

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2011-0093279 (43) 공개일자 2011년08월18일
(51) Int. Cl.		(71) 출원인
A61K 31/343 (2006.01) A61K 31/34 (2006.01)		조선대학교산학협력단
A61K 36/25 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)		광주광역시 동구 서석동 375 조선대학교 내
(21) 출원번호 10-2010-0013217		(72) 발명자
(22) 출원일자 2010년02월12일		오원근
심사청구일자 2010년02월12일		광주광역시 북구 두암동 현대아파트 105동 1601호
		누엔피형
		그룹 103, 섹션 7, 캄푸 디스트릭트, 캄파 타운, 팡닌주, 베트남
		(뒷면에 계속)
		(74) 대리인
		백경업

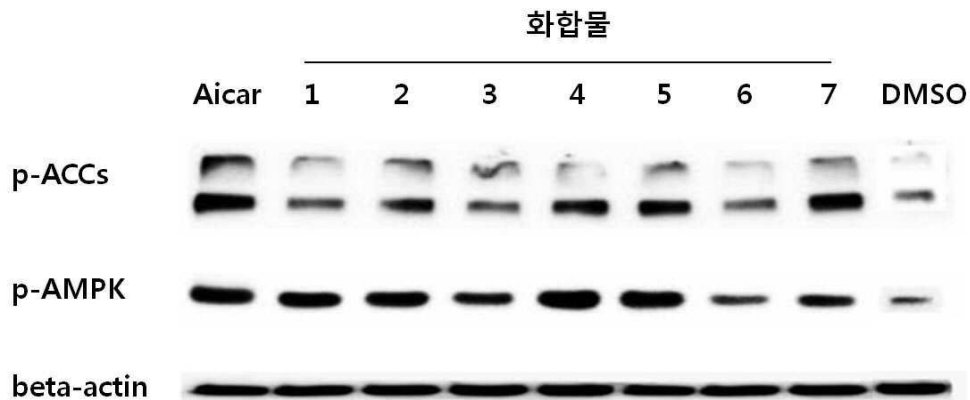
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 에리스리나 아비시니카로부터 얻은 에이엠피케이를 활성화시키는 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 아프리카 식물 에리스리나 아비시니카 (*Erythrina abyssinica*) 유래의 AMP-활성 단백질кина제 효소 (AMP-activated protein kinase; AMPK)를 활성화시키는 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것으로 상기 조성물은 당뇨, 비만 또는 대사증후군의 예방 및 치료 효과가 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

누옌티녹안

투안 쿠앙-두앙 사, 지아 람 디스트릭트, 하노이, 베트남

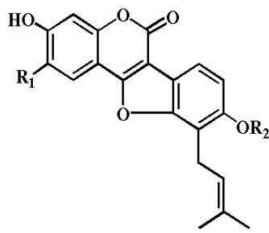
강후원

전남 나주시 영산동 272-2번지

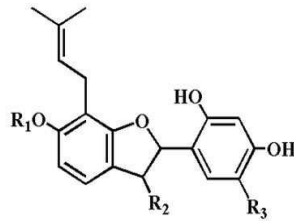
특허청구의 범위

청구항 1

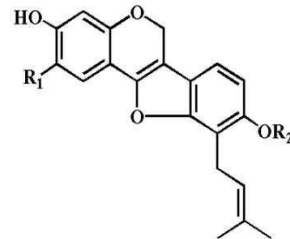
에리스리비신 F(화합물 1), 에리스리비신 N(화합물 2), 에리스리비신 O(화합물 3), 시그모이딘 K(화합물 4), 이소소자골(화합물 5), 에리포에진 F(화합물 6), 에리바린 D(화합물 7) 화합물 중 적어도 한 가지 이상을 유효성분으로 포함한 것을 특징으로 하는 비만 또는 대사증후군 예방 또는 치료용 에리스리나 아비시니카(*Erythrina abyssinica*) 추출물.



화합물 1 $R_1 = H, R_2 = CH_3$
 화합물 4 $R_1 = \text{prenyl}, R_2 = CH_3$
 화합물 5 $R_1 = R_2 = H$



화합물 2 $R_1 = H, R_2 = COOH, R_3 = \text{prenyl}$
 화합물 7 $R_1 = CH_3, R_2 = CHO, R_3 = H$



화합물 3 $R_1 = CHO, R_2 = H$
 화합물 6 $R_1 = H, R_2 = CH_3$

청구항 2

에리스리나 아비시니카(*Erythrina abyssinica*)에서 분리한 화합물 에리스리비신 F

청구항 3

에리스리나 아비시니카(*Erythrina abyssinica*)에서 분리한 화합물 에리스리비신 N

청구항 4

에리스리나 아비시니카(*Erythrina abyssinica*)에서 분리한 화합물 에리스리비신 O

청구항 5

제 1 항의 에리스리나 아비시니카(*Erythrina abyssinica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 비만 또는 대사증후군 개선용 건강기능식품.

청구항 6

제 1 항의 에리스리나 아비시니카(*Erythrina abyssinica*) 추출물을 유효성분으로 포함하고 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 함유하는 비만 또는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 조성물은 AMP-활성 단백질키나제(AMP-activated protein kinase; AMPK) 효소의 활성을 증가시키는 것을 특징으로 하는 비만 또는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 8

에리스리비신 F, 에리스리비신 N, 에리스리비신 O, 시그모이딘 K, 이소소자골, 에리포에진 F, 에리바린 D 화합물 중 적어도 한 가지 이상을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 비만 또는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 조성물은 AMP-활성 단백질키나제(AMPK) 효소의 활성을 증가시키는 것을 특징으로 하는 비만 또는 대사증후군 예방 또는 치료용 약학조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 아프리카 식물 에리스리나 아비시니카 (*Erythrina abyssinica*) 유래의 AMP-활성 단백질 키나제 효소(AMP-activated protein kinase; AMPK)를 활성화시키는 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 당뇨, 비만 또는 대사증후군(metabolic syndrome)의 예방과 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0002] 보다 자세하게는 본 발명은 에리스리나 아비시니카를 메탄올 추출한 후 크로마토그래피를 이용하여 순수 분리 정제하여 얻은 AMPK 활성화 화합물과 이를 효율적으로 추출, 정제하여 얻는 화합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨, 비만 또는 대사증후군(metabolic syndrome)의 예방과 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 최근 경제발전에 따른 생활수준의 향상으로 위생환경이 개선되고 식생활이 계속적으로 향상되고 있다. 그러나 과도한 음식량으로 섭취 열량은 증가하는 반면 운동 부족 등으로 소비되는 열량이 적어 비만이 증가하는 경향을 보이고 있다. 비만은 젊은이들에게 있어서 마른 체형을 좋아하는 미용적인 모습을 해칠 뿐만 아니라 비만이 지속됨으로서 여러 가지 질환, 즉, 고혈압, 당뇨, 고지혈증, 관상동맥질환 등과 같은 성인병을 비롯하여 유방암, 자궁암 및 대장암 등을 야기하는 것으로 보고되면서 이제는 치명적인 질병으로 취급되고 있다[J. Biol. Chem., 273, 32487-32490 (1998); Nature, 404, 652-660 (2000)].

[0004] 현재 비만을 치료하는 치료제로는 크게 중추 신경계에 작용하여 식욕에 영향을 주는 약제와 위장관에 작용하여 흡수를 저해하는 약물로 나누어 볼 수 있다. 중추 신경계에 작용하는 약물로는 각각의 기전에 따라 세로토닌(5-HT) 신경계를 저해하는 펜플루라민, 텍스펜플루라민 등의 약물, 노르아드레날린 신경계를 통한 에페드린, 카페인 등의 약물, 세로토닌 및 노르아드레날린 신경계에 동시 작용하여 비만을 저해하는 시부트라민 등의 약물들이 시판되고 있다. 이외에도, 위/장관에 작용하여 비만을 저해하는 약물로 장관 리파제를 저해하여 지방의 흡수를 줄여 주는 오를리스타트 등이 대표적인 약물로 사용되고 있다. 그러나 기존에 사용되어온 약물 중 펜플루라민 등의 약물은 부작용으로 원발성 폐고혈압이나 심장 판막병변을 일으켜 최근에 사용이 금지되었으며, 다른 약물들도 혈압감소나 유산산혈증 등의 문제점이 발생하여 심부전, 신질환 등의 환자에는 사용하지 못하는 문제점이 있다.

[0005] 따라서 본 발명자는 비만 치료를 위한 보다 개선된 방법을 찾기 위하여 최근 에너지 대사를 조절하는 기전에 관심을 갖게 되었다. 보통 대사증후군 예방 및 치료제는 발병 후 장기간 먹어야 되며 에너지 조절관련 기관이 미토콘드리아이기에 이를 위한 에너지 조절제는 다른 계열의 약물 목표점보다 보다 높은 안전성(낮은 독성)을 가져야 한다는 전제 아래 천연물로부터 AMPK 효소를 활성화하는 약물을 탐색하게 되었다.

[0006] AMPK는 세포의 영양상태나 운동, 스트레스 등에 의해 변화하는 에너지 상태(ATP/AMP ratio)에 반응하여 활성이 조절되는 인산화 효소로 글루코스 이동(glucose transport), 지방산 합성(fatty acid synthesis), 콜레스테롤 생합성(cholesterol synthesis) 등의 다양한 생리작용에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 47, 185-210 (2007)].

[0007] 최근의 보고에 의하면 운동으로 촉진되는 근세포의 글루코오스 흡수(glucose uptake)에 AMPK가 관여하며 이처럼 AMPK는 일반적으로 세포 내에서 에너지 준위를 모니터링하는 센서(sensor) 역할을 담당하고 있는 것으로 밝혀졌다. 운동을 하거나 허기진 상태에서 근육세포, 간세포, 지방세포 등은 필요한 에너지를 공급하기 위하여 지방, 글리코겐 등의 합성을 억제하며, 저장물질(지방)로부터 지방분해를 통하여 몸에서 필요한 에너지를 생성하게 하는 역할을 수행하는데 여기에 AMPK가 관여한다는 것이다. 또한, AMPK는 지방세포로부터 분비되는 렙틴(leptin)과 아디포넥틴(adiponectin)의 세포 내 신호전달물질로도 알려져 있다. 특히, 아디포넥틴은 비만인 사람의 혈중에서 정상체중의 사람과 비교하여 낮은 농도로 측정되는 것으로 보아, AMPK가 비만으로 기인한 인슐린 저항성과 높은 관계가 있을 것으로 추정되며, 따라서 AMPK 활성화 물질은 비만의 훌륭한 약물목표점으로 부상하고 있다[Nat. Rev Mol Cell Biol., 8(10), 774-785 (2007)].

[0008] 지금까지 경구용 당뇨병 치료용으로 사용하여 왔으나 그 기전을 모르고 있었던 메트포민(metformin)의 약물목표점이 AMPK 활성화와 관련성이 있다는 것이 밝혀진 이후부터 많은 기업들은 이들을 목표점으로 약물을 개발하여 왔

다. 2008년에 호주의 가르반 의학연구소 팀은 '화학&생물학저널'에 발표한 연구결과로 비터멜론(bitter melon)에서 추출한 4가지 성분이 AMPK를 활성화하여 체내 대사를 조절하는 것으로 보고하였다[Chem Biol., 15(5), 263-273 (2007)].

[0009] 일반적으로 새로운 성분의 약제를 개발하기 위한 여러 가지 방법 중, 기존 약제의 실험적 변형에 의한 약제개발 보다는 전통 의학에서 사용되고 있는 천연물 약제들로부터 새로운 활성 성분을 발견하는 것이 약제개발 성공 가능성이 매우 높다. 또한 이러한 활성 성분들은 오랫동안 사용되어 왔기 때문에 약물들에 의한 독성 염려가 적어 바로 약물치료로 사용할 수 있다는 장점이 있다.

[0010] 본 발명의 대상인 에리스리나 아비시니카(*Erythrina abyssinica*)는 콩과에 속하며 에리스리나 속의 나무는 약 110여 종이나 되는 널리 알려진 식물이다. 에리스리나 속은 열대, 아열대 지역에 걸쳐서 자라며 본 발명의 대상이 되는 에리스리나 아비시니카는 아프리카 중부의 카메룬 지역에 자생하는 나무로 붉은색 꽃을 갖고 있다. 에리스리나 아비시니카의 식물 추출물은 예로부터 아프리카 지역에서 약용식물로 사용하여 왔으며 특히, 항 세균 관련 질환에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 본 발명자는 에리스리나 아비시니카로부터 AMPK 효소를 활성화하는 작용을 갖는 7종의 화합물을 분리하여 구조를 확인하였다. 이들 화합물은 코메스탄(coumestan) 계열의 화합물, 프테로카르판(pterocarpan) 계열의 화합물 및 벤조퓨란(Benzofuran) 계열의 화합물이었다. 이들 화합물은 공통적으로 AMPK 효소를 활성화하였으므로 본 발명의 화합물은 비만을 비롯한 대사증후군 예방 및 치료용도로 사용 가능함을 밝힐 수 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

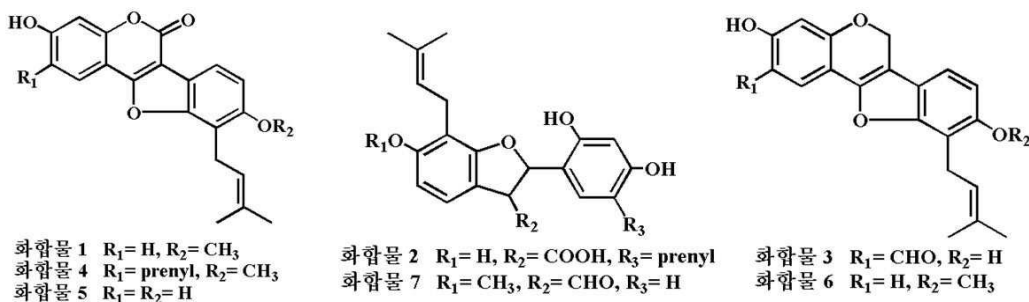
[0011] 본 발명의 목적은 에리스리나 아비시니카 유래의 AMPK 활성화 작용을 가지며 비만 또는 대사증후군 관련 질환에 예방과 치료 효과를 나타내는 화합물들을 제공하는 데에 있다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 에리스리나 아비시니카 유래의 AMPK 활성화 작용을 갖는 비만 또는 대사증후군의 예방과 치료 효능을 갖는 화합물들을 각각 혹은 2개 이상 혼합하여 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명자들은 상기와 같은 점을 감안하여 각종 자생식물 및 한약재를 채집하여 AMPK 활성화 작용을 조사하였으며 최종적으로 에리스리나 아비시니카를 후보식물로 선정하였다. 이 후, 본 식물을 유기용매로 추출하여 AMPK 활성화 작용을 하는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 에리스리비신 F(erythribyssin F, 화합물 1), 에리스리비신 N(erythribyssin N, 화합물 2), 에리스리비신 O(erythribyssin O, 화합물 3), 시그모이딘 K(sigmoidin K, 화합물 4), 이소소자골(isosojagol, 화합물 5), 에리바린 D(eryvarin D, 화합물 6), 에리포에진 F(erypoegin F, 화합물 7)를 추출하였다.

화학식 1



[0014]

[0015] 상기 화합물은 비만 또는 대사증후군 관련 예방 또는 치료 물질과 AMPK 활성화용 약제 물질 중에서 선택되는 것 중에 적어도 하나의 용도로 사용되는 것을 특징으로 한다.

- [0016] 상기 화합물은 에리스리나 아비시니카로부터 유래된 것일 수 있다.
- [0017] 또한 상기 화합물은 에리스리나 아비시니카의 메탄올 추출물로부터 유래된 것일 수 있다. 메탄올 추출물은 이후 에틸 아세테이트로 추가적으로 분획할 수 있다.
- [0018] 본 발명에 따른 비만 또는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물은 상기한 화합물들 중 적어도 한 가지 이상의 화합물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0019] 상기 화합물은,
- [0020] 에리스리나 아비시니카를 유기용매로 추출 및 분획하는 단계;
- [0021] 활성화합물을 크로마토그래피를 이용하여 AMPK를 활성화하는 화합물을 순수하게 분리 정제하는 단계;
- [0022] 상기 단계에서 얻은 화합물의 화학구조 및 물리화학적 특성을 조사하는 단계; 및
- [0023] 근육 전구세포인 C2C12 세포주를 분화시킨 후 상기 단계의 화합물의 AMPK 활성화를 조사하는 단계;
- [0024] 의 과정을 통해 얻어질 수 있다.
- [0025] 상기 화합물들의 구조 확인은 물리화학적 특성 및 핵자기공명 스펙트럼의 해석으로부터 확인가능하다.
- [0026] 본 발명에 따른 AMPK 활성화 화합물은 에리스리나 아비시니카로부터 유기용매(알코올, 에테르, 아세톤 등)에 의한 추출, 에틸아세테이트와 물의 분배, 디아이온 HP-20 레진과 같은 흡착수지 사용방법, 칼럼크로마토그래피에 의한 방법 등 식물체 성분의 분리 추출에 이용되는 공지의 방법을 단독 또는 적합하게 조합하여 용이하게 얻을 수가 있다. 조추출물은 필요에 따라서 상법에 따라서 더욱 정제할 수 있다.
- [0027] 본 발명에서 사용하는 크로마토그래피에는 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 칼럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등이 이용될 수 있다.
- [0028] 본 발명에 따른 화합물은 AMPK 활성화에 작용하므로 비만 또는 대사증후군 관련 예방 또는 치료에 효능이 있으며 생체 내 이용성이 높아서 유리하게 활용할 수 있다.
- [0029] 본 발명에 따른 화합물은 에리스리나 아비시니카로부터 쉽게 분리할 수 있을 뿐만 아니라 안정도도 높으므로 식품, 의약품의 첨가제로 이용할 수 있다.
- [0030] 본 발명에 따른 추출물을 포함하는 약학조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토스, 텍스트로즈, 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. 제제화 할 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 상기 추출물에 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, 비수용용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0031] 상기 활성성분의 투여량은 치료 받을 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 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수

도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 추출물은 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 추출물은 독성 및 부작용은 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0032] 또한, 본 발명은 상기 에리스리나 아비시니카 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 비만 예방을 위한 건강기능식품을 제공한다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성식품류 등이 있다. 상세하게는, 본 발명은 에리스리나 아비시니카 추출물을 유효성분으로 함유하는 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 비만 또는 대사증후군 관련 예방과 치료용 건강 기능 식품을 제공한다.

발명의 효과

[0033] 본 발명에 따른 화합물 1 내지 화합물 7을 포함한 조성물은 세포 내에서 AMPK 효소를 활성화하여 에너지 대사과정에 대한 작용을 통하여 비만 또는 대사증후군 관련 예방과 치료의 효과를 기대할 수 있다.

[0034] 또한 한약재 및 식용차 등의 식품원료로 사용되어 왔던 천연물 에리스리나 아비시니카로부터 추출 분리 정제한 것이므로 세포 독성이 적어 의약품, 화장품 및 식품 산업 등에 매우 유용하게 사용 및 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 에리스리나 아비시니카로부터 얻은 AMP-활성 단백질키나제 효소(AMPK)를 활성화시키는 신규화합물 에리스리비신 N(화합물 1)의 ^{13}C -NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 2는 에리스리나 아비시니카로부터 얻은 AMP-활성 단백질키나제 효소를 활성화시키는 신규화합물 에리스리비신 F(화합물 2)의 ^{13}C -NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 3은 에리스리나 아비시니카로부터 얻은 AMP-활성 단백질키나제 효소를 활성화시키는 신규화합물 에리스리비신 O(화합물 3)의 ^{13}C -NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 4는 에리스리나 아비시니카로부터 얻은 활성 화합물 각각을 분화된 C2C12 세포주에 처리하여 AMPK 효소의 활성을 p-AMPK와 p-ACCs의 발현정도를 통하여 웨스턴 블롯으로 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 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 완전해질 수 있도록 그리고 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이다.

[0037] <실시예 1 : 에리스리나 아비시니카로부터 활성화화합물의 분리 및 정제>

[0038] 에리스리나 아비시니카의 껍질 5kg을 메탄올 10ℓ를 사용하여 3일씩 3회 실온에서 추출하였다. 상기 메탄올 추출물을 감압 농축한 후 이 추출물 350g을 물로 현탁한 후 n-헥산, 에틸 아세테이트, 부탄올로 순차적으로 용매 분획한 다음 각각의 용매 분획에 대하여 AMPK 활성을 측정한 결과, 에틸 아세테이트 분획에서 강한 활성을 나타내었다. 상기 에틸아세테이트 분획물을 감압농축한 결과 156g의 분획물을 확인할 수 있었다. 에틸아세테이트 분획(45g)은 헥산-아세톤(10:1 → 0:1)의 용매구배 조건으로 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 5개의 분획을 얻었다(fr.1-5). 분획 F2(2.4g)은 메탄올-물(6:4→1:0)의 용매구배 조건으로 200ml씩 분취하여 5개의 소분획을 얻었다(fr.2.1-2.5). 소분획 F.2.3은 70% 아세토니트릴(MeCN, acetomitrile)을 용매조건으로 30분간에 걸쳐서 HPLC[Optima Pak C₁₈ column 20×150mm; 10μm 입자 크기 2ml/min; UV detection: 254nm]를 실시하여 화합물 1(4.7mg; t_R=24.5min)과 화합물 7(27.8mg; t_R=26.8min)을 순수하게 분리하였다. 소분획 F.2.4는 78% 아세토니트릴을 용매조건으로 25분 동안 HPLC[Optima Pak C₁₈ column 20×150mm; 10μm 입자 크기 2ml/min; UV detection: 254nm]를 실시하여 화합물 6(227.8mg, t_R=19.0min)과 화합물 3(5.8mg, t_R=22.5min)을 분리하였다. 분획 F3(4g)은 메탄올-물(5:5→1:0)의 용매구배 조건으로 300ml씩 분취하여 5개의 소분획을 얻었다(fr.3.1-3.5). 소분획 F.3.3은 60% 아세토니트릴을 용매조건으로 HPLC[Optima Pak C₁₈ column 20×150mm; 10μm 입자 크기 2ml/min;

UV detection: 254nm]를 실시하여 화합물 5(3.7mg, t_R =14.5min)와 화합물 2(10.8mg; t_R =20.8min)를 얻었다. 소분획 F.3.3은 헥산-아세톤(4:1)의 용매조건으로 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 이용하여 화합물 4(15mg)를 순수하게 분리하였다.

[0039] 표 1은 에리스리나 아비시니카 추출 용매분획에 대한 AMPK 활성화 측정 결과로서 활성 측정은 실시예 3의 방법을 이용하였다. AMPK 활성화 정도는 에틸아세테이트 분획에서 가장 강하게 나타났다.

표 1

[0040]

에리스리나 아비시니카 용매분획	AMPK 활성화 농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
메탄올 추출물 (A 분획)	200
n-헥산 (B 분획)	500
에틸아세테이트 (C 분획)	50
부탄올 (D 분획)	300

[0041]

<실시예 2 : 화합물의 물리화학적 특성 및 화학구조 분석>

[0042]

상기 에리스리나 아비시니카의 껍질로부터 분리된 화합물은 두 쌍의 방향성 수소를 갖는다는 것을 ^1H , ^{13}C -NMR 분석 결과로부터 확인하였으며 화합물 1 내지 화합물 3은 신규화합물로 밝혀졌다.

[0043]

화합물 1은 흰색 분말로 수득되었으며 분자식은 고질량분석기(HRESIMS)에서 350.1154의 측정치로부터 $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_5$ 로 결정되었다. 수소 핵자기 공명스펙트럼(^1H NMR)은 프레닐기를 존재를 암시하는 δ_{H} 3.68 (2H, d), 5.36 (1H, m), 1.67 (3H, s), 1.91 (3H, s)과 ABX-형태의 방향성 프로톤을 δ_{H} 6.96 (1H, br, s), 7.02 (1H, br, d)와 7.91 (1H, d) 및 한 쌍의 오르소(ortho) 연결된 δ_{H} 7.17 (1H, d, J =8.4Hz)와 7.74 (1H, d, J = 8.4 Hz)를 확인하였다. 각 치환기의 위치는 에치엠비시(HMBC)의 연결로부터 확인하였는데 δ_{H} 3.96에서 측정되는 메톡시 프로톤으로부터 C-9 (δ_{C} 157.3)와 δ_{H} 3.68의 메틸렌 프로톤으로부터 C-9 (δ_{C} 157.3), C-10 (δ_{C} 115.1)과 C-10a (δ_{C} 156.5)의 관찰로부터 이 화합물은 3-hydroxy-9-methoxy- 10-(3-methylbut-2-enyl)coumestan으로 신규화합물 에리스리비신 N (erythriby- ssin N, 화합물 1)으로 명명하였다.

[0044]

화합물 2는 갈색 분말로 얻어졌으며 UV 흡광스펙트럼(UV spectrum)은 2-아릴벤조퓨란 화합물(2-arylbenzofuran)의 특징인 329nm와 345nm에서 흡수밴드를 보여주었다. 고질량분석기의 측정치인 445.1626으로부터 분자식은 $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_6$ 으로 확인하였으며, 탄소핵자기공명스펙트럼(^{13}C NMR)으로부터 2-아릴벤조퓨란의 특징인 올레핀 4급탄소를 δ_{C} 159.1와 δ_{C} 111.1에서 확인하였다. 수소 핵자기 공명스펙트럼으로부터 오르소 방향족 수소 δ_{H} 7.70 (1H, d, J =7.5, 4-H)과 6.92(1H, d, J =7.5, 5-H), 2개의 단일 방향족 수소를 δ_{H} 6.56 (1H, s, 3' -H)와 7.34 (1H, s, 6' -H)에서 또한 2개의 프레닐(prenyl)기를 확인하였다. 각 치환기의 최종 위치는 에치엠비시(HMBC) 결과인 한 개의 프레닐기는 H-1" 로부터 C-6, C-7과 C-8로의 연결로부터 7번에 연결됨을 다른 프레닐기는 H-1" ' 로부터 C-4' , C-5' 및 H-6' 로부터 C-1" ' 으로부터 5' 에 연결함을 알았다. 화합물 2는 2-[2' ,4' -dihydroxy-5' -(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-6-hydroxy-7-(3-methylbut- 2-enyl)-1-benzofuran-3-oic acid로 에리스리비신 F(erythribyssin F, 화합물 2)로 명명하였다.

[0045]

화합물 3은 노란색 분말로 얻어졌으며 그것의 분자량은 350.1154로 측정된 고질량분석기의 결과치로부터 $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_5$ 으로 결정하였다. 수소 핵자기 공명스펙트럼으로부터 6번 위치의 프테로카르펜(pterocarpene) 수소인 δ_{H} 5.75 (2H, s)를 확인할 수 있었다. 또한, δ_{H} 6.45와 7.82로부터 방향족 단일수소를 δ_{H} 6.89와 7.18에서 J =8.4Hz를 갖는 방향족 오르소 관계의 수소 및 프레닐기를 확인하였다. 신규화합물 3에 존재하는 알데하이드 기는 수소 핵자기 공명스펙트럼으로부터 δ_{H} 9.94 (1H, s)와 탄소 핵자기 공명스펙트럼으로부터 상응하는 탄소의 측정치를

δ_c 196.1에서 확인하였다. 최종적으로 에치엠비시(HMBC) 결과인 알데하이드(δ_H 9.94)와 C-2 (δ_c 116.6), C-3 (δ_c 164.9)의 위치확인을 통하여 구조를 확정하였다. 따라서, 화합물 3은 3,9-dihydroxy-10-prenyl-2-formyl-6a,11a-dehydroxypterocarpan으로 에리스리비신 O(erythribyssin O, 화합물 3)로 명명하였다.

- [0046] 도 1 내지 도 3은 화합물 1 내지 화합물 3의 ^{13}C NMR 스펙트럼을 나타낸다.
- [0047] 이전에 보고된 화합물이지만 AMPK 활성화 작용이 처음 밝혀진 화합물 4 내지 화합물 7은 시그모이딘 K(sigmoidin K, 화합물 4), 이소소자골(isosojagol, 화합물 5), 에리바린 D(eryvarin D, 화합물 6) 및 에리포에진 F(erypoegin F, 화합물 7)이었다.
- [0048] 상기 화합물 4 내지 화합물 7은 수소 핵자기 공명스펙트럼, 탄소 핵자기 공명스펙트럼과 질량 분석스펙트럼 및 UV 흡수스펙트럼과의 비교를 통하여 그 구조 및 물리화학적 성질을 확인하였다.
- [0049] 2-1. 에리스리비신 N(erythribyssin N, 화합물 1)
- [0050] 성상: 흰색 분말
- [0051] 분자량: 350.1154
- [0052] 분자식: $C_{21}H_{18}O_5$
- [0053] UV 흡광 스펙트럼 (c 0.02, MeOH): λ_{max} nm: 210, 214, 242, 299, 336, 352 nm
- [0054] 수소핵자기공명스펙트럼 (500 MHz, acetone- d_6): δ 7.91(1H, d, $J=9.0$, H-1), 7.74(1H, d, $J=8.4$, H-7), 7.17(1H, d, $J=8.4$, H-8), 7.02(1H, br d, $J=7.8$, H-2), 6.96(1H, br s, H-4), 5.36(1H, t-like, $J=7.2$, H-2'), 3.96(3H, 9-OCH₃), 3.68(2H, d, $J=7.2$, H-1'), 1.91(3H, s, H-5'), 1.67(3H, s, H-4');
- [0055] 탄소핵자기공명스펙트럼 (125 MHz, acetone- d_6): δ 161.4(C-11a), 162.9(C-3), 158.6(C-6), 157.3(C-9), 156.5(C-10a), 155.5(C-5), 132.9(C-3'), 123.7(C-1), 122.4(C-2'), 119.0(C-7), 117.8(C-6b), 115.1(C-10), 114.7(C-8), 110.2(C-2), 105.7(C-11b), 104.3(C-4), 103.5(C-6a), 25.9(C-4'), 23.4(C-1'), 18.0(C-5').
- [0056] 2-2. 에리스리비신 F(erythribyssin F, 화합물 2)
- [0057] 성상: 갈색 분말
- [0058] 분자량: 445.1626
- [0059] 분자식: $C_{25}H_{26}O_6$
- [0060] UV 흡광 스펙트럼 (c 0.025, MeOH): λ_{max} nm: 329, 345 nm
- [0061] 수소핵자기공명스펙트럼 (500 MHz, acetone- d_6): 7.70(1H, d, $J=7.5$, H-4), 7.34(1H, s, H-5'), 6.92(1H, d, $J=7.5$, H-5), 6.56(1H, s, H-2'), 5.39(1H, m, H-2''), 5.36(1H, m, H-2''), 3.59(2H, d, $J=7.0$, H-1''), 3.31(2H, d, $J=7.0$, H-1''), 1.83(3H, s, H-5''), 1.72 (6H, s, H-4' 와 H-5''), 1.66(3H, s, H-4');
- [0062] 탄소핵자기공명스펙트럼 (125 MHz, acetone- d_6): δ 168.9(-COOH), 159.1(C-2), 158.9(C-4'), 156.5(C-2'), 154.6(C-8), 153.6(C-6), 132.8(C-6'), 132.5(C-3''), 132.2(C-3''), 124.0(C-2''), 123.1(C-2''), 121.1(C-5'), 120.7(C-9), 120.4(C-4), 113.6(C-5), 119.9(C-7), 112.0(C-1'), 111.1(C-3), 105.5(C-3'), 28.4(C-1''), 26.0(C-4''), 25.9(C-4''), 23.3(C-1'), 18.1(C-5'), 17.9 (C-5'').
- [0063] 2-3. 에리스리비신 O(erythribyssin O, 화합물 3)
- [0064] 성상: 노란색 분말
- [0065] 분자량: 350.1154
- [0066] UV 흡광 스펙트럼 (c 0.025, MeOH): λ_{max} nm: 210, 214, 242, 299, 336, 352 nm

- [0067] 수소핵자기공명스펙트럼 (500 MHz, acetone- d_6): δ 9.94(1H, -CHO), 7.82(1H, s, H-1), 7.18(1H, d, $J=8.4$, H-7), 6.89(1H, d, $J=8.4$, H-8), 6.45(1H, s, H-4), 5.75(2H, s, H-6), 5.40(1H, m, H-2'), 3.64(2H, d, $J=7.2$, H-1'), 1.88(3H, s, H-5'), 1.67(3H, s, H-4');
- [0068] 탄소핵자기공명스펙트럼 (125 MHz, acetone- d_6): δ 196.1(2-CHO), 162.9(C-3), 161.4(C-11a), 158.6(C-6), 157.3(C-9), 156.5(C-10a), 155.5(C-4a), 132.9(C-3'), 123.7(C-1), 122.4(C-2'), 119.0(C-7), 117.8(C-6b), 115.1(C-10), 114.7(C-8), 110.2(C-2), 105.7(C-11b), 104.3(C-4), 103.5(C-6a), 25.9(C-5'), 23.4(C-1'), 18.0(C-4').
- [0069] 2-4. 시그모이딘 K(sigmoidin K, 화합물 4)
- [0070] 성상: 갈색
- [0071] UV 흡광 스펙트럼 (c 0.025, MeOH): $\lambda_{\max}$ nm: 210, 242, 288, 316, 352 nm
- [0072] 수소핵자기공명스펙트럼 (500MHz, acetone- d_6): δ 7.72(1H, s, H-1), 7.59(1H, d, $J=8.0$, H-7), 7.04(1H, d, $J=8.0$, H-8), 6.96(1H, s, H-4), 5.44(1H, t-like, $J=7.5$, H-2'), 5.40 (1H, t-like, $J=7.5$, H-2'), 3.69(2H, d, $J=7.5$, H-1'), 3.44(2H, d, $J=7.5$, H-1'), 1.95(3H, s, H-5'), 1.81(3H, s, H-5'), 1.77(3H, s, H-4'), 1.69(3H, s, H-4');
- [0073] 탄소핵자기공명스펙트럼 (125 MHz, acetone- d_6): δ 160.8(C-11a), 159.5(C-3), 158.7(C-6), 156.1(C-9), 154.9(C-10a), 154.5(C-4a), 134.1(C-3'), 132.6(C-3'), 127.4(C-2), 122.6(C-2' 와 C-2'), 122.2(C-1), 118.9(C-7), 116.8(C-6b), 114.4(C-8), 113.4(C-10), 105.9(C-11b), 103.9(C-6a), 28.4(C-1'), 26.1(C-5'), 26.0(C-4'), 23.5(C-1'), 18.0(C-5'), 17.9(C-4').
- [0074] 2-5. 이소소자골(isosojagol, 화합물 5)
- [0075] 성상: 갈색 분말
- [0076] UV 흡광 스펙트럼 (c 0.01, MeOH): $\lambda_{\max}$ nm: 208, 242, 316, 343 nm
- [0077] 수소핵자기공명스펙트럼 (500 MHz, acetone- d_6): δ 7.92(1H, d, $J=9.0$, H-1), 7.02(1H, dd, $J=9.0$, 2.5, H-2), 6.94(1H, d, $J=2.5$, H-4), 7.60(1H, d, $J=8.5$, H-7), 7.05(1H, d, $J=8.5$, H-8), 5.42(1H, m, H-2'), 3.69(2H, d, $J=7.0$, H-1'), 1.90(3H, s, H-5'), 1.67(3H, s, H-4');
- [0078] 탄소핵자기공명스펙트럼 (125 MHz, acetone- d_6): δ 162.5(C-3), 161.1(C-11a), 158.9(C-6), 156.6(C-9), 155.9(C-10a), 154.9(C-4a), 132.3(C-3'), 123.2(C-2'), 122.9(C-1), 119.2(C-7), 117.1(C-6b), 114.7(C-10), 114.5(C-8), 111.1(C-2), 105.5(C-11b), 104.0(C-4), 103.7(C-6a), 26.1(C-4'), 23.7(C-1'), 18.0(C-5').
- [0079] 2-6. 에리바린 D(eryvarin D, 화합물 6)
- [0080] 성상: 갈색 분말
- [0081] 수소핵자기공명스펙트럼 (500 MHz, acetone- d_6): δ 8.70 (1H, br s, 3-OH), 7.34 (1H, d, $J=8.0$, H-1), 7.24(1H, d, $J=8.5$, H-7), 6.95(1H, d, $J=8.5$, H-8), 6.53 (1H, d, $J=8.0$, H-2), 6.44(1H, d, $J=2.5$, H-4), 5.54 (1H, s, H-6), 5.33 (2H, m, H-2'), 3.89 (3H, 9-OCH₃), 3.60 (2H, d, $J=7.5$, H-1'), 1.87 (3H, s, H-5'), 1.66(3H, s, H-4');
- [0082] 탄소핵자기공명스펙트럼 (125 MHz, acetone- d_6): δ 159.9(C-3), 156.4(C-4a), 155.9(C-9), 155.4(C-10a), 148.3(C-11a), 132.3(C-3'), 123.0(C-2'), 122.0(C-1), 120.5(C-6b), 116.8(C-7), 114.6(C-10), 109.7(C-11b), 109.5(C-2), 108.9(C-8), 106.7(C-6a), 104.6(C-4), 66.1(C-6), 57.0(9-OCH₃), 25.9(C-4'), 23.5(C-1'), 18.0(C-5')
- [0083] 2-7. 에리포에진 F(erypoegin F, 화합물 7)
- [0084] 성상: 갈색 분말

[0085] UV 흡광 스펙트럼 (c 0.02, MeOH): $\lambda_{\max}$ nm: 219, 289, 331, 346 nm

[0086] 수소핵자기공명스펙트럼 (500 MHz, acetone- d_6): 10.17(1H, s, -CHO), 7.91(1H, d, $J=8.5$, H-4), 7.53(1H, d, $J=8.5$, H-6'), 7.07(1H, d, $J=8.5$, H-5), 6.61(1H, dd, $J=8.5$, 2.0, H-5'), 6.65(1H, d, $J=2.0$, H-2'), 5.34(1H, t-like, $J=7.5$, H-2''), 3.59(2H, d, $J=7.5$, H-1''), 1.81(3H, s, H-5''), 1.64 (3H, s, H-4'');

[0087] 탄소핵자기공명스펙트럼 (125 MHz, acetone- d_6): δ 188.1(-CHO), 164.0(C-2), 162.1(C-4'), 157.9(C-2'), 156.5(C-6), 154.5(C-8), 133.5(C-6'), 132.5(C-3''), 123.5(C-2''), 120.1(C-4), 119.9(C-9), 117.8(C-3), 114.1(C-7), 109.9(C-5), 109.1(C-5'), 109.0(C-1'), 104.2(C-3'), 25.9(C-4''), 23.4(C-1''), 18.0(C-5'').

[0088] <실시예 3 : 에리스리나 아비시니카로부터 분리된 화합물 1 내지 화합물 7의 AMPK 활성화 작용의 측정>

[0089] 에리스리나 아비시니카로부터 분리 정제한 화합물 1 내지 화합물 7의 AMPK 활성화 효능을 측정하기 위하여 C2C12 근원세포주(myoblast cell line)를 사용하여 웨스턴 블롯을 수행하여 측정하였다. C2C12 세포를 6-웰(wells) 플레이트에 접종한 후 10% 우혈청이 포함된 DMEM 배지를 사용하여 배양시킨 후 분화를 유도하기 위하여 1% FBS를 포함한 DMEM 배지로 치환하였다. 세포의 분화를 확인한 후 16시간 동안 무혈청 상태의 DMEM 배지로 유지한 후에 각 화합물은 최종농도 5 μ M의 농도로 처리하였으며 양성 대조군으로 아이카(Aicar) 100 μ M를 각각 처리한 후 2시간 동안 배양한 후에 세포를 수거해 초음파로 파쇄하여 단백질을 얻었다. 아이카(Aicar, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide)는 AMPK 활성을 위한 양성대조군으로 사용하였으며 화합물의 용매인 DMSO(세포 배지의 0.1% 이내로 사용)가 음성대조군으로 사용되었다. 이 후, 10% SDS-PAGE 전기영동을 실시하고 PVDF 멤브레인(membrane)에 단백질을 이동시켰다. 이후 5% 탈지유로 1시간 동안 상온에서 유지한 후 인산화된 AMPK(phospho-AMPK, Thr172) 항체를 이용하여 4°C에서 18시간 이상 유지하고 이를 이용하여 단백질 발현량을 확인하였다. 에너지 대사과정에서 AMPK 활성의 증가는 ACCs(acetyl-CoA carboxylase 1 및 2)의 인산화를 증가시키는 것으로 알려져 있으므로 AMPK 활성화를 확인하기 위하여 동일한 방법으로 수득한 단백질을 이용하여 인산화된 ACCs(phospho-ACCs)를 확인하였다.

[0090] 에리스리나 아비시니카로부터 분리한 화합물 1 내지 화합물 7의 AMPK 활성화 작용을 측정한 결과는 도 4에 나타내었다.

[0091] 도 4를 참조하면 코메스탄(coumestan) 계열의 화합물인 화합물 1, 화합물 4, 화합물 5가 가장 강한 활성을 보여 주었으며 다른 화합물도 AMPK 활성이 강한 것으로 나타났다.

[0092] <실시예 4 : DIO(Diet-Induced Obesity) 모델에서 항비만 효과 검증>

[0093] [1 단계] 시료준비

[0094] 항비만 효과를 확인하기 위해 동물실험에 사용된 화합물 2와 화합물 4는 100mg/kg의 농도로 매일 경구투여 하였으며 경구투여 전 투여 약물은 메틸셀룰로오스(Sigmaco.USA) 5% 수용액에 녹여서 준비하였다.

[0095] [2 단계] 실험군 설정 및 체중감량 효과 검증

[0096] 본 실험을 진행하기 위하여 7주령의 C57BL/6J 수컷 생쥐를 대상으로 군당 10마리씩 준비하였으며, 1주간의 적응기간을 가진 후, 개별 우리에 분리하여 12시간 간격의 낮(오전 7시~오후5시)과 밤의 주기에 따라 관리하였다. 실험군은 1)고지방식이군, 2)고지방식이와 더불어 화합물 2 100mg/kg/day 섭취군, 3)고지방식이와 더불어 화합물 4 100mg/kg/day 섭취군의 총 3개 군으로 나뉘어 1일 1회씩 8주 동안 일정한 시간(오전 10시)에 경구로 투여하였다. 체중은 매주 1회(오전 11시) 측정을 실시하였으며, 투여시작 8주 후에 실험군과 대조군의 최종 체중을 측정하여 분석하였다. 표 2는 각 물질을 경구투여한 후 체중 변화량을 측정한 결과이다.

표 2

[0097]

그 룹	경구투여 후 체중변화량 (g)						
	14일	21일	28일	35일	42일	49일	56일
고지방식이	4.45	6.23	8.56	10.45	11.56	12.32	13.78
	± 0.45	± 0.23	± 0.78	± 0.34	± 0.86	± 0.23	± 0.76

화합물 2 + 고지방식이	2.75 ±0.56	3.43 ±0.75	4.19 ±0.34	6.31 ±0.34	7.24 ±0.34	8.21 ±0.23	8.45 ±0.45
화합물 4 + 고지방식이	2.62 ±0.23	3.33 ±0.34	4.45 ±0.45	6.43 ±0.75	7.64 ±0.74	8.34 ±0.64	8.23 ±0.63

[0098] 실험 실시 후 56일 경과 시점에서 각 투여군의 체중을 비교하여 보면, 표 2 에 나타난 바와 같이 고지방식이만 섭취하였던 군에 비해서 화합물 2나 화합물 4를 고지방식이와 함께 섭취한 군의 체중증가가 확연히 낮음을 확인할 수 있다. 고지방식이 투여군의 체중은 13.78g 증가한 반면, 화합물 2 투여군의 체중은 8.45g 증가하였으며 화합물 4의 투여군의 체중은 8.23g이 증가하였다. 이러한 체중 증가량은 고지방식이 투여군과 비교했을 때 95% 신뢰수준에서 통계적으로 유의하게 체중 증가가 억제되었다고 할 수 있다.

[0099] <실시예 5 : 독성실험>

[0100] 5-1. 급성독성

[0101] 에리스리나 아비시니카로부터 추출된 활성분획과 화합물 1 내지 화합물 7을 함유한 분획의 단기간에 과량을 섭취하였을 시 급성적(24시간 이내)으로 동물 체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스 계통 40 마리를 대조군은 10마리, 실험군은 10마리씩 배정하였다. 대조군에는 30% PEG-400만을 투여하고, 실험군은 에리스리나 아비시니카로부터 추출된 활성분획과 화합물 1 내지 화합물 7을 함유한 분획을 1.0g/kg의 농도로 각각 경구 투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 1.0g/kg 농도의 에리스리나 아비시니카로부터 추출된 활성분획과 화합물 1 내지 화합물 7을 함유한 분획을 투여한 실험군에서는 모두 생존하였다.

[0102] 5-2. 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험

[0103] 장기 독성 실험은 C57BL/6J 생쥐를 대상으로 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 에리스리나 아비시니카로부터 추출된 활성분획과 화합물 1 내지 화합물 7을 함유한 분획을 투여한 실험군과 용매만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(Blood Urea Nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(Vital Scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 정취하여 통상적인 조직절편 제작 과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으며 특이한 이상이 관찰되지 않았다.

[0104] <실시예 6 : 약학적 제제예>

[0105] 6-1. 정제의 제조

[0106] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물 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.

[0107] 6-2. 주사액제의 제조

[0108] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물을 1g, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100ml를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

[0109] <실시예 7 : 식품 제제예>

[0110] 7-1. 조리용 양념의 제조

[0111] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물을 각각 0.2~10 중량%로 첨가하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0112] 7-2. 밀가루 식품의 제조

[0113] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물을 각각 0.1~5.0 중량%를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을

제조하였다.

[0114] 7-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조

[0115] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물 각각 0.1~1.0 중량%를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.

[0116] 7-4. 유제품(dairy products)의 제조

[0117] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물 각각 0.1~1.0 중량%를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0118] <실시예 8 : 음료 제조예>

[0119] 8-1. 야채주스 제조

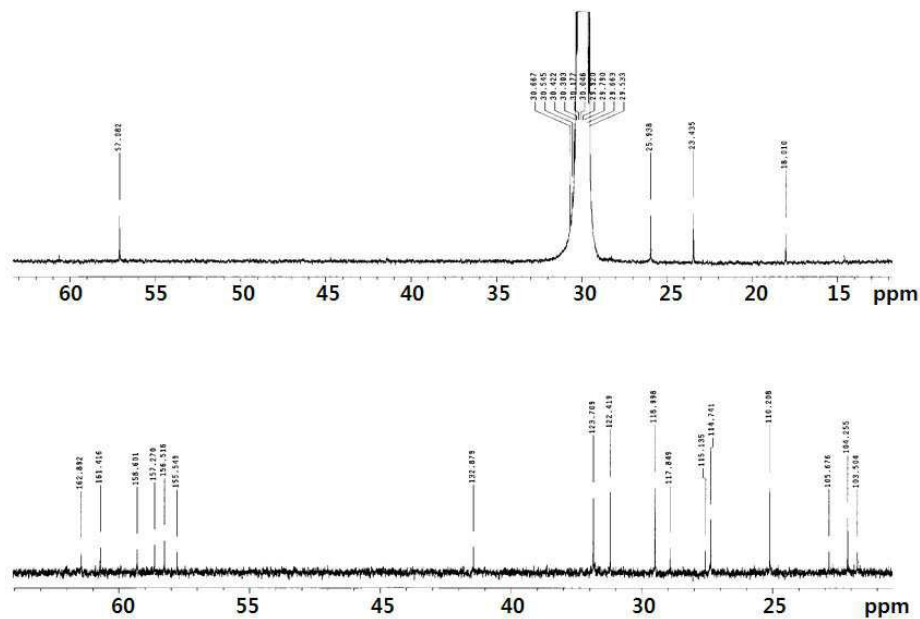
[0120] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물 0.5g을 토마토 또는 당근 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0121] 8-2. 과일주스 제조

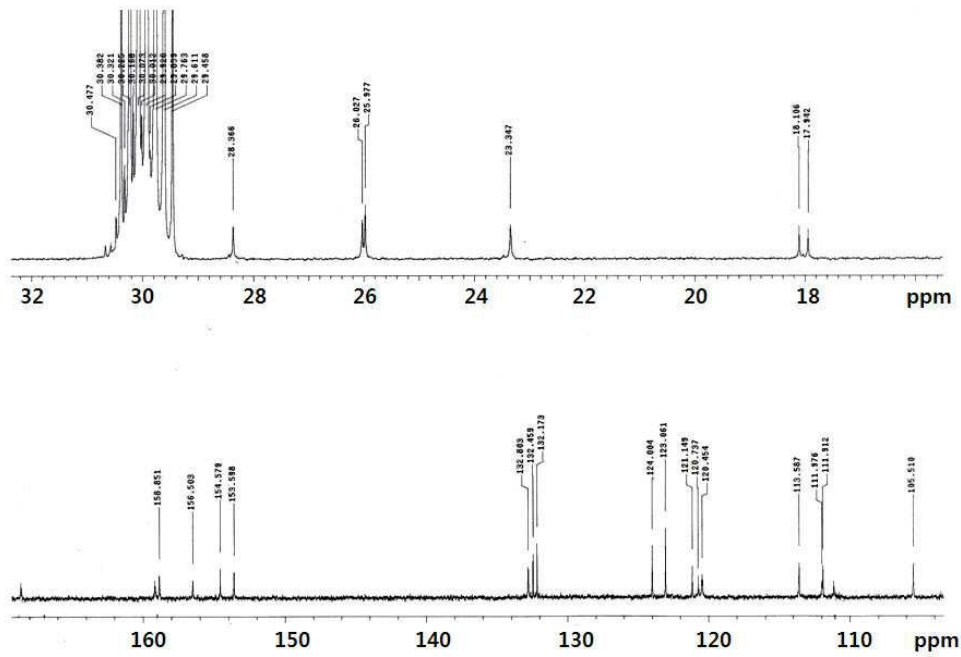
[0122] 본 발명에 따른 에리스리나 아비시니카 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물 0.1g을 사과 또는 포도 주스 1,000 ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

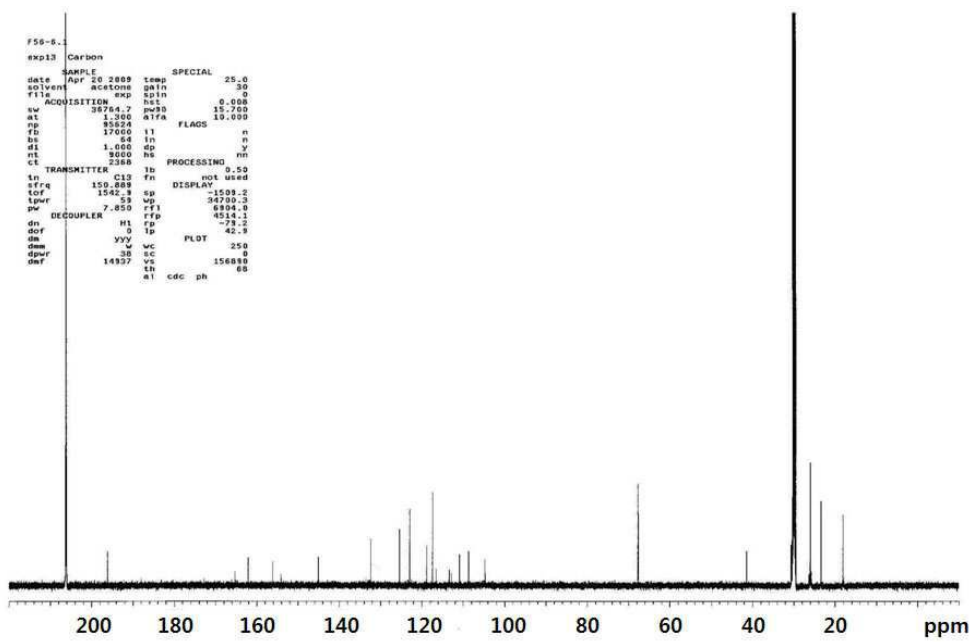
도면1



도면2



도면3



도면4

