(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년01월14일
(11) 등록번호 10-1481040
(24) 등록일자 2015년01월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/12 (2006.01) *A61K 36/9068* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-0029772
(22) 출원일자 2008년03월31일
심사청구일자 2012년11월01일
(65) 공개번호 10-2009-0104373
(43) 공개일자 2009년10월06일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020050033069 A
KR1020070102487 A
JP2002047195 A
JP2001314169 A

(73) 특허권자
한국화학연구원
대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)
(72) 발명자
고우석
대전광역시 유성구 배울1로 35, 쌍용아파트 402동 202호 (관평동)
박신영
대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10, 동 703호 (도룡동, 더포엠1)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인, 장성구, 김선장

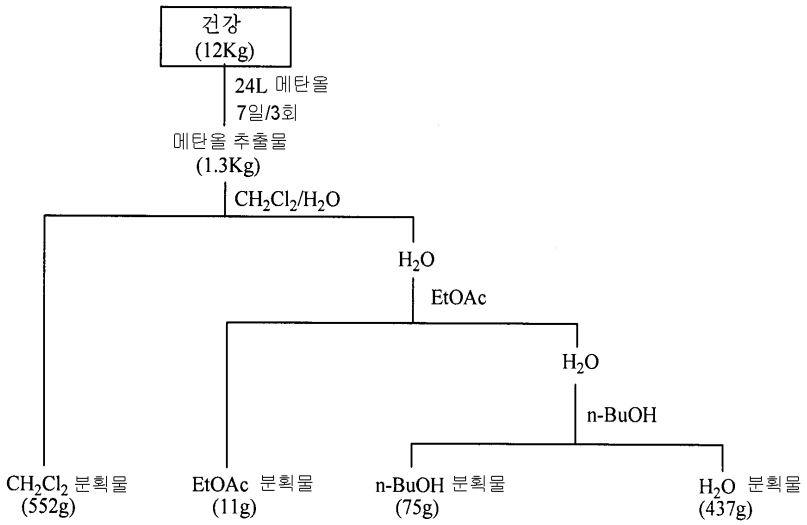
전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 박제현

(54) 발명의 명칭 **[10]-진저다이온 또는 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 포함하는 항 염증용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 [10]-진저다이온([10]-gingerdione), 1-데하이드로-[10]-진저다이온(1-dehydro-[10]-gingerdione) 또는 이들의 혼합물, 또는 이들을 함유하는 건강(*Zingiber Officinale*) 추출물을 유효 성분으로 함유하는 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진(혈전), 또는 심장 질환의 치료 또는 예방을 위한 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 조성물은 거식세포(macrophage)의 2가지 주요한 기능 중 탐식 기능은 증가시키고 살균 기능은 억제하여 주변 조직에 손상이 없으면서 체내 노폐물을 제거하는 활성을 나타내므로 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진(혈전), 또는 심장 질환의 치료 또는 예방 등 죽은 세포 혹은 노폐물의 제거와 관련된 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학 조성물뿐만 아니라 식품 첨가물로도 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

김소희

대전광역시 서구 문정로90번길 60, 108동 405호 (탄방동, 한우리아파트)

유시용

대전광역시 유성구 노은동로87번길 19 (노은동)

연규환

대전광역시 유성구 어은로 57, 110동 1004호 (어은동, 한빛아파트)

홍경식

대전광역시 동구 동구청로 67, 은어송마을아파트 101동 1804호 (가오동)

이병희

대전광역시 유성구 어은로 57, 106동 1201호 (어은동, 한빛아파트)

최연희

대전광역시 중구 태평로 35, 버드내아파트 207동 2102호 (태평동)

유대석

대전광역시 서구 동서대로 967, 코오롱아파트 5동 1505호 (내동)

김영섭

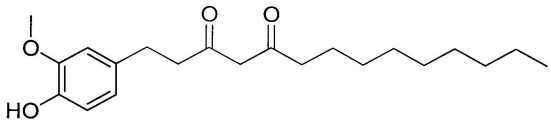
대전광역시 유성구 구즉로 25, 그린아파트 310동 502호 (송강동)

특허청구의 범위

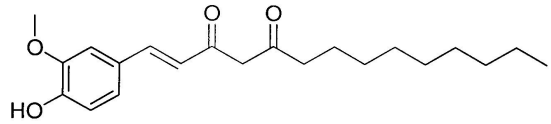
청구항 1

유효 성분으로서, 하기 화학식 1의 [10]-진저다이온([10]-gingerdione) 또는 하기 화학식 2의 1-데하이드로-[10]-진저다이온(1-dehydro-[10]-gingerdione)을 포함하는, 항 염증용 약학 조성물:

화학식 1



화학식 2



청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

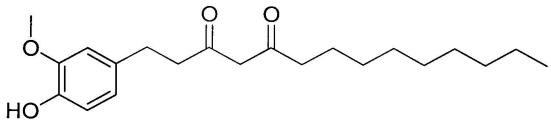
청구항 4

삭제

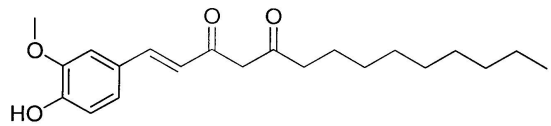
청구항 5

하기 화학식 1의 [10]-진저다이온 또는 하기 화학식 2의 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 포함하는, 염증 개선용 식품 조성물:

화학식 1



화학식 2



청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 식품 조성물이 음료수, 스넥류, 과자류, 껌류, 아이스크림류, 티백류, 인스턴트차, 과립, 향료, 비타민 복합제, 및 건강 보조 식품류인 것을 특징으로 하는, 염증 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제 5 항에 있어서,

상기 화학식 1의 [10]-진저다이온 또는 상기 화학식 2의 1-데하이드로-[10]-진저다이온의 함량이 조성물 총 중량을 기준으로 각각 0.01 내지 30 중량% 범위인 것을 특징으로 하는, 염증 개선용 식품 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 [10]-진저다이온([10]-gingerdione), 1-데하이드로-[10]-진저다이온(1-dehydro-[10]-gingerdione) 또는 이들의 혼합물, 또는 이들을 함유하는 건강(*Zingiber Officinale*; 乾薑) 추출물을 유효 성분으로 함유하는, 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진, 또는 심장 질환의 치료 또는 예방을 위한 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 생체내에서 거식세포(macrophage)의 역할은 외부 물질의 침입에 대한 면역학적 방어 기능(살균 기능)과 평상시 생체내 노폐물 제거 기능(탐식 기능)의 2가지로 나누어 볼 수 있다. 면역학적 방어 기전은, 예를 들어, 미생물의 침입이 발생했을 때 이를 제거하기 위해 우선 미생물을 탐식하고 NADPH 산화효소, 산화 질소 합성효소 등과 같은 효소의 작용에 의해 반응성 산소 종(reactive oxygen species)이나 산화 질소를 생산하여 탐식된 미생물에 가함으로써 죽이게 된다. 외부 물질의 감염이 없는 상태에서도 거식세포는 자연적으로 생성되는 죽은 세포나 노폐물을 제거하여 영양분으로 재활용하는 역할을 하는데 이때에는 주위 조직에 손상을 유발할 수 있는 반응성 산소 종이나 산화 질소는 생산하지 않고 다만 노폐물을 제거하는 역할만을 수행하게 된다. 비슷한 역할을 한다고 알려진 물질로는 불포화 지방산을 들 수 있는데(문헌[Mahoney et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 4895-4899, 1977]), 특히 물고기 기름에 많이 포함된 에이코사펜타엔산(eicosapentaenoic acid)과 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid) 등과 같은 오메가-3 다중 불포화 지방산(omega-3 polyunsaturated fatty acid)의 경우 소염 및 심장 질환의 치료 또는 예방 활성에 대한 연구가 많이 진행되었다(문헌[Simopoulos et al., *J. Am. Col. Nutr.* 21: 495-505, 2002]). 이들 불포화 지방산의 경우 탐식 기능의 항진은 이들 지방산이 세포막의 유동성을 증가시킴으로써, 소염 작용의 경우에는 효소계에 대해 아라키돈산과 경쟁함으로써 나타나는 것으로 추정되고 있다. 현재 오메가-3 불포화 지방산을 포함하는 물고기 기름 등은 심혈관 질환을 예방할 수 있는 대표적인 건강 보조 식품으로 시중에 판매되고 있다.

[0003] 본 발명에서 [10]-진저다이온 또는 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 추출한 건강의 경우 민간에서 오랫동안 감기 등의 치료에 널리 사용되어 왔으며 추출 성분 중 [6]-진저롤([6]-gingerol), [10]-진저롤([10]-gingerol), [6]-쇼가올([6]-shogaol) 등이 소염 작용을 한다는 것은 널리 알려져 있다(문헌[Surh, *Mut. Res.* 428: 305-327, 1999] 및 문헌[Levy et. al., *BMC Pharmacol.* 6: 12-19, 2006]). 그러나, 거식세포의 탐식 기능의 활성 증진 등은 보고된 바 없으며, 특히 본 발명에서 추출한 [10]-진저다이온과 1-데하이드로-[10]-진저다이온의 경우에는 물질의 생물학적 활성에 대한 연구가 되어있지 않다. 이에, 본 발명자들은 그 동안 연구되지 않은 건강 추출물의 거식세포의 탐식 기능의 항진 효과를 규명하고 그 중 활성이 높은 2개의 단일물질을 분리함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0004] [문헌 1] Mahoney et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 4895-4899, 1977

[0005] [문헌 2] Simopoulos et al., *J. Am. Col. Nutr.* 21: 495-505, 2002

[0006] [문헌 3] Surh, *Mut. Res.* 428: 305-327, 1999

[0007] [문헌 4] Levy et. al., *BMC Pharmacol.* 6: 12-19, 2006

발명의 내용

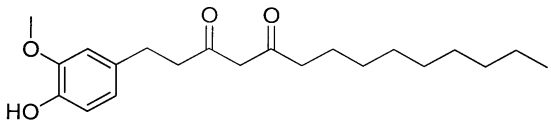
해결 하고자하는 과제

[0008] 본 발명은 건강 추출물을 유효 성분으로 함유하고, 거식세포의 활성을 조절하여 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진, 또는 심장 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학 조성물 및 식품 조성물을 제공하는 것이다.

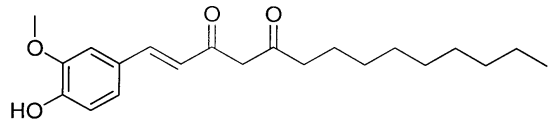
과제 해결수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 유효 성분으로서 하기 화학식 1의 [10]-진저다이온, 하기 화학식 2의 1-데하이드로-[10]-진저다이온 또는 이들의 혼합물, 또는 이들을 함유하는 건강 추출물을 포함하는, 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진, 또는 심장 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학 조성물을 제공한다:

화학식 1

[0010] 

화학식 2

[0011] 

효 과

[0012] 본 발명에 따른 건강 추출물, 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온 또는 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 유효 성분으로 함유하는 조성물은 거식세포의 불필요한 산화 질소 합성을 억제하고 탐식 기능을 증진하여 체내 노폐물을 제거함으로써, 소염, 부종 경감, 또는 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진, 또는 심장 질환의 치료 또는 예방 등과 같은, 체내 노폐물이나 염증 반응에 의한 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명에 따른 조성물은 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복을 촉진하고 심장 질환을 치료 또는 예방하는 건강 추출물, 또는 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온 또는 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 유효 성분으로 함유하는 것을 특징으로 한다.

[0014] 먼저, 본 발명에 따른 건강 추출물은 건강 또는 이의 건조물을 용매 추출함으로써 제조할 수 있다.

[0015] 본 발명의 건강 추출물은 도 1에서와 같이 음건하여 세절한 건강의 부피에 대하여 2 내지 200 배, 바람직하게는 5 내지 100 배, 더욱 바람직하게는 10 내지 30 배의 유기 용매를 가하고, 10 내지 30℃에서 1 내지 20 일간, 바람직하게는 3 내지 10 일간 추출하고, 냉각 및 여과한 후, 감압 농축하는 단계에 의해 제조될 수 있다. 이때, 추출 용매로는 메탄올, 메탄올 수용액, 에탄올, 에탄올 수용액, 뷰탄올, 다이클로로메탄, 에틸아세테이트 또는 이들의 혼합물이 사용될 수 있으며, 80 내지 100% 메탄올 수용액이 바람직하다. 상기에서 메탄올로 추출한 건강 추출물은 뷰탄올, 다이클로로메탄 또는 에틸아세테이트와 같은 용매로 재추출할 수 있다. 바람직하게는 다이클로로메탄으로 재추출한다.

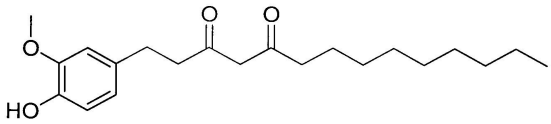
[0016] 구체적으로, 본 발명의 바람직한 실시예에서는 건강 또는 이의 건조물을 100% 메탄올 수용액을 사용하여 7 일간 냉침시킨 후 여과하고, 여액을 감압 농축하여 메탄올 추출물을 얻고, 이 메탄올 추출물을 증류수에 현탁한 후

동량의 다이클로로메탄으로 추출하여 분리한 수 층을 동량의 에틸아세테이트로 추출하고 감압 농축함으로써 건강 분획물을 얻는다. 상기 건강 메탄올 추출물 중 메탄올, 다이클로로메탄 및 에틸아세테이트 분획물이 면역 억제 효과를 나타내며, 그 중 건강의 다이클로로메탄 분획물의 거식세포 기능의 조절 활성이 가장 우수하다.

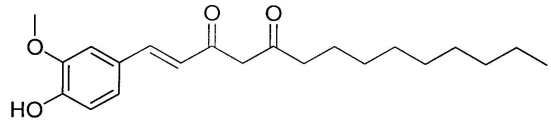
[0017] 본 발명에서는 거식세포 기능의 조절 활성을 나타내는 건강의 다이클로로메탄 분획물로부터 활성 성분을 분리·정제하기 위하여 크로마토그래피를 수행한다. 상기 크로마토그래피는 역상 또는 실리카겔 컬럼 크로마토그래프를 이용하여 1 내지 2 회 수행하는 것이 바람직하다. 이동상으로는 헥산/에틸아세테이트(10:1 내지 0:1) 또는 메탄올/물(30% 내지 100% 메탄올)를 사용할 수 있다. 이때, 사용되는 용매는 비극성에서 극성 또는 극성에서 비극성으로 순차적으로 변화시킴으로써 농도구배 용출방식(gradient elution)으로 활성 물질을 용출 분리하며, 수집된 물질의 거식세포 기능의 조절 활성을 측정하여 원하는 활성 분획물을 수득할 수 있다.

[0018] 거식세포의 탐식 기능에 대한 항진 효과를 나타낸 활성 물질은 하기 화학식 1의 [10]-진저다이온 및 하기 화학식 2의 1-데하이드로-[10]-진저다이온이다:

[0019] 화학식 1

[0020] 

[0021] 화학식 2

[0022] 

[0023] 상기 화합물의 면역 억제 효과를 확인하기 위하여, RAW264.7 세포의 배양액에 건강 추출물로부터 분리·정제한 [10]-진저다이온 또는 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 농도별로 처리한 결과, 2 개의 화합물로 처리된 실험군에서 거식세포의 산화 질소 합성이 억제되고, 거식세포의 탐식 기능이 증진함을 확인하였다(표 1 및 2, 도 3 참조).

[0024] 본 발명에 따른 건강 추출물, 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온 및 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 유효 성분으로 함유하는 거식세포 기능의 활성 조절용 조성물은 약학 조성물 또는 식품 조성물일 수 있다.

[0025] 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 건강 추출물은 컬럼 크로마토그래피를 통해 정제된 것이 바람직하나, 단순히 용매 추출법에 의해 수득된 추출물도 포함될 수 있다. 또한, 상기 화학식 1 및 2로 표시되는 [10]-진저다이온 및 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 건강 추출물로부터 분리·정제하거나 화학적으로 합성할 수 있다.

[0026] 본 발명에 따른 약학 조성물은 거식세포의 기능을 조절함으로써 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진, 또는 심장 질환의 치료 또는 예방에 사용됨을 특징으로 한다. 이 외에도, 본 발명에 따른 약학 조성물은 개별적으로 또는 다른 종류의 의약품과 혼합하여 투여할 수 있다.

[0027] 건강 추출물, 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온 및 1-데하이드로-[10]-진저다이온은 통상적인 방법에 따라 약제학적으로 허용되는 적절한 담체 또는 부형제와 혼합하거나 희석제로 희석하여 상기한 기능을 갖는 약학 조성물을 제조할 수 있다. 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 활석, 스테아린산 마그네슘 및 광물유를 들 수 있다. 상기 약학 조성물은 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 이용하여 제형화될 수 있다. 제형은 정제, 알약, 분말(산제), 새세이(sachet), 엘릭서(elixir), 현탁액, 에멀젼, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡슐, 멸균 주사용액, 멸균 분말 등의 형태일 수 있다.

[0028] 본 발명의 약학 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 통상적인 1 일 투여량은 유효 성분을 기준으로, 건강 추출물은 1 내지 500 mg/kg 체중, 바람직하게는 10 내지 100 mg/kg 체중의 범위이고, [10]-진저다이온 및 1-데하이드로-[10]-진저다이온 각각은 5

내지 100 mg/kg 체중, 바람직하게는 10 내지 30 mg/kg 체중의 범위이며, 1 회 또는 수 회로 나누어 투여될 수 있다. 그러나, 활성 성분의 실제 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것으로 이해되어야 하며, 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0029] 또한, 본 발명에서는 유효량의 건강 추출물, 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온, 1-데하이드로-[10]-진저다이온 또는 이의 혼합물을 포함하는, 거식세포의 기능을 조절함으로 개선할 수 있는 질환, 즉, 소염, 국소적 부종 경감, 수술 또는 타박상으로부터의 회복 촉진, 또는 심장 질환을 예방하거나 완화시킬 수 있는 건강 증진용 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 건강 추출물, 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온 또는 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 첨가할 수 있는 식품 조성물로는, 예를 들면 각종 식품류, 음료수, 스넥류, 과자류, 껌류, 아이스크림류, 티백차, 인스턴트차, 과립, 향료, 비타민 복합제, 및 그 밖의 건강 보조 식품류 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 본 발명의 건강 추출물, 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온 및 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 식품 제조 시 원료 물질에 첨가하거나 조리된 식품에 적절히 혼합하여 식품 조성물(예를 들어, 상기한 건강 증진용 식품 또는 음료)를 제조할 수 있으며, 이 경우 최종적으로 제조된 식품 조성물 중에 건강 추출물, 이로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온, 1-데하이드로-[10]-진저다이온 또는 이의 혼합물의 함량은 조성물 총 중량을 기준으로 각각 0.01 내지 30 중량% 범위이다.

[0031] 본 발명의 약학 조성물 또는 건강 증진용 식품 또는 음료는 목적하는 효과를 상승시키거나 보완하기 위해 약학적으로 허용되는 다른 생약재 또는 이의 추출물을 추가로 포함할 수 있다.

[0032] 이하, 하기 제조예 및 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다.

[0033] 하기 제조예 및 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0034] **실시예**

[0035] **실시예 1: 건강 추출물의 제조 및 활성 성분의 분리·정제**

[0036] 도 1에서와 같이, 건조된 건강 12 kg을 24 L의 메탄올로 7 일간 냉침시킨 후 여과하고, 여액을 감압 농축하는 과정을 3 회 반복하여 메탄올 추출물 1.3 kg을 얻었다. 상기 메탄올 추출물을 증류수 20 L에 현탁시킨 후 동량의 다이클로로메탄(CH_2Cl_2)으로 추출하고, 추출액을 감압 농축하여 다이클로로메탄(CH_2Cl_2) 분획물 552 g을 얻었다. 남은 수 층을 다시 동량의 에틸아세테이트(EtOAc)로 추출하였고, 이로부터 얻은 추출액을 감압 농축하여 에틸아세테이트 분획물 11 g을 얻었다. 남은 수 층을 전과 동일한 방법으로 동량의 뷰탄올(n-BuOH)로 추출하고, 추출액을 감압 농축하여 뷰탄올 분획물 75 g을 얻은 후, 남은 수 층을 동결 건조하였다.

[0037] 도 2에서와 같이, 상기 다이클로로메탄 분획물 552 g 중 220 g을 헥산/에틸아세테이트(10:1 ~ 0:1) 혼합 용액을 이동상으로서 유속 3 ㎖/분으로 흘려주면서 에틸아세테이트의 농도를 100%까지 순차적으로 올려주는 농도구배 용출방식의 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(실리카 c.c.)를 실시하였다. 이로부터 총 5개의 분획물(분획물 1 내지 분획물 5)을 수득하였고, 이들 중 면역 억제 효과를 나타내는 분획물 2를 헥산/에틸아세테이트(10:1 ~ 0:1) 혼합 용액을 이동상으로서 유속 3 mL/분으로 흘려주는 농도구배 용출방식의 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 재차 실시하여 총 7 개의 분획물(분획물 21 내지 분획물 27)을 수득하였다. 이들 중 면역 억제 효과를 나타내는 분획물 23을 역상 컬럼 크로마토그래피(RP-18 c.c.; 이동상: 50 ~ 100% 메탄올)를 이용하여 유속 3 mL/분으로 흘려주면서 총 11개의 분획물(분획물 23-1 내지 분획물 23-11)로 분리하고 이들 중 분획물 23-8번과 분획물 23-10을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(이동상: 다이클로로메탄)로 정제하여 1.19 g의 [10]-진저다이온과 829 mg의 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 얻었다.

[0038] [10]-진저다이온

[0039] ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 6.84 (1H, m, H-5'), 6.67 (2H, m, H-2',6'), 5.47 (1H, s, H-4'), 3.88 (3H, s, $-OCH_3$), 2.85 (2H, s, H-6), 2.58 (2H, m, H-2), 2.26 (2H, t, J=7.6 Hz, H-1), 1.58 (2H, m, H-7), 1.28 (12H, m, H-8,9,10,11,12,13), 0.90 (3H, t, J=6.6 Hz, H-14).

[0040] ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ 204.5 (C-3), 194.5 (C-5), 146.5 (C-3'), 144.1 (C-4'), 132.8 (C-1'), 121.0 (C-6'), 114.5 (C-5'), 111.1 (C-2'), 99.6 (C-4), 56.0 ($-OCH_3$), 40.7 (C-6), 38.4 (C-2), 32.0 (C-7), 31.5 (C-1'), 29.6~29.4 (C-8,9,10,11), 25.9 (C-12), 22.8 (C-13), 14.3 (C-14).

[0041] 1-데하이드로-[10]-진저다이온

[0042] ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.50 (1H, d, *J*=15.8 Hz, H-1), 7.05 (1H, d, *J*=8.1 Hz, H-6'), 6.99 (1H, s, H-2'), 6.90 (1H, d, *J*=8.1 Hz, H-2), 6.33 (1H, d, *J*=15.8 Hz, H-2), 5.61 (1H, s), 3.89 (3H, s, $-OCH_3$), 2.35 (2H, s, H-6), 2.58 (2H, t, *J*=7.6 Hz, m, H-6), 1.63 (2H, m, H-7), 1.20 (12H, m, H-8~13), 0.87 (3H, t, *J*=6.6 Hz, H-14).

[0043] ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ 200.2 (C-5), 178.1 (C-3), 147.8 (C-3'), 146.9 (C-4'), 139.9 (C-1), 127.6 (C-1'), 123.4 (C-6'), 120.4 (C-2), 114.9 (C-5'), 109.5 (C-2'), 100.1 (C-4), 55.8 ($-OCH_3$), 40.1 (C-6), 31.9 (C-7), 29.4~29.3 (C-8,9,10,11), 25.6 (C-12), 22.6 (C-13), 14.1 (C-14).

[0044] **실시예 2: RAW264.7에 의한 산화 질소의 합성에 대한 건강 추출물의 억제 효과**

[0045] DMEM 배양액(깁코사(GIBCO), 10% 소 태아 혈청(FBS), 18 mM 중탄산나트륨, 100 단위/mL 페니실린, 100 μg/mL 스트렙토마이신이 포함됨)에 현탁된 RAW264.7 세포를 96-웰 플레이트에 1 x 10^5 세포/170 μL/웰이 되도록 넣고, 하기 표 1에 기재된 최종 농도가 되도록 시험 물질(전체 추출물, 다이클로로메탄추출물, 중탄산아미노구아니딘(억제제 대조군), [10]-진저다이온 및 1-데하이드로-[10]-진저다이온) 20 μL/웰을 넣고 1 시간 동안 37 ℃ 배양기에서 반응시켰다. 이때 시험 물질을 1%(v/v) DMSO(미국 미주리주 세인트 루이스 소재 시그마(Sigma)사)에 녹여 배양액내 최종 DMSO의 농도가 0.1%(v/v)가 되도록 하였다. 1 시간 후 리포폴리사카라이드(LPS, 시그마사)를 배양액내 최종 농도가 1 μg/mL이 되도록 가해준 후 추가적으로 48 시간 동안 배양하였다. 배양 종료 후 100 μL의 배양 상층액을 같은 부피의 그리스(Griess) 용액(시그마사)과 96-웰 플레이트의 웰 안에서 섞고 상온에서 15 분간 반응시켰다. LPS를 첨가하기 전의 흡광도 및 반응 후의 흡광도는 이맥스(Emax, 상표명) 플레이트 판독기(미국 캘리포니아주 소재 몰리큘러 디바이시스(Molecular Devices)사)를 사용하여 540 nm에서 측정하였다. 산화 질소의 양은 아질산나트륨을 표준(0 내지 100 μM)으로 이용하여 측정하였다. 하기 표 1은 여러 번의 반복 실험 결과 중 한 예이며 RAW264.7 세포에 의한 산화 질소의 합성이 LPS 처리할 경우 배양액내 농도가 약 57 μM이 되도록 증가하며 이러한 증가는 함께 처리한 [10]-진저다이온이나 1-데하이드로-[10]-진저다이온의 농도가 증가하면 감소하는 경향을 보이며, [10]-진저다이온에 비해 상대적으로 1-데하이드로-[10]-진저다이온이 산화 질소 합성의 억제 활성이 높음을 알 수 있다.

표 1

[0046]

군	농도 (μg/mL)	산화 질소 (μM; 평균 ± 표준편차, 3회)
대조군	-	0.2 ± 0.1
LPS만 첨가한 경우	1	56.8 ± 1.8
전체 추출물	10	13.4 ± 0.1
다이클로로메탄추출물	10	14.0 ± 0.0
중탄산아미노구아니딘 (억제제 대조군)	68	2.9 ± 0.1
[10]-진저다이온	1	54.9 ± 0.7
	5	5.6 ± 0.3
	10	5.1 ± 0.5
1-데하이드로-[10]-진저다이온	1	17.9 ± 0.5
	5	1.2 ± 0.2
	10	2.6 ± 0.1

[0047] **실시예 3: RAW264.7의 탐식 기능에 대한 건강 추출물의 항진 효과**

[0048] RAW264.7 세포를 DMEM 배양액(깁코사, 10% FBS, 18 mM 중탄산나트륨, 100 단위/mL 페니실린, 100 μg/mL 스트렙토마이신이 포함됨)에 현탁하여 가습된 5% CO_2 배양기내 37℃ 조건에서 배양하였다. 세포를 6-웰 플레이트의 웰 당 1.08×10^5 세포로 넣어준 후 시험 물질(LPS, 전체 추출물, 다이클로로메탄 추출물, [10]-진저다이온 및 1-데하이드로-[10]-진저다이온)을 하기 표 2에 기재된 최종 농도가 되도록 처리하고 최종 배양액 부피를 3 mL로 하여 48 시간 동안 배양한 후 웰 당 청록 플루오로스피어(blue-green FluoroSpheres; 1 μm, 미국 오레곤주 소재 몰리큘러 프로브(Molecular Probe)사)를 1 μL씩 가하고 75 분간 추가적으로 배양하였다. 배양 종료 후 배양액을 제거한 후 세포를 인산 완충 식염수(phospate-buffered saline; PBS)로 세척하였다. 세척된 세포는 5% FBS가 첨가된 PBS를 웰에 넣어준 후 피펫팅(pipetting)을 이용하여 바닥에서 떼어내었다. 세포의 탐식 기능은 팩소트(FACSort, 상표명)(미국 뉴저지주 소재 벡톤 디킨슨(Becton Dickinson)사)를 사용하여 FL1에서 세포 당 평균 형광 강도 값으로 측정하였다. 하기 표 2는 여러 번의 반복 실험 결과 중 한 예이며 RAW264.7 세포의 활성은 LPS으로 처리하였을 때 세포의 평균 형광 강도가 약 2 배 가까이 증가하는 것을 알 수 있다. 이러한 형광 강도의 증가는 세포가 형광 물질로 코팅된 비드를 탐식함으로써 일어나는데 [10]-진저다이온이나 1-데하이드로-[10]-진저다이온으로 처리할 경우에도 증가함을 알 수 있다. 탐식 기능을 항진하는 활성은 산화 질소의 합성 억제의 경우와 마찬가지로 [10]-진저다이온에 비해 상대적으로 1-데하이드로-[10]-진저다이온이 활성이 높음을 알 수 있다. 도 3은 표의 내용을 그림으로 나타낸 것으로 [10]-진저다이온이나 1-데하이드로-[10]-진저다이온을 처리하였을 때 농도가 증가하면 세포 당 탐식한 형광 비드 수가 증가하고 있음을 보여준다.

표 2

군	농도 (μg/mL)	평균 형광 강도 (평균 ± 표준 편차, 3회)
대조군	-	20.98 ± 1.20
LPS	2	43.61 ± 3.86
총 추출물	10	45.09 ± 1.00
다이클로로메탄 추출물	10	62.93 ± 2.24
[10]-진저다이온	1	21.94 ± 3.96
	5	31.40 ± 2.34
	10	27.60 ± 1.33
1-데하이드로-[10]-진저다이온	1	32.13 ± 1.14
	5	52.47 ± 2.97
	10	157.51 ± 11.97

[0049]

[0050] 상기한 바와 같이, 표 1은 본 발명에 따라 건강 추출물로부터 분리·정제된 [10]-진저다이온과 1-데하이드로-[10]-진저다이온이 LPS 처리에 의한 RAW264.7 세포의 산화 질소 합성에 대한 억제 효과를 나타내고, 표 2는 FITC(fluorescein isothiocyanate)-표지된 비드에 대한 탐식 기능의 항진 효과를 나타낸 것으로서, 이들 물질에 의해 거식세포의 기능을 조절할 수 있음을 보여준다.

[0051] 본 발명의 건강 추출물 또는 이로부터 분리·정제된 활성 성분은 단독 또는 약제학적으로 사용되는 부형제들과 함께 약제학적으로 통상으로 사용되는 방법에 따라 산제, 정제, 캡슐제, 주사제, 액제 등과 같은 제제 형태로 제제화하여 사용될 수 있다.

[0052] 하기에 제조예를 예시한다.

[0053] **제조예 1**

산제	
성분	함량
건강 건조 추출물 또는 이로부터 분리·정제된 활성 성분	2 g
유당	1 g

[0054]

[0055] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

[0056] **제조예 2**

정제	
성분	함량
건강 건조 추출물 또는 이로부터 분리·정제된 활성 성분	100 ㎎
옥수수 전분	100 ㎎
유당	100 ㎎
스테아린산 마그네슘	2 ㎎

[0057]

[0058] 상기의 성분을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0059] **제조예 3**

캡슐제	
성분	함량
건강 건조 추출물 또는 이로부터 분리·정제된 활성 성분	100 ㎎
옥수수 전분	100 ㎎
유당	100 ㎎
스테아린산 마그네슘	2 ㎎

[0060]

[0061] 상기의 성분을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0062] **제조예 4**

주사제	
성분	함량
건강 건조 추출물 또는 이로부터 분리·정제된 활성 성분	100 g
주사용 증류수	적량
pH 조절제	적량

[0063]

[0064] 통상의 주사제 제조방법에 따라 활성 성분을 주사용 증류수에 용해하고 pH를 약 7.5로 조절한 다음 전체를 주사용 증류수로 2 ㎖ 용량의 앰플에 충진하고 멸균시켜서 주사제를 제조한다.

[0065] 또한 하기와 같은 방법으로 식품 조성물을 제조한다.

[0066] **제조예 5**

[0067] 비스켓

[0068] 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%, 암모늄 1.54 중량%, 중조 0.17 중량%, 중아황산나트륨 0.16 중량%, 쌀가루 1.45 중량%, 비타민 B_1 0.0001 중량%, 비타민 B_2 0.0001 중량%, 밀크향 0.04 중량%, 물 20.6998 중량%, 전지 분유 1.16 중량%, 대용 분유 0.29 중량%, 제일인산칼슘 0.03 중량%, 살포염 0.29 중량% 및 분무유 7.27 중량%와 본 발명의 건강 추출물 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 비스켓을 제조하였다.

[0069] **제조예 6**

[0070] 건강 음료

[0071] 꿀 0.26 중량%, 치옥토산아미드 0.0002 중량%, 니코틴산아미드 0.0004 중량%, 염산리보플라빈나트륨 0.0001 중량%, 염산피리독신 0.0001 중량%, 이노시톨 0.001 중량%, 오르트산 0.002 중량% 및 물 98.7362 중량%와 본 발명의 건강 추출물 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 건강 음료를 제조하였다.

[0072] **제조예 7**

[0073] 건강 보조 식품

[0074] 스피루리나 55 중량%, 구아검효소 분해물 10 중량%, 비타민 B_1 염산염 0.01중량%, 비타민 B6 염산염 0.01 중량%, DL-메티오닌 0.23 중량%, 스테아린산 마그네슘 0.7 중량%, 유당 22.2 중량% 및 옥수수 전분 1.85 중량%와 본 발명의 건강 추출물 10 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 정제형 건강 보조 식품을 제조하였다.

도면의 간단한 설명

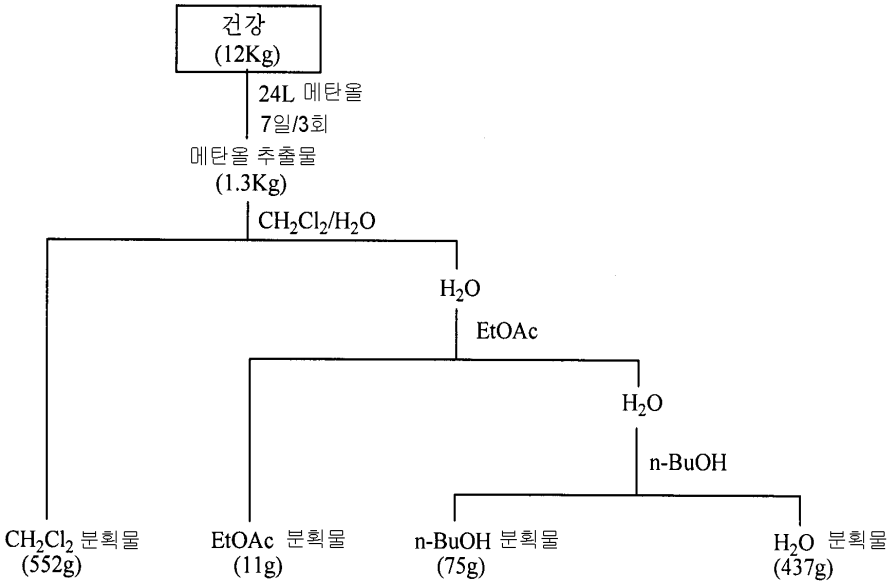
[0075] 도 1은 실시예 1에 따른 건강 추출물의 제조 단계를 도시한다.

[0076] 도 2는 실시예 1에 따른 다이클로로메탄 분획물로부터의 활성 성분의 분리·정제 단계를 도시한다.

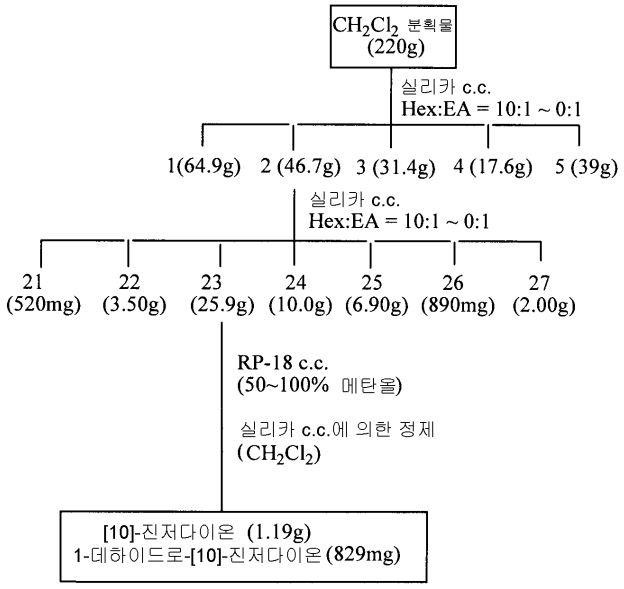
[0077] 도 3은 시험 물질의 농도에 비례하여 형광비드를 탐식한 세포군(두개의 peak중 오른쪽)과 세포 당 탐식한 비드의 수(세포 당 평균 형광도, FL1-H)가 증가함을 나타낸다.

도면

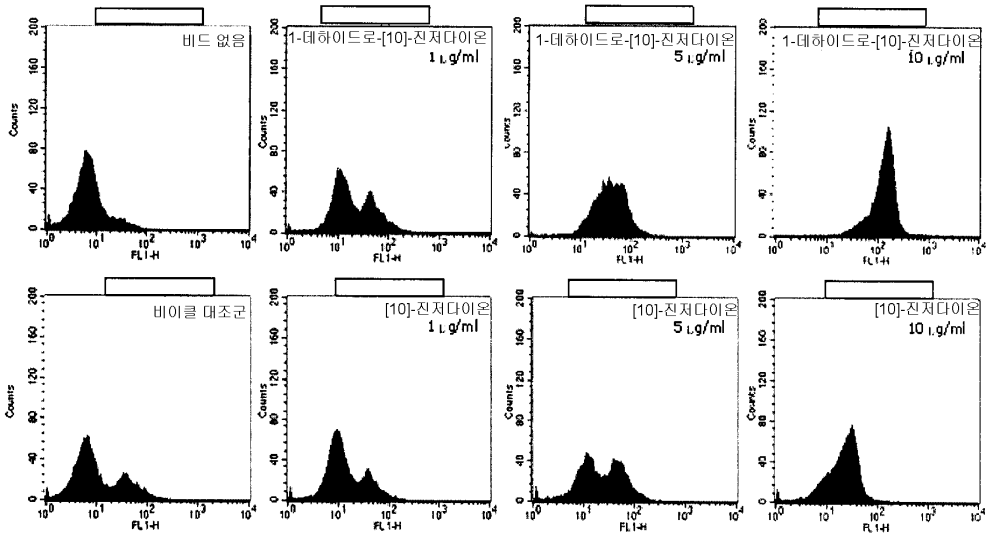
도면1


건강
(12Kg)
24L 메탄올
7일/3회
메탄올 추출물
(1.3Kg)
CH_2Cl_2/H_2O
H_2O
EtOAc
H_2O
n-BuOH
CH_2Cl_2 분획물
(552g)
EtOAc 분획물
(11g)
n-BuOH 분획물
(75g)
H_2O 분획물
(437g)

도면2


CH_2Cl_2 분획물
(220g)
실리카 c.c.
Hex:EA = 10:1 ~ 0:1
1(64.9g)
2 (46.7g)
3 (31.4g)
4 (17.6g)
5 (39g)
실리카 c.c.
Hex:EA = 10:1 ~ 0:1
21
(520mg)
22
(3.50g)
23
(25.9g)
24
(10.0g)
25
(6.90g)
26
(890mg)
27
(2.00g)
RP-18 c.c.
(50~100% 메탄올)
실리카 c.c.에 의한 정제
(CH_2Cl_2)
[10]-진저다이온 (1.19g)
1-데하이드로-[10]-진저다이온 (829mg)

도면3


비드 없음
1-데하이드로-[10]-진저다이온 1 ㎍/ml
1-데하이드로-[10]-진저다이온 5 ㎍/ml
1-데하이드로-[10]-진저다이온 10 ㎍/ml
비이클 대조군
[10]-진저다이온 1 ㎍/ml
[10]-진저다이온 5 ㎍/ml
[10]-진저다이온 10 ㎍/ml
Counts
FL1-H