

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2016-0068064 (43) 공개일자 2016년06월15일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 36/07 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01) (21) 출원번호 10-2014-0172949 (22) 출원일자 2014년12월04일 심사청구일자 2014년12월04일	(71) 출원인 창원대학교 산학협력단 경상남도 창원시 의창구 창원대학로 20(퇴촌동) 농업회사법인우포의아침 주식회사 경상남도 창원군 대지면 대지농공단지길 40, 대지 농공단지 (72) 발명자 노상규 경북 경주시 황성로 35-6, 103동 1010호 (황성동, 럭키아파트) 박중협 경상남도 창원군 대지면 대지농공단지길 40 (뒷면에 계속) (74) 대리인 김순용	

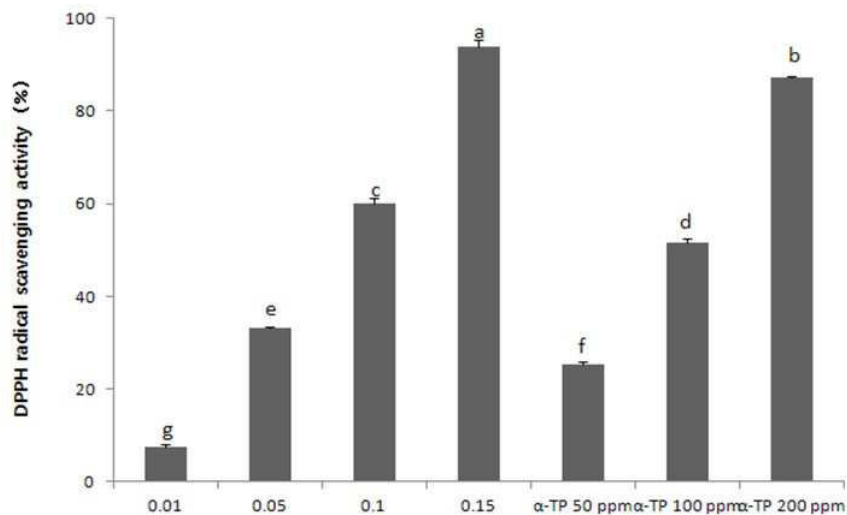
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 대사증후군 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함함으로써 항비만 및 항당뇨 효과를 가져 대사증후군의 예방, 개선, 치료에 효과적으로 사용될 수 있는 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김주연

경상남도 김해시 평전로 211 홍익아파트 105동 105호

최한솔

경상남도 창원시 성산구 창이대로 737 사과동성아파트 116동 101호

공대철

경상남도 창원시 의창구 소계로 93 (소계동)

이영숙

경상남도 창원군 대지면 대지농공단지길 40

김태완

경상남도 창원군 대지면 대지농공단지길 40

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014-0291-0000

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 한국산학연합회

연구사업명 산학융합 연구마을 지원사업

연구과제명 잎새버섯 추출물의 항비만/항당뇨 기능성 연구 및 이를 응용한 건강증진 음료 개발

기 여 율 1/1

주관기관 창원대학교 산학협력단

연구기간 2013.07.01 ~ 2014.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 잎새버섯 추출물은 저온열수추출, 상온열수추출 및 고온열수추출법 중 선택된 어느 하나의 방법으로 추출된 것을 특징으로 하는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 잎새버섯 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.1~95중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 대사증후군은 비만, 당뇨, 고지혈증, 고혈압 및 죽상동맥경화증 중 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 잎새버섯 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.1~95중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 대사증후군 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 대사증후군 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함함으로써 항비만 및 항당뇨 효과를 가져 대사증후군의 예방, 개선, 치료에 효과적으로 사용될 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 대사증후군이란 당뇨, 비만, 고혈압, 고지혈증, 심혈관 질환 등 사망의 위험인자들이 함께 존재하는 상태를 말한다(Wilson PWF, Kannel WB, Silber shartz H.D. Agustino RB: lustering of metabolic factors and coronary heat disease. Arch Intern Med. 1999;159:1104-91). 이러한 대사증후군은 최근 우리나라에서도 발병률이 급증하고 있으며, 선진국인 미국과 서유럽 국가 수준을 뛰어 넘은 것으로 보고되고 있다(Albert, KG Zimmet DZ. Definition, diagnosis, and classification of diabetes mellitus and its Complication, Part1; diagnosis and classification of diabetes melilite Provisional report of WHO Consultation. Diabetes Med 1998;15:539-553, Hye Soon Park, Sang Woo Oh, Jae Heon Kang, Yong Woo Park, Joong Myung Choi, Yong Sung Kim, Woong Hwan Choi, Hyung Joon Yoo, Young Seol Kim. Prevalence and Associated

Factors with Metabolic Syndrome in South Korea. J Korean Obesity, 2003;12(1):1-14 (Korean)).

- [0003] 대사증후군 유병률은 2005년 남성 32.9%, 여성 31.8%로 높게 나타나고 있어 1998년 남성 20.1%, 여성 23.9%에 비해 매우 빠른 속도로 증가함을 알 수 있으며, 연령별로는 30~39세가 14.9%, 40~49세가 24.7%, 50~59세가 41.3%, 60~69세가 46.3%로 40대 이후 중장년에서 급격한 증가를 보였다(Report on National health and nutrition survey. Ministry of health and welfare. 1998, 2005, 2006, 2007 (Korean)).
- [0004] 비만치료제는 식욕억제제, 열대사촉진제, 소화억제제, 호르몬 조절제 등으로 구분할 수 있는데, 현재 국내외에 판매되는 항비만 관련 약제로는 미 FDA에서 승인을 받아 안전성이 입증된 orlistat을 주원료로 하는 제니칼(한국로슈), 엑소리제(구주제약/아코파마), 마메이드캡셀 및 켄벨정(대한뉴팜) 등이 있으며, 최근 시부트라민(sibutramine)을 원료로 하는 리덕틸(한국애보트)은 심혈관계 부작용 때문에 판매가 중단된 상태이다.
- [0005] 그 외에도 항비만 약제로 개발된 대부분의 제품은 심각한 부작용을 동반하므로 판매가 금지된 것들도 상당수에 이르는 실정이다. 예를 들어, 아미노필린은 탁월한 체지방 분해효과에도 불구하고 정신신경계, 순환기계, 소화기계에 걸쳐 폭넓은 부작용이 보고된 바 있고, 펜프루라민, 텍스펜플루라민, 토피라메이, 에페드린, 갑상선호르몬제, 이노제, 설사제, 디곡신, 이소프로테레놀 등도 2002년 비만치료 부적합 약물로 판정되어 식품의약품안전청에 의해 판매가 금지되었다.
- [0006] 당뇨병은 인슐린작용 부족으로 고혈당을 비롯한 대사이상인 지속되며, 장래 혈관합병증 발생 가능성이 높은 질환인데, 1형과 2형으로 나눌 수 있으며, 1형은 인슐린의존형으로서, 면역학적 기전에 의해 췌장베타세포가 파괴되어 인슐린생성장애가 오는 면역매개성 1형 당뇨병, 원인이 밝혀지지 않은 특발성 1형 당뇨병으로 구분된다. 2형 당뇨병은 인슐린 저항성과 인슐린 분비장애가 모두 관련되는 질환으로서, 인슐린 저항성이 주된 역할을 하는 인슐린저항성 2형 당뇨병, 인슐린 분비장애가 주된 역할을 하는 인슐린결핍성 2형 당뇨병으로 구분된다(대한당뇨병학회, 당뇨병학, 고려의학, 1998:1~4). 현재 당뇨병 환자의 80% 이상이 성인형의 2형 당뇨병이며, 노령화와 생활습관의 변화로 환자 수가 꾸준히 증가하여, 산업화된 국가의 경우, 당뇨 환자가 인구의 10%에 이를 것으로 추정한다(국내 당뇨병 유병률 추이: 30세이상, 2009 국민건강영양조사, 질병관리본부, 미국 내 당뇨병 유병률추이: 1958~2009, www.cdc.gov).
- [0007] 인슐린 저항성에 의한 고혈당을 치료하는 경구용 혈당강하제의 특징과 부작용은 다음 표와 같으며, 최근 티아졸리디네돈(thiazolidinedione)계열인 아반디아(rosiglitazone)는 심혈관계 부작용으로 인하여 판매가 금지되었고, 골절위험 및 체중증가 등의 부작용도 보고되어 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 국내공개특허 제10-2013-00656182호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하고자, 본 발명은 혈중 글루코오스, 지방 및 콜레스테롤 농도를 감소시키고, 간조직의 총지방량, 콜레스테롤, 지용성 비타민 등 지질 축적을 억제할 수 있는 대사증후군 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0010] 또한 본 발명은 체내 지방의 소화 흡수를 억제할 수 있는 대사증후군 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0011] 또한 본 발명은 항산화 활성을 가져 천연 항산화제로서 사용가능한 대사증후군 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

- [0013] 상기 잎새버섯 추출물은 저온열수추출, 상온열수추출, 고온열수추출 등의 방법으로 추출할 수 있다.
- [0014] 상기 잎새버섯 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.1~95중량%로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0015] 상기 대사증후군은 비만, 당뇨, 고지혈증, 고혈압, 죽상동맥경화증 등일 수 있다.
- [0016] 또한 본 발명은 잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0017] 상기 잎새버섯 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.1~95중량%로 포함되는 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [0018] 본 발명에 따르면 잎새버섯을 유효성분으로 포함하여 혈중 글루코오즈, 지방 및 콜레스테롤 농도를 감소시키고, 간조직 독성을 완화하며 간조직의 총지방량, 콜레스테롤, 지용성 비타민 등 지질 축적을 억제할 수 있는 효과가 있다. 뿐만 아닐, 본 발명은 체내 지방의 소화 흡수를 억제할 수 있으며, 더불어 항산화 활성을 가져 천연 항산화제로의 사용도 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [0019] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 DPPH에 대한 라디칼 소거능 측정 결과를 나타낸 도이다.
- 도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 SOD 유사활성 측정 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 공급이 혈중 글루코오즈 농도에 미치는 영향을 나타낸 도이다.
- 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 공급이 혈중 중성지방 농도에 미치는 영향을 나타낸 도이다.
- 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 공급이 혈중 콜레스테롤 농도에 미치는 영향을 나타낸 도이다.
- 도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 공급이 간조직의 지질 축적에 영향을 미치는지를 확인하기 위하여 간조직의 사진촬영 결과를 나타낸 도이다.
- 도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 공급이 매시간 동안 ^{14}C -콜레스테롤의 흡수율에 미치는 영향을 나타낸 도이다.
- 도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 잎새버섯 추출물의 공급이 6시간 동안 ^{14}C -콜레스테롤의 흡수율에 미치는 영향을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0020] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0021] 본 발명에서는 잎새버섯의 이화학적 특성을 조사하여 잎새버섯에 함유되어 있는 생리활성물질을 이용하여 in vivo, in vitro 상에서 항비만, 항당뇨 등의 효과를 검증함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0022] 이러한 본 발명은 잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0023] 잎새버섯은(*Grifola frondosa*)은 식용 담자균류의 일종으로 일본을 중심으로 오랫동안 식용되어져 왔으며, 최근의 연구를 통해 다양한 약리작용이 보고되어지고 있다. 대표적인 약리작용으로는 면역부활능(Nanba H et al.: Biol Pharm Bull. Apr;24(4):236-40 (2002))으로 이 밖에도, 항종양(Nanba H et al.: Chem Pharm Bull (Tokyo). Jan;35(1):262-70(1987)), 항균(Nanba H et al.: Jpn J Pharmacol. Dec;87(4):327-32 (2001)), 항고지혈증(Nanba H et al.: Biol Pharm Bull. Jul;20(7): 781-5 (1997)) 등 다양한 약리작용이 보고된 바 있다.
- [0024] 상기 잎새버섯 추출물은 공지된 추출, 분리 및 분획하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출, 분리 및 분획하여 수득한 것을 사용할 수 있다. 본 발명에서 정의된 '추출물'은 적절한 용매를 이용하여 잎새버섯으로부터 추출 처리에 의해 얻어지는 것이며, 예를 들어 잎새버섯의 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출

물을 모두 포함한다.

- [0025] 상기 잎새버섯 추출물은 다양한 추출용매와 추출방법에 따라 추출될 수 있으며, 잎새버섯으로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약학적으로 허용되는 유기용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 상기 용매로는 물, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등의 탄소수 1 내지 4의 알코올 등을 단독으로 또는 2종 이상 혼합하여 사용할 수 있다. 특히, 상기 용매로는 메탄올 또는 에탄올(주정)을 사용하는 것이 바람직하며, 특히 에탄올(주정)을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0026] 상기 추출 온도는 50~100℃인 것이 바람직하다. 또한 추출방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법이 사용될 수 있으며, 특히 열수추출법 또는 환류냉각추출법을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.
- [0027] 특히, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물은 통상의 방법에 따라 제조된 잎새버섯 열수 추출물로, 상기 잎새버섯 열수 추출물은 저온열수추출, 상온열수추출 또는 고온열수추출 방법에 따라 얻을 수 있다. 구체적으로, 잎새버섯 100중량부에 물 20중량부를 가하여 50℃에서 24시간 동안 고온 열수 추출하여 얻는 것을 수 있다.
- [0028] 상기와 같이 잎새버섯 추출물을 얻은 이후에는 당업계에서 알려진 통상의 방법으로 상온에서 냉침, 가열 및 여과하여 액상물을 얻을 수 있다. 또한 본 발명의 조성물에 유효성분으로 포함되는 잎새버섯 추출물은 전술한 바와 같이 추출된 추출물을 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수도 있다. 또한 상기 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획으로도 얻을 수 있다.
- [0029] 따라서 본 발명에서 사용되는 잎새버섯 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출물, 분획물 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.
- [0030] 상기와 같이 추출한 본 발명의 잎새버섯 추출물은 과당을 이용한 당뇨 유도 동물모델에서 혈중 글루코오스, 지방 및 콜레스테롤 농도를 감소시키고, 간조직의 총 지방량, 콜레스테롤, 지용성 비타민 등의 지질 농도를 감소시켜 항당뇨 효과를 가지며, 소장지방 흡수율 동물 모델에서 지방의 소화 흡수를 억제하여 항비만 효과를 가진다. 또한 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물은 천연 항산화제로 사용할 정도로 우수한 항산화 활성을 가진다.
- [0031] 따라서 본 발명의 잎새버섯 추출물은 대사증후군 예방, 개선 또는 치료에 유용한 의약품 또는 건강기능식품으로 이용될 수 있다.
- [0032] 상기 대사증후군은 사망의 위험인자들이 함께 존재하는 상태로 당뇨, 비만, 고혈압, 고지혈증, 심혈관 질환 등을 예로 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0033] 이에 본 발명은 잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0034] 상기 잎새버섯 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.1~95중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1~80중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.1중량% 미만일 경우에는 복용의 효율성이 떨어질 수 있으며, 95중량%를 초과할 경우에는 제형화에 어려움이 있을 수 있다.
- [0035] 본 발명의 조성물은 약학 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, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 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, 칼슘 카보네이트(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, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제 등이 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0036] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0037] 본 발명은 약학 조성물은 연구자, 의사, 약사 또는 기타 임상에 의해 생각되는 조직제, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양, 즉 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양인 치료상 유효량으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 약학 조성물은 1~10,000mg/kg/day, 바람직하게는 1~200mg/kg/day 내지 의 양으로 투여할 수 있으며, 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수 회에 나누어 투여할 수도 있다.

[0038] 본 발명의 약학 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.

[0039] 또한 본 발명의 조성물은 대사증후군 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 또는 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0040] 또한 본 발명은 잎새버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 잎새버섯 추출물이 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 잎새버섯 추출물을 그대로 첨가하거나, 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 혼합하여 사용되는 등 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0041] 또한 상기 유효성분인 잎새버섯 추출물의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 변경될 수 있음은 물론이며, 상기 잎새버섯 추출물은 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.1~95중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1~80중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.1중량% 미만일 경우에는 복용의 효용성이 떨어질 수 있으며, 95중량%를 초과할 경우에는 제형화에 어려움이 있을 수 있다.

[0042] 구체적인 예로, 식품 또는 음료의 제조 시에는 본 발명의 잎새버섯 추출물은 원료에 대하여 15중량% 이하, 바람직하게는 10중량% 이하의 양으로 첨가되는 것이다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하여 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 양으로 첨가될 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0043] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 잎새버섯 추출물을 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, 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0044] 본 발명의 식품 조성물이 음료로 제조될 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등의 추가 성분을 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물로는 포도당, 과당 등의 모노사카라이드; 말토오스, 수크로오스 등의 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린 등의 천연 감미제나 사카린, 아스파르탐 등의 합성 감미제 등이 사용될 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01~10중량%, 바람직하게는 0.01~0.1중량%로 포함되는 것이다.

[0045] 상기 외에 본 발명의 식품 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 뿐만 아니라, 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

상기의 첨가제 비율은 크게 제한되지는 않으나, 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01~0.1중량% 범위내로 포함되는 것이 좋다.

[0046] 이하에서는 실시예를 들어 본 발명에 관하여 더욱 상세하게 설명할 것이나, 이들 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것으로 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0047] 실시예 1. 잎새버섯 추출물 제조

[0048] 건조한 잎새버섯 분말 100g에 20배의 증류수를 넣고, 50℃에서 24시간 동안 열수추출하였다. 이어서, 상기 열수추출물을 동결건조하여 분말상태로 제조하였으며, 동물실험기간 동안 -70℃에서 냉동 보관하였다.

[0049] 실시예 2. 잎새버섯 추출물의 항산화성 측정

[0050] 1-1. 일반성분 분석

[0051] 상기 실시예 1에서 제조한 잎새버섯 추출물은 (재)창녕양파장류연구소에 의뢰하여 수분, 단백질, 지방, 당류 및 회분 등과 같은 일반성분을 분석하고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

잎새버섯 추출물	함량(%)
수분(g/100g)	4.88
단백질(g/100g)	53.30
지방(g/100g)	1.92
당류(g/100g)	3.02
회분(g/100g)	13.78

[0053] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물은 수분 4.88%, 단백질 53.30%, 지방 1.92%, 당류 3.02%, 회분 13.78%로 일반 식용버섯 건조물들과 비교하여 단백질 함량이 높음을 확인할 수 있었으며, 이로부터 잎새버섯 추출물의 영양학적 가치가 우수할 것임을 알 수 있었다.

[0054] 1-2. 총 페놀성 화합물 측정

[0055] 상기 실시예 1의 잎새버섯 추출물에 함유된 총 페놀 함량을 측정하기 위하여, 다음과 같이 실험하였다. 항산화 물질의 대표적인 총 페놀성 화합물의 함량 분석은 Singleton 등의 방법을 변형한 Dewanto 등의 방법으로 증류수 0.5mL에 시료 125 μ L를 혼합한 후 폴린 시오칼투 시약(folin-ciocalteu reagent) 125 μ L를 첨가하여 6분간 방치하였다. 이 혼합물에 7% 탄산나트륨(sodium carbonate) 1.25mL를 넣고 최종 부피가 3mL가 되도록 증류수로 조절한 후, 90분간 실온에서 방치하여 760nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 갈산(gallic acid)을 이용하여 작성한 표준검량선으로부터 함량을 구하였다.

[0056] 상기 실시예 1의 잎새버섯 추출물에 함유된 총 페놀함량은 3.18mg GAEs/g로 측정되었다. 이는 새송이 버섯의 총 페놀 함량인 0.93mg/g와 비교하여 볼 때 잎새버섯의 항산화성은 상대적으로 뛰어나다고 볼 수 있다. 버섯 추출물의 높은 항산화성에 대해서는 이미 정의 상관관계가 있다고 보고되고 있어, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯은 자연 항산화물로의 가능성을 인정받고 있다고 할 수 있다.

[0057] 1-3. DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 라디칼 소거능 측정

[0058] DPPH 라디칼 소거능 측정은 Blois 방법에 의해 측정하였다. 먼저, 상기 실시예 1의 잎새버섯 추출물 0.2mL에 0.2mM DPPH 0.8mL와 에탄올 2.9mL를 첨가한 다음 균일하게 혼합하여 실온에서 10분간 방치한 후 525nm에서 흡광도를 측정하고, 그 결과를 하기 표 2 및 도 1에 나타내었다. 이때, α -토코페롤을 표준물질로 하여 활성을 비교하였다.

표 2

구분	DPPH 라디칼 소거 활성 (%)
잎새버섯	0.01g/10mL 7.64±0.63
	0.05g/10mL 33.13±0.24
	0.1g/10mL 59.97±1.39
	0.5g/10mL 93.79±1.52
α-토코페롤	50ppm 25.35±0.53
	100ppm 51.67±0.81
	200ppm 87.18±0.17

[0059]

[0060]

도 1 및 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물의 전자공여 작용은 59.97±1.39%(0.1g/10mL)로 기준물질인 α-tocopherol(100ppm)과 유사한 활성을 보임을 확인할 수 있었다. 본 실험결과는 Lee 등(2007)이 보고한 노랑느타리 버섯(*Pleurotus citrinopileatus*)의 버섯 자실체를 3종류의 용매를 이용하여 추출한 물질의 DPPH 라디칼 소거활성이 5mg/mL의 농도에서 46.6~68.4%인 것과 비교하여 93.79%로 나타나 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물의 DPPH 소거 활성은 다른 버섯에 비해 매우 높은 것임을 알 수 있었다.

[0061]

1-4. SOD 유사활성 측정

[0062]

SOD의 활성은 Marklund과 Marklund의 방법을 변형하여 측정하였다. 먼저, 상기 실시예 1의 잎새버섯 추출물 0.2mL에 Tris-HCl buffer 3mL 및 7.2mM 피로갈롤(pyrogallol) 0.2mL를 첨가한 다음 25℃에서 10분간 반응시킨 후 1N HCl를 첨가하여 반응을 정지시키고, 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, L-아스코르브산을 표준물질로 사용하였으며, 색소에 영향을 미치는 시료에는 피로갈롤 대신에 완충액만 넣고 흡광도를 측정하였으며, 그 결과는 하기 표 3 및 도 2에 나타내었다.

표 3

구분	SOD 유사활성 (%)
잎새버섯	0.01g/10mL 6.36±1.00
	0.05g/10mL 15.14±1.09
	0.1g/10mL 20.74±0.20
	0.15g/10mL 25.82±0.55
L-아스코르브산	100ppm 1.23±0.14
	1,000ppm 38.93±3.48
	10,000ppm 87.42±1.36

[0063]

[0064]

도 2 및 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물의 SOD 유사활성은 0.1g/10mL 농도에서 0.1%(1,000ppm) L-아스코르브산과 비교하여 절반정도의 유사활성을 가지는 것으로 나타났다. 잎새버섯 열수 추출물의 항산화 활성의 분석 결과, SOD 값에 비해 DPPH가 높은 항산화능력을 나타냈는데, 이는 버섯의 항산화성을 높이 평가한 다른 연구결과와 마찬가지로 버섯이라는 식품의 천연항산화제로써의 역할을 할 수 있다고 판단되는 결과이다.

[0065]

1-5. 환원력 측정

[0066]

상기 실시예 1의 잎새버섯 추출물의 환원력을 측정하기 위하여, 잎새버섯 추출물 1mL와 인산염 완충 용액(0.2M, pH 6.6) 1mL를 혼합하여 1%(w/v) 페리시안화 칼륨(potassium ferricyanide) 용액 1mL을 가하고, 이 혼합물을 50℃에서 20분간 반응시킨 후, 10%(w/v) 트라이클로로아세트산(trichloroacetic acid) 용액 1mL을 넣었다. 이어서, 반응이 끝난 혼합물을 12,000rpm에서 원심분리하여 얻은 상정액 1mL과 증류수 1mL을 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1mL을 가하여 700nm에서 흡광도를 측정하고, 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

구분		환원력 (O.D value)
잎새버섯	0.01g/10mL	0.22±0.0002
	0.05g/10mL	0.63±0.001
	0.1g/10mL	1.02±0.006
	0.15g/10mL	1.41±0.003
L-아스코르브산	100ppm	0.98±0.025
	250ppm	1.93±0.034
	500ppm	2.40±0.012
	1,000ppm	2.56±0.032

[0067]

[0068]

상기 표 4에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물은 농도가 증가할수록 환원력 또한 증가함을 확인할 수 있었다.

[0069]

실시예 3. 잎새버섯 추출물이 과당을 이용한 당뇨 유도 동물모델에 미치는 영향

[0070]

동물식이 준비

[0071]

동물실험에 사용된 식이는 미국영양학회(AIN)가 추천하는 표준식이인 분말화된 Dyets Inc의 AIN-93G 식이를 (주)효창을 통하여 구입하여 사용하였다. 이 식이의 미네랄 함량은 난백 대체로 조정이 되었으며, 지방원으로는 대두유를 사용한 표준식으로 사육하였다. 식이조성은 하기 표 5와 같다.

표 5

식이조성	함량(g/kg)
난백	200.0
옥수수 녹말	528.5
텍스트로즈	100.0
셀룰로오즈	50.0
대두유	70.0
미네랄 믹스	35.0
비타민 믹스	10.0
비오틴(1mg/g biotin sucrose mix)	4.0
타타르산수소콜린	2.5

[0072]

[0073]

동물사육

[0074]

실험에 사용된 동물은 8주령(283.4±8.4g) 수컷 Sprague-Dawley 마우스(Harlan Sprague Dawley, Inc, (주)효창)를 구입하여 1주일 동안 국립창원대학교 식품영양학과 동물사육실(실내온도 22±2℃, 상대습도 55±5%, 12h light-dark cycle)에서 개인별 케이지로 자유롭게 공급된 증류수와 표준식으로 과당 공급 시까지 사육하였다. 충분한 사육실 적응기간을 가진 후, 체중에 따른 난괴법으로 식이+D.I water 공급받는 동물군을 대조군(control)(9마리), 30% 과당 공급받는 동물군을 실험군(fructose)(27마리)으로 나누어 충분히 당뇨를 유도할 수 있도록 6주간 사육하였다. 과당섭취 6주 후에는 일반식이와 증류수를 공급한 동물군은 대조군(CT), 일반식이와 30%과당을 섭취하는 실험군은 과당대조군(FC), 30% 과당과 0.5%농도로 식이와 혼합한 잎새버섯 추출물을 공급받는 실험군은 저농도 공급군(0.5%M+F), 30%과당과 2.0%농도로 식이와 혼합한 잎새버섯 추출물을 공급받는 실험군은 고농도 공급군(2.0%M+F)으로 나누어 추가로 4주 동안 사육하였다.

[0075]

2-1. 잎새버섯 추출물이 체중증가에 미치는 영향

[0076]

상기와 같이 사육된 동물의 체중 변화량을 측정하기 위해서 매주 각 동물의 체중을 총 10주에 걸쳐 정해진 시간에 측정하였다.

[0077]

6주 동안 증류수를 공급받은 대조군과 증류수 대신 30% 과당을 공급받은 과당군의 체중은 0주째에 350.2±12.2g, 3주째에 각각 406.12±8.0g, 421.8±16.9g, 6주째에 각각 465.0±10.1g, 480.5±18.6g으로 나타나 각 그룹간에 유의적인 차이를 나타내지는 않았으나, 30% 과당 섭취로 인해 체중이 증가하는 경향을 나타내었다. 6

주간의 과당섭취로 충분한 당뇨 증상을 유도한 후 4주 동안 추가적으로 잎새버섯 추출물을 공급하여 매주 몸무게를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

시간	CT	FC	0.5%M+F	2.0%M+F
0주	462.3±6.6	467.9±9.7	467.5±5.4	468.2±7.5
1주	472.1±10.8	489.8±9.4	480.2±10.7	481.2±8.5
2주	480.2±11.0	506.0±10.9	495.0±7.7	492.2±5.5
3주	495.0±8.2	518.5±8.6	505.1±13.9	503.0±8.9
4주	508.0±8.6	530.6±9.8	520.2±10.5	518.0±11.0

상기 표 6에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 공급 1주째에는 과당대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나, 과당과 함께 잎새버섯 추출물을 공급한 2주째에는 과당대조군에 비해 잎새버섯 추출물을 공급한 실험군의 체중이 유의적으로 낮게 나타남을 확인할 수 있었다. 이러한 경향은 잎새버섯 추출물을 공급한지 4주째까지 지속되는 것으로 나타났으며, 4주째 각 그룹의 체중은 대조군(CT) 508.0±8.6g, 과당대조군(FC) 530.6±9.8g, 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F) 520.2±10.5g, 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F) 518.0±11.0g으로 나타나, 과당대조군에 비해 잎새버섯 추출물을 섭취한 실험군에서 체중증가율이 낮음을 확인할 수 있었다. 그러나, 잎새버섯 추출물의 농도에 따른 체중증가율은 4주동안 유의적인 차이를 보이지 않았다.

2-2. 잎새버섯 추출물이 혈액 글루코오스와 지방농도에 미치는 영향

상기와 같이 사육된 동물의 혈액 중 각종 지방의 변화를 측정하기 위해서 안구혈액채취법(retro orbital sinus bleeding)을 이용하여 30% 과당을 공급하기 직전(0주), 3주째, 6주째 및 잎새버섯 추출물 섭취 4주째 동물을 희생시키면서 모든 동물에서 혈액을 채취하였다. 혈액은 채취한 즉시 혈당분석 키트를 이용해 혈당을 측정하여 기록하였다.

채취한 혈액은 응고 시간을 가진 후에 원심분리기(2,000×g for 10min)를 이용하여 혈청시료를 분리하였다. 분리된 혈청으로 즉각 HDL-콜레스테롤을 분석하였으며, 나머지 혈청은 기타 성분 분석 시까지 -70℃에 보관하였다. 혈액 채취 전에는 실험동물을 약 12시간 절식시켰으며, 절식 시에는 물만 공급하였다.

혈청의 글루코오스 농도는 효소비색법(아산제약)을 이용하여 혈청시료 0.1mL에 조제한 반응시약 3mL를 첨가하여 발색시킨 후 500nm 흡광도에서 측정하였다. 혈청의 HDL-콜레스테롤 및 총 콜레스테롤 농도는 효소비색법(아산제약)으로 측정하였다. 혈청 HDL-콜레스테롤은 먼저 HDL 분획을 분리하고 침전시킨 후, 상기한 효소비색법(아산제약)을 이용하여 측정하였다. 총 콜레스테롤의 경우, 혈청 시료 0.1mL에 조제한 반응시약 3mL씩을 첨가하여 흡광도(550nm)를 측정하고 콜레스테롤 표준용액을 이용하여 시료와 동일한 조건에서 발색시켜 흡광도를 측정, 농도를 계산하였다. 혈청의 중성지방(triglycerides) 농도는 효소비색법을 이용한 kit(아산제약)을 사용해서 발색시킨 후에 500nm에서 흡광도를 측정, 양을 계산하였다. Non HDL-콜레스테롤 계산은 총 콜레스테롤에서 HDL-콜레스테롤을 뺀 값으로 계산하였다.

4주 동안 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 공급이 혈액 글루코오스, 중성지방 및 콜레스테롤의 농도에 미치는 영향은 하기 표 7, 도 3 내지 5에 나타내었다.

하기 표 7의 단위는 mg/dL이다.

표 7

구분	CT	FC	0.5%M+F	2.0%M+F
글루코오스	104.0±21.0	156.8±30.8	127.7±5.7	118.0±17.4
중성지방	103.5±9.4	143.5±21.8	105.8±18.7	97.4±9.2
총 콜레스테롤	70.0±6.4	94.8±14.5	74.3±3.9	68.4±5.0
HDL-콜레스테롤	21.6±5.2	26.4±5.5	23.5±4.6	26.0±5.1
non-HDL-콜레스테롤	48.4±4.3	69.7±10.7	52.9±2.9	43.7±6.3

상기 표 7에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 섭취 4주째 혈중 글루코오스 농도는 대조군(CT), 과당대조군(FC), 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F), 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F)에서 각각 104.0±21.0mg

/dl, $156.8 \pm 30.8 \text{mg/dl}$, $127.7 \pm 5.7 \text{mg/dl}$, $118.0 \pm 17.4 \text{mg/dl}$ 로 나타났다. 혈중 글루코오스 농도는 과당대조군에서 가장 높게 나타났으며, 잎새버섯 추출물 섭취군에서는 대조군과 비슷한 수준으로 감소됨을 확인할 수 있었다. 또한 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 섭취 4주째 혈중 중성지방(triacylglycerol, TG)의 농도는 대조군(CT), 과당대조군(FC), 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F), 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F)에서 각각 $103.5 \pm 9.4 \text{mg/dl}$, $143.5 \pm 21.8 \text{mg/dl}$, $105.8 \pm 18.7 \text{mg/dl}$, $97.4 \pm 9.2 \text{mg/dl}$ 로 나타났다. 혈중 중성지방의 농도는 과당대조군에서 가장 높게 나타났으며, 잎새버섯 추출물 섭취군에서는 대조군과 비슷한 수준으로 감소됨을 확인할 수 있었다. 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 섭취 4주째 혈청의 총 콜레스테롤(total cholesterol) 농도는 대조군(CT), 과당대조군(FC), 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F), 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F)에서 각각 $70.0 \pm 6.4 \text{mg/dl}$, $94.8 \pm 14.5 \text{mg/dl}$, $74.3 \pm 3.9 \text{mg/dl}$, $68.4 \pm 5.0 \text{mg/dl}$ 로 나타났다. 잎새버섯 추출물을 섭취한 저농도 잎새버섯군, 고농도 잎새버섯군이 과당대조군에 비해 유의적으로 감소하여 대조군과 비슷한 수치를 나타내는 것으로 나타났다.

[0088] 또한 도 3에 도시한 바와 같이, 잎새버섯 추출물 공급 2주째부터 과당대조군의 혈중 글루코오스 농도가 다른 실험군과 비교해 유의적으로 높은 것으로 나타났으며, 다른 실험군 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 잎새버섯 추출물 공급 4주째 혈중 글루코오스 농도는 다른 실험군들과 비교해 과당대조군에서 지속적으로 증가하는 추세를 나타냈으며, 이는 대조군, 잎새버섯군들과 비교해 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 따라서 4주 동안의 잎새버섯 추출물의 공급이 혈중 글루코오스 농도를 대조군과 유사한 수준으로 감소시킨 것으로 보여지며, 잎새버섯 추출물의 농도에 따라 유의적인 차이를 나타내지는 않았지만 혈중 글루코오스 농도가 감소하는 경향을 보인 것으로 판단되었다. 이같은 결과로부터, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물의 공급은 과당 섭취로 유도된 실험동물의 당뇨증상을 확실히 완화시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

[0089] 도 4에 도시한 바와 같이, 잎새버섯 추출물 공급 2주째 혈중 중성지방 농도는 과당대조군과 저농도 잎새버섯군이 대조군과 고농도 잎새버섯군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 4주째에는 다른 실험군에 비해 과당대조군의 혈중 중성지방 농도가 가장 높음을 확인할 수 있었다. 이같은 결과로부터, 4주 동안의 지속적인 잎새버섯 추출물의 공급이 과당으로 유도된 당뇨증상을 완화시켜줄 수 있을 뿐 아니라, 혈중 지방의 농도 또한 감소시켜주는 효과가 있는 것으로 판단되었다.

[0090] 도 5에 도시한 바와 같이, 잎새버섯 추출물 섭취 2주째의 혈청 콜레스테롤 농도는 다른 실험군과 비교해 과당대조군에서 유의적으로 증가한 것으로 확인되었고, 4주째에는 과당대조군과 다른 실험군간의 농도격차가 더 커짐을 확인할 수 있었다. 따라서, 잎새버섯 추출물의 4주간 섭취로 인해 혈중 콜레스테롤 농도가 감소된 것으로 판단되었으며, 잎새버섯은 혈중지질을 낮추는데 효과적인 식품임을 예상할 수 있었다.

[0091] 2-3. 잎새버섯 추출물이 주요 장기 무게에 미치는 영향

[0092] 상기 2-2에서 잎새버섯 추출물을 섭취한지 4주째 되는 날의 혈액 채취 직후, 잎새버섯 추출물의 공급이 실험동물의 장기 무게에 미치는 영향을 측정하기 위해서 각 동물의 주요 장기를 적출하고 무게를 측정하고, 그 결과를 하기 표 8에 나타내었다. 장기는 간장(liver), 신장(kidneys), 신장뒷쪽지방(retroperitoneal fat tissue), 고환(testis), 부고환지방(epididymal fat)을 채취하였다.

[0093] 하기 표 8의 단위는 g/장기(organ)이다.

표 8

구분	CT	FC	0.5%M+F	2.0%M+F
간	13.13 ± 0.82	14.80 ± 1.29	13.70 ± 0.65	13.65 ± 1.00
신장	2.90 ± 0.10	3.21 ± 0.14	2.85 ± 0.11	3.00 ± 0.16
신장뒷쪽지방	10.95 ± 2.34	15.78 ± 2.98	13.97 ± 1.50	13.42 ± 1.89
고환	3.67 ± 0.14	4.03 ± 0.19	3.73 ± 0.11	3.77 ± 0.15
부고환지방	10.42 ± 1.96	12.66 ± 2.20	11.64 ± 1.21	11.94 ± 1.86

[0095] 상기 표 8에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 섭취 4주째에 나타난 간장 무게는 대조군(CT), 과당대조군(FC), 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F), 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F)에서 각각 $13.13 \pm 0.82 \text{g}$, $14.80 \pm 1.29 \text{g}$, $13.70 \pm 0.65 \text{g}$, $13.65 \pm 1.00 \text{g}$ 으로 잎새버섯 추출물 섭취군이 과당대조군에 비해 감소하는 경향은 보였으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 신장과 고환의 무게는 잎새버섯 추출물을 섭취한 두 실험군이 과당대조군에 비해 유의적으로 감소한 것으로 나타났고, 이는 대조군과 유사한 수준으로 나타났다. 신장뒷쪽지방

의 무게는 잎새버섯 추출물 섭취군이 과당대조군에 비해 감소하는 경향은 보였으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았고, 부고환지방은 그룹간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

[0096] 2-4. 잎새버섯 추출물이 혈액 간독성지표(serum biomarker) 농도에 미치는 영향

[0097] 상기 실시예 1의 잎새버섯 추출물의 섭취가 혈액 간독성지표 농도에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 다음과 같이 실험하였다. 먼저, 혈청 중에 존재하는 GOT와 GPT의 농도 측정은 효소비색법(Reitman-Frankel법)을 이용한 kit((주)아산제약)을 이용, 혈청시료 0.10mL에 조제한 반응시약을 첨가하여 흡광도를 측정하였으며, 표준 GOT 또는 GPT 농도는 표준곡선용 시액을 이용하여 시료와 동일한 조건에서 발색시켜 흡광도를 측정, 농도를 계산하였다(아산제약 Manual, (주)아산제약). 혈청 ALP 농도는 효소비색법(King-King법)을 이용한 kit((주)아산제약)을 이용해서 기질완충액을 50 μ L 혈청시료와 반응시켜 정색시액과 축합 반응을 한 후에, 시약블랭크와 대조해서 500nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준시액도 동일 조건에서 측정하여 계산하고, 그 결과를 하기 표 9 나타내었다.

표 9

[0098]

구분	CT	FC	0.5%M+F	2.0%M+F
GOT(U/L)	38.2 $\pm$ 3.5	41.0 $\pm$ 3.8	39.2 $\pm$ 4.7	39.5 $\pm$ 5.0
GPT(U/L)	18.5 $\pm$ 2.5	19.8 $\pm$ 3.0	17.0 $\pm$ 3.1	17.5 $\pm$ 2.6
ALP(U/dl)	16.4 $\pm$ 2.3	21.4 $\pm$ 3.5	16.9 $\pm$ 2.5	14.7 $\pm$ 1.4

[0099] 상기 표 9에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 섭취 4주째에 나타난 혈중 GOT 농도는 대조군(CT), 과당대조군(FC), 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F), 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F)에서 각각 38.2 $\pm$ 3.5U/L, 41.0 $\pm$ 3.8U/L, 39.2 $\pm$ 4.7U/L, 39.5 $\pm$ 5.0U/L로 나타나 각 그룹간에 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 4주째에 나타난 혈중 GPT농도 또한 대조군(CT), 과당대조군(FC), 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F), 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F)에서 각각 18.5 $\pm$ 2.5U/L, 19.8 $\pm$ 3.0U/L, 17.0 $\pm$ 3.1U/L, 17.5 $\pm$ 2.6U/L로 분석되어 각 그룹간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 혈중 ALP 농도의 경우 대조군(CT)이 16.4 $\pm$ 2.3U/dl, 과당대조군(FC) 21.4 $\pm$ 3.5U/dl, 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F) 16.9 $\pm$ 2.5U/dl, 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F) 14.7 $\pm$ 1.4U/dl으로 과당대조군에 비해 잎새버섯 섭취군의 혈중 ALP농도가 대조군과 유사한 수준으로 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.

[0100] 혈중 ALP농도는 간에서 십이지장에 이르는 담즙의 유출경로에 이상이 있는가를 확인할 수 있고, 뼈의 상태나 간 기능, 태반기능의 정상 여부를 알 수 있다. ALP가 이상치인데도 GOT와 GPT 수치가 정상일 경우는 간독성을 의심할 수 있다. 본 발명에서는 GOT, GPT 수치는 그룹간에 차이가 없는 것으로 나타났으나, 혈중 ALP농도는 과당대조군에서 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. 반면, 과당을 섭취하지 않은 대조군, 잎새버섯 추출물을 공급받은 저농도 잎새버섯군, 고농도 잎새버섯군의 경우는 ALP 농도가 유의적으로 낮은 것으로 나타나, 4주 동안의 잎새버섯 추출물의 공급이 간조직의 독성을 완화시킨 것으로 판단되었다.

[0101] 2-5. 간 조직의 사진촬영을 통한 지방 분석(hepatic histology)

[0102] 지방간 증상 판단을 위한 histologic 평가는 가장 직접적이고 확실한 방법으로 알려져 있다. 따라서, 간조직에 축적된 지방량 정도를 측정하기 위한 간조직 사진촬영은 영남대학교 의과대학 해부학실에서 진행되었다. 10주째 각 동물군에서 평균 체중에 가장 근접한 한 동물의 간조직을 조직해부 분석에 이용하였다. 간조직은 급동결시킨 후 약 5~10 μ m 두께로 절편하고, 절편한 조각은 hepatoxilin(hepatoxilin), 에오신(eosin), Oil Red O 시약(붉은색 염색시약, 고정, 염색한 후 지방구를 육안으로 확인하기 위해 염색)으로 염색하였으며, 그 결과는 도 6에 나타내었다.

[0103] 도 6에 도시한 바와 같이, 과당을 섭취하지 않은 대조군(CT)에서는 붉게 보이는 지방구가 적었으나, 꾸준히 과당을 섭취한 과당대조군(FC)은 지방구(간에 정제된 지방량)가 증가된 것을 확인할 수 있었다. 그러나 과당과 함께 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물을 4주간 같은 조건에서 공급한 경우에는, 간조직에 축적되는 지방량이 과당대조군에 비해서 급격히 감소되는 것을 육안으로 확인할 수 있었다. 또한 저농도 잎새버섯군에 비해 고농도 잎새버섯군에서 지방구의 양이 감소된 것을 확인할 수 있었다(200배 확대사진; 붉은색 반점이 Oil Red에 염색된 간세포 내 축적된 지방구를 나타냄). 앞서 확인한 잎새버섯 추출물의 혈중지질 감소효과, 간조직 지질 감소효과와 함께 본 실험을 통해 육안으로도 잎새버섯 추출물이 간조직의 지질축적을 억제시킴을 확인할 수 있었다

[0104] 2-6. 잎새버섯 추출물이 간조직의 지방 함량 및 간조직과 부고환 지방의 주요 지방종류별 지방산 조성에 미치는 영향

[0105] 상기 실시예 1의 잎새버섯이 주요 조직 지방에 미치는 영향을 점검하기 위하여 조직은 조직분쇄기로 균질화시킨 시료 20배에 해당하는 클로로포름/메탄을 혼합액(2:1, v/v, BHT 151.3 $\mu\text{mol/L}$)을 넣어 혼합 유기용매 추출방법으로 분리하며, 40℃ 조건에서 질소농축기(N-EVAPTM 111, Organomation Associates, Inc., berlin, Germany)를 이용해 유기용매를 휘발시킨 후, 총 지방량(total lipid)을 측정하였다. 추출된 간조직 지방을 직접 이용, 질소농축기로 40℃의 조건에서 유기용매를 증발시키고, 클로로포름/메탄을 혼합액(1:4, v/v) 500 μl 를 넣어 균질화시킨 후 HPLC 분석하였다. 주입된 용량은 50 μl 로 하였다. HPLC 분석 조건은 Beckman System Gold software(Beckman Instruments, Fullerton, CA)이었고, 오븐기의 온도는 40℃로 일정하게 유지하였으며, 컬럼은 Alltima C18(5mm, 4.6 $\times$ 150mm, Alltech Associates, Inc.), 이동상은 100% 메탄올(at 2mL/min)을 사용하여 UV 295nm에서 분석하였다.

[0106] 간조직 지방의 지방종류별 분석은 고상추출 방법(solid phase extraction, separation of lipids by solid phase extraction procedure)에 의하여 먼저 콜레스테릴에스테르(cholesteryl ester), 중성지방(triglycerides), 모노 & 디글리세라이드(mono & diglyceride), 유리지방산(free fatty acid) 및 인지질(phospholipid)의 5종의 지방으로 분리하였다. SPE 분석은 진공시스템을 이용하여 진행하였고, 각각의 추출용매를 조성하여 컬럼에 분주하였다.

[0107] 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 섭취 4주째 각 동물군의 지방조직에 쌓여있는 지용성 항산화비타민인 α -토코페롤, 총콜레스테롤 및 총지방질의 무게는 하기 표 10에 나타내었다.

표 10

[0108]

구분	CT	FC	0.5%M+F	2.0%M+F
간 무게(g)	13.1 $\pm$ 0.8	14.8 $\pm$ 1.3	13.7 $\pm$ 1.0	13.63 $\pm$ 1.0
총지방질(mg/g)	64.6 $\pm$ 3.2	75.8 $\pm$ 2.9	68.2 $\pm$ 1.9	64.7 $\pm$ 2.7
총콜레스테롤 ($\mu\text{mol/g}$)	8.18 $\pm$ 1.09	26.45 $\pm$ 3.37	16.00 $\pm$ 1.68	12.13 $\pm$ 1.25
α -토코페롤 (nmol/g)	82.11 $\pm$ 8.90	120.12 $\pm$ 10.52	105.23 $\pm$ 11.01	98.15 $\pm$ 8.52

[0109] 상기 표 10에 나타난 바와 같이, 총지방질의 무게는 대조군(CT), 과당대조군(FC), 저농도 잎새버섯군(0.5%M+F), 고농도 잎새버섯군(2.0%M+F)에서 각각 64.6 $\pm$ 3.2mg/g, 75.8 $\pm$ 2.9mg/g, 68.2 $\pm$ 1.9mg/g, 64.7 $\pm$ 2.7mg/g으로 과당대조군과 비교해 잎새 버섯추출물 섭취 농도 비례적으로 감소되는 것으로 나타났다. 이러한 현상은 총콜레스테롤 양에서도 비슷한 양상을 보였다. α -토코페롤의 경우에는 과당대조군과 비교해 잎새버섯 추출물 섭취군에서 유의적으로 감소한 것으로 나타났다. 따라서 4주간의 잎새버섯 추출물의 공급은 간조직의 총지방량과, 콜레스테롤, 지용성비타민과 같은 지질의 농도를 감소시키는 작용을 하는 것으로 판단할 수 있었다.

[0110] 또한, 4주간에 걸친 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물의 공급이 간조직 및 부고환지방의 주요 지방인 콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산 및 인지질 지방산 조성에 미치는 영향을 하기 표 11 및 12에 나타내었다.

표 11

Lipid	CT	FC	0.5%M + F	2.0%M + F
(μmol/g liver)				
Cholesteryl ester				
16:0	1.41 ± 0.18	1.59 ± 0.51	1.29 ± 0.22	1.22 ± 0.15
18:0	0.21 ± 0.03 ^{ab}	0.22 ± 0.07 ^a	0.19 ± 0.06 ^{ab}	0.15 ± 0.02 ^b
18:1	0.98 ± 0.25 ^b	3.44 ± 0.86 ^a	1.23 ± 0.32 ^b	1.33 ± 0.24 ^b
18:2	0.91 ± 0.18 ^{ab}	1.13 ± 0.29 ^a	0.78 ± 0.19 ^b	0.78 ± 0.09 ^b
20:4	0.31 ± 0.06 ^a	0.36 ± 0.13 ^a	0.20 ± 0.02 ^b	0.21 ± 0.03 ^b
Triglyceride				
16:0	10.93 ± 1.68 ^b	20.77 ± 3.74 ^a	8.27 ± 1.46 ^c	7.18 ± 0.68 ^c
18:0	0.76 ± 0.09 ^b	1.03 ± 0.31 ^a	0.52 ± 0.07 ^c	0.41 ± 0.04 ^c
18:1	9.72 ± 1.28 ^b	18.39 ± 3.08 ^a	8.16 ± 0.75 ^{bc}	7.43 ± 0.24 ^c
18:2	16.26 ± 1.30 ^a	14.78 ± 2.01 ^a	10.06 ± 2.18 ^b	8.39 ± 1.23 ^b
20:4	0.75 ± 0.07	0.73 ± 0.13	0.61 ± 0.25	0.60 ± 0.14
22:6	0.24 ± 0.03	0.21 ± 0.06	0.16 ± 0.05	0.18 ± 0.09
Free fatty acid				
16:0	8.02 ± 1.62 ^b	10.90 ± 1.44 ^a	9.59 ± 1.76 ^{ab}	8.50 ± 1.61 ^b
18:0	3.26 ± 1.07 ^b	4.44 ± 1.29 ^a	3.28 ± 0.55 ^b	3.03 ± 0.51 ^b
18:1	3.61 ± 0.73 ^c	5.80 ± 2.07 ^a	5.36 ± 0.78 ^{ab}	4.13 ± 0.80 ^{bc}
18:2	6.56 ± 1.00	7.93 ± 1.39	6.57 ± 1.37	6.36 ± 1.44
18:3	0.44 ± 0.12	0.46 ± 0.16	0.42 ± 0.11	0.40 ± 0.17
20:4	3.80 ± 1.40 ^{ab}	5.51 ± 2.35 ^a	3.77 ± 0.88 ^{ab}	3.30 ± 0.86 ^b
22:6	0.83 ± 0.14 ^b	1.49 ± 0.74 ^a	0.91 ± 0.20 ^b	0.80 ± 0.23 ^b
Phospholipid				
16:0	10.07 ± 1.08 ^b	14.05 ± 1.81 ^a	11.84 ± 1.37 ^b	11.52 ± 1.30 ^b
18:0	8.06 ± 1.48 ^b	10.39 ± 0.70 ^a	7.94 ± 1.45 ^b	7.37 ± 1.23 ^b
18:1	1.17 ± 0.23 ^b	1.88 ± 0.11 ^a	1.72 ± 0.23 ^a	1.62 ± 0.27 ^a
18:2	4.98 ± 0.98 ^b	6.04 ± 0.68 ^a	5.19 ± 0.82 ^{ab}	5.21 ± 0.59 ^{ab}
20:4	11.49 ± 1.40 ^b	14.87 ± 1.73 ^a	11.60 ± 1.87 ^b	11.55 ± 1.56 ^b
22:6	3.39 ± 0.56 ^c	5.06 ± 0.60 ^a	4.27 ± 0.53 ^b	3.68 ± 0.51 ^{bc}

¹Values are means ± SD, n = 6.

²Values in a row not sharing a common superscript differ (P < 0.05).

상기 표 11에 나타난 바와 같이, 간조직의 대부분의 지방산은 중성지방, 인지질 분획에 존재하는 것으로 나타났으며, 중성지방 분획은 다른 실험군들에 비해 특히 과당대조군에서 유의적인 차이로 증가되어 있는 것으로 나타났다. 중성지방 분획 중에서도 대부분이 18:1과 18:2 형태로 존재하였고, 이 두 종류의 지방산 모두 과당대조군(FC)에 비해 잎새버섯 추출물군(0.5%M+F, 2.0%M+F)에서 유의적으로 감소된 것으로 나타났다. 과당대조군(FC)의 지방산 분획은 대조군(CT)과의 비교에서 유의적으로 높은 것으로 나타났고 잎새버섯 추출물군(0.5%M+F, 2.0%M+F)의 중성지방은 과당대조군에 비해서 유의적으로 낮은 것으로 나타났다. 또한 다른 지방 분획들 특히 콜레스테롤, 유리지방산, 인지질 분획에서도 잎새버섯 추출물을 공급받은 실험군이 과당대조군에 비해 확연히 농도가 낮은 것으로 나타났다.

표 12

Lipid	CT	FC	0.5%M+F	2.0%M+F
Cholesteryl ester				
16:0	48.32 ± 17.25 ^{ab}	65.66 ± 13.88 ^a	46.70 ± 8.09 ^b	55.41 ± 7.03 ^{ab}
18:0	6.67 ± 2.61 ^{ab}	8.14 ± 2.19 ^a	5.60 ± 0.86 ^b	6.26 ± 0.85 ^{ab}
18:1	45.64 ± 19.29 ^b	61.98 ± 13.41 ^a	43.61 ± 6.88 ^b	54.38 ± 4.84 ^{ab}
18:2	38.08 ± 13.75 ^{ab}	48.17 ± 14.17 ^a	31.95 ± 6.37 ^b	39.84 ± 4.27 ^{ab}
Total	138.72 ± 57.12 ^{ab}	183.95 ± 41.85 ^a	120.86 ± 20.97 ^b	155.89 ± 14.27 ^{ab}
Triglyceride				
16:0	403.73 ± 129.30 ^a	411.86 ± 84.86 ^a	247.94 ± 34.43 ^b	330.82 ± 57.16 ^{ab}
18:0	46.58 ± 12.61 ^a	42.99 ± 10.40 ^{ab}	25.15 ± 2.13 ^c	33.83 ± 7.35 ^{bc}
18:1	479.81 ± 154.87 ^a	502.04 ± 97.10 ^a	292.91 ± 32.52 ^b	422.45 ± 81.24 ^a
18:2	754.16 ± 265.50 ^a	728.89 ± 185.64 ^a	388.19 ± 35.09 ^b	572.57 ± 131.28 ^{ab}
Total	1684.29 ± 545.95 ^a	1685.77 ± 358.26 ^a	954.19 ± 92.83 ^b	1359.67 ± 274.93 ^{ab}
Free fatty acid				
16:0	1.71 ± 0.09 ^a	1.70 ± 0.80 ^a	1.65 ± 0.07 ^a	1.37 ± 0.07 ^b
18:0	0.86 ± 0.02 ^a	0.80 ± 0.05 ^b	0.79 ± 0.02 ^b	0.77 ± 0.02 ^b
18:1	1.03 ± 0.13 ^{ab}	2.15 ± 0.18 ^a	1.28 ± 0.23 ^a	0.96 ± 0.28 ^b
18:2	1.77 ± 0.22 ^a	1.29 ± 0.18 ^a	1.70 ± 0.14 ^a	1.30 ± 0.35 ^b
Total	5.37 ± 0.43 ^a	5.60 ± 0.49 ^a	5.42 ± 0.40 ^a	4.39 ± 0.67 ^b
Phospholipid				
16:0	1.19 ± 0.15	1.10 ± 0.03	1.18 ± 0.05	1.12 ± 0.07 ^b
18:0	0.89 ± 0.09 ^a	0.76 ± 0.02 ^b	0.77 ± 0.04 ^b	0.83 ± 0.07 ^{ab}
18:1	0.14 ± 0.01 ^a	0.12 ± 0.01 ^b	0.11 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.01 ^b
18:2	0.23 ± 0.03 ^{ab}	0.24 ± 0.03 ^a	0.24 ± 0.03 ^{ab}	0.20 ± 0.02 ^b
Total	2.44 ± 0.27	2.23 ± 0.07	2.30 ± 0.11	2.27 ± 0.16

¹Values are means ± SD, n = 6.

²Values in a row not sharing a common superscript differ (P < 0.05).

[0113]

[0114]

상기 표 12에 나타낸 바와 같이, 부고환지방은 간조직에서와 유사하게 대부분의 지방산은 중성지방 분획에 존재하는 것으로 나타났으며, 중성지방 분획은 다른 실험군들에 비해 특히 과당대조군에서 유의적인 차이로 증가됨을 확인할 수 있었다.

[0115]

실시에 4. 잎새버섯 추출물이 소장지방흡수율 모델에서 소장 콜레스테롤 흡수율에 미치는 영향

[0116]

동물식이 및 사육조건

[0117]

상기 실시예 3과 동일한 동물食이를 사용하였다.

[0118]

또한 흰쥐 흡수 실험모델 개발에 사용된 동물은 수컷 Sprague-Dawley 마우스(Harlan Sprague Dawley, Inc, (주)효창)이며, 최초 평균 체중은 282.6±6.5g이었으며, 창원대학교 식품영양학과 동물사육실(실내온도 22±2 °C, 상대습도 55±5%, ; 12시간 light-dark cycle)에서 자동급수장치가 겸비된 개인별 케이지로 자유롭게 공급된 증류수와 상기 표준 식이를 동물 수술 시까지 공급하였다.

[0119]

미세관 연결 수술을 통한 지방흡수관(lymph duct) 우회 수술(intestinal mesenteric lymph duct-cannulation surgery)

[0120]

림프관 미세수술법(lymph duct cannulation microsurgery)에 따라 주 장간막 림프관(major mesenteric lymph duct)으로 PE(polyethylene) tubing(림프시료 채취관 SV 31, USA)을 삽입한 후 고정하였다. 지방 섭취 시, 소장으로 유입되는 식이성 지방은 소장에서 이 림프관으로 유입된다. 그리고 십이지장 주입관(intraduodenal catheter; OD, 2.1 mm, USA)은 소장의 흡수율을 정량적으로 측정하기 위하여 정밀히 계산되고 미세화된 지방유화액(lipid emulsion)을 정확히 소장으로 주입하기 위해서 위장을 통하여 소장 상부, 즉 십이지장으로 넣기 위해서 삽입한 일종의 지방유화액 미세주입관이다.

[0121] 약 30°C로 유지된 회복실(recovery chamber)에서 약 20시간의 회복시간을 가진 후에, 생체상태 하에서 in-vivo 실험을 실시하였다. 이 회복기간 동안 5% 글루코오스가 포함된 인산완충식염수를 지속적으로 십이지장 주입관(intraduodenal catheter)으로 시간당 3mL씩 주입하였다. 그리고 흡수실험 당일 아침, 실험 직전에 정교하게 조성된 지방유화액(lipid emulsion)을 십이지장 주입관(intraduodenal catheter)으로 시간당 3mL씩, 총 6시간 동안 18mL 지방유화액을 지속적으로 자동펌프장치로 주입하였다. 시간당 3mL씩 6시간 주입되는 동안, 동시에 림프 시료 채취관으로 림프 시료를 채취하였다. 주입된 지방유화액(lipid emulsion)의 조성은 하기 표 13과 같다.

표 13

[0122]

조성	합량
¹⁴ C-콜레스테롤, kBq	33.3
콜레스테롤, μmol	20.0
트리올레인, μmol	451.8
Na-타우로콜산염, μmol	396.0
α -토코페롤, μmol	3.1
레티놀, μmol	75.4
알부민, mg	72.0
잎새버섯 추출물, mg	75.0
PBS 완충액, mL, pH 6.4	24.0

[0123] 지방유화액만을 공급받은 동물군은 대조군(Control), 잎새버섯 추출물을 혼합한 지방유화액을 공급받은 실험군은 잎새버섯군(Maitake)으로 설정하였다. 잎새버섯이 ¹⁴C-cholesterol의 흡수율에 어떤 영향을 미치는지를 점검하기 위해서 잎새버섯 추출물의 형태로 75mg/6h(12.5mg/h)을 지방과 함께 유화시켰다. 대표적인 식이성 지방으로써 콜레스테롤과 트리올레인을 사용하였으며, 이들 농도는 일반적으로 각 지방의 1일 허용섭취량 농도 수준에서 계산하였다. α -토코페롤과 레티놀은 대표적인 지용성 비타민으로, 영양학적인 측면 외에 흡수과정에서 지용성 성분의 지용성 정도가 흡수 단계에 어떤 영향을 미치는지를 점검하기 위해서 지표로서 포함하였다.

[0124] 림프의 ¹⁴C-cholesterol 방사선 양 분석

[0125] 미세관 연결수술을 통해 채취한 6시간 동안의 림프로 흡수된 ¹⁴C-cholesterol 방사선 양을 분석하였다. 당일 채취한 림프시료 중 100 μL 를 채취하여 섬광측정장치(liquid scintillation counter: Wallac 1414, Perkin Elmer Inc., MA, USA)를 이용해 ¹⁴C 방사선 양을 측정하였다. 이때, 총 주입한 방사능 양을 각각 100% dose로 하고 림프시료에 나타난 양을 비교하여 흡수율(%)을 계산하였다. 통계처리는 student's t-test를 이용하여 동물군 간의 차이를 나타내었으며, 각 실험 군을 표준 값과 표준편차(mean $\pm$ SD)로 나타내었다. 각 시간대별로 P의 값이 0.05 이하일 경우를 유의적인 차이가 있는 것으로 판정하였다.

[0126] 실험동물의 십이지장으로 잎새버섯 추출물(maitake extract)을 포함하는 지질유화액(lipid emulsion)을 지속적으로 6시간 동안 주입했을 때, 동시에 6시간 동안 림프순환계로 흡수된 ¹⁴C-콜레스테롤이나 림프의 양은 하기 표 14에 나타내었다.

표 14

[0127]

림프 지질	대조군	잎새버섯 추출물 투여군
림프, mL/8h	15.52 $\pm$ 2.29	13.32 $\pm$ 3.88
¹⁴ C-콜레스테롤, % dose/8h	23.41 $\pm$ 1.00	14.87 $\pm$ 3.65

[0128] 상기 표 14에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 공급에 의해서 림프의 분비량은 대조군에 비해서 감소하는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 6시간 동안 총 분비된 림프의 양은 대조군에서 15.52 $\pm$ 2.29mL이었고, 잎새버섯 추출물 투여군에서 각각 13.32 $\pm$ 3.88mL로 나타났다. 분비된 림프 양이 증가 혹은 감소한다고 해서 함께 흡수되는 지방 성분이 반드시 비례적으로 증가하거나 감소하는 것이 아니기 때문에, 림프의 분비량 변화는 단지 소장 지방 흡수와 관련된 참고 지표로써 비교되는 것이 바람직하겠다.

[0129] 또한 위장을 통한 십이지장으로 잎새버섯 추출물을 포함하는 지방유화액을 6시간 동안 주입했을 때 소장 림프순

환제로 유입되는 ^{14}C -콜레스테롤의 흡수율은 도 7 및 8에 나타내었다.

[0130] 도 7 및 도 8에 도시한 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 잎새버섯 추출물 공급 1시간째부터 6시간째까지의 ^{14}C -콜레스테롤 흡수율은 대조군에 비해 완만하게 증가하는 것으로 나타났고, 증가율이 둔화되어 유의적인 차이로 낮아지는 경향을 보였다. 최종적으로 총 6시간 동안 흡수된 ^{14}C -콜레스테롤 양을 합산해 비교하면, 대조군(Control)에서는 $23.41 \pm 1.00\%$ dose, 잎새버섯 추출물 투여군(Maitake)에서는 $14.87 \pm 3.65\%$ dose으로 나타나, 잎새버섯 추출물의 영향으로 소장에서 콜레스테롤의 흡수율이 63% 정도 억제되는 것으로 나타났다(상기 표 14 참조). 또한 본 발명자의 이전연구에서 확인한 녹차추출물, 수수껍질추출물의 지방흡수억제율이 약 50% 정도인 것과 비교하여 볼 때, 본 실험을 통해 확인한 잎새버섯 추출물의 지방 소화흡수억제율은 63%로 나타나 지방의 소화흡수 억제효과가 크다고 알려진 다른 기능성식품들의 효과와 견주어도 손색이 없는 억제효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

[0131] 제제예 1. 약학 제제의 제조

[0132] 산제 제조

[0133] 잎새버섯 추출물 20mg, 유당 100mg 및 탈트 10mg을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0134] 정제 제조

[0135] 잎새버섯 추출물 10mg, 옥수수전분 100mg, 유당 100mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0136] 캡슐제 제조

[0137] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 잎새버섯 추출물 10mg, 결정성 셀룰로오스 3mg, 락토오스 14.8mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.2mg을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0138] 주사제 제조

[0139] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1앰플당(2mL) 잎새버섯 추출물 10mg, 만니톨 180mg, 주사용 멸균 증류수 2,974mg 및 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 26mg으로 제조하였다.

[0140] 액제 제조

[0141] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 잎새버섯 추출물 20mg, 이성화당 10g 및 만니톨 5g을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합하였다. 그 다음 정제수를 더 가하여 전체 100mL로 조절한 후 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조하였다.

[0142] 제제예 2. 식품 제제의 제조

[0143] 건강식품 제조

[0144] 잎새버섯 추출물 100mg, 비타민 혼합물 적량, 비타민 A 아세테이트 70g, 비타민 E 1.0mg, 비타민 B1 0.13mg, 비타민 B2 0.15mg, 비타민 B6 0.5mg, 비타민 B12 0.2g, 비타민 C 10mg, 비오틴 10g, 니코틴산아미드 1.7mg, 엽산 50g, 판토텐산 칼슘 0.5mg, 무기질 혼합물 적량, 황산제1철 1.75mg, 산화아연 0.82mg, 탄산마그네슘 25.3mg, 제1인산칼륨 15mg, 제2인산칼슘 55mg, 구연산칼륨 90mg, 탄산칼슘 100mg 및 염화마그네슘 24.8mg을 혼합한 다음, 과립을 제조하고 통상의 방법에 따라 건강식품을 제조하였다. 이때, 상기 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0145] 건강음료 제조

[0146] 잎새버섯 추출물을 이용하여 통상의 건강음료 제조방법에 따라 하기 표 15와 같은 조성으로 건강음료를 제조하였다. 하기 표 15의 성분들을 각각 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하여 건강음료를 제조하였다. 이때, 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

표 15

건강음료	조성	비고
A type	잎새버섯 추출물 1L(잎새버섯 5g, 물 2L, 30분간 열수추출), L-아스코르브산나트륨 0.2g, 탄산수소나트륨 0.3g	물대용으로 가볍게 마실 수 있는 타입
B type	잎새버섯 추출물 1L(잎새버섯 5g, 물 2L, 30분간 열수추출), L-아스코르브산나트륨 0.2g, 탄산수소나트륨 0.3g, 구연산 3g, 고과당 70g, 식료농축액 30g	과일쥬스같이 상큼한 맛이 있는 타입
C type	잎새버섯 추출물 1L(잎새버섯 500g, 물 100L, 100kgf/cm ² , 2시간 고온열수추출), L-아스코르브산나트륨 0.2g, 탄산수소나트륨 0.3g, 감초농축액 30g, 가시오가피농축액 50g	엑기스 타입의 농축음료

[0147]

[0148]

실시에 5. 관능평가

[0149]

상기와 같이 제조한 잎새버섯 추출 음료를 이용하여 연령대별(20대, 30대, 40대, 50대)의 소비자 패널 12명을 구성하여 관능평가 및 기호성을 조사하였다. 관능평가는 기호성에서는 매우만족, 만족, 중간, 부족, 매우부족의 5가지 평가를 바탕으로 조사하였으며, 그 결과는 하기 표 16 내지 18에 나타내었다.

표 16

A type	매우만족	만족	중간	부족	매우부족	합계
20대(3명)	2	1				3
30대(3명)	2	1				3
40대(3명)	1	1	1			3
50대(3명)		2	1			3

[0150]

[0151]

A type은 물대신에 마실 수 있는 가벼운 타입으로, 상기 표 16에 나타난 바와 같이, 20대에서는 2명이 매우 만족하였고, 30대에서도 3명중 2명이 매우 만족하였다. 그러나 50대에서는 매우 만족은 0명이고, 만족이 2명으로 나타났다. 이는 연령층이 증가할수록 진하고 자극적인 맛을 선호한 결과라고 판단되었다.

표 17

B type	매우만족	만족	중간	부족	매우부족	합계
20대(3명)	2	1				3
30대(3명)	2	1				3
40대(3명)	2	1				3
50대(3명)	1	2				3

[0152]

[0153]

B type은 과일쥬스와 같이 상큼한 맛이 있는 타입으로, 상기 표 17에 나타난 바와 같이, 20대에서는 2명이 매우 만족하였고, 30대, 40대에서도 2명이 매우 만족하였다. 50대에서는 매우 만족이 1명이고, 만족이 2명으로 나타나 50대는 상대적으로 상큼한 맛의 선호도가 낮음을 알 수 있었다. B type의 경우 식료농축액을 사용함으로써 잎새버섯 특유의 이미, 이취를 감소시키고 기능성은 그대로 유지한 타입으로 여성 패널들에게서 큰 호응이 있었다.

표 18

C type	매우만족	만족	중간	부족	매우부족	합계
20대(3명)		1	2			3
30대(3명)		1	2			3
40대(3명)		2	1			3
50대(3명)	1	2				3

[0154]

[0155]

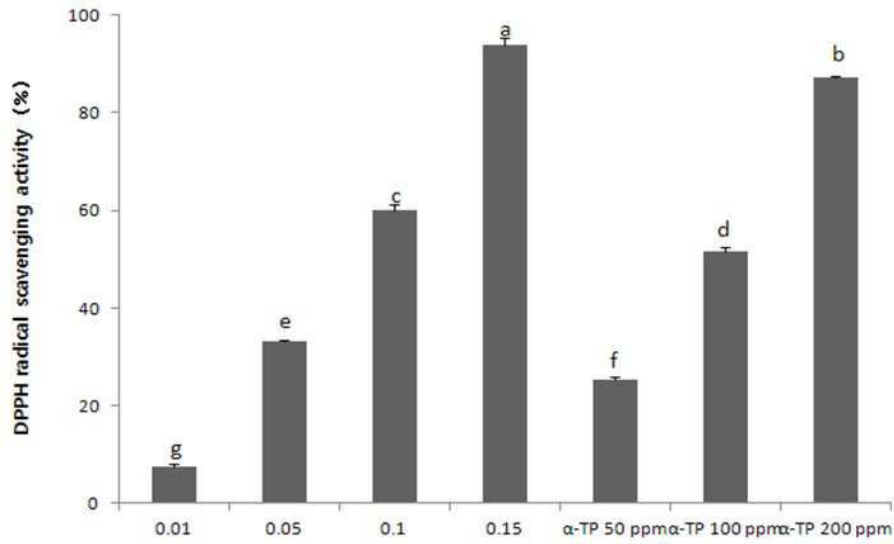
C type은 엑기스 타입의 농축음료로, 상기 표 18에 나타난 바와 같이, 20대, 30대에서는 각각 1명이 만족하였고, 40대, 50대에서는 각각 2명씩 만족하였다.

[0156]

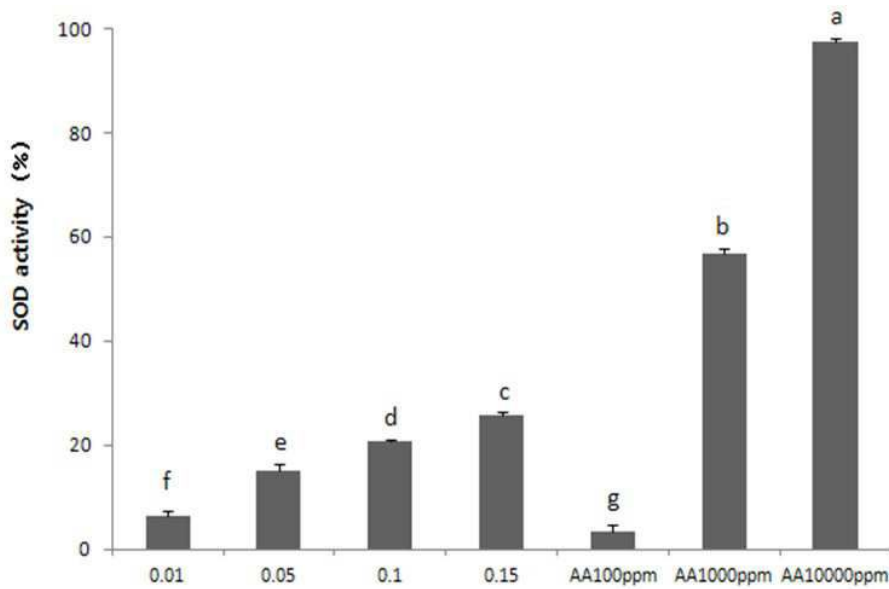
비록 본 발명이 상기에 언급된 바람직한 실시예로서 설명되었으나, 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 또한 첨부된 청구 범위는 본 발명의 요지에 속하는 이러한 수정이나 변형을 포함한다.

도면

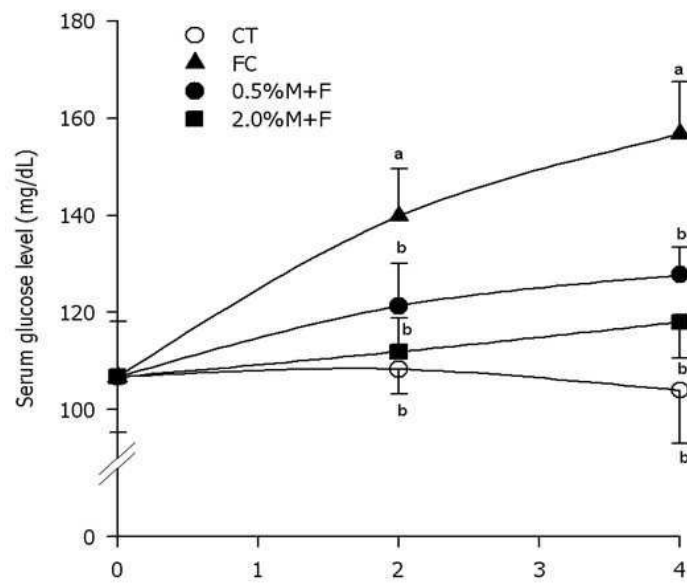
도면1



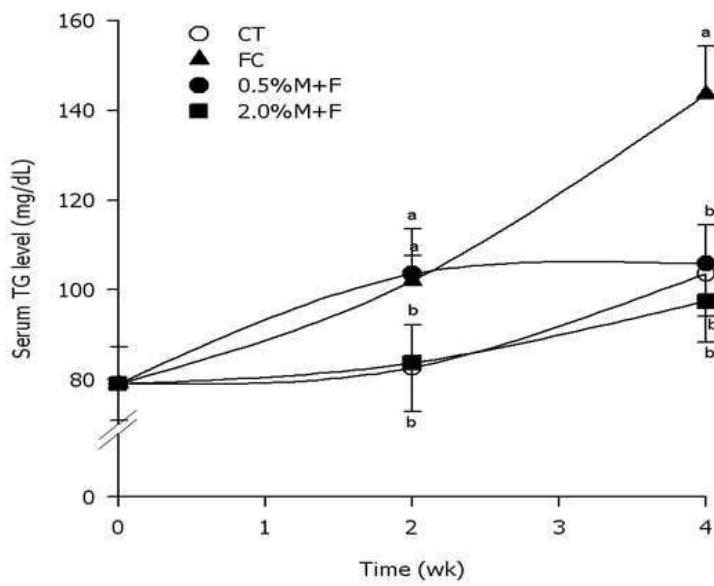
도면2



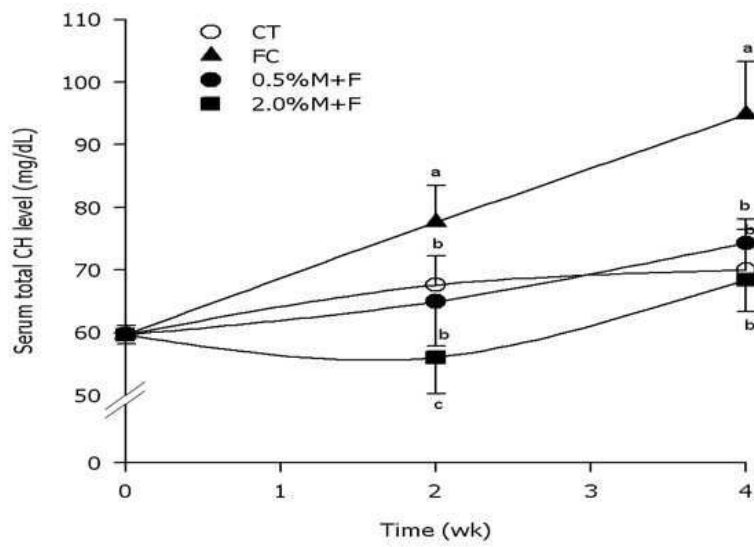
도면3



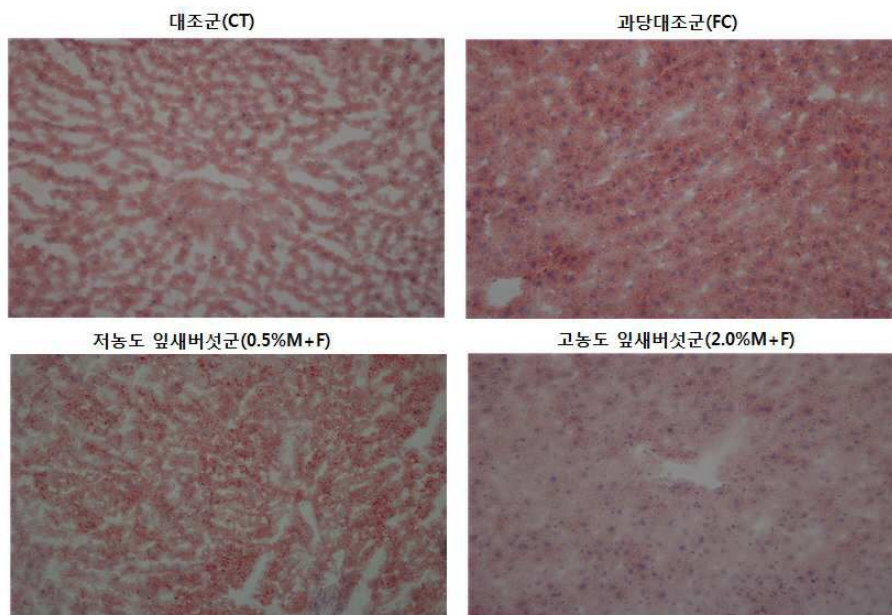
도면4



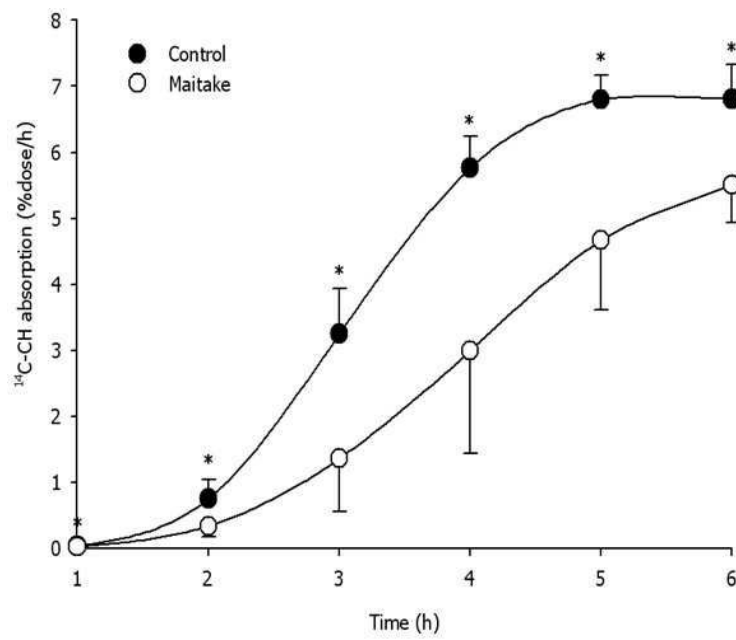
도면5



도면6



도면7



도면8

