(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년08월06일
(11) 등록번호 10-2007728
(24) 등록일자 2019년07월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/899 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 8/9794 (2017.01) *A61P 37/08* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/899 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0027020
(22) 출원일자 2018년03월07일
심사청구일자 2018년03월07일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020070033133 A
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 2 항

(73) 특허권자
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교 산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
양선아
대구광역시 달성군 다사읍 대실역남로 93, 203동 1402호 (죽곡청아람푸르지오2단지)
이재열
대구광역시 남구 자유5길 72 (대명동)
(74) 대리인
특허법인태백

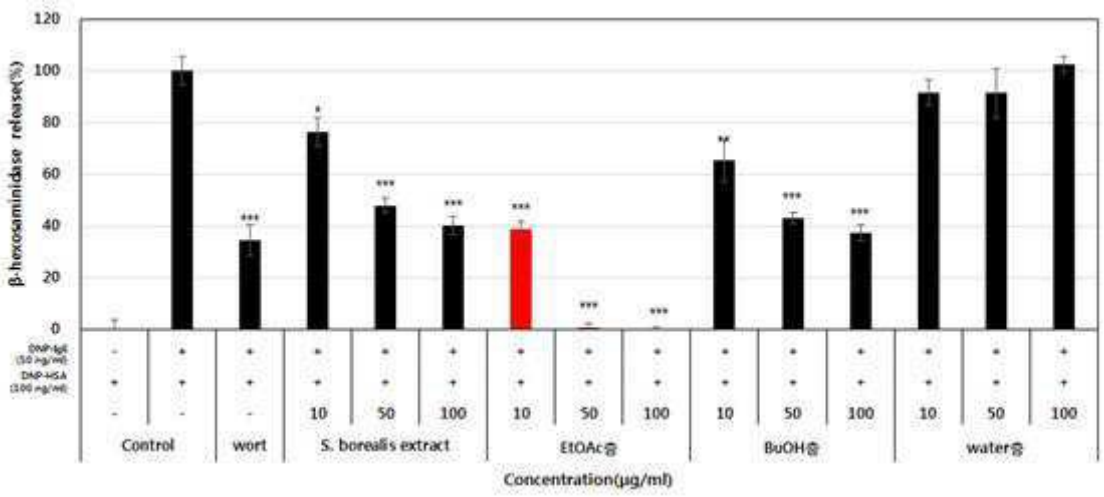
심사관 : 최원철

(54) 발명의 명칭 **조릿대 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 치료용 조성물 및 시약 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물, 인 비트로(In vitro)에서, 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출 억제용 시약 조성물 및 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출을 억제하는 방법에 관한 것으로, 조릿대 추출물 또는 이의 분획이 효과적으로 베타-헥소사미니다아제, TNF-α, 및 IL-4의 방출을 억제할 수 있음을 확인하였다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61K 8/9794 (2017.08)
A61P 37/08 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/304 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
KR1020110045140 A*
KR1020110136387 A
KR1020150050940 A
KR1020170050160 A
KR1020170117271 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 C0453268
부처명 중소벤처기업부
연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원
연구사업명 산학연협력기술개발
연구과제명 보리수나무를 활용한 호흡기질환 예방용 식품소재 및 산업화 기술 개발
기 여 율 50/100
주관기관 보사모영농조합법인
연구기간 2016.12.01 ~ 2017.11.30
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2015R1C1A2A01055125
부처명 과학기술정보통신부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 여성과학자지원사업
연구과제명 고장초를 활용한 면역기능 조절 기능성 식품 소재개발 기반 연구
기 여 율 50/100
주관기관 계명대학교
연구기간 2017.11.01 ~ 2018.10.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

조릿대 추출물(*Sasa Borealis*)의 에틸 아세테이트 분획물을 유효성분으로 포함하는, 인 비트로(In vitro)에서, 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출 억제용 시약 조성물.

청구항 9

사람을 제외한 동물에서, 조릿대 추출(*Sasa Borealis*)물의 에틸 아세테이트 분획물을 처리하는 단계를 포함하는 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출을 억제하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 조릿대 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 치료용 조성물, 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 및 IL-4로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 방출 억제용 시약 조성물 및 방출 억제 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 산업발달에 따른 신규 환경오염 물질은 물론 인조섬유 등의 대량 보급에 따른 실내 생활화학 물질의 증가로 피부질환의 발병률이 크게 증가하고 있다. 특히 최근 도시인들은 생활환경이 변화함에 따라 집안의 카펫에 서식하는 진드기, 습도 저하에 따라 증가하는 먼지, 애완견의 털, 꽃가루, 새로운 과일 및 음식, 식품첨가물 등 면역 과민반응(hypersensitivity)을 유발하는 다양한 알레르겐(allergens)에 노출될 기회가 점차 커지고 있다. 이중 아토피 피부염, 천식, 알러지성 비염, 알러지성 결막염, 알러지성 피부염, 담마진 또는 식품 알레르기와

같은 알러지성 질환의 발병률이 증가함에 따라 사회적인 문제로 대두되어, 이에 대한 관심이 집중되고 있다.

[0003] 일반적으로 알러지성 질환은 면역 과민반응에 의해 발생하는 질환을 의미하는 것으로, 아토피 피부염, 천식, 알러지성 비염, 알러지성 결막염, 알러지성 피부염, 담마진 또는 식품 알레르기가 포함된다.

[0004] 한편, 조릿대(*Sasa Borealis*)는 벼과의 늘푸른 넓은 잎 작은 대나무로 키 1~2 m에 지름 3~6 ㎜ 정도로 매우 가늘고 곧게 자란다. 대나무 종류 중에서 조릿대속(Sasa)에 속하며 줄기가 매우 가늘고 키가 작으며 잎 집이 그대로 붙어 있다. 조릿대는 당뇨, 화병, 고열, 더위 먹은 데, 간 질환, 혈압 높은 데, 중풍, 위궤양, 치질 등에 효력이 크다고 보고되고 있으며, 최근(2016년) 식품의약품안전처에서 '식품에 사용할 수 있는 원료 목록' 에 추가되어 식품으로도 활용 가능하게 되었다. 그러나 조릿대의 항알러지 활성에 대한 연구는 전무한 상태인 바, 이에 본 연구에서는 조릿대 추출물 및 분획의 항알러지 효과에 대한 활성을 비교하여 고부가가치 바이오 소재로서의 활용도를 제고하고자 한다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1051076호(2011.07.15 등록).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 효과적으로 알러지 질환을 예방 내지 치료할 수 있는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 효과적으로 알러지 질환을 예방 내지 개선할 수 있는 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 효과적으로 알러지 질환을 예방 내지 개선할 수 있는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 및 IL-4의 방출을 효과적으로 억제하는 시약 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 인 비트로에서 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 및 IL-4의 방출을 효과적으로 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0012] 상기 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0013] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0014] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는, 인 비트로(In vitro)에서, 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출 억제용 시약 조성물을 제공한다.

[0015] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 사람을 제외한 동물에서, 조릿대 추출물 또는 이의 분획을 처리하는 단계를 포함하는 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출을 억제하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명은 조릿대 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 함유하는 알러지 질환 예방, 개선, 치료용 조성물 또

는 시약 조성물에 관한 것으로, 특히 상기 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 분획물은 세포독성이 없으며, 조릿대 추출물에 비해 더 현저하게 β-헥소사미니다아제의 방출을 억제하고, 염증성 사이토카인인 IL-4, TNF-α의 방출을 억제하는 것을 확인하였는 바, 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획을 함유하는 조성물은 인체에 무해하고 효과적인 알러지 개선물로서 제공될 수 있으며, β-헥소사미니다아제, IL-4, TNF-α의 방출 억제용 시약 조성물 및 방출 억제 방법에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 조릿대 추출물 및 이의 분획물의 세포 독성을 확인한 결과이다.

도 2는 본 발명의 조릿대 추출물 및 이의 분획물의 β-헥소사미니이다아제 방출 억제 효과를 확인한 결과이다.

도 3은 본 발명의 조릿대 추출물 및 이의 분획물의 IL-4 방출 억제 효과를 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명의 조릿대 추출물 및 이의 분획물의 TNF-α 방출 억제 효과를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0020] 상기 조릿대 추출물은 50% 내지 90%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있고, 보다 바람직하게는 70%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있다.

[0021] 또한, 상기 분획은 상기 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 또는 부탄올 분획물일 수 있고, 보다 바람직하게는 에틸 아세테이트 분획물일 수 있는 바, 특히 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 분획물의 항알러지 효과가 우수하였으므로, 이를 알러지 질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물로 활용할 수 있다.

[0022] 이때, 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획은 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 및 IL-4로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 방출을 억제할 수 있는 바, 이러한 효과를 통해 알러지 질환을 보다 효과적으로 예방, 개선 내지 치료할 수 있다.

[0023] 또한, 본 발명에서 사용되는 용어 "알러지 질환(Allergic disease)"은, 알러지성 소인, 즉, 알러지 반응(면역과민반응)에 의해서 발증하는 질환을 의미한다. 아직까지 정확한 발병원인이 밝혀지진 않았으나, 대부분의 알러지 질환 환자에게서 면역 불균형이 관찰되고 있어 면역 불균형 조절을 통한 치료제 또는 치료방법이 활발히 연구되고 있다.

[0024] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 알러지 질환은 아토피 피부염, 천식, 알러지성 비염, 알러지성 결막염, 알러지성 피부염, 담마진 및 식품 알레르기로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0025] 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획은 전체 약학 조성물 100 중량부에 대하여 0.01 중량부 내지 50 중량부로 포함될 수 있는 바, 상기 범위보다 더 적게 포함되는 경우에는 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획의 항알러지 효과가 너무 미약하게 나타나며, 과다하게 포함되는 경우에는 함량 증가에 따른 대비 항알러지 효과 증가량이 적고 제형 상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 발생하므로 바람직하지 않다.

[0026] 본 발명의 약학 조성물은 투여를 위하여, 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0027] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는 제형화할 경우 통상 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형 제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형 제제는 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획에 적어도 하나 이상의 부형

제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 과제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔, 마크로솔, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0028] 본 발명의 약학 조성물의 적합한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있는 바, 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획의 일일 투여량은 바람직하게는 1 ㎎/㎏ 내지 500 ㎎/㎏이며, 필요에 따라 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[0030] 또한, 본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0031] 상기 조릿대 추출물은 50% 내지 90%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있고, 보다 바람직하게는 70%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있다.

[0032] 또한, 상기 분획은 상기 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 또는 부탄올 분획물일 수 있고, 보다 바람직하게는 에틸 아세테이트 분획물일 수 있는 바, 특히 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 분획물의 항알러지 효과가 우수하였으므로, 이를 알러지 질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물로 활용할 수 있다.

[0033] 이때, 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획은 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 및 IL-4로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 방출을 억제할 수 있는 바, 이러한 효과를 통해 알러지 질환을 보다 효과적으로 예방, 개선 내지 치료할 수 있다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 알러지 질환은 아토피 피부염, 천식, 알러지성 비염, 알러지성 결막염, 알러지성 피부염, 담마진 및 식품 알레르기로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0035] 상기 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일 주스, 합성 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또한, 건강기능식품 조성물은 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 껌류, 아이스크림류, 스프, 음료수, 차, 기능수, 드링크제, 알코올 및 비타민 복합제 중 어느 하나의 형태일 수 있다.

[0036] 또한, 상기 건강기능식품 조성물은 식품첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, "식품첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품 안정청에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반 시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0037] 상기 "식품첨가물공전"에 수재된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산 칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고랭색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류 첨가 알칼리제, 보존 료제제, 타르색소 제제 등의 혼합 제제류 등을 들 수 있다.

[0038] 이때, 건강기능식품 조성물을 제조하는 과정에서 식품에 첨가되는 조릿대 추출물 또는 이의 분획은 필요에 따라 그 함량을 적절히 가감할 수 있으며, 바람직하게는 식품 100 중량부에 대하여 0.01 중량부 내지 50 중량부 포함되도록 첨가하는 것이 바람직하다.

[0040] 더불어, 본 발명은 조릿대(*Sasa Borealis*) 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는 알러지 질환 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0041] 상기 조릿대 추출물은 50% 내지 90%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있고, 보다 바람직하게는 70%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있다.

[0042] 또한, 상기 분획은 상기 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 또는 부탄올 분획물일 수 있고, 보다 바람직하게는 에틸 아세테이트 분획물일 수 있는 바, 특히 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 분획물의 항알러지 효과가 우수

하였으므로, 이를 알러지 질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물로 활용할 수 있다.

[0043] 이때, 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획은 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 및 IL-4로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 방출을 억제할 수 있는 바, 이러한 효과를 통해 알러지 질환을 보다 효과적으로 예방, 개선 내지 치료할 수 있다.

[0044] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 알러지 질환은 아토피 피부염, 천식, 알러지성 비염, 알러지성 결막염, 알러지성 피부염, 담마진 및 식품 알레르기로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0045] 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획은 전체 화장료 조성물 100 중량부에 대하여 0.01 중량부 내지 50 중량부로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0046] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 유효성분 이외에 통상적으로 허용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다.

[0047] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수(스킨), 영양 화장수(밀크로션), 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0048] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성 오일, 식물성 오일, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴라아미드 파우더가 이용될 수 있으며, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로 플루오로 히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0050] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예로서 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤지방족에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르를 들 수 있다.

[0051] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌소르비톨에스테르 및 폴리옥시에틸렌소르비탄에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0052] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시테이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 오일, 라놀린 유도체 또는 에톡실화글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0054] 더욱이, 본 발명은 조릿대 추출물 또는 이의 분획을 유효성분으로 포함하는, 인 비트로(In vitro)에서, 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출 억제용 시약 조성물을 제공한다.

[0055] 상기 조릿대 추출물은 50% 내지 90%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있고, 보다 바람직하게는 70%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있다.

[0056] 또한, 상기 분획은 상기 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 또는 부탄올 분획물일 수 있고, 보다 바람직하게는 에틸 아세테이트 분획물일 수 있는 바, 특히 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 분획물의 베타-헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출 억제 효과가 우수하였으므로, 이를 시약 조성물로 활용할 수 있다.

[0057] 상기 조릿대 추출물 또는 이의 분획은 전체 시약 조성물 100 중량부에 대하여 0.1 중량부 내지 100 중량부로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0059] 더불어, 본 발명은 사람을 제외한 동물에서, 조릿대 추출물 또는 이의 분획을 처리하는 단계를 포함하는 베타-

헥소사미니다아제, TNF-α 또는 IL-4 중 어느 하나 이상의 방출을 억제하는 방법을 제공한다.

[0060] 상기 조릿대 추출물은 50% 내지 90%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있고, 보다 바람직하게는 70%의 에탄올 수용액으로 추출된 것일 수 있다.

[0061] 또한, 상기 분획은 상기 조릿대 추출물의 에틸 아세테이트 또는 부탄올 분획물일 수 있고, 보다 바람직하게는 에틸 아세테이트 분획물일 수 있다.

[0063] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이며 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐이므로 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0065] **<실시예 1> 조릿대 추출물의 제조 및 분획**

[0066] 건조 상태의 조릿대를 세절하여 70% 주정으로 추출하였다. 추출한 시료는 부직포로 여과한 후 고속 추출 농축기를 이용하여 농축한 다음 동결 건조하여 분석용 시료로 사용하였다. 또한, 추출한 시료를 메탄올:물(9:1 비율, v/v)에 혼합시켜 감압 농축하여 메탄올을 제거한 후, 물에 현탁하였다. 현탁된 용액에 에틸 아세테이트(ethyl acetate ; AcOAc), 부탄올(butanol ; BuOH), 증류수(water)의 순으로 용매 분획을 수행하였고, 이렇게 얻어진 용매 분획액들을 감압 농축하여 최종적으로 에틸 아세테이트 분획물, 부탄올 분획물, 물 분획물을 얻었다.

[0068] **<실시예 2> 조릿대 추출물과 분획물에 대한 항알러지 효과 확인**

[0069] **1. 실험 방법**

[0070] **1) 세포 배양 및 면역 유도**

[0071] 조릿대 추출물과 분획물에 대한 항알러지 효과를 확인하기 위해 항-다이나이트로페놀-IgE(anti-dinitrophenol-IgE ; anti-DNP-IgE)로 감작하고, 다이나이트로페놀-인간 혈청 알부민(dinitrophenol-human serum albumin; DNP-HSA)을 항원을 이용하여 RBL-2H3 대식 세포에 면역 반응을 유도하였다. 랫트 유래 비만세포 주 RBL-2H3 세포는 American Type Culture Collection(ATCC, American)으로부터 분양받았으며, 10% FBS와 1% 항생제(페니실린/스트렙토마이신)를 첨가한 MEM 배지(Welgene, Korea)를 이용하여 5% CO_2가 존재하는 37℃ 인큐베이터에서 2 내지 3회 계대 배양한 후 사용하였다.

[0072] **2) 세포독성 측정 (MTT 어세이)**

[0073] 조릿대 추출물과 분획물에 대한 세포독성을 확인하기 위해 상기에서 준비한 RBL-2H3 세포를 대상으로 MTT 어세이를 수행하였다. 배양된 세포를 24-웰 플레이트에 1×10^5 cell/well로 동일하게 분주하고 37℃, 5% CO_2 조건으로 밤새 배양하였다. 배양 완료된 세포를 PBS를 이용하여 세척한 후, 각 웰에 anti-DNP-IgE (50 ng/ml)를 처리하여 24시간 배양하였고, anti-DNP-IgE로 감작된 세포에 각 조릿대 추출물 및 분획 시료를 농도별(10, 50, 100 ㎍/mL)로 처리하였으며, 1시간 후 DNP-HSA의 최종농도를 100 ng/mL가 되도록 처리하였다. 4시간 반응 후, 상층액을 제거한 웰에 배지에 희석한 MTT 용액(500 ㎍/mL)을 가하였고, 어두운 곳에서 4시간 배양하였다. 이후 상층액을 버리고, DMSO를 가하여 MTT 포르마잔을 용해시킨 뒤, 실온에서 15분간 MTT 포르마잔을 완전히 용해 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0074] **3) 항알러지 효과 측정(β-헥소사미니다아제 방출 어세이[Hexosaminidase release assay], 사이토카인 어세이[cytokine assay])**

[0075] 조릿대 추출물과 조릿대 분획물의 항알러지 효과를 분석하기 위하여, RBL-2H3 비만세포의 탈과립을 유도하여 알러지 바이오마커인 β-헥소사미니다아제의 방출을 확인하였다. 먼저, 24 웰 플레이트에 RBL-2H3 세포를 1×10^5 cell/well로 동일하게 분주하고 37℃, 5% CO_2 조건으로 밤새 배양하였다. 배양된 세포를 PBS를 이용하여 세척한 후, 각 웰에 anti-DNP-IgE(50 ng/ml)를 처리하고 24시간 배양하였다. anti-DNP-IgE로 감작된 세포에 조릿대 추출물 또는 분획 시료를 농도별(10, 50, 100 ㎍/mL)로 처리하였으며, 1시간 후 DNP-HSA의 최종농도를 100 ng/mL가 되도록 37℃에서 4시간 처리하여 탈과립 상태로 만들었다. 이후, 상층액을 취하여 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 다시 25 ul의 상층액을 새로운 96 웰 플레이트에 분주하였다. 그 후 기질 버퍼(시트르산염 버퍼 0.1M ; pH 4.5)에 녹은 p-나이트로페닐-N-아세틸-β-D-글루코사미나이드 10 mM) 50 ㎕를 넣은 후 37℃에서 1시간 반응시켰다. 반응 후 각 웰에 정지액(stop solution ; 0.1 M Na_2CO_3/$NaHCO_3$, pH 10) 100 ㎕를 첨가하여 반

응을 정지시키고, 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0076] 또한, IL-4는 염증반응 및 알러지 반응에서 B-세포와 T-세포의 성장을 자극하여 형질세포로 분화하여 체액성 면역과 후천성 면역을 조절하는 사이토카인으로 알려져 있고, TNF-α는 비만세포와 대식세포 등에서 생성되어 많은 염증반응을 유발하는 인자로 국소적인 알러지 염증반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이에, 탈과립 상태로 유도한 RBL-2H3 세포의 상층액을 분리하여 TNF-α, IL-4 ELISA kit(R&D systems Inc. USA)를 사용하여 ELISA 리더기를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 TNF-α와 IL-4의 양을 계산하였다.

[0078] **2. 실험 결과**

[0079] **1) 조릿대 추출물과 분획물의 세포독성 확인**

[0080] 조릿대 추출물과 분획물의 세포 독성을 측정한 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 조릿대 추출물과 분획물의 모든 농도에서 비만세포에 대한 세포 독성이 없음을 알 수 있었다.

[0081] **2) 조릿대 추출물과 조릿대 분획물에 대한 β-헥소사미니다아제 방출억제 효과**

[0082] Anti-DNP-IgE로 감작하고, DNP-HSA를 항원으로 하여 알러지가 유도된 RBL-2H3 비만세포에서 조릿대 추출물과 분획물의 β-헥소사미니다아제 방출량을 측정한 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, DNP-HSA에 면역 유도된 비만세포군 대비, 50 μg/ml 농도에서 조릿대 추출물 처리군은 47.76±2.97%의 방출량을 나타내었으며, EtOAc 분획물 처리군에서는 0.65±1.71%, BuOH 분획물 처리군에서는 42.94±2.14%의 방출량을 확인할 수 있었다.

[0083] 즉, 조릿대 추출물을 처리한 군에서 β-헥소사미니다아제 방출이 농도 의존적으로 감소함을 확인할 수 있었으며, 조릿대 분획물 중 EtOAc 분획물과 BuOH 분획물에서도 농도 의존적으로 β-헥소사미니다아제 방출을 억제함을 확인할 수 있었다. 그러나 수(water)층에서는 β-헥소사미니다아제 방출억제 효과를 확인할 수 없었다.

[0084] 따라서 조릿대 추출물과 특정 분획물이 β-헥소사미니다아제 방출을 억제함으로써 항알러지 활성을 나타냄을 확인하였다.

[0085] **3) 조릿대 추출물과 조릿대 분획물에 대한 사이토카인 방출억제 효과**

[0086] 조릿대 추출물 및 분획물의 IL-4 방출 억제 효과를 확인한 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 알러지를 유도하지 않은 RBL-2H3 세포에서는 IL-4의 방출량이 1.10±4.49 pg/ml로 확인되었고, 알러지를 유도한 RBL-2H3 세포에서는 166.44 ±13.10 pg/ml로 확인되었다. 반면, 알러지를 유도한 RBL-2H3 세포에 조릿대 추출물을 50 μg/ml을 처리하였을 때, 77.69±9.39 pg/ml로 나타났고, EtOAc 분획물 처리군에서는 5.56±10.27 pg/ml, BuOH 분획물 처리군에서는 74.84±10.90 pg/ml의 방출량을 확인할 수 있었다. 즉, 조릿대 추출물은 53.32% EtOAc 분획물은 96.65%, BuOH 분획물은 55.03%의 방출억제를 나타냄을 확인하였다.

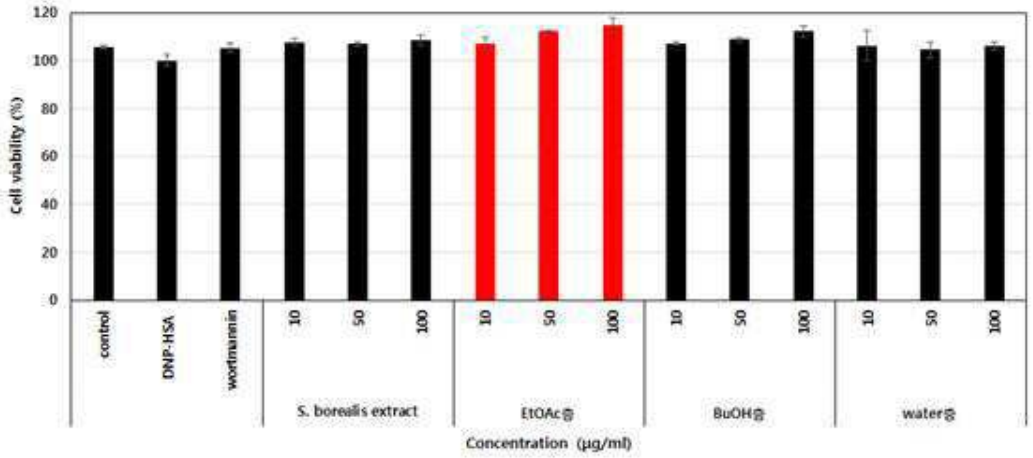
[0087] 또한, 도 4에 나타난 바와 같이, 아무 유도가 되지 않은 RBL-2H3 세포의 경우 TNF-α 방출량이 0.82±1.92 pg/ml으로 나타났으며, 알러지 유도된 RBL-2H3 세포에서는 26.45 pg/ml으로 나타났다. 반면, 50 μg/ml 농도에서 조릿대 추출물 처리군은 15.53±1.68 pg/ml의 방출량을 나타내었으며, EtOAc 분획물 처리군에서는 11.15±0.64 pg/ml, BuOH 분획물 처리군에서는 21.75±0.69 pg/ml의 방출량을 확인할 수 있었고, 농도 의존적으로 TNF-α의 방출량이 감소함을 확인할 수 있었다.

[0088] 따라서, 조릿대 추출물 및 분획물 중 EtOAc 분획물의 항알러지 효과가 가장 우수함을 확인할 수 있었다.

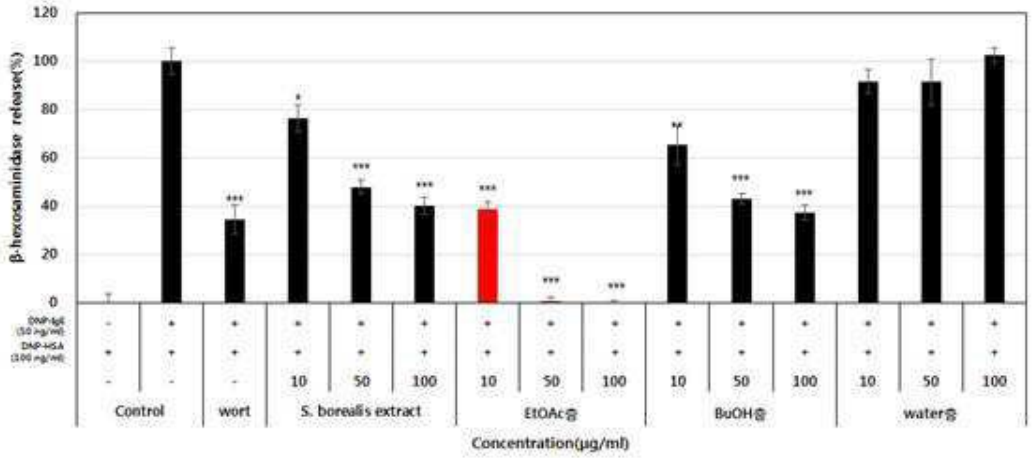
[0090] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

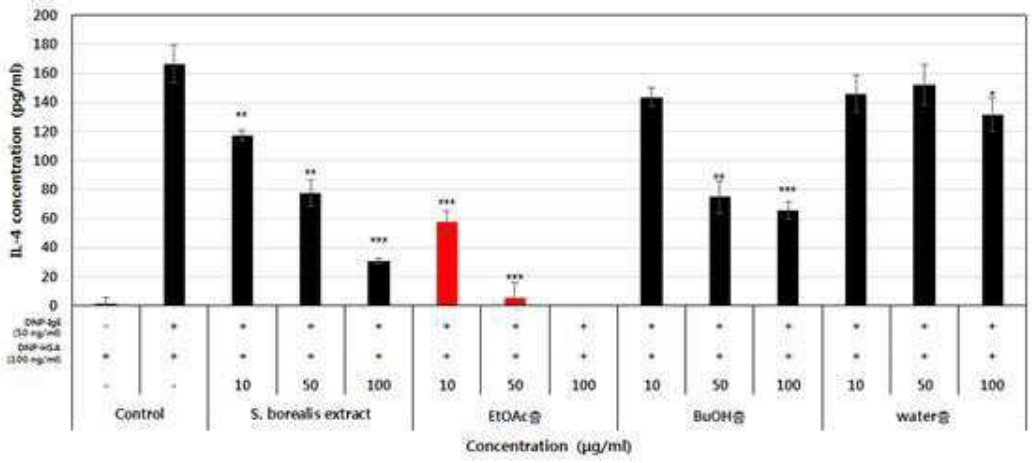
도면1



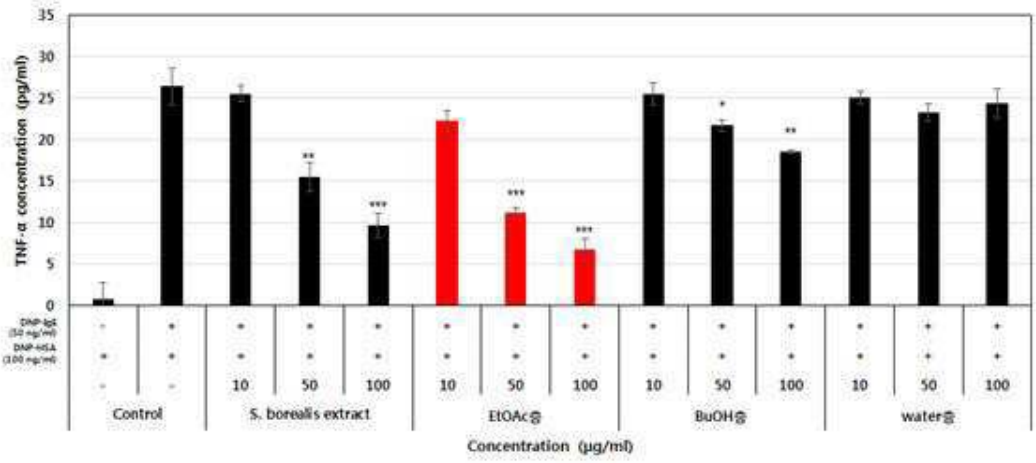
도면2



도면3



도면4


TNF-α concentration (pg/ml)
35
30
25
20
15
10
5
0
10
50
100
Control
S. borealis extract
EtOAc층
BuOH층
water층
Concentration (μg/ml)