



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년05월30일  
 (11) 등록번호 10-1401740  
 (24) 등록일자 2014년05월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 A23L 1/29 (2006.01) A23L 1/333 (2006.01)  
 A23L 2/38 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-0120244  
 (22) 출원일자 2012년10월29일  
 심사청구일자 2012년11월29일  
 (65) 공개번호 10-2014-0054581  
 (43) 공개일자 2014년05월09일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 KR100573423 B1\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 재단법인 전남생물산업진흥원  
 전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)  
 (72) 발명자  
 최철웅  
 광주 서구 풍암순환로 14, 105동 203호 (풍암동, 호반아파트)  
 김희숙  
 경남 고성군 개천면 구만로 337-8,  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 최석진

전체 청구항 수 : 총 4 항

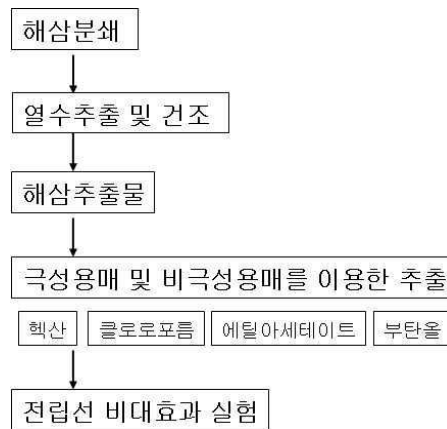
심사관 : 김재현

(54) 발명의 명칭 **해삼 추출물을 함유하는 전립선 비대증 예방을 위한 기능성 식이조성물**

**(57) 요약**

본 발명의 해삼 추출물을 포함하는 기능성 식이조성물은 전립선 비대를 유의적으로 억제시키고, 양성 전립선 조직의 성장을 현저하게 억제함으로써 전립선 비대증을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있으므로 이러한 결과를 토대로 전립선 비대증의 예방을 위한 기능성 식이조성물 및 분말류, 음료류, 가공 식품류 등과 같은 기능성 건강 식품에 유용하게 사용될 수 있고, 또한, 건강 식품을 제조하는 원료 및 첨가제로서도 이용가능하다.

**대표도 - 도1**



(72) 발명자

**반상오**

광주 북구 평교로29번길 23, (문흥동)

**이규욱**

전남 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136, 102동 103호  
(성은연립)

**설희진**

광주 남구 봉선2로 96-14, 203동 806호 (봉선동,  
무등2차아파트)

**장육진**

전남 장흥군 장흥읍 못골길 32, 102동 402호 (동산  
빌라)

**김재용**

전남 순천시 삼산로 81, 104동 1707호 (용당동, 동  
아아파트)

**강후원**

전남 나주시 영산포로 205-7, (영산동)

**정용기**

전남 장흥군 장흥읍 북부로 62-1, 104동 303호 (주  
공아파트)

**김선오**

광주 북구 양일로 55, 101동 605호 (연계동, 현대  
아파트)

**김재갑**

경기 부천시 소사구 경인로134번길 51, 2동 507호  
(송내동, 삼익아파트)

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

극피동물문 (*Phylum Echinodermata*), 해삼강 (*Class Holothuroidea*), 순수목 (*Order Aspidochirotida*) 또는 돌기해삼과 (*Family Stichopodidae*)의 돌기해삼 (*Stichopus japonicas Selenka*)을 열수 또는 탄소수 1 내지 5의 알코올 및 이의 혼합물로 이루어진 균 중에서 선택되는 하나 이상을 추출용매로 사용하여 추출한 것을 특징으로 하는 전립선 비대증 예방을 위한 기능성 식이조성물

**청구항 2**

제1항에 있어서, 추출용매를 사용하여 추출한 해삼 추출물에 비극성가용 용매로서 헥산, 클로로포름, 디클로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올 또는 이들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택된 어느 하나를 분획용매로 사용하여 분획한 것을 특징으로 하는 전립선 비대증 예방을 위한 기능성 식이조성물

**청구항 3**

전립선 비대증 예방을 위한 건강 기능성 식품에 있어서, 제1항 또는 제2항의 전립선 비대증 예방을 위한 기능성 식이조성물이 전체 조성물의 1 내지 99 중량%의 양으로 포함되는 것을 특징으로 하는 전립선 비대증 예방을 위한 건강 기능성 식품.

**청구항 4**

전립선 비대증 예방을 위한 건강 기능성 식품에 있어서, 제1항 또는 제2항의 전립선 비대증 예방을 위한 기능성 식이조성물이 체중 kg당 100 내지 200mg의 양으로 포함되는 것을 특징으로 하는 전립선 비대증 예방을 위한 건강 기능성 식품.

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 전립선 비대증 예방을 위한 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 우리나라의 연안에 분포하는 해삼으로부터 추출한 추출물을 유효성분으로 포함하는 기능성 식이 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 해삼은 극피동물 해삼강에 속하는 해삼류의 총칭으로, 몸은 앞뒤로 긴 원통 모양이고, 등에 혹 모양의 돌기가 여러 개 나 있다. 몸의 앞쪽 끝에는 입이 열려 있고 그 둘레에 촉수가 여럿 달려 있으며, 뒤쪽 끝에는 항문이 있다. 또 대부분의 종은 아랫면에 가는 관으로 된 관족이 많이 나 있어, 이것으로 바다 밑을 기어 다닌다. 관족

이 없는 종은 바다 속을 떠다니거나 모래진흙에 묻혀 산다. 피부 속에는 석회질로 된 작은 골편(骨片)이 드문드문 들어 있다.

[0003] 대부분 암수의 구별이 있으나, 겉모습으로는 구별하기 힘들다. 수온 17℃ 이하에서 식욕이 왕성하고 운동이 활발하며, 17℃ 이상이 되면 먹는 것을 중지하고, 25℃ 이상이 되면 여름잠을 잔다. 먹이를 먹을 때에는 측수로 바다 밑에 깔린 모래 진흙을 입에 넣어 모래 진흙 속에 들어 있는 작은 생물을 잡아먹고 모래와 배설물은 밖으로 내보낸다. 외부에서 자극을 받으면 장(腸)을 끊어서 항문 밖으로 내보내는데, 재생력이 강해서 다시 생긴다.

[0004] 특히 돌기해삼(Japanese sea cucumber)은 해삼강 순수목 돌기해삼과의 극피동물로서 제주도와 독도를 포함한 우리나라 전 연안에 분포하며 수심 2~10m 정도의 다양한 저서환경에서 매우 흔히 발견되는 몸통길이 15cm 전후의 퇴적물 섭식성 식용 해삼류이다. 몸통은 전체적으로 갈색이나 녹색을 띠는 개체가 많으며 몸통의 표면에는 부드럽지만 크고 강한 듯이 보이는 큰 돌기들이 솟아나 있고 그 사이사이에 수많은 작은 돌기들이 흩어져 있다. 다른 해삼류와 마찬가지로 느린 속도로 바닥을 이동하면서 퇴적물의 종류를 가리지 않고 섭식한 다음 내장기관을 통과하면서 영양분은 흡수하고 나머지 찌꺼기는 배출하는 방식으로 섭식한다.

[0005] 한편, 전립선 비대증(benign prostate hyperplasia, BPH)는 가장 흔한 남성 비뇨기 질환으로, 요도 주위의 전립선이 비정상적으로 커져서 소변의 배출을 막고 이로 인한 다양한 증상이 발생하는 상태를 말하며, 전립선 비대증과 관련한 국내 선행 문헌으로는 국내공개특허 제10-2012-0060934호에 홍삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 비대증 예방 또는 치료용 조성물을 개시하고 있고, 국내공개특허번호 제10-2011-0076347호에서 인삼 추출물을 포함하는 전립선비대증을 예방 또는 치료하기 위한 약학적 조성물 및 건강 기능성식품 조성물을 개시하고 있다.

[0006] 전립선 비대증의 발병원인은 아직 명확히 밝혀진 바 없으나, 50세 이상이 되어야 증상이 나타나는 점과 청소년기에 정상적으로 남성호르몬이 분비되어야 발생한다는 사실을 통해 볼 때, 전립선 세포 증식의 가장 유력한 원인 중 하나가 안드로겐의 분비일 것으로 여겨지고 있다. 전립선은 생식기의 일종으로 정액(semen fluid)을 만들어 정자에 영양을 공급하고, 세균으로부터 보호하며, 이동 매체를 제공하는 등의 역할을 한다. 그러나 전립선은 방광 바로 아래에서 요도를 감싸고 있어, 전립선이 커지면 방광 하부와 요도를 누르게 된다.

[0007] 따라서 이러한 배뇨이상의 증상은 소변을 참지 못할 뿐만 아니라 소변줄기가 가늘고 힘이 약하며 소변을 보려해도 금방 볼 수가 없고 소변을 다보고 나서도 잔뇨(소변이 방광에 남아있는 것)가 남게 되어 점차적으로 잔뇨량이 늘어 아랫배가 아프게 되고, 또한 소변을 자주 보게 됨으로 신장에도 영향을 미쳐 결국 신장기능의 저하로 만성 신부전증을 초래하게 되는 문제점이 있다. 또한, 이와 같이 정제된 소변은 전립선과 요도에 세균이 자라는데 좋은 조건을 제공하여 쉽게 염증, 결석 등의 합병증을 유발하는 것으로 나타난다.

[0008] 전립선 비대증은 혈관신생을 수반한 세포의 과증식이라는 점에서 전립선 암과 공통점을 가진다. 그러나 전립선 비대증은 전이가 되지 않으며 생명을 위협하지도 않기 때문에, 전립선 암의 치료와는 달리 전립선 비대증의 치료에는 독성이 최소화되어야 한다.

[0009] 현재 상용화된 전립선 비대증 치료방법으로는 전립선 절제 수술을 하거나, 레이저로 제거하는 방법을 사용하나, 일시적인 치료 방법일 뿐 계속되는 비대를 막을 수는 없고 치료에 사용되는 약물로는 알파-아드레너직 길항물질(alpha-adrenergic antagonist)로서 전립선의 긴장(tone)을 억제하는 약물과 안드로젠(androgen)호르몬을 감소시켜 전립선의 확장을 차단하는 약물들이 있으나, 교감신경 차단으로 저혈압, 혈관 확장성 두통 등의 부작용이 심해 지속적인 사용이 어렵다.

[0010] 또한, 전립선 비대증을 치료제 중에 5-알파 환원효소 저해제는 남성호르몬 작용을 나타내는 테스토스테론엔 영향을 주지 않고 디히드로테스토스테론의 생성을 선택적으로 억제함으로써 항안드로겐 활성 효과를 발현시켜 항안드로젠 약제에서 발견되는 부작용 없이 비대해진 전립선을 축소시켜 배뇨장해를 치료할 수 있어 안전하고 원인적인 치료가 가능한 치료제로 인식되어, 5-알파환원효소의 작용을 저해하여 조직중의 디히드로테스토스테론 생성을 억제하는 피나스테라이드(성분명: Finasteride, 제품명: Proscar, 머크사)와 같은 화합물은 전립선 비대증 치료제로 현재 시판 사용되고 있다(국내 공개특허 제2003-22763호, 국내공개특허 제2000-0075651, 국내공개특허 제2004-0016559호).

[0011] 그러나 5-알파 환원효소 억제제(5-alpha reductase inhibitor; 피나스테리드, 두타스테리드)는 상기와 같이 남성호르몬인 테스토스테론을 활성 대사산물인 DHT(dihydro테스토스테론)로 전환시키는데, 이 과정을 차단하여 남성 호르몬 활성을 감소시켜 전립선 세포는 남성 호르몬 의존적으로 증식하므로 이 약물들은 전립선 크기를 줄이

는 효과를 보이거나, 남성 호르몬 감소로 인하여 리비도 감소와 성기능 장애를 초래할 수 있다.

[0012] 이와 같이 현재 사용되고 있는 약물치료가 다소 효과가 있다고는 하나, 그 부작용이 문제가 되며, 특히 전립선 비대증은 생명에 지장을 초래하는 심각한 질환이 아니기 때문에 환자의 삶의 질(quality of life) 향상이 치료의 목표가 되는 바, 약물의 부작용으로 환자가 부가적 불편을 겪는다면 결코 만족할 만한 치료라 할 수 없다. 이로부터 부작용 없이 전립선 세포만을 특이적으로 증식을 억제시키거나 고사시킬 수 있는 효율적인 기능성 조성물의 개발이 필요하다.

[0013] 이에 본 발명자들은 전립선 비대증에 대해 억제효과를 갖는 천연 조성물을 개발하기 위한 연구를 진행하던 중 전립선 비대증 치료효과와 관련하여 현재까지 보고된 바가 없는 해양생물인 해삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 추출물이 전립선 비대증에 대한 억제효과를 갖는다는 사실을 실험을 통해 확인하였다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0014] 본 발명은 해양생물인 해삼 추출물을 이용하여 독성 및 부작용없이 안전하게 사용될 수 있는 전립선 비대증의 예방을 위한 기능성 식이 조성물을 제공하고자한다.

#### 과제의 해결 수단

[0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 해삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 비대증 예방 또는 치료를 위한 기능성 식이조성물을 제공한다. 또한, 상기한 목적을 달성하기 위한 또 다른 발명으로 해삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 비대증에 대한 예방효능을 갖는 건강 기능성 식품 조성물을 제공한다.

### 발명의 효과

[0016] 본 발명의 해삼 추출물을 포함하는 기능성 식이조성물은 전립선 비대를 유의적으로 억제시키며, 양성 전립선 조직의 성장을 현저하게 억제함으로써 전립선 비대증을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있으므로, 전립선 비대증의 예방을 위한 기능성 식이조성물 및 분말류, 음료류, 가공 식품류 등과 같은 기능성 건강식품에 유용하게 사용될 수 있고 또한, 건강 식품을 제조하는 원료 및 첨가제로서도 이용가능하다.

### 도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 해삼의 열수 추출과 분획 모식도를 나타낸다.

도 2는 해삼 추출물에 대한 3T3-L1 지방전구세포 생존율을 측정한 그래프를 나타낸다.

도 3은 해삼 추출물에 대한 전립선 비대증 억제 효과를 나타낸 전립선 조직 단면 염색 사진을 나타낸다.

도 4는 해삼 추출물에 대한 전립선 비대증 억제 효과를 나타낸 전립선 조직 무게 표를 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명에서는 해삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선 비대증 예방을 위한 기능성 식이조성물이 제공된다.

[0019] 해삼추출물로서 사용되는 해삼은 극피동물문 (*Phylum Echinodermata*), 해삼강 (*Class Holothuroidea*), 순수목 (*Order Aspidochirotida*) 또는 돌기해삼과 (*Family Stichopodidae*)의 돌기해삼 (*Stichopus japonicas Selenka*)인 것을 특징으로 하며, 해삼 추출물은 열수 또는 탄소수 1 내지 5의 알코올 및 이의 혼합물로 이루어진 균 중에서 선택되는 하나 이상을 추출용매로 사용하여 추출한 것일 수 있고, 상기 추출용매를 사용하여 추출한 해삼 추출물에 비극성가용 용매로서 헥산, 클로로포름, 디클로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올 또는 이들의 혼

합물로 이루어진 균으로부터 선택된 어느 하나를 분획용매로 사용하여 분획한 것일 수 있다.

[0020] 또한, 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 전립선 비대증 예방을 위한 건강 기능성 식품으로 이루어질 수 있고, 추출물은 전체 조성물의 1 내지 99 중량%의 양으로 포함될 수 있으며, 투여량은 체중 kg당 100-200mg의 양으로 경구투여 가능한 전립선 비대증 예방을 위한 건강 기능성 식품으로 제공이 가능하다.

[0021] 전립선 비대증의 예방을 위한 기능성 식이 조성물의 추출방법은 해삼을 증류수로 수세한 다음 증류수와 혼합하여 열수추출하는 단계; 상기 추출물을 여과한 후 농축하여 동결 건조하는 단계; 상기 단계의 추출물을 분획용매에 용해시켜 분획물을 얻어 감압여과 장치로 여과, 농축하여 동결 건조하는 단계를 포함하는 추출방법이 제공된다.

[0022] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시 예를 상세히 설명한다. 하기에 서 본 발명을 설명함에 있어서, 공지기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략하였다.

[0023] **1. 시료 준비 및 해삼 추출물과 분획물 제조**

[0024] **1.1 시료**

[0025] 실험에 사용된 해삼은 전남해양수산과학원으로부터 제공받은 극피동물문 (*Phylum Echinodermata*), 해삼강 (*Class Holothuroidea*), 순수목 (*Order Aspidochirotida*) 또는 돌기해삼과 (*Family Stichopodidae*)의 돌기해삼 (*Stichopus japonicas Selenka*)을 사용하였다.

[0026] 제공받은 해삼은 해삼 내장을 제거하고 100mm 간격으로 절단하여 추출용기에 넣고 해삼의 중량 807.82g의 20배 (w/v)에 해당하는 증류수를 첨가한 다음, 250℃에서 3시간 동안 환류 추출한 후 추출한 용액은 400 메쉬 여과포로 여과한 다음 감압회전농축기로 농축하였다. 여과 후 남은 잔사에 다시 동량의 증류수를 사용하여 동일 과정으로 2번 더 추출, 여과 및 감압 농축한다. 농축된 열수추출물을 동결건조기 (Freeze dryer)에서 동결건조 하였다. 동결 건조후 해삼 열수추출물 116.15g(수율 14.15%)를 얻었다.

[0027] **1.2. 해삼추출물의 극성용매, 비극성용매 가용 분획물 제조**

[0028] 도 1은 해삼 추출물 및 유기용매에 의한 분획물을 얻는 과정을 나타낸다. 해삼 열수 추출물의 극성용매, 비극성용매 가용 분획물의 제조는 해삼 열수 추출물 5g을 증류수 1L에 완전히 용해시킨 후 분획 여두 깔대기에 넣고 헥산(Hexane) 1L를 첨가하여 water 층과 hexane 층을 분리하였고 이와 같은 공정을 3번 반복하였다.

[0029] 동일한 과정을 통해 클로로포름 (chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 부탄올(butanol)을 순차적으로 가하여 각 분획물을 얻었고, 얻어진 각각의 분획물을 감압여과 장치로 여과하여 농축한 후 동결 건조하여 용매를 완전히 제거한 뒤 본 실험에 사용하였다. 각각의 용매로부터 얻은 분획물은 헥산으로부터 0.005g(0.1%), 클로로포름으로부터 0.071g(1.42%), 에틸아세테이트로부터 0.233g(4.66%), 부탄올로부터 0.505g(10.0%), 물층 분획물로부터 1.655g(33.1%)을 얻었다. 각각의 용매를 이용한 분획물의 제조방법은 다음과 같다.

[0030] **1.2.1. 헥산 가용성 분획 분리**

[0031] 해삼 열수추출물 5g을 25배의 증류수 즉, 1 L의 증류수에 완전히 용해시킨 후, 분획 여두에 넣고 헥산(Hexane) 1L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 헥산 층과 헥산 불용성층인 수층을 분리하고, 헥산 층만을 수득함으로써, 헥산 분획액을 제조하였다.

[0032] **1.2.2. 클로로포름 가용성 분획분리**

- [0033] 핵산불용성 분획(수층)에 클로로포름 1L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 클로로포름 층과 클로로포름 불용성층인 수층을 분리하고, 클로로포름 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 클로로포름 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하여 수득함으로써, 클로로포름 분획액을 제조하였다.
- [0034] 1.2.3. 에틸아세테이트 가용성 분획분리
- [0035] 클로로포름 불용성 분획(수층)에 에틸아세테이트 1L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 에틸아세테이트 층과 에틸아세테이트 불용성층인 수층을 분리하고, 에틸아세테이트 층만을 수득함으로써, 에틸아세테이트 분획액을 제조하였다.
- [0036] 1.2.4. 부탄올 가용성 분획분리
- [0037] 에틸아세테이트 불용성 분획(수층)에 부탄올 1L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 부탄올 층과 부탄올 불용성층인 수층을 분리하고, 부탄올 층만을 수득함으로써, 부탄올 분획액을 제조하였으며, 상기 얻어진 각각의 분획액을 감압여과 장치로 여과하여 농축한 후, -20℃에서 동결건조하여 용매를 완전히 제거한 뒤 본 실험에 사용하였다.
- [0038] 1.3 해삼 내장 추출물 제조
- [0039] 해삼 내장 추출물은 해삼 내장을 추출용기에 넣고 중량 20배(w/v)의 증류수 1L를 첨가한 다음 250℃에서 3시간 동안 환류 추출한 후 추출한 용액은 흡입 여과하고, 감압농축기로 농축한 후 동결건조하여 해삼 내장추출물을 얻었다. 상기 수득한 추출물 및 분획물은 실험에 사용하기 전까지 냉동보관 하였다.
- [0040] 2 세포 독성 실험
- [0041] 2.1 세포배양
- [0042] 시료 준비 및 해삼 추출물과 분획물 제조단계에서 제조된 해삼 추출물의 세포 독성을 측정하기 위하여, 3T3-L1(CL-173; ATCC, USA) 지방전구세포를 American type cell collection(ATCC, USA)로부터 구입하여 이용하였다. 사용한 배지는 에 10% BS(Bovine Serum; GibcoBRL, USA)과 1%의 Penicillin(100 U/ml)/Streptomycin(100 µg/ml)을 첨가한 후, 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 배양, 사용하였다.
- [0043] 마우스 전구 지방세포인 3T3-L1은 10% BCS DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium; Cambrex Bio Science, Walkersville MD, USA) 배지에 넣고 37℃ 습윤한 CO<sub>2</sub> 배양기 (5% CO<sub>2</sub> /95% air)에서 배양하였다. 배양된 상기 세포를 24 well plate 50,000 cells/well의 밀도로 분주한 후, 100% confluency 시점이 되어서 2일 동안 더 유지시켰다. 전구지방세포는 MDI(0.5mM 3-iso-butyl-methyathine(IBMx), 1µM dexamethasone, 1µg/ml 인슐린)를 포함하는 10% FBS DMEM배지로 지방세포 분화를 3일 동안 유도하였고, 다시 1 µg/ml 인슐린이 함유된 10% FBS DMEM 배양액으로 3일 동안 배양하였다. 모두 12일간의 분화를 통해 80%이상의 세포가 분화되었음을 확인하였다.
- [0044] 분화 후 해삼 열수 추출물, 열수 추출물 분획물 및 해삼내장 추출물을 처리한 실험군으로 나누어, 24시간 동안 더 배양시킨 후, 배양액을 제거하고 MTT 분석(MTT assay) 방법으로 살아있는 세포의 수를 측정하였다.
- [0045] 2.2 MTT 분석
- [0046] 도 2는 해삼 추출물에 대한 3T3-L1 지방전구세포 생존율을 측정한 그래프를 나타낸다. MTT 분석은 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 우선, 세포배양 배지를 제거한 후 MTT를 1 mg/ml로 포함하는 DMEM/F12 배지를 웰 당 1 ml 씩 처리하고, 37℃ 습윤한 CO<sub>2</sub> 배양기에서 4시간 더 배양하였다. 이후 배지를 제거한 후, tetrazolium bromide salt를 제거하고, DMSO 200 µl를 분주하여 각 웰에 생성된 포르마잔 크리스탈을 용해시키고, 마이크로 플레이트 리더(BIO-RAD)에서 540 nm파장으로 흡광도를 측정하여 세포생존율을 확인하였다. 상기 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0047] 상기 도 2에 나타낸 바와 같이, 시료 준비 및 해삼 추출물과 분획물 제조단계에서 제조된 해삼 열수 추출물과



열수 추출물 분획물 및 내장추출물의 다양한 농도, 구체적으로는 10ug/ml 내지 200ug/ml의 범위에서 농도별로 처리한 결과, 모두 세포의 증식에 별다른 영향을 나타내지 않는 것으로 확인되었다. 이와 같은 결과로부터 해삼 추출물, 분획물 및 내장추출물은 200ug/ml까지는 세포독성이 없는 것으로 확인되었다.

[0048] **2.3 통계적 분석**

[0049] 모든 데이터들은 Microsoft Excel 소프트웨어를 이용하여 분석하였다. 통계적 차이점을 검사하기 위하여 만-휘트니(MannWhitney) U 검증을 사용하였으며, 모든 비교는 양면적으로 수행하였다. 결과는 평균값과 표준 편차로 표현하였으며, P < 0.05인 경우 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

[0050] **2.4 해삼 추출물의 전립선 비대 억제 및 조직학적 평가**

[0051] 시료 준비 및 해삼 추출물과 분획물 제조단계에서 제조된 해삼 추출물의 전립선 비대증 억제 효과를 확인하기 위하여, 테스토스테론 유발 전립선비대증 실험 동물 모델을 이용하였다. 실험동물로는 체중 300-350g, 12주령, 수컷 SD 흰쥐를 구입하였다. 1주일간 적응기를 거쳐서 먹이와 물을 자유롭게 급이하였다.

[0052] 적응기 후 졸레틸과 림폰으로 복강 주사하여 마취 하였다. 흰쥐의 음낭피부를 절개 후 고환상위부위의 정관, 혈관 및 신경조직을 봉합사로 묶은 후 1일간의 회복기를 거친다. 고환절제술 후 2일째부터 테스토스테론을 옥수수 기름과 에탄올을 각각 9:1로 혼합한 액에 희석해 30일 동안 20mg/kg의 용량으로 실험동물의 피하에 주사하여 전립선 비대증을 유발하였다.

[0053] 그룹 당 10마리씩 정상군, 대조군(전립선 비대증 유발), 실험군 생해삼 열수추출물(200mg/kg) 투여군과 해삼 내장 추출물(200mg/kg), 양성대조군 (Finasteride), 음성대조군 (saline) 5군으로 나누어 실험하였다. 고환절제술 다음날부터 테스토스테론을 30일간 피하주사로 주사하면서 생리식염수를 경구투여한다.

[0054] 해삼투여군은 고환절제술 다음날부터 테스토스테론을 30일간 피하주사로 주사하면서 생해삼열수추출물과 내장추출물을 각각 200mg/kg의 용량으로 30일간 경구투여 한다.

[0055] 대조군인 Finasteride 투여군은 Finasteride을 생리식염수에 현탁해 1mg/kg의 용량으로 30일간 경구투여 한다.

[0056] 마지막 투약 후 다음날 흰쥐를 마취시킨 후, 하복부 절개를 통해 전립선 상하좌우의 최장길이와 최단길이를 측정하고 전립선의 무게를 측정한다. 전립선 조직은 10% 중성 포르말린에서 고정된 후 파라핀 포매하여 절편을 얻었다. Hematoxylin-Eosin 염색을 시행하여 광학 현미경으로 전립선의 상피세포와 기질의 조직학적 변화를 관찰하였다.

[0057] **3 실험결과**

[0058] **3.1 전립선 비대 억제의 조직학적 효과 평가**

[0059] 흰쥐에 테스토스테론을 피하 주사하여 전립선 비대증 동물모델을 만들고 해삼과 해삼 내장 추출물의 투여가 전립선의 조직학적 변화에 미치는 영향을 통하여 전립선의 항비대 효과가 있는지 조사하였다. 도 3는 해삼 추출물에 대한 전립선 비대증 억제 효과를 나타낸 전립선 조직 단면 염색 사진을 나타낸다.

[0060] 대조군, 전립선 비대증 유발군, 전립선 비대증 Rat에 해삼 및 해삼 내장 추출물 투여군, 양성대조군으로 Finasteride 투여한 5개 군으로 나누어 실험한 후 H&E 염색을 수행하여 광학 현미경상 관찰에서, 정상군은 acinar grand가 둥근 형태로 위축없이 잘 유지되고 있었고, 결합 조직의 증식이나 섬유화 및 임파구와 단핵구의 침윤은 관찰되지 않았다.

[0061] 고환 절제술 후 테스토스테론을 투여한 대조군에서는 정상군에 비해 광범위한 선조직의 증식이 관찰되었고, 결합조직은 심한 세포증식과 함께 여러 부위에서 섬유성 변성이 관찰되었다.

[0062] 해삼 추출물 200mg/kg 투여군에서 포상선이 대조군보다 더 둥근 형태로 약간의 위축이 관찰되었고 결합조직은 경도의 증식과 함께 섬유화 역시 대조군에 비해 현저하게 감소된 양상을 보였다.

[0063] Finasteride 투여군에서는 포상선이 대조군에 비해 비교적 둥근 형태로 정상군에 가까운 형태를 보였고 결합조직은 경도의 증식과 섬유화가 관찰되었는데 해삼 추출물 200mg/kg 투여군과 유사한 양상이었다. 반면 해삼내장



추출물 200mg/kg 투여군에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다.

[0064] **3.2 전립선 비대 억제 효과**

[0065] 도 4은 해삼 추출물에 대한 전립선 비대증 억제 효과를 나타낸 전립선 조직 무게 표를 나타낸다.

[0066] 흰쥐에 테스토스테론을 주사하여 전립선 비대증 동물모델을 만들고 해삼과 해삼 내장 추출물을 경구 투여하여 전립선의 항비대 효과가 있는지 조사하였다. 전립선의 크기는 대조군에서  $1.35 \pm 0.03$  g로 정상군의  $0.68 \pm 0.04$  g에 비해 98.52%가 증가하였다.

[0067] 해삼 추출물 200mg/kg 투여군은  $0.98 \pm 0.13$  g으로 대조군에 비해 55.22% 유의하게 감소하였으며, 반면 해삼내장 추출물 200mg/kg 투여군은  $1.26 \pm 0.25$  g으로 13.43% 감소하는 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. 양성대조군인 Finasteride 투여군 역시  $0.95 \pm 0.06$  g로 59.70% 유의하게 감소하였다.

[0068] 체중당 전립선은 비율은 대조군에서  $3.17 \pm 0.10$ 로 정상군  $1.44 \pm 0.04$ 에 비해 유의하게 증가하였으며 해삼 추출물 200mg/kg 투여군은  $2.27 \pm 0.06$ 로 항비대 효과가 확인되었으나, 해삼내장 추출물 200mg/kg 투여군은  $3.15 \pm 0.12$ 로 뚜렷한 차이가 없었다. 양성대조군인 Finasteride 투여군은  $2.22 \pm 0.04$ 로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다.

[0069] **4. 해삼추출물 기능성 건강식품의 제조**

[0070] 본 발명에서는 해삼 추출물 10g에 정제수 100ml과 감미료를 혼합하여 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라 해삼 추출물이 함유된 기능성 음료를 제조하였으나, 해삼추출물을 이용한 기능성 건강식품으로는 정제, 분말제, 씹을 수 있는 정제, 파립제, 츄잉제, 캡슐제, 연질캡슐제, 환제, 설하정 또는 시럽형태의 경우, 치료학적 활성 약물 성분은 락토오스 또는 전분과 같은 임의의 경구 비독성의 식품학적으로 허용되는 비활성 부형제와 배합될 수 있다.

[0071] 임의로, 본 발명의 약제학적 정제는 비정질 셀룰로오즈, 검 트라가칸트 또는 젤라틴과 같은 결합제, 알긴산과 같은 붕해제, 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제, 콜로이드성 실리콘 디옥사이드와 같은 글라이던트 (glidant), 수크로오즈 또는 사카린과 같은 감미제, 페퍼민트 또는 메틸 살리실레이트와 같은 착색제 또는 착향제를 또한 함유할 수 있다.

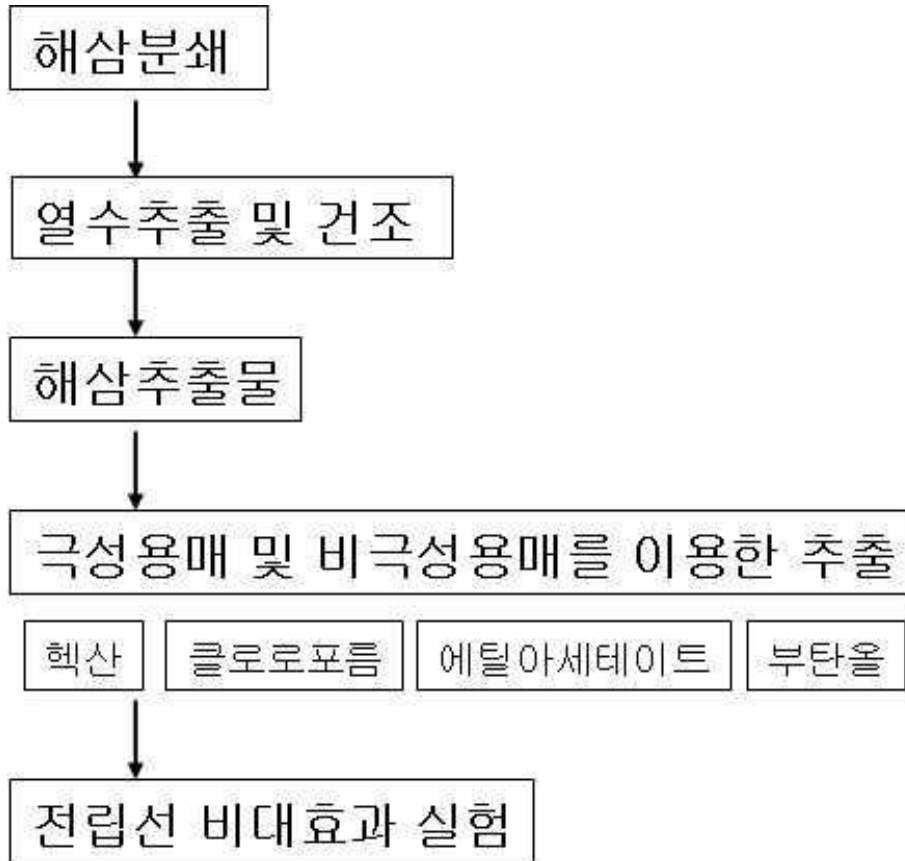
[0072] 그러나 상기 제조예는 본 발명을 보다 명확하기 이해시키기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 상기 제조예에 한정되는 것은 아니다.

**산업상 이용가능성**

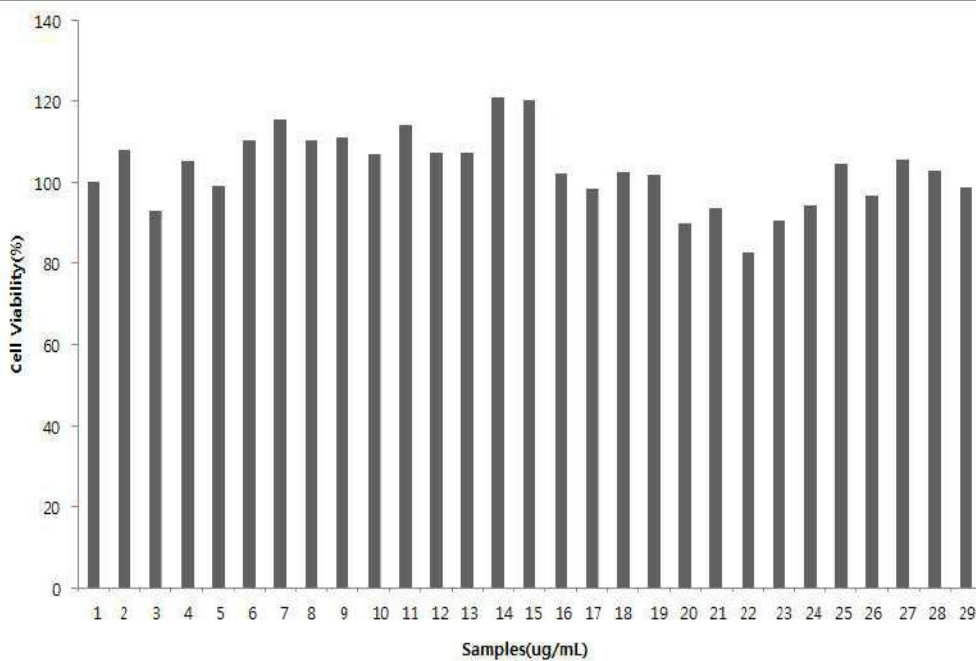
[0073] 해삼 추출물을 포함하는 기능성 식이조성물은 독성 및 부작용 없이 안전하게 전립선 비대증의 예방에 사용 가능하며, 전립선 비대를 유의적으로 억제시켜, 양성 전립선 조직의 성장을 현저하게 억제함으로써 이를 유효성분으로 함유하는 건강보조식품으로 유용하게 사용될 수 있어, 전립선 비대증의 예방을 위한 기존의 조성물을 해양 생물인 해삼 추출물로 대체함으로 제조생산단가 절감과 산업화를 통한 수입대체 및 수출효과를 기대할 수 있을 것이다.

도면

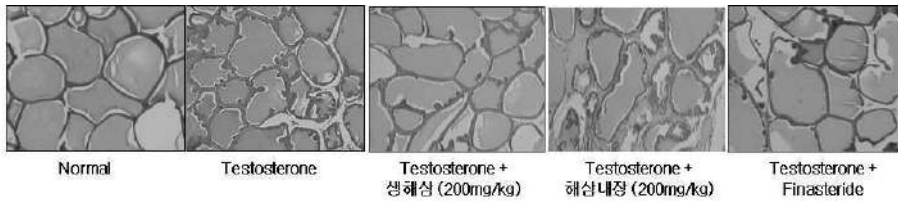
도면1



도면2



도면3



도면4

Groups	Total body wt (g)	Prostate wt (g)	Prostate wt ratio (Prostate wt/Body wt*1000)
Normal	476.10±19.15	0.68±0.04	1.44±0.04
BPH	425.89±28.61	1.35±0.03	3.17±0.10
BPH+생해삼ext200	423.51±18.49	0.98±0.13	2.27±0.06
BPH+해삼내장ext200	433.51±20.28	1.26±0.25	3.15±0.12
Finasteride	428.86±22.71	0.95±0.06	2.22±0.04
Negative Control	431.27±11.21	1.30±0.11	3.02±0.02