



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0067541  
(43) 공개일자 2023년05월16일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 36/234 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)  
A61P 37/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 36/234 (2013.01)  
A23L 33/105 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2022-0146994  
(22) 출원일자 2022년11월07일  
심사청구일자 2022년11월07일
- (30) 우선권주장  
1020210151944 2021년11월08일 대한민국(KR)
- (71) 출원인  
계명대학교 산학협력단  
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교  
산학협력관 201호(신당동)
- (72) 발명자  
양선아  
경상북도 칠곡군 왜관읍 아곡5길 79, 동호빌리지  
A동
- 이재열  
대구광역시 남구 자유5길 72(대명동)  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인태백

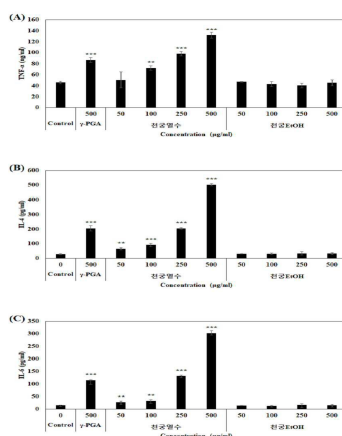
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 천궁 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 조성물

### (57) 요약

본 발명은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 조성물에 관한 것으로, 천궁 열수 추출물이 세포 독성 없이 RAW264.7 대식세포에서 산화질소(nitric oxide) 및 사이토카인(TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6) 생성을 증가시키는 것을 확인함으로써, 면역증진용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

**A61P 37/02** (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

(72) 발명자

**전영준**

경상북도 구미시 거양4길 19(거의동)

**박재형**

대구광역시 수성구 신매로 21, 262동 1202호(신매동, 시지보성서한타운아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711124846

과제번호 2020-DG-RD-0156-01

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 (재단)연구개발특구진흥재단

연구사업명 연구개발특구육성(R&D)

연구과제명 미나리 · 천궁 · 대추 단일/복합 추출물을 활용한 항염증 · 항알러지 제품 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 주식회사제이콥코리아

연구기간 2020.12.10 ~ 2021.11.09

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 약학 조성물.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 산화질소(nitric oxide) 생성을 증가시키는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

#### 청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-4(interleukin-4) 및 IL-6(interleukin-6)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 사이토카인 생성을 증가시켜 면역반응을 향상시키는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

#### 청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 약학 조성물은 약학 조성물 총 100 중량부에 대하여, 천궁 열수 추출물이 0.01 내지 90 중량부로 포함되는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

#### 청구항 5

천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 건강기능식품 조성물.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 조성물에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 면역은 체내에 존재하는 자기방어체계로서, 외부로부터 침입해 오는 각종 물질이나 생명체를 이물질로 인식하여 제거하고 대사시키는 과정이다. 외부 자극에 의한 손상이나 병원 미생물의 침입으로부터 자신을 방어하기도 하지만 염증반응 등과 같이 자기 자신의 조직에 손상을 유발할 수도 있다. 면역 작용은 면역기능의 변화를 조절하여 정상으로 회복시키는 면역기능 증강 작용과 면역기능의 변화 폭을 줄여주는 면역기능 억제 작용으로 구분될 수 있다. 과민 면역반응 완화는 외부 물질에 불리하게 반응하여 초래되는 알레르기 반응, 자기항원 또는 변형된 자기항원에 대한 반응 등 바람직하지 않게 증가된 면역 반응을 억제시키는 것을 의미한다.

[0003] 면역 기능을 증가시키기 위한 목적으로 일차적으로 대식세포(macrophage)의 활성화를 촉진하는 물질 및 이의 활성기작에 대한 연구들이 수행되고 있다. 활성화된 대식세포는 항원의 흡수 및 세포독성의 기능이 현저히 향상될 뿐만 아니라, IL-1(interleukin-1)과 같은 각종 물질들을 분비하여 다른 면역세포의 활성화를 촉진함으로써 면역체계 전반의 활성화를 유도하게 된다. 대식세포는 세균이나 이물질을 탐식 및 제거하는 과정에서 여러 가지를 분비하여 면역현상을 조절하며, 항원에 대한 면역작용의 중추적인 역할을 하는 세포로서 항원 제시와 림프구의 비특이적인 면역작용에 관여하며, 중앙세포에 대해서는 직접적인 상해활성을 나타낸다. 또한, TLR(toll like receptor)에 반응하는 물질(LPS 또는 천연물)은 대식세포를 활성화하여 T 세포와 B 세포의 증식, 식균 작용을 위한 대식세포의 활성화, 미생물 감염에 대한 방어 등 2차 면역반응을 조절할 수 있는 IL-1, IL-6, IL-12 및 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ )와 같은 사이토카인을 생산하는 것으로 알려져 있다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 등록특허 제10-1680840호(2016.03.22. 공개)

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 약학 조성물을 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

### 발명의 효과

[0009] 본 발명에 따르면, 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물이 세포 독성 없이 RAW264.7 대식세포에서 산화질소(nitric oxide) 및 사이토카인(TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6) 생성을 증가시키는 것을 확인함으로써, 면역증진용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 천궁 열수 추출물 및 에탄올 추출물의 세포 독성을 분석한 결과이다.

도 2는 천궁 열수 추출물 및 에탄올 추출물이 산화질소 생성에 미치는 영향을 분석한 결과이다.

도 3은 천궁 열수 추출물 및 에탄올 추출물이 사이토카인(TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6) 생성에 미치는 영향을 분석한 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0013] 본 발명은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 약학 조성물을 제공한다.

[0014] 상기 추출물은 산화질소(nitric oxide) 생성을 증가시킬 수 있다.

[0015] 또한, 상기 추출물은 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-4(interleukin-4) 및 IL-6(interleukin-6)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 사이토카인 생성을 증가시켜 면역반응을 향상시킬 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0016] 상기 약학 조성물은 약학 조성물 총 100 중량부에 대하여, 천궁 열수 추출물이 0.01 내지 90 중량부로 포함되는 것일 수 있다.

[0017] 본 발명의 약학 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.

[0018] 상기 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸 히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트,

활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약학 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0019] 본 발명에 있어서, 상기 약학 조성물에 포함되는 첨가제의 함량은 특별히 한정되는 것은 아니며 통상의 제제화에 사용되는 함량 범위 내에서 적절하게 조절될 수 있다.

[0020] 상기 약학 조성물은 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립, 정제, 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 피부 외용제 형태로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 약학 조성물은 제형화를 위해 추가로 있는 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제를 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제는 전분, 당 및 만니톨과 같은 부형제, 칼슘 포스페이트 등과 같은 충전제 및 증량제, 카르복시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스 유도체, 젤라틴, 알긴산염, 폴리비닐 피롤리돈 등과 같은 결합제, 활석, 스테아린산 칼슘, 수소화 피마자유 및 폴리에틸렌글리콜과 같은 윤활제, 포비돈 및 크로스포비돈과 같은 봉해제, 폴리소르베이트, 세틸알코올, 글리세롤 등과 같은 계면활성제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제는 대상체에 생물학적 및 생리학적으로 친화적인 것일 수 있다. 희석제의 예로는 염수, 수용성 완충액, 용매 및/또는 분산제(dispersion media)를 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있다. 경구 투여일 경우, 정제, 트로키제(troches), 로젠지(lozenge), 수용성 현탁액, 유성 현탁액, 조제 분말, 과립, 에멀전, 하드 캡슐, 소프트 캡슐, 시럽, 엘릭시르제 등으로 제형화될 수 있다. 비경구 투여일 경우, 주사액, 좌제, 호흡기 흡입용 분말, 스프레이용 에어로졸제, 연고, 도포용 파우더, 오일, 크림 등으로 제형화 될 수 있다.

[0023] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이 체질 특이성, 제제의 성질, 질병의 정도, 조성물의 투여시간, 투여방법, 투여기간 또는 간격, 배설율 및 약물 형태에 따라 그 범위가 다양할 수 있으며, 이 분야 통상의 기술자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예컨대, 약 0.1 내지 10,000mg/kg의 범위일 수 있으나 이제 제한되지 않으며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여될 수 있다.

[0024] 상기 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여되거나 비경구 투여(예를 들면, 정맥 내, 피하 내, 복강 내 또는 국소에 적용)될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 약학적 유효량 및 유효 투여량은 약학 조성물의 제제화 방법, 투여 방식, 투여 시간, 투여 경로 등에 의해 다양해질 수 있으며, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 투여는 하루에 1회 투여될 수 있고, 수회에 나누어 투여될 수도 있다.

[0026] 또한, 본 발명은 천궁(*Cnidium officinale*) 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증진용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명은 통상적으로 이용되는 식품으로써 일반적으로 사용될 수 있다.

[0028] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. 상기 “건강기능식품”이라 함은 건강기능 식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, “기능성”이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0029] 상기 건강기능식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 “식품 첨가물”로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0030] 상기 “식품 첨가물 공전”에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.

[0031] 본 발명의 식품 조성물은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다. 예를 들어, 캡슐 형태의 건강기능 식품 중 경질 캡슐제는 통상의 경질 캡슐에 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제

와 혼합 및 충전 하여 제조할 수 있으며, 연질 캡슐제는 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합하고 젤라틴 등 캡슐기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡슐제 는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0032] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강 기능식품을 모두 포함한다.

[0034] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

#### [0036] [실험예 1] 천궁 추출물 제조

[0037] 천궁(*Cnidium officinale*) 10g에 각각 물 또는 70% 에탄올(주정)을 10배 가하고, 80℃에서 6시간 추출한 후, 여과 및 동결 건조하여 천궁 열수 추출물 및 에탄올 추출물을 제조하였다.

#### [0039] [실험예 2] 세포 배양

[0040] RAW264.7 대식세포는 생물자원센터(Korean Collection for Type Culture; KCTC, Korea)에서 분양 받았으며, 10% 우태아혈청(fetal bovine serum; FBS) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)이 첨가된 DMEM 배지(Welgene, Korea)를 이용하여 37℃ 및 5% CO<sub>2</sub> 조건의 배양기에서 2~3회 계대 배양한 후 사용하였다.

#### [0042] [실시예 1] 세포 독성 분석

[0043] 천궁 추출물의 세포 독성을 확인하기 위해, MTT 분석을 수행하였다. RAW264.7 대식세포를 96 웰 플레이트에  $1 \times 10^5$  세포/웰 농도로 분주하고 하룻밤 배양한 후, 천궁 추출물을 농도별로(50~500 µg/ml) 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 이후 각 웰에 MTT(5mg/mL) 10 µL를 첨가하고 37℃에서 4시간 동안 추가 배양한 후, 각 웰에 DMSO 100 µL를 첨가하여 세포를 용해시켰다. 이후 플레이트를 실온에서 5분간 유지시키고, 마이크로플레이트 리더기(multiwell spectrophotometer, Molecular Devices, Sunnyvale, CA)를 이용하여 550nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0044] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 천궁 열수 추출물 및 에탄올 추출물 처리군 모두 세포 독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다.

#### [0046] [실시예 2] 산화질소 생성 촉진 활성 분석

[0047] 천궁 추출물의 면역증진 효과를 확인하기 위해, RAW264.7 대식세포에서 산화질소(nitric oxide; 이하 NO라 함)의 생성 정도를 측정하였다. RAW264.7 대식세포를 96 웰 플레이트에  $1 \times 10^5$  세포/웰 농도로 분주하고 하룻밤 배양한 후, 천궁 추출물을 농도별로(50~500 µg/ml) 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 이후 배양 배지 내 NO 생산물을 그리스 시약 시스템(Griess Reagent System)으로 측정하였다. 배지 상층액 100 µL에 그리스 시약[1% 설파닐아마이드(sulfanilamide) 및 0.1% 나프틸에틸렌디아민(naphtylethylenediamine)이 녹아있는 2.5% 인산(phosphoric acid)]을 동일한 양으로 첨가하고 10분간 혼합한 후, 540nm에서 흡광도를 측정하였으며, 아질산나트륨(NaNO<sub>2</sub>) 표준곡선으로부터 NO 농도를 계산하였다.

[0048] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 천궁 열수 추출물 처리군에서는 NO가 추출물 농도 의존적으로 증가하였고, 500 µg/ml의 농도에서 17.02 µM의 NO가 생성되어 면역세포 활성이 나타난 반면, 천궁 에탄올 추출물 처리군에서는 NO 생성이 증가하지 않는 것을 확인하였다.

[0050] [실시예 3] 사이토카인 방출 촉진 활성 분석

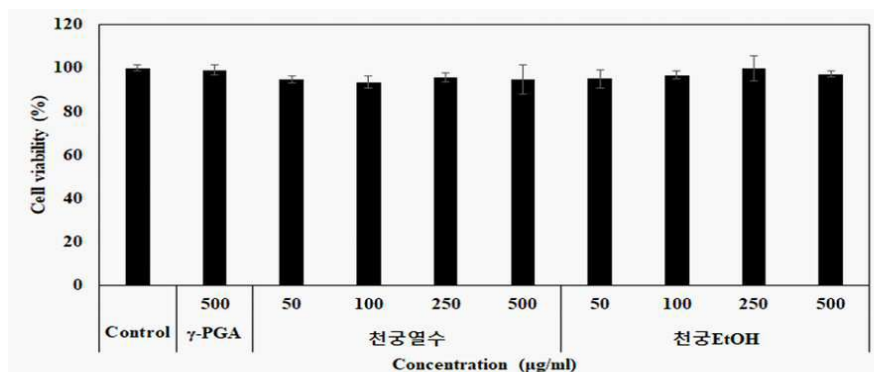
[0051] 천궁 추출물의 면역증진 효과를 확인하기 위해, RAW264.7 대식세포에서 사이토카인(cytokine)(TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6)의 방출 정도를 측정하였다. RAW264.7 대식세포를 96 웰 플레이트에  $1 \times 10^5$  세포/웰 농도로 분주하고 하룻밤 배양한 후, 천궁 추출물을 농도별로(50~500  $\mu$ g/ml) 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 이후 배양 배지를 원심분리하여 불순물을 제거하고, 각 ELISA kit를 이용하여 TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6의 방출 정도를 측정하였다. 배지 상층액 50  $\mu$ L를 ELISA 플레이트에 첨가하고 상온에서 2시간 동안 반응시킨 후, 세척 버퍼를 이용하여 5회 세척하였다. 이후 conjugate 용액 100  $\mu$ L를 각 웰에 첨가하고 상온에서 2시간 동안 반응시킨 후, 세척 버퍼를 이용하여 5회 세척하였다. 이후 기질(substrate) 용액 100  $\mu$ L를 각 웰에 첨가하고 상온에서 30분 동안 반응시킨 후, 정지(stop) 용액 100  $\mu$ L를 각 웰에 첨가하여 반응을 종결시켰다. 이후 ELISA 리더기를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하고, 각 표준 용액으로 정량 곡선을 작성하여 TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6의 방출량을 계산하였다. 양성대조군은  $\gamma$ -PGA를 사용하였다.

[0052] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 천궁 열수 추출물 처리군의 경우, 50  $\mu$ g/mL 농도부터 농도 의존적으로 TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6의 방출이 증가하는 반면, 천궁 에탄올 추출물 처리군의 경우, 저농도에서는 TNF- $\alpha$ , IL-4 및 IL-6 방출이 증가하지 않는 것을 확인하였다.

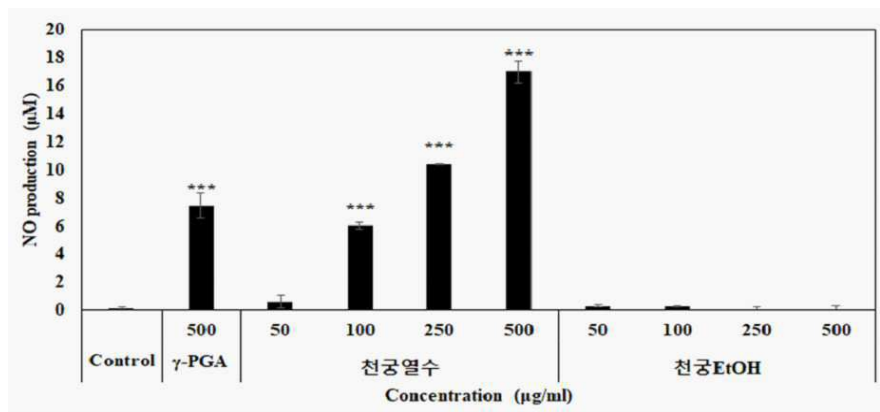
[0054] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

## 도면

### 도면1



도면2



도면3

