



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0104582
(43) 공개일자 2025년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/03 (2006.01) A61K 8/9711 (2017.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61P 29/00 (2023.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/03 (2013.01)
A61K 8/9711 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2023-0197145

(22) 출원일자 2023년12월29일

심사청구일자 2023년12월29일

(71) 출원인

국립부경대학교 산학협력단

부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)

(72) 발명자

이봉기

부산광역시 부산진구 시민공원로19번길 65, 907호(부암동, 타워베르빌)

김명진

부산광역시 북구 낙동북로 652-1, 아이반리버 501호(구포동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인지평

전체 청구항 수 : 총 8 항

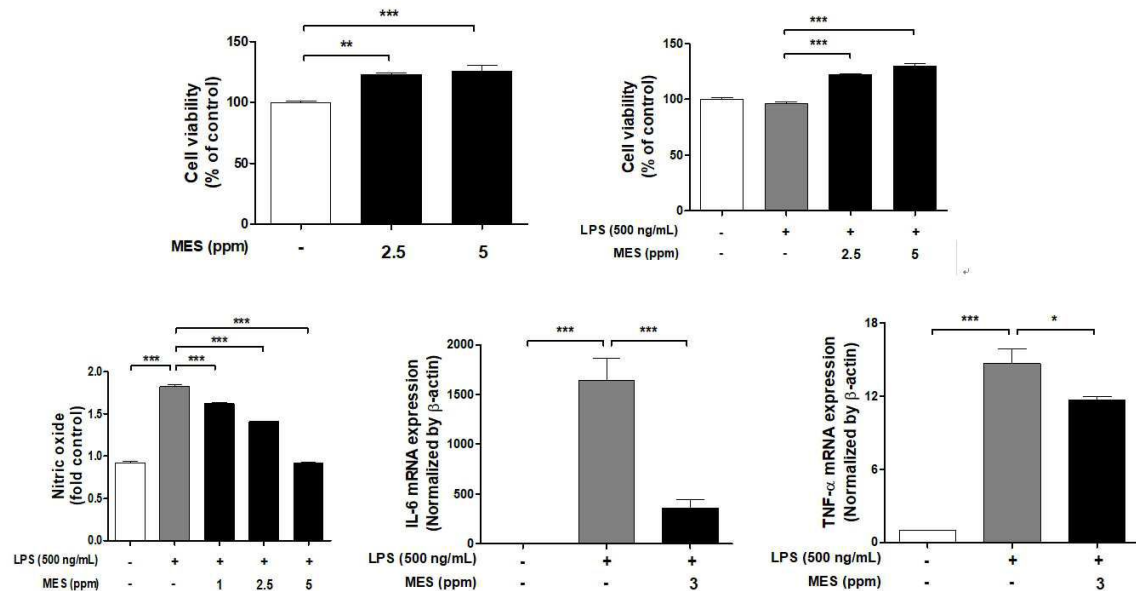
(54) 발명의 명칭 톱니모자반 추출물을 포함하는 피부염 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 톱니모자반 추출물, 특히 톱니모자반 주정추출물을 포함하는 피부염 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대한 것이다.

본 발명의 톱니모자반 추출물은 대식세포 및 피부 각질 세포에서 염증반응과 세포 생존율에 긍정적인 영향을 나타냈고, 아토피 피부염 마우스 모델에서 피부 표현형, 피부 조직학적 변화, 아토피 피부염의 중증도, 혈청 내 IgE 함량, 다양한 사이토카인 및 케모카인에 긍정적인 영향을 나타냈으므로, 본 발명의 톱니모자반 추출물은 피부염 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 효과적으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 17/00 (2018.01)
A61P 29/00 (2023.02)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61K 2800/74 (2013.01)
A61K 2800/805 (2013.01)

(72) 발명자

류희연

부산광역시 남구 용소로21번길 55, 204호(대연동, 해피데이)

반지윤

경상남도 양산시 물금읍 새실로 116, 601동 802호 (양산물금 대방노블랜드 6차 더클래스)

정현학

부산광역시 남구 용소로21번길 97 (대연동, 에이스원룸)

황지영

부산광역시 남구 유엔평화로47번길 115, 602호(대연동, 제이 펠리스)

서재성

부산광역시 수영구 황령대로 431, 102동 505호(남천동, 남천동원로알듀크)

이지윤

부산광역시 동래구 충렬대로 368, 102동 604호(안락동, 롯데캐슬에브뉴)

김형락

부산광역시 남구 황령대로319번길 26, 140동 2102호(대연동, 대연 경동메르빌 아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711199768
과제번호	00274576 (RS-2023-00274576)
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	OMICS 분석에 근거한 틱니모자반 주정추출물의 근감소증 요인별 치료효과 및 작용기

전 탐색

기 여 율	40/100
과제수행기관명	부경대학교산학협력단
연구기간	2023.09.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525013923
과제번호	202202522 (G22202202522301)
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	수산전문인력양성
연구과제명	영남씨그랜트
기 여 율	60/100
과제수행기관명	부경대학교산학협력단
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 주정 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 주정은 1~99% 의 에탄올인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 톱니모자반 추출물은,

- i) 톱니모자반을 건조 및 분쇄하는 단계; 및
 - ii) 상기 분쇄된 톱니모자반을 60~80℃ 에서 10~15시간 동안 용매로 1~3회 추출하는 단계;
- 로 제조되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 피부염은 아토피성 피부염, 피부 소양증, 지루성 피부염, 접촉성 피부염, 당뇨병성 피부염, 모낭염, 여드름, 알레르기성 피부염 및 신경성 피부염 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 6

톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 피부염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 7

톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 항피부염용 화장료 조성물.

청구항 8

톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 항피부염용 의약외품 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 톱니모자반 추출물, 특히 톱니모자반 주정추출물을 포함하는 피부염 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대한 것이다.

배경기술

[0003] 아토피 피부염은 만성 피부염의 한 유형인 면역계의 과반응에 의한 염증성 피부질환이자 알레르기 체질에서 발생하는 피부질환으로, 전 세계에서 수많은 사람들이 영향을 받고 있다. 현재 아토피성 피부염의 치료에는 스테로이드, 피부 방어 용품, 항히스타민제와 같은 약물 투여, 그리고 면역억제제가 존재하지만 이들 치료법이 근본적인 해결을 제공하지는 못하고 있다. 따라서, 천연물 유래 성분이 갖는 치료적 효과에 대한 연구가 필요한 실정이다.

[0004] 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 은 주로 남해안과 제주에 생육하는 갈조식물 모자반과의 바닷말로, 식물체는 1~4m인 대형 갈조류이고, 뿌리는 지름 4~5cm로 원뿔상이며 나이트가 있다. 줄기는 원주상으로 짧고 다수의 중심가지로 나뉘며 줄기 옆 가장자리에 2중으로 된 톱니 모양의 형태적 특징을 가진다. 톱니모자반은 식품공전에 등록되어 있는 안전한 해조류이고, 항균, 항당뇨 또는 항암효과 등이 알려져 있다. 그러나 톱니모자반의 피부염에 대한 효과는 추가적인 연구가 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) KR 10-2015-0182907 (2015-12-21)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이에 본 발명자들은 천연물 유래 성분 중 피부염에 효과적인 성분을 제공하고자 예의 노력한 결과, 톱니모자반 추출물의 항아토피 효과를 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0008] 따라서, 본 발명의 목적은 톱니모자반 추출물, 특히 톱니모자반 주정추출물을 포함하는 피부염 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 추출물은 물, 주정 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것이다.

[0012] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 주정은 1~99% 의 에탄올인 것이다.

[0013] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 톱니모자반 추출물은,

[0014] i) 톱니모자반을 건조 및 분쇄하는 단계; 및

[0015] ii) 상기 분쇄된 톱니모자반을 60~80℃ 에서 10~15시간 동안 용매로 1~3회 추출하는 단계;

[0016] 로 제조되는 것이다.

[0017] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 피부염은 아토피성 피부염, 피부 소양증, 지루성 피부염, 접촉성

피부염, 당뇨병성 피부염, 모낭염, 여드름, 알레르기성 피부염 및 신경성 피부염 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것이다.

[0018] 또한, 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 피부염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 항피부염용 화장품 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 항피부염용 의약품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0022] 본 발명의 톱니모자반 추출물은 대식세포 및 피부 각질 세포에서 염증반응과 세포 생존율에 긍정적인 영향을 나타냈고, 아토피 피부염 마우스 모델에서 피부 표현형, 피부 조직학적 변화, 아토피 피부염의 중증도, 혈청 내 IgE 함량, 다양한 사이토카인 및 케모카인에 긍정적인 영향을 나타냈으므로, 본 발명의 톱니모자반 추출물은 피부염 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1 은 대식 세포(RAW 264.7 cell)에서 톱니모자반 주정추출물이 세포 생존율에 미치는 영향 및 항염증 효과를 나타낸다.

도 2 는 피부 각질 세포(HaCaT cell)에서 톱니모자반 주정추출물이 세포 생존율에 미치는 영향 및 항염증 효과를 나타낸다.

도 3 은 BALB/c mouse 아토피 피부염 마우스 모델의 제작 과정을 나타낸다.

도 4 는 BALB/c mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물의 피부 표현형 및 가려움증 개선 효과를 나타낸다.

도 5 는 BALB/c mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물의 표피 두께 감소 효과를 나타낸다.

도 6 은 BALB/c mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 mast cell의 진피 침윤 감소 효과를 나타낸다.

도 7 은 HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델의 제작 과정을 나타낸다.

도 8 은 HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물의 피부 표현형 개선 효과를 나타낸다.

도 9 는 HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물의 표피 두께 감소 효과를 나타낸다.

도 10 은 HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 mast cell의 진피 침윤 감소 효과를 나타낸다.

도 11 은 HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물의 혈청 내 IgE 함량 개선 효과를 나타낸다.

도 12는 HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물의 면역 및 염증 관련 사이토카인 및 케모카인 개선 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

- [0027] 본 발명의 '예방'이란, 본 발명의 톱니모자반 추출물로 인해 피부염 내지 관련 질환이 억제되거나 그 발병이 지연되도록 하는 모든 행위를 의미한다.
- [0028] 본 발명의 '개선' 또는 '치료'란, 본 발명의 톱니모자반 추출물로 인해 피부염 내지 관련 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도가 호전되거나 이롭게 되도록 하는 모든 행위를 의미한다.
- [0030] 본 발명은 식품공전에 등재된 톱니모자반을 이용함으로써 기존 아토피 치료법에서 발생할 수 있는 잠재적인 부작용을 줄이는데 기여할 수 있다. 추가적으로, 본 발명의 톱니모자반 추출물은 대식세포 및 피부 각질 세포에서 세포 독성이 나타나지 않았으며 염증반응을 감소시켰다. 또한, 아토피 피부염 마우스 모델에서 피부 표현형, 피부 조직학적 변화, 중증도를 개선시켰으며, 혈청 내 IgE 함량, 다양한 사이토카인 및 케모카인 함량을 감소시켰다. 결과적으로, 본 발명의 톱니모자반 추출물은 피부염 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 효과적으로 사용될 수 있다.
- [0032] 따라서, 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 추출물은 물, 주정 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것일 수 있다.
- [0034] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 주정은 1~99%의 에탄올인 것일 수 있다.
- [0035] 바람직하게는, 상기 주정은 60~80%의 에탄올인 것일 수 있다.
- [0036] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 톱니모자반 추출물은,
- [0037] i) 톱니모자반을 건조 및 분쇄하는 단계; 및
- [0038] ii) 상기 분쇄된 톱니모자반을 60~80℃에서 10~15시간 동안 용매로 1~3회 추출하는 단계;
- [0039] 로 제조되는 것일 수 있다.
- [0040] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 피부염은 아토피성 피부염, 피부 소양증, 지루성 피부염, 접촉성 피부염, 당뇨병성 피부염, 모낭염, 여드름, 알레르기성 피부염 및 신경성 피부염으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [0041] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 상기 조성물을 제형화할 경우에는 하나 이상의 완충제(예를 들어, 식염수 또는 PBS), 항산화제, 정균제, 킬레이트화제(예를 들어, EDTA 또는 글루타치온), 충진제, 증량제, 결합제, 아췌반트(예를 들어, 알루미늄 하이드록사이드), 현탁제, 농후제 습윤제, 봉해제 또는 계면활성제, 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0042] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분(옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 등 포함), 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 텍스트로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필 메틸-셀룰로오스 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 예컨대, 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다.
- [0043] 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있으며, 향응집제, 향료, 유화제, 가용화제, 분산제, 향미제, 항산화제, 포장제, 안료 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0044] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제 또는 좌제 등이 포함된다. 비수성용제 및 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은

식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기재로는 위텡솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0045] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여시 피부외용; 복강내, 직장, 정맥, 근육 또는 피하에 주사하는 주사제; 또는 경피 투여제;의 형태로 당업계에 공지된 방법에 따라 제형화할 수 있다.

[0046] 상기 주사제의 경우에는 반드시 멸균되어야 하며 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염으로부터 보호되어야 한다. 주사제의 경우 적합한 담체의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 혼합물 및/또는 식물유를 포함하는 용매 또는 분산매 질일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적합한 담체로는 헵스 용액, 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline) 또는 주사용 멸균수, 10% 에탄올, 40% 프로필렌 글리콜 및 5% 텍스트로즈와 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 상기 주사제를 미생물 오염으로부터 보호하기 위해서는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 주사제는 대부분의 경우 당 또는 나트륨 클로라이드와 같은 등장화제를 추가로 포함할 수 있다.

[0047] 경피 투여제의 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어솔제 등의 형태가 포함된다. 상기에서 경피 투여는 약학적 조성물을 국소적으로 피부에 투여하여 약학적 조성물에 함유된 유효한 양의 활성성분이 피부 내로 전달되는 것을 의미한다.

[0048] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 약제학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0049] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양할 수 있다.

[0050] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0051] 본 발명의 약학적 조성물은 또한 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 외용제의 제형으로 제공할 수 있다. 본 발명의 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[0052] 본 발명의 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.

[0054] 또한, 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 피부염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공할 수 있다.

[0055] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 추출물은 물, 주정 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것일 수 있다.

[0056] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 주정은 1~99%의 에탄올인 것일 수 있다.

[0057] 바람직하게는, 상기 주정은 60~80%의 에탄올인 것일 수 있다.

[0058] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 톱니모자반 추출물은,

- [0059] i) 톱니모자반을 건조 및 분쇄하는 단계; 및
- [0060] ii) 상기 분쇄된 톱니모자반을 60~80℃ 에서 10~15시간 동안 용매로 1~3회 추출하는 단계;
- [0061] 로 제조되는 것일 수 있다.
- [0062] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 피부염은 아토피성 피부염, 피부 소양증, 지루성 피부염, 접촉성 피부염, 당뇨병성 피부염, 모낭염, 여드름, 알레르기성 피부염 및 신경성 피부염 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [0063] 본 발명에 따른 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 일반 식품으로는 이에 한정되지 않지만 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마야말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용 식물 유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 톱니모자반 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 영양보조제로는 이에 한정되지 않지만 캡슐, 타블렛, 환 등에 본 발명의 톱니모자반 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 건강기능식품으로는 이에 한정되지 않지만 예를 들면, 본 발명의 톱니모자반 추출물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용(건강음료)할 수 있도록 액상화, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 본 발명의 톱니모자반 추출물을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 톱니모자반 추출물과 피부염 예방 또는 개선 효과가 있다고 알려진 공지의 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.
- [0064] 본 발명의 톱니모자반 추출물을 건강음료로 이용하는 경우, 상기 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.
- [0065] 또한, 본 발명의 톱니모자반 추출물은 피부염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물의 유효성분으로 함유될 수 있는데, 그 양은 피부염 예방 또는 개선 작용을 달성하기에 유효한 양으로 특별히 한정되는 것은 아니나, 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%인 것이 바람직하다. 본 발명의 건강기능식품 조성물은 톱니모자반 추출물과 함께 피부염에 효과가 있는 것으로 알려진 다른 활성 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있다.
- [0066] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0068] 또한, 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 항피부염용 화장료 조성물을 제공할 수 있다.
- [0069] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 추출물은 물, 주정 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것일 수 있다.
- [0070] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 주정은 1~99% 의 에탄올인 것일 수 있다.
- [0071] 바람직하게는, 상기 주정은 60~80% 의 에탄올인 것일 수 있다.
- [0072] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 톱니모자반 추출물은,
- [0073] i) 톱니모자반을 건조 및 분쇄하는 단계; 및
- [0074] ii) 상기 분쇄된 톱니모자반을 60~80℃ 에서 10~15시간 동안 용매로 1~3회 추출하는 단계;
- [0075] 로 제조되는 것일 수 있다.

- [0076] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 피부염은 아토피성 피부염, 피부 소양증, 지루성 피부염, 접촉성 피부염, 당뇨병성 피부염, 모낭염, 여드름, 알레르기성 피부염 및 신경성 피부염 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [0077] 본 발명의 화장료 조성물은 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 함유하며 피부학적으로 허용 가능한 부형제와 함께 기초 화장품 조성물(화장수, 피부 보호제, 크림, 에센스, 클렌징 폼 및 클렌징 워터와 같은 세안제, 팩, 보디오일, 진진 세정제), 색조 화장품 조성물(파운데이션, 립스틱, 마스크라, 메이크업 베이스), 두발 제품 조성물(샴푸, 린스, 두피 세정제, 헤어컨디셔너, 헤어젤) 및 비누 등의 형태로 제조될 수 있다.
- [0078] 상기 부형제로는 이에 한정되지는 않으나 예를 들어, 피부연화제, 피부 침투 증강제, 착색제, 방향제, 유화제, 농화제 및 용매를 포함할 수 있다. 또한, 향료, 색소, 살균제, 산화방지제, 방부제 및 보습제 등을 추가로 포함할 수 있으며, 물성개선을 목적으로 점증제, 무기염류, 합성 고분자 물질 등을 포함할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화장료 조성물로 세안제 및 비누를 제조하는 경우에는 통상의 세안제 및 비누 베이스에 상기 톱니모자반 추출물을 첨가하여 용이하게 제조할 수 있다. 크림을 제조하는 경우에는 일반적인 수중유적형(O/W)의 크림베이스에 톱니모자반 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 여기에 향료, 킬레이트제, 색소, 산화방지제, 방부제 등과 물성개선을 목적으로 한 단백질, 미네랄, 비타민 등 합성 또는 천연소재를 추가로 첨가할 수 있다.
- [0079] 본 발명의 화장료 조성물에 함유되는 톱니모자반 추출물의 함량은 이에 한정되지 않지만 전체 조성물 총중량에 대하여 0.001 내지 10 중량%인 것이 바람직하고, 0.01 내지 5중량%인 것이 더욱 바람직하다. 상기 함량이 0.001 중량% 미만에서는 목적하는 항피부염 효과를 기대할 수 없고, 10중량% 초과에서는 안전성 또는 제형상의 제조에 어려움이 있을 수 있다.
- [0081] 또한, 본 발명은 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물을 포함하는 항피부염용 의약품 조성물을 제공할 수 있다.
- [0082] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 추출물은 물, 주정 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것일 수 있다.
- [0083] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 주정은 1~99% 의 에탄올인 것일 수 있다.
- [0084] 바람직하게는, 상기 주정은 60~80% 의 에탄올인 것일 수 있다.
- [0085] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 톱니모자반 추출물은,
- [0086] i) 톱니모자반을 건조 및 분쇄하는 단계; 및
- [0087] ii) 상기 분쇄된 톱니모자반을 60~80℃ 에서 10~15시간 동안 용매로 1~3회 추출하는 단계;
- [0088] 로 제조되는 것일 수 있다.
- [0089] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 피부염은 아토피성 피부염, 피부 소양증, 지루성 피부염, 접촉성 피부염, 당뇨병성 피부염, 모낭염, 여드름, 알레르기성 피부염 및 신경성 피부염 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [0090] 본 발명의 '의약품' 이란, 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 인체에 약하게 작용하거나 직접적으로 작용하지 않는 물품들을 의미하는 것일 수 있다. 예를 들어 약사법에 따르면 의약품은 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니하며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것 또는 감염병 예방을 위하여 살균 내지 살충 및 이와 유사한 용도로 사용되는 제제를 포함할 수 있다.
- [0091] 본 발명의 톱니모자반 추출물을 의약품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물은 그대로 첨가되거나 다른 의약품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0092] 본 발명의 의약품 조성물은 생리혈 위생처리 제품(생리대, 탐폰, 생리컵), 수술용 또는 보건용마스크, 환부의 보존·보호·처치 등의 목적으로 사용하는 제품(안대, 붕대, 탄력붕대, 석고붕대, 원통형 탄력붕대, 거즈, 탈지면, 반창고 등), 구강청결용 물휴지, 입 냄새 등의 방지제(구중청량제 (가글제), 액체방지제,

땀띠·긁힘용제, 치약제), 파리, 모기 등의 구제제, 방지제, 기피제 및 유인살충제, 콘택트렌즈의 세척·소독 등 관리용품, 금연용품(흡연욕구저하 또는 흡연습관개선 제품), 손소독제 등 인체에 직접 적용하는 외용소독제, 의약품에서 전환된 내복용제(비타민·미네랄 제제, 자양강장변질제, 건위소화제, 정장제), 구강위생 관리제품(치아근관·의치·틀니 등의 세척·소독제, 코골이 방지보조제, 치아미백제, 치태·설태 염색제), 미생물 번식과 물때 발생 예방목적으로 가습기 내의 물에 첨가하는 제제, 휴대용 공기 내지 산소, 공중보건과 위생관리를 위한 방역의 목적으로 사용하는 살충 내지 살서제, 인체에 직접 적용되지 않는 살균제, 또는 기타 이와 유사한 물품이 포함될 수 있다.

[0094] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 제한되는 것으로 해석하지 않는 것은 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명한 것이다.

실시예 1

[0096] **툽니모자반 주정추출물의 제조**

[0097] 툽니모자반은 대한민국 부산 기장 연안에서 수집되었다. 표본은 대한민국 부경대학교 생태공학과와 조류 분류학자에 의해 식별되었다. 툽니모자반을 2일 동안 건조시킨 후 해머 그라인더로 분쇄한 다음, 건조분말을 70℃에서 12시간 동안 70%(v/v) 에탄올로 2회 추출하였다(수율 약 5%). 합한 에탄올 추출물을 회전식 진공 증발기(Eyela, Tokyo, Japan)를 사용하여 40℃에서 농축하고 동결건조하였다.

실시예 2

[0099] **LPS에 의해 염증이 유도된 대식세포에서 툽니모자반 주정추출물이 세포 생존율 및 염증 반응에 미치는 영향**

[0100] <2-1> 세포 생존율

[0101] 툽니모자반 주정추출물(MES)의 대식세포에 대한 영향을 확인하기 위하여 MTS 분석(assay)을 수행하였다.

[0102] 구체적으로, MTS 분석은 CellTiter96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Kit를 사용하여 측정되었다. RAW 264.7 cell (3×10^4 cells/well) 및 HaCaT cell (0.8×10^4 cells/well)를 96well plate에 seeding했다. 24시간 후 세포가 80% confluency에 도달하면 serum-free DMEM에 희석된 다양한 농도(0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 ppm)의 툽니모자반 주정추출물을 24시간 동안 처리하였다. 24시간 배양 후, 각 well에 5 μ L의 MTS reagent를 첨가하고 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 흡광도는 마이크로플레이트 리더를 사용하여 490 nm에서 측정되었다.

[0103] RAW 264.7 및 HaCaT cell의 염증 유발 후 세포 생존력을 테스트하기 위해 상기와 동일한 조건을 seeding 후 다양한 농도(0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 ppm)의 툽니모자반 주정추출물을 1시간 전처리하였다. 1시간 후 RAW 264.7과 HaCaT 세포에 각각 LPS (500 ng/mL)와 TNF- α (20 ng/mL)를 처리하여 염증을 유도하였다. 24시간 후, 각 웰에 MTS 시약 5 μ L를 첨가하고 37℃에서 1시간 동안 배양하여 발색시켰다. 흡광도는 마이크로플레이트 리더를 사용하여 490 nm에서 측정되었다.

[0104] 대식세포인 RAW 264.7 cell에서 독성이 없는 툽니모자반 주정추출물의 적정 농도를 결정하기 위해 MTS 분석을 수행한 결과, 5 ppm까지 세포생존율이 증가하였다. 또한, LPS의 자극에 의해 염증이 유도된 RAW 264.7 cell에서 툽니모자반 주정추출물의 영향을 확인하기 위해 MTS 분석을 수행한 결과, 5 ppm까지 세포 생존율이 증가하였다(도 1).

[0106] <2-2> 염증 반응

[0107] 세포 생존율을 바탕으로 대식세포의 염증 반응에 대한 툽니모자반 주정추출물의 효과를 확인하기 위해 NO (Nitric Oxide) 분석 및 염증성 사이토카인 (IL-6, TNF- α)의 mRNA 발현 수준을 RT-PCR을 통해 확인하고자 하

였다.

- [0108] 구체적으로, NO 분석은 RAW 264.7 cell (3×10^4 cells/well)를 96well plate에 seeding 한 후 24시간 배양한다. 세포가 plate에 80% 정도 분포하면 serum-free DMEM에 희석된 다양한 농도 (0, 1, 2.5, 5 ppm)의 톱니모자반 주정추출물을 1시간 동안 전처리하였다. 그 후 LPS (500 ng/mL)를 처리하여 염증을 유도하였다. 24시간 후 상층액 100 μ L와 100 μ L의 Griess reagent (8.5% Phosphoric acid, 1% Sulfanilamide, 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride in deionized distilled water)를 30분 동안 반응시킨 다음, 마이크로플레이트 리더를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0109] RT-PCR (Real-Time PCR)은 RAW 264.7 cell (12-well plate, 4×10^5 cells/well) 및 HaCaT cell (6-well plate, 0.8×10^5 cells/well)를 seeding 하였다. 80% confluency 상태에서 톱니모자반 주정추출물 1시간 전처리 후 각각 LPS (500 ng/mL)와 TNF- α (20 ng/mL)와 함께 24시간 처리되었다. RiboEX™시약 (GeneA11)을 사용하여 세포로부터 RNA를 분리한 다음 SmartGene Compact cDNA Synthesis kit (SMART GENE, Daejeon, Korea)를 사용하여 cDNA로 합성하였다. RT-PCR은 QuantStudio™1 Real-Time PCR 장치(Applied Biosystems)에서 TOPreal™SYBR Green qPCR PreMIX (Enzynomics)를 사용하였다.
- [0110] 그 결과, 톱니모자반 주정추출물 3 ppm에서 LPS에 의해서 증가한 NO 생성이 감소하였으며, 관련 유전자들의 mRNA 발현 수준이 유의적으로 감소함을 확인하였다(도 1). 이러한 결과는 톱니모자반 주정추출물이 대식세포에서 LPS에 의해 유도된 염증 반응을 억제함을 나타낸다.

실시예 3

- [0112] TNF- α 에 의해 염증이 유도된 피부 각질세포에서 톱니모자반 주정추출물이 세포 생존율 및 염증 반응에 미치는 영향 확인
- [0113] <3-1> 세포 생존율
- [0114] 피부 각질 세포인 HaCaT cell에서 독성이 없는 톱니모자반 주정추출물의 적정 농도를 결정하기 위해 다양한 농도 (0, 0.625ppm, 1.25ppm, 2.5ppm, 5ppm, 10ppm)의 톱니모자반 주정추출물을 1시간 전처리하여 상기 <실시예 2>와 동일한 방법으로 MTS assay를 수행한 결과, 2.5 ppm까지 세포생존율이 영향을 받지 않음을 확인하였다. 또한, TNF- α 의 자극에 의해 염증이 유도된 HaCaT cell에서 톱니모자반 주정추출물의 영향을 확인하기 위해 다양한 농도 (0, 0.625ppm, 1.25ppm, 2.5ppm, 5ppm, 10ppm)의 톱니모자반 주정추출물을 1시간 전처리하여 상기 <실시예 2>와 동일한 방법으로 MTS assay를 수행한 결과, 1.25 ppm까지 세포 생존율의 영향을 받지 않음을 확인하였다(도 2).
- [0116] <3-2> 염증 반응
- [0117] TNF- α 에 의해 염증이 유도된 HaCaT cell에서 톱니모자반 주정추출물이 염증성 사이토카인 (IL-6, TNF- α , COX-2)의 mRNA 발현 수준에 미치는 영향을 확인하기 위해 다양한 농도(0, 0.625, 1.25 ppm)의 톱니모자반 주정추출물을 1시간 전처리하여 상기 <실시예 2>와 동일한 방법으로 RT-PCR을 진행한 결과, 톱니모자반 주정추출물에 의해 관련 유전자들의 mRNA 발현 수준이 유의적으로 감소함을 확인하였다(도 2).
- [0118] 이러한 결과는 톱니모자반 주정추출물이 HaCaT cell에서 TNF- α 에 의해 유도된 염증 반응을 억제함을 나타냈다.

실시예 4

- [0120] BALB/c mouse 아토피 피부염 마우스 모델 제작
- [0121] 암컷 BALB/c mouse (5주령)을 샘타코에서 공급받았으며, 동물 실험실에서 3주간 적응시킨 후 8주령부터 실험에 사용하였다. 적응 및 실험기간동안 사료와 물은 충분히 공급하였으며 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 습도는 $50 \pm 10\%$ 그리고 12h 명암주기를 유지하였다. 실험군은 아토피 피부염 비유발군 (CON), 아토피 피부염 유발군 (DNFB(1-chloro-2,4-Dinitrochlorobenzene)), 아토피 피부염 유발 + 톱니모자반 주정추출물 500 ppm군 (MES 500 ppm), 아토피 피부

염 유발 + 톱니모자반 주정추출물 1000 ppm군 (MES 1000 ppm), 아토피 피부염 유발 + 톱니모자반 주정추출물 2000 ppm군 (MES 2000 ppm), 아토피 피부염 유발 + 텍사메타손(dexamethasone) 2000 ppm군 (DEX 2000 ppm, 양성대조군)으로 구성되었으며, 각 군당 7,7,6,6,7,5 마리씩 배정하였다. 3주간 실험실에 적응시킨 BALB/c mouse는 isoflurane을 이용하여 흡입 마취시킨 후 제모기 및 제모크림을 이용하여 등 피부를 말끔히 제모하였다. 제모 후 1일간 미세상처 회복 기간을 준 다음 4% SDS 200 μ L 도포로 피부장벽을 허물고, 2시간 후 1% DNCB (acetone:olive oil=3:1) 200 μ L 3일동안 도포하여 아토피 피부염을 유발하였다. 4일 후 아토피 피부염이 유발됨을 확인한 다음 4주간 톱니모자반 주정추출물 (Propylene glycol:ethanol = 7:3) 및 0.5~0.25% DNCB 200~400 μ L (자연치유를 막기위함)를 매일 도포하며 매주 아토피 피부염진행 상태를 관찰하였다(도 3).

실시예 5

- [0123] BALB/c mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 피부 표현형 및 아토피 피부염 중증도에 미치는 영향 확인.
- [0124] DNCB에 의해 아토피 피부염이 유도된 BALB/c 마우스에 톱니모자반 주정추출물 도포 후 매주 1회 사진촬영을 통해 피부 표현형을 관찰 및 기록한 결과, 실험 종료 시점 (13주령)에서 톱니모자반 주정추출물(MES)이 아토피 피부염의 피부 표현형을 개선하였다.
- [0125] 또한, 매주 BALB/c 마우스의 가려움증 정도를 판단하기 위해 매주 1회 2가지 항목 (찰과장/긁힘, 각질 생성 정도)을 중증도에 따라 점수(0(없음), 1(경증), 2(중증도), 3(중증))를 매긴 다음 각 항목의 점수를 총합하여 가려움증 정도를 판단하였다.
- [0126] 그 결과, 아토피 피부염 유발군 대비 톱니모자반 주정추출물군에서 아토피 피부염의 주요 증상인 가려움증이 개선됨을 확인하였다. DEX 2000 ppm군(텍사메타손(dexamethasone) 처리한 양성대조군)의 경우 아토피 유발군과 비교 시 피부 표현형에 대한 변화가 없었으며, 아토피 피부염 중증도의 개선이 관찰되지 않았다. 또한, 실험 2주차부터 몸무게 감소가 관찰되었으므로 본 실험에서 BALB/c 마우스는 텍사메타손에 대한 비정상적인 반응이 일어남으로 판단되었다(도 4).

실시예 6

- [0128] BALB/c mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 피부 조직학적 변화에 미치는 영향 확인
- [0129] DNCB에 의해 아토피 피부염이 유도된 BALB/c 마우스에서 톱니모자반 주정추출물(MES)이 피부 조직학적 변화에 미치는 영향을 확인하였다. 등 피부의 표피 두께 변화를 확인하기 위해 Hematoxylin & Eosin staining을 진행하였고, mast cell의 진피 침투 정도를 관찰하기 위해 Toluidine blue staining을 진행하였다.
- [0130] 구체적으로, 실험 종료 시점 동일한 위치의 등 피부를 채취하여 10% paraformaldehyde에 담구어 고정 후 paraffin block으로 제작하였다. 이를 절편한 다음 Hematoxylin & Eosin staining은 Hematoxylin 및 Eosin 시약을 이용하여 조직을 염색하였으며, Toluidine blue staining은 Toluidine blue 시약을 이용하여 조직을 염색하였다.
- [0131] Hematoxylin & Eosin staining을 통해 등 피부의 표피 두께 변화 관찰 결과, 아토피 피부염 유발군 대비 톱니모자반 주정추출물군에서 표피 두께가 감소하였음을 확인하였다 (도 5). 또한, Toluidine blue staining을 통해 등 피부의 진피층 내 mast cell의 침투를 관찰한 결과, 아토피 피부염 유발군 대비 톱니모자반 주정추출물군에서 mast cell의 진피 침투가 감소하였음을 확인하였다 (도 6).
- [0132] 이러한 결과는 톱니모자반 주정추출물이 아토피 피부염을 유발한 BALB/c mouse에서 피부 조직학적 변화를 개선 시킴을 나타냈다.

실시예 7

- [0134] HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델 제작
- [0135] BALB/c 마우스 실험을 바탕으로 DNCB를 이용하여 아토피 피부염을 장기간 유발하였을 때 톱니모자반 주정추출물

의 효능을 확인하기 위해 사람피부와 가장 유사한 마우스인 HR-1 mouse를 이용하여 실험을 진행하였다. HR-1 마우스는 암컷 (6주령)을 샘타코에서 공급받았으며, 동물 실험실에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 적응 및 실험기간동안 사료와 물은 충분히 공급하였으며 온도는 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 $50\pm 10\%$ 그리고 12h 명암주기를 유지하였다. 실험군은 아토피 피부염 비유발군 (CON), 아토피 피부염 유발군 (DNCB), 아토피 피부염 유발 + 톱니모자반 주정추출물 100 ppm군 (MES 100 ppm), 아토피 피부염 유발 + 톱니모자반 주정추출물 500 ppm군 (MES 500 ppm)으로 구성되었으며, 각 군당 7마리씩 배정하였다. 1주간 실험실에 적응시킨 HR-1 마우스는 0.5~1% DNCB (acetone:olive oil=3:1) 200 μL 를 1주일에 3번, 총 3주간 도포한 다음, 다시 3주간 1% DNCB 200 μL 를 매일 도포하여 아토피 피부염을 장기간 (총 6주) 유발시켰다. 아토피 피부염이 유발됨을 확인한 다음 2주간 톱니모자반 주정추출물 (Propylene glycol:ethanol = 7:3) 및 0.1% DNCB(자연치유를 막기위함) 200 μL 를 매일 도포하며 매주 아토피 피부염 진행 상태를 관찰하였다 (도 7).

실시예 8

- [0137] HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 몸무게 및 피부 표현형에 미치는 영향 확인
- [0138] DNCB에 의해 아토피 피부염이 유도된 HR-1 mouse에 톱니모자반 주정추출물(MES) 도포 후 피부 표현형을 사진 촬영을 통해 기록 및 관찰한 결과, 실험 종료 시점 (15주령)에서 톱니모자반 주정추출물이 아토피 피부염의 피부 표현형을 개선하였다.
- [0139] 또한, 몸무게는 저울을 이용하여 측정한 결과 실험 종료 시점에서 몸무게의 변화가 없는 것으로 보아 DNCB 또는 톱니모자반 주정추출물에 대한 마우스의 독성 및 비정상적인 반응은 없는 것으로 판단하였다 (도 8).

실시예 9

- [0141] HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 피부 조직학적 변화에 미치는 영향 확인
- [0142] DNCB에 의해 아토피 피부염이 유도된 BALB/c 마우스에서 톱니모자반 주정추출물(MES)이 피부 조직학적 변화에 미치는 영향을 확인하였다. 등 피부의 표피 두께 변화를 확인하기 위한 Hematoxylin & Eosin staining 및 mast cell의 진피 침투 정도 관찰하기 위한 Toluidine blue staining을 상기 <실시예 6> 과 동일한 방법으로 진행하였다.
- [0143] Hematoxylin & Eosin staining을 통해 등 피부의 표피 두께 변화 관찰 결과, 아토피 피부염 유발군 대비 톱니모자반 주정추출물군에서 표피 두께가 감소하였음을 확인하였다 (도 9). 또한, Toluidine blue staining을 통해 등 피부의 진피층 내 mast cell의 침투를 관찰한 결과, 아토피 피부염 유발군 대비 톱니모자반 주정추출물군에서 mast cell의 진피 침투가 감소하였음을 확인하였다(도 10).
- [0144] 이러한 결과는 톱니모자반 주정추출물이 아토피 피부염의 피부 조직학적 변화를 개선시킴을 나타냈다.

실시예 10

- [0146] HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 혈청 내 IgE 함량에 미치는 영향 확인.
- [0147] 혈청 내 IgE는 비만세포 표면의 $\text{FC}\epsilon$ 수용체와 교차 결합하여 다양한 염증성 매개물질을 방출함으로써 아토피 피부염, 홍반 증상 등이 나타나므로 아토피 피부염의 중증도와 관련이 높다. 따라서 혈청 내 IgE 함량을 확인하고자 하였다.
- [0148] 구체적으로, LBIS Mouse IgE ELISA kit(FUJIFILM Wako Shibayagi Corporation, Shibukawa, Gunma, Japan)를 사용하여 측정되었다. 간단히 말하면, 항체 코팅 플레이트를 standard 및 혈청과 함께 2시간 동안 배양했다. 세척 후, biotinylated anti-mouse IgE antibodies를 2시간 동안 배양했다. 세척 후, HRP-conjugated streptavidin을 1시간 동안 배양하였다. 마지막으로 TMB를 첨가하고 20분간 반응시킨 후 stop solution을 첨가하고 마이크로플레이트 리더를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 모든 실험은 $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ 에서 수행되었다.

[0149] 그 결과, 아토피 피부염 유발군 대비 톱니모자반 주정추출물 500 ppm군에서 혈청 내 IgE 함량이 감소함을 확인하였다(도 11).

실시예 11

[0151] HR-1 mouse 아토피 피부염 마우스 모델에서 톱니모자반 주정추출물이 혈청 내 사이토카인 및 케모카인에 미치는 영향 확인

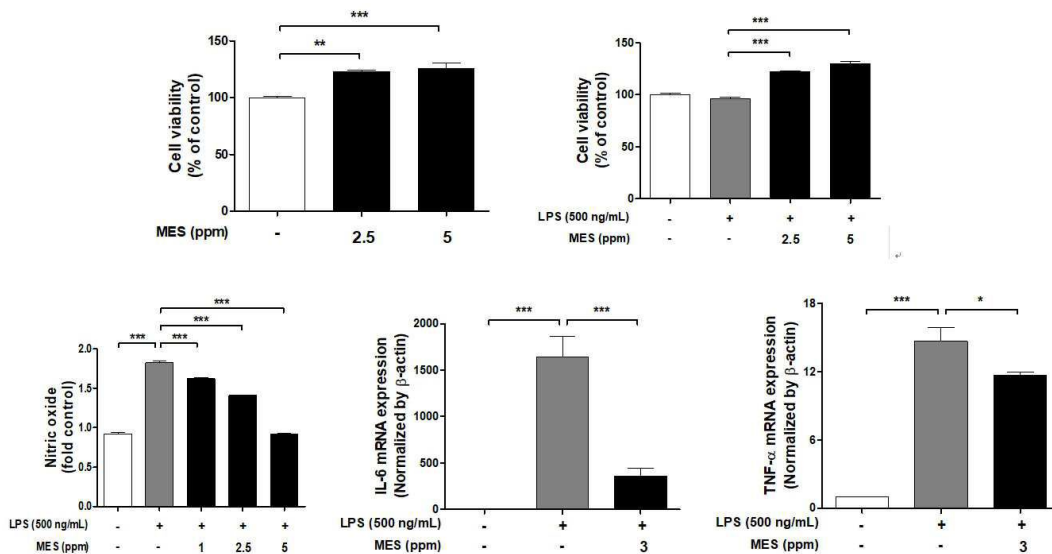
[0152] DNCB에 의해 아토피 피부염이 유도된 HR-1 마우스에서 톱니모자반 주정추출물이 혈청 내 사이토카인 및 케모카인에 미치는 영향을 알아보기 위해 Proteome Profiler Mouse XL cytokine array (R&Dsystems biotechne, ARY028)을 사용하여 111개의 사이토카인 및 케모카인을 검출하였다.

[0153] 구체적으로, 111개의 cytokine에 대한 항체가 붙어있는 막(membrane)을 block buffer와 함께 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 세척 후, 막을 2-8℃범위의 온도에서 밤새 혈청과 함께 배양하였다. 세척 후 막을 detection antibody cocktail과 함께 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 다시 세척한 후 막을 Streptavidin-HRP와 함께 실온에서 30분간 배양했다. 마지막으로 막을 Chemi Reagent Mix와 1분간 반응시킨 후 X-ray film에 1~10분간 노출시켰다. 결과 이미지는 정량화를 위해 Quick Spots Tool 소프트웨어 (R&D)를 사용하여 분석되었다.

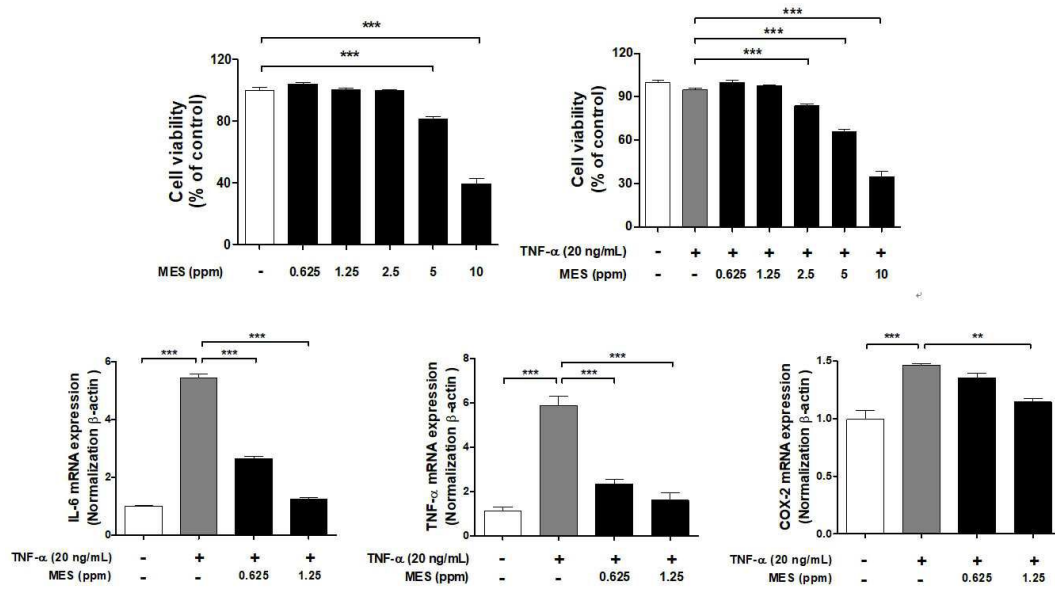
[0154] 그 결과, 아토피 피부염 유발군 대비 톱니모자반 주정추출물군에서 염증 및 면역 관련 사이토카인 및 케모카인의 개선을 확인할 수 있었다(도 12).

도면

도면1



도면2

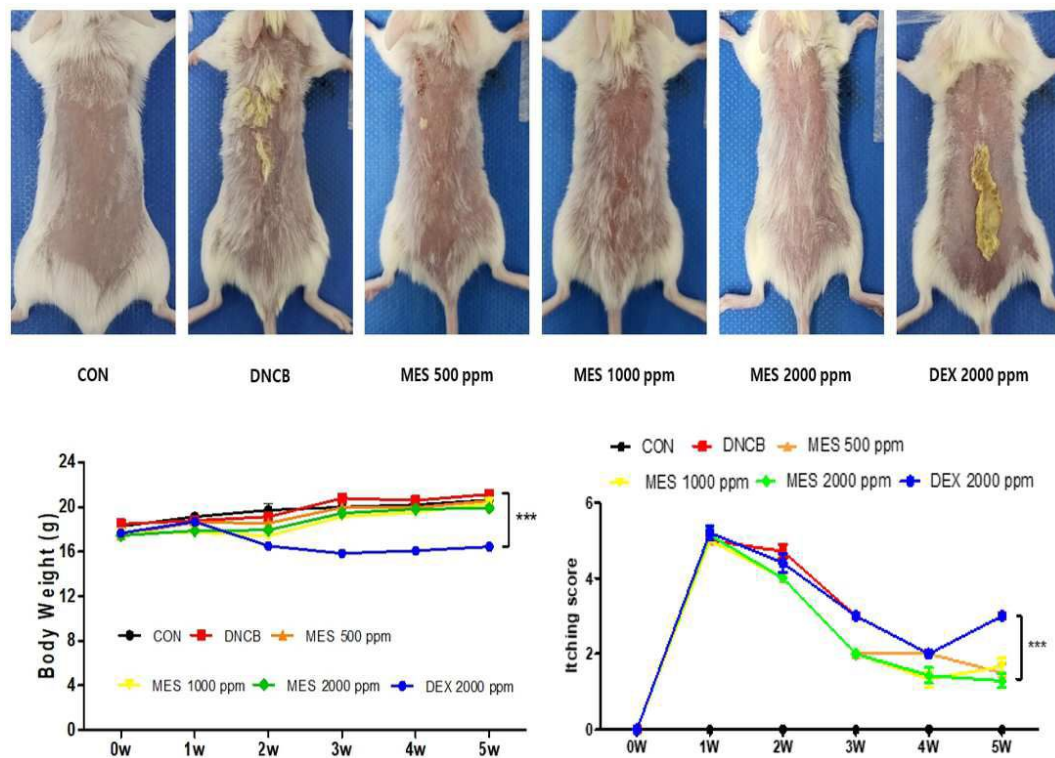


도면3

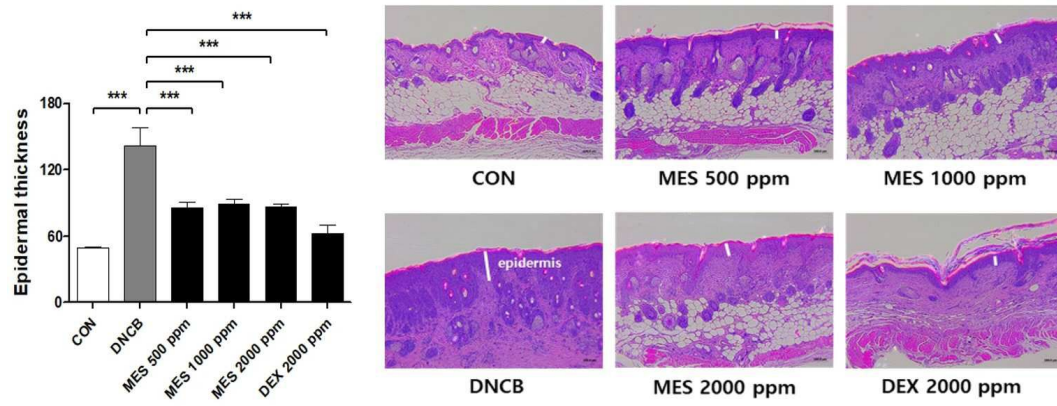
**** DNCB sensitization 3 for days**



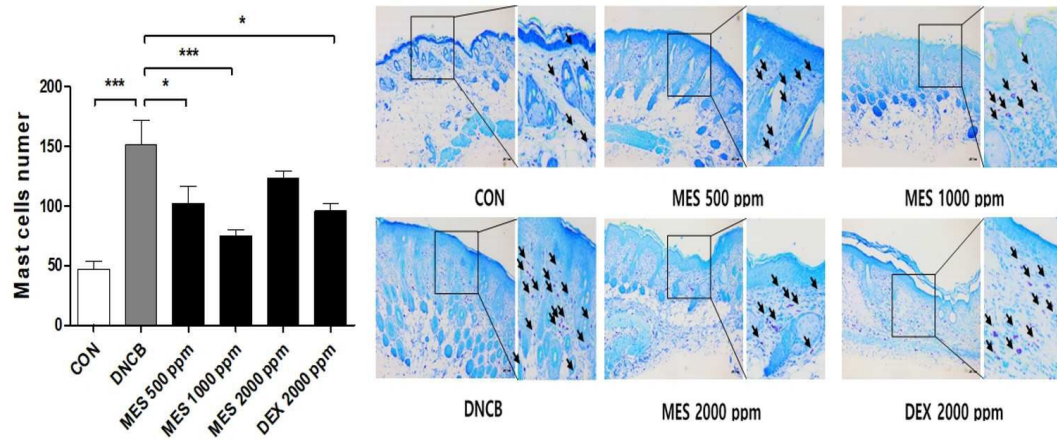
도면4



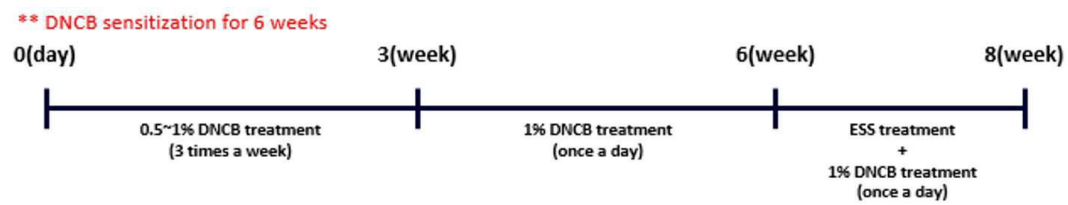
도면5



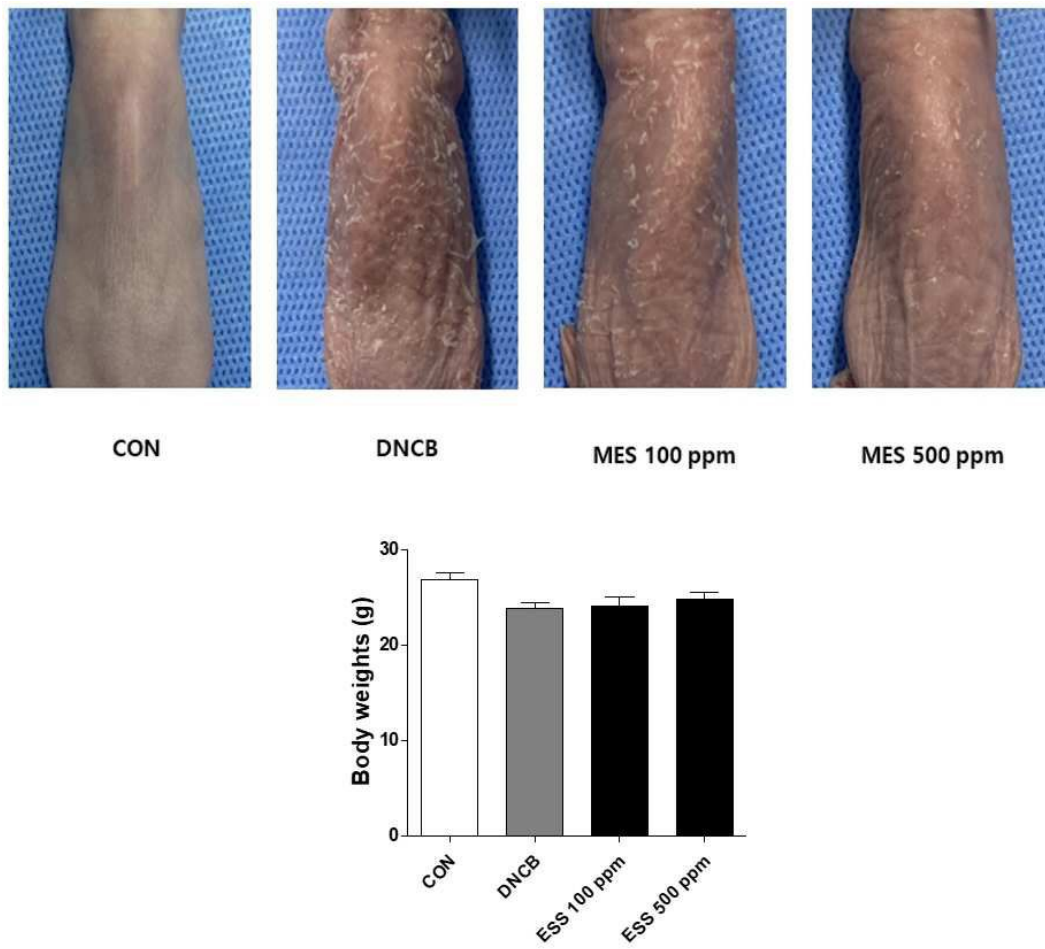
도면6



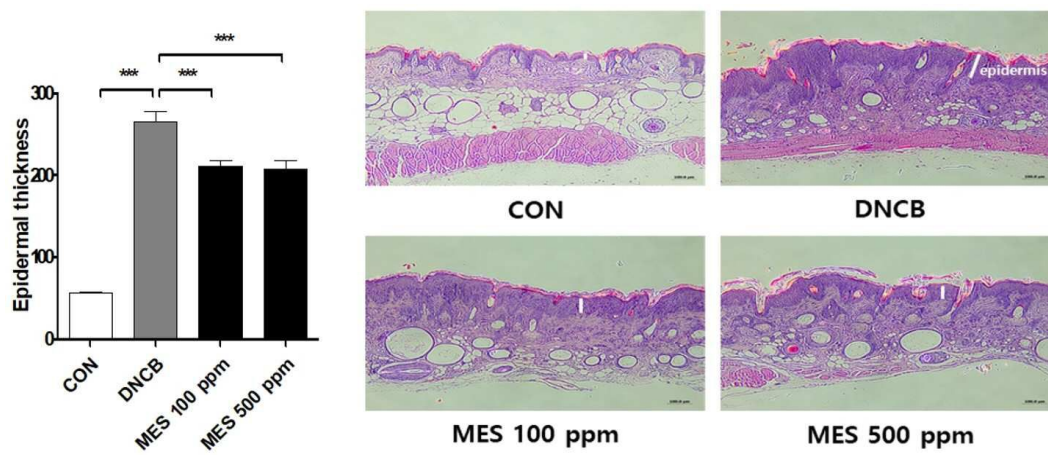
도면7



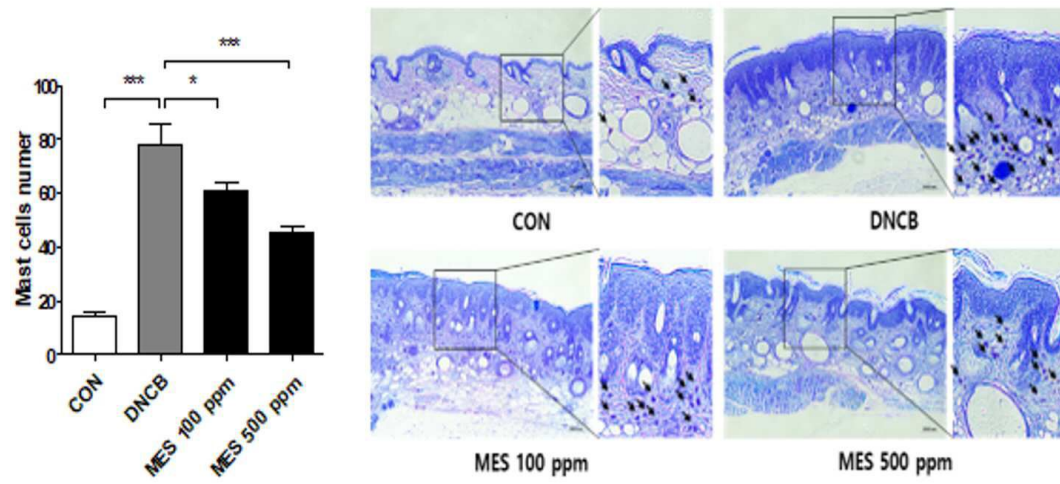
도면8



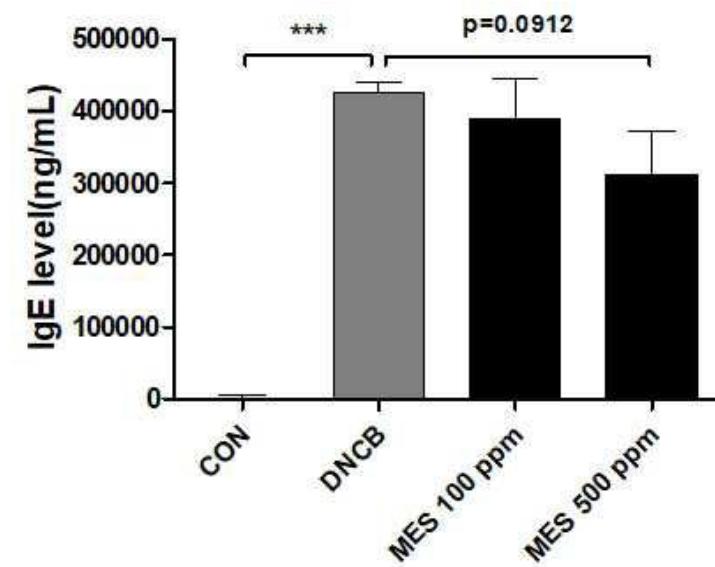
도면9



도면10



도면11



도면12

