(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0118396
(43) 공개일자 2020년10월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/736 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61P 9/12 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/736 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0128254(분할)
(22) 출원일자 2020년10월05일
심사청구일자 2020년10월05일
(62) 원출원 특허 10-2018-0107291
원출원일자 2018년09월07일
심사청구일자 2018년09월07일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
최호영
서울특별시 성북구 종암로 167 103동 1201호 (하월곡동, 동일하이빌뉴시티)
이경진
서울특별시 동대문구 회기로10길 31 동창빌라 B동 101호 (청량리동, 동창빌라)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 2 항

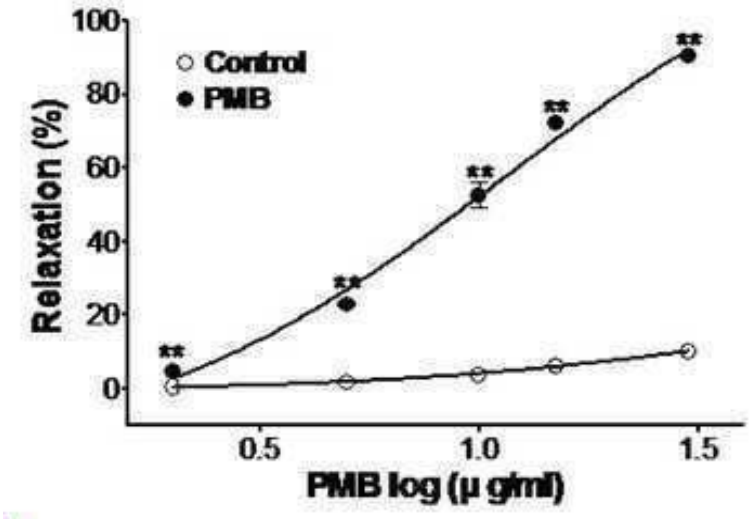
(54) 발명의 명칭 **매실나무 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 고혈압성 질환의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 고혈압성 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물; 및 고혈압성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 매실나무 추출물 또는 분획물은 혈관이 수축된 세포의 혈관을 이완시켜, 고혈압성 질환의 예방 또는 치료 효과를 확인하였으므로, 이를 포함하는 조성물은 뇌졸중, 심부전증, 심근경색, 부정맥, 심부전증, 관상동맥경화증, 고혈압성 망막증, 대동맥박리증, 고혈압성 신경화증과 같은 고혈압성 질환의 예방 또는 치료에 효과적으로 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 9/12 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/326 (2013.01)
(72) 발명자
김범정
서울특별시 동대문구 경희대로 26 한의과대학 (회기동)
조철민
서울특별시 동대문구 이문로35마길 5 202호 (이문동)
함인혜
서울특별시 강남구 언주로 201 1505호 (도곡동)
최한나
서울특별시 중랑구 신내로 128 동성1,2차아파트 1동 1409호
이소민
경기도 남양주시 가운로2길 28 106동 1301호

명 세 서

청구범위

청구항 1

매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 가지 에탄올 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 혈관 수축 및 혈관 이완 능력의 장애에 의한 허혈성 뇌졸중, 또는 관상동맥경화증의 예방 또는 개선용 식품 조성물로서,

상기 조성물은 혈관 이완 효과를 가지는 것인, 식품 조성물.

청구항 2

매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 가지 에탄올 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 혈관 수축 및 혈관 이완 능력의 장애에 의한 허혈성 뇌졸중, 또는 관상동맥경화증의 예방 또는 개선용 건강 기능 식품으로서,

상기 건강 기능 식품은 혈관 이완 효과를 가지는 것인, 건강 기능 식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 고혈압성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물; 고혈압성 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini)는 장미과(Rosaceae) 낙엽소교목으로서 3000년 이상의 재배 역사가 있다. 중국이 원산지이며, 주로 양쯔강 유역의 남쪽에 있으며 우리나라와 일본에 널리 재배되고 있다. 관상용. 과수로 이용하며, 홍매화, 만첩흰매실, 만첩홍매실, 수양만첩홍매실, 용매실나무, 그리고 수양매실 등 다양한 재배 품종이 있다

[0003] 우리나라는 전통적으로 매실나무의 덜 익은 열매로서 연기를 쪼인 것을 오매(烏梅)라 하여, 가래를 삭히고, 구토, 갈증과 이질 등을 멎게하며, 노열(勞熱) 골증(骨蒸)을 치료하는데 사용했다. 그밖에 중국에서 매실나무의 덜 익은 열매를 청매(青梅), 덜 익은 열매를 소금에 절인 것을 백매 (白梅), 씨를 매핵인 (梅核仁), 잎을 매엽 (梅葉), 꽃을 매화 (梅花), 뿌리를 매근 (梅根), 그리고 잎이 달린 줄기를 매경 (梅梗) 이라고 한다. 매경은 이기안태 (理氣安胎)의 효능이 있으며, 부녀소산 (婦女小産) 등을 치료하는 목적으로 사용되어 왔다.

[0004] 구체적으로, 매실나무에 대한 연구로서, 매실나무의 열매인 매실의 페놀화합물이 장내세균에 대해 항균효과가 있으며(Mitani T et al, Antimicrobial Activity of the Phenolic Compounds of Prunus mume against Enterobacteria. *Biol Pharm Bull* 2018, 41(2):208-212.), 항산화 및 피부미백 효과(Pi K et al, Prunus mume extract exerts antioxidant activities and suppressive effect of melanogenesis under the stimulation by alpha-melanocyte stimulating hormone in B16-F10 melanoma cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2017, 81(10):1883-1890.), 항염효과(Khan A et al, Investigation of the Hepatoprotective Effect of Prunus mume Sieb. et Zucc Extract in a Mouse Model of Alcoholic Liver Injury Through High-Resolution Metabolomics. *J Med Food* 2017, 20(8):734-743.) 등 주로 매실나무의 열매에 대한 연구가 많이 보고되어 왔으나, 매실나무 가지 추출물 및 이의 혈관 이완 효과에 대해서는 보고된 바 없다.

[0006] 또한, 임상적으로 고혈압의 발병 기전은 대부분 혈관 수축과 혈관 이완 능력의 장애에 의한 것으로 보며, 이러

한 생리적 작용은 혈압의 변화에 대응하지 못할 경우에 병적인 고혈압을 유발하게 되는 중요한 요인이 된다. 초기 고혈압과 진행된 고혈압의 대부분에서 말초혈관의 저항성이 증가한 상태가 유지되는 특징을 볼 때, 혈관의 긴장성 조절은 혈압의 조절에 중요한 요인이 된다. 대표적으로 혈관을 이완시키는 요인으로는 내피세포 유래 인자, 혈관 평활근의 Ca^{2+} 와 K^{+} 통로, 자율신경계 등이 있다. 혈관 내피세포에서 생성되는 산화질소 (NO), 프로스타시클린 (PGI_2), 브래디키닌 (bradykinin), 내피-유래 과다분극 인자 (EDHF) 등의 혈관 이완 인자들이 혈관을 이완 시키며, 엔도셀린 (endothelin) 및 안지오텐신 Ⅱ (angiotensine Ⅱ)와 같은 혈관 수축 인자들을 분비하여 혈관을 수축시키는 작용을 한다. 혈관내피세포뿐만 아니라 혈관 평활근 또한 혈관의 수축과 이완에 중요한 역할을 한다. 혈관 평활근에서 혈관의 수축과 이완을 조절하는 기전으로서 Ca^{2+}통로, K^{+}통로가 있으며, 이온들의 흐름에 의하여 형성되는 세포막 전압의 변화, 수축, 이완 조절 인자 등의 다양한 작용에 의하여 결정된다.

[0007] 이러한 배경 하에, 본 발명자는 매실나무의 기능성 평가 및 새로운 약용 자원의 개발의 목적으로, 현재는 약용으로 사용되고 있지 않는 매실나무 가지의 추출물이 혈관 이완 효과를 나타내며, 이를 통해 고혈압성 질환의 예방 또는 치료 효과를 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 하나의 목적은 매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 고혈압성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 하나의 목적은 매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 고혈압성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.

[0011] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 고혈압성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명의 용어, "매실나무"는 학명이 프루너스 무메 시에볼드 엣 주카리니(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 이며, 본 발명에서 상기 식물의 지상부를 추출하여 사용할 수 있고, 구체적으로는 상기 식물의 가지(branch)를 사용할 수 있으며, 보다 구체적으로는 건조된 가지를 사용할 수 있으나, 고혈압성 질환의 예방 또는 치료 효과를 갖는 한, 특별히 이에 제한되지 않는다.

[0013] 상기 매실나무는 상업적으로 판매되는 것을 구입하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 사용할 수 있다.

[0014] 본 발명의 용어, "추출물"은 매실나무를 추출 처리하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 희석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.

[0015] 상기 매실나무 추출물은 천연, 잡종, 변종 식물의 다양한 기관으로부터 추출될 수 있고, 예를 들어, 지상부, 뿌리, 줄기, 잎뿐만 아니라 매실나무 조직 배양물로부터 추출하여 생산할 수 있고, 특히 매실나무 가지를 사용한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 매실나무의 가지는 매실나무의 다른 부위에 비해, 채취가 용이하고 나무 자체에 미치는 영향이 적은 측면에서 산업적으로 보다 활용 가치가 높다 할 것이다.

[0016] 상기 매실나무를 추출하는 방법은 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나, 2종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다.

[0017] 본 발명에서 매실나무를 추출하는데 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물, C1 내지 C4의 알코올 및 이들의 혼합 용매를 들 수 있으며, 이들은 단독으로 사용되거나 1종 이상 혼합하여 사용될 수 있다. 보다 구체적으로, 매실나무 추출물의 추출 용매는 에탄올, 예를 들어 70% 에탄올일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0018] 또한, 상기 추출물은 추출 후 건조 분말 형태로 제조되어 사용될 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0019] 본 발명의 용어 "분획물"은 여러 다양한 구성 성분들을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 성분 그룹을 분리하기 위하여 분획을 수행하여 얻어진 결과물을 의미한다.

[0020] 본 발명에서 상기 분획물을 얻는 분획 방법은 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 수행될 수 있다. 상기 분획 방법의 비제한적인 예로는, 다양한 용매를 처리하여 수행하는 분획법, 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 수행하는 한외여과 분획법, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)를 수행하는 크로마토그래피 분획법, 및 이들의 조합 등이 있다. 구체적으로, 본 발명의 매실나무를 추출하여 얻은 추출물에 소정의 용매를 처리하여 상기 추출물로부터 분획물을 얻는 방법을 들 수 있다.

[0021] 본 발명에서 상기 분획물을 얻는 데 사용되는 분획 용매의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 분획 용매의 비제한적인 예로는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 등의 극성 용매; 헥산(Hexan), 에틸 아세테이트(Ethyl acetate), 클로로포름(Chloroform), 디클로로메탄(Dichloromethane) 등의 비극성 용매; 또는 이들의 혼합용매 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 1종 이상 혼합하여 사용될 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니며, 구체적으로, 헥산, 에틸 아세테이트, 부탄올(butanol) 또는 물이 단독으로 사용되거나 1종 이상 혼합하여 사용될 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 또한, 상기 추출물 또는 분획물은 추출 후 건조 분말 형태로 제조되어 사용될 수 있지만, 이제 제한되는 것은 아니다.

[0023] 본 발명은 매실나무 추출물 또는 이의 분획물이 고혈압성 질환 예방 또는 치료 효과를 가지고, 구체적으로는 혈관 이완 효과를 갖는다는 기술사상에 기초하며, 이는 본 발명자들에 의하여 최초로 규명된 것이다.

[0024] 본 발명의 용어, "고혈압성 질환"은 고혈압과 관련된 질병으로서, 18세 이상의 성인에서 수축기 혈압이 140㎜Hg 이상이거나 확장기 혈압이 90㎜Hg 이상인 경우 발생하는 질병을 일컫는다. 혈압이 높은 상태가 장기적으로 지속되면 신체 각 부위에 다양한 합병증이 발생하고, 때로 심장발작이나 뇌졸중처럼 치명적인 증상이 나타나기도 한다. 이러한 고혈압성 질환의 종류로는 고혈압, 출혈성 뇌졸중, 허혈성 뇌졸중, 심부전증, 심근경색, 부정맥, 심부전증, 관상동맥경화증, 고혈압성 망막증, 대동맥박리증, 고혈압성 신경화증을 포함하나, 상기 예들에 의해 본 발명의 고혈압성 질환의 종류가 한정되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 고혈압성 질환은 혈관 이완에 의해 치료 효과를 나타내는 질환일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 본 발명의 용어, "예방"은 매실나무 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 본 발명의 약학적 조성물의 투여에 의해 고혈압성 질환의 진행을 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0026] 본 발명의 용어, "치료"는 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 고혈압성 질환이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0027] 본 발명에서 고혈압성 질환의 치료 효과는 혈관을 이완시킴으로써 달성되는 것일 수 있다. 구체적으로 본 발명의 일 실시예에서는 본 발명의 매실나무 추출물을 페닐레프린 HCl(PE) 또는 KCl로 수축을 유도한 혈관에 처리할 경우 혈관을 유의적으로 이완시켜, 고혈압성 질환의 치료 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0028] 본 발명의 "약학적 조성물"은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있고, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occuring carrier)를 포함할 수 있다.

[0029] 상기 약학적 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.

[0030] 상기 "약학적으로 허용가능한"은 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다.

[0031] 구체적으로, 상기 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되고 약학적으로 허용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 상기 담체의 비제한적인 예로, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사 용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다. 또한, 필요한 경우 항산화제, 완충액 및/또는 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가하여 사용할 수 있으며, 희석제, 분산제, 계면 활성제, 결합제, 윤활제 등을

부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제 등으로 제제화하여 사용할 수 있다.

[0032] 본 발명에 따른 고혈압성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물의 투여 방식은 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방식에 따를 수 있다. 상기 투여 방식의 비제한적인 예로, 조성물을 경구 투여 또는 비경구 투여 방식으로 투여할 수 있다. 또한, 본 발명의 고혈압성 질환의 예방 또는 치료용 조성물은 목적하는 투여 방식에 따라 다양한 제형으로 제조될 수 있다.

[0033] 본 발명의 다른 양태로서, 매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는, 고혈압성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0034] 이때, 상기 매실나무, 추출물, 분획물, 고혈압성 질환, 예방에 대한 설명은 전술한 바와 같다. 또한, 본 발명의 매실나무 추출물 또는 이의 분획물의 혈관 이완 효과, 및 이를 통한 고혈압성 질환의 치료 효과에 대해서는 전술한 바와 같다.

[0035] 본 발명의 용어, "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강 기능 식품 및 건강 식품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0036] 본 발명의 식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 고혈압성 질환의 개선 효과를 기대할 수 있으므로, 건강 증진 목적으로 매우 유용하게 사용될 수 있다.

[0037] 상기 건강 기능(성) 식품(functional food)이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 '기능(성)'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 식품의 제형은 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 천연물을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나므로, 본 발명의 식품은 고혈압성 질환 개선 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0038] 상기 건강 식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용된다.

[0039] 구체적으로, 상기 건강 기능 식품은 본 발명의 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.

[0040] 상기 식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.

[0041] 또한, 상기 식품 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예들 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크륨(Cr) 등의 미네랄; 및 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0042] 또한, 상기 식품 조성물은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨류엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0043] 본 발명의 매실나무 추출물 또는 분획물은 혈관이 수축된 세포의 혈관을 이완시켜, 고혈압성 질환의 예방 또는 치료 효과를 확인하였으므로, 이를 포함하는 조성물은 뇌졸중, 심부전증, 심근경색, 부정맥, 심부전증, 관상동맥경화증, 고혈압성 망막증, 대동맥박리증, 고혈압성 신경화증과 같은 고혈압성 질환의 예방 또는 치료에 효과적으로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0044] 도 1는 PE(1 μM)로 처리하여 수축된 흰쥐의 흉부대동맥 절편의 매실나무 추출물 처리에 따른 혈관 이완 효과를 나타낸 것이다 ($^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.001$; PMB: 매실나무 추출물).

도 2은 는 KCl(60 mM)로 처리하여 수축된 흰쥐의 흉부대동맥 절편의 매실나무 추출물 처리에 따른 혈관 이완 효과를 나타낸 것이다 ($^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.001$; PMB: 매실나무 추출물).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] 이하, 본 발명을 하기 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예만으로 한정되는 것은 아니다.

[0047] **<실시예 1> 식물 재료, 실험 동물의 준비, 및 시약의 제조**

[0048] **1-1. 식물 재료**

[0049] 본 실험에 사용된 매실나무 가지는 2018년 2월 충청남도 당진시 정미면 수당리 설매농원에서 매실나무의 가지(PMB: *Prunus mume* branch)를 직접 채취하여 건조한 것이며, 시료의 일부는 경희대학교 한의과대학 본초학교실에서 보관하고 있다.

[0050] 건조된 매실나무 가지 280g에 70% 에탄올 2.8L를 넣고, 환류냉각추출장치를 이용하여 70 ± 5 ℃에서 3시간 2회 추출하였다. 추출물은 여과지로 여과하여 감압농축장치로 농축한 후 동결건조시켜 고형의 추출물을 얻었다. 추출물의 수율은 13% (36.5g) 이었다. 실험에 사용된 모든 매실나무 가지 에탄올 추출물은 0.1 g/ml의 농도로 크렙스-헨셀라이트(KH: Krebs-Henseleit) 완충액에 녹여서 사용하였다.

[0052] **1-2. 실험 동물**

[0053] 실험동물은 체중 200-300g의 수컷 흰쥐 (라온바이오, 용인, 한국)를 고형사료 (바이오피아, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 일주일 동안 실험실 환경 (22 ± 2 ℃; lightning, 07:00-19:00)에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 모두 경희대학교 동물윤리위원회의 animal welfare guidelines를 준수하였다.

[0055] **1-3. 시약의 제조**

[0056] 본 발명에서는 혈관 수축에 효과가 있는 다양한 약물 중에서도, 페닐레프린 하이드로클로라이드(PE: phenylephrine hydrochloride) 및 염화칼륨(KCl)을 사용하였다.

[0057] 구체적으로 페닐레프린 하이드로클로라이드(PE)는 근소포체에 저장되어 있는 칼슘을 유리시키거나(IP_3R 경로), 수용체-작용 칼슘 채널(ROCC: receptor-operated calcium channel)을 열어, 세포 외로부터 칼슘을 유입시켜 혈관을 수축시킨다. 또한, 고농도의 염화칼륨(KCl)은 세포막을 탈분극시켜 전압-개폐 칼슘 채널(VDCC: voltage-dependent calcium channel)을 열어, 세포 외로부터 칼슘 을 유입시켜 혈관을 수축시킨다. 이에 따라, 페닐레프린 하이드로클로라이드(PE) 및 KCl은 혈관평활근을 수축시키고 이완시키는 대표적인 기전인 칼슘 채널과 혈관내피세포에 대한 매실나무 추출물의 혈관 이완 효과의 검증에 적절하므로, 혈관 수축의 효현제로서 사용하였다.

[0058] 페닐레프린 하이드로클로라이드(PE)는 일본 Wako 제품을 사용하였고, 염화칼슘($CaCl_2$), 글루코스는 미국 Sigma 제품을 사용하였으며, 염화나트륨(NaCl), 탄산수소나트륨($NaHCO_3$), 우레탄, 에틸 알코올은 한국 대정화금 제품

을 사용하였으며, 1인산칼륨(KH_2PO_4), 염화칼륨(KCl), 무수황산마그네슘($MgSO_4$) 은 한국 덕산약품 제품을 사용하였다.

[0060] **<실시예 2> 혈관 이완 활성 측정을 위한 실험 방법**

[0062] **2-1. 혈관 절편의 제작 및 준비**

[0063] 흰쥐에 1.5g/kg 농도의 우레탄을 복강 투여하여 마취 시킨 후, 즉시 흉부를 절개하여 흉부대동맥을 적출하였다. 적출한 혈관은 즉시 95%의 O_2 및 5% CO_2가 혼합된 가스를 공급하고, 37℃로 유지되고 있는 KH 완충액(조성물, mM : NaCl, 118.0; KCl, 4.7; $MgSO_4$, 1.2; KH_2PO_4, 1.2; $CaCl_2$, 2.5; $NaHCO_3$, 25.0 ; 및 글루코스, 11.1; pH 7.4)에 넣고, 혈관 주위 조직과 지방을 제거한 다음, 약 3mm 길이의 고리 형태로 잘라 혈관 절편을 제작하였다. 3mm 길이의 고리형태로 제작된 혈관 절편의 아래 위를 각각 텅스텐 고리로 걸고, 아래쪽은 조직 배스(organ bath)의 하부에 장치된 고리에 연결하고, 위쪽은 피지오그래프(physiograph)에 연결된 등장성 힘 변환기(isometric force transducer)에 연결하여 등장성 수축의 변화를 PowerLab (ADI instrument CO., 호주) 프로그램으로 연속 기록하였다. 조직 배스는 10ml의 KH로 채우고, 실험하는 동안 항상 95%의 O_2 및 5% CO_2가 혼합된 가스가 공급되도록 하고, 37℃로 유지하였다. 혈관 절편은 20분 동안 조직 배스에서 안정시킨 후, 피동 장력 1.2g을 부여하고 다시 20분 안정시킨 후, 다음 실험을 진행하였다. 안정시키는 동안 조직 배스 내의 KH는 매 10분마다 신선한 용액으로 바꿔주었다.

[0065] **2-2. 혈관 장력 변화 측정**

[0066] 매실나무 가지 에탄올추출물의 혈관이완 활성을 확인하기 위하여 페닐레프린 하이드로클로라이드(PE) (1μM) 또는 KCl (60 mM)으로 흰쥐의 흉부대동맥 절편을 수축시킨 후, 최고 수축에 도달하였을 때 매실나무가지 에탄올 추출물을 농도별로 (2, 5, 10, 15, 30 μg/ml) 투여하여 나타나는 혈관 장력 변화를 측정하였다. 대조군은 매실나무 추출물을 처리하지 않은 군으로 하였다.

[0068] **2-3. 통계처리**

[0069] 모든 측정결과는 평균±평균표준오차 (mean±SEM)로 나타내었으며, 대조군과 실험군의 차이의 검정은 SPSS 23.0을 이용하여 Student's T-test를 시행하였고, 유의성은 $p < 0.05$로 판정하였다.

[0071] **<실시예 3> 매실나무 추출물의 혈관 이완 활성 확인**

[0073] 상기 실시예 1에서 제조된 매실나무 추출물을 이용하여, 상기 실시예 2에 기재된 방법에 의해, 매실나무 추출물의 혈관 이완 활성을 측정하였다. 그 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0075]

	이완률 (%)	
매실나무 추출물의 농도 (μg/ml)	PE	KCl
2	4.6 ± 1.1**	3.7 ± 1.0*
5	22.7 ± 1.0**	12.3 ± 2.6**
10	52.5 ± 3.3**	22.6 ± 3.5**
15	72.0 ± 1.4**	29.8 ± 2.4**

30	90.3 ± 1.1**	38.7 ± 1.1**

[0076] 구체적으로 **도 1**에서 확인할 수 있는 바와 같이, PE를 처리하여 수축된 혈관 절편에 대하여 2 μg/mL, 5 μg/mL, 10 μg/mL, 15 μg/mL 및 30 μg/mL의 농도로 매실나무 가지 에탄올 추출물을 투여한 결과, 각각 4.6 ± 1.1, 22.7 ± 1.0, 52.5 ± 3.3, 72.0 ± 1.4, 90.3 ± 1.1%로 혈관이 이완되었음을 확인할 수 있었다.

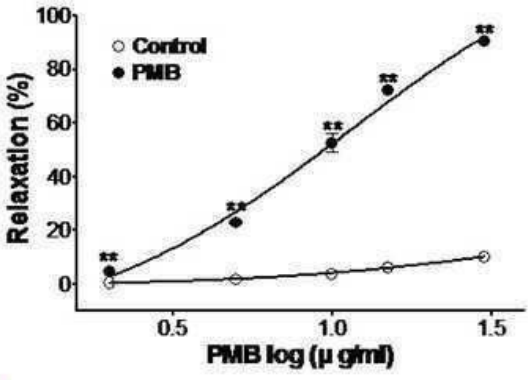
[0077] 또한, **도 2**에서 확인할 수 있는 바와 같이, KCl(60 mM)를 처리하여 수축된 혈관 절편에 대하여 2 μg/mL, 5 μg/mL, 10 μg/mL, 15 μg/mL 및 30 μg/mL 농도로 매실나무 가지 에탄올 추출물을 투여한 결과, 각각 3.7 ± 1.0, 12.3 ± 2.6, 22.6 ± 3.5, 29.8 ± 2.4, 38.7 ± 1.1%로 혈관이 이완되었음을 확인할 수 있었다.

[0079] 이상의 결과에서, 매실나무 추출물은 PE 및 KCl로 수축시킨 흰쥐의 흉부대동맥 절편에 모두 농도의존적으로 혈관 이완 효과가 있음을 확인하였고(도 1 및 2), 이는 IP_3R 경로를 통하거나, 수용체-작용 칼슘 채널(ROCC) 또는 전압-개폐 칼슘 채널(VDCC)을 차단하는 기전이나 혈관 내피세포 유래 혈관 이완 인자들을 통해 효과를 나타낸다고 유추할 수 있으며, 상기와 같은 매실나무 추출물, 특히 매실나무 가지 추출물의 혈관 이완 효과를 통해 고혈압성 질환의 예방 또는 치료에 활용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0081] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1



도면2

