



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0068606
(43) 공개일자 2012년06월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/12 (2006.01) A61P 19/10 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0130300

(22) 출원일자 2010년12월17일

심사청구일자 2010년12월17일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50, 연세대학교 (신촌동)

대한민국(농촌진흥청장)

경기 수원시 권선구 서둔동 250번지

(72) 발명자

박광균

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

정원윤

서울특별시 마포구 독막로28길 7, 10동 1501호 (신수동, 성원아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김문재, 이종승, 권형중

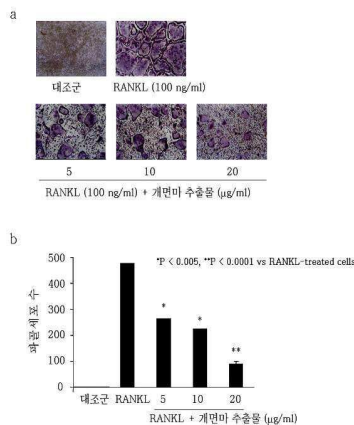
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 개면마 추출물을 유효성분으로 하는 골 질환 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 개면마 추출물을 유효성분으로 하는 골 질환 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 의한 조성물은 파골세포의 형성을 감소시켜 골 흡수를 억제하며, 골다공증과 같이 뼈 골절과 관련된 골 질환 예방 및 치료효능을 가질 수 있다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

신지은

서울특별시 서대문구 연세로 50, 치과대학 608호
(신촌동)

이승은

충청북도 음성군 소이면 비산로 92

성낙술

충청북도 음성군 소이면 비산로 92

성정숙

충청북도 음성군 소이면 비산로 92

박춘근

경기도 수원시 권선구 매실로 61, 202동 2007호
(호매실동, 삼익2차아파트)

박희운

경기도 수원시 영통구 매탄로126번길 22, 매탄그
린빌 104동 1704호 (매탄동)

이정훈

충청북도 음성군 소이면 비산로 92

이은숙

충청북도 청주시 상당구 쇠내로 117-7 (금천동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ007083

부처명 농촌진흥청

연구사업명 바이오그린21

연구과제명 식물자원의 항염증, 항암 활성평가 및 이를 이용한 데이터베이스 구축

주관기관 연세대학교산학협력단

연구기간 2008.01.01 ~ 2008.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

개면마(*Matteuccia orientalis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 골 질환은 골다공증(osteoporosis), 골연화증(osteomalacia), 구루병, 섬유성 골염, 무형성 골질환 및 대사성 골질환으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 골 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 골질환은 암세포의 전이에 의해 초래되는 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 추출물은 파골세포의 형성을 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 추출물은 파골세포에 의한 골흡수를 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 골 질환이 골다공증(osteoporosis)인 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 7

개면마(*Matteuccia orientalis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 골 질환은 골다공증(osteoporosis), 골연화증(osteomalacia), 구루병, 섬유성 골염, 무형성 골질환 및 대사성 골질환으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 골 질환의 개선 및 완화용 식품 조성물.

청구항 9

제 7항에 있어서,

상기 골질환은 암세포의 골전이에 의해 초래되는 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물.

청구항 10

제 7항에 있어서,

상기 추출물은 파골세포의 형성을 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물.

청구항 11

제 7항에 있어서,

상기 추출물은 파골세포에 의한 골흡수를 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물.

청구항 12

제 7항에 있어서,

상기 골 질환이 골다공증(osteoporosis)인 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 개면마 추출물을 유효성분으로 하는 골 질환 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 골다공증의 증상인 골밀도 및 뼈 질량의 감소는 뼈(bone)내의 파골세포(osteoclast)와 조골세포(osteoblast)의 불균형(imbalance)에 의한 결과이다. 과도한 파골세포(osteoclast)의 생성은 골다공증과 같은 골밀도를 감소시키는 질병을 유도한다. 뼈 흡수를 수행하는 파골세포는 크고 다핵의 세포로써 골 기질을 무너뜨리고 뼈 미네랄을 분해하는 기능을 한다. 활성화된 파골세포는 세 개 이상의 핵을 가지고 있는데, 파골세포는 파골세포 전구세포(precursor cell)로부터 성숙한 다핵의 파골세포로의 분화를 유도하기 위해 다양한 호르몬들과 인자들을 요구한다. 그 인자들 중 가장 중요한 두 가지 인자는 조골세포(osteoblast)로부터 생산되는 M-CSF(macrophage colony stimulating factor)와 RANKL(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand)이다(Mojtaba A. et al., Cancer Biol Ther., 7:1,3-9;1 (2008)).

[0003] M-CSF는 조골세포와 골수 기질 세포(stromal cell)로부터 발현되는 사이토카인으로 파골세포 형성에 중요한 역할을 한다(Anne T. et al., J Surg Res., 100:18-24(2001)). M-CSF는 주로 세포의 증식, 생존 그리고 세포골격 형성(cytoskeletal organization)에 중요한 역할을 한다 (Kim SY. et al., J Korean Orthop Assoc., 44:151-158(2009)). 또 다른 중요 인자인 RANKL은 조골세포의 표면에서 발현되며, 활성화된 T-cell에 의해 방출된다. RANKL은 파골세포 전구 세포에 있는 RANK 수용기에 부착되어 파골세포의 성장을 유도하고 분화시킨다 (Mojtaba A. Cancer biology & Therapy 7:1,3-9;1 (2008)). RANKL은 c-fos, NFATc1(nuclear factor of activated T cells), NF- κ B(Nuclear factor kappa B)와 같은 전사인자들을 활성화시켜 파골세포의 분화를 촉진시키고, PI-3K(phosphatidylinositol 3-kinase), ERK(extracellular signal-regulated kinase)같은 신호전달 체계를 활성화시켜 파골세포의 생존 및 기능을 촉진 한다(LEE ZH. et al., Biochem Biophys Res Commun., 305: 211-213(2003)).

[0004] 이와 같이 파골세포에서 분비된 효소들에 의한 골 흡수는 골다공증 및 통증과 골절을 유도하여, 이들을 치료하기 위한 타겟 세포로 파골세포가 지목되고 있다. 즉, 파골세포의 분화를 억제시킨다면 뼈 흡수 역시 억제시킬 수 있고 골 질병, 골다공증 역시 치료할 수 있을 것이라는 가정 하에 파골세포에 대한 많은 약물들과 치료법들에 대한 연구가 진행 중이다. 현재 파골세포에 의한 골다공증과 같은 골 손상 치료에 포사맥스(Fosamax, 성분명:aleudronate)와 악토넬(Actonel, 성분명: risedronate)과 같은 비스포스포네이트(bisphosphonate) 계열의 치료제가 널리 이용되고 있다. 이들 비스포스포네이트 제제들은 대부분 뼈를 파괴하는 파골세포의 기능을 약화하고 세포사멸을 유도해 뼈의 손실을 느리게 하거나 멈추게 하는 작용을 한다. 그러나 이들 약제들은 새로운 골 형성을 촉진시키는 기능은 가지고 있지 않으며, 최근 비스포스포네이트를 복용하는 환자들에게서 턱 뼈 괴사(osteonecrosis), 중증 심방 세동, 뼈나 관절의 무력화 또는 근골격의 통증이 발생하는 사례가 해마다 증가되고 있다(Coleman RE., Br J Cancer, 98:1736-1740(2008)). 특히, 유방암, 전립선암 환자에서 뼈로 전이된 암세포에 의해 파골세포 형성이 촉진되어 심각한 골질환이 발생하는데 이를 치료하기 위한 약물이 개발되어 있지 않다. 현재 비스포스포네이트 제제를 고용량으로 투여하는데 이로 인해 턱뼈괴사 환자들이 현저히 증가하는 추세이다. 따라서, 비스포스포네이트의 단점을 보완하고 독성이 없으며 파골세포에 의한 골 흡수에 효과적인 물질을 발견 하는 것이 아주 중요한 과제이다.

[0005] 이러한 과제의 해법은 천연물질에서 추출한 추출물을 이용하는 것이다. 식물에서 추출한 물질들은 대부분 화

학물질로 합성된 약품들에 비해 독성이 적으며 또한 화학물질로 인한 신체 내 유전자 변형을 예방할 수 있어 각광받고 있다. 한편, 개면마 추출물은 천연물질에서 추출하였고, 비스포스포네이트 제제들과 같이 뼈 손실에 효능을 가지고 있으며, 독성을 가지지 않아 턱뼈 괴사 및 뼈 무력화 같은 비스포스포네이트 제제들에서 보인 문제점을 보완할 수 있을 것으로 기대된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 천연물질인 개면마의 추출물을 이용하여 부작용 및 독성이 없으며 파골세포에 의한 골 흡수에 효과적인 물질을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여 일 구체예에서 개면마(*Matteuccia orientalis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다. 다른 구체예에서, 상기 골 질환은 골다공증(osteoporosis), 골연화증(osteomalacia), 구루병, 섬유성 골염, 무형성 골질환 및 대사성 골질환으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 골 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 골질환은 암세포의 전이에 의해 초래되는 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 추출물은 파골세포의 형성을 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 추출물은 파골세포에 의한 골흡수를 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 골 질환이 골다공증(osteoporosis)인 것을 특징으로 하는 골질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0008] 일 구체예에서, 개면마(*Matteuccia orientalis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물을 제공한다. 다른 구체예에서, 상기 골 질환은 골다공증(osteoporosis), 골연화증(osteomalacia), 구루병, 섬유성 골염, 무형성 골질환 및 대사성 골질환으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 골 질환의 개선 및 완화용 식품 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 골질환은 암세포의 골전이에 의해 초래되는 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 추출물은 파골세포의 형성을 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 추출물은 파골세포에 의한 골흡수를 억제하는 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물을 제공한다. 또 다른 구체예에서, 상기 골 질환이 골다공증(osteoporosis)인 것을 특징으로 하는 골질환의 개선 및 완화용 식품 조성물을 제공한다.

[0009] 일 구체예에서, 본원 추출물을 피검체에 유효량을 투여하여 골질환을 치료하는 방법을 제공한다.

[0010] 일 구체예에서, 본원 추출물을 피검체에 유효량을 투여하여 파골세포의 형성을 억제하는 방법을 제공한다.

[0011] 일 구체예에서, 본원 추출물을 피검체에 유효량을 투여하여 파골세포에 의한 골 흡수를 억제하는 방법을 제공한다.

[0012] 본 발명에서, “개면마(*Onoclea orientalis* Hook.)”는 여러해살이풀이다. 잎은 모여나며 긴 타원형이고 깃 모양으로 2번 갈라진 것이 특징이다. 중부와 남부의 산지대에서 자라며 주로 그늘진 곳에서 자란다. 뿌리줄기에는 플라보노이드가 함유되어 있고 전초에는 플라보노이드인 마테우시놀과 디메톡시마테우시놀이 포함되어있다. 민간에서 개면마는 뿌리줄기를 벌레 떼기약에 사용하며 오줌내기약으로서 사용되기도 한다. 어린잎은 산나물로 해먹는다.

[0013] 본 발명에서 “골절환”은 뼈 내의 파골세포와 조골세포의 불균형에 의한 결과로서 그 예로는 이에 한정하지는 않지만, 암세포의 골전이에 의해 초래되는 뼈의 손상, 골다공증, 골연화증, 구루병, 섬유성 골염, 무형성 골절환 및 대사성골절환이 있다(한국등록특허 제 10-0399374 및 제 10-0720026 참조).

발명의 효과

[0014] 본 발명에 의한 조성물은 파골세포의 형성을 감소시켜 골 흡수를 억제하며, 골다공증과 같이 뼈 골절과 관련된 골 질환 예방 및 치료효능을 가질 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 개면마 추출물에 의한 생쥐 골수 대식세포의 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.

도 2는 파골세포 형성에 대한 개면마 추출물의 억제 효과를 나타낸 결과 이미지 및 그래프이다.

도 3은 파골세포에 의한 골 흡수에 대한 개면마 추출물의 억제 효과를 나타낸 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

실시예

실시예 1. 개면마 추출물의 제조

[0019] 개면마 지상부(충청북도 음성군 소이면 소재 농촌진흥청 작물과학원 인삼약초연구소 뒷산)를 채취하여 정선하여, 세척한 후 50℃ 건조기(DS 80-2; 다솔과학, 대한민국)에서 건조하여 건조된 개면마 지상부를 다용도분쇄기(DA-505; 대성아트론, 대한민국)를 사용하여 분말화 하였다. 개면마 지상부 분말 8g을 가속용매추출장치[ASE(Accelerated Solvent Extractor)-300; DIONEX, 미국]를 사용하여 50℃에서 100% 메탄올로 5분간 2회 반복 추출하여, 얻어진 추출액을 감압농축장치(SB-1000; EYELA, 일본)를 사용하여 50℃이하로 유지하면서 농축하여 최종적으로 추출물 2.03g을 획득하였다.

실시예 2: 생쥐 골수 대식세포 배양

[0021] 3주령 수컷 ICR 생쥐(중앙실험동물㈜, 대한민국)의 경추를 탈골한 뒤 견좌를 이용하여 뒷다리의 외피를 벗겼다. 수술용 가위로 외피가 벗겨진 뒷다리를 절단 하고 혈청이 없는 α -MEM(Minimum Essential medium alpha; Gibco, 미국)에 넣었다. 핀셋을 이용하여 근육 속의 뼈를 분리하고 신선한 α -MEM에 옮겨 담았다. 1ml 주사기에 500 μ l의 α -MEM을 넣어 주사기 바늘을 다리뼈 가운데 척수 부분에 꽂고 2~3번 분사하여 골수 세포를 적출하였다. 적출한 골수세포를 원심분리기를 통해 모아준 뒤 신선한 α -MEM으로 섞어 주었다. 그 다음 분리 배지 히스토파크(Histopaque; Sigma, 미국)를 포함한 배지를 사용하여 적출한 골수세포로부터 골수 대식세포를 분리하였다. 분리한 골수 대식 세포는 1% 항생-항균(Antibiotic-Antimycotic; Gibco, 미국), 10% 우태아혈청(fetal bovine serum(FBS); Gibco, 미국), 대식세포-집락 자극 인자(macrophage-colony stimulating factor(M-CSF); R&D system Inc, 미국) 30ng/ml을 포함한 α -MEM에서 배양하였다.

실시예 3: 생쥐 골수 대식세포에서 개면마 추출물의 세포 독성 측정

[0023] 개면마 추출물의 생쥐 골수 대식세포에 대한 세포 독성을 확인하기 위하여 MTT 어세이를 수행하였다. 개면마 추출물을 DMSO(dimethyl sulfoxide; Sigma, 미국)에 녹인 후 1% 항생-항균 용액, 10% FBS 및 M-CSF(30ng/ml)이 첨가된 α -MEM으로 각각 5, 10, 20 μ g/ml의 농도가 되도록 희석하였다. 96-웰 플레이트의 각 웰에 5×10^4 개의 생쥐 골수 대식세포를 넣은 후, 희석된 추출물이 포함되어 있는 α -MEM을 각각 200 μ l씩 첨가하여 생쥐 골수 대식 세포를 배양하였다. 이틀마다 개면마 추출물을 포함한 신선한 α -MEM 배지로 교환하였

다. 37℃, 5% CO₂ 조건인 세포 배양기에서 5일간 배양한 후 각 웰 당 5mg/ml의 농도가 되게 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide; Sigma, 미국) 용액을 첨가하였다. 4시간 동안 37℃에서 배양한 후, 배지 및 MTT용액을 완전히 제거하고 각 웰 당 DMSO를 200 µl씩을 첨가하였다. 20분 후 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 대조군(배지만 처리한 웰)의 흡광도에 대한 실험군(추출물을 처리한 웰)의 흡광도의 백분율로 계산하였다.

[0024] 생쥐 골수 대식세포에 대한 개면마 지상부 추출물의 세포 독성을 조사한 결과 5, 10, 20 µg/ml의 농도로 처리 하였을 때, 생쥐 골수 대식세포의 세포 생존율을 감소시키지 않았다. 즉, 개면마 추출물들은 골수 대식세포에 대하여 세포독성을 나타내지 않았다(도 1 및 표 1).

표 1

[0025]

개면마 지상부 추출물 농도 (µg/ml)	흡광도 (570nm)	생쥐 골수 대식세포 세포 생존율 (%)
0	0.656	100
5	0.644	98.27
10	0.682	104.02
20	0.645	98.32

[0026] **실시예 4: 개면마 추출물에 의한 생쥐 파골세포 형성 억제능 측정**

[0027] 생쥐 골수 대식세포에서 RANKL에 의해 유도된 파골세포 형성에 대한 개면마 지상부 추출물의 억제 효능을 확인하기 위하여 문헌에 기재된 방법에 따라 다음과 같이 실험을 수행하였다(Park EK.et.al., Biochem Biophys Res Commun., 325(4):1472-1480(2004)). 개면마 지상부 추출물을 DMSO에 녹인 후 1% 항생-항균 용액, 10% FBS, RANKL(100ng/ml) 및 M-CSF(30ng/ml)가 첨가된 α-MEM으로 5, 10, 20 µg/ml의 농도가 되도록 희석하였다. 분리한 골수 대식세포를 96-웰 플레이트에 각 웰 당 5×10^4 개씩 넣고 희석된 농도에 따라 α-MEM을 200 µl씩 첨가하여 배양하였다. 대조군은 개면마 추출물이 포함되지 않은 α-MEM 배지 용액만 첨가하였다. 96-웰 플레이트는 이틀마다 추출물이 포함된 동일한 α-MEM 배지로 교환하였으며, 37℃, 5% CO₂ 조건인 세포 배양기에서 5일간 배양한 후 파골세포 형성을 확인하기 위해 TRAP 분석 키트(tartrate resistant acid phosphatase assay kit; Sigma, 미국)를 사용하여 다핵의 파골세포를 염색하였다. 핵이 3개 이상의 파골세포는 광학현미경을 이용하여 카운팅 하였다.

[0028] 실험결과 RANKL을 처리하지 않은 골수 대식세포에서는 파골세포가 생성되지 않은 반면, RANKL을 처리해준 골수 대식세포에서는 파골세포의 수가 확연하게 증가 하였다. 반면 RANKL과 함께 개면마 지상부 추출물을 5, 10, 20 µg/ml를 처리한 생쥐 골수 대식 세포에서는 RANKL만으로 처리한 골수 대식세포에 비해 파골세포 형성이 현저히 감소되었다. 5 µg/ml에서는 44.27%, 10 µg/ml에서는 53.07%, 20 µg/ml에서는 81.28%까지 파골세포의 형성이 감소하였다. 결론적으로 개면마 지상부 추출물들은 농도 의존적으로 파골세포 형성을 현저하게 감소시켰다(도 2 및 표 2).

표 2

[0029]

개면마 지상부 추출물 농도 (µg/ml)	생쥐 파골세포 수	생쥐 파골세포 형성 저해율 (%)
0	477 ± 17	-
5	266 ± 21	44.27
10	224 ± 20	53.07
20	89 ± 12	81.28

[0030] **실시예 5: 개면마 지상부 추출물에 의한 생쥐 파골세포의 골 흡수 억제능의 측정**

[0031] RANKL로 유도한 파골세포에 의한 골 흡수에 개면마 지상부 추출물이 억제 효과를 보이는지를 확인하기 위해 문헌에 기재된 방법에 따라 다음과 같이 실험하였다(Myung Hee Kim, J Cell Physiol., 221: 618-628.(2009)). 인산 칼슘(calcium phosphate)으로 특수 코팅된 16-웰 플레이트(Biocoat osteologic multitest slides; BD, 미국)에 3주령 생쥐 뒷다리 골수에서 분리한 대식세포(BMM)를 각 웰 당 5×10^4 개씩 넣고, 실험군에는 1% 항생

-항균용액, 10% FBS, RANKL(100ng/ml) 및 M-CSF(30ng/ml)이 첨가된 α -MEM을 200 μ l씩 첨가하였다. 반면 대조군에는 RANKL이 포함되지 않은 α -MEM 배지만 첨가하였다. 이틀마다 신선한 배지로 교환해주고 37°C, 5% CO₂ 조건인 세포 배양기에서 4일간 배양하였다. 파골세포 형성을 확인한 후 개면마 추출물이 포함된 배지를 첨가하였다. 개면마 지상부 추출물은 DMSO에 녹인 후 1% 항생-항균 용액, 10% FBS, RANKL(100ng/ml) 및 M-CSF(30ng/ml)가 첨가된 α -MEM으로 5, 10 μ g/ml의 농도가 되도록 희석하였다. 역시 이틀마다 추출물이 함유된 신선한 배지로 교환해주고 15~17일째까지 파골세포에 의한 골 흡수를 측정하였다. 15일 후 배지를 제거하고 치아염소산나트륨(sodium hypochlorite) 용액을 넣어주었다. 5분 후 치아염소산나트륨 용액을 완전히 제거하고 3차 증류수로 두 번 씻어준 다음 파골세포에 의하여 형성된 흡수(resorption pit)를 광학현미경으로 관찰하였다.

[0032]

그 결과 골수 대식세포에 RANKL을 처리하였을 경우 RANKL을 포함하지 않은 그룹보다 흡수와 생성이 증가하였다. 그러나 RANKL만 처리한 대조군에 비해 RANKL 및 개면마 지상부 추출물을 처리한 경우 흡수와 생성이 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 개면마 지상부는 파골세포의 형성을 억제할 뿐만 아니라 파골세포에 의한 골 흡수 역시 억제하였다(도 3).

[0033]

실시예 6: 골질환 치료를 위한 추출물의 생체 내 투여

[0034]

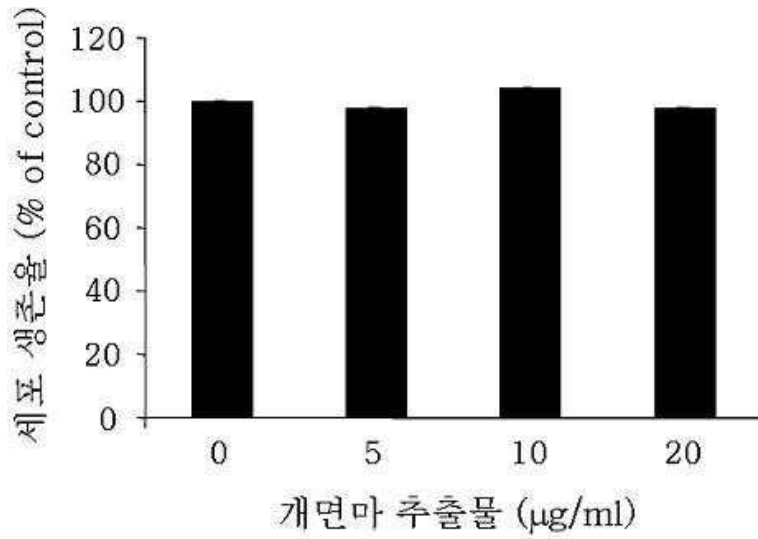
대한실험공급센터에서 공급받은 6주령의 특정병원체부재(specific pathogen-free, SPF) SD계 랫트를 사용하여 급성독성실험을 하기와 같이 실시하였다. 각 그룹 당 2마리씩의 동물에 상기 실시예 1의 추출물을 1g/kg의 용량으로 1회 경구 투여 후, 동물의 폐사여부, 임상증상 및 체중변화를 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학적 검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 강장기와 흉강 장기의 이상 여부를 관찰하였다. 실험 결과, 실험 물질을 투여한 모든 동물에서 특이할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액 검사, 혈액생화학 검사 및 부검 소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과, 본 발명의 추출물은 랫트에서 각각 1g/kg까지도 독성변화를 나타내지 않았으며, 경구투여 최소치사량(LD 50)은 1g/kg이상인 안전한 물질로 판단됨을 확인할 수 있었다.

[0035]

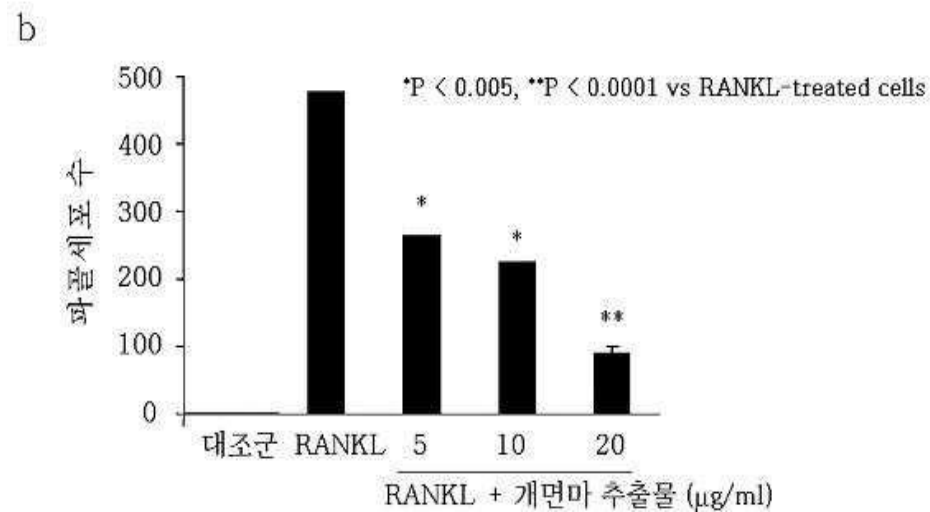
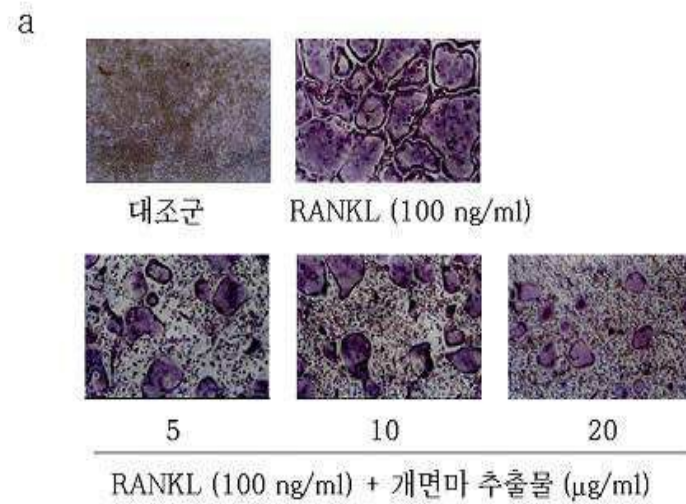
지금까지 예시적인 실시 태양을 참조하여 본 발명을 기술하여 왔지만, 본 발명의 속하는 기술 분야의 당업자는 본 발명의 범주를 벗어나지 않고서도 다양한 변화를 실시할 수 있으며 그의 요소들을 등가물로 대체할 수 있음을 알 수 있을 것이다. 또한, 본 발명의 본질적인 범주를 벗어나지 않고서도 많은 변형을 실시하여 특정 상황 및 재료를 본 발명의 교시내용에 채용할 수 있다. 따라서, 본 발명이 본 발명을 실시하는데 계획된 최상의 양식으로서 개시된 특정 실시 태양으로 국한되는 것이 아니며, 본 발명이 첨부된 특허청구의 범위에 속하는 모든 실시 태양을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1



도면2



도면3

