



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년01월31일  
(11) 등록번호 10-0799492  
(24) 등록일자 2008년01월24일

(51) Int. Cl.

A61K 36/804 (2006.01) A61K 36/126 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2004-0036063

(22) 출원일자 2004년05월20일

심사청구일자 2004년05월20일

(65) 공개번호 10-2005-0111040

(43) 공개일자 2005년11월24일

(56) 선행기술조사문헌

Biol. Pharm. Bull. 27(4), 583-6 (2004)

(73) 특허권자

주식회사 오스코텍

충남 천안시 성거읍 오목리 2-17번지

(72) 발명자

김정근

경기도 성남시 분당구 서현동 효자촌 현대아파트 114-302

김세원

충청남도 천안시 쌍용동 월봉 현대아파트 503-102호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 여호섭

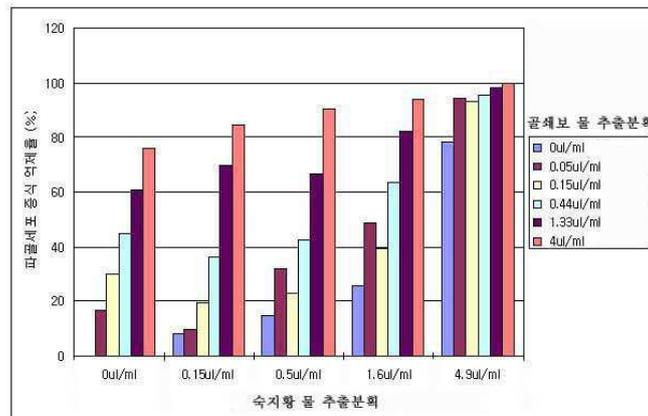
(54) 숙지황과 골쇄보의 혼합 생약재 추출물 및 이를유효성분으로 하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 숙지황과 골쇄보의 혼합 생약재 추출물 및 이를 유효성분으로 하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 혼합 생약재 추출물은 파골세포의 형성 및 활성을 효과적으로 억제하므로, 골다공증 예방 및 치료에 유용한 의약품 및 건강식품으로 널리 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

**김형진**

서울특별시 강남구 청담동 65 진흥아파트 5동 108호

**고선일**

충남 천안시 쌍용동 현대1차아파트 101동 1207호

**백동현**

서울특별시 강남구 삼성동 63-4

**이병의**

대전광역시 대덕구 신탄진동 라이프 새여울아파트 102-106

**정동식**

충청남도 천안시 신방동 성지아파트 103-1603

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

숙지황 추출물과 골쇄보 추출물이 0.15~15.0 : 0.05~4.0의 중량비로 혼합된 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 골다공증 예방 및 치료용 약학 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

제 1항에 있어서, 파골세포 증식 억제 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

제 1항에 있어서, 숙지황 추출물은 물 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 7**

제 1항에 있어서, 숙지황 추출물은 숙지황 물 추출물의 에탄올, 부탄올 및 에틸아세테이트로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나의 용매분획인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 8**

제 1항에 있어서, 골쇄보 추출물은 골쇄보의 물 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 9**

제 1항에 있어서, 골쇄보 추출물은 골쇄보 물추출물의 에탄올 용매 분획인 것을 특징으로 하는 조성물.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**발명의 목적**

**발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술**

- <8> 본 발명은 숙지황과 골쇄보의 혼합 생약재 추출물 및 이를 유효성분으로 하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.
- <9> 골다공증(osteoporosis)은 골흡수와 골형성의 균형이 무너져 발생하는 것으로 골형성보다 과다하게 골흡수가 진행되는 데 기인한 질환으로, 골다공증은 골 조직의 석회화 감소되어 뼈의 치밀질이 얇아지고 그로 인해 골수강(骨髓腔)이 넓어지고, 중세가 진전됨에 따라 뼈가 약해지기 때문에 작은 충격에도 골절되기 쉽다. 골조직은 조골세포에 의해 형성되고 파골세포에 의해 파괴 흡수가 끊임없이 반복되는 동적인 조직이다.
- <10> 골다공증은 그 증세 자체보다는 골의 약화에 따라 용이하게 초래되는 각종 골절, 특히 대퇴골 골절 또는 척추골절 등이 장기간 활동을 제한하여 건강한 생활을 영위할 수 없고, 결과적으로 노인층 사망의 15%에 대한 원인제공을 하는 것으로 알려져 있다. 골량은 유전적 요인, 영양 섭취, 호르몬의 변화, 운동 및 생활 습관의 차이 등 여러 가지 요인들에 의해 영향을 받으며, 골다공증의 원인으로는 노령, 운동 부족, 저체중, 흡연, 저칼슘 식이, 폐경, 난소 절제 등이 알려져 있다. 한편 개인차는 있지만 백인보다는 흑인이 골 재흡수 수준(bone resorption

level)이 낮아 골량이 더 높으며, 대개 골량은 14-18세에 가장 높고 노후에는 1년에 약 1%씩 감소한다. 특히 여성의 경우 30세 이후부터 골 감소가 지속적으로 진행되며, 폐경기에 이르면 호르몬 변화에 의해 골 감소가 급격히 진행된다. 즉, 폐경기에 이르면 에스트로젠 농도가 급속히 감소하는데, 이때 인터루킨-7(interleukin-7; IL-7)에 의한 것처럼 B-림프구(B-lymphocyte)가 다량 생성되어 골수(bone marrow)에 B 세포 전구체(pre-B cell)가 축적되고 이로 인해 IL-6의 양이 증가하여 파골 세포의 활성을 증가시키므로 결국 골량이 감하게 된다.

- <11> 이와 같이 골다공증은 정도에 차이는 있으나 노년층, 특히 폐경기 이후의 여성에게 있어서는 피할 수 없는 증상으로, 선진국에서는 인구가 노령화됨에 따라 골다공증 및 그 치료제에 대한 관심이 점차 증가되고 있다.
- <12> 또한, 전세계적으로 골질환 치료와 관련하여 약 1,300억 달러의 시장이 형성되어 있는 것으로 알려져 있으며 앞으로 더 증가할 것으로 예상되기 때문에, 세계적인 각 연구 기관과 제약회사에서는 골질환 치료제 개발에 많은 투자를 하고 있고 현재 골흡수 억제제의 개발이 활발히 진행되고 있다.
- <13> 골다공증과 관련하여 과거에는 주로 골의 무기질, 즉 칼슘과 인의 대사이상을 중심으로 그 연구가 진행되어 왔으나, 이의 발병 기전 규명에는 큰 진전을 보지 못하였다.
- <14> 현재 골다공증 치료제로 사용되고 있는 물질로는 비스포스포네이트 제제(알렌드로네이트, 에티드로네이트), 호르몬 제제(랄록시펜), 비타민 D 제제, 칼시토닌 제제, 칼슘 제제 등이 있다. 그러나, 비스포스포네이트 제제는 흡수율이 떨어지며 복용방법이 까다롭고 식도염을 유발시키며, 호르몬 제제는 평생 복용하여야 하며 장기 투여할 경우 유방암, 자궁암, 담석 및 혈전증 등의 부작용이 나타나고, 비타민 D 제제는 고가이며 효과가 확실하지 않고, 칼시토닌 제제는 고가이며 투여방법이 어렵고, 칼슘제제는 부작용은 적지만 치료보다는 예방효과에 국한되는 단점이 있다.
- <15> 골다공증은 약물의 단기 투여만으로는 치료할 수 없으며 약물의 장기 투여가 필수적이다. 따라서, 약물을 장기 투여할 때에 상기와 같은 부작용이 없고 우수한 약효를 갖는 새로운 물질의 필요성이 요구되고 있다.
- <16> 한편, 숙지황(熟地黃; Rehmanniae Radix Preparata)은 현삼과에 딸린 약용식물의 뿌리를 썬서 말린 것으로, 한방에서 약재로 사용하고 있으며, 낱것을 생지황, 말린 것을 건지황이라 하며, 숙지황 중 특히 술에 담갔다가 썬서 말리기를 9번 되풀이하여 만든 것은 구지황이라 하여 그 약효를 으뜸으로 친다. 맛은 달면서도 쓴맛이 돌고 따뜻한 성질이 있어 혈을 보(補)하고 정(精 : 생명이 발생하고 활동하는 데 기본이 되는 물질)을 보충해서 허리와 무릎이 시리고 아픈 증상이나 월경이상, 어지럼증 등을 치료하고 머리를 감게 하는 효능이 있다. 숙지황은 사물탕(四物湯)의 주요 약재이며 각종 만성병 중 몸이 허약하여 나타나는 내열(內熱), 인후건조(咽喉乾燥), 갈증 등의 증상에 쓰인다. 민간요법에서는 돼지고기를 삶은 국물과 함께 복용하면 습관성 변비에 효과가 있다고 알려져 있다.
- <17> 골쇄보(骨碎補; Drynaria fortunei (Kze.) J. sm.)는 고란초과에 속하는 여러해살이 풀인 녀죽고사리, 즉 골쇄보의 뿌리줄기를 말린 것이다. 성분이 따뜻하고 맛이 쓰며 독이 없고 파혈과 지혈의 작용을 가지고 있으며, 특히 만성적인 신경통을 치료하는데 중요한 약물로 알려져 있으며, 주요 성분으로는 헤스피리딘(hesperidin), 나린진(naringin), 전분, 포도당 등이 있다.
- <18> 이에, 본 발명자들은 숙지황과 골쇄보의 다양한 생리활성 연구를 수행하던 중, 숙지황과 골쇄보의 혼합 생약제 추출물이 독성이 없을 뿐만 아니라 파골세포의 증식을 억제하는 활성을 나타내어 부작용 없이 골다공증을 예방하고 치료하는데 효과적임을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

**발명이 이루고자 하는 기술적 과제**

- <19> 본 발명은 숙지황 추출물과 골쇄보 추출물을 혼합한 파골세포 증식 억제 활성을 갖는 혼합 생약제 추출물을 제공하고자 한다.
- <20> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약제 추출물을 유효성분으로 하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물을 제공하고자 한다.

**발명의 구성 및 작용**

- <21> 본 발명은 숙지황 추출물과 골쇄보 추출물을 혼합한 파골세포 증식 억제 활성을 갖는 혼합 생약제 추출물을 제공한다.

- <22> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.
- <23> 본 발명의 조성물은 골다공증의 예방 및 치료에 유용한 약학 조성물 및 건강식품 조성물을 포함한다.
- <24> 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
- <25> 본 발명은 숙지황 추출물 0.15~15.0 중량부와 골쇄보 추출물 0.05~4.0 중량부로 혼합한 생약재 추출물을 제공한다.
- <26> 본 발명의 조성물에 포함되는 혼합 생약재는 물, 알콜 또는 유기용매로 추출하여 사용하며, 상기 혼합 생약재의 추출방법은 다음과 같다.
- <27> 숙지황과 골쇄보를 각각 추출용기에 넣고, 각각 증류수를 가하여 100℃에서 4시간 동안 열수 추출한다. 상기 과정을 3회 반복한 후 얻어진 용액을 실온에서 식힌 후 거름종이로 여과한다. 각각 얻어진 상기 추출액은 진공회전증발기를 이용하여 40℃ 이하에서 감압농축하여 숙지황 추출물 및 골쇄보 추출물을 각각 얻는다. 상기 농축된 숙지황 추출물은 부탄올, 에틸아세테이트, 에탄올을 이용하여 활성추적분획법(bioassay-directed fractionation)으로 분리한다. 또한, 상기 농축된 골쇄보 추출물은 에탄올을 이용하여 활성추적분획법으로 분리한다. 상기에서 얻은 숙지황 추출물과 골쇄보 추출물을 각각 0.15~15.0 중량부와 0.05~4.0 중량부로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조한다.
- <28> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.
- <29> 본 발명의 혼합 생약재 추출물은, 숙지황 추출물과 골쇄보 추출물을 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성을 현저히 억제시킴으로, 골다공증의 예방 또는 치료에 효과적으로 사용될 수 있다.
- <30> 본 발명의 조성물은 상기 혼합 생약재 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- <31> 상기 혼합 생약재 추출물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 즉, 본 발명의 혼합 생약재 추출물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 혼합 생약재 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 및 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- <32> 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 혼합 생약재 추출물이 200 내지 400 mg/kg이고, 바람직하기로는 300 내지 350 mg/kg이며, 하루 1~6 회 투여될 수 있다.
- <33> 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 랫트에 경구 투여하여 독성 실험을 수행한 결과, 경구 투여 독성시험에 의한 50% 치사량(LD<sub>50</sub>)은 적어도 1g/kg 이상인 안전한 물질로 판단된다.
- <34> 본 발명의 조성물은 골다공증의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- <35> 본 발명의 조성물은 골다공증의 개선을 목적으로 건강식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 혼합 생약재 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에는 본 발명의 혼합 생약재 추출물이 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이

하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

<36> 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

<37> 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스나 같은 디사카라이드, 및 벡스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 0.01~0.04g, 바람직하게는 약 0.02~0.03g 이다.

<38> 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러가지 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. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 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 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<39> 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

<40> **실시예 : 혼합 생약제 추출물의 제조**

<41> **1. 숙지황 추출물의 제조**

<42> **1-1) 숙지황 물 추출분획**

<43> 숙지황 100g을 3ℓ 추출용기에 넣고 증류수 1ℓ 를 가하여 100℃에서 4시간 동안 열수 추출하였다. 상기 과정을 3회 반복한 후 얻어진 용액을 실온에서 식힌 후 거름종이로 여과하였다. 상기 추출액은 진공회전증발기를 이용하여 40℃ 이하에서 감압농축하여 숙지황 물 추출분획을 얻었다(수율 : 42%).

<44> **1-2) 숙지황 부탄올 추출분획**

<45> 상기 1-1)에서 얻은 농축된 숙지황 물 추출분획을 1ℓ 분별깔때기에 넣고, n-부탄올 400ml를 가하여 내압을 제거하며 용매 분획하여 상층을 모았다. 이 과정을 3회 반복하여 n-부탄올 분획을 모으고, 진공회전증발기를 이용하여 40℃ 이하에서 감압농축하여 n-부탄올을 제거하였다. n-부탄올을 제거한 후 증류수를 가하여 용해시켰다(수율 : 2.6%).

<46> **1-3) 숙지황 에틸아세테이트 추출분획**

<47> 상기 1-1)에서 얻은 농축된 숙지황 물 추출분획을 1ℓ 분별깔때기에 넣고, 에틸아세테이트 400ml를 가하여 내압을 제거하며 용매 분획하여 상층을 모았다. 이 과정을 3회 반복하여 에틸아세테이트 분획을 모으고, 진공회전증발기를 이용하여 40℃ 이하에서 감압농축하여 에틸아세테이트를 제거하였다. 에틸아세테이트를 제거한 후 증류수를 가하여 용해시켰다(수율 : 0.4%).

<48> **1-4) 숙지황 에탄올 추출분획**

<49> 상기 1-1)에서 얻은 농축된 숙지황 물 추출분획에 에탄올 400ml를 가하여 80% 에탄올로 조절한 후 냉장고에서 4℃를 유지시키며 하룻밤을 방치하였다. 다음날 침전층을 제외하고 에탄올 수용액을 여과한 후, 진공회전증발기를 이용하여 40℃ 이하에서 감압농축하여 에탄올을 제거하였다. 에탄올을 제거한 후 증류수를 가하여 용해시켰다(수율 : 32.8%).

<50> **2. 골쇄보 추출물의 제조**

<51> **2-1) 골쇄보 물 추출분획**

<52> 골쇄보 100g을 3ℓ 추출용기에 넣고 증류수 1ℓ 를 가하여 100℃에서 4시간 동안 열수 추출하였다. 상기 과정을

3회 반복한 후 얻어진 용액을 실온에서 식힌 후 거름종이로 여과하였다. 상기 추출액은 진공회전증발기를 이용하여 40℃ 이하에서 감압농축하여 골쇄보 물 추출분획을 얻었다(수율 : 5.8%).

<53> **2-2) 골쇄보 에탄올 추출분획**

<54> 상기 2-1)에서 얻은 농축된 골쇄보 물 추출분획에 에탄올 400ml를 가하여 80% 에탄올로 조절한 후 냉장고에서 4℃를 유지시키며 하룻밤을 방치하였다. 다음날 침전층을 제외하고 에탄올 수용액을 여과한 후, 진공회전증발기를 이용하여 40℃ 이하에서 감압농축하여 에탄올을 제거하였다. 에탄올을 제거한 후 증류수를 가하여 용해시켰다(수율 : 1.8%).

<55> **3. 혼합 생약재 추출물**

<56> **3-1) 숙지황 물 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 혼합 생약재 추출물**

<57> 상기 1-1)에서 얻은 숙지황 물 추출분획 0.15~4.9 중량부와 상기 2-1)에서 얻은 골쇄보 물 추출분획 0.05~4.0 중량부를 적절한 조성비로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조하였다.

<58> **3-2) 숙지황 부탄올 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 혼합 생약재 추출물**

<59> 상기 1-2)에서 얻은 숙지황 부탄올 추출분획 0.5~14.7 중량부와 상기 2-1)에서 얻은 골쇄보 물 추출분획 0.05~4.0 중량부를 적절한 조성비로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조하였다.

<60> **3-3) 숙지황 에틸아세테이트 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 혼합 생약재 추출물**

<61> 상기 1-3)에서 얻은 숙지황 에틸아세테이트 추출분획 0.25~6.67 중량부와 상기 2-1)에서 얻은 골쇄보 물 추출분획 0.05~4.0 중량부를 적절한 조성비로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조하였다.

<62> **3-4) 숙지황 에탄올 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 혼합 생약재 추출물**

<63> 상기 1-4)에서 얻은 숙지황 에탄올 추출분획 0.625~5.0 중량부와 상기 2-1)에서 얻은 골쇄보 물 추출분획 0.25~2.0 중량부를 적절한 조성비로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조하였다.

<64> **3-5) 숙지황 물 추출분획과 골쇄보 에탄올 추출분획의 혼합 생약재 추출물**

<65> 상기 1-1)에서 얻은 숙지황 물 추출분획 0.938~7.5 중량부와 상기 2-2)에서 얻은 골쇄보 에탄올 추출분획 0.25~4.0 중량부를 적절한 조성비로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조하였다.

<66> **3-6) 숙지황 부탄올 추출분획과 골쇄보 에탄올 추출분획의 혼합 생약재 추출물**

<67> 상기 1-2)에서 얻은 숙지황 부탄올 추출분획 1.25~10.0 중량부와 상기 2-2)에서 얻은 골쇄보 에탄올 추출분획 0.25~4.0 중량부를 적절한 조성비로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조하였다.

<68> **3-7) 숙지황 에탄올 추출분획과 골쇄보 에탄올 추출분획의 혼합 생약재 추출물**

<69> 상기 1-4)에서 얻은 숙지황 에탄올 추출분획 0.625~5.0 중량부와 상기 2-2)에서 얻은 골쇄보 에탄올 추출분획 0.25~4.0 중량부를 적절한 조성비로 혼합하여 혼합 생약재 추출물을 제조하였다.

<70> 상기 혼합 생약재 추출물은 배양액에 희석하여 하기 실험에 사용하였다.

<71> **실험예 1 : 본 발명의 혼합 생약재 추출물에 의한 파골세포(osteoclast)의 증식 억제 작용**

<72> 본 발명의 혼합 생약재 추출물이 파골세포의 성장 및 활성화에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여, 칼슘-포스페이트로 피막된 플레이트(OAAS, OCT Inc.)에 파골세포 전구세포를 배양하여 파골세포의 표지효소인 TRAP(Tartrate-resistant acid phosphatase; 이하 "TRAP"라 약칭한다) 활성을 분석하였다.

<73> **1. 파골세포 전구세포의 순수 분리 및 성숙한 파골세포로의 분화 유도**

<74> 마우스 골수세포를 분리하기 위하여 7~9주 된 웅성 마우스를 경부염전으로 희생시킨 후, 대퇴골과 경골을 무균적으로 적출하고 연조직을 제거하며 장골의 양끝을 절단한 후 26G 주사침을 이용하여 한쪽 끝의 골수강에 0.1% 콜라게나제(Gibco), 0.05% 트립신 및 0.5 mM EDTA(Gibco)가 포함된 효소용액 1ml를 주사하여 골수를 꺼낸 후 30분간 교반하고 골수세포를 모아 10% FBS가 포함된  $\alpha$ -MEM( $\alpha$ -minimum essential medium)에 24시간 전 배양한 후 미부착 세포들을 모았다. 파골세포의 전구세포가 되는 미부착세포를 웰당  $2 \times 10^5$ 개의 세포가 되도록 분주하여 배양하였다. 8일간 배양하는 동안 20ng/ml 대식세포집락자극인자(macrophage-colony stimulating factor; M-

CSF, Peprotech, USA)와 30ng/ml RANKL(Peprotech, USA)이 포함된  $\alpha$ -MEM에 상기 실시예의 혼합 생약재 추출물을 처리하며 배양하였다. 배양이 끝난 후 파골세포의 생성을 검사하기 위하여 세포를 고정하여 TRAP 염색을 시행하였다.

<75> **2. TRAP(+)**인 다핵세포 형성 측정

<76> 파골세포의 형성 측정은 파골세포 전구세포를 칼슘-포스페이트로 코팅된 플레이트 상에서 배양한 후 TRAP(+)를 보이는 다핵세포의 수로 관찰하였다.

<77> 구체적으로, 세포배양 후 부착세포를 PBS로 세척한 다음 시트레이트-아세테이트-포름알데히드(citrate-acetate-formaldehyde)로 5분 동안 고정시키고 나프톨 (naphthol) AS-BI 포스페이트(phosphate), 페스트 가르넷(fast Garnet) GBC 용액과 7mM 타르타레이트 완충액(tartrate buffer, pH 5)을 함유하는 37°C 아세테이트 완충액(pH 5.0)에 1시간 동안 배양하여 TRAP 염색을 하였다. 3개 이상의 핵을 가지는 TRAP(+) 다핵세포들을 파골세포로 간주하였다.

<78> 1) 숙지항 물 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 파골세포증식 억제율(%)의 결과는 표 1 및 도 1에 나타내었다.

**표 1**

<79> 파골세포증식 억제율(%)

	농도 ( $\mu\text{l/ml}$ )	골쇄보 물 추출분획					
		0	0.05	0.15	0.44	1.33	4.0
숙지항 물 추출분획	0	0	10.0	22.0	38.0	60.2	76.0
	0.15	4.0	7.6	17.5	28.8	69.8	84.6
	0.5	10.0	28.0	22.3	40.9	66.7	90.3
	1.6	22.5	46.3	50.0	62.1	82.2	93.6
	4.9	78.3	94.0	93.0	95.7	98.3	100.0

<80> 표 1 및 도 1에 나타난 바와 같이, 숙지항 물 추출분획을 단독으로 처리하였을 때 대조군의 억제 비율을 0으로 하고 대조군에 비한 TRAP 양성 다핵세포의 수의 억제 비율이 각각 0.15, 0.5, 1.6, 4.9 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 4.0, 10.0, 22.5, 78.3%로 파골세포의 생성 및 활성을 억제하였다. 또한, 골쇄보 물 추출분획을 단독으로 처리한 경우 각각 0.05, 0.15, 0.44, 1.33, 4.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 10.0, 22.0, 38.0, 60.2, 76.0%로 파골세포의 형성 및 활성을 억제하였다.

<81> 혼합 생약재 추출물의 예상 파골세포 증식 억제율은 단독 생약재 추출물의 억제율을 제외한 나머지에서 억제율을 나타내는 것이다. 따라서, 상기 표 1의 결과에 의하여 숙지항 물 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 혼합 생약재 추출물의 파골세포억제 능력이 숙지항 물 추출분획 또는 골쇄보 물 추출분획을 단독으로 처리한 경우보다 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었음을 알 수 있다. 특히, 숙지항 물 추출분획 0.15 및 0.5  $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 1.33 및 4.0  $\mu\text{l/ml}$ 를 조합하여 처리한 경우와 숙지항 물 추출분획 1.6 및 4.9  $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 0.05 $\mu\text{l/ml}$  이상의 농도를 조합하여 처리한 경우, 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었다.

<82> 2) 숙지항 부탄올 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 파골세포증식 억제율(%)의 결과는 표 2 및 도 2에 나타내었다.

**표 2**

<83> 파골세포증식 억제율(%)

	농도 ( $\mu\text{l/ml}$ )	골쇄보 물 추출분획					
		0	0.05	0.15	0.44	1.33	4.0
숙지항 부탄올 추출분획	0	0	10.0	22.0	38.0	60.2	76.0
	0.5	15.0	10.0	10.6	35.1	74.1	89.0
	1.6	30.0	30.0	48.5	66.0	78.9	93.0
	4.9	50.0	50.1	62.5	72.7	82.3	95.6
	14.7	97.7	98.7	100.0	100.0	99.3	100.0

<84> 표 2 및 도 2에 나타난 바와 같이, 숙지황 부탄을 추출분획을 단독으로 처리하였을 때 대조군의 억제 비율을 0으로 하고 대조군에 비한 TRAP 양성 다핵세포의 수의 억제 비율이 각각 0.5, 1.6, 4.9, 14.7 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 15.0, 30.0, 50.0, 97.7%로 파골세포의 생성 및 활성을 억제하였다. 또한, 골쇄보 물 추출분획을 단독으로 처리한 경우 각각 0.05, 0.15, 0.44, 1.33, 4.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 10.0, 22.0, 38.0, 60.2, 76.0%로 파골세포의 형성 및 활성을 억제하였다. 특히, 숙지황 부탄을 추출분획 0.5  $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 1.33 및 4.0  $\mu\text{l/ml}$ 을 조합하여 처리한 경우와 숙지황 부탄을 추출분획 1.6 및 4.9  $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 0.15 $\mu\text{l/ml}$  이상의 농도를 조합하여 처리한 경우, 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었다.

<85> 3) 숙지황 에틸아세테이트 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 파골세포증식 억제율(%)의 결과는 표 3 및 도 3에 나타내었다.

**표 3**

<86> 파골세포증식 억제율(%)

	농도 ( $\mu\text{l/ml}$ )	골쇄보 물 추출분획					
		0	0.05	0.15	0.44	1.33	4.0
숙지황 에틸아세테이트 추 출분획	0	0	10.0	22.0	38.0	60.2	76.0
	0.25	10.0	10.0	9.6	26.7	56.0	81.6
	0.74	22.5	15.0	38.5	59.8	78.3	88.3
	2.22	35.0	24.0	49.7	56.5	78.0	92.7
	6.67	60.0	64.6	72.8	78.3	84.7	96.6

<87> 표 3 및 도 3에 나타난 바와 같이, 숙지황 에틸아세테이트 추출분획을 단독으로 처리하였을 때 대조군의 억제 비율을 0으로 하고 대조군에 비한 TRAP 양성 다핵세포의 수의 억제 비율이 각각 0.25, 0.74, 2.22, 6.67 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 10.0, 22.5, 35.0, 60.0%로 파골세포의 생성 및 활성을 억제하였다. 또한, 골쇄보 물 추출분획을 단독으로 처리한 경우 각각 0.05, 0.15, 0.44, 1.33, 4.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 10.0, 22.0, 38.0, 60.2, 76.0%로 파골세포의 형성 및 활성을 억제하였다. 특히, 숙지황 에틸아세테이트 추출분획 0.25  $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 4.0  $\mu\text{l/ml}$ 을 조합하여 처리한 경우, 숙지황 에틸아세테이트 추출분획 0.74 및 2.22  $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 0.15 $\mu\text{l/ml}$  이상의 농도를 조합하여 처리한 경우, 및 숙지황 에틸아세테이트 추출분획 6.67 $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 0.05 $\mu\text{l/ml}$  이상의 농도를 조합하여 처리한 경우, 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었다.

<88> 4) 숙지황 에탄올 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 파골세포증식 억제율(%)의 결과는 표 4 및 도 4에 나타내었다.

**표 4**

<89> 파골세포증식 억제율(%)

	농도 ( $\mu\text{l/ml}$ )	골쇄보 물 추출분획				
		0	0.25	0.5	1.0	2.0
숙지황 에탄올 추출분획	0	0	6.05	11.50	12.07	19.80
	0.625	43.86	36.99	30.97	46.44	90.26
	1.25	36.70	35.27	45.29	74.51	95.70
	2.5	82.81	93.70	98.00	98.57	100.00
	5.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.0

<90> 표 4 및 도 4에 나타난 바와 같이, 숙지황 에탄올 추출분획을 단독으로 처리하였을 때 대조군의 억제 비율을 0으로 하고 대조군에 비한 TRAP 양성 다핵세포의 수의 억제 비율이 각각 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 43.86, 36.70, 82.81, 100.0%로 파골세포의 생성 및 활성을 억제하였다. 또한, 골쇄보 물 추출분획을 단독으로 처리한 경우 각각 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 6.05, 11.50, 12.07, 19.8%로 파골세포의 형성 및 활성을 억제하였다. 특히, 숙지황 에탄올 추출분획 0.625  $\mu\text{l/ml}$ 와 골쇄보 물 추출분획 2.0  $\mu\text{l/ml}$ 을 조합하여 처리

한 경우와 숙지황 에탄올 추출분획 1.25 $\mu\text{l/ml}$ 와 글쇄보 물 추출분획 1.0 및 2.0 $\mu\text{l/ml}$  이상의 농도를 조합하여 처리한 경우, 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었다.

<91> 5) 숙지황 물 추출분획과 글쇄보 에탄올 추출분획의 파골세포증식 억제율 (%)의 결과는 표 5 및 도 5에 나타내었다.

**표 5**

<92> 파골세포증식 억제율(%)

	농도 ( $\mu\text{l/ml}$ )	글쇄보 에탄올 추출분획					
		0	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0
숙지황 물 추출분획	0	0	0.0	11.78	16.37	15.79	34.98
	0.938	59.33	53.60	49.59	61.91	47.87	49.30
	1.875	67.06	72.50	73.65	69.93	67.35	82.24
	3.75	96.85	93.41	98.57	96.28	99.01	99.14
	7.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.0

<93> 표 5 및 도 5에 나타난 바와 같이, 숙지황 물 추출분획을 단독으로 처리하였을 때 대조군의 억제 비율을 0으로 하고 대조군에 비한 TRAP 양성 다핵세포의 수의 억제 비율이 각각 0.938, 1.875, 3.75, 7.5 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 59.33, 67.06, 96.85, 100.0%로 파골세포의 생성 및 활성을 억제하였다. 또한, 글쇄보 에탄올 추출분획을 단독으로 처리한 경우 각각 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 0.0, 11.78, 16.37, 15.79, 34.98%로 파골세포의 형성 및 활성을 억제하였다. 특히, 숙지황 물 추출분획 1.875 $\mu\text{l/ml}$ 와 글쇄보 에탄올 추출분획 0.25 및 0.5 $\mu\text{l/ml}$ 를 조합하여 처리한 경우와 숙지황 물 추출분획 3.75 $\mu\text{l/ml}$ 와 글쇄보 에탄올 추출분획 0.5 $\mu\text{l/ml}$  이상의 농도를 조합하여 처리한 경우, 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었다.

<94> 6) 숙지황 부탄올 추출분획과 글쇄보 에탄올 추출분획의 파골세포증식 억제율 (%)의 결과는 표 6 및 도 6에 나타내었다.

**표 6**

<95> 파골세포증식 억제율(%)

	농도 ( $\mu\text{l/ml}$ )	글쇄보 에탄올 추출분획					
		0	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0
숙지황 부탄올 추출분획	0	0	0.0	11.78	16.37	15.79	34.98
	1.25	26.68	9.78	28.97	12.07	33.55	54.17
	2.5	56.18	43.00	47.30	49.59	40.14	78.52
	5.0	89.69	84.25	88.54	89.69	93.99	98.28
	10.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.0

<96> 표 6 및 도 6에 나타난 바와 같이, 숙지황 부탄올 추출분획을 단독으로 처리하였을 때 대조군의 억제 비율을 0으로 하고 대조군에 비한 TRAP 양성 다핵세포의 수의 억제 비율이 각각 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 26.68, 56.18, 89.69, 100.0%로 파골세포의 생성 및 활성을 억제하였다. 또한, 글쇄보 에탄올 추출분획을 단독으로 처리한 경우 각각 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 0.0, 11.78, 16.37, 15.79, 34.98%로 파골세포의 형성 및 활성을 억제하였다. 특히, 숙지황 부탄올 추출분획을 5.0 $\mu\text{l/ml}$ 와 글쇄보 에탄올 추출분획 2.0 및 4.0 $\mu\text{l/ml}$ 를 조합하여 처리한 경우, 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었다.

<97> 7) 숙지황 에탄올 추출분획과 글쇄보 에탄올 추출분획의 파골세포증식 억제율(%)의 결과는 표 7 및 도 7에 나타내었다.

**표 7**

<98> 파골세포증식 억제율(%)

	농도 ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ )	골쇄보 에탄올 추출분획					
		0	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0
숙지황 에탄올 추출분획	0	0	0.0	11.78	16.37	15.79	34.98
	0.625	43.86	26.68	36.99	33.55	32.41	57.61
	1.25	36.70	44.15	43.58	62.77	67.06	87.68
	2.5	82.81	93.99	97.42	99.43	98.28	100.00
	5.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

<99> 표 7 및 도 7에 나타난 바와 같이, 숙지황 에탄올 추출분획을 단독으로 처리하였을 때 대조군의 억제 비율을 0으로 하고 대조군에 비한 TRAP 양성 다핵세포의 수의 억제 비율이 각각 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 농도에서 43.86, 36.70, 82.81, 100.00%로 파골세포의 생성 및 활성을 억제하였다. 또한, 골쇄보 에탄올 추출분획을 단독으로 처리한 경우 각각 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 농도에서 0.0, 11.78, 16.37, 15.79, 34.98%로 파골세포의 형성 및 활성을 억제하였다. 특히, 숙지황 에탄올 추출분획 1.25 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 와 골쇄보 에탄올 추출분획 2.0 및 4.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 를 조합하여 처리한 경우, 및 숙지황 에탄올 추출분획 1.25 및 2.5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 와 골쇄보 에탄올 추출분획 0.25 $\mu\text{l}/\text{ml}$  이상의 농도를 조합하여 처리한 경우, 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성이 현저히 억제되었다.

<100> 따라서, 본 발명의 혼합 생약재 추출물은 숙지황 추출물과 골쇄보 추출물을 각각 단독으로 처리한 경우에 비해 파골세포의 생성 및 활성을 현저히 억제함을 알 수 있다.

<101> **실험예 2 : 랫트에 대한 경구투여 급성 독성실험**

<102> 본 발명의 혼합 생약재 추출물의 급성 독성을 알아보기 위하여, 하기와 같은 방법으로 급성독성실험을 하였다.

<103> 실험동물로 6주령의 특정병원체부재(specific pathogen-free, SPF) SD계 랫트를 사용하여 급성독성실험을 실시하였다. 군당 2 마리씩의 동물에 상기 실시예 3-1)에서 제조한 숙지황 물 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 혼합 생약재 추출물을 0.5% 메틸셀룰로즈 용액에 현탁하여 1g/kg/ml의 용량으로 1회 단회 경구투여 하였다. 시험물질 투여 후 동물의 폐사여부, 임상증상, 체중변화를 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학적검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 복강장기와 흉강장기의 이상여부를 관찰하였다.

<104> 그 결과, 시험물질을 투여한 모든 동물에서 특기할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액 검사, 혈액생화학 검사, 부검소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다.

<105> 따라서, 본 발명의 혼합 생약재 추출물은 모두 랫트에서 1g/kg까지도 독성변화를 나타내지 않으며, 경구 투여 최소치사량(LD<sub>50</sub>)은 추출물 1g/kg 이상인 안전한 물질로 판단되었다.

<106> 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

<107> 상기 실시예 3-1)에서 제조한 숙지황 물 추출분획과 골쇄보 물 추출분획의 혼합 생약재 추출물을 제제예에 사용하였다.

<108> **제제예 1 : 약학적 제제의 제조**

<109> 1. 산제의 제조

<110> 혼합 생약재 추출물 2g

<111> 유당 1g

<112> 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

<113> 2. 정제의 제조

<114> 혼합 생약재 추출물 100mg

<115> 옥수수전분 100mg

<116> 유 당 100mg

- <117> 스테아린산 마그네슘 2mg
- <118> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.
- <119> 3. 캡슐제의 제조
- <120> 혼합 생약재 추출물 100mg
- <121> 옥수수전분 100mg
- <122> 유 당 100mg
- <123> 스테아린산 마그네슘 2mg
- <124> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- <125> **제제예 2 : 식품의 제조**
- <126> 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.
- <127> 1. 조리용 양념의 제조
- <128> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 20 ~ 95 중량%로 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.
- <129> 2. 토마토 케찹 및 소스의 제조
- <130> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 0.2 ~ 1.0 중량%를 토마토 케찹 또는 소스에 첨가하여 건강 증진용 토마토 케찹 또는 소스를 제조하였다.
- <131> 3. 밀가루 식품의 제조
- <132> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 0.5 ~ 5.0 중량%를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.
- <133> 4. 스프 및 육즙(gravies)의 제조
- <134> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 0.1 ~ 5.0 중량%를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- <135> 5. 그라운드 비프(ground beef)의 제조
- <136> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 10 중량%를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- <137> 6. 유제품(dairy products)의 제조
- <138> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 5 ~ 10 중량%를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- <139> 7. 선식의 제조
- <140> 현미, 보리, 찹쌀, 울무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60메쉬의 분말로 제조하였다.
- <141> 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60메쉬의 분말로 제조하였다.
- <142> 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 진공 농축기에서 감압·농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.
- <143> 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 혼합 생약재 추출물의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.
- <144> 곡물류(현미 30중량%, 울무 15중량%, 보리 20중량%),
- <145> 종실류(들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%),
- <146> 혼합 생약재 추출물의 건조분말(3 중량%),
- <147> 영지(0.5중량%),

<148> 지황(0.5중량%)

<149> **제제예 3 : 음료의 제조**

<150> 1. 탄산음료의 제조

<151> 설탕 5~10%, 구연산 0.05~0.3%, 카라멜 0.005~0.02%, 비타민 C 0.1~1%의 첨가물을 혼합하고, 여기에 79~94%의 정제수를 섞어서 시럽을 만들고, 상기 시럽을 85~98℃에서 20~180초간 살균하여 냉각수와 1:4의 비율로 혼합한 다음 탄산가스를 0.5~0.82%를 주입하여 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 함유하는 탄산음료를 제조하였다.

<152> 2. 건강음료의 제조

<153> 액상과당(0.5%), 올리고당(2%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%)과 같은 부재료와 혼합 생약재 추출물을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 건강음료를 제조하였다.

<154> 3. 야채주스의 제조

<155> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 5g을 토마토 또는 당근 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

<156> 4. 과일주스의 제조

<157> 본 발명의 혼합 생약재 추출물 1g을 사과 또는 포도 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

**발명의 효과**

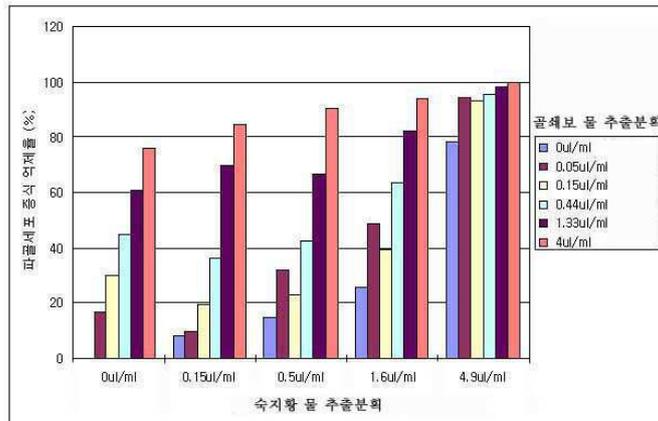
<158> 본 발명의 혼합 생약재 추출물은 파골세포의 형성 및 활성을 효과적으로 억제하므로, 골다공증 예방 및 치료에 유용한 의약품 및 건강식품으로 널리 이용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

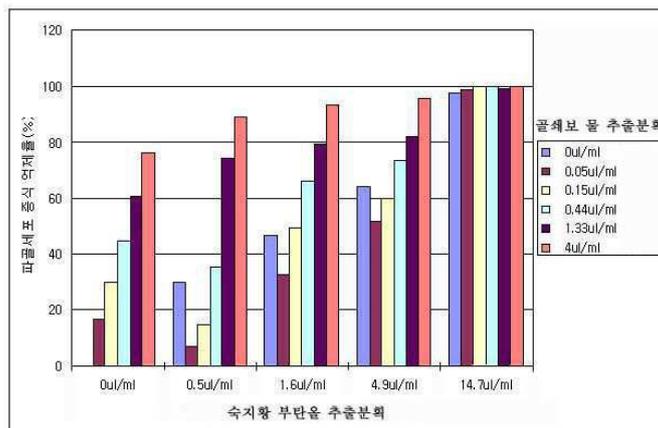
- <1> 도 1은 본 발명의 혼합 생약재 추출물[숙지황 물 추출분획(0.15~4.9 $\mu$ l/ml)과 골쇄보 물 추출분획(0.05~4.0 $\mu$ l/ml)의 조합]에 의한 파골세포 증식 억제를 나타낸 도이다.
- <2> 도 2는 본 발명의 혼합 생약재 추출물[숙지황 부탄올 추출분획(0.5~14.7 $\mu$ l/ml)과 골쇄보 물 추출분획(0.05~4.0 $\mu$ l/ml)의 조합]에 의한 파골세포 증식 억제를 나타낸 도이다.
- <3> 도 3은 본 발명의 혼합 생약재 추출물[숙지황 에틸아세테이트 추출분획 (0.25~6.67 $\mu$ l/ml)과 골쇄보 물 추출분획 (0.05~4.0 $\mu$ l/ml)의 조합]에 의한 파골세포 증식 억제를 나타낸 도이다.
- <4> 도 4는 본 발명의 혼합 생약재 추출물[숙지황 에탄올 추출분획(0.625~5.0 $\mu$ l/ml)과 골쇄보 물 추출분획(0.25~2.0 $\mu$ l/ml)의 조합]에 의한 파골세포 증식 억제를 나타낸 도이다.
- <5> 도 5는 본 발명의 혼합 생약재 추출물[숙지황 물 추출분획(0.938~7.5 $\mu$ l/ml)과 골쇄보 에탄올 추출분획(0.25~4.0 $\mu$ l/ml)의 조합]에 의한 파골세포 증식 억제를 나타낸 도이다.
- <6> 도 6은 본 발명의 혼합 생약재 추출물[숙지황 부탄올 추출분획(1.25~10.0 $\mu$ l/ml)과 골쇄보 에탄올 추출분획 (0.25~4.0 $\mu$ l/ml)의 조합]에 의한 파골세포 증식 억제를 나타낸 도이다.
- <7> 도 7는 본 발명의 혼합 생약재 추출물[숙지황 에탄올 추출분획(0.625~5.0 $\mu$ l/ml)과 골쇄보 에탄올 추출분획 (0.25~4.0 $\mu$ l/ml)의 조합]에 의한 파골세포 증식 억제를 나타낸 도이다.

도면

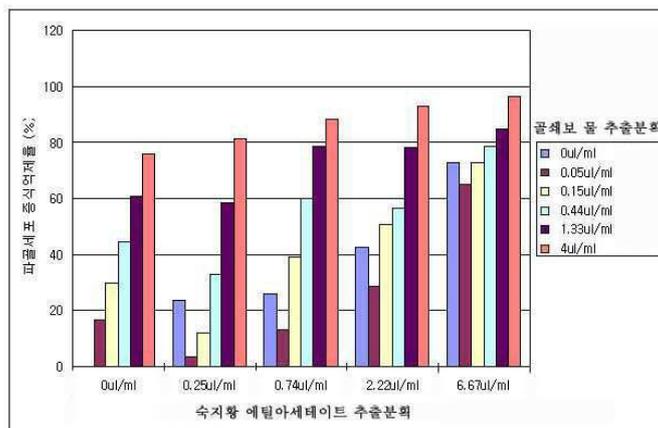
도면1



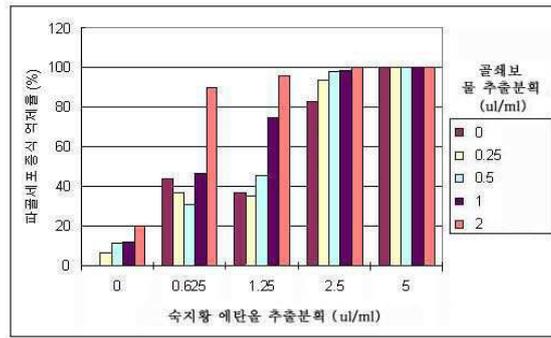
도면2



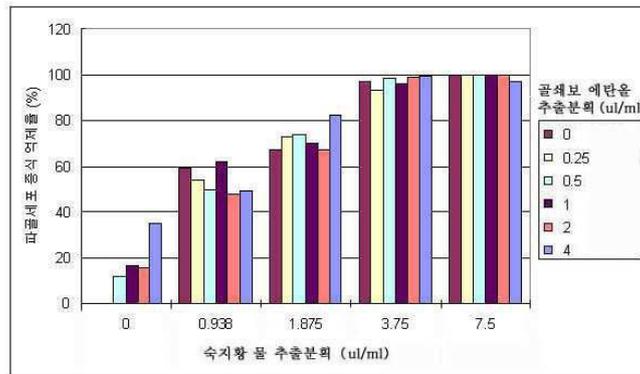
도면3



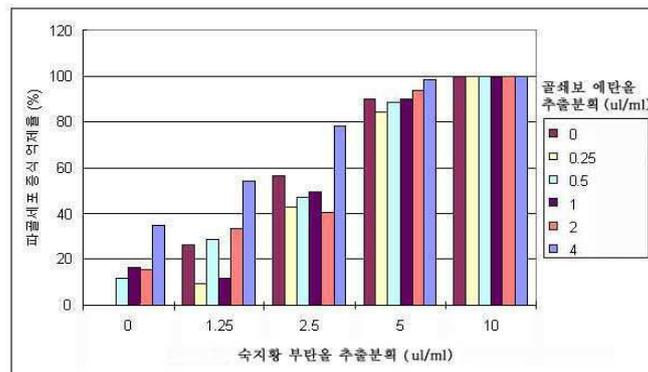
도면4



도면5



도면6



도면7

