



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0010961
(43) 공개일자 2018년01월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/79 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

A61K 36/46 (2006.01) A61K 36/815 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/79 (2013.01)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2017-0048023

(22) 출원일자 2017년04월13일

심사청구일자 2017년04월13일

(30) 우선권주장

1020160092509 2016년07월21일 대한민국(KR)

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

함대현

경기도 용인시 수지구 상현로 30-10, 231동 502호 (상현동, 상현마을성원상떼빌아파트)

양응모

서울특별시 성동구 성수일로4길 26, 102동 1703호 (성수동2가, 서울숲힐스테이트아파트)

조성국

서울특별시 중랑구 신내로7나길 24, 213동 1404호 (상봉동, 건영2차아파트)

(74) 대리인

안소영

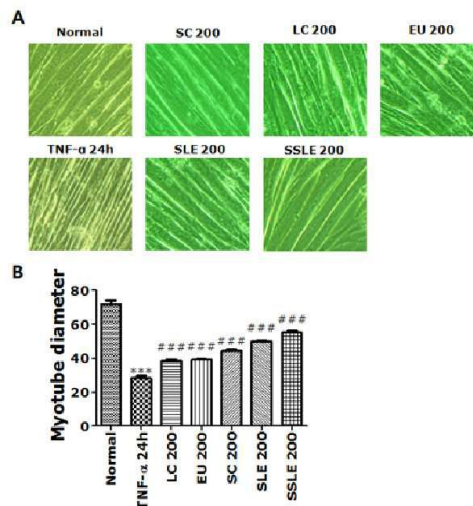
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 복합 추출물을 포함하는 근위축의 예방, 치료 또는 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및, 근위축의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 대한 것이다. 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 근위축 증상의 억제 및 완화에 효과가 있다. 또한, 본 발명의 복합 추출물은 오미자 단일 추출물, 구기자 단일 추출물 및 두충 단일 추출물과 비교하여 현저한 시너지 효과가 발생한다. 따라서 본 발명의 조성물은 근위축의 예방, 치료 및 개선에 보다 효과적으로 활용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 36/46 (2013.01)

A61K 36/815 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/316 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ011668

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 국책기술개발-핵심전략기술개발사업

연구과제명 오미자 복합추출물의 근골 개선 효과 규명

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2015.04.01 ~ 2016.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올을 추출용매로 하여 추출된 것인 근위축의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 오미자 추출물, 구기자 추출물 및 두충 추출물의 혼합 비율이 1 : 0.2~1.5 : 0.2~1.5인 근위축의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 근위축은 불용성 근위축, 기계적 자극 부재에 의한 근위축, 골격근의 탈 신경지배에 의한 근위축 또는 이들의 혼합 중 어느 하나에 의한 것인 근위축의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 오미자 추출물, 구기자 추출물 및 두충 추출물의 혼합 비율이 1 : 0.2~1.5 : 0.2~1.5인 근위축의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 대한 것이다.

배경 기술

[0003] 근위축(muscle atrophy)은 노화, 중증질환, 신경손상 등으로 인해 오랫동안 움직일 수 없는 상태에 처하거나, 영양공급장애로 인해 발생하는 근육세포와 근조직의 크기 및 질량적 손실을 의미한다. 근위축은 대부분의 경우에 근력약화를 동반한다. 특히 초고령화 사회로 들어가고 있는 한국사회에서 노인성 근육감소증(sarcopenia)은 늘어가는 고령층의 삶의 질 개선의지와 웰빙을 추구하는 사회분위기를 타고 큰 주목을 받고 있다.

[0004] 근위축의 병인기전은 아직까지 명확히 규명되지 않았으며 현재까지 근위축 발병의 주 원인으로 제기된 것으로는 산화물질 증가에 의한 근세포 손상, 스트레스 단백질 발현 감소로 인한 근단백질 생성 및 재생 감소, 프로테아좀-유비퀴틴 활성화에 따른 근단백질 분해 촉진 등을 들 수 있다.

[0005] 현재 영양공급과 운동요법 이외에 근위축 질병을 치료하거나 개선할 수 있는 뚜렷한 치료제로 시장에 출시된 약물은 전무한 상태이다. 주요 치료방법으로 저항성 운동(resistance exercise)이 있으나 그마저도 거동이 불편한 중증환자, 노인, 장애인 등에게는 적용하기 어려울 때가 많다.

[0006] 이와 같이 근위축 환자들을 위한 효과적인 치료제가 아직까지 개발되지 않은 상황에서, 전통의학 치료정보에 기반하여 근위축을 예방 또는 치료하고 근력을 개선할 수 있는 천연약용식물의 발굴은 매우 큰 의미가 있다고 여

겨진다.

- [0008] 한편, 오미자는 오미자나무의 열매로 지름 약 1cm의 짙은 붉은 빛깔이다. 오미자에는 시잔드린·고미신·시트럴·사과산·시트르산 등의 성분이 들어 있어 심장을 강하게 하고 혈압을 내리며 면역력을 높여 주어 강장제로 쓰인다. 또한, 폐 기능을 강하게 하고 진해·거담 작용이 있어서 기침이나 갈증 등을 치료하는 데 도움이 된다.
- [0009] 구기자는 구기자나무의 열매로, 냄새가 거의 없고 수렴성이며 약성은 약간 달고 차다. 구기자는 어지럽고 허리와 무릎에 힘이 없으며 남자가 유정(遺精)하고, 임신을 못 시킬 때 사용한다. 또한, 음혈이 허약해져 얼굴이 누렇게 머리털이 희어지며 잠을 못 이룰 때나 소갈증에 효과가 있다. 폐기 허약으로 인한 오랜 해수에도 사용한다.
- [0010] 두충은 두충나무의 나무껍질로, 맛이 달고 매우며, 성질이 따듯하다. 구기자는 간신기능 부족으로 인한 요통, 무릎통, 몸이 차서 생기는 양위, 하복냉감, 소변 자주 보는 증, 태동불안, 자궁출혈 등을 치료하며 혈압강화 효과가 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0012] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 10-0793204
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 10-2009-0128957

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0013] 본 발명의 목적은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 다른 목적은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 본 발명자들은 근위축 질환에 효과가 있는 천연물에 대하여 연구하던 중, 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물이 근위축의 예방 또는 치료에 효과가 있는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

약학적 조성물

- [0019] 본 발명은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0020] 본 발명에서 오미자는 *Schisandra chinensis*의 열매를 의미한다.
- [0021] 본 발명에서 구기자는 *Lycium chinensis*, *Lycium barbarum* 또는 이의 동속 식물의 열매를 의미한다.
- [0022] 본 발명에서 두충은 *Eucommia ulmoides*의 나무껍질을 의미하며, 바람직하게는 *Eucommia ulmoides*의 나무껍질을 말린 것을 의미한다.
- [0023] 본 발명에서 오미자, 구기자 및 두충은 자연 상태 그대로인 것뿐만 아니라, 반건조, 건조, 발효 등의 가공된 것을 포함한다.

- [0024] 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 오미자, 구기자 및 두충 각각을 단독 추출한 후 혼합한 것, 오미자, 구기자 및 두충 중 2 이상을 조합하여 추출한 후 혼합한 것, 또는 오미자, 구기자 및 두충을 모두 혼합한 후 추출한 것일 수 있다.
- [0025] 본 발명에서 추출물은 천연물로부터 분리된 활성 성분 즉, 목적하는 활성을 보이는 물질을 의미한다. 상기 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매를 이용하는 추출과정으로 획득할 수 있으며, 추출액, 이의 건조 분말 또는 이를 이용하여 제형화된 모든 형태를 포함한다. 또한, 상기 추출물에는 상기 추출과정을 거친 추출액을 분획한 것도 포함된다.
- [0026] 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 천연물 추출물의 통상의 일반적 제조방법을 사용하여 제조될 수 있으며, 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 초음파 추출법, 환류 추출법, 열수 추출법 또는 유기용매를 사용하여 공지의 방법에 의해 제조하는 방법일 수 있으며, 바람직하게는 환류 추출법일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 물, 알코올, 글리세린, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 메틸아세테이트, 에틸아세테이트, 아세톤, 벤젠, 헥산, 디에틸에테르 및 디클로로메탄으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 추출용매로 추출된 것일 수 있으며, 바람직하게는 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 저급 알코올, 더 바람직하게는 에탄올을 추출 용매로 하여 추출된 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 추출 시간은 1 내지 48 시간, 바람직하게는 12 내지 36 시간 일 수 있다.
- [0029] 상기 추출과정을 거친 추출액은 이후, 헥산, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 에틸아세테이트, 클로로포름 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 용매로 분획과정을 더욱 실시할 수 있다. 상기 분획 시 용매는 2종 이상 개별적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하여 각 용매의 분획물을 제조할 수 있다.
- [0030] 또한, 상기 추출과정을 거친 추출액 또는 이를 분획한 분획물은 이후, 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매가 제거될 수 있으며, 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있으며, 상기 농축은 감압 농축기, 예를 들어, 회전 증발기를 이용하여 감압 농축할 수 있고, 상기 건조는 예를 들어, 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조법으로 수행할 수 있다. 상기 건조된 추출물은 분말형태로 사용하거나 분말을 증류수 또는 통상의 용매에 녹여 사용할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 추출물은 상기 용매로 추출한 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silicagel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 오미자 추출물, 구기자 추출물 및 두충 추출물, 또는 오미자, 구기자 및 두충이 1 : 0.2~1.5 : 0.2~1.5, 바람직하게는 1 : 0.3~1.2 : 0.3~1.2의 중량비로 혼합된 것일 수 있다.
- [0033] 본 발명에서 유효성분은 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나, 그 자체는 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.
- [0034] 본 발명에서 근위축은 근섬유 내지 근조직의 손실, 근조직 부피의 감소, 근섬유 유형의 변환, 또는 근육을 지배하는 신경의 손상을 의미한다. 상기 근위축은 불용성 근위축, 기계적 자극 부재에 의한 근위축, 골격근의 탈 신경 지배에 의한 근위축 등일 수 있으며, 예를 들어, 중증 근무력증(myasthenia gravis), 근이영양증(dystrophy), 척수성 근위축(spinal muscular amyotrophy), 근위축성 측삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis), 척수근위축(spino-bulbar muscular atrophy), 노인성 근감소증(sarcopenia) 등을 들 수 있다.
- [0035] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 불용성(disuse) 근위축을 유발한 랫트에서 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 효과를 확인하였다. 그 결과, 본 발명의 복합 추출물은 근위축 유발 랫트의 근력, 근육 무게, 및 근섬유 단면적의 감소를 현저하게 완화시켰다.
- [0036] 또한, 본 발명의 구체적인 다른 실시예에서, TNF- α 에 의해 근위축이 유도된 C2C12 근세포에 대한 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 생체외 효과를 확인하였다. 그 결과, 본 발명의 복합 추출물은 근위축에 의한 근관(myotube)의 직경 감소를 현저하게 완화시켰다. 또한, 오미자 단일 추출물(SC), 구기자 단일 추출물(LC) 및 두충 단일 추출물(EU)을 투여한 경우와 비교하여, 이들의 복합 추출물의 투여시 시너지 효과가 발생함

을 확인하였다.

- [0037] 또한, 본 발명의 구체적인 또다른 실시예에서, TNF- α 에 의해 근위축이 유도된 C2C12 근세포에 대한 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 세포내 효과를 확인하였다. 그 결과, 본 발명의 복합 추출물은 근세포 단백질 소실과 관련된 바이오마커인 MAFbx/atrogen-1과 muscle RING-finger protein 1(MuRF-1)단백질, 근원세포(myoblast)의 분화 유도 바이오마커인 myoD와 myogenin 단백질, 그리고 근세포 단백질 합성의 신호전달 바이오마커인 Akt/mTOR 발현을 특징적으로 변화시켰다. 또한, 오미자 단일 추출물(SC), 구기자 단일 추출물(LC) 및 두충 단일 추출물(EU)을 투여한 경우와 비교하여, 이들의 복합 추출물의 투여시 시너지 효과가 발생함을 확인하였다.
- [0038] 따라서 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 근위축의 예방 또는 치료에 유용하게 활용될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 약학적 조성물은 투여를 위해 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물 외에 약제학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 더 포함할 수 있다. 상기 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 해치지 않는 범위 안에서 약제학적으로 허용 가능한 희석제, 결합제, 봉해제, 운환제, pH 조절제, 산화방지제, 정균제, 용해보조제 등의 통상의 첨가제를 더 포함할 수 있다.
- [0041] 또한 상기 담체 및 첨가제를 부가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제 등으로 제제화할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 패치제, 액제, 환약, 캡슐, 과립, 정제, 좌제 등이 될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 통상의 기술자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서 본 발명의 추출물은 1일 0.1 내지 2,000 mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 다만, 상기 투여량의 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명의 조성물은 근위축의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용될 수 있다.
- [0045] **식품 조성물**
- [0046] 본 발명은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하는 근위축의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0047] 상기 오미자, 구기자, 두충 및 이들의 복합 추출물은 앞서 기재한 바와 같다.
- [0048] 본 발명의 오미자, 구기자, 두충 및 이들의 복합 추출물은 근위축의 억제 및 완화에 효과가 있으므로, 상기 식품 조성물은 근위축의 예방 또는 개선에 유용하게 활용될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 식품 조성물은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 식품 조성물은 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 유효성분으로 포함하며, 유효성분의 함량은 사용 목적(예방, 개선 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 식품의 총중량에 대하여 0.0001 내지 100 중량%로 첨가할 수 있다.
- [0051] 본 발명에 있어서, 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다. 본 발명이 적용될 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 음료, 껌, 비타민 복합제, 드링크제 등이 있다.
- [0052] 본 발명의 식품 조성물이 음료 형태인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올을 들 수 있다. 또한, 상술한 것 이외의 향미

제(사카린, 아스파르탐 등)을 사용할 수 있다.

[0053] 본 발명의 식품 조성물은 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.

발명의 효과

[0055] 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물은 근위축에 의한 근섬유의 직경 감소, 근력 감소, 근육 중량 감소, 근섬유세포 크기 감소 및 큰 크기의 type2 유형 근섬유세포 감소의 억제 및 완화, 근세포 단백질 분해 바이오마커 발현의 억제, 근원세포(myoblast)의 분화 유도 바이오마커 단백질의 발현 증가, 근세포 단백질 합성 신호전달 경로의 활성화 등에 효과가 있다.

[0056] 따라서 근위축의 예방, 치료 또는 개선에 유용하게 활용될 수 있다

[0057] 또한, 본 발명의 복합 추출물은 오미자 단일 추출물(SC), 구기자 단일 추출물(LC) 및 두충 단일 추출물(EU)과 비교하여 현저한 시너지 효과가 발생하므로, 근위축의 예방, 치료 및 개선에 보다 효과적으로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0059] 도 1은 실시예 1-1에서 수행한 근원세포(myoblast)의 분화 과정을 나타낸 것으로, a는 세포 포화도가 90 %인 상태이며, b, c 및 d는 각각 2 % 말 혈청이 처리된지 2일, 4일 및 6일 후의 상태이다.

도 2는 실시예 1-2에서 수행한 TNF- α 에 의한 C2C12 세포의 근위축의 유발 과정을 나타낸 것으로, a는 분화가 완료된 C2C12 근관세포(myotube)의 모습이며, b, c 및 d는 각각 TNF- α 를 처리한지 6 시간, 12 시간 및 24 시간 후 근관위축이 일어나 변화된 모습이다.

도 3은 실시예 1에서 정상 C2C12; TNF- α 에 의해 근위축이 유도된 C2C12; TNF- α 와 함께, 오미자 단일 추출물(SC), 구기자 단일 추출물(LC), 두충 단일 추출물(EU), 오미자 추출물, 구기자 추출물, 두충 추출물의 혼합비율이 1:1:1인 복합 추출물(SLE), 및 오미자 추출물, 구기자 추출물, 두충 추출물의 혼합비율이 2:1:1인 복합 추출물(SSLE)이 처리된 C2C12를 관찰한 것을 나타낸 것으로, A는 현미경 관찰 사진이고, B는 현미경으로 관찰된 근관(mytube)의 직경을 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 4의 A는 실시예 2-1에서의 시험물질 투여 스케줄을 나타낸 것으로 빨간 화살표가 추출물의 경구투여 실시 날짜에 해당하며, B는 실시예 2-1에서의 불용성(disuse) 근위축 모델의 형성과정을 나타낸 것이다.

도 5의 A는 실시예 2의 불용성(disuse) 근위축 실험에서 랫트의 체중 변화를 나타낸 그래프이고, B는 악력(grip strength) 변화를 나타낸 그래프이며, C, D 및 E는 각각 장딴지근(gastrocnemius), 전경골근(tibialis anterior) 및 비장근(soleus)의 중량 변화를 나타낸 그래프이다.

도 6의 A, B, C는 각각 실시예 2의 불용성(disuse) 근위축 실험에서 동결절편화(cryosectioning)한 랫트의 장딴지근(gastrocnemius), 전경골근(tibialis anterior) 및 비장근(soleus) 절편을 헤마톡실린-에오신 염색(H&E staining)한 결과를 나타낸 것이고, D, E, F는 도 6의 A, B, C에 대응하는 염색된 근섬유의 근섬유세포 절단면적(cross-sectional area)의 정량적 결과를 나타낸 그래프이다.

도 7의 A, B, C는 각각 실시예 2의 불용성(disuse) 근위축 실험에서 동결절편화(cryosectioning)한 랫트의 장딴지근(gastrocnemius), 전경골근(tibialis anterior) 및 비장근(soleus) 절편을 나타낸 것이고, 도 7의 D, E, F는 각각 도 7의 A, B, C의 하얀 박스 부분을 ATPase 염색한 이미지이다.

도 8은 실시예 2의 불용성(disuse) 근위축 실험에서 동결절편화(cryosectioning)한 랫트의 비장근(soleus) 절편을 ATPase 염색하여 type1 근섬유(도 8의 A 및 B)와 type2 근섬유(도 8의 C 및 D)의 근섬유세포 절단면적(cross-sectional area)의 크기에 따른 분포를 나타낸 그래프이다.

도 9는 실시예 3에 따른 근위축 세포 모델에서 정상 C2C12 세포; TNF- α 에 의해 근위축이 유도된 C2C12 세포; TNF- α 와 함께, 오미자 단일 추출물(SC), 구기자 단일 추출물(LC), 두충 단일 추출물(EU), 오미자 추출물, 구기자 추출물, 두충 추출물의 혼합비율이 1:1:1인 복합 추출물(SLE), 및 오미자 추출물, 구기자 추출물, 두충 추출물

물의 혼합비율이 2:1:1인 복합 추출물(SSLE)이 처리된 C2C12 세포에 대해 근위축과 관련된 바이오마커 또는 관련 신호전달 단백질인 Atrogin-1, MuRF-1, MyoD, Myogenin, p-Akt, 및 p-mTOR의 발현량을 관찰한 웨스턴 블롯팅(Western blot) 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 하기 제조예 및 실시예에 의해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 하기 제조예 및 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것이며, 본 발명의 범위를 제한하는 것이 아니다.

<비교 제조예> 오미자, 구기자 및 두충 단일 추출물의 제조

정도생약(서울)에서 구입한 오미자, 두충 및 구기자를 건조한 후 각각 하기 표1과 같이 중량을 측정하여 마쇄하였다.

표 1

오미자	구기자	두충
400 g	100 g	100 g

시료의 중량의 10 배에 해당하는 30 % 에탄올을 첨가하여 실온에서 24 시간 추출하였다. 이후 감압 회전 농축기를 사용하여 감압 농축하여 농축액을 얻었다. 농축액을 -70 °C에서 동결한 후, 동결건조기를 이용하여 분말을 수득하였다.

그 결과, 하기 표 2와 같은 수율로 동결건조분말을 수득하였다.

표 2

	비교 제조예 1	비교 제조예 2	비교 제조예 3
	오미자	구기자	두충
중량	140 g	31.8 g	10.1 g
수율	35 %(w/w)	구기자 31.8 %(w/w)	두충 10.1 %(w/w)

<제조예 1> 1:1:1 혼합비율의 복합 추출물 제조

상기 비교 제조예에서 수득한 오미자, 두충 및 구기자 단일 추출물(LC)을 1:1:1의 중량비로 혼합하여 본 발명의 복합 추출물을 제조하였다.

<제조예 2> 2:1:1 혼합 비율의 복합 추출물 제조

상기 비교 제조예에서 수득한 오미자, 구기자 및 두충 단일 추출물을 2:1:1의 중량비로 혼합하여 본 발명의 복합 추출물을 제조하였다.

<실시예 1> 근원세포에서의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 근위축 예방, 치료 및 개선 효과 확인

1-1. 근원세포의 분화 유도

근위축 질환을 표방하는 in vitro 세포주 모델을 구축하기 위하여, 마우스 섬유아세포인 C2C12 세포주를 이용하였다. 10 % 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS)이 포함된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에 C2C12 세포를 배양하는 중에 포화도(confluency)가 약 90 %가 되면, 배지를 2 % 말 혈청(horse serum, HS)이 포함된 DMEM으로 바꾸어 근원세포(myoblast)의 분화를 유도하였다.

근원세포의 분화 과정은 도 1에 나타낸 바와 같다. 도 1의 a는 세포 포화도가 90 %인 상태를 나타내며, b, c 및 d는 각각 2 % 말 혈청이 처리된지 2일, 4일 및 6일 후의 상태를 나타낸다.

1-2. 근위축의 유발

4 내지 6일이 지나 분화가 완료된 C2C12 근관(myotube)에 염증인자인 TNF- α 100 ng/ml를 24 시간 동안 처리하

여 근관위축(myotube atrophy)을 유발함으로써 근위축 모델을 형성하였다.

[0079] 근위축의 유발 과정은 도 2에 나타난 바와 같다. 도 2의 a는 분화가 완료된 C2C12 근관세포의 모습이며, b, c 및 d는 각각 TNF- α 를 처리한지 6 시간, 12 시간 및 24 시간 후 근관위축이 일어나 변화된 모습을 나타낸다.

[0080] 1-3. 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 근위축 억제 효과 확인

[0081] 상기 실시예 1-2에서 TNF- α 를 처리하는 동안 비교 제조에 1에서 제조한 오미자 단일 추출물(SC), 비교 제조에 2에서 제조한 구기자 단일 추출물(LC), 비교 제조에 3에서 제조한 두충 단일 추출물(EU), 제조에 1에서 제조한 오미자, 구기자 및 두충 단일 추출물(EU)의 혼합 비율이 1:1:1인 복합 추출물(SLE), 제조에 2에서 제조한 오미자, 구기자 및 두충 단일 추출물(EU)의 혼합 비율이 2:1:1인 복합 추출물(SSLE) 각각 200 μ g/ml씩을 TNF- α 와 함께 처리하였다.

[0082] 세포주에서의 근위축 정도와 각 샘플의 근위축 억제 효과는 현미경으로 근관의 직경을 측정함으로써 평가하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0083] TNF- α 처리군의 경우, 대조군에 비해 약 60 % 정도 근관의 직경이 감소되었다. 오미자 단일 추출물(SC), 구기자 단일 추출물(LC), 두충 단일 추출물(EU)의 경우 각각 약 38 %, 약 46 %, 약 45 %의 감소율을 나타내었다. 반면, 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 경우 혼합 비율이 1:1:1인 복합 추출물(SLE)이 약 30 %, 혼합 비율이 2:1:1인 복합 추출물(SSLE)이 약 23 %의 감소율을 나타내었다. 즉, 본 발명의 복합 추출물이 단일 추출물 중 가장 효과가 큰 오미자 추출물보다도 근관 직경의 감소율이 8 내지 25 % 더 줄어드는 것으로 나타났다.

[0084] 따라서 본 발명의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물을 투여한 경우, 단일 추출물의 투여시보다 현저한 시너지 효과가 발생함을 알 수 있다. 또한, 오미자, 구기자 및 두충 각 추출물의 혼합비율이 2:1:1인 경우 더 큰 시너지 효과가 발생함을 알 수 있다.

[0085] **<실시예 2> 동물모델에서의 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 근위축 예방, 치료 및 개선 효과 확인**

[0086] 2-1. 근위축 동물모델의 형성 및 시험 물질의 투여

[0087] 랫트의 한쪽 하지에 깁스 처리를 하여 3주 동안 고정시켜, 불용성(disuse) 근위축 모델을 형성하였다. 랫트의 깁스 처리 과정은 도 4의 B에 나타난 바와 같다.

[0088] 랫트의 하지 고정이 진행되는 동안 제조에 2에서 제조한 복합 추출물(SSLE)을 20 또는 100 mg/kg의 용량으로 도 4의 A에 나타난 스케줄에 따라 경구 투여하였다. 구체적으로, 처음 2주 동안은 2일에 한번씩, 남은 1주 동안은 매일 경구 투여하였다. 대조군으로는 SSLE 추출물과 동일한 양의 식염수와 같은 농도의 비교 제조에 1에서 제조한 오미자 단일 추출물(SC)을 투여하였다.

[0089] 2-2. 근력 측정을 통한 근위축 완화 효과의 확인

[0090] 하지의 악력(grip strength)을 측정하여 랫트의 근력을 분석하였다.

[0091] 그 결과, 도 5의 B에 나타난 바와 같이, 근위축이 유발된 실험군(Disuse)의 경우 정상군(Normal)과 비교하여 근력이 약 27 % 감소된 것을 확인할 수 있었다. 또한, 오미자 단일 추출물(SC)을 20 mg/kg 투여한 경우(SC20) 근력이 약 22 % 감소되었다. 본 발명의 복합 추출물(SSLE)을 20 mg/kg 투여한 경우(SSLE20) 약 12 %의 근력 감소가 나타났다. 즉, 본 발명의 복합 추출물은 근위축에 따른 근력 감소 증상을 완화시킬 수 있으며, 오미자 단독 추출물보다 근위축에 따른 근력 감소의 개선에 높은 효과를 나타냄을 알 수 있다.

[0092] 2-3. 하지 근육 무게 측정을 통한 근위축 완화 효과 확인

[0093] 악력을 측정한 후, 장딴지근(gastrocnemius), 전경골근(tibialis anterior) 및 비장근(soleus)을 적출하여 무게를 잴다.

[0094] 그 결과, 도 5의 C, D 및 E에 나타난 바와 같이, 근위축이 유발될 경우 장딴지근은 약 28 %, 전경골근은 약 16 %, 비장근은 약 24 %의 중량 감소가 발생했으며, 3 종류의 근육에서 모두 유의적으로 근육 손실이 일어났음을 확인할 수 있었다. 반면, 제조에 2에서 제조한 복합 추출물(SSLE)을 20 mg/kg 투여한 경우, 장딴지근의 경우 단지 약 13 %, 전경골근의 경우 단지 약 9 %, 비장근의 경우 단지 약 13 %의 중량 감소가 발생했으며, 복합 추출물(SSLE)을 100 mg/kg 투여한 경우 장딴지근의 경우 단지 약 7 %, 비장근의 경우 단지 약 5 %의 중량 감소가 발생했고, 전경골근의 경우 오히려 약 0.6 % 정도 중량이 증가하였다. 즉, 본 발명의 복합 추출물이 근육 무게의

손실을 크게 완화시킴을 확인할 수 있었다.

[0095] 한편, 오미자 단일 추출물(SC)을 20 mg/kg 처리한 경우 장딴지근의 경우 약 19 %, 전경골근의 경우 약 12 %, 비장근의 경우 약 14 %의 중량 감소가 발생하였으며, 오미자 단일 추출물(SC)을 100 mg/kg 처리한 경우 장딴지근의 경우 약 15 %, 전경골근의 경우 약 10 %, 비장근의 경우 약 6 %의 중량 감소가 발생하였다. 즉, 20 mg/kg 투여군 및 100 mg/kg 투여군 모두 오미자 단일 추출물(SC)을 처리한 경우에 비해 본 발명의 복합 추출물(SSLE)을 투여한 경우 근육 무게 손실이 더 크게 완화됨을 확인할 수 있었다.

[0096] 2-4. 근섬유 단면적 측정을 통한 근위축 완화 효과 확인

[0097] 적출하여 무게를 측정한 장딴지근, 전경골근 및 비장근 조직을 동결 마이크로톰(freezing microtome)으로 동결 절편화(cryosectioning)하고, 헤마톡실린-에오신 염색(H&E staining)을 통해 근섬유세포의 단면적을 분석하였다 (도 6의 A 내지 C).

[0098] 그 결과, 도 6의 D, E, F에 나타난 바와 같이, 근위축이 유발될 경우 장딴지근, 전경골근 및 비장근에서 대조군은 근섬유세포의 절단면적이 각각 약 48 %, 40 %, 40 % 감소하였으나, 제조에 2에서 제조한 본 발명의 복합 추출물(SSLE)을 20 mg/kg 투여한 경우 절단면적은 각각 단지 약 32.4 %, 16.7 %, 13.5 % 감소하였고, 복합 추출물(SSLE)을 100 mg/kg 투여한 경우 놀랍게도 단지 각각 약 0 %, 5 %, 3.4 % 감소하였을 뿐이었다. 즉, 본 발명의 복합 추출물을 투여한 경우 대조군과 비교하여 근섬유세포의 절단면적 감소 완화 효과가 현저함을 확인할 수 있다.

[0099] 한편, 오미자 단일 추출물(SC)을 투여한 경우 20 mg/kg 투여군은 각각 약 38.2 %, 30 %, 26.7 %, 100 mg/kg 투여군은 각각 약 23.5 %, 26.7 %, 23.4 % 감소되어, 본 발명의 복합 추출물이 동일한 용량에서 단일 추출물보다 더 큰 효과를 나타냄을 알 수 있다.

[0100] 2-5. 근섬유 유형 변화 측정을 통한 근위축 완화 효과 확인

[0101] 도 7에서 나타난 바와 같이, 실시예 2-4에서 동결절편화한 장딴지근, 전경골근 및 비장근의 절편을 ATPase 염색하여 근육의 유형 변화를 확인하였다.

[0102] 근육은 에너지 소비 방식에 따라 유산소성 지근(slow-twitch oxidative muscle)인 유형1(type1) 근섬유와 해당성 속근(fast-twitch glycolytic muscle)인 유형2(type2) 근섬유의 2가지 유형이 존재하는 것으로 알려져 있다. 또한, 불용성(disuse) 상황에서는 지근에서 속근으로의 유형 변화(slow-to-fast type shift)가 일어난다고 알려져 있다.

[0103] 실험 결과, 도 7의 D, E에 나타난 바와 같이, 속근 우세 근육(fast twitch-dominant muscle)인 장딴지근과 전경골근의 경우, 전체적으로 유형2 근섬유(흑색) 유형만 관찰되고 유형 변화는 관찰되지 않았다. 반면, 도 7의 F에 나타난 바와 같이, 지근 우세 근육(slow twitch-dominant muscle)인 비장근의 경우, 근위축을 유발하였을 때 유형2 근섬유(흑색)의 비율이 높아지는 지근에서 속근으로의 근섬유 유형 변화(slow-to-fast muscle fiber type shift)를 관찰할 수 있고, 오미자 단일 추출물(SC) 또는 복합 추출물(SSLE)을 투여한 경우 이러한 섬유 유형 변화(fiber type shift)가 회복되는 것을 확인하였다.

[0104] 2-6. 근섬유 유형에 따른 절단면적 변화 측정을 통한 근위축 완화 효과 확인

[0105] 실시예 2-5에서 살펴본 근육의 유형1 및 유형2 근섬유세포의 단면적 크기 분포를 보다 구체적으로 알아보기 위해, 비장근에 대해 근육 유형별 절단면적 변화 측정을 하여 복합추출물(SSLE)의 근위축 완화 효과를 확인하였다.

[0106] 도 8의 A 및 C에 나타난 바와 같이, 근위축 불용성 모델의 비장근에서 유형1 근섬유세포는 약 14.3 % 감소하였으나, 복합추출물(SSLE) 20 mg/kg 투여시 단지 약 4.8 % 감소하였을 뿐이었고, 복합추출물(SSLE) 100 mg/kg 투여시 오히려 약 14 % 증가하여, 복합추출물 투여 시 근섬유세포의 절단면적의 감소가 회복됨을 알 수 있다. 한편, 오미자 단일 추출물(SC)을 투여할 경우, 20 mg/kg 투여시 약 4.6 % 감소하였고, 100 mg/kg 투여시 거의 감소하지 않았다. 즉, 본 발명의 100 mg/kg 복합 추출물을 투여한 경우 동일용량의 단일 추출물과 비교하여 유형1 근섬유세포의 절단면적 감소가 더 완화됨을 확인할 수 있다.

[0107] 한편, 근위축 불용성 모델의 비장근에서 유형2 근섬유세포의 단면적은 약 51.4 % 감소하여, 근위축 유발시 근섬유세포의 크기 변화가 급격하게 진행됨을 확인할 수 있다. 이때 복합추출물(SSLE) 20 mg/kg 투여시 단면적은 단지 약 32.4 % 감소하고, 100 mg/kg 투여시 놀랍게도 단면적 감소는 관찰되지 않았다. 따라서 복합추출물 투여시

근섬유세포의 절단면적의 감소가 크게 회복됨을 알 수 있다. 한편, 오미자 단일 추출물(SC)을 투여할 경우, 20 mg/kg 투여시 절단면적이 약 40.5 % 감소하였고, 100 mg/kg 투여할 경우 약 28.4 % 감소하였다. 즉, 본 발명의 복합 추출물을 투여한 경우 단일 추출물과 비교하여 유형2 근섬유세포의 절단면적 감소가 보다 더 크게 완화된 것을 확인할 수 있다. 이와 같이 불용성 근위축 모델에서는 복합추출물의 근위축 완화(예방)효과가 유형1 근섬유세포에 비하여 유형2 근섬유세포에서 현저히 관찰되었다.

[0108] 근육 유형별 단면적의 크기 분포를 보면, 도 8의 B 및 D에 나타난 것과 같이, 지근(slow twitch oxidative muscle)인 유형1 근섬유세포(흑색)의 단면적의 크기 분포에서는 변화가 미약한 데에 비해, 속근(fast twitch glycolytic muscle)인 유형2 근섬유세포(백색)의 경우, 정상 조직에서는 다양한 크기의 근섬유세포가 존재하다가 근위축이 유발되면 큰 크기의 유형2 근섬유세포가 사라지고 $35 \mu\text{m}^2$ 이하의 작은 크기의 유형2 근섬유세포만 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 이때 본 발명의 복합 추출물(SSLE)을 투여한 경우, 상대적으로 큰 크기의 type2 근섬유세포가 존재하는 것을 확인할 수 있으며, 또한 오미자 단일 추출물(SC)을 투여한 경우보다도 큰 크기의 type2 근섬유세포가 다수 존재하는 것을 확인할 수 있다. 따라서 본 발명의 복합 추출물이 근위축의 완화에 큰 효과가 있음을 알 수 있다.

[0109] <실시예 3> 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물의 근위축 관련 바이오마커에 대한 활성 확인

[0110] 오미자, 구기자 및 두충 복합 추출물로 인한 근위축 예방 효과가 어떠한 생체 경로를 통해 일어나는 것인지 확인하기 위해, 근위축 세포 모델에서 근위축과 관련된 바이오마커 단백질 발현의 수준과 신호전달 활성의 변화를 관찰하였다.

[0111] 먼저, 상기 실시예 1-1과 동일한 방법으로 C2C12 세포주를 사용하여 근원세포의 분화를 유도하였다. 그 다음, 상기 실시예 1-2와 동일한 방법으로 근위축 모델을 형성하였다. 상기 실시예 1-3에 기재된 바와 같이, TNF- α 를 처리하는 동안 비교 제조에 1에서 제조한 오미자 단일 추출물(SC), 비교 제조에 2에서 제조한 구기자 단일 추출물(LC), 비교 제조에 3에서 제조한 두충 단일 추출물(EU), 제조에 1에서 제조한 오미자, 구기자 및 두충 단일 추출물의 혼합 비율이 1:1:1인 복합 추출물(SLE), 제조에 2에서 제조한 오미자, 구기자 및 두충 단일 추출물의 혼합 비율이 2:1:1인 복합 추출물(SSLE)을 각각 200 $\mu\text{g/ml}$ 씩 TNF- α 와 함께 처리하였다.

[0112] 그 다음, 근관세포를 트립신-EDTA를 처리하여 수집한 후, 인트론사(경기도 성남)의 Pro-Prep® 키트를 사용하여 제품설명서에 따라 총 단백질을 얻었고 단백질 함량을 단백질 분석 시약(Bio-Rad, Hercules, CA)을 이용해 확인하였다. 소혈청 알부민을 기준으로 제조사의 지시사항에 따라 단백질의 농도를 측정하였다. 표준화 후에, 동일한 양의 단백질을 소듐 도데실 황산염(SDS)-폴리아크릴아미드 겔에서 전기영동하였고, 이후 일렉트로블로팅(electroblotting)을 이용해 니트로셀룰로즈 막으로 트랜스퍼하였다. 상기 블랏을 5 % 스킵 밀크를 이용해 상온에서 1 시간 동안 블로킹하였다. 그 다음, 상기 블랏을 1차 항체와 함께 밤새 인큐베이션하였고, 홀스래시디 퍼옥시다제-콘주게이션된(horseradish peroxidase-conjugated) 마우스 항-토끼 면역글로불린과 함께 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 면역 반응성 밴드를 시판되는 ECL 키트(Amersham, Arlington Heights, IL)를 이용한 강화된 화학발광(chemiluminescence, ECL)을 이용하여 확인하였다. 항체는 산타크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz, CA)에서 구입하여 사용했다.

[0113] 웨스턴 블롯으로, 대표적인 근단백질 분해시스템인 유비퀴틴-프로테아좀 시스템에서 중요한 역할을 하고 있는 L3 ligase인 Atrogin-1 및 MuRF-1, 근원세포(myoblast)의 분화를 유도하는 MyoD와 myogenin의 발현을 확인하고, 근단백질 합성 경로 중 p-Akt, 및 p-mTOR의 활성화를 확인하였다.

[0114] 그 결과, 도 9의 A에서 나타난 바와 같이, Atrogin-1 단백질은 TNF- α 처리를 하여 근위축을 유발하였을 때, 근위축을 유발하지 않은 근관 세포에 비해 발현양이 약 110 % 이상 급격히 늘어났으나, 복합 추출물(SLE 또는 SSLE)을 처리하였을 때에는 발현양이 오히려 각각 약 40 % 씩 감소하여, 복합 추출물이 근위축에 의한 근단백질 분해시스템의 활성화를 현저히 억제함을 확인하였다. 또한, 구기자 단일 추출물(LC), 두충 단일 추출물(EU)을 처리하였을 때에는 Atrogin-1의 발현양은 근위축이 유발되지 않은 근과 세포의 발현양에 비해 각각 약 60 %와 100 % 씩 증가하였고 오미자 단일 추출물(SC)을 처리하였을 때에는 오히려 약 20 % 감소된 점과 비교하여 볼 때, 복합 추출물의 투여시 현저한 시너지 효과가 발생함을 확인하였다.

[0115] 한편, 도 9의 B가 나타내는 바와 같이, MuRF-1은 TNF- α 처리를 하여 근위축을 유발하였을 때, 근위축을 유발하지 않은 근원세포의 MuRF-1 발현양에 비해 약 289 % 정도로 급격히 늘어났으나, TNF- α 와 함께 복합 추출물(SLE 또는 SSLE)을 처리하였을 때에는 MuRF-1의 발현이 각각 약 222 %, 약 177 % 증가하여, 근위축에 의해 유발된 MuRF-1의 발현을 효과적으로 억제함을 확인하였다. 한편, 구기자 단일 추출물(LC), 두충 단일 추출물(EU), 또는

오미자 단일 추출물(SC)을 처리하였을 경우 MuRF-1의 발현이 각각 약 233 %, 약 190 %, 약 290 % 씩 증가하여, 전반적으로 복합 추출물이 단일 추출물에 비해 근위축에 의한 MuRF-1 발현 증가를 더 억제할 수 있음을 확인하였다.

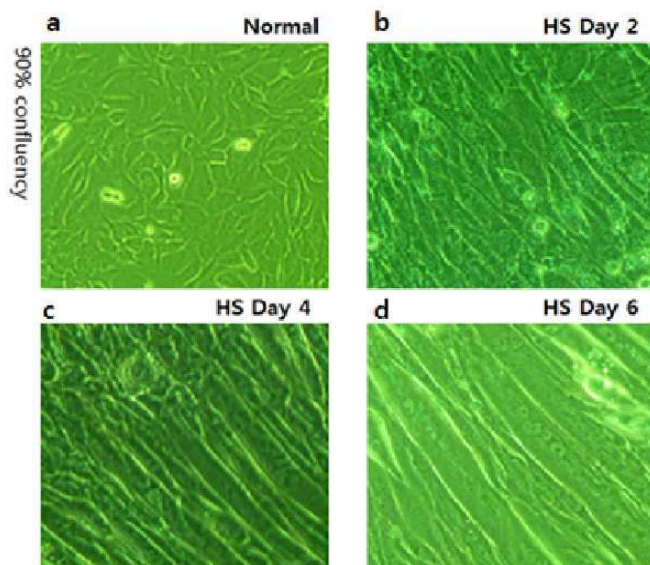
[0116] 한편, 도 9의 C 및 D에서 나타낸 바와 같이, 근원세포의 분화를 유도하는 바이오마커인 MyoD와 myogenin의 발현 양은 TNF- α 로 근위축을 유발하였을 때에는 발현양의 변화가 거의 없었으나, 복합 추출물(SLE 또는 SSLE)을 처리하였을 경우, 대조군에 비해 MyoD는 약 58 % 씩 증가했고, myogenin은 각각 약 127 % 씩 증가하여, 복합 추출물이 근원세포의 분화를 유도한다는 점을 시사했다. 한편, 구기자 단일 추출물(LC), 두충 단일 추출물(EU), 또는 오미자 단일 추출물(SC)을 처리하였을 경우 대조군에 비해 MyoD는 각각 약 25 %, 27 %, 33 % 씩 증가했고, myogenin은 각각 약 0 %, 36 %, 19 % 씩 증가한 점으로 볼 때, 복합 추출물이 단일 추출물에 비해 MyoD 및 myogenin의 활성화를 통한 근원세포의 분화를 더 효과적으로 유도할 수 있음을 시사했다.

[0117] 한편, 근단백질 합성 경로 중 하나인 Akt/mTOR 경로를 관찰하기 위해 Akt와 mTOR의 활성화를 비교 분석한 결과, 도 9의 E, F에 나타낸 것과 같이, TNF- α 로 근위축을 유발하였을 경우 두 단백질의 활성화는 일어나지 않았다. 그러나, TNF- α 와 함께 복합 추출물(SLE 또는 SSLE)을 함께 처리한 경우 대조군에 비해 활성화된 Akt는 각각 약 95 %, 98 %씩 증가했고, mTOR는 각각 약 51 %, 80 %씩 증가하여, 복합 추출물이 근단백질 합성 경로를 효과적으로 활성화시킬 수 있음을 확인했다.

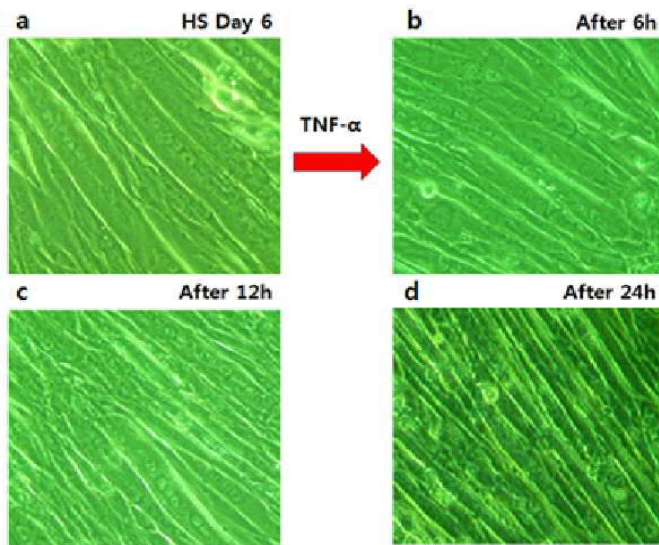
[0118] 즉, 본원발명의 복합 추출물(SLE 또는 SSLE)은 근위축이 일어날 때 대표적인 근단백질 분해시스템인 유비퀴틴-프로테아좀 시스템에서 중요한 역할을 하고 있는 L3 ligase인 Atrogin-1 및 MuRF-1의 활성화를 억제하고, 근원세포(myoblast)의 분화를 유도하는 MyoD와 myogenin를 활성화시며, 근단백질 합성 경로인 Akt/mTOR를 활성화한다. 이러한 복합 추출물의 효과는 구기자 단일 추출물(LC), 두충 단일 추출물(EU), 또는 오미자 단일 추출물(SC)의 효과보다 더 우수함을 확인하였다.

도면

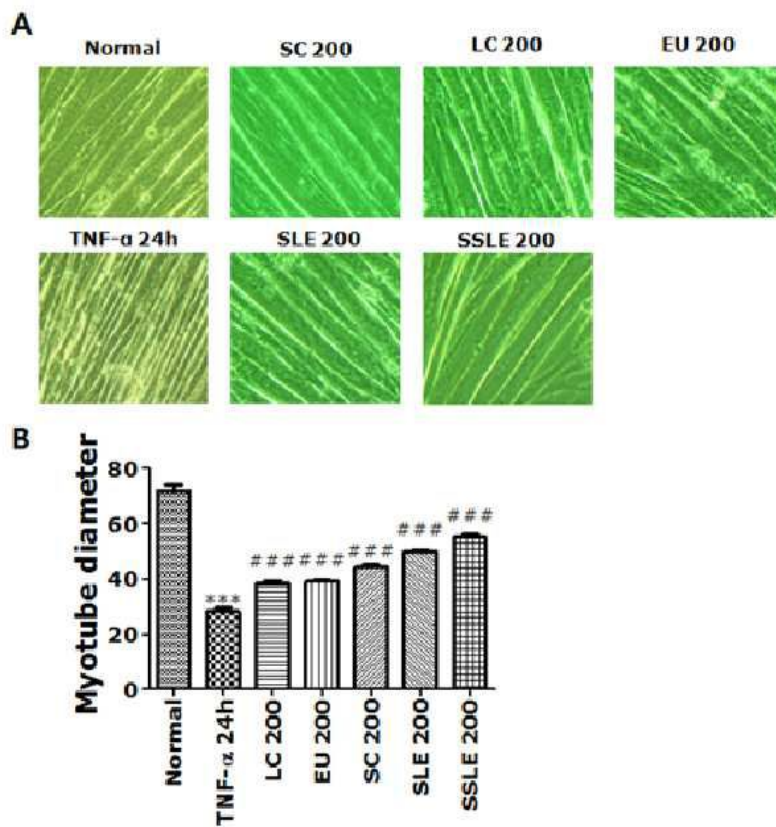
도면1



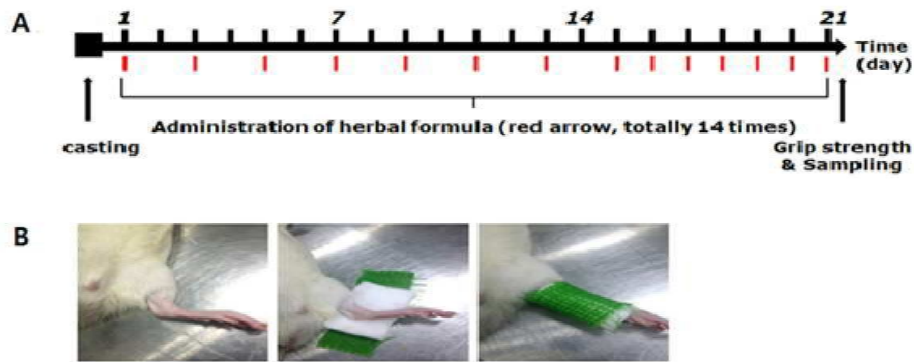
도면2



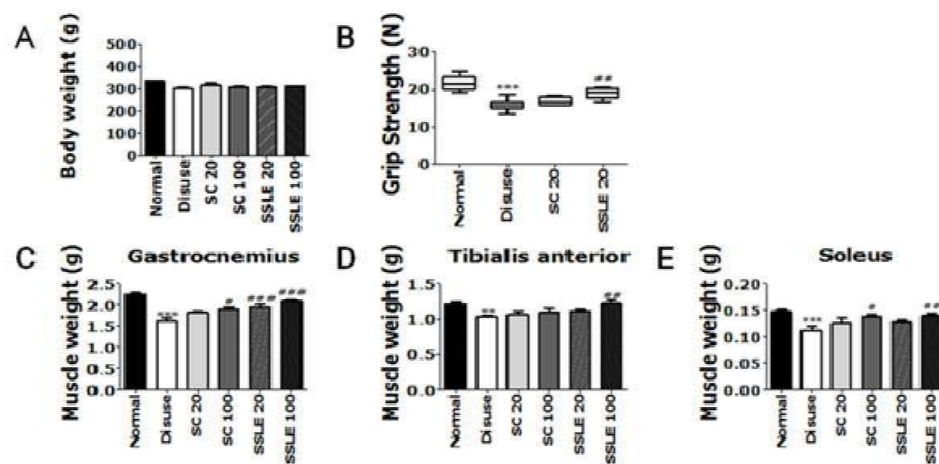
도면3



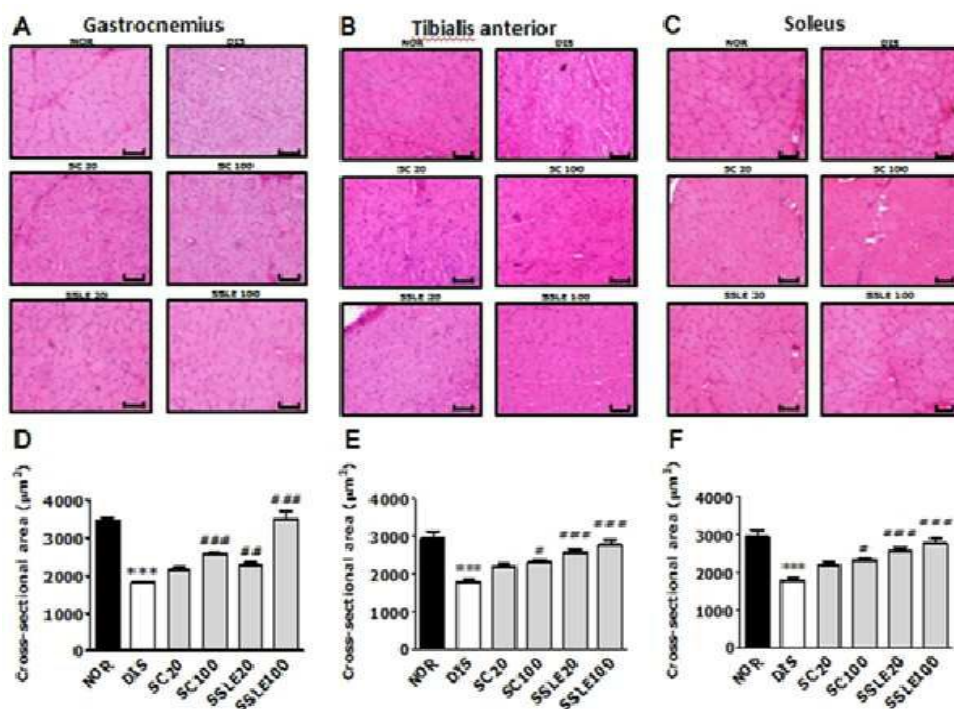
도면4



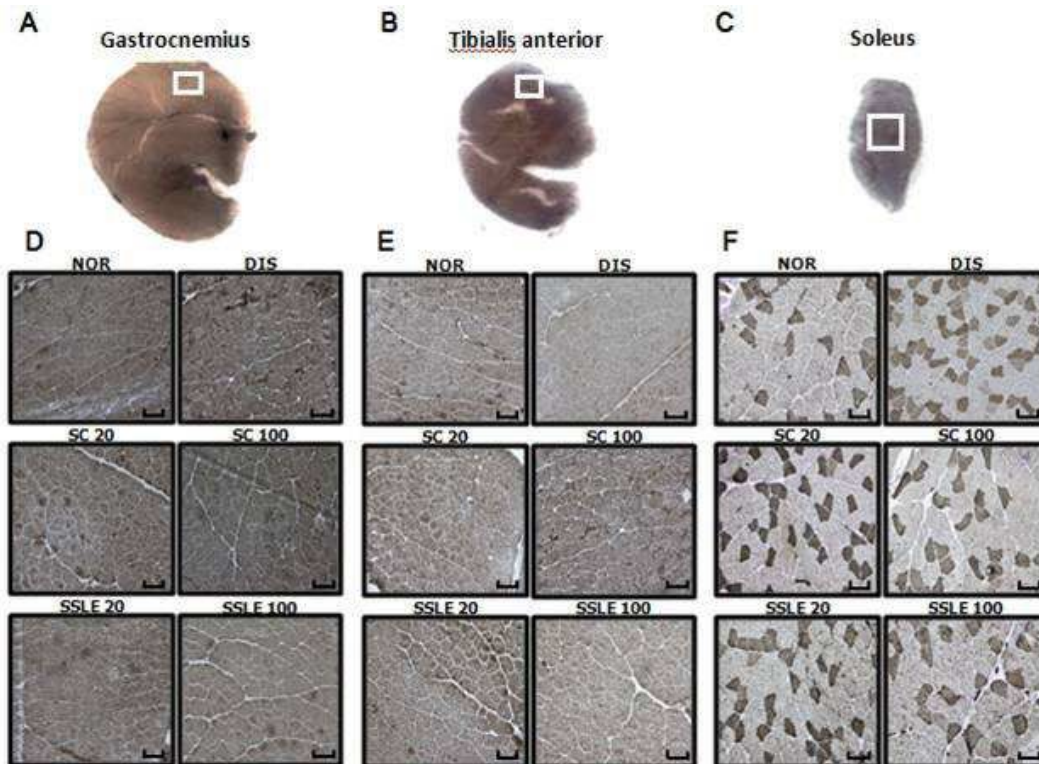
도면5



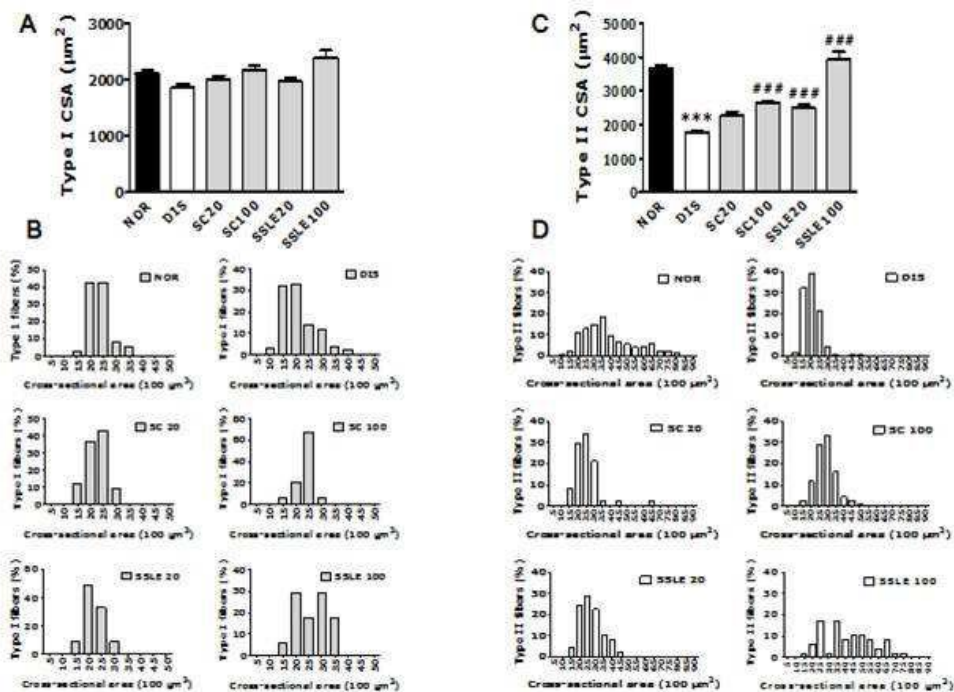
도면6



도면7



도면8



도면9

