(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0052939
(43) 공개일자 2008년06월12일

(51) Int. Cl.
A61K 36/53 (2006.01) *A61K 36/48* (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-0124743
(22) 출원일자 2006년12월08일
심사청구일자 2006년12월08일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제캠퍼스내
(72) 발명자
김호철
서울 동대문구 회기동 65번지 신현대아파트 2동 1404호
김미연
서울 성북구 길음2동 길음뉴타운 224-1401
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

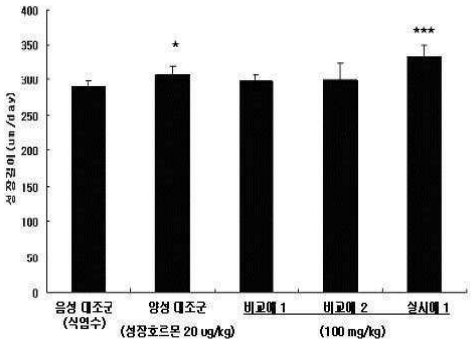
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 생약복합재 추출물을 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 생약복합제 추출물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 속단 및 황기로 구성된 생약복합제 추출물은 효과적으로 성장을 촉진하므로, 성장 촉진용 조성물 및 건강식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

박영미

서울 구로구 구로5동 31-24, 301호

김윤태

인천 부평구 산곡2동 한화아파트 102동 1406호

진 쩐 후아

서울 강북구 미아8동 767-59호

임동욱

서울 동대문구 답십리동 997 세양청마루 Apt 103-102호

고원홍

서울 성북구 정릉2동 508-201 장원아파트 101호

부영민

서울 강동구 고덕1동 현대아파트 103-705

특허청구의 범위

청구항 1

속단 및 황기로 구성된 생약복합제 추출물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 생약복합제 추출물은 속단 1 ~ 5 : 황기 1 ~ 3 (w/w)으로 구성된 생약복합제로부터 추출되는 것을 특징으로 하는 골길이 성장 촉진용 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 생약복합제 추출물은 물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되는 것을 특징으로 하는 골길이 성장 촉진용 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서, 알코올은 C_1 내지 C_4의 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 골길이 성장 촉진용 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서, 저급 알코올은 에탄올인 것을 특징으로 하는 골길이 성장 촉진용 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 추출물은 실온에서 1 ~ 24 시간의 조건에서 추출되는 것을 특징으로 하는 골길이 성장 촉진용 조성물.

청구항 7

제 1항의 조성물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 건강식품.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<7> 본 발명은 생약복합제 추출물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 속단 및 황기로 구성된 생약복합제 추출물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물에 관한 것이다.

<8> 성장이란 신장의 증가를 말하며, 영양과 성장호르몬 등에 의하여 촉진된다. 특히 성장호르몬을 분비하는 뇌를 포함한 신경계는 유년기에 현저하게 생장하고, 그 후는 성장이 완만해진다. 따라서, 사람의 성장은 대부분 사춘기까지의 시기에 대부분 일어나며, 이 시기에 적절한 영양섭취가 이루어지지 않으면 성장이 제대로 이루어지지 않게 된다. 이에 영양의 균형화를 이루기 위하여 많은 성장 촉진용 건강식품이 출시되고 있으나, 단순히 성장을 위하여 도움이 되는 여러 가지 성분들의 조합에만 그침으로써 아직도 그 효과가 만족할 만한 수준에 도달하지 못하였다.

<9> 장골의 길이성장은 신체의 신장과 골격을 결정지으며 특별한 기작에 의해 조절되어 진다. 특히 장골의 근위부 성장판(epiphyseal growth plate)의 성장이 골의 길이 성장과정에 가장 중요한 척도가 된다. 성장판은 연골세포(chondrocyte)를 증식시키는 증식층(proliferation)과 연골세포의 성숙과 비대작용을 하는 성숙층(maturation zone)과 비대층(hypertrophic zone)으로 나누어지고, 이들의 상호작용으로 장골의 길이성장이 이루어진다(Loveridge, N, J. Anim. Sci. 77, 190-196, 1999).

<10> 성장에 필요한 성장호르몬은 오래 전부터 왜소증(矮小症) 환자들의 치료목적으로 사용되어 왔고, 1985년 후반기

에 이르러 유전자 재조합 방식의 성장호르몬이 상품화되기 시작하여 대량 생산 및 공급이 가능해지고 타질환의 위험성도 없어짐에 따라 최근에는 유전자 재조합 방식의 성장호르몬이 성장호르몬 결핍 질환의 치료제로 사용되고 있으며, 생체내의 엔케팔린(enkephalin)을 토대로 성장호르몬 분비활성을 갖는 6개의 아미노산으로 구성된 새로운 성장호르몬 분비 촉진제인 GHRP-6(Growth hormone releasing peptide-6, His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2)가 개발되어(Bowers CY. et al., *Endocrinology*, 114, 1537-45, 1984), 비록 적은 흡수율이지만 경구 투여시에도 흡수가 되는 것으로 보고 되었다(Noriko I. *et al., Life Science*, 47, 29-36, 1990). 이후에 계속적인 연구로 다른 펩티드성 성장호르몬 분비 촉진제인 GHRP-1 (Ala-His-D-β-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2)과 GHRP-2 (D-Ala-D-β-Nal- Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2)라는 6개의 변화된 펩티드로 구성된 성장호르몬 분비 촉진제가 개발되어 보고 되었다. 그러나 이들은 생체내의 활성은 뛰어나지만 경구 투여시 그 흡수율이 2 내지 3 %에 머무르는 등 경구 투여에는 개선의 여지가 많은 것으로 보고 되었다.

<11> 한편, 속단은 산토끼꽃과(川續斷科, dipsacaceae)에 속하는 다년생 초본인 천속단(Dipsacus asper Wall)의 뿌리로, 주된 성분은 숙신산(succinic acid), 베토니신(betonicine), 샨쯔히사이드 메틸 에스테르(shanzhiside methyl ester), 아케비아 사포닌 D(akebia saponin D) 및 daucosterol(도코스테롤)등이 있으며, 전통한의학에서는 보간신(補肝腎), 강근골(强筋骨), 익근골(益筋骨) 및 치요신(治腰腎)의 효능으로 몸이 허해서 발생하는 뼈와 근육이 약해지는 증상을 몸을 보(補)하여 강하게 해주는 약재로 사용되어 왔다. 이에 속단의 성장호르몬 분비촉진 활성을 갖는 글리코알칼로이드인 아스퍼로사포닌 H1의 유도체를 분리, 정제하는 방법에 대한 특허(제10-0436219호)가 등록되어 있으며, 문헌으로는 치은섬유아세포의 세포주기조절에 미치는 영향(유석주 외, 대한치주학회지:35(1), 87, 2005), 마우스 두개골 세포의 분화에 미치는 영향(김동진 외, 대한치주학회지:34(4), 791, 2004), 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향(안덕균 외, 본초분과학회지:9(1), 181, 1994) 조골세포의 분화에 미치는 영향(Chun-Hsu Yao, J Biomed Master Res Part B:Appl Biomaster 75B:277-88, 2005) 등에 대해 보고된 바 있다. 따라서, 속단의 성장에 미치는 영향은 조골세포의 분화를 촉진함으로써 골성장에 효과가 있는 것으로 추측되며, 성장판의 길이성장에 미치는 효과에 대해서는 연구된 바 없다.

<12> 황기는 콩과(豆科, Leguminosae)에 속한 다년생 초본인 황기(astragalus membranceus Bunge)의 주피를 거의 벗긴 뿌리로, 성분으로 자당, 글루코론산(glucoronic acid), 다종의 아미노산, 고미질, 점액질, 콜린(choline), 베타인(betaine) 및 엽산 등을 포함한다. 전통 한의학에서의 효능으로는 보기요약으로서 신체허약, 자한(自汗), 종기, 지갈(止渴), 복통, 신쇠(腎衰), 이농(耳聾), 허천(虛喘), 배농지통(排膿止痛), 음식무미(飮食無味), 식욕부진, 치질, 목적(目赤), 학질(栖疾), 탈항(脫肛), 자궁출혈, 부인대하, 월경불순, 산전산후일절병, 거담수(祛痰嗽), 두통, 석폐심화(瀉肺心火), 이질 및 소아백병 등에 유효하다. 문헌으로는 조혈작용(Ma R. *et al., J Tradit Chin Med.* Sep; 3(3):199-204, 1983), 항산화작용(이춘영, 강원대 농업과학연구소 논문집 15:103, 2004), 토끼의 조골세포분화에 미치는 효과(Xu CJ. et al., Zhong Nan Da Xue xue Bao Yi Xue Ban, Aug;29(4):489-91, 2004), 난소적출쥐에서의 골다공증예방효과(Kim C. *et al., Arch Pharm Res.* Nov;26(11):917-924, 2003) 등이 있으나, 성장판의 길이성장에 대하여 연구된 바는 없는 실정이다.

<13> 이에 본 발명자는 성장 촉진에 이용되는 성장호르몬의 고비용, 저흡수율 및 부작용 등의 문제점을 해결하고자, 천연물을 대상으로 검색하던 중 속단 및 황기를 함유하는 복합생약 추출물이 피하 주사한 성장호르몬보다 성장에 우수한 효과가 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<14> 본 발명의 목적은 속단 및 황기로 구성된 혼합물의 추출물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

<15> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 속단 및 황기로 구성된 생약복합제 추출물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물을 제공한다.

<16> 또한 상기의 조성물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 건강식품을 제공한다.

<17> 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.

<18> 본 발명은 생약복합제 추출물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 조성물을 제공한다.

<19> 생약복합제 추출물은 속단 및 황기(경동시장, 서울)를 건조하여 마쇄한 후, 건조된 시료의 중량의 약 1 내지 20

배, 바람직하게는 약 5 내지 15 배 분량의 물, 에탄올, 메탄올 등과 같은 C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 약 1:0.1 내지 1:10, 바람직하게는 1:0.2 내지 1:5의 혼합비(kg/ℓ)를 갖는 이들의 혼합용매로, 실온에서 약 1 내지 24시간, 바람직하게는 5 내지 15시간 동안, 가장 바람직하게는 6시간 동안 추출하는 것이다. 추출 방법으로는 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 환류냉각 추출한 후 감압 농축함으로써 본 발명의 가용 추출물인 조추출물을 수득할 수 있었다. 이렇게 하여 수득한 속단 및 황기의 생약복합제 추출물을 "HT033"이라 명명하였다.

<20> 본 발명의 복합 생약 추출물의 조성비는 속단 1 ~ 5 중량부, 황기 1 ~ 3 중량부인 것이 바람직하며, 속단 2 ~ 5 중량부, 황기 1 ~ 2 중량부인 것이 더욱 바람직하며, 속단 2 중량부, 황기 1 중량부인 것이 가장 바람직하다.

<21> 생약복합제 추출물의 성장의 측정을 위하여, 흰쥐를 음성 대조군, 실험군 및 양성 대조군의 3개의 군으로 나누어 매일 2회씩 4일 동안 음성 대조군에게는 식염수를, 실험군에게는 복합생약제 추출물(HT033, 실시예 1 내지 5 및 표 1 참조) 또는 단일 약재의 추출물(비교예 1 내지 2 및 표 2 참조)을 각각 경구 투여하였고, 양성 대조군에게는 성장호르몬을 피하 주사하였다. 성장은 성장판에 테트라사이클린(tetracycline)이 침착된 후 성장한 경골부의 길이로 알 수 있으며, 이는 테트라사이클린의 침착으로 발색된 발광선과 성장판과의 간격을 측정함으로써 알 수 있다. 이를 위하여, 3일째에는 흰쥐에 테트라사이클린을 복강 주사하였고 그 후, 48 시간 경과한 5일째에는 흰쥐들을 에테르로 마취하여 희생하였다.

<22> 흰쥐에서 테트라사이클린으로 침착되어 발색된 발광선과 성장판과의 간격을 형광현미경으로 촬영한 후(도 1 참조), 성장을 측정하였다. 그 결과, 복합생약제 추출물(HT033)은 골길이 성장에 영향을 주는 것으로 나타났다. HT033의 투여군(실시예 1 내지 5 및 표 1 참조)의 골길이 성장은 음성 대조군 및 단일 약재의 추출물 투여군(비교예 1 내지 2 및 표 2 참조)의 골길이 성장에 비하여 통계적으로 높았으며, 양성 대조군보다도 우수한 성장 효능을 보였다. 그러나 단일 약재의 추출물 투여군(비교예 1 내지 2 및 표 2 참조)은 음성 대조군보다는 성장이 우수하였으나 양성 대조군보다는 낮았다(표 3 및 도 2 참조). *는 $P< 0.01$을 나타내며, ***는 $P< 0.001$을 나타낸다. 또한 식염수를 투여한 음성 대조군의 성장을 100%로 가정할 경우, 복합생약제 추출물(HT033)을 투여한 실험군의 골길이 성장률은 성장호르몬을 투여한 양성 대조군의 골길이 성장률보다 높게 나타났으나 단일 약재 추출물 투여군(비교예 1 내지 2 및 표 2 참조)의 성장률은 양성 대조군보다 낮았다.(표 3 및 도 3 참조). 그러므로 복합생약제 추출물(HT033)이 성장에 미치는 효과는 단일 약재 추출물보다 우수할 뿐만 아니라 성장호르몬보다도 우수함을 알 수 있다.

<23> 상기의 복합생약제 추출물(HT033)을 마우스에 경구 투여하여 독성 실험을 수행한 결과, 경구 투여 독성시험에 의한 50% 치사량(LD_{50})은 적어도 1,000 ㎎/kg 이상인 안전한 물질로 판단된다.

<24> 생약복합제 추출물(HT033)은 안전한 물질이며, 성장호르몬보다 우수한 골길이 성장의 효과를 나타내므로 골길이 성장 촉진용 조성물로서 제공될 수 있다.

<25> 본 발명의 골길이 성장 촉진용 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 생약복합제 추출물(HT033)을 0.1 내지 50 중량%로 포함하는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 생약복합제 추출물을 함유하는 조성물은 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

<26> 본 발명의 생약복합제 추출물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

<27> 본 발명의 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 목초액을 함유하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

<28> 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 생약복합제 추출액에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 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 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

<29> 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 액제, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제, 주사제제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

<30> 본 발명의 생약복합제 추출물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 생약복합제 추출물은 1일 0.0001 내지 100 ㎎/㎏으로, 바람직하게는 0.001 내지 100 ㎎/㎏으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

<31> 본 발명의 생약복합제 추출물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

<32> 본 발명의 생약복합제 추출물은 독성 및 부작용은 거의 없으므로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 조성물이다.

<33> 또한 상기 본 발명의 조성물을 유효성분으로 함유하는 골길이 성장 촉진용 건강식품을 제공한다.

<34> 생약복합제 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 유제품, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.

<35> 또한, 성장 촉진의 효과를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

<36> 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 생약복합제 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로오스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

<37> 상기 외에 본 발명의 복합생약제 추출물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 생약복합제 추출물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 추출물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<38> 이하 본 발명을 실시예, 실험예 및 제제예에 의해 상세히 설명한다.

<39> 단, 하기 실시예, 실험예 및 제제예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예, 실험예 및 제제예에 한정되는 것은 아니다.

<40> **<실시예 1 내지 5> 생약복합제 추출물(HT033)의 제조**

<41> 경동시장(서울)에서 구입한 속단 및 황기를 건조한 후 각각 표 1과 같은 구성과 중량비가 되도록 중량을 측정하여 마쇄하였다. 시료의 중량의 10배에 해당하는 70% 에탄올을 첨가하여 6 시간 환류가열 추출한 후, 감압 여과하여 추출액과 잔사를 분리하였다. 잔사에 시료 중량의 10배에 해당하는 70% 에탄올(실시예 1 내지 4) 또는 물(실시예 5)을 첨가하여 6 시간 환류가열추출기를 이용하여 추출하였다. 이후 감압회전농축기를 사용하여 감압

농축하여 각각의 농축액을 얻었으며, 이를 이용하여 -70℃에서 동결한 후 동결건조기를 이용하여 분말을 얻어 각각 약재의 수율을 구하였으며, 약재혼합 비율에 따라 얻은 동결건조분말을 혼합하여 최종 추출액(이하 "HT033"이라 명명함)을 하기 실험의 시료로 사용하였다.

표 1

<42> 조성

		속단	황기
실시예 1	중량(g)	40	20
	중량부	2	1
실시예 2	중량(g)	30	30
	중량부	1	1
실시예 3	중량(g)	36	24
	중량부	3	3
실시예 4	중량(g)	37.5	22.5
	중량부	5	3
실시예 5	중량(g)	40	20
	중량부	2	1

<43> **<비교예 1 내지 2> 단일 약재만 포함한 추출물 제조**

<44> 하기의 표 2와 같은 조성비로 이루어진 조성물을 실시예 1 내지 4와 같은 방법으로 추출하여 제조하였다. 본 발명의 성장 효과를 비교하기 위하여 양성 대조군으로는 성장호르몬을 이용하였고, 음성 대조군으로는 식염수를 이용하였다.

표 2

<45> 조성

		속단	황기
비교예 1	중량(g)	60	0
	중량부	1	0
비교예 2	중량(g)	0	60
	중량부	0	1

<46> **<실험예 1> 생약복합제 추출물(HT033)에 의한 성장의 측정**

<47> 생약복합제 추출물(HT033)에 의한 성장의 측정을 위하여, 실험에 이용한 동물은 스프라규-다울리(Sprague-Dawley)계 수컷 흰쥐(3주령)로 대한실험동물(대한민국)로부터 구입하여 사용하였고, 실험절차는 미 국립보건원의 동물관리 지침에 의해서 수행되었다. 온도는 20 ± 2℃, 조명은 07:00~19:00시 사이 조건으로 통일하였으며, 음식과 물은 리비툼(libitum)을 통해 공급되었으며, 쥐의 무게는 매일 측정되었다.

<48> 실험쥐들은 10마리씩 4개의 군으로 나누어, 음성 대조군에게는 식염수를, 실험군에게는 100 mg/kg의 복합생약제 추출물(HT033, 실시예 1 내지 5 및 표 1) 및 100 mg/kg의 단일 약재의 추출물(비교예 1 내지 2 및 표 2)을 매일 2회씩 4일간 경구 투여하였고, 양성 대조군에는 성장호르몬을 20 ㎍/kg 농도로 피하 주사하였으며, 3일째에는 테트라사이클린(tetracycline; 10 mg/kg)을 복강 주사하여 성장판에 침착되게 하였다. 테트라사이클린 주사로부터 48 시간이 경과한 5일째에는 흰쥐들을 에테르로 마취하여 희생하였다.

<49> 실험 5일째 희생한 흰쥐로부터 분리한 족경골은 4% 인산염-완충액 파라포름알데히드(phosphate-buffered paraformaldehyde)에 48 시간 고정시킨 후, 30% 수크로오스(sucrose)용액에 침지시켜 탈수하였다. 이 후 고정된 골조직을 동결한 후 크라요컷(cryocut)을 사용하여 족경골(tibia) 근위부(proximal part)의 시상절편(sagital section)을 매 40 ㎛씩 절편한 후 수집하여 조직 표본으로 사용하였다. 그 후 절편은 길이 성장분석을 위해 사용되었다.

<50> 성장의 측정을 위해 성장판과 테트라사이클린(tetracycline)으로 침착되어 발색한 발광선과의 간격을 형광현미

경으로 측정하였고(Hansson *et al., Calcified Tissue Research,* 10(3), 238, 1972, 도 1), 각 절편마다의 평균값을 산출하였다. 모든 절차는 2명의 관찰자에 의해 맹검법으로 측정되었다. 결과는 평균 ± 표준편차로 표현되었으며, 모든 그룹간의 차이는 스튜던트-T 테스트(Student-T test) 검정법으로 하고 표준편차에서 유의한 차이가 있으나 검정이 적절치 않은 경우에는 크루스칼-왈리스 테스트(Kruskall-Wallis test) 검정법을 이용하였다.

<51> 그 결과, HT033의 투여(실시예 1 내지 5 및 표 1)는 음성 대조군 및 단일 약재의 추출물(비교예 1 내지 2 및 표 2) 투여군 보다 통계적으로 유의하게 성장을 가져왔으며 성장호르몬을 투여한 양성 대조군보다 우수한 골성장 효능을 보였다. 그러나 단일 약재의 추출물(비교예 1 내지 2 및 표 2)을 투여한 군은 음성 대조군보다는 높은 성장력을 보였으나 양성 대조군보다는 낮은 성장을 보였다(표 3 및 도 2). 도 2는 표 3의 결과 중 음성 대조군, 양성 대조군, 비교예 1, 비교예 2 및 실시예 1의 성장을 나타낸 것이다. *는 P< 0.01을 나타내며, ***는 P< 0.001을 나타낸다.

<52> 또한 식염수를 투여한 음성 대조군의 성장을 100%로 하였을 경우, 복합생약제 추출물(HT033, 실시예 1 내지 5 및 표 1) 투여군, 단일 약재의 추출물(비교예 1 내지 2 및 표 2) 투여군 및 양성 대조군의 성장률을 계산하여 보았다. 그 결과, 역시 복합생약제 추출물(HT033, 실시예 1 내지 5 및 표 1) 투여군의 성장률은 음성 대조군, 단일 약재의 추출물 투여군 보다 유의성 있게 높았으며, 양성 대조군보다도 높게 나타났다. 반면, 단일 약재의 추출물(비교예 1 내지 2 및 표 2) 투여군의 성장률은 음성 대조군 보다는 높았으나 양성 대조군 및 복합생약제 추출물(HT033, 실시예 1 내지 5 및 표 1) 투여군보다는 높지 못했다(표 3 및 도 3). 도 3은 표 3의 결과 중 음성 대조군, 양성 대조군, 비교예 1, 비교예 2 및 실시예 1의 성장률을 나타낸 것이다. *는 P< 0.01을 나타내며, ***는 P< 0.001을 나타낸다.

표 3

<53> **성장 및 성장률**

구분	성장(㎛/day)	성장률(%)
음성 대조군(식염수)	290.90 ± 6.23	100 ± 2.14
양성 대조군(성장호르몬)	308.24 ± 12.15*	105.96 ± 4.17*
실시예 1	333.80 ± 15.03***	114.74 ± 5.17***
실시예 2	330.22 ± 20.02	113.52 ± 5.18
실시예 3	331.47 ± 23.21	113.96 ± 6.01
실시예 4	332.40 ± 18.31	114.27 ± 4.74
실시예 5	329.98 ± 15.82	113.43 ± 4.10
비교예 1	297.01 ± 11.53	102.10 ± 3.97
비교예 2	298.08 ± 26.29	102.55 ± 9.04

<54> 통계학적 검정 : student-T test

<55> * : P < 0.01

<56> *** : P < 0.001

<57> 1)계산식 = 100 + (실험군 길이성장 - 음성 대조군 길이성장)/음성 대조군 길이성장*100

<58> **<실험예 2> 생약복합제 추출물(HT033)의 급성 독성실험**

<59> 생약복합제 추출물(HT033)에 대한 급성 독성을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

<60> 4주령의 특정 병원체 부재(SPF, specific pathogens free) ICR계 마우스를 암수 각각 3 마리씩 4개군(암수 각각 3마리/실험군)으로 나누어, 온도 22 ± 3℃, 습도 55 ± 10%, 조명 12L/12D 조건의 동물실 내에서 사육하였다. 마우스는 실험에 사용되기 전 1주일 정도 순화시켰다. 실험 동물용 사료(마우스 및 랫트용, Dyets, 미국) 및 음수를 멸균한 후 공급하였으며 자유 섭취시켰다.

<61> 상기 실시예에서 제조한 생약복합제 추출물(HT033)을 0.5% 트윈(tween) 80에 50 mg/mℓ 농도로 조제한 후, 마우스 체중 20 g 당 0.04 mℓ(100 mg/kg), 0.2 mℓ(500 mg/kg) 및 0.4 mℓ(1,000 mg/kg)씩 경구 투여하였다. 시료는 단회 경구 투여하였으며, 투여 후 7일 동안 다음과 같이 부작용 또는 치사 여부를 관찰하였다. 즉, 투여 당일은 투여 후 1 시간, 4 시간, 8 시간, 12 시간 뒤에, 그리고 투여 익일부터 7 일째까지는 매일 오전, 오후 1 회 이상씩 일반 증상의 변화 및 사망 동물의 유무를 관찰하였다. 또한, 투여 7 일째에 동물을 치사시켜 해부한 후 육안으로 내부 장기를 검사하였다. 투여 당일부터 1일 간격으로 체중의 변화를 측정하여 생약복합제 추출물(HT033)에 의한 동물의 체중 감소 현상을 관찰하였다.

<62> 실험 결과, 시료를 투여한 모든 마우스에서 특기할 만한 임상증상이 나타나지 않았고 폐사된 마우스도 없었으며, 또한 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사, 부검소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다.

<63> 그러므로 생약복합제 추출물(HT033)은 모든 마우스에서 1,000 mg/kg까지 독성변화를 나타내지 않았으며, 경구투여 최소치사량(LD50)이 1,000 mg/kg 이상인 안전한 물질로 판단되었다.

<64> 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

<65> **<제제예 1> 약학적 제제의 제조**

<66> **<1-1> 주사제제의 제조**

<67>	생약복합제 추출물(HT033)	10 mg
<68>	소디움 메타비설파이트	3.0 mg
<69>	메틸파라벤	0.8 mg
<70>	프로필파라벤	0.1 mg
<71>	주사용 멸균증류수	적량

<72> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 방법으로 2 mℓ로 한 후, 2 mℓ 용량의 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조한다.

<73> **<1-2> 정제의 제조**

<74>	생약복합제 추출물(HT033)	200 mg
<75>	유당	100 mg
<76>	전분	100 mg
<77>	스테아린산 마그네슘	적량

<78> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

<79> **<1-3> 캡슐제의 제조**

<80>	생약복합제 추출물(HT033)	10 mg
<81>	유당	50 mg
<82>	전분	50 mg
<83>	탈크	2 mg
<84>	스테아린산 마그네슘	2 mg

<85> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

<86> **<1-4> 액제의 제조**

<87>	생약복합제 추출물(HT033)	1000 mg
<88>	설탕	20 g
<89>	이성화당	20 g

<90> 레몬향 적량

<91> 정제수를 가하여 전체 1000 mℓ로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조한다.

<92> **<제제예 2> 식품의 제조**

<93> **<2-1> 건강식품의 제조**

<94>	생약복합제 추출물(HT033)	1000 mg
<95>	비타민 혼합물	적량
<96>	비타민 A 아세테이트	70 ㎍
<97>	비타민 E	1.0 mg
<98>	비타민 B1	0.13 mg
<99>	비타민 B2	0.15 mg
<100>	비타민 B6	0.5 mg
<101>	비타민 B12	0.2 ㎍
<102>	비타민 C	10 mg
<103>	비오틴	10 ㎍
<104>	니코틴산아미드	1.7 mg
<105>	엽산	50 ㎍
<106>	판토텐산 칼슘	0.5 mg
<107>	무기질 혼합물	적량
<108>	황산제1철	1.75 mg
<109>	산화아연	0.82 mg
<110>	탄산마그네슘	25.3 mg
<111>	제1인산칼륨	15 mg
<112>	제2인산칼슘	55 mg
<113>	구연산칼륨	90 mg
<114>	탄산칼슘	100 mg
<115>	염화마그네슘	24.8 mg

<116> 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, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조(예, 영양캔디 등)에 사용할 수 있다.

<117> **<2-2> 밀가루 식품의 제조**

<118> 생약복합제 추출물(HT033) 0.1 ~ 10.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 통상의 방법으로 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

<119> **<2-3> 스프 및 육즙(gravies)의 제조**

<120> 생약복합제 추출물(HT033) 0.1 ~ 1.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 통상의 방법으로 건강 증진용 육가공제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.

<121> **<2-4> 그라운드 비프(ground beef)의 제조**

<122> 생약복합제 추출물(HT033) 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 통상의 방법으로 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.

<123> **<2-5> 유제품(dairy products)의 제조**

<124> 생약복합제 추출물(HT033) 0.1 ~ 1.0 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 통상의 방법으로 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

<125> **<2-6> 선식의 제조**

<126> 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

<127> 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 쪄서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

<128> 생약복합제 추출물(HT033)을 진공 농축기에서 감압, 농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

<129> 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 생약복합제 추출물(HT033)의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 통상의 방법으로 제조하였다.

<130> 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부),

<131> 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),

<132> 생약복합제 추출물(HT033)의 건조분말(1 중량부),

<133> 영지(0.5 중량부),

<134> 지황(0.5 중량부)

<135> **<제제예 3> 음료의 제조**

<136> **<3-1> 건강 음료의 제조**

<137>	생약복합제 추출물(HT033)	1000 mg
<138>	구연산	1000 mg
<139>	올리고당	100 g
<140>	매실농축액	2 g
<141>	타우린	1 g
<142>	정제수를 가하여 전체	900 mℓ

<143> 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

<144> 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

<145> **<3-2> 야채쥬스의 제조**

<146> 생약복합제 추출물(HT033) 0.5 g을 토마토 또는 당근 등의 야채의 쥬스 1,000 mℓ에 가하여 통상의 방법으로 건강 증진용 야채쥬스를 제조하였다.

<147> **<3-3> 과일쥬스의 제조**

<148> 생약복합제 추출물(HT033) 0.1 g을 사과 또는 포도 등의 과일의 쥬스 1,000 mℓ에 가하여 통상의 방법으로 건강 증진용 과일쥬스를 제조하였다.

발명의 효과

<149> 상기와 같이, 본 발명의 속단 및 황기로 구성된 생약복합제 추출물은 성장에 효과를 나타내므로, 골길이 성장 촉진용 조성물에 이용될 수 있을 뿐 아니라 건강식품으로도 활용 가능하다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 흰쥐에 테드라사이클린(tetracycline) 주사 후, 침착된 후지경골 골단부 성장판에 침착되어 발생하는 발광을 형광현미경으로 촬영한 사진이다:

<2> A: 식염수 투여군; B: 성장호르몬(20 ㎍/kg) 투여군; 및 C: 생약복합제 추출물(HT033, 100 mg/kg) 투여군.

<3> 도 2는 흰쥐에 테트라사이클린 주사한 뒤 48시간 후, 성장판과 발광선과의 간격을 측정한 그래프이다:

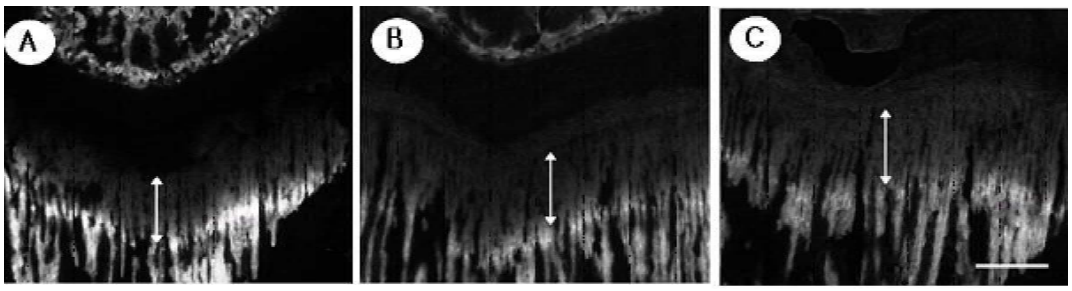
<4> *: P< 0.01; 및 ***: P< 0.001.

<5> 도 3은 흰쥐에서의 성장률을 나타낸 그래프이다:

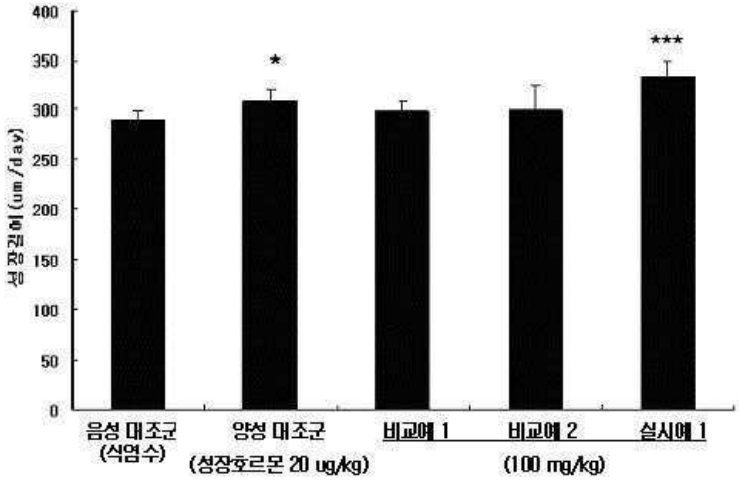
<6> *: P< 0.01; 및 ***: P< 0.001.

도면

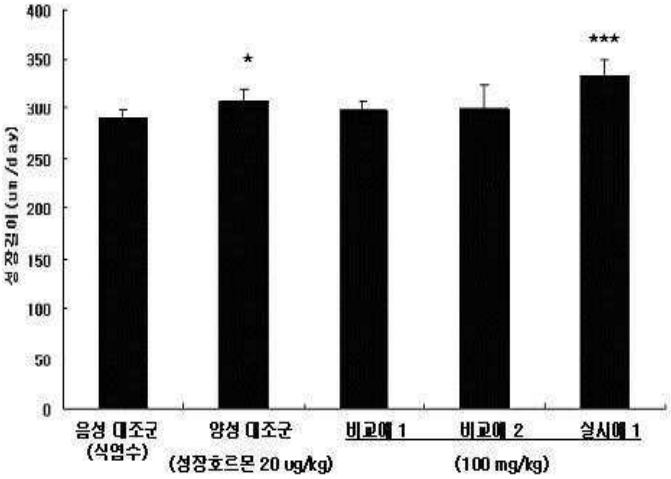
도면1



도면2



도면3


400
350
300
250
200
150
100
50
0
성장길이 (um/day)
*
***
음성 대조군
(식염수)
양성 대조군
(성장호르몬 20 ug/kg)
비교예 1
비교예 2
실시예 1
(100 mg/kg)