

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2017-0041997 (43) 공개일자 2017년04월18일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 36/254 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)	(71) 출원인 충남대학교산학협력단 대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)	
(52) CPC특허분류 A61K 36/254 (2013.01) A23L 33/105 (2016.08)	(72) 발명자 정혜광 대전광역시 유성구 반석서로 98, 609동 1102호 (반석동, 반석마을6단지아파트)	
(21) 출원번호 10-2015-0141361	김영호 대전광역시 유성구 봉명로 48 801-302 (인스빌) (뒷면에 계속)	
(22) 출원일자 2015년10월08일 심사청구일자 2015년10월08일	(74) 대리인 특허법인 공간	

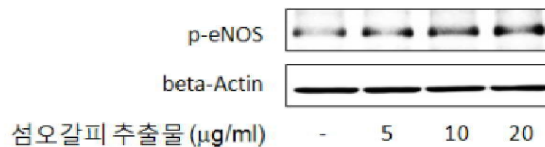
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **섬오갈피 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 섬오갈피 잎 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 섬오갈피 잎 추출물은 혈관내피세포의 eNOS (endothelial nitric oxide synthase)를 활성화시키는 효과가 우수하여, 동맥경화증, 말초혈관폐쇄증, 혈관재협착증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 뇌졸중, 뇌경색, 뇌출혈 등과 같은 각종 혈관질환의 치료용 조성물로 용이하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23V 2200/326 (2013.01)

A61K 2236/33 (2013.01)

(72) 발명자

강종성

대전광역시 유성구 어은로 57 118-80 (어은동, 한
빛아파트)

김형균

대전시 유성구 계룡로 64, 102동 508호 (봉명동,
미성샤르망)

진순우

대전시 유성구 문화원로 119, 1동 707호 (봉명동,
봉명시티빌)

명세서

청구범위

청구항 1

섬오갈피(*Acanthopanax koreanum*) 잎 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 섬오갈피 잎 추출물은 섬오갈피 잎을 물, C1 내지 C4 알코올 또는 이들의 혼합 용액을 용매로 하여 추출하는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 섬 오갈피 잎 추출물은 에탄올, 바람직하게는 30% 내지 90%의 에탄올을 용매로 하여 추출하는 것은 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 섬오갈피 잎 추출물은 혈관내피세포의 eNOS(endothelial nitric oxide synthase)를 활성화시키는 효과가 있는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 혈관질환은 동맥경화증, 말초혈관폐쇄증, 혈관재협착증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 뇌졸중, 뇌경색 및 뇌출혈에서 선택되는 질환인 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 6

섬오갈피 잎 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 섬오갈피 잎 추출물은 혈관내피세포의 eNOS(endothelial nitric oxide synthase)를 활성화시키는 효과가 있는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 혈관질환은 동맥경화증, 말초혈관폐쇄증, 혈관재협착증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 뇌졸중, 뇌경색 및 뇌출혈에서 선택되는 질환인 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

섬오갈피(*Acanthopanax koreanum*) 잎 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 섬오갈피 잎 추출물은 섬오갈피 잎을 물, C1내지 C4 알코올 또는 이들의 혼합용액을 용매로 하여 추출하는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 혈관질환은 동맥경화증, 말초혈관폐쇄증, 혈관재협착증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 뇌졸중, 뇌경색 및 뇌출혈에서 선택되는 질환인 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 건강기능식품은 각종 식품류, 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제에서 선택되는 것을 특징으로 하는 혈관질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 섬오갈피 잎 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 현대 사회에서 혈관질환은 심각한 사회적 문제로 대두되고 있다. 2010년 통계청에서 발표한 사망원인 통계에 따르면, 고혈압성질환, 허혈성 심장질환, 뇌혈관질환을 포함하는 혈관질환이 우리나라의 사망원인으로 악성 종양 다음으로 2위를 차지하였으며, 특히나 남성은 55세 이상, 여성은 65세 이상에서 혈관질환에 의한 사망률이 크게 증가한다고 보고하였다. 혈관질환의 가장 많은 부분을 차지하고 있는 동맥경화증의 경우에는 연령, 성별, 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 흡연, 운동 부족과 비만이 위험 요인으로 알려져 있다. 혈관질환 환자들은 질환을 치료하기 위해 지속적인 약물을 투여 받지만 완치가 쉽지 않으며, 오랜 약물의 투여로 인한 부작용이 나타나고 있다.

[0003] 혈관내피(endothelium)는 림프혈관 및 심장 혈관 등 모든 혈관의 가장 안쪽에 존재하며, 내피세포(endothelial cells)로 구성되어 있다. 혈관내피는 혈관 확장과 수축, 혈관 평활근의 증식과 이동, 혈전 생성과 용해 등 혈관 항상성을 유지하는 주요한 조절 역할을 한다. 이러한 혈관내피의 기능에 장애가 일어나게 되면 혈관벽의 손상을 초래하여 동맥경화와 같은 혈관질환들이 유발된다.

[0004] 혈관내피의 가장 중요한 기능은 NO(nitric oxide)를 분비하는 것이다. NO의 생성은 혈관내피세포 내에 존재하는 eNOS(endothelial nitric oxide synthase)에 의해 조절되면, L-아르기닌(L-arginine)을 기질로 하여 NO를 생성시키는 역할을 한다. 이러한 eNOS는 혈관내피세포(평활근 세포), 혈소판, 심장근육세포, 골세포, 신경세포 등에서 특이적으로 발현되며 eNOS의 작용으로 생성된 NO가 혈관으로 유리되어 혈관 평활근의 이완이 유도되며, 저밀도지질단백질(low density lipoprotein, LDL) 산화, 백혈구의 흡착반응, 혈관 평활근세포의 증식, 혈소판 응집 등이 억제된다.

[0005] 따라서 eNOS 활성 증가 또는 NO 생성 촉진을 통해 협심증(Glueck, C.J. 2010), 심근경색(Merx, M.W. et al., 2014), 허혈성 심장질환(Tratsiakovich, Y. et al., 2013), 동맥경화증(Hwang, H.J. et al., 2013), 고혈압(Na, S. et al., 2014), 뇌졸중, 뇌경색, 뇌출혈과 같은 뇌질환(Li, S.T. et al., 2014; Vellimana, A.K. et al., 2011) 등의 다양한 혈관질환을 치료하려는 다양한 시도들이 있어왔다.

[0006] 이와 같이, eNOS의 활성 저하는 동맥경화와 같은 혈관내피세포의 기능장애의 원인이 되기에 eNOS 활성을 촉진시키는 물질을 만성 혈관질환을 개선시킬 수 있는 후보 약물로 이용할 수 있다. 실제 3세대 베타 차단제(β -blocker)인 네비볼롤(nebivolol)은 eNOS 활성화를 통하여 혈관 이완효과를 강화시키는 것으로 알려져 있다.

eNOS의 활성화는 내피세포 내 칼슘 축적, 조효소인 테트라하이드로바이오프테린(tetrahydrobiopterin)의 조절, 인산화 등의 다양한 경로를 통해 조절되는 것으로 알려져 있다. eNOS는 다양한 인산화 부위를 갖고 있으며, 특히 Ser-1177의 인산화가 eNOS의 활성화 변화에 가장 중요한 역할을 담당하는 것으로 보고된 바 있다. eNOS의 Ser-1177의 인산화는 에스트로겐 수용체(Simoncini, T. et al., 2002), PI3-kinase/Akt(Hisamoto, K. et al., 1999), MAP kinase(Hisamoto, K. et al., 2001) 및 AMP kinase(Morrow, V.A. et al., 2003) 등의 다양한 신호 전달체계에 의하여 조절되는 것으로 알려져 있다. 실제로, 여성호르몬인 에스트로겐 분비가 약화되는 폐경기 여성의 경우 심혈관계 질환의 발병 비율이 월등히 높아지는데, eNOS의 활성 저하가 주원인이라고 할 수 있다. 따라서 eNOS 인산화에 의한 효소 활성을 높이는 천연물질의 발굴은 혈관내피의 기능 이상 및 혈액순환 개선을 위한 중요한 전략이 될 수 있다.

[0007] 한편, 동맥경화증은 유전적 변이, 과산화물, 고혈압, 혈장호모시스테인 농도 증가, 혈관 내부의 지질 축적, 미생물 감염 등의 원인으로 인해 혈관 내피세포가 정상적인 항상성을 유지하지 못하는 기능적 부전 상태를 말한다. 주로 혈관의 가장 안쪽을 덮고 있는 내막(endothelium)에 콜레스테롤과 같은 지질 성분들이 침착하고 혈관내피세포의 과증식이 일어나고, 죽종(atheroma)이 생성되며, 혈관 탄력이 약해지거나 노화가 진행되면서 혈관 이완성이 저하된다. 동맥경화가 진행될 때, 혈관내피세포에서 VCAM-1(vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1), MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1), P-셀렉틴(P-selectin), E-셀렉틴(E-selectin) 등을 포함하는 부착물질(adhesion molecule)의 발현이 증가하게 되며, 혈중 저밀도지질단백질의 변형, 단핵구나 대식세포 등의 유입 및 거품 세포(foam cell)로의 활성화를 유발하는 과정을 되풀이하여 혈관 내의 플라그(plaque) 형성이 촉진된다.

[0008] 상기 VCAM-1, ICAM-1, MCP-1 등과 같은 부착물질은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이나 사이토카인의 하나인 TNF- α (tumor necrosis factor- α)에 의해서 활성화되는 것으로 알려져 있다(Yen, F.L. et al., 2013; Mackesy, D.Z., 2014).

[0009] 상기 부착물질은 세포와 세포를 단단히 유착시켜 원형을 유지할 수 있게 하며 백혈구와 혈관내피세포, 백혈구와 혈관 외 조직 간의 유착을 촉진시키는 기능을 한다. 또한, 백혈구가 혈관을 빠져 나가 주위 조직으로 이동하게 하며 T 림프구의 항원 인지도를 높이고, 말초 혈액의 림프구와 단핵구들을 활성화시키며 활성화된 림프구의 작용을 더욱더 증진시킨다. 상기와 같은 여러 기능을 통해 부착물질들은 혈관질환에서 중요한 역할을 담당하게 된다.

[0010] 섬오갈피(*Acanthopanax koreanum*)는 쌍떡잎식물 산형화목 두릅나무과의 낙엽관목으로서, 우리나라 제주도의 해발 1400m 이하에서 자생하는 제주특산 수종으로 탐라오갈피라고도 불린다(한국자원식물학회지, 1999, 12, 125-132). 가지가 많이 갈라지고 향기가 나며 밑 부분에 넓은 가시가 있다. 잎은 어긋나고 손바닥 모양 겹잎이다. 작은 잎은 3~5개씩이고 달걀을 거꾸로 세운 모양 또는 거꾸로 선 바소 모양이며 가장자리에 뾰족한 톱니가 있고 주맥 밑동에 털이 밀생한다. 잎 표면이 광택이 있고, 뒷면은 연한 녹색이다. 꽃은 7~8월에 피고 녹색이며 산형꽃차례에 달린다. 꽃자루는 길이 2~5cm이고 작은꽃 자루도 길다. 꽃잎은 5개이고 꽃받침은 희미하게 5개로 갈라진다. 열매는 핵과로 편평하고 10월에 검게 익으며 암술대가 남아 있다. 민간에서는 섬오갈피를 요통, 신경통, 중풍 등에 사용하며, 전통적으로 몸을 가볍게 하는 약재로서 사용되어 왔으며, 향 피로, 향 스트레스, 중추신경 흥분, 대사촉진, 근육강화, 항암, 해독작용 등이 있다고 연구된 바 있다(산림조합중앙회, 2005, 산림통권474호, 112-114).

[0011] 한편, 본 발명자들은 혈관질환의 치료용 조성물에 관한 연구를 하던 중, 상기 섬오갈피 잎 추출물이 혈관내피세포에서 eNOS 활성을 촉진하는 효과가 있음을 확인하였다. 또한 섬오갈피 추출물에 존재하는 주요 화합물인 임프레산(impressic acid)이 PPAR γ 를 활성화시키고, 활성화된 PPAR γ 가 동맥경화와 관련이 있다는 선행기술을 확인한 바, 섬오갈피 잎 추출물에 존재하는 임프레산의 함유량을 확인한 결과 섬오갈피 알코올 추출물 1g 당 0.27mg(약 0.027%)이 존재함을 확인하였다. 나아가 섬오갈피 알코올 추출물과 정제된 임프레산을 처리하여 염증성 접착분자의 전사 억제 활성을 비교한 결과 섬오갈피 추출물 내 임프레산의 양이 매우 적음에도 불구하고, 전사 억제 활성이 비슷하게 나타난 것을 확인하였다. 이를 통해 섬오갈피 알코올 추출물이 혈관질환의 예방 또는 치료 효과가 매우 뛰어난 것을 확인함으로써 본 발명을 완성할 수 있었다.

[0012] 한국등록특허 제0793204호에는 오갈피를 함유하는 한약제 조성물이 혈장 총 콜레스테롤 및 중성지방의 농도를 감소시키는 효과를 가져 관상동맥성 심장질환 또는 동맥경화증에 치료 효과가 있다는 것이 개시되어 있다. 또한, 한국등록특허 제0684436호에는 단풍마와 가시오갈피의 혼합추출물이 항산화, 지질과산화 억제에 따른 항노화 효과가 있음이 개시되어 있다. 한국공개특허 제2005-0022944호에는 혈관 수축 억제 능력과 관계된 혈관질환

환의 치료용 조성물로서 가시오갈피 물 추출물의 에틸아세테이트 분획물이 개시된 바 있다. 한국등록특허 제 0372360호에는 피부노화 억제 효과를 갖는 무취 마늘 추출물 또는 가시오갈피 추출물을 함유하는 화장료 조성물이, 한국등록특허 제0164004호에는 오갈피가 함유된 생약 조성물이 노화 억제 효과가 있음을 개시하고 있다. 그러나 섬오갈피 및 추출물이 eNOS 활성을 통한 혈관 이완 효과가 있어 각종 혈관 질환의 치료제로 사용될 수 있음은 아직까지는 확인되지 않았다.

선행기술문헌

특허문헌

[0013]

(특허문헌 0001) 한국등록특허 제0793204호, 한약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 관상동맥성 심장 질환 또는 동맥경화증의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 2008.01.03. 등록.

(특허문헌 0002) 한국등록특허 제0684436호, 항산화, 지질과산화 억제에 따른 항노화, 항염증 및 거담 활성을 갖는 단풍마 및 가시오갈피 혼합추출물을 함유하는 조성물, 2007.02.12. 등록.

(특허문헌 0003) 한국공개특허 제2005-0022944호, 가시오갈피 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료제, 2005.03.09. 공개.

(특허문헌 0004) 한국등록특허 제0372360호, 피부노화 억제 효과를 갖는 무취 마늘추출물 및/또는 가시오갈피추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 그의 제조방법, 2003.02.04.등록.

(특허문헌 0005) 한국등록특허 제0164004호, 항노화성 건강식품 조성물, 1998.09.10. 등록.

비특허문헌

[0014]

(비특허문헌 0001) 박소영, 약이 되는 나무: 섬오갈피나무. 산림조합중앙회, 2005, 산림 통권474호, 112-114.

(비특허문헌 0002) 임병선 et al., 지리산오갈피와 섬오갈피의 생육 특성 및 자생지 식생조사. 한국자원식물학회지, 1999, 12, 125-132.

(비특허문헌 0003) Glueck, C.J. et al., Endothelial nitric oxide synthase T-786C mutation, a reversible etiology of Prinzmetal's angina pectoris. Am. J. Cardiol., 2010, 15, 105(6), 792-796.

(비특허문헌 0004) Hwang, H.J. et al., Progranulin protects vascular endothelium against atherosclerotic inflammatory reaction via Akt/eNOS and nuclear factor- κ B pathways. PLoS One, 2013, 8(9), e76679.

(비특허문헌 0005) Hisamoto, K. et al., Induction of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation by the raloxifene analog LY117018 is differentially mediated by Akt and extracellular signal-regulated protein kinase in vascular endothelial cells., Nature, 1999, 399, 601-605.

(비특허문헌 0006) Hisamoto, K. et al., Induction of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation by the raloxifene analog LY117018 is differentially mediated by Akt and extracellular signal-regulated protein kinase in vascular endothelial cells., J. Biol. Chem., 2001, 276(50), 47642-47649.

(비특허문헌 0007) Li, S.T. et al., Endothelial nitric oxide synthase protects neurons against ischemic injury through regulation of brain-derived neurotrophic factor expression. CNS Neurosci. Ther., 2014, 20(2), 154-164.

(비특허문헌 0008) Mackesy, D.Z., Extracellular signal-regulated kinase-5: Novel mediator of insulin and tumor necrosis factor α -stimulated vascular cell adhesion molecule-1 expression in vascular cells. J. Diabetes. 2014, Epub ahead of print.

(비특허문헌 0009) Morrow, V.A. et al., Direct activation of AMP-activated protein kinase stimulates nitric-oxide synthesis in human aortic endothelial cells., J. Biol. Chem., 2003, 278(34), 31629-31639.

(비특허문헌 0010) Merx, M.W. et al., Depletion of circulating blood NOS3 increases severity of

myocardial infarction and left ventricular dysfunction. Basic. Res. Cardiol, 2014, 109, 398.

(비특허문헌 0011) Na, S. et al., Cervical ganglion block attenuates the progression of pulmonary hypertension via nitric oxide and arginase pathways. Hypertension. 2014, 63, 309-315.

(비특허문헌 0012) Simoncini, T. et al., Nongenomic mechanisms of endothelial nitric oxide synthase activation by the selective estrogen receptor modulator raloxifene., Circulation, 2002, 105(11), 1368-1373.

(비특허문헌 0013) Tratsiakovich, Y. et al., Myocardial protection by co-administration of L-arginine and tetrahydrobiopterin during ischemia and reperfusion. International Journal of Cardiology, 2013, 169, 837-88.

(비특허문헌 0014) Vellimana, A.K. et al., Endothelial nitric oxide synthase mediates endogenous protection against subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. Stroke. 2011, 42, 776-782.

(비특허문헌 0015) Yen, F.L. et al., Curcumin nanoparticles ameliorate ICAM-1 expression in TNF- α -treated lung epithelial cells through p47 (phox) and MAPKs/AP-1 pathways. PLoS One, 2013, 8(5), e63845.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명의 목적은 섬오갈피 잎 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0016] 본 발명은 섬오갈피(*Acanthopanax koreanum*) 잎 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0017] 상기 섬오갈피 잎 추출물은 섬오갈피 잎을 물, C1 내지 C4 알코올 또는 이들의 혼합 용액을 용매로 하여 추출할 수 있다.

[0018] 상기 섬오갈피 잎 추출물은 혈관내피세포의 eNOS를 활성화시키는 효과가 있다.

[0019] 상기 혈관질환은 동맥경화증, 말초혈관폐쇄증, 혈관재협착증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 뇌졸중, 뇌경색 및 뇌출혈에서 선택되는 질환일 수 있다.

[0020] 또 다른 양태로서, 본 발명은 섬오갈피 잎 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 건강기능식품은 각종 식품류, 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제에서 선택될 수 있다.

[0021] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0022] 상기 섬오갈피 잎 추출물은 섬오갈피 잎을 물, C1 내지 C4 알코올 또는 이들의 혼합용액을 용매로 하여 추출될 수 있으며, 상기 C1 내지 C4 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 및 이소부탄올로 이루어진 군에서 선택될 수 있으며, 바람직하게는 에탄올, 더욱 바람직하게는 30% 내지 90% 에탄올을 사용할 수 있다.

[0023] 상기 섬오갈피 잎 추출물의 제조 시 사용되는 물, C1 내지 C4 알코올 또는 이들의 혼합용액은 섬오갈피 잎 사용 중량의 1배 내지 10배를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 5배 내지 10배를 사용할 수 있다. 상기 섬오갈피 잎 추출물의 추출 조건은 20℃ 내지 100℃에서 1시간 내지 48시간일 수 있다.

[0024] 또한, 상기 섬오갈피 잎 추출물은, 당 분야의 통상적인 방법으로서 상기 섬오갈피 잎의 물, C1 내지 C4 알코올 또는 이들의 혼합용액 추출물을 물에 녹인 후에 n-헥산, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 클로로포름, 에틸아세테이트, n-부탄올 및 디클로로메탄으로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 이상의 용매를 사용하여 추가적으로 분획한 분획물 일 수 있다.

[0025] 상기 추출물 또는 이의 분획물의 제조 온도는 20℃ 내지 50℃일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 추출시

간은 특별히 제한되는 것은 아니나, 10분 내지 1일 이내에 추출하는 것이 바람직하며, 추출용 기기로는 통상의 추출기기, 초음파분쇄추출기 또는 분획기를 이용할 수 있다. 이렇게 제조된 섬오갈피 및 추출물 또는 분획물은 열풍건조, 감압건조 또는 동결 건조하여 용매를 제거할 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명은 섬오갈피 및 추출물을 함유한 혈관질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 약학 조성물에는 섬오갈피 및 추출물이 0.001 중량% 내지 100 중량%로 함유될 수 있다. 상기 약학 조성물은, 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. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 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 본 발명의 섬오갈피 및 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 제제에는 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, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 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 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0028] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 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 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0029] 또한, 본 발명은 섬오갈피 및 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 혈관질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 섬오갈피 및 추출물은 본 발명의 건강기능식품에 0.001 중량% 내지 100 중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제 등이 있다.

발명의 효과

[0030] 본 발명은 섬오갈피 및 추출물을 함유하는 혈관질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 섬오갈피 및 추출물은 혈관내피세포의 eNOS를 활성화시키는 효과가 우수하여, 동맥경화증, 말초혈관폐쇄증, 혈관재협착증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 뇌졸중, 뇌경색, 뇌출혈 등과 같은 각종 혈관질환의 치료용 조성물로 용이하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 HUVEC에서 섬오갈피 및 추출물에 대한 세포독성을 확인하는 MTT 어세이 결과(도 1A) 및 LDH 어세이 결과(도 1B)를 나타낸다.

도 2는 HUVEC에서 eNOS의 인산화(p-eNOS)가 섬오갈피 추출물에 대한 농도 의존적으로 증가되는 것을 확인한 웨스턴 블롯 결과이다.

도 3은 HUVEC에서 섬오갈피 추출물 처리로 인해 생성된 NO에 대한 형광 분석 사진을 나타낸다.

도 4는 HUVEC에서 TNF- α 처리로 인해 증가된 단백질의 부착이 섬오갈피 추출물의 처리에 의해 농도 의존적으로 감소하는 것을 나타내는 형광분석 사진이다.

도 5는 HUVEC에서 TNF- α 처리로 인해 증가된 ICAM-1(도 5A) 및 VCAM-1(도 5B)의 전사 활성이 섬오갈피 추출물의 처리로 인해 농도 의존적으로 감소하고 있음을 나타내는 루시퍼라아제 어세이 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 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 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0033] <실시예 1. 섬오갈피 잎 추출물의 제조>

[0034] 섬오갈피(*Acanthopanax koreanum*)의 잎 10kg에 50% 에탄올 20ℓ를 가하고 5시간 동안 환류 추출하였고, 새로운 에탄올을 상기 섬오갈피 잎에 가하여 동일한 과정을 2번 더 반복하였다. 환류 추출하여 얻은 추출액에서 건더기를 제거한 액상을 감압 증류하여 960g의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물을 얻었다.

[0035] <비교예 1. 비교 추출물의 제조>

[0036] 비교예 1-1. 섬오갈피 잎 100% 에탄올 추출물의 제조

[0037] 상기 실시예 1-1과 동일한 방법으로 추출물을 제조하되 50% 에탄올 대신 100% 에탄올을 이용하여 추출물을 제조하였다.

[0038] 비교예 1-2. 섬오갈피 잎 물 추출물의 제조

[0039] 섬오갈피의 잎 10kg을 물 100ℓ에 넣고 10시간 동안 90℃에서 열수 추출한 추출액에서 건더기를 제거하여 얻은 액상을 동결 건조하여 섬오갈피 물 추출물을 얻었다.

[0040] <실험예 1. 혈관내피세포의 배양>

[0041] 혈관내피세포 내의 eNOS 활성 효과, NO 생성능, 세포부착물질 발현량을 확인하기 위해, HUVEC(Human umbilical vein endothelial cell, (주) 이노파마스크린 공급)을 이용하였다. HUVEC 배양을 위한 세포배양배지로는 FBS(fetal bovine serum) 2%, 아스코르브산(ascorbic acid) 0.1%, rhEGF(recombinant human epidermal growth factor) 0.1%, 히드로코르티손(hydrocortisone) 0.1%, BBE(bovine brain extract) 0.4%, GA-1000(gentamicin sulfate amphotericin) 0.1%가 포함된 EBM(Endothelial basal medium, Lonza)을 사용하였다. HUVEC의 배양은 1% 젤라틴(gelatin, Sigma)으로 코팅한 배양접시(culture dish)를 이용하였고, 37℃, 5% CO₂의 습윤 챔버에서 배양하였으며, 배양접시에 HUVEC이 80% 내지 90% 차게 되면 Trypsin-EDTA(Welgene)를 처리하여 계대 배양하였다.

[0042] <실험예 2. 세포 독성 확인>

[0043] 실시예 1에서 제조한 섬오갈피 잎 추출물이 세포독성이 없는 화합물임을 확인하기 위해, 혈관내피세포 배양시에 섬오갈피 잎 추출물 5 μ g/ml 내지 50 μ g/ml을 첨가하여 24시간 배양 후, MTT 어세이 키트(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay kit, USB corporation, cleveland, OH USA)와 LDH 어세이 키트(Lactate dehydronase assay kit, Roche Applied Science, Indianapolis, IN, USA)를 이용하여 세포의 생존율을 측정하였다.

[0044] 이를 위해 HUVEC을 48웰-플레이트(48 well plate)에 1 $\times$ 10⁴ 개/웰로 분주하여 24시간 동안 배양한 다음, 세포배양액(500 μ ℓ)을 교체하면서 상기 섬오갈피 잎 추출물을 첨가한 후 24시간 동안 배양하였다. 이 후, 각 시료가 처리된 배지를 수거하여 96웰-플레이트에 50 μ ℓ씩 분주하고 LDH 어세이 키트의 혼합용액(dye, catalyst) 50 μ ℓ를 10분 이내로 반응시킨 후, 마이크로플레이트 분석기(microplate reader)로 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한, 위와 동일한 조건으로 배양한 세포에 0.2mg/ml 농도의 MTT 용액 500 μ ℓ를 각 웰(well)에 가한 뒤 30분 동안 반응시켰다. 반응 종료 후에는 상층액을 제거하고 100 μ ℓ의 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 첨가하여 생성된 포마잔(formazan) 결정을 용해시켜 마이크로플레이트 분석기로 550nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0045] 도 1에서 보여주듯이, 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물은 MTT 어세이(도 1A) 및 LDH 어세이(도 1B)를 통해 실험된 농도에서 세포독성이 없는 것으로 확인되었다.

[0046] <실험예 3. 섬오갈피 잎 추출물의 eNOS 인산화 활성 확인>

[0047] 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물을 HUVEC에 30분 동안 5 μ g/ml 내지 20 μ g/ml로 처리하여, 총 세포 용해액(total cell lysates)을 얻었고, 이를 이용하여 웨스턴 블롯 분석을 수행하여 상기 세포 용해액 내의 eNOS의 인산화(Ser-1177)를 확인하였다.

[0048] 이를 위해, HUVEC을 60mm 세포배양 플레이트에 1 $\times$ 10⁵ 개로 분주하고, 24시간 후 세포배양액을 교체하면서, 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물 5 μ g/ml 내지 20 μ g/ml을 30분 동안 처리하고 원심 분리하여 각 시료가 처리된 세포를 수거하였다. 상기 수거된 세포에 세포용해버퍼 100 μ l(120mM NaCl, 40mM Tris[pH 8], 0.1% NP40[Nonidet P-40])를 처리하여 12,000rpm에서 원심분리한 뒤, 상층액을 수거하여 세포용해액을 얻었다. 이후, 상기 세포용해액을 사용하여 10% SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate poly acrylamide gel electrophoresis) 전기영동을 실시하고 트랜스퍼 키트를 이용하여 나이트로셀룰로오스 트랜스퍼 멤브레인에 단백질을 고착시켰다. 상기 멤브레인은 5% 스킴밀크(skim milk)에서 1시간 동안 상온 조건으로 블로킹(blocking)하고, 인산화된 eNOS에 대한 1차 항체 및 이에 대한 2차 항체를 반응시킨 후, 인산화된 eNOS의 발현량 변화를 확인한 하였고, 이를 도 2에 나타내었다.

[0049] 도 2를 참고하면, 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물이 eNOS의 인산화(p-eNOS)를 농도 의존적으로 증가시키고 있는 것을 알 수 있어, 상기 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물이 우수한 eNOS 인산화 활성 효과가 있는 것을 확인할 수 있다.

[0050] <실험예 4. 섬오갈피 잎 추출물의 NO 생성능 확인>

[0051] 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물의 NO 생성능을 확인하기 위해 DAF-FM 디아세테이트(Molecular Probe, OR)를 이용하여 이에 대한 형광 정도를 측정하였다(DAF-FM 디아세테이트 : NO와 결합하여 형광발현을 하는 물질).

[0052] 이를 위해 HUVEC을 96웰 플레이트에 5 $\times$ 10⁴ 개/웰로 분주한 후, 세포배양 배지에서 12시간 동안 배양하였다. 이후, 37 $^{\circ}$ C에서 FBS가 없는 배지에서 3시간 배양한 후 L-NAME(L-N^G-Nitroarginine methyl ester, NOS[nitric oxide synthase] inhibitors, 100 μ M)을 처리한 군과 무처리 군으로 구분하여 상기 HUVEC에 30분 동안 전처리했다. L-NAME 전처리 이후에 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물, 비교예 1-1의 섬오갈피 100% 에탄올 추출물 및 비교예 1-2의 섬오갈피 물 추출물을 5 μ g/ml 내지 20 μ g/ml 농도로 L-NAME 처리한 군과 무처리 군에 각각 30분 동안 처리한 후, 세포들을 PBS로 2번 세척하고, 바로 DAF-FM 디아세테이트 10 μ M를 20분간 처리하였다. 다음으로는 세포배양배지를 제거하고 세포 고정액(4% paraformaldehyde)을 사용하여 5분간 세포를 고정하고, 다시 FBS가 없는 배지로 교체하여 각 세포들이 갖는 DAF-FM 디아세테이트에 대한 형광정도를 488nm에서 측정하였으며, 이에 대한 결과는 표 1과 도 3에 나타내었다.

표 1

[0053]

추출물 처리 농도 (μ g/ml)	NO 생성능 (fold)		
	실시예 1	비교예 1-1	비교예 1-2
	섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물	섬오갈피 잎 100% 에탄올 추출물	섬오갈피 잎 물 추출물
0	1.00 $\pm$ 0.02	1.00 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.03
5	2.25 $\pm$ 0.12	1.94 $\pm$ 0.15	1.55 $\pm$ 0.21
10	3.33 $\pm$ 0.23	2.95 $\pm$ 0.09	1.85 $\pm$ 0.16
20	4.25 $\pm$ 0.05	3.89 $\pm$ 0.11	2.12 $\pm$ 0.09

[0054] 표 1을 참고하면, 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물의 경우 NO의 생성능이 비교예 1-1 및 비교예 1-2의 추출물 보다 높은 것을 알 수 있었다. 추가 실험을 통해서 30% 내지 90% 에탄올로 추출한 섬오갈피 잎 추출물의 NO 생성능이 50% 에탄올로 추출한 섬오갈피 잎 추출물과 유사한 활성이 있음을 확인하였다.

[0055] 또한, 도 3을 참고하면, 섬오갈피 잎 추출물을 처리한 세포에서는 DAF-FM 디아세테이트에 대한 형광 발현이 크게 증가되어 있지만, 아무것도 처리하지 않는 대조군(Control)이나 L-NAME(NOS inhibitors)만을 처리한 군에서는 NO 생성이 확인되지 않았다.

[0056] <실험예 5. 단백질 부착 억제 효과 확인>

[0057] 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물이 혈관내피세포에서 동맥경화 초기에 관여하는 단핵구(monocyte)의 부착을 억제하는 지를 확인하였다.

[0058] 이를 위해, 48웰 플레이트에 HUVEC 세포를 웰당 5×10^4 개(세포수)로 분주하여 세포를 플레이트에 부착시킨 후, 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 12시간 동안 처리하였다. 이 후에 $\text{TNF-}\alpha$ $10 \text{ ng}/\text{ml}$ 를 12시간 동안 HUVEC에 처리하고, 형광물질(Calcein green)로 표지된 단핵구(U937 세포)를 상기 HUVEC이 있는 48웰 플레이트에 부착시켜 1시간 동안 공동 배양하였다. 공동 배양 후에는 세포배양액을 제거하고 PBS(phosphated buffered saline, 인산완충 생리식염용액)로 2번 세포를 세척하고, 1% 파라포름알데히드(paraformaldehyde)를 처리하여 세포를 고정시킨 후 형광 현미경으로 단핵구의 부착 정도를 확인하였고, 이에 대한 결과를 도 4에 나타내었다.

[0059] 도 4를 참고하면, 대조군(Control)에 비해 $\text{TNF-}\alpha$ 만 처리한 군에서 단핵구의 부착이 증가한 반면에, 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물을 처리한 경우에는 농도 의존적으로 단핵구의 부착이 현저하게 감소하는 것으로 확인된다. 따라서, 섬오갈피 추출물은 혈관내피세포 내의 단핵구 세포의 부착을 억제하여 동맥경화와 같은 혈관질환을 억제하는 효과가 우수할 것으로 예상된다.

[0060] <실험예 6. 섬오갈피 잎 추출물의 ICAM-1 및 VCAM-1 발현 억제 효과>

[0061] 루시페라아제 프로모터 어세이(luciferase promoter assay)를 통해 섬오갈피 잎 50% 추출물이 혈관내피세포의 ICAM-1 및 VCAM-1 단백질 발현을 억제하는지를 확인하였다.

[0062] ICAM-1 및 VCAM-1의 프로모터 활성을 루시페라아제 어세이 시스템 키트(luciferase assay system kit, Promega)를 이용한 루시페라아제 어세이를 통해 확인하였다. 이를 위해, 48웰 플레이트에 HUVEC 세포를 5×10^4 개/웰로 분주하여 세포를 플레이트에 부착시킨 후, HUVEC 세포에 $1 \mu\text{g}$ 의 ICAM-1 또는 VCAM-1 프로모터-루시페라아제(VCAM-1 promoter-luciferase), $0.2 \mu\text{g}$ 의 pCMV- β -갈락토시다아제(pCMV- β -galactosidase)를 리포펙타민™ 2000(Lipofectamine™ 2000)을 이용하여 형질전환(transfection)하였다. 4시간 후에 세포 배양액을 FBS가 없는 배지로 교체해주고 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물, 비교예 1-1의 섬오갈피 100% 에탄올 추출물 및 비교예 1-2의 섬오갈피 물 추출물 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 HUVEC에 12시간 동안 전처리한 후, $\text{TNF-}\alpha$ $5 \text{ ng}/\text{ml}$ 을 12시간 동안 처리하였다. 이 후 상기 세포들을 용해 후 $14,240 \times \text{g}$ 에서 10분 동안 원심분리 후, 상등액(supernatants)의 루시페라아제 및 β -갈락토시다아제 활성을 측정하였다. β -갈락토시데이즈 어세이는 $250 \mu\text{l}$ 의 어세이 버퍼($0.12 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4$, $0.08 \text{ M NaH}_2\text{PO}_4$, 0.02 M KCl , 0.002 M MgCl_2 , $0.1 \text{ M } \beta$ -mercaptoethanol, $50 \mu\text{g } o$ -nitrophenyl- β -galactoside)를 이용하여 확인하였다. 루시페라아제 활성은 β -갈락토시다아제의 활성으로 평준화 하였고, 그 결과를 표 2 및 도 5에 나타내었다.

표 2

추출물 처리 농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ICAM-1 발현 억제 활성		
	실시예 1	비교예 1-1	비교예 1-2
	섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물	섬오갈피 잎 100% 에탄올 추출물	섬오갈피 잎 물 추출물
0	420.54 ± 60.51	405.69 ± 24.67	414.32 ± 34.61
5	285.15 ± 14.22	328.31 ± 18.61	367.24 ± 23.78
10	223.39 ± 25.12	244.65 ± 31.54	318.47 ± 37.92
20	150.55 ± 10.49	184.58 ± 18.42	274.78 ± 20.64

[0064] 표 2를 참고하면, ICAM-1의 발현 억제 활성이 실시예 1의 섬오갈피 잎 50% 에탄올 추출물이 비교예 1-1 및 비교예 1-2의 추출물에 비해 뛰어남을 알 수 있었다. 추가 실험을 통해서 30% 내지 90% 에탄올로 추출한 섬오갈피 잎 추출물의 ICAM-1 발현 억제 활성이 50% 에탄올로 추출한 섬오갈피 잎 추출물과 유사한 활성이 있음을 확인하였다.

[0065] 또한, 도 5를 참고하면, $\text{TNF-}\alpha$ 처리로 인해 증가 된 ICAM-1(도 5A) 및 VCAM-1(도 5B)의 활성이 섬오갈피 추출물의 처리로 인해 농도 의존적으로 감소하고 있음을 알 수 있다.

[0066] <제제예 1. 약학적 제제>

[0067] **제제예 1-1. 정제의 제조**

[0068] 본 발명의 섬오갈피 잎 추출물 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.

[0069] **제제예 1-2. 주사액제의 제조**

[0070] 본 발명의 섬오갈피 잎 추출물 1g, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100ml를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

[0071] **<제제예 2. 식품 제조>**

[0072] **제제예 2-1. 조리용 양념의 제조**

[0073] 본 발명의 실시예 1의 섬오갈피 잎 추출물을 조리용 양념에 1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0074] **제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조**

[0075] 본 발명의 실시예 1의 섬오갈피 잎 추출물을 밀가루에 0.1 중량%로 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0076] **제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조**

[0077] 본 발명의 실시예 1의 섬오갈피 잎 추출물을 스프 및 육즙에 0.1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 수프 및 육즙을 제조하였다.

[0078] **제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조**

[0079] 본 발명의 실시예 1의 섬오갈피 잎 추출물을 우유에 0.1 중량%로 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0080] **제제예 2-5. 야채주스 제조**

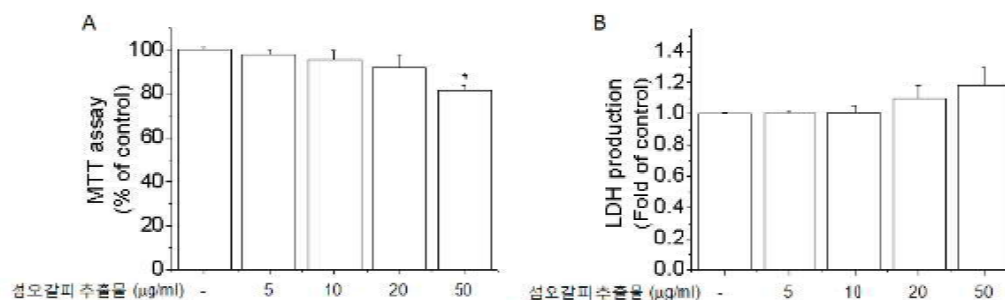
[0081] 본 발명의 실시예 1의 섬오갈피 잎 추출물 0.5g을 토마토주스 또는 당근주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0082] **제제예 2-6. 과일주스 제조**

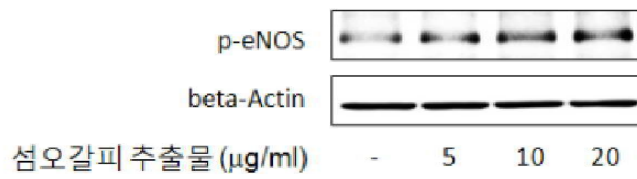
[0083] 본 발명의 실시예 1의 섬오갈피 잎 추출물 0.1g을 사과주스 또는 포도주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

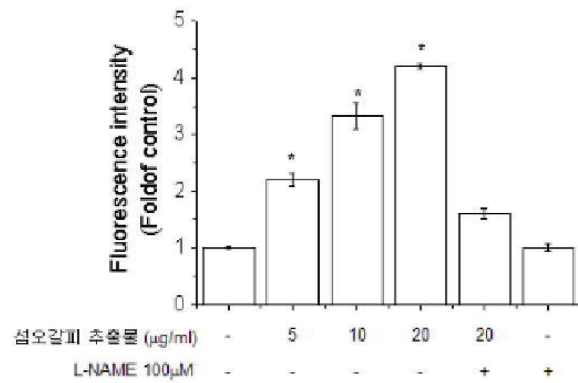
도면1



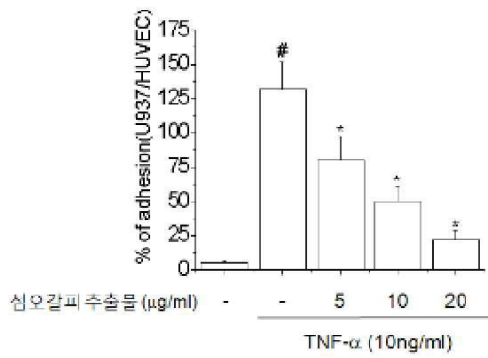
도면2



도면3



도면4



도면5

