



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0020354
(43) 공개일자 2020년02월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 33/105 (2016.01) A61K 36/185 (2006.01)
A61K 8/9789 (2017.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)
A61K 36/185 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0095964

(22) 출원일자 2018년08월17일

심사청구일자 2018년08월17일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

한국생명공학연구원

대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)

(72) 발명자

안광석

서울특별시 성북구 길음로 33 809-1802

정영윤

경기도 고양시 일산동구 식사동 위시티 자이 2단지 217동 1902호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 8 항

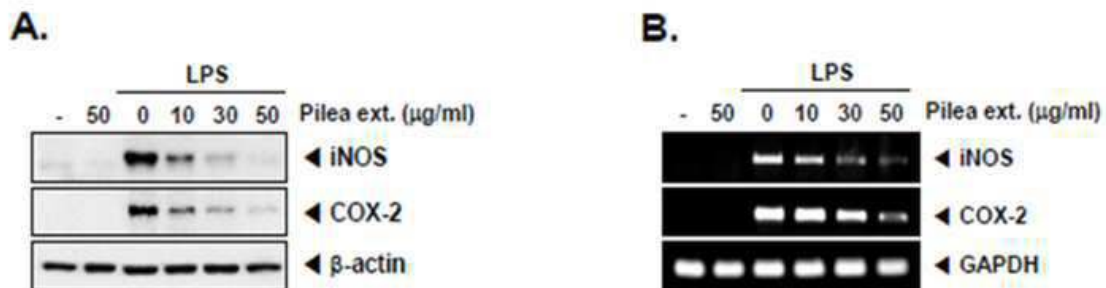
(54) 발명의 명칭 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 필레아 마티니 (*Pilea martinii*) 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물, 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 상기 약학 조성물을 인간을 제외한 개

(뒷면에 계속)

대표도 - 도3



체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법, 상기 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약품 조성물 및 상기 추출물을 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다. 본 발명에서 제공하는 필레아 마티니 추출물은 지질다당체(Lipopolysaccharide)에 의해 유도되는 산화질소(NO)의 생성 및 IL-6, TNF- α , PGE₂ 분비를 억제하고, 지질다당체(LPS)에 의해 유도된 iNOS 와 COX-2 단백질 및 이들의 mRNA발현 억제 효과를 나타내며, NF- κ B 신호전달 과정 억제를 통해 염증 반응을 억제할 수 있으므로, 염증성 질환의 예방 또는 개선용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 8/9789 (2017.08)

A61P 29/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

(72) 발명자

장지윤

중국, 베이징 100093, 상산, 넘버 20 난신쿤, 더 차이니스 아카데미 오브 사이언스, 인스티튜트 오브 보타니

최상호

대전광역시 유성구 과학로 125

이상우

대전광역시 유성구 과학로 125

김수용

대전광역시 유성구 과학로 125

김용인

대전광역시 유성구 과학로 125

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 KGM4581811

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국생명공학연구원

연구사업명 주요사업(2015-2018)

연구과제명 해외생물소재 확보 및 활용지원 시스템 구축·운영

기 여 율 1/1

주관기관 한국생명공학연구원

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

필레아 마티니 (Pilea martinii) 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것인, 식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 염증성 질환의 예방 또는 개선은 iNOS 단백질, COX-2 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA의 발현을 억제하는 것에 의해 달성되는 것인, 식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 염증성 질환의 예방 또는 개선은 NF- κ B의 활성 억제에 의해 달성되는 것인, 식품 조성물.

청구항 5

필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

필레아 마티니 추출물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법.

청구항 7

필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 개선용 의약품 조성물.

청구항 8

필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장료 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 필레아 마티니 (*Pilea martinii*) 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물, 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 상기 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법, 상기 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약품 조성물 및 상기 추출물을 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 염증은 외부에서 들어온 해로운 물질이나 유기체 등과 같은 여러 요인에 의하여 세포나 조직이 손상을 입거나 파괴되었을 때 그 손상을 최소화하고 손상된 부위를 원상으로 회복시키기 위하여 국소적으로 일어나는 면역반응으로서, 생체를 보호하고 조직 손상으로 생성된 산물들을 제거하는데 유용한 방어 메카니즘이다. 상기 방어 메카니즘에 의해, 결과적으로 통증, 부종, 발적 또는 발열 등이 일어나 기능장애가 유발되기도 한다. 상기 염증을 유발하는 여러 요인에는 외상, 화상, 동상, 방사능 등에 의한 물리적 요인, 산(acid)과 같은 화학물질에 의한 화학적 요인 및 항체반응에 의한 면역학적 요인들이 있으며, 그 외에 혈관이나 호르몬 불균형에 의해 발생되기도 한다.

[0004] 염증은 정상적인 경우에는 생체 내에서 염증반응을 통하여 발병 요인을 중화시키거나 제거하고 상한 조직을 재생시켜서 정상적인 구조와 기능을 회복시키는 작용을 하지만, 염증의 정도가 일정 수준 이상이 되거나 만성화되어 만성염증과 같은 질병 상태로 진행되는 경우 문제가 된다. 임상질환 가운데 거의 모든 질환에서 염증 반응을 관찰할 수 있을 뿐만 아니라, 암발생과정 (carcinogenesis)에서도 염증 반응과 관련된 효소들이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0005] 최근 밝혀진 바에 의하면, 체내에서의 염증반응의 진행은 COX(cyclooxygenase) 효소 활성화와 관련된 것으로 알려져 있다. 상기 COX 효소는 생체 내에 존재하는 프로스타그란딘(prostaglandin)의 생합성에 관여하는 주 효소로서(Smith 등, J. Biol.Chem., 271, 33157(1996)), 두 종류의 이성 효소인 COX-1과 COX-2가 존재하는 것으로 알려져 있다. 상기 COX-1은 위나 신장과 같은 조직에 일정하게 존재하며, 정상적인 항상성을 유지하는데 관여하는 반면, 상기 COX-2는 염증이나 기타 면역 반응시 세포분열인자 (mitogen)나 사이토카인 (cytokines)류에 의해 세포 내에서 일시적이고 빠르게 발현되는 효소이다.

[0006] 또 하나의 강력한 염증 매개물인 나이트릭 옥사이드(Nitric oxide, NO)는 NO 합성효소(NOS)에 의해 L-알지닌으로부터 생성되며, UV와 같은 외부 스트레스나 엔도톡신 또는 사이토카인과 같은 물질에 의해 많은 종류의 세포에서 생성된다. 상기과 같은 염증 자극들은 세포 내의 유도성 NOS(iNOS)의 발현을 증가시키고, 이를 통하여 세포내에서 NO 생성을 유도하여, 대식 세포를 활성화시킴으로써 염증 반응을 일으킬 수 있다.

[0007] 따라서, 최근 효과적인 염증 완화를 위하여, NO의 생성을 억제할 수 있는 물질에 대한 연구가 진행되고 있다. 그러나, 이러한 연구에 의해 개발된 항염물질의 경우 몇 가지 부작용이 문제되고 있다. 일 예로, 급성 또는 류마티스성 관절염과 같은 만성 염증 질환의 치료에 사용되는 비스테로이드성 소염 약물들은 COX-2 효소를 억제할 뿐만 아니라 COX-1 효소도 억제함으로써 위장관 장애와 같은 부작용을 나타내는 것으로 알려져 있다 (Fries J., 1996; Singh G., 1998). 따라서, 이런 부작용이 적은 천연물의 항염증 효과에 대한 연구가 필요한 실정이다.

[0008] 한편, 필레아 마티니는 쐬기풀목 (*urticales*)에 속하는 식물로서, 중국에서 광범위하게 발생하며 주로 숲의 그늘지고 습한 지역에서 자라는 것을 확인할 수 있다. 이러한 필레아 마티니에 대한 약리활성으로는 항균 활성이 알려져 있으나, 그 외의 효과는 알려진 바가 없다 (African Journal of Microbiology Research 6.19 (2012): 4132-4137.).

[0009] 이에, 본 발명자들은 항염증 효능을 가지는 동시에 부작용이 적은 천연물 유래 소재를 개발하고자 여의 연구 노력한 결과, 필레아 마티니 추출물이 COX-2 와 iNOS의 발현을 억제하고 NF- κ B의 신호전달을 억제하며, 산화질소의 및 염증성 인자의 분비를 억제함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명의 하나의 목적은 필레아 마티니 (*Pilea martinii*) 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 다른 하나의 목적은 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 필레아 마티니 추출물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0017] 상기의 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는, 필레아 마티니 (*Pilea martinii*) 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명에서의 용어 "필레아 마티니(*Pilea martinii*)"는 켄기과(*urticales*)에 속하는 식물로서, 중국에서 광범위하게 발생하며 주로 숲의 그늘지고 습한 지역에서 자라는 것을 확인할 수 있다. 이러한 필레아 마티니에 대한 약리활성으로는 항균 활성이 알려져 있으나, 그 외의 효과는 알려진 바가 없다.
- [0020] 본 발명에서의 용어 "추출물"이란 용매에 침지한 다음, 상온 또는 가온상태에서 일정시간동안 추출하여 수득한 액상성분, 상기 액상성분으로부터 용매를 제거하여 수득한 고형분 등의 결과물을 의미할 수 있다.
- [0021] 염증 반응 억제 활성을 갖는 상기 필레아 마티니 추출물은 천연, 잡종, 변종 식물의 다양한 기관으로부터 추출될 수 있고, 예를 들어 뿌리, 줄기, 잎, 꽃, 열매의 몸통, 열매의 껍질뿐만 아니라 식물 조직 배양물로부터 추출 가능하다.
- [0022] 본 발명에서, 상기 필레아 마티니 추출물은 필레아 마티니의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃, 또는 열매로부터 추출한 것일 수 있으며, 이에 특별히 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 구체적으로, 상기 필레아 마티니 추출물은 필레아 마티니의 전초 추출물일 수 있다.
- [0024] 본 발명에서, 상기 필레아 마티니 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜 및 이들의 혼합 용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 추출한 것을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 본 발명에 있어서, 상기 추출물에는, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 이들 조정제물 또는 정제물 중 어느 하나도 포함될 수 있다.
- [0026] 상기 필레아 마티니 추출물은 당업계에서 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 구체적으로 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 용어, "염증성 질환"은 염증을 주병변으로 하는 질환의 총칭으로, 예를 들어, 염증성 피부질환, 알레르기성 질환, 크론씨 질환(Crohn's disease) 및 궤양성 대장염과 같은 염증성 장 질환, 복막염, 골수염, 봉소염, 뇌막염, 뇌염, 척장염, 외상 유발 쇼크, 기관지 천식, 낭포성 섬유증, 뇌졸중, 급성 기관지염, 만성 기관지염, 급성 세기관지염, 만성 세기관지염, 골관절염, 통풍, 척추관절병증, 강직성 척추염, 라이터 증후군, 건선성 관절병증, 장질환 척추염, 연소자성 관절병증, 연소자성 강직성 척추염, 반응성 관절병증, 감염성 관절염, 후-감염성 관절염, 임균성 관절염, 결핵성 관절염, 바이러스성 관절염, 진균성 관절염, 매독성 관절염, 라임병, '혈관염 증후군'과 관련된 관절염, 결절성 다발동맥염, 과민성 혈관염, 루게릭 육아종증, 류마티스성 다발성근육통, 관절 세포 동맥염, 칼슘 결정 침착 관절병증, 가성 통풍, 비-관절 류마티즘, 점액낭염, 건초염, 상과

염(테니스 엘보), 신경병증성 관절 질환(charco and joint), 출혈성 관절증(hemarthrosic), 헤노흐-헨라인 자반병, 비후성 골관절병증, 다중심성 세망조직구증, 수르코일로시스(surcoilosis), 혈색소증, 겸상 적혈구증 및 기타 혈색소병증, 고지단백혈증, 저감마글로불린혈증, 가족성 지중해열, 베하트 병, 전신성 홍반성 루푸스, 재귀열, 건선, 다발성 경화증, 패혈증, 패혈성 쇼크, 다장기 기능장애 증후군, 급성 호흡곤란 증후군, 만성 폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease), 급성 폐손상(acute lung injury) 및 기관지 폐 형성장애(broncho-pulmonary dysplasia)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 구체적으로 염증성 피부질환, 궤양성 대장염, 만성 기관지염, 골관절염, 패혈증일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0028] 본 발명의 용어 "염증성 질환의 예방 또는 개선"은 염증을 억제하는 작용을 의미하는 것으로, 염증반응의 조절은 대단히 복잡한 것으로 알려져 있는데, 이는 생체 내 복구체계의 증강 및 손상을 감소시키기 위한 것으로 알려져 있다. 그러나 반복되는 조직의 손상이나 재생에 의해 염증반응이 지속되면, 염증관련 세포에서 ROS와 RNS가 과다 생성되고 그 결과로 영구적인 유전자의 변형이 야기된다. 이처럼 ROS와 RNS는 생체 내 여러 가지 세포의 작용을 조절하는 염증 반응과 깊이 관련되어 있다. 염증 과정 중에는 많은 양의 염증성 사이토카인(proinflammatory cytokines), 산화질소(nitric oxide, NO) 그리고 프로스타글란딘(prostaglandin E₂, PGE₂)이 유도성 일산화질소 합성효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS)와 사이클로옥시게나아제(cyclooxygenase-2, COX-2)에 의해 생성된다. 염증은 다양한 염증성 질환을 유발하는 원인으로써, 본 발명의 필레아 마티니 추출물을 포함하는 조성물은 상기 산화질소, 염증성 사이토카인 또는 전사인자 등의 억제 작용을 통해 다양한 염증성 질환에 대한 예방 및 개선 효과를 가질 수 있다.
- [0029] 상기 염증성 질환의 예방 또는 개선은 산화 질소 생성을 억제하는 것에 의해 달성되는 것일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, LPS로 자극하여 염증 반응을 유도한 대식세포에 필레아 마티니 추출물을 처리하고 산화질소 생성량을 측정한 결과, LPS 자극에 의해 증가한 산화질소 생성량이 필레아 마티니 추출물의 농도에 따라 감소하는 것을 확인하였다 (도 2).
- [0031] 상기 염증성 질환의 예방 또는 개선은 iNOS 단백질, COX-2 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA의 발현을 억제하는 것에 의해 달성되는 것일 수 있다.
- [0032] 본 발명의 다른 구체적인 일 실시예에서는, LPS로 자극하여 염증 반응을 유도한 대식세포에 필레아 마티니 추출물을 처리한 후 iNOS 및 COX-2의 단백질 수준을 확인하고 mRNA의 활성화를 분석한 결과, LPS에 의해 염증 반응이 유도되어 iNOS 및 COX-2의 단백질 수준이 증가하고 mRNA의 인산화 활성이 증가한 것을 확인하였으나, 필레아 마티니 추출물의 농도에 따라 단백질 수준 및 인산화 활성이 감소하는 것을 확인하였다 (도 3).
- [0033] 상기 염증성 질환의 예방 또는 개선은 NF- κ B의 활성 억제에 의해 달성되는 것일 수 있다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 구체적인 일 실시예에서는, LPS로 자극하여 염증 반응을 유도한 대식세포에 필레아 마티니 추출물을 처리한 후 NF- κ B 및 AP-1의 결합 활성을 분석한 결과, LPS 자극에 의해 증가한 NF- κ B 및 AP-1 활성이 필레아 마티니 추출물 30 μ g/ml 이상 처리할 경우 감소하는 것을 확인하였다 (도 6a).
- [0035] 상기 염증성 질환의 예방 또는 치료는 IL-6, TNF- α 또는 PGE₂의 분비 억제에 의해 달성되는 것일 수 있다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 구체적인 일 실시예에서는, LPS로 자극하여 염증 반응을 유도한 대식세포에 필레아 마티니 추출물을 처리한 후 염증성 사이토카인인 IL-6, TNF- α 및 PGE₂의 분비량을 측정한 결과, LPS 자극에 의해 증가한 사이토카인의 분비량이 필레아 마티니의 농도에 따라 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다 (도 4 및 도 7).
- [0037] 본 발명에서의 용어 "예방"이란, 본 발명에 따른 필레아 마티니 추출물을 포함하는 조성물의 투여로 염증성 질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다.
- [0038] 본 발명에서의 용어, "개선"은 상기 조성물을 투여하여 염증성 질환의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0039] 본 발명의 식품 조성물은 다양한 형태의 식품 첨가제 또는 기능성 식품을 제공한다. 구체적으로, 상기 조성물을 포함하는 침출차, 액상차, 음료, 발효유, 치즈, 요구르트, 주스, 생균제제 또는 건강보조식품 등으로 가공될 수 있으며, 그 외 다양한 식품 첨가제의 형태로 사용될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 식품 조성물은 식품학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는 것일 수 있다.
- [0041] 본 발명의 필레아 마티니 추출물을 포함하는 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 종류에는 별다른 제한이 없으며,

예를 들어 각종 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다. 상기 식품 조성물에는 갱년기 장애 치료 효과에 방해가 되지 않는 다른 성분을 추가할 수 있으며, 그 종류는 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 통상의 식품과 같이 여러 가지 생약 추출물, 식품학적으로 허용가능한 식품보조첨가제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0042] 상기 식품보조첨가제는 각 제형의 식품 조성물을 제조하는데 첨가되는 것으로서 당업자가 적절히 선택하여 사용할 수 있다. 예를 들어 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등이 포함되지만, 상기 예들에 의해 그 종류가 제한되는 것은 아니다.

[0043] 이때, 상기 식품에 포함되는 추출물의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 식품 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%, 구체적으로는 1 내지 80 중량%로 포함될 수 있다.

[0044] 식품이 음료인 경우에는 100ml를 기준으로 1 내지 30g, 구체적으로는 3 내지 20g의 비율로 포함될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 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, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아조산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(돌신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용된다.

[0045] 본 발명의 식품 조성물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조 시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나다.

[0047] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0048] 본 발명에서의 용어 "치료"란, 본 발명에 따른 필레아 마티니 추출물을 포함하는 조성물의 투여로 상기 염증성 질환이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 말한다.

[0049] 본 발명에서 사용된 용어 "약학 조성물"이란, 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각의 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 구체적으로, 점안투여하기 적합한 형태, 예를 들어, 점안제, 크림제, 연고제, 겔제 또는 로션제로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0050] 상기 본 발명의 조성물은, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함하는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물의 형태로 제조될 수 있는데, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occurring carrier)를 포함할 수 있다.

[0051] 본 발명에서, 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 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.

[0052] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 증진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 상업 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네

이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순희석제인 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, 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 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0053] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구, 비경구, 직장, 국소, 경피, 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 피하 등으로 투여할 수 있으며, 약학 조성물의 유효성분은 투여받을 대상의 연령, 성별, 체중, 병리 상태 및 그 심각도, 투여 경로 또는 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 적용량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 0.1 mg/g/일 내지 100 mg/g/일, 보다 구체적으로는 5 mg/g/일 내지 50 mg/g/일이 될 수 있고, 본 발명의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0055] 본 발명의 다른 하나의 양태는, 필레아 마티니 추출물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0056] 상기, 필레아 마티니 추출물, 염증성 질환, 예방은 상기에서 설명한 바와 같다.

[0057] 본 발명에서의 용어, "개체"란, 염증성 질환이 발병하였거나 발병할 가능성이 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미할 수 있다. 상기 동물은 인간뿐만 아니라 이와 유사한 증상의 치료를 필요로 하는 소, 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양, 개, 고양이 등의 포유동물일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0058] 본 발명의 상기 예방 또는 치료방법은 구체적으로, 염증성 질환이 발병하였거나 발병할 위험이 있는 개체에 상기 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0059] 본 발명에서의 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 약학 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있으며, 목적하는 바에 따라 점안 투여, 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경피 패치투여, 경구 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여 등의 경로를 통해 투여 될 수 있고, 구체적으로 경구 투여의 경로를 통해 투여될 수 있다.

[0061] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증성 질환 예방 또는 개선용 의약외품 조성물을 제공한다.

[0062] 본 발명에서의 용어, "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 작용이 경미한 물품들을 의미한다. 예를 들어, 약사법에 따른 의약외품은 의약품의 용도로 사용되는 물품을 제외한 것으로, 사람/동물의 질병 치료나 예방에 쓰이는 제품, 인체에 대한 작용이 경미하거나 직접 작용하지 않는 제품 등이 포함된다.

[0063] 구체적으로, 상기 의약외품은 피부외용제 및 개인위생용품을 포함할 수 있다. 보다 구체적으로 소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 또는 연고제일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[0064] 본 발명에 따른 상기 조성물을 의약외품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0066] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 필레아 마티니 추출물을 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

- [0067] 본 발명에 있어서, 상기 화장료 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 구성된 군에서 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0068] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 일반 피부 화장료에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1 종 이상 추가로 포함할 수 있으며, 통상의 성분으로 예를 들면 유분, 물, 계면 활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0069] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.
- [0070] 본 발명의 제형이 연고, 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는, 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0071] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리아미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하이드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0072] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제 등이 이용될 수 있으며, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일 등이 이용될 수 있고, 특히, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 옥수수 배종 오일, 올리브 오일, 피마자 오일 및 참깨 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0073] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0074] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0075] 본 발명의 화장료 조성물에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다. 구체적으로, 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

발명의 효과

- [0077] 본 발명에서 제공하는 필레아 마티니 추출물은 지질다당체(Lipopolysaccharide)에 의해 유도되는 산화질소(NO)의 생성 및 IL-6, TNF- α , PGE₂ 분비를 억제하고, 지질다당체(LPS)에 의해 유도된 iNOS 와 COX-2 단백질 및 이들의 mRNA발현 억제 효과를 나타내며, NF- κ B 신호전달 과정 억제를 통해 염증 반응을 억제할 수 있으므로, 염증성 질환의 예방 또는 개선용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0079] 도 1은 필레아 마티니 추출물의 세포독성 분석 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 2는 LPS로 자극한 대식세포에서 필레아 마티니 추출물 처리에 따른 산화질소 생성량 분석 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 LPS로 자극한 대식세포에서 필레아 마티니 추출물 처리에 따른 iNOS 및 COX-2의 단백질 수준 및 mRNA 활성을 분석한 그래프이다.
- 도 4는 LPS로 자극한 대식세포에서 필레아 마티니 추출물 처리에 따른 PGE₂ 분비량을 분석한 그래프이다.
- 도 5는 LPS로 자극한 대식세포에서 필레아 마티니 추출물 처리에 따른 MAPK 신호전달체계 전사 인자 (p38, ERK, JNK)의 인산화 활성을 분석한 그래프이다.
- 도 6은 LPS로 자극한 대식세포에서 필레아 마티니 추출물 처리에 따른 NF- κ B 신호전달체계 전사 인자의 인산화 활성 및 단백질 수준 분석 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 7은 LPS로 자극한 대식세포에서 필레아 마티니 추출물 처리에 따른 염증성 사이토카인의 분비량 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0080] 이하 본 발명을 하기 예에 의해 상세히 설명한다. 다만, 하기 예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 하기 예에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

[0082] 실시예 1. 필레아 마티니 추출물의 제조

- [0083] 건조 및 정제한 필레아 마티니(*Pilea martinii*) 전체 식물 (37g)에 99.9%(v/v) 메탄올 400 ml를 첨가하여 15분 간 초음파 분해(sonication)후 2시간 휴지하는 과정을 3일 동안 반복 하여 추출을 진행한다. 얻어진 추출물은 비 형광 면(cotton)으로 여과를 한 뒤 회전식 증발기 (N-1000SWD, EYELA)로 45° C 에서 감압 하에 농축시켰다. 마지막으로 농축물을 동결건조하여 필레아 마티니(*Pilea martinii*) 추출물 2.52g을 얻어내었다.

[0085] 실험예 1. 필레아 마티니 추출물의 세포독성 분석

- [0086] 필레아 마티니(*Pilea martinii*) 추출물을 다양한 농도(0, 10, 30, 50 μ g/ml)로 지질다당체(LPS)와 함께 RAW 264.7 대식세포에 처리하여 필레아 마티니 추출물과 지질다당체에 대한 세포의 생존율을 MTT 분석법으로 측정하였다. 최소 3번의 반복적인 실험이 이루어 졌으며 이로부터 얻은 독립된 실험결과를 평균을 내어 대조군 세포의 생존능력과 비교하여 백분율로 나타내었다.
- [0087] 그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 필레아 마티니 추출물은 50 μ g/ml까지도 세포 독성을 나타내지 않는다는 것을 확인할 수 있었다.
- [0088] 이는, 필레아 마티니 추출물이 독성을 가지지 않으므로 높은 안전성을 가진다는 것을 시사한다.

[0090] 실험예 2. 필레아 마티니 추출물의 산화질소 생성 억제 활성 분석

- [0091] 산화질소는 매우 불안정한 분자로 생성 후 아질산염으로 빠르게 전환되기 때문에 산화질소 생성억제 효과는 Griess 반응 분석법을 이용하여 아질산염 생성 수준을 분석함으로써 확인하였다. RAW 264.7 대식세포들을 필레아 마티니 추출물의 상이한 농도로 2시간 동안 전처리하고, LPS(1 μ g/ml)로 22시간 동안 자극하였다. 이후, 세포 배양물을 그리스 시약(Griess reagent)으로 처리하고 변색 수준을 측정하여 아질산염의 생성 수준을 확인하였다.
- [0092] 그 결과, 도 2 에 나타낸 바와 같이, 정상군과 비교하여 LPS 처리군은 아질산염의 생성 수준이 매우 높은 반면, 필레아 마티니 처리군은 농도의존적인 아질산염 생성 감소를 나타내었다.

[0093] 이는, 필레아 마티니 추출물이 산화질소의 생성을 억제하여 이로 인해 유발되는 염증성 질환을 감소시킬 수 있다는 것을 시사한다.

[0095] 실험예 3. 필레아 마티니 추출물의 iNOS 및 COX-2에 대한 억제 활성 분석

[0096] 3-1. iNOS 및 COX-2의 단백질 생성 억제 활성 분석

[0097] 염증 반응과 밀접하게 관여하는 지표인 iNOS(inducible nitric oxide synthase) 및 COX-2(cyclooxygenase-2)에 대한 필레아 마티니 추출물의 억제 활성을 분석하였다. RAW 264.7 대식세포들을 필레아 마티니 추출물의 상이한 농도로 2시간 동안 전처리하고, LPS(1 µg/ml)로 22시간 동안 자극하였다. 동량의 총단백질(10 µg/레인)을 10% SDS-PAGE를 행하여 분리하고, iNOS 및 COX-2 단백질의 발현을 항-iNOS 및 항-COX-2 단백질 특이적 항체를 사용하여 검출하였다. β-액틴은 로딩 대조군으로 사용하였다. 결과는 3회의 독립된 실험의 대푯값으로서 나타내었다.

[0098] 그 결과, 도 3a에 나타낸 바와 같이, iNOS 및 COX-2의 단백질 수준이 필레아 마티니 추출물의 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다.

[0099] 이는, 필레아 마티니 추출물에 의해 iNOS 및 COX-2의 단백질 수준이 감소하므로 염증성 질환의 증상을 감소시킬 수 있음을 시사한다.

[0101] 3-2. iNOS 및 COX-2의 mRNA 생성 억제 활성 분석

[0102] 상이한 농도의 필레아 마티니 추출물로 2시간 동안 전처리 후 LPS 자극을 받은 세포 내에서 iNOS 및 COX-2 mRNA 발현 억제 여부를 확인하였다. 지정된 농도로 2시간 동안 전처리 된 RAW 264.7 세포는 LPS(1 µg/ml)으로 22시간 동안 자극을 주었다. 이러한 세포로부터 총 RNA를 분리하고 iNOS 및 COX-2 mRNA의 발현을 RT-PCR 분석으로 검출하였다. 시료의 cDNA 초기 유사 함량에 대한 대조군으로서, GAPDH의 PCR을 수행하였다. 결과는 3회의 독립된 실험의 대푯값으로서 나타내었다.

[0103] 그 결과, 도 3b에 나타낸 바와 같이, iNOS의 경우, 필레아 마티니의 농도가 증가할수록 mRNA의 수준이 감소하는 것을 확인할 수 있으며, COX-2도 30 µg/ml부터 mRNA의 수준이 감소하는 것을 확인할 수 있다.

[0104] 이는, 필레아 마티니에 의해 iNOS 및 COX-2의 발현 수준을 감소시켜 염증성 질환의 증상을 감소시킬 수 있음을 시사한다.

[0106] 실험예 4. 필레아 마티니 추출물의 PGE₂ 분비 억제 활성 분석

[0107] PGE₂ 분비 억제 활성은 상이한 농도의 필레아 마티니 추출물로 2시간 동안 전처리 후 LPS 자극을 받은 RAW 264.7 세포를 배양한 배양물에 마우스 PGE₂항체 코팅된 ELISA 키트를 사용하여 분비된 PGE₂의 양을 측정하였다. 데이터는 3차례의 독립된 실험으로부터 얻었으며, 평균±표준편차로 표시하였다.

[0108] 그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, 필레아 마티니의 농도에 따라 PGE₂의 양이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

[0109] 이는, 필레아 마티니 추출물이 염증 반응에 관여하는 인자 중 하나인 PGE₂의 분비를 감소시킴으로써 염증 반응을 감소시켜 염증성 질환 개선 효과를 가질 수 있음을 시사한다.

[0111] 실험예 5. 필레아 마티니 추출물의 MAPK 신호전달 억제 활성 분석

[0112] 염증 반응의 상위 신호전달체계 중 하나인 MAPK 신호전달 체계에 대한 필레아 마티니 추출물의 억제 활성을 확인하기 위해, MAPK 신호전달 체계에 사용되는 p38, ERK, JNK 단백질의 인산화 활성을 분석하였다. 마우스 RAW 264.7 대식세포들을 30 µg/ml 필레아 마티니 추출물로 2시간 동안 전처리하고, LPS(1 µg/ml)로 지정 시간동안 자극하였다. 전체 세포 추출물로부터 동량의 총단백질(15 µg/레인)을 10% SDS-PAGE를 행하여 분리한 뒤 전기적

으로 니트로 셀룰로오스 멤브레인으로 이동시켰다. 이동된 단백질들에 각각 p38, ERK, JNK에 대한 인산 특이적 항-단백질 항체를 이용하여 결과를 분석한 후, 각각의 항-단백질 항체로 다시 블로팅하여 결과를 분석하였다. 모든 실험은 최소 3회 반복되어 시행되었으며, 3회의 독립된 실험의 결과 중 대푯값을 도면에 나타내었다.

[0113] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, p38, ERK, JNK 단백질 모두 LPS 처리군에서는 염증반응이 유도되어 인산화 활성이 높아짐을 확인할 수 있는 반면, LPS 및 필레아 마티니를 함께 처리한 군에서는 LPS 처리군과 비교하여 인산화 활성이 크게 감소함을 확인할 수 있었다.

[0114] 이는, 필레아 마티니 추출물이 MAPK 신호전달 기작에 필요한 단백질들의 인산화를 억제함으로써 신호전달을 막아 염증 반응을 감소시킴으로써 염증성 질환을 개선시킬 수 있음을 시사한다.

[0116] 실험예 6. 필레아 마티니 추출물의 NF- κ B 신호전달 억제 활성 분석

[0117] 6-1. NF- κ B 및 AP-1의 결합 활성 분석

[0118] 염증 반응의 상위 신호전달체계 중 다른 하나인 NF- κ B 신호전달 체계에 대한 필레아 마티니 추출물의 억제 활성을 확인하기 위해, NF- κ B 신호전달 체계에 사용되는 전사인자인 NF- κ B 및 AP-1의 결합 활성을 분석하였다. 마우스 RAW 264.7 대식세포들을 상이한 농도의 필레아 마티니 추출물로 2시간 동안 전처리하고, LPS(1 μ g/ml)로 자극하여 얻어낸 핵 추출물(5 μ g/레인)을 준비하였다. NF- κ B 및 AP-1의 결합 활성은 EMSA(electrophoretic mobility shift assay)에 의해 수행되었다. 모든 실험은 최소 3회씩 독립적으로 행하여 졌으며 대푯값을 도면에 나타내었다.

[0119] 그 결과, 도 6a 및 6b에 나타난 바와 같이, LPS에 의해 유도된 NF- κ B 및 AP-1의 결합 활성을 확인할 수 있으며, 필레아 마티니 추출물의 농도가 증가함에 따라 NF- κ B 및 AP-1의 활성이 감소함을 확인할 수 있다.

[0121] 6-2. I κ B- α 단백질 분해 활성 분석

[0122] 염증 반응 기작에서 잘 알려진 I κ B- α 에 대한 분해 활성을 분석하였다. 대식세포를 30 μ g/ml의 필레아 마티니 추출물로 2시간 동안 전처리하고, LPS (1 μ g/ml)로 지정 시간 동안 자극하여 세포질 추출물을 준비하였다. 동량의 단백질(10 μ g/레인)을 10% SDS-PAGE를 행하여 분리한 뒤 니트로 셀룰로오스 멤브레인으로 전기적 이동을 시켰다. 멤브레인에 항-I κ B- α 항체를 반응시켜 분석하였다. β -액틴은 로딩 대조군으로 사용하였다.

[0123] 그 결과, 도 6c에 나타난 바와 같이, LPS 자극에 의해 염증반응이 유도된 경우, 시간에 따라 I κ B- α 가 분해되어 감소하는 것을 확인할 수 있는 반면, 필레아 마티니 추출물 처리군에서는 시간이 지나도 I κ B- α 가 일정한 수준을 유지하는 것을 확인할 수 있었다.

[0125] 6-3. p65, c-Jun, c-Fos 단백질 분석

[0126] NF- κ B 신호전달 체계에 사용되는 다른 전사인자들을 추가로 확인하였다. 30 μ g/ml의 필레아 마티니 추출물로 2시간 전처리 후 LPS(1 μ g/ml)로 지정된 시간동안 자극한 세포로부터 핵 추출물(10 μ g/레인)을 준비하였다. 10% SDS-PAGE를 행하여 분리 하여 니트로 셀룰로오스 멤브레인으로 이동시킨 후 인산-특이적 항-p65, 항-p65, 항-c-Jun 및 항-c-Fos를 사용하여 분석하였다. Lamin B는 로딩 대조군으로 사용하였다. 모든 실험은 최소 3회씩 독립적으로 행하여 졌으며 대푯값을 도면에 나타내었다.

[0127] 그 결과, 도 6d에 나타난 바와 같이, LPS 유도에 의해 p65 및 인산화된 p65의 수준이 증가함을 확인할 수 있으며, 필레아 마티니 추출물을 처리한 군에서는 그 수준이 감소한 것을 확인할 수 있다. 또한, c-Jun 및 c-Fos도 LPS 처리군과 비교하여 필레아 마티니 추출물 처리군에서 그 수준이 감소한 것을 확인할 수 있다.

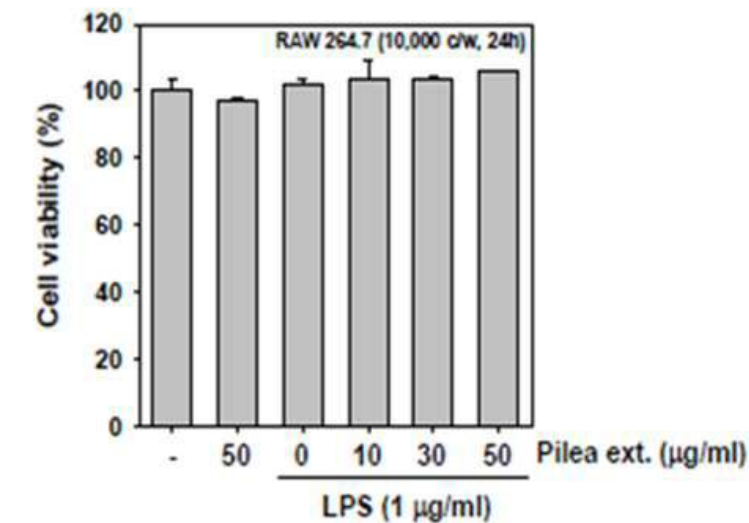
[0128] 종합하면, 필레아 마티니 추출물은 전사인자인 NF- κ B 및 AP-1의 결합 활성을 억제하고 p65의 활성을 억제하며, c-Jun 및 c-Fos의 수준을 감소시켜 염증반응의 상위 신호전달체계인 NF- κ B 신호전달을 억제함으로써 염증성 질환을 치료할 수 있음을 시사한다.

[0130] 실험예 7. 필레아마티니 추출물의 염증성 사이토카인 분비 감소 활성 분석

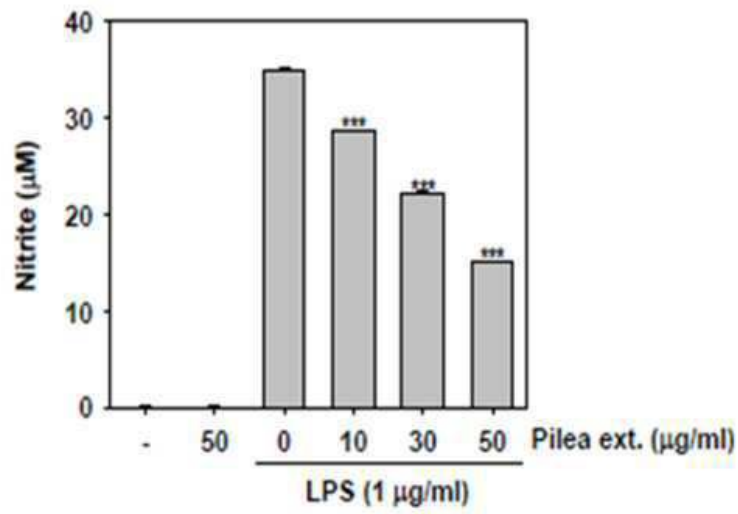
- [0131] 염증 반응에 직접적으로 관여하는 염증성 사이토카인에 대한 필레아 마티니 추출물의 효과를 확인하기 위해, 마우스 RAW 264.7 대식세포에서 지질다당체에 의해 유도된 IL-6 및 TNF- α 의 분비량을 분석하였다. 세포에 상이한 농도의 필레아 마티니 추출물을 2시간 동안 전처리 후 LPS (1 μ g/ml)로 22시간 동안 자극하였다. 분비된 IL-6 및 TNF- α 의 양은 마우스IL-6 또는 TNF- α 키트를 사용하여 측정하였다. 데이터는 3차례의 독립된 실험으로부터 얻었으며, 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였다.
- [0132] 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이, LPS만 처리한 경우 IL-6 및 TNF- α 의 분비량이 크게 증가한 것을 확인할 수 있으며, 필레아 마티니를 처리한 경우, 농도의존적으로 분비량이 감소하는 것을 확인할 수 있다.
- [0133] 이는, 필레아 마티니 추출물이 염증 반응에 직접적으로 관여하는 염증성 사이토카인의 분비를 감소시켜 염증성 질환에 대한 치료효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.
- [0135] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

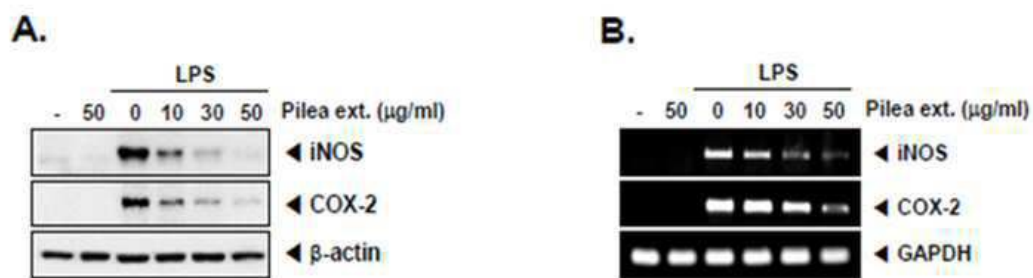
도면1



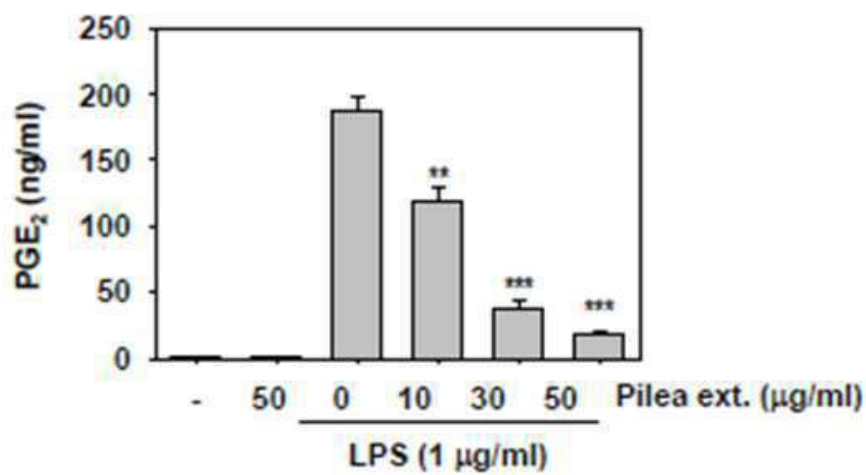
도면2



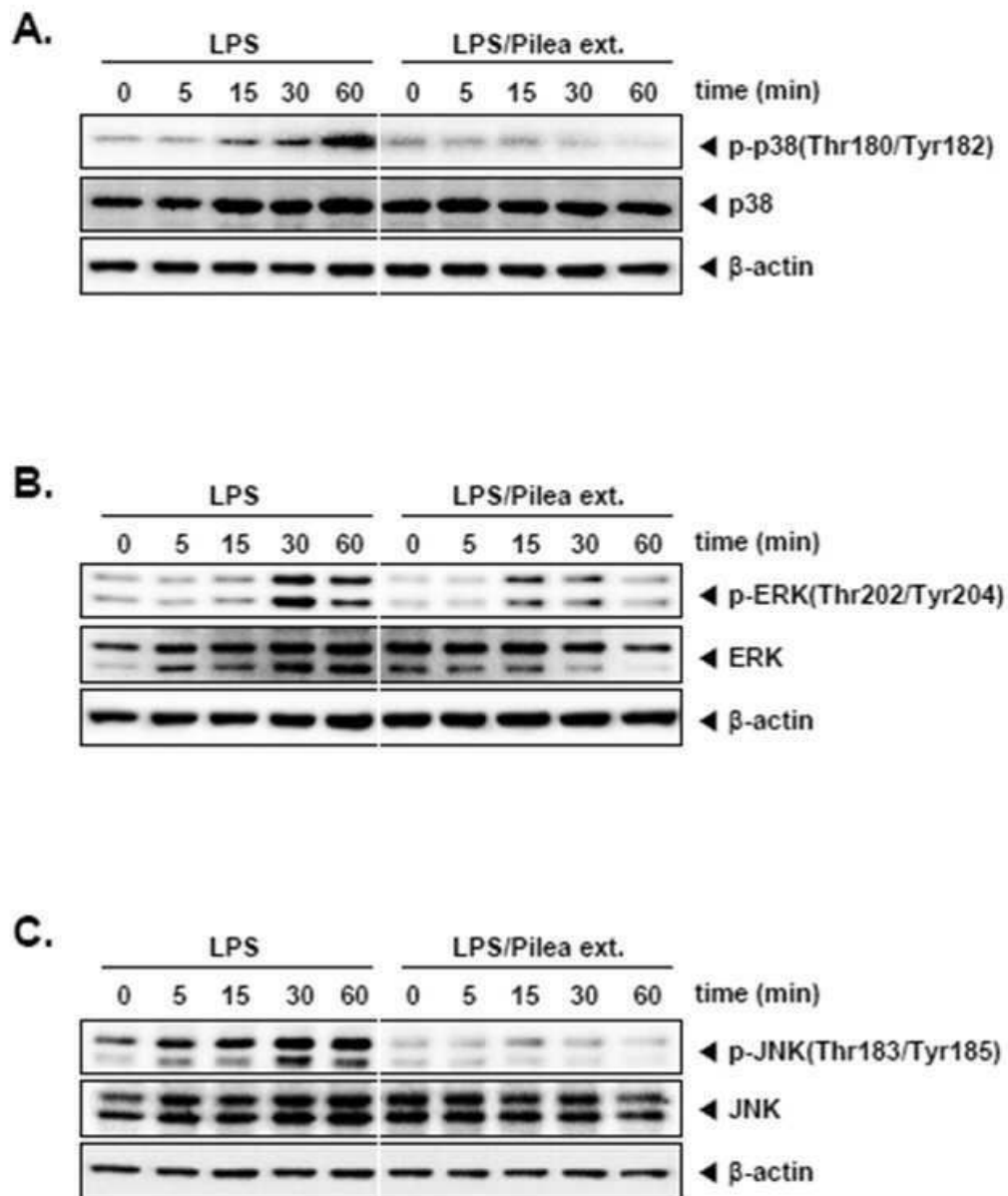
도면3



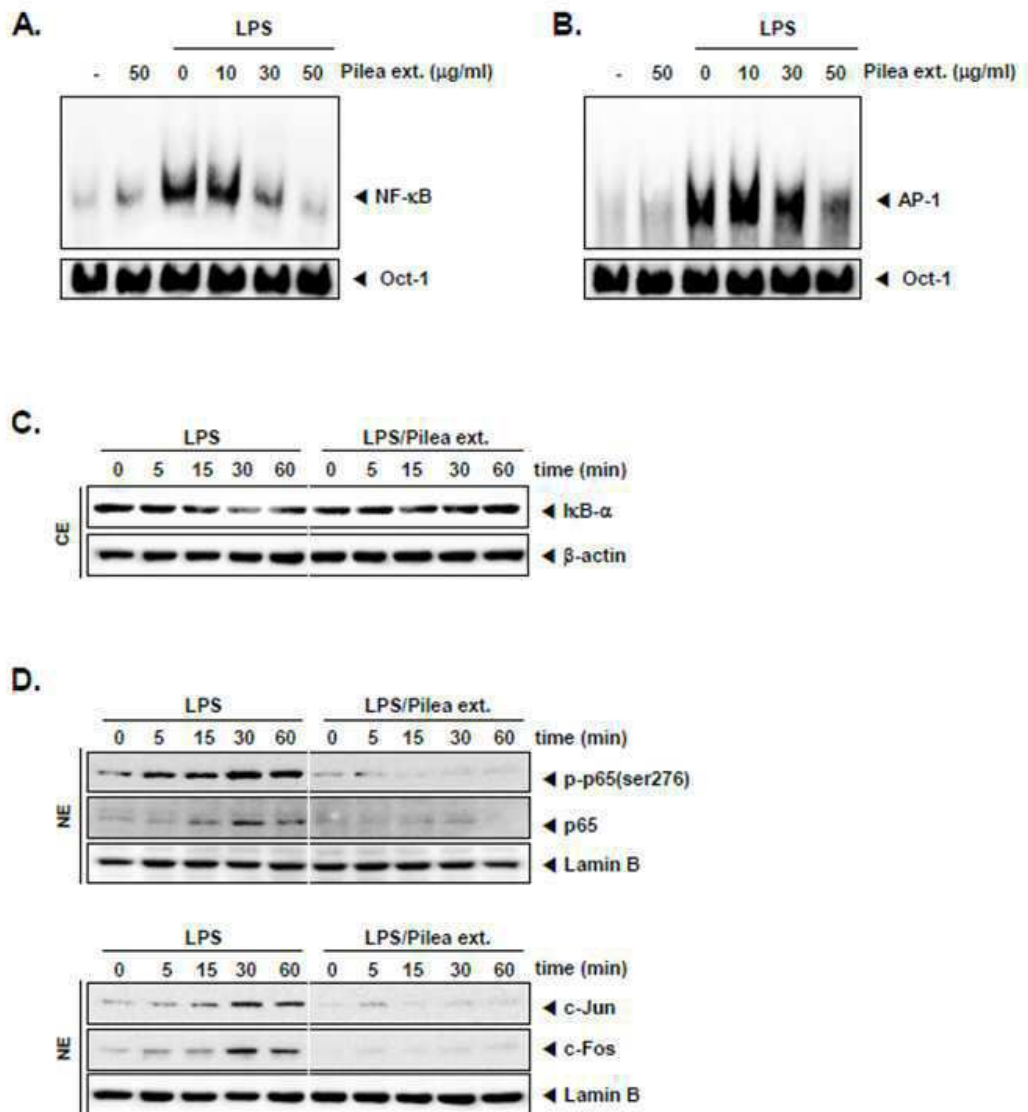
도면4



도면5



도면6



도면7

