



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년04월05일

(11) 등록번호 10-2236997

(24) 등록일자 2021년03월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 33/105 (2016.01) A23L 19/00 (2016.01)

A23L 5/20 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A23L 19/00 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0117022

(22) 출원일자 2020년09월11일

심사청구일자 2020년09월11일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020190086317 A*

KR102095916 B1*

유아를 외 5인. 생약 추출물의 RAW 264.7 세포를 이용한 면역증강 효과. 한국식품영양과학회지.

Vol. 41, No. 11, pp. 1521-1527, (2012) 1부.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

김우기

경기도 성남시 분당구 중앙공원로 20, 402동 103호 (서현동, 시범단지현대아파트)

김현성

경기도 수원시 영통구 덕영대로1673번길 8-4, B03호 (영통동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인(유한)아이시스

전체 청구항 수 : 총 6 항

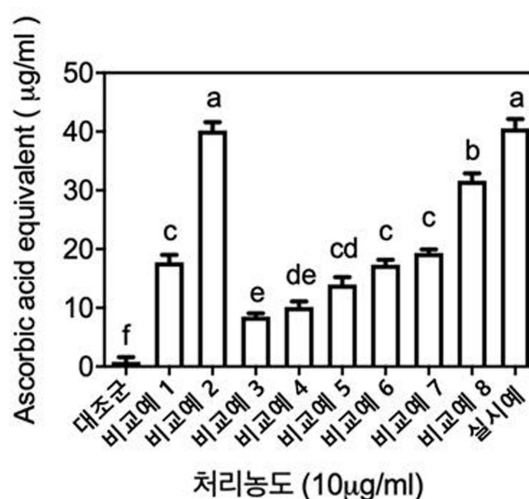
심사관 : 김현주

(54) 발명의 명칭 팽화강황을 포함하는 항산화 또는 면역증진용 조성물

(57) 요약

본 발명은 항산화 또는 면역증진용 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 함유하는 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는, 항산화 또는 면역 증진용 조성물에 관한 것이다. 본 발명자들은 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는 조성물이 강황 추출물 단독처리 또는 팽화강황 추출물 단독처리와 비교한 결과 항산화능이 유사하고, 더 우수한 면역활성을 나타내는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명에 따른 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는 조성물은 팽화강황의 효율을 유지하면서 기호도를 개선하여 기능성 식품소재에 널리 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23L 5/23 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/302 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)
A23V 2300/14 (2013.01)

백무열

경기도 성남시 분당구 중앙공원로 17, 312동 401호
 (서현동, 시범단지한양아파트)

(72) 발명자

이형재

서울특별시 강북구 덕릉로52길 6 (변동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395063115
과제번호	PJ01314401
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	차세대바이오그린21(R&D)
연구과제명	강황 가공 단계별 표준화 소재 및 제품의 염증 및 피부미백 조절 평가 및 메커니즘
구명	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2018.01.01 ~ 2020.12.31
공지예외적용	: 있음

명세서

청구범위

청구항 1

구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 한약재 추출물을 2.5 내지 3.5의 중량비로 포함하고, 팽화강황을 7.5 내지 6.5의 중량비로 포함하는, 항산화 또는 면역 증진용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 팽화강황은 팽화강황 추출물인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출된 것임을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 한약재 추출물은 포함되는 한약재의 중량비를 동일하게 혼합하는 것을 특징으로 하는, 조성물

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 조성물에서 한약재 추출물 및 팽화강황은 3 : 7의 중량비인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는, 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항산화 또는 면역증진용 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 함유하는 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는, 항산화 또는 면역 증진용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 산화적 스트레스(oxidative stress)란 외부적인 요인으로 체내에 자극을 주어 활성산소종(reactive oxidative species, ROS)을 생성하는 것을 이야기 한다. 이러한 활성산소종에는 슈퍼옥사이드(superoxide), 히드록실 라디칼(hydroxyl radical) 및 퍼록실 라디칼(peroxyl radical) 등이 있으며, 체내에서 세포간의 신호 전달이나 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있어 적절한 수준으로의 활성산소종을 제어하는 것이 중요하다.

사람의 체내에서는 이러한 활성산소종을 적정 수준으로 제어하기 위해 다양한 방어 시스템을 사용하고 있는데, 그 중 대표적인 것이 바로 항산화 효소(SOD(super oxide dismutase), GPX(glutathione peroxidase) 및 카탈라아제(catalase) 등)이다. 하지만, 이런 방어 시스템에 문제가 생겨 활성산소종을 적정 수준으로 제어하지 못할 경우, 체내의 지질(lipid), DNA, 단백질(protein) 및 세포막 등을 산화시켜 신체에 손상을 유발하는 문제가 발생한다고 알려져있다. 그동안 많이 사용되어 왔던 BHT(butylatedhydroxytoluene), BHA(butylatedhydroxyanisole)와 같은 합성 항산화제의 경우 항산화력이 우수하고 가격이 저렴하여 경제적인 측면에서 장점이 있지만, 체내에 부작용을 나타내는 위험성을 가지고 있어, 천연의 물질로부터 항산화 활성이 뛰어난 새로운 항산화제를 찾는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

[0003] 한편, 강황은 생강목에 속하는 다년생 식물로, 국내에서는 전남 진도, 전남 해남, 전북 부안, 경기 시흥, 충남 청양 등지에서 활발히 재배되고 있다. 그 뿌리줄기는 한약재와 향신료로 사용되며, 황색 색소 성분인 Curcumin과 Turmerone 등의 성분을 함유하고 있다. 커큐민(curcumin)은 강황(薑黃)으로부터 얻어지는 천연의 항산화 색소성분으로, 특유의 항염증 및 항산화 효과로 인해 기능식품이나 의약품의 이상적인 원료로도 각광받고 있으며 강황의 항암, 항균 효과도 보고되며 최근 웰빙 식품으로 주목을 받고 있다(특허문헌 1). 또한, 강황을 팽화시키는 경우, 강황에 대한 과한 가열 및 탄화를 방지할 수 있음이 알려져있어 팽화강황을 포함하는 음료 등 그 활용에 대한 다양한 연구가 진행중이다.

[0004] 그러나, 팽화된 강황을 단독으로 식품에 사용 시 기호도가 떨어져 이를 보완하면서도 팽화강황의 효능은 유지시킬 수 있는 방법의 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-0902256호 (2009.06.03.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명자들은 팽화강황의 기호도를 높이면서, 기능성을 강화하기 위해 다양한 소재와의 혼합을 예의 연구한 결과, 구기자, 지골피, 감초, 및 당귀를 함유하는 한약재 추출물 및 팽화강황 추출물을 포함하는 조성물에서 항산화능 및 면역 활성이 증진되는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0007] 이에, 본 발명은 구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 함유하는 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는, 항산화 또는 면역 증진용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 이에, 본 발명은 구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 함유하는 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는, 항산화 또는 면역 증진용 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명의 일 구현예에서 상기 팽화강황은 팽화강황 추출물일 수 있다.

[0012] 본 발명의 다른 구현예에서 상기 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출될 수 있다.

[0013] 본 발명의 또 다른 구현예에서 상기 한약재 추출물은 포함되는 한약재의 중량비를 동일하게 혼합할 수 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 구현예에서 상기 조성물에서 한약재 추출물 및 팽화강황은 2.5 내지 3.5 : 7.5 내지 6.5의 중량비로, 보다 구체적으로는 3 : 7의 중량비로 혼합될 수 있다.

[0015] 본 발명의 또 다른 구현예에서 상기 조성물은 식품 조성물일 수 있다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명자들은 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는 조성물이 강황 추출물 단독처리 또는 팽화강황 추출물 단독처리와 비교한 결과 항산화능이 유사하고, 더 우수한 면역활성을 나타내는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명에 따른 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는 조성물은 팽화강황의 효율을 유지하면서 기호도를 개선하여 기능성 식품소재에 널리 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 강황, 팽화강황, 4종의 한약재의 혼합 추출물, 및 이의 배합에 따른 조성물의 세포독성을 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 강황, 팽화강황, 4종의 한약재의 혼합 추출물, 및 이의 배합에 따른 조성물의 항산화능을 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 강황, 팽화강황, 4종의 한약재의 혼합 추출물, 및 이의 배합에 따른 조성물의 면역활성이 증가되는 것을, TNF- α 의 발현을 통해 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 본 발명자들은 팽화강황의 기호도를 높이면서, 기능성을 강화하기 위한 소재와의 혼합을 예의 연구한 결과, 구기자, 지골피, 감초, 및 당귀를 포함하는 한약재 추출물 및 팽화강황 추출물을 포함하는 조성물에서 항산화 및 면역 활성이 증진되는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [0019] 이에, 본 발명은 구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 함유하는 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하는, 항산화 또는 면역 증진용 조성물을 제공하며, 상기 팽화강황은 팽화강황 추출물인 것이 바람직하다.
- [0020] 본 발명에 따른 "구기자(*Lycium chinense*)"는 가지과에 속하는 구기자나무의 열매로서 베타인(betaine), 지아잔틴(zeaxanthin), 카로틴(carotene), 티아민(thiamine), 비타민 A, B1, B2, C 등이 함유되어 있으며, 만성간염 또는 간경변의 치료에 유효하게 사용될 수 있다.
- [0021] 본 발명에 따른 "지골피"는 구기자나무 또는 기타 동속 식물(가지과)의 뿌리 껍질을 말린 약재로서 해수, 천식, 토혈, 코피, 소변출혈, 고혈당, 고혈 등에 효과가 있으며 심혈관계통의 혈압강하 및 혈당강하작용이 알려져있다.
- [0022] 본 발명에 따른 "감초(*Glycyrrhiza uralensis*)"는 콩과에 속하는 다년생 초본식물로서 글리시리진, 글라브릭산, 슈크로즈, 글루코즈, 리퀴리틴, 리코리시딘 등을 함유하고 있어 해독 작용 및 부종억제 치료에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0023] 본 발명에 따른 "당귀(*Angelica gigas* Nakai)"는 산형화과에 속하는 한약재 중 하나로 테커시놀이 함유되어 있으며, 변비, 탈모 혈액순환에 효능이 있다고 알려져있다.
- [0024] 본 발명에서 사용되는 용어 “팽화”는 고온 및 고압의 상태에서 압력을 급격히 낮춘 재료 내 전분의 호화를 유도하고, 재료 내 수분을 제거하며 부피가 커지는 공법을 의미한다. 팽화가 일어나면, 재료 내에서 팽윤과 호화가 일어나 조직이 커지면서 다공성을 갖게된다. 또한, 메일라드 반응(Maillard reaction)이 일어나 갈변이 발생하고, 포름산, 아세트알데히드, 포름알데히드, 글리옥살 등의 휘발성 물질이 생성되어 풍미를 부여하게 된다.
- [0025] 본 발명에서 사용되는 용어 “추출물”은 물질의 추출 처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 회석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.
- [0026] 본 발명의 추출물을 제조하는 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는, 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법, 침지 추출법, 고온 및 고압 증기 추출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있고, 물과 메탄올, 에탄올, 부탄올 등과 같은 C1 내지 C4의 저급 알코올과 이들의 혼합용매 등을 포함한 다양한 유기용매일 수 있으며 에탄올을 사용하는 것이 바람직하나, 이에

제한되는 것은 아니다.

- [0027] 본 발명에서 한약재 추출물을 제조하는 경우, 구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 한약재를 동량으로 배합하는 것이 바람직하고, 구기자, 지골피, 감초 및 당귀를 동량으로 배합하는 것이 바람직하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명에서 한약재 추출물 및 팽화강황을 혼합하는 경우 한약재 추출물 및 팽화강황은 2.5 내지 3.5 : 7.5 내지 6.5의 중량비로 혼합될 수 있으며, 3 : 7의 중량비로 혼합하는 것이 바람직하나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 본 발명은 구체적인 실시예를 통해 본 발명의 따른 한약재 추출물 및 팽화강황을 혼합한 조성물이 우수한 항산화 효과 및 면역활성을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에서는 강황 추출물, 팽화강황 추출물의 단독처리 또는 한약재 추출물과의 복합 처리시 항산화능을 확인하기 위해 ABTS radical 소거능을 확인한 결과, 일반 강황에 비해 팽화강황 단독 추출물의 경우 항산화 활성이 가장 높게 나타나는 것을 확인하였으며, 한약재 추출물을 혼합하는 경우에 다른 비율에서는 유의적인 활성을 나타내지 않았으나 팽화강황 추출물 및 한약재 추출물의 비율을 7:3 중량비로 혼합한 경우에서만 팽화강황 단독 처리와 유사한 항산화능을 나타내는 것을 확인하였다(실시예 3 참조).
- [0031] 본 발명의 다른 실시예에서는 강황 추출물, 팽화강황 추출물의 단독처리 또는 한약재 추출물과의 복합 처리시 면역활성을 확인하기 위해 TNF- α 의 발현을 확인한 결과, 일반 강황에 비해 팽화강황 단독 추출물의 경우 TNF- α 의 발현이 증가된 것을 확인하였다. 또한, 팽화강황 및 한약재 추출물을 혼합하는 경우 강황 또는 팽화강황 단독 처리군에 비해 TNF- α 의 발현이 나타나지 않는 것을 확인하였으나 팽화강황 및 한약재 추출물의 비율을 7:3 중량비로 혼합한 경우에는 팽화강황 단독처리에 비해 TNF- α 의 발현이 유의적으로 증가되었는바 면역활성이 증가되었음을 확인하였다(실시예 4 참조).
- [0032] 상기 실시예 결과로부터 본 발명에 따른 조성물이 항산화 및 면역활성을 나타내는 것을 확인하였으며, 본 발명에 따른 항산화 또는 면역 증진용 조성물은 구기자, 지골피, 감초 및 당귀로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 함유하는 한약재 추출물 및 팽화강황을 포함하여, ABTS radical 소거능이 증가되는 항산화능 및 TNF- α 증가를 통한 면역활성 증진 효능을 나타낼 수 있는바, 항산화 또는 면역을 증진시키는 약제 또는 면역증진보조제인 식음료 등에 다양하게 사용될 수 있다.
- [0033] 본 발명에 따른 조성물이 식품 조성물의 형태인 경우, 특정보건용 식품, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학 및 의료효과가 높은 식품으로 제조될 수 있으며, 상기 식품은 경우에 따라, 기능성식품, 건강식품, 건강보조식품으로 혼용될 수 있으며, 유용한 효과를 얻기 위하여 정제, 캡슐, 가루, 파립, 액상, 환 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 건강기능식품은 식품 조성물에 통상적으로 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B₁, B₂, B₆, B₁₂, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 디히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니솔(BHA), 부틸히드록시 톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(dulcin, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 겔기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.
- [0035] 본 발명의 건강기능식품을 식품 첨가물로 사용할 경우, 이를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 건강기능식품에 있어서, 한약재 추출물 및 팽화강황 추출물의 함량은 특별히 제한되지 않으며, 투여 대상의 상태, 구체적인 병증의 종류, 진행 정도 등에 따라 다양하게 변경될 수 있다. 필요한 경우, 식품의 전체 함량으로도 포함될 수 있다.
- [0038] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0040] [실시예]

[0041] 실시예 1. 재료 준비

[0042] 건조강황은 9kgf의 압력으로 팽화하였으며, 당귀, 구기자, 지골피, 감초는 건조물을 구입하여 사용하였다. 각각의 재료를 가정용 분쇄기로 분쇄 후 20 mesh의 체에 걸러 입자를 고르게 한 후, 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말은 동일한 질량비율로 혼합하여 한약재 혼합이라 칭하였다. 강황, 팽화강황, 또는 한약재 혼합물 분말 시료를 각각 5g 칭량한 후, 200 mL의 70% 주정용 에탄올(Ethanol supplies World Co., Jeonju-si, Republic of Korea)을 가한 뒤, 상온에서 30분간 교반하여 추출하였다. 추출된 추출물은 여과지(whatman no.2)를 사용하여 1차 여과한 뒤 0.25 µm syringe filter를 사용하여 2차 여과하였다. 추출물의 일부를 항량된 알루미늄 접시에 담아 105℃의 열풍건조기(HB-502M, HanBeak Scientific co. Bucheon-si, Republic of Korea)에서 건조하여 고형분 함량을 하기 [화학식 1]과 같이 계산하여 사용하였다.

[0044] [화학식 1]

$$\frac{(W_1 + M - W_2)}{M} \times 100$$

[0045] = 고형분 함량 (%)

[0047] M = 투입한 시료 무게 (g)

[0048] W₁ = 초기 항량된 알루미늄 접시 무게 (g)

[0049] W₂ = 건조 후 알루미늄 접시 무게 (g)

[0051] 강황, 팽화강황, 및 한약재혼합의 추출물은 최종 고형분농도가 각각 10 µg/mL이 되도록 FBS 10%, Antibiotics 1%가 혼합된 DMEM 배지로 희석하였고, 각추출물 단독 또는 3:7, 5:5, 7:3 (강황 또는 팽화강황 추출물 : 한약재 혼합 추출물)의 비율로 하기 실시예 및 비교예 1 내지 8과 같이 혼합하여 세포실험 및 항산화능 측정에 사용하였다.

[0053] <실시예>

[0054] 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말을 동일한 질량비율로 혼합한 한약재 혼합물 및 팽화강황을 3 : 7의 중량비로 혼합 후 추출하여 실시예로 사용하였다.

[0055] <비교예 1>

[0056] 건조 강황을 추출하여 비교예 1로 사용하였다.

[0057] <비교예 2>

[0058] 건조강황을 9kgf 압력으로 팽화시킨 팽화강황을 추출하여 비교예 2로 사용하였다.

[0059] <비교예 3>

[0060] 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말을 동일한 질량비율로 혼합한 한약재 혼합물을 추출하여 비교예 3으로 사용하였다.

[0061] <비교예 4>

[0062] 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말을 동일한 질량비율로 혼합한 한약재 혼합물 및 건조강황을 7 : 3의 중량비로 혼합 후 추출하여 비교예 4로 사용하였다.

[0063] <비교예 5>

[0064] 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말을 동일한 질량비율로 혼합한 한약재 혼합물 및 건조강황을 5 : 5의 중량비로 혼합 후 추출하여 비교예 5로 사용하였다.

[0065] <비교예 6>

[0066] 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말을 동일한 질량비율로 혼합한 한약재 혼합물 및 건조강황을 3 : 7의 중량비로 혼합 후 추출하여 비교예 6으로 사용하였다.

- [0067] <비교예 7>
- [0068] 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말을 동일한 질량비율로 혼합한 한약재 혼합물 및 팽화강황을 7 : 3의 중량비로 혼합 후 추출하여 비교예 7로 사용하였다.
- [0069] <비교예 8>
- [0070] 당귀, 구기자, 지골피, 감초 분말을 동일한 질량비율로 혼합한 한약재 혼합물 및 팽화강황을 5 : 5의 중량비로 혼합 후 추출하여 비교예 8로 사용하였다.
- [0072] **실시예 2. 세포 독성 평가**
- [0073] 강황 추출물, 팽화강황 추출물의 단독처리 또는 한약재 추출물과의 복합 처리에 따른 세포 독성을 확인하기 위해 상기 실시예 및 비교예 1 내지 8과 아무것도 처리하지 않은 무처리군을 대조군으로 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) Assay를 측정하였다. 구체적으로, 96-well plate에 10^6 cells/mL 농도의 세포를 50 μ l 분주하고, 추출물 단독 또는 혼합물을 50 μ l 추가분주하였다. 이후, 24시간 동안 37°C, CO₂ 5%의 조건에서 배양 한 후, 96 well plate의 cell media를 모두 제거하였다. 그 후, 5 mg/mL 농도의 MTT solution 10 μ l와 DMEM 90 μ l를 각 well에 분주하고, 빛을 차단한 상태로 3-4시간 동안 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양한 후, DMSO (Dimethyl sulfoxide) 150 μ l를 각 well에 분주하여 formazan을 용해하고 590 nm 파장에서 1시간 이내로 흡광도를 측정하였다. 추출물을 처리하지 않는 대조군 대비 formazan 분해 정도를 %로 표현하여 세포 독성을 확인하였다.
- [0074] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 대조군 100%를 기준으로 실시예 및 비교예 1 내지 8 모두 세포생존율이 100% 이상을 나타내는바, 본 발명에 사용된 강황 추출물, 팽화강황 추출물의 단독처리 또는 한약재 추출물과의 복합 처리의 경우 세포 독성을 나타내지 않는 것을 확인하였다.
- [0076] **실시예 3. 항산화능 확인**
- [0077] 강황 추출물, 팽화강황 추출물의 단독처리 또는 한약재 추출물과의 복합 처리에 따른 항산화능을 확인하기 위해 상기 실시예 및 비교예 1 내지 8과 아무것도 처리하지 않은 무처리군을 대조군을 각 10 μ g/ml로 처리하고 ABTS radical 소거능을 측정하였다. 구체적으로, 1.0 mM AAPH (2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride)와 2.5 mM ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)를 PBS와 혼합하여 70°C에서 반응시킨 후 0.45 μ m syringe filter로 여과하였다. 여과물의 흡광도를 측정하고 흡광도가 0.65 ± 0.02 가 되도록 희석하였다. ABTS 시약에 추출물 단독 또는 혼합 시료를 첨가하여 37°C에서 10분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ascorbic acid를 표준품으로 하여 검정곡선을 작성하고 추출물 단독 또는 혼합 시료의 radical 소거능을 Ascorbic acid equivalent (μ g/ml)로 나타내었다.
- [0078] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이 무처리 군에서는 소거능 활성이 나타나지 않았으나, 강황 추출물 단독 처리의 경우 약 20 μ g/ml를 나타냈으며, 팽화강황 추출물 단독 처리의 경우 약 40 μ g/ml를 나타내 일반 강황추출물에 비해 팽화강황 단독 추출물의 경우 ABTS radical 소거능이 현저히 증가한 것을 확인하였다. 또한, 강황 추출물에 한약재 추출물을 혼합하는 경우 다양한 혼합비율을 사용하여도 강황 단독 처리군에 비해 다소 낮은 ABTS radical 소거능을 나타냈으며, 팽화강황 추출물 및 한약재 추출물의 혼합처리의 경우 3:7 또는 5:5 중량비로 혼합한 경우에는 단독처리군에 비해 낮은 ABTS radical 소거능을 나타냈으나, 팽화강황 대 한약재를 7:3 중량비로 혼합한 경우에서만 팽화강황 단독 처리와 유사한 항산화능을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0080] **실시예 4. 면역활성 확인**
- [0081] 강황 추출물, 팽화강황 추출물의 단독처리 또는 한약재 추출물과의 복합 처리시 면역활성 증진 효능을 확인하기 위해 상기 실시예 및 비교예 1 내지 8과 아무것도 처리하지 않은 무처리군을 대조군을 각 10 μ g/ml로 처리하고 RAW 264.7 세포와 함께 24 시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양한 후, 상층액을 수거하여 염증성 cytokines의 발현 정도를 상기 ELISA 방법을 통하여 측정하였다.
- [0082] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 무처리 군에서는 소량의 TNF- α 발현만이 나타났으며, 강황 추출물 단독 처리의 경우 약 150 pg/ml를 나타냈고, 팽화강황 추출물 단독 처리의 경우 약 250 pg/ml를 나타내 일반 강황추출물에 비해 팽화강황 단독 추출물을 처리한 경우 TNF- α 의 발현이 현저히 증가한 것을 확인하였다. 또한, 강황 추출물에 한약재 추출물을 혼합하는 경우 다양한 혼합비율을 사용하여도 강황 단독 처리군에 비해 다소 낮은 TNF-

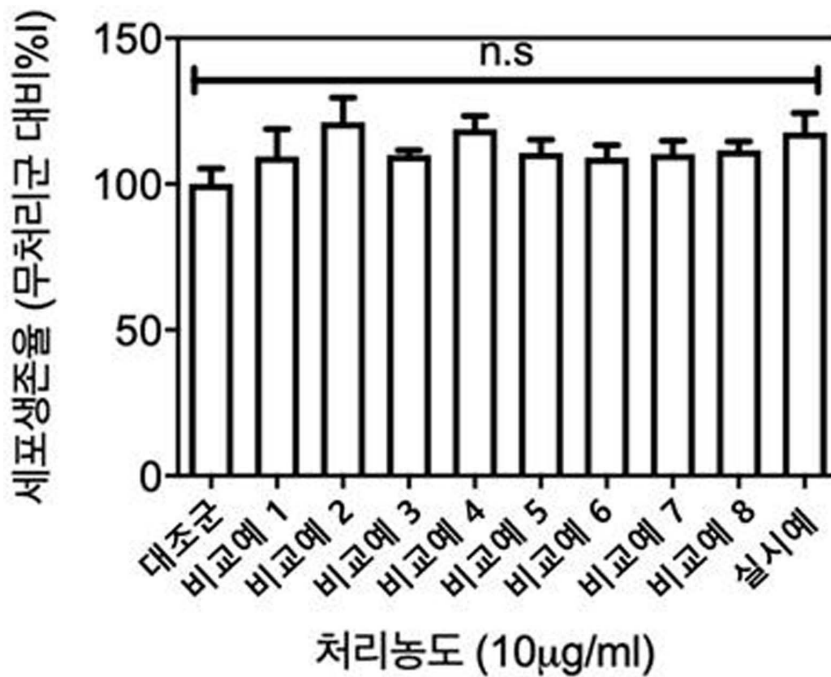
α 의 발현을 나타냈으며, 팽화강황 추출물 및 한약재 추출물의 혼합처리의 경우 3:7 또는 5:5 중량비로 혼합한 경우에는 단독처리군에 비해 낮은 TNF- α 발현량을 나타냈으나, 팽화강황 대 한약재를 7:3 중량비로 혼합한 경우에서 약 400 pg/ml의 TNF- α 발현량을 나타내 팽화강황 단독 처리군에 비해 현저히 우수한 면역활성 증진이 나타나는 것을 확인하였다.

[0084] 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일 형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산 되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

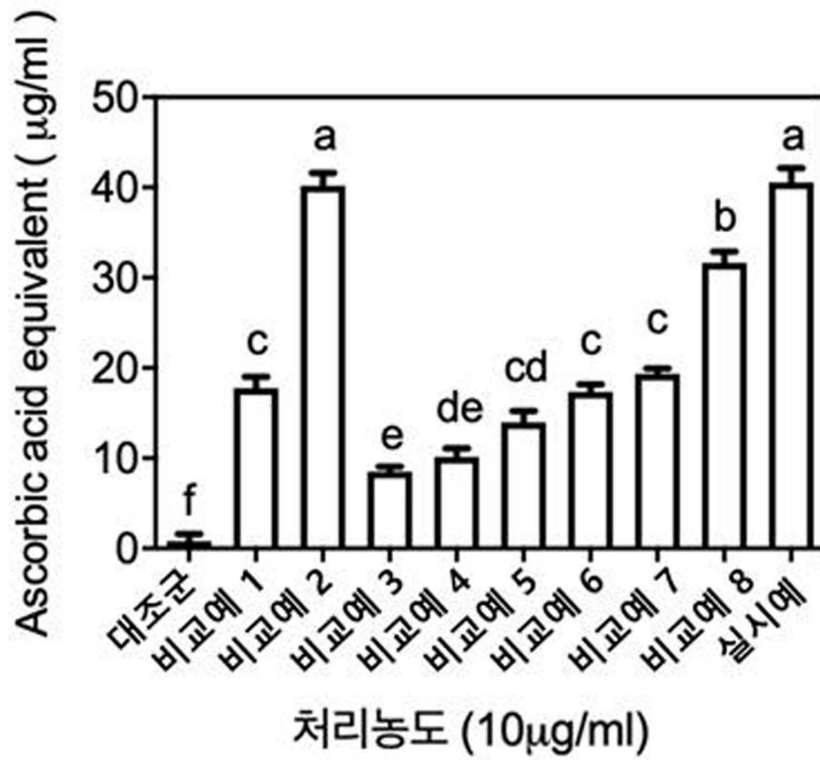
[0085] 본 발명의 범위는 후술하는 특허 청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허 청구 범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1



도면2



도면3

