(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0005006
(43) 공개일자 2023년01월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 9/107* (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)
*A61K 31/352* (2006.01) *A61K 47/02* (2006.01)
*A61K 47/44* (2017.01) *A61K 8/06* (2006.01)
*A61K 8/49* (2006.01) *A61P 29/00* (2023.01)
*A61Q 19/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 9/1075* (2013.01)
*A23L 33/10* (2022.01)
(21) 출원번호 10-2021-0085659
(22) 출원일자 2021년06월30일
심사청구일자 2021년06월30일

(71) 출원인
**경희대학교 산학협력단**
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
**김연주**
경기도 성남시 분당구 동판교로 275, 107동 801호(삼평동, 봇들마을1단지)
(74) 대리인
**김순웅**

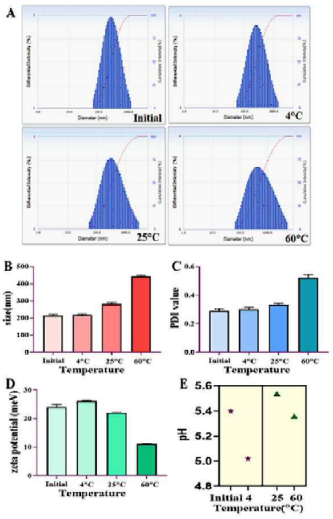
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼 및 이의 용도**

## (57) 요 약

본 발명은 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼에 관한 것으로, 보다 상세하게는 상기 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 항염증 용도에 관한 것이다. 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼은 현저한 항염증 효과가 있고, 저장 안정성이 우수한 것을 확인하였다. 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼은 염증 억제를 위한 식품, 제약 및 화장품 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
***A61K 31/352*** (2013.01)
***A61K 47/02*** (2013.01)
***A61K 47/44*** (2013.01)
***A61K 8/068*** (2013.01)
***A61K 8/498*** (2013.01)
***A61P 29/00*** (2018.01)
***A61Q 19/00*** (2013.01)
*A23V 2002/00* (2013.01)
*A23V 2200/324* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711110161
과제번호 2019R1A2C1010428
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 신장 및 간세포에서 uric acid 축적을 억제하는 신규 희귀사포닌 금나노 곤충 펩타이드 결합체 대량생산 및 작용메카니즘 규명
기 여 율 1/1
과제수행기관명 경희대학교 산학협력단
연구기간 2019.03.01 ~ 2022.02.28

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유(oil-in-water, O/W) 나노에멀젼.

### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 인삼 금 나노입자는 인삼 뿌리 추출물을 포함하는 것인, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 3

제2항에 있어서,

상기 인삼 뿌리 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 혼합용매로부터 선택된 1종 이상의 용매로 추출된, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 4

제2항에 있어서,

상기 인삼 금 나노입자는 인삼 뿌리 추출물 및 금이온($Au^{3+}$)을 혼합한 후 상기 금이온을 환원시켜 제조된 것인, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 수중유 나노에멀젼은 인삼 종자유를 더 포함하는 것인, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 6

제1항에 있어서,

상기 수중유 나노에멀젼은 계면활성제를 더 포함하는 것인, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 7

제6항에 있어서,

상기 계면활성제는 Tween 80 및 Span 80의 혼합물인, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 8

제1항에 있어서,

상기 수중유 나노에멀젼은 인삼 금 나노입자, 실리디아닌, 인삼 종자유 및 계면활성제를 혼합한 후 초음파 처리하여 제조된 것인, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 9

제1항에 있어서,

상기 수중유 나노에멀젼은 수분 입자 크기가 1 내지 600 nm인, 수중유 나노에멀젼.

### 청구항 10

제1항에 있어서,

상기 수중유 나노에멀젼은 제타전위가 10 내지 30 mv인, 수중유 나노에멀젼.

**청구항 11**

제1항에 따른 수중유(oil-in-water, O/W) 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 12**

제11항에 있어서,

상기 염증성 질환은 천식, 습진, 건선, 알러지, 류마티스 관절염, 건선 관절염, 아토피성 피부염, 여드름, 아토피성 비염, 폐염증, 알레르기성 피부염, 만성 부비동염, 접촉성 피부염(contact dermatitis), 지루성 피부염(seborrheic dermatitis), 위염, 통풍, 통풍 관절염, 궤양, 만성 기관지염, 크론병, 궤양성 대장염, 강직성 척추염(ankylosing spondylitis), 패혈증, 맥관염, 활액낭염, 루프스, 류마티스 다발성 근육통, 측두 동맥염, 다발성 경화증, 고형암, 알쯔하이머병, 동맥경화증, 비만 및 바이러스 감염으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인, 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 13**

제1항에 따른 수중유(oil-in-water, O/W) 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

**청구항 14**

제1항에 따른 수중유(oil-in-water, O/W) 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

**청구항 15**

제1항에 따른 수중유(oil-in-water, O/W) 나노에멀젼을 포함하는 피부 염증 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

**청구항 16**

(a) 인삼 뿌리 추출물 및 금이온($Au^{+3}$)을 혼합한 후 상기 금이온을 환원시켜 인삼 금 나노입자를 제조하는 단계; 및

(b) 상기 단계 (a)에서 제조된 인삼 금 나노입자, 실리디아닌, 인삼 종자유 및 계면활성제를 혼합하여 혼합물을 제조하고, 상기 혼합물을 초음파 처리하여 수중유 나노에멀젼을 제조하는 단계;를 포함하는, 수중유 나노에멀젼 제조방법.

**청구항 17**

제16항에 있어서,

상기 단계 (b)의 혼합물은 인삼 금 나노입자 70 내지 90부피부, 실리디아닌 1 내지 10부피부, 인삼 종자유 1 내지 15부피부 및 계면활성제 1 내지 15부피부를 포함하는 것인, 수중유 나노에멀젼 제조방법.

**청구항 18**

제16항에 있어서,

상기 수중유 나노에멀젼은 항염증용인, 수중유 나노에멀젼 제조방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼에 관한 것으로, 보다 상세하게는 상기 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 항염증 용도에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 산삼은 두릅나무과의 인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)으로써, 이러한 인삼의 효능은 신진대사 촉진 작용, 혈당 강하, 혈압강하, 면역력 향상, 암세포 억제, 피로 회복 및 노화 방지 효능을 보유하고 있다. 이는 인삼에 존재하는 활성성분인 진세노사이드(Ginsenoside)에 의한 효능으로써, 진세노사이드는 구조에 따라 프로토파낙사다이올계 진세노사이드(Protopanaxadiol-type ginsenoside), 프로토파낙사트라이올계 진세노사이드(Protopanaxatriol-type ginsenoside), 그리고 올레아난계 진세노사이드(Oleanane-type ginsenoside)로 분류된다.

[0003] 진세노사이드 흡수율을 측정한 식약처 자료에 따르면 실험대상자의 25%가 장내 미생물의 효소 비활성화로 인해 진세노사이드를 온전히 혈액으로 흡수하지 못했다. 또한, 진세노사이드를 흡수했다 하더라도 개인별로 효능에 대한 차이를 보였으며 성별 및 나이와는 관련이 없는 것으로 나타났다. 이는 인삼의 효능이 사람마다 다른 이유가 장내 미생물 때문이라는 결론을 도출하고 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0004] 이에 본 발명자들은 인삼 내 유용성분의 생체이용률을 높이기 위해 연구하던 중, 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼을 개발하고, 이의 현저한 항염증 활성을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0005] 따라서 본 발명의 목적은, 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유(oil-in-water, O/W) 나노에멀젼을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은, 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 또 다른 목적은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 포함하는 피부 염증 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 인삼 뿌리 추출물 및 금이온($Au^{+3}$)을 혼합한 후 상기 금이온을 환원시켜 인삼 금 나노입자를 제조하는 단계; 및 (b) 상기 단계 (a)에서 제조된 인삼 금 나노입자, 실리디아닌, 인삼 종자유 및 계면활성제를 혼합하여 혼합물을 제조하고, 상기 혼합물을 초음파 처리하여 수중유 나노에멀젼을 제조하는 단계;를 포함하는, 수중유 나노에멀젼 제조방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 제공한다.

[0010] 또한 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0011] 또한 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0012] 또한 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0013] 또한 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 포함하는 피부 염증 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0014] 또한 본 발명은 (a) 인삼 뿌리 추출물 및 금이온($Au^{+3}$)을 혼합한 후 상기 금이온을 환원시켜 인삼 금 나노입자를 제조하는 단계; 및 (b) 상기 단계 (a)에서 제조된 인삼 금 나노입자, 실리디아닌, 인삼 종자유 및 계면활성제를 혼합하여 혼합물을 제조하고, 상기 혼합물을 초음파 처리하여 수중유 나노에멀젼을 제조하는 단계;를 포함하는, 수중유 나노에멀젼 제조방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼은 현저한 항염증 효과가 있고, 저장 안정성이 우수

한 것을 확인하였다. 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼은 염증 억제를 위한 식품, 제약 및 화장품 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0016] 도 1A 및 B는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 액적의 크기를 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 1C는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 PDI value를 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 1D는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 제타전위를 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 1E는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 pH를 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 2는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 FT-IR 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 3A는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노입자의 TEM 이미지를 나타낸 도이다.

도 3B는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의의 TEM 이미지를 나타낸 도이다.

도 3C 및 D는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 50 또는 100 범위에서 TEM 이미지를 나타낸 도이다.

도 3E 및 F는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 EDS 매핑 결과를 나타낸 도이다.

도 4A 내지 C는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 세포 독성을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 5A는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 산화질소 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 5B는 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 활성산소종 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 6은 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 전염증성 사이토카인 iNOS, COX2, IL-6, IL-1β 및 TNFα을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 7은 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼이 NF-kB 신호전달 경로에 미치는 영향을 조사한 결과를 나타내는 도이다.

도 8은 본 발명에 따른 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼이 MAPK 신호전달 경로에 미치는 영향을 조사한 결과를 나타내는 도이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명의 양태에 따르면, 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유(oil-in-water, O/W) 나노에멀젼을 제공한다.

[0019] 본 발명에 있어서, 에멀젼은 유상 또는 수상의 섞이지 않는 액체 중 하나 이상을 미립자 상태(분산질)로 다른 액체(분산매)에 분산시켜 놓은 혼합상을 말한다. 에멀젼은 분산상의 입도 크기에 따라, 통상적으로, 마크로에멀젼, 마이크로에멀젼, 나노에멀젼으로 나누어진다. 이 때 에멀젼의 안정도, 유동학적 특성, 질감 등은 에멀젼을 구성하고 있는 오일/물/계면활성제 시스템의 각 성분들의 물성과 각 성분들 간의 혼화성(miscibility), 수/유 계면의 장력에 의해 결정된다.

[0020] 본 발명의 구체예에서, 상기 인삼 금 나노입자는 인삼 뿌리 추출물을 포함하는 것이 바람직하다.

[0021] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 상기 인삼 뿌리 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 혼합용매로부터 선택된 1종 이상의 용매로 추출된 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 인삼 뿌리 70%(v/v) 에탄올 추출물인 것이 바람직하다.

[0022] 본 발명에 있어서, 추출물은 원물로부터 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다.

[0023] 상기 인삼 뿌리는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있고, 세척하여 그대로 사용하거나 건조하여 사용할 수 있으며, 건조방법으로는 양건, 음건, 열풍건조, 자연 건조하는 방법 등을 모두 사용할 수 있다.

[0024] 상기 인삼 뿌리 추출물의 추출 온도는 20 내지 40℃인 것이 바람직하다. 또한 추출방법으로는 열수추출법, 침치추출법, 환류추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 다양한 방법이 사용될 수 있으나 이에 제한되지는 않고, 바람직하게는 침지추출법으로 추출된 것이다.

[0025] 상기 인삼 뿌리 추출물은 당업계에서 알려진 통상의 방법으로 상온에서 냉침, 가열 및 여과하여 액상물을 얻을 수 있으며, 또는 추가로 용매를 증발, 분무건조 또는 동결건조할 수도 있다. 또한 상기 인삼 뿌리 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수도 있다. 또한 상기 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획으로도 얻을 수 있다.

[0026] 본 발명의 구체예에서, 상기 인삼 금 나노입자는 인삼 뿌리 추출물 및 금이온($Au^{3+}$)을 혼합한 후 상기 금이온을 환원시켜 제조된 것이 바람직하다.

[0027] 본 발명에 있어서, 실리디아닌(silydianin)은 실리빈, 이소실리빈 및 실리크리스틴과 함께 실리마린 복합체를 이루는 플라보리그난의 한 종류이다. 실리마린은 항산화, 항암 및 신경 보호 활성이 알려져 있으나, 그 활성 성분인 실리디아닌은 효능에 대해 연구되지 않았다.

[0028] 본 발명의 구체예에서, 상기 수중유 나노에멀젼은 인삼 종자유를 더 포함하는 것이 바람직하다.

[0029] 본 발명에 있어서, 인삼 종자유는 인삼 종자를 배유 및 껍질로 분리한 후 가열압착하여 추출된 오일을 의미한다.

[0030] 본 발명의 구체예에서, 상기 수중유 나노에멀젼은 계면활성제를 더 포함하는 것이 바람직하다.

[0031] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 상기 계면활성제는 Tween 80 및 Span 80의 혼합물인 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 전체 조성물에 대하여 Tween 80 2부피% 및 Span 80 1부피%로 혼합되는 것이나, 이에 제한되지 않는다.

[0032] 본 발명의 구체예에서, 상기 수중유 나노에멀젼은 인삼 금 나노입자, 실리디아닌, 인삼 종자유 및 계면활성제를 혼합한 후 초음파 처리하여 제조된 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 인삼 금 나노입자 70 내지 90부피부, 실리디아닌 1 내지 10부피부, 인삼 종자유 1 내지 15부피부 및 계면활성제 1 내지 15부피부로 혼합한 후 초음파 처리하여 제조된 것이다.

[0033] 본 발명의 구체예에서, 상기 수중유 나노에멀젼은 수분 입자 크기가 1 내지 600 nm인 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 100 내지 500 nm, 더욱 바람직하게는 실온 조건에서 200 내지 300 nm이다.

[0034] 본 발명의 구체예에서, 상기 수중유 나노에멀젼은 제타전위가 10 내지 30 mv인 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 22 내지 26 mv 이며, 가장 바람직하게는 24.20 mv이다.

[0035] 본 발명에 따른 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼은 다양한 온도 조건에서 3개월 동안 색변화 및 상분리가 관찰되지 않았다. 이는 본 발명에 따른 수중유 나노에멀젼의 저장 안정성이 우수하다는 것을 의미한다. 또한 본 발명에 따른 수중유 나노에멀젼은 전염증성 사이토카인 발현 억제 활성이 우수하고, 현저한 NF-kB 및 MAPK 신호전달 억제 효과를 갖는바, 염증억제를 위한 식품 및 제약 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

[0037] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는, 수중유 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0038] 본 발명의 구체예에서, 상기 염증성 질환은 천식, 습진, 건선, 알러지, 류마티스 관절염, 건선 관절염, 아토피성 피부염, 여드름, 아토피성 비염, 폐염증, 알레르기성 피부염, 만성 부비동염, 접촉성 피부염(contact dermatitis), 지루성 피부염(seborrheic dermatitis), 위염, 통풍, 통풍 관절염, 궤양, 만성 기관지염,

크론병, 궤양성 대장염, 강직성 척추염(ankylosing spondylitis), 패혈증, 맥관염, 활액낭염, 루프스, 류마티스 다발성 근육통, 측두 동맥염, 다발성 경화증, 고형암, 알쯔하이머병, 동맥경화증, 비만 및 바이러스 감염으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0039] 본 발명에 따른 조성물은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물일 수 있다.

[0040] 본 발명의 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 구체적으로, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 겔제 또는 에어로졸제 등의 형태로 사용될 수 있다.

[0041] 또한 각각의 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경구제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 제형을 가질 수 있다. 예컨대, 해당 부위에 국부적으로 사용되는 피부외용제인 경우에는 통상적인 첨가제, 예를 들어 보존제, 의약 침투를 보조하는 용매, 연고 및 크림의 경우 연화제 등을 포함할 수 있으며, 에탄올 또는 올레일 알코올과 같은 통상적 담체를 함유할 수 있다. 해당 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌에 개시되어 있는 것을 사용하는 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0042] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유 등이 있다. 상기 약학 조성물을 제제화나 제형화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로오스(sucrose), 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 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, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 상기 성분들은 유효성분, 즉 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.

[0043] 본 발명에 있어서, 투여는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 본 발명의 약학적 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0044] 본 발명의 약학적 조성물은 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 임상에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양, 즉 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양인 치료상 유효량으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자 등에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 예를 들어, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 구강, 심장내, 골수내, 경막내, 경피, 장관, 피하, 설하 또는 국소 투여할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0045] 본 발명의 약학 조성물은 1 내지 10,000㎎/㎏/일, 바람직하게는 1 내지 200㎎/㎏/일의 양으로 투여할 수 있으며, 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회에 나누어 투여할 수도 있다.

[0046] 본 발명에 따른 조성물이 염증성 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 또는 식품 조성물인 경우, 본 발명의 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼은 건강기능식품, 식품 첨가제 또는 식이보

조제로 사용될 수 있다.

[0047] 상기 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼이 식품 첨가제로 사용할 경우, 상기 수중유 나노에멀젼을 그대로 첨가하거나, 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 혼합하여 사용되는 등 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0048] 또한 상기 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 변경될 수 있음은 물론이며, 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 95중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1 내지 80중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.01중량% 미만일 경우에는 염증성 질환 예방 또는 개선 효과가 미미할 수 있으며, 95중량%를 초과할 경우 사용량 대비 효과 상승률이 낮아 비경제적일 수 있다.

[0049] 구체적인 예로, 식품 또는 음료의 제조 시에는 본 발명의 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼은 원료에 대하여 15중량% 이하, 바람직하게는 10중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하여 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 양으로 첨가될 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0050] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없으나, 본 발명의 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료, 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0051] 본 발명의 식품 조성물이 음료로 제조될 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등의 추가 성분을 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물로는 포도당, 과당 등의 모노사카라이드; 말토오스, 수크로오스 등의 디사카라이드; 덱스트린, 사이클로덱스트린 등의 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐 등의 합성 감미제 등이 사용될 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 10중량%, 바람직하게는 0.01 내지 0.1중량%로 포함된다.

[0052] 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있으며, 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기의 첨가제 비율은 크게 제한되지는 않으나, 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 0.1중량% 범위내로 포함되는 것이 바람직하다.

[0053] 건강 및 위생을 목적으로 하거나 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취인 경우, 본 발명의 식품 조성물은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 장기간 복용이 가능하다.

[0055] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼을 포함하는 피부 염증 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0056] 본 발명에 따른 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼을 화장료로 사용하는 경우, 상기 화합물 이외에 통상적인 화장료 베이스 성분들을 포함하여, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 안료 및 향료와 같은 통상적인 함유제, 그리고 담체를 포함할 수 있다. 또한, 화장료 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 특별히 한정하는 것은 아니지만, 예를 들어, 화장수, 에센스, 로션, 페이스트, 계면활성제 함유 클렌징, 크림, 팩, 젤, 연고, 파우더, 패취 또는 분무제(스프레이)의 제형을 가질 수 있다.

[0057] 상기 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 및 산화아연 등으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상이 이용될 수 있고, 제형이 화장수, 에센스인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되며, 예를 들어, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜, 및 소르비탄의 지방산 에스테르 등으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상이 이용될 수 있다.

[0058] 또한, 상기 화장료 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레인 경우에는 담체 성분으로서 락토오스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 및 폴리아미드 파우더 등으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있다. 또한, 상기 화장료 조성물의 제형이 계면활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 라놀린 유도체 및 에톡실화글리세롤 지방산 에스테르 등으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이 이용될 수 있다.

[0059] 이때, 화장료 중의 상기 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 포함하는 수중유 나노에멀젼은 전체 중량의 0.01 내지 50중량%, 바람직하게는 0.01 내지 30중량%로 첨가되는 것이 좋다.

[0061] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 인삼 뿌리 추출물 및 금이온($Au^{+3}$)을 혼합한 후 상기 금이온을 환원시켜 인삼 금 나노입자를 제조하는 단계; 및 (b) 상기 단계 (a)에서 제조된 인삼 금 나노입자, 실리디아닌, 인삼 종자유 및 계면활성제를 혼합하여 혼합물을 제조하고, 상기 혼합물을 초음파 처리하여 수중유 나노에멀젼을 제조하는 단계;를 포함하는, 수중유 나노에멀젼 제조방법을 제공한다.

[0062] 본 발명의 구체예에서, 상기 단계 (b)의 혼합물은 인삼 금 나노입자 70 내지 90부피부, 실리디아닌 1 내지 10부피부, 인삼 종자유 1 내지 15부피부 및 계면활성제 1 내지 15부피부를 포함하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 인삼 금 나노입자 79 내지 85부피부, 실리디아닌 2 내지 8부피부, 인삼 종자유 7 내지 10부피부 및 계면활성제 5 내지 10부피부를 포함하는 것이다.

[0063] 본 발명의 구체예에서, 상기 수중유 나노에멀젼은 항염증용인 것이 바람직하며, 보다 상세하게는 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용일 수 있다.

[0065] 중복되는 내용은 본 명세서의 복잡성을 고려하여 생략하며, 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.

[0067] 이하, 실험예 및 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실험예 및 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실험예 및 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0069] **[실험예]**

[0070] **[재료]**

[0071] 인삼 뿌리와 발효 인삼 종자유는 경기도 (대한민국, 남양주)에서 얻었다. 실리디아닌 분말은 천연자원센터 (중앙대학교, 서울)에서 수집했다. Hydrogen tetrachloroaurate (III) hydrate (gold salt), Tween 80, Span 80은 Sigma-Aldrich Chemicals (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 항생제 페니실린-스트렙토마이신, fetal bovine serum (FBS opti gold)은 GenDEPOT (San Antonio, TX, USA)에서 구입하였다. 피루베이트와 높은 포도당을 함유한 DMEM (Dulbecco의 Modified Eagle's Medium)은 미국 Gen DEPOT에서 구입하였다.2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, MTT, dimethyl sulfoxide (DMSO) 및 MTT는 Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA)에서 구입하였다. IL-6, TNFα, IL-1β, NF-κB, IKKα 프라이머는 마크로젠 (서울 금천구)에서 설계하였다. 1 차 항체는 P38, p-P38, ERK, p-ERK, JNK, p-JNK, NF-κB, IκBα, p-IκBα, p-NF-κB 및 β- 액틴으로 구성되어 있으며 Cell Signaling Technology (CST, MA, USA)에서 구입하였다. 이 연구에 사용된 모든 시약은 고품질이며 상업적으로 이용 가능한 것이다.

[0073] **실험예 1. 인삼 뿌리 추출물 제조**

[0074] 인삼 뿌리 샘플을 수돗물로 반복 세척하여 자연 건조시켰다. 인삼 뿌리 건조물을 분쇄하여 인삼 뿌리 분말을 제

조하였다. 인삼 뿌리 분말 100g을 70% 에탄올 500mL에 완전히 현탁하고 37℃에서 24시간 동안 침지하였다. 이 과정을 세 번 반복하고 혼합 추출물을 여과하고 50℃에서 회전 증발기로 증발시켰다. 그 후, 증발된 추출물을 동결 건조하여 인삼 뿌리 추출물을 제조하였다. 제조된 인산 뿌리 추출물은 4℃에서 보관하였다.

[0076] **실험예 2. 인삼 금 나노입자 합성**

[0077] 실험예 1에서 제조된 인삼 뿌리 추출물 10mg을 멸균수 20mL에 녹인 후 여과하여 반응 혼합물을 얻었다. 상기 반응 혼합물에 $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$를 최종 농도 1mM으로 첨가하였다. $Au^{3+}$를 Au 원자로 환원시키기 위하여, 반응 혼합물은 80℃ 오일 배스에서 10분 동안 유지되었고, 반응 혼합물에서 인삼 금 나노입자의 형성을 나타내는 색상 변화가 확인되었다. 색상 변화를 확인한 후, 제조된 인삼 금 나노입자를 정제하기 위해 20분 동안 14500rpm에서 원심분리하였다. 정제된 인삼 금 나노입자를 멸균수로 여러번 세척하고 다시 14500rpm으로 10분 동안 원심분리하여 펠릿을 수집하였다. 수집된 펠릿을 밤새도록 건조하여, 분말 형태의 인삼 금 나노입자를 얻었다.

[0079] **실험예 3. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 제조**

[0080] 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼은 고압초음파법으로 제조하였다. 구체적으로, 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)을 제조하기 위해 인삼 종자유, 계면 활성제 및 공동 계면 활성제를 최적화시켰다. 상기 인삼 종자유는 세척된 인삼 종자를 건조한 후 인삼종피를 제거하고, 일반 종자유 생산 업체에서 압착유 생산과 동일한 방법으로 생산된 것이다. 인삼 종자유 및 계면 활성제의 분율을 달리하여 총 4개의 시료를 준비하였고, 이들의 안정성을 평가하였다. 준비된 시료의 조성은 표 1에 나타내었으며, 각각 S1, S2, S3 및 S4로 명명하였다.

*표 1*

[0081]

| Sample | MG-AuNPs (Aqueous solution) | Ginseng seed oil | Silydianin | Surfactants (Tween 80 &span 80) |
|---|---|---|---|---|
| S1 | 80%(30mg) | 10% | 5%(30mg) | 5% |
| S2 | 79%(30mg) | 9% | 5%(30mg) | 7% |
| **S3** | **81%(30mg)** | **8%** | **5%(30mg)** | **6%** |
| S4 | 85%(30mg) | 7% | 5%(30mg) | 9% |

단위 : 부피%

[0082] 상기 실험예 2에서 제조된 인삼 금 나노입자(MG-AuNP)는 물에 용해하여 준비하였고, 실리디아닌은 70% 에탄올에 용해시켜 준비하였다. 물을 비커에 넣고 실온에서 연속 교반하였다. 교반 중인 비커에 인삼 종자유, 계면 활성제 (tween 80 및 span 80), 용해된 인삼 금 나노입자 및 실리디아닌을 한방울씩 혼합하였다. 그 후 초음파 처리기 (Hielscher, Ultrasonic technology)로 30분 동안 10초의 맥박수로 80% 폭으로 고초음파를 처리하였고, 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)을 동결건조하였고, 다음 실험에 사용하기 전까지 4℃에서 보관하였다.

[0084] **실험예 4. 저장 안정성**

[0085] 상분리 및 질감을 확인하기 위하여, 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)을 상온에서 7일 동안 보관하였다. SMG-AuNE의 저장 안정성 평가 (4, 25 및 60℃에서 90일 안정성 연구)는 pH, DLS 측정, PDI 지수 및 제타 전위를 분석을 통해 수행되었다. 모든 측정은 실온에서, 제조 후 24~48시간 동안, 그리고 다른 온도에서 샘플을 보관할 때 세 번 수행하였다.

[0087] **실험예 5. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 특성**

[0088] FTIR, DLS, FE-TEM 분석을 통해 상기 실험예 3에서 제조된 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 특성을 분석하였다.

[0089] 구체적으로, FTIR 스펙트럼은 제형에서 표면 캡핑 물질을 평가하기 위해 수행되었다. 인삼 추출물, 인삼 종자유, 실리디아닌, 인삼 금 나노입자(SMG-AuNP) 및 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)의 FTIR 스펙트럼은 FTIR (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)을 사용하여 4500 ~ 500$cm^{-1}$ 범위에서 분석하였다.

[0090] 입자 크기 및 제타 전위는 ELSZ-2000 시리즈 (Otsuka Electronics Co., Osaka, Japan) 제타 분석기를 사용하여 25° C (RT), 4° C 및 60° C에서 측정되었다. 스핀들 CPE 41 (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA)이 있는 Brookfield 점도계를 사용하여 다른 온도에서 나노에멀젼의 점도를 측정하였다.

[0091] 나노에멀젼의 pH는 디지털 pH 미터 (Orion 3 Star, Thermo Scientific, India)를 통해 실온에서 기록하였다. 또한 다양한 온도(4, 25, 60° C)에서 디지털 pH 미터 (Orion Star A 111, Thermo Scientific, India)를 사용하여 나노에멀젼의 pH를 측정하였다.

[0092] 최적화된 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노입자(SMG-AuNP) 및 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)의 표면 형태는 작동 전압이 200kV인 다기능 200kV 작동 JEM-2100F (JEOL, Akishima, Tokyo, Japan)를 사용하여 결정하였다. 소량의 샘플을 측정하기 위해 구리 그리드를 사용하였다. 합성된 금 분포를 관찰하기 위한 원소 매핑은 Quantax EDX 분광법 (Bruker, Ewing, NJ, USA)으로 분석하였다.

[0094] **실험예 6. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 세포독성**

[0095] 쥐 대식세포 (RAW 264.7), 정상 인간 진피섬유아세포 (normal human dermal fibroblast, NHDF) 및 인간 각질세포 (HaCaT)는 한국 세포주 은행 (KCLB, 서울, 한국)에서 구입하였고, 모든 세포는 DMEM 배지에서 배양하였다. MTT 분석을 위해, NHDF 및 HacaT 세포를 농도가 1x$10^5$ cells/well이 되도록 microtiter plate의 웰에 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포에 SMG-AuNE (5, 10, 20, 40㎍/mL)을 처리하였다. 24시간 후, 각 웰에 MTT 시약을 100㎕씩 첨가하였다. 보라색 침전물이 현미경으로 명확하게 보이면 DMSO 100mL를 모든 웰에 첨가하였다. 플레이트를 덮고 microtiter plate reader (SpectraMax ABS plus, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)에서 실온의 암실에 2시간 동안 두었다.

[0097] **실험예 7. 산화 질소 생산**

[0098] RAW 264.7 세포를 DMEM 배지에서 배양한 후 24시간 내에 96 웰 플레이트 (1 x $10^5$cells/well)에서 분리하였다. RAW 264.7 세포를 자극하기 위해 LPS (1㎍/mL)를 사용하였다. 대식세포는 LPS 및 다른 농도 (5, 10, 20, 40㎍/mL)의 SMG-AuNE를 24시간 동안 처리하였다. 상층액 100㎕을 취한 후 Griess 시약 (Thermo Fisher Scientific) 100㎕이 들어있는 새로운 96웰 플레이트로 옮겼다. 흡광도는 microtiter plate reader (SpectraMax ABS plus, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 질소 생성 ($NaNO_2$)은 산화 질소 (NO)의 산화를 결정하기 위한 표준으로 사용되었다.

[0100] **실험예 8. ROS 염색**

[0101] raw cell에 SMG-AuNE (10, 20, 40㎍/mL) 및 LPS을 24시간 동안 처리하였다. 그 후, ROS/superoxide 검출 믹스를 첨가하고 1시간 동안 배양하였다. 그 후, 검출 혼합액을 제거하고 이미지를 캡처하는데 사용되는 PBS 및 형광 현미경 (Leica Microsystems, Bustleton Pike Feasterville, PA, USA)으로 나머지 시약을 세척하였다. 위의 과정은 ROS/superoxide detection (cell based) kit (Abcam, Cambridge, UK)을 이용하여 제조사의 매뉴얼대로 수행하였다.

[0103] **실험예 9. RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction)**

[0104] Raw 264.7 세포를 SMG-AuNE로 전처리한 후 LPS를 24시간 동안 처리하였다. total mRNA는 TRIsure 시약 (Meridian Bioscience, Cincinnati, OH, USA)을 사용하여 추출하였다. cDNA (Helix Cript Easy CDNA synthesis kit, NanoHelix, Daejeon, Republic of Korea) 기반 oligo dT (primer)를 이용하여 total RNA의 Reverse transcriptase를 전사하였다. RealHelix ™ Premier qPCR Kit (Nanohelix, 대전, 대한민국)를 사용하

여 PCR 장비 (Rotor-Gene Q; Qiagen, Hilden, Germany)에서 qPCR을 수행하였다. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)는 하우스 키핑 유전자로 사용하였고, 본 실험에 사용 된 프라이머 서열은 하기 표 2와 같다.

*표 2*

[0105]

| Primer | | Sequence |
|---|---|---|
| GAPDH | Forward | 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3 |
| | Reverse | 5'-CCACCACCCTGTTGCTGTAG-3 |
| IL-1β | Forward | 5'-TGCAGAGTTCCCCAACTGGTACATC-3' |
| | Reverse | 5'-GTGCTGCCTAATGTCCCCTTGAATC-3' |
| IL-6 | Forward | 5'-AGCCCACGTCGTAGCAAACCACCAA-3' |
| | Reverse | 5'-AACACCCATTCCCTTCACAGAGCAAT-3' |
| iNOS | Forward | 5'-AATGGCAACATCAGGTCGGCCATCACT-3 |
| | Reverse | 5'-GCTGTGTGTCACGAAGTCTCGAACTC-3 |
| TNF-α | Forward | 5'-AGCCCACGTCGTAGCAAACCACCAA-3' |
| | Reverse | 5'-AACACCCATTCCCTTCACAGAGCAAT-3' |
| IKKα | Forward | 5'-GGCCTGTGATGTCCTGAAGAATT-3 |
| | Reverse | 5'-TCGAATCCCAGACCCTATATCACT-3 |
| NF-κB | Forward | 5'-TATTTCAACCACAGATGGCACTGC-3 |
| | Reverse | 5'-CAGATTTTGACCTGAGGGTAAGAC-3 |

[0106] **실험예 10. 웨스턴 블롯팅**

[0107] 웨스턴 블롯팅을 통해 SMG-AuNE이 단백질 발현에 미치는 영향을 분석하였다. 정량은 Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하였고, RIPA 용해 완충액 (Abcam, Cambridge, UK)을 사용하여 SMG-AuNE이 처리된 Raw264.7 세포에서 총 단백질을 추출하였다. 추출된 단백질은 SDS PAGE를 통해 전개되었다. 전개된 단백질을 polyvinylidene fluoride (PVDF) 막 (EMD Millipore, Billerica, MA, USA)으로 옮겼다.

[0108] PVDF 막은 실온에서 Tris-buffered saline (pH 7.0)에 용해된 5% 탈지유로 블로킹되었고, 0.1% tween 20이 함유된 PBS로 3회 세척하였다. 세척된 PVDF 막을 4° C에서 밤새도록 1차 항체와 함께 배양한 후 세척하였다. 그 후 PVDF막에 2차 항체를 처리한 후 2시간 동안 배양하였다. 단백질 밴드는 ATTO LuminiGraph III lite chemiluminescence gel imaging system (Atto, Tokyo, Japan)에서 ECL (chemiluminescent)을 사용하여 시각화 시켰다. 단백질 발현 밴드 강도는 Image J 프로그램 (National Institute of Health, Bethesda, MD, USA)에 의해 정량화하였다. 상대적 발현은 하우스 키핑 단백질로 사용 된 β-액틴의 밴드를 이용하여 계산하였다.

[0110] **실험예 11. 통계학적 분석**

[0111] 모든 실험은 적어도 3회 수행하였다. 데이터는 Microsoft Excel을 사용하여 평균 ± 표준 편차로 표현하였다. GraphPad Prism 버전 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA), ImageJ 및 Origin Pro 소프트웨어 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA)를 사용하여 데이터를 분석하였다. 다른 처리 농도 간의 통계 분석은 one-way analysis of variance (ANOVA)에 이어 Student's t-test를 사용하여 평가되었다. $P < 0.05$, $P < 0.01$ 및 $P < 0.001$은 통계적으로 유의하였다.

[0113] **[실시예]**

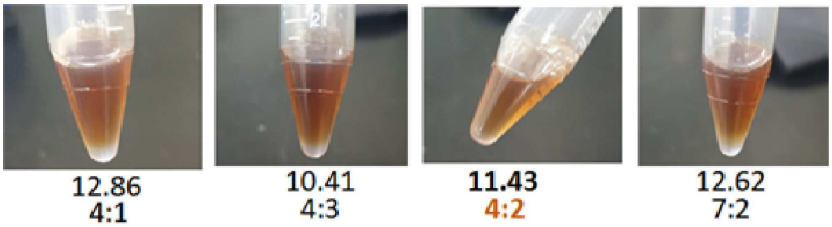
[0114] **실시예 1. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼 제형**

[0115] o/w 에멀젼에서 원하는 계면 활성제 최적화는 9-12 이내여야 한다. 이에, 계면 활성제를 최적화하고 HLB(hydrophilic lipophilic balance) 차트에 따른 공식을 적용하여 값을 계산하였다. 계산 결과는 표 3에 나타내었다.

표 3

[0116]

| Surfactant (mixed) | Composition(%, *v/v*) | HLB value |
|---|---|---|
| Tween 80: Span 80 | 4:1 | 12.86 |
| Tween 80: Span 80 | 4:3 | 10.41 |
| **Tween 80: Span 80** | **4:2** | **11.43** |
| Tween 80: Span 80 | 7:2 | 12.62 |




[0118] 표 2에 나타낸 바와 같이, 4% Tween 80 및 2% Span 80의 HLB value가 11.43로 최적화되었다. 즉, 표준 HLB 값을 얻기 위해 두 가지 계면 활성제를 사용하여 완전히 혼합할 수 있고, Tween 80 및 Span 80 HLB 값은 각각 15 및 4.3임을 확인하였다. 상기 계면 활성제는 혼합되지 않는 두 액체 사이의 계면 장력을 감소시키고 미셀을 형성하는데 기여한다.

[0120] 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼 S1, S2, S3 및 S4의 저장 안정성을 평가하였다.

[0121] 그 결과, 1주 후 S4는 약간 크림색으로 변했고 S1과 S2에서 침전이 발견되었다. 관찰하는 동안 입자의 안정성은 크리밍(creaming) 및 침전의 존재와 상 분리에 의해 결정하였다. S2 조건만이 7일 후 가장 안정된 상태였다. 표 1에서와 같이 90일간 서로 다른 온도에서의 나노 에멀젼의 크기 변화(DLS 값)와 PDI값, Zetapotential, pH의 변화를 통해 안전성을 측정한 결과 두 가지 비이온성 계면 활성제의 HLB 값에 따른 그리핀 법칙 및 나노 에멀젼의 HLB 값 최적화 법칙에 따라 HLB 값이 10~11이 가장 이상적이지만, 실제 에멀젼은 S3가 가장 균일하게 나노에멀젼이 형성되었고 침전이 생성되지 않는 것을 확인하였다.

[0122] 후술되는 실험에서 사용한 SMG-AuNE는 수성 부분 80%(Mg-AuNP 30mg), 인삼 종자유 8%, 계면 활성제 6%을 포함하며, 5% 실리디아닌(30mg)을 함유한다.

[0124] **실시예 2. DLS 분석을 통한 저장 안정성 확인**

[0125] 제조된 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)의 저장 안정성은 다양한 온도 조건에서 3개월 동안 확인하였다. 상기 저장 안정성은 다양한 온도 조건(4, 25 및 60 °C)에서 액적 크기, PDI 값, 제타 전위 및 pH를 분석하였고, 그 결과는 각각 도 1A 내지 E에 나타내었다.

[0126] 도 1A 및 B에 나타낸 바와 같이, 4 °C 및 25 °C에서 SMG-AuNE의 particle크기는 상당히 비슷하였다. 그러나 60 °C에서 SMG-AuNE의 크기는 4 °C 및 25 °C 조건에서보다 증가하였고, 이는 열에 민감한 비이온성 계면 활성제에 의한 것으로 보인다. 또한 4 °C 및 25 °C에서 색변화 및 상분리가 관찰되지 않았으나, 60 °C에서는 거품 같은 질감이 관찰되었다.

[0128] PDI(Polydispersity index)는 누적 분석에서 파생된 크기 분포의 넓이에 대한 무차원 추정치(dimensionless estimate)이다. PDI가 0.08 미만인 경우 거의 단분산 샘플(monodisperse sample)을 의미하고, 0.08-0.70 범위는 중간값이다. 또한 PDI가 1에 가까운 경우(PDI>0.7) 액적 크기가 다양하다는 것을 의미한다. PDI를 분석한 결

과는 도 1C에 나타내었다.

[0129] 도 1C에 나타낸 바와 같이, SMG-AuNE 제조 시에는 식물 스테롤형 인지질이 풍부한 인삼 종자유를 사용하였는데, 이와 같이 제조된 SMG-AuNE의 PDI는 4° C에서 0.3이었다. 25° C 조건의 SMG-AuNE도 4° C 조건과 PDI가 유사했다. 또한 60° C 조건의 SMG-AuNE는 PDI 값이 0.52인 것을 확인하였다.

[0131] 제타 전위(zeta potential, ZP)는 나노 에멀젼의 표면 전하와 물리적 안정성을 측정하는 중요한 용어로, 분산액에서 하전된 입자 사이의 반발 정도를 의미한다. 높은 ZP는 강하게 하전된 입자를 의미하여 전기적 반발로 인한 입자 축적을 방지한다. 이와 달리, 낮은 ZP는 응고물 형성을 의미한다. 일반적으로, 제타 전위가 -30 내지 +30 mv 범위인 경우 더 나은 콜로이드 안정성을 달성하기 위한 적절한 반발력을 가지고 있다. SMG-AuNE의 제타 전위를 측정한 결과는 도 1D에 나타내었다.

[0132] 도 1D에 나타낸 바와 같이, SMG-AuNE의 제타 전위 값은 24.20 ± 0.2 mv로, 나노 에멀젼의 안정성이 양호한 것을 의미한다.

[0134] 0.3 이하의 PDI는 리포좀 및 나노 리포좀 제형과 같은 지질 기반 담체를 사용하는 약물 전달 응용에 적합한 것으로 간주되며, 인지질 소포의 균일한 집단을 제안한다. pH 값은 화학 반응의 최종 산물에 해를 끼칠 수 있기 때문에 pH의 역할은 에멀젼의 안정성을 확인하는 데 매우 중요하다. 다양한 온도에서 SMG-AuNE의 pH를 확인한 결과는 도 1E에 나타내었다.

[0135] 도 1E에 나타낸 바와 같이, SMG-AuNE는 모든 온도 조건에서 pH 값이 안정적인 것을 확인하였다. 특히, SMG-AuNE를 4° C에 저장하는 것이 에멀젼 제형에 이상적인 것으로 보인다.

[0137] 구체적인 액적 크기, PDI 값, 제타 전위 및 pH를 분석 결과는 표 4에 정리하였다.

표 4

| No. of parameter | 24hours | 90days observation | | |
|---|---|---|---|---|
| Temperature (°C) | Room Temperature | 4°C | 25°C | 60°C |
| Particle size (nm) | 214±0.60 | 218±0.20 | 282±0.42 | 444±0.40 |
| PDI value | 0.29±0.013 | 0.30±0.013 | 0.33±0.024 | 0.52±0.012 |
| Zeta potential (mV) | 26±2 | 24.20±0.2 | 22±0.17 | 11±.07 |
| pH value | 5.4±0.02 | 5.02±.0.07 | 5.54±0.03 | 5.36±03 |

[0138]

[0140] **실시예 3. FT-IR 분석**

[0141] 인삼 뿌리 추출물(MG), 인삼 종자유(GS oil), 실리디아닌(Silydianin), 인삼 금 나노입자(MG-AuNP), 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)의 FT-IR 분석을 수행하였다. FT-IR 스펙트럼 도 2에 나타내었다.

[0142] 도 2에 나타낸 바와 같이, SMG-AuNE에서 인삼 뿌리 추출물, MG-NPs 및 실리디아닌 작용기의 생리학적 피크가 관찰되었다. SMG-AuNE는 인삼 뿌리 추출물의 폴리페놀의 페놀 (-OH) 및 2차 아민 (-NH) 그룹과 실리디아닌의 아민 그룹을 나타내는 3286.14 $cm^{-1}$에서 넓은 피크가 확인되었다. 중간 (-CH) 스트레치 및 (-C=O) 스트레치의 작용기는 2852.27 $cm^{-1}$ 및 1636.35 $cm^{-1}$임을 확인하였다. MG-AuNPs 및 인삼 뿌리 추출물은 3455 내지 3262 $cm^{-1}$에서 인

삼 뿌리 추출물의폴리페놀 그룹의 작용기가 관찰되었다. 실리디아닌은 알칼리 분자의 C-H 신장을 나타내는 3006$cm^{-1}$ 및 2921$cm^{-1}$에서 작은 피크가 확인되었다. SMG-AuNE 및 MG-AuNP는 또한 금 나노 입자 존재의 C=O 아미드 결합을 구성하는 1696$cm^{-1}$ 및 1627$cm^{-1}$에서 피크를 나타낸다. 상기 결과는 MG-AuNPs 및 실리디아닌이 매개된 인삼 뿌리 추출물에서 SMG-AuNE를 만드는데 성공했음을 시사한다.

[0144] **실시예 4. FE-TEM 분석**

[0145] FE-TEM 분석을 통해 SMG-AuNE의 형태를 결정하였다. SMG-AuNPs 및 SMG-AuNE의 TEM 이미지는 각각 도 3A 및 B에 나타내었다. 또한 SMG-AuNE의 50 및 100 nm 범위의 TEM 이미지는 도 3C 및 D에 각각 나타내었다.

[0146] 도 3A 내지 D에 나타낸 바와 같이, SMG-AuNPs 및 SMG-AuNE은 대부분 구형이었고, 그 중 일부는 피라미드 꽃잎 모양(pyramid petal)이다. 또한 내부의 식물 화합물을 덮는 파이토케미칼(phytochemical)인 여러 개의 투명한 유기층이 있는 것을 확인하였다.

[0148] 추가적으로, SMG-AuNP 및 SMG-AuNE의 EDS 매핑을 수행하였으며, 그 결과는 도 3E 및 F에 나타내었다.

[0149] 도 3E 및 F에 나타낸 바와 같이, EDS 매핑결과, SMG-AuNE 및 SMG-AuNP 모두에 금 원자가 존재하는 것을 확인하였다.

[0151] **실시예 5. 정상 세포에서 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 세포 독성**

[0152] MTT 분석을 통해 다양한 세포 (Raw 264.7, HaCaT, NHDF)에 대한 SMG-AuNE의 세포 독성을 평가하였다. 구체적으로, 모든 세포에 다양한 농도의 SMG-AuNE (5, 10, 20, 40㎍/mL)를 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 대조군은 MG-AuNPs 또는 실리디아닌을 처리하였다. 배양 종료 후 세포 독성을 평가하였다. Raw 264.7, HaCaT 및 NHDF 세포에 대한 세포 독성은 각각 도 4A 내지 C에 나타내었다.

[0153] 도 4A 내지 C에 나타낸 바와 같이, 모든 세포주에 대해 실험 농도 범위에서 유의한 독성이 없는 것을 확인하였다. 특히, 최고 농도 (40㎍/mL)에서 Raw 264.7 및 HaCaT 세포가 95% 이상 생존하였고, NHDF 세포는 89.51% 생존하였다.

[0155] **실시예 6. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 산화질소 억제 효과**

[0156] 산화질소는 다양한 생리적 및 병리학적 과정에 관여하는 포유류 체내에서 발견되는 중요한 두번째 메신저 분자이다. 많은 정상적인 생리적 기능을 위해서는 적절한 NO 생산이 필요하다. 그러나 과도한 NO는 만성 염증, 암 및 패혈증 등을 유발한다. 이에, LPS 매개 Raw 264.7 대식세포에 대한 SMG-AuNE의 NO 생성 억제 효과를 조사하였다. 본 실험의 대조군은 인삼 금 나노입자(MG-AuNP) 처리군 및 실리디아닌 처리군이다. NO 생성 억제 효과를 확인한 결과는 도 5A에 나타내었다.

[0157] 도 5A에 나타낸 바와 같이, 대조군인 SMG-AuNPs 처리군 및 silydianin 처리군은 LPS 활성화 Raw 264.7 세포에서 NO 생성 억제 효과가 거의 없는 것을 확인하였다. SMG-AuNE 처리군은 NO 생산이 용량의존적으로 감소되었음을 확인하였다. 특히 SMG-AuNE 처리군의 최고 농도 (40㎍/mL)는 NO 생성 억제효과가 매우 우수했다.

[0158] 상기 결과에 따라, SMG-AuNE가 우수한 NO 생성 억제 효과를 나타내는 농도(즉, 10, 20, 40㎍/mL) 범위에서 다음의 실험들을 수행하였다.

[0160] **실시예 7. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 활성산소종 억제 효과**

[0161] 활성산소종 (reactive oxygen species , ROS) 생성으로 인해 많은 염증성 질환이 진행된다. 이에, SMG-AuNE의 활성산소종 억제 효과를 조사하였다. 본 실험의 대조군은 인삼 금 나노입자(MG-AuNP) 처리군 및 실리디아닌 처리군이다. SMG-AuNE의 활성산소종 억제 효과를 확인한 결과는 도 5B에 나타내었다.

[0162] 도 5B에 나타낸 바와 같이, LPS 처리로 자극된 Raw 264.7 세포는 ROS 생성이 증가된 것을 확인하였다. 이와 달

리, SMG-AuNE 10, 20, 40㎍/mL 처리군은 ROS는 각각 55, 40 및 24%로, 현저히 억제된 것을 확인하였다.

[0164] **실시예 8. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼의 전염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokine) 발현 억제 효과**

[0165] SMG-AuNE가 전염증성 사이토카인 iNOS, COX2, IL-6, IL-1β 및 TNFα의 발현에 미치는 영향을 분석하였다. 본 실험의 대조군은 인삼 금 나노입자(MG-AuNP) 처리군 및 실리디아닌 처리군이다. SMG-AuNE 처리에 따른 전염증성 사이토카인의 발현을 분석한 결과는 도 6에 나타내었다.

[0166] 도 6에 나타낸 바와 같이, SMG-AuNE는 MG-AuNPS 처리군 및 실리디아닌 처리군에 비해 모든 전염증성 사이토카인의 발현을 유의하게 감소시켰다. 특히 SMG-AuNE는 전염증성 사이토카인 중 IL-6 및 TNFα를 현저히 억제하는 것을 확인하였다.

[0168] **실시예 9. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼이 NF-kB 신호전달 경로에 미치는 영향**

[0169] NF-kB를 제어하는 유전자는 염증 반응의 핵심 매개체이며, 선천면역 및 적응면역의 다양한 측면을 조절한다. IKK 계열의 구성원을 포함한 억제 단백질 계열은 일반적으로 세포질에서 NF-kB 단백질을 분리한다. IKK 복합체의 서브유닛 (Ikkα 및 Ikkβ)에 의한 부위특이적 인산화로 인한 IkkB의 유도성 분해는 NF-kB 활성화의 주요 메커니즘이다. 활성화되면 IKK는 Ⅰκkα를 인산화하여 프로테아좀에서 유비퀴틴 의존적 Ⅰκkα 분해를 빠르게 유도하고, NF-kB 신호전달 경로 신속하고 일시적인 핵 전좌를 초래한다.

[0170] SMG-AuNE가 NF-kB 신호전달 경로에 미치는 영향을 분석하였다. 본 실험의 대조군은 인삼 금 나노입자(MG-AuNP) 처리군 및 실리디아닌 처리군이다. 분석 결과는 도 7에 나타내었다.

[0171] 도 7에 나타낸 바와 같이, SMG-AuNE는 LPS 자극 Raw 264.7 세포에서 TLR4 발현을 억제하고 TLR4 신호 전달로 인한 NF-κB 활성을 억제하는 것을 확인하였다. p-NF-kB와 p-Ikkα의 단백질 발현은 LPS 자극에 의해 유의하게 증가하였다. 그러나 SMG-AuNE를 다양한 농도(10, 20 및 40 ㎍/mL)로 전처리함에 따라 IKK 인산화가 각각 70, 50.4 및 18.6% 억제된 것을 확인하였다. 또한 NF-κB 단백질 발현은 SMG-AuNE 40 ㎍/mL 처리군에서 20.2% 억제되었다. 이와 달리, SMG-AuNPs 및 실리디아닌 처리군에서는 억제 효과가 확인되지 않았다.

[0173] **실시예 10. 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼이 MAPK 신호전달 경로에 미치는 영향**

[0174] 마이토젠 활성화 단백질 (Mitogen-activated protein, MAP) 키나아제는 단백질 구조, 특히 포유류에서 고도로 보존된 단백질-세린/트레오닌 키나아제의 그룹이다. phosphorelay cascade는 ERK, JNK 및 p38을 포함하는 이러한 키나아제를 조절하여 서로를 순차적으로 인산한다. 일반적인 메커니즘에 따라 LPS는 여러 염증 유발 사이토카인 (iNOS, IL-6, TNF-α, Cox-2)의 전사를 유발하는 MAPK 경로를 유도하고 염증을 유발하는 NO 생성을 증가시킨다. 연구에 따르면 만성 염증이 MAPK 경로에서 암 발병으로 진행될 수 있다는 몇 가지 영향이 있음이 알려져 있다.

[0175] SMG-AuNE가 MAPK 신호전달 경로에 미치는 영향을 분석하였다. 본 실험의 대조군은 인삼 금 나노입자(MG-AuNP) 처리군 및 실리디아닌 처리군이다. 분석 결과는 도 8에 나타내었다.

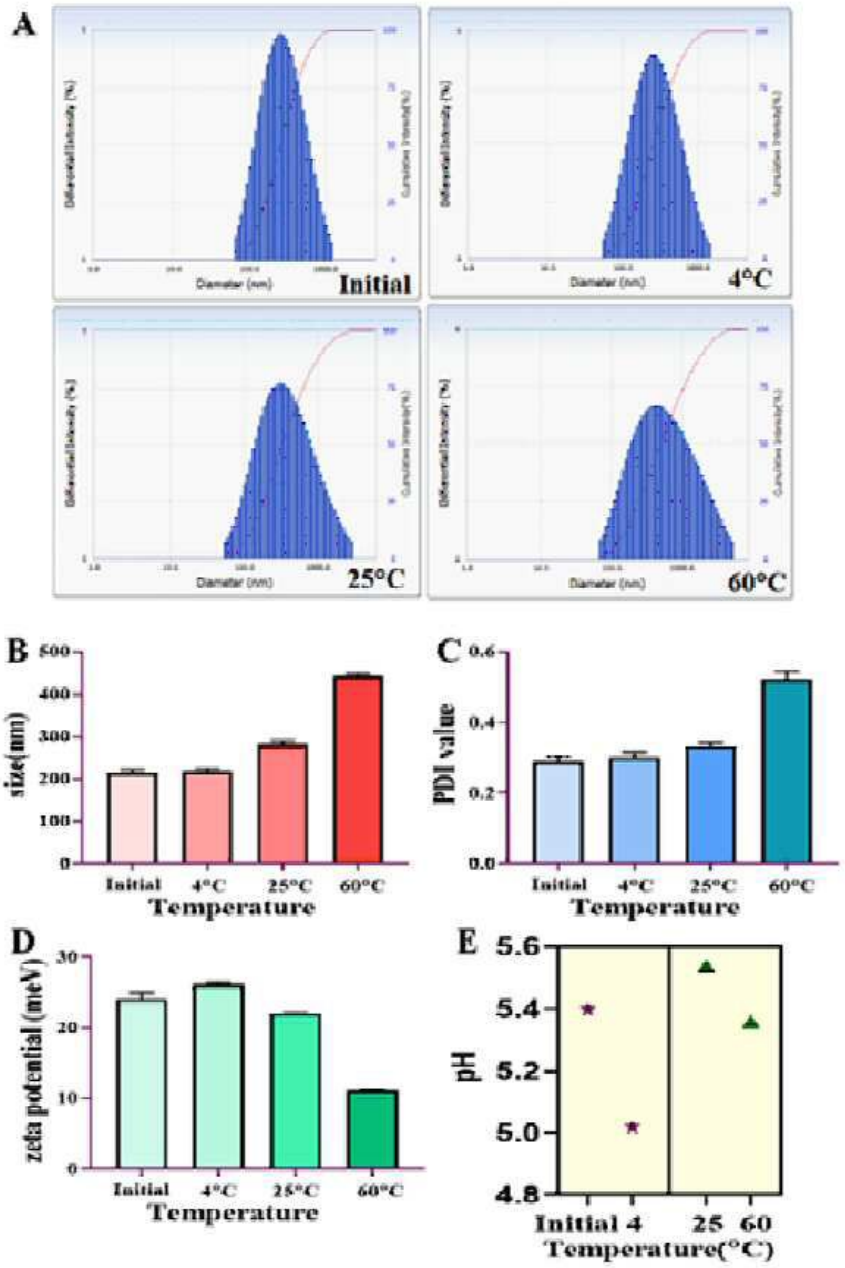
[0176] 도 8에 나타낸 바와 같이, ERK 및 p38 MAPK의 인산화는 LPS 처리 후 유의하게 증가된 것을 확인하였다. LPS로 유도된 인산화를 줄이기 위하여 SMG-AuNE를 다양한 농도 (10, 20 및 40 ㎍/mL)로 전처리한 결과, SMG-AuNE는 인산화를 현저히 감소시키는 것을 확인하였다. 이와 달리, SMG-AuNPs 및 실리디아닌 처리군에서는 억제 효과가 확인되지 않았다.

[0178] 종합적으로 본 발명자들은 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼(SMG-AuNE)을 개발하고, 이의 현저한 항염증 활성을 확인하였다. 또한 상기 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼은 세포독성이 없고, 저장 안정성이 우수한 것을 확인하였다. 본 발명의 실리디아닌을 포함하는 인삼 금 나노에멀젼은 염증억제를 위한 식품 및 제약 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

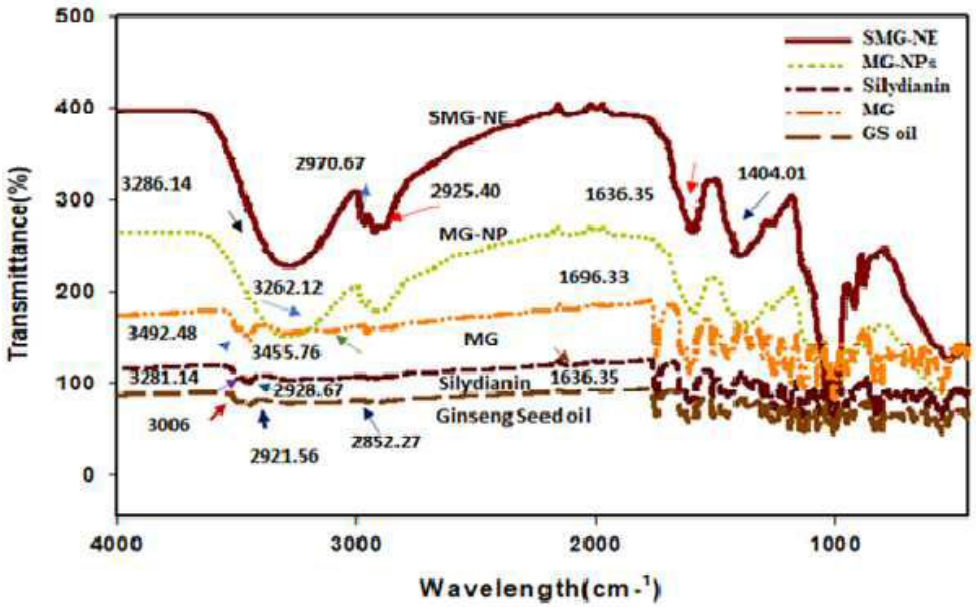
[0180] 이상, 본 발명내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 정의된다고 할 것이다.

## 도면

### 도면1

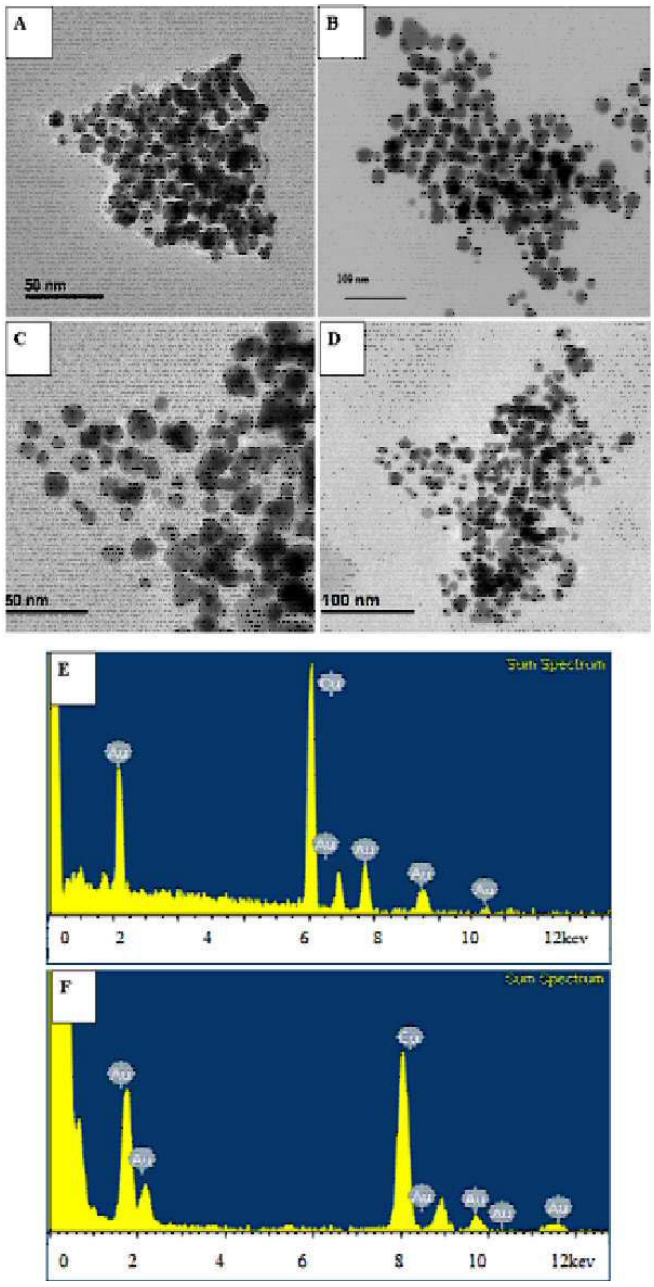


도면2

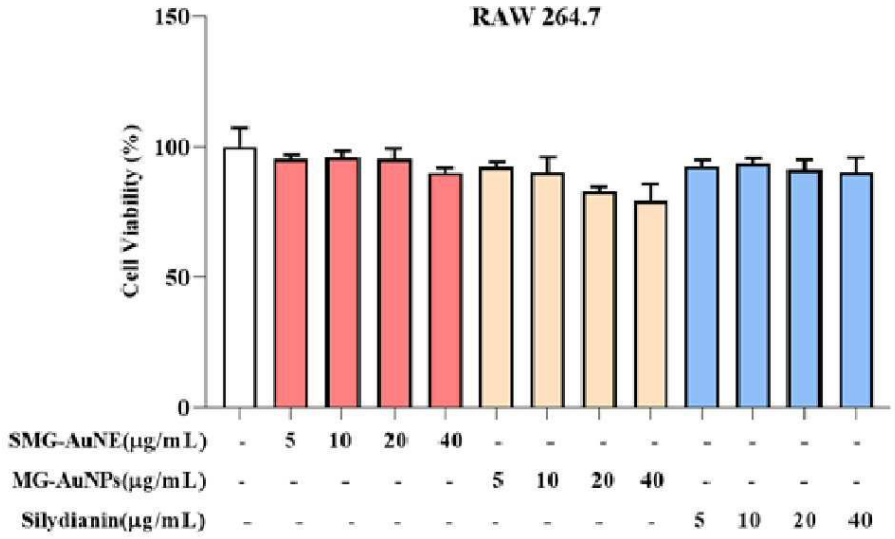



| Type of bond | Wavenumbers (cm-1) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | SMG-AuNE | MG-AuNPs | MG extract | Silydianin | Ginseng seed oil |
| O-H stretching | 3281.14 | 3262.12 | 3286.60 | 3270.38 | |
| C-H stretching | 2928.67 | | 2925.67 | 2957.05 | 2921.56 |
| C=O stretching | 1626.35 | 1636.33 | 1597.09 | 1611.38 | |
| CH3,CH2 asym metric stretching | 1459.27 | | 1405.33 | 1474.11 | 1455.21 |
| C-O stretching | 1250.44 | | 1271.21 | | 1226.52 |
| =CH of aromatic | | | 878.55, 521.82 | 569.90,820.90 | 720.57,583.65 |

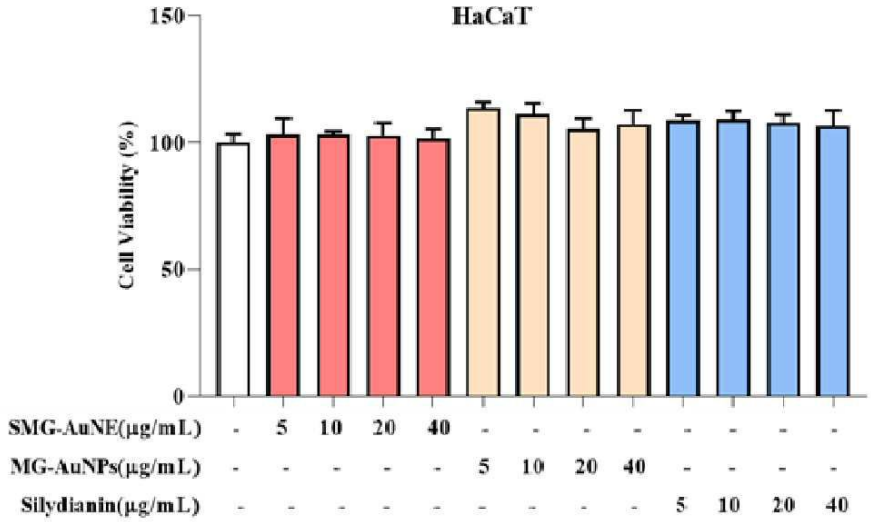
도면3


A
50 nm
B
C
50 nm
D
100 nm
E
Sum Spectrum
Cu
Au
Au
Au
Au
0
2
4
6
8
10
12kev
F
Sum Spectrum
Au
Au
Cu
Au
Au
Au
0
2
4
6
8
10
12kev

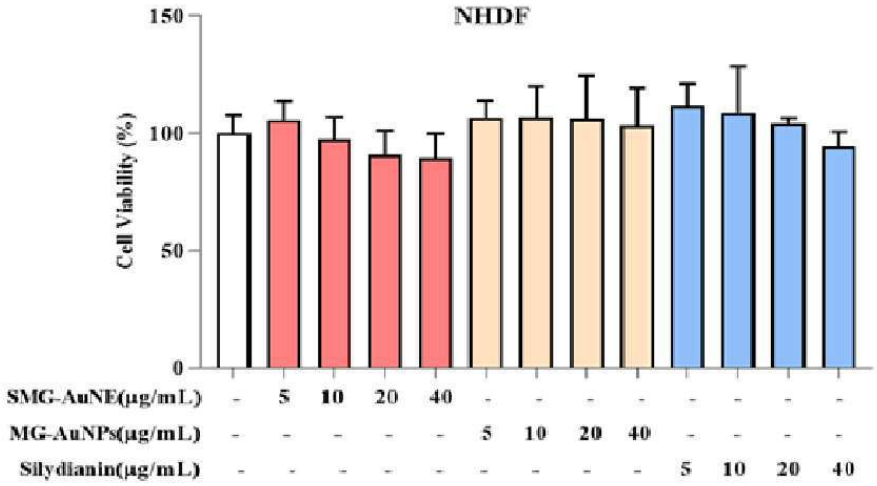
도면4a


RAW 264.7
Cell Viability (%)
150
100
50
0
SMG-AuNE(μg/mL) - 5 10 20 40 - - - - - - - -
MG-AuNPs(μg/mL) - - - - - 5 10 20 40 - - - -
Silydianin(μg/mL) - - - - - - - - - 5 10 20 40

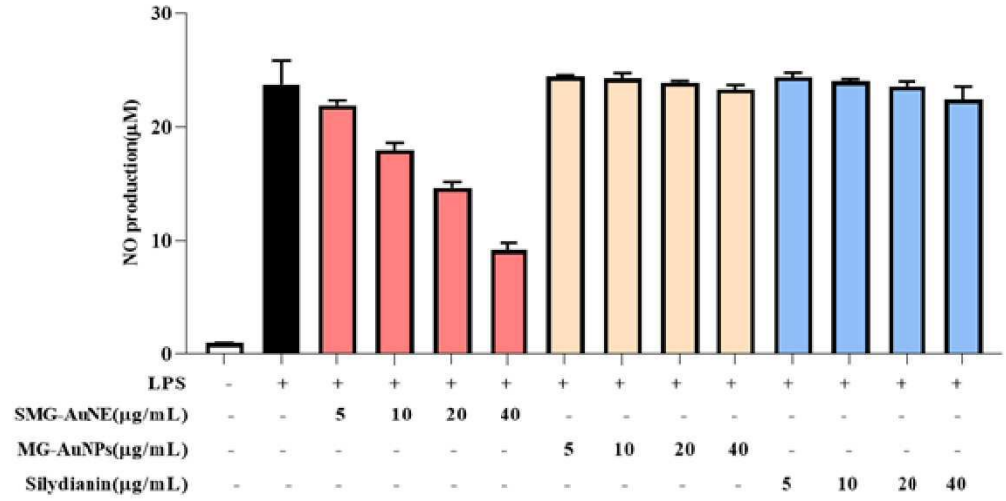
도면4b


HaCaT
Cell Viability (%)
150
100
50
0
SMG-AuNE(μg/mL) - 5 10 20 40 - - - - - - - -
MG-AuNPs(μg/mL) - - - - - 5 10 20 40 - - - -
Silydianin(μg/mL) - - - - - - - - - 5 10 20 40

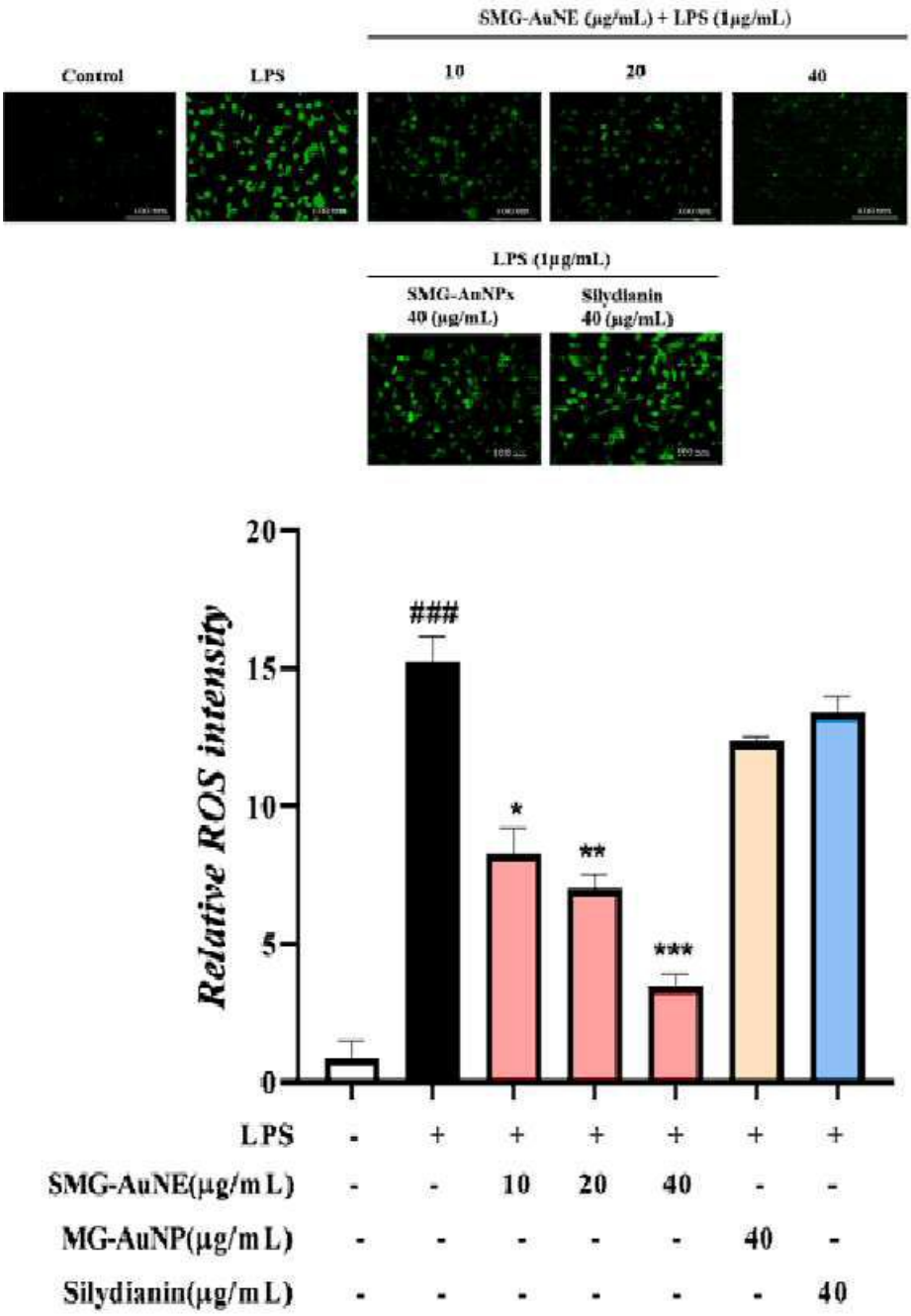
도면4c


NHDF
Cell Viability (%)
150
100
50
0
SMG-AuNE(μg/mL) - 5 10 20 40 - - - - - - - -
MG-AuNPs(μg/mL) - - - - - 5 10 20 40 - - - -
Silydianin(μg/mL) - - - - - - - - - 5 10 20 40

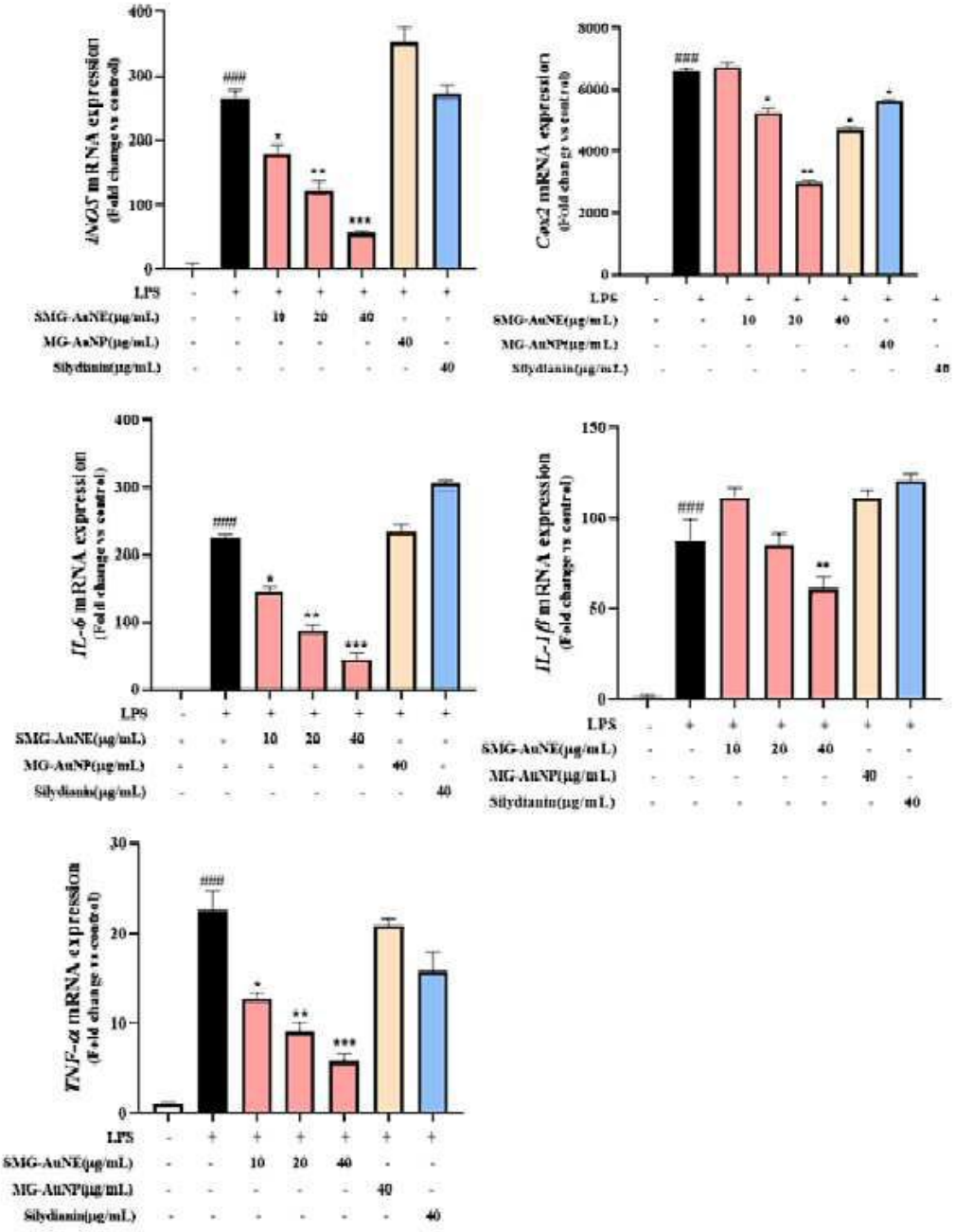
도면5a


NO production(μM)
30
20
10
0
LPS - + + + + + + + + + + + + +
SMG-AuNE(μg/mL) - - 5 10 20 40 - - - - - - - -
MG-AuNPs(μg/mL) - - - - - - 5 10 20 40 - - - -
Silydianin(μg/mL) - - - - - - - - - - 5 10 20 40

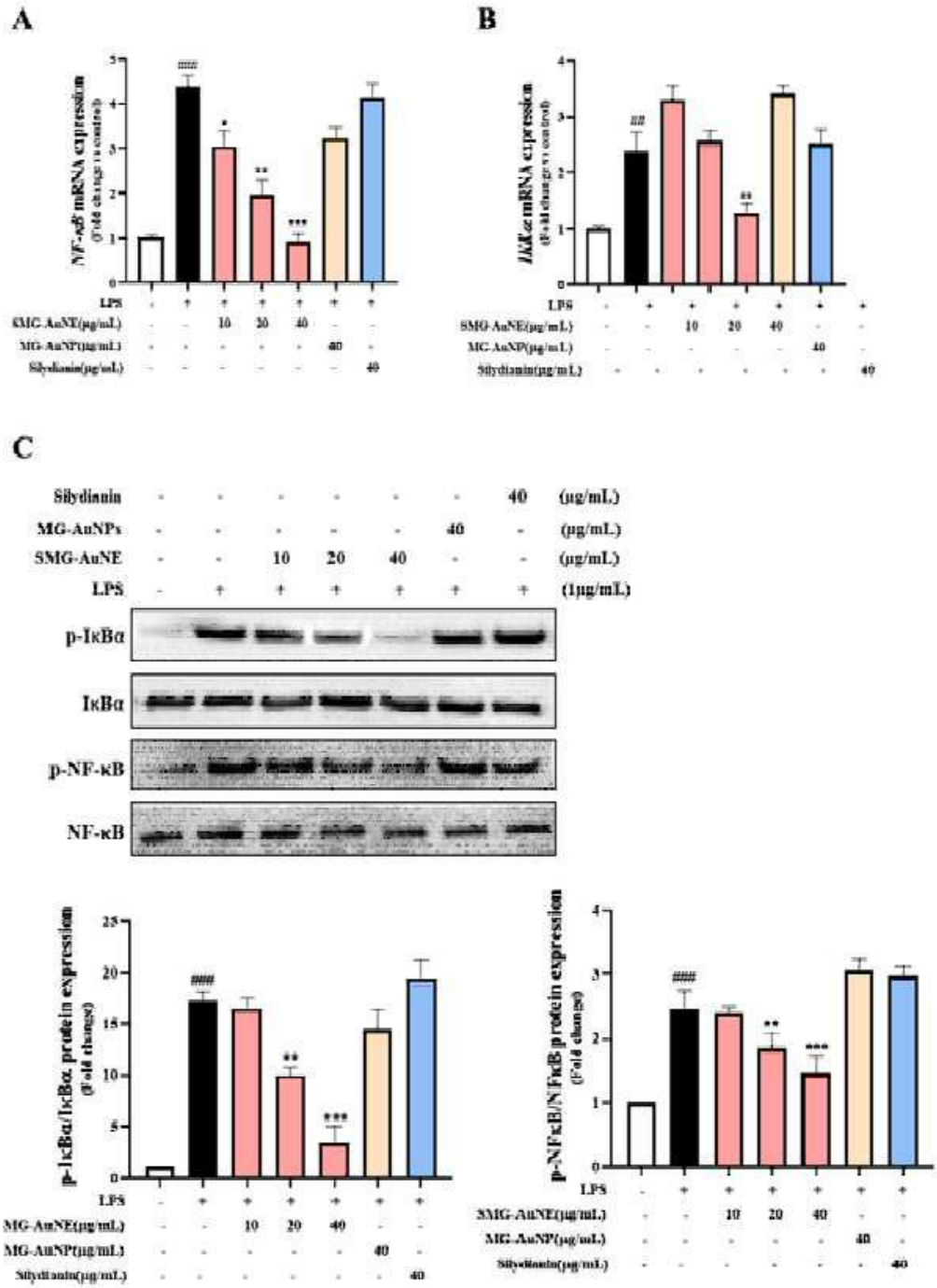
도면5b


SMG-AuNE (μg/mL) + LPS (1μg/mL)
Control
LPS
10
20
40
LPS (1μg/mL)
SMG-AuNPs
40 (μg/mL)
Silydianin
40 (μg/mL)
Relative ROS intensity
20
15
10
5
0
###
*
**
***
LPS - + + + + + +
SMG-AuNE(μg/mL) - - 10 20 40 - -
MG-AuNP(μg/mL) - - - - - 40 -
Silydianin(μg/mL) - - - - - - 40

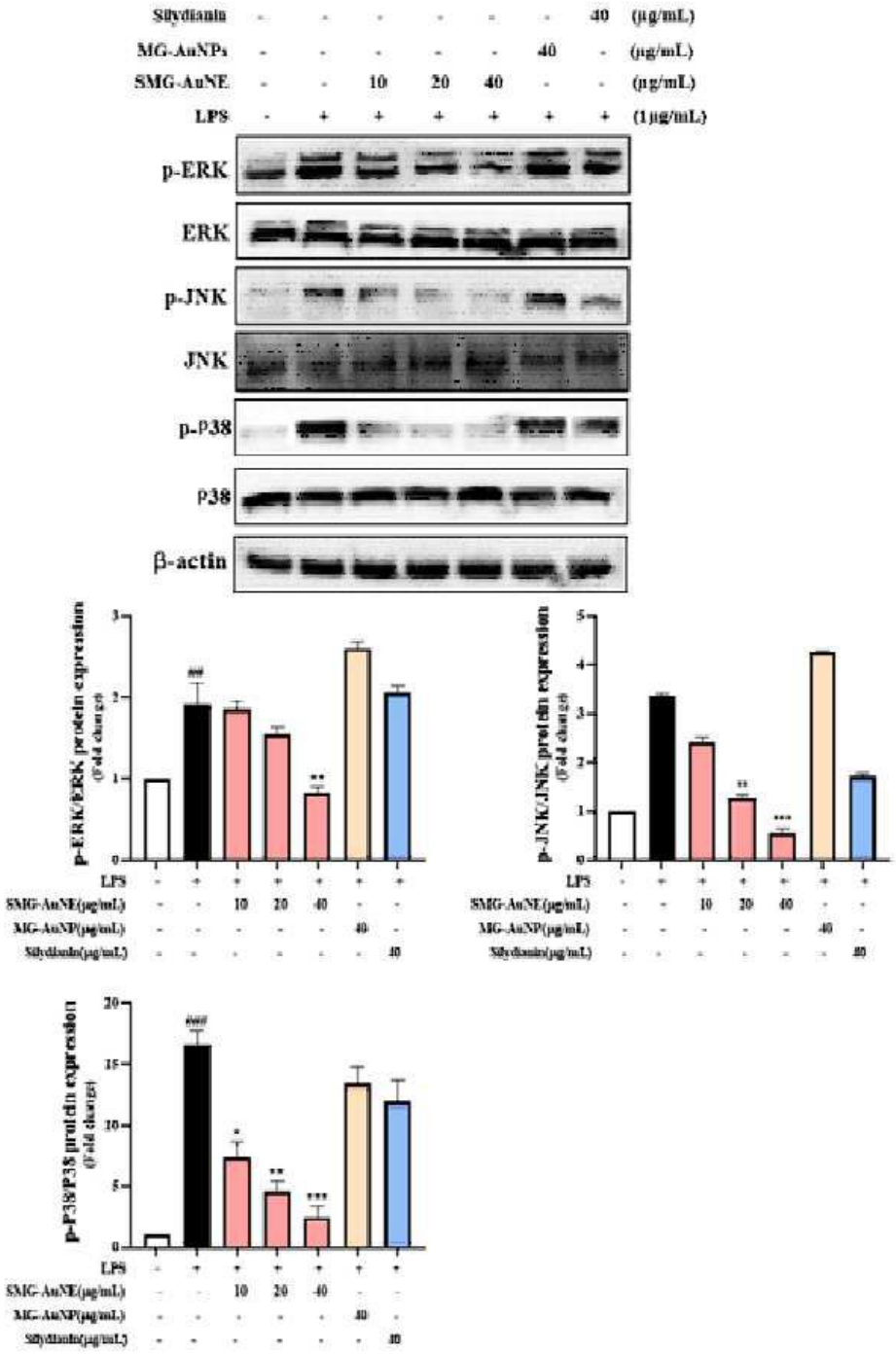
도면6


iNOS mRNA expression
(Fold change vs control)
Cox2 mRNA expression
(Fold change vs control)
IL-6 mRNA expression
(Fold change vs control)
IL-1β mRNA expression
(Fold change vs control)
TNF-α mRNA expression
(Fold change vs control)
LPS
SMG-AuNE(μg/mL)
MG-AuNP(μg/mL)
Silydianin(μg/mL)

도면7


A
B
C
LPS
SMG-AuNE(μg/mL)
MG-AuNP(μg/mL)
Silydianin(μg/mL)
Silydianin
MG-AuNPs
SMG-AuNE
(μg/mL)
(1μg/mL)
p-IκBα
IκBα
p-NF-κB
NF-κB

도면8


Silydianin - - - - - - 40 (μg/mL)
MG-AuNPs - - - - - 40 - (μg/mL)
SMG-AuNE - - 10 20 40 - - (μg/mL)
LPS - + + + + + + (1μg/mL)
p-ERK
ERK
p-JNK
JNK
p-P38
P38
β-actin
p-ERK/ERK protein expression (Fold change)
p-JNK/JNK protein expression (Fold change)
p-P38/P38 protein expression (Fold change)
LPS
SMG-AuNE(μg/mL)
MG-AuNP(μg/mL)
Silydianin(μg/mL)