는 바와 같이, TNF-α 에 의해 IL-6 의 발현양이 증가되었고, 10 μg/ml의 수수 및 대나무 복합 추출물이 수수 또는 대나무 단독 추출물과 대비하여 현저하게 IL-6의 발현을 억제하는 것이 확인되었다.

[0080] **실시예 7. 수수의 황국균 발효 추출물의 혈당, 콜레스테롤 및 중성지방 억제 효과 확인**

[0081] 수수의 황국균 발효 추출물의 콜레스테롤 억제 및 동맥경화 예방 효과를 확인하기 위하여 동물 실험을 진행하였다.

[0082] 약 20 g 내외의 마우스에 5주간 고콜레스테롤식이(HCD)를 사료로 섭취시킨 후, 상기 마우스를 6마리씩 4가지 실험군으로 나누어, 각각 수수의 50% 에탄올 추출물 100 mg/kg(100S), 및 수수의 50% 에탄올 추출물을 발효시킨 추출물 50 mg/kg(50F) 및 100 mg/kg(100F)을 4주간 마우스에 경구 투여하였다. 나머지 하나의 실험군에는 아무것도 투여하지 않았다. 그 결과는 하기 표 1과 같다.

[0083] [표 1]

[0084]

	정상군	실험군(HCD 식이군) 처리 농도 (mg/kg)			
		0	50F	100F	100S
몸무게 (g)	30.3±1.21	39.7±1.74	33.2±2.52*	33.1±1.67*	38.6±2.68
섭취량 (g/day)	4.55±0.52	5.79±0.69	5.67±0.77	5.89±0.73	5.92±0.89
혈당 (mg/dl)	122.1±7.21	350.5± 1.33	215.5±12.23*	202.5±8.55*	346.1±13.08
총 콜레스테롤 (mg/dl)	369.6±7.62	1322.6±29.45	776.4±23.81*	631.2±23.41**	1031.2±32.62
중성지방 (mg/dl)	160.3±12.42	622.6±15.38	182.5±9.53**	168.6±13.11**	598.8±15.74

[0085] 상기 표 1에 나타낸 바와 같이, 고콜레스테롤식이를 섭취하지 않은 정상군에 비하여 고콜레스테롤식이를 섭취한 마우스의 혈당은 350.5±11.33(약 3배), 총 콜레스테롤은 1322.6±29.45(약 3.5배) 및 중성지방은 622.6±15.38(약 4배)로 높게 유도되었다. 그러나, 수수의 황국균 발효 추출물 50 mg/kg(50F) 및 100 mg/kg(100F)의 투여군은 발효하지 않은 수수 추출물 100 mg/kg(100S)를 투여한 군에 비하여 총 콜레스테롤이 약 2배 억제되었다.

[0086] 또한, 수수의 황국균 발효 추출물 100 mg/kg(100F)을 투여한 실험군의 중성지방은 168.6±13.11으로 $P<0.01$에서 통계적 유의성이 있을 만큼 현저하게 감소하였으며, 특히 발효하지 않은 수수 추출물 100 mg/kg(100S)에 비해 30% 이하의 수준으로 억제되었다.

[0087] 특히, 혈당의 경우 고콜레스테롤식이만 섭취한 마우스와 비교하여 발효하지 않은 수수 추출물 투여군(100S)은 혈당 감소 효과가 나타나지 않았다. 그러나, 수수의 황국균 발효 추출물 투여군(50F, 100F)은 고콜레스테롤식이

만 섭취한 마우스에 비하여 약 60% 이하의 수준으로 혈당이 감소되었다.

[0088] 이상의 실시예들의 결과를 종합하면, 수수의 황국균 발효 추출물은 발효하지 않은 수수 추출물에 비하여 혈관염증부착인자 (VCAM-1) 억제 효율이 우수하고, 실제 동물실험에서도 혈관염증부착인자 억제로 인한 혈관 질환의 개선 및 고지혈증, 동맥경화와 관련된 바이오마커인 총 콜레스테롤과 중성지방 억제에 대하여 현저히 우수한 억제 효과를 나타냄이 확인되었다.

[0089] 즉, 수수의 황국균 발효 추출물이 황국균 발효 처리를 하지 않은 수수 추출물과 대비하여 혈당, 총 콜레스테롤 및 중성지방을 현저히 억제하여 동맥경화의 치료 및 예방에 현저한 효과가 있음이 확인되었다.

[0090] **<제제예 1> 정제의 제조**

[0091] 실시예 1의 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 실시예 2의 수수 및 대나무 복합 추출물.....200mg

[0092] 유당.....100mg

[0093] 전분.....100mg

[0094] 스테아린산 마그네슘.....적량

[0095] 상기의 성분을 복합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0096] **<제제예 2> 캡슐제의 제조**

[0097] 실시예 1의 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 실시예 2의 수수 및 대나무 복합 추출물.....200mg

[0098] 유당.....50mg

[0099] 전분.....50mg

[0100] 탈크.....2mg

[0101] 스테아린산 마그네슘.....적량

[0102] 상기의 성분을 복합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0103] **<제제예 3> 액제의 제조**

[0104] 실시예 1의 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 실시예 2의 수수 및 대나무 복합 추출물.....1000mg

[0105] 설탕.....20g

[0106] 이성화당.....20g

[0107] 레몬향.....적량

[0108] 정제수를 가하여 전체 1000 ml로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 복합한 다음, 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0109] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 복합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0110] **<제제예 4> 건강기능식품의 제조**

[0111] 실시예 1의 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 실시예 2의 수수 및 대나무 복합 추출물.....1000 mg

[0112] 비타민 복합물.....적량

[0113] 비타민 A 아세테이트.....70 μg

[0114] 비타민 E.....1.0 mg

[0115] 비타민 B1.....0.13 mg

[0116] 비타민 B2.....0.15 ㎎

[0117] 비타민 B6.....0.5 ㎎

[0118] 비타민 B12.....0.2 ㎍

[0119] 비타민 C.....10 ㎎

[0120] 비오틴.....10 ㎍

[0121] 니코틴산아미드.....1.7 ㎎

[0122] 엽산.....50 ㎍

[0123] 판토텐산 칼슘.....0.5 ㎎

[0124] 무기질 복합물.....적량

[0125] 황산제1철.....1.75 ㎎

[0126] 산화아연.....0.82 ㎎

[0127] 탄산마그네슘.....25.3 ㎎

[0128] 제1인산칼륨.....15 ㎎

[0129] 제2인산칼슘.....55 ㎎

[0130] 구연산칼륨.....90 ㎎

[0131] 탄산칼슘.....100 ㎎

[0132] 염화마그네슘.....24.8 ㎎

[0133] 상기의 비타민 및 미네랄 복합물의 조성비는 비교적 건강기능식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 복합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 복합한 다음, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조(예, 영양캔디 등)에 사용할 수 있다.

[0134] **<제제예 5> 건강기능성 음료의 제조**

[0135] 실시예 1의 수수의 황국균 발효 추출물, 또는 실시예 2의 수수 및 대나무 복합 추출물.....1000 ㎎

[0136] 구연산.....1000 ㎎

[0137] 올리고당.....100 g

[0138] 매실 농축액.....2 g

[0139] 타우린.....1 g

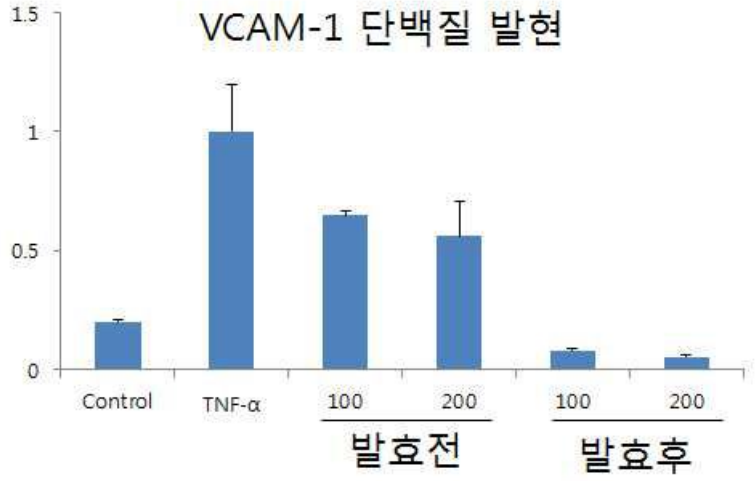
[0140] 정제수를 가하여 전체.....900 ㎖

[0141] 통상의 건강기능성 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 복합한 다음, 약 1시간동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.

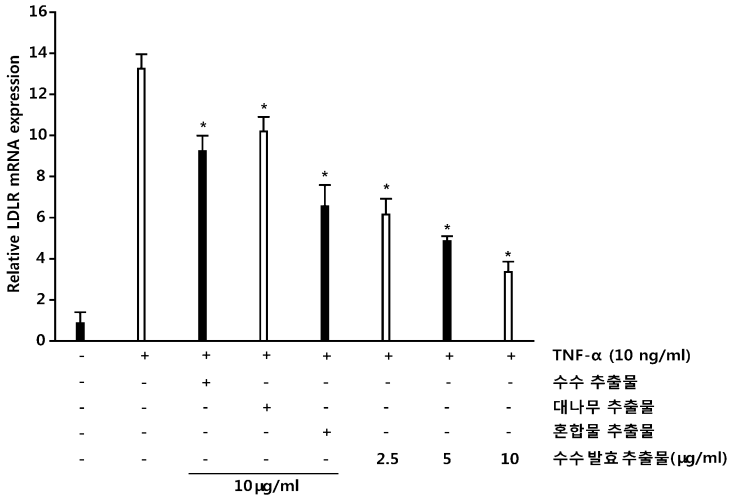
[0142] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 복합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

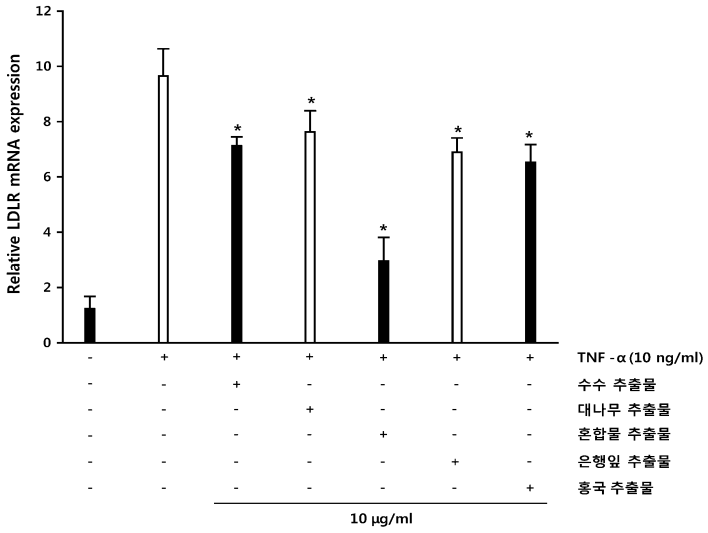
도면1


VCAM-1 단백질 발현
1.5
1
0.5
0
Control
TNF-α
100
200
100
200
발효전
발효후

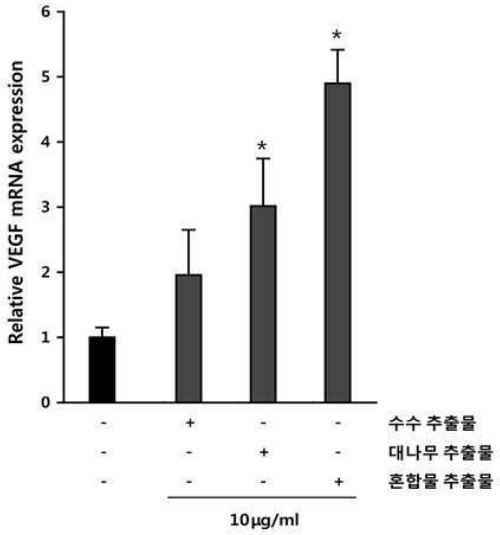
도면2


Relative LDLR mRNA expression
16
14
12
10
8
6
4
2
0
TNF-α (10 ng/ml)
수수 추출물
대나무 추출물
혼합물 추출물
수수 발효 추출물(μg/ml)
2.5
5
10
10μg/ml

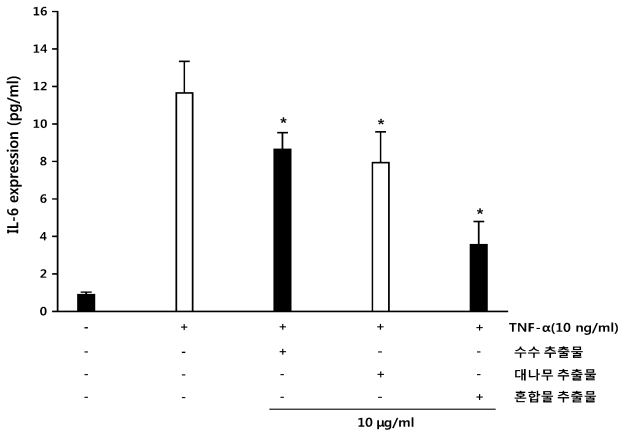
도면3



도면4



도면5



서 열 목 록

<110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University

<120> COMPOSITION FOR PREVENTING AND TREATING VASCULAR DISORDERS

<130> P16-035-REA-KHU

<150> KR 10-2016-0051333

<151> 2016-04-27

<160> 4

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LDLR Forward primer

<400> 1

gcgtgaaatt gcgctggacc gtc 23

<210> 2

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LDLR Reverse primer

<400> 2

tcacagacga actgccgaga gatgc 25

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VEGF Forward primer

<400> 3

cggcgaagag aagagacaca 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VEGF Reverse primer

<400> 4

ggaggaaggt caaccactca 20