



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년04월13일  
(11) 등록번호 10-1726410  
(24) 등록일자 2017년04월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 36/25 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)  
A61K 35/747 (2014.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 36/25 (2013.01)  
A23L 33/105 (2016.08)  
(21) 출원번호 10-2015-0097987  
(22) 출원일자 2015년07월09일  
심사청구일자 2015년07월09일  
(65) 공개번호 10-2017-0006797  
(43) 공개일자 2017년01월18일  
(56) 선행기술조사문헌  
KR1020140011239 A  
인터넷 뉴스 (2012.07.22.)  
[http://readersnews.com/news/articleView.html?idxno=35585\\*](http://readersnews.com/news/articleView.html?idxno=35585*)  
KR101482873 B1\*  
김선오. 한방 자생 식물 이용 기능성 식품 소재 개발. 식품산업과 영양, 2013년, 제18권, 제2호, pp.12-16  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
재단법인 전남생물산업진흥원  
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)  
주식회사 새롬  
전라남도 장흥군 장동면 북교반산로 137  
(72) 발명자  
김선오  
광주광역시 북구 양일로 52-1, 201동 1003호(연제동, 연제2차 대주피오레)  
정명아  
광주광역시 서구 화운로83번길 28-7  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인유아이피

전체 청구항 수 : 총 7 항

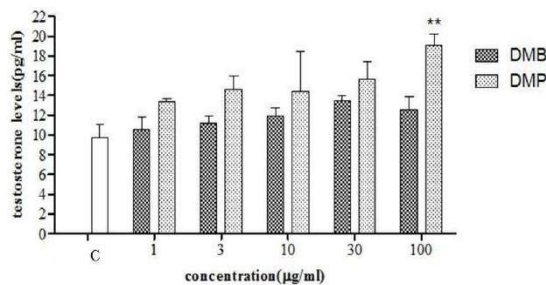
심사관 : 강승진

(54) 발명의 명칭 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.)를 건조하는 단계; 상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 황칠나무 발효 추출물을 포함함으로써 체내 테스토스테론 분비를 증가시킬 수 있는 남성 갱년기 증후군의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

**A61K 35/747** (2013.01)

**A23V 2200/30** (2013.01)

**A23V 2200/302** (2013.01)

**A61K 2236/19** (2013.01)

(72) 발명자

**이소연**

충청남도 공주시 일락산1길 18-1(봉황동)

**이동욱**

전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호(수창아  
트빌아파트)

**김기만**

광주광역시 남구 제중로 11, 103동 406호(양림  
동, 휴먼시아1차아파트)

**박종국**

전라남도 장흥군 장동면 북교반산로 137

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.) 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물에 있어서,

상기 황칠나무 발효 추출물은

황칠나무를 건조하는 단계;

상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및

상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이고,

상기 젖산균은 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*)인 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 황칠나무는 황칠나무의 잎 및 가지로 이루어진 균에서 선택되는 적어도 하나인 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 3

삭제

#### 청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 젖산 발효시키는 황칠나무 추출물의 당 농도는 1 내지 10 브릭스(Brix°)인 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 젖산 발효는 30 내지 40℃에서 24 내지 48시간 수행되는 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 황칠나무 발효 추출물은 체내 테스토스테론 분비를 증가시키는 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물.

#### 청구항 7

황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.) 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 약제학적 제제에 있어서,

상기 황칠나무 발효 추출물은

황칠나무를 건조하는 단계;

상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및

상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이고,

상기 젖산균은 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*)인 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 약제학적 제제.

### 청구항 8

황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.) 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 개선용 기능성 식품에 있어서,

상기 황칠나무 발효 추출물은

황칠나무를 건조하는 단계;

상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및

상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이고,

상기 젖산균은 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*)인 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 개선용 기능성 식품.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 체내 테스토스테론 분비를 증가시키는 황칠나무 발효 추출물의 남성 갱년기 장애 개선, 남성 갱년기 질환에 대한 예방 및 치료용 의약품 및 건강 보조 식품의 천연소재로서의 신규 용도에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0003] 여성은 폐경기가 오며 여성 호르몬이 급격히 감소하여 여러 가지적인 변화가 일어나게 되는데, 이를 갱년기라 한다. 통상 갱년기란 용어는 여성에 한정되어 사용되었으나, 근래에는 남성에서도 노화에 따른 체내 남성 호르몬의 점진적 감소로 인한 내분비 변화로 남성 갱년기 증후군의 개념이 대두되고 있다. 실제 남성 갱년기의 증상은 전립선 선암종 치료를 위한 화학적 또는 외과적 거세로부터 발생하는 증상과 유사하다. 정식 용어로는 2004년 국제남성노화학회(International Society for the Study of the Aging Male)에서 결정된 용어인 '후기발현 남성 성선기능저하증(late-onset hypogonadism, LOH)', '가령성 테스토스테론결핍증후군(ageassociated testosterone deficiency syndrome, TDS)'이 있다. 남성갱년기 장애(Andropause)는 연령의 증가와 관련된 임상적 및 생화학적 증후군으로 전형적인 증상 및 혈청 테스토스테론 수준의 결핍으로 정의되고 있으며, 여러 신체기관의 기능에 부정적인 영향을 초래할 수 있다. 동반되는 증상으로는 성욕 및 발기 기능의 저하, 밤 시간 동안의 우울, 인지 능력의 감소, 피로, 체중 및 근육량의 감소, 피부위축 등의 예를 들 수 있다.

[0004] 치료를 위해서는 폐경기 여성에 에스트로겐 대체 요법을 사용하는 것과 유사한 방식으로 남성 호르몬 대체 요법의 사용 가능성이 주장되고 있다. 한 연구에 따르면, 남성 갱년기 환자들을 테스토스테론 운데카노에이트 40 X 2mg/일로 치료하는 경우 상당한 개선 효과가 얻어지는 것으로 보고된 바 있다. 그러나, 남성 호르몬의 투여는 간, 지질 상태, 심혈관 및 전립선 질환 등에 역효과를 미칠 수 있다는 위험성 또한 보고되어 있다. 또한, 선종 및 선암종에 비추어, 남성 갱년기에 기인하는 증상들을 갖는 환자의 약 30%는 남성 호르몬 대체 요법을 받을 수 없는 것으로 알려져 있다. 따라서, 호르몬 대체 요법의 단점을 제공하지 않는, 노화에 의한, 또는 화학적이나 외과적인 거세에 의해 유발된 남성 갱년기 증후군의 예방 및 치료에 유용한 신규 치료제의 개발이 필요하다.

[0005] 의약품 개발 분야에서 천연물 유래 약학적 조성물의 이용이 전 세계적으로 증가하는 추세이다. 황칠나무 (*Dendropanax morbifera* Lev.)는 우리나라의 남부 해안 지역과 제주도에서 자생하는 상록활엽교목으로 겨울에도 낙엽이 지지 않는 수종으로 수피에 상처를 주면 황색의 수지액이 나오는데 이것을 황칠(黃漆)이라고 한다. 황칠은 삼국시대부터 황제의 갑옷, 투구, 기타 금속 장신구의 황금색을 발하는 진귀한 도료로 이용되어 왔으며 고려 시대에 쓰여진 고려사절요, 중국의 계림유사, 계림지, 해동역사에 황칠의 채취시기, 사용용도 등이 기록되어 있으며 그 이전인 백제의 특산품이었다는 것이 당나라 역사서인 책부원구, 통전에 남아있다. 이시진의 본초강목에는 황칠나무가 번열 제거, 안질 및 화상치료, 나병에 효과가 있으며 무해하다고 기록되어 있다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

[0007] (특허문헌 0001) KR 1014432300000 B1

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0008] 본 발명은 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 본 발명은 황칠나무 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방, 개선 또는 치료용 약제학적 제제 및 기능성 식품을 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.

**과제의 해결 수단**

[0011] 본 발명의 일 측면에 따르면, 황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.) 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물에 있어서, 상기 황칠나무 발효 추출물은 황칠나무를 건조하는 단계; 상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 조성물이 제공된다.

[0012] 또한, 상기 황칠나무는 황칠나무의 잎 및 가지로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0013] 또한, 상기 젖산균은 락토바실러스속(*Lactobacillus*)에 속하는 젖산균일 수 있다.

[0014] 또한, 상기 젖산 발효시키는 황칠나무 추출물의 당 농도는 1 내지 10 브릭스(Brix°)일 수 있다.

[0015] 또한, 상기 젖산 발효는 30 내지 40℃에서 24 내지 48시간 수행될 수 있다.

[0016] 또한, 상기 황칠나무 발효 추출물은 체내 테스토스테론 분비를 증가시킬 수 있다.

[0017] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.) 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 약제학적 제제에 있어서, 상기 황칠나무 발효 추출물은 황칠나무를 건조하는 단계; 상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 치료용 약제학적 제제가 제공된다.

[0018] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.) 발효 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 개선용 기능성 식품에 있어서, 상기 황칠나무 발효 추출물은 황칠나무를 건조하는 단계; 상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방 또는 개선용 기능성 식품이 제공된다.

**발명의 효과**

[0020] 본 발명의 일 측면에 따르면 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 조성물은 체내 테스토스테론 레벨을 상승시킬 수

있다. 이를 통하여, 근력 감소 및 피로 등을 포함하는, 남성 갱년기로 인해 유발되는 증상을 완화시킬 수 있으므로, 남성 갱년기 장애, 남성 질환의 예방, 개선 및 치료를 목적으로 의료산업 및 식품산업 분야에서 이용될 수 있다.

[0021] 또한, 본 발명의 일 측면에 따른 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 조성물은 정상세포의 세포사멸(apoptosis)을 유도하지 않아 인체에 대한 안전성이 우수하므로, 안전한 의약 또는 식품 첨가물로 사용될 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명의 일 측면에 따른 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 조성물은 천연 식물 유래 추출물을 포함함으로써, 기존 화학물질을 포함하는 조성물에 비해 독성 및 부작용으로 인한 문제를 저감시킬 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0024] 도 1은 본 발명의 황칠나무 발효 추출물이 TM3 세포에서 세포 독성을 나타내지 않는 것을 보여주는 도면이고, 도 2는 본 발명의 황칠나무 추출물이 TM3 세포에서 테스토스테론 분비를 증가시키는 효과를 나타내는 것을 보여주는 도면이고,

도 3은 본 발명의 황칠나무 추출물이 TM3 세포에서 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스 환경에서도 테스토스테론 분비를 증가시키는 효과를 나타내는 것을 보여주는 도면이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0025] 본 발명은 황칠나무(*Dendropanax morbifera* LEV.)를 건조하는 단계; 상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는 남성 갱년기 증후군의 예방, 개선 또는 치료용 조성물, 약제학적 제제 및 기능성 식품에 관한 것이다.

[0026] 이하, 본 발명에 대해 보다 상세히 설명한다.

[0028] 본 발명의 조성물은 황칠나무의 발효 추출물을 유효성분으로 포함한다. 상기 황칠나무의 발효 추출물은 젖산 발효를 통해 황칠나무 추출물 내의 플라보노이드 함량 및 성분의 변화가 발생하여 기능성이 향상될 수 있다.

[0029] 상기 황칠나무의 발효 추출물을 제조하기 위하여, 먼저 황칠나무를 건조한다. 상기 건조 방법은 특별히 한정되지 않으며, 통상의 방법을 이용할 수 있다. 황칠나무를 건조함으로써 황칠나무의 약성을 향상시킬 수 있다. 필요에 따라, 상기 황칠나무는 건조 전 또는 건조 후 절단 및 분쇄될 수 있다. 상기 황칠나무는 황칠나무의 잎 및 가지로 이루어진 균에서 선택되는 적어도 하나가 선택되는 것이 바람직하다.

[0030] 다음으로, 상기 건조된 황칠나무에 극성 용매를 가하여 황칠나무 추출물을 수득한다. 상기 황칠나무 추출물의 분리방법은 특별히 한정되지 않으며, 추출물을 제조하기 위해 당업계에서 통상적으로 이용하는 방법을 이용할 수 있다. 예를 들면, 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출, 초임계추출, 아임계추출, 고온추출, 고압추출, 초음파추출 등의 추출장치를 이용하는 방법 또는 XAD 및 HP-20을 포함하는 흡착 수지를 이용하는 방법 등을 사용할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 추출용매를 처리하여 열수 추출할 수 있다.

[0031] 본 발명에 있어서, 추출용매로는 극성 용매가 이용된다. 상기 극성 용매로는 물이 선택되는 것이 바람직하다. 추출용매를 처리하여 추출물을 분리할 시 추출용매는 황칠나무 전체 건조 중량의 1 내지 100배로 첨가될 수 있다. 바람직하게는, 황칠나무 전체 건조 중량의 5 내지 20배로 첨가되는 것이 좋다.

[0032] 추출용매를 처리하여 추출물을 분리할 시의 온도는 추출방법에 따라 조절될 수 있다. 예를 들면, 40 내지 120℃ 일 수 있다. 상기 온도에서 1 내지 72시간 동안 추출하여 황칠나무 추출물을 분리할 수 있다. 바람직하게는, 100℃에서 2 내지 12시간동안 추출하여 황칠나무 추출물을 분리할 수 있다. 보다 바람직하게는, 100℃에서 3 내지 7시간 동안 추출하여 황칠나무 추출물을 분리할 수 있다. 상기 분리된 추출물은 이후 여과, 농축 또는 건조 과정을 통해 용매를 제거함으로써 농도가 조절될 수 있다. 상기 여과, 농축 또는 건조시키는 방법은 특별히 한정되지 않으며, 통상의 방법으로 수행될 수 있다.

[0033] 다음으로, 황칠나무 추출물에 젖산균을 접종하여 젖산 발효시킨다. 상기 젖산균은 락토바실러스속(*Lactobacillus*)에 속하는 식용 가능한 젖산균이 선택되는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는, 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) 또는 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)인 것이 좋다. 상기 접종은 젖산균을 고체배지에서 배양하여 형성된 콜로니를 액체배지에서 37℃ 온도하에 24시간 배양하여 배양액을



은 후, 배양액을 상기 황칠나무 추출물에 3 내지 8%농도(v/v)가 되도록 첨가하여 수행될 수 있다.

- [0034] 젖산 발효시킬 황칠나무 추출물의 당 농도는 1 내지 10 브릭스(Brix°)일 수 있다. 상기 황칠나무 추출물의 당 농도가 1 브릭스 미만이면 당원의 부족으로 발효 효율이 좋지 않아 수득되는 황칠나무 발효 추출물의 수율이 저감되는 문제가 있고, 10 브릭스 초과이면 젖산균의 활성이 저하되어 발효 효율이 저감됨으로써 황칠나무 발효 추출물의 수율이 저감되는 문제가 발생할 수 있다. 상기 황칠나무 추출물의 당 농도는 황칠나무 추출물을 농축 또는 희석하여 조절될 수 있다.
- [0035] 상기 젖산 발효는 선택된 젖산균의 생육 온도인 30 내지 40℃에서 24 내지 48시간 수행될 수 있다. 바람직하게는, 젖산균으로 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) 또는 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)이 사용되는 경우에는 37℃에서 24 내지 48시간동안 수행될 수 있다. 젖산 발효시키는 시간이 24시간 미만이면 황칠나무 발효 추출물의 수율이 저감되어 그를 포함하는 본원 발명의 조성물의 효과가 저감되는 문제가 발생할 수 있고, 48시간 초과이면 과발효가 일어나는 문제가 발생할 수 있다.
- [0036] 필요에 따라, 젖산 발효된 황칠나무 발효 추출물은 후가공 처리될 수 있다. 상기 후가공으로는 농축, 건조 등이 있으며, 상기 후가공에 따라 황칠나무 발효 추출물은 액체 또는 고체 분말의 형태로 제공될 수 있다. 바람직하게는, 유용 성분의 농도를 높이고 저장성을 향상시키기 위하여, 농축시킨 후 동결건조하여 분말의 형태로 제공되는 것이 좋다.
- [0037] 상기와 같은 제조방법에 따라 제조된 황칠나무 발효 추출물은 체내 테스토스테론 분비를 증가시킬 수 있다. 본 발명의 조성물은 상기와 같은 제조방법에 따라 제조된 황칠나무 발효 추출물을 포함함으로써, 테스토스테론의 분비 감소로 인해 유발되는 남성 갱년기 증후군의 예방, 개선 또는 치료에 이용될 수 있다. 본 발명에서 남성 갱년기 증후군은 남성 갱년기로 인해 유발되는 증후군, 남성 갱년기 장애 및 남성 갱년기로 인한 질환을 포함한다. 예를 들면, 호르몬 변화로 인한 기분변화, 수면장애, 체중 및 근육량의 감소, 근력 저하, 내장지방 증가, 성기능 장애, 인지능력 저하, 피로 및 우울증 등이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 남성 갱년기 증후군은 노화에 의해 유도되거나, 화학적 또는 외과적 거세에 의해 유도된 것일 수 있다.
- [0039] 본 발명의 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 조성물은 약제학적 제제로 제조될 수 있다. 본 발명의 약제학적 제제는 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제 및 부형제로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수 있다. 상기 제제는 분산제 또는 안정화제를 더 포함할 수 있다.
- [0040] 필요에 따라, 상기 약제학적 제제는 약제학적으로 허용되는 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 예를 들면, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0041] 필요에 따라, 본 발명의 약제학적 제제는 상기 성분들 이외에 당업계에 공지된 첨가물을 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 및 보존제로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나를 더 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 약제학적 제제는 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 피부 도포, 직장 주입, 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 조절될 수 있으며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.
- [0044] 본 발명의 황칠나무 발효 추출물을 포함하는 조성물은 기능성 식품으로 제조될 수 있다. 상기 기능성 식품이란 황칠나무 발효 추출물을 식품소재에 첨가하여 제조된 식품이거나, 황칠나무 발효 추출물을 캡슐, 분말, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 통상적인 의미의 건강 식품을 포함한다. 상기 식품의 종류로는, 예를 들면, 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 비스킷, 떡, 쇼코렛, 캔디, 스낵, 과자, 피자, 면류, 껌, 아이스크림, 스프, 음료, 차, 비타민 복합제 등이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 필요에 따라, 본 발명의 기능성 식품은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 더 포함할 수 있다. 예를

들면, 영양제, 비타민, 광물(전해질), 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산, 펙트산염, 알긴산, 알긴산염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산화제, 과육 등을 더 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0047] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 본 발명을 하기 실시예에 의거하여 좀 더 상세하게 설명한다. 단, 이들 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 첨부된 특허청구범위를 제한하는 것이 아니며, 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 실시예에 대한 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

[0049] **실시예**

[0050] <황칠나무 발효 추출물의 제조>

[0051] 황칠나무의 잎 및 가지를 분리한 후 자연건조하여 수분을 제거하였다. 건조된 황칠나무 잎 및 가지에 20배 부피의 물을 첨가하고 4시간 동안 100℃에서 열수 추출하였다. 황칠나무 추출액을 여과지로 여과한 후 30브릭스 당 농도가 되도록 농축하였다. 이후 젖산 발효에 사용하기 위하여 3 내지 6 브릭스 당농도가 되도록 증류수로 희석하였다. 동량의 황칠나무 추출액 샘플을 둘 준비하여, 젖산균으로 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) 및 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)을 이용하여 각각 발효시켰다. 상기 젖산균을 MRS 고체배지에서 37℃온도하에 24시간 배양하여 콜로니를 형성하고, 단일 콜로니를 MRS 액체배지에서 37℃ 온도하에 24시간 배양하여 얻은 배양액을 황칠나무 추출물에 각 5%농도(v/v)가 되도록 접종하였다. 37℃ 온도하에서 40시간 젖산 발효한 후 대형회전농축기로 감압농축하고 동결건조하여 황칠나무 발효 추출물을 얻었다. 이하 실시예에서, 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*)를 이용하여 발효시킨 황칠나무 발효 추출물을 DMB, 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)을 이용하여 발효시킨 황칠나무 발효 추출물을 DMP로 명명하여 설명한다.

[0053] <황칠나무 발효 추출물의 세포독성 확인>

[0054] 본 발명의 황칠나무 발효 추출물을 효과를 확인하기에 앞서, 세포에 독성을 나타내지 않으며, 세포 사멸을 유도하지 않으면서 효과를 낼 수 있는 적합한 농도를 결정하기 위해 세포 독성 검사를 수행하였다. 황칠나무 발효 추출물의 세포 독성은 쥐의 고환에서 유래하며 남성 호르몬인 테스토스테론을 분비하는 레이디그 세포인 TM3 세포주를 대상으로 측정하였다. TM3 세포는 DMEM에 10% FBS 및 1% penicillin/streptomycin을 첨가한 배지에서 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양한 것을 사용하였다.

[0055] TM3 세포를 96-well plate에 1×10<sup>5</sup> cells/ml 농도로 넣고 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 황칠나무 발효 추출물을 1, 3, 10, 30 및 100μg/ml 농도로 각 well에 처리하고 24시간동안 배양하였다. MTT 용액을 첨가하고 3시간이 지난 후 상층액을 제거하고 DMSO를 well당 100μl씩 첨가한 후 ELISA reader를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하고 그 결과를 도 1에 도시하였다. 참고로, 도 1 내지 도 3에 도시한 모든 측정된 결과는 평균과 표준편차로 표기하고, 통계적 유의성 검증은 Student's t-test 분석법을 이용하여 p값이 0.05 미만(p<0.05)인 경우를 통계학적으로 유의하다고 보았다.

[0056] 도 1을 참고하면, 황칠나무 발효 추출물은 처리한 모든 농도에서 TM3 세포에 대해 세포독성을 나타내지 않는 것을 확인할 수 있다.

[0058] <황칠나무 발효 추출물의 테스토스테론 증가 효과 측정>

[0059] TM3 세포를 24-well plate에 1×10<sup>5</sup> cells/ml 농도로 넣고 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양하였다. 황칠나무 발효 추출물을 1, 3, 10, 30 및 100μg/ml 농도로 각 well에 처리하고 24시간동안 배양하였다. 상층액을 취한 후 Testosterone ELISA kit(ADI-900-065, ENZO Life Sciences, U.S.A)를 이용하여 테스토스테론 함량을 측정하고 그 결과를 도 2에 도시하였다. 대조군으로는 아무것도 첨가하지 않고 같은 조건하에 배양한 TM3 세포를 사용하였다.

[0060] 도 2를 참고하면, 황칠나무 발효 추출물을 처리한 경우 테스토스테론 레벨이 농도 의존적으로 유의성있게 증가한 것을 확인할 수 있다. 특히, 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)을 이용하여 발효시킨 DMP를 100μg/ml 농도로 처리한 경우 테스토스테론 레벨이 유의성 있게 증가하였다(p<0.01). 이를 통하여, 황칠나무 발효 추출물이 TM3 세포의 테스토스테론 분비를 증가시킨 것을 확인할 수 있다. 본 발명의 황칠나무 발효 추출물은 TM3 세포의 테스토스테론 분비를 증가시켜 체내 테스토스테론 수치를 높임으로써 남성 갱년기 증후군의 완화



및 치료 효과를 나타낼 수 있다.

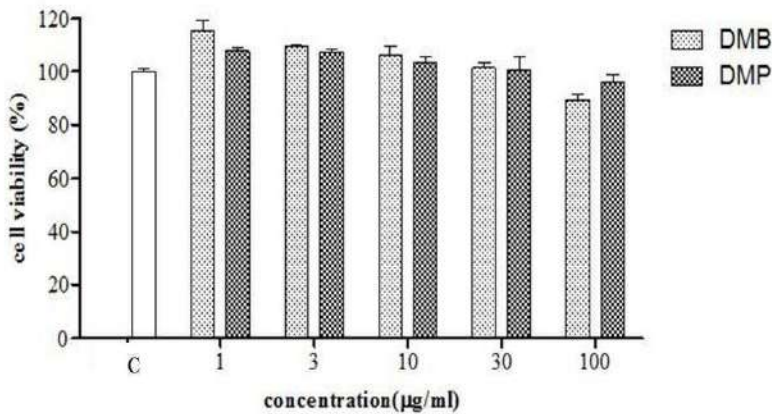
[0062] <과산화수소 유도 조건에서 황칠나무 발효 추출물의 테스토스테론 증가 효과 측정>

[0063] TM3 세포를 24-well plate에  $1 \times 10^5$  cells/ml 농도로 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 배양하였다. 황칠나무 발효 추출물을 1, 3, 10, 30 및 100 µg/ml 농도로 각 well에 처리하고, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 200 µM 농도로 각 well에 처리하여 24시간동안 배양하였다. 상층액을 취한 후 Testosterone ELISA kit(ADI-900-065, ENZO Life Sciences, U.S.A)를 이용하여 테스토스테론 함량을 측정하고 그 결과를 도 3에 도시하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 200 µM 농도로 처리하여 배양한 TM3 세포를 대조군으로 사용하고, 아무것도 첨가 및 처리하지 않고 같은 조건하에 배양한 TM3 세포를 비교예로 사용하였다. 도 3에서 상기 비교예는 N으로 표기하였다.

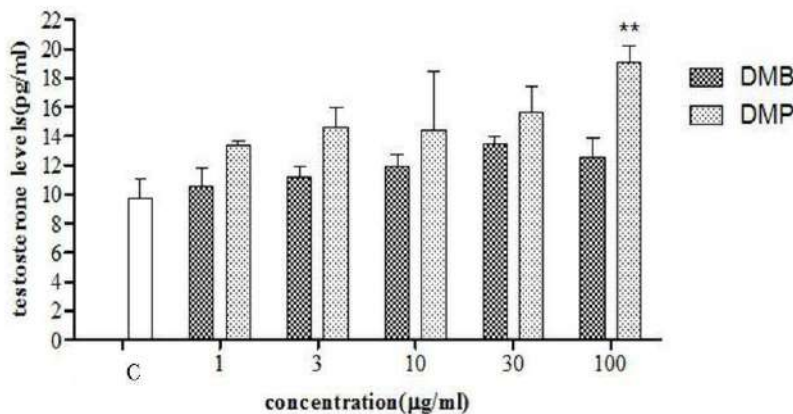
[0064] 도 3을 참고하면, 황칠나무 발효 추출물을 처리한 경우 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스 환경에서도 테스토스테론 레벨이 농도 의존적으로 유의성있게 증가한 것을 확인할 수 있다. 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*)를 이용하여 발효시킨 DMB를 처리한 경우(p<0.05) 및 락토바실러스 플란타룸 (*Lactobacillus plantarum*)을 이용하여 발효시킨 DMP를 처리한 경우(p<0.01)에서 모두 양성 대조군에 비하여 테스토스테론 레벨이 농도 의존적으로 유의성있게 증가하였다. 특히, DMP를 100 µg/ml 농도로 처리한 경우에는 비교예보다 테스토스테론 레벨이 증가하였다. 본 발명의 황칠나무 발효 추출물은 산화적 스트레스가 유발되는 환경에서도 TM3 세포의 테스토스테론 분비를 증가시켜 체내 테스토스테론 수치를 높임으로써 남성 갱년기 증후군의 완화 및 치료 효과를 나타낼 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

