



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년04월22일
(11) 등록번호 10-1971256
(24) 등록일자 2019년04월16일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/28 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/48 (2006.01) A61K 36/534 (2006.01)
A61K 36/575 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 36/28 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2017-0135447
(22) 출원일자 2017년10월18일
심사청구일자 2017년10월18일
- (56) 선행기술조사문헌
강동경희대학교병원 약제부 뉴스레터. 2014년 10월호 VOL .2
(http://www.khnmc.or.kr/kus_new/upload/drug/drug_201410.pdf)*
Plants as a Source of Natural Antioxidants.
CAB International 2015. pp.15-33.*
KR1020130060024 A
KR100354608 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
- (72) 발명자
남혜정
서울특별시 강북구 솔샘로 174, 103동 901호(미아동, SK북한산시티아파트)
류봉하
경기도 성남시 분당구 내정로165번길 35, 529동 301호(수내동, 양지마을한양아파트)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 허명숙

(54) 발명의 명칭 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 항염증 및 항히스타민 조성물

(57) 요약

본 발명의 일 실시예는 창이자 추출물, 조각자 추출물, 신이 추출물 및 박하 추출물로 구성된 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 항염 또는 항히스타민용 조성물을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 36/48 (2013.01)

A61K 36/534 (2013.01)

A61K 36/575 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/304 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

최혁재

서울특별시 강남구 선릉로 221, 207동 1204호(도곡동, 도곡렉슬아파트)

김남재

서울특별시 도봉구 마들로 657, 105동 802호(방학동, 이에스에이아파트)

김은진

서울특별시 동대문구 제기로 131, 102동 104호(청량리동, 한신아파트)

정원용

서울특별시 송파구 가락로5길 3-81, 1동 402호(석촌동, 포레스트빌)

오현아

서울특별시 동대문구 경희대로1길 30(회기동)

박소연

서울특별시 동대문구 사가정로 65, 302동 1002호(전농동, 래미안크레시티아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

창이자, 조각자, 신이 및 박하로 구성된 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하고,
상기 혼합 생약재 추출물은 50%(v/v) 에탄올을 추출 용매로 사용하여 추출된 항히스타민용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 혼합 생약재는 창이자 2 내지 6 중량부, 조각자 3 내지 9 중량부, 신이 1 내지 3 중량부 및 박하 1 내지 3 중량부로 구성되는 항히스타민용 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항 또는 제2항의 조성물을 포함하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,
상기 알레르기 질환은 알레르기성 비염, 알레르기성 천식, 알레르기성 중이염, 아나필락틱 쇼크(anaphylactic shock) 및 알레르기성 결막염으로 구성된 군에서 하나 이상 선택된 약학 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,
상기 약학 조성물은 트로키제, 과립제, 산제, 시럽제, 액제, 현탁제, 정제, 캡슐제, 환제, 주사제 또는 좌제로 제형화된 약학 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항의 조성물을 포함하는 알레르기 질환 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 항염증 및 항히스타민 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 중국발 황사, 미세먼지로 인한 공기오염으로 알레르기성 비염 환자들이 급격히 늘어나고 있는 추세이다. 알레르기성 비염은 일상에서 흔한 질환으로, 호흡 중 흡입된 특정한 이물질이 코 내부에 있는 비점막에서 알레르기 반응으로 야기된다. 알레르기성 비염은 연속적인 재채기, 코막힘(비폐색), 계속 흘러내리는 맑은 콧물(수

양성 비루)이 주요한 증상들이며, 이중 두 가지 이상의 증상을 가지고 있을 때 알레르기성 비염으로 의심할 수 있다. 이 외에도 코 주위 가려움, 두통, 후각의 감퇴 등의 증상이 동반될 수 있으며, 합병증으로 중이염, 부비동염, 인후두염 등이 동반될 수 있다.

[0003] 알레르기성 비염은 기간에 따라 연중 짧은 기간에만 발생하는 간헐적 알레르기성 비염과 한 달 이상 오랜 기간 발생하는 지속성 알레르기성 비염으로 분류되며, 증상의 심한 정도에 따라 경도와 중등도 중증으로 분류한다.

[0004] 알레르기성 비염을 치료하는 가장 근본적인 방법은 원인 물질인 알레르겐을 피하는 것이지만, 현실적으로 알레르겐을 완전히 피하는 것은 어렵기 때문에, 알레르기성 비염을 치료하기 위해선 적절한 효과의 약물이 필요하다. 종래의 기술에 의해 시판되고 있는 약물은 알레르기성 비염의 증상을 완화하는 방향으로 연구가 진행되고 있다. 대표적으로 알레르겐에 의해 비만세포 등에서 분비된 히스타민이나 류코트리엔 등의 수용체에 대한 길항 약물들이 거대한 시장을 이루고 있다.

[0005] 그러나 이러한 방법들은 알레르기성 비염을 발생시키는 주된 작용에 대하여 내성을 보이기 때문에 일정기간 지난 후, 혹은 반복 투여시 환자들의 증상을 호전 시키지 못하는 경우가 많다. 또한, 일반적으로 사용되는 항히스타민, 코르티코스테로이드, 면역 억제제 등의 약물은 골다공증, 고혈압, 과도한 진정작용, 글루코스와 지질대사의 장애 등의 여러 부작용이 유발되는 문제가 있다. 이러한 문제점으로 천연 약물의 안정성 및 효능에 대한 관심이 증가하였고, 천연 약물을 이용한 항알레르기성 비염 치료제의 개발이 시도되고 있다.

[0006] 한편, 다양한 한약 및 천연물을 소재로 하여 인체에 안전하고 부작용이 없으면서 약효가 우수한 신약을 개발하려는 시도가 지속되고 있다. 한의학적 이론에 따르면, 유사한 생약재를 사용한 경우에 배합되는 다른 생약재의 종류, 생약재의 배합 조성 및 생약재의 추출방법에 따라 최종적인 조성물 제제의 효능은 크게 달라질 수 있다.

[0007] 또한 생약재는 다량의 성분이 혼재되어 속성상 어떠한 특정 성분이 치료효능을 향상시키거나 저하시키는지 정확하게 확인할 수는 없으나, 기존에 알려져 있는 생약재의 특성을 고려하여, 수많은 반복실험과 비교실험을 통해 부작용이 없고 최적의 치료효능을 나타내는 생약재의 배합 조성을 확인할 수 있다.

[0008] 따라서 본 발명자들은 여러 부작용이 없는 한약 및 천연물을 소재로 하여 항산화, 항염증 및 항히스타민 효과가 우수한 조성물을 개발하고자 하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 항염증 및 항히스타민용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 일 측면에 따르면, 창이자, 조각자, 신이 및 박하로 구성된 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 항히스타민용 조성물이 제공된다.

[0011] 일 실시예에 있어서, 상기 혼합 생약재는 창이자 2 내지 6 중량부, 조각자 3 내지 9 중량부, 신이 1 내지 3 중량부 및 박하 1 내지 3 중량부로 구성될 수 있다.

[0012] 일 실시예에 있어서, 상기 혼합 생약재는 증류수, 50%(v/v) 에탄올 및 95%(v/v) 에탄올로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 용매로 추출될 수 있다.

[0013] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 창이자, 조각자, 신이 및 박하로 구성된 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 조성물이 제공된다.

[0014] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 창이자, 조각자, 신이 및 박하로 구성된 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염용 조성물이 제공된다.

[0015] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 항히스타민용 조성물, 항산화용 조성물 또는 항염용 조성물을 포함하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물이 제공된다.

[0016] 일 실시예에 있어서, 상기 알레르기 질환은 알레르기성 비염, 알레르기성 천식, 알레르기성 중이염, 아나필락틱 쇼크(anaphylactic shock) 및 알레르기성 결막염으로 구성된 군에서 하나 이상일 수 있다.

- [0017] 일 실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 트로키제, 과립제, 산제, 시럽제, 액제, 현탁제, 정제, 캡슐제, 환제, 주사제 또는 좌제로 제형화될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 항히스타민용 조성물, 항산화용 조성물 또는 항염용 조성물을 포함하는 알레르기 질환 개선용 건강기능식품이 제공된다.

발명의 효과

- [0019] 본 발명에 따르면, 상기 조성물은 재채기, 코막힘, 코 및 인두의 소양감과 눈물 등을 특징으로 하는 알레르기성 비염에 대한 예방 및 치료 효과가 탁월하다.
- [0020] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 판례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0022] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0023] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.
- [0024] 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 구비할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0025] 본 명세서에 포함되는 용어를 포함하는 다양한 과학적 사전이 잘 알려져 있고, 당업계에서 이용가능하다. 본 명세서에 설명된 것과 유사 또는 등가인 임의의 방법 및 물질이 본원의 실험 또는 시험에 사용되는 것으로 발견되나, 몇몇 방법 및 물질이 설명되어 있다. 당업자가 사용하는 맥락에 따라, 다양하게 사용될 수 있기 때문에, 특정 방법학, 프로토콜 및 시약으로 본 발명이 제한되는 것은 아니다.
- [0026] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명을 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 따라서 여기에서 설명하는 실시예로 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명의 일 측면에 따르면, 창이자, 조각자, 신이 및 박하로 구성된 혼합 생약제 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 항염 또는 항히스타민용 조성물이 제공된다.
- [0028] 상기 “항산화”는 산화를 억제하는 작용을 의미하는 것으로, 인체는 산화촉진 물질과 산화억제물질이 균형을 이루고 있으나, 여러 가지 요인들로 인하여 이러한 균형 상태를 잃고 산화를 촉진하는 방향으로 기울게 되면, 생체 내에 산화적 스트레스(oxidative stress)가 유발되어 세포손상 및 병리적 질환을 유발할 수 있다.
- [0029] 산화적 스트레스는 활성 산소종의 발생과 항산화 방어제 간의 심각한 불균형을 초래하는 상황을 말한다. 특히, 산화질소(NO) 소모가 동반된 산화반응은 이차적인 산화, 질소화 및 nitrosation/nitrosylation 물질을 생성하고 이러한 이차적인 nitrated species는 독특한 염증성 세포 신호를 전달하게 된다.
- [0030] 산화적 스트레스의 직접적 원인이 되는 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 화학적으로 불안정하고 반응성이 높아 DNA, 단백질, 지질 및 탄수화물과 같은 여러 생체물질과 쉽게 반응할 수 있으며, 생체 내 고분자들을 공격하여 세포와 조직에 비가역적인 손상을 일으키거나 돌연변이, 세포독성 및 암 등을 초래하게 되고, 염

증성 산화물에 의한 산화, 질소화 스트레스는 내피세포 기능성 장애, 고혈압, 동맥경화 및 염증반응의 병리기전을 주도하기도 한다.

- [0031] 상기 “항염”은 염증 개선 효과를 의미 한다. 상기 “염증”은 생체나 조직에 물리적 작용이나 화학적 물질, 세균 감염 등의 어떠한 기질적 변화를 가져오는 침습이 가해질 때 그 손상부위를 수복 재생하려는 기전으로, 일단 자극이 가해지면 국소적으로 히스타민, 세로토닌, 브라디키닌, 프로스타글란딘, HETE(hydroxyeicosatetraenoic acid), 류코트리엔과 같은 혈관 활성 물질이 유리되어 혈관 투과성이 증대되면서 염증이 유발될 수 있다.
- [0032] 상기 “항히스타민”은 알레르기 질환의 한 원인인 히스타민에 길항작용을 하는 것으로, 일반적으로 H₁ 수용체를 억제함으로써 알레르기성 질환을 개선하는 것이나 이에 한정되지 않는다.
- [0033] 알레르기성 비염의 과민반응을 일으키는 물질에 의해 생성된 IgE가 비점막의 비만세포, 호염기 세포에 결합되고 그로 인해 히스타민이 분비된다. 히스타민은 면역반응을 일으켜 콧물, 발작성 재채기, 코 막힘 등의 증상을 유발하게 되는데 항산화, 항염 및 항히스타민 효과를 가지면 알레르기 질환에 의한 증상을 완화할 수 있다.
- [0034] 상기 “유효성분으로 포함하는”은 항산화, 항염 및 항히스타민 효과를 나타낼 수 있는 것으로, 염증을 완화하거나 알레르기성 증상을 완화는 정도의 유효량을 함유하는 것을 의미할 수 있다.
- [0035] 상기 “창이자(*Xanthium strumarium*)”는 국화과에 속하는 일년생 초본식물로 도꼬마리라고도 한다. 창이자는 높이 1m에 달하고 줄기에 털이 있으며, 잎은 어긋나며 자루가 길고 넓은 삼각형이다. 창이자의 꽃은 8, 9월에 황색으로 피며 가지와 원줄기 끝에 원추형으로 달린다. 열매는 수과로 진통, 산풍, 거습 소종의 효능이 있어 두통, 치통, 사지동통, 풍 한습비(風寒濕痺), 비연(鼻淵), 개라(疥癩), 심마진(蕁麻疹), 양진(痒疹) 등에 이용되며, 경엽(莖葉)은 창이엽이라 하여 개선(疥癬), 습진, 벌레 물린 데 바른다.
- [0036] 상기 “조각자(角刺)”는 조각자나무(*Gleditsia sinensis*) 또는 주엽나무(*Gleditsia japonica*)의 가시이다. 조각자란 가시가 뿔처럼 달려 있는 모양을 의미하며 다른 이름으로 조협자(莢子), 조각(角), 계서자(鷄栖子), 오서(烏犀), 현도(懸刀), 천정명(天丁明), 조각침(角針), 조자(刺), 조협자(莢刺), 천정(天丁), 대조협(大莢), 장조협(長莢), 조각(角), 저아조(猪牙조) 등이 있다. 생김새는 가시로 되어 있으며 여러 개로 갈라져 있고 다시 갈라져 작은 가시로 되어 있다. 바깥 면은 적자색 또는 적갈색이며 가시 끝 부분은 적갈색으로 광택이 있고 가는 주름이 있다. 조각자는 배농, 소염작용이 강해서 종기에 사용하며 피부종독을 풀어 준다. 약리작용으로 급성 편도선염의 해열, 소염작용이 보고되었다.
- [0037] 상기 “신이(辛夷)”는 목련과 백목련(*Magnolia denudata*) 또는 동속식물의 꽃봉오리를 말린 약재이다. 신이라는 이름의 이(夷) 띠의 어린썩을 뜻하는 제(荑)에 왔다고 하는데 목련의 꽃봉오리가 처음 생길 때 띠의 어린 썩과 비슷하기 때문이며 맛이 매워 생긴 이름이라고 전해진다. 또한 꽃이 아직 피기 전 꽃봉오리가 작은 복숭아처럼 털이 있어 후도(侯桃)라고 불리기도 한다. 또는 꽃봉오리가 처음 생길때 붓의 끝부분처럼 생겨서 목필(木筆)이라고 하기도 하며 꽃이 가장 일찍 피기 때문에 영춘(迎春)이라 부르기도 했다. 상기 신이는 몸 안에 있는 차가운 기운과 풍으로 오는 코막힘, 축농증을 치료하며 콧물이 흐르며 냄새를 맡지 못하는 증상, 두통이나 집중력이 떨어지는 증상, 오한, 발열, 전신통을 치료하며 가래가 많이 나오는 기침 등에 효과가 있다. 약리작용으로 수렴작용, 모세혈관 확장작용, 항염증작용, 혈압강화작용, 진통, 진정작용, 피부진균과 포도상구균 억제작용이 보고되었다.
- [0038] 상기 “박하(*Mentha piperascens*)”는 꿀풀과에 속하는 다년생 초본식물로 뜯이나 습지에서 자라는 약용식물이다. 높이는 50cm 정도이고, 줄기는 둔한 사각이 지며 잎과 더불어 털이 약간 있다. 잎은 마주나고 긴 타원형이며 양끝이 좁고 길이 2~5cm, 너비 1~2.5cm로 양면에 유점(油點)과 털이 약간 있고, 가장자리에 톱니가 있다. 박하는 약성이 냉하고, 신(辛)하며, 진위, 구풍(驅風), 산열(散熱), 소종(消腫)의 효능이 있다. 따라서 소화불량, 흉복창만(胸腹脹滿), 감모(感冒:감기), 두통, 치통, 인후종통(咽喉腫痛), 목적(目赤), 창개(瘡疥:옴병) 등에 치료제로 쓰인다. 대표적인 처방으로는 박하환, 박하탕, 박하산, 박하전원(薄荷煎元), 계소산(鷄蘇散), 사위탕(瀉胃湯) 등이 있다.
- [0039] 상기 혼합 생약재 추출물은 창이자, 조각자, 신이 및 박하로 구성되는 혼합 생약재에 대하여 3 내지 5 배 중량의 추출 용매로 1 내지 3 시간 동안 환류 추출한 후 농축 및 건조하여 수득될 수 있다.
- [0040] 상기 혼합 생약재 추출물의 추출 용매는 3 내지 5 배가 바람직하며, 3 배 미만인 경우 창이자, 조각자, 신이 및 박하에 함유된 유효 성분이 완전히 추출되지 않을 수 있으며, 5 배 초과인 경우 소모되는 추출 용매의 양이 과

다하여 농축 및 건조 시간이 길어지므로 비효율적이다.

- [0041] 또한, 상기 추출 용매는 증류수, 50%(v/v) 에탄올 및 95%(v/v) 에탄올로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 용매일 수 있다. 상기 혼합 생약재 추출물의 추출 시간은 1 내지 3 시간이 바람직하며, 1 시간 미만인 경우 창이자, 조각자, 신이 및 박하에 함유된 유효 성분이 완전히 추출되지 않을 수 있으며, 3 시간 초과이면 비효율적이므로 추출 시간을 적절히 제어하는 것이 바람직하다.
- [0042] 또한, 상기 혼합 생약재 추출물은 1 내지 3회 반복하여 추출하며, 2회 반복하여 추출하는 것이 바람직하다. 추출 횟수를 4회 이상 반복할 경우 각각의 추출물의 수득량 대비 추출 시간 및 추출 용매의 소비가 증가하여 비효율적이다.
- [0043] 상기 혼합 생약재는 창이자 2 내지 6 중량부, 조각자 3 내지 9 중량부, 신이 1 내지 3 중량부 및 박하 1 내지 3 중량부로 구성될 수 있다.
- [0044] 상기 혼합 생약재의 혼합 비율의 편차가 큰 경우 각 생약재에 함유된 유효성분에서 유래한 항산화, 항염 및 항히스타민 효과가 적절하게 구현되지 않을 수 있으므로, 작업 환경 및 최종 산물의 품질을 고려하여 혼합비율을 적절하게 제어할 수 있다. 본 발명자들은 수많은 실험 결과를 토대로 상기 원료의 최적 혼합 비율을 도출하고자 하였으며, 상기 항산화, 항염 및 항히스타민 효과를 극대화될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물이 제공된다.
- [0046] 상기 알레르기 질환은 알레르기성 비염, 알레르기성 천식, 알레르기성 중이염, 아나필락틱 쇼크(anaphylactic shock) 및 알레르기성 결막염으로 구성된 군에서 하나 이상 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 상기 “예방”은 병리학적 현상의 발생 빈도 또는 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다. 예방은 완전할 수 있으며 또는 부분적일 수도 있다. 이 경우에는 개체의 알레르기성 비염 및 천식 증상이 상기 조성물을 사용하지 않은 경우와 비교하여 감소하는 현상을 의미할 수 있다.
- [0048] 상기 “치료”는 치료하고자 하는 대상 또는 세포의 천연 과정을 변경시키기 위하여 임상적으로 개입하는 모든 행위를 의미하며, 임상 병리 상태가 진행되는 동안 또는 이를 예방하기 위하여 수행할 수 있다. 목적하는 치료 효과는 질병의 발생 또는 재발을 예방하거나, 증상을 완화시키거나, 질병에 따른 모든 직접 또는 간접적인 병리학적 결과를 저하시키거나, 전이를 예방하거나, 질병 진행 속도를 감소시키거나, 질병 상태를 경감 또는 일시적 완화시키거나, 예후를 개선시키는 것을 포함할 수 있다.
- [0049] 상기 조성물은 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 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 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0050] 상기 약학 조성물은 당업자에게 공지된 통상적인 방법에 의해 트로키제, 과립제, 산제, 시럽제, 액제, 현탁제, 정제, 캡슐제, 환제, 주사제 또는 좌제로 제형화될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며 바람직하게는 트로키제(Troches)로 제형화될 수 있다.
- [0051] 상기 트로키제는 의약품이 입안에서 천천히 녹거나 분해하도록 일정한 형상으로 만든 것으로 구강, 인두 등에 적용하는 제제이다. 트로키제는 일반적으로 유효성분을 그대로 또는 부형제, 결합제 또는 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 것을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있고, 필요에 따라 활택제, 교미제, 방향제, 착색제 등을 더욱 첨가할 수도 있다.
- [0052] 상기 조성물은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 약학적으로 유효한 양이 투여될 수 있으며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 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.
- [0053] 상기 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

- [0054] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 조성물을 포함하는 알레르기 질환 개선용 건강기능식품이 제공된다.
- [0055] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.
- [0056] 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품 안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다.
- [0057] 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 먼류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.
- [0058] 상기 건강기능식품은 알레르기 질환의 예방 또는 개선을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.
- [0059] 상기 건강기능식품은 알레르기 질환의 예방 또는 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캡슐, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.
- [0060] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 상기 화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.
- [0061] 상기 캡슐 형태의 건강기능식품 중 경질캡슐제는 통상의 경질캡슐에 상기 화합물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡슐제는 상기 화합물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡슐제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0062] 상기 환 형태의 건강기능식품은 상기 화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0063] 상기 과립형태의 건강기능식품은 상기 화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0064] 또한, 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.
- [0065] 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자라면 본 발명의 기재내용에 기초하여 각 구성의 종류, 도입 비율 등을 변화시켜 적용할 수 있을 것이며, 상기 변형에도 불구하고 동등한 기술적 효과가 구현되는 경우라면, 본 발명의 기술적 사상에 포괄된다고 할 것이다.
- [0066] 이하 실시예를 통해, 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.
- [0067] **실시예 1**
- [0068] 혼합 생약재의 조성 비율은 창이자 2 중량부, 조각자 3 중량부, 신이 1 중량부, 박하 1 중량부로 하였다.
- [0069] 창이자 280 g, 조각자 420 g, 신이 140 g 및 박하 140 g을 잘 혼합하였다. 추출 용매인 증류수 4L를 가하여 2시간 동안 환류 추출한 다음 여과하였다.
- [0070] 여과액을 감압 농축하고 동결 건조하여 건조 추출물을 수득하였다(수율 11.6%).
- [0071] **실시예 2**
- [0072] 본 발명의 실시예 2에서는 추출 용매를 50%(v/v) 에탄올로 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다.
- [0073] **실시예 3**

- [0074] 본 발명의 실시예 3에서는 추출 용매를 95%(v/v) 에탄올로 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다.
- [0075] **비교예 1**
- [0076] 본 발명의 비교예 1에서는 혼합 생약재의 조성 비율은 창이자 2 중량부, 신이 1 중량부, 박하 1 중량부로 혼합하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다.
- [0077] **비교예 2**
- [0078] 본 발명의 비교예 2에서는 혼합 생약재의 조성 비율은 창이자 1 중량부, 조각자 1 중량부, 박하 1 중량부로 혼합하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다.
- [0079] **실험예 1 : DPPH 측정법을 통한 자유라디칼 소거 활성 평가**
- [0080] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 항산화 효과를 검증하기 위해 DPPH 측정법을 통해 자유 라디칼 소거능을 측정하였다.
- [0081] DPPH 측정법은 억제제(inhibitor)가 안정한 자유 라디칼 DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical)를 소거하여 탈색되는 정도를 측정하는 방법으로, Blois의 방법(Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 181: 1199-1200)에 준하였다.
- [0082] DPPH 라디칼 hydrazyl의 질소 원자는 불안정한 상태에 있으므로 쉽게 수소 원자를 받아들이는 성질을 가지고 있다. 수소 공여능이 뛰어난 항산화 물질과 반응을 시키면, 보라빛의 DPPH 라디칼이 무색의 형태로 전환하는 정도를 측정함으로써 항산화능을 측정할 수 있다.
- [0083] 실시예 및 비교예의 시료를 메탄올에 녹여 실험에 필요로 하는 농도로 희석하여 검액으로 준비하였다. 준비된 검액을 1 mL씩 취하고 DPPH 용액을 0.25 mL씩 넣은 후 상온에서 30분간 방치하였다.
- [0084] 반응이 진행된 후, 560nm의 흡광도를 측정하여 자유 라디칼 소거능을 확인하였다. Ascorbic acid를 대조군으로 사용하였고, 각각의 시료의 자유 라디칼 DPPH의 50% 소거하는 농도(SC₅₀)를 측정하였다.
- [0085] 하기 표 1를 참조하면, 자유 라디칼 DPPH의 50% 소거하는 농도(SC₅₀)는 실시예 1은 0.450 mg/mL, 실시예 2는 0.369 mg/mL, 실시예 3은 0.486 mg/mL로 측정되었으며, 실시예 2가 가장 좋은 DPPH 라디칼 소거능을 가지는 것으로 확인되었다.
- [0086] **실험예 2 : 총 폴리페놀 함량**
- [0087] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 항산화 효과를 검증하기 위해 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.
- [0088] 폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가지며 항산화, 항암, 충치예방, 고혈압 억제와 같은 다양한 생리활성기능을 지니고 있는 것으로 보고되어 있다. 따라서 폴리페놀의 함량이 높으면 항산화능이 높은 것으로 평가할 수 있다.
- [0089] 폴리페놀의 함량은 Folin-Ciocalteu법을 변형하여 측정하였다.
- [0090] 실험예 1과 동일한 방법으로 준비된 검액 0.05 mL와 증류수 4.2 mL를 섞은 다음, Folin-Ciocalteus phenol reagent를 0.25 mL 가하고 8분간 교반하였다.
- [0091] 20% Na₂CO₃ 용액 0.5mL를 가하여 혼합하여 실온에서 1시간 방치한 후 725nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0092] 총 폴리페놀 함량은 미리 작성한 갈산(gallic acid)의 표준곡선을 이용하여 추출물에 포함된 폴리페놀을 정량하였다.
- [0093] 하기 표 1를 참조하면, 폴리페놀의 함량은 각 시료 1mg당 실시예 1은 0.090 mg, 실시예 2는 0.113 mg, 실시예 3은 0.074 mg으로 실시예 2가 가장 많은 폴리페놀을 함유하고 있는 것으로 측정되었다.
- [0094] **실험예 3 : 잔틴 옥시다아제 (Xanthine oxidase; XOD) 저해 활성 평가**
- [0095] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 염증 효과를 검증하기 위해 잔틴 옥시다아제 저해 활성을 측정하였다.
- [0096] 잔틴 옥시다아제는 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 효소로 잔틴이나 하이포잔틴으로부터 요산을 생성한다.

- [0097] 인체 내의 요산은 혈중 농도가 증가하게 되면 요산은 관절에 축적되어 통풍을 일으키거나 신장에 침착되어 신장 질환을 일으키고 잔틴 옥시다아제를 저해하면 통풍이나 부종의 완화 효과를 기대할 수 있다.
- [0098] 잔틴 옥시다아제(xanthine oxidase) 저해 활성 측정은 NBT(Nitro blue tetrazolium)을 발색제로 이용한 Elliott의 방법(Elliott, A. J., Scheiber, S. A., Thomas, C. and Pardini, R. S. (1992) Inhibition of glutathione reductase by flavonoids, Biochem. Pharmacol., 44: 1603-1608)에 준하였다.
- [0099] 시험관에 0.05 M의 소듐 카보네이트 버퍼 (pH 10.5)를 1.05 mL 넣고, 3 mM 잔틴, 3 mM EDTA, 0.15 % bovine serum, 0.75 mM NBT를 50 μ L씩 넣고, 실험에 1과 동일하게 준비된 검액을 150 μ L 넣은 후 10분간 실온에서 방치하였다.
- [0100] 6 mM의 잔틴 옥시다아제를 50 μ L 넣고 20분간 상온에서 반응시킨 후 6 mM의 CuCl_2 로 반응을 종결하고, 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0101] 양성 대조군으로 ascorbic acid를 사용하였으며, NBT 환원에 대한 저해율이 50%에 해당하는 시료의 농도(IC_{50})를 계산하였다.
- [0102] 하기 표 1를 참조하면, NBT 환원에 대한 저해율이 50%에 해당하는 시료의 농도 (IC_{50})는 실시예 1은 0.064 mg/mL, 실시예 2는 0.045 mg/mL, 실시예 3은 0.071 mg/mL로 실시예 2가 용량 대비 잔틴 옥시다아제 저해 활성이 가장 우수하다.
- [0103] **실험예 4 : 지질과산화 저해 활성 평가**
- [0104] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 지질과산화 형성억제작용을 측정하였다. 지질과산화반응은 자유기에 의해 세포 막지질의 불포화지방산들이 산화적 분해를 일으키는 것으로, 지질과산화 저해능이 우수할수록 지질과산화에 기인하는 염증 관련 질환을 예방 및 개선 할 수 있다.
- [0105] 지질과산화 형성 저해 활성 측정은 흰쥐 간 균질화물(homogenate)를 이용한 Yokozawa 등의 방법(Yokozawa T., Dong E., Wu L.Z., Oura H. and Nishioka I. (1996) Antioxidant activity of Wen-Pi-Tang in vitro. Natural Medicines, 50:243-246)에 준하여 실시하였다.
- [0106] 정상 흰쥐에 20% 사염화탄소 용액을 1 mL/kg의 용량으로 경구투여하여 간독성을 유발하였다. 간을 적출하여 균질화한 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상등액을 취해 간 균질화물로 사용하였다.
- [0107] 시험관에 균질화물 0.5 mL 및 실시예의 시료 0.2 mL를 넣고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 배양 시킨 후 1 % H_3PO_4 수용액 3 mL와 0.6 % TBA 1 mL를 가하고 100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 45분간 가열하였다.
- [0108] 흐르는 물에 냉각시키고 n-butanol 4 mL를 혼합한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.
- [0109] 하기 표 1를 참조하면, 각 100 mg/mL 농도에서 지질과산화 억제능은 실시예 1 24.8%, 실시예 2 24.7%, 실시예 3 12.0%로 실시예 1 및 2의 지질과산화 억제능이 실시예 3에 비해 우수한 것으로 확인되었다.

표 1

구분	DPPH SC_{50} (mg/mL)	폴리페놀 함량 (mg/mL)	XOD IC_{50} (mg/mL)	지질과산화 억제능 (%)
실시예 1	0.450	0.090	0.064	24.8
실시예 2	0.369	0.113	0.045	24.7
실시예 3	0.486	0.074	0.071	12.0
비교예 1	0.652	0.044	0.098	10.5
비교예 2	0.542	0.053	0.088	11.4
대조군	0.004	1.0	0.021	0.68

실험예 5 : 트립신 저해 활성 평가

- [0111] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 항염 효과를 확인하기 위해 트립신 저해 활성을 측정하였다.
- [0112] 단백질 분해효소인 트립신은 세린 프로테아제의 하나로 혈관확장이나 모세혈관의 투과성 항진 등을 촉진하며 백

혈구의 유주 등을 간접적으로 촉진하며 염증에 관여하는 화학전달물질인 키닌의 유리에 관여하는 효소로서, 트립신 저해 활성이 높을수록 항염 효과가 우수하다고 할 수 있다.

- [0114] 트립신 저해 활성 측정은 Anson과 Tsutomu 등의 방법(Anson, M. L. (1938) The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin, J. Gen. Physiol., 22: 79-89., Tsutomu, U., Hiroshi, K. and Zen-ichi, O. (1989) Antiinflammatory effect of extract from Phellodendri cortex, J. Med. Pharma. Society for Wakan-Yaku, 6: 158-164)에 준하여 실시하였다.
- [0115] 트립신 20 $\mu\text{g/mL}$ 및 시료를 1/15 M 포스페이트 버퍼(pH7.6)에 용해시킨 검액을 각각 40 μL 와 100 μL 씩 취하고, 0.5% casein 용액을 0.36 mL 가한 후 37°C에서 10분간 가온하였다.
- [0116] 5% 트리클로로아세트산을 1 mL씩 넣어 반응을 종결시킨 후, 0.05 M HCl을 40 μL 넣은 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다.
- [0117] 각 상등액을 0.25 mL을 취한 후 D.W 0.25 mL와 혼합한 후 0.5 M NaOH를 1 mL 가했다. Phenol 회색액을 0.3 mL씩 가한 후에 37°C 수욕 상에서 15분간 incubation하고 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0118] 양성 대조군으로 Trypsin inhibitor를 사용하여 각 5 mg/ml 농도에서 트립신 저해율을 측정하였다.
- [0119] 하기 표 2를 참조하면, 각 5 mg/ml 농도에서 트립신 저해율은 실시예 1 16.1 %, 실시예 2 13.5 %, 실시예 3 15.9 %로 측정되었다.
- [0120] **실험예 6 : 히알루로니다아제 저해 활성 평가**
- [0121] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 항염 효과를 확인하기 위해 히알루로니다아제 저해 활성을 측정하였다.
- [0122] 히알루로니다아제는 mucopolysaccharide-splitting enzyme의 하나로서 모세혈관 투과성에 관여하고, 염증부위에서 활성이 증가하여 급성 부종을 일으키며 화학전달물질의 유리에도 관여하는 등 염증에 관여하는 효소로 알려져 있다. 즉, 히알루로니다아제 저해 활성이 높을수록 항염 효과가 우수하다고 할 수 있다.
- [0123] 히알루로니다아제 저해 활성 측정은 김 등의 방법(Kim, Y. S., Noh, Y. K., Lee, G. I., Kim, Y. K., Lee, K. S. and Min, K. R. (1995) Inhibitory effects of herbal medicines on hyaluronidase activity, Kor. J. Pharmacogn., 26(3): 265-272)에 준하였다.
- [0124] 각 시료를 0.1 mL씩 취하고 히알루로니다아제 용액을 0.05 mL 가한 후 잘 혼합한 다음 37°C에서 20분간 배양하였다.
- [0125] 활성화제로서 12.5 mM CaCl_2 을 0.1 mL 넣고 잘 혼합하여 20분간 배양한 후, 0.12 % 히알루론산 용액을 0.25 mL 가하고 다시 40분간 배양하였다.
- [0126] 0.4 N NaOH 0.1 mL 및 붕산칼륨 용액 0.1 mL를 넣고 100°C의 수욕 상에서 3분간 가열한 다음, 냉각 후 발색제로서 DMAB 시약 3 mL를 가하였다.
- [0127] 37°C에서 20분간 배양한 다음 585 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 양성 대조군으로 ascorbic acid를 사용하여 5 mg/mL 농도에서의 히알루로니다아제 저해율을 측정하였다.
- [0128] 하기 표 2를 참조하면, 각 5 mg/mL 농도에서 실시예 1은 21.8 %, 실시예 2는 20.7 %, 실시예 3은 8.5 %로 측정되었다.

표 2

구분	트립신 저해율(%)	히알루로니다아제 저해율(%)
실시예 1	16.1	21.8
실시예 2	13.5	20.7
실시예 3	15.9	8.5
비교예 1	8.4	5.4
비교예 2	7.5	5.2
대조군	25.4	44.0

- [0130] **실험예 7 : 아세틸콜린에스테라제 저해 활성 평가**

- [0131] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 아세틸콜린에스테라제 저해 활성을 측정하였다.
- [0132] 알레르기성 비염의 주요 유발물질은 히스타민이며 대표적 항히스타민 제제인 라니티딘은 H_2 수용체 길항제로서 콜린성 기전을 흥분시키는 작용을 가지고 있는데 아세틸콜린에스테라제의 저해작용에 의해 일어나는 것으로 보고되어 있다.
- [0133] 즉, 아세틸콜린에스테라제 저해 활성이 우수할수록 알레르기 질환을 개선하는 효과가 우수한 것으로 평가될 수 있다.
- [0134] 아세틸콜린에스테라제(Acetylcholinesterase; AChE) 저해 활성은 Ellman법(Ellman, G.L., Courtney, K. D., Andres, V. Jr. and Featherstone, R. M., 1961, "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity" Biochem. Pharmacol, 7 : 88-95.)으로 진행하였다.
- [0135] 수컷 ICR mice (25-30 g)의 전뇌를 균질화기(glass Teflon homogenizer, Eyela, Japan)에 10배의 homogenization buffer (12.5 mM sodium phosphate buffer pH 7.0, 400 mM NaCl)와 함께 갈고, 1,000xg (4 °C)에서 10분 동안 원심분리 하여, 상등액을 enzyme source으로 사용하였다.
- [0136] 실시예 시료는 최초 1 mg/mL의 농도로 0.02% dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹인 후 다양한 농도로 Buffer A(100 mM sodium phosphate buffer, pH 8.0)에 희석하였다.
- [0137] 0.9 mL의 약물 용액에 20 mL의 acetylthiocholine iodide solution(75 mM) 및 100 mL의 buffered Ellman's reagent(10 mM 5,5'-dithio-bis [2- nitrobenzoic acid] 및 15 mM sodium bicarbonate)를 첨가하고 상온에서 5분간 배양하였다.
- [0138] 10 mM neostigmine을 10 mL 첨가하여 반응을 중지시켰다. 반응이 끝난 후 400 mL의 enzyme source를 첨가한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0139] 하기 표 3을 참조하면, 실시예의 아세틸콜린에스테라제에 대한 저해율이 50%에 해당하는 시료의 농도(IC₅₀)는 실시예 1 0.0172 mg/mL, 실시예 2 0.0027 mg/mL, 실시예 3 0.0213 mg/mL로 확인되었고, 실시예 2의 아세틸콜린에스테라제 저해 활성이 가장 우수하였다.
- [0140] **실험예 8 : 항히스타민 작용 시험**
- [0141] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 항히스타민 작용을 시험을 하였다.
- [0142] 항히스타민제제인 라니티딘은 콜린성 신경계를 통하여 기니피그의 회장 수축을 일으킨다. 이를 확인하기 위해 기니피그의 장을 적출하여 시료에 의한 장관 수축을 측정하였다.
- [0143] 실험 동물은 1주일 이상 동물실 환경에 적응된 350-400 g의 수컷 기니피그를 사용하였다. 기니피그를 48시간 절식시킨 후 단두치사하여 방혈한 후 즉시 복부를 절개하여 맹장에서 10 cm 떨어진 곳으로부터 약 15 cm를 잘라 회장을 적출하였다.
- [0144] 회장 내의 내용물을 제거하기 위해서 주사기를 사용하여 Tyrode 영양액으로 2회 세척하였다. 회장 외벽에 붙어 있는 지방조직 및 결합조직을 깨끗이 제거하고 회장관을 길이 약 10 mm로 잘라 적출장관의 운동을 kymograph 매연지 상에 기록하였다. 검액의 작용과 히스타민에 대한 검액의 작용을 비교 관찰하였다.
- [0145] 하기 표 3을 참조하면, 실시예의 히스타민에 대한 저해율이 50%에 해당하는 시료의 농도(IC₅₀)는 실시예 1 0.0052 mg/mL, 실시예 2 0.0021 mg/mL, 실시예 3 0.0064 mg/mL로 측정되었으며, 실시예 2의 시료가 기니피그 회장 수축능이 가장 우수하였다.

표 3

구분	아세틸콜린에스테라제 저해율 (IC ₅₀ mg/mL)	히스타민 저해율 (IC ₅₀ mg/mL)
실시예 1	0.0172	0.0052
실시예 2	0.0027	0.0021
실시예 3	0.0213	0.0064
비교예 1	0.0345	0.0084
비교예 2	0.0356	0.0094

대조군	0.0013	0.0009
-----	--------	--------

[0147] **실험예 9 : 아세트산에 의한 혈관 투과성 시험**

[0148] 실시예의 시료에 대한 아세트산에 의한 혈관 투과성을 평가하였다.

[0149] 혈관 투과성은 주변 조직으로의 수분 등의 이동에 관련된 용어로 구멍크기와 개수에 의해 결정된다.

[0150] 혈관의 내피세포막에는 수송을 위한 단백질과 수축, 이완을 하는 근육 등이 존재하게 되는데 염증 등으로 혈관의 근육이 이완되고 세포내 신호 등에 의해 혈관에서 주변 조직으로의 수분의 이동 등이 증가 (혈관 투과성 증가) 하여 빨갛고 붓는 등의 염증증상이 일어나게 된다. 즉, 혈관 투과성 억제능이 우수할수록 항염 효과가 우수한 것으로 평가될 수 있다.

[0151] 실험동물을 대조군, 실험군, 양성대조군으로 구분하여 각 군마다 생쥐 6마리를 1군으로 하였고, 대조군에는 생리식염수(10 mL/kg), 실험군에는 검액(1 g/kg), 양성대조군에는 phenylbutazon(100 mg/kg)을 경구투여하였다.

[0152] 20분 후, 4 % Evans blue 용액을 실험동물의 미정맥으로 체중 10 g당 0.1 mL의 용량으로 투여하였고, 20분 뒤, 0.6 % acetic acid를 체중 10 g당 0.1 mL를 복강 내 주사하였다.

[0153] 그로부터 20분 뒤, 생쥐를 단두하여 최대한 방혈시킨 뒤 복강을 개방하여 10 mL의 생리식염수를 가하고 복강 내로 용출된 Evans blue를 취해 여과하였다. 여과액은 spectrophotometer로 590 nm에서 흡광도를 측정해 대조군과 비교하여 평가하였다.

[0154] 실시예 시료에 의한 혈관투과성 억제율은 실시예 1은 19.7%, 실시예 2는 28.8%, 실시예 3은 18.6%로 측정되었으며, 실시예 2의 혈관투과성 억제능이 가장 우수하였다.

[0155] 상기 결과는 본 발명의 혼합 생약재 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물이 우수한 항산화, 항염 및 항히스타민 효과를 가지고 있음을 시사한다.

[0156] 또한, 상기 결과는 본 발명의 조성물은 알레르기성 비염 및 천식 등의 증상을 개선시킬 수 있는 의약품 또는 기능성 식품으로 활용될 가능성이 있음을 시사한다.

[0157] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

[0158] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.