



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0014299  
(43) 공개일자 2015년02월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/75 (2006.01) A61K 36/61 (2006.01)

A61K 36/60 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0089791

(22) 출원일자 2013년07월29일

심사청구일자 2013년07월29일

(71) 출원인

건양대학교산학협력단

충청남도 논산시 대학로 121 (내동)

박정미

충청남도 논산시 노성면 노성로475번길 19

(72) 발명자

유영춘

대전 유성구 은구비로 31, 509동 2101호 (지족동, 열매마을5단지)

박정미

충청남도 논산시 노성면 노성로475번길 19

(74) 대리인

김대영, 김대영

전체 청구항 수 : 총 5 항

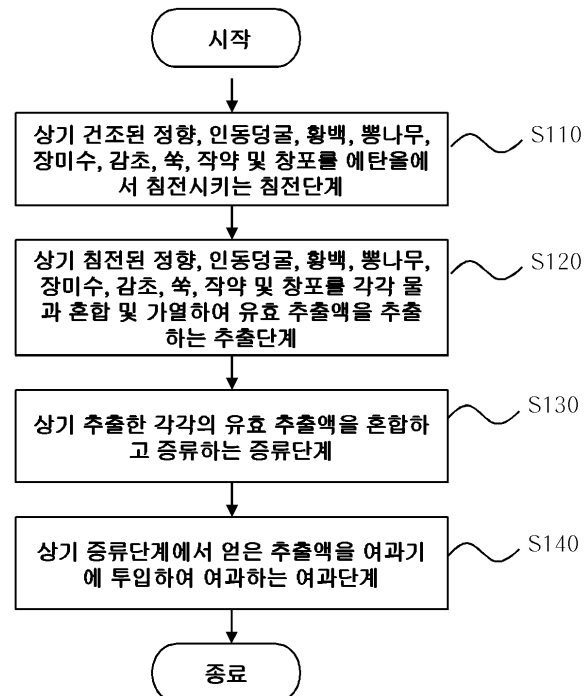
(54) 발명의 명칭 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물

### (57) 요약

본 발명은 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포를 세정하고, 유효 추출액이 용이하게 추출되도록 20~30분 동안 15~20%의 에탄올에서 침전시키는 침전단계; 상기 침전단계에서 에탄올은 버리고, 상기

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



침전된 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포를 각각 물과 혼합 및 가열하여 유효 추출액을 추출하는 추출단계; 상기 추출단계에서 추출한 각각의 유효 추출액을 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 4~5시간 동안 증류하는 증류단계; 및 상기 증류단계에서 얻은 추출액을 여과기에 투입하여 2~4회 여과하는 여과단계;가 포함되어 구성되는 것을 특징으로 한다. 본 발명에 따른 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물은 천연 식물성 소재를 원료로 하여 열추출 및 증류 과정을 통해 항염증 활성 효과를 갖고, 인체에 무해한 효과가 있다.

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0040560

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 (사)한국산학연합회

연구사업명 산학공동기술개발지원사업

연구과제명 천연소재로부터 고기능성 항염증 바이오제품의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 건양대학교산학협력단

연구기간 2012.06.01 ~ 2013.05.31

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포를 세정하고, 유효 추출액이 용이하게 추출되도록 20~30분 동안 15~20%의 에탄올에서 침전시키는 침전단계(S110);

상기 침전단계(S110)에서 에탄올을 버리고, 상기 침전된 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포를 각각 물과 혼합 및 가열하여 유효 추출액을 추출하는 추출단계(S120);

상기 추출단계(S120)에서 추출한 각각의 유효 추출액을 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 4~5시간 동안 증류하는 증류단계(S130); 및

상기 증류단계(S130)에서 얻은 추출액을 여과기에 투입하여 2~4회 여과하는 여과단계(S140);

가 포함되어 구성되는 것을 특징으로 하는 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 침전단계(S110)는

황백 100 중량부에 대해 정향 550~600 중량부, 인동덩굴 250~300 중량부, 뽕나무 350~400 중량부, 장미수 150~200 중량부, 감초 50~100 중량부, 쑥 150~200 중량부, 작약 50~100 중량부 및 창포 50~100 중량부를 침전시키는 것을 특징으로 하는 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법.

### 청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 추출단계(S120)는

황백 100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하고,

정향 550~600 중량부에 대하여 물 1000 중량부를 혼합하며,

인동덩굴 250~300 중량부에 대하여 물 500 중량부를 혼합하고,

뽕나무 350~400 중량부에 대하여 물 800 중량부를 혼합하며,

장미수 150~200 중량부에 대하여 물 400 중량부를 혼합하고,

감초 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하며,

쑥 150~200 중량부에 대하여 물 400 중량부를 혼합하고,

작약 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하며,

창포 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하는 것을 특징으로 하는 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법.

### 청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 증류단계(S130)는

황백 유효 추출액 50 중량부에 대해 정향의 유효 추출액 200 중량부, 인동덩굴의 유효 추출액 100 중량부, 뽕나무의 유효 추출액 200 중량부, 장미수의 유효 추출액 100 중량부, 감초의 유효 추출액 50 중량부, 쑥의 유효 추출액 100 중량부, 작약의 유효 추출액 100 중량부 및 창포의 유효 추출액 100 중량부를 혼합하는 것을 특징으로 하는 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법.

## 청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항으로 이루어지는 것을 특징으로 하는 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물.

## 명세서

### 기술분야

[0001] 본 발명은 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포 등 천연 식물성 소재를 이용하여 항염증 활성 효과를 갖는 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물에 관한 것이다.

### 배경기술

[0002] 일반적으로 염증이란 중이염(中耳炎) 또는 늑막염(肋膜炎) 등과 같이 끝 자가 염(炎)으로 되는 것 외에, 전염성 질환(결핵 또는 매독 등) 등 많은 것에서 볼 수 있는 병의 총칭으로서, 일상의 대부분의 병이 이것에 속한다.

[0003] 이러한 염증은 어떤 자극에 대한 생체조직의 방어반응의 하나로, 생체 조직의 손상에 대한 국소적인 방어보호 반응으로 혈액성분이 혈관벽을 통하여 조직으로 빠져나오는 현상이다. 이 과정에 관여하는 화학물질은 히스타민(Histamine), 류코트리엔(Leukotriene), 키니스(Kinis) 및 프로스타글랜딘(Prostaglandin)이다. 히스타민은 혈액과 림프액이 손상된 부위에 더 많이 오도록 작용하고, 키니스는 근육의 수축을 완화하여 모세혈관의 혈액운반을 원활하게 하며, 통증이 느껴지도록 한다. 또한, 프로스타글랜딘은 백혈구가 세포내로 유입되었을 경우 합성되어 통증과 열을 발생시키게 된다.

[0004] 최근 사회적 스트레스의 증가와 환경오염 및 식문화의 급격한 변화 및 고령화에 의한 노령인구의 증가 등에 의해 염증을 유발할 만한 요인들이 증가되고 있고, 이로 인해 알러지, 천식, 염증성 장질환 또는 관절염 등 염증 관련 질환의 발생도 크게 증가하는 추세이다.

[0005] 예를 들어, 한국공개특허 제10-2012-0051928호(2012.05.23.자 공개)는 항염증 활성을 갖는 도토리 추출물 및 이 추출물을 함유하는 약리적 조성물에 관한 것이고, 한국공개특허 제10-2012-0049043호(2012.05.16.자 공개)는 홍합 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 항염증 조성물에 관한 것이다.

[0006] 이처럼, 염증은 많은 질병을 유발하는 원인이 되므로 염증을 억제하는 기능을 가진 소재를 탐색하여 기능성 식품과 의약소재로 개발하기 위한 노력이 활발하게 진행되고 있다.

[0007] 하지만, 이러한 염증 억제용 바이오소재는 수입에 의존하고 있는 것이 실상이다. 예로서, 관절염은 유효한 치료제가 없이 비스테로이드계 항염증제, 항류마티스 조절제, 스테로이드 제제와 진통제가 주로 사용되고 있는데 이는 관절부위의 통증이나 경직감을 완화시킬 수는 있으나 질병의 진행을 억제하지 못할 뿐만 아니라 지속적으로 복용할 경우 위장관계나 심혈관계 등에서 부작용을 일으킬 수 있다.

[0008] 그러므로 현재 인체에 부작용을 일으키지 않도록 하여 안전하고, 항염증 효과가 뛰어난 천연 항염증 바이오소재의 개발이 절실히 요구되는 상황이다.

### 선행기술문헌

#### 특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2012-0051928호(2012.05.23.자 공개)

(특허문헌 0002) 한국공개특허 제10-2012-0051928호(2012.05.16.자 공개)

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0010] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 감안하여 안출된 것으로, 본 발명의 목적은, 천연 식물성 소재를 원료로 하여 열추출 및 증류 과정을 통해 항염증 활성 효과를 갖고, 인체에 무해한 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물을 제공하는데 있다.

### 과제의 해결 수단

- [0011] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 특징에 따르면, 제 1발명은, 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 씩, 작약 및 창포를 세정하고, 유효 추출액이 용이하게 추출되도록 20~30분 동안 15~20%의 에탄올에서 침전시키는 침전단계; 상기 침전단계에서 에탄올을 버리고, 상기 침전된 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 씩, 작약 및 창포를 각각 물과 혼합 및 가열하여 유효 추출액을 추출하는 추출단계; 상기 추출단계에서 추출한 각각의 유효 추출액을 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 4~5시간 동안 증류하는 증류단계; 및 상기 증류단계에서 얻은 추출액을 여과기에 투입하여 2~4회 여과하는 여과단계;가 포함되어 구성되는 것을 특징으로 한다.
- [0012] 제 2발명은, 제 1발명에서, 상기 침전단계는 황백 100 중량부에 대해 정향 550~600 중량부, 인동덩굴 250~300 중량부, 뽕나무 350~400 중량부, 장미수 150~200 중량부, 감초 50~100 중량부, 감초 50~100 중량부, 씩 150~200 중량부, 작약 50~100 중량부 및 창포 50~100 중량부를 침전시키는 것이 바람직하다.
- [0013] 제 3발명은, 제 1발명에서, 상기 추출단계는 황백 100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하고, 정향 550~600 중량부에 대하여 물 1000 중량부를 혼합하며, 인동덩굴 250~300 중량부에 대하여 물 500 중량부를 혼합하고, 뽕나무 350~400 중량부에 대하여 물 800 중량부를 혼합하며, 장미수 150~200 중량부에 대하여 물 400 중량부를 혼합하고, 감초 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하며, 씩 150~200 중량부에 대하여 물 400 중량부를 혼합하고, 작약 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하며, 창포 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하는 것이 바람직하다.
- [0014] 제 4발명은, 제 1발명에서, 상기 증류단계는 황백 유효 추출액 50 중량부에 대해 정향의 유효 추출액 200 중량부, 인동덩굴의 유효 추출액 100 중량부, 뽕나무의 유효 추출액 200 중량부, 장미수의 유효 추출액 100 중량부, 감초의 유효 추출액 50 중량부, 씩의 유효 추출액 100 중량부, 작약의 유효 추출액 100 중량부 및 창포의 유효 추출액 100 중량부를 혼합하는 것이 바람직하다.
- [0015] 제 5발명은, 제 1발명 내지 제 4발명에 의해 이루어지는 조성물을 특징으로 한다.

### 발명의 효과

- [0016] 본 발명에 따른 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물은 천연 식물성 소재를 원료로 하여 열추출 및 증류 과정을 통해 항염증 활성 효과를 갖고, 인체에 무해한 효과가 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법을 나타내는 순서도이고,
- 도 2는 RAW 264.7 세포에 대한 B02의 세포독성을 측정한 그래프이며,
- 도 3은 LPS 자극 RAW 264.7 세포에서 B02의 NO분비 억제효과를 나타내는 그래프이고,
- 도 4는 LPS 자극 RAW 264.7 세포에서 B02의 PGE2 분비 억제효과를 나타내는 그래프이며,
- 도 5a 내지 5b는 LPS 자극 RAW 264.7세포에서 B02의 TNF- $\alpha$  및 IL-6 분비 억제효과를 나타내는 그래프이고,
- 도 6은 B02 전처리에 의한 세포 내 iNOS 및 COX-2 발현 억제효과를 나타내는 그래프이며,
- 도 7a 내지 7b는 iNOS 및 COX-2 발현에 대한 Densitometric analysis를 나타내는 그래프이고,
- 도 8은 B02 전처리에 의한 MAPK활성화 억제효과를 나타내는 그래프이며,
- 도 9a 내지 9c는 MAPK 활성화 억제에 대한 Densitometric analysis를 나타내는 그래프이고,
- 도 10은 B02 전처리에 의한 NF-kB 활성화 억제효과를 나타내는 그래프이며,
- 도 11a 내지 11b는 NF-kB 활성화 억제에 대한 Densitometric analysis를 나타내는 그래프이고,
- 도 12a 내지 12c는 LPS투여 마우스에서 혈중 사이토카인의 분비억제효과를 나타내는 그래프이다.

#### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하에서는 본 발명에 따른 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법 및 그 조성물에 관하여 첨부되어진 도면과 함께 더불어 상세히 설명하기로 한다.
- [0019] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법을 나타내는 순서도이다.
- [0020] 도 1에 도시된 바와 같이 본 발명은 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포 등 천연 식물성 소재를 이용하여 항염증 활성 효과를 갖는 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법에 관한 것이다.
- [0021] 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물 제조방법은 크게 4 단계로 구성되는데, 이는 침전단계(S110), 추출단계(S120), 증류단계(S130) 및 여과단계(S140)를 포함하여 구성된다.
- [0022] 상기 침전단계(S110)는 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포를 세정하고, 유효 추출액이 용이하게 추출되도록 20~30분 동안 15~20%의 에탄올에서 침전시키는 단계이다. 또한, 상기 에탄올은 주정으로 사용될 수 있다.
- [0023] 이때, 상기 침전단계(S110)는 황백 100 중량부에 대해 정향 550~600 중량부, 인동덩굴 250~300 중량부, 뽕나무 350~400 중량부, 장미수 150~200 중량부, 감초 50~100 중량부, 감초 50~100 중량부, 쑥 150~200 중량부, 작약 50~100 중량부 및 창포 50~100 중량부를 침전시킬 수 있다.
- [0024] 또한, 상기 침전단계(S110)에서 상기 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포는 에탄올 투입 전에 적정 크기로 절단하여 투입될 수 있다.
- [0025] 상기 추출단계(S120)는 상기 침전단계(S110)에서 에탄올을 버리고, 상기 침전된 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포를 각각 물과 혼합 및 가열하여 유효 추출액을 추출하는 단계이다.
- [0026] 이때, 상기 추출단계(S120)는 황백 100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 1~2시간 동안 가열하여 유효 추출액 150 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0027] 또한, 상기 추출단계(S120)는 정향 550~600 중량부에 대하여 물 1000 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 4~5시간 동안 가열하여 유효 추출액 600 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0028] 또한, 상기 추출단계(S120)는 인동덩굴 250~300 중량부에 대하여 물 500 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 1~2시간 동안 가열하여 유효 추출액 200 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.

- [0029] 또한, 상기 추출단계(S120)는 뽕나무 350~400 중량부에 대하여 물 800 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 3~4시간 동안 가열하여 유효 추출액 400 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0030] 또한, 상기 추출단계(S120)는 장미수 150~200 중량부에 대하여 물 400 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 1~2시간 동안 가열하여 유효 추출액 200 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0031] 또한, 상기 추출단계(S120)는 감초 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 1~2시간 동안 가열하여 유효 추출액 150 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0032] 또한, 상기 추출단계(S120)는 쑥 150~200 중량부에 대하여 물 400 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 1~2시간 동안 가열하여 유효 추출액 200 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0033] 또한, 상기 추출단계(S120)는 작약 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 1~2시간 동안 가열하여 유효 추출액 150 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0034] 또한, 상기 추출단계(S120)는 창포 50~100 중량부에 대하여 물 300 중량부를 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 1~2시간 동안 가열하여 유효 추출액 150 중량부를 추출하는 단계일 수 있다.
- [0035] 상기 증류단계(S130)는 상기 추출단계(S120)에서 추출한 각각의 유효 추출액을 혼합하고, 110~120℃의 온도에서 4~5시간 동안 증류하는 단계이다.
- [0036] 이때, 상기 증류단계(S130)에서 혼합하는 각각의 유효 추출액은 인동덩굴의 유효 추출액 100 중량부에 대해 정향의 유효 추출액 200 중량부, 황백의 유효 추출액 50 중량부, 뽕나무의 유효 추출액 200 중량부, 장미수의 유효 추출액 100 중량부, 감초의 유효 추출액 50 중량부, 쑥의 유효 추출액 100 중량부, 작약의 유효 추출액 100 중량부 및 창포의 유효 추출액 100 중량부일 수 있다.
- [0037] 상기 여과단계(S140)는 상기 증류단계(S130)에서 얻은 추출액을 여과기에 투입하여 2~4회 여과하는 단계이다.
- [0038] 본 발명의 개시된 제조방법에 의해 천연 식물성 소재인 황백, 정향, 인동덩굴, 뽕나무, 장미수, 감초, 쑥, 작약 및 창포를 통해 추출한 추출물(이하, B02라 칭함)은 독성이 없는 자연성분으로 인체에 무해하여 부작용이 없는 효과가 있다.

[0039] [실험예 1]

표 1

| 재료명  | 재료 첨가량(g) | 물 첨가량(ml) | 가열 온도(℃) | 가열 시간(h) | 추출액 회수량(ml) |
|------|-----------|-----------|----------|----------|-------------|
| 정향   | 600       | 1,000     | 110~120  | 5        | 600         |
| 인동덩굴 | 300       | 500       | 110~120  | 2        | 200         |
| 황백   | 100       | 300       | 110~120  | 2        | 150         |
| 뽕나무  | 400       | 800       | 110~120  | 4        | 400         |
| 장미수  | 200       | 400       | 110~120  | 2        | 200         |
| 감초   | 100       | 300       | 110~120  | 2        | 150         |
| 쑥    | 200       | 400       | 110~120  | 2        | 200         |
| 작약   | 100       | 300       | 110~120  | 2        | 150         |
| 창포   | 100       | 300       | 110~120  | 2        | 150         |

[0041] 상기 표 1에 따라 본 발명의 천연 식물성 소재를 이용한 항염증 활성 조성물을 실험하였다.

[0042] 도 2는 RAW 264.7 세포에 대한 B02의 세포독성을 측정한 그래프이다.

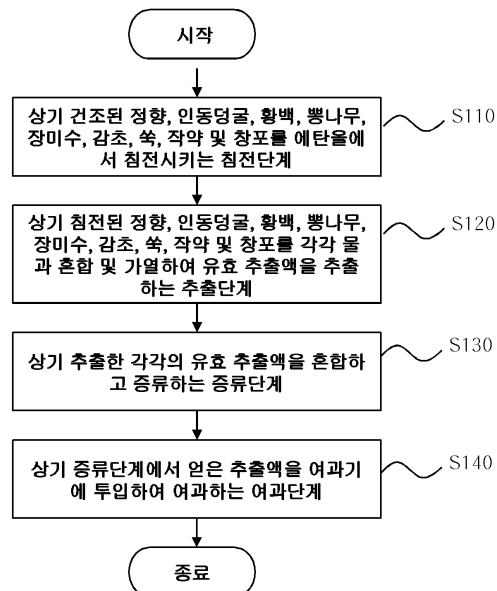
[0043] MTT에 의해 B02의 세포독성을 측정한 결과, B02는 10배 희석 농도까지 세포 증식경 별다른 영향을 주지 않는 안전한 농도인 것으로 확인되었다.

- [0044] 도 3은 LPS 자극 RAW 264.7 세포에서 B02의 NO분비 억제효과를 나타내는 그래프이고, 도 4는 LPS 자극 RAW 264.7 세포에서 B02의 PGE2 분비 억제효과를 나타내는 그래프이며, 도 5a 내지 도 5b는 LPS 자극 RAW 264.7세포에서 B02의 TNF- $\alpha$  및 IL-6 분비 억제효과를 나타내는 그래프이다.
- [0045] 염증성 매개인자의 하나인 NO의 분비에 대한 B02의 억제효과를 측정한 결과, 세포독성을 나타내지 않았던 10배 희석부터 50배 희석의 농도까지 B02 전처리에 의해 LPS로 자극한 RAW 264.7 세포에서 NO의 생성억제 효과가 관찰되었다.
- [0046] 또한, LPS로 자극한 대식세포에서 분비되는 중요한 염증매개인자로서 PGE2가 있고, 상기 PGE2 생성에 대한 효과를 측정한 결과, B02 전처리에 의해 PGE2의 생성도 용이하게 억제되는 것으로 확인되었다.
- [0047] 한편, 염증반응에서 대식세포로부터 분비되는 중요한 염증성 사이토카인으로 TNF- $\alpha$ 와 IL-6가 있고, 이들 사이토카인의 분비에 대한 B02의 억제활성을 조사하였다. 그 결과 TNF- $\alpha$ 와 IL-6 모두에 있어서 NO에서와 동일하게 B02의 전처리에 의해 용이하게 억제되는 것으로 확인되었다.
- [0048] 이러한 결과로부터 B02는 LPS에 의한 대식세포의 염증반응에 있어서, NO와 PGE2는 물론 염증성 사이토카인의 분비를 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.
- [0049] 도 6은 B02 전처리에 의한 세포 내 iNOS 및 COX-2 발현 억제효과를 나타내는 그래프이고, 도 7a 내지 7b는 iNOS 및 COX-2 발현에 대한 Densitometric analysis를 나타내는 그래프이다.
- [0050] iNOS는 염증반응의 자극에 의해 유도되는 NO 생합성 효소로서, 이 효소의 발현량을 조사하여 NO 분비 억제에 관한 작용기전을 해석할 수 있다. 또한, COX-2는 염증성 매개인자의 하나인 PGE2를 생성하는 효소로서 역시 LPS 자극에 의해 세포 내 발현량이 증가하게 된다. 상기 iNOS 및 COX-2 효소의 세포 내 발현을 측정한 결과, B02를 전처리한 경우 상기 iNOS 및 COX-2 효소의 세포 내 발현이 현저하게 억제되었고, 이 억제 효과는 B02의 농도에 의한 것으로 나타났다.
- [0051] 또한, Western blot에 의한 실험결과를 정량적으로 관찰하기 위해 Densitometer를 이용하여 분석한 결과에서도 이들 효소의 현저한 발현억제가 확인되었다.
- [0052] 도 8은 B02 전처리에 의한 MAPK활성화 억제효과를 나타내는 그래프이고, 도 9a 내지 도 9c는 MAPK 활성화 억제에 대한 Densitometric analysis를 나타내는 그래프이며, 도 10은 B02 전처리에 의한 NF-kB 활성화 억제효과를 나타내는 그래프이고, 도 11a 내지 도 11b는 NF-kB 활성화 억제에 대한 Densitometric analysis를 나타내는 그래프이다.
- [0053] LPS자극에 의해 대식세포가 염증작용을 일으킬 경우에는 다양한 세포 내 신호전달을 통해 염증이 유도된다. 특히 p38, JNK 및 ERK와 같은 MAPK는 이러한 염증반응에 있어서 매우 중요한 신호전달 분자로서 이들 분자의 인산화에 의해 염증반응이 유발된다.
- [0054] B02를 처리한 그룹에 있어서 이들 3개 분자의 인산화가 모두 현저하게 억제되는 것으로 확인되어, 한국산 김 추출물에 의한 항염증 활성은 MAPK의 활성화 억제와 관련있는 것으로 확인되었다.
- [0055] 한편, LPS자극에 의한 대식세포의 염증 유발 기전에는 NF-kB의 활성화에 의한 핵 내 전위가 중요하고, 이 NF-kB는 평상 시에는 I-kB와 결합되어 있어 핵 내 전위가 불가능하나, I-kB가 인산화되면 NF-kB가 자유로운 상태로 바뀌어 핵 내 전위가 일어나게 된다. 그러므로, NF-kB의 활성화는 I-kB의 인산화를 통해 측정할 수 있다.
- [0056] B02를 LPS 자극 전에 전처리한 경우, LPS에 의한 I-kB의 인산화가 농도에 의존하여 억제되는 것으로 확인되었다. 또한, I-kB가 인산화됨으로서 NF-kB로부터 유리되면서 세포질에서 분해되는 과정이 B02의 처리에 의해 억제되는 것으로 확인되었다.
- [0057] 이러한 결과를 종합해보면, B02에 의한 항염증 활성은 MAPK와 NF-kB의 활성화 억제, 그리고 COX-2와 iNOS 등의 효소발현의 억제를 통한 NO와 PGE2생성의 저해 및 염증성 사이토카인의 억제 등과 같은 일련의 기전을 통해 일어나는 것을 알 수 있다.

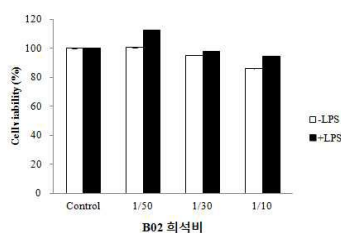
- [0058] 도 12a 내지 도 12c는 LPS투여 마우스에서 혈중 사이토카인의 분비억제효과를 나타내는 그래프이다.
- [0059] In vitro실험에서 확인된 B02의 항염증 효과를 in vivo모델에서 검토하였다. Balb/c마우스에 LPS를 400 ug/mouse로 미정맥을 통해 주사하면 2시간 뒤에 혈중 염증성 사이토카인 농도가 최고치에 달하는 실험모델을 이용하였다.
- [0060] B02를 원액 혹은 1/3로 희석한 용액을 1일 1회 총 3일간 복강주사한 후, LPS를 투여하고, 2시간 후의 혈청을 채취하여 ELISA kit에 의해 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-1 $\beta$ 와 같은 염증성 사이토카인의 혈중농도를 정량하였다. 그 결과 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 혈중 농도는 B02를 투여한 마우스에서 매우 미미하게 감소하였으나, IL-1 $\beta$ 의 혈중 농도는 B02의 투여에 의해 현저히 감소하는 것으로 확인되었다.
- [0061] 이상에서와 같이 본 발명의 권리는 위에서 설명된 실시예에 한정되지 않고 청구범위에 기재된 바에 의해 정의되며, 본 발명의 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 청구범위에 기재된 권리범위 내에서 다양한 변형과 개작을 할 수 있다는 것은 자명하다.

## 도면

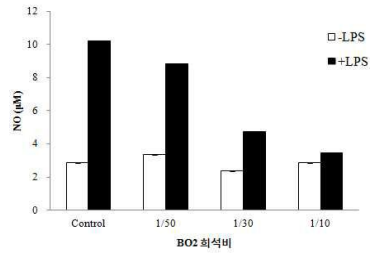
### 도면1



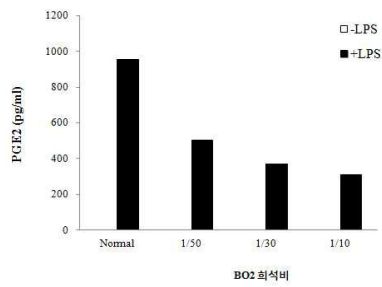
### 도면2



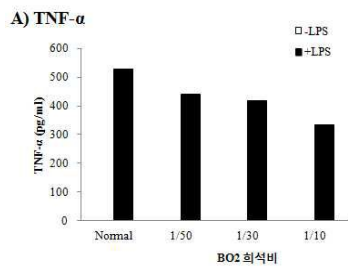
도면3



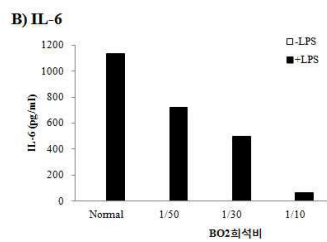
도면4



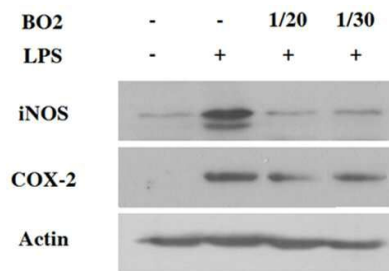
도면5a



도면5b

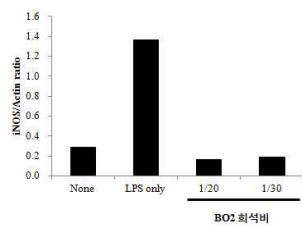


도면6



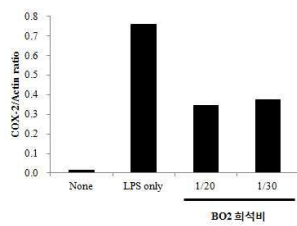
도면7a

A) iNOS/Actin

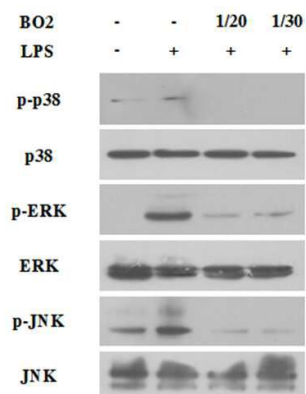


도면7b

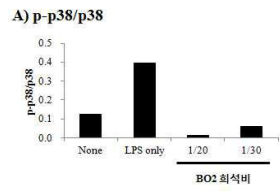
B) COX-2/Actin



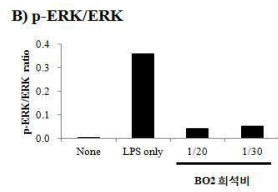
도면8



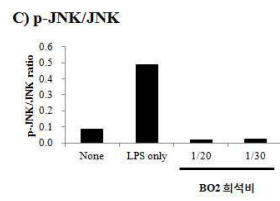
### 도면9a



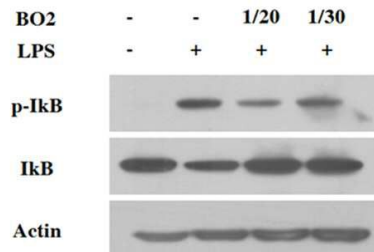
### 도면9b



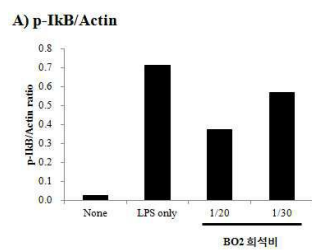
### 도면9c



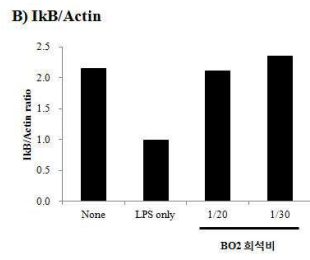
### 도면10



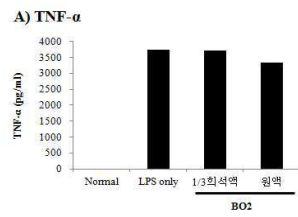
### 도면11a



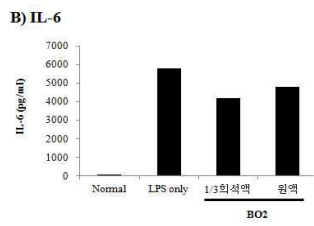
도면11b



도면12a



도면12b



도면12c

