



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0141963
(43) 공개일자 2023년10월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) A23K 10/30 (2016.01)
A23L 2/06 (2006.01) A61K 36/752 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23K 10/30 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2022-0036749
(22) 출원일자 2022년03월24일
심사청구일자 2022년03월24일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경
희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
김봉이
서울특별시 강동구
오사마 베코우치
-
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

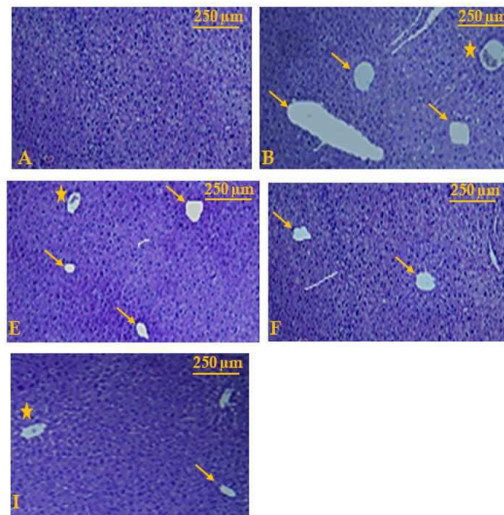
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 레몬즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명의 목적은 레몬(*Citrus limon* L)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것으로서, CCl₄-induced acute liver injury in Wistar rats 모델에서 레몬즙을 투여 시, 쥐의 무게 (체중), 간의 무게, 간 index를 측정한 결과, 쥐의 체중이 증가되고, 간 무게와 liver index를 회복됨을 확인하였다. 또한, 레몬즙의 간보호 효과를 측정하기 위하여 혈액의 liver enzymes ALP, Gamma-GT, ALAT, ASAT, direct bilirubin, total plasma bilirubin를 측정한 결과, 모두 감소하여 간보호 효과가 있음을 확인하였다, 또한, 레몬즙의 간보호 효과를 조직학적으로 확인한 결과, 현저히 회복된 것을 확인 하여, 이와 관련된 유사한 사업에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

모하메드 달리

A23L 2/06 (2013.01)
A61K 36/752 (2013.01)
A61P 1/16 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/3262 (2013.01)
A23V 2250/2116 (2013.01)
A23V 2250/21164 (2013.01)
A23V 2250/2117 (2013.01)
A23V 2250/2132 (2013.01)

-

(72) 발명자

소울리만 암라니

-

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345332202
과제번호	2020R1I1A2066868
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	학문균형발전지원(보호연구)
연구과제명	[보호, 2/7] 한약물의 장내 미생물 조절을 통한 췌장암 억제 연구
기 여 율	50/100
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2020.06.01 ~ 2026.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711119405
과제번호	2020R1A5A2019413
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	기초의과학분야(MRC)
연구과제명	[한의대MRC 1단계 2/4] 한약물 재해석 암 연구 센터
기 여 율	5/100
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2020.07.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465031726
과제번호	HF20C0116000020
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	혁신형 한의중개연구분야
연구과제명	[보산원2/3]BK002 (우슬, 왕불류행)와 enzalutamide 및 abiraterone acetate 복합투
여의 거세 저항성 전립선암에서 상승적 항암효과 및 기전연구	
기 여 율	45/100
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2020.08.03 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 레몬즙은 총 폴리페놀(Total Polyphenol) 함량이 증가된 것인, 식품조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 레몬즙은 총 플라보노이드(Total Flavonoid) 함량이 증가된 것인, 식품조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 레몬즙은 에리오딕티올(eriodictyol), 루틴(rutin), 헤스페리딘(hesperidin) 및 이소람네티(isorhamnetin)으로 이루어진 군에서 선택된 화합물의 함량이 증가된 것인, 식품조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 조성물은 ALP(alkaline phosphatase), Gamma-GT(gamma-glutamyl transferase), ALAT(alanine transaminase), ASAT(aspartate transaminase), direct bilirubin, total plasma bilirubin을 감소 시키는 것인, 식품 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 조성물은 간 독성으로 손상된 간을 치료하는 것인, 식품 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 간 독성 물질은 살충제(insecticides), 사염화탄소(Carbon tetrachloride/carbon chloride, ccl4), 클로로포름(chloroform) 및 삼염화 에틸렌(trichloroethylene)으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 식품 조성물

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 간 관련 질환은 간섬유화, 간염, 유육종증, 지방간, 알코올성 간 질환, 비알코올성 지방간, 간경변, 알코올성 지방간, 간질환, 간암, 비호지킨 림프종, 윌슨병, 라이 증후군, 간흡충증, 간농양 및 간혈관종으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 식품 조성물.

청구항 9

레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 조성물.

청구항 10

레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 사료 조성물.

청구항 11

레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 간 관련 질환은 간섬유화, 간염, 유육종증, 지방간, 알코올성 간 질환, 비알콜성 지방간, 간경변, 알코올성 지방간, 간질환, 간암, 비호지킨 림프종, 윌슨병, 라이 증후군, 간흡충증, 간농양 및 간혈관종으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 식품 조성물.

청구항 13

레몬(*Citrus limon*)을 분쇄하여, 착즙하는 단계;

상기 착즙된 레몬즙을 여과하는 단계; 및

상기 여과된 레몬즙을 건조하는 단계; 및

레몬즙에서 에리오티올(eriodictyol), 루틴(rutin), 헤스페리딘(hesperidin) 및 이소람네티(isorhamnetin)으로 이루어진 군에서 선택된 화합물의 함량을 증가시키는 단계;를 포함하는 레몬즙의 간보호능을 증진시키는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명의 목적은 레몬(*Citrus limon* L)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

배경 기술

[0002] 레몬은 히말라야가 원산지로 비교적 시원하고 기후의 변화가 없는 곳에서 잘 자란다. 이탈리아·에스파냐·미국의 캘리포니아 및 오스트레일리아 등에서 많이 재배하는데, 지중해 연안에서 재배하는 것이 가장 품질이 좋다.

[0003] 비타민C와 구연산이 많기 때문에 신맛이 강하다. 과피에서 레몬유(油)를 짜서 음료·향수 및 레모네이드의 원료로 사용하고, 과즙은 음료·식초·화장품의 원료로 사용하며 과자를 만들 때 향료로도 사용한다.

[0004] 섭취한 에타놀의 80~90% 이상이 간에서 대사되며 에타놀은 아세트알데하이드로 산화되어진다. 간에서의 많은 에타놀의 독성효과는 에타놀 대사에 의해 야기되는 산화적 스트레스로 설명된다. 에타놀 또는 이것의 대사산물은 간세포에서 자동산화를 일으키며 pro-oxidative 인자로서의 작용 또는 항산화 수준을 감소시킴으로 간염을 일으킨다. 지질산화와 막 손상과의 관련은 에타놀성 간 손상에서 중요한 특징이다.

[0005] 과음 및 약인성 간손상은 간의 섬유화를 야기하여 간경화에서 간암으로 연결되는 첫 고리이다. 하지만 현대인은 스트레스와 사회생활, 쾌락을 위하여 꾸준히 주류를 소비하고, 다양한 질병으로 간손상을 유발하는 약물들을 복용하고 있다. 이에 간을 보호할 수 있는 소재 개발이 시급하다. 시중에는 다양한 숙취해소제가 있지만 현저한 효능을 인정받아 의약품으로 개발된 소재는 거의 없다. 이에 새로운 간보호 소재를 식품, 약물 개발을 하면 국민 보건에도 도움이 되고 산업적으로도 성공할 수 있다.

[0006] 이에 따라, 본 발명자들은 레몬을 연구하던중, 레몬이 간 세포 보호 및 간 관련 질환의 치료를 확인하여, 이에 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 목적은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 목적은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 사료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 목적은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 목적은 레몬(*Citrus limon*)을 분쇄하여, 착즙하는 단계;
- [0012] 상기 착즙된 레몬즙을 여과하는 단계; 및
- [0013] 상기 여과된 레몬즙을 건조하는 단계; 및 레몬즙에서 에리오딕티올(eriodictyol), 루틴(rutin), 헤스페리딘(hesperidin) 및 이소람네티닌(isorhamnetin)으로 이루어진 군에서 선택된 화합물의 함량이 증가시키는 단계;를 포함하는 레몬즙의 간보호능을 증진시키는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0015] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 조성물을 제공한다.
- [0016] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 사료 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)을 분쇄하여, 착즙하는 단계;
- [0019] 상기 착즙된 레몬즙을 여과하는 단계; 및
- [0020] 상기 여과된 레몬즙을 건조하는 단계; 및 레몬즙에서 에리오딕티올(eriodictyol), 루틴(rutin), 헤스페리딘(hesperidin) 및 이소람네티닌(isorhamnetin)으로 이루어진 군에서 선택된 화합물의 함량이 증가시키는 단계;를 포함하는 레몬즙의 간보호능을 증진시키는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0021] 본 발명은 레몬즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 조성물에 관한 것으로, CCl₄-induced acute liver injury in Wistar rats 모델에서 레몬즙을 투여 시, 쥐의 무게(체중), 간의 무게, 간 index를 측정된 결과, 쥐의 체중이 증가되고, 간 무게와 liver index를 회복됨을 확인하였다. 또한, 레몬즙의 간보호 효과를 측정하기 위하여 혈액의 liver enzymes ALP, Gamma-GT, ALAT, ASAT, direct bilirubin, total plasma bilirubin를 측정된 결과, 모두 감소하여 간보호 효과가 있음을 확인하였다, 또한, 레몬즙의 간보호 효과를 조직학적으로 확인한 결과, 현저히 회복된 것을 확인 하여, 이와 관련된 유사한 사업에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 본 발명의 레몬즙의 유효성분을 HPLC-MS로 분석한 결과이다.
- 도 2는 본 발명의 레몬즙에 포함된 페놀 화합물 4종의 구조를 확인한 도이다.
- 도 3은 간 손상 마우스 모델(간 섬유화)의 레몬즙을 투여 시, 체중, 간의 무게 및 liver index의 회복을 나타낸 도이다.
- 도 4는 간 손상 마우스 모델(간 섬유화)의 레몬즙을 투여 시, 간 수치 지표를 나타낸 도이다.
- 도 5는 간 손상 마우스 모델(간 섬유화)의 레몬즙을 투여 시, 간 조직병리학적 변화를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현예는 본

발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다, 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

- [0024] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어 (terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0025] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한 본 명세서에는 바람직한 방법이나 사료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 도입된다.
- [0026] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"이란, 본 발명에 따른 간 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 개체에 투여하여 간 관련 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.
- [0027] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"란, 본 발명의 상기 조성물을 간 관련 질환 발병의 의심 개체에 투여하여 간 관련 질환의 증세가 호전되도록 하거나 이롭게 되도록 하는 모든 행위를 의미할 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 사용되는 용어, "개선"은 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.
- [0029] 본 발명에 따른 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 "추출물"은 적절한 용매를 이용하여 추출로부터 추출한 것이며, 예를 들어, 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 모두 포함한다. 상기 추출물로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약학적으로 허용되는 유기용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0030] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0031] 상기 레몬즙은 총 폴리페놀(Total Polyphenol) 함량이 증가된 것이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0032] 상기 레몬즙은 총 플라보노이드(Total Flavonoid) 함량이 증가된 것이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0033] 상기 레몬즙은 에리오딕티올(eriodictyol), 루틴(rutin), 헤스페리딘(hesperidin) 및 이소람네티(isorhamnetin)으로 이루어진 군에서 선택된 화합물의 함량이 증가된 것이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0034] 상기 조성물은 ALP(alkaline phosphatase), Gamma-GT(gamma-glutamyl transferase), ALAT(alanine transaminase), ASAT(aspartate transaminase), direct bilirubin, total plasma bilirubin을 감소시키는 것이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0035] 상기 조성물은 간 독성으로 손상된 간을 치료하는 것이나, 이제 제한되지 않는다.
- [0036] 상기 간 독성 물질은 살충제(insecticides), 사염화탄소(Carbon tetrachloride/carbon chloride, ccl4), 클로로포름(chloroform) 및 삼염화 에틸렌(trichloroethylene)으로 이루어진 군에서 선택된 것이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0037] 상기 간 관련 질환은 간염유화, 간염, 유육종증, 지방간, 알코올성 간 질환, 비알콜성 지방간, 간경변, 알코올성 지방간, 간질환, 간암, 비호지킨 림프종, 윌슨병, 라이 증후군, 간흡충증, 간농양 및 간혈관종으로 이루어진 군에서 선택된 것이나, 이에 제한되지 않는다.

- [0038] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 조성물을 제공한다.
- [0039] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 보호용 사료 조성물을 제공한다.
- [0040] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)즙을 유효성분으로 포함하는 간 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0041] 본 발명은 레몬(*Citrus limon*)을 분쇄하여, 착즙하는 단계;
- [0042] 상기 착즙된 레몬즙을 여과하는 단계; 및
- [0043] 상기 여과된 레몬즙을 건조하는 단계; 및 레몬즙에서 에리오딕티올(eriodictyol), 루틴(rutin), 헤스페리딘(hesperidin) 및 이소람네티닌(isorhamnetin)으로 이루어진 군에서 선택된 화합물의 함량을 증가시키는 단계;를 포함하는 레몬즙의 간보호능을 증진시키는 방법을 제공한다.
- [0044] 본 발명의 식품 조성물은 본 발명의 유효성분을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0045] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조 식품류 등이 있다.
- [0046] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 항산화 목적으로, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본 발명에서 '건강기능성 식품 조성물'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다. 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 봉해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분과 부형제, 결합제, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다. 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분의 부형제, 결합제, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 사료 조성물은, 간 관련 질환 치료 효과가 우수하기에 동물체의 건강상태를 양호하게 하고, 가축의 증체량과 육질을 개선시키며, 산유량 및 면역력을 증가시키는 효과를 기대할 수 있다. 본 발명의 사료 조성물은

발효사료, 배합사료, 펠렛 형태 및 사일리지 등의 형태로 제조될 수 있다. 상기 발효사료는 본 발명의 펩타이드 이외의 여러 가지 미생물군 또는 효소들을 첨가함으로써 유기물을 발효시켜 제조할 수 있으며, 배합사료는 여러 종류의 일반사료와 본 발명의 펩타이드를 혼합하여 제조할 수 있다. 펠렛 형태의 사료는 상기 배합사료 등을 펠렛기에서 열과 압력을 가하여 제조할 수 있으며, 사일리지는 청예 사료를 본 발명에 따른 미생물로 발효시킴으로써 제조할 수 있다. 습식발효사료는 음식물 쓰레기 등과 같은 유기물을 수집 및 운반하여 살균과정과 수분조절을 위한 부형제를 일정비율로 혼합한 후, 발효에 적당한 온도에서 24 시간 이상 발효하여, 수분함량이 약 70%으로 포함되도록 조절하여 제조할 수 있다. 발효건조사료는 습식 발효사료를 건조과정을 추가로 거쳐 수분함량이 30% 내지 40% 정도 함유되도록 조절하여 제조할 수 있다.

[0049] 본 발명의 사료 조성물은 종래 사료에 첨가되는 성분을 더 포함할 수 있다. 이러한 사료에 첨가되는 성분의 일례로서 곡류분말, 고기분말, 및 두류 등을 포함할 수 있다. 상기에서 곡류분말은 쌀가루, 밀가루, 보리가루, 및 옥수수가루 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 상기에서 고기분말은 닭고기, 소고기, 돼지고기, 및 타조고기 중에서 선택된 어느 하나 이상을 분말화한 고기분말을 사용할 수 있다. 상기에서 두류는 대두, 강낭콩, 완두콩, 및 검정콩 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다.

[0050] 본 발명의 사료 조성물은 상기에서 언급한 종래 사료에 첨가되는 성분인 곡류분말, 고기분말, 및 두류 이외에도 사료의 영양성을 증대시키기 위해 영양제, 및 무기물 중에서 선택된 어느 하나 이상을 첨가할 수 있으며, 사료 품질의 저하를 막기 위해 항곰팡이제, 항산화제, 항응고제, 유화제, 및 결합제 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0051] 본 발명의 약학 조성물에는 유효성분 이외에 보조제(adjutant)를 추가로 포함할 수 있다. 상기 보조제는 당해 기술분야에 알려진 것이라면 어느 것이나 제한 없이 사용할 수 있으나, 예를 들어 프로인트(Freund)의 완전 보조제 또는 불완전 보조제를 더 포함하여 그 효과를 증가시킬 수 있다.

[0052] 본 발명에 따른 약학 조성물은 유효성분을 약학적으로 허용된 담체에 혼입시킨 형태로 제조될 수 있다. 여기서, 약학적으로 허용된 담체는 제약 분야에서 통상 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 포함한다. 본 발명의 약학 조성물에 이용할 수 있는 약학적으로 허용된 담체는 이들로 제한되는 것은 아니지만, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0053] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0054] 제제화할 경우에는 통상 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 그러한 고형 제제는 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카르보네이트, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 일반적으로 사용되는 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함된다. 비수용성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유와 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0055] 본 발명에 따른 약학 조성물은 개체에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식이 예상될 수 있는데, 예를 들면 경구, 정맥, 근육, 피하, 복강내 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0056] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여량은 개체의 연령, 체중, 성별, 신체 상태 등을 고려하여 선택된다. 상기 약학 조성물 중 포함되는 유효성분의 농도는 대상에 따라 다양하게 선택할 수 있음은 자명하며, 바람직하게는 약학 조성물에 0.01 ~ 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 포함되는 것이다. 그 농도가 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만일 경우에는 약학 활성이 나타나지 않을 수 있고, 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 초과할 경우에는 인체에 독성을 나타낼 수 있다.

[0058] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진

자에게 있어서 자명할 것이다.

[실시예]

실시예 1. 레몬즙 제조

본 발명의 레몬 (*Citrus limon* L.)을 모로코, Oujda city에서 구매하여 scientific institute in Rabat 소속 Professor Fennane Mohammed에 품질을 확인하였다. 레몬즙 수득하기 위하여, 1 kg의 레몬(*Citrus limon* L.)을 25 °C에서 블렌더를 이용하여 즙이 나올때까지 분쇄하고, 분쇄물을 여과하여 레몬즙을 수득하였다. 수득된 레몬즙을 건조오븐에 넣고 건조하여, 레몬즙(LJ) 건조물을 수득하였다.

실시예 2. 레몬즙의 성분분석

실시예 2-1. 총 폴리페놀(Total Polyphenol) 함량 분석

총 폴리페놀을 분석하기 위하여, 수득된 레몬즙 200 μ l를 1 ml의 Folin-Ciocalteu 시약(0.2N)과 혼합하여, 5분간 반응시켰다. 그 후 800 μ l의 탄산나트륨 수용액(7.5% w/v)을 첨가하여 1 시간동안 반응시켰다 반응 종료 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량을 정량하기 위하여 760 nm에서 블랭크(blank)의 흡광도를 측정하고, 갈릭산(gallic acid, GA)을 표준물질로 하여, 정량을 위한 표준곡선(standard curve)를 수득하였다. 총 폴리페놀 함량은, 표준 물질인 갈릭산의 함량을 이용하여, mg GAE/g Extract로 표기하였다.

실시예 2-2. 총 플라보노이드(Total flavonoid) 함량 분석

플라보노이드를 분석하기 위하여, 500 μ g/ml 농도의 레몬즙 200 μ l, 증류수 1 ml 및 질산나트륨(sodium nitrate, 5% w/v)을 혼합하고 6분간 반응시켰다. 그 후 120 μ l의 염화알루미늄(aluminum chloride, 10% w/v)을 첨가하여 5분간 반응시켰다. 반응 종료 후 400 μ l의 NaOH(1M)를 첨가하여 염기성화 시켰다. 그 후 430 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량을 정량하기 위하여 430 nm에서 블랭크(blank)의 흡광도를 측정하고, 퀘르세틴(Quercetin, QE)을 표준물질로 하여, 정량을 위한 표준곡선(standard curve)를 수득하였다. 총 플라보노이드 함량은, 표준 물질인 퀘르세틴의 함량을 이용하여, mg QE/g Extract로 표기하였다.

총 폴리페놀 및 총 플라보이드 함량 분석 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

	총 폴리페놀	총 플라보노이드
레몬즙	25.23 $\pm$ 1.54	12.75 $\pm$ 2.10

실시예 2-3. 레몬즙의 정성 및 반-정량 분석

레몬즙의 페놀 화합물의 정성 분석 및 반-정량분석으로, 레몬즙 내의 화합물의 함량을 분석하였다. 구체적으로, 페놀 화합물의 정성 분석은 질량분석기가 결합된 고성능 액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography, HPLC) 시스템(Waters Alliance 2695 system, Milford, MA, USA)을 이용하여 측정하였다. 역상 C18 컬럼(250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m pore size)를 이용하여, HPLC 분석을 시행하였으며, 이동상으로 용매 A: 물-포름산(90:10 v/v) 및 용매 B: 물, 메탄올, 아세트나이트릴(40:50:10 v/v/v)을 이용하였으며, 20분 동안 88% 용매 A 및 12% 용매 2로 페놀 화합물을 용리하였다. 용리액의 유속은 20 μ l로, 1ml/min의 조건으로 용리하였다. 레몬즙의 표준 용액과 추출물을 메탄올에 용해하고, millipore membrane (0.45 μ m)을 이용하여 여과하였다.

그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이 레몬즙에서의 유효성분 4종을 확인하였으며, 유효성분 4종의 함량을 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

(b) Peak Number	Compound	Retention Time (min)	% of Area
1	eriodictyol	9.17	3.12
2	rutin	13.25	5.69
3	hesperidin	16.31	13.88
4	isorhamnetin	18.23	18.43

[0078]

[0079]

또한, 상기 표 2에서 확인된 에리오딕티올(eriodictyol), 루틴(rutin), 헤스페리딘(hesperidin) 및 이소람네티 (isorhamnetin)의 구조를 확인하여, 도 2에 나타내었다.

[0081]

실시예 3. 레몬즙을 간 손상 마우스모델(간 섬유화 모델)의 투여시, 체중, 간의 무게 및 river index 확인

[0082]

본 발명의 레몬즙의 급성 간 손상 치료 효과를 확인하기 위해, CCl₄로 유도된 마우스에 투여하여 급성 간 손상 마우스 모델(간 섬유화 모델)을 제작한 뒤, 각각 control군, 무처리군(CCl₄), 레몬즙 200 mg/kg, 레몬즙 400mg/kg, 대조군(Silymarin)을 투여하였고, 쥐의 무게, 간의 무게 및 river index를 측정하였다.

[0083]

그 결과, 도 3과 같이 레몬즙을 투여한 마우스모델(간 섬유화 모델)의 체중, 간의 무게 및 river index가 회복되었고, 레몬즙 농도의존적으로 마우스모델의 체중, 간의 무게 및 river index를 회복됨을 확인 하였다.

[0085]

실시예 4. 레몬즙을 간 손상 마우스모델(간 섬유화 모델)의 투여시, 혈청의 간 수치 지표 물질 확인

[0086]

본 발명의 레몬즙의 급성 간 손상 치료 효과를 확인하기 위해, CCl₄로 유도된 마우스에 투여하여 급성 간 손상 마우스 모델을 제작한 뒤, 도 4와 같이 각각 group 1(control군), group 2 (무처리군, CCl₄), group 3 (레몬즙 200 mg/kg+CCl₄), group 4 (레몬즙 400mg/kg+CCl₄), group 5 (대조군(Silymarin+CCl₄))를 투여하였고, 혈청의 간 수치 지표 물질을 측정하였다.

[0087]

혈청의 대표적인 간 수치 지표 물질은 ALP(alkaline phosphatase), Gamma-GT(gamma-glutamyl transferase), ALAT(alanine transaminase), ASAT(aspartate transaminase), direct bilirubin, total plasma bilirubin으로서, 간 수치 지표 물질 측정하였다.

[0088]

그 결과, 도 4와 같이 레몬즙을 투여한 마우스모델의 간 수치 지표 물질이 회복되었고, 레몬즙 농도 의존적으로 마우스모델의 간 수치 지표 물질이 회복됨을 확인 하였다.

[0091]

실시예 5. 레몬즙을 간 손상 마우스모델(간 섬유화)의 투여시, 간 병리학적 효과 확인

[0092]

본 발명의 레몬즙의 급성 간 손상 치료 효과를 확인하기 위해, CCl₄로 유도된 마우스에 투여하여 급성 간 손상 마우스 모델(간 섬유화)을 제작한 뒤, 도 5와 같이 각각 CCl₄(1mg/kg), 레몬즙 200mg/kg+CCl₄, 레몬즙 400mg/kg+CCl₄, 대조군으로 Silymarin+CCl₄를 투여하여, 간 조직학적 변화를 현미경으로 확인 하였다.

[0093]

간의 CCl₄를 투여하면 혈관의 울혈 및 괴사, 간세포 변성(구조적 및 기능적 손실)이 일어난다.

[0094]

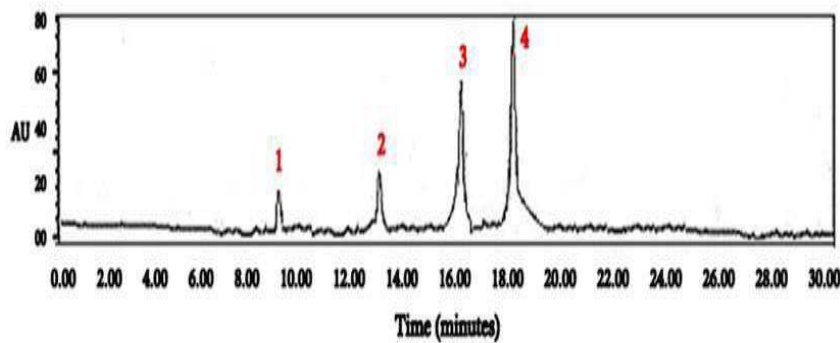
도 5에 나타난 바와 같이, A는 정상적인 간의 구조를 나타낸 것이고, B는 CCl₄(1 mg/kg)를 투여받은 쥐는 간세포, E는 레몬즙 200mg/kg+CCl₄ 투여한 쥐의 간세포, F는 레몬즙 400mg/kg+CCl₄ 투여한 쥐의 간세포, I는 CCl₄ + Silymarin (40 mg/kg) 투여한 쥐의 간세포를 나타내는 것으로서, B는 간세포에서 심한 손상을 보여 주었고, E-I는 간 조직이 재생하는 것을 확인 하였다.

[0095] 그 결과, E 및 F를 보았을때 레몬즙을 농도의존적으로 간의 원형질막 재생 및 복구 후 간 조직 측면이 A와 같이 재생됨을 확인하여, 본 발명의 레몬즙이 농도 의존적으로 손상된 간 조직을 회복시킴을 확인 하였다.

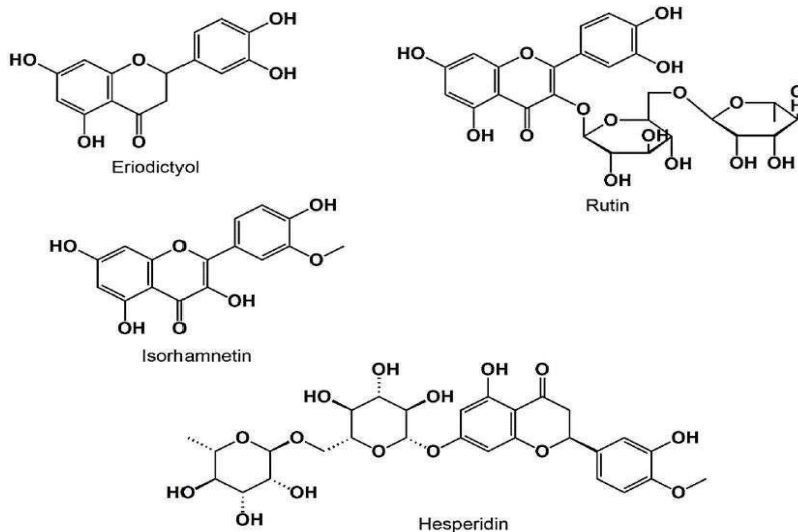
[0097] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

	Rats weight (g)	Liver weight (g)	Liver index (%)
Control	253.46 ± 3.85	6.85 ± 0.27	2.70
CCl4	194.05 ± 4.21 ^a	10.24 ± 0.31 ^a	5.28 ^a
LJ 200	210.66 ± 2.33 ^c	8.89 ± 0.28 ^b	4.22 ^c
LJ 400	225.90 ± 4.91 ^a	7.95 ± 0.71 ^a	3.52 ^b
Silymarin	225.36 ± 5.54 ^a	7.77 ± 0.43 ^a	3.45 ^b

도면4

	ALP (u/L)	G-GT (u/L)	ALAT (u/L)	ASAT (u/L)	D-Bil (mg/L)	T-Bil (mg/L)
Group 1	183.8 ± 5.37	3.20 ± 0.12	81.34 ± 1.75	90.10 ± 3.51	0.10 ± 0.01	1.00 ± 0.05
Group 2	527.1 ± 10.4 ^a	11.60 ± 0.85 ^a	1583.9 ± 14.9 ^a	5703.8 ± 11.6 ^a	1.80 ± 0.05 ^a	3.40 ± 0.31 ^a
Group 3	397.00 ± 8.23 ^a	10.58 ± 1.02 ^{NS}	1343.75 ± 12.7 ^a	903.4 ± 12.3 ^a	0.73 ± 0.04 ^a	1.48 ± 0.07 ^a
Group 4	295.15 ± 4.87 ^a	7.05 ± 0.80 ^b	694.03 ± 9.79 ^a	713.57 ± 9.94 ^a	0.27 ± 0.01 ^a	0.97 ± 0.03 ^a
Group 5	194.55 ± 5.72 ^a	37.33 ± 1.81 ^a	188.9 ± 6.54 ^a	205.4 ± 8.12 ^a	4.67 ± 0.73 ^a	3.40 ± 0.25 ^a

도면5

