(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년07월04일
(11) 등록번호 10-2681562
(24) 등록일자 2024년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/185 (2006.01) *A23K 10/30* (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61P 31/06* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/185 (2024.05)
A23K 10/30 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2023-0177374
(22) 출원일자 2023년12월08일
심사청구일자 2023년12월08일
(56) 선행기술조사문헌
Korean Journal of Pharmacognosy, 2018, 49(1), 47-54*
Frontiers in cellular and infection microbiology, 2017, 7, 149*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
충남대학교 산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
한국 한의학 연구원
대전광역시 유성구 유성대로 1672 (전민동)
(72) 발명자
송창화
대전광역시 중구 충무로107번길 100, 107동 1401호 (대흥동, 센트럴자이)
최지애
대전광역시 중구 오류로 79, 502호 (오류동, 진팰리스)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

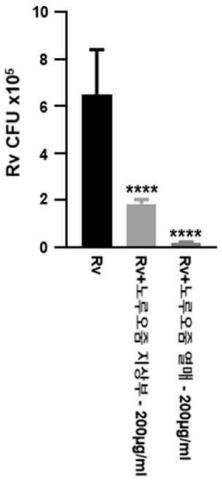
전체 청구항 수 : 총 11 항 심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 **노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 결핵균 H37Rv가 감염된 마우스 골수 유래 대식세포(BMDM)에 노루오줌 추출물을 투여하면 세포 내 살아있는 결핵균의 수를 감소시키는 효과가 우수하고, 특히 노루오줌 열매 추출물이 노루오줌 지상부에 비해 세포 내 살아있는 결핵균을 감소시키는 효과가 현저하므로, 본 발명의 유효성분인 노루오줌 추출물은 항결핵제로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61P 31/06 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/324 (2013.01)
(72) 발명자
손도이
대전광역시 중구 보문산로369번길 121-4, 203호 (문화동)
김동선
대전광역시 유성구 엑스포로 448, 507동 701호 (전민동, 엑스포아파트)
손은정
세종특별자치시 나성북1로 51, 601동 904호 (나성동, 나릿재마을 6단지)
이윤미
대전광역시 중구 충무로107번길 100, 111동 1604호 (대흥동, 센트럴자이)
성윤영
대전광역시 유성구 배울2로 61, 1015동 1001호 (관평동, 대덕테크노밸리10단지아파트)
육홍주
대전광역시 유성구 유성대로1665번길 7-5 (전민동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711180931
과제번호 2020R1A2C2005605
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 큰포식세포 대사전사체에 기반한 결핵균 감염제어기전 연구
기 여 율 5/10
과제수행기관명 충남대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711100504
과제번호 KSN1823312
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국한의학연구원
연구사업명 한국한의학연구원연구운영비지원(주요사업비)
연구과제명 복용 용이성이 증대된 현장 수요형 한약 제형 기술 개발
기 여 율 3/10
과제수행기관명 한국한의학연구원
연구기간 2023.01.01 ~ 2023.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711187922
과제번호 2022M3A9E4084134(NSN2212190)
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 바이오의료기술개발
연구과제명 담적증후군의 병태학적 특성 해석 및 임상적용 최적화를 위한 기반 연구
기 여 율 2/10
과제수행기관명 한국한의학연구원
연구기간 2023.03.01 ~ 2023.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

노루오줌 열매 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵균에 대한 항균용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 결핵균은 마이코박테리움 튜베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*) H37Rv인 것을 특징으로 하는 결핵균에 대한 항균용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 노루오줌 열매 추출물의 추출 용매는 물, C_1~C_4의 저급 알코올 또는 이의 혼합물인 것을 특징으로 하는 결핵균에 대한 항균용 조성물.

청구항 5

노루오줌 열매 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

노루오줌 열매 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 9

노루오줌 열매 추출물을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 개선용 사료 첨가제.

청구항 10

노루오줌 열매 추출물을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물.

청구항 11

노루오줌 열매 추출물을 유효성분으로 함유하는 항결핵용 한약 조성물.

청구항 12

인간을 제외한 동물에게 노루오줌 열매 추출물을 투여하여 결핵균의 생장을 억제시키는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 결핵(tuberculosis)은 미코박테리움, 특히 결핵균의 감염에 의해 발생하는 전염성 질환으로, 전 세계 인구의 1/4이 결핵균에 감염되어 있는 것으로 추정되며, 매년 약 800만 명의 새로운 환자가 발생한다. 대부분의 감염자는 증상이 없으나, 그 중 1/10 정도가 발병하며, 발병 시 적절한 치료를 하지 않으면 그 중 절반 이상이 사망에 이르게 된다.

[0003] 국내 결핵환자는 한국정부의 지속적인 국가결핵관리사업 등으로 2011년 후 2022년까지 연평균 7.9%로 11년 연속 감소세를 이어왔으나, 2023년 초부터 감소세가 둔화되고 증가되는 양상을 나타내고 있다. 특히 2023년 1~3분기 잠정 결핵환자 집계 결과, 65세 이상이 전년 동기 대비 5.0% 증가했다.

[0004] 6개월 단기 치료요법은 일차 항결핵제인 리팜피신(rifampicin), 이소니아지드(isoniazid), 피라진아미드(pyrazinamide) 및 에탐부톨(ethambutol)을 2개월 동안 병용처방하고, 2개월 후 리팜핀(rifampin), 이소니아지드(isoniazid) 및 에탐부톨(ethambutol)의 3제를 4개월 동안 처방하는 것이다. 초기 집중치료 2개월 동안 에탐부톨(ethambutol) 대신에 스트렙토마이신(streptomycin)을 사용할 수도 있다. 이 경우 유지치료는 리팜핀(rifampin) 및 이소니아지드(isoniazid)를 투여한다.

[0005] 하지만, 이러한 항생제들은 모두 발명된지 최소 50년 이상 된 것이고, 새로운 치료제의 개발도 활발하지 않은 상황이다. 더불어 다약제내성(MDR; Multi-drug resistant) 및 광범위 내성(XDR; Extensively-drug resistant)을 지닌 결핵균까지 나타나고 있어, 종래의 치료제 효율도 점차 감소하는 추세이다. 따라서 새로운 결핵 치료제 또는 기존 결핵 치료제의 감수성을 증진시킬 수 있는 물질에 대한 연구가 요구된다.

[0006] 결핵 치료제 관련 선행기술로는 한국등록특허 제1833048호에 콜리닌을 포함하는 항결핵 약학 조성물 및 이의 제조방법이 개시되어 있고, 한국등록특허 제0656969호에 산초 조추출물을 유효성분으로 하는 결핵 치료용 약학 조성물 및 건강기능성 식품이 개시되어 있지만, 본 발명의 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관해서는 개시된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로, 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하고, 노루오줌 추출물의 항결핵균 효과가 우수하고, 특히 노루오줌 지상부 대비 노루오줌 열매 추출물의 항결핵균 효과가 현저한 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵균에 대한 항균용 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 개선용 사료 첨가제를 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 함유하는 항결핵용 한약 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 인간을 제외한 동물에게 노루오줌 추출물을 투여하여 결핵균의 생장을 억제시키는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 결

핵균 H37Rv가 감염된 마우스 골수 유래 대식세포(BMDM)에 노루오줌 추출물을 투여하면 세포 내 살아있는 결핵균의 수를 감소시키는 효과가 우수하고, 특히 노루오줌 열매 추출물이 노루오줌 지상부에 비해 세포 내 살아있는 결핵균을 감소시키는 효과가 현저하다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 노루오줌 부위별 추출물의 세포독성을 확인한 결과이다. UN은 무처리 대조군이고, DMSO 10%(v/v)는 양성 대조군이다.

도 2는 노루오줌 부위별 추출물의 결핵균 H37Rv에 대한 세포 내 증식 억제 효과를 확인한 결과이다. Rv는 결핵균만 처리한 대조군이다. ****은 결핵균만 처리한 대조군(Rv) 대비 시료 처리군의 세포 내 결핵균 수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것을 의미하며, $p<0.0001$이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵균에 대한 항균용 조성물을 제공한다.

[0018] 상기 노루오줌은 노루오줌의 어느 부위라도 사용할 수 있지만, 바람직하게는 노루오줌 지방부 또는 노루오줌 열매인 것이고, 더 바람직하게는 노루오줌 열매를 사용하는 것이다.

[0019] 상기 결핵균은 마이코박테리움 튜베르쿨로시스(Mycobacterium tuberculosis) H37Rv인 것이 바람직하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명의 노루오줌 추출물의 추출 용매는 물, C_1~C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물일 수 있고, 바람직하게는 에탄올이지만, 이에 제한하지 않는다.

[0021] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0022] 본 발명의 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있고, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화 하여 사용될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0023] 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0024] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0025] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0026] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 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.

[0027] 본 발명에 따른 약학 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 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며, 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.

[0028] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 포함하는 결핵의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제

공한다.

[0029] 상기 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것이 바람직하지만 이에 제한하는 것은 아니다.

[0030] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 유효성분을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0031] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 유효성분을 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 및 비타민 복합체 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0032] 본 발명의 조성물을 건강 음료로 사용할 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100g당 일반적으로 약 0.01~0.04g, 바람직하게는 약 0.02~0.03g이다.

[0033] 본 발명의 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 함유할 수 있다.

[0034] 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물은 100 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0035] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 개선용 사료 첨가제를 제공한다.

[0036] 본 발명의 사료 첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당한다. 본 발명에서 용어 '사료'는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미할 수 있다. 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 함유하는 결핵의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.

[0038] 본 발명의 수의학적 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 본 발명의 수의학적 조성물에 포함될 수 있는 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 세탄올, 스테아릴알콜, 유동파라핀, 솔비탄모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 메칠파라벤, 프로필파라벤 및 광물유를 들 수 있다.

[0039] 본 발명에 따른 수의학적 조성물은 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향신료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있는데, 본 발명에 따른 수의학적 조성물은 동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있고, 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캅셀, 좌제, 멸균 주사용액, 멸균 외용제

등의 형태일 수 있다.

[0040] 본 발명에 따른 수의학적 조성물의 유효한 양은 동물의 개체에 따라 적절하게 선택할 수 있다. 질환 내지 상태의 중증도, 개체의 연령, 체중, 건강상태 또는 성별에 따른 본 발명의 유효성분에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 기간, 상기 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 다른 조성물을 포함한 요소 및 기타 생리 내지 수의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0041] 또한, 본 발명은 노루오줌 추출물을 유효성분으로 함유하는 항결핵용 한약 조성물을 제공한다.

[0042] 본 발명의 한약 조성물은 한의학적 처방에 의해 제조되는 것을 의미하지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0043] 본 발명의 일 실시예에 따른 한약 조성물을 포함하는 한약 제형을 추가로 제공할 수 있다. 상기 한약 제형은 상기 한약 조성물을 포함하여 제조되는 것이면 되고, 구체적인 제형은 특정되지 않는다. 예컨대, 상기 한약 제형은 액제, 환제, 정제, 과립제, 캡슐제, 건강식품 또는 건강음료일 수 있다.

[0044] 또한, 본 발명은 인간을 제외한 동물에게 노루오줌 추출물을 투여하여 결핵균의 생장을 억제시키는 방법을 제공한다.

[0046] 이하, 제조예 및 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 제조예 및 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[0048] **제조예 1. 노루오줌 부위별 추출물의 제조**

[0049] 노루오줌 지상부 또는 열매 1kg에 대하여 10L의 70%(v/v) 에탄올을 가하고, 85℃에서 3시간 동안 추출한 후, 여과한 다음 여과한 추출액을 45℃에서 감압 농축 및 건조하여 노루오줌 지상부 추출물 또는 노루오줌 열매 추출물을 수득하였다.

[0051] **실시예 1. 노루오줌 부위별 추출물의 세포독성 확인**

[0052] 실험에 사용할 노루오줌 부위별 추출물의 농도를 결정하기 위해, 6주령 C57BL/6 암컷 마우스의 골수에서 추출한 대식세포(BMDM)에서 노루오줌 부위별 추출물의 세포독성을 확인하였다.

[0053] 구체적으로, BMDM에 노루오줌 지상부 또는 열매 추출물을 농도별로 첨가한 후, 48시간 동안 37℃, 5% CO_2 조건에서 배양하였다. 그 후, CCK-8 반응액을 100㎕/웰 처리한 후, 2시간 동안 37℃, 5% CO_2 조건에서 반응시킨 후, 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0054] 그 결과, 도 1에 개시된 바와 같이 본 발명의 노루오줌 부위별 추출물은 대식세포(BMDM)에 대하여 세포독성이 없는 것을 확인하였다.

[0056] **실시예 2. 결핵균이 감염된 대식세포에서, 노루오줌 부위별 추출물 처리에 의한 결핵균 감소 효과 확인**

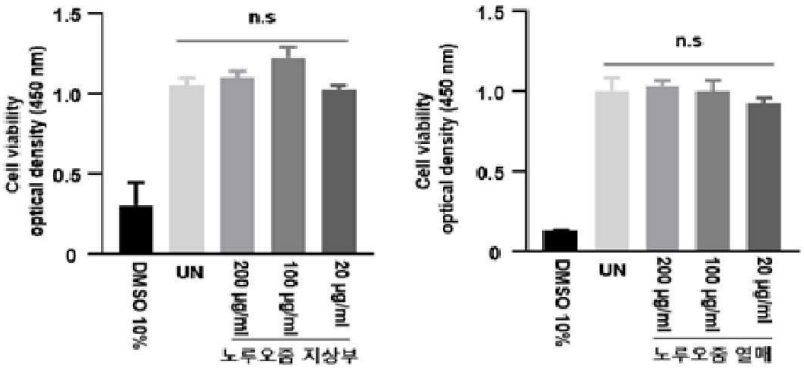
[0057] 노루오줌 지상부 추출물 및 노루오줌 열매 추출물이 세포 내 결핵균 수 변화에 미치는 영향을 측정하기 위해 BMDM에 결핵균 H37Rv를 감염시킨 후, 노루오줌 지상부 및 열매 추출물을 각각 첨가한 후 결핵균의 집락수를 세었다.

[0058] 구체적으로, 6주령 C57BL/6 암컷 마우스의 골수에서 추출한 대식세포(BMDM)를 개수하여 MOI=1이 되도록 병원성 결핵균 H37Rv를 감염시켰다. 3시간 후, 노루오줌 지상부 추출물(200㎍/mL) 또는 노루오줌 열매 추출물(200㎍/mL)이 포함된 배지로 교체하고, 48시간 동안 37℃, 5% CO_2 조건에서 배양하였다. 그 후, 각 웰에 멸균된 3차 증류수 500㎕를 넣어 세포 내 결핵균을 수집하여 10배씩 희석해 총 100배까지 희석하여 준비하였다. 세포 내 살아있는 결핵균을 측정하기 위해 암피실린(25ng/mL)이 포함된 결핵균 선택 배지(7H10 배지)에 10㎕씩 분주하여 2주 동안 37℃에서 배양하였다. 이후 CFU(colony-forming unit) 분석을 통해 세포 내 균수를 측정하였다.

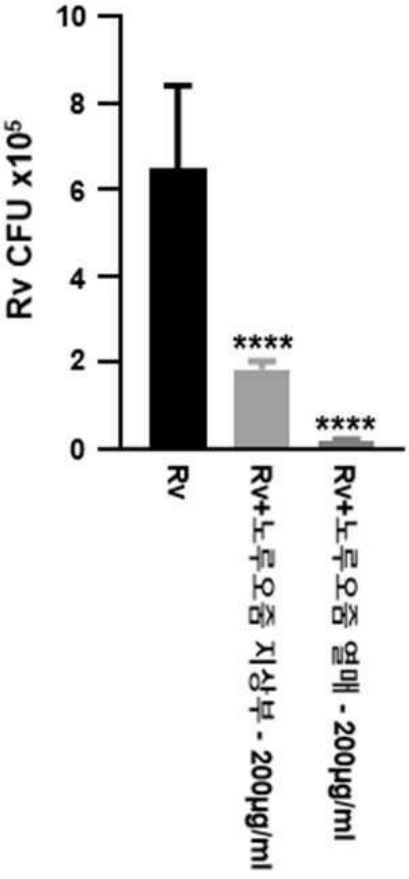
[0059] 그 결과, 도 2에 개시된 바와 같이 본 발명의 노루오줌 지상부 추출물 또는 노루오줌 열매 추출물은 결핵균의 증식을 억제하는 효과가 우수하고, 특히 노루오줌 열매 추출물의 항결핵 효과가 매우 우수하다는 것을 확인하였다.

도면

도면1


Cell viability
optical density (450 nm)
1.5
1.0
0.5
0
n.s
DMSO 10%
UN
200 μg/ml
100 μg/ml
20 μg/ml
노루오줌 지상부
Cell viability
optical density (450 nm)
1.5
1.0
0.5
0
n.s
DMSO 10%
UN
200 μg/ml
100 μg/ml
20 μg/ml
노루오줌 열매

도면2


Rv CFU x10^5
10
8
6
4
2
0
****
****
Rv
Rv+노루오줌 지상부 - 200μg/ml
Rv+노루오줌 열매 - 200μg/ml