(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0096178
(43) 공개일자 2025년06월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/04 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/04 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2023-0187179
(22) 출원일자 2023년12월20일
심사청구일자 2023년12월20일

(71) 출원인
가톨릭관동대학교산학협력단
강원특별자치도 강릉시 범일로579번길 24(내곡동, 가톨릭관동대학교)
(72) 발명자
임소연
인천광역시 서구 보석로 31, 103동 406호 (청라동, 청라파크자이더테라스1단지)
이세형
인천광역시 서구 청라한울로 17 한라비발디, 384동 2403호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

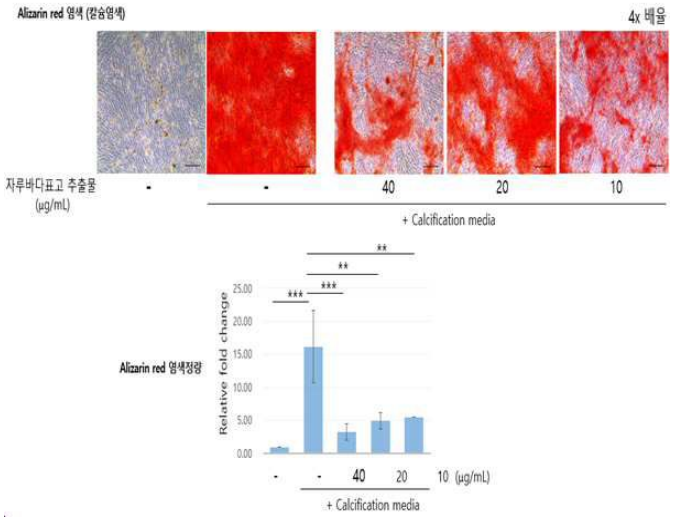
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **자루바다표고 추출물을 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로 상기 자루바다표고 추출물은 세포 독성은 없으면서 혈관세포에 칼슘이 쌓이는 것을 억제하는 효과가 있으므로 상기 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/326 (2013.01)
A23V 2250/202 (2013.01)

(72) 발명자
김상우
인천광역시 중구 하늘별빛로 112 화성파크드림, 893동 2101호
최정원
인천광역시 중구 하늘별빛로 112 화성파크드림, 893동 2101호
김일권
서울특별시 서대문구 수색로 100, 206동 501호 (북가좌동, DMC 래미안 e편한세상)
송병욱
서울특별시 강서구 양천로69길 65, 102동 705호 (염창동, 강변성원아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345365395
과제번호	2021R1I1A2052006
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	혈관석회화와 골다공증의 동시발생에 있어서 세포외 소포체의 작용기전 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	가톨릭관동대학교
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 자루바다표고 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 알코올, 디클로로메탄, 아세톤 및 이들의 혼합용매로 이루어진 군에서 선택되는 용매로 추출된 것인, 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 자루바다표고 추출물은 에탄올 추출물인, 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 혈관 석회화는 골다공증, 고지혈증, 노화, 신장 질환, 고혈압, 심혈관계 질환 또는 혈전에 의해 유발된 것인, 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 자루바다표고 추출물은 에탄올 추출물인, 혈관 석회화의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 자루바다표고 추출물(*Peyssonnelia caulifera*)을 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 혈관 석회화 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 혈관은 체액을 지속적으로 순환시키는 기관으로 산소 및 영양분 등을 조직에 공급하고, 이산화탄소나 노폐물을 조직으로부터 받아 처리하는 기능을 수행한다. 혈관 석회화(vascular calcification)는 혈관에 칼슘 및 인산 등의 무기질이 침착된 것으로 혈관의 경직도를 증가시켜 혈관 파열을 초래한다. 이러한 혈관 석회화는 동맥경화, 당뇨, 만성신부전 환자에게서 흔히 발견되며, 칼슘 축적 억제기 전의 소실, 골 형성 유도, 혈액 내 핵화 복합체, 및 세포사멸 등을 혈관 석회화의 주된 원인으로 보고 있으나, 그 정확한 기전은 아직까지 밝혀져 있지 않다.

[0003] 특히, 심혈관계 석회화는 고혈압, 심부전, 급성 관상동맥증후군과 판막 질환의 악화에 기여하며, 이로 인한 여러 가지 합병증(심장 돌연사, 심근 경색, 협심증 및 허혈성 심부전 등)을 유발한다. 또한, 폐경기 이후의 여성에서는 골다공증 외에도 혈관 석회화가 발생한다. 그러나 혈관 석회화의 정확한 기전은 아직까지 밝혀져 있지 않아 이에 대한 예방 및 치료제도 아직 개발되어 있지 않은 실정이다. 따라서, 혈관 석회화의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 기술의 개발이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 1.국내 등록특허 제10-2331735호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 상기와 같은 상황에서 본 발명자들은 천연물 유래의 혈관 석회화 억제 물질을 찾기 위해 연구한 결과, 자루바다표고 추출물이 세포 독성은 없으면서 혈관세포에 칼슘이 쌓이는 것을 억제한다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0006] 따라서, 본 발명의 목적은 자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 혈관 석회화의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 양상은 자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0008] 본 발명에서 "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 혈관 석회화를 억제시키거나 이의 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0009] 본 발명에서 "치료"란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 혈관 석회화에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0010] 자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*)는 바다표고목 바다표고과에 속하는 홍조류로 부채모양을 하고 있으며 윗면은 반질반질한 붉은 색이고 아랫면은 석회질이 얇게 덮여 있어 조금 회색빛이 난다. 조하대의 수심 20m의 암반에서 자라고, 그늘진 곳에 군락을 이루고 있다. 우리나라뿐만 아니라 인도양, 북태평양 서안에 분포한다. 자루바다표고는 식용하거나 산업적으로 이용하지 않는 종으로 알려져 있으며, 기능성 화장품 개발을 위한 해조류 추출물로 자루바다표고가 콜라겐과 히알루론산 생성에 효과가 높은 것이 알려져 있으나, 혈관 석회화 억제와 관련된 효능은 알려진 바가 없다.

[0011] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물(extract)"은 추출 대상을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 농축 또는 여과시킨 제제를 의미하며, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조(crude) 정제물 또는 정제물일 수 있다.

[0012] 상기 자루바다표고 추출물은 통상의 기술분야에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는 이에 제한되지는 않으나, 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.

[0013] 본 발명에서, 추출 용매는 물, 탄소수 1 내지 6의 알코올, 디클로로메탄, 아세톤 및 이들의 혼합용매로 이루어진 군에서 선택될 수 있으며, 바람직하게는 에탄올일 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 구체예에서는, 자루바다표고를 에탄올에 담근 뒤 소니케이션을 반복하고, 감압 건조시켜 제조된 추출물을 사용하였다 (실시예 1).

[0015] 한편, 이러한 자루바다표고 추출물은 총 중량 기준으로 0.0001 내지 90 중량%로 포함될 수 있으나 이에 제한되지 아니한다. 예를 들어, 자루바다표고 추출물은 조성물의 총 중량 기준으로 0.0001 내지 80 중량%, 0.001 내지 70 중량%, 0.001 내지 50 중량%로 포함될 수 있다.

[0016] 혈관 석회화는 혈관 내에 칼슘 및 인산 등의 무기질이 침착되어 혈관의 경직도가 증가되는 것을 의미하며, 결과적으로는 혈관의 파열을 초래할 수 있다. 본 발명에서, 혈관 석회화는 관상 동맥, 대동맥 및 기타 혈관의 석회화를 포함하며 혈관벽의 내막 석회화, 중막 석회화, 심장판막 석회화 및 저항성 칼슘 형성(calciphylaxis, calcific uremic arteriolopathy)을 포함한다.

[0017] 내막 석회화는 이상지질혈증, 염증 및 내막 비후와 연관되어 죽상동맥경화증을 초래하는데, 내부 혈관벽에 불안

정하고 파열될 수 있는 플라크를 형성하여 폐쇄성 혈관질환을 유발한다. 이에 비하여, 중막 석회화(Monckeberg's arteriosclerosis)는 주로 당뇨병 또는 만성 콩팥병에서 흔한데 당뇨, 칼슘 대사기전 이상 또는 신장 질환 등으로 인하여 골 형성 촉진 인자들이 혈관에 발현되어 발생하는 것으로 알려져 있다. 혈관내강 협착이 없이도 발생할 수 있으므로, 주로 혈관 경직화를 유발하여 심혈관 질환 합병증 발생을 높인다.

[0018] 본 발명에서, 상기 혈관 석회화는 골다공증, 고지혈증, 노화, 신장 질환, 고혈압, 심혈관계 질환 또는 혈전에 의해 유발된 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 약학적 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 이때, 약학적으로 허용되는 담체는 제제시 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아, 고무, 인산칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성 셀룰로스, 폴리비닐 피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0020] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 피부 도포, 정맥내, 피하, 복강 내 주사 또는 국소에 적용)할 수 있으나, 경구 투여하는 것이 바람직하다.

[0021] 경구 투여의 목적으로 본 발명의 유효성분을 정제, 캅셀제, 츄잉정, 분말제, 액제, 현탁제 등의 제제로 제형화하는 경우, 아라비아 고무, 옥수수 전분, 미세결정질 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제, 인산이칼슘 또는 락토스와 같은 부형제, 알긴산, 옥수수 전분 또는 감자 전분과 같은 붕해제, 스테아르산마그네슘과 같은 활택제, 슈크로스 또는 사카린과 같은 감미제 및 페퍼민트, 메틸 살리실산염 또는 과일향과 같은 향미제가 포함될 수 있다.

[0022] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 '약학적으로 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, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약학적 조성물은 0.1 ㎎/㎏ 내지 200 ㎎/㎏, 바람직하게는 1 ㎎/㎏ 내지 50 ㎎/㎏ 용량으로 1일 1회, 또는 1일 3회로 분할하여 투여할 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.

[0023] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0024] 본 발명의 다른 양상은 자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관 석회화의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명의 혈관 석회화의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물은 상술한 약학 조성물에서 기술한 바 있는 자루바다표고 추출물을 이용하기 때문에, 이 둘 사이에 공통된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여, 그 기재를 생략한다.

[0026] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 단독으로 사용하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 이 밖에도 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 자루바다표고 추출물의 혼합량은 그의 사용 목적 (예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 조성물 전체의 중량을 기준으로 15중량% 이하, 바람직하게 0.0001 내지 10 중량%로 첨가될 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있다.

[0027] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 상기 유효성분을 필수 성분으로서 함유하는 것 외에, 탄수화물 식품(곡류, 서류, 두류, 설탕, 및 엿류 등), 단백질 식품(육류, 난류, 우유류, 어패류, 대두, 및 땅콩 등), 유지식품(식물성 유지, 동물성유지, 및 마아가린 등) 등과 함께 제공될 수 있다. 또한, 필요에 따라 비타민 식품(녹황색 채소류, 과일류, 간, 어패류 등), 무기질 식품(뼈째 먹는 작은 생선류, 해조류, 식염, 우유 등)을 추가로 함유할 수 있다.

[0028] 상기 외에 본 발명의 기능성 식품 조성물은 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, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 영양제 등의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

발명의 효과

[0029] 본 발명에 따른 자루바다표고(*Peyssonnelia caulifera*) 추출물은 세포 독성은 없으면서 혈관세포에 칼슘이 쌓이는 것을 억제하는 효과가 있으므로 혈관 석회화의 예방 또는 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 인간 동맥 평활근 세포를 석회화 세포로 분화시키면서 자루바다표고 추출물을 같이 처리한 후 세포 내 칼슘을 염색한 결과(A) 및 염색 정도를 정량한 결과(B)이다.

도 2는 인간 동맥 평활근 세포를 석회화 세포로 분화시키면서 자루바다표고 추출물을 같이 처리한 후 세포 내 실제 칼슘 농도를 정량한 결과이다.

도 3은 인간 동맥 평활근 세포를 석회화 세포로 분화시키면서 자루바다표고 추출물을 같이 처리한 후 혈관평활근세포 및 조골세포의 발현마커를 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0033] **실시예 1: 자루바다표고 추출물 제조**

[0034] 자루바다표고 추출물(MABIK NP30200001)은 국립해양생물자원관 해양추출물 뱅크를 통해 분양 받았다. 2017년 제주특별자치도 서귀포시에서 채취한 자루바다표고(*Peyssonnelila caulifera*)를 3회 수세하고 동결건조 시켰다. 건조된 자루바다표고 파우더 30g을 70% 에탄올 400 ㎖에 넣고, 상온에서 초음파추출기(40KHz, 60분)로 3회 반복 추출하였다. 얻어진 추출물을 필터링하고 농축시켜 최종 800 ㎎의 추출물을 수득하였다. 이하 실험에서는 해당 분말을 DMSO에 녹여 사용하였다.

[0036] **실시예 2: 자루바다표고 추출물의 혈관 석회화 억제 효과**

[0037] 동맥 경화반 내에 존재하는 석회화증을 대상으로 자루바다표고 추출물의 영향을 다음과 같이 확인하였다. 석회화의 증가는 심혈관 질환(cardiovascular event)의 증가와 연관이 있다.

[0038] 동맥 내 병리학적 자극에 의해 석회화 세포로 분화할 수 있는 혈관세포인 인간 동맥 평활근 세포(human aortic smooth muscle cell)를 플레이트에 분주하고, 석회화 세포 분화배지(angiotensin II 포함)를 14일 동안 처리하였다. 자루바다표고 추출물은 3일마다 10, 20 또는 40 ㎍/㎖ 농도로 처리하였다.

[0040] **2-1. 알리자린 레드 염색 및 정량**

[0041] 14일 후 칼슘을 염색할 수 있는 알리자린 레드(alizarin red)로 세포를 염색하여 석회화 정도를 확인하고, 10% 아세트산으로 염색된 알리자린 레드를 추출하여 농도를 측정하였다. 데이터는 평균±표준오차로 나타내었다.

[0042] 그 결과, 자루바다표고 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 자루바다표고 추출물 처리군에서는 40 ㎍/㎖ 농도로 처리하였을 때 석회화 억제 효과가 가장 우수하게 나타났다 (도 1; "일원분산 분석에 이은 터키 다중 비교 테스트 (1-way ANOVA test followed by Turkey's multiple comparisons test). n = 3 각 그룹에 대한 3개의 독립실험"에 따라 분석함. *p***<0.001*, *p**<0.01*).

[0044] 2-2. Calcium assay

[0045] 세포 내 실제 칼슘 농도를 정량한 결과, 대조군과 비교하여 자루바다표고 추출물 처리군에서는 처리 농도에 의존적으로 세포 내 칼슘 농도가 감소하는 것을 알 수 있었다 (도 2; "일원분산 분석에 이은 터키 다중 비교 테스트 (1-way ANOVA test followed by Turkey's multiple comparisons test). n = 3 각 그룹에 대한 3개의 독립 실험"에 따라 분석함. *p***<0.001, p*<0.05, n.s.= not significant*).

[0047] **실시예 3: 자루바다표고 추출물의 석회화 관련 발현 마커의 평가**

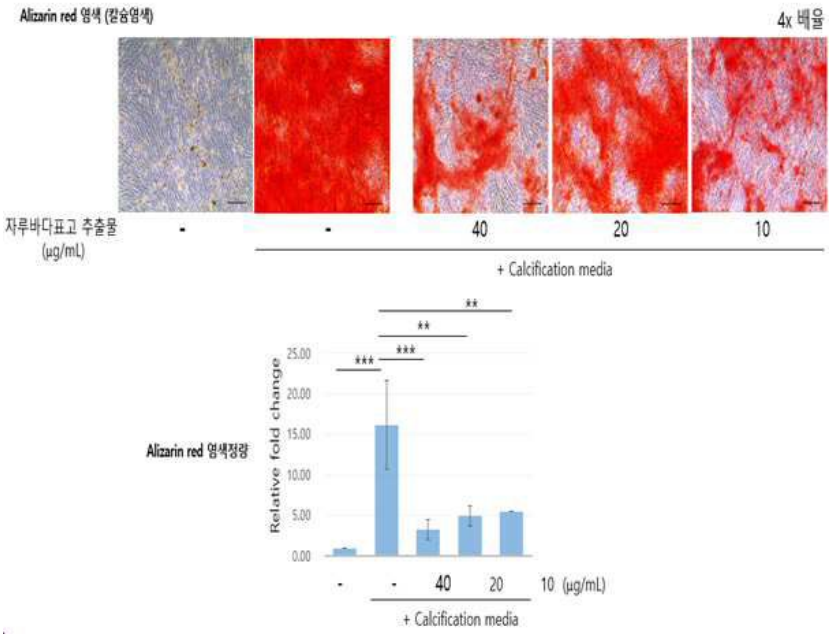
[0048] 3-1. 웨스턴블롯

[0049] 혈관평활근세포로부터 세포내 석회화 세포로의 분화를 확인하기 위해 분화마커를 세포내의 단백질 이용하여 확인하였다. 단백질은 세포를 단백질분해효소 억제제(Santa Cruz Biotechnology)를 포함한 RIPA 버퍼(25 mM Tris pH 7.6, 150 mM NaCl, 1 % NP-40, 1 % sodium deoxycholate, 0.1 % SDS)를 사용하여 분리한 뒤 비신코닌산 분석(Bicinchoninic Acid Assay, BCA) 방법으로 단백질농도를 결정하였다. 샘플마다 10 내지 20ug의 단백질을 덜어내어 12 % SDS-폴리아크릴아미드 젤 (SDS-polyacrylamide gel)에서 분자량으로 분리한 뒤 PVDF 멤브레인(Merk Millipore)으로 옮긴 뒤 5 % skim milk로 30분간 상온에서 블로킹(blocking)을 하고 해당 1차 항체로 4 ° C에서 12시간동안 배양한 후, 2차 항체로 1시간동안 상온에서 최종 배양하였다. 마지막으로 ECL 용액을 멤브레인 위에 뿌려주고 최종 샘플간의 단백질 정도의 차이를 확인한 뒤 ImageJ 1.52a 소프트웨어를 사용하여 정량하였다.

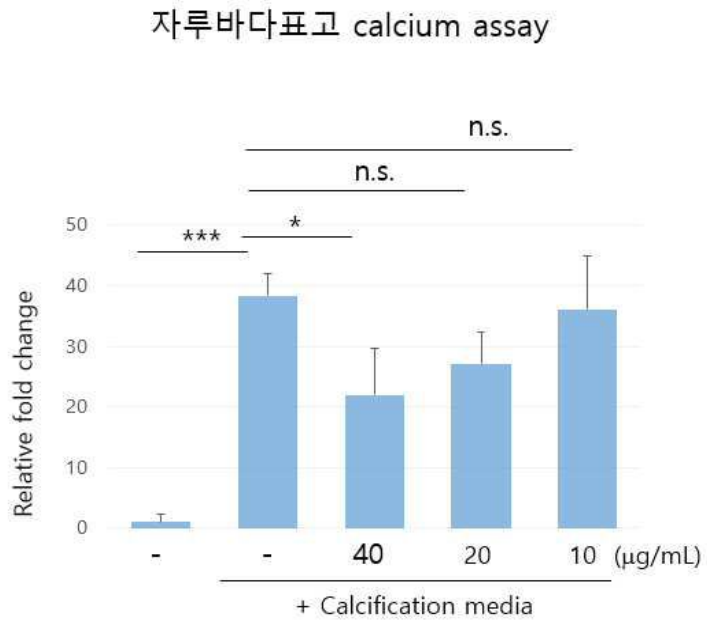
[0050] 그 결과, 자루바다표고 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 자루바다표고 추출물 처리군에서는 혈관평활근세포 특이적인 발현마커(calponin)의 발현정도가 증가하고 조골세포 특이적인 발현마커(osteocalcin, osterix)들의 발현정도는 억제된 것으로 석회화가 억제된 것을 확인할 수 있었다 (도 3).

도면

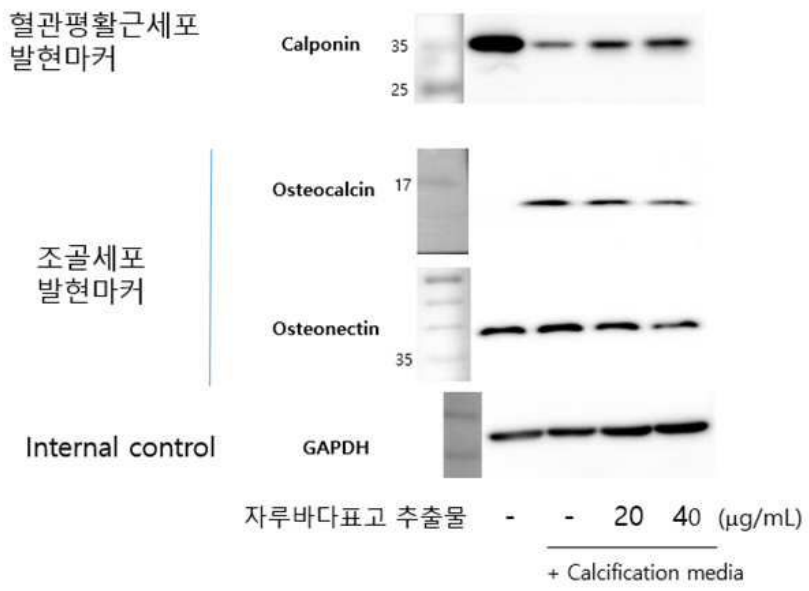
도면1



도면2


자루바다표고 calcium assay
n.s.
n.s.
***
*
Relative fold change
50
40
30
20
10
0
-
-
40
20
10
(μg/mL)
+ Calcification media

도면3


혈관평활근세포
발현마커
Calponin
35
25
조골세포
발현마커
Osteocalcin
17
Osteonectin
35
Internal control
GAPDH
자루바다표고 추출물
-
-
20
40
(μg/mL)
+ Calcification media