(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0095807
(43) 공개일자 2025년06월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23V 2002/00 (2023.08)
(21) 출원번호 10-2023-0185740
(22) 출원일자 2023년12월19일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
제주대학교 산학협력단
제주특별자치도 제주시 제주대학로 102 (아라일동, 제주대학교)
국립부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)
(72) 발명자
전유진
제주특별자치도 제주시 월산남 2길 92번지 아너서클 2동 (해안동)
제준건
제주특별자치도 제주시 신설동길 66 수선화아파트 C동 204호
유보미
부산광역시 남구 유엔로 246, 102동 1105호 (대연동, 대연자이)
(74) 대리인
특허법인충현

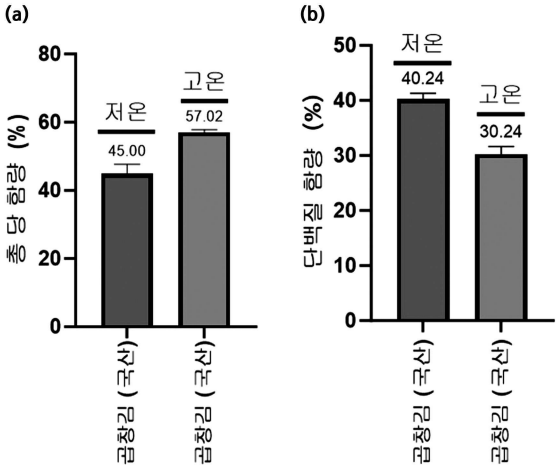
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **김 추출물을 포함하는 혈행 개선용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 김 추출물에 관한 것으로, 이는 근육 약화로 인해 유도된 혈관 확장을 억제함으로써 혈행을 개선하는 현저한 효과를 가지는 바, 혈행 개선을 위한 다양한 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있으며, 부작용을 가지는 합성의약품을 대체하여, 혈행 개선을 위한 식품조성물, 치료용 약학적 조성물로 사용할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23V 2200/30 (2013.01)
A23V 2250/202 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525013763
과제번호	202204882
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	수산식품산업맞춤형기술개발사업
연구과제명	수산물 유래 고시형 건강기능식품 및 기능성표시식품 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	부경대학교산학협력단
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

김 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 김 추출물은 40 내지 60 ℃에서 10 내지 20 시간 추출하여 제조된 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 김 추출물의 용매는 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 김 추출물은 당 함량이 35 내지 45 중량%이고, 단백질 함량은 40 내지 50 중량%인 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 식품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 조성물은 근육 약화 또는 근 감소증에 의한 혈관 확장을 억제하는 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 식품 조성물.

청구항 6

김을 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출하는 단계를 포함하는 혈행 개선용 식품 조성물의 제조방법.

청구항 7

제8항에 있어서,

상기 추출하는 단계는 40 내지 60 ℃에서 10 내지 20 시간 동안 수행되는 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 식품 조성물의 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 혈행 개선용 조성물에 관한 것으로써, 더 상세하게는 김 추출물을 유효성분으로 포함하고 다양한 의약적 용도 또는 건강기능식품 용도를 가지는 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 선진국 뿐만 아니라 노령화로 인하여 노화로 인한 근육량의 감소 뿐만 아니라 근력 또는 근 기능이 모두 감소하게 된다. 이러한 근육의 감소로 인해 당뇨, 비만, 심혈관 질환, 골다공증 등의 대사기능 장애 및 노인성

만성질환의 원인으로 주목받고 있다. 특히 심혈관 질환은 동맥경화증, 뇌출혈, 고혈압, 심장병, 뇌졸중, 뇌경색 등의 순환기 질환을 유발하게 된다.

[0003] 혈행 개선을 위한 의약품 또는 식품 개발은 혈류 개선을 목적으로 한다. 혈류 개선을 위해 혈관 이완, 산화질소 방출을 통한 혈류 개선 및 혈관 확장을 목적으로 하는 것이 혈행 개선을 위한 의약품 또는 식품의 바람직한 연구 개발 방향으로 알려져 있다. 혈행 개선 효과를 가지는 천연 식의약 소재로 인삼 열매 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈전 감소용 약학 조성물이 개시되어 있다.

[0004] 이와 같이 천연물의 효능을 연구하여 부작용이 없고 혈행 개선에 도움이 되는 물질을 개발하기 위해 노력하고 있으나, 아직까지 김에 대한 혈행개선 기능성에 대한 연구는 미미하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 대한민국 공개특허공보 제10-2014-0097097호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명의 목적은 김 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 김을 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출하는 단계를 포함하는 혈행 개선용 식품 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 상기 목적을 이루기 위하여, 김 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 조성물을 제공한다.

[0009] 상기 김 추출물은 40 내지 60 ℃에서 10 내지 20 시간 추출하여 제조된 것일 수 있다.

[0010] 상기 김 추출물의 용매는 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0011] 상기 김 추출물은 당 함량이 35 내지 45 중량%이고, 단백질 함량은 40 내지 50 중량%일 수 있다.

[0012] 상기 조성물은 근육 약화 또는 근 감소증에 의한 혈관 확장을 억제하는 것일 수 있다.

[0013] 본 발명은 상기 다른 목적을 이루기 위하여, 김을 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출하는 단계를 포함하는 혈행 개선용 조성물의 제조방법을 제공한다.

[0014] 상기 추출하는 단계는 40 내지 60 ℃에서 10 내지 20 시간 동안 수행되는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0015] 전술한 바와 같은 본 발명의 김 추출물은, 근육 약화로 인해 유도된 혈관 확장을 억제함으로써 혈행을 개선하는 현저한 효과를 가지는 바, 혈행 개선을 위한 다양한 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있으며, 부작용을 가지는 합성의약품을 대체하여, 혈행 개선을 위한 식품조성물, 치료용 약학적 조성물로 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 실시예 1의 김 물추출물과 실시예 2의 김 열수 추출물의 총 당(a) 및 단백질(b) 함량을 정량적으로 분석하여 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 실시예 1의 김 물추출물과 실시예 2의 김 열수 추출물의 산화질소 생성량(a) 및 세포 생존율(b)을 분석하여 나타낸 그래프이다.

도 3 및 도 4는 근아세포에서 근관세포로의 분화에 실시예 1로부터 제조된 김 물추출물이 미치는 영향을 분석하여 나타낸 결과 그래프이다.

도 5는 각 군(control, Dex/Normal, Dex/Maca3%, Dex/김물추출물1%, 3%, 5%)에 대한 행동분석 결과이고, 도 6은 각 군(control, Dex/Normal, Dex/Maca3%, Dex/김물추출물1%, 3%, 5%)에 대한 H&E 결과이며, 도 7은 각 군(control, Dex/Normal, Dex/Maca3%, Dex/김물추출물1%, 3%, 5%)에 대한 근육세포(myofiber) 횡단면적(cross-sectional area; CSA) 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하에서, 본 발명의 여러 측면 및 다양한 구현예에 대해 더욱 구체적으로 살펴보도록 한다.

[0018] 본 발명의 목적들, 다른 목적들, 특징들 및 이점들은 첨부된 도면과 관련된 이하의 바람직한 실시예들을 통해서 쉽게 이해될 것이다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 실시예들은 개시된 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 그리고 통상의 기술자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이다.

[0019] 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부분품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0020] 본 명세서에 있어서, 범위가 변수에 대해 기재되는 경우, 상기 변수는 상기 범위의 기재된 종료점들을 포함하는 기재된 범위 내의 모든 값들을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 예를 들면, "5 내지 10"의 범위는 5, 6, 7, 8, 9, 및 10의 값들뿐만 아니라 6 내지 10, 7 내지 10, 6 내지 9, 7 내지 9 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 5.5, 6.5, 7.5, 5.5 내지 8.5 및 6.5 내지 9 등과 같은 기재된 범위의 범주에 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다. 또한 예를 들면, "10% 내지 30%"의 범위는 10%, 11%, 12%, 13% 등의 값들과 30%까지를 포함하는 모든 정수들뿐만 아니라 10% 내지 15%, 12% 내지 18%, 20% 내지 30% 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 10.5%, 15.5%, 25.5% 등과 같이 기재된 범위의 범주 내의 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0021] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명한다.

[0022] 본 발명의 일 측면은 김 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 혈행 개선용 조성물에 관한 것이다.

[0023] 본 발명에서 김은 홍조식물 보라털과인 김(*Porphyra*)에 속하는 것이라면 특별히 제한되지 않으며, 바람직하게는 방사무늬김(*Porphyra yezoensis*), 참김(*Porphyra tenera*) 및 잇바디돌김(*Porphyra dentata*)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0024] 본 발명에서 김은 일반적으로 단층세포 혹은 복층세포로 이루어진 엽체로서 조간대의 암반에 주로 서식한다. 그 중에서 방사무늬김(*Porphyra yezoensis*)과 참김(*Porphyra tenera*)은 양식에 의해 우리나라를 비롯하여 일본, 중국 등지에서 대량 생산되고 있다.

[0025] 상기 잇바디돌김은 곱창김이라고도 하며, 조생종으로서 양식초기에 성장하며, 단(중성) 포자가 방출되지 않아 1~2회 채취 후 양식이 종료되어 지속적인 생산이 이루어지지 못해 생산시기 및 생산량의 편중으로 해마다 물김 생산과 가격이 불안정하다. 김 식물체는 검붉은색이며 막질이고 얇은 종이와 같으며 기다란 댕기모양으로 아랫부분은 뭉툭하고 윗부분은 좁아진다. 표면에서 보는 세포는 눈썹 모양인 것과 눈동자 모양인 것이 짝을 이루지만 그 두 세포 사이는 그다지 가깝지 않다. 식물체의 가장자리는 독특하게 경계를 이루며 갸름한 구슬모양의 세포들이 엉성하게 있다. 정자낭은 주로 8개로 나누어진다. 조간대 상부에 자란다.

[0026] 본 명세서에서 "추출물"은 당업계에 공지된 추출 및 분리방법을 사용하여 천연물로부터 추출 및 분리하여 수득한 것이라면 특별히 제한되지 않으며, 예컨대, 추출 원재료에 추출 용매를 이용하여 김에 포함된 성분을 추출한 추출물을 포함하는 것일 수 있다.

[0027] 상기 추출용매는, 특별히 제한되는 것은 아니며, 물, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 의 C_1 내지 C_4의 저급 알코올로 이루어진 군으로부터 선택되는 어

느 하나 이상일 수 있으나, 바람직하게는 물일 수 있다.

[0028] 상기 추출물은 건조된 분말의 형태로 조성물에 포함될 수 있다.

[0029] 본 발명의 김 추출물은 공지의 천연물 추출방법에 의하여 추출될 수 있으나, 바람직하게는 저온 추출물인 것일 수 있으며, 구체적으로 40 내지 60 ℃에서 10 내지 20 시간 추출하여 제조된 것일 수 있다. 상기 추출온도가 60 ℃를 초과하는 경우에는 혈행 개선 효과를 얻을 수 없고, 40 ℃ 미만에서는 김으로부터 유용성분이 충분히 추출되지 못하는 문제가 발생할 수 있다.

[0030] 상기 김 추출물은 당 함량이 35 내지 45 중량%이고, 단백질 함량은 40 내지 50 중량%인 것을 특징으로 한다.

[0031] 본 발명에 따른 조성물은 혈행을 개선하는 효과를 갖는데, 상기 혈행 개선은 여러 가지 다양한 이유로 발생한 근육 약화, 근육 감소로 인해 혈관이 확장되는 것을 억제함으로써, 혈행이 느려지지 않고 일정하게 유지될 수 있도록 하는 것이다.

[0032] 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 혈행과 관련된 혈전질환의 개선, 예방 또는 치료 효과를 얻을 수 있으며, 상기 혈전 질환으로는 동맥경화증, 뇌출혈, 뇌졸증 및 뇌경색으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것이라면 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는 여러 가지 다양한 이유로 발생한 근육 약화, 근육 감소로 인해 유도된 혈전질환일 수 있으며, 이에 한정하지 않는다.

[0033] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 김 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0034] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.

[0035] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0036] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 혈행 개선의 목적으로, 정제,캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본 발명에서 '건강기능성 식품 조성물'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다. 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 김 추출물을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캅셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캅셀제는 통상의 경질 캅셀에 본 발명의 김 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질 캅셀제는 김 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 김 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면

을 코팅할 수도 있다. 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 김 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0037] 본 발명에 따른 상기 조성물은 약학 조성물일 수 있는데, 상기 약학 조성물은 유효성분을 약학적으로 허용된 담체에 혼입시킨 형태로 제조될 수 있다. 여기서, 약학적으로 허용된 담체는 제약 분야에서 통상 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 포함한다. 본 발명의 약학 조성물에 이용할 수 있는 약학적으로 허용된 담체는 이들로 제한되는 것은 아니지만, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0038] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0039] 제제화할 경우에는 통상 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 그러한 고형 제제는 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카르보네이트, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 일반적으로 사용되는 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함된다. 비수용성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유와 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0040] 본 발명에 따른 약학 조성물은 개체에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식이 예상될 수 있는데, 예를 들면 경구, 정맥, 근육, 피하, 복강내 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0041] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여량은 개체의 연령, 체중, 성별, 신체 상태 등을 고려하여 선택된다. 상기 약학 조성물 중 포함되는 김 추출물의 농도는 대상에 따라 다양하게 선택할 수 있음은 자명하며, 바람직하게는 약학 조성물에 0.01 ~ 5,000 ㎍/ml의 농도로 포함되는 것이다. 그 농도가 0.01 ㎍/ml 미만일 경우에는 약학 활성이 나타나지 않을 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명은 김 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈전 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0043] 상기 혈전질환은 근감소로 인해 유도된 혈전 질환일 수 있으며, 구체적으로 동맥 혈전증, 정맥 혈전증, 폐동맥색전증, 만성정맥 허혈, 하지 정맥류, 심부 정맥 혈전증, 동맥경화증, 뇌출혈, 뇌졸중 및 뇌경색으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0044] 상기 약학 조성물은 상술한 추출물을 유효성분으로 포함하는 약학 제제를 포함하기 때문에, 상술한 본 발명의 조성물과 중복된 내용은 중복된 내용의 기재에 의한 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

[0045] 또한, 본 발명은 김 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈전 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0046] 상기 식품 조성물은 상술한 추출물을 유효성분으로 포함하는 식품 제제를 포함하기 때문에, 상술한 본 발명의 조성물과 중복된 내용은 중복된 내용의 기재에 의한 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

[0047] 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.

[0048] **<실시예 1> 김 물추출물 제조**

[0049] 국내산 김을 준비하고, 깨끗한 물로 세척한 후, 자연풍으로 건조하였다. 건조한 김을 기준으로 70 중량부(배)의

정제수를 넣고 50 ℃에서 14 시간동안 추출하였다. 이후, 상기 추출액을 분리하고 Whatman No. 4(25 ㎛)(Whatman International Ltd., Kent, UK) 여과지를 이용하여 감압 여과한 다음 회전식 진공회전농축기(Eyela, Tokyo, Japan)를 사용하여 50~60 ℃에서 감압 농축하였다. 농축된 추출물은 동결건조기를 이용하여 -40 ℃에서 3일간 동결건조 하였다. 동결건조된 추출물은 -20℃에서 저장하여 사용하였다.

[0050] **<실시예 2> 김 열수 추출물 제조**

[0051] 50 ℃ 정제수 대신 100 ℃ 정제수를 사용한 것을 제외하고 실시예 1과 모두 동일하게 하여 수행하였다.

[0052] **<실험예 1> 김 추출물의 성분 분석**

[0053] 실시예 1의 김 물추출물과 실시예 2의 김 열수 추출물의 당 및 단백질 성분 분석을 수행하였다. 당은 황산 페놀법을 이용해 분석하였고, 단백질은 BCA 방법을 통해 분석하였다.

[0054] 먼저, 실시예 1의 김 물추출물 또는 실시예 2의 김 열수추출물을 1 mg/㎖ 농도로 제조하여 시료를 준비하였다. 상기 시료 20 ㎕에 BCA 용액을 180 ㎕ 첨가하여 37 ℃에서 30분 반응시킨 후, microplate reader를 이용해 562 nm에서 흡광도를 측정하여 기록하였다. BCA 표준 용액으로 하여 표준 검량선을 제조한 후, 시료의 흡광도로 단백질 농도를 정량하였다.

[0055] 다음 추출물의 총 당 농도를 정량하기 위하여, 시료 500 ㎕에 80% 페놀 12.5 ㎕ 첨가하고, 황산을 12.5 ㎖ 넣은 다음, 상온에서 30분 반응시킨 후 microplate reader를 이용해 480 nm에서 흡광도를 측정하여 기록하였다. 0.1 mg/㎖ 글루코스 용액을 표준 용액으로 하여 표준 검량선을 제조한 후, 시료의 흡광도로 당 농도를 정량하였다.

[0056] 도 1은 실시예 1의 김 물추출물과 실시예 2의 김 열수 추출물의 총 당(a) 및 단백질(b) 함량을 정량적으로 분석하여 결과를 나타낸 그래프이다.

[0057] 도 1에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 김은 다른 해조류들과 달리 높은 함량의 당과 단백질을 가지고 있는 것을 확인하였다. 김 물/열수 추출물은 각각 40.24%, 30.24%로 높은 함량의 단백질이 검출되었다.

[0058] **<실험예 2> 산화질소 및 세포독성 분석**

[0059] 실시예 1의 김 물추출물과 실시예 2의 김 열수 추출물의 산화질소와 세포독성을 수행하였다. 당은 황산 페놀법을 이용해 분석하였다.

[0060] 먼저, 산화질소는 griess 시약을 이용해 각 세포의 NO 생성에 미치는 영향을 분석하였다. 구체적으로 혈관내피세포(EA.hy926 cell)를 96 웰 플레이트에 1.5×10^4 cells/well로 분주하고 24시간 뒤에 FBS 없는 배지로 교체하고 1시간 배양하였다. 각 웰에 다양한 농도(10, 50, 100, 150 ㎍/㎖)의 추출물을 각각 처리하고 24 시간 배양하였다. 상기 각 웰로부터 상층액 50 ㎕를 수득한 후, 새로운 96 웰 플레이트로 옮겼다. 각 세포 상층액에 griess 시약을 첨가하고, 이소프로판올로 버블을 제거한 다음 microplate reader를 이용해 590 nm에서 흡광도를 측정하였다. 질산을 표준물질로 하여 검량선을 제조하였으며, 각 추출물의 흡광도를 검량선에 대입하여 농도를 정량하였다. 대조군(NT)으로 아무것도 첨가하지 않은 세포를 사용하였다.

[0061] 다음, 세포 독성을 MTT 분석법으로 분석하였다. 구체적으로 96 웰 플레이트에 혈관내피세포(EA.hy926 cell)를 각 웰에 1.5×10^4 cells/well로 분주하고 24시간 뒤에 FBS 없는 배지로 교체하고 1 시간 배양하였다. 각 웰에 다양한 농도(10, 50, 100, 150 ㎍/㎖)의 추출물을 처리하고 24 시간 배양하였다. 각 웰에 2 mg/㎖농도의 MTT 시약을 10 ㎕ 첨가하고, 37 ℃에서 1시간 반응시킨 다음 DMSO를 100 ㎕ 첨가하고 차광하여 15~30분 교반한 후 microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군(NT)으로 아무것도 첨가하지 않은 세포를 사용하였다.

[0062] 도 2는 실시예 1의 김 물추출물과 실시예 2의 김 열수 추출물의 산화질소 생성량(a) 및 세포 생존율(b)을 분석하여 나타낸 그래프이다.

[0063] 도 2에 나타난 바와 같이 혈관내피세포(EA.hy926 cell)에 실시예 1로부터 제조된 김 물추출물과 실시예 2로부터 제조된 김 열수 추출물을 처리한 결과, 실시예 1의 김 물추출물은 모든 농도에서 세포 독성이 나타나지 않았다.

[0064] 나아가 실시예 1로부터 제조된 김 물추출물은 실시예 2의 김 열수 추출물과 달리 농도 의존적으로 산화질소 생성을 촉진하는 것을 확인하였다. 즉 본 실험을 통해 본원발명의 김 물추출물(실시예 1)이 혈관내피세포 내에서 NO의 생성을 유도한다는 것을 확인할 수 있다. 산화질소는 일반적으로 특정 효소들에 의해 합성되며, 혈관 내에서 혈액 순환이나 혈압을 조절하는 데에 기여한다. 산화질소의 생성이 촉진되면, 혈관이 확장되어 혈액의 흐름

이 증가하고, 이는 일반적으로 혈압을 감소시켜 혈행을 개선할 수 있음을 의미한다.

[0065] **<실험예 3> *in vitro* 혈행 개선 효과**

[0066] 실시예 1의 김 추출물에 대한 혈행 개선 효과를 확인하기 위하여 근관 직경에 대한 영향을 분석하였다.

[0067] 먼저 96 웰 플레이트에서 48 웰에 C2C12 근아세포를 1 × 10^4 cells/well로 분주하고 48시간 배양한 후, Confluence가 100%에 도달하면 2% 말 혈청을 첨가한 DMEM 배지로 교체하여 근아세포를 근관 세포로 분화시켰다. 48시간마다 배지를 교체해주면서 37 ℃의 5% CO_2 배양기에서 배양하였다.

[0068] 정상군은 배지를 넣을때 아무것도 처리하지 않고 정상적으로 배양한 세포이고, 대조군(control)은 배지를 넣을 때 배지에 덱사메타손(dexamethasone 4 ㎍/㎖) 100 ㎕를 함께 첨가한 것이며, 양성 대조군(positive)는 배지를 넣어 줄 때, 덱사메타손과 함께 실시예 2와 동일하게 제조한 마카 열수 추출물 100 ㎍/㎖를 100 ㎕ 첨가한 것이다. 또한 실험군 같은 경우는 배지를 넣어줄 때, 덱사메타손에 추가로 실시예 1의 김 추출물을 30, 100, 300 ㎍/㎖의 농도로 넣어준 것이다.

[0069] 상기 세포가 배양된 웰에 배지를 제거하고, 20초간 메탄올로 세포를 고정하였다. PBS로 5분씩 3번 세척한 다음 5% BSA를 첨가한 PBS/0.2% Tween 20으로 1시간 동안 Blocking 진행하였다. 그 후 1:500으로 희석한 1차 항체인 Myosin heavy chain으로 1시간 동안 반응시키고 PBS로 5분씩 3번 Washing하고 2차 항체인 AlexaFlour 488을 1:1000으로 희석하여 1시간 동안 암실에 보관하였다. PBS로 5분씩 3번 Washing하고 3분간 DAPI로 핵을 염색 하였다. PBS로 5분씩 3번 Washing하고 BioTek Cytation 5 Cell Imaging Multimode Reader를 이용해 20X로 촬영하였다. 촬영한 세포 이미지는 Myotube Analyzer를 통해 분석하였다.

[0070] 도 3 및 도 4는 근아세포에서 근관세포로의 분화에 실시예 1로부터 제조된 김 물추출물이 미치는 영향을 분석하여 나타낸 결과 그래프로, 이에 따르면 실시예 1의 김 추출물은 양성 대조군인 마카 열수 추출물과 유사한 수준으로 근관세포의 직경을 증가시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0071] 구체적으로 덱사메타손이 처리되지 않은 정상군은 근아세포가 근관세포로 유의미하게 분화되었으나, 대조군에서는 크게 감소하는 것을 확인할 수 있다. 반면 실시예 1의 김 추출물이 처리되면, 덱사메타손에 의해 근육이 약해지는 것을 억제하여 근관세포의 직경이 유의미하게 증가하였다.

[0072] 근감소증은 근육이 적어지고 약해지면서 근육의 펌프작용에 의해 진행되던 혈액순환이 나빠지게되고, 그 결과 심혈관계 대사질환 등에 영향을 미쳐 심장이나 혈관계 장애의 원인이 된다. 상술한 실험에 따르면 본 발명의 김 추출물은 근육 감소를 억제하고 이로 인한 혈액 순환 문제를 개선하는 효과를 갖는다.

[0073] **<실험예 4> *in vivo* 혈행 개선 효과**

[0074] 실시예 1로부터 제조된 김 물추출물의 혈행 개선 효과를 위해 제브라피쉬를 이용해 다음과 같이 수행하였다.

[0075] 제브라피쉬(Zebrafish)(Green Fish, 서울, 한국)를 준비하고, 14시간:10시간의 명/암 주기와 일정한 수온(28.5 ± 1° C)으로 유지, 하루에 두 번 Artemia(Grovita, China) 공급하여 사육하였다. 1주일 적응 후 실험에 사용하였다.

[0076] 상기 준비된 제브라피시(n=60)를 무작위로 6개 군으로 나누었으며, 각 군은 다음과 같이 처치하였다.

[0077] Control: 아무것도 처리하지 않은 정상군.

[0078] Dex/Normal: 3일동안 아무것도 처리하지 않은 후, 7일 동안 0.01% 덱사메타손이 포함된 수조에 하루 1시간 넣음.

[0079] Dex/Maca 3%: 3일동안 3% 마카 열수 추출물을 포함하는 사료를 식이시킨 후, 7일 동안 0.01% 덱사메타손이 포함된 수조에 하루 1시간 넣음.

[0080] Dex/김물추출물 1%: 3일동안 1% 실시예 1의 김 물추출물을 포함하는 사료를 식이시킨 후, 7일 동안 0.01% 덱사메타손이 포함된 수조에 하루 1시간 넣음.

[0081] Dex/김물추출물 3%: 3일동안 3% 실시예 1의 김 물추출물을 포함하는 사료를 식이시킨 후, 7일 동안 0.01% 덱사메타손이 포함된 수조에 하루 1시간 넣음.

[0082] Dex/김물추출물 5%: 3일동안 5% 실시예 1의 김 물추출물을 포함하는 사료를 식이시킨 후, 7일 동안 0.01% 덱사

메타손이 포함된 수조에 하루 1시간 넣음.

[0083] 각 군의 제브라피쉬를 1.5 L 수조에 30분간 적응시키고, 비디오 카메라(Zoom Q2N-4K, Japan)를 사용하여 측면에서 영상을 10분간 촬영하였다. 이후 영상으로부터 개별 수영패턴, 활동시간(분), 이동거리(cm)를 분석하였고, 이동 거리는 프레임별로 계산하였다. 모든 비디오는 비디오 추적 소프트웨어 EthoVision XT를 사용하였다.

[0084] 다음 상기 각군으로부터 제브라피쉬의 근육 조직을 분리한 후, 4% 파라 포름알데히드 용액에 24시간 동안 고정시켜 알코올 용액으로 옮겨 탈수하고 파라핀에 포장하여 파라핀 블록을 7 μm의 두께로 컷팅하였다. 30분씩 2번 간 크실렌에서 건조시켜 농도별 EtOH(100%, 95%, 90%, 80%, 70%) 용액에 배양한 다음 재수화를 위해 DW에 보관하였다. 슬라이드를 3분 동안 헤마톡실린으로 염색하고, DW로 3회 세척하고, 1분 동안 에오신으로 염색하였다. 이미지 촬영 후 Image J 소프트웨어(Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)를 이용하여 분석을 진행하였다.

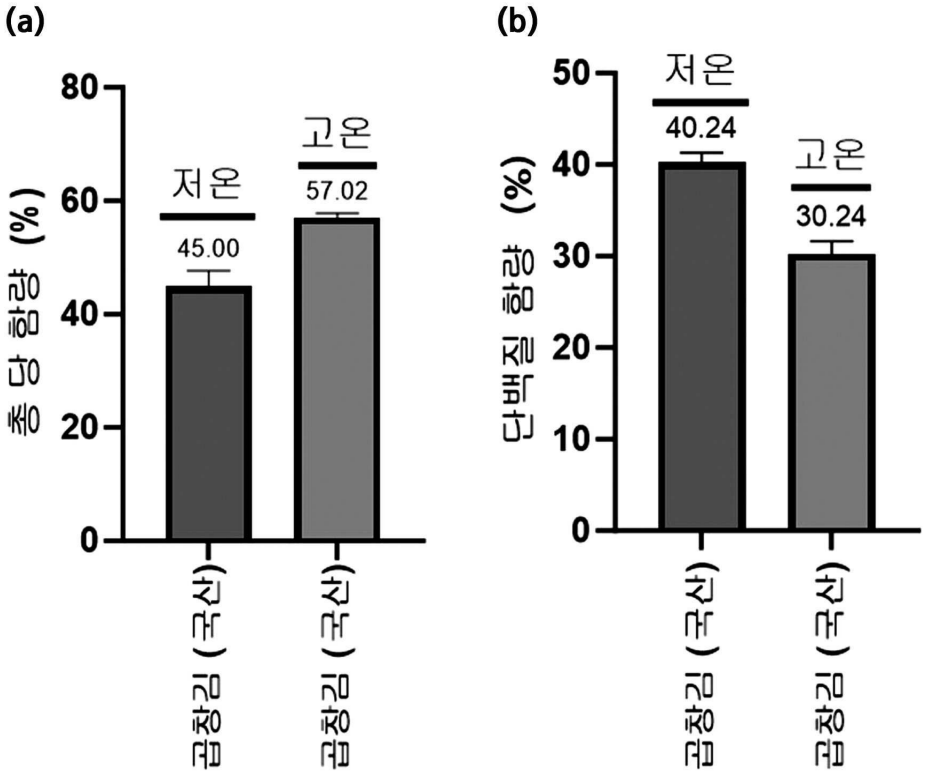
[0085] 도 5는 각 군(control, Dex/Normal, Dex/Maca3%, Dex/김물추출물1%, 3%, 5%)에 대한 행동분석 결과이고, 도 6은 각 군(control, Dex/Normal, Dex/Maca3%, Dex/김물추출물1%, 3%, 5%)에 대한 H&E 결과이며, 도 7은 각 군(control, Dex/Normal, Dex/Maca3%, Dex/김물추출물1%, 3%, 5%)에 대한 근육세포(myofiber) 횡단면적(cross-sectional area; CSA) 그래프이다.

[0086] 도 5 내지 도 7에 따르면, 실시예 1로부터 제조된 김 물추출물을 처치한 3군(Dex/김물추출물1%, 3%, 5%)은 모두 제브라피쉬의 총 움직인 거리(Distance moved), 속도(Velocity), 수조 상부 방문 빈도수(Top Frequency)가 유의적으로 증가하여 근감소로 인해 감소한 운동 수행 능력을 증가시키는 것을 확인할 수 있다.

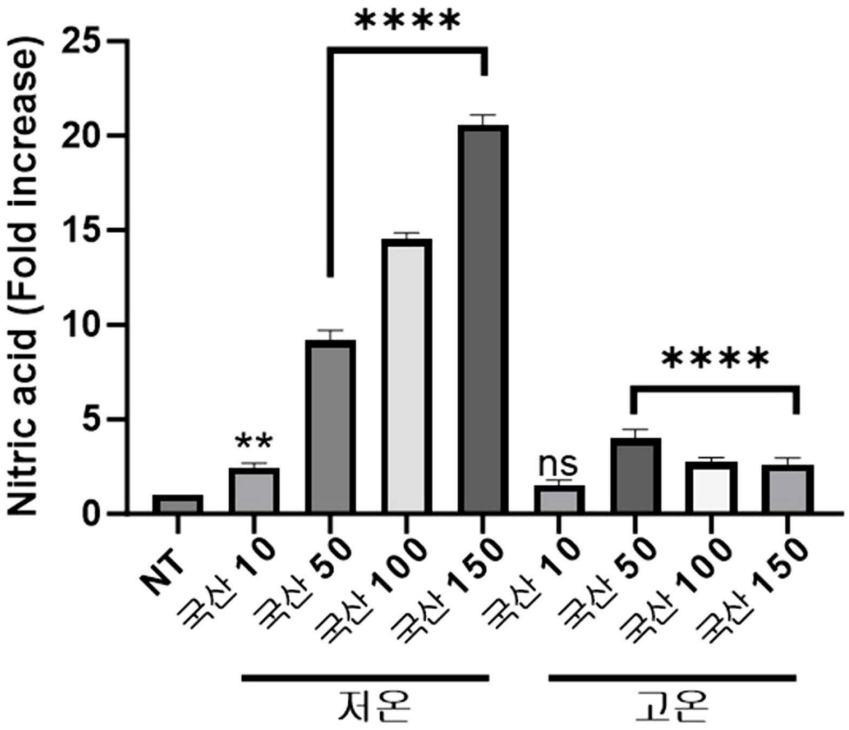
[0087] 도 6 및 도 7에 나타난 바와 같이, 실시예 1로부터 제조된 김 물추출물이 덱사메타손에 의해 유발된 근육 위축을 정상세포 수준으로 회복시키는 것을 확인하였다. 이를 통해 본 발명에 따른 김 물추출물은 근육 위축에 의한 근육 보호 효과를 가지며, 근육 위축으로 유도되는 혈관 확장에 의해 약화된 혈행을 개선하는 것으로 확인되었다.

도면

도면1

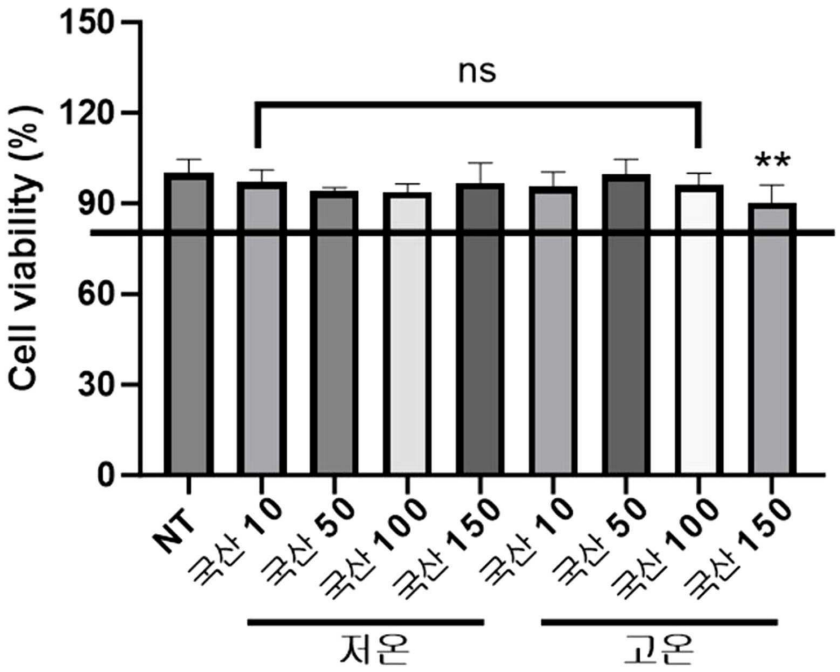


도면2a



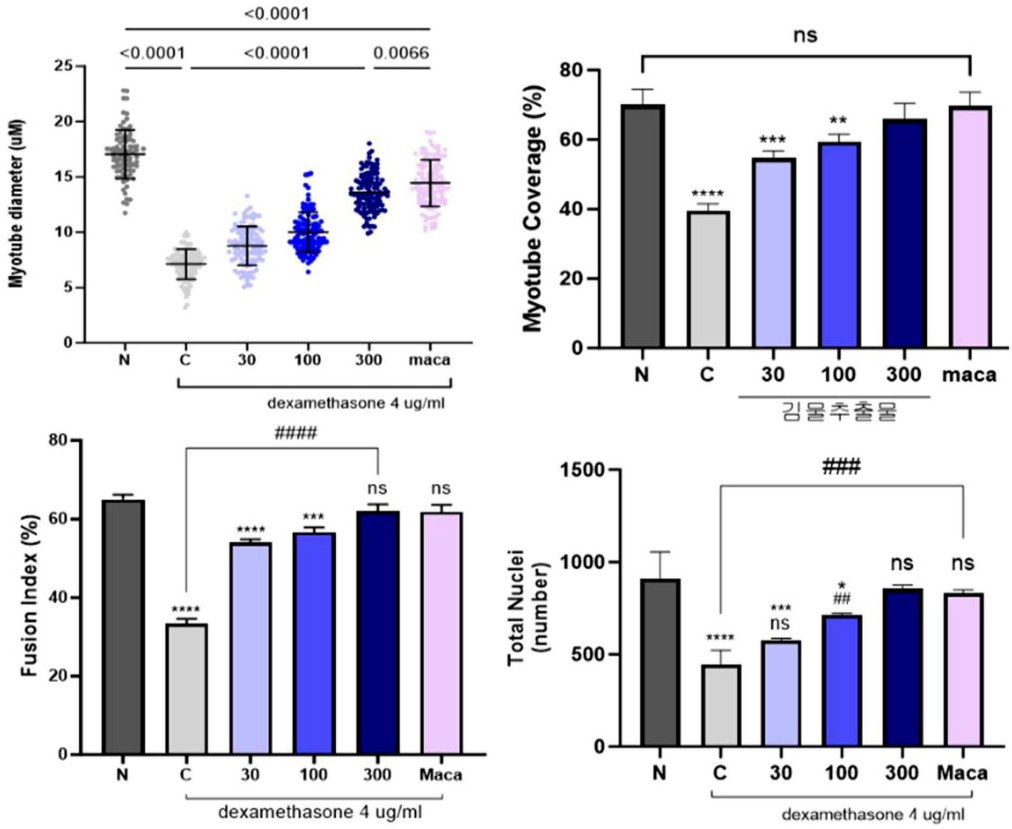
; P< 0.01, **; P< 0.0001, ns; not significant, Compared to NT

도면2b

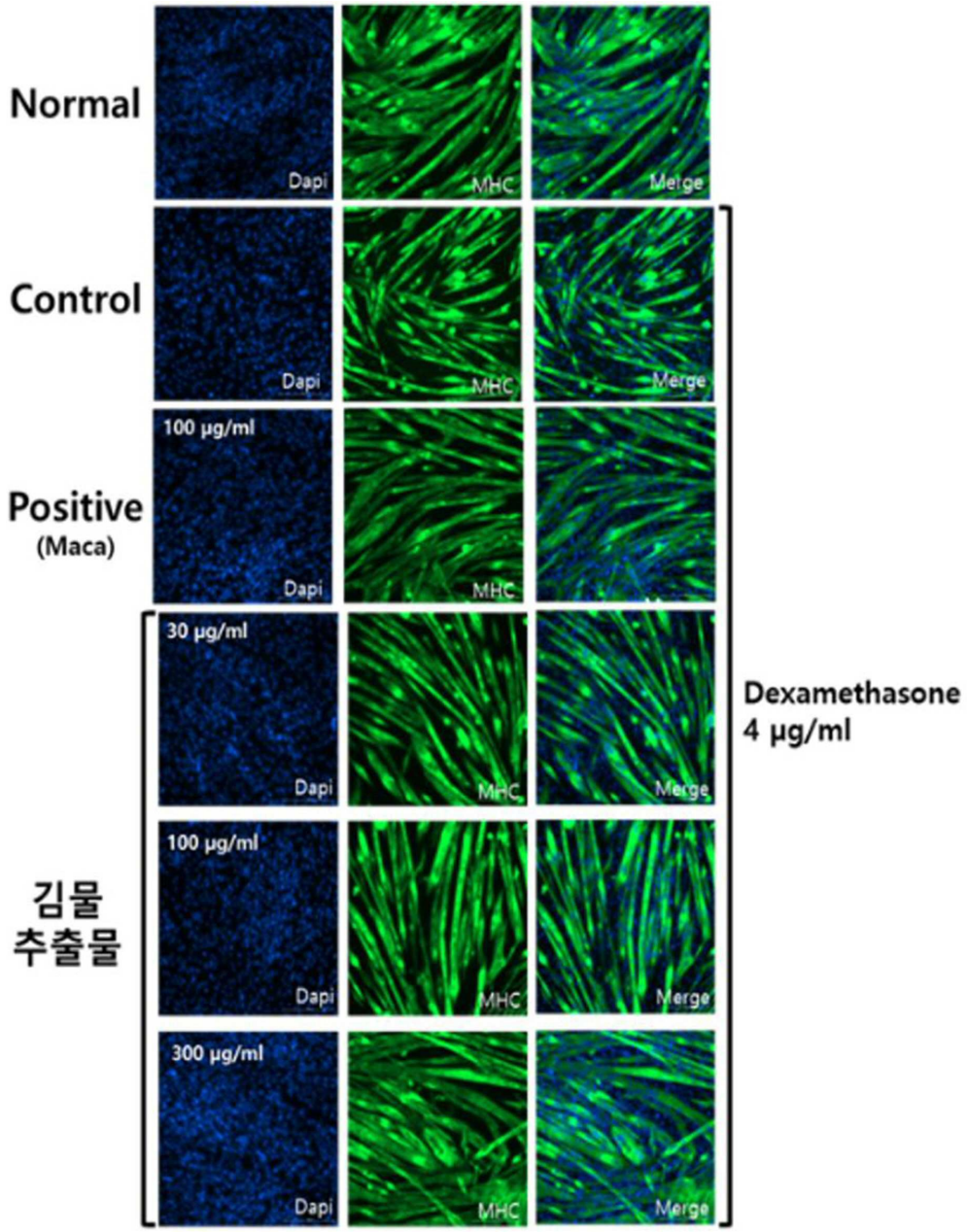


**; P< 0.01, ns; not significant, Compared to NT

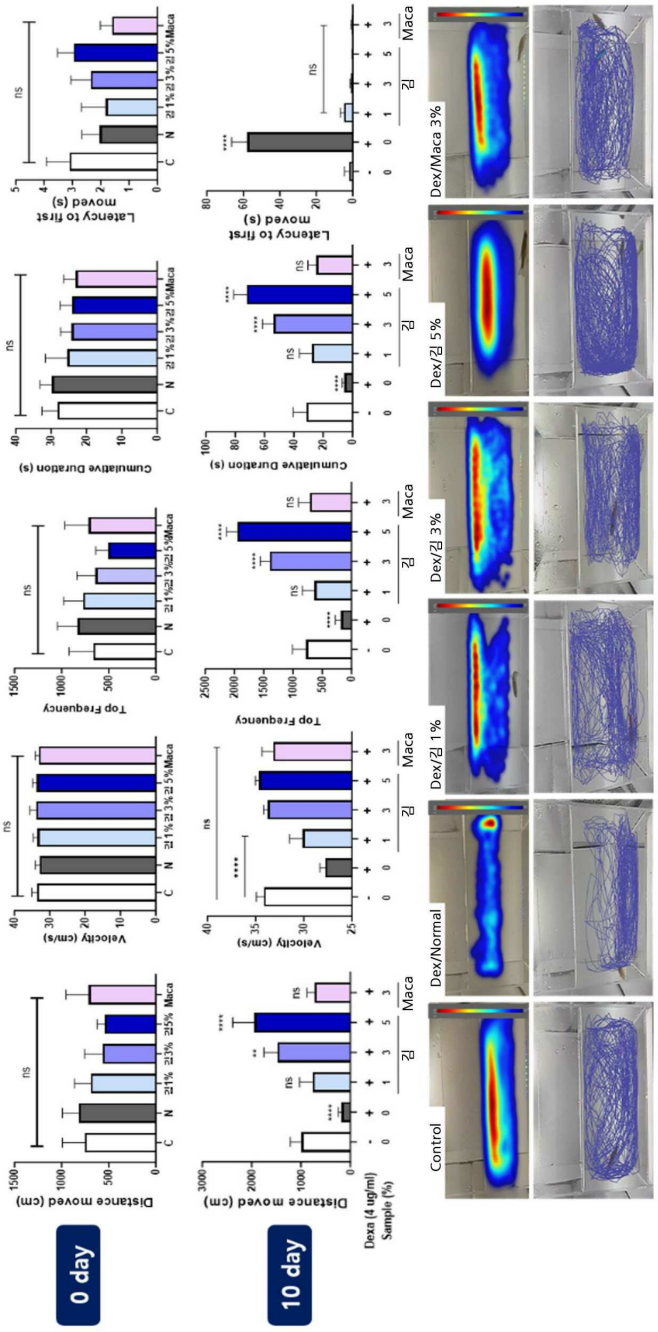
도면3


<0.0001
<0.0001
<0.0001
0.0066
Myotube diameter (uM)
N
C
30
100
300
maca
dexamethasone 4 ug/ml
ns
Myotube Coverage (%)
김물추출물
####
Fusion Index (%)
Maca
###
Total Nuclei (number)

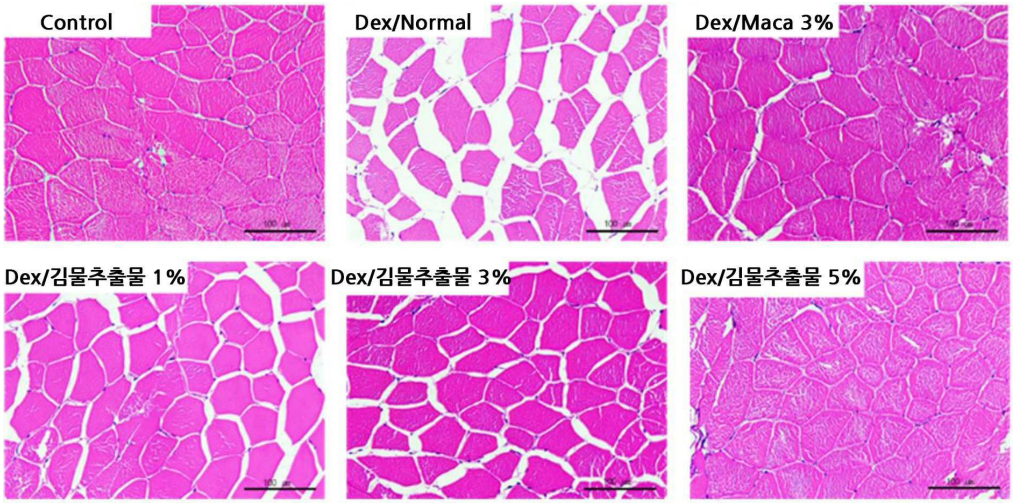
도면4


Normal
Control
Positive
(Maca)
김물
추출물
100 μg/ml
30 μg/ml
100 μg/ml
300 μg/ml
Dapi
MHC
Merge
Dexamethasone
4 μg/ml

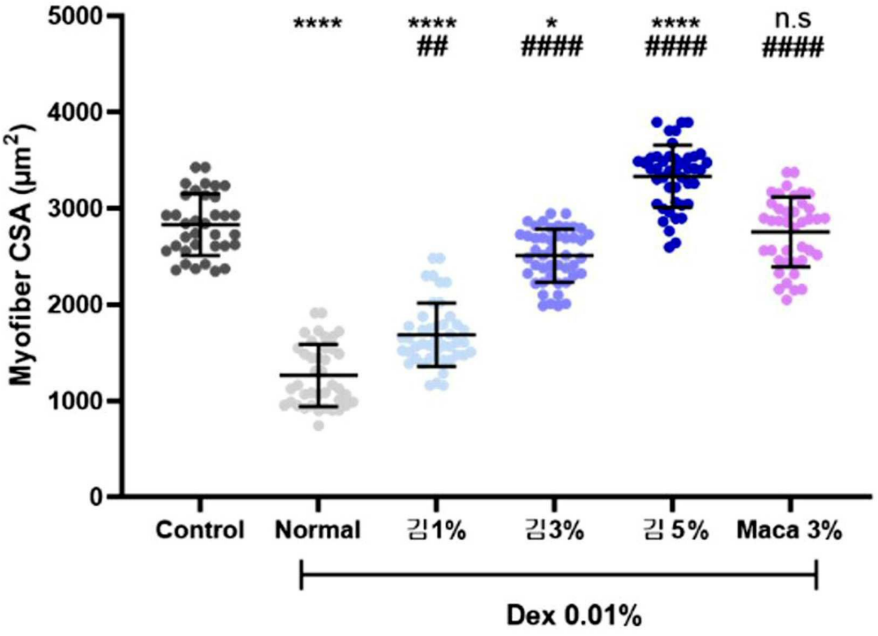
도면5


0 day
10 day
Distance moved (cm)
Velocity (cm/s)
Top Frequency
Cumulative Duration (s)
Latency to first moved (s)
Dexa (4 ug/ml)
Sample (%)
Maca
Control
Dex/Normal
Dex/감 1%
Dex/감 3%
Dex/감 5%
Dex/Maca 3%

도면6


Control
Dex/Normal
Dex/Maca 3%
Dex/김물추출물 1%
Dex/김물추출물 3%
Dex/김물추출물 5%

도면7


Myofiber CSA (μm²)
5000
4000
3000
2000
1000
0
****
****
##
*
####
****
####
n.s
####
Control
Normal
김1%
김3%
김 5%
Maca 3%
Dex 0.01%