



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0037292
(43) 공개일자 2017년04월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/736 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/736 (2013.01)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2015-0136686

(22) 출원일자 2015년09월25일

심사청구일자 2015년09월25일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

관정훈

충청남도 연기군 조치원읍 세종로 2511, 과학기술대학 523호 (고려대학교 세종캠퍼스)

김준호

충청남도 연기군 조치원읍 세종로 2511, 과학기술대학 517호 (고려대학교 세종캠퍼스)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

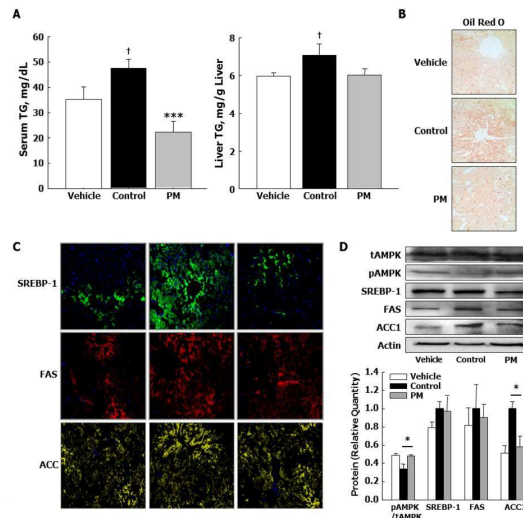
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 매실 추출물을 포함하는 알코올성 간질환의 예방, 개선 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 알코올성 간질환의 예방, 개선 및 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 약제학적 및 식품 조성물은 알코올 섭취에 의한 혈청 및 간 조직 내의 지방 축적을 감소시키고, 간세포 사멸을 억제하는 효과를 나타내므로 알코올성 간질환을 예방하거나, 치료하는데 효과적으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23V 2200/30 (2013.01)

(72) 발명자

이진협

세종특별자치시 조치원읍 섬골길 59, 101동 1003
호(세종e편한세상아파트)

김영준

서울특별시 서초구 효령로77길 20, 1107호 (서초동, 현대ESA아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 알코올성 간질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물의 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 유기용매는 저급 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매인 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 저급 알코올 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 에탄올 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 헥산 추출물인 약제학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 알코올성 간질환은 알코올성 지방간, 알코올성 간염, 및 간경변증으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상인 약제학적 조성물.

청구항 8

매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 간질환의 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물의 추출물인 식품 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 유기용매는 저급 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매인 식품 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 저급 알코올 추출물인 식품 조성물.

청구항 12

제8항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 에탄올 추출물인 식품 조성물.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 매실 추출물은 매실의 헥산 추출물인 식품 조성물.

청구항 14

제8항에 있어서,

상기 알코올성 간질환은 알코올성 지방간, 알코올성 간염, 및 간경변증으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상인 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 매실 추출물의 알코올성 간질환의 예방, 개선 및 치료를 위한 신규 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 알코올의 섭취는 지방간부터 심각하게는 간경변에 이르는 넓은 범위의 간질환을 유발하며, 전 세계적으로 간질환에 의한 사망의 주요 원인 중 하나이다.

[0004] 알코올의 섭취는 위나 장에서 흡수되어 간에서 알코올 가수분해효소(alcohol dehydrogenase, ADH), 카탈라아제

(catalase) 또는 알코올 대사에 의해 유도되는 알데히드 산화효소(aldehyde oxidase) 등에 의하여 산화성 대사가 이루어져 아세트알데히드(acetaldehyde)와 함께 체내 활성 산소(reactive oxygen species, ROS)를 생산한다. 장기적으로 알코올 섭취를 할 경우 아세트알데히드와 ROS의 생성량이 과도하게 증가하며, 순차적으로 대사되는 과정에서 세포막 지질의 과산화를 일으키고, DNA, 단백질 등의 산화, 미토콘드리아의 기능장애 등을 초래한다. ROS에 미토콘드리아의 노출은 세포 기관에 산화적 손상을 일으켜 세포 사멸을 유도한다. 많은 연구 결과에서 알코올에 의해 생성된 ROS가 미토콘드리아의 기능장애를 통한 간세포 사멸 및 간손상을 유발시킨다고 보고되었으며, 또한 알코올의 대사체가 글루타티온(glutathione, GSH)를 감소시켜 세포 사멸에 연계된 간손상을 가져온다고 보고되었다. 뿐만 아니라 알코올의 섭취는 간에서 염증반응을 자극하여 지방간염을 유발하는 것으로 보고되었다. 따라서 항산화, 항염증, 항비만 등의 효능을 갖는 소재의 발견이 알코올성 간질환의 예방 및 치료를 위해 요구되고 있다.

[0005] 한편, 매실은 매화나무(*Prunus mume* Sieb. Et Zucc)의 열매로서 장미과에 속하며, 주로 차, 잼, 장아찌 등의 형태로 섭취한다. 매실의 널리 알려진 항산화 효능 때문에 매실은 다양한 대사성 질환 예방 효능이 있다고 보고되어왔다. 이러한 매실의 항산화 효능은 알코올성 간질환의 예방에도 효과가 있을 것으로 보고, 이에 본 발명자는 매실 추출물을 이용하여 본 발명의 알코올성 간질환의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 알코올성 간질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물과 상기 추출물을 포함하는 알코올성 간질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명자들은 알코올의 섭취에 의한 알코올성 간질환에 대하여 천연물을 대상으로 연구를 진행하던 중 매실 추출물이 혈청 및 간 조직 내의 지방 축적을 감소시키고 간세포 사멸을 억제하여 알코올성 간질환을 예방 또는 치료하는 효과를 갖고 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0010] 본 발명은 매실 추출물의 알코올성 간질환의 예방 및 치료를 위한 신규 용도, 매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 알코올성 간질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물, 치료상 유효량의 매실 추출물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는 알코올성 간질환의 예방 및 치료방법을 제공한다.

[0011] 하기 실시예에서는, 매실 추출물의 투여 후 알코올을 투여했을 경우 혈청 및 간 조직 내의 지방 축적이 감소하고, 간세포 사멸이 억제되는 효과를 확인하였으며, 매실 추출물이 간 조직 내의 지방합성 관련 단백질을 감소시키는 것을 확인하였다. 따라서, 매실 추출물은 알코올성 간질환의 예방 및 치료용 조성물의 유효성분으로서 사용될 수 있다.

[0012] 본 발명에 있어서, 매실 추출물은 압착법 또는 용매추출법에 의해 얻어진 추출물을 모두 포함한다.

[0013] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 매실 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물을 추출 용매로서 이용하여 매실로부터 추출된 것일 수 있다. 이때 사용되는 유기용매의 종류나 물과 유기용매의 혼합 비율은 특별히 제한되지 않는다.

[0014] 예를 들어, 상기 유기용매는 저급 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매일 수 있다. 상기 저급 알코올은 탄소수 1 내지 6의 알코올일 수 있다. 예를 들어, 저급 알코올로는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올, 노말-부탄올, 1-펜탄올, 2-부톡시에탄올 또는 에틸렌글리콜 등을 이용할 수 있다. 유기용매는 이 외에도 아세트산, DMFO(dimethyl-formamide), DMSO(dimethylsulfoxide) 등의 극성 용매, 아세토나이트릴, 에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 플루오로알칸, 펜탄, 2,2,4-트리메틸펜탄, 데칸, 사이클로헥산, 사이클로펜탄, 디이소부틸렌, 1-펜텐, 1-클로로부탄, 1-클로로펜탄, o-자일렌, 디이소프로필 에테르, 2-클로로프로판, 톨루엔, 1-클로로프로판, 클로로벤젠, 벤젠, 디에틸 에테르, 디에틸 설파이드, 클로로포름, 디클로로메탄, 1,2-디클로로에탄, 어닐린, 디에틸아민, 에테르, 사염화탄소 및 THF(Tetrahydrofuran) 등의 비극성 용매를 사용할 수도 있다.

- [0015] 한 구체예에서, 상기 매실 추출물은 매실의 열수 추출물 또는 저급 알코올 추출물일 수 있다. 바람직하게는 매실의 에탄올 추출물일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 매실 추출물은 매실의 헥산 추출물일 수 있다. 본 명세서에서, 유기 용매의 추출물은 유기용매 단독 또는 유기용매와 물의 혼합 용매를 추출 용매로 이용하여 추출한 것을 모두 포함한다. 예를 들어, 매실의 에탄올 추출물은 에탄올 단독을 추출 용매로 사용한 추출물뿐만 아니라, 물과 에탄올의 혼합 용매를 이용하여 추출한 추출물도 포함한다.
- [0016] 예를 들어, 본 발명의 매실 추출물은 씨를 제거한 매실에 중량의 10배 내지 20배, 바람직하게는 15배(w/v)의 물, 에탄올, 메탄올, 부탄올 등의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매, 바람직하게는 물 또는 5 내지 95% 에탄올에 상온 추출법, 가열 추출법, 초음파 추출법, 환류 추출법 등의 통상적인 추출 방법, 바람직하게는 상온 추출법으로 상온에서 1 내지 20시간, 바람직하게는 8 내지 16시간 동안 추출하는 제 1단계; 상기 단계에서 수득한 추출물을 여과하여 감압 농축하는 제 2단계; 이를 -50℃ 내지 -20℃에서, 바람직하게는 -45℃ 내지 -20℃에서, 12 내지 72시간, 바람직하게는 12 내지 50시간 동안 동결건조하는 제 3단계의 제조방법을 통하여 본 발명의 매실 추출물을 수득할 수 있다.
- [0017] 본 명세서에서 사용되는 용어 '추출물'은 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉, 매실 추출물은 상술한 추출 용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것도 포함한다. 또한, 상기 추출물이나 분획물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피 (크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 매실 추출물에 포함된다.
- [0018] 한 구체예에서, 상기 매실 추출물은 매실의 유기용매 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 매실 추출물은 매실의 저급 알코올 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있다. 예를 들어, 상기 매실 추출물은 매실의 에탄올 추출물을 헥산으로 재분획한 분획물일 수 있다.
- [0019] 본 명세서에서 사용되는 용어 '매실 추출물'은 매실에 추출 용매를 처리하여 얻은 조추출물 뿐만 아니라 매실 추출물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 매실 추출물은 감압 증류 및 동결건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.
- [0020] 본 발명의 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 매실 추출물을 0.01 내지 50 중량%으로 포함할 수 있다. 이러한 조성은 이에 한정되는 것은 아니며, 매실 추출물의 농도, 본 발명의 조성물이 투여되는 대상체의 상태, 질환의 종류 및 진행 정도 등에 따라 변할 수 있다.
- [0021] 한편, 본 명세서에서 용어 '유효성분으로 포함하는'이란 매실 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명의 조성물 내에서 매실 추출물은 예를 들어, 0.01 mg/ml 이상, 바람직하게는 0.05 mg/ml 이상, 보다 바람직하게는 0.1 mg/ml 이상, 보다 더 바람직하게는 1mg/ml 이상 포함된다. 매실 추출물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 매실 추출물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.
- [0022] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적 조성물 또는 식품 조성물로 활용될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [0024] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화될 수 있다.
- [0025] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트라케칸스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.
- [0026] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서,

식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0027] 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0028] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.

[0029] 본 발명의 약제학적 조성물의 적절한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.0001 내지 10g/kg이다.

[0030] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0032] 본 발명은 또한 매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 알코올성 간질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0033] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약제학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.

[0034] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 매실 추출물뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 매실 추출물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0035] 본 발명은 상기 매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 알코올성 간질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다. 건강기능식품이란, 매실 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품에 있어서의 매실 추출물의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.

[0036] 본 발명은 또한 알코올성 간질환의 예방, 개선 및 치료용 의약 또는 식품의 제조를 위한 상기 매실 추출물의 용도를 제공한다. 상기한 바와 같이 매실 추출물은 알코올성 간질환의 예방, 개선 및 치료를 위한 용도로 이용될 수 있다.

- [0037] 또한, 본 발명은 포유동물에게 유효량의 매실 추출물을 투여하는 것을 포함하는 알코올성 간질환의 예방, 개선 및 치료 방법을 제공한다.
- [0038] 여기에서 사용된 용어 '포유동물'은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.
- [0039] 여기에서 사용된 용어 '유효량'은 연구자, 의사, 또는 기타 임상가에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 해당 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효성분에 대한 유효량 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, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 예방, 치료 또는 개선 방법에 있어서, 성인의 경우, 매실 추출물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.001 mg/kg 내지 10g/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.
- [0040] 본 발명의 치료방법에서 매실 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

발명의 효과

- [0042] 본 발명의 약제학적 및 식품 조성물은 알코올 섭취에 의한 혈청 및 간 조직 내의 지방 축적을 감소시키고, 간세포 사멸을 억제하는 효과를 나타내므로 알코올성 간질환을 예방하거나, 치료하는데 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0044] 도 1은 매실의 에탄올 추출물의 투여 과정을 나타낸 것이다.
- 도 2A는 혈청 및 간 조직 내의 중성지방의 측정된 결과를 보여준다(vehicle: 무처리 대조군, control: 알코올 대조군, PM: 75% EtOH 매실 추출물).
- 도 2B는 간 조직 내의 지방을 Axiovert 40 CFL 현미경을 통해 관찰한 결과를 보여준다(vehicle: 무처리 대조군, control: 알코올 대조군, PM: 75% EtOH 매실 추출물).
- 도 2C 및 도 2D는 간 조직에서의 지방합성 관련 단백질을 측정된 결과를 나타낸 것이다(vehicle: 무처리 대조군, control: 알코올 대조군, PM: 75% EtOH 매실 추출물).
- 도 3A 및 도 3B는 알코올에 의한 간 조직 내의 세포 사멸을 관찰하기 위하여 TUNEL 기법 및 형광현미경을 이용하여 관찰한 결과를 나타낸다(vehicle: 무처리 대조군, control: 알코올 대조군, PM: 75% EtOH 매실 추출물).
- 도 3C는 혈청에 존재하는 염증성 사이토카인의 수준을 측정된 결과를 보여준다(vehicle: 무처리 대조군, control: 알코올 대조군, PM: 75% EtOH 매실 추출물).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0045] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

- [0047] [제조예] 매실 추출물의 제조

- [0048] 씨를 제거한 매실 과육과 과피 50g을 마쇄하여 1L의 75% 주정 에탄올에서 12시간 동안 25℃에서 상온 추출한

후, 추출물을 whatman No.41 여과지(Whatman Int. Ltd., Maidstone, UK)에 감압 여과 및 농축하여 매실 추출물을 제조하였다. 여과 및 농축한 후, 동결건조하여 -20℃에 보관하여 하기 실험예의 시료로 사용하였다.

[실시예]

실험용 생쥐는 8주령의 수컷 C57BL/6G를 중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 구매하여 사용하였으며, 일주일의 적응 기간 이후 실험을 수행하였다. 적응 기간 이후, 무처리 대조군(vehicle, 0.9% saline), 알코올 대조군(control, 주정 1g/kg of body weight), 매실 추출물+알코올 실험군(PM, 100mg/kg of body weight)으로 구분하였으며, 복강 투여법으로 5일간 투여하였다. 도 1에 투여 과정을 나타내었다. 매실 추출물의 간 조직의 보호 효능을 평가하기 위하여 매실 추출물의 투여 30분 후 알코올을 투여하였다. 마지막으로, avertin (2,2,2-Tribromoethanol, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 이용하여 생쥐를 마취시키고 혈액과 간 조직을 적출하였다.

[실험예 1]

1) 혈청 및 간 조직 내의 중성지방 측정 실험

상기 실시예에서 생쥐의 심장 혈액을 채혈하여 원심분리하여 중성지방을 측정하였다. 혈청 중성지방의 측정은 serum triglyceride determination kit (Sigma-Aldrich, USA)를 이용하여 측정하였다. 간 조직 내의 중성지방의 측정은 ethanolic KOH를 이용하여 조직을 비누화 (saponification)시킨 후, 1M의 $MgCl_2$ 로 중성화시킨 다음 serum triglyceride determination kit (Sigma-Aldrich, USA)를 이용하여 측정하였다. 그 결과를 도 2A에 나타내었다.

도 2A에서 보는 바와 같이, 알코올을 5일간 투여하였을 때 혈청 및 간 조직 내의 중성지방이 무처리 대조군(vehicle) 대비 각각 약 25%와 약 15% 증가한 것을 확인할 수 있다. 반면 매실 추출물과 알코올을 투여한 실험군(PM)의 경우, 혈청 및 간 조직 내의 중성지방이 알코올 대조군(control) 대비 감소한 것을 확인할 수 있다.

2) Oil Red O 염색을 통한 간 조직에 축적된 지방 확인 실험

상기 실시예에서 생쥐의 간 조직의 적출 직후, 4%의 paraformaldehyde(PFA)에 고정하였다. 고정된 간 조직으로 OCT block을 제작한 뒤 5μm의 두께로 동결절편하여 조직 염색에 사용하였다. 동결절편한 간 조직을 PBS(인산완충용액)로 10분씩 3회 세척하고, Oil Red O 용액(Sigma-Aldrich, USA)으로 상온에서 1시간 염색한 뒤 PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 염색된 간 조직 절편은 Axiovert 40 CFL 현미경(Carl Zeiss AG, Germany)을 이용하여 관찰하였다. 그 결과를 도 2B에 나타내었다.

도 2B에서 보는 바와 같이, 알코올 대조군(control)과 비교하여 실험군(PM)에서 축적된 지방이 감소한 것을 확인할 수 있다.

3) 지방합성 관련 단백질 측정 실험

동결절편한 간 조직을 PBS 수세 후 0.2%의 Triton X-100으로 10분간 세포 침투(permeabilization) 처리한 후, 10%의 goat serum으로 상온에서 30분간 블로킹하였다. 이후, 1:100으로 희석된 SREBP-1 (Sterol regulatory element-binding protein), FAS(Fatty acid synthase), ACC1(Acetyl-Coenzyme A carboxylase 1) 1차항체를 4℃에서 overnight하였으며, PBS 세척 후 형광물질이 결합된 2차 항체를 상온에서 30분간 반응시켰다. DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)를 이용하여 핵 염색한 뒤 형광현미경으로 관찰한 사진을 도 2C에 나타내었다.

간 조직 50 mg을 0.5mL의 RIPA buffer에 넣은 후 균질화 및 초음파 파쇄하여 추출하였다. 이것을 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 단백질을 분리하였으며, 총 단백질 양은 Bradford 법으로 정량하였다. 동일한 양의 단

백질은 12% SDS-PAGE를 통하여 분리하여 니트로셀룰로소막(nitrocellulose membrane)으로 전이하였다. 니트로셀룰로소막은 3%의 BSA(bovine serum albumin)와 0.1%의 tween 20을 함유한 PBS로 30분간 블로킹한 후, 1차 항체와 4℃에서 10시간 동안 반응시켰다. 니트로셀룰로소막은 PBS로 세척한 후 horseradish peroxidase가 결합된 2차 항체와 상온에서 1시간 동안 반응시켰으며, PBS 세척 후 ImageQuant LAS 4000(General Electric, Pittsburgh, PA, USA)을 이용하여 밴드를 검출하였다. 각 밴드는 ImageJ software(Rasband W S, ImageJ, US National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA)를 이용하여 정량하였다. 그 결과를 도 2D에 나타내었다.

[0068] 도 2C 및 도 2D에서 보는 바와 같이, 간 조직의 지방합성 관련 단백질인 SREBP-1, ACC1, FAS의 발현 또한 매실 추출물에 의하여 감소된 것을 확인하였다. 또한, 알코올에 의하여 감소된 AMPK의 활성이 매실 추출물의 투여 시 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있다.

[0070] [실험예 2]

[0071] 1) 알코올성 간세포 사멸에 대한 매실 추출물의 효능 평가

[0072] 알코올에 의한 간 조직 내의 세포 사멸(apoptosis)을 관찰하기 위하여 terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling(TUNEL) 기법을 이용하였으며, Fluorescein in situ cell death detection kit (DeadEND Fluorometric TUNEL System, Promega, Madison, WI, USA)를 사용하였다. 조직의 핵은 4'6-diamidino-2-phenylindole(DAPI)로 염색하였으며, 형광현미경을 이용하여 관찰하였다. 세포 사멸이 일어난 조직 내 세포는 Fluorescein isothiocyanate (FITC)로 표지되어 녹색 형광으로 관찰되었다. 그 결과를 도 3A 및 도 3B에 나타내었다. 도 3A의 결과에서 순서대로 각각 무처리 대조군(vehicle), 알코올 대조군(control), 실험군(PM)을 나타낸다.

[0074] 도 3A 및 도 3B에서, 알코올성 간세포 사멸에 대한 매실 추출물의 효능을 평가하기 위하여 세포 사멸의 주요 바이오마커인 caspase-3와 PARP의 활성 수준을 확인한 결과, 알코올에 의하여 증가된 caspase-3와 PARP의 활성이 매실 추출물에 의하여 유의적으로 감소한 것을 확인하였으며, 간세포 사멸의 직접적인 바이오 마커인 TUNEL 분석에서 매실 추출물에 의한 TUNEL 양성 신호가 알코올 대조군(control) 대비 크게 감소하였다.

[0076] 2) 염증성 사이토카인 측정 실험

[0077] 혈청에 존재하는 다양한 염증성 사이토카인의 수준을 측정하기 위하여 mouse cytokine antibody array kit로 Panel A(ARY006, R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하였다. 동일 용량의 혈청을 사이토카인 항체들로 코팅된 막에 처리한 뒤, ImageQuant LAS 4000(General Electric, Pittsburgh, PA, USA)을 이용하여 분석하였으며, ImageJ software(Rasband W S, ImageJ, US National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA)를 이용하여 정량하였다. 그 결과를 도 3C에 나타내었다.

[0079] 알코올은 간 대식세포인 쿠퍼 세포(kupffer cell)을 민감화시켜 TNF- α , IL-1 β 등의 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)을 과생성한다. 과생성된 전염증성 사이토카인은 간세포의 기능장애, 세포 사멸 간 섬유화 등의 간손상을 유발하는 것으로 알려져 있다. 도 3C에서 보는 바와 같이, 매실 추출물을 투여한 실험군(PM)에서는 알코올에 의하여 증가된 다양한 전염증성 사이토카인의 과생성을 억제하는 것을 확인할 수 있다.

[0082] 이하, 본 발명의 추출물을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0084] [제제예 1] 산제의 제조

[0085] 매실 추출물 20mg

[0086] 유당 100mg

[0087] 탈크 10mg

[0089] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[제제예 2] 정제의 제조

[0092] 매실 추출물 10 mg

[0093] 옥수수전분 100 mg

[0094] 유당 100 mg

[0095] 스테아린산 마그네슘 1 mg

[0096] 미결정 셀룰로오스 84 mg

[0097] 포비돈 3 mg

[0098] 소듐스타치글라이콜레이트 2 mg

[0100] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[제제예 3] 캡셀제의 제조

[0103] 매실 추출물 10 mg

[0104] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0105] 락토오스 14.8 mg

[0106] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0108] 통상의 캡셀제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡셀제를 제조한다.

[제제예 4] 주사제의 제조

[0111] 매실 추출물 10 mg

[0112] 만니톨 180 mg

[0113] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0114] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg

[0116] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 mL) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[제제예 5] 액제의 제조

[0119] 매실 추출물 20 mg

- p>[0120] 이성화당 10 g
p>[0121] 만니톨 5 g
p>[0122] 정제수 적량
- [0124] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
- [0126] **[제제예 6] 건강식품의 제조**
- p>[0127] 매실 추출물 1000 mg
p>[0128] 비타민 혼합물 적량
p>[0129] 비타민 A 아세테이트 70
- μg
- p>[0130] 비타민 E 1.0 mg
p>[0131] 비타민 B1 0.13 mg
p>[0132] 비타민 B2 0.15 mg
p>[0133] 비타민 B6 0.5 mg
p>[0134] 비타민 B12 0.2
- μg
- p>[0135] 비타민 C 10 mg
p>[0136] 비오틴 10
- μg
- p>[0137] 니코틴산아미드 1.7 mg
p>[0138] 엽산 50
- μg
- p>[0139] 판토텐산 칼슘 0.5 mg
p>[0140] 무기질 혼합물 적량
p>[0141] 황산제1철 1.75 mg
p>[0142] 산화아연 0.82 mg
p>[0143] 탄산마그네슘 25.3 mg
p>[0144] 제1인산칼륨 15 mg
p>[0145] 제2인산칼슘 55 mg
p>[0146] 구연산칼륨 90 mg
p>[0147] 탄산칼슘 100 mg
p>[0148] 염화마그네슘 24.8 mg
- [0150] 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, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
- [0152] **[제제예 7] 건강 음료의 제조**

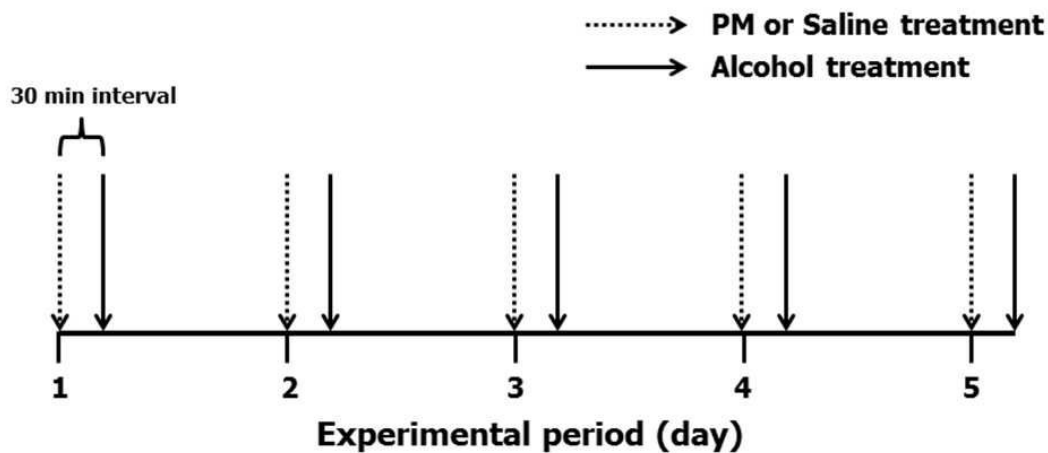
- [0153] 매실 추출물 1000 mg
- [0154] 구연산 1000 mg
- [0155] 올리고당 100 g
- [0156] 매실농축액 2 g
- [0157] 타우린 1 g
- [0158] 정제수를 가하여 전체 900 ml

[0160] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

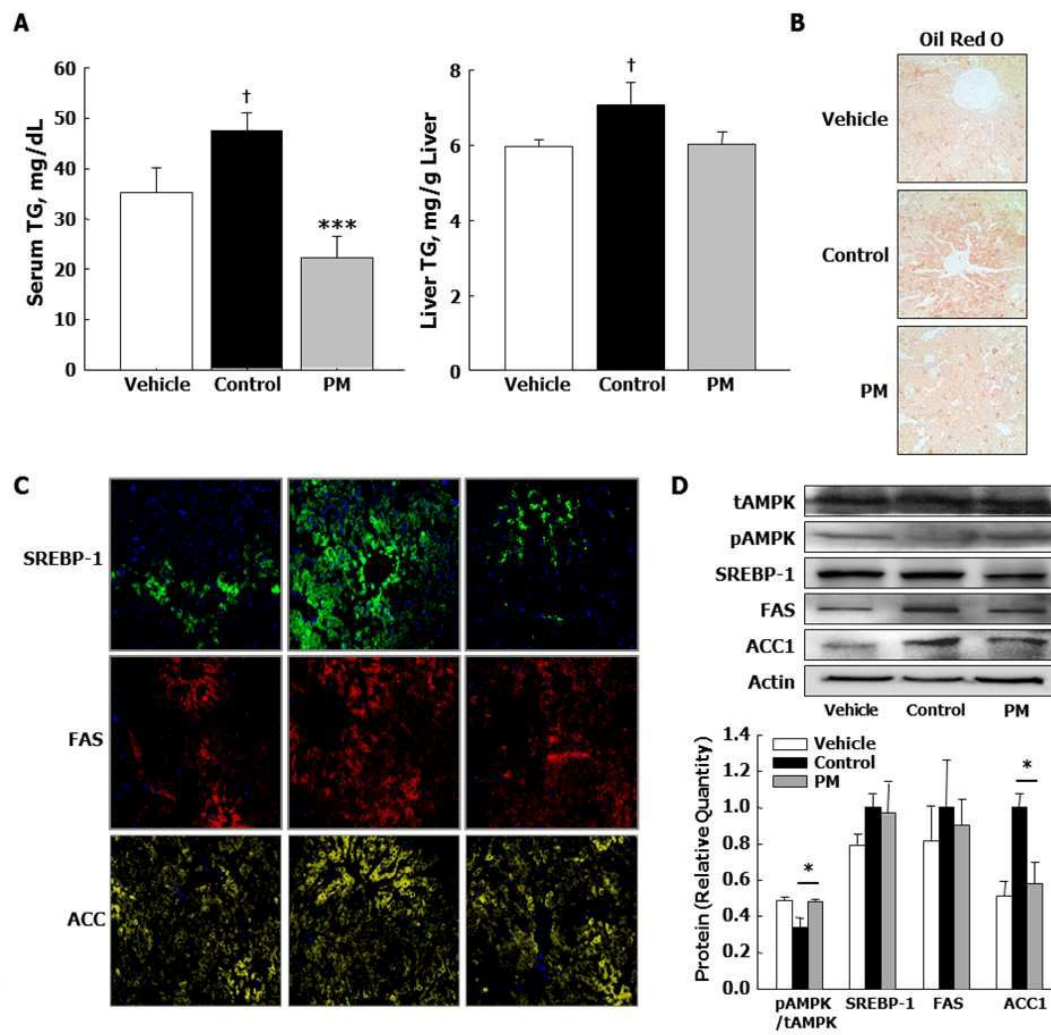
[0161] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

도면1



도면2



도면3

