(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0083698
(43) 공개일자 2015년07월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/704 (2006.01) *A61K 31/70* (2006.01)
A61K 31/702 (2006.01) *A61P 9/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0003553
(22) 출원일자 2014년01월10일
심사청구일자 2014년01월10일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
정혜광
대전광역시 유성구 반석서로 98, 609동 1102호 (반석동, 반석마을6단지아파트)
정영철
경상남도 진주시 초장로14번길 27, 101동 1702호 (초전동, 푸르지오아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
백경업

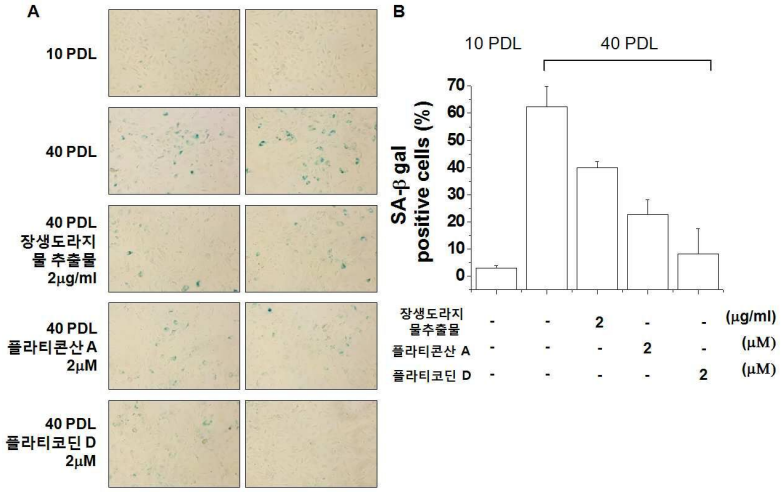
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **장생도라지 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 장생도라지 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 조성물에 관한 것으로서, 상기 조성물은 시르투인 1(sirtuin 1)의 활성을 증가시키고, 혈관내피세포의 노화를 억제하는 효과가 우수하여, 혈관노화 억제용 조성물 또는 혈관노화 예방용 건강기능식품으로 용이하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도5



(72) 발명자

김형균

대전시 유성구 계룡로 64, 102동 508호 (봉명동, 미성샤르망)

진순우

대전시 유성구 문화원로 123, 1동 707호 (봉명동, 봉명시티빌)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2009-0093815
부처명	교육부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	대학중점연구소사업
연구과제명	심혈관계질환 치료제 개발 기반연구
기 여 율	1/1
주관기관	충남대학교
연구기간	2009.09.01 ~ 2018.08.31

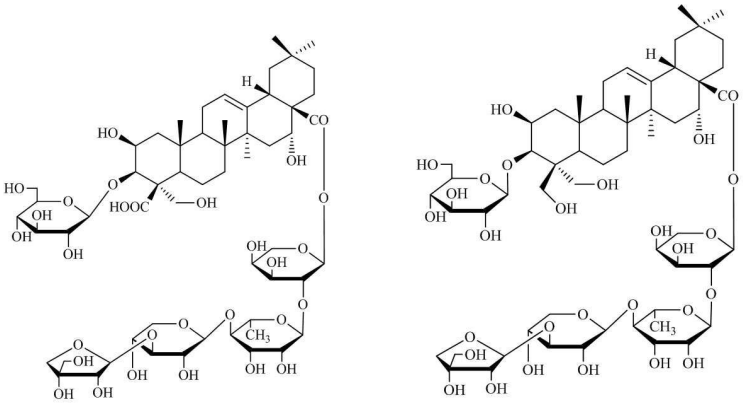
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 플라티콘산 A(Platyconic acid A) 및 플라티코딘 D(Platycodin D) 중 1종 이상의 사포닌 화합물을 포함하는 장생도라지(*Platycodon grandiflorum*) 물 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 혈관노화 억제용 조성물.

[화학식 1]



플라티콘산 A　　플라티코딘 D

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 장생도라지 물 추출물은, 장생도라지를 물로 추출한 추출물을 이온교환수지 컬럼에 흡착시킨 다음 물로 당성분을 제거한 후 흡착된 유기물을 메탄올로 용출시켜 얻은 조사포닌 정제 분획물인 것을 특징으로 하는 혈관노화 억제용 조성물.

청구항 3

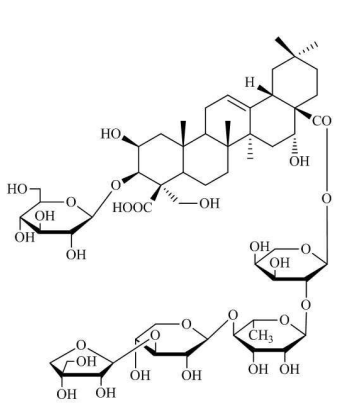
제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 장생도라지 물 추출물은 혈관의 자연적인 노화를 억제하는 효과가 있는 것을 특징으로 하는 혈관노화 억제용 조성물.

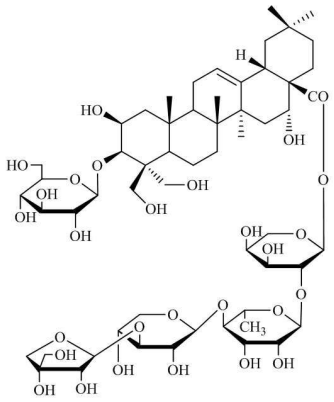
청구항 4

하기 화학식 1의 플라티콘산 A(Platyconic acid A) 및 플라티코딘 D(Platycodin D) 중 1종 이상의 사포닌 화합물을 함유하는 것을 특징으로 하는 혈관노화 억제용 조성물.

[화학식 1]



플라티콘산 A



플라티코딘 D

청구항 5

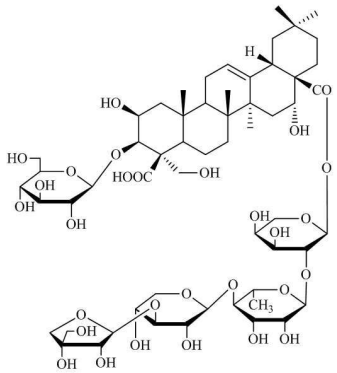
제4항에 있어서,

상기 사포닌 화합물은 혈관의 자연적인 노화를 억제하는 효과가 있는 것을 특징으로 하는 혈관노화 억제용 조성물.

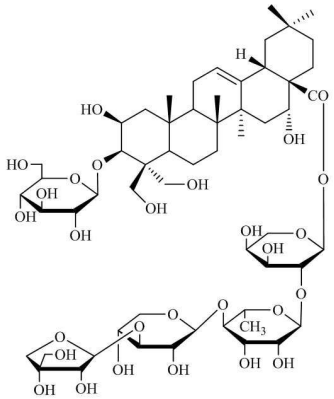
청구항 6

하기 화학식 1의 플라티콘산 A(Platyconic acid A) 및 플라티코딘 D(Platycodin D) 중 1종 이상의 사포닌 화합물을 포함하는 장생도라지(*Platycodon grandiflorum*) 물 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 혈관노화 예방용 건강기능식품.

[화학식 1]



플라티콘산 A



플라티코딘 D

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 장생도라지 물 추출물은, 장생도라지를 물로 추출한 추출물을 이온교환수지 컬럼에 흡착시킨 다음 물로 당성분을 제거한 후 흡착된 유기물을 메탄올로 용출시켜 얻은 조사포닌 정제 분획물인 것을 특징으로 하는 혈관노화 예방용 건강기능식품.

청구항 8

제6항 또는 제7항에 있어서,

상기 장생도라지 물 추출물은 혈관의 자연적인 노화를 억제하는 효과가 있는 것을 특징으로 하는 혈관노화 예방용 건강기능식품.

청구항 9

제6항 또는 제7항에 있어서,

상기 건강기능식품은 각종 식품류, 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제에서 선택되는 것을 특징으로 하는 혈관노화 예방용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 장생도라지 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인구 노령화는 세계적으로 큰 사회적 이슈 중의 하나이다. 미국과 일본의 경우, 65세 이상의 노인 인구는 현재 각각 13%, 16%에 달하며 25년 후에는 24%, 32%에 달할 것으로 예상되고 있다. 일본에서도, 현재 일본의 장수관련 산업의 규모가 39조엔인데, 20년 후에는 155조엔 정도까지 성장할 것이라고 예상하고 있다(2000년 일본 통산성 산업구조조정 심의의원회 "21세기 경제 산업 정책 비전 보고서"). 한국의 경우에도 2010년 기준으로 전체 11.0%인 노인인구가 2030년에는 24.3%에 달할 것으로 예상되기에, 이에 대한 시급한 대책마련이 필요한 상황이다.

[0003] 특히 노인성 혈관질환은 50세 이후에 증가하기 시작하며 한국인 평균수명에 해당하는 75-79세에 최대가 된 후, 85세까지 비교적 높은 수준으로 유지되고 있으며, 인구 고령화에 따른 혈관질환의 발생이 더욱 증가할 것으로 예상된다(김재룡, 2008, 생화학분자생물학회소식지).

[0004] 노화란 시간에 따른 생체 기능의 손실을 의미하는데, 이는 생명의 지속과 함께 겪게 되는 불가피한 현상이며 노화과정이란 수십 년에 걸쳐 일어나는 퇴행적인 변화가 진행되어 노인성 질환으로 연결되므로 노화기전을 잘 이해하고 조절한다면 노인성 질환을 예방하여 건강한 삶을 영위할 수 있다. 특히 혈관을 통해 말초세포의 미토콘드리아에 산소와 영양분을 공급해주어 생체에너지를 생성하여 세포의 기능을 유지하지만, 만일 이러한 과정에 문제가 생긴다면 세포사가 일어나고 이를 제거하기 위하여 면역세포들이 모여들어 미세한 염증반응이 유발되며 노화가 촉진된다. 또한 자외선, 약물, 환경오염물질과 같은 여러 가지 외부요인 및 그 외의 다양한 원인을 통해 정상 혈관 내피세포의 세포노화가 진행된다. 한편, 노화는 비가역적인(irreversible) 반응이기에, 일단 노화가 진행이 되면 이를 어린(young) 상태로 되돌릴 수 없다는 통념이 있었으나, 최근의 연구 결과는, 노화가 일어난 세포를 어린 상태로 되돌릴 수 있음을 시사하고 있다. 이에 대한 예로서, 노화 세포에서 발현이 증가하는 카베올래(caveolae) 구조를 제거하였을 경우, 세포증식이 회복되고(J. Biol. Chem., 278(30), 27789-27795, 2003), 어린 세포(young cell)를 배양했던 세포간질(extracellular matrix)에서 노화 세포(old cell)를 배양하였을 경우, 세포의 형태가 어린 상태로 전환된다는 것이 보고된 바 있다(J. Biol. Chem., 279(40), 42270-42278, 2004).

[0005] 혈관 내피세포의 노화를 억제하는 방법으로는 최근 세포노화억제 관련인자로 시르투인 1(sirtuin 1, SIRT1)이 새로운 타켓으로 주목받고 있다. 시르투인 1은 히스톤을 탈아세틸화시켜 크로마틴 변형 및 유전자 발현에 관여하고 식이 제한에 의한 수명연장에 관여하고 있으며(PLoS One., 4(10), e7350, 2008), 다양한 전사인자들의 탈아세틸화를 통하여 세포 생존 및 사멸, 염증, DNA 손상반응, 인슐린대사, 간 및 지질대사, 세포분화, 줄기세포, microRNA, 암 발생 등 생체 내 조절 시스템 관여한다.

[0006] 또한, 인간 혈관내피세포의 자연 노화 과정에서 시르투인 1의 유전자 발현이 감소되어 있고, 세포 성장 조절인자로 알려진 p53이 아세틸화되어 자연 노화가 유도되는 것으로 알려져 있는데, 시르투인 1은 p53의 탈아세틸화 활성이 있음이 이미 보고된 바 있다(Aging (Albany NY), 5(3), 174-182, 2013).

[0007] 한편, In vitro 상에서 세포의 반복적인 복제에 의한 세포노화를 나타내기 위한 지표로서, 집단배가수

(population doubling level, PDL)를 사용하는데, 이는 세포가 2배씩 증가되는 시점의 횟수를 나타낸다(생명과학대사전, 2008). 다시 말해, PDL은 배양을 개시한 후부터 현재에 이르는 세포집단의 배가횟수이다. 정상세포들은 세포 분열이 증가되면서 시간의 흐름에 따라 자연 노화가 발생되고 일정한 PDL을 넘게 되면 세포노화로 인해 분열이 억제된다. 이 시기의 PDL 값은 각각의 체조직에 따라 관련 세포들이 서로 다르게 나타나는데, 이는 노화의 특성이 나타나는 시기가 각각의 세포별로 다르게 나타나기 때문이다. 인간 혈관내피세포의 경우 약 40 PDL이 되었을 때부터 노화와 관련된 세포 분열 억제 및 다양한 표현형의 변화가 나타나는 것으로 보고된 바 있다(J. Mol. Cell. Cardiol., 43(5), 571-579, 2007).

[0008] 도라지(길경, *Platycodon grandiflorum*)는 도라지과(*Campanulaceae*)의 식물로 주근이 10~15㎝ 내외이고 지름은 1~3㎝이며 윗부분에는 불규칙한 줄기 자리가 있고 회갈~유백색이며 세로 주름이 깊고, 가로로는 파목(皮目)과 주름이 있다. 질은 단단하나 비섬유성이어서 파절이 쉽고 약간의 냄새가 나며 맛은 아리다(육창수 등, 현대 생약학, 서울, 학창사, 460-461, 1993). 도라지의 주요 약리성분은 트리테르펜계 사포닌(Platycodin A, C, D, D_2, D_3)으로서 뿌리의 약 2%를 차지하며, 이 약리성분은 동물실험을 통하여 진해, 거담작용, 중추신경억제작용(진정, 진통, 해열효과), 급/만성 염증에 대한 항염증작용, 항궤양 및 위액분비억제작용, 혈관을 확장하여 혈압을 낮추는 항콜린작용, 혈당강하작용, 콜레스테롤 대사 개선작용 등이 있는 것으로 알려져 있다(Chem. Pharm. Bull., 20, 1952(1972); Chem. Pharm. Bull., 23, 2965(1975), J. Chem.) 또한 알파-스피나스테롤, 스티그마스트-7-엔올, 알파-스피나스테롤글루코시드 등과 같은 스테로이드계 화합물과 이눌린, 베툴린과 같은 다당류도 도라지의 약리성분으로 단리되었다.

[0009] 장생도라지(長桔, Changkil)는 20년근 이상의 도라지를 말하는 것으로, 그 동안 도라지의 다양한 약리작용에도 불구하고, 장기간 재배가 어려웠으나, 최근 20년 이상의 도라지인 장생도라지를 재배할 수 있는 기술이 개발되어(한국등록특허 제45731호, "다년생 도라지재배법") 대량생산이 가능해졌다. 이러한 장생도라지는 2~4년근의 일반도라지에 비해 약리작용과 생리활성효능이 우수하다. 장생도라지와 관련된 연구보고서에 따르면 21년생의 장생도라지 추출물에는 플라티코딘 D가 약 3~4㎎/g이 포함되어 있으나 일반 도라지 추출물에는 플라티코딘 D가 약 0.3~0.9㎎/g 정도 포함되어 있으며(도라지 농축액 및 장생도라지허브농축액을 활용한 면역증진용 범용제품 개발 및 상품화, 중소기업청 주관, 한국국제대학교 수행, 2013), 이 외의 개별 사포닌이나 사포닌 총함량도 장생도라지에서 일반도라지보다 3배 정도의 고농도로 포함되어 있다고 보고된 바 있다.

[0010] 한편, 본 발명자들은 혈관노화를 억제하는 조성물에 관련된 연구를 하던 중, 상기 장생도라지 유래의 추출물과 이로부터 분리된 사포닌 화합물들이 혈관내피세포에서 시르투인 1을 활성화하고 혈관 노화를 억제하는 효과가 우수함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0011] 한편, 장생도라지 추출물이나 이로부터 분리된 사포닌 화합물들이 혈관노화를 억제한다는 것은 아직 개시되어 있지 않다. 다만, 한국공개특허 제2011-0111816호(흑도라지 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 피부 기능 증진용 조성물), 한국공개특허 제2011-0108687호(천연 원료 추출물을 포함하는 미백제 및 이를 포함하는 화장료 조성물), 한국공개특허 제2005-0100307호(한방 맛사지 팩의 제조방법)에 도라지 추출물이 피부노화를 억제함이 개시되어 있으며, 또한, 도라지 추출물이 신경세포의 노화를 억제한다는 것이 한국공개특허 제2010-0000693호(도라지 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경줄기세포 분화촉진용 기능성 식품)에 개시되어 있을 뿐이다. 그러나, 상기 선행기술들은 장생도라지 추출물의 혈관노화 억제 효과가 개시된 본 발명과는 전혀 다른 발명이라고 할 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0012] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제2011-0111816호 (흑도라지 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 피부 기능 증진용 조성물, 2011.10.12. 공개)

(특허문헌 0002) 한국공개특허 제2011-0108687호 (천연 원료 추출물을 포함하는 미백제 및 이를 포함하는 화장료 조성물, 2011.10.06. 공개)

(특허문헌 0003) (도라지 추출물을 유효성분으로 함유하는 신경줄기세포 분화촉진용 기능성 식품, 2010.01.06. 공개)

(특허문헌 0004) (한방 맛사지 팩의 제조방법, 2005.10.18. 공개)

비특허문헌

[0013] (비특허문헌 0001) Autiero I. et al., Human sirt-1: molecular modeling and structure-function relationships of an unordered protein., PLoS One., 4(10), e7350, 2008.

(비특허문헌 0002) Cho, K.A. et al, Senescent phenotype can be reversed by reduction of caveolin status., J. Biol. Chem., 278(30), 27789-27795, 2003.

(비특허문헌 0003) Cho, K.A. et al, Morphological adjustment of senescent cells by modulating caveolin-1 status., J. Biol. Chem., 279(40), 42270-42278, 2004.

(비특허문헌 0004) Cho S.Y. et al., Identification of a small molecule activator of SIRT1 gene expression. Aging (Albany NY), 5(3), 174-182, 2013.

(비특허문헌 0005) Ota H. et al., Sirt1 modulates premature senescence-like phenotype in human endothelial cells. J. Mol. Cell. Cardiol., 43(5), 571-579, 2007.

(비특허문헌 0006) 육창수 등, 현대 생약학, 서울, 학창사, 460-461, 1993.

(비특허문헌 0007) 도라지 농축액 및 장생도라지허브농축액을 활용한 면역증진용 범용제품 개발 및 상품화, 중소기업청 주관, 한국국제대학교 수행, 2013.

발명의 내용

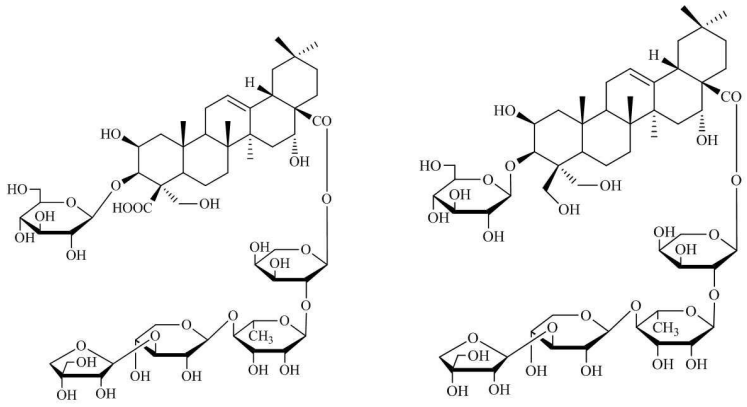
해결하려는 과제

[0014] 본 발명의 목적은 장생도라지 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명은 하기 화학식 1의 플라티콘산 A(Platyconic acid A) 및 플라티코딘 D(Platycodin D) 중 1종 이상의 사포닌 화합물을 포함하는 장생도라지(*Platycodon grandiflorum*) 물 추출물을 함유하는 혈관노화 억제용 조성물에 관한 것이다.

[0016] [화학식 1]



플라티콘산 A

플라티코딘 D

[0017]

[0018] 상기 장생도라지 물 추출물은, 장생도라지를 물로 추출한 추출물을 이온교환수지 컬럼에 흡착시킨 다음 물로 당 성분을 제거한 후 흡착된 유기물을 메탄올로 용출시켜 얻은 조사포닌 정제 분획물일 수 있다.

[0019] 상기 장생도라지 물 추출물은 혈관의 자연적인 노화를 억제하는 효과가 있다.

[0020] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D 중 1종 이상의 사포닌 화합물을 함유하는 혈관 노화 억제용 조성물에 관한 것이다.

[0021] 한편, 본 발명은 상기 화학식 1의 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D 중 1종 이상의 사포닌 화합물을 포함하는 장생도라지 물 추출물을 함유하는 혈관노화 예방용 건강기능식품을 제공한다.

[0022] 상기 건강기능식품은 각종 식품류, 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제에서 선택될 수 있다.

[0023] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0024] 상기 장생도라지 물 추출물은 장생도라지 중량대비 1~20배의 물을 장생도라지에 가하여 추출한 것이다. 이 때 추출온도는 40~130℃인 것이 바람직하고, 추출시간은 1~24시간인 것이 바람직하다. 또한, 상기 장생도라지 물 추출물로는, 장생도라지를 물로 추출한 추출물을 이온교환수지 컬럼에 흡착시킨 다음 물로 당 성분을 제거한 후 흡착된 유기물을 메탄올로 용출시켜 얻은 것을 이용할 수 있다. 상기 이온교환수지 컬럼을 이용하는 추출방법은 장생도라지 물 추출물 내의 조사포닌을 농축시킬 수 있는 방법이다. 즉, 장생도라지 물 추출물을 조사포닌 정제 분획물 상태로 제조하여 이용할 수 있다. 한편, 상기 이온교환수지는 HP-20(diaion) 컬럼일 수 있다.

[0025] 상기 장생도라지 물 추출물은 상법에 따라, 유기용매(알코올, 에테르, 아세톤 등)에 의한 추출, 헥산과 물의 분배, 컬럼크로마토그래피에 의한 방법 등, 식물체 성분의 분리 추출에 이용되는 공지의 방법을 단독 또는 적합하게 조합한 방법을 이용하여 분획 또는 정제하여 사용할 수 있다.

[0026] 상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 이온교환수지 크로마토그래피(ion exchange resin chromatography), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography), 실리카겔 진공 액체 크로마토그래피(silica gel vacuum liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 중에서 선택될 수 있다.

[0027] 상기 장생도라지 물 추출물은 시르투인 1의 활성을 증가시켜 혈관의 자연적인 노화를 억제하는 효과가 있다. 혈관의 자연적인 노화는 시간의 흐름에 따라 진행되는 노화를 말한다. 즉, 시간의 흐름에 따라 세포가 노화되는 것을 자연적인 노화라고 할 수 있다.

[0028] 또한, 본 발명은 장생도라지 물 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물(플라티코딘 D 및 플라티콘산 A 중 1종 이상)을 함유하는 혈관노화 억제용 약학 조성물을 제공한다. 상기 장생도라지 물 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 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. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 약학 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 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 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 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.

[0029] 본 발명의 장생도라지 물 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준

내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01㎎/㎏/일 내지 대략 2000㎎/㎏/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1 ㎎/㎏/일 내지 500㎎/㎏/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 상기 장생도라지 물 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물은 본 발명의 약학적 조성물에 0.001~100 중량%로 하여 첨가될 수 있다.

[0030] 본 발명의 장생도라지 물 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 약학 조성물은 쥐, 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 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0031] 또한, 본 발명은 장생도라지 물 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 혈관노화 예방용 건강기능식품을 제공한다. 상기 장생도라지 물 추출물은 본 발명의 건강기능식품에 0.001~100 중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 장생도라지 물 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제에서 선택된다.

발명의 효과

[0032] 본 발명은 장생도라지 추출물 또는 이로부터 분리된 사포닌 화합물을 함유하는 혈관노화 억제용 조성물에 관한 것으로서, 상기 조성물은 시르투인 1(sirtuin 1)의 활성을 증가시키고, 혈관내피세포의 노화를 억제하는 효과가 우수하여, 혈관노화 억제용 조성물 또는 혈관노화 예방용 건강기능식품으로 용이하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 본 발명의 장생도라지 물 추출물(도 1A), 플라티콘산 A(도 1B) 및 플라티코딘 D(도 1C)가 세포독성이 없음을 나타내는 LDH 어세이 결과를 나타낸다.

도 2는 본 발명의 장생도라지 물 추출물(도 2A), 플라티콘산 A(도 2B) 및 플라티코딘 D(도 2C)가 세포독성이 없음을 나타내는 MTT 어세이 결과를 나타낸다.

도 3A는 본 발명의 장생도라지 물 추출물, 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D가 농도 의존적으로 시르투인 1(Sirt 1)을 활성화하는 효과가 있음을 나타내는 웨스턴 블롯 결과이며, 도 3B는 이 결과를 수치화하여 그래프로 나타낸 결과이다.

도 4A는 본 발명의 플라티코딘 D가 시간 의존적으로 시르투인 1(Sirt1)을 활성화하는 효과가 있음을 나타내는 웨스턴 블롯 결과이며, 도 4B는 이 결과를 수치화하여 그래프로 나타낸 결과이다.

도 5A는 본 발명의 장생도라지 물 추출물, 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D를 10 PDL에서 40 PDL이 될 때까지 HUVEC에 처리하여, 40 PDL의 HUVEC(노화세포 모델)의 β-갈락토시다아제(노화세포의 마커)의 발현량이 10 PDL의 HUVEC(어린세포 모델)의 수준으로 유지되는 것을 확인한 결과이며, 도 5B는 이 결과를 수치화하여 그래프로 나타낸 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0035] **<실시예 1. 장생도라지 물 추출물 및 이로부터 플라티코딘 D와 플라티콘산 A의 분리, 정제 및 확인>**

[0036] 20년 이상된 장생도라지로부터 조사포닌이 농축된 조사포닌 정제 분획물 상태의 장생도라지 물 추출물을 제조한 후, 상기 장생도라지 물 추출물로부터 플라티코딘 D 및 플라티콘산 A를 추출하였다.

[0037] (주)장생도라지로부터 구입한 장생도라지 지하부(뿌리)를 수분의 함량이 5% 이하가 되도록 건조하고 이를 분쇄한 후, 상기 장생도라지 분쇄물 0.5㎏에 증류수 4ℓ를 가하고 90℃에서 5시간 동안 2회 추출한 후 여과하고 이를 동결 건조하여 추출물 199g을 수득(수득율 : 39.8%)하였다. 다음으로는 상기 추출물에서 [Han et al., 2009; Khanal et al., 2009a]을 참고로 하여 조사포닌을 농축하였다. 상기 추출물을 100g을 증류수에 녹여 여과한 여

액을 HP-20(diaion) 컬럼에 통과시켰다. 이때 당 성분을 제외한 HP-20 컬럼에 흡착된 유기물 성분들을 당 성분이 용출되지 않을 때까지 충분히 물로 씻어준 후 나머지는 100% 메탄올로 탈착시켜 물과 메탄올에 용해되는 성분으로 각각 분리하였다. 100% 메탄올에 용출된 성분들은 메탄올을 감압농축시키고 나머지를 다시 소량의 메탄올에 녹여 충분히 저어주면서 에틸에테르를 가하여 침전이 형성되도록 하고 이를 여과하고 건조시켜 조사포닌이 농축된 장생도라지 물 추출물(약 2.3g)을 얻었다.

[0038] 한편, 상기 장생도라지 물 추출물을 중압액체크로마토그래피(MPLC, ODS, Φ = 5.0×70㎝)에 적용하고 물-메탄올 혼합용매로 메탄올의 함량을 증가시키면서 용출하여 5개의 분획으로 나누었다. 세번째 분획물(Fr. 3)에 대해 실리카겔크로마토그래피(230-400mesh, Φ = 5.0×15㎝)를 실시하여 4개의 소분획물을 얻고 첫번째 소분획물을 분취고압액체크로마토그래피(prep-HPLC, ODS 컬럼, 용매: 55% 메탄올)에 적용하여 플라티코딘 D(Platycodin D) 80㎎을 얻었다. 또한 상기 네번째 분획물(Fr. 4)에 대해서는 분획중저압액체크로마토그래피(MPLC, silica gel, 230-400mesh, Φ = 5.0×10㎝)에 적용하고 디클로로메탄/메탄올(30%[w/w] 메탄올 → 100% 메탄올 gradient)로 용출하여 3개의 소분획물(Fr.41-Fr.43)로 나누었다. 이 중에서 Fr.41의 소분획물을 prep-HPLC(Shim-pack ODS column, 용매; 53%[w/w] 메탄올)에 적용하여 최종적으로 플라티콘산 A 79㎎을 얻었다.

[0039] 한편, 상기 플라티코딘 D 및 플라티콘산 A의 물리 화학적 성질은 하기와 같다.

[0040] **플라티코딘 D (Platycodin D)**

[0041] Colorless powder;

[0042] m.p. 228-236℃;

[0043] $[\alpha]_D^{25}$ -31.8 (c 1, MeOH);

[0044] LCMS-MS (negative) m/z : 1223.700$[M]^+$

[0045] ^{13}C-NMR (pyridine-d_5, 125MHz) δ 45.1 (C-1), 69.2 (C-2), 86.4 (C-3), 48.0 (C-4), 48.0 (C-5), 19.6 (C-6), 33.7 (C-7), 40.7 (C-8), 48.0 (C-9), 37.6 (C-10), 24.2 (C-11), 123.2 (C-12), 144.4 (C-13), 42.5 (C-14), 36.2 (C-15), 74.1 (C-16), 50.1 (C-17), 41.8 (C-18), 47.1 (C-19), 30.8 (C-20), 36.2 (C-21), 31.3 (C-22), 63.8 (C-23), 66.3 (C-24), 18.2 (C-25), 17.6 (C-26), 27.3 (C-27), 175.8 (C-28), 33.1 (C-29), 25.2 (C-30), 105.9 (Glc1-1), 75.2 (Glc1-2), 78.6 (Glc1-3), 72.0 (Glc1-4), 78.2 (Glc1-5), 62.9 (Glc1-6), 93.7 (Ara-1), 75.6 (Ara-2), 70.4 (Ara-3), 65.9 (Ara-4), 62.9 (Ara-5), 101.0 (Rham-1), 72.0 (Rham-2), 72.4 (Rham-3), 83.7 (Rham-4), 68.6 (Rham-5), 18.1 (Rham-6), 106.6 (Xyl-1), 75.0 (Xyl-2), 85.6 (Xyl-3), 69.5 (Xyl-4), 66.8 (Xyl-5), 111.2 (Api-1), 77.9 (Api-2), 80.0 (Api-3), 75.0 (Api-4), 65.7 (Api-5).

[0046] **플라티콘산 A (Platyconic acid A)**

[0047] White amorphous powder;

[0048] IR ν_{max}: 3402, 2927, 1726, 1076 and 1033 cm^{-1};

[0049] $[\alpha]_D^{25}$ -8.9 (c 1, MeOH);

[0050] ^{1}H-NMR (pyridine-d_5, 800MHz) δ 0.98, 1.10, 1.52, 1.69, 1.75 (each 3H, H-25, 26, 27, 29, 30), 2.75 (1H, d, J = 13.3Hz, H-18), 5.61 (1H, brs, H-12);

[0051] ^{13}C-NMR (pyridine-d_5, 125 MHz) δ 46.7 (C-1), 69.6 (C-2), 83.3 (C-3), 56.3 (C-4), 49.6 (C-5), 20.3 (C-6), 33.7 (C-7), 40.0 (C-8), 47.2 (C-9), 37.2 (C-10), 24.2 (C-11), 122.9 (C-12), 144.2 (C-13), 42.2 (C-14), 36.2 (C-15), 73.8 (C-16), 49.5 (C-17), 41.3 (C-18), 47.1 (C-19), 30.6 (C-20), 35.9 (C-21), 31.7 (C-22), 63.5 (C-23), 181.4 (C-24), 16.1 (C-25), 17.4 (C-26), 27.0 (C-27), 175.8 (C-28), 33.3 (C-29), 24.8 (C-30), 106.0 (Glc-1), 74.8 (Glc-2), 78.2 (Glc-3), 71.8 (Glc-4), 78.2 (Glc-5), 61.8 (Glc-6), 93.4 (Ara-1), 75.5 (Ara-2), 70.3 (Ara-3), 66.2 (Ara-4), 61.8 (Ara-5), 101.2 (Rham-1), 71.8 (Rham-2), 72.3 (Rham-3), 83.3 (Rham-4), 68.4 (Rham-5), 18.4 (Rham-6), 106.2 (Xyl-1), 74.7 (Xyl-2), 85.2 (Xyl-3), 68.9

(Xyl-4), 66.5 (Xyl-5), 110.8 (Api-1), 77.8 (Api-2), 80.1 (Api-3), 74.3 (Api-4), 65.1 (Api-5);

[0052] MALDI-TOF/MS m/z: 1284 [M+2Na] $C_{57}H_{90}O_{29}$;

[0053] LCMS-MS (negative) m/z : 1236.752 $[M]^+$.

[0054] **<실시예 2. 혈관내피세포의 배양>**

[0055] 혈관노화 억제 효과를 확인하기 위해, 혈관내피세포인 HUVEC(Human umbilical vein endothelial cell, (주) 이노파마스크린 공급)을 이용하였다. HUVEC 배양을 위한 세포배양배지로는 FBS(fetal bovine serum) 2%, 아스코르브산(ascorbic acid) 0.1%, rhEGF(recombinant human epidermal growth factor) 0.1%, 히드로코르티손(hydrocortisone) 0.1%, BBE(bovine brain extract) 0.4%, GA-1000(gentamicin sulfate amphotericin) 0.1%가 포함된 EBM(Endothelial basal medium, Lonza)을 사용하였다. HUVEC의 배양은 1% 젤라틴(gelatin, sigma)으로 코팅한 배양접시(culture dish)를 이용하였고, 37℃, 5% CO_2의 습윤 챔버에서 배양하였으며, 배양접시에 HUVEC이 80~90% 차게 되면 Trypsin-EDTA(Welgene)를 처리하여 계대배양하였다.

[0056] **<실시예 3. 장생도라지 물 추출물, 플라티코딘 D 및 플라티콘산 A의 혈관내피세포에 대한 세포 독성 검사>**

[0057] 실시예 1에서 제조된 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물), 상기 추출물로부터 분리된 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D가 세포독성이 없는 화합물임을 확인하기 위해, 혈관내피세포 배양시에 장생도라지 물 추출물(CKS, Changkil saponine) 1~4㎍/㎖, 플라티코딘 D(Platycodin D) 1~5μM, 플라티콘산 A(Platyconic acid A) 1~5μM을 첨가하여 24시간 배양 후, MTT 어세이 키트(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay kit, USB corporation, cleveland, OH USA)와 LDH 어세이 키트(Lactate dehydronase assay kit, Roche Applied Science, Indianapolis, IN, USA)를 이용하여 세포의 생존율을 측정하였다. 이를 위해 HUVEC을 48웰-플레이트(48 well plate)에 1×10^4cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양한 다음, 세포배양액(500㎕)을 교체하면서 상기 장생도라지 물 추출물, 플라티코딘 D, 플라티콘산 A의 시료를 농도별로 희석하여 첨가한 후 24시간 동안 배양하였다. 이 후, 각 시료가 처리된 배지를 수거하여 96웰-플레이트에 50㎕씩 분주하고 LDH 어세이 키트의 혼합용액(dye, catalyst) 50㎕를 10분 이내로 반응시킨 후, 마이크로플레이트 분석기(microplate reader)로 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한, 위와 동일한 조건으로 배양한 세포에 0.2mg/㎖ 농도의 MTT 용액 500㎕를 각 웰(well)에 가한 뒤 30분 동안 반응시켰다. 반응 종료 후에는 상등액을 제거하고 100㎕의 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 첨가하여 생성된 포마잔(formazan) 결정을 용해시켜 마이크로플레이트 분석기로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 이에 대한 결과는 도 1 및 2에 나타내었다. 도 1은 본 발명의 장생도라지 물 추출물(도 1A), 플라티콘산 A(도 1B) 및 플라티코딘 D(도 1C)에 대한 LDH 어세이 결과를 나타낸다. 도 2는 본 발명의 장생도라지 물 추출물(도 2A), 플라티콘산 A(도 2B) 및 플라티코딘 D(도 2C)에 대한 MTT 어세이 결과를 나타낸다.

[0058] 따라서, 상기 도 1 및 2를 참고하면, 장생도라지 물 추출물, 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D가 혈관내피세포(HUVEC)에 대한 LHD 어세이 및 MTT 어세이 결과, 상기 조성물들이 모두 세포독성이 없음을 확인할 수 있다.

[0059] **<실시예 4. 혈관내피세포에서 시르투인 1 발현량 확인>**

[0060] 실시예 1에서 제조된 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물), 상기 추출물로부터 분리된 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D를 HUVEC에 12시간 동안 처리하여, 총 세포 용해액(total cell lysates)을 얻었고, 웨스턴 블롯 분석을 통해 상기 세포 용해액 내의 시르투인 1(sirtuin 1, sirt1)의 발현량을 확인하였다.

[0061] 이를 위해, HUVEC을 60㎜ 세포배양 플레이트에 1×10^5cells로 분주하고, 24시간 후 세포배양액을 교체하면서, 상기 장생도라지 물 추출물 1~2㎍/㎖, 플라티콘산 A 1~2μM(약 1.2~2.4㎍/㎖) 및 플라티코딘 D 1~2μM(약 1.2~2.4㎍/㎖)의 시료를 처리하여 12시간 동안 배양한 후(플라티코딘 D는 2μM(약 2.4㎍/㎖) 처리하여 6~24시간 동안 배양하기도 함) 4℃의 PBS(phosphate buffered saline)를 처리하고 원심분리하여 각 시료가 처리된 세포를 수거하였다. 상기 수거된 세포에 세포용해버퍼 100㎕(120mM NaCl, 40mM Tris[pH 8], 0.1% NP40[Nonidet P-40])를 처리하여 12,000rpm에서 원심분리한 뒤, 상층액을 수거하여 세포용해액을 얻었다. 이 후, 상기 세포용해액을 사용하여 10% SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate poly acrylamide gel electrophoresis) 전기영동을 실시하고 트랜스퍼 키트를 이용하여 나이트로셀룰로오스 트랜스퍼 멤브레인에 단백질을 고착시켰다. 상기 멤브레인은 5% 스킴밀크(skim milk)에서 1시간 동안 상온 조건으로 블로킹(blocking)하고, 각 단백질에 대한 1차 항체 및 이에 대한 2차 항체를 반응시킨 후, 각각의 단백질에 대한 발현량 변화를 확인하였으며 이에 대한 결과는 도

3 및 도 4에 나타내었다.

[0062] 도 3A는 본 발명의 장생도라지 물 추출물, 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D에 대한 농도 의존적 시르투인 1(Sirt1)의 발현을 확인하는 웨스턴 블롯 결과이며, 도 3B는 이 결과를 수치화하여 그래프로 나타낸 결과이다. 도 4A는 플라티코딘 D에 대한 시간 의존적 시르투인 1(Sirt1) 발현을 확인하는 웨스턴 블롯 결과이며, 도 4B는 이 결과를 수치화하여 그래프로 나타낸 결과이다.

[0063] 도 3을 참고하면, 본 발명의 장생도라지 물 추출물, 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D가 농도 의존적으로 노화 억제와 관련된 시르투인 1(Sirt1) 단백질을 활성화하는 효과가 있음을 확인할 수 있다. 또한, 도 4를 참고하면, 플라티코딘 D가 시간 의존적으로도 상기 시르투인 1(Sirt1) 단백질을 활성화하는 효과가 있음을 확인할 수 있다.

[0064] **<실시예 5. 혈관내피세포에서 자연노화 현상의 억제 효과 확인>**

[0065] 실시예 1에서 제조된 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물), 상기 추출물로부터 분리된 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D가 노화된 세포에서 특징적으로 발현되는 β-갈락토시다아제(β-galactosidase)의 활성을 억제하는지를 측정하기 위해 SA-β-gal 키트(senescence-associated β-galactosidase kit, SA-β-gal kit, Sigma, St Louis, MO, USA)를 이용하였다.

[0066] 또한, 어린세포와 자연노화된 세포의 모델로는 각각 집단배가수(population doubling level, PDL)가 다른 HUVEC을 준비하였다. 즉, HUVEC을 10 PDL 세포를 어린세포 모델로, 40 PDL 세포를 노화세포 모델로 이용하였다. HUVEC의 처음 primary culture 시작일 기준으로, 10 PDL의 HUVEC은, 대략 12~15일 정도 배양된 상태이며, 40 PDL의 HUVEC은 48~60일 정도 배양된 세포를 말한다.

[0067] 노화 억제 확인을 위해서는, HUVEC을 10 PDL부터 40 PDL이 되기까지 60㎜ 세포배양 플레이트에 배양하면서 48시간마다 장생도라지 물 추출물 2㎍/㎖, 플라티콘산 A 2μM(약 2.4㎍/㎖) 및 플라티코딘 D 2μM(약 2.4㎍/㎖)을 새로 처리하였다.

[0068] 이 후, 상기 세포들에서 배지를 제거하고 PBS로 세척한 후, 세포고정을 수행하고(고정액:2% formaldehyde, 0.2% glutaraldehyde, 7.04mM NA_2HPO_4, 1.47mM KH_2PO_4, 137mM NaCl, 2.68mM KCl), 상기 SA-β-gal 키트 내의 염색액을 넣어 8시간 동안 배양하였다. 이때 노화된 세포는 β-갈락토시다아제를 발현하여 푸른색을 나타내므로, 광학현미경을 이용하여 푸른색으로 염색된 노화된 세포수와 전체 세포수를 세어서 노화된 세포의 정도를 도 5에 나타내었다.

[0069] 도 5A는 본 발명의 장생도라지 물 추출물, 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D를 10 PDL(어린세포 모델)에서 40 PDL(노화세포 모델)이 될 때까지 HUVEC에 처리한 후, β-갈락토시다아제(노화세포의 마커)의 발현량을 10 PDL의 HUVEC과 상기 40 PDL의 HUVEC에서 비교 확인한 것을 나타내며, 도 5B는 이 결과를 수치화하여 그래프로 나타낸 결과이다.

[0070] 상기 도 5의 결과를 참고하면, 본 발명의 장생도라지 물 추출물, 플라티콘산 A 및 플라티코딘 D를 HUVEC이 10 PDL에서 40 PDL이 될 때까지 처리한 결과, 각 조성물이 처리된 40 PDL의 HUVEC(노화세포 모델)에서의 β-갈락토시다아제 발현량이 10 PDL의 HUVEC(어린세포 모델)의 수준으로 지속적으로 유지되어 우수한 노화억제 효과가 있음을 확인할 수 있다.

[0071] **<제제예 1. 약학적 제제>**

[0072] **제제예 1-1. 정제의 제조**

[0073] 플라티코딘 D 200g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

[0074] **제제예 1-2. 주사액제의 제조**

[0075] 플라티코딘 D 1g, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100㎖를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

[0076] **<제제예 2. 식품 제조>**

[0077] **제제예 2-1. 조리용 양념의 제조**

[0078] 실시예 1의 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물)을 조리용 양념에 1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0079] **제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조**

[0080] 실시예 1의 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물)을 밀가루에 0.1 중량%로 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0081] **제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조**

[0082] 실시예 1의 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물)을 스프 및 육즙에 0.1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 수프 및 육즙을 제조하였다.

[0083] **제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조**

[0084] 실시예 1의 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물)을 우유에 0.1 중량%로 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0085] **제제예 2-5. 야채주스 제조**

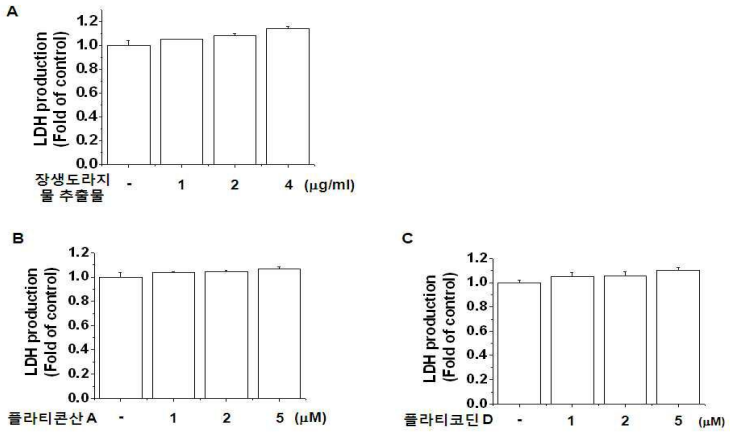
[0086] 실시예 1의 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물) 0.5g을 토마토주스 또는 당근주스 1,000㎖에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0087] **제제예 2-6. 과일주스 제조**

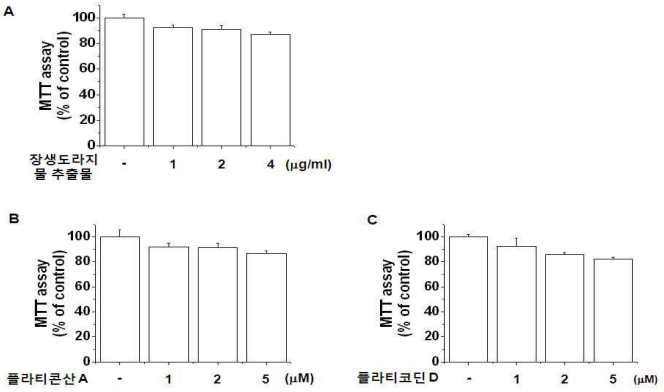
[0088] 실시예 1의 장생도라지 물 추출물(조사포닌 정제 분획물) 0.1g을 사과주스 또는 포도주스 1,000㎖에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

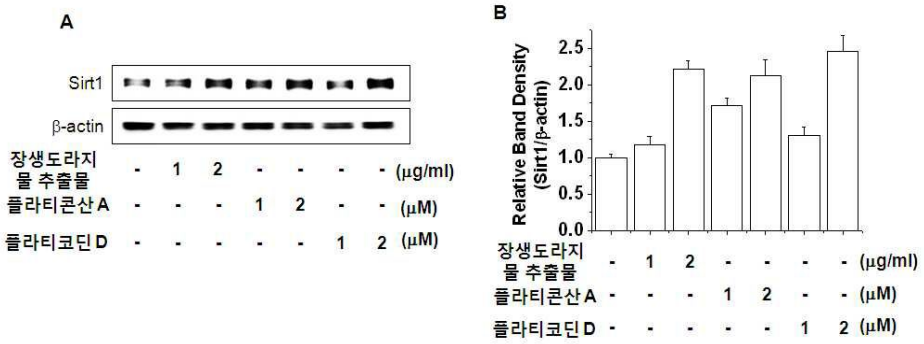
도면1



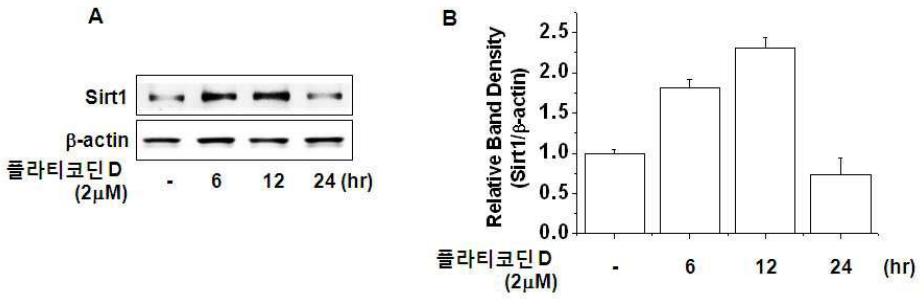
도면2


A
MTT assay (% of control)
100
80
60
40
20
0
장생도라지 물 추출물
-
1
2
4
(μg/ml)
B
MTT assay (% of control)
플라티콘산 A
-
1
2
5
(μM)
C
MTT assay (% of control)
플라티코딘 D
-
1
2
5
(μM)

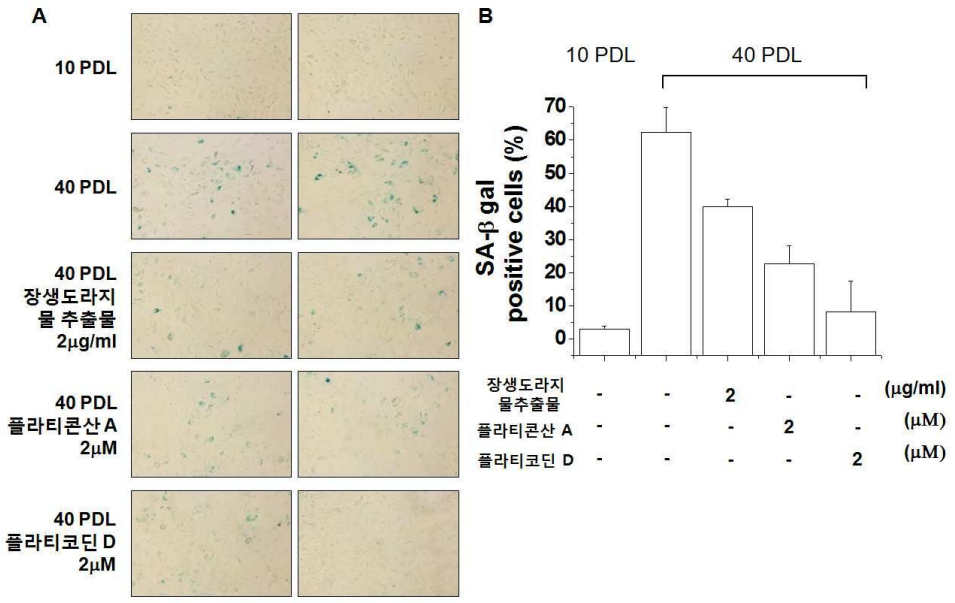
도면3


A
Sirt1
β-actin
장생도라지 물 추출물
-
1
2
-
-
-
-
(μg/ml)
플라티콘산 A
-
-
-
1
2
-
-
(μM)
플라티코딘 D
-
-
-
-
-
1
2
(μM)
B
Relative Band Density (Sirt1/β-actin)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
장생도라지 물 추출물
-
1
2
-
-
-
-
(μg/ml)
플라티콘산 A
-
-
-
1
2
-
-
(μM)
플라티코딘 D
-
-
-
-
-
1
2
(μM)

도면4


A
Sirt1
β-actin
플라티코딘 D (2μM)
-
6
12
24 (hr)
B
Relative Band Density (Sirt1/β-actin)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
플라티코딘 D (2μM)
-
6
12
24
(hr)

도면5


A
10 PDL
40 PDL
40 PDL
장생도라지
물 추출물
2μg/ml
40 PDL
플라티콘산 A
2μM
40 PDL
플라티코딘 D
2μM
B
10 PDL
40 PDL
SA-β gal
positive cells (%)
70
60
50
40
30
20
10
0
장생도라지
물추출물
- - 2 - - (μg/ml)
플라티콘산 A
- - - 2 - (μM)
플라티코딘 D
- - - - 2 (μM)