



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0005588
(43) 공개일자 2019년01월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/288 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

A61K 31/616 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/288 (2013.01)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2017-0086475

(22) 출원일자 2017년07월07일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)

(72) 발명자

김홍석

경기도 용인시 기흥구 기흥로38번길 34, 203동 102호(구갈동, 세종그랑시아)

전다운

경기도 부천시 성주로 226, 6동 507호(심곡본동, 부천극동아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김순웅

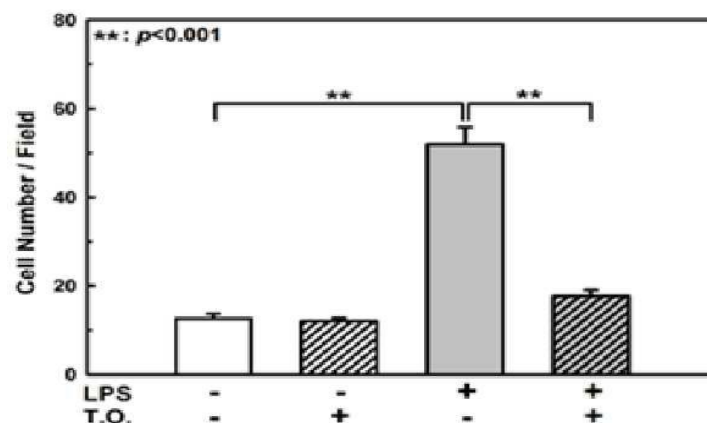
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 의약품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 서양 민들레 메탄올 추출물은 단백질의 부착활성을 억제하고 혈관 염증 관련 유전자인 MCP-1 및 IL-6의 발현을 억제한다. 또한 핵 내로 이동하여 혈관 염증 유전자의 발현을 유도하는 전사인자인 NF-κB의 핵 내 이동을 억제하여 혈관 염증의 치료 및 개선에 도움을 줄 수 있다. 더욱이 서양 민들레 메탄올 추출물은 천연 추출물로 세포 독성이 없으며, 아스피린과 함께 병용할 경우 아스피린의 복용량을 낮추면서도 혈관염증성 질환을 더욱 효과적으로 억제할 수 있어 혈관염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 사용할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 31/616 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/326 (2013.01)

(72) 발명자

박헌주

서울특별시 서초구 서초대로74길 30, 502동 902호
(서초동, 우성아파트)

오은택

서울특별시 서대문구 연희로39마길 6, 204호(홍은
동, 홍은그린파크)

김찬우

경기도 고양시 일산동구 경의로 47, A동 412호(백
석동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2014R1A5A2009392

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 선도연구센터지원사업 기초의과학분야 (MRC)

연구과제명 저산소 표적 질환 연구센터

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2014.05.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

서양 민들레(*Taraxacum Officinale*) 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 서양 민들레 메탄올 추출물은 90 내지 99.9%(v/v) 메탄올로 추출한 것인, 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 서양 민들레 메탄올 추출물은 MCP-1(Monocyte chemotactic protein-1) 및 인터류킨-6(Interleukin-6)의 mRNA 발현을 억제하는 것인, 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 서양 민들레 메탄올 추출물은 전사조절인자 단백질인 NF- κ B의 핵 내 이동을 억제하는 것인, 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 혈관염증성 질환은 죽상동맥경화증(atherosclerosis), 동맥협착증(arterial stenosis), 혈관재협착증(restenosis), 패혈증(sepsis) 및 혈관염(vasculitis)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 것인, 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 아스피린(Aspirin)을 더 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 개선용 의약품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 의약품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 염증은 외부 자극에 대한 생체조직의 활성화된 면역세포에 의한 방어반응으로서 면역세포가 세균, 바이러스 및 생체 이물질 등을 인식하면 활성화되며, 활성화된 면역세포에서 염증반응의 원인이 되는 많은 인자를 분비하여 염증반응을 유발시킨다(Zamora R, Vodovotz Y, Billiar TR. 2000. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. Mol Med 6:347-373).

[0003] 특히 대식세포는 lipopolysaccharide(LPS) 또는 interferon- γ (IFN- γ)와 같은 자극에 의해 염증반응의 전사인자인 nuclear factor- κ B(NF- κ B)를 활성화시키며, 그 결과 inducible nitric oxide synthase(iNOS),

cyclooxygenase-2(COX-2)를 발현시켜 과량의 nitric oxide(NO)와 prostaglandin E2(PGE2)를 생성시켜 염증을 일으킨다(Nathan CF. 1987. Secretory products of macrophages. J Clin Invest 79: 319-326). 또한 활성화된 대식세포는 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-12와 같은 pro-inflammatory cytokines을 생성하게 된다(Hirohashi N, Morrison DC. 1996. Low-dose lipopolysaccharide (LPS) pretreatment of mouse macrophage modulates LPS-dependent interleukin-6 production in vitro. Infect Immun 64: 1011-1015).

[0004] 최근 식생활의 서구화와 고령인구의 증가로 인하여 성인질환, 특히 심혈관질환 (cardiovascular disease) 및 뇌혈관질환 (cerebrovascular disease) 등의 혈관염증성 질환이 급속히 증가하고 있는 추세이다. 죽상동맥경화증은 일반적인 심혈관, 뇌혈관질환으로 전 세계적으로 남성과 여성 모두에게서 사망의 원인이 되는 심근경색, 뇌졸중으로 이끈다(Funatsu et al., Jpn. J. Ophthalmol. 45, p577-584, 2001). 죽상동맥경화증의 원인 중의 하나인 혈관염증성 질환은 혈관에 염증이 발생하여 혈관내경이 좁아지고 조직의 허혈 및 괴사를 초래하는 질환으로 크기, 위치 및 형태에 관계없이 모든 혈관을 침범하여 다양한 증상을 나타낸다고 보고되어 있다 (Tay et al., Transplantation, 78(7), 987-994, 2004).

[0005] 또한, 혈관은 내피세포와 평활근세포로 대부분 이루어져 있는데, 염증 초기단계에서는 순환하고 있는 단핵구와 같은 염증성세포가 내피세포에 의해서 혈관벽 내로 이동하고, 단핵구가 대식세포로 분화되게 된다. 이러한 이동을 촉진하기 위해서는 내피세포 표면에 단핵구가 부착되어 조직 속으로 이동할 수 있도록 intracellular adhesion molecule (ICAM-1)이나 vascular cell adhesion molecule (VCAM-1)과 같은 세포부착분자를 발현하게 된다(Betera et al., Rev. Neuropsychiatr. 37, 177-195).

[0006] TNF- α (Tumor necrosis factor- α)는 전신염증과 면역반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 염증매개 사이토카인으로, 죽상동맥경화의 손상에서 일반적으로 나타나 내피세포에 이러한 부착분자들의 발현을 이끄는 신호를 일으키게 된다 (Modur et al., J. Biol. Chem. 271, 13094-13102, 1996). TNF- α 에 의한 세포부착분자의 발현은 전사인자인 nuclear factor- κ B (NF- κ B)의 전사활성 조절에 의해서 일어나게 되며, gelatinase라 불리는 matrix metalloproteinase (MMP)-2와 MMP-9의 발현도 조절한다고 보고되어져왔다 (Chandrasekar et al., J. Biol. Chem. 281, 15099-15109, 2006; de Winther et al., Arterioscler Throm Vasc Biol, 25, 904-914, 2005). 세포외 기질은 세포사이기질과 기저막으로 구성되는데 MMP는 병리학적 조건에서 이 세포외기질을 분해시켜 matrix remodeling을 초래하여 면역세포의 이동, 혈관 외 유출, 침윤에 중요한 역할을 하게 된다 (Cuzner and Opdenakker, J. Neuroimmunol. 94, 1-14, 1999). 특히 MMP-2와 9의 활성화는 죽상동맥경화, 뇌졸중, 심부전, 허혈성 심장질환, 동맥류와 같은 심혈관 질환을 일으키는 것으로 알려져 있다 (Weiwei et al., J. Endocrinol. 214, 145-153, 2012). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)은 단핵세포, 평활근, 내피세포와 같은 여러 세포에서 cytokine, 산화적 스트레스, 성장인자와 같은 자극에 의하여 생성된다. MCP-1의 과도한 생산은 당뇨병합병증, 치주질환, 유방암, 류마티스성 관절염, 동맥경화, 아테롬성 동맥경화와 같은 병리적인 상태에서 관찰된다 (Pe & Niu, Circ Res., 110, 174-189, 2012; Koyanagi et al., Circulation. 102, 2243-2248, 2000).

[0007] 이와 같은 다양한 혈관 염증성 질환 및 이의 기전 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나 기존의 약물 치료의 경우 약품에 의한 위장 손상 등의 문제점들이 지적되고 있다. 특히 일반 염증과 달리 혈관 특이적 염증 질환에 대한 특이적 치료제에 대해서는 아직까지 널리 연구된 바 없다.

[0008] 따라서, 급속도로 증가하고 있는 혈관질환을 치료하기 위해 염증 매개물질의 발생을 저해할 수 있는 재료를 식물체로부터 개발하기 위한 노력이 많이 시도되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 서양 민들레(*Taraxacum officinale*: Dandelion)는 국화과에 속하는 다년초로 포공영, 금잠로 및 지정으로 불리어지고 있는데 옛부터 민간과 한방에서는 강장, 해열, 이뇨, 건위, 거담, 해독 등에 이용되어 왔다. 이러한 사실을 바탕으로 본 연구에서는 서양 민들레를 이용하여 이의 활성을 최대한 보유하면서 효능을 나타내는 서양 민들레를 혈관염증성 질환 억제에 이용하고자 하였다. 이에 본 발명자들은 서양 민들레를 메탄올로 추출한 추출물을 이용하여 염증반응 유전자 MCP-1(Monocyte chemotactic protein-1) 및 Interleukin-6를 억제하고, 전사인자 NF- κ B의 핵내 이동 억제로 인한 혈관염증성 질환 억제를 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0010] 따라서 본 발명의 목적은 서양 민들레(*Taraxacum Officinale*) 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증

성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물 및 의약품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서양 민들레(*Taraxacum Officinale*) 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0012] 또한 본 발명은 서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0013] 또한 본 발명은 서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0014] 본 발명의 서양 민들레 메탄올 추출물은 단핵구의 부착활성을 억제하고 혈관 염증 관련 유전자인 MCP-1 및 IL-6의 발현을 억제한다. 또한 핵 내로 이동하여 혈관 염증 유전자의 발현을 유도하는 전사인자인 NF- κ B의 핵 내 이동을 억제하여 혈관 염증의 치료 및 개선에 도움을 줄 수 있다. 더욱이 서양 민들레 메탄올 추출물은 천연 추출물로 세포 독성이 없으며, 아스피린과 함께 병용할 경우 아스피린의 복용량을 낮추면서도 혈관염증성 질환을 더욱 효과적으로 억제할 수 있어 혈관염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 서양민들레 메탄올 추출물을 처리한 HUVEC (Human umbilical vein endothelial cell) 세포에 단핵구의 부착 정도를 형광염색으로 나타낸 도이다.
- 도 2는 LPS와 서양민들레 메탄올 추출물 처리에 따른 HUVEC 세포 단핵구의 부착활성 측정 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3은 서양민들레 메탄올 추출물을 처리한 HUVEC 세포의 MCP-1 발현의 qPCR 결과(도 3A) 및 HUVEC 세포의 IL-6 발현의 qPCR 결과(도 3B)를 나타낸 도이다.
- 도 4는 서양민들레 메탄올 추출물을 처리한 HUVEC 세포의 NF- κ B의 핵내 이동을 면역 형광 염색 방법을 통해 확인한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 5는 서양민들레 메탄올 추출물의 세포독성을 확인하기 위한 MTT 분석의 결과를 나타낸 도이다.
- 도 6은 서양 민들레 메탄올 추출물 및 아스피린의 병용으로 인한 세포접착분자 VCAM-1의 웨스턴 블랏 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 본 발명은 서양 민들레(*Taraxacum Officinale*) 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0017] 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.
- [0019] 본 발명의 서양 민들레 메탄올 추출물은 혈관 염증성 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있는 추출물이라면 그 추출 부위가 제한이 없으나 바람직하게는 민들레의 전초에서 추출된 추출물을 사용할 수 있다. 서양 민들레 메탄올 추출물은 50 내지 100% (v/v) 메탄올로 추출할 수 있으며, 바람직하게는 70 내지 99.9%(v/v) 메탄올로 추출할 수 있고, 더욱 바람직하게는 90 내지 99.9%(v/v) 메탄올로 추출한 추출물일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 서양 민들레 메탄올 추출물은 MCP-1(Monocyte chemotactic protein-1) 및 인터류킨-6(Interleukin-6)의 mRNA 발현을 억제하고, 혈관 염증 반응에 있어 핵 내로 이동하여 염증 관련 유전자를 발현시키는 전사인자인 NF- κ B의 핵 내 이동을 억제하여 혈관염증성 질환의 예방 또는 치료효과를 나타냄을 확인하였다.
- [0021] 본 발명에 있어서, 상기 혈관염증성 질환은 혈관(또는 심혈관 시스템 조직)에서의 염증성 반응과 이에 따른 혈관 조직 손상을 특징으로 하는 혈관(또는 심혈관 시스템 조직) 병증을 의미하는 것이나, 염증성 심장혈관 질환 또는 장애, 염증성 뇌혈관 질환 또는 장애, 관상 동맥 또는 말초혈관 질환 또는 장애 등을 모두 포함할 수

있다. 바람직하게 본 발명의 ‘혈관염증성 질환’은 죽상동맥경화증(atherosclerosis), 동맥협착증(arterial stenosis), 혈관재협착증(restenosis), 패혈증(sepsis) 및 혈관염(vasculitis)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있다.

[0022] 본 발명에 따른 조성물은 상기 서양 민들레 메탄을 추출물뿐만 아니라 제약학적으로 수용가능한 운반체를 포함한다. 이와 같은 조성물은 통상의 기술에 따라 조절될 수 있다. 운반체는 선택되는 투여 경로 가령, 구강, 장관 외, 설하, 직장 또는 비강 등의 경로에 따라 다양한 형태로 될 수 있다. 장관 외 투여를 위한 조성물의 경우에, 운반체는 일반적으로 멸균된 물뿐만 아니라 조성물의 용해도를 촉진시키는 다른 가능한 성분 또는 조성물의 저장 능력을 촉진시키는 성분으로 구성될 수 있다. 장관 외 투여 경로는 정맥, 근육 내 또는 피하 주사를 포함할 수 있다.

[0023] 상기 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 서양 민들레 메탄을 추출물을 0.001 중량% 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.1 중량% 내지 99 중량%, 더욱 바람직하게는 1 중량% 내지 50 중량% 포함할 수 있다.

[0024] 더 나아가 본 발명의 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 당해 기술 분야의 공지된 적절한 방법을 사용하여 또는 레밍턴의 문헌(Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 바람직하게 제형화될 수 있다.

[0025] 본 발명에 따른 조성물은 지속적으로 방출되는 타입이 될 수 있는데, 특히 혈관염증성 질환과 같은 장기간 치료를 하는 경우에 이용된다. 투여되는 약량은 치료를 받을 개체, 특히 원하는 보호 정도를 얻기 위한 환자의 면역계 능력에 따라 달라진다. 투여될 활성 성분의 정확한 양은 치료를 시작하는 의사가 결정되나, 바람직하게는 성인기준으로 일당 1mg 내지 100 mg의 서양 민들레 메탄을 추출물이 투여될 수 있다.

[0026] 본 발명의 서양 민들레 메탄을 추출물은 인간을 포함한 동물에 직접 적용될 수 있다. 상기 동물은 식물에 대응하는 생물군으로 주로 유기물을 영양분으로 섭취하며, 소화나 배설 및 호흡기관이 분화되어 있는 것을 말하고, 바람직하게는 척추동물, 더욱 바람직하게는 포유류일 수 있다. 상기 포유류는 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0027] 또한 본 발명의 서양 민들레 메탄을 추출물은 아스피린과 함께 병용할 수 있으며, 병용할 경우, 아스피린의 복용량을 소량으로 하더라도 서양 민들레 추출물의 혈관 염증 치료 및 예방 효과를 더 상승시킬 수 있다. 따라서 본 발명은 서양 민들레 메탄을 추출물에 아스피린을 더 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0029] 또한 본 발명은 서양 민들레 메탄을 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0030] 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미이고, 상기 식품 조성물은 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함하는 의도이다.

[0031] 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 캔디, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 목류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임 식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0032] 본 발명에서 기능성 식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 바람직하게는 본 발명의 기능성 식품은 혈관염증성 질환의 예방 또는 개선에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현할 수 있는 식품을 의미한다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

- [0034] 또한 본 발명은 서양 민들레 메탄올 추출물을 유효성분으로 포함하는 혈관염증성 질환 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.
- [0035] 본 발명의 서양 민들레 메탄올 추출물은 혈관염증성 질환 예방 또는 개선을 목적으로 의약품 조성물에 첨가될 수 있다. 본 발명의 서양 민들레 메탄올 추출물을 의약품 첨가물로 사용할 경우, 상기 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 의약품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0037] 이하 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 제제예를 제시한다. 그러나 하기 실시예 및 제제예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 이에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [0039] **실시예 1. 서양 민들레 추출물의 준비**
- [0040] 본 발명의 서양 민들레 메탄올 추출물은 한국식물추출물은행에서 구입하여 사용하였다. 사용한 서양민들레 메탄올 추출물은 2008년 11월 10일에 채집한 서양 민들레의 전초를 HPLC급 99.9%(v/v) 메탄올로 추출한 것이다.
- [0042] **실시예 2. 단핵구 부착활성 억제 효과의 확인**
- [0043] 혈관 염증의 발생 시 혈관 병변 부위로 단핵구 등의 염증세포가 모이고 부착하는데 이런 단핵구의 부착활성을 억제 여부를 통해 혈관염증성 질환 억제의 효과를 확인하기 위해 HUVEC(Human umbilical vein endothelial cell)에 실시예 1에서 제조한 서양민들레 메탄올 추출물을 처리하는 실험을 수행하였다. 구체적으로 HUVEC에 서양 민들레 메탄올 추출물(T.O.) 100 µg/ml을 LPS(Lipopolysaccharide)로 염증활성을 일으키기 한시간 전 처리 후, LPS 1 µg/ml를 24시간 동안 HUVEC 세포에 처리하였다. 상기 HUVEC 세포 단핵구를 면역 형광 염색한 결과를 도 1에, 단핵구의 부착활성을 측정된 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0044] 도 1에서 나타난 바와 같이, LPS를 가하지 않은 군에서는 단핵구의 부착활성이 나타나지 않았으며(도 1A, B), 서양 민들레 추출물을 전처리하고 LPS로 염증자극을 유도한 실험군(도 1D)은 서양 민들레 추출물을 가하지 않은 군(도 1C)보다 유의적으로 단핵구의 부착활성이 감소한 것을 확인하였다.
- [0045] 또한 도 2에서 확인한 바와 같이, 단핵구의 부착된 세포수를 정량적인 그래프로 확인한 경우, HUVEC을 LPS로 처리하기 전에는 단핵구의 부착 세포수의 차이가 없었으나, LPS로 염증반응을 일으킨 경우, 단핵구의 부착 세포수가 현저히 증가하였고, 서양 민들레 메탄올 추출물을 가한 경우에는 단핵구 부착 활성이 LPS 처리군 대비 2.5배 감소함을 확인하였다. 따라서, 서양 민들레 메탄올 추출물이 혈관염증성 질환 발생 시 단핵구 등의 염증세포의 부착을 방해하여 염증활성을 억제할 수 있음을 확인하였다.
- [0047] **실시예 3. 혈관 염증 유전자 MCP-1 및 IL-6의 발현 억제의 확인**
- [0048] 혈관 염증이 발생하는 경우 여러 가지 염증관련 유전자의 발현이 증가하는데, 서양 민들레 메탄올 추출물이 이런 유전자의 발현을 억제하는지 여부를 확인하기 위해 HUVEC의 MCP-1 및 IL-6 유전자의 발현을 quantitative Polymerase Chain Reaction(q-PCR) 실험을 통해 확인하였다. 구체적으로 HUVEC에 실시예 1에서 제조한 서양 민들레 메탄올 추출물(T.O.) 100 µg/ml을 LPS(Lipopolysaccharide)로 염증활성을 일으키기 한시간 전 처리 후, LPS 1 µg/ml를 24시간 동안 처리한 후 HUVEC 세포의 MCP-1 및 IL-6 유전자의 발현을 qPCR로 분석하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.
- [0049] 도 3A에 나타난 바와 같이, MCP-1은 LPS를 가하기 전에는 서양 민들레 메탄올 추출물을 처리하기 전, 후의 차이가 없었다. 반면, LPS 처리에 의한 염증활성을 증가시킨 환경에서는 서양 민들레 메탄올 추출물을 처리한 경우, 처리하지 않은 경우와 비교하여 LPS에 의해 유도되는 MCP-1의 발현 증가가 1/3 수준으로 감소함을 확인하였다.
- [0050] 또한 도 3B에 나타난 바와 같이, IL-6은 LPS를 가하기 전에는 서양 민들레 메탄올 추출물의 가하기 전, 후의 차이가 없었다. 반면, LPS 처리에 의한 염증활성을 증가시킨 환경에서는 서양 민들레 메탄올 추출물을 처리한 경

우, 처리하지 않은 경우와 비교하여 LPS에 의해 유도되는 IL-6의 발현 증가가 1/3 수준으로 감소함을 확인하였다.

[0051] 따라서, 서양 민들레 메탄올 추출물이 혈관염증성 질환 관련 MCP-1 및 IL-6 유전자의 mRNA 발현을 억제하여 혈관 염증을 억제하는 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0053] 실시예 4. NF- κ B의 핵내 이동 억제의 확인

[0054] 혈관 염증 유전자의 발현에 있어 NF- κ B의 핵내 이동이 중요한 단계인 바, 서양 민들레 메탄올 추출물이 NF- κ B의 핵내 이동을 억제하는지 여부를 알아보기 위해 실험을 수행하였다. HUVEC에 실시예 1에서 제조한 서양 민들레 메탄올 추출물(T.O.) 100 μ g/ml을 LPS(Lipopolysaccharide)로 염증활성을 일으키기 한시간 전 처리 후, LPS 1 μ g/ml를 24시간 동안 처리한 HUVEC 세포의 NF- κ B의 핵내 이동을 면역 형광 염색 방법을 통해 확인하였고, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0055] 도 4에 나타난 바와 같이, LPS를 가해 염증활성을 증가시킨 환경에서는 NF- κ B의 핵내 이동 증가가 확인되었으나, 서양 민들레 메탄올 추출물을 가한 경우에는 NF- κ B의 핵내 이동이 유의적으로 감소함을 확인하였다. 따라서, 서양 민들레 메탄올 추출물은 염증 환경에서 NF- κ B의 핵내 이동을 억제하고 혈관 염증 유전자의 발현을 억제하여 혈관염증성 질환을 효과적으로 억제함을 확인하였다.

[0057] 실시예 5. 서양 민들레 메탄올 추출물의 세포독성여부

[0058] 서양 민들레 메탄올 추출물이 내피세포에 독성을 나타내는지 확인하기 위하여 서양 민들레 메탄올 추출물의 농도별로 처리하여 세포독성여부 평가 실험을 수행하였다. HUVEC에 실시예 1에서 제조한 서양 민들레 추출물을 50, 100, 200 μ g/ml의 농도로 24시간 동안 처리하고 세포독성을 확인하기 위해 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0059] 도 5에서 확인한 바와 같이, 서양 민들레 메탄올 추출물을 농도를 200 μ g/ml 까지 높여 처리하여도 세포 생존률에 영향이 없고, 대조군과 차이가 없는 결과를 확인하여 서양 민들레 메탄올 추출물이 세포독성이 없음을 확인하였다.

[0061] 실시예 6. 서양 민들레 메탄올 추출물 및 아스피린의 병용으로 인한 세포접착분자 VCAM-1 발현의 감소 확인

[0062] 서양 민들레 메탄올 추출물과 아스피린을 함께 처리하는 경우, 혈관 염증 억제에 더욱 우수한 효과를 나타낼 수 있는지 여부를 확인하기 위하여, 병용 투여 실험을 수행하였다. 혈관염증성 질환 발생 시 세포접착분자의 발현이 증가하게 되어 세포접착 분자의 발현이 염증활성 표지의 하나인 바, 서양 민들레 메탄올 추출물 및 아스피린을 함께 처리할 경우 세포접착분자인 VCAM-1의 발현이 억제되는지를 확인하기 위한 실험을 수행하였다. HUVEC에 1, 10, 20 μ g/ml의 실시예 1에서 제조한 서양 민들레 메탄올 추출물(T.O.)과 100 및 500 μ M의 아스피린을 함께 LPS (Lipopolysaccharide)로 염증활성을 일으키기 한시간 전에 처리하고, 이 후 LPS 1 μ g/ml를 24시간 동안 처리한 HUVEC 세포의 VCAM-1의 발현을 웨스턴 블랏(Western blot)실험을 통해 확인하였고, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0063] 도 6에 나타난 바와 같이, 아스피린 단독 처리 시 VCAM-1의 발현 감소가 확인되지 않지만, 서양 민들레 메탄올 추출물의 농도가 1, 10, 20 μ g/ml로 증가할수록 VCAM-1의 발현이 감소하였다. 또한 아스피린 및 서양 민들레 추출물을 함께 병용하여 처리할 경우 적은 양으로도 세포접착분자의 감소로 확인되는 혈관 염증활성 억제를 확인하였다. 특히 본 발명의 서양민들레 추출물을 병용하는 경우 아스피린을 500 μ M에서 100 μ M으로 5배 적게 처리하였음에도 500 μ M 단독 처리군보다 현저한 VCAM-1 발현 감소를 확인하였다. 아스피린은 고용량으로 처리 시 위점막 손상을 유발할 수 있는 문제점이 있으나, 본 발명의 천연 추출물인 서양민들레 추출물을 병용하는 경우 아스피린의 복용량을 낮추면서도 오히려 혈관 염증은 더욱 효과적으로 억제할 수 있음을 확인하였다.

[0065] 제제예 1. 약학적 제제의 제조

[0066] 1. 산제의 제조

[0067]	서양 민들레 메탄올 추출물	20 ml
[0068]	유당	100 mg
[0069]	탈크	10 mg
[0070]	상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.	
[0072]	2. 정제의 제조	
[0073]	서양 민들레 메탄올 추출물	10 ml
[0074]	옥수수전분	100 mg
[0075]	유당	100 mg
[0076]	스테아린산 마그네슘	2 mg
[0077]	상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.	
[0079]	3. 캡슐제의 제조	
[0080]	서양 민들레 메탄올 추출물	10 ml
[0081]	결정성 셀룰로오스	3 mg
[0082]	락토오스	14.8 mg
[0083]	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg
[0084]	통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.	
[0086]	4. 주사제의 제조	
[0087]	서양 민들레 메탄올 추출물	10 ml
[0088]	만니톨	180 mg
[0089]	주사용 멸균 증류수	2974 mg
[0090]	Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	26 mg
[0091]	통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.	
[0093]	5. 액제의 제조	
[0094]	서양 민들레 메탄올 추출물	20 ml
[0095]	이성화당	10 g
[0096]	만니톨	5 g
[0097]	정제수	적량
[0098]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	

[0100] 제제예 2. 식품 제제의 제조

[0102] 1. 건강식품의 제조

[0103]	서양 민들레 메탄올 추출물	100 ml
[0104]	비타민 혼합물	적량
[0105]	비타민 A 아세테이트	70 g
[0106]	비타민 E	1.0 mg
[0107]	비타민 B1	0.13 mg
[0108]	비타민 B2	0.15 mg
[0109]	비타민 B6	0.5 mg
[0110]	비타민 B12	0.2 g
[0111]	비타민 C	10 mg
[0112]	비오틴	10 g
[0113]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0114]	엽산	50 g
[0115]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0116]	무기질 혼합물	적량
[0117]	황산제1철	1.75 mg
[0118]	산화아연	0.82 mg
[0119]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0120]	제1인산칼륨	15 mg
[0121]	제2인산칼슘	55 mg
[0122]	구연산칼륨	90 mg
[0123]	탄산칼슘	100 mg
[0124]	염화마그네슘	24.8 mg

[0126] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

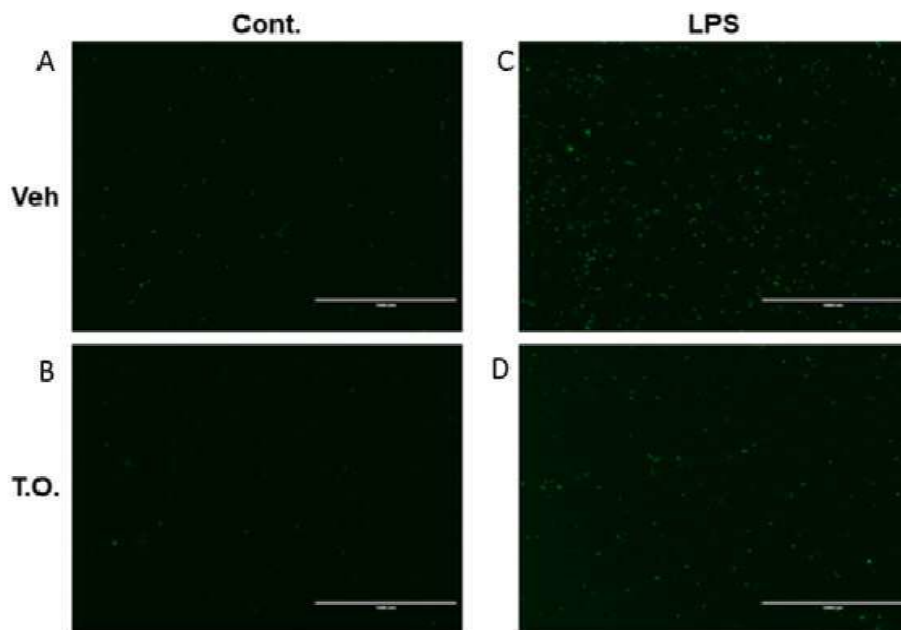
[0128] 2. 건강음료의 제조

[0129]	서양 민들레 메탄올 추출물	100 ml
[0130]	비타민 C	15 g
[0131]	비타민 E(분말)	100 g
[0132]	젖산철	19.75 g
[0133]	산화아연	3.5 g

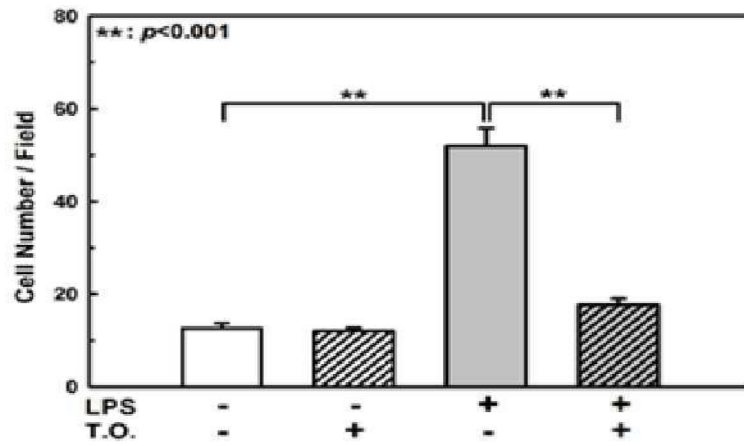
- [0134] 니코틴산아미드 3.5 g
- [0135] 비타민 A 0.2 g
- [0136] 비타민 B1 0.25 g
- [0137] 비타민 B2 0.3g
- [0138] 물 정량
- [0139] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 리터 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
- [0140] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

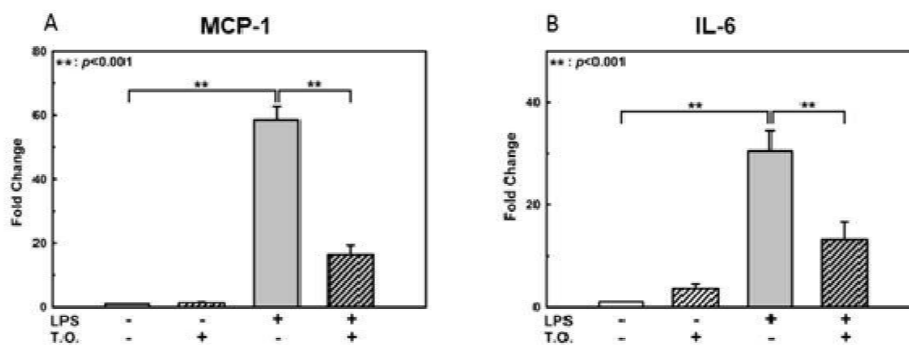
도면1



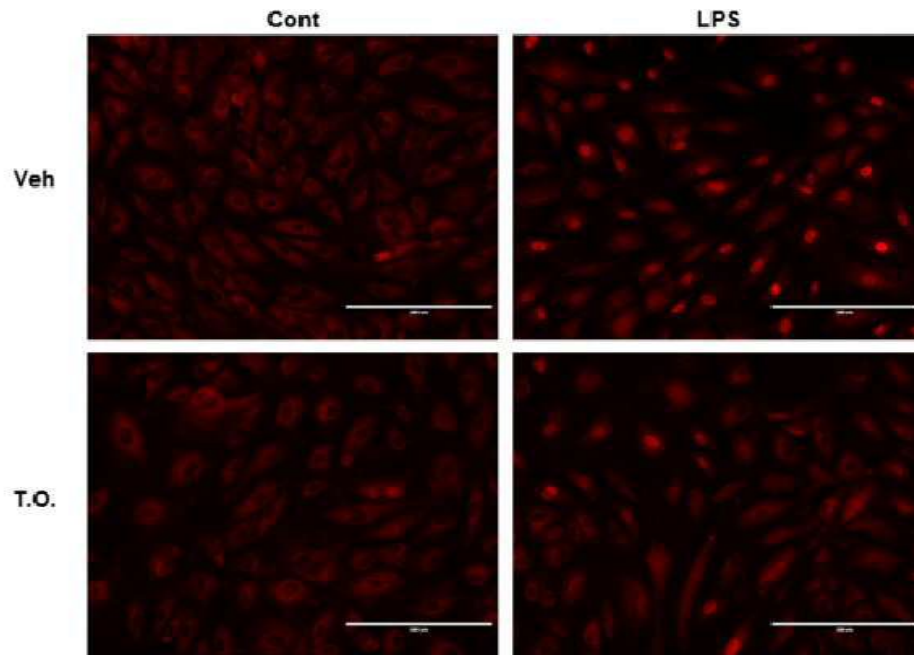
도면2



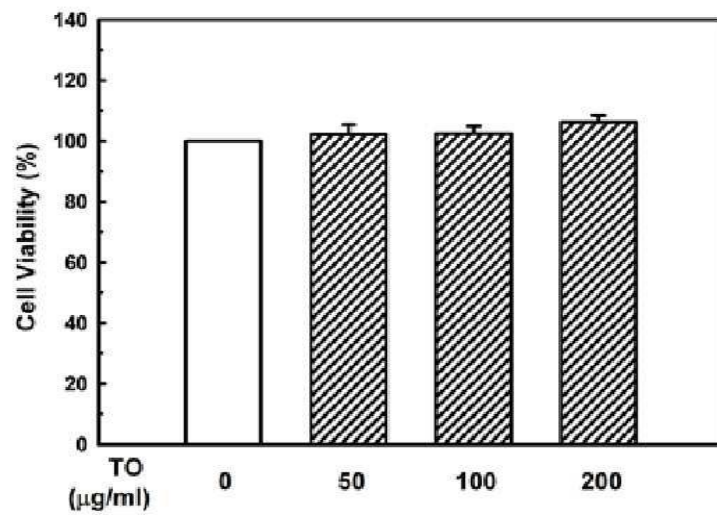
도면3



도면4



도면5



도면6

