



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년10월01일
(11) 등록번호 10-1446743
(24) 등록일자 2014년09월25일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/357 (2006.01) A61K 36/28 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01) A61P 1/00 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-0062230
- (22) 출원일자 2012년06월11일
심사청구일자 2013년02월25일
- (65) 공개번호 10-2013-0138547
- (43) 공개일자 2013년12월19일
- (56) 선행기술조사문헌
Planta Medica, Vol. 61(2), pp. 116~119(1995년)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
한국생명공학연구원
대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)
- (72) 발명자
강종순
대전광역시 유성구 과학로 125
신정휴
대전광역시 유성구 과학로 125
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 5 항

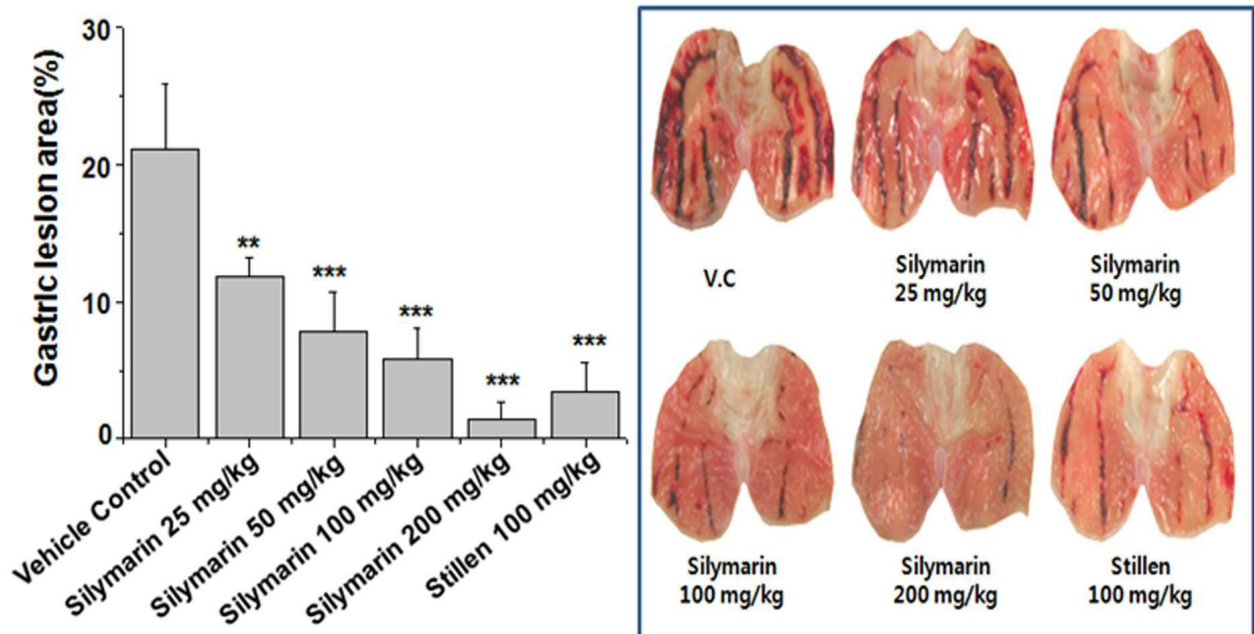
심사관 : 김용원

(54) 발명의 명칭 실리마린을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 영경귀(Silybummarianum)에서 추출한 실리마린(Silymarin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 알콜성 위궤양 억제용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 실리마린은 에탄올에 의해 유도되는 위 손상을 줄이고, 위 점액량이 회복되었으며, 위궤양의 억제 효과를 가지는 NP-SH에 일부 관여하거나 양을 회복시키고 및 실리마린의 위궤양 억제 효과에 산화 질소가 관여함을 확인함으로써 상기 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 유효 성분을 포함하는 조성물은 과도한 음주 등에 의해 유발되는 상기 위궤양을 예방하거나 치료용 약학적 조성물 및 건강식품에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

이창우

대전광역시 유성구 과학로 125

김형진

대전광역시 유성구 과학로 125

오수진

대전광역시 유성구 과학로 125

윤지은

대전광역시 유성구 과학로 125

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A101836-1112-0000100

부처명 보건복지가족부(보건복지부)

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 보건의료연구개발사업

연구과제명 암, 당뇨/비만 및 관절염 치료제 후보물질 효능/약리 평가를 위한 in vivo animal model

기반 구축

기 여 율 1.2/2

주관기관 한국생명공학연구원

연구기간 2011.04.01 ~ 2012.03.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 KGS4221231

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 기초기술연구회

연구사업명 주요사업(연구개발과제)

연구과제명 바이오의약/소재 유효성 평가 및 약동력학 평가 기반구축 및 지원사업

기 여 율 0.8/2

주관기관 한국생명공학연구원

연구기간 2012.01.01 ~ 2012.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

실리마린(Silymarin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양에 의한 위 점액 분비량의 감소를 회복시키는 것을 특징으로 하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 실리마린은 엉겅퀴(*Silybum marianum*)로부터 분리된 것을 특징으로 하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 알콜에 의한 위손상을 보호하는 것을 특징으로 하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 위 손상에 의한 위장관 내 비-단백질 설프히드릴기(non-protein sulfhydryl group, NP-SH)양의 감소를 회복시키는 것을 특징으로 하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양에 의한 위 점액 분비량의 감소를 회복시키는 것을 특징으로 하는 알콜성 위궤양 예방 및 개선용 건강식품.

명세서

기술분야

[0001] 실리마린(Silymarin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 실리마린은 국화과에 속하는 엉겅퀴(*Silybum marianum*)의 열매에서 추출한 플라보노이드(flavonoid)계 화합물로서, 실리마린은 실리빈(silybin), 리디아닌(silidianin) 및 실리크리스틴(silicristin)의 3개의 주요성분으로 구성되어 있고, 디히드로실리빈(dehydrosilybin) 등의 다양한 플라보노이드류가 포함되어 있다. 이 식물은 남유럽과 북아프리카가 원산지이나 이후에 아메리카 대륙에도 정착하여 현재는 관상용이나 약용으로 재배되고 있다. 예로부터 엉겅퀴는 젓을 먹이는 어머니들이 젓이 잘 나오도록 하기 위해서 엉겅퀴 차를 마시게 함으로써 알려진 식물이며, 또한 독일의 자연치료사인 라테마커라는 사람이 엉겅퀴가 간과 담낭의 질환 및 황달 등에 뛰어난 약효가 있음을 발견하여 그 이후로 더욱 유명해지기 시작했다. 현대에 와서도 실리마린은 간

질환 치료의 보조요법제로서 이용되고 있으며, 그 작용기작 또한 점차 밝혀지고 있다.

- [0003] 헬리코박터 필로리는 1983년 워렌(Warren)과 마샬(Marshall)에 의해 분리된 이래(Lancet, 1983, 1, 1273-1275) 위염 및 위십이지장 궤양의 원인균으로 밝혀졌으며(J. infect. Dis., 1990, 161, 626-633 ; Am. J. Med., 1991, 91, 566-572), 현재는 위암 발병 인자의 하나로서까지 인정되어 전세계적인 관심과 연구의 대상이 되고 있다. 헬리코박터 필로리(H. pylori)는 위점막 상피 세포간 접합부에 서식하는 그람 음성의 간균으로서 최적 pH는 7.07.4이며 3037의 미호기적 조건에서 성장하는데 이러한 조건이 충족되지 못하거나 환경의 변화가 생기면 코코이드(cocoid) 형태로의 변화가 관찰된다. 그 병원성 인자로는 가장 대표적인 특징인 강력한 우레아제(urease) 생산능과 위점막 층에 대한 부착 및 이동을 가능하게 하는 플라젤라(flagella) 등이 있으며 또한 Vag A, Cag A, 리포폴리사카라드(lipopolysaccharide) 등을 포함하는 사이토평독신(cytotoxin)이 연구되고 있다.
- [0004] 현재까지는 헬리코박터 필로리(H. pylori)에 의한 소화기 질환의 예방 및 치료는 3중 화학요법(triple chemotherapy)으로 대표되는 다양한 항생제에 의존하고 있으나 지속적 사용에 의한 내성균의 출현이나 재발병의 위험이 여전히 그 한계로 지적되고 있다. 이를 극복하기 위한 노력으로서 백신(vaccine)의 개발을 위한 면역학적 방법이나 유산균을 이용한 접근(J. Appl. Bacteriol., 1995, 79, 475-479 ; J. Clin. Microbiol., 1989, 27, 2328-2330) 등이 시도되고 있다. 최근에는 다양한 천연물 소재로부터 헬리코박터 필로리(H. pylori)를 억제할 수 있는 활성 성분을 찾기 위한 노력이 지속되고 있다. 오오타(Ohta) 등은 마늘 추출물(garlic extract)로부터 다양한 활성 물질을 분리 보고하였고(Antimicrob. Agents and Chemother., 1999, 43, 1811-1812), 마브(Mabe) 등은 녹차 내의 카테킨(catechin)류 화합물에 대하여 시험관 내(in vitro)에서 뿐만 아니라 생체 내(in vivo) 수준에서 헬리코박터 필로리(H. pylori)억제능을 확인한 바 있다(Antimicrob. Agents and Chemother., 1999, 43, 1788-1791). 이외에도 백리향(J. Appl. Bacteriol., 1996, 80, 667-672)이나 다양한 후라보노이드(flavonoids)(Arzneim.-Forsch./Drug Res., 1995, 45, 697-700)로부터도 강력한 활성이 보고되고 있다. 특히, 최근에는 한방 소재로부터 활성 식물을 탐색하기 위한 노력이 일본과 한국을 중심으로 활발히 전개되고 있다(J. Trad. Med., 1995, 12, 129-136 ; 新藥の 臨床, 1997, 46, 49-53 ; Biol.Pharm. Bull., 1998, 21, 990-992).
- [0005] 알콜성 위궤양은 현대인에 있어 빼놓을 수 없는 질환 중 하나로 많은 사람들이 겪고 있다. 특히 사회적 스트레스에 더해 빈번한 알콜의 섭취는 심각한 위궤양과 함께 간질환을 동반하는 경우가 많아 이를 개선하기 위한 많은 의약품과 건강기능성식품들이 판매되고 있다. 즉, ADH 및 ALDH를 활성화시켜 알콜 혈중농도를 낮추기 위한 노력이 집중적으로 이루어지고 있다. 하지만 단기간의 복용으로 효소를 활성화시켜 유의한 해독효과를 나타내는 효과적인 물질은 거의 찾아 볼 수 없다. 특히 수소 이온 펌프 억제제인 판토프라졸과 같은 위궤양 치료제의 경우에도 다른 원인에 의한 위궤양에는 효과적이지만 알콜성 위궤양에는 효과가 미약한 것으로 알려져 있다.
- [0006] 지금까지 알려진, 위궤양 치료제로는 벽세포로부터의 산 분비를 차단하는 수소 이온 펌프 억제제, 제산제(antacids), 산 분비를 촉진시키는 히스타민의 수용체차단제(H2-antagonists), 뮤신층 강화제인 PGs와 그 유도체, 그리고 헬리코박터 파이로리를 근절할 수 있는 항생제류가 대표적이다.
- [0007] 그러나 실리마린을 알콜성 위궤양의 치료에 사용될 수 있다는 보고는 없다.
- [0008] 이에, 본 발명자들은 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 처리가 에탄올 유도 위궤양 모델 동물 위 손상 면적이 감소시키고, 위 점액량을 개선에 효과가 있으며, NEM 전처리 결과 NP-SH 일부에 관여함을 확인하였고, NP-SH 양을 회복하며, N-NAME 전처리 한 후 위궤양 억제 효과가 감소함을 확인함으로써 과도한 음주 등에 의해 유발되는 상기 위궤양을 예방하거나 치료하는데 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 실리마린을 이용하여 알콜에 의해 유도되는 위손상, 위궤양 또는 위장질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 약학적 조성물 또는 건강식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0011] 아울러, 본 발명은 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 건강식품을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명은 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 처리가 에탄올에 의해 유도되는 위 손상을 줄이고, 위 점액량이 회복되었으며, 위궤양의 억제 효과를 가지는 NP-SH에 일부 관여하거나 양을 회복시키고 및 실리마린의 위궤양 억제 효과에 산화 질소가 관여함을 확인함으로써 상기 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 유효 성분을 포함하는 조성물은 과도한 음주 등에 의해 유발되는 상기 위궤양을 예방하거나 치료용 약학적 조성물 및 건강식품에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 에탄올을 투여한 위궤양 유발 모델 랫드에 있어서 실리마린과 양성대조약인 스틸렌을 농도별로 전처리 한 후 위 면적 손상부위를 확인한 결과 위손상 면적이 감소함을 나타내는 그림이다.

도 2는 에탄올 유도 위궤양 모델에서 농도별로 실리마린을 전처리에 따른 위 점액량이 회복양을 측정된 결과를 위 점액량이 회복되는 것을 나타내는 그림이다.

도 3은 실리마린의 에탄올 유도 위궤양에 대한 기전을 규명하기 위하여 NEM의 농도별로 전처리를 할 경우 실리마린에 의한 위궤양 억제 효과가 감소되는 것을 나타내는 그림이다.

도 4는 에탄올 유도 위궤양 모델에서 위점막 존재 여부 및 손상의 척도인 NP-SH를 처리한 결과 크게 감소가 되었으나 실리마린을 처리한 결과 NP-SH의 양이 회복되는 것을 나타내는 그림이다.

도 5는 산화 질소 생성 효소의 억제제인 L-NAME을 에탄올 유도 위궤양에 전처리 할 경우 실리마린에 의한 위궤양 효과가 감소함을 나타내는 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0015] 본 발명은 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명의 실시예에서는 에탄올 유도 위궤양 동물 랫드에 상기 제조된 실리마린과 위궤양 치료제로 널리 사용되고 있는 스틸렌을 양성대조약으로 하여 스틸렌을 농도별로 처리를 한 후 위손상 부위의 면적을 측정된 결과 상기 실리마린을 전처리를 한 경우 농도의존적으로 위손상 면적이 감소함을 확인하였다(도 1 참조).

[0017] 에탄올 유도 위궤양 모델에서 위점막 분비에 대한 실리마린의 영향을 확인한 결과 에탄올을 투여하여 위 손상을 유발한 경우 위 점액이 감소되어 있었으나 농도별로 실리마린을 처리하였을 경우 농도의존적으로 위 점액량이 회복되는 것을 확인하였다(도 2 참조).

[0018] NEM을 처리한 후 실리마린의 위궤양 억제 효과에 대한 영향을 확인한 결과 NEM을 전처리를 할 경우 실리마린

에 의한 위궤양 억제 효과가 감소함을 확인할 수 있었으며, 이로부터 실리마린의 위궤양 억제 효과에 비-단백 질 설프히드릴기(non-protein sulphydryl group, NP-SH)이 일부 관여함을 확인하였다(도 3 참조).

[0019] 실리마린 처리가 NP-SH 양에 미치는 영향을 확인한 결과 에탄올을 투여하여 위 손상을 유발한 경우 NP-SH가 크게 감소 되었으나 실리마린을 처리하였을 경우 농도의존적으로 NP-SH의 양이 회복되는 것을 확인하였다(도 4 참조).

[0020] L-NG-니트로알기닌 메틸 에스테르의 전처리가 에탄올 유도 위궤양에 대한 실리마린의 억제에 미치는 영향을 확인한 결과 L-NAME을 전처리한 경우 실리마린에 의한 위궤양 억제 효과가 감소함을 확인할 수 있었으며, 이로부터 실리마린의 위궤양 억제 효과에 산화질소가 일부 관여함을 확인하였다(도 5 참조).

[0021] 상기 결과에 따라 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 알콜성 위궤양 예방 및 억제용 약학적 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

[0022] 본 발명에 따른 실리마린 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0023] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 실리마린 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

[0024] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속 염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은 염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0025] 본 발명에 따른 실리마린 화합물은 이의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 이의 이성질체 또는 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물 또는 수화물을 모두 포함한다.

[0026] 또한, 본 발명에 따른 실리마린 화합물은 시판되는 것을 사용하거나 유기합성분야에서 알려진 통상의 합성방법을 이용하여 합성된 것을 사용할 수 있다.

[0027] 본 발명에 따른 실리마린 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 에탄올에 의해 유도되는 위 손상을 줄이고, 위 점액량이 회복시키며, 위궤양의 억제 효과를 가지는 NP-SH에 일부 관여하거나 양을 회복시키고 및 실리마린의 위궤양 억제 효과에 산화 질소가 관여함을 확인함으로써 위궤양을 예방하거나 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

- [0028] 본 발명에 따른 실리마린 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 하나의 다양한 경구 또는 비경구 투여 형태로 제형화할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0029] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡슐제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제 (elixirs) 등이 있는데, 이들 제형은 상기 유효성분 이외에 통상적으로 사용되는 충전제, 증량제, 습윤제, 붕해제, 활택제, 결합제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 1종 이상 사용할 수 있다. 붕해제로는 한천, 전분, 알긴산 또는 이의 나트륨염, 무수인산일수소 칼슘염 등이 사용될 수 있고, 활택제로는 실리카, 탈크, 스테아르산 또는 이의 마그네슘염 또는 칼슘염, 폴리에틸렌 글리콜 등이 사용될 수 있으며, 결합제로는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 저치환도 하이드록시프로필셀룰로오스 등이 사용될 수 있다. 이외에도 락토즈, 텍스트로오스, 수크로오스, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로오스, 글리신 등을 희석제로 사용할 수 있으며, 경우에 따라서는 일반적으로 알려진 비등 혼합물, 흡수제, 착색제, 향미제, 감미제 등을 함께 사용할 수 있다.
- [0030] 또한, 상기 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사제, 정맥주사제, 근육 내 주사제 또는 흉부 내 주사제를 주입하는 방법에 의한다. 이때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 실리마린 화합물 또는 약학적으로 허용되는 이의 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제조할 수 있다.
- [0031] 또한, 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 멸균되거나 또는 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염, 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다. 필요한 경우, 본 발명에 따른 상기 조성물은 기타의 약제, 예를 들면, 다른 치료제와 조합하여 투여할 수도 있다.
- [0032] 또한, 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 약제의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0033] 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화 하여 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0034] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제에는 본 발명의 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘 (calcium carbonate), 슈크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0035] 또한, 본 발명에 따른 약학적 조성물을 단위 용량 형태로 제형화하는 경우, 유효성분으로서 실리마린 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 약 0.1 ~ 1,500 mg의 단위 용량으로 함유되는 것이 바람직하다. 투여량은 환자의 체중, 나이 및 질병의 특수한 성질과 심각성과 같은 요인에 따라 의사의 처방에 따른다.

그러나, 성인 치료에 필요한 투여량은 투여의 빈도와 강도에 따라 하루에 약 1 ~ 500 mg 범위가 보통이다. 성인에게 근육 내 또는 정맥 내 투여 시 일 회 투여량으로 분리하여 하루에 보통 약 5 ~ 300 mg의 전체 투여량이면 충분할 것이나, 일부 환자의 경우 더 높은 일일 투여량이 바람직할 수 있다.

[0036] 또한, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물은 1일 0.0001 내지 0.03 g/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 8 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0037] 또한, 본 발명은 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 알콜성 위궤양 예방 및 개선용 건강식품을 제공한다.

[0038] 본 발명에 따른 실리마린 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 에탄올에 의해 유도되는 위 손상을 줄이고, 위 점액량이 회복시키며, 위궤양의 억제 효과를 가지는 NP-SH에 일부 관여하거나 양을 회복시키고 및 실리마린의 위궤양 억제 효과에 산화 질소가 관여함을 확인함으로써 알콜성 위궤양 예방 및 개선용 건강식품을 조성물에 유용하게 사용할 수 있다.

[0039] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 비스킷, 떡, 초코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강 식품을 모두 포함한다.

[0040] 본 발명의 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 중의 상기 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0041] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0042] 상기 외에 본 발명의 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 추출물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 추출물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0043] 이하, 본 발명의 실시예, 실험예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.

[0044] 단, 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예, 실험예

및 제조에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0045] <실시예 1> 실리마린의 분리 및 확인

[0046] 엉겅퀴(*Silybum marianum*)로부터 실리마린(catalogue#:S0292, Sigma-Aldrich)를 분리하였다.

[0047] <실시예 2> 에탄올 유도 위궤양 모델 동물의 제조

[0048] 7주령의 체중 200~250 g 정도의 수컷 SD(Sprague-Dawley) 랫드(코아텍, 대한민국) 5마리를 1군으로 하여 36시간 절식시킨 후 상기 <실시예 1>에서 제조된 실리마린을 25, 50, 100, 200 mg/kg로 각각 경구투여 하고 30분 후 100% 에탄올(ethanol) 1 ml을 경구투여 하고 절식 절수하여 1시간 동안 방치 후 CO₂로 치사시켰다. 위를 적출한 후 유문부와 식도를 절찰하여 위내에 2% 포르말린(formalin)용액 10 ml을 넣어 10분간 고정하고 대만부를 절개하여 발생된 손상부위를 디지털 카메라(digital camera)로 촬영하여, 분석용 프로그램(Image-Pro Plus 4.5.1)에서 측정하여 그 총합을 손상 지수로 하였다. 손상부위 면적은 전체 선위부 면적에 대한 %로 표현하였다. 대조 약물로는 스틸렌(stilben)을 사용하였다.

[0049] <실험예 1> 실리마린의 위손상 보호 효과 검증

[0050] 상기 <실시예 2>에서 제조된 SD 랫드에 상기 <실시예 1>에 제조된 실리마린과 양성대조약인 스틸렌을 각각 30분간 전처리를 한 후 랫드 당 1 ml의 100% 에탄올을 경구 투여하여 위궤양을 유발하였다. 1시간 후 CO₂로 치사하고 위를 적출하여 위손상 부위의 면적을 측정하였다.

[0051] 그 결과, 용매대조군에서는 21.1=4.71 %의 위손상이 관찰되었으나, 실리마린을 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg 및 200 mg/kg의 농도로 처리하였을 경우 각각 11.9=1.36 %, 7.8=2.87 %, 5.8=2.28 % 및 1.5=1.19 %의 위손상이 관찰되어 농도의존적으로 위손상이 감소하였다. 양성대조약으로 사용한 스틸렌의 경우 100 mg/kg의 농도로 처리하였을 때 3.4=2.23 %의 위손상이 관찰되어 상기 실리마린을 전처리를 한 경우 농도의존적으로 위손상 면적이 감소함을 확인하였다(도 1).

[0052] <실험예 2> 실리마린의 위점액 분비 개선 효과 검증

[0053] 에탄올에 의한 위궤양 기전 중 위 점막 투과성을 항진시키고 능동수송을 저해하는 기전을 통해 위 손상을 일으키는 것이 있는데, 위는 이에 대한 방어 기전으로 점막층을 보호하기 위하여 방어 인자인 점액을 분비하게 된다. 이에, 실리마린 처리가 위 점액 분비에 미치는 영향을 확인하였다.

[0054] 7주령의 체중 200~250 g 정도의 수컷 SD 랫드 5마리를 1군으로 하여 36시간 절식시킨 후 실리마린을 경구투여 하고 1시간 후에 100% 에탄올 1 ml을 경구투여 하였다. 1시간 후에 CO₂로 치사시키고 위를 적출하고 0.25 M 수크로스(sucrose) 용액 10 ml로 세척하고 0.1% (w/v) 알시안 블루(alcian blue) 8GX 용액 (0.16 M 수크로스 in 0.05 M 소듐 아세테이트(sodium acetate), pH 5.8) 15 ml에 2시간 동안 염색을 한 후 0.25 M 수크로스 용액에 세척하고 조직을 0.5 mol/L 염화마그네슘 용액 15 ml에 2시간 동안 담귀 위 점액과 결합된 시약을 추출해서 얻어진 푸른색의 추출액을 동량의 디에틸에테르(diethylether)와 혼합하고 3,500 g에서 10 분간 원심분리하여 상층액을 취하여 580 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액은 0.1% (w/v) 알시안 블루 용액을 0.25 M 수크로스 용액으로 희석하여 사용하였고 알시안 블루 g/g 조직으로 표현하였다.

[0055] 그 결과, 정상군의 경우 알시안 블루 238.5 mg/g 조직으로 나온 반면에 용매대조군은 161.3 mg/g 조직으로 점액량이 줄어들었다. 그러나, 실리마린을 100 mg/kg 및 200 mg/kg의 농도로 처리하였을 때 각각 200.7 mg/g 조직 및 227.9 mg/g 조직으로 점액량이 회복되어 에탄올을 투여하여 위 손상을 유발한 경우 위 점액이 감소되어 있었으나 실리마린을 처리하였을 경우 농도의존적으로 위 점액량이 회복되는 것을 확인하였다(도 2).

[0056] <실험예 3> NEM(N-ethylmaleimide)의 전처리에 의한 실리마린의 위궤양에 대한 억제 효과 분석

[0057] 실리마린의 에탄올 유도 위궤양에 대한 기전을 규명하기 위하여 위점막 보호작용에 관여하는 NP-SH의 기능을

억제하는 NEM을 처리한 후 NP-SH가 기능을 하지 못하는 상태에서 에탄올 유도 위궤양에 대한 실리마린의 영향을 확인하였다.

[0058] 그 결과, 용매대조군과 NEM 처리군의 경우 37.1 % 및 56.9 %의 위손상이 관찰되었으며, 여기에 실리마린을 처리하였을 경우 각각 5.3 % 및 24.9 %의 위손상이 관찰되어 NEM을 처리를 확인하여 NEM을 전처리를 할 경우 실리마린에 의한 위궤양 억제 효과가 감소함을 확인할 수 있었으며, 이로부터 실리마린의 위궤양 억제 효과에 비-단백질 설프히드릴기(non-protein sulfhydryl group, NP-SH)이 일부 관여함을 확인하였다(도 3).

[0059] <실험예 4> 실리마린의 NP-SH에 대한 영향 확인

[0060] 글루타치온을 비롯한 NP-SH는 위장관 점막에 풍부하게 존재하고 위점막 손상의 존재 여부 및 손상 정도의 척도로 알려졌다. 이에, 실리마린 처리가 NP-SH 양에 미치는 영향을 확인하였다.

[0061] 7주령의 체중 200~250 g 정도의 수컷 SD 랫드 5마리를 1군으로 하여 36시간 절식시킨 후 실리마린을 경구 투여하고 1시간 후에 100% 에탄올 1 ml을 경구투여 하였다. 1시간 후에 CO₂로 치사시키고 위를 적출하고 손상 부위 (50~100 mg)를 0.02 M EDTA 1 ml에 균일화 되게(100 mg당 1 ml)하고 이 용액 400 μl와 동량의 증류수 320 μl, 50% 트라이클로로아세트산(trichloroacetic acid)80 μl와 혼합한 후 3,000 g에서 15분간 원심분리 하였다. 400 μl의 상층액과 0.4 M 트리스 버퍼(Tris buffer) 800 μl, DTNB (5,5-디티오비스(ditiobis)(2-니트로벤조산(nitrobenzoic acid)) 20 μl와 혼합 후 3분간 셰이킹(shaking)을 하였다. DTNB 혼합 후 5분 이내로 412 nm에서 흡광도 측정을 하였으며 표준용액은 글루타치온(glutathione)으로 하고 NP-SH의 양을 g/g 조직으로 표현하였다.

[0062] 그 결과, 정상군의 경우 NP-SH의 양이 252.2 mg/g 조직으로 나온 반면에 용매대조군은 60.6 mg/g 조직으로 NP-SH의 양이 줄어들었다. 그러나, 실리마린을 100 mg/kg 및 200 mg/kg의 농도로 처리하였을 때 각각 113.4 mg/g 조직 및 160.6 mg/g 조직으로 점액량이 회복되어 에탄올을 투여하여 위 손상을 유발한 경우 NP-SH가 크게 감소 되었으나 실리마린을 처리하였을 경우 농도의존적으로 NP-SH의 양이 회복되는 것을 확인하였다(도 4).

[0063] <실험예 5> L-NG-니트로알기닌 메틸 에스테르(L-NG-Nitroarginine methyl ester, L-NAME)의 전처리에 의한 실리마린의 에탄올 유도 위궤양에 대한 억제 효과 분석

[0064] 산화질소는 위장관의 혈류 이동 및 혈관 확장에 관여하여 위 손상을 보호하는 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 이에, L-NG-니트로알기닌 메틸 에스테르의 전처리가 에탄올 유도 위궤양에 대한 실리마린의 억제에 미치는 영향을 확인하였다.

[0065] 실리마린의 에탄올 유도 위궤양에 대한 기전의 규명을 위하여 산화질소 신타아제(Nitric oxide synthase)의 억제제인 L-NAME을 처리한 후 실리마린의 위궤양 억제 효과에 대한 영향을 확인하였다.

[0066] 그 결과, 용매대조군과 L-NAME 처리군의 경우 33.3 % 및 41.7 %의 위손상이 관찰되었으며, 여기에 실리마린을 처리하였을 경우 각각 5.8 % 및 15.4 %의 위손상이 관찰되어 L-NAME을 처리하여 산화질소를 제거하였을 경우 실리마린의 위궤양 억제효과가 줄어드는 것을 확인하여 L-NAME을 전처리 할 경우 실리마린에 의한 위궤양 억제 효과가 감소함을 확인할 수 있었으며, 이로부터 실리마린의 위궤양 억제 효과에 산화질소가 일부 관여함을 확인하였다(도 5).

[0067] 이하, 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 제제를 다음과 같이 제조하였다.

[0068] <제조예 1> 약학적 제제의 제조

[0069] <1-1> 산제의 제조

[0070] 실리마린 2 g

[0071] 유당 1 g

[0072] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0073] <1-2> 정제의 제조

[0074] 실리마린 100 mg

[0075] 옥수수전분 100 mg

[0076] 유 당 100 mg

[0077] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0078] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0079] <1-3> 캡슐제의 제조

[0080] 실리마린 100 mg

[0081] 옥수수전분 100 mg

[0082] 유 당 100 mg

[0083] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0084] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0085] <1-4> 환의 제조

[0086] 실리마린 1 g

[0087] 유당 1.5 g

[0088] 글리세린 1 g

[0089] 자일리톨 0.5 g

[0090] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1 환 당 4 g이 되도록 제조하였다.

[0091] <1-5> 과립의 제조

[0092] 실리마린 150 mg

[0093] 대두 추출물 50 mg

[0094] 포도당 200 mg

[0095] 전분 600 mg

[0096] 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.

[0097] <제조예 2> 식품의 제조

[0098] 이하, 실리마린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.

[0099] <2-1> 밀가루 식품의 제조

[0100] 실리마린을 0.5 ~ 5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0101] <2-2> 유제품(dairy products)의 제조

[0102] 실리마린을 5 ~ 10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0103] <2-3> 선식의 제조

[0104] 현미, 보리, 찹쌀, 울무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

[0105] 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

[0106] 실리마린을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

[0107] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 실리마린의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0108] 곡물류(현미 30 중량부, 울무 15 중량부, 보리 20 중량부),

[0109] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),

[0110] 실리마린(3 중량부),

[0111] 영지(0.5 중량부), 및

[0112] 지황(0.5 중량부).

[0113] <2-4> 건강보조식품의 제조

[0114]	실리마린	100 mg
[0115]	비타민 혼합물	적량
[0116]	비타민 A 아세테이트	70 μ g
[0117]	비타민 E	1.0 mg
[0118]	비타민 B1	0.13 mg
[0119]	비타민 B2	0.15 mg
[0120]	비타민 B6	0.5 mg
[0121]	비타민 B12	0.2 μ g
[0122]	비타민 C	10 mg
[0123]	비오틴	10 μ g
[0124]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0125]	엽산	50 μ g
[0126]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0127]	무기질 혼합물	적량
[0128]	황산제1철	1.75 mg
[0129]	산화아연	0.82 mg
[0130]	탄산마그네슘	25.3 mg

[0131]	제1인산칼륨	15 mg
[0132]	제2인산칼슘	55 mg
[0133]	구연산칼륨	90 mg
[0134]	탄산칼슘	100 mg
[0135]	염화마그네슘	24.8 mg

[0136] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 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.

[0137] <제조예 3> 건강음료의 제조

[0138]	실리마린	100 mg
[0139]	구연산	100 mg
[0140]	올리고당	100 mg
[0141]	매실농축액	2 mg
[0142]	타우린	100 mg
[0143]	정제수를 가하여 전체	500 ml

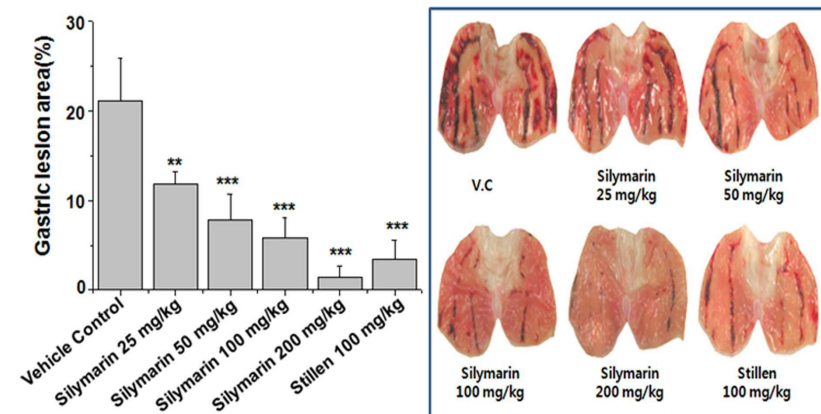
[0144] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 1 l 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

[0145] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

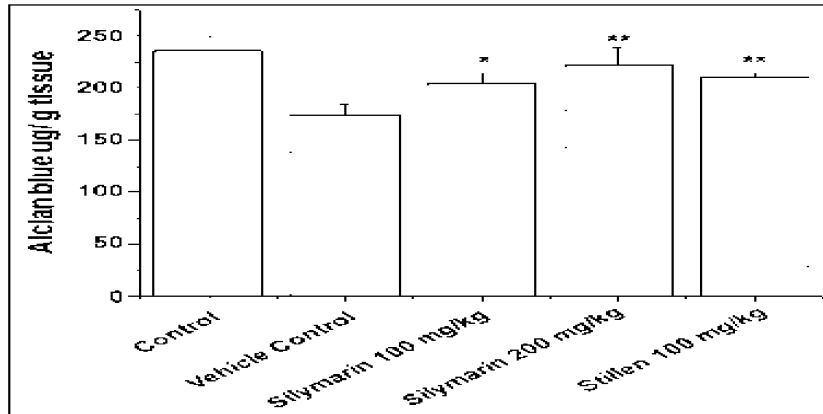
[0146] 이상의 본 발명은 상기에 기술된 실시예, 실험예 및 제조예들에 의해 한정되지 않고, 당업자들에 의해 다양한 변형 및 변경을 가져올 수 있으며, 이는 첨부된 청구항에서 정의되는 본 발명의 취지와 범위에 포함된다.

도면

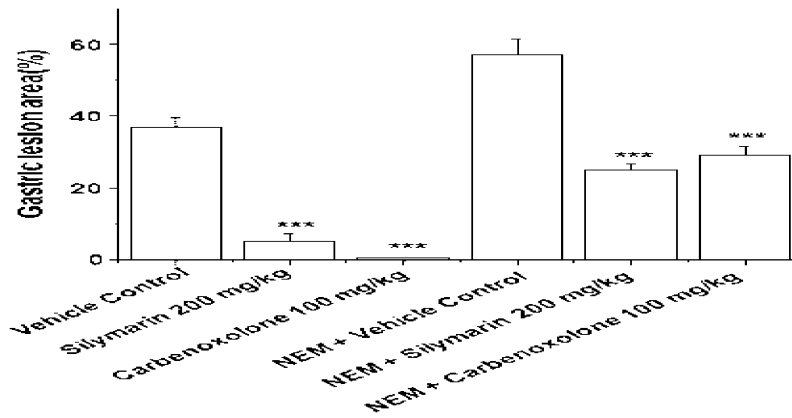
도면1



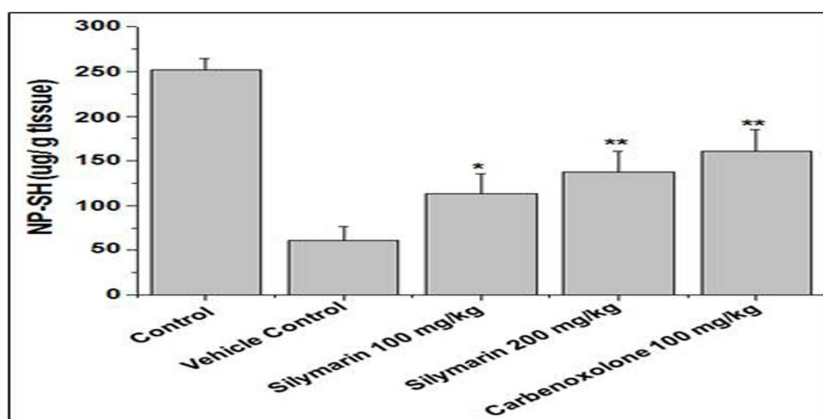
도면2



도면3



도면4



도면5

