



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0061407
(43) 공개일자 2011년06월09일

(51) Int. Cl.

A61K 36/73 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0118042

(22) 출원일자 2009년12월01일

심사청구일자 2009년12월01일

(71) 출원인

중앙대학교 산학협력단

서울 동작구 흑석동 221

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가 1

(72) 발명자

이민원

서울특별시 동작구 사당3동 롯데 낙천대아파트
107동 1903호

최영욱

서울특별시 서초구 반포본동 주공아파트 112-105

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양부현, 김승진

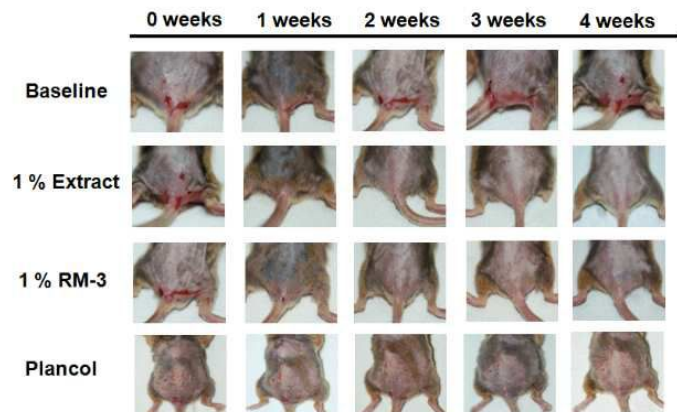
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 플로바탄닌 화합물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물

(57) 요약

본 발명은 쥘레나무 뿌리 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물에 관한 것이다. 본 발명에서 쥘레나무 뿌리 추출물과 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피 피부염 유발 동물모델 NC/Nga 마우스에서 아토피 피부염의 치료 효능을 보이며, NC/Nga 마우스로부터 채취한 혈액에서 호산성백혈구(eosinophil)의 수 및 IgE의 수준을 감소시키고, 혈액 및 림프구에서의 Th2 면역조절 사이토카인인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 수준을 감소시키며, NC/Nga 마우스 피부로부터 채취한 세포의 iNOS와 COX 단백질의 발현을 억제하는 효능을 가진다. 따라서, 본 발명의 쥘레나무 뿌리 추출물과 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌 화합물은 아토피성 질환의 치료제, 화장품 및 기능성 식품으로도 개발될 수 있다.

대표도 - 도8



(72) 발명자

서성준

경기도 안양시 동안구 비산동 245번지 뉴타운아파트 9동 807호

김성규

서울특별시 구로구 구로동 429-225

최선은

서울특별시 금천구 시흥5동 신도브래뉴아파트 101동 1206호

박관희

서울특별시 동작구 흑석1동 204-26번지 202호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10574C093173

부처명 서울특별시

연구관리전문기관

연구사업명 서울시 기술기반 구축(핵심) 사업

연구과제명 분자영상기반 난치병 치료 신기술 개발

기여율

주관기관 중앙대학교 산학협력단, 고려대학교 산학협력단

연구기간 2005년 12월 01일 ~ 2010년 11월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 향아토피 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 찔레나무 뿌리 추출물은 물, 탄소수 1-4개의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 및 1,3-부틸렌 글리콜로 구성된 군에서 선택되는 1종 또는 2종 이상의 용매 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 찔레나무 뿌리 추출물이 아세톤 용매 추출물의 수용성 부분을 물, 알코올 또는 물과 알코올의 혼합물을 이동상으로 하여 겔 여과(gel filtration) 또는 겔 흡착(gel adsorption) 크로마토그래피를 행하여 얻은 분획물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 조성물은 피부 외용 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 피부 외용 제형은 파우더, 젤, 연고, 크림, 액체 또는 에어로졸 제형인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 화장품학적 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

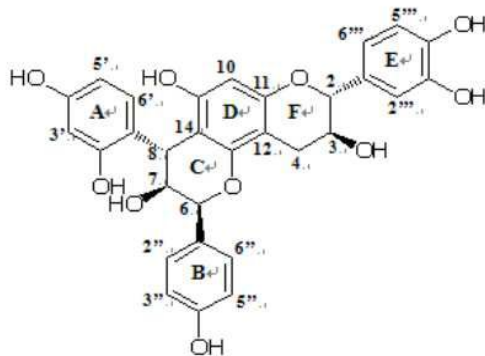
청구항 9

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 기능성 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

하기 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatanin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 향아토피 조성물.

[화학식 1]



청구항 11

제 10 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 조성물은 피부 외용 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 상기 피부 외용 제형은 파우더, 젤, 연고, 크림, 액체 또는 에어로졸 제형인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제 10 항에 있어서, 상기 조성물은 화장품학적 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 상기 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

제 10 항에 있어서, 상기 조성물은 기능성 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항아토피 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 쯤레나무 뿌리 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 아토피라는 용어는 어원상 "이상한" 또는 "부적절한"이란 의미를 갖는 용어이다. 아토피성 피부염은 대부분 유아기나 소아 때 발생하여 호전과 악화를 반복하는 비교적 흔한 만성 염증성 피부질환으로, 아토피의 개인 또는 가족력, 심한 가려움증 및 습진의 3가지 특징으로 진단할 수 있으며 감염, 정신적인 스트레스, 계절과 기후변화, 자극 및 알레르기에 의해 악화될 수 있다.

[0003] 아토피성 피부염의 병인론은 아직 확실히 밝혀 있지 않지만, 현재까지의 연구에 의하면 IgE 항체의 증가에 따른 과감작 반응에 의하거나, 세포매개성 면역기능의 저하로 나타나는 T 림프구의 불균열 분화에 의한 기능적 결여, 피부에 존재하는아드레날린 수용체의 차단 등이 발병의 원인이라는 설 등이 있다. 따라서, 아토피 피부염은 면역학적인 이상이 관여하는 유전적인 질환으로 생각되고 있다.

[0004] 아토피성 피부염의 치료 및 관리를 위해, 대부분의 피부과 진료 시 피부 표면의 수분을 유지시켜주는 보습제와 함께 염증반응을 호전시키기 위한 스테로이드 호르몬 즉, 국소 부신피질호르몬 제제를 동시에 처방하는 하는 것이 일반적이다. 하지만, 국소 부신피질호르몬을 장기간 사용하는 경우, 피부 위축, 혈관 확장, 색소 탈실 및 팽창 선조의 발생 등 다양한 피부 부작용을 야기 시킨다는 문제점이 있다. 따라서, 이러한 부작용을 나타내지 않으면서, 항염증 효능을 보유하는 아토피 치료용 원료나 제약의 개발 필요성이 꾸준히 대두되고 있는 상황이다.

[0005] 쯤레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 식물로 한국, 중국, 일본 등 동아시아에 널리 분포하고 있다. 길이는 5m 정도이고, 전체에 밀을 향한 가시가 드문드문 있다. 잎은 어긋나고 홀수 1회 깃꼴 겹잎이며 잎자루와 주맥에 가시가 있다. 작은 잎은 5-7 개로 달걀 모양 또는 달걀을 거꾸로 세운 듯한 모양이고 길이 15-45 mm, 나비 5-28 mm이다. 작은 잎의 앞면은 녹색이고 뒷면은 연한 녹색 또는 회색 빛을 띤 녹색이다. 가장자리에 날카로운 톱니는 있으며 털이 없는 것도 있다. 턱잎은 녹색이며 빗살같이 깊게 갈라지고 끝이 뾰족하다. 꽃은 5-6월에 피며, 흔히 붉은색이지만 다른 여러 가지 색이 있다. 꽃자루와 작은 꽃자루에 선모가 있는 것도 있고 없는 것도 있다. 수술은 꽃잎보다 짧고 암술대는 합쳐져서 1 개이며 수술대와 길이가 같다. 열매는 9월에 익는다. 덩굴을 뻗으며 장미꽃을 피워서 이런 이름이 붙었으며 옛날에는 쯤레 또는 덩굴쯤레라고 하였다(식품원재료 검색, 식약청).

[0006] 예로부터 쯤레나무의 약용부위로는 주로 열매로써 영실(*Rosae Multiflorae Fructus*)이 이뇨제로 민간에서 쓰이고 있으나 쯤레나무 뿌리인 '장미근'은 당뇨, 출혈, 류마티스 관절염, 음 등에 사용되고 있다. 장미근을 사용한 연구보고는 거의 없으며, 장미근에서 몇 종의 트리테르펜(triterpene) 및 리그난(lignan)을 분리하였다는 보고가 있으며, 대한민국 공개특허 제10-2002-0086326호에는 쯤레나무 추출물과 이로부터 분리한 프로시아니딘 B3(procyanidin B3)를 유효성분으로 함유하는 항산화 활성의 화장품 조성물에 관해 개시되어 있다. 그러나, 쯤레나무의 뿌리로부터 얻은 추출물 및 이 추출물에 포함된 활성 화합물에 대한 항아토피 효능 연구는 아직 보고되어 있지 않다.

[0007] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0008] 본 발명자들은 항아토피 활성을 갖는 물질을 천연물로부터 찾아내기 위해 연구 노력하였다. 그 결과 쯤레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물과 이 추출물로부터 단일 화합물로 분리해낸 화학식 1의 플로바탄닌

(phlobatannin) 화합물이 아토피 피부염 유발 동물모델인 Nc/Nga 마우스를 사용한 실험 및 다양한 인 비보(in vivo) 실험에서 매우 우수한 항아토피 효능을 나타낸다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서, 본 발명의 목적은 찔레 나무 (*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물을 제공하는 것에 있다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 화학식 1의 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물을 제공하는 것에 있다.

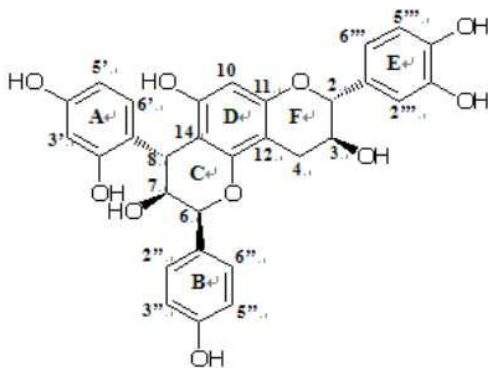
[0011] 본 발명의 목적 및 장점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구의 범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제 해결수단

[0012] 본 발명의 일 양태에 따르면, 찔레나무 (*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatanin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물을 제공한다.

[0014] [화학식 1]



[0015]

[0016] 본 발명자들은 항아토피 활성을 갖는 물질을 천연물로부터 찾아내기 위해 연구 노력하였다. 그 결과 찔레나무 (*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물과 이 추출물로부터 단일 화합물로 분리해낸 화학식 1의 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물이 아토피 피부염 유발 동물모델인 Nc/Nga 마우스를 사용한 실험 및 다양한 인 비보(in vivo) 실험에서 매우 우수한 항아토피 효능을 나타낸다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0017] 본 발명에서 찔레나무 뿌리 추출물은 천연물로부터 추출물을 추출하는 당업계에서 공지된 통상적인 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도, 압력의 조건 하에서 통상적인 용매를 사용하여 분리할 수 있다.

[0018] 본 발명의 찔레나무 뿌리 추출물을 추출하기 위한 용매는 추출공정에서 일반적으로 사용할 수 있는 용매를 사용할 수 있으며, 바람직하게는, 물, 탄소수 1-4개의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 및 1,3-부틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 용매를 사용할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명에서 추출물은 둘 이상의 서로 다른 용매를 순차적으로 사용하여 추출할 수도 있다.

[0019] 본 발명의 찔레나무 뿌리 추출물은 상기 용매에 의해 추출한 추출물을 추가적으로 더욱 정제하여 분리한 분획물도 포함하는 의미이다. 상기 추가적 분리는 바람직하게는 컬럼 크로마토그래피를 행하여 수행하며, 보다 바람직하게는 액체 컬럼 크로마토그래피를 이용한 크기배제(Size-exclusion) 크로마토그래피, 이온교환(Ion-exchange) 크로마토그래피, 분배 크로마토그래피, 친화(Affinity) 크로마토그래피 또는 이들 크로마토그래피의 조합을 이용하여 분리 정제할 수 있으나, 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 찔레나무 뿌리 추출물은 아세톤 또는 에탄올을 용매로 사용하여 얻은 추출물이다.

[0021] 본 발명의 보다 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 찔레나무 뿌리 추출물은 아세톤 또는 에탄올 용매 추출물

에 대해 추가적으로 물을 용매로 사용하여 얻은 추출물이다.

- [0022] 본 발명의 보다 더 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 찔레나무 뿌리 추출물은 아세톤 또는 에탄올 용매 추출물의 수용성 부분에 대해 물, 알코올 또는 물과 알코올의 혼합물을 이동상으로 사용하여 겔 여과(gel filtration) 크로마토그래피 또는 겔 흡착(gel adsorption) 크로마토그래피를 행하여 분획물로 얻은 추출물이다.
- [0023] 본 발명의 항아토피 조성물의 다른 유효성분은 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatanin) 화합물이다.
- [0024] 본 발명에서 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌 화합물은 찔레나무 추출물로부터 분리된 것 뿐만 아니라 화학적으로 합성된 것도 동등한 항아토피 활성을 갖는다는 것은 당업자에게 자명하다.
- [0025] 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물로부터 유효성분인 화학식 1의 단일 화합물은 통상적인 화합물의 분리 및 정제 방법에 의해 얻을 수 있다. 예컨대, 실리카겔 또는 셀라이트(celite)겔 컬럼을 이용한 여과(filtration), 액체 컬럼 크로마토그래피를 이용한 크기배제(Size-exclusion) 크로마토그래피, 이온교환(Ion-exchange) 크로마토그래피, 분배 크로마토그래피, 친화(Affinity) 크로마토그래피 또는 이들 크로마토그래피의 조합을 이용하여 분리 정제할 수 있다.
- [0026] 천연물 추출물로부터 분리된 단일 화합물은 MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectroscopy), EI MS (Electron Ionization Mass Spectroscopy), CI (Chemical Ionization Mass Spectroscopy), FABI (Fast Atom Bombardment Ionization)와 같은 질량분석법과, 적외선 분광법(IR Spectrum), 핵자기공명법(NMR, Nuclear Magnetic Resonance), CD (Circular Dichroism) 등을 이용하여 최종적으로 동정할 수 있다.
- [0027] 본 명세서에서 용어 "항아토피(anti-atopy)" 활성은 아토피성 질환(atopic disease) 또는 아토피성 증후군(atopic syndrome)의 치료, 예방 또는 경감의 활성을 의미한다. 상기 아토피성 질환 또는 아토피성 증후군은 알러지 항원에 대한 접촉 또는 이와 직접적인 접촉이 없이도 신체가 극도로 민감해지는 알러지 반응에 의한 질환 또는 증후군을 통칭하는 의미하며, 예를 들어 아토피성 알러지(atopic allergy), 아토피성 습진(atopic eczema), 아토피성 피부염(atopic dermatitis), 알러지성 결막염, 알러지성 비염, 또는 천식 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0028] 본 발명 조성물의 유효성분인 찔레나무 뿌리 추출물 및 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피성 피부염을 유발시킨 동물모델 NC/Nga 마우스를 대상으로 한 인 비보(in vivo) 실험에서 아토피성 피부염 치료 효능을 나타내고, 아토피성 피부염에서 증가되는 호산성백혈구(eosinophil)의 수와 IgE (immunoglobulin E)의 수준을 감소시키며, 아토피성 피부염의 병변과 관련된 Th2 면역조절 사이토카인인 IL(interleukin)-4, IL-5, IL-13의 발현을 감소시킨다. 또한, 아토피성 피부염을 유발시킨 동물모델 NC/Nga 마우스의 피부세포에서 iNOS 및 COX-2의 mRNA 및 단백질 발현을 억제한다.
- [0029] 본 발명의 항아토피 조성물은 약제학적 조성물의 형태일 수 있으며, 약제학적 조성물은 유효성분으로서 찔레나무 뿌리 추출물 또는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다.
- [0030] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 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, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 *Remington's Pharmaceutical Sciences* (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.
- [0031] 본 발명의 약제학적 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. 한편, 본 발명의 약제학적 조성물의 경구 투여량은 바람직하게는 1일 당 0.001-100 mg/kg(체중)이다.
- [0032] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구로 투여되는 경우, 피부에 국소적으로 도포, 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물이 아토피성 피부질환의 치료를 위해 적용되는 경우, 조성물의 투여는 피부에 국소적으로 도포되어 이루어지는 것이 바람직하다.

- [0033] 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.
- [0034] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 약제학적 조성물은 피부외용 제형을 갖는다. 피부외용 제형은 특별히 한정되지 않으며 바람직하게는 파우더, 젤, 연고, 크림, 액체 또는 에어로졸 제형이다.
- [0036] 본 발명의 쥘레나무 뿌리 추출물 또는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피성 피부질환의 치료, 예방, 경감, 또는 개선 용도의 화장품학적 조성물에 유효성분으로 사용될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 화장품학적 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0041] 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 메타히드록사이드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 화장품학적 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분과 담체 성분 이외에, 화장품학적 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.
- [0044] 본 발명의 쥘레나무 뿌리 추출물 또는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피성 질환의 개선 용도의 기능성 식품 조성물에서 유효성분으로 사용될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 향미제 또는 천연 탄수화물을 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 예를 들어, 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등); 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등); 올리고당; 폴리사카라이드(예컨대, 텍스트린, 시클로텍스트린 등); 및 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등)을 포함한다. 향미제로서 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등) 및 합성 향미제

(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)을 이용할 수 있다.

[0046] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0047] (i) 본 발명의 조성물의 유효성분인 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물 또는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피성 질환의 치료, 경감 또는 완화 활성을 갖는다.

[0048] (ii) 구체적으로, 본 발명 조성물의 유효성분인 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물 또는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피 피부염 동물모델 NC/Nga 마우스에서 아토피 피부염의 현저한 치료 효능을 보였고, NC/Nga 마우스로부터 채취한 혈액 내에서 호산성백혈구의 수 및 IgE의 수준을 감소시켰고, 혈액 및 림프구에서의 Th2 면역조절 사이토카인인 IL-4, 5 및 13의 수준을 감소시켰으며, NC/Nga 피부로부터 채취한 세포의 iNOS의 COX mRNA 및 단백질의 발현을 억제하였다.

효 과

[0049] 이상에서 상세하게 설명된 바와 같이, 본 발명은 찔레나무 뿌리 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 항아토피 조성물에 관한 것이다. 본 발명에서 찔레나무 뿌리 추출물과 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피 피부염 유발 동물모델 NC/Nga 마우스에서 아토피 피부염의 치료 효능을 보이며, NC/Nga 마우스로부터 채취한 혈액에서 호산성백혈구(eosinophil)의 수 및 IgE의 수준을 감소시키고, 혈액 및 림프구에서의 Th2 면역조절 사이토카인인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 수준을 감소시키며, NC/Nga 마우스 피부로부터 채취한 세포의 iNOS 및 COX의 발현을 억제하는 효능을 가진다. 따라서, 본 발명의 찔레나무 뿌리 추출물과 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌 화합물은 아토피성 질환의 치료제, 화장품 및 기능성 식품으로도 개발될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0050] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0051] 실시예

[0052] 실시예 1: 추출물 및 유효성분 화합물의 분리

[0053] 1-1. 실험재료

[0054] 본 실험에 사용한 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리는 2007년 3월 경동시장에서 구입한 것을 경북 영천에서 직접 채집한 찔레나무 뿌리와 비교하여 식물학적 감정을 거쳐 사용하였다.

[0055] 1-2. 추출 및 성분 분리 및 구조 동정

[0056] 음건한 찔레나무 뿌리 재료(1.7 kg)를 80% 아세톤(acetone)으로 실온에서 24 시간 동안 3회 추출하여 여과 후 그 추출액을 감압 농축하여 추출물 160 g 을 얻었다. 추출물을 물(H₂O)에 현탁하여 Celite 545 (Duksan pure chemical, Ansan, Korea)으로 감압 여과한 후 수용성 부분에 대하여 Sephadex LH-20 column chromatography (2 kg, 10 X 80 cm)를 실시하였다. 이동상은 물에서부터 메탄올을 10%씩 올려 100%까지 농도를 증가시키면서 실시하였고, 총 3개의 서브-분획(sub-fraction)으로 나누었다. 그 중 분획 2(Fr. 2)에 대해서는 MCI-gel CHP20P (600 g, 5 X 60 cm)에 물-메탄올 농도구배 시스템 (gradient system)을 이용하여 총 3개의 서브-분획(sub-fraction)으로 나눈 후 반복적으로 MPLC (middle pressure liquid column chromatography)를 실시하여 150 mg 의 (6S,7S,8R)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-6-(4-hydroxyphenyl)-8-(2,4-dihydroxyphenyl)-2,3-trans-6,7-cis-

7,8-trans-3,4,7,8-tetrahydro-2H,6H-pyrano[2,3-f]chromene-3,7,9-triol을 얻었다. 이 화합물은 본 명세서에서 "RM-3" 또는 "compound 1"으로도 표기한다 (도 2 참조).

[0057] 실시예 2: 플로바탄닌 화합물의 구조동정

[0058] 상기 실시예 1에서 분리한 단일 화합물 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물의 성상 및 구조에 관한 데이터는 다음과 같았다.

[0059] 회색이 도는 흰색(off white)의 무정형 분말

[0060] • $[\alpha]_D^{25} : -100.26$ (c 0.0014, MeOH)

[0061] • HRFAB-MS m/z: 545.1450[M-H]⁻ (calculated for C₃₀H₂₅O₁₀, 545.1448) (도 4)

[0062] • IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1} : 3350 \text{ (OH)}, 1600 \text{ and } 1475 \text{ (aromatic C=C)} \text{ cm}^{-1}$ (도 5)

[0063] • c.d. $[\theta]_{300} 0, [\theta]_{276} 42.63, [\theta]_{250} 0, [\theta]_{241} -84.56, [\theta]_{236} 0, [\theta]_{234} 6.48, [\theta]_{232} 0, [\theta]_{230} 14$ (도 6)

[0064] • ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆+D₂O) and ¹³C-NMR (125MHz, DMSO-*d*₆+D₂O): (표 1)

[0065] • 2D-NMR에 기초한 상호관계(correlation)은 도 7에 도시하였다.

[표 1]: RM-3의 ^1H - 및 ^{13}C -NMR 데이터 (in DMSO-d₆ + D₂O)

Positions		3	
		δ_{H} (mult., Hz) ^a	δ_{C} ^b
C,D,F-Ring	2	4.40 (d, 7.8)	81.0
	3	3.70 (m)	66.7
	4 _a	2.41 (dd, 7.2, 15.6)	28.2
	4 _{eq}	2.65 (m)	
	6	5.24 (br s)	79.9
	7	4.38 (m)	70.4
	8	4.41 (m)	31.2
	9		155.4
	10	5.90 (s)	97.2
	11		155.2
	12		99.8
	13		153.9
	14		104.6
A-ring	1'		113.3
	2'		155.6
	3'	6.31 (br s)	102.7
	4'		154.0
	5'	6.13 (br d, 8.4)	108.2
	6'	6.30 (d, 8.4)	129.0
B-ring	1''		130.3
	2''	7.00 (d, 8.4)	126.5
	3''	6.50 (d, 8.4)	115.6
	4''		156.7
	5''	6.50 (d, 8.4)	115.6
	6''	7.00 (d, 8.4)	126.5
E-ring	1'''		130.8
	2'''	6.60 (br s)	114.5
	3'''		144.8
	4'''		144.8
	5'''	6.68 (d, 8.4)	115.6
	6'''	6.33 (br d, 8.4)	117.7

^a Recorded at 600 MHz

^b Recorded at 150 MHz

실시예 3: 항아토피 효능 평가

3-1. 아토피 피부염 동물 모델 확립

총 20 마리의 5주령의 암컷 Nc/Nga 마우스((Vestergaard C, Yoneyama H, Murai M, Nakamura K, Tamaki K, Terashima Y, Imai T, Yoshie O, Irimura T, Mizutani H and Matsushima K. Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions, J Clin Invest 104(8),1097-105; 1999)에 대해 12시간 명(light) 조건/12시간 암(dark) 조건 사이클, 22-23℃, 습도 55±15℃ 하에서 마이트 패취(mite patch)를 피부에 부착시켜, 아토피 피부염을 유도하였다. 실험군은 다음과 같은 4 그룹으로 나누어 실험하였다.

그룹 I (Group I)은 음성대조군으로 부형제(vehicle)투여군 (baseline);

그룹 II (Group II)는 실험군으로서 1% 찔레 추출물 투여군;

그룹 III (Group III)는 실험군으로서 1% RM-3 화합물 투여군;

그룹 IV (Group IV)는 양성대조군으로서 1% plancol 투여군.

3-2. 크림 샘플의 제조 (연고제)

[0076] 수중유형(O/W) 크림은 아래의 표 2의 조성에 따라 제조하였다.

[0077] [표 2] RM-3 또는 쥘레나무 뿌리 추출물을 포함하는 수중유형(O/W) 크림의 조성

Ingredients	(w/w %)
<i>Oil phase</i>	
Stearic acid	5.0
Cetyl alcohol	2.0
Mineral oil	7.0
<i>Aqueous phase</i>	
Glycerin	10.0
Polyglyceryl-3 methylglucose distearate	3.0
RM-3; or Extract of <i>Rosa multiflora</i> Thunberg root	1.0
Water	q.s.
Total	100

[0078]

[0079] 3-3. 효능 평가

[0080] 3-3-1. 임상평가(modified SCORAD)

[0081] 각각의 활성성분을 포함하는 샘플(sample)을 피부에 도포한 NC/Nga 마우스들의 아토피 피부염의 피부 외관 형상을 4주 동안 관찰하고, 이를 사진촬영으로 기록하였다(도 8의 사진). 또한, 24주 동안 SCORAD 법으로 홍반(erythema), 출혈(hemorrhage), 부종(edema), 찰과상(excoriation), 진무름(erosion), 스케일링(scaling) 및 건조(dryness) 상태의 정도를 수치(score)로 합산하여 평가하였다(도 9 참조). 상기 임상평가 및 SCORAD에 의한 평가 결과, 1% RM-3와 1% 쥘레나무 뿌리 추출물을 투여한 군에서 아토피 피부염이 현저하게 호전됨이 확인되었다.

[0082] 3-3-2. 호산성 백혈구의 계수 (Eosinophil Count)

[0083] 모세관 튜브(Capillary tube)에 NC/Nga 마우스의 혈액을 채취하여 넣고, 채취한 마우스 전혈 30 μ l에 식염수(saline) 150 μ l를 첨가하여 6 배 희석하였다. Sysmex XE-2100 hematology analyzer를 이용하여 호산성백혈구(eosinophil)를 계수하였다. 호산성백혈구 수의 산출은 말초혈액 도말 슬라이드를 제작하고, Wright-Giemsa 염색을 한 후 200개의 백혈구를 감별 계산하여 행하였다. 실험 결과, 1% RM-3와 1% 쥘레나무 뿌리 추출물을 투여한 군에서 호산성 백혈구(Eosinophil)의 수가 투여 전에 비해 현저히 줄어 들었다(도 10 참조).

[0084] 3-3-3. IgE 수준 측정

[0085] 모세관 튜브(Capillary tube)에 NC/Nga 마우스 혈액을 채취하고, 마우스의 혈액내에서 ELISA 방법을 이용하여 혈청 내 IgE(immunoglobulin E)의 수준을 측정하였다. 실험결과, 1% RM-3와 1% 쥘레나무 뿌리 추출물을 투여한 군에서 IgE의 수준이 투여 전에 비해 현저히 줄어들었음을 확인하였다(도 11 참조).

[0086] 3-3-4. Th2 사이토카인(cytokine)

[0087] Th2 사이토카인(IL-4, IL-5 및 IL-13) 수준의 측정은 NC/Nga 마우스의 대동맥에서 채취한 혈액의 혈장과, NC/Nga 마우스의 비장(spleen)으로부터 채취한 림프구(lymphocyte)를 배양하여 행하였다. 구체적으로, 혈액 샘플의 경우 대동맥에서 혈액을 채취하여 혈장(serum) 내의 Th2 사이토카인의 수준을 측정하였다. 비장 샘플의 경우 비장(spleen)을 분쇄한 후 일정크기의 메쉬(mesh)를 통과시켜 단일 세포(single cell)로 분리하고, RBC(red blood cell) 용해 완충액(RBC lysis buffer)를 첨가하여 RBC를 용해시켰다. 이어서 원심분리에 의해 상등액을 제거한 후 림프구(lymphocyte) 농도가 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 이 되도록 RPMI 배지를 첨가하고, 24 웰 플레이트(well plate)에서 배양하였다. 3일 후에 배양한 배지에서의 Th2 사이토카인인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 수준을 측정하였다. 측정 결과, 1%의 RM-3와 1%의 쥘레나무 뿌리 추출물을 투여한 군에서 Th2 사이토카인 IL-4, IL-

5 및 IL-13의 수준이 현저히 감소하였음을 확인하였다(도 12 참조).

[0088] 3-3-5. iNOS 및 COX의 mRNA 및 단백질 발현 측정

[0089] 아토피 피부염을 발생시킨 NC/Nga 마우스에 1% RM-3와 1% 쥘레나무 뿌리 추출물을 투여하고, 마우스 피부세포를 분리하여 iNOS 및 COX-2의 mRNA 수준을 RT-PCR 방법을 이용하여 측정하였다. mRNA 수준의 측정에 사용된 PCR 프라이머는 아래의 표와 같다.

프라이머	서열
iNOS (203bp)	5'-CTG ATG CCT CTT CCA GGT GT-3'(sense)
	5'-GAG GGA GCC CTT TCT GAA TC-3'(anti-sense)
COX-2 (593bp)	5'-CCA CCC ATG GCA AAT TCC ATG GCA-3'(sense)
	5'-GGT GCT GCT TGT TAG GAG GTC AAG TAA AGG GC-3'(anti-sense)
GAPDH (598bp)	5'-CCA CCC ATG GCA AAT TCC ATG GCA-3'(sense)
	5'-CCC TGT TGC TGT AGC CGT AT-3'(anti-sense)

[0091] 측정결과 1% RM-3와 1% 쥘레나무 뿌리 추출물의 투여 그룹에서 iNOS, COX-2의 mRNA 발현이 현저히 억제됨을 확인하였다(도 13 참조).

[0092] 한편, 아토피 피부염을 발생시킨 NC/Nga 마우스에 1% RM-3와 1% 쥘레나무 뿌리 추출물을 투여하고 마우스 피부로부터 단백질을 분리하여 웨스턴 블로팅(western blotting)을 통해 iNOS 및 COX-2 단백질의 발현량을 측정하였다. 간략히 설명하면, 마우스 피부조직 및 세포를 용해시키고, 원심분리한 상등액을 취하여 15% SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)를 행하였다. COX-2 및 iNOS를 검출하기 위해 젤 전기영동에 의해 분리한 젤상의 단백질을 질소셀룰로오스막(nitrocellulose membrane)으로 이동시키고 1차 항체(1:1000 in BSA) 및 2차 항체(1:2000 in BSA)와 인큐베이션하였다. 측정결과 1% RM-3와 1% 쥘레나무 뿌리 추출물의 투여 그룹에서 iNOS 및 COX-2 단백질 발현이 현저히 억제됨을 확인하였다(도 14).

[0093] 3-3-6. 인 비보(In Vivo) 실험 결과 정리

[0094] 쥘레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리 추출물과 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물의 항아토피 효과를 평가하기 위해 마이트 패치(mite patch)로 아토피 피부염을 유발시킨 Nc/Nga 마우스를 이용하여 인 비보 테스트(in vivo test)를 실시하였다. 상기한 실험 결과에 의하면, 쥘레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리 추출물과 화학식 1로 표시되는 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물은 임상적 관찰에서 뿐만 아니라 호산성백혈구(Eosinophil)의 수, IgE 수준, Th2 사이토카인, iNOS 및 COX-2 단백질의 수준을 저해하여 항아토피 효능을 가지고 있음이 입증되었다. 따라서, 쥘레나무 뿌리 추출물과 화학식 1의 플로바탄닌 화합물은 아토피 예방 및 치료 물질로 개발 가능성이 매우 높다.

[0095] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0096] 도 1은 쥘레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리부분 및 꽃 부분을 보여주는 사진이다.

[0097] 도 2는 쥘레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리로부터 추출물, 분획물을 얻고, 다시 이로부터 화학식 1의 플로바탄닌(phlobatannin) 화합물을 분리하는 과정을 보여주는 모식도이다.

[0098] 도 3는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물의 구조를 보여주는 화학 구조식이다.

[0099] 도 4는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물의 FAB-MS 스펙트럼 결과를 보여준다.

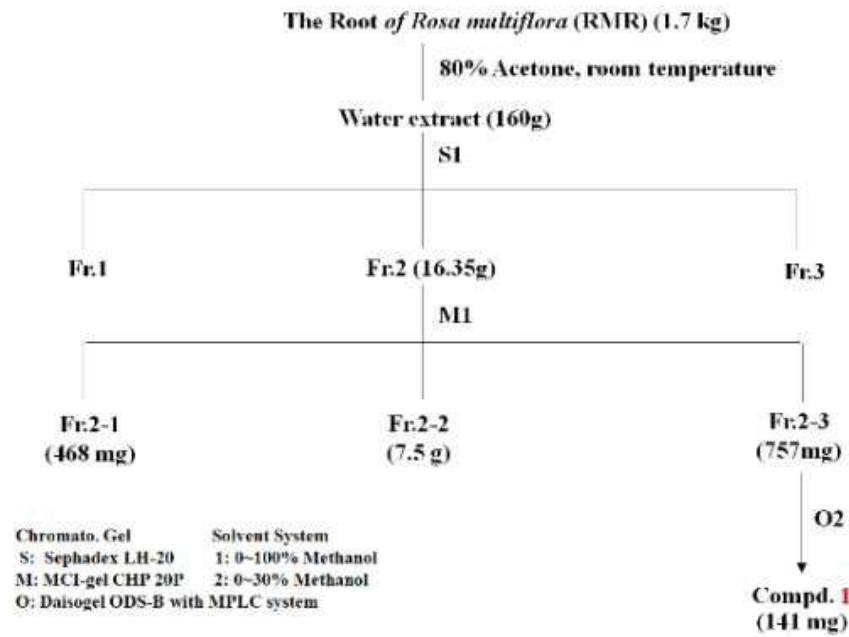
- [0100] 도 5는 화학식 1의 플로바탄닌 화합물의 FT-IR 스펙트럼의 결과를 보여준다.
- [0101] 도 6은 화학식 1의 플로바탄닌 화합물의 CD 스펙트럼의 결과를 보여준다.
- [0102] 도 7은 화학식 1의 플로바탄닌 화합물의 COSY (H-H) 및 CMBC (C->H)의 주요 상호관계(correlation)을 보여준다.
- [0103] 도 8은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 1% 찔레뿌리 추출물 또는 1% 화학식 1의 플로바탄닌 화합물을 투여한 후 아토피 피부염의 외관을 관찰한 사진이다.
- [0104] 도 9는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 1% 찔레뿌리 추출물 또는 1% 화학식 1의 플로바탄닌 화합물을 투여한 후 아토피 피부염의 개선정도를 SCORAD 법으로 평가한 결과이다.
- [0105] 도 10은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 1% 찔레뿌리 추출물 또는 1% 화학식 1의 플로바탄닌 화합물을 투여하기 전 및 투여한 후의 호산성백혈구(Eosinophil)의 수를 측정한 결과를 보여준다. (student t-test; *p < 0.05; 각 샘플을 투여하기 전 및 투여 후를 비교함, n=5).
- [0106] 도 11는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 1% 찔레뿌리 추출물 또는 1% 화학식 1의 플로바탄닌 화합물을 투여하기 전 및 투여한 후의 혈청내의 IgE (immunoglobulin E)의 수준을 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)를 이용하여 측정한 결과를 보여준다. (student t-test; *p < 0.05; 각 샘플을 투여하기 전 및 투여 후를 비교함, n=5).
- [0107] 도 12a, 도 12b 및 도 12c는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 1% 찔레뿌리 추출물 또는 1% 화학식 1의 플로바탄닌 화합물을 투여한 후의 혈액내 Th2 사이토카인인 IL(interleukin)-4, IL-5 및 IL-13의 수준을 각각 측정한 결과를 보여준다. (student t-test; *p < 0.05; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).
- [0108] 도 13a 및 도 13b는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 1% 찔레뿌리 추출물 또는 1% 화학식 1의 플로바탄닌 화합물을 투여한 후에 피부세포에서의 COX-2 및 iNOS의 mRNA의 발현정도를 각각 RT-PCR로 측정한 결과를 보여준다(student t-test; *p < 0.05,; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).
- [0109] 도 14a 및 도 14b는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 1% 찔레뿌리 추출물 또는 1% 화학식 1의 플로바탄닌 화합물을 투여 후 피부세포에서의 COX-2 및 iNOS의 단백질의 발현정도를 웨스턴블로팅(Western Blotting)으로 측정한 결과를 보여준다. (student t-test; *p < 0.05; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).

도면

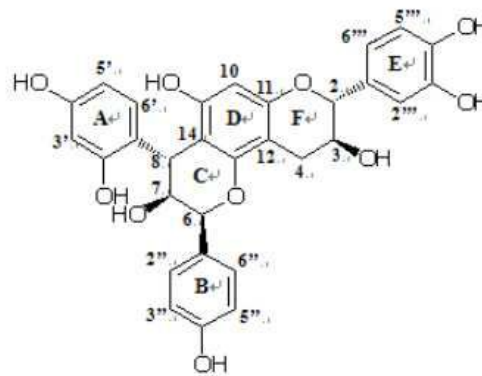
도면1



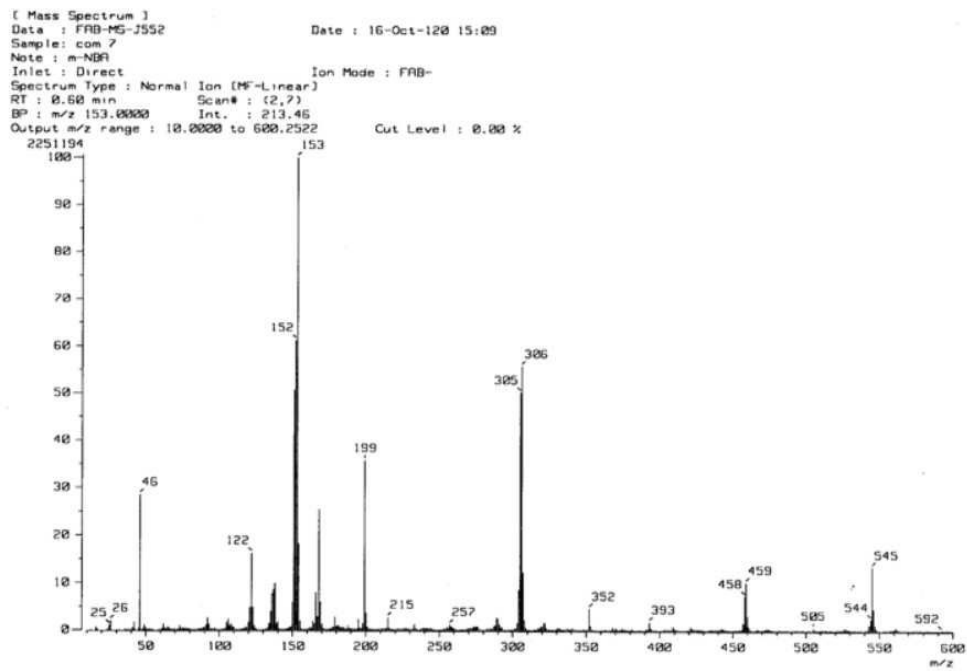
도면2



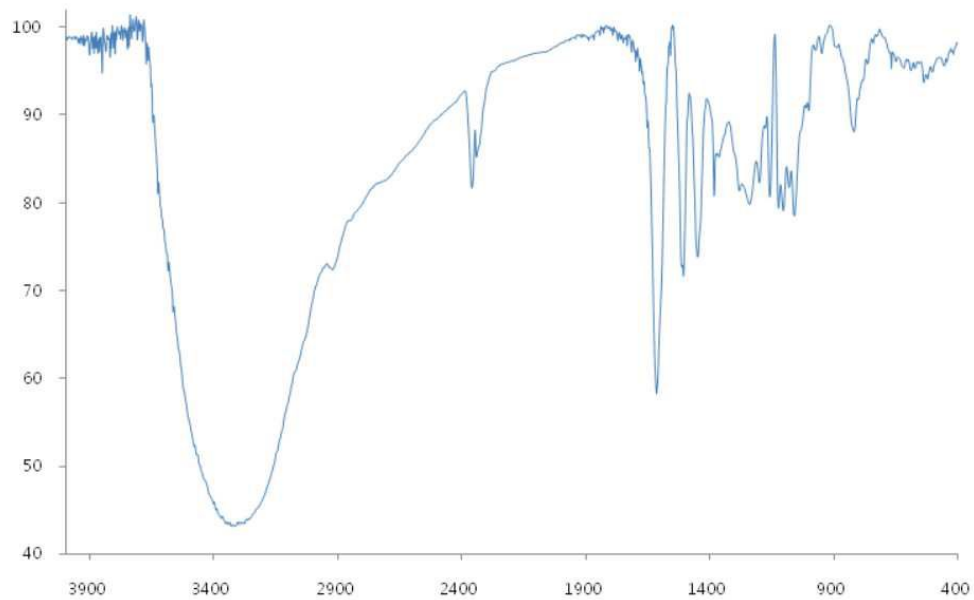
도면3



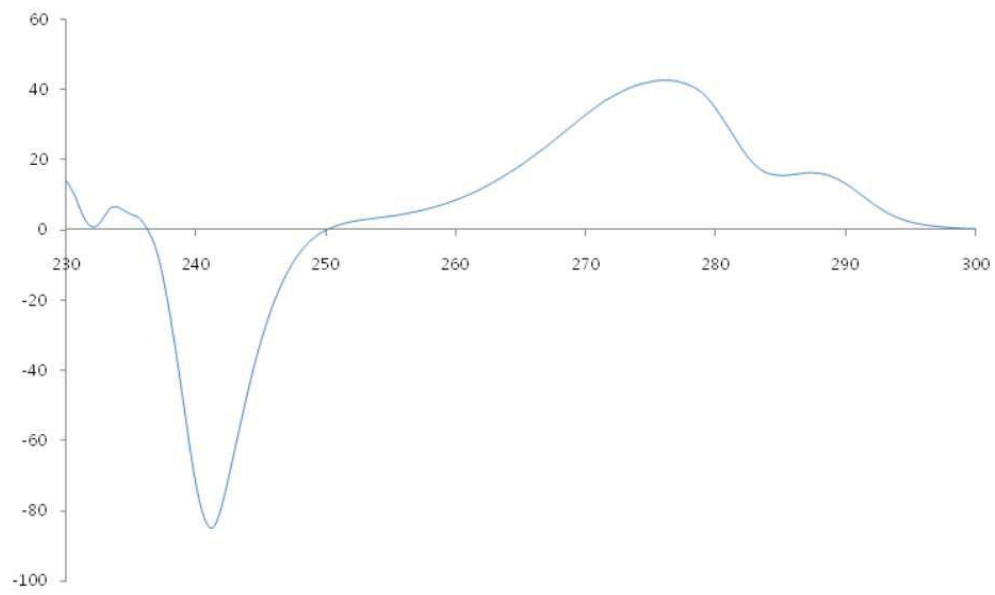
도면4



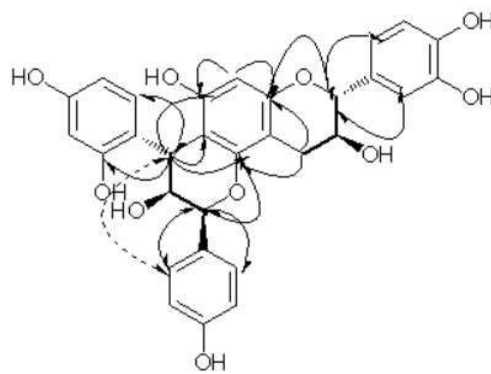
도면5



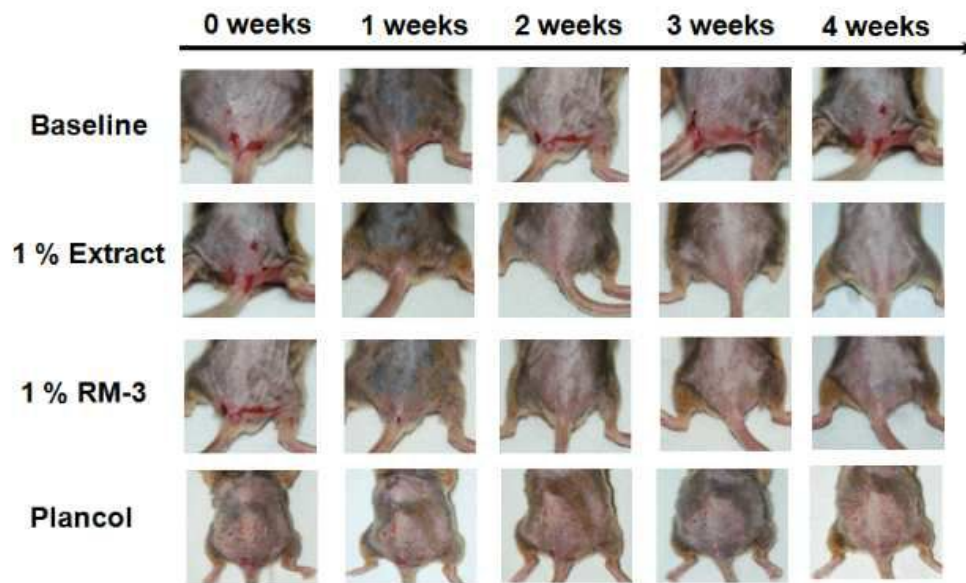
도면6



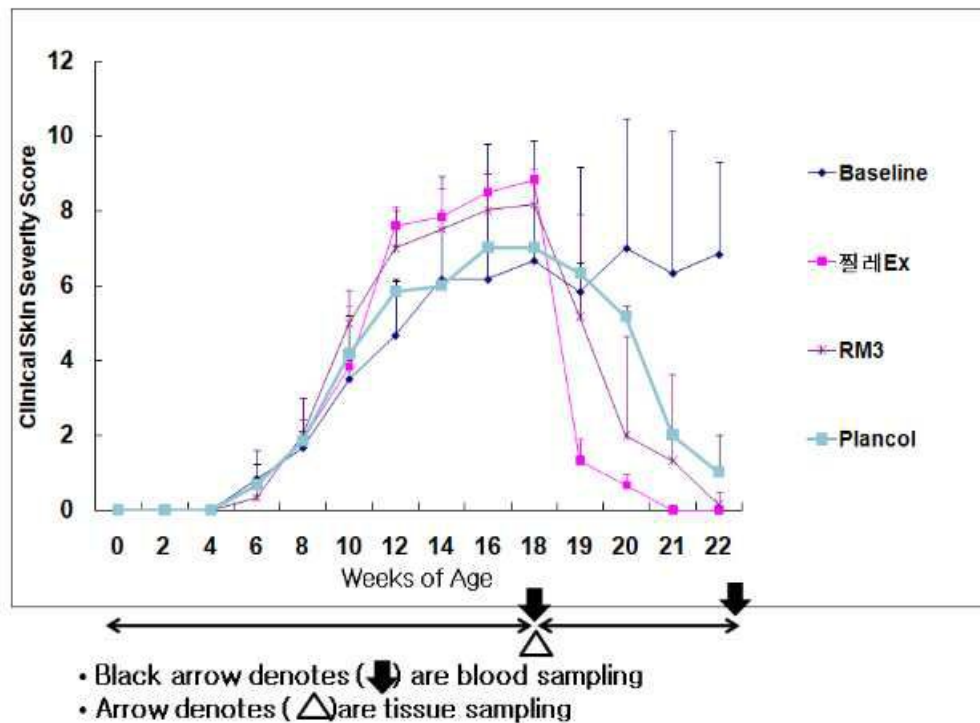
도면7



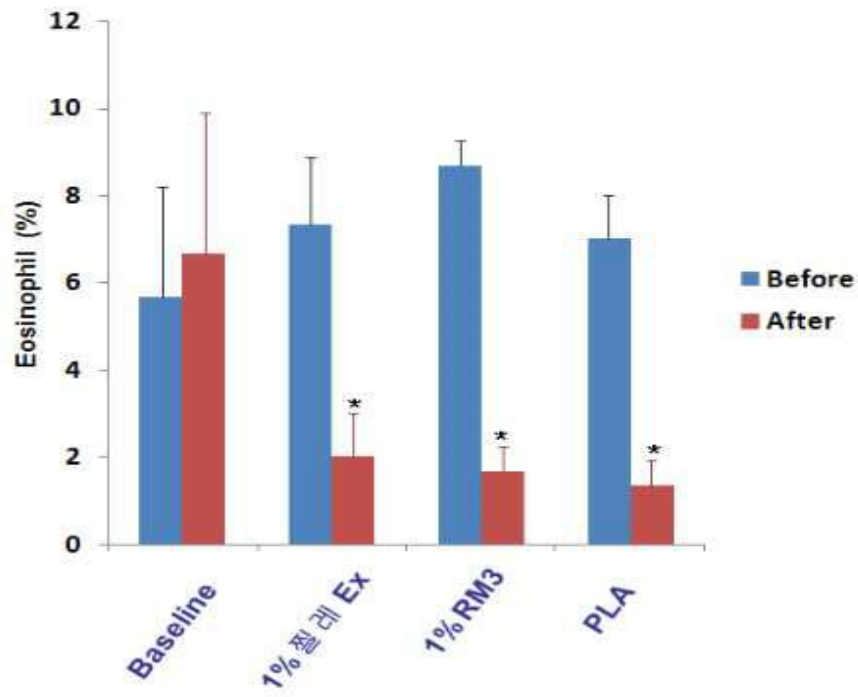
도면8



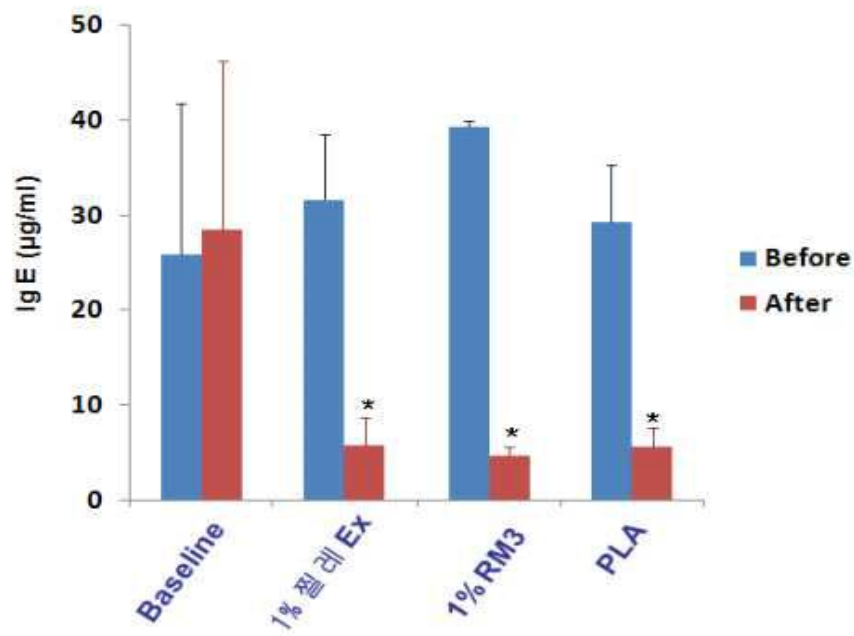
도면9



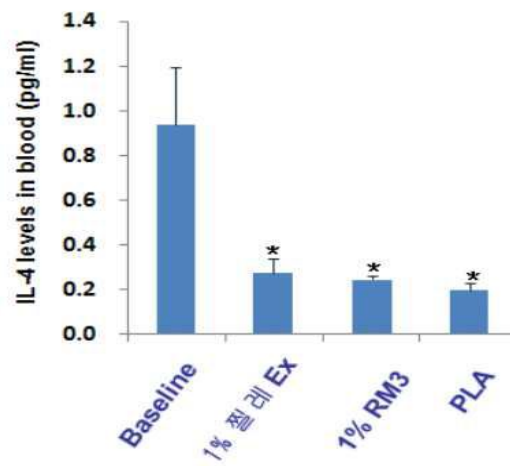
도면10



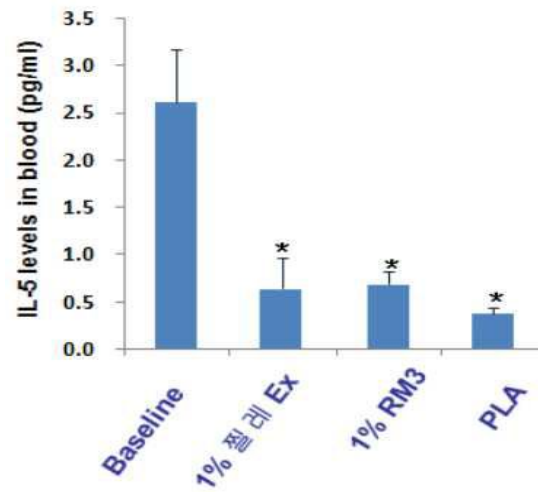
도면11



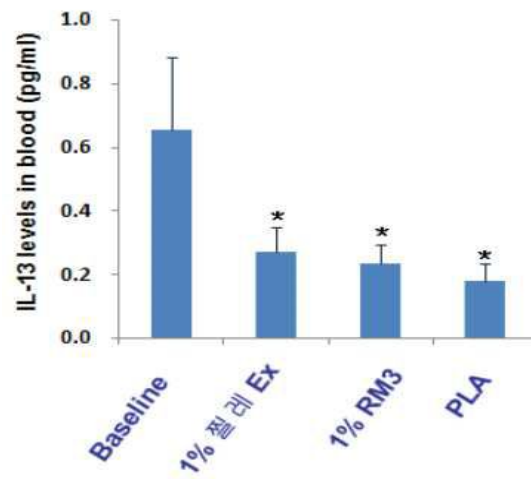
도면12a



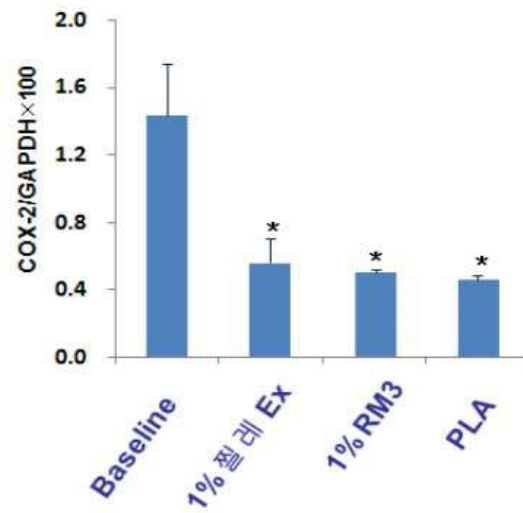
도면12b



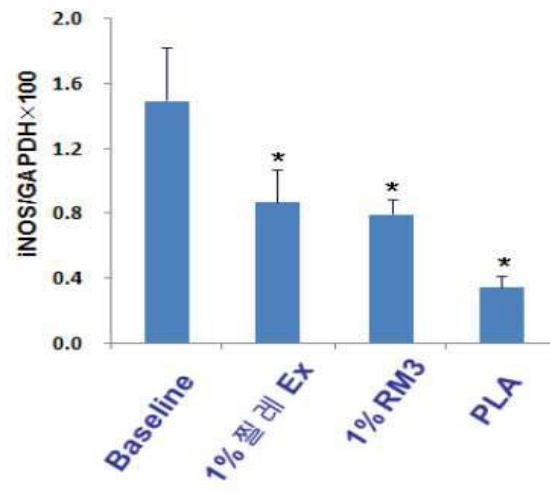
도면12c



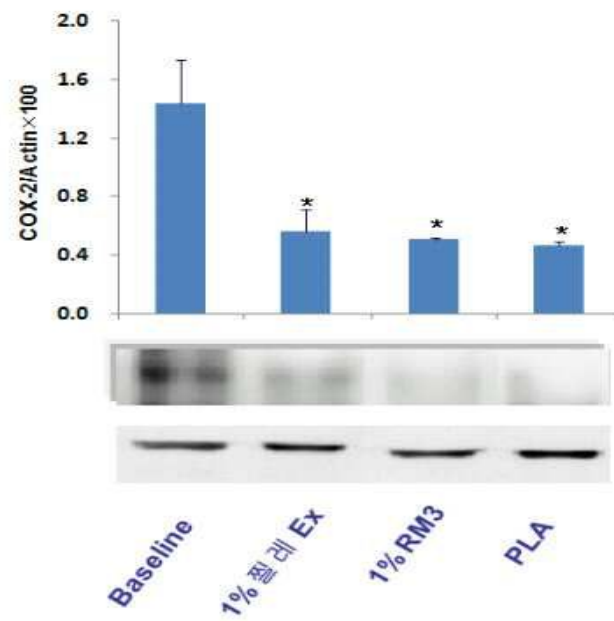
도면13a



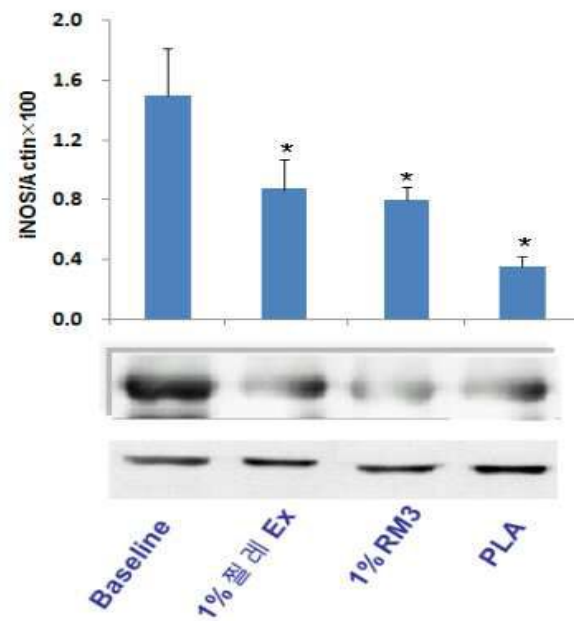
도면13b



도면14a



도면14b



서열 목록

<110> Chung Ang University Industry Academic Cooperation Foundation
 <120> Anti-Atopic Composition Comprising Phlobatannin

<160> 6

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> forward primer for iNOS

<400> 1
 ctgatgcctc ttccaggtgt

20

<210> 2
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
<223> reverse primer for iNOS

<400> 2
gaggagagccc ttctgaatc 20

<210> 3
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> forward primer for COX-2

<400> 3
ccacccatgg caattccat ggca 24

<210> 4
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> reverse primer for COX-2

<400> 4
ggtgctgctt gttaggaggt caagtaaagg gc 32

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> forward primer for GAPDH

<400> 5

ccacccatgg caaatccat ggca

24

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for GAPDH

<400> 6

ccctgttgct gtagccgtat

20