(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0046245
(43) 공개일자 2019년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) *A23L 29/00* (2016.01)
A61K 36/258 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 29/065 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0139596
(22) 출원일자 2017년10월25일
심사청구일자 2018년10월10일

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
박상원
경상남도 진주시 천수로 30, 105동 402호(주약동, 한보은빛마을아파트)
조계만
경상남도 진주시 진주대로829번길 21, 103동 2501호(주약동, 삼환 나우빌)
(74) 대리인
최규환

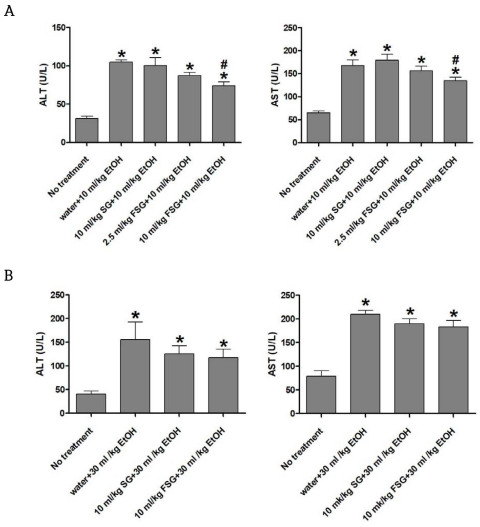
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방, 개선 또는 치료용 건강기능식품 및 약학 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 36/258 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23Y 2220/13 (2013.01)
A23Y 2220/67 (2013.01)
A61K 2236/19 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2015R1A-5A2-008833
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 선도연구센터지원사업(MRC)
연구과제명 바이오항노화 의과학연구센터
기 여 율 1/1
주관기관 경상대학교 산학협력단
연구기간 2015.10.01 ~ 2022.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 숙성새싹삼 추출물의 발효물은 새싹삼 추출물에 유산균 혼합물을 접종한 후 발효시키는 단계를 포함하여 제조된 것을 특징으로 하는 간질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 유산균 혼합물은 기탁번호 KACC 91848P인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) P1201 균주 및 기탁번호 KACC 92156P인 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) BMK184 균주가 혼합된 것을 특징으로 하는 간질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 간질환은 알코올성 지방간, 간염 또는 간경변인 것을 특징으로 하는 간질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 숙성새싹삼 추출물의 발효물은 간 세포 보호, 혈중 ALT 및 AST의 함량을 감소시키는 것을 특징으로 하는 간질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 간은 인간의 신체장기 중 생체 내 대사가 가장 활발하게 일어나는 장기로, 인체 내 소화계와 전신순환계 사이에 위치하면서 외부에서 들어온 생체 외 물질로부터 전신을 방어하는 기능을 수행하고 있다. 생체 내로 들어온 생체 외 물질은 일단 간을 통과하고, 영양소 이외에 많은 독성물질에 노출될 위험이 다른 장기에 비해 많으므로 그만큼 손상될 확률도 매우 높다. 그러나 간은 재생능력이 우수하여 약간의 손상이 있을 경우에는 충분히 정상으로 회복 가능하지만, 손상이 지속될 경우에는 간 조직의 일부가 완전히 파괴되거나 간 기능이 저하되어 정상적인 간으로의 회복이 어려울 수 있다. 이러한 간 손상이 만성화되면 그 원인에 상관없이 간 섬유화, 간경화 또는 간암 등으로 진행된다.

[0003] 간 손상을 유발하는 원인으로는 알콜의 과다섭취, 스트레스성 만성 피로, 지방성분이 포함된 음식 섭취, 바이러스의 감염, 각종 약품과 같은 유해물질 또는 영양부족 등이 있다. 알코올 섭취에 의해 알코올이 간으로 들어가게 되면, 간세포의 세포질 내에 존재하는 알코올 탈수소효소(alcohol dehydrogenase; ADH)에 의해 알코올이 아세트알데히드(acetaldehyde)로 산화되고, 아세트알데히드는 알데히드 탈수소효소(aldehyde dehydrogenase; ALDH)에 의해 아세테이트(acetate)로 전환된다. 특히 알코올의 최초 대사산물인 아세트알데히드는 알코올에 비해 반응성이 매우 높고 독성이 강하여 간세포에 손상을 줄 수 있고, 이러한 알코올 대사에 의해 지방산이 많이

생성되어 간에 지방이 축적된다. 이때 간에 축적된 지방간을 알코올성 지방간이라고 한다.

[0004] 알코올성 지방간은 만성 간질환으로 진행될 수 있는데, 알코올성 지방간 환자들 중에서 10-35%가 간염으로, 8-20%가 간경변증으로 진행되는 것으로 보고되고 있으며, 비알코올성 지방간 환자에 비하여 알코올성 지방간 환자들이 간경변증을 보다 많이 가지고 있고 간염으로 진행될 가능성도 높은 것으로 보고되고 있다.

[0005] 이러한 간 손상에 의한 간 질환을 치료하기 위한 방법으로는 크게 식이요법과 약제요법이 병용되고 있다. 대표적인 간 질환 치료제로는 실리마린(silymarin)과 비페닐디메틸디카르복실레이트(biphenyl dimethyl dicarboxylate, BDD)가 있으나, 이들 약물 역시 근복적인 치료제가 되지 못하고 있으며, 이외에 개발된 화합물에 의한 치료제는 체내 다양한 부작용을 유발할 수 있어 제품화되지 못하고 있는 실정이다. 따라서, 기존에 사용되고 있는 치료제를 대체할 수 있을 만큼 치료효과가 우수하며, 대량 또는 장기간 투여 시에도 부작용이 없는 천연물을 이용한 새로운 간질환 치료제의 개발이 요구되고 있다.

[0006] 한편, 새싹삼은 보통 1~2년의 기간 동안 재배된 인삼으로, 뿌리보다 잎과 줄기에 사포닌 성분이 약 7~8배 더 함유되어 있으며 수경재배, 연중생산 가능 및 재배기간의 단축으로 인해 종래에 이용되는 뿌리인삼보다 낮은 가격을 형성하고 있다는 장점이 있어, 인삼가공품의 원료로서 사용이 용이하다. 사포닌의 주요 약리작용은 중추신경계, 내분비계, 면역계, 대사계 등에 영향을 미쳐 신체조절 기능에 다양한 효과를 발휘한다. 그 이외에도 사포닌은 지방분해력이 크고, 영양분흡수와 소화를 촉진시키며, 세포내의 효소활성화로 신진대사촉진, 에너지를 증가시켜 원기회복, 피로, 무력감, 식욕부진 개선, 혈청단백질 합성 촉진 등의 효과가 있다고 알려져 있다.

[0007] 한편, 한국등록특허 제1688002호에는 '초음파 처리된 인삼열매 추출물을 유효성분으로 함유하는 간질환 예방 또는 치료용 조성물'이 개시되어 있고, 한국등록특허 제1179171호에는 '산삼 또는 인삼을 포함한 인삼류의 형성층 유래 식물줄기세포주를 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방 또는 치료용 조성물'이 개시되어 있으나, 본 발명의 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)과 락토바실러스 브레비스(*L. brevis*)가 혼합된 유산균 혼합물에 의한 발효과정을 통해 제조된 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 발효되지 않은 새싹삼 추출물에 비해, 알코올성 간손상 실험동물의 혈중 ALT 및 AST 함량을 감소시키고 간조직 내 지질축적을 억제시킬 뿐만 아니라, 간염 실험동물의 혈중 ALT 및 AST 함량을 감소시키는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 천연 약재인 새싹삼을 유효성분으로 사용하므로 인체에 부작용이 없으며, 알코올성 간손상 및 감염 동물모델에서 혈중 ALT 및 AST 함량의 감소, 간조직 내 지질축적 또는 간세포 사멸의 억제 효과가 우수하므로, 본 발명의 조성물은 간질환의 예방, 개선 또는 치료용 건강기능식품 및 의약품에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 알코올성 간손상 동물모델에서 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 투여한 후 혈중 ALT 및 AST 함량의 감소를 확인한 결과이다. A; 10 ml/kg의 에탄올 섭취군, B; 30 ml/kg의 에탄올 섭취군, No treatment; 무처리 대조군(정상 마우스), Water; 물(대조군), SG; 새싹삼 추출물, FSG; 숙성새싹삼 추출물의 발효물.

도 2는 알코올성 간손상 동물모델에서 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 투여한 후 간조직 내 지질축적 억제 효과를 헤마톡실린-에오신 염색을 통해 확인한 결과이다. A; 100 배율, B; 200 배율, No treatment; 무처리 대조군(정상 마우스), Water; 물(대조군), SG; 새싹삼 추출물, FSG; 숙성새싹삼 추출물의 발효물.

도 3은 GalN/LPS로 유도된 염증성 간손상 동물모델에서 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 투여한 후 혈중 ALT 및 AST 함량의 감소 효과를 확인한 결과이다. control; 무처리 대조군(정상 마우스), Water; 물(대조군), SG; 새싹삼 추출물, FSG; 숙성새싹삼 추출물의 발효물.

도 4는 GalN/LPS로 유도된 염증성 간손상 동물모델에서 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 투여한 후 간 조직에서 간 세포 괴사 억제 효과를 헤마톡실린-에오신 염색을 통해 확인한 결과이다. control; 무처리 대조군(정상 마우스), Water; 물(대조군), SG; 새싹삼 추출물, FSG; 숙성새싹삼 추출물의 발효물.

도 5는 GalN/LPS로 유도된 염증성 간손상 동물모델에서 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 투여한 후 TUNEL 염색을 통해 간조직 내 세포사멸 억제 효과를 확인한 결과이다. Control; 무처리 대조군(정상 마우스), water; 물(대조군), SG; 새싹삼 추출물, FSG; 숙성새싹삼 추출물의 발효물.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물에 있어서, 상기 숙성새싹삼 추출물의 발효물은 새싹삼 추출물에 유산균 혼합물을 접종한 후 발효시키는 단계를 포함하여 제조될 수 있으며, 상기 유산균 혼합물은 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) 균주 및 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) 균주가 혼합된 것일 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 각각 1×10^{8}~1×10^{10} CFU/ml의 농도로 준비된 기탁번호 KACC 91848P인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) P1201 균주 및 기탁번호 KACC 92156P인 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) BMK184 균주가 1:1의 비율로 혼합된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0015] 본 발명의 숙성새싹삼 추출물의 발효물 제조방법은 구체적으로는,

[0016] (1) 새싹삼을 증자한 후 숙성시키는 단계;

[0017] (2) 상기 (1) 단계의 숙성된 새싹삼을 건조시키고, 건조된 숙성새싹삼에 물을 혼합하여 추출하는 단계;

[0018] (3) 상기 (2) 단계의 제조된 숙성새싹삼 추출물에 당을 혼합한 후 살균하는 단계; 및

[0019] (4) 상기 (3) 단계의 살균된 숙성새싹삼 추출물에 유산균 혼합물을 접종한 후 발효시키는 단계를 포함하여 제조될 수 있으며, 더욱 구체적으로는,

[0020] (1) 25~30일간 재배된 새싹삼을 흐르는 물에 3회 세척하고 3~5cm 두께로 세절하여 95~120℃에서 25~35분 동안 증자한 후 70~80℃에서 5~10일간 숙성시키는 단계;

[0021] (2) 상기 (1) 단계의 숙성된 새싹삼을 50~55℃에서 2~3일간 건조시키고, 건조된 숙성새싹삼에 물을 중량 대비 20배 가하여 95~100℃에서 4시간 동안 추출하여 1.5 브릭스(brix)의 숙성새싹삼 추출물을 제조하는 단계;

[0022] (3) 상기 (2) 단계의 제조된 숙성새싹삼 추출물에 당을 추출물 중량 대비 2% (w/v)로 혼합한 후 121℃에서 15분 동안 살균하는 단계; 및

[0023] (4) 상기 (3) 단계의 살균된 숙성새싹삼 추출물에 각각 1×10^{9} CFU/ml의 농도로 준비된 기탁번호 KACC 91848P인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) P1201 균주 및 기탁번호 KACC 92156P인 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) BMK184 균주가 1:1의 비율로 혼합된 유산균 혼합물을 추출물 중량 대비 5% (v/v)로 접종한 후, 25~35℃에서 2~5일 동안 발효시키는 단계를 포함하여 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0024] 상기 (3)단계의 당은 유산균이 당을 분해하여 영양분을 형성함으로써 발효를 더욱 원활하게 이루도록 하기 위하여 첨가된다. 본 발명에 사용할 수 있는 당류로는 식품으로 사용할 수 있는 것으로 설탕, 포도당, 과당, 엿류, 당시럽류, 덱스트린, 올리고당류 중에서 하나를 사용하거나 이들을 혼합하여 사용할 수 있고, 바람직하게는 설탕일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0025] 본 발명의 건강기능식품 조성물에 있어서, 상기 간질환은 알코올성 지방간, 지방간, 만성 간염, 급성 간염, 알코올성 간염, 간경변 또는 알코올성 간경변일 수 있고, 바람직하게는 알코올성 지방간 또는 간염일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0026] 용어 '지방간(fatty liver)'은 정상 간에서 지방이 차지하는 비율(5%)보다 많은 양의 지방이 간에 축적된 것을 의미한다. 상기 지방간은 알코올성 지방간, 또는 비만, 당뇨병, 고지혈증 또는 약물 등으로 인한 비알코올성 지방간일 수 있다.

[0027] 용어 '간염'은 간세포 및 간 조직의 염증을 의미하며, 만성 간염에 의하여 장기간에 걸쳐 간세포가 파괴되고 재생하는 과정이 반복되면 간에 섬유조직과 재생 결절이 증가하여 간경변 또는 간경화가 진행될 수 있다. 간경변이 일정 수준 이상으로 진행되면, 간성뇌증(Hepatic encephalopathy), 식도정맥류(Esophageal varix) 등의 합병증을 유발할 수 있다.

[0028] 상기 건강기능식품 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽, 발포정 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 건강기능식품 조성물은 간질환을 예방하거나 개선하기 위해 섭취할 수 있는 것이면 특별히 제한되지 않는다.

[0029] 본 발명의 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분은 그의 사용 목적(예방 또는 개선)에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 숙성새싹삼 추출물의 발효물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양의로 첨가된다. 그러나 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 안전성 면에서 아무런 문제가 없는 범위의 양으로 사용될 수 있다.

[0030] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 건강기능식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다. 상기 음료는 탄산음료, 기능성이온음료, 쥬스(예를 들어, 사과, 배,포도, 알로에, 감귤, 복숭아, 당근, 토마토쥬스 등), 식혜 등을 포함한다.

[0031] 본 발명의 기능성 식품은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 천연 탄수화물 또는 향미제를 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등), 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등), 올리고당, 폴리사카라이드(예컨대, 덱스트린, 시클로덱스트린 등) 또는 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리쓰리톨 등)인 것이 바람직하다. 상기 향미제는 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등)와 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다. 상기 건강기능식품 조성물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 더 함유할 수 있다.

[0032] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 함유하는 간질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0033] 본 발명의 상기 약학 조성물은, 유산균 혼합물에 의한 발효과정을 통해 간 세포 보호 효과, 혈중 ALT 및 AST의 함량의 감소 효과가 증가된 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 유효성분으로 포함하고 있어, 간질환 예방 또는 치료에 효과가 있다. 상기 숙성새싹삼 추출물의 발효물 제조방법은 전술한 것과 같다.

[0034] 본 발명의 상기 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 포함하는 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0035] 본 발명의 약학 조성물의 약학적 투여 형태는 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 조합으로 사용될 수 있다.

[0036] 본 발명에 따른 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제제, 외용제, 좌제 및 주사제의 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, 셀룰로오스, 메

틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함한 다양한 화합물 혹은 혼합물을 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 발효물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로오스 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 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이 외에 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, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0037] 본 발명의 상기 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중,질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 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, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0038] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0039] **제조예 1. 새싹삼 추출물 제조**

[0040] 드림팜(유)로부터 공급받은 25일~30일간 재배된 새싹삼을 흐르는 물에 3회 세척하고, 물기를 제거하여 3~5cm 크기로 세절한 후 50~55℃에서 2~3일간 건조시켰다. 상기 건조된 새싹삼에 정제수를 중량 대비 60배 가하여 95~100℃에서 12시간 동안 추출하여 새싹삼 추출물을 제조하였다.

[0041] **제조예 2. 숙성새싹삼 추출물의 발효물 제조**

[0042] 상기 제조예 1에서 세절된 새싹삼을 95~100℃에서 30분 동안 증자하고 70~80℃에서 5~10일간 숙성시킨 다음 50~55℃에서 2~3일간 건조시켰다. 상기 건조된 숙성새싹삼에 정제수를 중량 대비 20배 첨가하고 95~100℃에서 4시간 동안 추출하여 발효를 위한 1.5 브릭스(brix)의 숙성새싹삼 추출물을 제조하였다.

[0043] 상기 숙성새싹삼 추출물에 설탕을 추출물의 중량 대비 2%(w/v)로 첨가한 후 121℃에서 15분 동안 살균시키고, 살균된 추출물에 1×10^{9} CFU/ml의 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) P1201 균주(KACC 91848P) 및 1×10^{9} CFU/ml의 락토바실러스 브레비스(*L. brevis*) BMK184 균주(KACC 92156P)를 추출물 중량 대비 2.5%(v/v)로 접종한 후 30~35℃에서 2~5일 동안 발효시켜 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 제조하였다.

[0044] **실시예 1. 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 알코올성 간손상 동물모델에 미치는 영향 분석**

[0045] 알코올에 의해 유발된 간손상(지방간) 동물모델에서, 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 혈중 AST와 ALT의 함량 및 간조직의 형태적 변화에 미치는 영향을 분석하였다.

[0046] **1-1. 알코올에 의해 유발된 간손상 동물모델 준비**

[0047] 4~5주령의 수컷 ICR 마우스는 사료 섭취로 인해 나타날 수 있는 위장관을 통한 알코올의 흡수 방해 현상을 배재하기 위해 12시간 동안 절식시켰다. 먼저 마우스에 물, 10 ml/kg의 새싹삼 추출물(SG), 2.5 ml/kg 또는 10 ml/kg의 숙성새싹삼 추출물의 발효물(FSG)을 각각 경구투여하고, 30분 후에 10 ml/kg 및 30 ml/kg의 18% 에탄올을 각각 복강투여하였다.

[0048] **1-2. 혈중 AST 및 ALT 함량 변화 분석**

[0049] 아스파라긴산 아미노전이효소(Aspartate aminotransferase, AST)와 알라닌 아미노전이효소(Alanine aminotransferase, ALT)는 간세포 안에서 아미노산 생성에 관여하는 효소로, 간세포가 손상될 경우 혈관 내로 방출되어 혈중 수치가 증가하게 된다. 따라서, 본 발명에서는 알코올 섭취에 따른 간 손상에 대해 숙성새싹삼 추출물의 발효물의 간손상 보호 효과를 분석하기 위해, 상기 실시예 1-1의 마우스에 에탄올 투여하고 6시간 후 혈액을 채취하고 혈장을 분리한 다음 혈중 AST 및 ALT의 함량을 측정하였다.

[0050] 그 결과, 마우스의 혈중 AST 및 ALT 함량은, 에탄올 무처리군(no treatment)에 비해 에탄올 처리구에서 현저히 증가되었으며, 물을 전처리하고 에탄올을 투여한 대조군(water)에 비해 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 전처리하고 에탄올을 투여한 실험군(FSG)에서 혈중 AST 및 ALT 함량이 감소하는 것이 확인되었다. 특히 같은 농도의 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 섭취한 실험군은 새싹삼 추출물을 섭취한 실험군에 비해 혈중 AST 및 ALT 함량이 보다 감소되었으며, 숙성새싹삼 추출물의 발효물 처리 농도에 비례하여 혈중 AST 및 ALT 함량이 감소하는 것을 확인하였다(도 1).

[0051] **1-3. 간조직의 형태적 변화 분석**

[0052] 알코올에는 영양소가 없지만 칼로리가 높기 때문에 간 조직의 지방축적에 원인이 될 수 있다. 따라서, 알코올로 유발된 간손상(지방간) 동물모델에서 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 손상된 간조직에 대한 보호 효과를 분석하기 위해, 상기 실시예 1-1의 마우스에서 에탄올 투여 6시간 후에 간조직을 적출하였다. 적출된 간조직은 10% 중성 포르말린 용액(10% neutral formalin solution)으로 고정시키고 파라핀 포매(paraffin-embedded) 과정을 거친 후 5 ㎛ 두께의 절편으로 잘랐다. 상기 잘라진 간조직을 유리 슬라이드에 고정시키고 헤마톡실린-에오신 염색(hematoxylin and eosin staining)을 실시한 다음 100 및 200 배율에서 관찰하였다.

[0053] 그 결과, 무처리 정상 마우스의 간조직과 비교하여, 에탄올만 처리한 군(water + 30 ml/kg EtOH 또는 water + 10 ml/kg EtOH)에서는 지방의 축적이 증가되어 에오신으로 염색되지 않고 하얗게 관찰되는 부분이 증가된 것이 확인되었으나, 이러한 지방의 축적은 새싹삼 추출물을 전처리한 실험군에서 억제된 것이 확인되었고, 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 전처리한 실험군에서는 지질 축적이 더욱 억제된 것이 확인되었다(도 2).

[0054] **실시예 2. 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 염증성 간손상 동물모델에 미치는 영향 분석**

[0055] GalN/LPS로 유도된 염증성 간손상 동물모델에서, 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 혈중 AST와 ALT의 함량, 간조직의 형태적 변화 및 간 세포 사멸에 미치는 영향을 분석하였다.

[0056] **2-1. 염증성 간손상 동물모델 준비**

[0057] 8주령의 수컷 C57BL/6 마우스에 물, 10 ml/kg의 새싹삼 추출물(SG), 10 ml/kg의 숙성새싹삼 추출물의 발효물(FSG)을 각각 경구투여하고, 1시간 후에 LPS(lipopolysaccharide) 5 ㎍/kg과 GalN(galactosamine) 700 mg/kg을 복강투여하였다.

[0058] **2-2. 혈중 AST 및 ALT 함량 변화 분석**

[0059] GalN/LPS에 의한 염증성 간손상 동물모델에서 숙성새싹삼 추출물의 발효물의 간 손상 보호 효과를 분석하기 위해, 상기 실시예 2-1의 마우스에 GalN 및 LPS 투여 5시간 후 혈액을 채취하여 혈장을 분리한 다음 혈중 AST 및 ALT의 함량을 측정하였다.

[0060] 그 결과, 정상 마우스(control)에 비해, 물을 전처리하고 GalN/LPS를 처리한 군에서 혈중 AST 및 ALT 함량이 현저히 증가된 것이 확인되었고, 증가된 AST 및 ALT 함량은 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 전처리한 실험군에서 현저히 감소된 것을 확인할 수 있었다. 특히, 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 동일 농도의 새싹삼 추출물에 비해 혈중 AST 및 ALT 함량의 감소 효과가 더욱 우수함을 확인하였다(도 3).

[0061] **2-3. 간조직의 형태적 변화 분석**

[0062] GalN/LPS에 의한 염증성 간손상 동물모델에서 숙성새싹삼 추출물의 발효물의 간 손상 보호 효과를 분석하기 위해, 상기 실시예 2-1의 GalN 및 LPS 투여 5시간 후의 마우스 간조직을 적출하였고, 헤마톡실린-에오신 염색을 수행하였다. 염색 과정은 상기 실시예 1-3과 동일하게 수행하였다.

[0063] 그 결과, 물만 섭취한 대조군에서는 간세포의 괴사와 같은 간 손상 현상이 관찰되었으나, 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 섭취한 실험군에서는 간 손상의 현상이 대조군에 비해 현저하게 억제된 것을 확인하였으며, 특히 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 동일농도의 새싹삼 추출물에 비해 간손상 억제 효과가 더욱 우수함을 확인하였다(도 4).

[0064] **2-4. 간 조직 내 세포사멸(apoptosis)의 억제 효과**

[0065] GalN/LPS에 의한 염증성 간손상 동물모델에서 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 간세포 사멸을 보호하는 효과가 있는지 분석하기 위해, 상기 실시예 2-1의 GalN 및 LPS 투여 6시간 후의 마우스에서 간 조직을 적출하였고, TUNEL 분석법(terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling assay)을 실시하였다. 구체적으로, 적

출된 간조직을 10% 중성 포르말린 용액으로 고정시키고 파라핀 포매 과정을 거친 후 5 ㎛ 두께의 절편으로 잘랐으며, 상기 잘라진 간조직은 *in situ* cell death detection kit(Roche, 스위스)를 사용하여 제조사의 지시에 따라 실험을 수행하였다. 사멸된 세포는 초록색 형광(green fluorescence)을 나타낸다.

[0066] 따라서, 도 5에 나타난 바와 같이, 무처리 정상 마우스에서 관찰되지 않던 사멸된 세포가 GalN/LPS에 의해 급격히 증가되었으나, 새싹삼 추출물 및 숙성새싹삼 추출물의 발효물을 섭취한 실험군에서는 초록색 형광의 사멸된 세포의 수가 감소한 것으로 보아, 본 발명의 숙성새싹삼 추출물의 발효물이 GalN/LPS에 의해 유도된 간세포 사멸을 억제하는 것을 확인하였으며, 특히 새싹삼 추출물에 비해 숙성새싹삼 추출물의 발효물에서 간세포 사멸이 더욱 효과적으로 억제됨을 알 수 있었다.

[0067] 상기의 결과를 통해, 본 발명의 숙성새싹삼 추출물의 발효물은 알코올 또는 염증 유발 인자에 의해 증가된 혈액 내 AST와 ALT의 함량을 효과적으로 감소시키며, 간 조직 내 지질 축적 또는 세포사멸을 억제함으로써, 알코올성 간손상 또는 비알코올성 간염과 같은 간질환을 개선하는 효과가 있음을 유추할 수 있었다.

수탁번호

[0068]

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC91848P

수탁일자 : 20130719

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

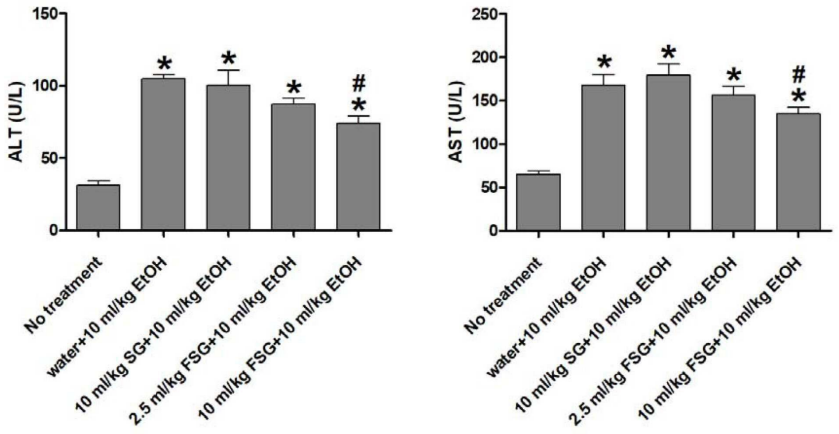
수탁번호 : KACC92156P

수탁일자 : 20161212

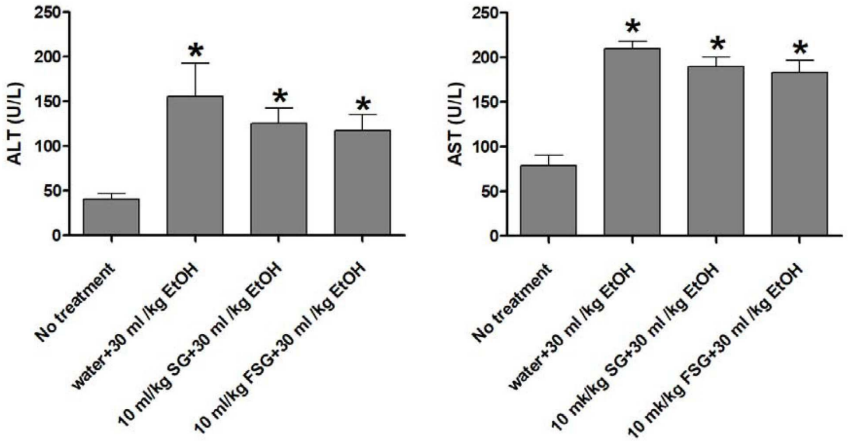
도면

도면1

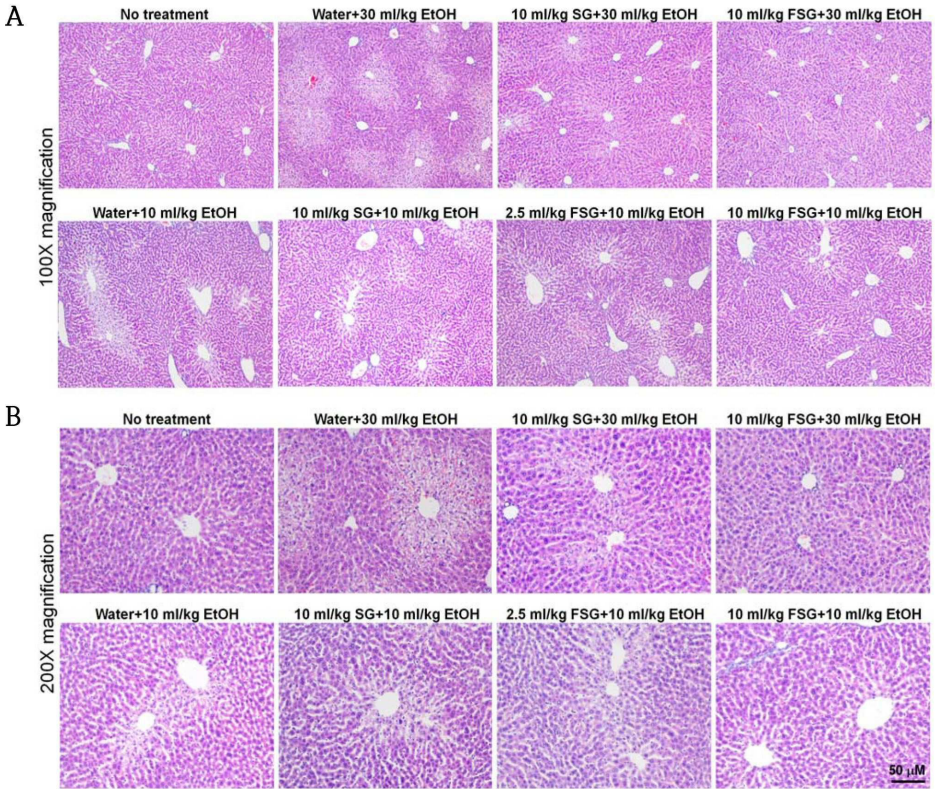
A


ALT (U/L)
150
100
50
0
*
*
*
#
*
No treatment
water+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg SG+10 ml/kg EtOH
2.5 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH
AST (U/L)
250
200
150
100
50
0
*
*
*
#
*
No treatment
water+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg SG+10 ml/kg EtOH
2.5 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH

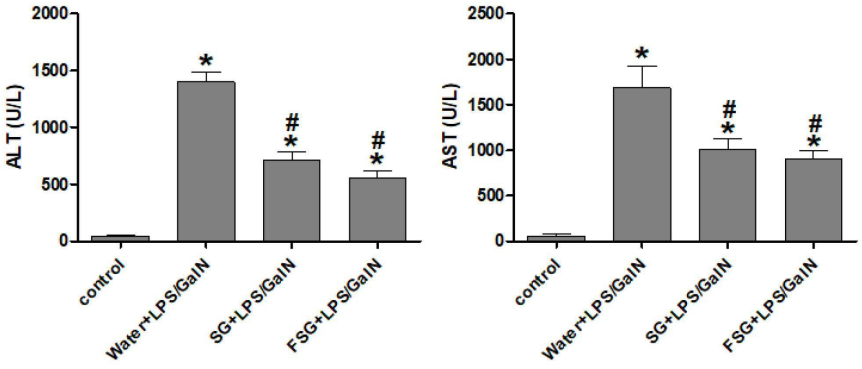
B


ALT (U/L)
250
200
150
100
50
0
*
*
*
No treatment
water+30 ml /kg EtOH
10 ml/kg SG+30 ml /kg EtOH
10 ml/kg FSG+30 ml /kg EtOH
AST (U/L)
250
200
150
100
50
0
*
*
*
No treatment
water+30 ml /kg EtOH
10 mk/kg SG+30 ml /kg EtOH
10 mk/kg FSG+30 ml /kg EtOH

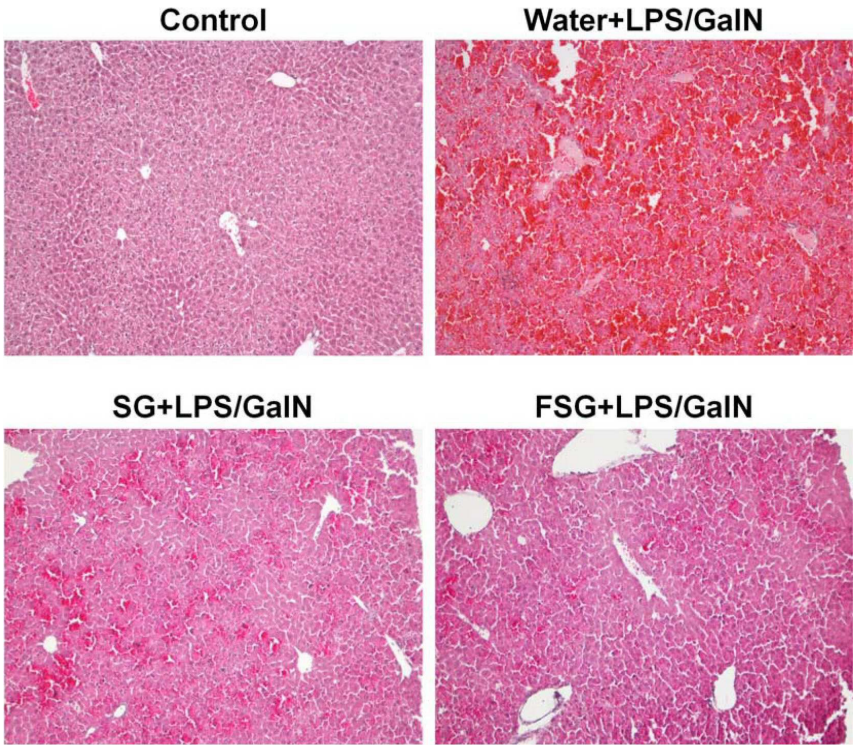
도면2


A
No treatment
Water+30 ml/kg EtOH
10 ml/kg SG+30 ml/kg EtOH
10 ml/kg FSG+30 ml/kg EtOH
100X magnification
Water+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg SG+10 ml/kg EtOH
2.5 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH
B
No treatment
Water+30 ml/kg EtOH
10 ml/kg SG+30 ml/kg EtOH
10 ml/kg FSG+30 ml/kg EtOH
200X magnification
Water+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg SG+10 ml/kg EtOH
2.5 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH
10 ml/kg FSG+10 ml/kg EtOH
50 μM

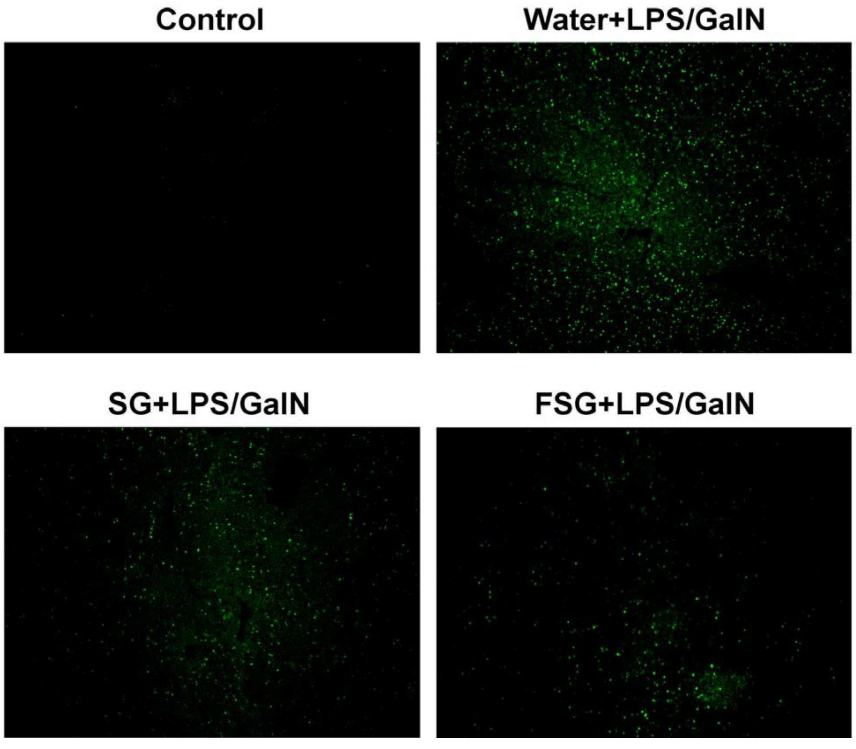
도면3


ALT (U/L)
2000
1500
1000
500
0
control
Water+LPS/GalN
SG+LPS/GalN
FSG+LPS/GalN
AST (U/L)
2500
2000
1500
1000
500
0
control
Water+LPS/GalN
SG+LPS/GalN
FSG+LPS/GalN

도면4


Control
Water+LPS/GalN
SG+LPS/GalN
FSG+LPS/GalN

도면5


Control
Water+LPS/GalN
SG+LPS/GalN
FSG+LPS/GalN