



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년12월06일
(11) 등록번호 10-0783205
(24) 등록일자 2007년11월30일

(51) Int. Cl.

A61K 36/07 (2006.01) A61P 1/16 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0086952

(22) 출원일자 2006년09월08일

심사청구일자 2006년09월08일

(56) 선행기술조사문헌

KR 10-2003-29423 A

KR 10-2004-69425 A

JP 62-174021 A

JP 16-75640 A

(73) 특허권자

건양대학교산학협력단

충남 논산시 내동 26 건양대학교 산학협력단

주식회사 우양에이치엔비

충남 논산시 내동 26 건양대학교산학협력관 301

유영춘

충남 계룡시 두마면 유동리 14-6 대동아파트 116
동 1301호

(72) 발명자

유영춘

충남 계룡시 두마면 유동리 14-6 대동아파트 116
동 1301호

명상규

충남 논산시 내동 26 건양대 산학 301호

(74) 대리인

최익하

전체 청구항 수 : 총 3 항

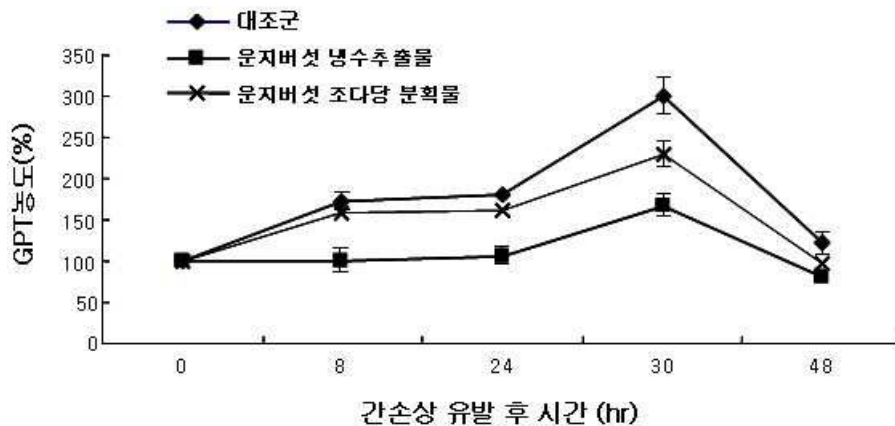
심사관 : 이동욱

(54) 운지버섯 추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 함유하는간기능 개선 효과를 갖는 조성물

(57) 요약

본 발명은 항산화 활성과 간기능 개선 효능을 갖는 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물을 유효성분으로 함유하는 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것으로서 우수한 항산화 활성으로 인하여 간 독성을 억제하여 간기능 개선에 탁월한 효과가 있어 간질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도4



특허청구의 범위

청구항 1

운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 유효성분으로 하는 것을 특징으로 하는 간기능 개선용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물은 중량비율 1:1로 혼합한 것을 특징으로 하는 간기능 개선용 약학적 조성물.

청구항 3

운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 유효성분으로 하는 것을 특징으로 하는 간기능 개선용 건강기능식품.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <7> 본 발명은 항산화 활성과 간기능 개선 효능을 갖는 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물을 유효성분으로 함유하는 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.
- <8> 최근 환경의 오염과 새로운 감염병과 면역질환의 확산 그리고 노인인구의 증가 등에 따라 각종 질환의 유병율이 증가하는 추세에 있으며, 그 중에서도 40대 중반부터 발생 빈도가 높은 성인병 및 퇴행성 질환의 증가는 대단히 높은 상태이다. 특히 한국에 있어서는 식생활문화의 특성과 사회생활에서의 스트레스, 음주와 흡연과 같은 요인들에 의해 대사성 질환과 심혈관계 질환이 크게 증가하고 있다.
- <9> 한국의 경우에 있어서 단일 질병으로 보면 여러 부위에서 발생하는 암이 가장 중요한 질병으로 지목되지만, 점차로 심장병이나 뇌졸중과 같은 심혈관계 질환은 물론 간질환, 당뇨병, 비만과 같은 대사성 질환도 점차 심각한 질병군으로 대두되고 있다. 한편 경제발전으로 인한 생활수준의 향상에 의해 개인이 갖는 건강에 대한 관심은 급속히 높아지고 있으며, 특히 심혈관계 및 대사성 질환과 같은 성인병의 관리에 관련해서도 각종 건강 유지법, 스포츠 요법, 건강식품 및 건강보조식품, 예방차원의 의약품 등 예방 및 치료를 위한 많은 방법들이 이용되고 있다.
- <10> 간질환은 선천성 요인, 바이러스 감염, 화학물질에 의한 노출 등이 원인이 되어 발생하는 질병으로, 다량의 알콜섭취에 의한 일시적이며 급성인 간 손상과 같은 증상을 비롯하여 B형 간염과 같은 만성적인 질환까지 다양하게 발병한다. 특히 간질환은 지방간, 간경화, 간암 등의 증상을 동반하게 되는 경우가 있는데, 이들 증상에 의해 위험한 결과를 초래할 수 있다. 또한 간질환은 간조직의 기능저하에 의해 기타 다른 조직의 기능에도 부정적인 영향을 미치게 되어 영양상태의 불균형은 물론 혈관계 질환과 경우에 따라서는 기저질환의 악화 등을 초래하게 된다.
- <11> 간질환의 발병기전에는 여러 가지 복잡한 작용이 관련되어 있으나, 바이러스나 화학물질과 같은 외인성 요인 혹은 스트레스와 같은 내인성 요인에 의해 간세포 내에서 발생하는 산화작용이 커다란 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 따라서 항산화활성이 높은 물질을 섭취함으로써, 간세포의 기능을 높여주어 간질환을 억제하고자 하는 수많은 시도가 이루어져 왔다. 항산화 작용을 통해 간기능을 개선하고 간질환을 치료하기 위한 식품 혹은 의약품 소재로서 가장 많이 이용되어 온 것은 플라보노이드 계열의 화합물을 다량으로 함유하는 식물 추출물과 버섯류이다. 이들 소재들 중에서는 민간요법에서 간기능을 향상시키기 위한 목적으로 사용되고 있는 것도 있으나, 아직은 과학적 근거가 부족하고 효능이 불안정하여 실제로 이용되는 예는 그다지 많지 않다.
- <12> 운지버섯(Coriolus versicolor)은 구멍장이파에 속하는 버섯으로 구름버섯이라 불리기도 하는데, 침엽수와 광엽

수의 죽은 나무, 혹은 그루터기에서 자라나는 원형 및 반원형의 흑색 혹은 회색의 버섯이다. 운지버섯은 항암작용을 지니는 것으로 잘 알려져 있으며, 특히 항암작용에 관련하는 기능성 성분은 이 버섯의 세포벽을 이루는 물질인 글루칸(glucan)이며 흔히 폴리사카라이드-케이(Polysaccharide-K; PSK)라 불린다. 이 PSK는 정상세포에는 거의 독성이 없고, 암세포에 대하여 특이적인 독성을 나타내며, 또한 면역세포를 활성화시키는 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 한편 운지버섯이 만성 기관지염, 관상 순환장애, 위궤양, 만성 간장염, 관절염, 고혈압 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 아직 과학적인 근거가 제시된 자료는 거의 전무한 상태이다.

- <13> 이에 본 발명자들은 운지버섯의 냉수추출물과 운지버섯의 조다당 분획물이 높은 항산화 효과와 간독성에 대한 억제효과를 가지는 것을 발견하여, 이 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물 성분을 함유하는 조성물이 간세포의 독성을 완화하고 간기능을 개선시킬 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <14> 본 발명은 항산화 활성과 간기능 개선 효능을 갖는 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯의 조다당 분획물을 유효성분으로 함유하는 약학 조성물 및 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

발명의 구성 및 작용

- <15> 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯의 조다당 분획물을 유효성분으로 하고 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 항산화 활성과 간기능 개선 효능을 갖는 약학 조성물을 제공한다.
- <16> 또한, 본 발명은 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯의 조다당 분획물을 유효성분으로 하고 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 항산화 활성과 간기능 개선 효능을 갖는 건강기능식품을 제공한다.
- <17> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <18> 본 발명의 운지버섯 냉수추출물은 운지버섯을 수세하여 자연 탈수시킨 후 세절하고 중량에 대해 7배량의 멸균 증류수를 넣어 4℃의 온도에서 72시간 동안 냉수 추출한 후, 원심분리에 의해 얻어진 상청액을 여과지(0.45 μm filter paper)로 여과하여 동결 건조시킨 무균상태의 운지버섯 냉수추출물을 수득한다(도1 참조).
- <19> 한편, 운지버섯의 조다당 분획물은 수세, 탈수 및 세절한 운지버섯에 20배량의 멸균증류수를 넣고, 부피가 최초 부피의 30%가 되도록 유지하면서 100℃에서 3시간 가열처리하고 여과지를 통해 추출액을 여과한다. 이 추출액에 최초 부피와 동량이 되도록 에탄올(95%)을 혼합하여 4℃에서 12시간 방치하고, 원심분리를 통해 침전물(조다당 분획)을 얻는다. 이 침전물을 멸균증류수로 녹인 후, 80℃에서 에탄올 냄새가 없어질 때까지 가열함으로서 에탄올을 제거한다. 에탄올이 제거된 분획을 동결 건조하여 운지버섯 조다당 분획물을 수득한다(도 2참조).
- <20> 상기 본 발명의 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯의 조다당 분획물을 유효성분으로 하는 약학 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함 할 수 있다.
- <21> 본 발명에 따른 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물을 유효성분으로 하는 약학적 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액 등의 경구 형태로 제형화 하여 사용할 수 있다. 상기 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨 등을 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 습윤제, 결합제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조한다.
- <22> 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택할 수 있다. 바람직하게는 1일 5 mg/kg을 투여하는 것이 좋다. 투여횟수는 하루에 한번 투여 할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- <23> 또한, 상기 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물을 유효성분으로 하는 건강기능식품은 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 더 포함할 수 있다.
- <24> 본 발명의 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물을 첨가할 수 있는 식품으로는 음료, 차, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있으며, 환제, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용될 수 있다.
- <25> 이하에서는 본 발명을 실시예에 따라 구체적으로 설명하는 바, 하기의 실시예는 본 발명을 설명하기 위하여 제

시하는 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

- <26> <실시예 1>
- <27> 운지버섯 냉수 추출물의 제조
- <28> 운지버섯 500g을 수세하여 자연 탈수시킨 후 일정한 크기로 세절하고 3.5ℓ의 멸균 증류수를 넣어 4℃의 온도에서 72시간 동안 냉수 추출한 후, 원심분리에 의해 얻어진 상청액을 여과지(0.45 μm filter paper)로 여과하여 동결 건조 처리하여 55g의 무균상태의 운지버섯 냉수추출물을 얻었다.
- <29> 운지버섯 조다당 분획물의 제조
- <30> 수세, 탈수 및 세절한 운지버섯 500g에 10ℓ의 멸균증류수를 넣고, 부피가 최초 부피의 30%가 되도록 유지하면서 100℃에서 3시간 가열처리하고 여과지(0.45 μm filter paper)를 통해 추출액을 여과한 다음, 이 추출액에 최초 부피와 동량이 되도록 7ℓ의 에탄올(95%)을 혼합하여 4℃에서 12시간 방치하고, 원심분리를 통해 침전물(조다당 분획)을 얻었다. 이 침전물을 250g의 멸균증류수로 녹인 후, 80℃에서 에탄올 냄새가 없어질 때까지 가열함으로써 에탄올을 제거하였다. 에탄올이 제거된 분획을 동결 건조하여 10g의 운지버섯 조다당 분획물을 얻었다.
- <31> <실시예2>
- <32> 캡슐제의 제조
- <33> 실시예1에서 얻은 운지버섯 냉수추출물 0.05g, 운지버섯 조다당 분획물 0.05g, 결정성 셀룰로오스 0.03g, 락토오스 0.015g, 마그네슘 스테아레이트 0.005g을 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- <34> 정제의 제조
- <35> 실시예1에서 얻은 운지버섯 물 추출물 0.05g, 운지버섯 조다당 분획물 0.05g, 옥수수전분 0.03g, 유당 0.01g, 정제수 0.005g, 스테아린산 마그네슘 0.005g을 통상의 정제 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조한다.
- <36> 액제의 제조
- <37> 실시예1에서 얻은 운지버섯 물 추출물 0.15g, 운지버섯 조다당 분획물 0.15g, 이성화당 0.005g, 만니톨 0.005g, 정제수 100g을 통상의 액제 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시켜 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
- <38> <실시예3>
- <39> 건강보조식품의 제조
- <40> 실시예1에서 얻은 운지버섯 물 추출물 0.15g, 운지버섯 조다당 분획물 0.15g, 산화아연 0.002g, 산화마그네슘 0.005g, 스테아린산마그네슘 0.005g, 비타민 0.01mg, 글리세린지방산에스테르 0.005g를 통상의 건강식품 제조방법에 따라 혼합한 다음, 통상의 방법에 따라 건강보조식품을 제조한다.
- <41> 건강음료의 제조
- <42> 실시예1에서 얻은 운지버섯 물 추출물 0.15g, 운지버섯 조다당 분획물 0.15g, 구연산 0.05g, 올리고당 0.05g, 타우린 0.05g, 매실농축액 0.002g, 정제수 100g 통상의 건강음료 제조방법에 따라 혼합한 다음, 2시간 동안 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 0.5리터 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
- <43> <실험예1>
- <44> 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물 각각의 항산화 활성측정
- <45> 운지버섯의 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물(다당체 추출물)의 항산화 활성을 확인하기 위하여 상기 실시예1에서 제조한 운지버섯의 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 가지고 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼(Radical) 소거활성을 측정하는 생체 외(In vitro)실험법에서 측정하였다. DPPH는 그 자체가 매우 안정한 자유 라디칼(free radical)로서 517 nm에서 특징적인 광흡수를 나타내는 보라색 화합물이다. DPPH 용액 (1.5×10^{-4} M) 1 ml와 실시예1에서 제조한 운지버섯 냉수추출물, 운지버섯 조다당 분획물을 각

각 0.1 ml 씩 섞은 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서의 광흡수도 감소 정도를 조사하였다. 이 실험에서는 양성 대조군으로서 BHT(butylated hydroxytoluene)를 사용하였다. 여러 농도의 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 DPPH용액과 혼합하여 자유라디칼(free radical)의 소거활성을 측정하여 ED₅₀ (50% effective dose)수치를 비교한 결과, 양성대조군인 BHT는 ED₅₀가 약 12 mg/ml이었다. 한편 운지버섯 냉수추출물은 복합 추출물임에도 단일물질인 BHT와 거의 동등한 정도의 ED₅₀수치를 나타내어, 높은 항산화 활성이 인정되었다. 한편 운지버섯 조다당 분획물은 약 60 mg/ml의 ED₅₀치를 나타내어, 운지버섯 냉수추출물 보다는 활성이 다소 낮기는 하지만, 항산화 활성을 지지는 것으로 나타났다. 이 실험결과로부터 운지버섯의 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물은 일정 수준 이상의 높은 항산화 활성을 지니고 있음을 확인하였다. 그 결과를 도3에 나타내었다.

<46> <실험예 2>

<47> 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물 각각의 경구투여에 의한 간독성 억제효과

<48> 항산화 활성에서 유의한 효과가 확인된 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물에 대하여 동물실험을 통한 간독성 억제효과를 검토하였다.

<49> 암컷 Balb/c 마우스(8주령, 체중 21g)를 운지버섯 냉수추출물군, 운지버섯 조다당 분획물군, 대조군으로 각 군당 7마리씩 준비하고, 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 각각 5 mg/mouse의 양으로 1일 1회씩 5일간 경구투여한 후에, 6일째에 Concanavalin-A(ConA)를 10 mg/kg의 양으로 정맥내 주사하여 간독성을 유발하였다. 간독성의 유발여부는 혈중에 함유된 GPT효소의 양을 측정키트(영동제약)를 이용하여 계측함으로써 판정하였다. 정상 마우스의 GPT치를 기준으로 상대적인 값을 계산하여 비교한 결과, ConA 투여 후 시간경과에 따라 GPT수치가 상승하다가 30시간째에는 GPT가 정상 대조군의 약 2.7배 이상의 수치를 나타내었다. 이와 같이 운지버섯 냉수추출물을 경구투여한 후에 ConA를 정맥주사한 마우스는 대조군에 비해 현저하게 높은 간독성 억제활성을 나타내었으며, 운지버섯 조다당 분획도 운지버섯 냉수추출물 보다는 낮지만 간독성을 억제하는 효과를 보였다. 그 결과를 도4에 나타내었다.

<50> <실험예 3>

<51> 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물 각각의 경구투여에 의한 간독성 억제활성의 최적농도 측정

<52> 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물에 의한 간독성 억제효과에 대하여 최적 투여량을 조사하기 위하여 실험예2와 동일한 실험방법에 의해 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물 각각의 투여량을 1~10 mg/mouse의 범위에서 각각 5일간 경구투여하고, 다음날 ConA를 정맥주사한 후 30시간째의 혈청으로부터 GPT양을 측정하였다. 그 결과 운지버섯의 냉수추출물과 조다당 분획물은 공히 5 mg/mouse 이상의 양에서 간독성 억제능이 변화가 없어, 5 mg/mouse의 투여량이 간독성 억제활성의 최적 조건인 것으로 확인되었다. 그 결과를 도5에 나타내었다.

<53> <실험예 4>

<54> 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 함유하는 조성물의 간독성 억제효과

<55> 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 함유하는 조성물에 의한 간기능 개선효과를 극대화할 수 있는 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물의 혼합비를 결정하기 위하여, 간독성에 대해 높은 억제효과를 나타내었던 운지버섯 냉수추출물 5 mg/mouse과 조다당 분획 5 mg/mouse를 혼합한 형태로 간독성에 대한 억제효과를 조사하였다. 상기 실험예2와 동일한 방법으로 동물실험을 행한 결과, 운지버섯 냉수추출물과 운지버섯 조다당 분획물을 각각 단독으로 투여하였을 때에 비해 이들 두 추출물을 혼합하여 투여하는 것이 보다 높은 시너지 효과를 유도하는 것으로 나타났다. 그 결과를 도6에 나타내었다.

<56> <실험예 5>

<57> 독성시험

<58> 실시예1의 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물의 쥐에 대한 경구투여에 의한 독성 존재 유무를 조사하기 위하여 SD계통의 웅성 및 자성 쥐에 각각 1g/kg, 2g/kg 및 5g/kg 3개의 투여 용량으로 5마리씩 단회 경구투여하여 10일간의 사망예, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다. 그 결과 투여군 모두에서 시험 전 기간 동안 사망예는 없었으며, 대조군에 비해 특이적으로 관찰된 일반증상의 변화도 없었다. 또한 체중변화 및 부검시 해부학적 소견에서도 특이한 증상은 거의 관찰되지 않았다.

발명의 효과

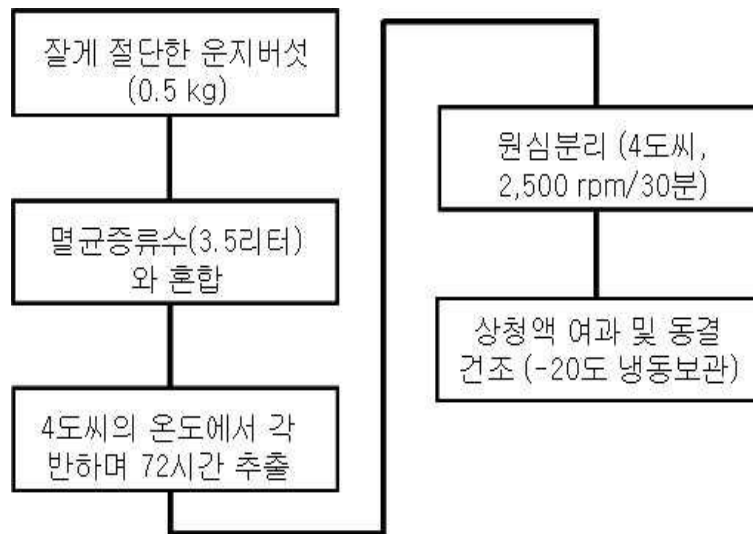
<59> 이상에서 설명한 바와 같이, 본 발명의 조성물은 우수한 항산화 활성으로 인하여 간 독성을 억제하여 간기능 개선에 탁월한 효과가 있어 간질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

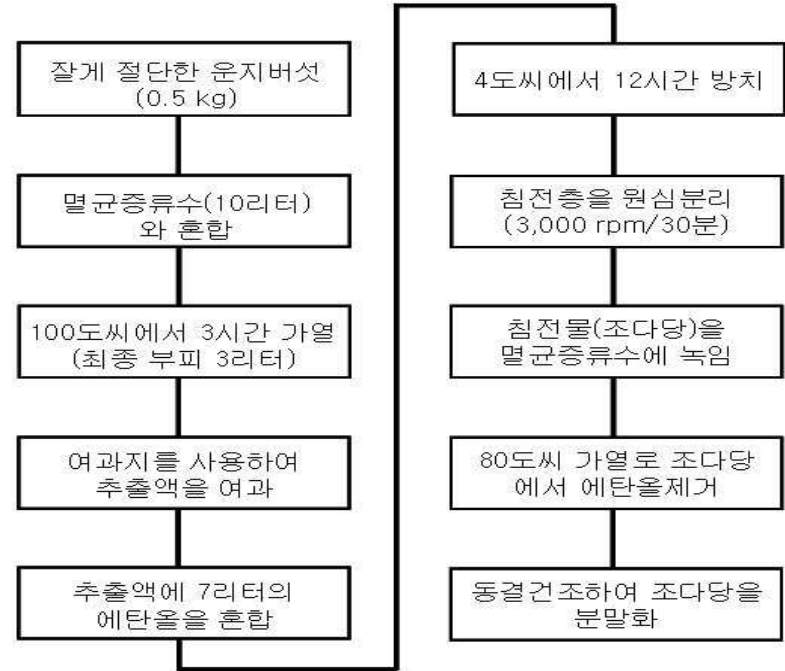
- <1> 도 1은 운지버섯 냉수추출물의 제조방법에 대한 순서도이다.
- <2> 도 2는 운지버섯 조다당 분획물의 제조방법에 대한 순서도이다.
- <3> 도 3은 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물의 항산화 활성 효과를 나타내는 그래프이다.
- <4> 도 4는 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물의 간독성 억제효과를 나타내는 그래프이다.
- <5> 도 5는 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물의 간독성 억제활성의 최적의 농도를 나타내는 그래프이다.
- <6> 도 6은 운지버섯 냉수추출물 및 운지버섯 조다당 분획물을 함유하는 조성물의 간독성 억제효과를 나타내는 그래프이다.

도면

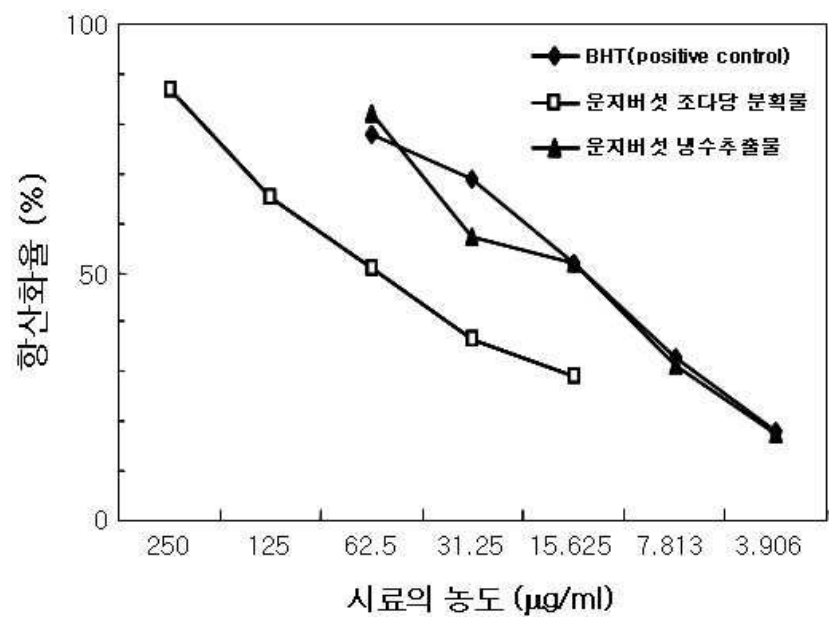
도면1



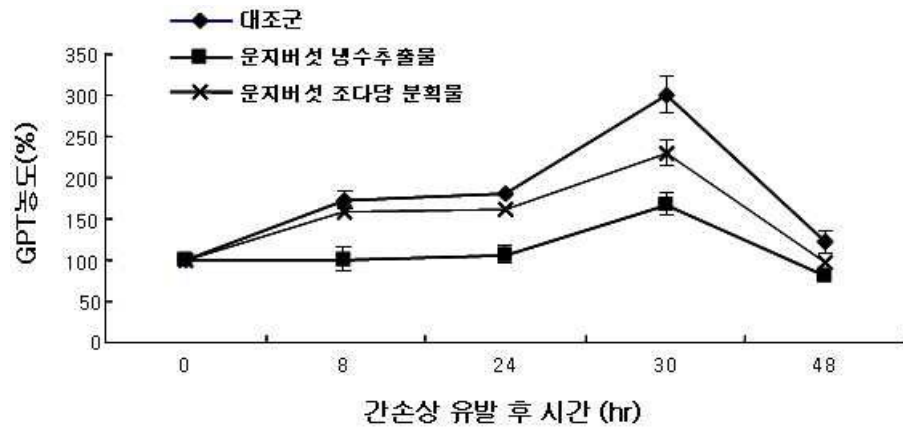
도면2



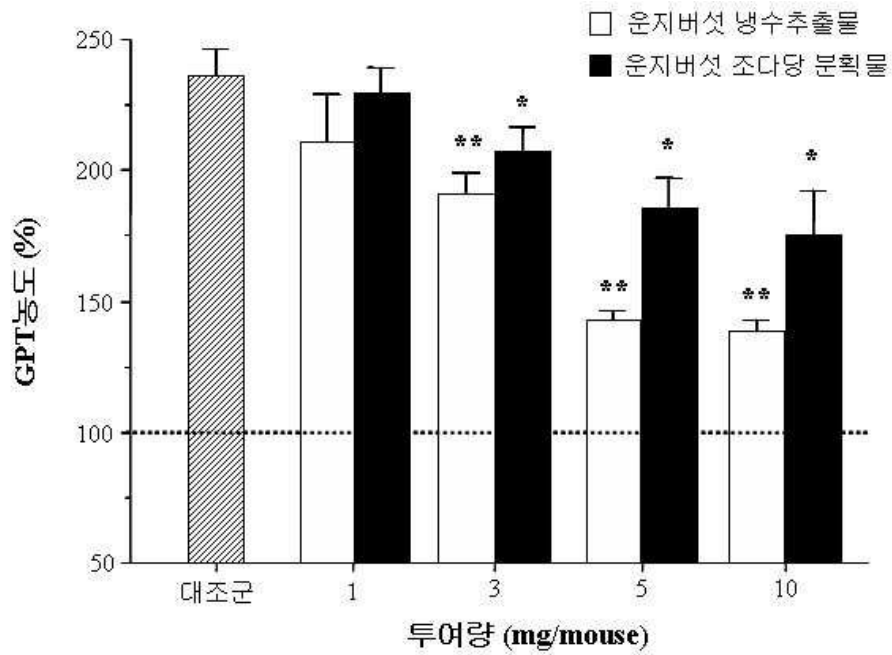
도면3



도면4



도면5



*p<0.05, **p<0.01; 대조군에 대한 통계학적 유의차

도면6

