



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년06월22일  
(11) 등록번호 10-2124986  
(24) 등록일자 2020년06월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 36/533 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)  
A61K 8/9789 (2017.01) A61P 21/00 (2006.01)  
A61Q 19/00 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 36/533 (2013.01)  
A23L 33/105 (2016.08)  
(21) 출원번호 10-2020-0010799  
(22) 출원일자 2020년01월30일  
심사청구일자 2020년01월30일  
(30) 우선권주장  
1020190046928 2019년04월22일 대한민국(KR)  
(56) 선행기술조사문헌  
KR101842936 B1  
KR100845338 B1  
JP5680412 B2  
JP2009046391 A

(73) 특허권자  
(주)에프앤디넷  
서울특별시 송파구 송이로 79, 3층 (가락동, 진성빌딩)  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
황재관  
서울특별시 서초구 신반포로 270, 136동 2501호(반포동, 반포자이아파트)  
김창희  
서울특별시 관악구 신원로 26, 103동 203호(신림동, 신림동부아파트)  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 8 항

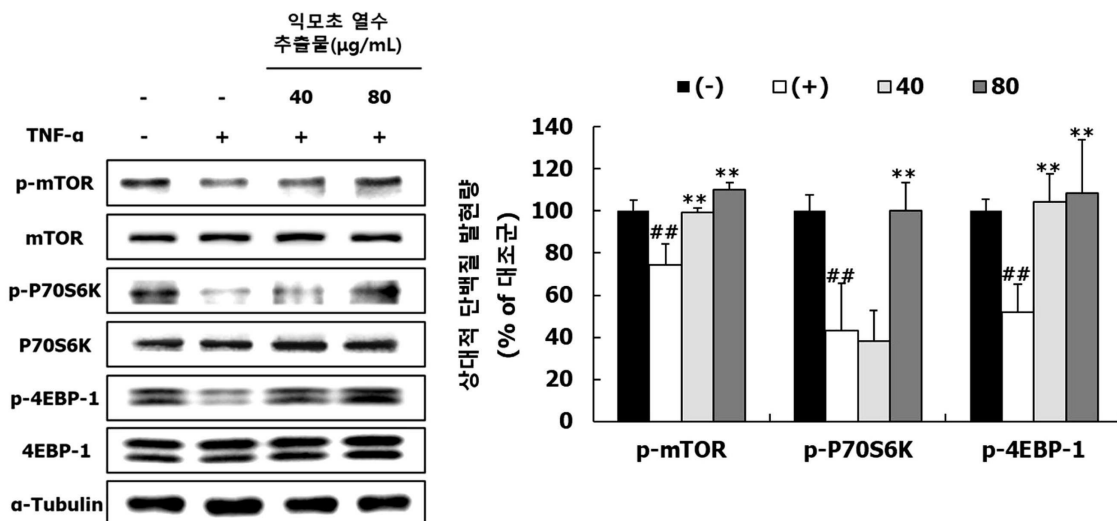
심사관 : 고태욱

(54) 발명의 명칭 **익모초 추출물 또는 레오누린을 함유하는 근육 질환 예방 또는 치료용 또는 근 기능 개선용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 근육 질환의 예방, 치료 또는 근 기능 개선에 이용되는 익모초(*Leonurus japonicus*) 추출물 및 레오누린(leonurine)의 새로운 용도에 관한 것으로, 익모초 추출물 또는 레오누린을 함유하는 근육 질환 예방, 치료용 또는 근 기능 개선용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 근 단백질 합성에 관여하는 mTOR의 활성을 증가시키고, 근 단백질 분해에 관여하는 MuRF1 및 atrogin-1의 발현을 억제하는 효과가 있으며 근육량을 증가시키고 및 근기능을 향상시켜, 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근육 퇴화, 근무력증, 악액질(cachexia) 및 근육감소증(sarcopenia) 등의 각종 근육 질환 예방, 치료 또는 개선에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

**A61K 8/9789** (2017.08)

**A61P 21/00** (2018.01)

**A61Q 19/00** (2013.01)

**A23V 2002/00** (2013.01)

**A23V 2200/316** (2013.01)

(72) 발명자

**유지희**

경기도 성남시 분당구 무지개로 144, 510동 2302호(구미동, 무지개마을청구아파트)

**최나현**

서울특별시 노원구 동일로215길 48, 326동 501호(상계동, 상계주공3단지아파트)

**이지연**

서울특별시 강남구 개포로110길 43, 104동 403호(일원동, 개포한신아파트)

**정영호**

경기도 성남시 수정구 위례순환로 220, 5521동 1902호(창곡동, 위례더힐55)

**박예지**

경기도 화성시 동탄지성로 405, 106동 304호(기산동, 화성태안푸르지오아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018-11-1339

부처명 국내

연구관리전문기관 기업체

연구사업명 용역

연구과제명 [민간/(주)에프앤디넷] 국내 자생 식물자원을 이용한 항노화 건강기능식품 신소재 발굴

기 여 율 1/1

주관기관 (주)에프앤디넷

연구기간 2018.10.01 ~ 2019.09.30

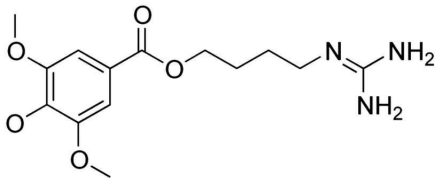
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

익모초 추출물 또는 하기 화학식 1로 표시되는 레오누린을 유효성분으로 함유하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 레오누린은 익모초 추출물로부터 분리된 것을 특징으로 하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

#### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 익모초 추출물은 익모초의 지상부를 추출하여 수득한 것을 특징으로 하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

#### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 익모초 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매, 아임계 유체 및 초임계 유체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용매로 익모초를 추출하여 수득한 것을 특징으로 하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

#### 청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 유기용매는 탄소수 1 내지 6의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane) 및 석유에테르(petroleum ether)로 이루어진 군 중에서 선택되는 하나 이상의 용매인 것을 특징으로 하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

#### 청구항 6

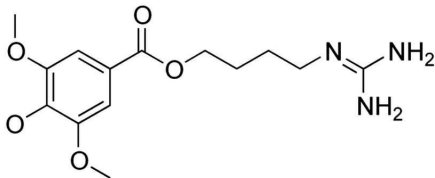
제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 근육 질환은 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근육 퇴화, 근무력증, 악액질(cachexia) 및 근육감소증(sarcopenia)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

## 청구항 7

익모초 추출물 또는 하기 화학식 1로 표시되는 레오누린을 유효성분으로 함유하는 근육 질환 예방 또는 근 기능 개선용 식품 조성물:

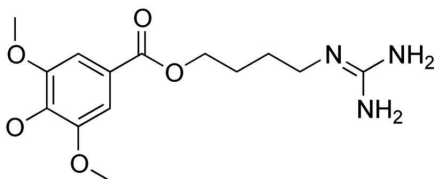
[화학식 1]



## 청구항 8

익모초 추출물 또는 하기 화학식 1로 표시되는 레오누린을 유효성분으로 함유하는 근 기능 개선용 화장료 조성물:

[화학식 1]



## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 익모초 추출물 또는 레오누린을 함유하는 근육 질환 예방 및 치료용 또는 근 기능 개선용 조성물에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 근위축(Muscle atrophy)이란 근육량의 점진적 감소에 의하여 발생하는 것으로, 근육의 약화 및 퇴행을 일컫는다(Cell, 119(7): 907-910, 2004). 근 위축은 비활동, 산화적 스트레스, 만성 염증에 의해 촉진되며 근육 기능과 운동 능력을 약화시킨다(Clinical Nutrition, 26(5): 524-534, 2007). 근 기능을 결정짓는 가장 중요한 요소는 근육량이며, 이는 단백질 합성과 분해의 균형에 의해 유지된다. 근 위축증은 단백질 분해가 합성보다 더 일어날 때 발생한다(The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 37(10): 1985-1996, 2005).

[0003] 근육 크기는 근육 내에서 일어나는 동화작용(anabolism)이나 이화작용(catabolism)을 유도하는 세포 내 신호전달 과정(signaling pathways)에 의해 조절된다. 근 단백질의 분해보다 합성을 유도하는 신호전달 반응이 많이 일어날 경우 근 단백질 합성이 증가되는데, 이는 근 단백질 증가에 따른 근육 크기 증가(hypertrophy, 근비대)나 근섬유 수 증가(hyperplasia)로 나타난다(The Korea Journal of Sports Science, 20(3): 1551-1561, 2011).

[0004] 근 단백질 합성에 관여하는 인자들은 근 세포 내에서 phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/Akt pathway의 자극을 기점으로 다운스트림 단백질(downstream proteins)을 인산화시킴으로써 단백질 합성을 유도한다. PI3K/Akt 신호전달에 의한 mammalian target of rapamycin (mTOR)의 활성화는 세포 내에서 다양한 성장 신호를 통합하는

중심 성장 신호전달 인자로 인정되고 있다. mTOR는 mRNA translation을 개시하는 두 인자, 4E-binding protein (4EBP1)과 phosphorylated 70-kDa ribosomal S6 kinase (p70S6K)를 활성화시킴으로써 근 단백질 합성을 유도하여 근육량 증가에 기여한다(The Korea Journal of Sports Science, 20(3): 1551-1561, 2011; The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 43(9): 1267-1276, 2011). 반면에 전사 인자(transcription factor)인 forhead box (FoxO)가 세포질에서 핵 내로 이동하면 단백질 분해에 관여하는 E3 ubiquitin ligase인자 atrogin-1과 MuRF1의 발현을 증가시킨다(Disease Models and Mechanisms, 6: 25-39, 2013). 이들의 발현량이 증가하면 근육 내의 단백질 분해가 촉진되어 근육량이 줄어들게 된다. 따라서 mTOR의 활성 촉진과 atrogin-1과 MuRF1 발현 억제제는 근육 단백질의 양을 증가시켜 근육량을 증가시킨다.

[0005] 근육세포의 분화와 근육 형성은 다양한 근육 조절 인자(muscle regulatory factors)에 의해 조절된다. 그 중, MyoD의 활성화에 의한 myogenin 발현의 유도는 근원세포의 결합(fusion)에 가장 중요한 요소로, 근관세포(myotube)의 형성에 관여한다. 이와 같은 과정을 통해 형성된 근섬유는 다발을 이루어 최종적으로 근육을 형성하게 된다(Cellular and Molecular Life Sciences, 70: 4117-4130, 2013).

[0006] 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 익모초(Chinese motherwort)는 전초를 약용식물로 사용하고 있다(Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine, 30(2): 81-87, 2016). 익모초는 항비만(Nutrients, 10(1): 20, 2018), 항산화(Progress in Nutrition, 20: 46-58, 2018), 항암(Journal of Ethnopharmacology, 122: 234-239, 2014) 등의 활성이 보고되어 있다. 또한, 익모초 내의 대표적인 활성 성분인 레오누린(leonurine)에 대해서는 항산화(Stroke, 41: 2661-2668, 2010), 항염증(Inflammation, 38(1): 79-88, 2015), 항동맥경화(Cellular Physiology and Biochemistry, 43(4): 1703-1717, 2017) 등의 활성이 보고되어 있다.

[0007] 그러나, 본 발명의 이전에는 익모초 추출물 또는 레오누린의 근육 질환 예방 및 치료 또는 근 기능 개선에 관해서는 알려진 바 없었다.

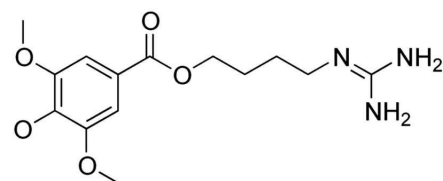
## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 우수한 근 기능 조절 활성을 가지며 안전하게 적용될 수 있는 천연물질을 탐색한 결과, 익모초 추출물 또는 레오누린이 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 근 기능 개선 활성이 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서, 본 발명의 목적은 익모초 추출물 또는 하기 화학식 1의 레오누린을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

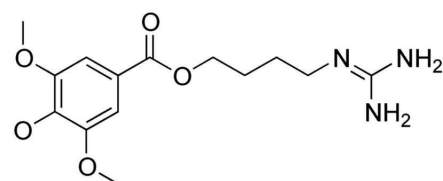
[0010] [화학식 1]



[0011]

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 익모초 추출물 또는 하기 화학식 1의 레오누린을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

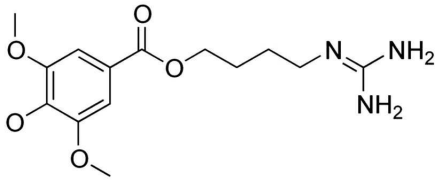
[0013] [화학식 1]



[0014]

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 익모초 추출물 또는 하기 화학식 1의 레오누린을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

[0016] [화학식 1]

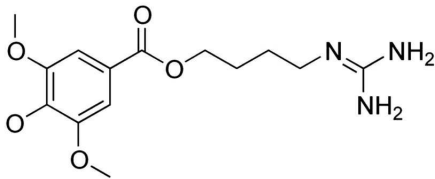


[0017]

### 과제의 해결 수단

[0018] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 익모초 추출물 또는 하기 화학식 1의 레오누린을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

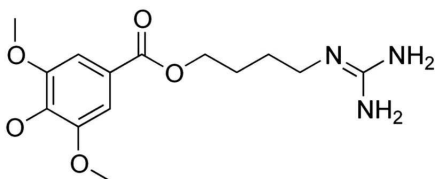
[0019] [화학식 1]



[0020]

[0021] 또한 본 발명은 익모초 추출물 또는 하기 화학식 1의 레오누린을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

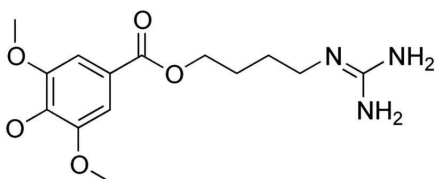
[0022] [화학식 1]



[0023]

[0024] 또한 본 발명은 익모초 추출물 또는 하기 화학식 1의 레오누린을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[0025] [화학식 1]



[0026]

### 발명의 효과

[0027] 본 발명에 따른 익모초 추출물 또는 레오누린은 근 단백질 합성에 관여하는 mTOR의 활성 증가, 근 단백질 분해에 관여하는 MuRF1과 atrogin-1의 mRNA 발현 억제시키는 데 우수한 효과가 있다. 또한, 근육량을 증가시키고 및 근기능을 향상시켜, 각종 질병에 의하여 유발되는 근육의 기능 저하, 근육의 손실 등을 예방, 치료 또는 개선할 수 있다. 본 발명은 천연물이므로 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있어 의약품, 식품 또는 화장품으로 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 L6 근육세포에서, 익모초 추출물 처리에 따른 mTOR의 활성 증가 효과를 확인한 결과이다.

도 2는 L6 근육세포에서, 익모초 열수 추출물 처리에 따른 p-mTOR, p-p70S6K, p-4EBP-1의 단백질 발현량 증가 효과를 확인한 결과이다.

도 3은 L6 근육세포에서, 익모초 열수 추출물 처리에 따른 atrogin-1 및 MuRF1의 mRNA 발현량 감소 효과를 확인한 결과이다.

도 4는 L6 근육세포에서, 익모초 에탄올 추출물 처리에 따른 atrogin-1 및 MuRF1의 mRNA 발현량 감소 효과를 확인한 결과이다.

도 5는 L6 근육세포에서, 익모초 열수 추출물 처리에 따른 MyoD 및 myogenin의 mRNA 발현량 증가 효과를 확인한 결과이다.

도 6은 L6 근육세포에서, 레오누린 처리에 따른 p-mTOR, p-p70S6K, p-4EBP-1의 단백질 발현량 증가 효과를 확인한 결과이다.

도 7은 L6 근육세포에서, 레오누린 처리에 따른 atrogin-1 및 MuRF1의 mRNA 발현량 감소 효과를 확인한 결과이다.

도 8은 L6 근육세포에서, 익모초 열수 추출물 처리에 따른 MyoD 및 myogenin의 mRNA 발현량 증가 효과를 확인한 결과이다.

도 9는 근위축 유도 쥐에서, 익모초 열수 추출물 및 레오누린 처리에 따른 근력 향상 효과를 확인한 결과이다.

도 10은 근위축 유도 쥐에서, 익모초 열수 추출물 및 레오누린 처리에 따른 전경골근 무게 증가 효과를 확인한 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

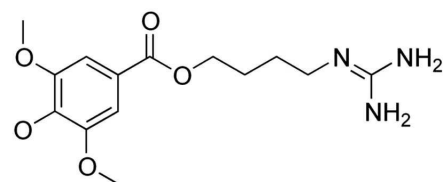
[0030] 본 발명은 익모초 추출물 또는 레오누린의 근육 질환 예방 또는 치료용, 또는 근 기능 개선 용도; 익모초 추출물 또는 레오누린을 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료용, 또는 근 기능 개선용 조성물; 또는 익모초 추출물 또는 레오누린을 인간을 포함한 포유동물에 적용하는 것을 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 근 기능 개선 방법을 제공한다:

[0031] 본 명세서에서 '익모초'는 꿀풀과(Labiatae) 익모초속 식물(Leonurus ssp.)에 속하는 레오누러스 자포니커스(Leonurus japonicus)의 지상부를 건조한 것이다.

[0032] 본 명세서에서 '익모초 추출물'은 익모초를 추출하여 수득한 추출물을 의미한다. 익모초 추출물의 제조방법은 익모초로부터 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매 및 아임계 또는 초임계 유체로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매로 추출하여 수득할 수 있다.

[0033] 본 명세서에서 '레오누린'은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그 약학적으로 허용 가능한 염을 포함한다.

[0034] [화학식 1]



[0035]

[0036] 본 발명의 상기 레오누린은 익모초에 존재하는 대표적인 생리활성성분으로, 익모초로부터 분리 및 정제하여 수득하거나 합성, 구매할 수 있다.

[0038] 본 명세서에서, '근'은 힘줄, 근육을 포괄적으로 지칭한다. '근 기능'은 근육의 수축에 의해 힘을 발휘하는 능력을 의미하며 근기능은 근육량에 비례한다. 본 명세서의 용어 '근 기능 개선'은 근육량을 증가시켜 근 기능을 더 좋게 향상시키는 것을 말한다.

[0039] 본 발명은 익모초 추출물 또는 레오누린을 유효성분으로 함유하는 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물, 근육 질환 예방 또는 근 기능 개선용 식품 조성물, 또는 근 기능 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[0040] 한 구체 예에서, 레오누린은 익모초 추출물로부터 분리 및 정제하여 수득할 수 있다.



- [0041] 한 구체 예에서, 익모초 추출물은 에탄올 추출물, 열수 추출물, 헥산 추출물, 에틸아세테이트 추출물, 초고압 추출물, 아임계 추출물, 초임계 추출물일 수 있다.
- [0042] 한 구체 예에서, 익모초 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매, 아임계 및 초임계로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용매로 익모초를 추출하여 수득할 수 있다. 익모초를 100 MPa 이상의 초고압 조건 하에서 추출하여 수득할 수도 있다. 필요한 경우에는 당업계에 공지된 방법에 따라 여과 및 농축 단계를 추가적으로 포함하여 제조할 수 있다.
- [0043] 한 구체 예에서, 탄소수 1 내지 6의 유기용매는 탄소수 1 내지 6의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane) 및 석유에테르(petroleum ether)로 이루어진 군중에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0044] 상기 추출방법은 익모초에 적용하여 근 기능 개선 조성물로 사용할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 근육 질환 예방 또는 치료용 조성물이 약학 조성물인 경우, 근육 소모 또는 퇴화로 인한 근육 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다. 근육 소모 및 퇴화는 유전적 요인, 후천적 요인, 노화 등을 원인으로 발생하며, 근육 소모는 근육량의 점진적 손실, 근육, 특히 골격근 또는 수의근 및 심장근육의 약화 및 퇴행을 특징으로 한다. 이와 관련된 질환의 예로는 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근육 퇴화, 근무력증, 악액질(cachexia) 및 근육감소증(sarcopenia) 등을 들 수 있다. 본 발명의 조성물은 근육량 증대 효과가 있으며, 근육은 그 종류를 제한하지 않는다.
- [0046] 본 발명의 약학 조성물은 레오누린의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 용어 “약학적으로 허용 가능한”이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 것을 말하며, 상기 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의하여 형성된 산 부가염이 바람직하다.
- [0047] 상기 레오누린의 약학적으로 허용 가능한 염은 유기산 또는 무기산을 이용하여 형성된 산 부가염일 수 있으며, 상기 유기산은 예를 들면 포름산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 부티르산, 이소부티르산, 트리플루오로아세트산, 말산, 말레산, 말론산, 푸마르산, 숙신산, 숙신산 모노아미드, 글루탐산, 타르타르산, 옥살산, 시트르산, 글리콜산, 글루쿠론산, 아스코르브산, 벤조산, 프탈산, 살리실산, 안트라닐산, 디클로로아세트산, 아미노옥시 아세트산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 또는 메탄술폰산을 포함한다. 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 또는 붕산을 포함한다. 산 부가염은 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있으며, 보다 바람직하게는 염산염 형태일 수 있다.
- [0048] 상기 언급된 산 부가염은 a) 레오누린과 산을 직접 혼합하거나, b) 이를 용매 또는 함수 용매 중에 용해시키고 혼합시키거나, 또는 c) 레오누린을 용매 또는 수화 용매 중의 산에 위치시키고 이들을 혼합하는 일반적인 염 제조방법으로 제조된다.
- [0049] 위와는 별도로 추가적으로 염이 가능한 형태는 가바염, 가바펜틴염, 프레가발린염, 니코틴산염, 아디페이트염, 헤미말론산염, 시스테인염, 아세틸시스테인염, 메티오닌염, 아르기닌염, 라이신염, 오르니틴염 또는 아스파르트산염 등이 있다.
- [0050] 또한, 본 발명의 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0051] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 또한 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등을 포함할 수 있다. 또한, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).
- [0052] 본 발명의 약학 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들어, 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구적인 투여방법으로는 이에 제한되는 것은 아니나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있다.



- [0053] 본 발명의 약학 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화할 수 있다. 제형화할 경우에는 하나 이상의 완충제(예를 들어, 식염수 또는 PBS), 항산화제, 정균제, 킬레이트 화제(예를 들어, EDTA 또는 글루타치온), 충전제, 증량제, 결합제, 아쥘란트(예를 들어, 알루미늄 하이드록사이드), 현탁제, 농후제 습윤제, 봉해제 또는 계면활성제, 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0054] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 액제, 젤제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 또는 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 약학 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분(옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 등 포함), 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 텍스트로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 말티톨, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로즈 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 예컨대, 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의 정제를 수득할 수 있다.
- [0055] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물 또는 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0056] 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있으며, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0057] 비경구적으로 투여하는 경우 본 발명의 약학 조성물은 적합한 비경구용 담체와 함께 주사제, 경피 투여제 및 비강 흡입제의 형태로 당 업계에 공지된 방법에 따라 제형화될 수 있다. 상기 주사제의 경우에는 반드시 멸균되어야 하며 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염으로부터 보호되어야 한다. 주사제의 경우 적합한 담체의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 혼합물 및/또는 식물유를 포함하는 용매 또는 분산매질일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적합한 담체로는 헵스 용액, 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS (phosphate buffered saline) 또는 주사용 멸균수, 10% 에탄올, 40% 프로필렌 글리콜 및 5% 텍스트로오스와 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 상기 주사제를 미생물 오염으로부터 보호하기 위해서는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 주사제는 대부분의 경우 당 또는 나트륨 클로라이드와 같은 등장화제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0058] 경피 투여제의 경우 연고제, 크림제, 로션제, 젤제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어졸제 등의 형태가 포함된다. 상기에서 '경피 투여'는 약학 조성물을 국소적으로 피부에 투여하여 약학 조성물에 함유된 유효한 양의 활성성분이 피부 내로 전달되는 것을 의미한다.
- [0059] 흡입 투여제의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 화합물은 적합한 추진제, 예를 들면, 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여, 가압 펌프 또는 연무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달할 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 예를 들면, 흡입기 또는 취입기에 사용되는 젤라틴 캡슐 및 카트리지는 화합물, 및 락토스 또는 전분과 같은 적합한 분말 기체의 분말 혼합물을 함유하도록 제형화할 수 있다. 비경구 투여용 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Chapter 87: Blaug, Seymour)에 기재되어 있다.
- [0060] 본 발명의 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 익모초 추출물 또는 레오누린을 유효량으로 포함할 때 바람직한 근육 질환 예방 및 치료 효과를 제공할 수 있다. 본 명세서에서, '유효량'이라 함은 음성 대조군에 비해 그 이상의 반응을 나타내는 양을 말하며 바람직하게는 근 기능을 향상시키기에 충분한 양을 말한다. 본 발명의 약학 조성물에 익모초 추출물 또는 레오누린이 0.01 내지 99.99% 포함될 수 있으며, 잔량은 약학적으로 허용 가능한 담체가 차지할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 익모초 추출물 또는 레오누린의 유효량은 조성물이 제품화되는 형태 등에 따라 달라질 것이다.
- [0061] 본 발명의 약학 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 비경구 투여시는 익모초 추출물 또는 레오누린을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 내지 50 mg, 더 바람직하게는 0.1 내지

30 mg의 양으로 투여되도록, 그리고 경구 투여시는 익모초 추출물 또는 레오누린을 기준으로 하루에 체중 1 kg 당 바람직하게 0.01 내지 100 mg, 더 바람직하게는 0.01 내지 10 mg의 양으로 투여되도록 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 그러나 상기 익모초 추출물 또는 레오누린의 용량은 약학 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 익모초 추출물 또는 레오누린을 근육 질환 예방 및 치료를 위한 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

[0062] 본 발명의 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 또는 생물학적 반응조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0064] 본 발명의 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 또한 익모초 추출물 또는 레오누린을 유효성분으로 포함하는 외용제의 제형으로 제공할 수 있다.

[0065] 본 발명의 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[0066] 본 발명의 근육 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.

[0068] 본 발명의 근육 질환 예방 또는 근 기능 개선용 조성물은 또한 식품 조성물일 수 있다. 본 발명의 근육 질환 예방 또는 근 기능 개선용이 식품 조성물인 경우, 근육 소모 또는 퇴화로 인한 근육 질환의 예방 또는 개선에 사용될 수 있다. 근육 소모 및 퇴화는 유전적 요인, 후천적 요인, 노화 등을 원인으로 발생하며, 근육 소모는 근육량의 점진적 손실, 근육, 특히 골격근 또는 수의근 및 심장근육의 약화 및 퇴행을 특징으로 한다. 이와 관련된 질환의 예로는 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근이영양증(muscular dystrophy), 근육 퇴화, 근무력증, 악액질(cachexia) 및 근육감소증(sarcopenia) 등을 들 수 있다. 본 발명의 조성물은 근육량 증대 효과가 있으며, 근육은 그 종류를 제한하지 않는다.

[0069] 본 발명의 식품 조성물은 기능성 식품(functional food), 영양 보조제(nutritional supplement), 건강식품(health food), 식품 첨가제(food additives) 및 사료 등의 모든 형태를 포함하며, 인간 또는 가축을 비롯한 동물을 취식대상으로 한다. 상기 유형의 식품 조성물은 당 업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.

[0070] 상기 유형의 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 일반 식품으로는 이에 한정되지 않지만 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마야말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 젓, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용식물 유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 익모초 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 영양보조제로는 이에 한정되지 않지만 캡슐, 타블렛, 환 등에 익모초 추출물 또는 레오누린을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 건강기능식품으로는 이에 한정되지 않지만 예를 들면, 익모초 추출물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용(건강음료)할 수 있도록 액상화, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 익모초 추출물 또는 레오누린을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다. 또한, 익모초 추출물 또는 레오누린과 근육 질환 예방 및 근 기능 개선 효과가 있다고 알려진 공지의 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.

[0071] 본 발명의 근육 질환 예방 및 근 기능 개선용 조성물이 건강음료 조성물로 이용되는 경우, 상기 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기

천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 중량%, 바람직하게는 약 0.02 중량%이다.

[0072] 익모초 추출물 또는 레오누린은 근육 질환 예방 및 근 기능 개선용 식품 조성물의 유효성분으로 함유될 수 있는데, 그 양은 근육 질환 예방 및 근 기능 개선용 작용을 달성하기에 유효한 양으로 특별히 한정되는 것은 아니나, 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 10 중량%인 것이 바람직하다. 본 발명의 식품 조성물은 익모초 추출물 또는 레오누린과 함께 근육 질환 예방 및 근 기능 개선용 조성물에 효과가 있는 것으로 알려진 다른 활성 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있다.

[0073] 상기 외에 본 발명의 건강식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0075] 본 발명의 근 기능 개선용 조성물은 또한 화장료 조성물일 수 있다. 본 발명의 화장료 조성물은 익모초 추출물 또는 레오누린을 유효성분으로 함유하며 피부학적으로 허용 가능한 부형제와 함께 기초 화장품 조성물(화장수, 크림, 에센스, 클렌징 폼 및 클렌징 워터와 같은 세안제, 팩, 보디오일), 색조 화장품 조성물(화운데이션, 립스틱, 마스크라, 메이크업 베이스), 두발 제품 조성물(샴푸, 린스, 헤어컨디셔너, 헤어젤) 및 비누 등의 형태로 제조될 수 있다.

[0076] 상기 부형제로는 이에 한정되지는 않으나 예를 들어, 피부연화제, 피부 침투 증강제, 착색제, 방향제, 유화제, 농화제 및 용매를 포함할 수 있다. 또한, 향료, 색소, 살균제, 산화방지제, 방부제 및 보습제 등을 추가로 포함할 수 있으며, 물성개선을 목적으로 점증제, 무기염류, 합성 고분자 물질 등을 포함할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화장료 조성물로 세안제 및 비누를 제조하는 경우에는 통상의 세안제 및 비누 베이스에 익모초 추출물 또는 레오누린을 첨가하여 용이하게 제조할 수 있다. 크림을 제조하는 경우에는 일반적인 수중유적형(O/W)의 크림 베이스에 익모초 추출물 또는 레오누린 또는 이의 염을 첨가하여 제조할 수 있다. 여기에 향료, 킬레이트제, 색소, 산화방지제, 방부제 등과 물성개선을 목적으로 한 단백질, 미네랄, 비타민 등 합성 또는 천연소재를 추가로 첨가할 수 있다.

[0077] 본 발명의 화장료 조성물에 함유되는 익모초 추출물 또는 레오누린의 함량은 이에 한정되지 않지만 전체 조성물 총중량에 대하여 0.001 내지 10 중량%인 것이 바람직하고, 0.01 내지 5중량%인 것이 더욱 바람직하다. 상기 함량이 0.001중량% 미만에서는 목적하는 항노화 또는 주름개선 효과를 기대할 수 없고, 10중량% 초과에서는 안전성 또는 제형상의 제조에 어려움이 있을 수 있다.

[0079] 이하 본 발명을 실시 예를 통하여 보다 상세하게 설명한다.

[0080] 단, 하기 실시 예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시 예에 한정되는 것은 아니다.

# [실시예 1] 익모초 지상부 추출물의 제조

[0083] <1-1> 익모초 열수 추출물의 제조

[0084] 건조된 익모초를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 익모초 시료 10 g을 물 100 mL에 넣고 3시간 80 ℃에서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만(Whatman) 1번 여과지로 감압여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거한 후 익모초 열수 추출물을 얻었다.

[0086] <1-2> 익모초 50% 에탄올 추출물의 제조

[0087] 건조된 익모초를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 익모초 시료 10 g을 에탄올과 물을 중량비 50:50으로 혼합한 50% 에탄올 100 mL에 넣고 3시간 40 ℃에서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 1번 여과지로 감압여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거한 후 익모초 50% 에탄올 추출물을 얻었다.

[0089] <1-3> 익모초 에탄올 추출물의 제조

[0090] 건조된 익모초를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 익모초 시료 10 g을 100% 에탄올 100 mL에 넣고 3시간 40 ℃에서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 1번 여과지로 감압여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거한 후 익모초 에탄올 추출물을 얻었다.

- [0092] <1-4> 익모초 에틸아세테이트 추출물의 제조
- [0093] 건조된 익모초를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 익모초 시료 10 g을 에틸아세테이트 100 mL에 넣고 3시간 40 ℃에서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 1번 여과지로 감압여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거한 후 익모초 에틸아세테이트 추출물을 얻었다.
- [0095] <1-5> 익모초 헥산 추출물의 제조
- [0096] 건조된 익모초를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 익모초 시료 10 g을 헥산 100 mL에 넣고 3시간 40 ℃에서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 1번 여과지로 감압여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거한 후 익모초 헥산 추출물을 얻었다.
- [0098] <1-6> 익모초 아임계 추출물의 제조
- [0099] 건조된 익모초를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 익모초 50 g을 1 L 물과 함께 아임계 추출장치(Biovan, Gyeonggi, Korea)의 아임계수 반응기에 넣고 밀폐하였다. 밀폐 후, 반응기의 온도를 200 ℃로 상승시켰으며, 반응기의 온도가 200 ℃에 도달하면 가열을 중단하고, 상기 온도를 20분간 유지하여 추출을 하였다. 20분 후 추출물을 냉각수가 공급되는 저장탱크로 이송하여 30 ℃까지 급속 냉각시킨 후, 부유 잔사를 분리하기 위해 3,600 rpm으로 30분 동안 원심분리하여 상등액만 취하였다. 동결건조기(Ilshin Lab Co. Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 용매를 전부 제거함으로써 익모초 아임계 추출물을 얻었다.
- [0101] <1-7> 익모초 초임계 추출물의 제조
- [0102] 건조된 익모초를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 익모초 1 g을 시료 카트리지에 충전하고 초임계 유체 추출 장치(SFX 3560, Isco Inc., Lincoln, NE, USA)를 이용하여 추출하였다. 초임계 추출 조건은 추출 압력이 300 bar, 추출 온도는 50 ℃, 초임계 이산화탄소의 유속은 60 mL/min, 추출시간은 2시간으로 하였다. 초임계 유체 추출이 완료되면, 추출 장치의 압력을 낮춰 초임계 유체 상태를 해제하여 익모초 초임계 추출물을 얻었다.
- [0104] [실시예 2] 익모초 추출물의 근 단백질 합성 핵심 생체지표 mTOR 활성 증가 효과
- [0105] mTOR 단백질은 인산화되어 활성화되었을 때, 근 세포 내의 PI3K/Akt 신호전달경로에서 근단백질 합성 및 근육량 증가에 관여하는 단백질의 활성화를 유도할 수 있음이 알려져 있다. 이에, 익모초의 근육 생성 유도 활성을 확인하기 위해, mTOR Sandwich ELISA kit (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA)를 이용하여 mTOR의 활성을 확인하였다.
- [0106] L6 근육모세포(ATCC; Manassas, VA, USA)를 10% fetal bovine serum (FBS; Hyclone, Logan, UT, USA)이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's media (DMEM; Hyclone)와 함께 6-웰 플레이트에  $1 \times 10^5$  cell/well이 되도록 seeding 후 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 웰에 있는 배지를 제거하고 2% horse serum (HS; Hyclone)이 함유된 DMEM (Hyclone)로 교환하여 6일간 추가 배양하여 L6 세포를 근관세포(myotube)로 분화시켰다. 그런 다음, 상기 실시예 1에서 제조한 익모초 추출물을 각각 10 µg/mL씩 DMEM (Hyclone)에 녹인 후, 세포에 처리하고 12시간 동안 배양하였다. 배양 후, 세포 용해 완충용액(cell lysis buffer)을 처리하여 세포를 용해시켰다. 수득한 세포 용해물 내 단백질을 브래드포트(Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) 법으로 정량한 다음, 마이크로웰에 세포 용해물을 분주하여 37 ℃에서 2시간 동안 배양하였다. 배양 후, 세척 완충용액(washing buffer)으로 총 4회 씻은 후, 확인용 항체(detection antibody)를 처리하고 37 ℃에서 1시간 배양했으며, 다시 세척 완충용액으로 총 4회 씻은 후, 2차 항체를 넣고 37 ℃에서 30분 동안 배양하였다. 마지막으로 세척 완충용액으로 총 4회 씻은 후, TMB 기질을 각 웰에 넣고 37 ℃에서 10분 동안 배양하고 정지 완충용액(stop solution)을 가하여 TMB의 반응을 멈추었다. 2분 뒤, 450 nm의 파장으로 흡광도를 측정하여 익모초 열수 추출물, 익모초 에탄올 추출물을 처리한 근관 세포 내 mTOR 수준을 측정하였다. 그 결과를 도 1에 나타내었다.
- [0108] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 익모초 추출물을 처리함에 따라 L6 근육세포에서 mTOR의 활성이 유의적(\*\* $p < 0.01$ )으로 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 발명의 익모초 추출물이 근육세포 내에서 근육 생성을 증가시키는 능력이 우수하다는 것을 의미한다.
- [0110] [실시예 3] 익모초 열수 추출물의 근 단백질 합성 생체지표 발현량 증가 효과
- [0111] 근육세포인 L6 myoblast (ATCC)를 10% FBS (Hyclone)가 함유된 DMEM (Hyclone)과 함께 6-웰 플레이트에  $1 \times 10^5$  cell/mL이 되도록 넣었다. 세포밀도가 약 80~85% 되었을 때, 웰에 있는 배지를 제거하고 2% HS (Hyclon



e)가 함유된 DMEM (Hyclone)을 세포에 처리하여 myotube 분화를 유도하였다. 2일에 한 번씩 새로운 배지로 교체하여 총 6일 동안 분화를 진행하였다. 분화 후, 50 ng/mL tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ; PeproTech, Rocky Hills, NJ, USA)가 함유된 DMEM (Hyclone)에 상기 실시예 1-1에서 제조한 익모초 열수 추출물을 DMEM에 40과 80  $\mu$ g/mL의 농도로 녹인 후, 세포에 처리하고 12시간 동안 배양하였다. 배양 후, 단백질 가수분해효소 억제제 카테일(Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA)이 포함된 NP-40 완충용액(ELPIS-Biotech, Daejeon, Korea)으로 세포를 용해시켜 세포 용해물을 획득하였다. 획득한 세포 용해물은 13,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액 내 단백질 농도를 브래드포드(Bio-Rad Laboratories Inc.)로 정량한 다음, 단백질을 5분간 가열하고 10% sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) gel에 전개하여 단백질을 분리하였다. 분리된 단백질은 니트로셀룰로스 막으로 전달하였다. 그런 다음, p-mTOR, mTOR, p-p70S6K, p70S6K, p-4EBP1, 4EBP1, 또는  $\alpha$ -tubulin 항체(Cell Signaling Technology)를 각각 2.5% bovine serum albumin (BSA)에 1:1000 비율로 희석하여 니트로셀룰로스 막에 전달된 단백질과 20시간 동안 상온에서 반응시켰다. 1차 항체를 반응시킨 다음, Tris-buffer Saline Tween20 (TBST)를 이용하여 니트로셀룰로스 막을 10분간 3회 세척하였다. 1차 항체를 인지하는 horseradish peroxidase (HRP)가 접합된 2차 항체(Bethyl Laboratories, Inc., Montgomery, TA, USA)를 2.5% BSA에 1:5000이 되도록 희석하여 니트로셀룰로스 막과 2시간 동안 상온에서 반응시켰으며, TBST를 이용하여 10분씩 3회에 걸쳐 세척하였다. 단백질 밴드는 ECL 웨스턴블롯 검출 시약(GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)을 사용하여 발색하였으며, G;BOX EF imaging system (Syngene, Cambridge, UK)을 이용하여 발색된 단백질 밴드를 확인하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0113] 그 결과, 도 2에서 나타난 바와 같이, TNF- $\alpha$ 에 의해 근단백질 합성에 관여하는 p-mTOR, p-p70S6K 및 p-4EBP-1의 단백질 발현 수준이 유의적( $^{##}p < 0.01$ )으로 감소한 반면, 익모초 열수 추출물을 처리함에 따라 p-mTOR, p-p70S6K 및 p-4EBP-1의 단백질 발현 수준이 유의적( $^{**}p < 0.01$ )으로 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 발명의 익모초 열수 추출물이 근육세포 내에서 근단백질 합성에 관여하는 생체지표의 발현을 증가시키는 능력이 우수한 것을 의미한다.

[0115] [실시예 4] 익모초 열수 추출물의 근 단백질 분해 생체지표 발현량 억제 효과

[0116] 근육세포인 L6 myoblast (ATCC)를 10% FBS (Hyclone)가 함유된 DMEM (Hyclone)과 함께 6-웰 플레이트에  $1 \times 10^5$  cell/mL이 되도록 넣었다. 세포밀도가 약 80~85%가 되었을 때, 웰에 있는 배지를 제거하고 2% HS (Hyclone)가 함유된 DMEM (Hyclone)을 세포에 처리하여 myotube 분화를 유도하였다. 2일에 한 번씩 새로운 배지로 교체하여 총 6일 동안 분화를 진행하였다. 분화 후, 50 ng/mL TNF- $\alpha$  (PeproTech)가 함유된 DMEM (Hyclone)에 상기 실시예 1-1에서 제조한 익모초 열수 추출물을 DMEM에 40과 80  $\mu$ g/mL의 농도로 녹인 후, 세포에 처리하고 12시간 동안 배양하였다. TRIzol시약(Takara, Otsu, Japan)을 사용하여 총 RNA를 분리하였다. 분리한 총 RNA는 나노드랍(NanoDrop 1000; Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)을 이용하여 정량하였다. 정량된 16  $\mu$ L의 RNA를 Reverse Transcriptase Premix (ELPIS-Biotech)와 PCR 기계(Gene Amp PCR System 2700; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하여 42 $^{\circ}$ C, 55분 및 70 $^{\circ}$ C, 15분의 조건에서 cDNA로 합성하였다. 16  $\mu$ L의 생성된 cDNA 중 1  $\mu$ L의 cDNA, 하기의 특정 프라이머(Bioneer, Daejeon, Korea) 그리고 PCR premix (ELPIS-Biotech)로 95  $^{\circ}$ C에서 30초, 60  $^{\circ}$ C에서 30초, 72  $^{\circ}$ C에서 45초를 35번 반복하여 PCR을 수행하였다.

[0118] MuRF1

[0119] Forward primer: 5'-CCGGACGGAAATGCTATGGA-3' (서열번호 1)

[0120] Reverse primer: 5'-AGCCTGGAAGATGTCGTTGG-3' (서열번호 2)

[0121] Atrogin-1

[0122] Forward primer: 5'-ATGTCTGGAGGTCGTTTCCG-3' (서열번호 3)

[0123] Reverse primer: 5'-CGTCTTCGTGTTCTTGCAC-3' (서열번호 4)

[0124]  $\beta$ -Actin

[0125] Forward primer: 5'-TGACAGGATGCAGAAGGAGATTAC-3' (서열번호 5)

[0126] Reverse primer: 5'-TAAACGCAGCTCAGTAACAGTC-3' (서열번호 6)

[0128] PCR 결과 증폭된 cDNA를 1.5% agarose gel로 전기영동하여 분리하였으며, G;BOX EF imaging system (Syngene,

Cambridge, UK)을 이용하여 cDNA band를 확인하였다.

[0130] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 TNF- $\alpha$ 에 의해 근단백질 분해에 관여하는 atrogin-1과 MuRF1의 mRNA 발현 수준이 유의적(<sup>#</sup> $p < 0.01$ )으로 증가한 반면, 익모초 열수 추출물을 처리함에 따라 atrogin-1과 MuRF1의 mRNA 발현 수준이 유의적(<sup>\*</sup> $p < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $p < 0.01$ )으로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 발명의 익모초 열수 추출물이 근육세포 내에서 근단백질 분해에 관여하는 생체지표의 발현을 억제시키는 능력이 우수한 것을 의미한다.

[0131]

[실시예 5] 익모초 에탄올 추출물의 근 단백질 분해 생체지표 발현량 억제 효과

[0132] 상기 실시예 1-3에서 제조한 익모초 에탄올 추출물을 10과 20  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 세포에 처리하였다는 점을 제외하고, 상기 실시예 4와 동일한 방법으로 실험을 진행하였다.

[0135] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이 TNF- $\alpha$ 에 의해 근단백질 분해에 관여하는 atrogin-1과 MuRF1의 mRNA 발현 수준이 증가한 반면, 익모초 에탄올 추출물을 처리함에 따라 atrogin-1과 MuRF1의 mRNA 발현 수준이 감소한 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 발명의 익모초 에탄올 추출물이 근육세포 내에서 근단백질 분해에 관여하는 생체지표의 발현을 억제시키는 능력이 우수한 것을 의미한다.

[0137] [실시예 6] 익모초 열수 추출물의 근육 분화 생체지표 발현량 증가 효과

[0138] 근육세포인 L6 myoblast (ATCC)를 10% FBS (Hyclone)가 함유된 DMEM (Hyclone)과 함께 6-웰 플레이트에  $1 \times 10^5$  cell/mL이 되도록 넣었다. 세포밀도가 약 80~85% 되었을 때, 웰에 있는 배지를 제거하고 50 ng/mL TNF- $\alpha$  (PeproTech)와 2% HS (Hyclone)가 함유된 DMEM (Hyclone)에 상기 실시예 1-1에서 제조한 익모초 열수 추출물을 40과 80  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 녹인 후, 세포에 처리하여 myotube 분화를 유도하였다. 2일에 한 번씩 새로운 배지로 교체하여 총 6일 동안 분화를 진행하였다. 이 때, TNF- $\alpha$ 가 함유되지 않고 2% HS (Hyclone)가 함유된 DMEM (Hyclone)를 세포한 군을 대조군으로 하였다. TRIzol시약(Takara)을 사용하여 총 RNA를 분리하였다. 분리한 총 RNA는 나노드랍(NanoDrop 1000; Thermo Fisher Scientific Inc.)을 이용하여 정량하였다. 정량된 16  $\mu\text{L}$ 의 RNA를 Reverse Transcriptase Premix (ELPIS-Biotech)와 PCR 기계(Gene Amp PCR System 2700; Applied Biosystems)를 이용하여 42  $^{\circ}\text{C}$ , 55분 및 70  $^{\circ}\text{C}$ , 15분의 조건에서 cDNA로 합성하였다. 16  $\mu\text{L}$ 의 생성된 cDNA 중 1  $\mu\text{L}$ 의 cDNA, 하기의 특정 프라이머(Bioneer), 그리고 PCR premix (ELPIS-Biotech)로 95  $^{\circ}\text{C}$ 에서 30초, 60  $^{\circ}\text{C}$ 에서 30초, 72  $^{\circ}\text{C}$ 에서 45초를 35번 반복하여 PCR을 수행하였다.

[0140] MyoD

[0141] Forward primer: 5'-TGCCTCGGAGATAATACAGCC-3'(서열번호 7)

[0142] Reverse primer: 5'-GGTGTAAACAACCATACCCACT-3'(서열번호 8)

[0143] Myogenin

[0144] Forward primer: 5'-AGAGAGCCCCCTTGTTAATGC-3'(서열번호 9)

[0145] Reverse primer: 5'-GGCCACTACTGTCTCTCAAA-3'(서열번호 10)

[0146]  $\beta$ -Actin:

[0147] Forward primer: 5'-TGACAGGATGCAGAAGGAGATTAC-3'(서열번호 5)

[0148] Reverse primer: 5'-TAAACGCAGCTCAGTAACAGTC-3'(서열번호 6)

[0150] PCR 결과 증폭된 cDNA를 1.5% agarose gel로 전기영동하여 분리하였으며, G:BOX EF imaging system (Syngene)을 이용하여 cDNA band를 확인하였다.

[0152] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이 TNF- $\alpha$ 를 처리함에 따라 유의적(<sup>#</sup> $p < 0.01$ )으로 감소한 MyoD와 myogenin의 mRNA 발현이 익모초 열수 추출물의 처리에 의해 유의적(<sup>\*\*</sup> $p < 0.01$ )으로 증가함을 알 수 있었다. 이는 본 발명의 익모초 열수 추출물이 근육의 분화를 촉진시키는 능력이 우수하다는 것을 의미한다.

[0154] [실시예 7] 레오누린의 근 단백질 합성 생체지표 발현량 증가 효과

- [0155] 레오누린을 20와 40  $\mu$ M로 세포에 처리한 점을 제외하고, 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 실험을 진행하였다.
- [0157] 그 결과, 도 6에서 나타난 바와 같이, TNF- $\alpha$ 에 의해 근단백질 합성에 관여하는 p-mTOR, p-p70S6K 및 p-4EBP-1의 단백질 발현 수준이 유의적(<sup>#</sup> $p < 0.05$ , <sup>##</sup> $p < 0.01$ )으로 감소한 반면, 레오누린을 처리함에 따라 p-mTOR, p-p70S6K 및 p-4EBP-1의 단백질 발현 수준이 유의적(<sup>\*</sup> $p < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $p < 0.01$ )으로 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 발명의 레오누린이 근육세포 내에서 근단백질 합성에 관여하는 생체지표의 발현을 증가시키는 능력이 우수한 것을 의미한다.
- [0159] **[실시예 8] 레오누린의 근 단백질 분해 생체지표 발현량 억제 효과**
- [0160] 레오누린을 20와 40  $\mu$ M로 세포에 처리한 점을 제외하고, 상기 실시예 4와 동일한 방법으로 실험을 진행하였다.
- [0162] 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이 TNF- $\alpha$ 에 의해 근단백질 분해에 관여하는 atrogen-1과 MuRF1의 mRNA 발현 수준이 유의적(<sup>##</sup> $p < 0.01$ )으로 증가한 반면, 레오누린을 처리함에 따라 atrogen-1과 MuRF1의 mRNA 발현 수준이 유의적(<sup>\*\*</sup> $p < 0.01$ )으로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 발명의 레오누린이 근육세포 내에서 근단백질 분해에 관여하는 생체지표의 발현을 억제시키는 능력이 우수한 것을 의미한다.
- [0164] **[실시예 9] 레오누린의 근육 분화 생체지표 발현량 증가 효과**
- [0165] 레오누린을 20와 40  $\mu$ M로 세포에 처리한 점을 제외하고, 상기 실시예 6과 동일한 방법으로 실험을 진행하였다.
- [0167] 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이 TNF- $\alpha$ 를 처리함에 따라 유의적(<sup>##</sup> $p < 0.01$ )으로 감소한 MyoD와 myogenin의 mRNA 발현이 레오누린의 처리에 의해 유의적(<sup>\*</sup> $p < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $p < 0.01$ )으로 증가함을 알 수 있었다. 이는 본 발명의 레오누린이 근육의 분화를 촉진시키는 능력이 우수하다는 것을 의미한다.
- [0169] **[실시예 10] 동물모델에서 익모초 열수 추출물 및 레오누린의 근 기능 및 근육량 증가 효과**
- [0170] **<10-1> 동물의 사육 및 근위축 유도**
- [0171] 실험동물로 생후 7주된 수컷쥐(C57BL/6J; DBL, Korea)를 구입하여 실험을 진행하였다. 모든 동물의 사육은 연세 실험동물연구센터(Yonsei Laboratory Animal Reaserch Center; YLARC, Seoul, Korea)에서 진행되었으며, 사육실 환경은 온도  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $55 \pm 10\%$ 로 유지시켰다. 실험 시작 전, 총 20마리의 쥐를 무작위로 1군당 5마리가 되도록 나누었다. 1주일간 적응시킨 후, 325 mg/kg의 트리브로모메탄올(tribromoethanol, Sigma-Aldrich)을 복강 주사하여 마취를 유도하였다. 마취 후, 근위축군과 시료 투여군에 있는 쥐의 오른쪽 뒷다리(hindlimb) 장딴지근육(gastrocnemius muscle)과 오른쪽 발바닥을 피부 스테이플러(skin stapler)(Unidus, Chungcheongbuk-do, Korea)를 사용하여 스테이플러 심으로 근육을 손상시키고 오른쪽 뒷다리가 움직이지 못하게 하였으며 이 상태를 일주일 간 유지시켰다. 일주일 후, 장딴지근과 발바닥에 고정되어 있던 스테이플러 심을 제거하고 다시 일주일간 상기 실시예 1-1에서 제조한 익모초 열수 추출물을 150 mg/kg 또는 300 mg/kg 및 레오누린을 30 mg/kg의 농도로 매일 경구투여하였다. 이 때, 정상군과 근위축군은 시료 대신에 식염수로 경구투여를 실시하였다.
- [0173] **<10-2> 익모초 열수 추출물 및 레오누린의 근력 향상 효과 확인**
- [0174] 경구 투여 기간이 끝나고, 근력측정기(Panlab, Barcelona, Spain)를 이용하여 쥐의 근력을 측정하였다. 쥐가 근력측정기의 막대를 놓을 때까지 일정한 힘으로 쥐의 꼬리를 당겼으며, 한 마리당 총 5회 연속 테스트를 실시하였다.
- [0176] 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이 정상군에 비해 근위축군에서 근력이 유의적(<sup>##</sup> $p < 0.01$ )으로 감소하였으나 익모초 열수 추출물 및 레오누린을 처리함에 따라 근력이 유의적(<sup>\*\*</sup> $p < 0.01$ )으로 증가한 것을 확인하였다. 이는 본 발명의 익모초 열수 추출물 및 레오누린이 근위축으로 인해 감소한 근력을 증가시키는 효과가 우수하다는 것을 의미한다.
- [0178] **<10-3> 익모초 열수 추출물 및 레오누린의 근육 무게 증가 효과 확인**
- [0179] 근력 측정이 끝난 후, 실험동물을 325 mg/kg의 트리브로모메탄올(Sigma-Aldrich)을 복강 주사하여 마취 후 심체혈을 통해 희생을 하였다. 심장박동이 멈춘 것을 확인한 뒤, 오른쪽 뒷다리에서 손상을 입지 않은 전경골근



(tibialis anterior muscle)을 적출하여 무게를 측정하였다.

[0181] 그 결과, 도 10에 나타난 바와 같이 정상군에 비해 근위축군의 전경골근의 무게가 유의적( $^{***}p < 0.01$ )으로 감소하였으나 익모초 열수 추출물 및 레오누린을 처리함에 무게가 유의적( $^*p < 0.05$ ,  $^{**}p < 0.01$ )으로 증가한 것을 확인하였다. 이는 본 발명의 익모초 열수 추출물 및 레오누린이 근위축으로 인해 감소한 근육의 무게를 증가시키는 효과가 우수하다는 것을 의미한다.

[0183] **[실시에 11] 동물모델에서 익모초 에탄올 추출물의 근 기능 및 근육량 증가 효과**

[0184] 상기 실시예 10-1과 동일한 방법으로 근위축을 유도한 다음 상기 실시예 1-3에서 제조한 익모초 에탄올 추출물을 200 mg/kg의 농도로 매일 경구투여하였다. 다음, 상기 실시예 10-2와 실시예 10-3과 동일한 방법으로 근력과 근육 무게를 측정한 결과, 익모초 에탄올 추출물 투여군은 근위축군에 비하여 근력과 근육 무게가 각각 23.91%( $^{**}p < 0.01$ )와 17.28%( $^{**}p < 0.01$ ) 증가하였다. 이는 본 발명의 익모초 에탄올 추출물이 근위축으로 인해 감소한 근력과 근육의 무게를 증가시키는 효과가 우수하다는 것을 의미한다.

[0186] **[실시에 12] 동물모델에서 익모초 아임계 추출물의 근 기능 및 근육량 증가 효과**

[0187] 상기 실시예 10-1과 동일한 방법으로 근위축을 유도한 다음 상기 실시예 1-6에서 제조한 익모초 아임계 추출물을 200 mg/kg의 농도로 매일 경구투여하였다. 다음, 상기 실시예 10-2와 실시예 10-3과 동일한 방법으로 근력과 근육 무게를 측정한 결과, 익모초 아임계 추출물 투여군은 근위축군에 비하여 근력과 근육 무게가 각각 24.97%( $^{**}p < 0.01$ )와 20.60%( $^{**}p < 0.01$ ) 증가하였다. 이는 본 발명의 익모초 아임계 추출물이 근위축으로 인해 감소한 근력과 근육의 무게를 증가시키는 효과가 우수하다는 것을 의미한다.

[0189] 이하, 본 발명에 따른 익모초 추출물 또는 레오누린을 유효성분으로 함유하는 의약품, 식품 또는 화장품의 제조 예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다. 상기 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 근 기능 개선 효과가 우수한 익모초 추출물 또는 레오누린을 가지고 하기와 같은 조성성분 및 조성비에 따라 제조예 1 내지 3의 의약품, 식품 또는 화장품 조성물을 통상적인 방법에 따라서 제조하였다.

[0190] **[제조예 1] 의약품**

[0191] <1-1> 산제

[0192] 익모초 추출물 또는 레오누린 50 mg, 결정셀룰로오스 2 g을 혼합한 후 통상의 산제 제조방법에 따라서 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0194] <1-2> 정제

[0195] 익모초 추출물 또는 레오누린 50 mg, 결정셀룰로오스 400 mg, 스테아린산 마그네슘 5 mg을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0197] <1-3> 캡슐제

[0198] 익모초 추출물 또는 레오누린 30 mg, 유청단백질 100 mg, 결정셀룰로오스 400 mg, 스테아린산 마그네슘 6 mg을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0200] **[제조예 2] 식품**

[0201] <2-1> 건강식품의 제조

[0202] 익모초 추출물 또는 레오누린 1000 mg, 비타민 A 아세테이트 70 ug, 비타민 E 1.0 mg, 비타민 B1 0.13 mg, 비타민 B2 0.15 mg, 비타민 B6 0.5 mg, 비타민 B12 0.2 ug, 비타민 C 10 mg, 비오틴 10 ug, 니코틴산아미드 1.7 mg, 엽산 50 ug, 판토텐산 칼슘 0.5 mg, 황산제1철 1.75 mg, 산화아연 0.82 mg, 탄산마그네슘 25.3 mg, 제1인산칼륨 15 mg, 제2인산칼슘 55 mg, 구연산칼륨 90 mg, 탄산칼슘 100 mg, 염화마그네슘 24.8 mg를 혼합하여 제조할 수 있으며, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0204] <2-2> 건강음료의 제조

[0205] 익모초 추출물 또는 레오누린 1000 mg, 구연산 1000 mg, 올리고당 100 g, 매실농축액 2 g, 타우린 1 g에 정제수를 가하여 전체 900 mL 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85에서 교

반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강음료 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0207] <2-3> 츠잉껌

[0208] 껌 베이스 20 중량%, 설탕 76.9 중량%, 향료 1 중량% 및 물 2 중량% 와 익모초 추출물 또는 레오누린 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 츠잉껌을 제조하였다.

[0210] <2-4> 캔디

[0211] 설탕 60 중량%, 물엿 39.8 중량% 및 향료 0.1 중량%와 익모초 추출물 또는 레오누린 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 캔디를 제조하였다.

[0213] <2-5> 비스킷

[0214] 박력 1급 25.59 중량%, 중력 1급 22.22 중량%, 정백당 4.80 중량%, 식염 0.73 중량%, 포도당 0.78 중량%, 팜쇼트닝 11.78 중량%, 압모늄 1.54 중량%, 중조 0.17 중량%, 중아황산나트륨 0.16 중량%, 쌀가루 1.45 중량%, 비타민 B 0.0001 중량%, 밀크향 0.04 중량%, 물 20.6998 중량%, 전지분유 1.16 중량%, 대용분유 0.29 중량%, 제1인산칼슘 0.03 중량%, 살포염 0.29 중량% 및 분무유 7.27 중량%와 익모초 추출물 또는 레오누린 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 비스킷을 제조하였다.

### [0216] [제조예 3] 화장품

[0217] <3-1> 영양화장수(밀크로션)

[0218] 익모초 추출물 또는 레오누린을 하기 표 1의 영양화장수 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 영양화장수를 제조하였다.

표 1

배합성분	제조예3-1 (중량%)
익모초 추출물 또는 레오누린	2.0
스쿠알란	5.0
밀납	4.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비탄세스퀴올레이트	1.5
유동파라핀	0.5
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	5.0
글리세린	3.0
부틸렌글리콜	3.0
프로필렌글리콜	3.0
카르복시비닐폴리머	0.1
트리에탄올아민	0.2
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	to 100

[0220] <3-2> 유연화장수(스킨로션)

[0221] 익모초 추출물 또는 레오누린을 하기 표 2의 유연화장수 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 유연화장수를 제조하였다.

표 2

배합성분	제조예3-2 (중량%)
익모초 추출물 또는 레오누린	2.0
글리세린	3.0
부틸렌글리콜	2.0
프로필렌글리콜	2.0
카르복시비닐폴리머	0.1

PEG 12 노닐페닐에테르	0.2
폴리솔베이트 80	0.4
에탄올	10.0
트리에탄올아민	0.1
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	to 100

[0223] <3-3> 영양크림

[0224] 익모초 추출물 또는 레오누린을 하기 표 3의 영양크림 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 영양크림을 제조하였다.

표 3

[0225]

배합성분	제조예3-3 (중량%)
익모초 추출물 또는 레오누린	2.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비탄세스퀴올레이트	0.5
PEG60 경화피마자유	2.0
유동파라핀	10
스쿠알란	5.0
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	5.0
글리세린	5.0
부틸렌글리콜	3.0
프로필렌글리콜	3.0
트리에탄올아민	0.2
방부제	적량
색소	적량
향료	적량
정제수	to 100

[0226] <3-4> 마사지크림

[0227] 익모초 추출물 또는 레오누린을 하기 표 4의 마사지크림 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 마사지크림을 제조하였다.

표 4

[0228]

배합성분	제조예3-4 (중량%)
익모초 추출물 또는 레오누린	1.0
밀납	10.0
폴리솔베이트 60	1.5
PEG 60 경화피마자유	2.0
솔비탄세스퀴올레이트	0.8
유동파라핀	40.0
스쿠알란	5.0
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	4.0
글리세린	5.0
부틸렌글리콜	3.0
프로필렌글리콜	3.0
트리에탄올아민	0.2
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	to 100

[0229] <3-5> 팩

[0230] 익모초 추출물 또는 레오누린을 하기 표 5의 팩 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 팩을 제조하였다.

표 5

[0231]

배합성분	제조예3-5 (중량%)
익모초 추출물 또는 레오누린	1.0
폴리비닐알콜	13.0
소듐카르복시메틸셀룰로오스	0.2
글리세린	5.0
알란토인	0.1
에탄올	6.0
PEG 12 노닐페닐에테르	0.3
폴리솔베이트 60	0.3
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	to 100

[0232] <3-6> 젤

[0233] 익모초 추출물 또는 레오누린을 하기 표 6의 젤 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 젤을 제조하였다.

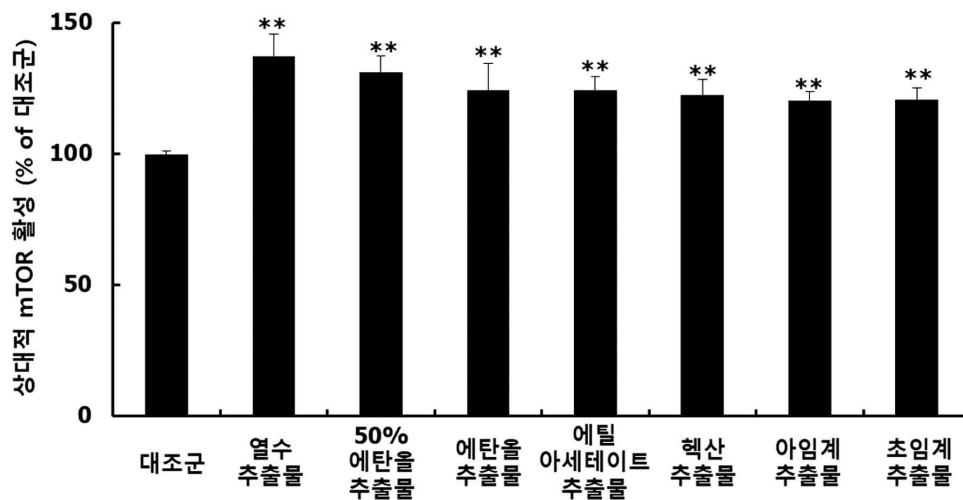
표 6

[0234]

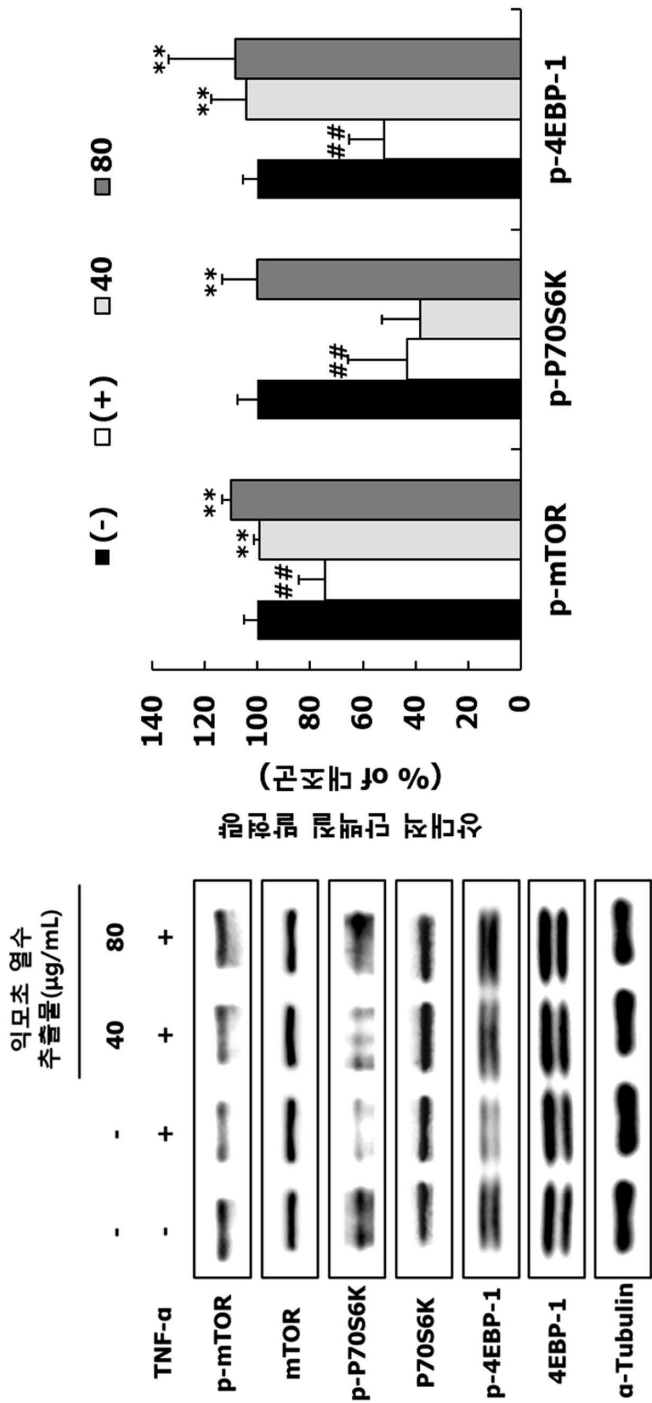
배합성분	제조예3-6 (중량%)
익모초 추출물 또는 레오누린	0.5
에틸렌디아민초산나트륨	0.05
글리세린	5.0
카르복시비닐폴리머	0.3
에탄올	5.0
PEG 60 경화피마자유	0.5
트리에탄올아민	0.3
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	to 100

## 도면

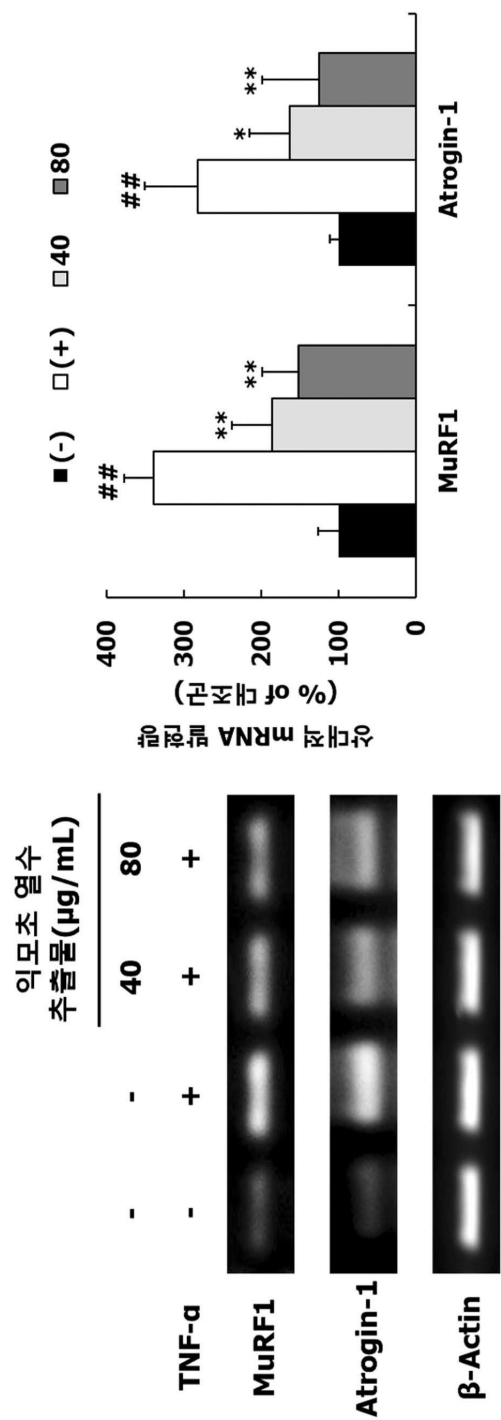
### 도면1



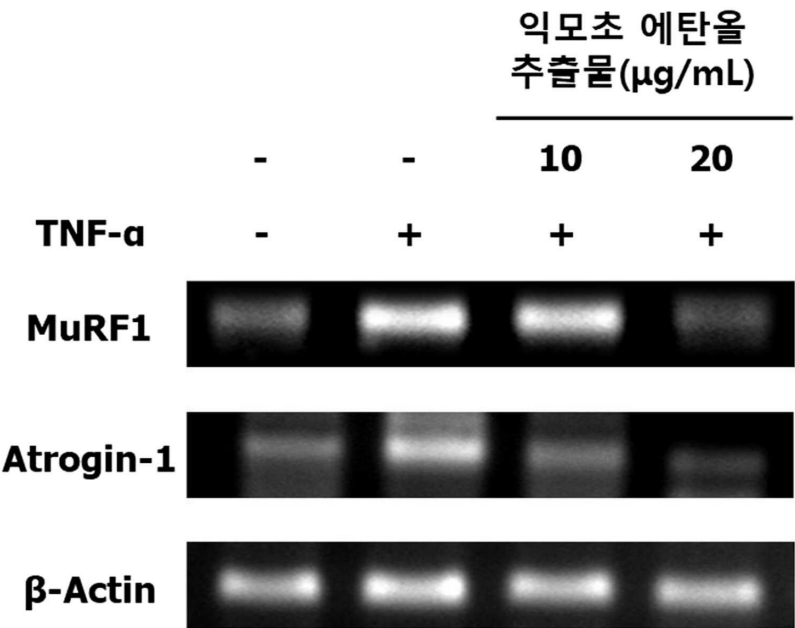
도면2



도면3

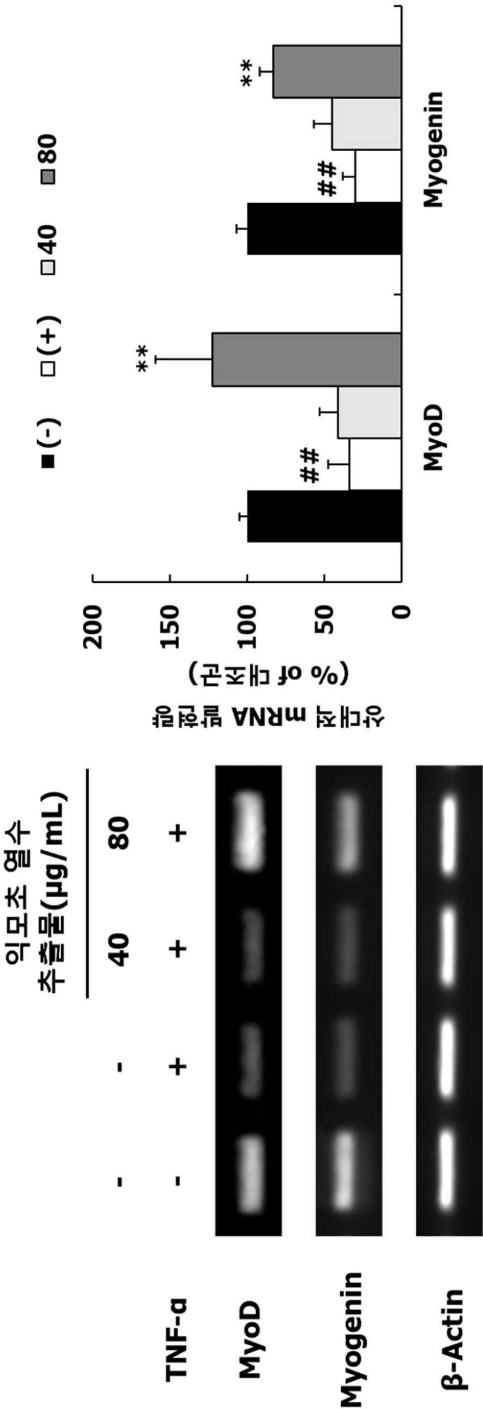


도면4

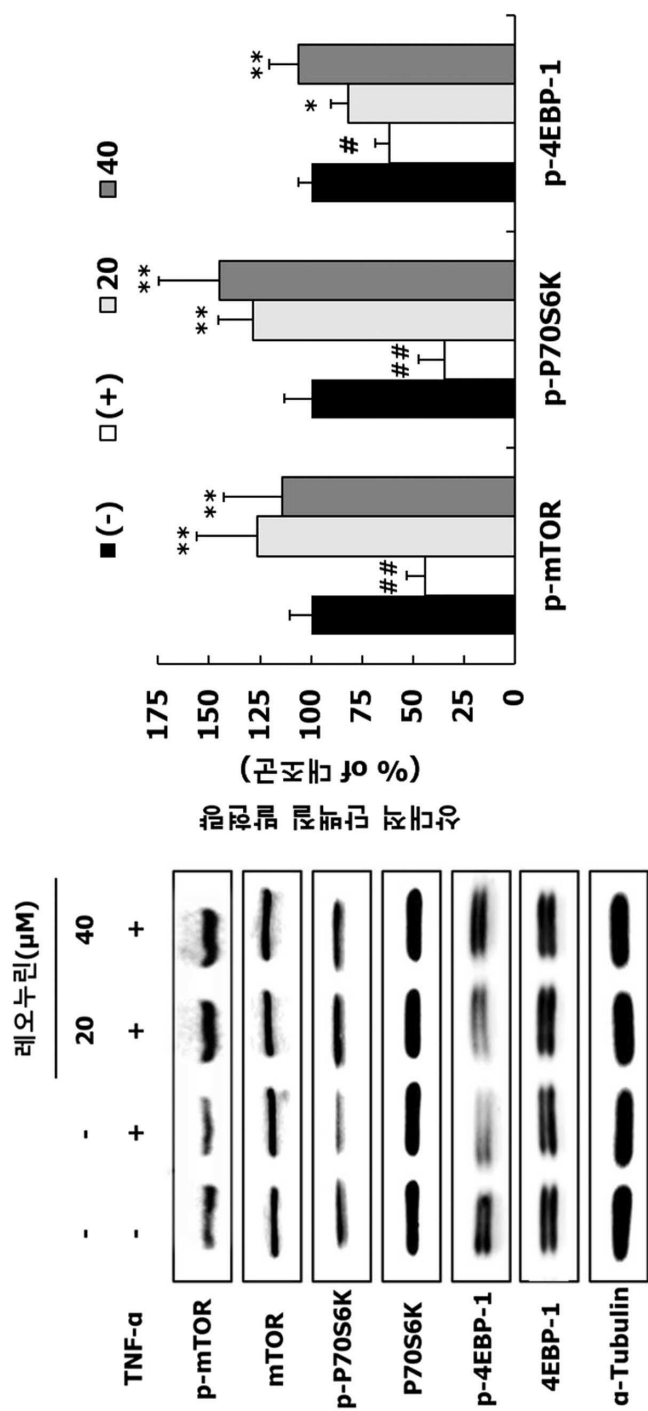




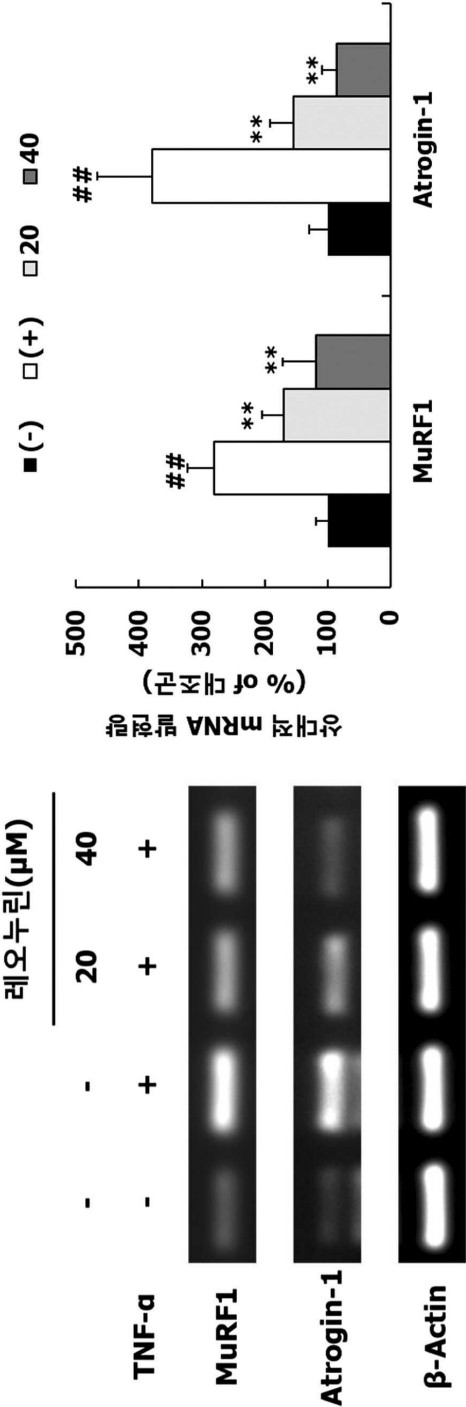
도면5



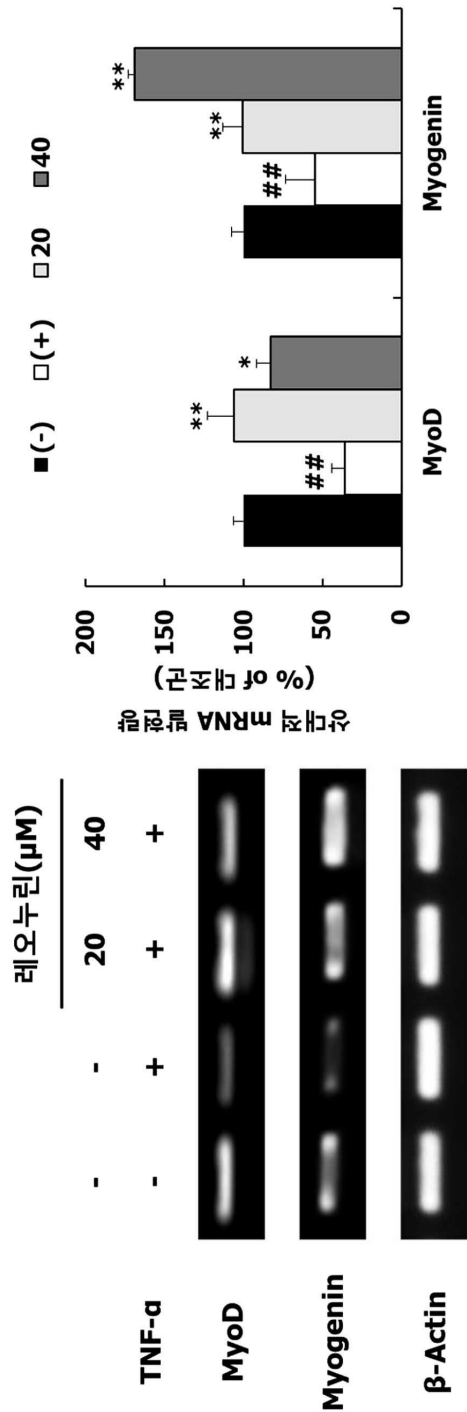
도면6



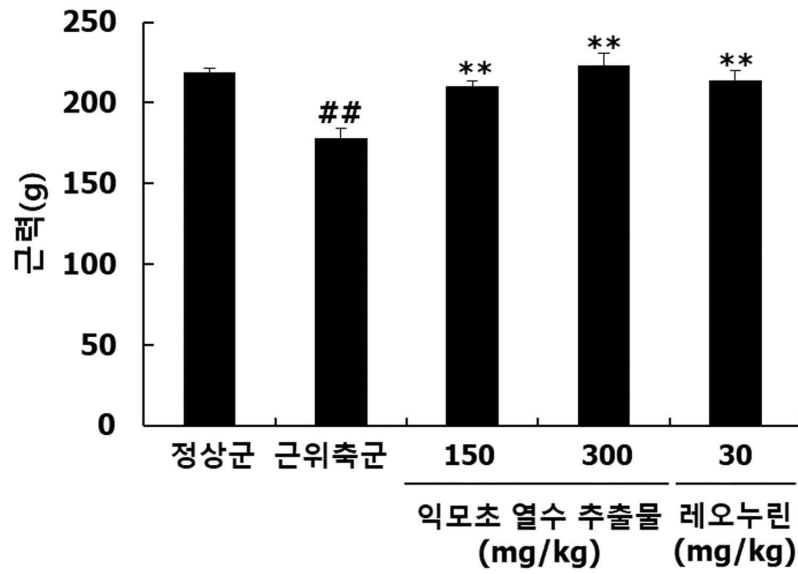
도면7



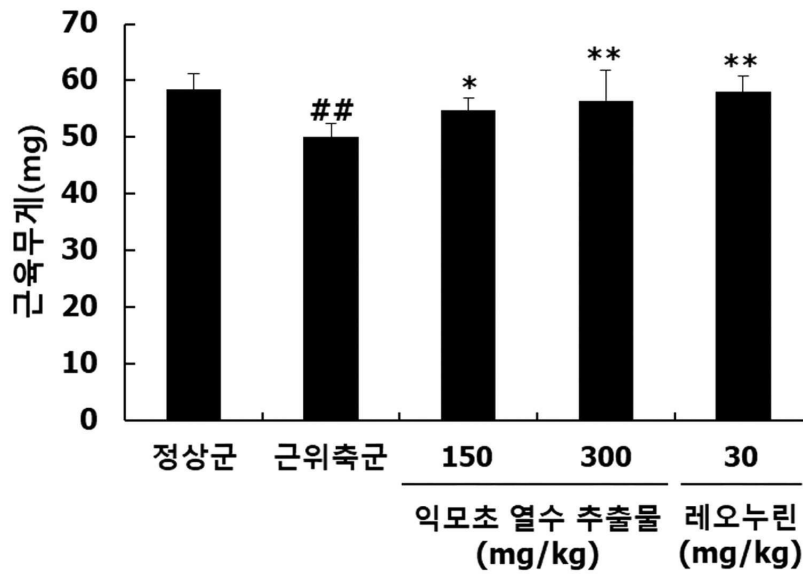
도면8



도면9



도면10



## 서열 목록

- <110> FND NET CO.,LTD.  
Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> Composition for prevention or treatment of muscular disorder or improvement of muscular functions comprising Leonurus japonicus extract or leonurine
- <130> HPC-9171
- <160> 10
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1

<211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Forward primer for Atrogin-1  
 <400> 1  
 gttactgcaa caaggagaat ctgtt 25

<210> 2  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Reverse primer for Atrogin-1  
 <400> 2  
 ccgtatgagt cttatgtttt gctgg 25

<210> 3  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Forward primer for MuRF1  
 <400> 3  
 ccggacggaa atgctatgga 20

<210> 4  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Reverse primer for MuRF1  
 <400> 4  
 agcctggaag atgtcgttgg 20

<210> 5  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Forward primer for beta Actin  
 <400> 5

tgacaggatg cagaaggaga ttac	24
<210> 6	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Reverse primer for beta Actin	
<400> 6	
taaaacgcag ctcagtaaca gtc	23
<210> 7	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Forward primer for MyoD	
<400> 7	
tgccctcgag ataatacagc c	21
<210> 8	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Reverse primer for MyoD	
<400> 8	
ggtgtaacaa ccatacccca ct	22
<210> 9	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Forward primer for Myogenin	
<400> 9	
agagagcccc cttgttaatg c	21
<210> 10	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	



<220><223> Reverse primer for Myogenin

<400> 10

ggccactcac tgtctctcaa a

21