(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0009910
(43) 공개일자 2013년01월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/20 (2006.01) *A61K 8/97* (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0070609
(22) 출원일자 2011년07월15일
심사청구일자 2011년07월15일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
박정한윤
강원도 춘천시 후평1동 846-1 현대맨션 101동 101호
권규택
강원도 춘천시 봉의산길22번길 10, 305호 (봉의동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태동

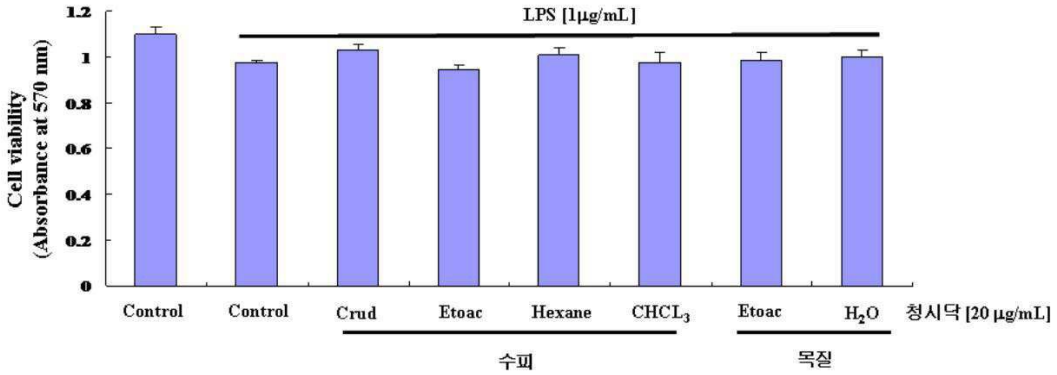
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 **항염증 활성을 나타내는 청시닥 나무 수피 추출물 및 이를 함유하는 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 항염증 활성을 나타내는 청시닥 나무 수피 추출물 및 이를 함유하는 조성물에 관한 것으로, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 목질부의 추출물에서는 항염증 활성이 미미함에 반해, 본 발명의 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 수피(樹皮)의 추출물은 세포 사멸 농도 이하에서 현저한 항염증 활성을 나타냈다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

김진규

강원도 춘천시 승지골길16번길 47, 1005동 1103호 (퇴계동, 뜨란채아파트)

권동주

강원도 춘천시 후석로 325, 포스코더샾아파트 104동 1006호 (후평동)

김종대

강원도 춘천시 동산면 종자리로 379-55

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345-110371
부처명	교육과학기술부
연구사업명	지역거점연구단육성사업 / 의료바이오신소재융복합연구사업단
연구과제명	천연물유래 항산화 신소재 발굴 및 응용
주관기관	한림대학교 산학협력단
연구기간	2009.04.01 ~ 2019.03.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	B0008864
부처명	지식경제부
연구사업명	지역혁신센터사업
연구과제명	식의약품의 효능평가 및 기능성 소재개발센터
주관기관	한림대학교 산학협력단
연구기간	2001.03.01 ~ 2014.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 추출물을 분리함으로써 수득되는 항염증 활성을 가지는 추출물

청구항 2

청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출하여 추출물은 분리한 후, 에틸아세테이트로 분획하고, 분획물을 분리함으로써 수득되는 항염증 활성을 가지는 추출물

청구항 3

제1항 또는 제2항의 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 항염증 활성을 나타내는 청시닥 나무 수피 추출물 및 이를 함유하는 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 염증(Inflammation)이란 세균 유래의 농양으로서, 백혈구의 사체, 균에 의해 파괴된 조직, 세포 파괴물 등이 조직 내 융해하여 농이 축적된 곳의 병리적 상태를 지칭하는데, 염증 반응은 일반적으로 생체의 세포나 조직에 어떠한 기질적 변화를 가져오는 침습이 가해질 때 그 손상 부위를 수복 재생하려고 하는 생체의 방어 반응 과정으로 해석되기도 한다.

[0003] 현재 염증을 제거하기 위한 소염제로는 스테로이드 계통과 비스테로이드 계통의 소염제가 있는데, 여러 부작용 때문에 장기적으로 사용하기가 곤란한 실정이다. 이러한 부작용을 극복하는 문제와 관련지어 최근에는 민간에서 사용되어 지는 천연물에서 그 활성 성분을 찾으려는 노력이 진행되고 있다.

[0004] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)는 단풍나뭇과의 낙엽 활엽 소교목으로 높이는 10 m 정도이다. 잎은 마주나고, 넓은 달걀 모양 또는 원형인데, 3~5 갈래로 갈라지고, 뒷면에 잔털이 많다. 줄기와 가지는 약용하고 깊은 산에서 자라는데 한국, 일본, 만주 등지에 분포한다. 수피는 녹색 또는 회갈색으로 어린 가지는 노란색이지만, 가끔 붉은색인 것도 있으며, 털이 있다.

[0005] 항염 활성이 있는 천연물 또는 그 추출물에 대해 많은 연구가 이루어지고 있는데, 청시닥 나무 추출물의 항염 기능을 탐색한 연구는 현재 미미한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에 본 발명은 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)로부터 항염증이 있는 추출물을 분리하여 항염증용 조성물로 개발하여 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 제1형태로 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 추출물을 분리함으로써 수득되는 항염증 활성을 가지는 추출물을 제공한다. 하기 본 발명의 실험에 의하면 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 수피부(樹皮部)의 열수 추출물에 항염 효능이 현저히 있는 것으로 확인되었다. 수피부가 항염 효능이 현저히 있음에 반해, 목질부는 항염 효능이 현저히 나타나지 않았다.

[0008] 한편, 본 발명은 제2형태로 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출하여 추출물은 분리한 후, 에틸아세테이트로 분획하고, 분획물을 분리함으로써 수득되는 항염증 활성을 가지는 추출물을 제공한다. 하기 본 발명의 실험에 의하면, 여러 분획물 중 에틸아세테이트 분획물에서 항염 활성이 가장 우수하게 나타났다.

[0009] 한편, 본 발명은 제3형태로 상기 본 발명의 제1형태 또는 제2형태의 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물을 제공한다. 본 발명에서 "유효성분으로 포함된다"는 의미는 항염 효과를 나타낼 수 있는 정도로 본 발명 제1형태의 추출물 또는 제2형태의 추출물이 조성물에 첨가되는 것을 의미한다. 즉, 조성물의 형태가 약학 조성물인 경우, 약물전달 및 안정화 등을 위하여 다양한 성분을 부성분으로 첨가하여 다양한 형태로 포뮬레이션 (formulation)할 수 있고, 조성물의 형태가 식품 또는 화장품 조성물인 경우, 다양한 제형을 제조하기 위해 제형 베이스 및 부형제를 첨가할 수 있음을 의미하는 것이다.

[0010] 본 발명에서의 '추출물'이라는 용어는 추출 용매를 포함하는 액상 형태와 추출 용매를 휘발시키고 잔존하는 고형분 분말 형태 모두를 포함하는 의미로 사용한다.

[0011] 한편, 본 발명은 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물 또는 그 건조 분말을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 염증 예방용 식품 조성물을 제공하는데, 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물은 바람직하게 건조중량 대비 1~20 ㎍/mL의 농도로 조성물 중에 첨가되는 것이 좋다.

[0012] 본 발명의 염증 예방용 식품 조성물은 바람직하게 육류, 곡류, 카페인 음료, 일반 음료, 초콜렛, 빵류, 스넥류, 과자류, 피자, 젤리, 면류, 껌류, 아이스크림류, 알코올성 음료, 술, 비타민 복합제 및 그 밖의 건강보조식품류 중 선택되는 어느 하나인 것일 수 있는데, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0013] 한편, 본 발명은 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물 또는 그 건조 분말을 유효성분 함유하는 것을 특징으로 하는 염증 치료용 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 염증 치료용 약학 조성물에 포함되는 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물 또는 그 건조 분말의 함량은 예방 및 치료제의 사용방법, 복용자의 상태, 질환의 종류 및 질환의 중증 정도에 따라 바람직하게 조절하는 것이 좋은데, 바람직하게 건조 중량 대비 1~20 ㎍/mL의 농도로 조성물 중 첨가되는 것이 좋다.

[0014] 한편, 본 발명의 염증 치료용 약학 조성물은 유효성분 이외에 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 더욱 포함할 수 있다. 사용가능한 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유가 있으며, 이들은 1종 이상 사용될 수 있다. 또한, 예방 및 치료제가 약제인 경우 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 또는 방부제 등이 추가적으로 포함될 수 있다.

[0015] 한편, 본 발명의 염증 치료용 약학 조성물의 제형은 사용방법에 따라 바람직한 형태로 제형화될 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화 하는 것이 좋다. 구체적인 제형의 예로는 경고제(PLASTERS), 과립제(GRANULES), 로션제(LPTIONS), 리니멘트제(LINIMENTS), 리모나데제(LEMONADES), 방향수제(AROMATIC WATERS), 산제(POWDERS), 시럽제(SYRUPS), 안연고제(OPHTALMIC OINTMENTS), 액제(LIQUIDS AND SOLUTIONS), 에어로솔제(AEROSOLS), 엑스제(EXTRACTS), 엘릭실제(ELIXIRS), 연고제(OINTMENTS), 유동엑스제(FLUIDEXTRACTS), 유제(EMULSIONS), 현탁제(SUSPESIONS), 전제(DECOCTIONS), 침제(INFUSIONS), 점안제(OPHTHALMIC SOLUTIONS), 정제(TABLETS), 좌제(SUPPOSITIORIES), 주사제(INJECTIONS), 주정제(SPIRITS), 카타플라스마제(CATAPLSMA), 캅셀제(CAPSULES), 크림제(CREAMS), 트로키제(TROCHES), 틴크제(TINCTURES), 파스타제(PASTES), 환제(PILLS), 연질 또는 경질 젤라틴 캅셀 중 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0016] 한편, 본 발명의 염증 치료용 약학 조성물의 투여량은 투여방법, 복용자의 연령, 성별 및 체중 및 질환의 중증

도 등을 고려하여 결정하는 것이 좋다. 일 예로, 본 발명의 염증 치료제는 유효성분을 기준으로 하였을 때 1일 0.1 내지 100 ㎎/㎏(체중)으로 1회 이상 투여가능하다. 하지만, 상기의 투여량은 예시하기 위한 일 예에 불과하며, 복용자의 상태에 따라 의사의 처방에 이해 변화될 수 있다.

발명의 효과

[0017] 본 발명에서 확인한 바에 의하면, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 목질부의 추출물에서는 항염증 활성이 미미함에 반해, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 수피(樹皮)의 추출물은 세포 사멸 농도 이하에서 현저한 항염증 활성을 나타냈다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 세포 증식능(사멸능) 조사를 위한 MTT 어세이 결과이다.

도 2는 NO량 측정에 의한 항염 효능 조사 결과이다.

도 3은 iNOS와 COX-2의 단백질 발현량 측정에 의한 항염 효능 조사 결과이다.

도 4는 iNOS, COX-2, IL-6, IL-1β 및 TNF-α의 mRNA 발현 수준 측정에 의한 항염 효능 조사 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 본 발명의 내용을 하기 실시예 및 실험예에서 상세히 설명하고자 한다. 다만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니고, 그와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[0020] **실험예 1: MTT 어세이를 통한 세포 증식능(사멸능) 조사**

[0021] 본 실험예에서는 쥐의 대식세포인 RAW264.7 세포에 24시간 동안 LPS와 청시닥 나무 수피의 분획물을 20 ㎍/mL의 농도로 처리하여 MTT assay로 세포 사멸능(증식능)을 조사하고자 하였다.

[0022] RAW264.7 세포는 DMEM 배지에 10% FBS, 1% 페니실린 스트렙토마이신을 첨가한 배양액을 사용하여, 37℃의 습윤한 CO_2 배양기에서 배양하였다. 세포가 배양 접시의 70~80% 정도 차면, PBS(phosphate-buffered saline, pH 7.4)로 세포의 단층을 씻어낸 후, 세포를 계대 배양하였고, 배지는 2일마다 교환하였다.

[0023] 상기와 같이 배양한 RAW264.7 세포를 10% FBS를 첨가한 DMEM에 희석하여 50,000 cells/well의 밀도로 24 웰-플레이트에 분주하였다. 24시간 배양한 후, 1% FBS가 포함된 SDM(serum-deprivation medium)으로 24시간 동안 추가 배양하였다. 이 후, 20 ㎍/mL 농도의 청시닥나무수피 분획물이 포함된 SDM으로 교환하고, 24시간 경과한 후, MTT assay 방법으로 살아있는 세포의 수를 측정하였다.

[0024] 세포의 증식능을 확인한 결과, 세포의 증식에 영향을 미치지 않음이 확인되었다. (도 1).

[0025] **실험예 2: NO량 측정에 의한 항염 효능 조사**

[0026] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 추출물이 20 ㎍/mL의 농도에서 대식세포에 증식에 아무런 영향을 주지 않았으므로, 본 실험예에서는 이 범위 내에서 항염 효능을 탐색하고자 하였다.

[0027] Raw264.7 세포를 실험예 1에서와 같이 청시닥나무수피 분획물과 LPS가 첨가된 배양액에서 24시간 배양한 후, 배지를 수집하여 NO의 분비량을 'Griess reagent system' (Promega)을 이용하여 측정하였다.

[0028] 측정 결과, LPS처리시 NO가 증가하였고, 청시닥나무 수피 분획물 처리에 의해 증가한 NO가 감소함이 확인되었다. (도 2). 분획물 중에서는 Etoac(에틸아세테이트) 분획이 가장 효과가 좋았는데, 이 Etoac 분획을 사용하여 하기 실험을 추가로 진행하였다.

[0029] **실험예 3: iNOS와 COX-2의 단백질 발현량 측정에 의한 항염 효능 조사**

[0030] 실험예 2로부터 NO가 감소함을 확인하였으므로, 본 실험예에서는 염증반응과 관련된 단백질인 iNOS와 COX-2의 발현을 조사하고자 하였다. 샘플로는 청시닥 추출물 중 NO 저감 효과가 가장 우수한 에틸아세테이트 분획물을 사용하였다.

[0031] RAW264.7 세포를 1×10^{6} cells/dish의 밀도로 100 mm 디쉬(dish)에 분주하였다. 24시간 배양 후, SDM으로 24시간 배양하였다. 배양 후, 청시닥나무 수피의 에틸아세테이트 분획물을 다양한 농도로 첨가하여 세포를 배양하였다. 24시간 후 세포를 찬 PBS (1 mmol/L iodoacetic acid와 1mmol/L phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF) 포함)로 헹구고, 스크래퍼(scraper)로 세포를 수집하여 원심분리 (2,000 rpm, 2 min, 4℃) 하였다. 펠렛에 라이시스 버퍼 (20 mmol/L Hepes, pH 7.5, 1% Triton X-100, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L EGTA, 100 mmol/L NaF, 10 mmol.L iodoacetic acid, 0.2 mmol/L PMSF, 20 mg/L aprotinin, 10 mg/L antipain, 10mg/L lepeptin, 80 mg/L benzamidine HCl)를 첨가하여 4℃에서 40분간 교반하여 세포를 용해시킨 후, 원심 분리하여 상층액을 취하여 -70℃에 보관하였다. 용해물(Lysate, 50 ㎍ protein)을 4-20% 그래디언트 SDS-PAGE로 분리하여 PVDF(polyvinylodene fluoride membrane)에 이동시켰다. 얻어진 멤브레인은 5% 'non-fat milk-TBST' (20 mmol/L Tris·HCl, pH 7.6, 150 mmol/L NaCl, 0.1% Tween 20)에서 1시간 동안 브라킹한 다음, TBST로 10분간 3회 헹구었다. 멤브레인에 COX-2, iNOS 항체를 첨가하여 4℃에서 24시간 배양시킨 후, TBST로 10분간 3회 헹구었다. 그 후 멤브레인을 HRP(horseradish peroxidase)-결합 항-래빗이나, 마우스(mouse) 혹은 고트(goat) IgG를 첨가하여 1시간 배양한 후 TBST로 10분간 3회 헹구었다. 항체에 결합한 단백질들의 시그날은 이모빌론 웨스턴 케미루니네슨트(Immobilon Western Chemiluminescent) HRP 기질을 이용하여 밴드를 가시화하였다.

[0032] 실험 결과, LPS 처리에 의해 iNOS와 COX-2가 둘 다 증가하였는데, 청시닥나무 수피의 Etoac분획 처리에 의해 iNOS는 농도 의존적으로 감소하였다. (도 3).

[0033] **실험예 4: iNOS, COX-2, IL-6, IL-1β 및 TNF-α의 mRNA 발현 수준 측정에 의한 항염 효능 조사**

[0034] 본 실험예에서는 iNOS, COX-2, IL-6, IL-1β 및 TNF-α의 mRNA 발현 수준을 측정하여 항염 효능을 조사하고자 하였다.

[0035] 세포를 여러 농도의 청시닥나무 수피 분획물로 처리한 후, 총 RNA를 'Qiagen RNase mini kit' (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 분리하였다. RNA (3 ㎍)를 'Superscript II reverse transcriptase' (Invitrogen, Carlsabd, CA, USA)를 사용하여 42℃에서 1시간 45분 동안, 그리고 70℃에서 15분 동안 배양하여 cDNA를 얻은 후, 리얼-타임 PCR로 정량하였다. 상기 리얼-타임 PCR 결과는 'ROTOR-GENE 6000 Series software 1.7'을 이용하여 GAPDH 대비 mRNA 양으로 환산한 후, 대조군 대비 함량으로 표시하여 나타내었다. 프라이머와 실험조건은 표 1에 명시하였다.

[표 1] 리얼-타임 PCR을 위해 사용된 프라이머 시퀀스

mRNA	Primer sequences	Anealing temperature
GADPH	Sense : CATCAGCAATGCCTCCTGCA anti-sense : CTGTGGTCATGAGTCCTTCC	56
COX-2	Sense : GAAGTCTTTGGTCTGGTGCCTG anti-sense :GTCTGCTGGTTTGGAATAGTTGC	56
iNOS	Sense : GGAGCGAGTTGTGGATTGTC anti-sense : GTGAGGGCTTGGCTGAGTGAG	56
TNF-α	Sense : TCCAGGCGGTGCCTATGT anti-sense : CGATCACCCCGAAGTTCAGT	56
IL-6	Sense : GATGCTAACAAACTGGATATAATC anti-sense : GGTCCTTAGCCACTCCTTCTGTG	56
IL-1β	Sense : GATGCTAACAAACTGGATATAATC anti-sense : GGTCCTTAGCCACTCCTTCTGTG	56

[0036]

[0037] 먼저, iNOS와 COX-2의 mRNA 수준을 관찰한 결과, LPS에 의해 증가하였다가 청시닥나무 수피 Etoac 분획물 처리에 의해 트랜스크립트(transcript) 수준이 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. (도 4).

[0038] 또한, 염증 반응과 관련된 사이토카인(cytokine)인 IL-6, IL-1β, TNF-α의 mRNA 수준을 측정한 결과, LPS처리에 의해 사이토카인의 mRNA수준이 증가하였고, 청시닥나무 수피 Etoac 분획물 처리에 의해 사이토카인의

mRNA수준이 감소함을 확인할 수 있었다. (도 4)

[0039] **실시예 1: 염증 치료용 약제 조성물 제조**

[0040] 실시예 1에서는 하기와 같이 염증 치료용 약제 조성물을 제조하였다.

[0041] (1) 산제 제조

[0042] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 2g에 유당 1g을 혼합하고, 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

[0043] (2) 정제 제조

[0044] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 100㎎, 옥수수전분 100㎎, 유당 100㎎ 및 스테아린산 마그네슘 2㎎을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조하였다.

[0045] (3) 캡슐제 제조

[0046] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 100㎎, 옥수수전분 100㎎, 유당 100㎎ 및 스테아린산 마그네슘 2㎎을 혼합한 후 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0047] (4) 주사제 제조

[0048] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 100㎎에 주사용 증류수 적량을 가하여 용해시키고, pH를 약 7.5로 조절한 다음 2㎖ 용량의 앰플에 충진 및 멸균시하여 주사제를 제조하였다.

[0049] **실시예 2: 염증 예방용 식품 조성물 제조**

[0050] 실시예 2에서는 하기와 같이 염증 예방용 식품 조성물을 제조하였다.

[0051] (1) 선식 제조

[0052] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 준비하였다. 검정콩, 검정깨 및 들깨 각각을 공지의 방법으로 쪄서 건조시킨 후 배전 및 분쇄하여 입도 60메쉬의 분말로 준비하였다. 이후, 현미 30 중량%, 율무 15 중량%, 보리 20 중량%, 찹쌀 9 중량%, 들깨 7 중량%, 검정콩 8 중량%, 검정깨 7 중량%, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 3 중량%, 영지 0.5 중량% 및 지황 0.5 중량%을 혼합하여 선식을 제조하였다.

[0053] (2) 츄잉껌 제조

[0054] 껌 베이스 20 중량%, 설탕 76.9 중량%, 향료 1 중량%, 물 2 중량% 및 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 츄잉껌을 제조하였다.

[0055] (3) 캔디 제조

[0056] 설탕 60 중량%, 물엿 39.8 중량%, 향료 0.1 중량% 및 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 캔디를 제조하였다.

[0057] (4) 비스킷 제조

[0058] 박력 1급 25.59 중량%, 중력 1급 22.22 중량%, 정백당 4.80 중량%, 식염 0.73 중량%, 포도당 0.78 중량%, 팜쇼트닝 11.78 중량%, 암모니움 1.54 중량%, 중조 0.17 중량%, 중아황산나트륨 0.16 중량%, 쌀가루 1.45 중량%, 비타민 B_1 0.0001 중량%, 비타민 B_2 0.0001 중량%, 밀크향 0.04 중량%, 물 20.6998 중량%, 전지분유 1.16 중량%, 대용분유 0.29 중량%, 제일인산칼슘 0.03 중량%, 살포염 0.29 중량% 및 분무유 7.27 중량%와 청시

닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 비스킷을 제조하였다.

[0059] (5) 건강음료 제조

[0060] 꿀 0.26 중량%, 치옥토산아미드 0.0002 중량%, 니코틴산아미드 0.0004 중량%, 염산리보플라빈나트륨 0.0001 중량%, 염산피리독신 0.0001 중량%, 이노시톨 0.001 중량%, 오르트산 0.002 중량%, 물 98.7362 중량% 및 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 건강 음료를 제조하였다.

[0061] (6) 소시지 제조

[0062] 돈육 65.18 중량%, 계육 25 중량%, 전분 3.5 중량%, 대두단백 1.7 중량%, 식염 1.62 중량%, 포도당 0.5 중량% 및 글리세린 1.5 중량%와 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 소시지를 제조하였다.

[0063] (7) 건강보조식품 제조

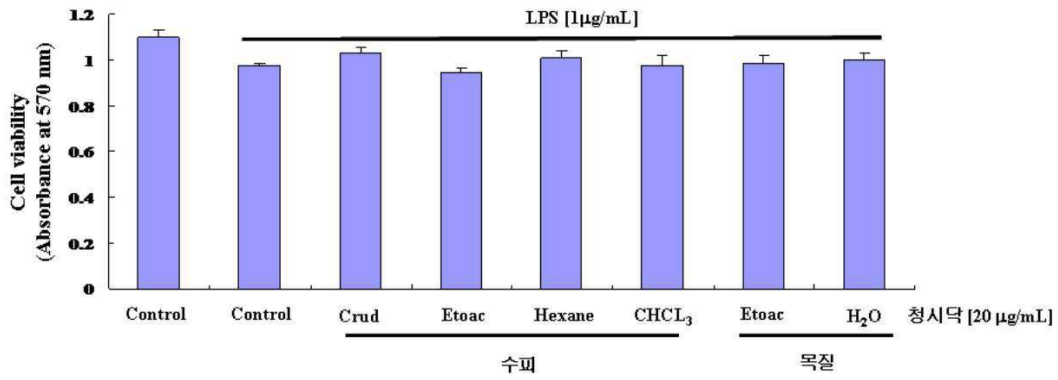
[0064] 스피루리나 55 중량%, 구아검효소 분해물 10 중량%, 비타민 B_1 염산염 0.01중량%, 비타민 B6 염산염 0.01 중량%, DL-메티오닌 0.23 중량%, 스테아린산 마그네슘 0.7 중량%, 유당 22.2 중량% 및 옥수수전분 1.85 중량%와 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 10 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 정제형 건강보조식품을 제조하였다.

[0065] (8) 주류 제조

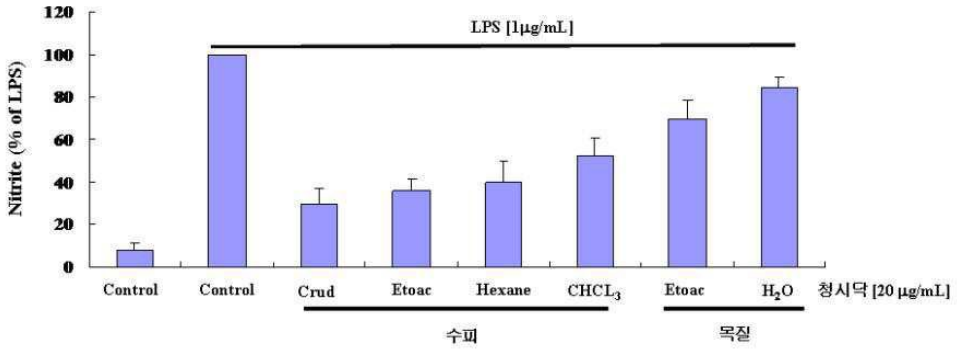
[0066] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 0.5 중량%를 소주, 맥주, 양주 또는 과실주와 혼합하여 에멀전 상태로 만든 후, 진공상태에서 7,000rpm으로 15분간 원심분리하거나 고속믹서기로 9,000rpm에서 혼합하여 주류를 제조하였다.

도면

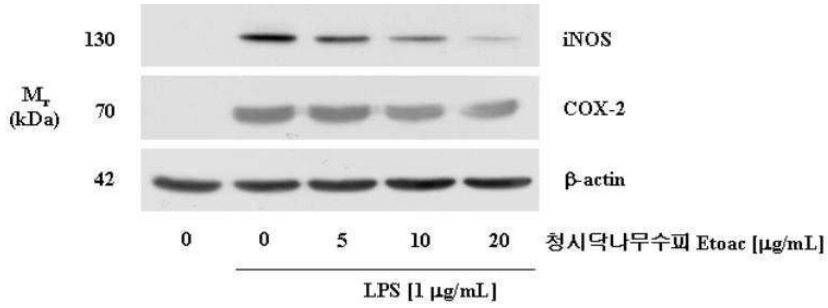
도면1



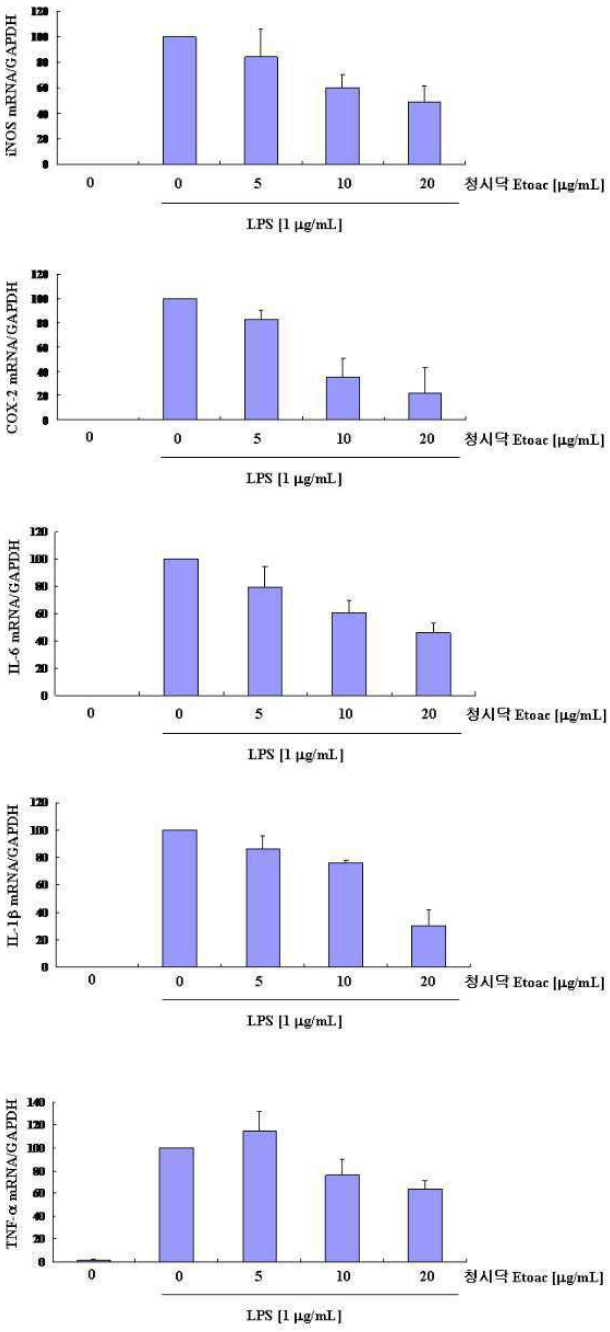
도면2


LPS [1μg/mL]
Nitrite (% of LPS)
120
100
80
60
40
20
0
Control
Control
Crud
Etoac
Hexane
CHCL3
Etoac
H2O
청시닥 [20 μg/mL]
수피
목질

도면3


130
70
42
Mr (kDa)
iNOS
COX-2
β-actin
0
0
5
10
20
청시닥나무수피 Etoac [μg/mL]
LPS [1 μg/mL]

도면4


iNOS mRNA/GAPDH
COX-2 mRNA/GAPDH
IL-6 mRNA/GAPDH
IL-1β mRNA/GAPDH
TNF-α mRNA/GAPDH
0
0
5
10
20
청시닥 Etoac [μg/mL]
LPS [1 μg/mL]