

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

(i) 솔잎 열수 추출물과 (ii) 구기자 열매와 오미자 열매 그리고 백년초 열매의 혼합 열수 추출물의 혼합물을 유효성분으로 포함하되,

상기 혼합물은 솔잎 열수 추출물과 구기자 열매와 오미자 열매 그리고 백년초 열매의 혼합 열수 추출물이 8:2 중량비 내지 6:4 중량비인 것을 특징으로 하는 퇴행성 관절염 개선용 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

제1항에 있어서,

상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 4**

제1항에 있어서,

상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

**발명의 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 솔잎 추출물 등을 이용한 퇴행성 관절염 개선용 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 관절염은 연골 관련 질환의 대표적인 것으로, 류머티스 관절염(rheumatoid arthritis)과 퇴행성 관절염(degenerative arthritis)으로 대별되는데, 퇴행성 관절염은 관절 연골이 닳아 없어지면서 국소적인 퇴행성 변화가 나타나는 질환으로서, 골관절염(osteoarthritis)이라고도 한다.

[0003] 골관절염은 노화와 밀접한 연관을 갖는 대표적인 퇴행성 질환으로, 우리나라의 전체 인구에서 약 14.5%, 60세 이상의 노인은 약 80% 정도의 높은 유병율을 보이는 흔한 질환이다.

[0004] 아직 골관절염의 병리학적 기전은 정확히 규명되어 있지는 않지만, 연골세포 수의 절대적 감소와 NO, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PGE2 등 염증성 인자에 의한 관절 연골의 손상이 하나의 원인으로 알려져 있다.

[0005] 따라서 연골세포의 증식 촉진 활성을 가지는 물질 등은 골관절염 치료제의 후보물질일 수 있다.

[0006] 현재 퇴행성 관절염의 치료에 임상적으로 사용되는 약물은 진통제, 스테로이드제, 비스테로이드계 소염제나 히알루론산, 글루코사민, 콘드로이틴 등의 연골보호제이다.

[0007] 본 발명은 솔잎 추출물 등의 연골세포 증식 촉진 활성 등에 기초한 골관절염 개선 활성을 개시한다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0008] 본 발명의 목적은 솔잎 추출물 등을 이용한 퇴행성 관절염 개선용 조성물을 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명의 다른 목적이나 구체적인 목적은 이하에서 제시될 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0010] 본 발명은 아래의 실시예 및 실험예에서 확인할 수 있듯이, 솔잎 열수 추출물과 구기자 열매, 오미자 열매 및 백년초 열매의 혼합 추출물이 연골전구세포의 분화 촉진 활성을 가짐을 확인함으로써 완성된 것이다.

[0011] 따라서 본 발명의 퇴행성 관절염 개선용 조성물은 솔잎 열수 추출물, 구기자 열매와 오미자 열매 그리고 백년초 열매의 혼합 열수 추출물, 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 포함함을 특징으로 한다.

[0012] 본 명세서에서 "유효성분"이란 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.

[0013] 본 발명의 조성물에서 그 유효성분은 그것이 퇴행성 관절염 개선 활성을 나타낼 수 있는 한, 용도, 제형, 배합 목적 등에 따라 임의의 양(유효량)으로 포함될 수 있는데, 통상적인 유효량은 조성물 전체 중량을 기준으로 할 때 0.001 중량 % 내지 20.0 중량 % 범위 내에서 결정될 것이다. 여기서 "유효량"이란 그 적용 대상인 포유동물 바람직하게는 사람에게 의료 전문가 등의 제언에 의한 투여 기간 동안 본 발명의 조성물이 투여될 때, 퇴행성 관절염 개선 효과 등 의도한 의료적·약리학적 효과를 나타낼 수 있는, 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 양을 말한다. 이러한 유효량은 당업자의 통상의 능력 범위 내에서 실험적으로 결정될 수 있다.

[0014] 본 발명의 조성물은 다른 구체적인 양태에 있어서, 식품 조성물로 파악할 수 있다.

[0015] 본 발명의 식품 조성물은 어떠한 형태로도 제조될 수 있으며, 예컨대 차, 주스, 탄산음료, 이온음료 등의 음료류, 우유, 요구르트 등의 가공 유류, 껌류, 떡, 한과, 빵, 과자, 면 등의 식품류, 정제, 캡슐, 환, 과립, 액상, 분말, 편상, 페이스트상, 시럽, 젤, 젤리, 바 등의 건강기능식품 제제류 등으로 제조될 수 있다. 또 본 발명의 식품 조성물은 법률상·기능상의 구분에 있어서 제조·유통 시점의 시행 법규에 부합하는 한 임의의 제품 구분을 떨 수 있다. 예컨대 건강기능식품에관한법률에 따른 건강기능식품이거나, 식품위생법의 식품공전(식약처 고시, 식품의 기준 및 규격)상 각 식품유형에 따른 두유류, 발효음료류, 특수용도식품 등일 수 있다.

[0016] 본 발명의 식품 조성물에는 그 유효성분 이외에 식품첨가물이 포함될 수 있다. 식품첨가물은 일반적으로 식품을 제조, 가공 또는 보존함에 있어 식품에 첨가되어 혼합되거나 침윤되는 물질로서 이해되는데, 식품과 함께 매일 그리고 장기간 복용되므로 그 안전성이 보장되어야 한다. 식품위생법에 따른 식품첨가물공전(식약처 고시, 식품첨가물 기준 및 규격)에는 안전성이 보장된 식품첨가물이 화학적 합성품, 천연 첨가물, 혼합 제제류로 구분하여 한정적으로 규정되어 있다.

[0017] 이들 식품첨가물은 기능적 측면에 있어서는 감미제, 풍미제, 보존제, 유화제, 산미료, 점증제 등으로 구분될 수 있다.

[0018] 감미제는 식품이 적당한 단맛을 내게 하는 양으로 사용될 수 있으며, 천연의 것이거나 합성된 것일 수 있다. 바람직하게는 천연 감미제를 사용하는 경우인데, 천연 감미제로서는 옥수수 시럽 고형물, 꿀, 수크로오스, 프룩토오스, 락토오스, 말토오스 등의 당 감미제를 들 수 있다.

[0019] 풍미제는 맛이나 향을 좋게 하기 위하여 사용될 수 있는데, 천연의 것과 합성된 것 모두 사용될 수 있다. 바람직하게는 천연의 것을 사용하는 경우이다. 천연의 것을 사용할 경우에 풍미 이외에 영양 강화의 목적도 병행할 수 있다. 천연 풍미제로서는 사과, 레몬, 감귤, 포도, 딸기, 복숭아 등에서 얻어진 것이거나 녹차잎, 둥굴레, 대잎, 계피, 국화 잎, 자스민 등에서 얻어진 것일 수 있다. 또 인삼(홍삼), 죽순, 알로에 베라, 은행 등에서 얻어진 것을 사용할 수도 있다. 천연 풍미제는 액상의 농축액이나 고형상의 추출물일 수 있다. 경우에 따라서 합성 풍미제가 사용될 수 있는데, 합성 풍미제는 에스테르, 알콜, 알데하이드, 테르펜 등이 이용될 수 있다.

[0020] 보존제로서는 소듐 소르브산칼슘, 소르브산나트륨, 소르브산칼륨, 벤조산칼슘, 벤조산나트륨, 벤조산칼륨, EDTA(에틸렌디아민테트라아세트산) 등이 사용될 수 있고, 또 유화제로서는 아카시아검, 카르복시메틸셀룰로스, 잔탄검, 펙틴 등을 들 수 있으며, 산미료로서는 연산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 인산, 글루콘산, 타르타르산, 아스코르브산, 아세트산, 인산 등이 사용될 수 있다. 산미료는 맛을 증진시키는 목적 이외에 미생물의 증식을 억제할 목적으로 식품 조성물이 적정 산도로 되도록 첨가될 수 있다.

[0021] 점증제로서는 현탁화 구현제, 침강제, 겔형성제, 팽화제 등이 사용될 수 있다.

- [0022] 본 발명의 식품 조성물은 전술한 바의 식품첨가물 이외에, 기능성과 영양성을 보충, 보강할 목적으로 당업계에 공지되고 식품첨가물로서 안정성이 보장된 생리활성 물질이나 미네랄류를 포함할 수 있다.
- [0023] 그러한 생리활성 물질로서는 녹차 등에 포함된 카테킨류, 비타민 B1, 비타민 C, 비타민 E, 비타민 B12 등의 비타민류, 토코페롤, 디벤조일티아민 등을 들 수 있으며, 미네랄류로서는 구연산 칼슘 등의 칼슘 제제, 스테아린 산마그네슘 등의 마그네슘 제제, 구연산철 등의 철 제제, 염화 크롬, 요오드칼륨, 셀레늄, 게르마늄, 바나듐, 아연 등을 들 수 있다.
- [0024] 본 발명의 식품 조성물에는 전술한 바의 식품첨가물이 제품 유형에 따라 그 첨가 목적을 달성할 수 있는 적량으로 포함될 수 있다.
- [0025] 본 발명의 식품 조성물에 포함될 수 있는 기타의 식품첨가물과 관련하여서는 식품공전이나 식품첨가물 공전을 참조할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 조성물은 구체적인 양태에 있어서, 약제학적 조성물로 파악할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 약제학적 조성물은 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하여 당업계에 공지된 통상의 방법으로 투여 경로에 따라 경구용 제형 또는 비경구용 제형으로 제조될 수 있다. 여기서 "약제학적으로 허용되는" 의미는 유효성분의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적용 가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다.
- [0028] 본 발명의 약제학적 조성물이 경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 현탁액, 웨이퍼 등의 제형으로 제조될 수 있다. 이때 약제학적으로 허용되는 적합한 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 텍스트로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨 등의 당류, 옥수수 전분, 감자 전분, 밀 전분 등의 전분류, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 마그네슘 스테아레이트, 광물유, 맥아, 젤라틴, 탈크, 폴리올, 식물성유 등을 들 수 있다. 제제화할 경우 필요에 따라 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 및/또는 부형제를 포함하여 제제화할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 약제학적 조성물이 비경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 주사제, 경피 투여제, 비강 흡입제 및 좌제의 형태로 제제화될 수 있다. 주사제로 제제화할 경우 적합한 담체로서는 멸균수, 에탄올, 글리세롤이나 프로필렌 글리콜 등의 폴리올 또는 이들의 혼합물을 들 수 있으며, 바람직하게는 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline)나 주사용 멸균수, 5% 텍스트로스 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 경피 투여제로 제제화할 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태로 제제화될 수 있다. 비강 흡입제의 경우 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 등의 적합한 추진제를 사용하여 에어로졸 스프레이 형태로 제제화될 수 있으며, 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 폴리에틸렌글리콜류, 카카오지, 라우린지, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르류, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트류, 소르비탄 지방산 에스테르류 등이 사용될 수 있다.
- [0030] 약제학적 조성물의 제제화와 관련하여서는 당업계에 공지되어 있으며, 구체적으로 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences(19th ed., 1995)] 등을 참조할 수 있다. 상기 문헌은 본 명세서의 일부로서 간주된다.
- [0031] 본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태, 체중, 성별, 연령, 환자의 중증도, 투여 경로에 따라 1일 0.001mg/kg ~ 10g/kg 범위, 바람직하게는 0.001mg/kg ~ 1g/kg 범위일 수 있다. 투여는 1일 1회 또는 수회로 나누어 이루어질 수 있다. 이러한 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 아니 된다.

**발명의 효과**

- [0032] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 연골전구세포의 분화 촉진 활성을 가지는 솔잎 추출물 등을 이용한 퇴행성 관절염 개선용 조성물을 제공할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 조성물은 식품 또는 약품으로 제품화될 수 있다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0034] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 참조하여 설명한다. 그러나 본 발명의 범위가 이러한 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] <실시예> 시료의 준비
- [0036] 술잎 열수 추출물은 술잎 분쇄물에 10배 중량의 물을 가하고 80~100℃에서 24시간 동안 추출한 후 여과하고 여과액을 감압농축하고 동결건조하여 분말상으로 제조하였다.
- [0037] 구기자(열매), 오미자(열매) 및 백년초(열매)를 동일 중량으로 혼합하고 분쇄한 후 여기에 10배 중량의 물을 가하고 80~100℃에서 24시간 동안 추출한 후 여과하고 여과액을 감압농축하고 동결건조하여 분말상으로 제조하였다.
- [0038] <실험예> 골관절염 개선 활성 실험 - 연골세포 분화 촉진 활성 실험
- [0039] 연골세포의 전구체인 ATDC5 세포를 DMEM 배지(Dulbecco's Modified Eagle Medium)(Gibco, NY, USA)와 F-12 배지(Gibco, NY, USA)가 1:1로 혼합되고, 페니실린/스트렙토마이신 100units/ml과 10% 우태아혈청(fetal bovine serum)이 첨가된 배지를 사용하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.
- [0040] 세포가 배양용기에 75% 정도 채워지면 트립신을 처리하여 세포를 탈리시키고, 48 웰 플레이트에 각 웰 당 2×10<sup>4</sup> 개의 세포가 포함되도록 분주하였다. 24시간 후, 10 μg/ml 트랜스페린(transferrin) 및 30 nM 아셀렌산나트륨(sodium selenite)이 포함된 배지로 세포 분화를 유도함과 함께, 실시예의 시료 100 μg/mL로 함께 처리하였다. 14일 후, 알시안-블루(Alcian-blue) 염색을 위해 세포의 배지를 제거하고 1×PBS(phosphate buffer saline)으로 세척한 후, 95% 메탄올로 세포를 고정시키고 1% 알시안-블루 8GS로 16시간 동안 염색하였다. 염색용액 제거 후 3% 아세트산으로 30초 동안 세 번 세척하고 10% 아세트산으로 염색을 녹여 낸 후 650 nm에서 흡광도를 측정하였다. 3회 반복 실험에 따른 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 시료를 첨가하지 않고 배지만 넣고 배양한 대조군의 흡광도 값과 비교하여 세포 증식률을 측정하고 이를 백분율로 하여 아래의 표 1에 나타내었다.

**표 1**

[0041] 조골세포의 증식률 변화(%)

| 구분   | 조골세포 증식률(%)  |
|--|--------------|
| 대조군  | 100          |
| A 시료   | 132.27±3.42* |
| 혼합 시료 1(A:B=8:2)   | 154.53±5.44* |
| 혼합 시료 2(A:B=6:4)   | 146.73±5.26* |
| 혼합 시료 3(A:B=5:5)   | 132.54±5.47* |
| 혼합 시료 4(A:B=4:6)   | 124.62±4.55* |
| 혼합 시료 5(A:B=2:8)   | 123.43±2.74* |
| B 시료   | 127.64±2.74* |
| A 시료: 술잎 열수 추출물<br>B 시료: 구기자(열매), 오미자(열매) 및 백년초(열매) 혼합 열수 추출물<br>혼합시료: 중량비<br>* p<0.05 |              |

[0042] 상기 [표 1]의 결과를 참조하여 보면 혼합시료 1이 가장 연골세포 분화 촉진 효과가 높았으며 다음으로 혼합시료 2가 높았다. 또 이들 혼합시료는 단일 시료의 효과보다도 높게 나타났다.

[0043] **통계처리**

[0044] 통계처리는 ANOVA 분석방법을 이용하였으며, 통계학적 유의성은 Student't test를 이용하여 검증하였다(\* P<0.05).