



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0049481  
(43) 공개일자 2019년05월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/41 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)  
A61K 36/185 (2006.01) A61K 36/53 (2006.01)  
A61K 36/81 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/41 (2013.01)  
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0127115

(22) 출원일자 2018년10월24일

심사청구일자 2018년10월24일

(30) 우선권주장

1020170142651 2017년10월30일 대한민국(KR)

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

박광균

서울특별시 동대문구 천장산로11길 17, 203동 1003호 (이문동, 이문삼성래미안아파트)

정원윤

서울특별시 마포구 독막로28길 7, 101동 1501호 (신수동, 성원아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이재영

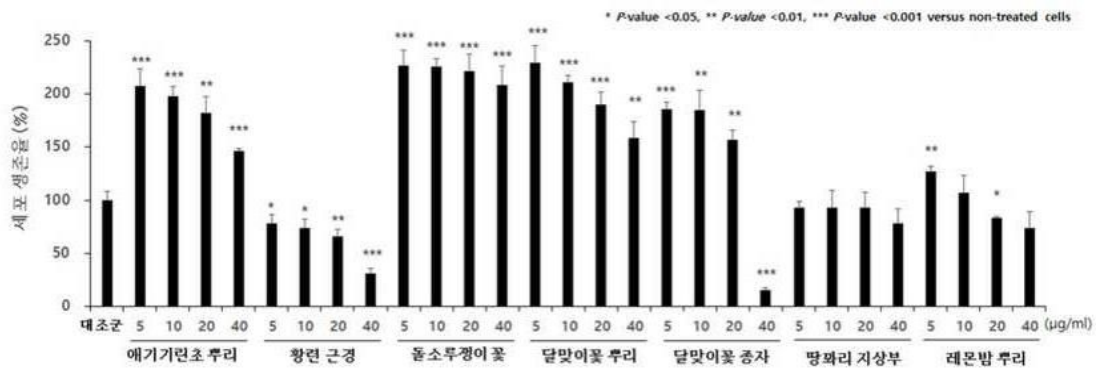
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 골질환의 예방 또는 치료용 식물 추출물 조성물

### (57) 요약

본 발명은 골질환의 예방 또는 치료를 위한 식물 추출물 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 본 발명에 따른 조성물은 세포 독성이 낮아 안정적이며, 파골세포의 형성을 억제시켜 골손실로 인한 골질환을 억제하는데 효과가 있으므로 골질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 골질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

### 대표도



(52) CPC특허분류

**A61K 36/185** (2013.01)

**A61K 36/53** (2013.01)

**A61K 36/81** (2013.01)

**A23V 2002/00** (2013.01)

**A23V 2200/306** (2013.01)

(72) 발명자

**이주희**

서울특별시 서대문구 명지대5길 10-3 (남가좌동)

**심재훈**

서울특별시 동작구 상도로22가길 11(상도동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 316054-03

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림식품기술기획평가원

연구사업명 고부가가치식품기술개발사업

연구과제명 치주질환 예방·개선 고부가가치식품 연구개발 및 산업화

기 여 율 1/1

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2016.07.07 ~ 2018.12.31

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 동속식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 골질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 돌소루쟁이 동속식물은 수영, 애기수영, 돌소루쟁이, 소리쟁이, 목발소리쟁이, 및 개대황으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 약학조성물.

#### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 추출물은 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤의 뿌리, 근경, 꽃, 잎, 줄기, 종자, 열매, 과병, 과피, 수피, 또는 전초 추출물인, 약학조성물.

#### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 골질환은 골다공증, 골연화증, 구루병, 골감소증, 섬유성 골염, 무형성 골질환, 골형성 부전증, 골위축, 파제트(paget's disease), 치주염(periodontitis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 대사성 골질환 및 암세포의 골전이에 의해 유발되는 뼈의 손상으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 약학조성물.

#### 청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 약학조성물은 파골세포의 형성을 억제하는 것인, 약학조성물.

#### 청구항 6

애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 동속식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 골질환의 예방 또는 개선용 식품조성물.

#### 청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 돌소루쟁이 동속식물은 수영, 애기수영, 돌소루쟁이, 소리쟁이, 목발소리쟁이, 및 개대황으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 식품조성물.

#### 청구항 8

제 6항에 있어서,

상기 추출물은 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤의 뿌리, 근경, 꽃, 잎, 줄기, 종자, 열매, 과병, 과피, 수피, 또는 전초 추출물인, 식품조성물.

#### 청구항 9

제 6항에 있어서,

상기 골질환은 골다공증, 골연화증, 구루병, 골감소증, 섬유성 골염, 무형성 골질환, 골형성 부전증, 골위축, 파제트(paget's disease), 치주염(periodontitis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 대사성 골질환 및 암세포의 골전이에 의해 유발되는 뼈의 손상으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 식품조성물.

#### 청구항 10

제 6항에 있어서,

상기 약학조성물은 파골세포의 형성을 억제하는 것인, 식품조성물.

#### 청구항 11

(a) 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 식물 재료를 분말화 하는 단계; 및

(b) 상기 분말을 용매추출장치에서 유기용매로 추출한 뒤 여과하는 단계를 포함하는, 골질환의 예방 또는 치료용 약학조성물의 제조방법.

#### 청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 용매추출장치의 온도는 30° C 내지 60° C인, 제조방법.

#### 청구항 13

제 11항에 있어서,

상기 추출하는 단계는 에탄올 또는 메탄올로 추출하는 것인, 제조방법.

#### 청구항 14

제 11항에 있어서,

상기 식물 재료는 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤의 뿌리, 근경, 꽃, 잎, 줄기, 종자, 열매, 과병, 과피, 수피, 또는 전초인, 제조방법.

#### 청구항 15

제 11항에 있어서,

상기 골질환은 골다공증, 골연화증, 구루병, 골감소증, 섬유성 골염, 무형성 골질환, 골형성 부전증, 골위축,

파제트(paget's disease), 치주염(periodontitis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 대사성 골질환 및 암세포의 골전이에 의해 유발되는 뼈의 손상으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 제조방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

- [0001] 본 발명은 골질환의 예방 또는 치료를 위한 식물 추출물 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 본 발명에 따른 조성물은 파골세포의 형성을 억제시켜 골손실로 인한 골질환을 억제하는데 효과가 있어, 골질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 골질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

### 배경 기술

- [0003] 다핵 대형 세포인 파골세포(osteoclast)는 골(bone) 조직의 파괴 및 흡수의 기능을 가지고 있어, 골 기질을 파괴하고 뼈의 미네랄을 분해하는 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 활성화된 파골세포는 세 개 이상의 핵을 가지고 있는데, 파골 전구세포(precursor cell)로부터 성숙한 다핵의 파골세포로 분화되기 위해서는 다양한 호르몬들과 인자들을 필요로 한다. 그 중 가장 중요한 두 가지 인자는 조골세포(osteoblast)가 생산하는 M-CSF(macrophage colony stimulating factor)와 RANKL(receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand)이다(문헌 [Mojtaba A., *et al.*, *Cancer Biol Ther.*, 7:1,3-9;1 (2008)]).
- [0004] M-CSF는 조골세포와 골수 기질세포(stromal cell)가 발현하는 사이토카인으로 파골세포 형성에 중요한 역할을 하며, 주로 세포의 증식, 생존, 세포골격 형성(cytoskeletal organization) 등에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다(문헌 [Kim SY., *et al.*, *J Korean Orthop Assoc.*, 44:151-158 (2009)]). 또 다른 중요 인자인 RANKL은 조골세포가 발현하며, 파골세포 전구세포에 있는 RANK 수용기에 부착하여 파골세포의 성장과 분화를 유도한다(문헌 [Mojtaba A., *Cancer biology & Therapy*, 7:1,3-9;1 (2008)]). 또한, RANKL은 c-fos, NFATc1(nuclear Factor Of Activated T-Cells, cytoplasmic, calcineurin-dependent 1), NF-kB(nuclear factor kappa B) 등과 같은 전사인자들을 활성화하여 파골세포의 분화를 촉진하고, PI-3K(phosphatidylinositol 3-kinase), ERK(extracellular signal-regulated kinase)와 같은 신호전달 체계를 활성화하여 파골세포의 생존 및 기능을 촉진하는 역할도 담당하는 것으로 알려져 있다(문헌 [LEE ZH., *et al.*, *Biochem Biophys Res Commun.*, 305:211-213 (2003)]).
- [0005] 이러한 파골세포는 골 내에서 조골세포와의 불균형으로 인하여 비정상적인 골 조직의 파괴 및 흡수를 유발하고 이로 인하여, 골의 질량 및 골밀도가 감소하는 골다공증(osteoporosis), 뼈에서 석회화 탈실되는 골연화증(osteomalacia), 골수가 섬유화되는 섬유성골염(fibrous ostitis), 치조골이 소실되는 치주염(periodontitis), 관절의 파괴 및 변형을 초래하는 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis) 등의 원인이 되는 것으로 알려져 있다.
- [0006] 따라서 파골세포에 의한 골 조직의 파괴 및 흡수를 효과적으로 억제할 수 있다면, 이로 인한 다양한 골 질환을 치료할 수 있을 것이라 예상되며, 이에 따라 파골세포에 대한 다양한 약물들과 치료법들이 활발히 연구되고 있다. 예를 들어, 골다공증과 같은 파골세포에 의한 골 손상 치료에 포사맥스(Fosamax, 성분명: aledronate), 악토넬(Actonel, 성분명: risedronate), 조메타(Zometa, 성분명: zoledronate) 등과 같은 비스포스포네이트(bisphosphonate) 계열의 치료제가 널리 이용되고 있다. 이러한 비스포스포네이트 제제들은 대부분 뼈를 파괴하는 파골세포의 기능을 약화시키고 파골세포의 사멸을 유도해 뼈의 손실을 지연시키거나 억제하는 작용을 한다. 그러나 비스포스포네이트 계열의 약제들을 복용하는 환자들에게서 턱뼈 괴사(osteonecrosis), 중증 심방 세동, 뼈 또는 관절의 무력화, 근육격의 통증 등 다양한 부작용이 발생하는 사례가 해마다 증가하고 있다(문헌 [Coleman RE., *Br J Cancer*, 98:1736-1740 (2008)]). 또한 유방암, 전립선암 등에서 뼈로 전이된 암세포에 의해서도 파골세포의 형성이 촉진되어 심각한 골 질환들이 발생하는데 이를 치료하기 위한 약물은 개발되어 있지 않은 실정이다.
- [0007] 이와 같이, 기존의 제제들의 단점을 보완하고, 독성이 없으며, 파골세포에 의한 골 흡수를 효과적으로 억제할 수 있는 약제들의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 이에 따라, 본 발명자들은 부작용 및 독성이 없으면서도, 파골세포 형성을 효과적으로 억제하여 골손실을 감소시켜 골손실로 인해 유도되거나 골손실을 유발하는 질환의 발

병을 예방하고 치료할 수 있는 천연물을 연구하였으며, 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리 레몬밤 추출물이 파골세포의 형성을 억제함으로써 골질환에 대한 예방 또는 치료 효과를 갖는다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 상기와 같은 종래 기술상의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 골질환의 예방 또는 치료를 위한 다양한 식물 추출물 조성물을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 추출물을 유효성분으로 각각 포함하는 골질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 추출물을 유효성분으로 각각 포함하는 골질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

- [0013] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물, 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구현예는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구현예" 또는 "구현예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구현예에서" 또는 "구현예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구현예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.
- [0015] 본 발명에 사용되는 “애기기린초(*Sedum middendorffianum* Max.)”는 돌나물과의 여러해살이풀로서 대한민국 중부 이북의 고산 지대에 주로 분포한다. 약용부위는 주로 지상부를 사용하며, 혈액 순환을 원활하게 하고 근육의 긴장을 풀어주며, 열을 내리고 독을 없애는 방법에 사용되는 것으로 알려져 있다.
- [0017] 본 발명에 사용되는 “돌소루쟁이(*Rumex obtusifolius*)”는 다년생 초본으로 약용 부위는 뿌리가 주로 사용된다. 살충, 설사, 해열, 어혈, 건위, 각기, 부종, 황달, 변비, 통경, 산후통, 피부병에 약효가 있다고 알려져 있다.
- [0019] 본 발명에 사용되는 “달맞이꽃(*Oenothera odorata*)”은 남아메리카 칠레가 원산지인 귀화 식물이며 바늘꽃과에 딸린 두해살이풀이다. 뿌리는 봄 또는 여름에 채취하여 햇빛에 말리고, 종자는 완숙된 것을 가을에 채취하여 볶아 기름으로 활용한다. 뿌리는 감기로 열이 높고 인후염이 있을 때 물에 넣고 달여서 복용하고, 종자는 고지혈증에 사용한다. 달맞이꽃 종자유에 들어있는 감마 리놀렌산이라는 불포화 지방산은 프로스타글란딘이라는 생리적 활성 물질의 모체가 되어 프로스타글란딘이 인체에서 하는 생리작용인 혈관의 수축과 확장, 기관지 근육의 수축과 이완, 위액 분비의 억제, 자궁 근육 수축, 수분 배설, 혈소판 응집의 유도 또는 저해 등을 통해 심근경색이나 동맥경화, 고혈압, 협심증 등 순환기계 장애나 심혈관 질환을 개선시킨다고 알려져 있다. 또한 류머티스성 관절염에 효능이 크며, 피부 미용에도 효과가 좋다.
- [0021] 본 발명에 사용되는 “땅파리(*Physalis angulata* L.)”는 쌍떡잎식물 가지과의 한해살이풀로서 열대 아프리카 원산이며 약용식물로 들여와 제주도 및 남부지방에서 재배하던 것이 지금은 야생으로 퍼져 자라는

귀화식물이다. 항종양 활성, 항염증 및 통증 억제, 항백혈병 및 항돌연변이 활성 등이 보고되고 있다.

- [0023] 본 발명에 사용되는 “레몬밤(*Melissa officinalis*)”은 남유럽, 지중해 연안이 원산지인 다년초식물이다. 진정, 소화, 발한, 해열 등의 작용 효과가 알려져 있으며, 잎에 함유된 에센셜 오일은 우울증, 신경성 두통, 기억력 저하, 신경통, 발열 등에 잘 들어 신경 계통, 호흡기 계통, 심장, 순환기 계통, 소화기 계통의 약으로 쓰인다. 잎으로 만든 허브차는 뇌의 활동을 높여 기억력을 증진시키고 우울증을 없애기도 한다.
- [0025] 본 발명에 사용되는 용어 “지상부”란, 식물을 구성하는 부분 중 지면(흙) 위로 노출되는 부분을 의미한다. 일반적으로 지상부에 속하는 요소로는 줄기, 잎, 꽃, 수피, 열매 등이 있으나 이제 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명에 사용되는 용어 “지하부”란, 식물을 구성하는 부분 중 지면(흙) 아래 부분을 의미한다. 일반적으로 지하부에 속하는 요소로는 뿌리를 의미하고, 상기 뿌리는 무, 당근, 인삼, 쑥, 고구마 등의 저장뿌리를 포함한다. 죽순, 토란, 연근 등과 같이 줄기이나 지면 아래 존재하는 경우에도 지하부에 포함될 수 있다.
- [0029] 본 발명에 사용되는 용어 “추출물”이란, 천연물로부터 분리된 활성성분을 의미하는 것으로서, 예를 들어, 천연물을 적절한 용매로 짜내고 여과한 후 용매를 증발시켜 농축한 제제를 의미한다. 또한, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물 또는 이들의 정제물일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 추출방법으로는 이에 제한되지는 않으나, 용매 추출법, 초음파 추출법, 초임계 추출법, 발효법 및 포제법으로 이루어진 군으로부터 선택된 추출법으로 수득할 수 있으며, 보다 구체적으로는 용매 추출법을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 용매 추출법은 물, 유기용매 및 이들의 혼합 용매로 이루어진 군으로부터 선택되는 용매로 추출할 수 있으며, 유기용매는 바람직하게는 에탄올일 수 있다.
- [0031] 본 발명에 사용되는 용어 “골질환(bone disease)”이란, 뼈 내의 파골세포와 조골세포의 불균형에 의해 유발되는 질환을 의미하는 것으로, 파골세포의 과다한 생성 및/또는 이동으로 인해 나타나는 상태 또는 질환이다. 골질환으로는 바람직하게는 골다공증, 골연화증, 구루병, 골감소증, 섬유성 골염, 무형성 골질환, 골형성 부전증, 골위축, 파제트(paget's disease), 치주염(periodontitis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 대사성 골질환 및 암세포의 골전이에 의해 유발되는 뼈의 손상 등이 있으나 파골세포의 골 흡수에 의해 유발되는 질환이라면 이에 제한되지는 않는다.
- [0033] 본 발명에 사용되는 용어 “골질환의 예방 또는 치료” 및 “골질환의 예방 또는 개선”이란, 본 발명에 따른 조성물을 개체에 투여하는 달성된다. 이는 골질환의 예방, 개선 및 치료를 포함하는 것으로, 골질환 증상의 감소, 개선, 고통 경감, 발생을 감소, 완전한 또는 부분적인 치료를 포함한다.
- [0035] 본 발명에 사용되는 용어 “개체”란, 골질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미한다. 본 발명의 조성물을 개체에게 투여하여 상기 골질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있으며, 골질환을 개선시킬 수 있다.
- [0037] 본 발명에 사용되는 용어 “투여”란, 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하는 것으로, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여가 이에 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0039] 본 발명에 사용되는 용어 “약학 조성물”이란, 특정한 목적을 위해 투여되는 조성물을 의미하는 것으로, 본 발

명의 약학 조성물은 상기 식물 추출물을 유효성분으로 포함하고 골질환을 예방 또는 치료하는 것을 목적으로 한다. 상기 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 등의 형태일 수 있으며, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화되어 사용될 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0040] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며, 약학적으로 허용되는 담체는 경구 투여시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용될 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용될 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤회제, 보존제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여 시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조될 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조될 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형화될 수 있다. 또한, 제형화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있으며, 충진제, 향응집제, 윤회제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등이 추가로 포함될 수 있다.

[0041] 본 발명에 사용되는 용어 “약학적으로 유효한 양”이란, 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체의 성별, 연령, 체중, 건강상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 약 0.01mg/kg/일 내지 1000mg/kg/일의 용량으로 투여할 수 있다. 경구 투여하는 경우, 50 내지 500 mg/kg의 범위가 적합할 수 있으며, 1일 1회 이상 투여할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제 등으로 제형화될 수 있다.

[0043] 본 발명에 사용되는 용어 “식품 조성물”이란, 건강보조의 목적으로 본 발명의 조성물을 식품의 원료로 한 것으로, 이를 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조 및 가공하여 건강식품을 제조할 수 있다. 이렇게 제조된 건강식품은 질병의 예방 및 질병의 개선 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다. 건강식품의 종류에는 제한이 없으며, 본 발명의 식품 조성물은 당업자에 따라 식품에 함유될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다.

[0044] 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 추출물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다. 이외에도 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다. 또한, 본 발명의 식품 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르트암과 같은 합성감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

[0045] 이외에도, 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

[0047] 본 발명의 일 구체예에서, 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 동속식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 골질환의 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공하고, 상기 돌소루쟁이 동속식물은 수영, 애기수영, 돌소루쟁이, 소리쟁이, 목발소리쟁이, 및 개대황으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 약학 조성물을 제공하며, 상기 추출물은 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤의 뿌리, 근경, 꽃,

있, 줄기, 종자, 열매, 과병, 과피, 수피, 또는 전초 추출물인 약학조성물을 제공하며, 상기 골질환은 골다공증, 골연화증, 구루병, 골감소증, 섬유성 골염, 무형성 골질환, 골형성 부전증, 골위축, 파제트(paget's disease), 치주염(periodontitis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 대사성 골질환 및 암세포의 골전이에 의해 유발되는 뼈의 손상으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 약학조성물을 제공하며, 상기 약학조성물은 파골세포의 형성을 억제하는 것인 약학조성물을 제공한다.

[0049]

본 발명의 다른 구체예에서, 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 동속식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 골질환의 예방 또는 개선용 식품조성물을 제공하고, 상기 돌소루쟁이 동속식물은 수영, 애기수영, 돌소루쟁이, 소리쟁이, 목발소리쟁이, 및 개대황으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 식품조성물을 제공하며, 상기 추출물은 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤의 뿌리, 근경, 꽃, 잎, 줄기, 종자, 열매, 과병, 과피, 수피, 또는 전초 추출물인 식품조성물을 제공하며, 상기 골질환은 골다공증, 골연화증, 구루병, 골감소증, 섬유성 골염, 무형성 골질환, 골형성 부전증, 골위축, 파제트(paget's disease), 치주염(periodontitis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 대사성 골질환 및 암세포의 골전이에 의해 유발되는 뼈의 손상으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 식품조성물을 제공하며, 상기 약학조성물은 파골세포의 형성을 억제하는 것인 식품조성물을 제공한다.

[0051]

본 발명의 또 다른 구체예에서, (a) 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 식물 재료를 분말화 하는 단계; 및 (b) 상기 분말을 용매추출장치에서 유기용매로 추출한 뒤 여과하는 단계를 포함하는 골질환의 예방 또는 치료용 약학조성물의 제조방법을 제공하고, 상기 용매추출장치의 온도는 30° C 내지 60° C인 제조방법을 제공하며, 상기 추출하는 단계는 에탄올 또는 메탄올로 추출하는 것인 제조방법을 제공하며, 상기 식물 재료는 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤의 뿌리, 근경, 꽃, 잎, 줄기, 종자, 열매, 과병, 과피, 수피, 또는 전초인 제조방법을 제공하며, 상기 골질환은 골다공증, 골연화증, 구루병, 골감소증, 섬유성 골염, 무형성 골질환, 골형성 부전증, 골위축, 파제트(paget's disease), 치주염(periodontitis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 대사성 골질환 및 암세포의 골전이에 의해 유발되는 뼈의 손상으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 제조방법을 제공한다.

[0053]

이하 상기 본 발명을 단계별로 상세히 설명한다.

### 발명의 효과

[0055]

본 발명에 따른 식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 세포 독성이 낮아 안정적이며, 파골 세포의 분화를 억제하여 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물, 및 골질환의 예방 및 개선용 식품 조성물 등에 다양하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

### 도면의 간단한 설명

[0057]

도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 식물 추출물의 농도별 세포 독성 측정 결과를 나타낸 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 동속식물 추출물의 농도별 세포 독성 측정 결과를 나타낸 도면이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 추출물의 농도별 파골세포 계수 결과를 나타낸 도면이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 추출물의 농도별 파골세포 분화 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 동속식물 추출물의 농도별 파골세포 계수 결과를 나타낸 도면이다.

다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 동속식물인 개대황 추출물의 과골세포 분화 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 동속식물인 애기수영 추출물의 과골세포 분화 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 동속식물인 소리쟁이 추출물의 과골세포 분화 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 동속식물인 목발소리쟁이 추출물의 과골세포 분화 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 지상부 및 지하부 추출물의 과골세포 분화 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 돌소루쟁이 동속식물인 수영 추출물의 과골세포 분화 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

### 제조예: 식물 추출물의 제조

본 발명의 실험 대상으로 선별한 천연물인 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 및 레몬밤 표본을 수집하여 건조하였다. 상기 식물들은 뿌리, 근경, 꽃, 종자, 또는 전초 등의 특정 부위를 구분하여 사용하였다. 건조시킨 각각의 시료 분말 2kg을 50℃ 가속용매추출장치(Accelerated Solution Extractor, Dinox, USA)에서 80% 에탄올로 추출 및 여과한 후, 용매를 증발시켜 농축하여 각각의 식물 추출물을 수득하였다.

상기 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 및 레몬밤의 동속식물을 하기 표 1에 나타내었고, 본 발명에서 사용한 돌소루쟁이 동속식물의 추출물 정보를 표 2에 나타내었다. 표 2에 기재된 식물들은 모두 마디풀과(Polygonaceae)에 속하는 것이고, 99.9% 메탄올(HPLC grade)을 이용하여 추출하였다.

표 1

식물명	동속식물명
애기기린초	땅채송화 (Sedum oryzifolium)
	기린초(Sedum kamtschaticum)
	바위채송화(Sedum polystichoides)
	태백기린초(Sedum latiovalifolium)
	돌나물(Sedum sarmentosum)
	새끼뽕의비름(Sedum viviparum)
	섬기린초(Sedum takesimense)
	큰뽕의비름(Sedum spectabile)
	둥근잎뽕의비름(Sedum rotundifolium)
	말뽕비름(Sedum bulbiferum)
돌소루쟁이	수영(Rumex acetosa)
	목발소리쟁이(Rumex conglomeratus)
	애기수영(Rumex acetocella)
	소리쟁이(Rumex crispus)
	개대황(Rumex longifolious)
달맞이꽃	애기맞이꽃(Oenothera laciniata)
	큰달맞이꽃(Oenothera lamarckiana)

큰까마중	배풍등( <i>Solanum lyratum</i> )
	까마중( <i>Solanum nigrum</i> )
	가지( <i>Solanum melongena</i> )

표 2

	국명	학명	부위	채취장소	채취일
1	목발소리쟁이	<i>Rumex conglomeratus</i>	지상부	울릉도	2002.05.09.
2	목발소리쟁이	<i>Rumex conglomeratus</i>	지하부	울릉도	2002.05.09.
3	돌소루쟁이	<i>Rumex obtusifolius</i>	지상부	전라남도	2003.04.15.
4	돌소루쟁이	<i>Rumex obtusifolius</i>	지하부	전라남도	2003.04.15.
5	소리쟁이	<i>Rumex crispus</i>	지상부	전라북도	2003.05.29.
6	소리쟁이	<i>Rumex crispus</i>	지하부	전라북도	2003.05.29.
7	소리쟁이	<i>Rumex crispus</i>	전초	제주도	2003.05.22.
8	개대황	<i>Rumex longifolious</i>	지상부	강원도	2006.05.17.
9	개대황	<i>Rumex longifolious</i>	지하부	강원도	2006.05.17.
10	애기수영	<i>Rumex acetocella</i>	전초	강원도	2008.06.02.
11	수영	<i>Rumex acetosa</i>	전초	제주도	2007.12.14.

#### 실시예 1: 생쥐 골수 대식세포의 준비

생쥐 골수 대식세포의 준비를 위하여, 3주령의 수컷 ICR 생쥐(주나라바이오텍, 대한민국)를 경추 탈골시킨 뒤에 검좌를 이용하여 뒷다리의 외피를 벗기고, 수술용 가위로 외피가 벗겨진 뒷다리를 절단하여 혈청이 첨가되지 않은  $\alpha$ -MEM(minimum essential medium alpha; Gibco, 미국)에 담가두었다. 그리고 핀셋을 이용하여 근육 속의 뼈를 분리하여 새로운  $\alpha$ -MEM에 옮겨 담고, 주사기에 600  $\mu$ l의  $\alpha$ -MEM을 담아 분리된 다리뼈의 중앙 척수 부분에 꽂고 2 내지 3회 분사하여 골수 세포를 적출하였다. 적출한 골수세포를 원심분리를 통하여 상층액을 제거하고 새로운  $\alpha$ -MEM을 섞은 후, 분리 배지 히스토파크(histopaque; Sigma-Aldrich, 미국)를 사용하여 상기 골수세포로부터 골수 대식세포를 분리하였다. 그리고  $\alpha$ -MEM에 1%의 항생-항균 용액(antibiotic-antimycotic; Gibco, 미국), 10%의 우태아혈청(fetal bovine serum(FBS); Gibco, 미국), M-CSF(macrophage-colony stimulating factor; R&D system Inc., 미국) 30ng/ml을 첨가한 후, 분리된 생쥐 골수 대식세포를 배양하였다.

#### 실시예 2: 식물 추출물의 세포 독성 측정 실험

상기 제조예에 기재한 식물 추출물의 세포 독성을 확인하기 위하여, 실시예 1에 기재한 방법으로 준비된 생쥐 골수 대식세포를 이용하였다. 식물 추출물은 DMSO(dimethyl sulfoxide; Sigma-Aldrich, 미국)에 용해시키고, 1%의 항생-항균 용액, 10% FBS, 및 30ng/ml의 M-CSF가 첨가된  $\alpha$ -MEM을 이용하여 희석하여, 각각 5, 10, 20, 40, 또는 80  $\mu$ g/ml의 농도가 되도록 희석하였다. 이 후, 96-웰 플레이트의 각 웰에  $5 \times 10^4$ 개의 생쥐 골수 대식세포를 첨가한 후, 희석된 추출물이 첨가되어 있는  $\alpha$ -MEM을 각각 200  $\mu$ l씩 첨가하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 세포 배양기에서 생쥐 골수 대식세포를 배양하였다. 이 후, 이틀마다 추출물이 포함된 새로운  $\alpha$ -MEM(1%의 항생-항균 용액, 10% FBS, 30ng/ml의 M-CSF 첨가)으로 교환해주며 5일간 배양하였다. 5일 뒤, 5mg/ml MTT(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide; Sigma Aldrich, 미국) 용액을 각 웰당 20  $\mu$ l씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 세포 배양기에 넣어 4 시간 동안 반응시켰다. 배지를 제거하고 난 뒤, DMSO 100  $\mu$ l씩 넣고 웨이커에서 20분간 용해시켜 ELISA 리더기를 이용해 570nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율 및 시료의 독성 유무를 확인하였다. 세포 생존율은 대조군(배지만 처리한 웰)의 생존율에 대한 실험군(각 추출물을 처리한 각각의 웰)의 생존율을 백분율로 계산하였다. 상기 애기기린초, 돌소루쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 추출물의 세포생존율 결과를 표 3과 도 1에, 돌소루쟁이 동속식물 추출물의 세포생존율 결과를 표 4 내지 표 9와 도 2에 나타내었다.

실험 결과, 애기기린초 뿌리 추출물, 돌소루쟁이 꽃 추출물, 및 달맞이꽃 뿌리 추출물은 40  $\mu$ g/ml에서 대조군보다 더 높은 세포 생존율을 나타내었다. 달맞이꽃 종자 추출물은 20  $\mu$ g/ml, 땅파리 지상부 추출물은 40  $\mu$ g/ml, 레몬밤 뿌리 추출물은 40  $\mu$ g/ml 농도에서 70% 이상의 세포 생존율을 나타냈으며, 유의적인 세포 생존율 억제 효

과를 보이지 않는 것을 확인하였다. 돌소루쟁이 동속식물 중 목발소리쟁이, 소리쟁이 추출물들은 세포생존율을 증가시켰다. 이들 식물 추출물은 골수 대식세포에 대한 독성을 나타내지 않는 것을 확인할 수 있었다. 반면, 돌소루쟁이 지상부, 개대황, 애기수영 추출물은 농도가 증가함에 따라 세포 생존율을 감소시켰다. 이후의 실험에서는 세포 독성을 크게 나타내지 않거는 농도에서 실험을 진행하였다.

표 3

[0072]

식물명	부위	농도( $\mu\text{g/ml}$ )	흡광도 값	세포생존율(%)
대조군		-	$1.206 \pm 0.101$	100
애기기린초	뿌리	5	$2.499 \pm 0.197$	207
		10	$2.384 \pm 0.117$	198
		20	$2.196 \pm 0.187$	182
		40	$1.764 \pm 0.026$	146
돌소루쟁이	꽃	5	$2.733 \pm 0.174$	227
		10	$2.722 \pm 0.094$	226
		20	$2.672 \pm 0.189$	222
		40	$2.510 \pm 0.216$	208
달맞이꽃	뿌리	5	$2.762 \pm 0.200$	229
		10	$2.543 \pm 0.079$	211
		20	$2.288 \pm 0.149$	190
		40	$1.910 \pm 0.184$	158
달맞이꽃	종자	5	$2.236 \pm 0.079$	185
		10	$2.230 \pm 0.228$	185
		20	$1.895 \pm 0.102$	157
		40	$0.186 \pm 0.026$	15
땅파리	지상부	5	$1.122 \pm 0.066$	93
		10	$1.127 \pm 0.186$	93
		20	$1.121 \pm 0.173$	93
		40	$0.939 \pm 0.163$	78
레몬밤	뿌리	5	$1.530 \pm 0.060$	127
		10	$1.290 \pm 0.193$	107
		20	$1.008 \pm 0.013$	84
		40	$0.886 \pm 0.187$	73

표 4

[0073]

식물명	부위	농도( $\mu\text{g/ml}$ )	흡광도 값	세포생존율(%)
대조군		0	$1.433 \pm 0.085$	100
목발소리쟁이	지상부	20	$2.130 \pm 0.150$	137
		40	$2.462 \pm 0.103$	172
		80	$1.614 \pm 0.234$	113
목발소리쟁이	지하부	20	$2.320 \pm 0.087$	162
		40	$3.298 \pm 0.062$	230
		80	$3.305 \pm 0.135$	231

표 5

[0074]

식물명	부위	농도( $\mu\text{g/ml}$ )	흡광도 값	세포생존율(%)
대조군		0	$1.282 \pm 0.073$	100
돌소루쟁이	지상부	20	$1.171 \pm 0.079$	94
		40	$0.718 \pm 0.065$	56
		80	$0.572 \pm 0.105$	45
돌소루쟁이	지하부	20	$1.465 \pm 0.122$	114
		40	$1.402 \pm 0.070$	109
		80	$1.705 \pm 0.092$	133

표 6

식물명	부위	농도(μg/ml)	흡광도 값	세포생존율(%)
대조군		0	1.755±0.018	100
소리쟁이	지상부	20	3.138±0.206	166
		40	2.881±0.310	164
		80	2.041±0.148	116
소리쟁이	지하부	20	2.107±0.014	120
		40	2.735±0.057	156
		80	3.265±0.077	186
소리쟁이	전초	20	2.776±0.245	158
		40	2.980±0.104	170
		80	1.977±0.182	113

표 7

식물명	부위	농도(μg/ml)	흡광도 값	세포생존율(%)
대조군		0	1.820±0.149	100
개대황	지상부	20	2.361±0.126	122
		40	1.562±0.103	86
		80	1.141±0.034	63
개대황	지하부	20	1.338±0.087	74
		40	0.631±0.033	35
		80	0.106±0.004	6

표 8

식물명	부위	농도(μg/ml)	흡광도 값	세포생존율(%)
대조군		0	1.749±0.034	100
애기수영	전초지상부	20	2.411±0.172	131
		40	1.686±0.195	96
		80	1.018±0.054	58

표 9

식물명	부위	농도(μg/ml)	흡광도 값	세포생존율(%)
대조군		0	1.657±0.075	100
수영	전초	20	1.954±0.062	114
		40	1.702±0.136	103
		80	2.075±0.100	125

### 실시예 3: 식물 추출물의 파골세포 형성 억제능 확인

본 발명에 따른 제조예가 RANK (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)에 의해 유도된 파골세포 형성을 억제하는지 확인하기 위하여, 문헌 [Park EK. *et al.*, *Biochem Biophys Res Commun.*, 325 (4):1472-1480 (2004)]에 기재된 방법으로 파골세포 형성 억제능 확인 실험을 실시하였다. 각 식물 추출물은 10, 또는 20 μg/ml로 희석하여 준비하였다. 96-웰 플레이트의 각 웰에 실시예 1의 방법으로 준비된 생쥐 골수 대식세포를  $5 \times 10^4$  개씩 첨가한 후, 희석된 각각의 추출물이 첨가되어 있는 α-MEM(1%의 항생-항균 용액, 10% FBS, 30 ng/ml의 M-CSF, 50 ng/ml의 RANKL 첨가)을 각각 200 μl씩 첨가하고 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 세포 배양기에서 생쥐 골수 대식세포를 배양하였다.

음성대조군으로는 1%의 항생-항균 용액, 10% FBS, 및 30ng/ml의 M-CSF가 첨가된 α-MEM을 사용하여 세포를 배양

하였고, RANKL 처리군으로는 1%의 항생-항균 용액, 10% FBS, 30ng/ml의 M-CSF 및 50ng/ml의 RANKL이 첨가된  $\alpha$ -MEM을 사용하여 세포를 배양하였다. 그리고 이틀마다 각 추출물이 포함된 새로운  $\alpha$ -MEM(1%의 항생-항균 용액, 10% FBS, 30ng/ml의 M-CSF, 50ng/ml의 RANKL 첨가)으로 교환해 주며 5일간 배양하였다. 5일 뒤, TRAP 분석 키트(tartrate resistant acid phosphatase assay kit; Sigma-Aldrich, 미국)를 사용하여 다핵의 파골세포를 염색하였고, 광학 현미경을 이용하여 핵이 3개 이상인 파골세포의 수를 계수하였다. 상기 애기기린초, 돌소리쟁이, 달맞이꽃, 땅파리, 또는 레몬밤 추출물의 파골세포 계수 결과를 표 10과 도 3 및 도 4에, 돌소리쟁이 동속식물 추출물의 파골세포 계수 결과를 표 11 내지 표 16, 및 도 5 내지 도 11에 나타내었다.

[0083] 실험 결과, 50ng/ml의 RANKL을 처리한 군의 경우에는 파골세포의 수가 확연히 증가되었으며, 각각의 추출물을 처리한 경우에는 파골세포의 형성이 농도에 따라 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 애기기린초 뿌리 추출물은 10  $\mu$ g/ml에서 98% 및 20  $\mu$ g/ml에서는 100%, 돌소리쟁이 꽃 추출물은 10  $\mu$ g/ml에서 86% 및 20  $\mu$ g/ml에서는 97%, 달맞이꽃 뿌리 추출물은 10  $\mu$ g/ml에서 97% 및 20  $\mu$ g/ml에서는 100%, 달맞이꽃 종자 추출물은 10  $\mu$ g/ml에서 75% 및 20  $\mu$ g/ml에서는 100%, 땅파리 지상부 추출물은 10 및 20  $\mu$ g/ml에서 100%, 레몬밤 뿌리 추출물은 10  $\mu$ g/ml에서 99% 및 20  $\mu$ g/ml에서는 100%의 파골세포 분화가 억제된 것을 확인할 수 있었다.

[0084] 상기 결과를 통하여, 각 추출물들이 파골세포 형성 억제능을 가지고 있는 것을 확인하였으며, 이를 통하여 각 추출물들이 파골세포 형성에 의해 야기되는 질병에 사용 가능하다는 것을 확인할 수 있었다.

표 10

식물명	부위	농도( $\mu$ g/ml)	RANKL로 유도한 파골세포의 수	파골세포 형성 억제율(%)
대조군		-	0 $\pm$ 0	-
RANKL 처리군		RANKL	229 $\pm$ 2	0
애기기린초	뿌리	RANKL+10	6 $\pm$ 2	98
		RANKL+20	0 $\pm$ 0	100
돌소리쟁이	꽃	RANKL+10	32 $\pm$ 8	86
		RANKL+20	7 $\pm$ 3	97
달맞이꽃	뿌리	RANKL+10	8 $\pm$ 1	97
		RANKL+20	0 $\pm$ 0	100
달맞이꽃	종자	RANKL+10	57 $\pm$ 16	75
		RANKL+20	0 $\pm$ 0	100
땅파리	지상부	RANKL+10	0 $\pm$ 0	100
		RANKL+20	0 $\pm$ 0	100
레몬밤	뿌리	RANKL+10	3 $\pm$ 1	99
		RANKL+20	0 $\pm$ 0	100

표 11

식물명	부위	농도( $\mu$ g/ml)	RANKL로 유도한 파골세포의 수	파골세포 형성 억제율(%)
대조군		0	304 $\pm$ 25	0
묵발소리쟁이	지상부	20	277 $\pm$ 32	9
		40	60 $\pm$ 14	80
		20	231 $\pm$ 12	24
묵발소리쟁이	지하부	40	182 $\pm$ 13	40

표 12

식물명	부위	농도( $\mu$ g/ml)	RANKL로 유도한 파골세포의 수	파골세포 형성 억제율(%)
대조군		0	267 $\pm$ 14	0
돌소리쟁이	지상부	20	279 $\pm$ 16	0
		40	176 $\pm$ 20	34
		20	199 $\pm$ 35	25
돌소리쟁이	지하부	40	10 $\pm$ 1	96

표 13

[0088]

식물명	부위	농도( $\mu\text{g/ml}$ )	RANKL로 유도한 파골세포의 수	파골세포 형성 억제율(%)
대조군		0	$272 \pm 7$	0
소리쟁이	지상부	20	$259 \pm 8$	5
		40	$5 \pm 3$	98
소리쟁이	지하부	20	$272 \pm 14$	0
		40	$328 \pm 36$	0
소리쟁이	전초	20	$8 \pm 4$	97
		40	$0 \pm 0$	100

표 14

[0089]

식물명	부위	농도( $\mu\text{g/ml}$ )	RANKL로 유도한 파골세포의 수	파골세포 형성 억제율(%)
대조군		0	$300 \pm 14$	0
개대황	지상부	20	$8 \pm 2$	97
		40	$0 \pm 0$	100
개대황	지하부	10	$206 \pm 8$	31
		20	$35 \pm 14$	88

표 15

[0090]

식물명	부위	농도( $\mu\text{g/ml}$ )	RANKL로 유도한 파골세포의 수	파골세포 형성 억제율(%)
대조군		0	$306 \pm 16$	0
애기수영	전초지상부	20	$80 \pm 12$	74
		40	$1 \pm 1$	100

표 16

[0091]

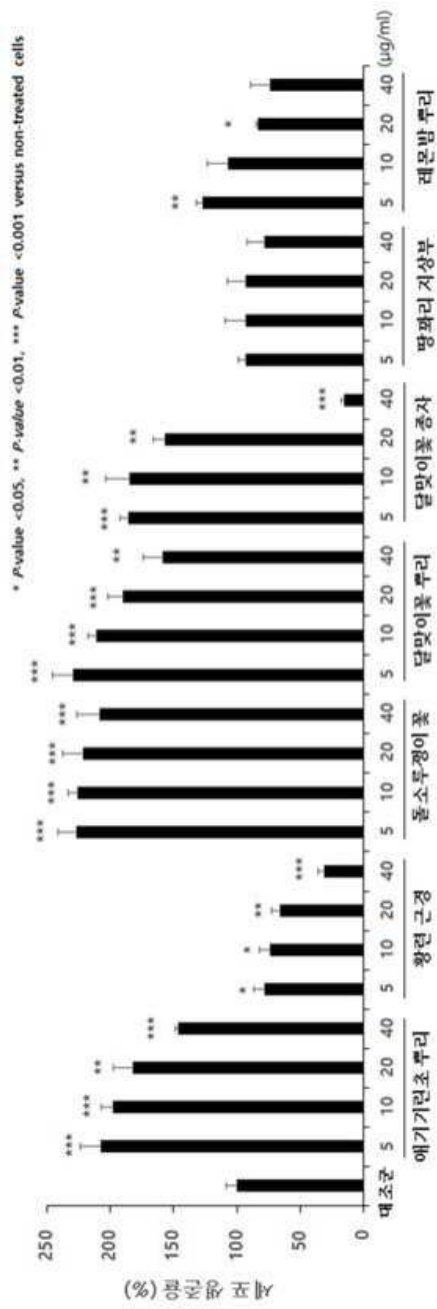
식물명	부위	농도( $\mu\text{g/ml}$ )	RANKL로 유도한 파골세포의 수	파골세포 형성 억제율(%)
대조군		0	$237 \pm 20$	0
수영	전초	20	$195 \pm 6$	18
		40	$69 \pm 1$	71

[0093]

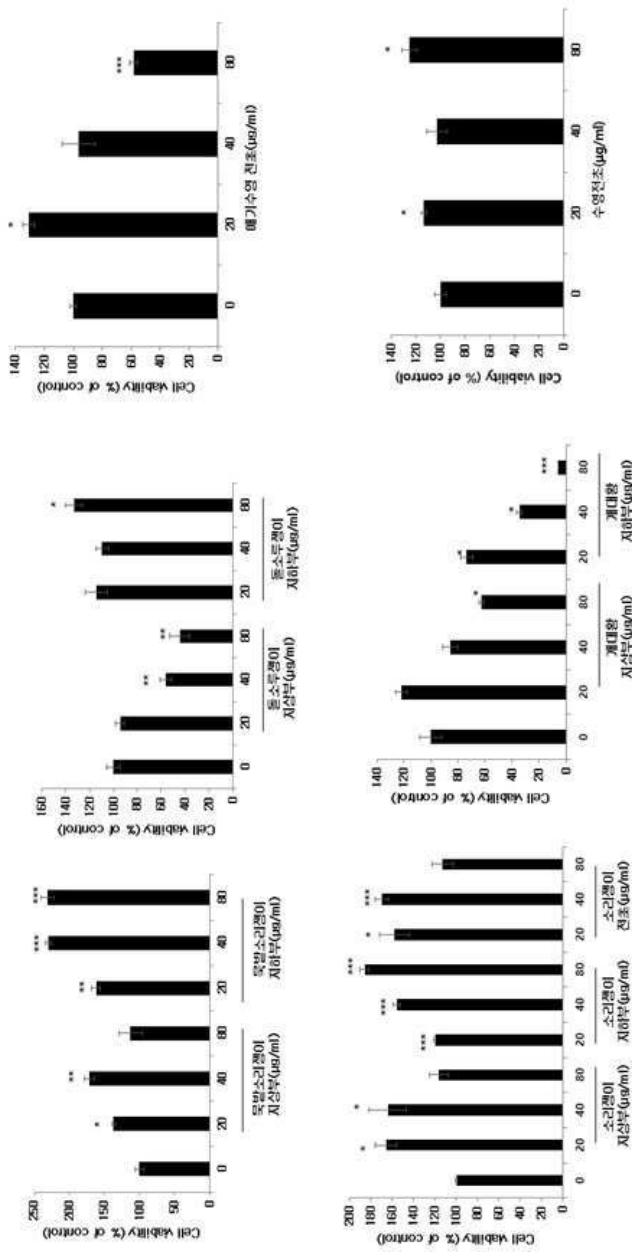
전술한 바와 같이, 본 발명에 따른 식물 추출물을 이용하여 세포독성 및 파골세포 형성 억제능을 확인한 결과, 파골세포 분화를 유도하는 배양 조건하에서도 파골세포로의 분화가 현저하게 억제되는 것을 확인할 수 있었으며, 세포독성을 나타내지 않으므로, 골질환의 예방, 개선 또는 치료용 약학 조성물 또는 식품 조성물로 사용될 수 있다는 것을 확인하였다.

도면

도면1

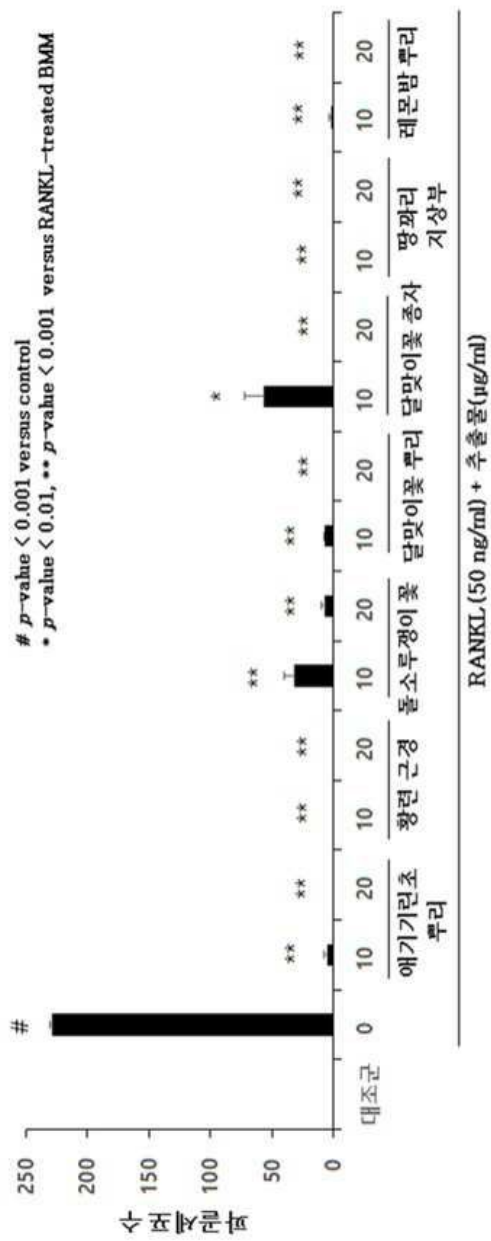


도면2

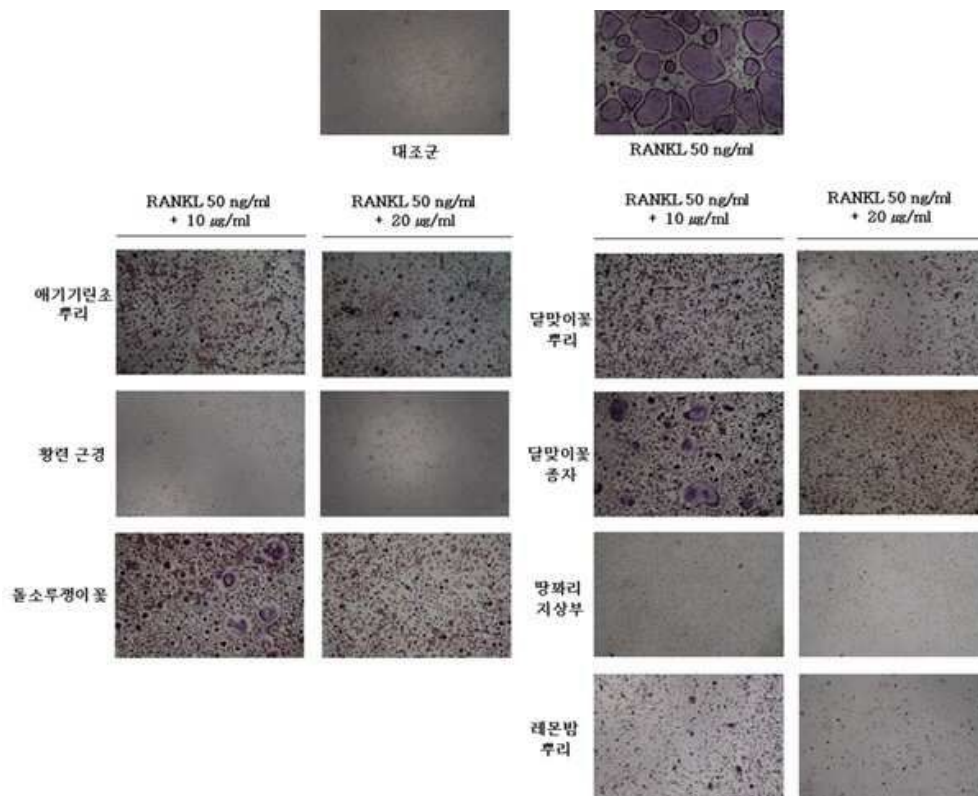


Results are shown as mean  $\pm$  SEM for three independent experiments : \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

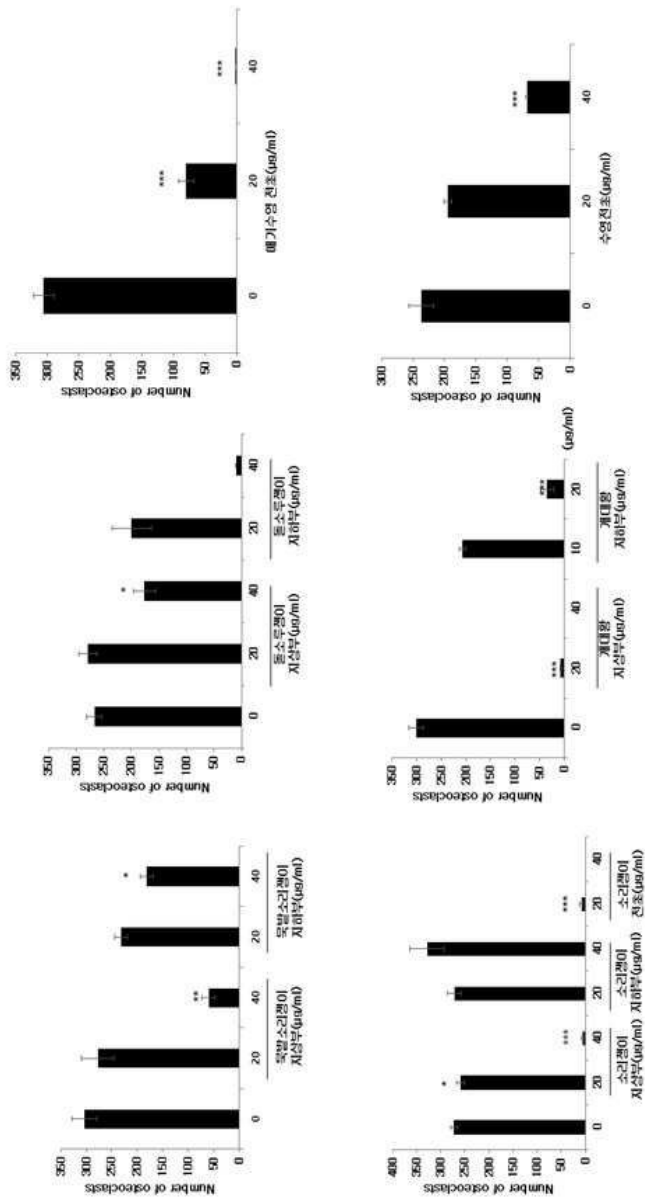
도면3



도면4

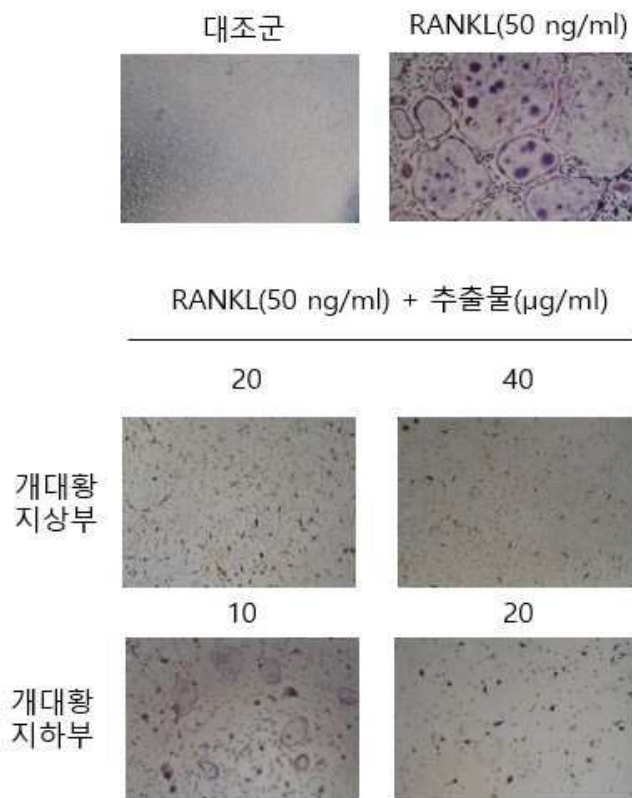


도면5

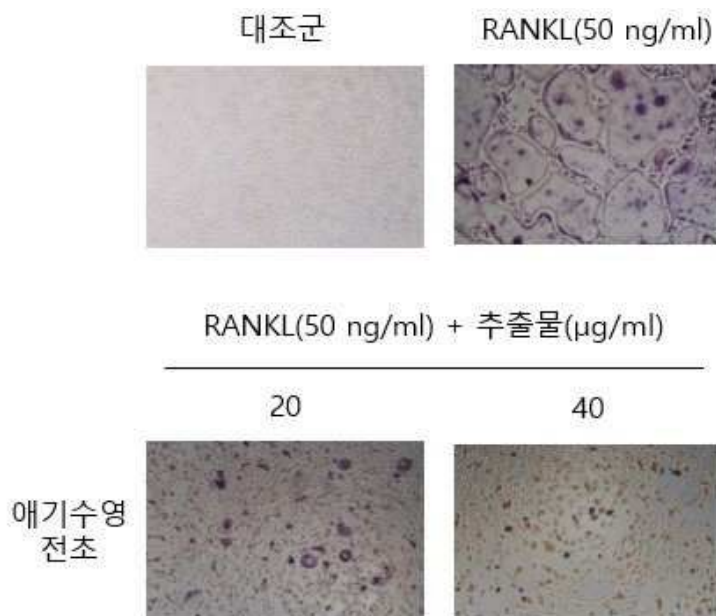


Results are shown as mean  $\pm$  SE. for three independent experiments; \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

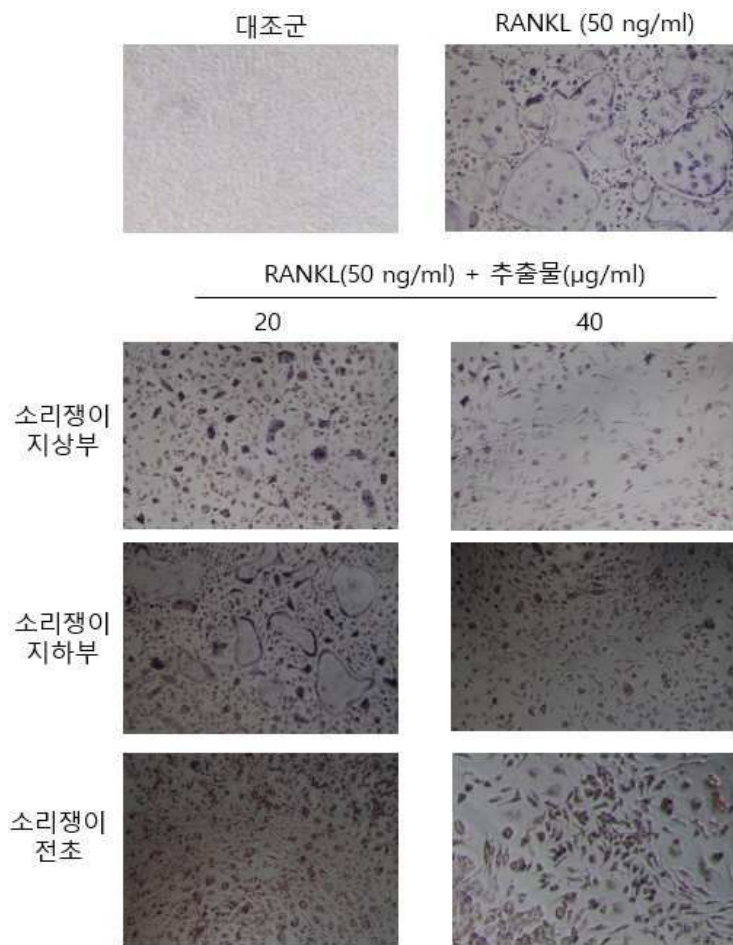
도면6



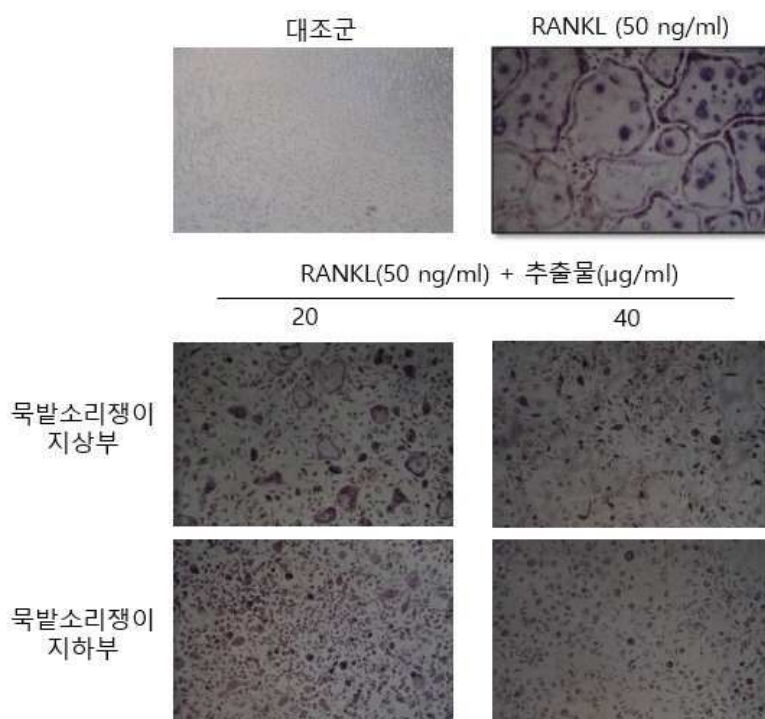
도면7



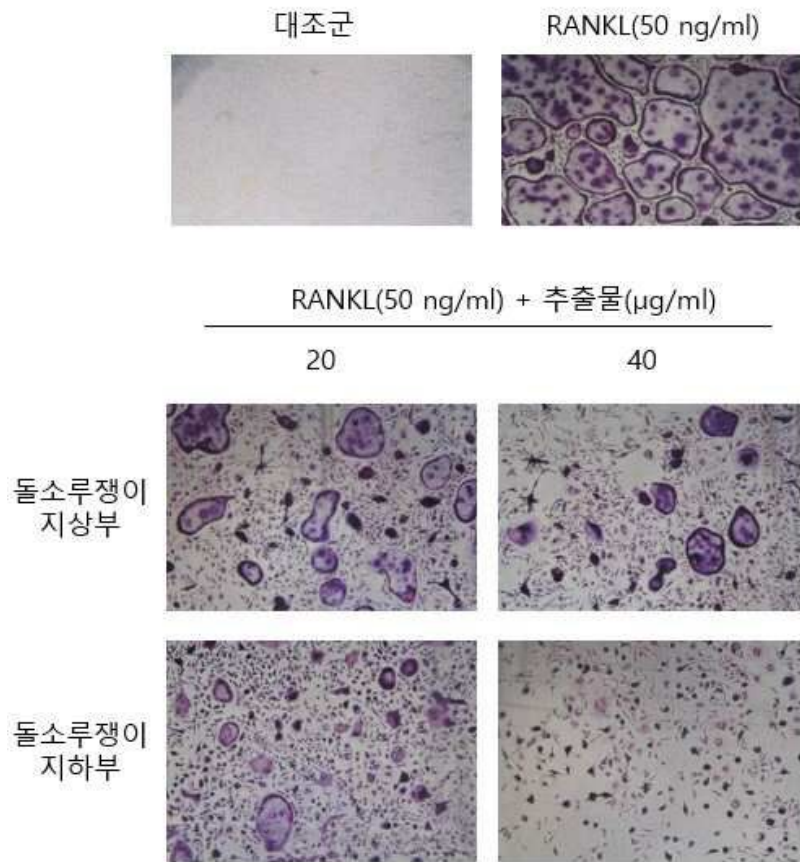
도면8



도면9



도면10



도면11

