



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0033063
(43) 공개일자 2016년03월25일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/05 (2006.01) A61K 36/605 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A61K 31/05 (2013.01)
A61K 36/605 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-0141379(분할)</p> <p>(22) 출원일자 2015년10월08일
심사청구일자 2015년10월08일</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2014-0123653
원출원일자 2014년09월17일
심사청구일자 2014년09월17일</p> | <p>(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
한국식품연구원
경기도 성남시 분당구 안양관교로1201번길 62 (백현동)
(뒷면에 계속)</p> <p>(72) 발명자
임영희
서울특별시 서대문구 통일로25길 30, 108동 208호 (홍제동, 한양아파트)
조성필
서울특별시 양천구 목동서로 130, 412동 206호 (목동, 목동신시가지아파트4단지)
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
특허법인충현</p> |
|---|--|

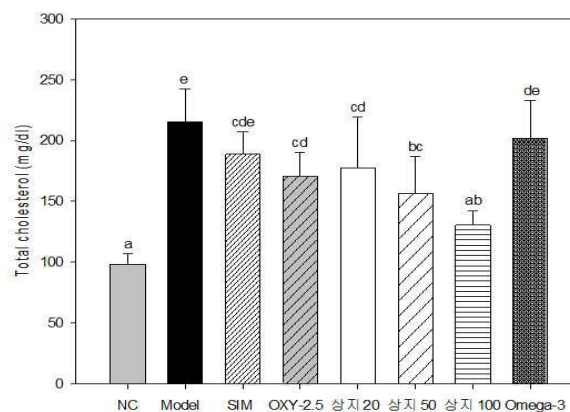
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 거품세포 형성 억제 및 혈관 병변형성 억제 활성을 가지는 상지 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 거품세포(foam cell) 형성 억제 및 혈관 병변형성 억제 활성을 가지는 상지 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 개선용 건강식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 여러 구현예에 따르면, 본 발명의 상지 추출물은 산화된 LDL 흡수 억제, 콜레스테롤 배출 촉진을 통한 거품세포 형성억제 및 혈관 내 대식세포 부착 물질 발현억제를 통한 혈관 병변 형성 억제가 뛰어나므로 상기 상지 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관질환 예방, 치료, 개선용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(71) 출원인

한국산업기술대학교산학협력단

경기도 시흥시 산기대학로 237 (정왕동, 한국산업기술대학교)

(주)국전약품

경기도 안양시 동안구 학의로 282, 1516호(관양동, 금강펜테리움)

(72) 발명자

김정근

서울특별시 관악구 관악로30길 27, 118동 802호 (봉천동, 관악푸르지오1단지아파트)

한은혜

경기도 수원시 장안구 송정로76번길 45, 1206호 (정자동, 기산아파트)

조일환

서울특별시 강서구 강서로 532, 106동 1006호 (가양동, 동신대아아파트)

김인호

경기도 성남시 분당구 내정로 152, 137동 1402호 (수내동, 파크타운롯데아파트)

한태원

충청남도 천안시 서북구 월봉4로 120-16, 505동 1302호 (쌍용동, 월봉일성아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 313028-3

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산물식품기술기획평가원

연구사업명 고부가가치식품기술개발사업

연구과제명 노인성 만성질환(혈액순환, 고지혈·혈압, 당뇨 등) 완화를 위한 복합식품 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2013.11.20 ~ 2014.11.19

명세서

청구범위

청구항 1

옥시레스베라트를 유효성분으로 함유하고,

상기 옥시레스베라트물은 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라제(LCAT)의 활성을 증가시킴으로써 거품세포(foam cell) 형성 억제하는 것을 특징으로 하는,

동맥경화증, 관상동맥질환, 고혈압성 심장질환, 부정맥, 심근경색증, 협심증 및 말초혈관질환 중에서 선택되는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

옥시레스베라트를 5-20 중량%를 함유하는 상지 주정 추출물을 유효성분으로 함유하고,

상기 상지 주정 추출물은 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라제(LCAT)의 활성을 증가시킴으로써 거품세포(foam cell) 형성 억제하는 것을 특징으로 하는,

동맥경화증, 관상동맥질환, 고혈압성 심장질환, 부정맥, 심근경색증, 협심증 및 말초혈관질환 중에서 선택되는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

고콜레스테롤 식이 위에 옥시레스베라트를 투여하는 것을 특징으로 하는, 고콜레스테롤 식이 위의 적출된 간 조직에서 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라제(LCAT)의 활성을 증가시키는 방법.

청구항 4

고콜레스테롤 식이 위에 옥시레스베라트를 5-20 중량%를 함유하는 상지 주정 추출물을 투여하는 것을 특징으로 하는, 고콜레스테롤 식이 위의 적출된 간 조직에서 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라제(LCAT)의 활성을 증가시키는 방법.

청구항 5

고콜레스테롤 식이 위에 옥시레스베라트를 함께 투여하는 것을 특징으로 하는, 고콜레스테롤 식이 위의 적출된 동맥조직에서 거품세포(foam cell) 형성을 억제하는 방법.

청구항 6

고콜레스테롤 식이 위에 옥시레스베라트를 5-20 중량%를 함유하는 상지 주정 추출물을 함께 투여하는 것을 특징으로 하는, 고콜레스테롤 식이 위의 적출된 동맥조직에서 거품세포(foam cell) 형성을 억제하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 거품세포(foam cell) 형성 억제 및 혈관 병변형성 억제 활성을 가지는 상지 추출물을 유효성분으로

함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 콜레스테롤은 세포막의 구성성분이 되는 기본 물질로, 식물에서는 합성되지 않고 동물에서만 합성되며 호르몬, 비타민 D, 지질 소화에 관련된 담즙산의 원료로도 작용하기도 하고, 여러 가지 생물학적 스테로이드 물질의 전구체 역할을 하며, 다양한 생리 생화학적 반응에 관여하는 중요한 물질로 알려져 있다. 이렇게 혈청 중 높은 콜레스테롤은 혈관내피 세포나 혈관 내막에 축적되어 동맥경화소를 형성하여 고지혈증과 같은 혈관질환을 유발하고, 고지혈증은 동맥경화, 고혈압, 비만, 당뇨 등과 같은 이차적인 질환을 유발하게 된다. 이와 같이 혈중 총콜레스테롤은 관상동맥 질환 발생과 밀접한 상관성을 나타내므로 혈중의 콜레스테롤 항상성을 유지하는 것은 매우 중요하다.
- [0003] 콜레스테롤은 정상인이 1일 약 400-500 mg 섭취할 경우 일반적으로 식이 콜레스테롤의 약 60-80%가 흡수되고, 제한된 콜레스테롤의 흡수율에 따라 흡수되지 않은 식이 콜레스테롤은 콜레스테롤형태 내지 대장과 직장의 박테리아 효소반응에 의한 대사산물로 배설된다. 이렇게 식이에 의해 섭취되거나 또는 생합성된 지질은 소수성 지질 성분으로써 수용성 영양소들과 달리 혈장에 용해되어 이동할 수 없기 때문에 체내 각 조직에서 이용 및 저장되기 위해 지단백질 (lipoprotein)이라는 특수한 형태의 구조를 이루어 혈장을 통해 운반된다.
- [0004] 혈장 콜레스테롤의 2/3는 cholesteryl ester 형태이며, 혈장 HDL의 lecithin:cholesterol acyltransferase(LCAT) 및 간과 소장 of acyl-CoA:cholesteryl acyltransferase(ACAT)에 의해 합성된다. 체내의 주요 콜레스테롤 대사산물은 간에서 합성되는 담즙산과 스테로이드 호르몬 등이며, 콜레스테롤 생합성량은 식이 콜레스테롤의 흡수정도 및 담즙산 재흡수 정도에 따라 조절되어 항상성이 유지 되는데, 혈장 HDL표면의 친수성 층에 위치한 유리 콜레스테롤은 LCAT작용을 받아 계속 에스테르화된 후 HDL입자 내부의 소수성층으로 이동하면, HDL내의 콜레스테롤 농도구배는 말초조직에서 합성된 콜레스테롤 및 혈관의 잉여 콜레스테롤을 혈장 HDL로 이동시키는 효과를 유도하게 된다. 이러한 메커니즘을 통해 혈장 HDL 콜레스테롤 수준이 높을수록 동맥경화 위험성은 감소됨을 알 수 있다.
- [0005] 또한, 간 조직에서는 콜레스테롤을 담즙산으로 분해하는 과정에서 가장 중요한 효소로서 속도제한효소(rate-limiting enzyme)로 알려진 Cyp7a1(Cholesterol 7 α -hydroxylase)에 의해 콜레스테롤이 담즙산(bile acid)으로 전환되며 그중 일부는 재순환되지 않고 분변을 통해 배설되는데, 상기 Cyp7a1가 활성이 감소됨에 따라, 고용량의 콜레스테롤을 섭취시켜도 간에서 콜레스테롤 합성이 감소되지 않는 문제점이 있다.
- [0006] 한편, LDL(저밀도지단백)의 변형된 형태는 동맥경화를 일으키는 가장 중요한 유병인자로 알려져 있는데, LDL의 산화과정에서 구리이온은 LDL의 산화변성을 일으킬 수 있고, 이러한 산화된 LDL은 세포질과 핵에 손상을 주어 혈관내피세포의 세포사멸작용을 유도하는 것으로 알려져 있으며, 또한 동맥경화 초기에는 단핵구(monocyte) 등이 CAM, selectin family와 같은 유착성 분자물질에 의해 내피 조직에 부착하게 된다. 또한 단핵구가 대식세포(macrophage)로 분화된다. 변형된 LDL을 탐식하는 대식세포의 scavenger receptor가 탐식작용을 하여 거품세포(foam cell)로 변화된 후, 혈관에 지질이 침착되게 되어 동맥경화를 일으킨다고 알려져 있다.
- [0007] 한편, 동물모델을 이용한 여러 연구들에 의하면 천연물추출물을 실험동물에 투여한 경우 총콜레스테롤은 낮추고 HDL의 농도는 높이는 결과를 얻어 고콜레스테롤증을 개선하는 것으로 보고되었다.
- [0008] 현재 콜레스테롤 개선 치료약물로는 콜레스테롤의 생합성 저해제와 콜레스테롤의 흡수억제제로 나눌 수 있으며, 그 종류로는 스타틴계, 피브레이트계, Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT)저해제 등이 사용되고 있다. 그 중 스타틴계 약물은 간세포의 콜레스테롤 생합성 효소 (3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase)를 저해하는 기전으로 가장 많은 HMG-CoA reductase inhibitors 종류의 약물이 있고, 현재 콜레스테롤 개선 치료제 시장의 대부분을 차지하고 있다. 그러나 현재 사용 중인 statin계 약물의 경우 가장 중요한 부작용은 간독성과 근육질환으로, statin 계 물질 투여에 의해 이와 같은 부작용을 보이거나 LDL 수치의 저하를 보이지 않는 심혈관질환 환자들이 보고되고 있다. 또한 장기 복용으로 인해 간에서 작용하고 대사된 statin 대사물들의 혈중 농도가 상승하면 근육을 파괴하는 부작용이 있어 근육통 및 근육허약 증세가 보고되고 있다. 스타틴계(statin)을 비롯한 현재 콜레스테롤 개선 치료약물은 안전성에 대해 끊임없이 문제가 제기되고 있다.
- [0009] 현재 가장 많이 쓰이고 효과를 보이는 콜레스테롤 저해제는 statin계 물질이나, 부작용으로 간독성과 근육질환을 일으킬 수 있는 위험이 있는 것으로 알려져 있다.
- [0010] 지금까지 혈중 콜레스테롤 농도를 낮추는 효과에 대한 연구로는 천연물유래 콜레스테롤 개선 효과를 보이는 기

능성 원료로 녹차추출물, 창녕양파추출액, 보리베타글루칸 추출액, 아마인, 보이차 추출물, 홍국쌀, 식물스타놀 에스테르, 폴리코사놀-사탕수수왁스알코올, 스피루리나, 유니벡스대나무추출물, 씨제이히비스커등복합추출물, 알로에복합추출물분말, 알로에추출물분말 등에 대한 연구가 있다. 고콜레스테롤 예방효과를 나타낼 수 있는 물질을 천연물로부터 분리하여 기능성 식품 및 의약품 원료로 개발하고자 천연물로부터 콜레스테롤 저하 효과가 있는 물질을 분리하는 연구가 계속적으로 진행 중이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제2014-0066480호(2014.06.02.)

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) 정유진, 한림대학교 학위논문, 2005
 (비특허문헌 0002) 남종현 등. 한국식품과학회지. 46(2), 231-236, 2014
 (비특허문헌 0003) 권은경 등. 한국식품과학회지, 39(2), 181-188, 2007
 (비특허문헌 0004) 김애정 등. 한국식품과학회지. 37(4), 636-641, 2005
 (비특허문헌 0005) Derek M. Fine et. al., Clinical Pharmacology, 3(10):554, 2003
 (비특허문헌 0006) Norata et al., Pharmacological Research. 88, 107-113, 2014
 (비특허문헌 0007) Hippisley-Cox and Coupland, British Medical Journal. 340, c2197, 2010
 (비특허문헌 0008) Machan et al., Optometry and Vision Science. 89(8), 1165-1171, 2012

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 거품세포(foam cell) 형성 억제 및 혈관 병변형성 억제 활성을 가지는 상지 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용, 개선용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명의 대표적인 일 측면에 따르면, 상지 추출물을 유효성분으로 함유하고, 동맥경화증, 관상동맥질환, 고지혈증, 제2형 당뇨병, 뇌졸중, 심부전증, 고혈압성 심장질환, 부정맥, 심근경색증, 협심증 또는 말초혈관질환 중에서 선택되는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상지 추출물은 열수, 에틸아세테이트, 클로로포름, 헥산, C₁-C₄ 직쇄 또는 측쇄 알코올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 용매로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상지 추출물은 주정(80 중량% 에탄올 수용액) 추출물인 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0017] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상지 추출물은 옥시레스베라트롤(oxyresveratrol)을 포함하는 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상지 추출물은 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라아제(LCAT)의 활성을 증가시킴으로써 거품세포(foam cell) 형성 억제 및 혈관 병변형성을 억제하는 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명의 다른 대표적인 측면에 따르면, 상지 추출물을 유효성분으로 함유하고, 동맥경화증, 관상동맥질환

환, 고지혈증, 제2형 당뇨병, 뇌졸중, 심부전증, 고혈압성 심장질환, 부정맥, 심근경색증, 협심증 또는 말초혈관질환 중에서 선택되는 혈관질환의 예방 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상기 추출물은 열수, 에틸아세테이트, 클로로포름, 헥산, C₁-C₄ 직쇄 또는 측쇄 알코올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 용매로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0021] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상기 추출물은 주정(80 중량% 에탄올 수용액) 추출물인 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상기 추출물은 옥시레스베라트롤(oxyresveratrol)을 포함하는 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0023] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 상기 추출물은 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라아제(LCAT)의 활성을 증가시킴으로써 거품세포(foam cell) 형성 억제 및 혈관 병변형성을 억제하는 것을 특징으로 하는 혈관질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0024] 본 발명의 여러 구현예에 따르면, 본 발명의 상기 추출물은 산화된 LDL 흡수 억제, 콜레스테롤 배출 촉진을 통한 거품세포 형성억제 및 혈관 내 대식세포 부착 물질 발현억제를 통한 혈관 병변 형성 억제가 뛰어나므로 상기 상기 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관질환 예방, 치료, 개선용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 추출물을 투여한 경우에 대한 혈청 콜레스테롤 함량을 비교한 그래프이다.

도 2는 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 추출물을 투여한 경우에 대한 중성지방 함량을 비교한 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 추출물을 투여한 경우에 대한 간조직 내의 지방구 크기를 비교한 도면이다.

도 4는 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 추출물을 투여한 경우에 대한 동맥 조직의 거품 세포를 비교한 도면이다.

도 5는 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 추출물을 투여한 경우에 대한 CYP7A1 및 LCAT 발현을 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하에서, 본 발명의 여러 측면 및 다양한 구현예에 대해 더욱 구체적으로 살펴보도록 한다.

[0027] 본 발명의 일 측면에 따르면, 거품세포(foam cell) 형성 억제 및 혈관 병변형성 억제 활성을 가지는 상기 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 개시된다.

[0028] 혈관에 발생하여 동맥경화증, 고지혈증, 제2형 당뇨병, 뇌졸중, 심부전증, 고혈압성 심장질환, 부정맥, 심근경색증, 협심증, 말초혈관질환 등을 유발하는 혈관 병변형성을 예방하기 위해서 혈중 LDL 비율이 낮아져야 하는 것으로 알려져 있으며, 조직에서 콜레스테롤을 외부로 유출 시키는데 대식세포의 역할이 중요하다고 알려져 있다.

[0029] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 상기 추출물은 대식세포나 단핵세포가 산화된 LDL를 흡수하여 변형되어 나타나는 거품세포의 형성을 억제하고, 혈관 병변 형성에 관여하는 LDL을 억제하는 효과가 있음이 확인되었다.

[0030] 또한, 본 발명에 따른 상기 추출물은 혈장 HDL의 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라아제(LCAT)을 향상시키는 효과가 있어, 상기 LCAT에 의해 유리 콜레스테롤이 에스테르화된 후 HDL입자 내부의 소수성층으로 이동하면, HDL내의 콜레스테롤 농도구배는 말초조직에서 합성된 콜레스테롤 및 혈관의 잉여 콜레스테롤을 혈장 HDL로 이동시키는 효과를 유도할 수 있고, 간 조직에서는 콜레스테롤을 담즙산으로 분해하는 과정에서 가장 중요한 효소로서 속도제한효소(rate-limiting enzyme)로 알려진 Cyp7a1(Cholesterol 7 α -hydroxylase)를 향상시켜, 콜레스테롤을 담즙산(bile acid)으로 전환시킬 수 있어, 이러한 메커니즘을 통해 LDL 콜레스테롤을 감소시켜 혈관 질환의

위험성을 감소시키는 효과를 달성할 수 있다.

- [0031] 이 외에도 본 발명에 따른 상기 추출물은 HDL 콜레스테롤 함량은 증가하고, LDL 콜레스테롤 함량, 동맥경화 지수 및 관상동맥질환 위험지수가 감소하는 것이 확인되었고, 간 조직의 지방구를 현저히 감소시키는 효과가 확인되며, 장기 복용으로 인한 독성은 확인되지 않아 혈관질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 상기 추출물은 열수, 에틸아세테이트, 클로로포름, 헥산, C₁-C₄ 직쇄 또는 측쇄 알코올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 용매로 추출한 추출물이고, 바람직하게는 상기 상기 추출물은 주정(80 중량% 에탄올 수용액) 추출물이며, 상기 상기 추출물은 옥시레스베라트롤(oxyresveratrol)을 5-20% 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0033] 한편, 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 상기 추출물에 포함되어 있는 옥시레스베라트롤은 종래 항산화 활성, 미백효과, 주름개선, 항염증 효과, 항알러지 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라제(LCAT)의 활성을 증가시키는 효과에 대해서는 알려진 바가 없다.
- [0034] 상기 상기 추출물을 추출하는 방법은 열수 추출, 침지 추출, 초임계 추출, 아임계 추출, 고온 추출, 고압 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 추출장치를 이용한 방법 또는 XAD 및 HP-20을 포함한 흡착 수지를 이용하는 방법 등 당 업계의 통상적인 추출방법을 사용할 수 있으며, 가온하며 환류 추출 또는 상온에서 추출하는 것이 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다. 상기 상기 추출물의 추출 회수는 1-5회인 것이 바람직하며, 3회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다. 초음파 추출 방법으로 1회-5회 추출될 수 있다. 추출 시 온도는 10 ℃-100 ℃인 것이 바람직하며 상온인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출 시간은 1시간-24시간인 것이 바람직하고, 3시간-7일인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0035] 추출 후 감압 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0036] 이때, 상기 감압 농축은 진공회전증발농축기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무 건조, 상온건조 또는 동결건조를 하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0037] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"은 조성물의 투여로 혈관 질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 본 발명에 있어서, "치료"란 조성물의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0038] 본 발명에 있어서 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 제공하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 일반적인 모든 경로를 통하여 경구 또는 비경구 투여될 수 있다. 또한, 조성물은 활성물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.
- [0039] 본 발명에 따른 조성물은 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.
- [0040] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0041] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다.
- [0042] 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0043] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율,

치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0044] 구체적으로, 본 발명에 따른 상기 추출물의 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 kg 당 1 내지 50 mg, 바람직하게는 1 내지 10 mg을 매일 또는 격일 투여하거나 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0045] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 거품세포(foam cell) 형성 억제 및 혈관 병변형성 억제 활성을 가지는 상기 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈관질환의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물이 개시된다.

[0046] 혈관에 발생하여 동맥경화증, 고지혈증, 제2형 당뇨병, 뇌졸중, 심부전증, 고혈압성 심장질환, 부정맥, 심근경색증, 협심증, 말초혈관질환 등을 유발하는 혈관 병변형성을 예방하기 위해서 혈중 LDL 비율이 낮아져야 하는 것으로 알려져 있으며, 조직에서 콜레스테롤을 외부로 유출 시키는데 대식세포의 역할이 중요하다고 알려져 있다.

[0047] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 상기 추출물은 대식세포나 단핵세포가 산화된 LDL를 흡수하여 변형되어 나타나는 거품세포의 형성을 억제하고, 혈관 병변 형성에 관여하는 LDL을 억제하는 효과가 있음이 확인되었다.

[0048] 또한, 본 발명에 따른 상기 추출물은 혈장 HDL의 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라제(LCAT)를 향상시키는 효과가 있어, 상기 LCAT에 의해 유리 콜레스테롤이 에스테르화된 후 HDL입자 내부의 소수성층으로 이동하면, HDL내의 콜레스테롤 농도구배는 말초조직에서 합성된 콜레스테롤 및 혈관의 잉여 콜레스테롤을 혈장 HDL로 이동시키는 효과를 유도할 수 있고, 간 조직에서는 콜레스테롤을 담즙산으로 분해하는 과정에서 가장 중요한 효소로서 속도제한효소(rate-limiting enzyme)로 알려진 Cyp7a1(Cholesterol 7 α -hydroxylase)를 향상시켜, 콜레스테롤을 담즙산(bile acid)으로 전환시킬 수 있어, 이러한 메커니즘을 통해 LDL 콜레스테롤을 감소시켜 혈관 질환의 위험성을 감소시키는 효과를 달성할 수 있다.

[0049] 이 외에도 본 발명에 따른 상기 추출물은 HDL 콜레스테롤 함량은 증가하고, LDL 콜레스테롤 함량, 동맥경화 지수 및 관상동맥질환 위험지수가 감소하는 것이 확인되었고, 간 조직의 지방구를 현저히 감소시키는 효과가 확인되며, 장기 복용으로 인한 독성은 확인되지 않아 혈관질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0050] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 상기 추출물은 열수, 에틸아세테이트, 클로로포름, 헥산, C₁-C₄ 직쇄 또는 측쇄 알코올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 용매로 추출한 추출물이고, 바람직하게는 상기 상기 추출물은 주정(80 중량% 에탄올 수용액) 추출물이며, 상기 상기 추출물은 옥시레스베라트롤(oxyresveratrol)을 5-20% 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0051] 한편, 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 상기 추출물에 포함되어 있는 옥시레스베라트롤은 종래 항산화 활성, 미백효과, 주름개선, 항염증 효과, 항알러지 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 콜레스테롤 7 α -하이드록시라제(CYP7A1) 및 레시틴 콜레스테롤 아실트랜스페라제(LCAT)의 활성을 증가시키는 효과에 대해서는 알려진 바가 없다.

[0052] 본 발명에 따른 조성물은 혈관질환의 예방 또는 개선을 목적으로 상기 상기 추출물을 식품, 음료 등의 건강보조 식품에 첨가할 수 있다.

[0053] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소시지, 빵, 비스킷, 떡, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제, 유제품 및 유가공 제품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0054] 본 발명의 상기 추출물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 중의 상기 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경

우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0055] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 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 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0056] 상기 외에 본 발명의 상기 추출물은 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, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 상기 추출물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0057] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 상기 추출물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0058] 이하에서 실시예 등을 통해 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 하며, 다만 이하에 실시예 등에 의해 본 발명의 범위와 내용이 축소되거나 제한되어 해석될 수 없다. 또한, 이하의 실시예를 포함한 본 발명의 개시 내용에 기초한다면, 구체적으로 실험 결과가 제시되지 않은 본 발명을 통상의 기술자가 용이하게 실시할 수 있음은 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연하다.

[0059] 실시예 1: 상기 열수 추출물의 제조

[0060] 상기와 물을 혼합하여 120-131 °C 및 1.2-2.8기압의 고온 고압하에서 백굴채 열수 추출물을 제조하였다.

[0061] 실시예 2: 상기 주정 추출물의 제조

[0062] 상기 주정 추출물은 상기(뽕나무 가지, 충남광천산 구매) 1000 g에 80% 주정용 에탄올 8000 ml를 첨가한 후, 유효 성분의 추출 효율을 증가시키기 위해 초음파 세척기에서 24-48시간 추출하였다.

[0063] 상기에서 얻어진 상기 주정 추출물은 감압하에서 유리섬유여지(GFC) 여과지를 이용하여 이물질을 제거하였다.

[0064] 이물질이 제거된 후, 상기 상기 주정 추출액은 감압 증류 장치(evaporator)를 사용하여 약 55-60 °C의 온도에서 500 ml까지 농축한 후, 이를 -80 °C 초저온 냉동고에서 24시간 동안 동결 후, 동결건조기를 사용하여 48시간 건조시켰다.

[0065] 상기 1000 g으로 부터 얻어진 동결건조 상기주정추출 분말량은 약 20-40 g 수준이었으며, 상기 주정 추출 분말을 HPLC 용매에 녹인 후, 분석한 결과, 옥시레스베라트롤(oxyresveratrol)의 함량은 5-20% 수준인 것으로 확인되었다.

[0066] 실험예 1: 상기 주정 추출물의 혈중 콜레스테롤 저하 효과 확인

[0067] (1) 실험동물 사육 및 상기 주정 추출물의 투여

[0068] 생후 5주된 SD(Sprague-Dawley, 100-110 g)중 웅성 흰쥐를 1주일간의 순화 사육과정을 거친 후에 임의로 6마리씩 8군으로 나누어 배정하였으며, 4주 동안 사육하였다(표 1). 동물 사육식의 온도는 22 ± 0.5 °C와 습도 55 ± 5%, 채광은 12시간 명암조절(명주기: 08:00-20:00)을 유지하였다. 물은 자유로이 먹을 수 있도록 하였고 사료는 매일 한 번 일정한 시간에 공급하며 섭취량을 측정하였고, 체중은 일주일에 1회 측정하였다.

[0069] 하기 표 1의 8개의 그룹의 각각의 군에 대하여 실시예 1에서 얻은 상기 주정 추출물(유효성분 6% 함유)을 농도별(20 mg/kg body weight, 50 mg/kg body weight, 100 mg/kg body weight)로 제조하여 매일 1회 경구투여 하였다. 효과 비교를 위해를 시판 오메가-3(V-Plus High Strength OMEGA-3, Green Global Health PTY Ltd., Seven Hills, NSW 2147, Australia)를 대조군으로 사용하였다. 정상식이군(NC)와 고콜레스테롤식이군(Model) 중 시료를 투여하지 않은 대조군에는 증류수(distilled water)를 같은 방법으로 투여하였으며, 실험동물의 성장단계를

고려하여 표 2에 나타난 바와 같이 사료를 배합하여 각 군에 맞게 급여하였다.

표 1

실험군의 지정과 상지 주정 추출물의 복용량

Treatment groups	Diet	Treatment of test compound
음성대조군(NC)	정상 식이	증류수 10 ml/kg B.W
Model	고콜레스테롤 식이	증류수 10 ml/kg B.W
양성대조군(PC)	고콜레스테롤 식이	십바스타틴 1 mg/kg B.W
Oxy 2.5	고콜레스테롤 식이	옥시레스베라트롤 2.5 mg/kg B.W
상지 20	고콜레스테롤 식이	상지 주정 추출물 20 mg/kg B.W
상지 50	고콜레스테롤 식이	상지 주정 추출물 50 mg/kg B.W
상지 100	고콜레스테롤 식이	상지 주정 추출물 100 mg/kg B.W
Omega-3	고콜레스테롤 식이	Omega-3 100 mg/kg B.W

표 2

사료의 조성

Components	Normal diet(g/100g)	Cholesterol diet(g/100g)
Casein	18.00	18.00
Mineral mix	4.00	4.00
Vitamin mix	1.00	1.00
Corn oil	5.00	5.00
Sucrose	5.00	5.00
Starch	61.80	60.55
Sodium cholate	-	0.25
Methionine	0.20	0.20
Cholesterol	-	1.00
Cellulose	5.00	5.00

(2) 총 콜레스테롤 함량 측정

사육이 끝난 실험동물을 12시간 동안 절식시키고 이소플루란으로 호흡 마취시킨 후 주사기를 이용하여 심장에서로부터 혈액 3 내지 5 ml을 채취하였다. 채취한 혈액의 일부는 실온에 방치시킨 후 10000 × g 조건으로 4 ℃에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청 중의 총 콜레스테롤(total cholesterol)함량은 Fusi Dri-chem 4000i(후지, 일본)를 이용하여 측정하였으며, 이 방법은 FUSI DRI-CHEM 전용 슬라이드 키트(slide kit)를 이용하여 반자동으로 각각의 혈청 함량을 mg/dl로 표시한다.

본 실험에서 얻어진 모든 결과치는 SPSS 프로그램을 이용하여 one-way ANOVA로 검정하여 평균치와 표준오차로 나타내고, 각 군간의 유의성 검정은 던컨의 다중검정(Duncan's multiple range test)으로 실시하였다.

그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 고콜레스테롤식이 대조군(Model)에서 정상군(NC)보다 혈청 총 콜레스테롤 농도가 높아졌음을 확인할 수 있었고, 고콜레스테롤식으로 인하여 증가된 혈청 총콜레스테롤은 상지 주정 추출물을 함께 섭취하는 경우 유의적(p < 0.05)으로 감소됨을 알 수 있었다.

6.0%의 옥시레스베라트롤을 함유하는 상지 주정 추출물은 투여 농도에 따라 총콜레스테롤 농도가 낮아지는 것을 확인하였으며, 특히 고콜레스테롤증 유도 모델 동물에 상지 주정 추출물 100 mg/kg/day 투여시, model 대조군에 비해 총콜레스테롤이 39.4% 감소되는 것을 확인하였다.

(3) 중성지방 함량 측정

혈청중의 중성지방 함량도 Fusi Dri-chem 4000i(후지, 일본)을 이용하여 측정하였다. 이 방법은 FUSI DRI-CHEM 전용 슬라이드 키트(slide kit)를 이용하여 반자동으로 각각의 혈청 함량을 mg/dl로 표시하였다.

그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 상지 주정 추출물 20-100 mg/kg 투여군에서 중성지방이 감소하는 것을 확인

하였다.

(4) HDL 콜레스테롤 함량, LDL 콜레스테롤 함량, 동맥경화 지수 및 관상동맥질환 위험지수의 산출

혈청중의 HDL 콜레스테롤 함량은 Fusi Dri-chem 4000i(후지, 일본)를 이용하여 측정하였다. 이 방법은 FUSI DRI-CHEM 전용 슬라이드 키트(slide kit)를 이용하여 반자동으로 각각의 혈중 함량을 mg/dl로 표시하였다.

혈청 중의 LDL 콜레스테롤 함량은 Fiedewald식 총콜레스테롤(HDL + 중성지방/5) 계산법을 이용하여 산출하였다. 동맥경화 지수(atherogenic index : AI)는 LDL/HDL 식으로 각각 산출하였으며, 관상동맥질환 위험지수(coronary risk index, CRI)는 총콜레스테롤/HDL 식으로 계산하여 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

HDL 콜레스테롤 함량, LDL 콜레스테롤 함량, 동맥경화 지수 및 관상동맥질환 위험지수

Treatment groups	Mean value SD (mg/dl)		AI	CRI
	HDL	LDL		
음성대조군(NC)	60.5 ± 6.9 ^{ab}	21.9 ± 4.0 ^a	0.37 ± 0.08 ^a	1.63 ± 0.08 ^a
Model	59.8 ± 13.1 ^{ab}	144.1 ± 22.5 ^d	2.69 ± 0.54 ^c	3.90 ± 0.56 ^c
양성대조군(PC)	50.7 ± 9.5 ^a	123.9 ± 16.4 ^{cd}	2.40 ± 0.54 ^c	3.63 ± 0.59 ^c
Oxy 2.5	58.2 ± 13.0 ^{ab}	99.8 ± 17.3 ^{bc}	1.60 ± 0.26 ^b	2.75 ± 0.27 ^b
상지 20	66.7 ± 15.9 ^{ab}	117.6 ± 39.4 ^{bcd}	1.54 ± 0.54 ^b	2.52 ± 0.57 ^b
상지 50	62.7 ± 11.7 ^{ab}	102.3 ± 38.3 ^{bc}	1.40 ± 0.50 ^b	2.53 ± 0.57 ^b
상지 100	63.3 ± 3.2 ^{ab}	82.6 ± 27.6 ^b	1.09 ± 0.50 ^b	2.23 ± 0.50 ^{ab}
Omega-3 100	84.3 ± 8.0 ^c	110.0 ± 27.7 ^{bcd}	1.37 ± 0.28 ^b	2.50 ± 0.28 ^b

그 결과, HDL 콜레스테롤의 농도는 고콜레스테롤식이 대조군(Model)에 비해 상지 주정 추출물을 농도에 따라 처리하였을 때, 증가하는 것을 확인하였다.

LDL 콜레스테롤의 농도는 고콜레스테롤식이 대조군(Model)에 비하여 상지 주정 추출물을 함께 섭취하는 경우 유의적 ($p < 0.05$)으로 감소하는 것을 확인하였으며, 특히 상지 주정 추출물 100 mg/kg/day 투여시 model 대조군에 비해 LDL 콜레스테롤이 47.7% 감소하였다.

동맥경화 지수는 상지 주정 추출물 투여시, 고콜레스테롤식이 대조군(Model)에 비해 농도의존적으로 동맥경화 지수가 크게 감소한 것을 확인하였다.

관상동맥질환 위험지수의 경우에도 상지 주정 추출물 투여 시, 고콜레스테롤식이 대조군(Model)에 비해 농도의존적으로 관상동맥질환 위험지수가 감소한 것을 확인하였다.

실험예 2: 독성시험

본 발명에 따른 상지 주정 추출물의 만성독성에 대한 설계를 위해서 실험예 1에서 4주 동안 실시한 동물실험 결과를 독성여부 판정의 근거로 하여 실시한 결과를 표 4에 나타내었다. 체중증가량은 수학적 1로 계산하였고, 상대적인 간 무게는 수학적 2로 계산하였다.

AST 및 ALT 함량은 Fusi Dri-chem 4000i(후지, 일본)를 이용하여 측정하였다. 이 방법은 FUSI DRI-CHEM 전용 슬라이드 키트(slide kit)를 이용하여 측정 후 측정기기에 내장된 프로그램내의 공식에 의해 자동으로 계산되어 각각의 혈중 함량을 IU/ℓ로 표시하였다.

수학식 1

$$\text{체중증가량} = \frac{(\text{29일째 체중} - \text{1일째 체중})}{\text{1일째 체중}} \times 100$$

수학식 2

$$\text{상대적 간 무게} = \frac{\text{흰쥐 간 무게(g)}}{\text{29일째 체중(g)}} \times 100$$

표 4

상지 주정 추출물에 의한 독성 시험

Treatment groups	% △weight	Relative liver weight	Average daily food consumption (g/day)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
NC	78.9 ± 8.9 ^b	2.76 ± 0.15 ^a	12.6 ± 2.5	80.2 ± 14.8	45.8 ± 9.9
Model	59.7 ± 12.5 ^a	4.42 ± 0.48 ^c	10.9 ± 4.0	84.8 ± 22.5	51.5 ± 16.1
PC	61.8 ± 6.3 ^a	3.98 ± 0.20 ^b	14.4 ± 5.3	87.3 ± 18.8	47.4 ± 9.6
OXY 2.5	57.1 ± 11.3 ^a	4.02 ± 0.31 ^{bc}	9.9 ± 5.2	83.2 ± 11.2	51.0 ± 11.2
상지 20	57.1 ± 12.1 ^a	4.40 ± 0.29 ^c	9.3 ± 4.3	71.3 ± 17.6	42.5 ± 7.9
상지 50	67.3 ± 17.2 ^{ab}	4.14 ± 0.34 ^{bc}	14.0 ± 4.3	69.8 ± 9.5	41.2 ± 12.0
상지 100	51.0 ± 14.9 ^a	3.93 ± 0.41 ^b	9.1 ± 4.1	74.6 ± 11.7	44.8 ± 12.0

일반사료 섭취군(NC)과 상지 주정 추출물을 각각 20, 50, 100 mg/kg body weight 농도로 투여한 군간의 사료섭취량에는 차이가 없었으며, 체중증가량 측정 결과 각 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다.

상대적 간 무게의 경우는 양성대조군 및 상지 주정 추출물을 20, 50, 100 mg/kg body weight 농도로 투여한 군이 대조군(Model)에 비해 유의적으로 감소함을 확인하였다. 혈청의 AST, ALT 효소 활성 등을 비교한 결과 대조군에 비해 유의적 차이를 보이지 않는 것으로 보아, 상지 주정 추출물의 장기 복용으로 인한 독성은 없는 것으로 관찰되었다.

실험예 3: 간 조직에서 지방구 감소

간조직에서의 지방구를 측정하기 위해 실험예 1에서 4주 동안 실험한 흰쥐의 간을 적출하여 10% formalin 용액에 고정한 후, 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀 블록을 마이크로톰을 이용하여 절단하여 5μm 조직절편을 만든 후 H&E (Hematoxylin-Eosin) 염색을 하고, 현미경을 이용하여 200배 확대하여 조직의 모양을 관찰하여 지방구 감소 정도를 측정하였다.

그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 상지 주정 추출물 투여군에서 농도 의존적으로 간조직 내의 지방구들이 현저히 감소함을 확인하였다.

실험예 4: 동맥 조직에서 거품세포(foam cell) 감소

동맥경화는 염증반응으로 인한 혈액내의 단핵구가 혈관벽 안으로 이동하면 대식세포로 형질이 변환되고 혈관내의 산화된 콜레스테롤을 청소수용체(Scavenger receptor)B-1 등의 수용체를 통해 세포 내로 섭취되어 결국 거품

세포로 전환되고 혈관 내 축적되었던 콜레스테롤은 ATP-binding cassette class A-1 수송체 또는 앞서서와는 역으로 청소수용체(Scavenger receptor)B-1에 의해 다시 유출될 수 있다.

[0102] 동맥조직에서의 거품세포를 측정하기 위해 실험에 1에서 4주 동안 실험한 흰쥐의 동맥을 적출하여 10% formalin 용액에 고정한 후, 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀 블록을 마이크로톰을 이용하여 절단하여 5 μ m 조직절편을 만든 후 H&E (Hematoxylin-Eosin) 염색을 하고, 현미경을 이용하여 400배 확대하여 조직의 모양을 관찰하여 거품세포 감소 정도를 측정하였다.

[0103] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 상지 주정 추출물 투여군에서 농도 의존적으로 동맥조직내의 거품세포들이 현저히 감소함을 확인하였다.

[0104] **실험예 5: 상지 주정 추출물에 의한 cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) 및 Lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT)의 발현**

[0105] 상지 주정 추출물의 cholesterol 7 α -hydroxylase(CYP7A1) 및 Lecithin cholesterol acyltransferase(LCAT)의 발현에 대한 설계를 위해서 실험예 1에서 4주 동안 실시한 흰쥐의 간을 적출하여 -70 °C deep freezer에 보관하였다가 Trizol을 이용하여 RNA를 추출한 후 5 μ g의 RNA를 Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit를 활용하여 cDNA로 전환시켰다. 이 전환된 cDNA를 500 ng의 농도를 사용하여 담즙산 생합성 효소인 cholesterol 7 α -hydroxylase(CYP7A1) 및 Lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT)에 대한 real time PCR을 실시하였다.

[0106] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 상지 주정 추출물 투여군에서 농도 의존적으로 cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) 및 Lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT)에 대한 발현이 증가한 것을 확인하였다.

[0107] 이러한 Cholesterol 7-hydroxylase (CYP7A1)는 콜레스테롤을 담즙산으로 이화시키는 과정에서 율속효소(rate-limiting enzyme)로 작용한다. Cholesterol 7 -hydroxylase 유전자는 간에서만 특이적으로 발현되며 콜레스테롤의 항상성 유지에 중요한 역할을 담당하는데, 햄스터에게 cholesterol-7 hydroxylase이 과잉 발현되었을 경우, 혈중 콜레스테롤 농도가 저하되는 결과는 cholesterol-7 hydroxylase가 콜레스테롤 대사의 중추적인 역할을 한다는 것을 뒷받침해 주는 것으로 알려져 있고, LCAT효소는 free cholesterol을 지용성인 cholesteryl ester로 변환시킨다. Cholesteryl ester는 지용성이므로 HDL표면에 존재하지 못하고 내부로 삽입되어 결과적으로 HDL을 구형으로 변화시키고, 상기 구형의 HDL은 SR-B1과 ABCG1 등의 수용체에 도킹하여 추가로 콜레스테롤을 흡수한 후 간으로 향하는 메커니즘을 수행하여 혈관 질환의 위험성을 감소시킬 수 있다.

[0108] 한편, 본 발명에 따른 상지 추출물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 상지 추출물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0109] <제제예 1> 산제의 제조

[0110] 상지 추출물 500 ng

[0111] 유당 1 g

[0112] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0113] <제제예 2> 정제의 제조

[0114] 상지 추출물 500 ng

[0115] 옥수수전분 100 mg

[0116] 유당 100 mg

[0117] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0118] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0119] <제제예 3> 캡슐제의 제조

[0120] 상지 추출물 500 ng

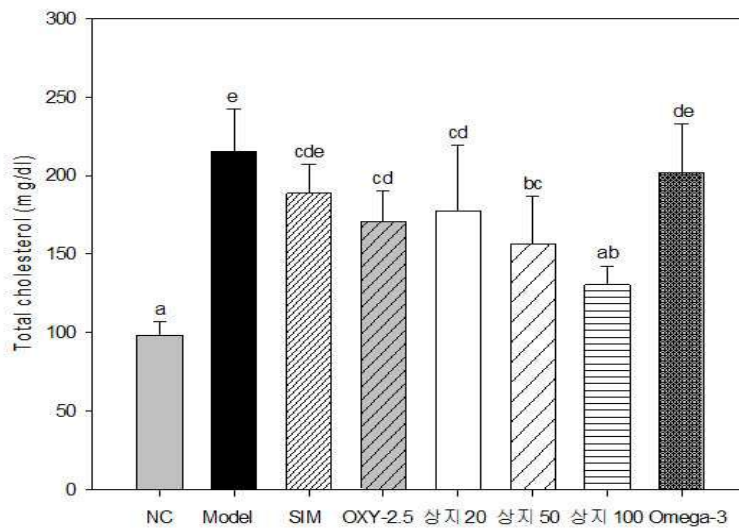
[0121] 옥수수전분 100 mg

[0122]	유당 100 mg
[0123]	스테아린산 마그네슘 2 mg
[0124]	<제제예 4> 주사제의 제조
[0125]	상지 추출물 500 ng
[0126]	만니톨 180 mg
[0127]	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 26 mg
[0128]	중류수 2974 mg
[0129]	통상적인 주사제의 제조방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.
[0130]	<제제예 5> 건강식품의 제조
[0131]	상지 추출물 500 ng
[0132]	비타민 혼합물 적량
[0133]	비타민 A 아세테이트 70 μg
[0134]	비타민 E 1.0 mg
[0135]	비타민 0.13 mg
[0136]	비타민 B2 0.15 mg
[0137]	비타민 B6 0.5 mg
[0138]	비타민 B12 0.2 μg
[0139]	비타민 C 10 mg
[0140]	비오틴 10 μg
[0141]	니코틴산아미드 1.7 mg
[0142]	엽산 50 mg
[0143]	판토텐산 칼슘 0.5 mg
[0144]	무기질 혼합물 적량
[0145]	황산제1철 1.75 mg
[0146]	산화아연 0.82 mg
[0147]	탄산마그네슘 25.3 mg
[0148]	제1인산칼륨 15 mg
[0149]	제2인산칼슘 55 mg
[0150]	구연산칼륨 90 mg
[0151]	탄산칼슘 100 mg
[0152]	염화마그네슘 24.8 mg
[0153]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
[0154]	<제조예 2> 건강 음료의 제조
[0155]	상지 추출물 500 ng

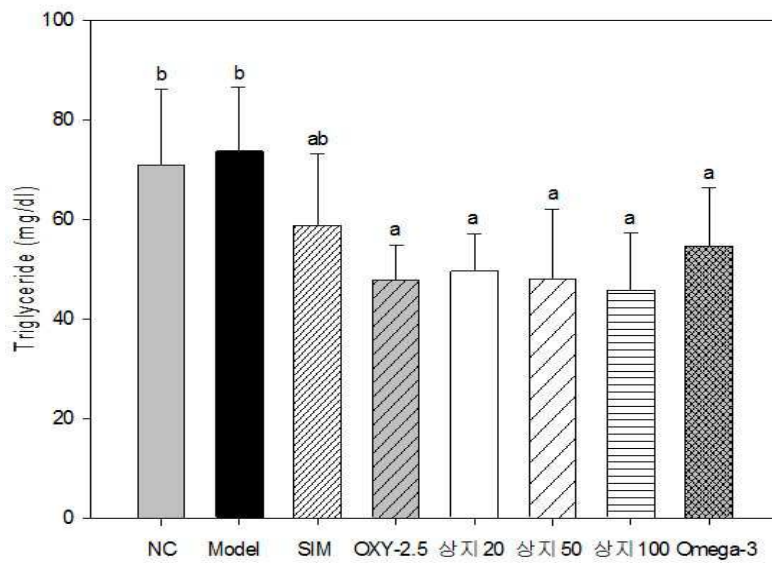
- [0156] 구연산 1000 mg
- [0157] 올리고당 100 g
- [0158] 매실농축액 2 g
- [0159] 타우린 1 g
- [0160] 정제수를 가하여 전체 900 ml
- [0161] 통상의 건강 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2l 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강 음료 조성물 제조에 사용하였다.
- [0162] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호 도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

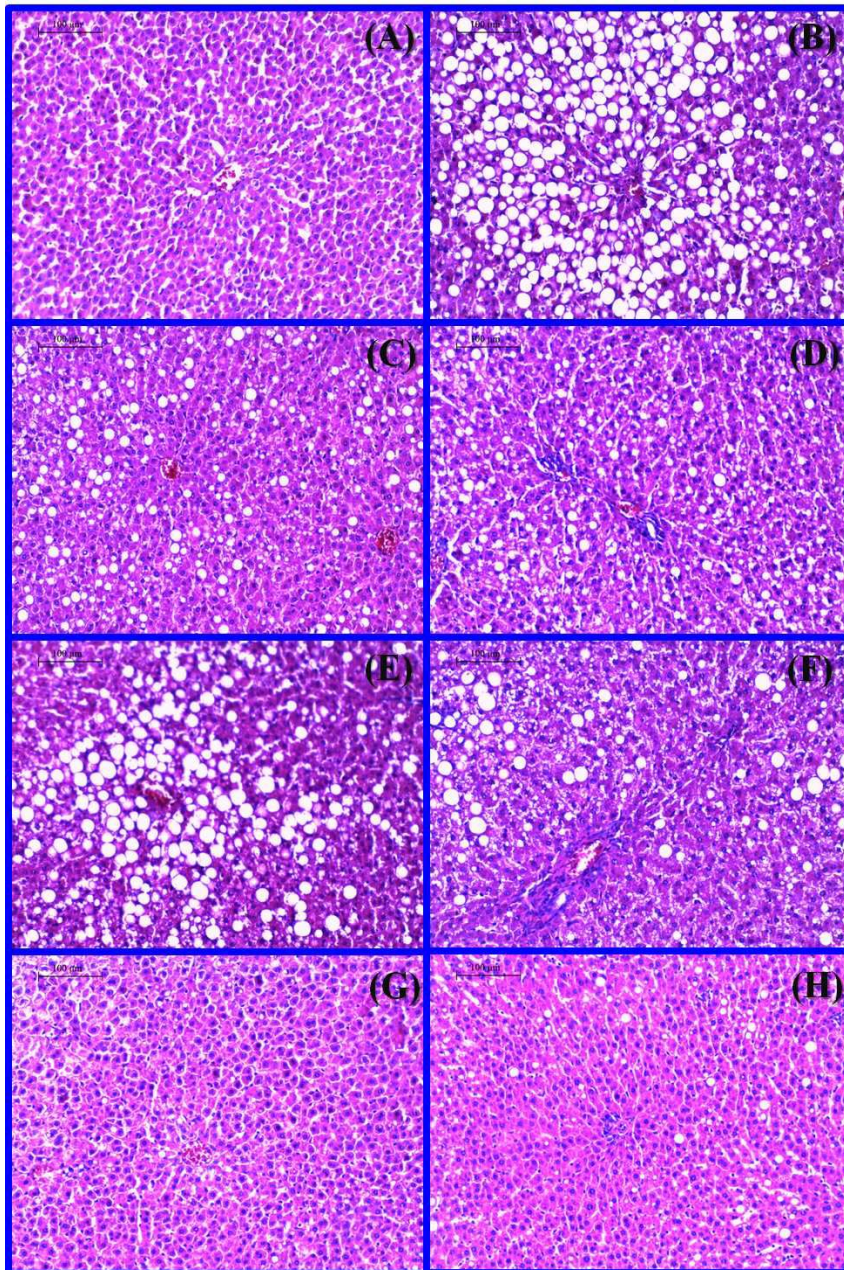
도면1



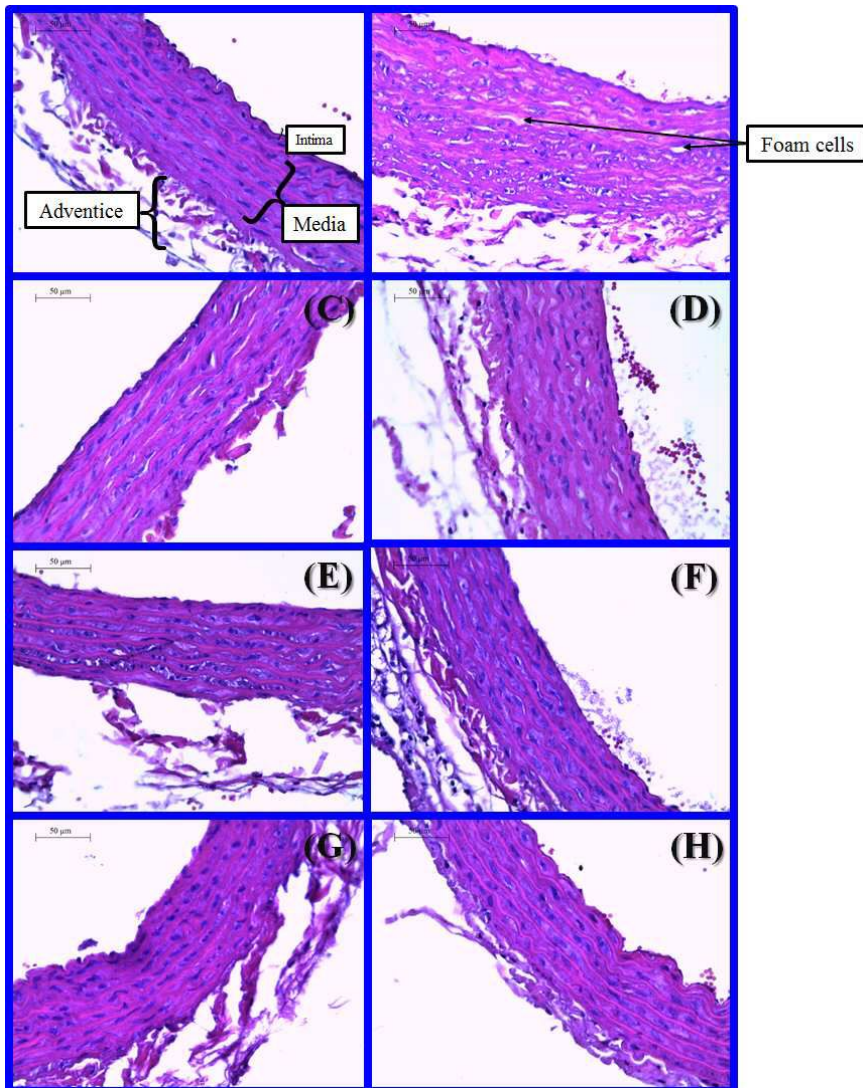
도면2



도면3



도면4



도면5

