(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0073423
(43) 공개일자 2023년05월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) *A23K 10/30* (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61K 36/66* (2006.01)
A61P 29/00 (2023.01) *A61P 3/10* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 39/06* (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A23K 10/30 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2021-0159667
(22) 출원일자 2021년11월18일
심사청구일자 2021년11월18일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
이석근
서울특별시 동대문구 경희대로 26 경희대학교
하인진
서울특별시 동대문구 경희대로 23 경희의료원
김하일
서울특별시 동대문구 경희대로 26 경희대학교
(74) 대리인
김순웅

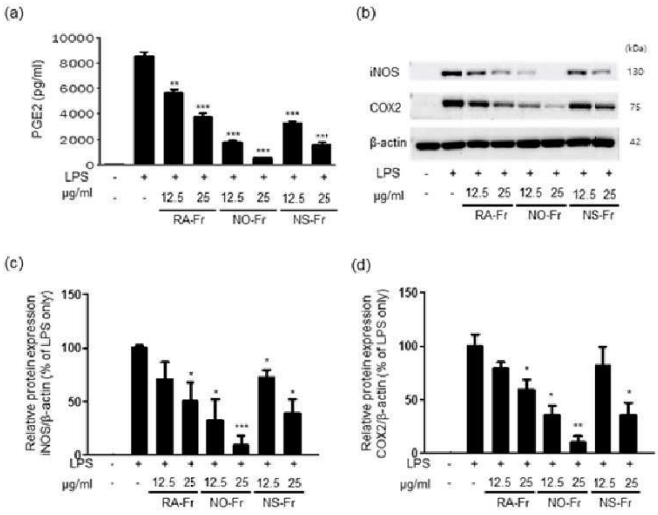
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **양귀비속 식물의 추출물을 포함하는 항산화 및 항염증용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 양귀비속 식물의 추출물을 포함하는 항산화 및 항염증용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 양귀비속 식물의 추출물을 포함하는 화장료, 식품, 약학적 조성물, 사료 및 의약외품 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 양귀비속 식물의 추출물 및 이의 분획물은 세포 독성은 낮으면서도 현저한 활성산소종 소거 활성 및 전염증성 사이토카인 발현 억제능이 있음을 확인하였다. 이는 본 발명의 양귀비속 식물의 추출물이 항산화 및 항염증 효과가 우수하다는 것을 의미하는바, 식품 및 의약 등의 다양한 분야에서 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 36/66 (2013.01)
A61P 29/00 (2023.02)
A61P 3/10 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 39/06 (2018.01)
A61P 9/00 (2018.01)
A61P 9/10 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345297708
과제번호	2018R1D1A1B07047610
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(교육부)(R&D)
연구과제명	관상용양귀비의 항염증 의약소재 발굴을 위한 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희의료원
연구기간	2018.06.01 ~ 2020.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 추출된 추출물인, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 분획물은 개양귀비 추출물 또는 꽃양귀비 추출물을 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 분획한 것인, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 꽃양귀비는 꽃이 흰색(White), 주황색(Orange), 노란색(Yellow), 다홍색(Scarlet) 또는 분홍색(Pink)인, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 개양귀비는 꽃이 빨간색(Red)인, 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 개양귀비 및 꽃양귀비는 줄기, 잎, 뿌리 및 지상부로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 부위인, 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 추출물 및 이의 분획물은 산화질소 및 활성산소종의 생성을 억제하는 것인, 조성물.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 항산화는 Nrf2 의존적 항산화효소의 발현 증가 또는 Nrf2 비의존적 항산화효소의 발현 증가에 의한 것인, 조성물.

청구항 9

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 화장료 조성물.

청구항 10

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 식품 조성물.

청구항 11

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 식품 조성물.

청구항 12

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 산화 스트레스에 의한 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 산화 스트레스에 의한 질환은 노인성 심장질환, 암, 당뇨병, 뇌혈관 질환 및 동맥경화증으로 이루어진 군에서 선택된 1 이상인, 조성물.

청구항 14

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 염증성 질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 백내장, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 폐혈증, 위궤양, 위염, 크론병, 치질, 강직성 척추염, 루푸스, 섬유근통, 건선, 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 견관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 다발성 경화증, 당뇨병, 피부경화증, 통풍, 퇴행성 신경질환, 규폐증, 죽상동맥경화증 및 허혈으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 조성물.

청구항 16

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 사료 조성물.

청구항 17

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 사료 조성물.

청구항 18

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 의약외품 조성물.

청구항 19

개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 의약외품 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 양귀비속 식물의 추출물을 포함하는 항산화 및 항염증용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 양귀비속 식물의 추출물을 포함하는 화장료, 식품, 약학적 조성물, 사료 및 의약외품 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 염증반응은 외부 유해물질이 체내로 유입될 때 면역세포가 다양한 염증 매개체를 분비하여 신체를 보호하는 기전이다. 이 유익한 반응이 통제되지 않은 방식으로 발생하면 결과적으로 과도한 세포/조직 손상이 발생하여 만성 염증과 정상 조직 파괴를 초래한다. 만성 염증에서 전염증 매개체의 과잉 생산은 관절염, 죽상 동맥 경화증, 천식, 알츠하이머 병, 암 등과 같은 만성 퇴행성 질환의 발병과 관련이 있다. 염증이 발생하는 동안, 주로 대식세포는 interleukin (IL)-1β, IL-6, tumor necrosis factor (TNF)-α, reactive oxygen species (ROS),

nitric oxide (NO), and Prostaglandin E2 (PGE2)를 포함한 전염증 매개체의 생성을 촉진한다.

[0003] 염증의 또 다른 중요한 구성 요소는 활성산소종(ROS)의 불균형을 반영하는 산화 스트레스이며, 과염증 반응은 산화 손상으로부터 조직을 보호하는 항산화 효소의 생성을 감소시킨다. 특히, heme oxygenase-1(HO-1), glutamate-cysteine ligasecatalytic(GCLC), NAD(P)H Quinone Oxidoreductase 1(NQO1)과 같은 2상 해독 효소 및 세포 보호 유전자의 유도가 매개된다. nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2)에 의해 염증 및 산화 손상으로부터 세포를 보호하는 데 중심적인 역할을 한다. 따라서 다양한 질병의 예방 및 치료를 위해서는 대식세포의 활성화를 조절할 수 있는 항염증제 및 항산화제의 개발이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 이에 본 발명자들은 양귀비속 식물의 추출물 및 이의 분획물을 개발하고, 추출물 및 분획물의 우수한 항염증 및 항산화 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0005] 따라서 본 발명의 목적은, 개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은, 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 화장료 조성물을 제공한다.

[0008] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 화장료 조성물을 제공한다.

[0009] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 식품 조성물을 제공한다.

[0010] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 식품 조성물을 제공한다.

[0011] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 산화 스트레스에 의한 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0012] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0013] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 사료 조성물을 제공한다.

[0014] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 사료 조성물을 제공한다.

[0015] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 의약외품 조성물을 제공한다.

[0016] 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항염증용 의약외품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명에 따른 양귀비속 식물의 추출물 및 이의 분획물은 세포 독성은 낮으면서도 현저한 활성산소종 소거 활성 및 전염증성 사이토카인 발현 억제능이 있음을 확인하였다. 이는 본 발명의 양귀비속 식물의 추출물이 항산화 및 항염증 효과가 우수하다는 것을 의미하는바, 식품 및 의약 등의 다양한 분야에서 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1a는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물; 및 이의 에틸아세테이트 분획물;의 세포독성을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 1b는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물; 및 이의 에틸아세테이트 분획물;의 산화질소 생성 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 2a는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 PGE2의 발현을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 2b 및 c는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 iNOS의 발현을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 2b 및 d는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 COX2의 발현을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 전염증 사이토카인 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 mRNA 발현 수준을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 4a 및 c는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 STAT3의 발현 및 인산화 여부를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 4b 및 d는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 IκBα 및 p65의 발현 및 인산화 여부를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 5a는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 DPPH 자유라디칼 소거 활성을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 5b는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 세포 내 활성산소종을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 5c는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 GSH/GSSG 비율을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 6a는 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 Nrf2 신호전달 활성의 주요 타겟 인자인 HO-1, NQO1 및 GCLC의 mRNA 발현을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 6b 및 c는 LPS로 자극된 세포의 세포질 및 핵에서 본 발명에 따른 개양귀비 및 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 처리에 따른 Nrf2의 발현을 조사한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0020] 본 발명의 양태에 따르면, 본 발명은 개양귀비(*Papaver rhoeas*) 또는 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*)의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 화장료 조성물; 및 항염증용 화장료 조성물;을 제공한다.

[0021] 본 발명에 있어서, 양귀비속(*Papaver*)은 유라시아, 아프리카 및 북미의 온대 및 한랭 지역에 서식하는 서리 내성 1년생, 2년생 및 다년생 식물 70-100종을 포함한다. 상기 양귀비속은 개양귀비(*Papaver rhoeas*), 꽃양귀비(*Papaver nudicaule*), 흰두메양귀비(*Papaver radicatum*), 아편양귀비(*Papaver somniferum*) 등을 포함한다.

[0022] 본 명세서에 기재된 식물의 학명 및 국문명은 생명자원정보서비스(https://www.bris.go.kr/)을 기준으로 기재하였다.

[0023] 본 발명에 있어서, 추출물은 원물을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다.

[0024] 추출방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 다양한 방법이 사용될 수 있으나 이에 제한되지는 않고, 바람직하게는 초음파추출법을 사용하는 것

이다.

[0025] 상기 추출물은 당업계에서 알려진 통상의 방법으로 상온에서 냉침, 가열 및 여과하여 액상물을 얻을 수 있으며, 또는 추가로 용매를 증발, 분무건조 또는 동결건조할 수도 있다. 또한 상기 추출물은 감압 증류 및 동결건조 또는 분무건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수도 있다. 또한 상기 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획으로도 얻을 수 있다.

[0026] 본 발명의 구체예에서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 추출된 추출물인 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 알코올일 수 있고, 더욱 바람직하게는 에탄올일 수 있다.

[0027] 본 발명의 구체예에서, 상기 분획물은 개양귀비 추출물 또는 꽃양귀비 추출물을 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 분획한 것일 수 있고, 바람직하게는 에틸아세테이트로 분획한 것일 수 있다.

[0028] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명의 조성물은 개양귀비 에탄올 추출물 또는 꽃양귀비 에탄올 추출물을 에틸아세테이트로 분획한 것이 가장 바람직하다.

[0029] 본 발명의 구체예에서, 상기 꽃양귀비는 꽃이 흰색(White), 주황색(Orange), 노란색(Yellow), 다홍색(Scarlet) 또는 분홍색(Pink)일 수 있고, 바람직하게는 꽃양귀비의 꽃이 주황색 또는 다홍색일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0030] 본 발명의 구체예에서, 상기 개양귀비는 꽃이 빨간색(Red)인 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0031] 본 발명의 실시예에서, 다양한 색의 꽃을 가진 꽃양귀비 및 개양귀비 분획물의 항산화 및 항염증 효능을 평가하기 위한 실험을 수행한 결과, 오렌지색 및 다홍색 꽃을 가진 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물(NO-Fr, NS-Fr);이 다른 꽃색을 가지는 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물(NW-Fr, NP-Fr, NY-Fr);에 비해 우수한 것을 확인하였으며, 빨간색 꽃을 가진 개양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물(RA-Fr);도 효능이 우수한 것을 확인하였다.

[0032] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 상기 분획물은 오렌지색 및 다홍색 꽃을 가진 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물; 또는 빨간색 꽃을 가진 개양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물;일 수 있다.

[0033] 본 발명의 구체예에서, 상기 개양귀비 및 꽃양귀비는 줄기, 잎, 뿌리 및 지상부로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 부위일 수 있고, 바람직하게는 지상부이나, 이에 제한되지 않는다.

[0034] 상기 개양귀비 및 꽃양귀비는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있고, 세척하여 그대로 사용하거나 건조하여 사용할 수 있으며, 건조방법으로는 양건, 음건, 열풍건조, 자연 건조하는 방법 등을 모두 사용할 수 있다.

[0035] 본 발명의 구체예에서, 상기 추출물 및 이의 분획물은 산화질소 및 활성산소종의 생성을 억제하는 것일 수 있다. 본 발명자들은 상기 분획물이 LPS에 의해 증가된 산화질소 생성을 억제하고, 세포 내 활성산소종을 용량의존적으로 유의하게 감소시키는 것을 실험적으로 확인하였다.

[0036] 본 발명의 구체예에서, 상기 항산화는 Nrf2 의존적 항산화효소의 발현 증가 또는 Nrf2 비의존적 항산화효소의 발현 증가에 의한 것일 수 있다. 다시 말해, 상기 항산화는 Nrf2 매개 유도를 통한 항산화효소(HO-1, NQO1, GCLC)의 발현 증가 또는 Nrf2 매개를 통하지 않는 NQO1의 발현 증가에 의한 것일 수 있다. 더 바람직하게는, 오렌지색 및 다홍색 꽃을 가진 꽃양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물(NO-Fr, NS-Fr)의 항산화 효능은 핵 내 Nrf2 매개 유도를 통한 HO-1, NQO1, GCLC)의 발현 증가에 의한 것이고, 빨간색 꽃을 가진 개양귀비 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물(RA-Fr)의 항산화 효능은 Nrf2 매개를 통하지 않는 NQO1의 발현 증가에 의한 것일 수 있다.

[0037] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 유효성분 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 향료 등과 같은 통상적인 보조제 및 담체가 더 포함될 수 있다. 예를 들어, 상기 화장

료 조성물에는 글리세린, 부틸렌 글라이콜, 폴리옥시에칠렌 경화피마자유, 토코페릴 아세테이트, 시트릭산, 판테놀, 스쿠알란, 소듐 시트레이트, 알란토인 등의 보조성분이 추가로 더 포함될 수 있다.

[0038] 본 발명의 화장료 조성물은 기본적으로 피부에 도포되는 것이므로, 당업계의 화장료 조성물을 참조하여 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있다. 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 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, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 마스크팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0039] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 등이 포함될 수 있다.

[0040] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트, 폴리아미드 파우더 등이 포함될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄, 디메틸 에테르 등의 추진체를 포함할 수 있다.

[0041] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로 용매, 용해화제, 유탁화제 등이 포함될 수 있고, 구체적으로 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 포함될 수 있다.

[0042] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로 물, 에탄올, 프로필렌글리콜 등의 액상 희석제; 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르 등의 현탁제; 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가, 트라칸트 등이 포함될 수 있다.

[0043] 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, 식물성유, 라놀린유도체, 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 포함될 수 있다.

[0045] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 식품 조성물; 및 항염증용 식품 조성물;을 제공한다.

[0046] 본 발명의 추출물 또는 이의 분획물은 건강기능식품, 식품 첨가제 또는 식이보조제로 사용될 수 있다.

[0047] 상기 추출물 또는 이의 분획물이 식품 첨가제로 사용할 경우, 상기 혼합물을 그대로 첨가하거나, 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 혼합하여 사용되는 등 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0048] 또한 상기 추출물 또는 이의 분획물의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 변경될 수 있음은 물론이며, 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 95중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1 내지 80중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.01중량% 미만일 경우에는 항산화 또는 항염증 효과가 미미할 수 있으며, 95중량%를 초과할 경우 사용량 대비 효과 상승률이 낮아 비경제적일 수 있다.

[0049] 구체적인 예로, 식품 또는 음료의 제조 시에는 본 발명의 추출물 또는 이의 분획물은 원료에 대하여 15중량% 이하, 바람직하게는 10중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하여 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 양으로 첨가될 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0050] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없으나, 본 발명의 추출물 또는 이의 분획물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료, 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0051] 본 발명의 식품 조성물이 음료로 제조될 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등의 추가 성분을 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물로는 포도당, 과당 등의 모노사카라이드; 말토오스, 수크로오

스 등의 디사카라이드; 덱스트린, 사이클로덱스트린 등의 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐 등의 합성 감미제 등이 사용될 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 10중량%, 바람직하게는 0.01 내지 0.1중량%로 포함된다.

[0052] 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있으며, 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기의 첨가제 비율은 크게 제한되지는 않으나, 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 0.1중량% 범위내로 포함되는 것이 바람직하다.

[0053] 건강 및 위생을 목적으로 하거나 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취인 경우, 본 발명의 식품 조성물은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 장기간 복용이 가능하다.

[0055] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 산화 스트레스에 의한 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0056] 본 발명의 구체예에서, 상기 산화 스트레스에 의한 질환은 노인성 심장질환, 암, 당뇨병, 뇌혈관 질환 및 동맥경화증으로 이루어진 군에서 선택된 1 이상일 수 있고, 특히 당뇨병에서 혈관 합병증의 발생 및 노화관련 질병에 산화적 스트레스가 중요한 요인이라고 인식되고 있다.

[0057] 본 발명의 구체예에서, 상기 염증성 질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 백내장, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 폐혈증, 위궤양, 위염, 크론병, 치질, 강직성 척추염, 루푸스, 섬유근통, 건선, 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 견관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 다발성 경화증, 당뇨병, 피부경화증, 통풍, 퇴행성 신경질환, 규폐증, 죽상동맥경화증 및 허혈으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0058] 본 발명의 산화적 스트레스 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 다만, 본 발명의 조성물은 피부외용제의 형태로 제공되는 것이 가장 바람직할 수 있다. 구체적으로, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 겔제 또는 에어로졸제 등의 형태로 사용될 수 있다.

[0059] 또한 각각의 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경구제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 제형을 가질 수 있다. 예컨대, 해당 부위에 국부적으로 사용되는 피부외용제인 경우에는 통상적인 첨가제, 예를 들어 보존제, 의약 침투를 보조하는 용매, 연고 및 크림의 경우 연화제 등을 포함할 수 있으며, 에탄올 또는 올레일 알코올과 같은 통상적 담체를 함유할 수 있다. 해당 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 최근, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 것을 사용하는 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0060] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유 등이 있다. 상기 약학 조성물을 제제화나 제형화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로오스(sucrose), 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제,

좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 상기 성분들은 유효성분, 즉 상기기 추출물 또는 이의 분획물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.

[0061] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 본 발명의 약학 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0062] 본 발명의 약학적 조성물은 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 임상에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양, 즉 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양인 치료상 유효량으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자 등에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 예를 들어, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 구강, 심장내, 골수내, 경막내, 경피, 장관, 피하, 설하 또는 국소 투여할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0063] 본 발명의 약학 조성물은 1 내지 10,000㎎/kg/일, 바람직하게는 1 내지 200㎎/kg/일의 양으로 투여할 수 있으며, 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회에 나누어 투여할 수도 있다.

[0065] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 사료 조성물; 또는 항염증용 사료 조성물;을 제공한다.

[0066] 본 발명에 있어서, 사료는 동물이 먹는 임의의 천연 또는 인공 구정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미하며, 본 발명에 따른 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 사료는 당업계에 공지된 다양한 형태의 사료로 제조가능하며, 바람직하게는 농후 사료, 조사료 및/또는 특수사료가 포함될 수 있으나, 이로 제한되는 것은 아니다.

[0067] 본 발명에 있어서, 사료첨가용 조성물은 사료첨가제를 의미할 수 있으며, 이는 동물에 있어 질병 증상의 완화, 영양소 보충 및 체중감소 예방, 사료 내 섬유소의 소화 이용성 증진, 유질개선, 번식장애 예방 및 수태율 향상, 하절기 고온 스트레스 예방 등 다양한 효과를 목적으로 사료에 첨가하는 물질을 포함한다.

[0068] 본 발명의 사료첨가용 조성물은 사료관리법상의 보조사료에 해당하며, 탄산수소나트륨, 벤토나이트(bentonite), 산화마그네슘, 복합광물질 등의 광물질제제, 아연, 구리, 코발트, 셀레늄 등의 미량 광물질인 미네랄제제, 케로틴, 비타민 A D, E, 니코틴산, 비타민 B 복합체 등의 비타민제, 메티오닌, 라이신 등의 보호아미노산제, 지방산 칼슘염 등의 보호지방산제, 생균제(유산균제), 효모배양물, 곰팡이 발효물 등의 생균, 효모제 등이 추가로 포함될 수 있다.

[0069] 상기 사료 중 농후사료로는 밀, 귀리, 옥수수 등의 곡류를 포함하는 종자열매류, 곡물을 정제하고 얻는 부산물로서 쌀겨, 밀기울, 보릿겨 등을 포함하는 겨류, 콩, 유체, 깨, 아마인, 코코야자 등을 채유하고 얻는 부산물인 깻묵류와 고구마, 감자 등에서 녹말을 뺀 나머지인 녹말찌꺼기의 주성분인 잔존녹말질류 등의 찌꺼기류, 어분, 물고기찌꺼기, 어류에서 얻은 신선한 액상물을 농축시킨 것인 피시솔루블(fish soluble), 육분, 혈분, 우모분, 탈지분유, 우유에서 치즈, 탈지유에서 카제인을 제조할 때의 잔액인 훼이(whey)를 건조한 건조훼이 등의 동물질사료, 효모, 클로렐라, 해조류가 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0070] 상기 사료 중 조사료로는 야초, 목초, 풋베기 등의 생초사료, 사료용 순무, 사료용 비트, 순무의 일종인 루터베어거 등 의 뿌리채소류, 생초, 풋베기작물, 곡실 등을 사일로에 채워 놓고 젖산발효시킨 저장사료인 사일리지(silage), 야초, 목초를 베어 건조시킨 건초, 종축용 작물의 짚, 콩과 식물의 나뭇잎이 있으며, 이에 제한되지 않는다. 특수사료에는 굴껍데기, 암염 등의 미네랄 사료, 요소나 그 유도체인 디우레이드이소부탄 등의 요소사료, 천연사료원료만을 배합했을 때 부족하기 쉬운 성분을 보충하거나, 사료의 저장성을 높이기 위해서 배합사료에 미량으로 첨가하는 물질인 사료첨가물, 식이보조제가 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0071] 본 발명에 따른 상기 사료첨가용 조성물은 당업계에 공지된 다양한 사료 제조방법에 따라 적절한 유효 농도 범위에서 ppGpp(Guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate) 결손 변이체 장관병원성대장균(enteropathogenic E.

coli, EPEC), 이의 파쇄물 및 상기 균주 배양물로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상을 첨가하여 제조 가능하다.

[0072] 본 발명에 따른 사료 첨가제는 면역 증강을 목적으로 하는 개체이면 제한없이 적용가능하다. 예를 들면, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등과 같은 비인간 동물, 조류 및 어류 등 어느 개체에도 적용이 가능하다.

[0074] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 또한 본 발명은 개양귀비 또는 꽃양귀비의 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 항산화용 의약외품 조성물; 및 항염증용 의약외품 조성물;을 제공한다.

[0076] 본 발명에 있어서, 의약외품은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 작용이 경미한 물품들을 의미하는 것으로, 예를 들어 약사법에 따르면 의약외품이란 의약품의 용도로 사용되는 물품을 제외한 것으로, 사람 및 동물의 질병 치료나 예방에 쓰이는 섬유 제품, 고무 제품, 인체에 대한 작용이 경미하거나 직접 작용하지 않으며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것, 감염병을 막기 위한 살균제 및 살충제 등이 이에 포함된다.

[0077] 본 발명의 의약외품 조성물의 종류나 제형은 특별히 제한되지 아니하나, 바람직하게는 소독 청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제 비누, 핸드 워시, 가습기 충진제, 마스크, 연고제 또는 필터 충진제 등일 수 있다.

[0078] 본 발명의 조성물을 항산화 및 항염증 용도로 의약외품에 포함시킬 경우, 상기 조성물을 그대로 포함하여 사용하거나 다른 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정할 수 있으며, 본 발명에 의한 의약외품 조성물은 상기 추출물 및 이의 분획물을 조성물 총 중량에 대하여 0.01~20 중량%로 함유할 수 있다.

[0080] 중복되는 내용은 본 명세서의 복잡성을 고려하여 생략하며, 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.

[0082] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0084] **[실험예]**

[0085] **실험예 1. 식물 및 샘플 추출**

[0086] 개양귀비(*Papaver rhoeas* L.) 및 꽃양귀비(*Papaver nudicaule* L.)의 기단부는 농촌진흥청 한국농업과학원에서 채취하였다. 꽃색이 다른 5가지 개양귀비(주황색, 보라색, 주홍색, 흰색, 노란색) 및 꽃양귀비를 즉시 액체 질소에서 동결하고 -70° C의 냉동고에 보관하였다. 동결건조된 개양귀비 및 꽃양귀비를 각각 분쇄하여 분말을 제조하였다. 각 샘플 10g을 에탄올 5mL에서 30분 동안 초음파 처리하였다. 상층액을 0.2㎛ 폴리테트라플루오로에틸렌 주사기 필터를 통해 여과하고 SAVANT SPD2010 SpeedVac™ 농축기(Thermo Scientific, Asheville, NC, USA)를 사용하여 건조시켰다. 에탄올 추출물을 증류수에 현탁시키고, 각각 n-헥산 및 에틸아세테이트(EtOAc)로 극성 분획하였다.

[0087] 추출에 이용한 식물 및 샘플별 약어는 표 1에 나타내었다.

표 1

[0088]

종	꽃색	에탄올 추출물의 약어	에탄올 추출물의 분획물의 약어
꽃양귀비 (*Papaver nudicaule*)	White	NW	NW-Fr

꽃양귀비 (*Papaver nudicaule*)	Orange	NO	NO-Fr
꽃양귀비 (*Papaver nudicaule*)	Yellow	NY	NY-Fr
꽃양귀비 (*Papaver nudicaule*)	Scarlet	NS	NS_Fr
꽃양귀비 (*Papaver nudicaule*)	Pink	NP	NP-Fr
개양귀비 (*Papaver rhoeas*)	Red	RA	RA-Fr

[0090] **실험예 2. 세포 배양 및 시약**

[0091] 마우스 대식세포인 RAW264.7 세포는 37° C에서 5% CO_2가 포함된 가습 배양기에서 10% FBS와 1% 항생제/항진균제가 포함된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에서 유지하였다. 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)- and 5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT) 및 LPS(대장균 혈청형 0111: B4)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 산화질소 검출 키트는 iNtRON Biotechnology(대한민국 성남)에서 구입하였다.

[0093] **실험예 3. 세포 생존율 분석**

[0094] 세포 생존율은 MTT 분석으로 측정하였다. 구체적으로, 세포(1×10^4 세포/웰)를 96-웰 플레이트에 접종하고 밤새도록 배양하였다. 세포를 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOH 추출물 또는 EtOAc 분획물을 24시간 동안 처리한 다음, 20㎕의 2mg/ml MTT 용액을 각 웰에 첨가하였다. 세포를 37° C에서 3시간 동안 배양하였다. 포마잔 결정을 DMSO로 녹이고 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices, California, USA)를 사용하여 570 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 데이터는 최소 3회의 독립적인 실험에서 3중으로 평균 ± 표준 오차(SEM)로 표시하였다.

[0096] **실험예 4. 산화질소 분석**

[0097] 배양 상층액의 아질산염의 농도는 Griess 시약을 사용하여 분석하였다. RAW264.7 세포(5×10^5 세포/웰)를 6웰 플레이트에 접종하고 밤새도록 배양하였다. 세포는 24시간 동안 LPS(5ng/ml) 처리하기 1시간 전에 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOH 추출물 또는 EtOAc 분획을 전처리하였다. 그 후, 배양 상등액을 Griess 시약과 혼합하고 실온에서 10시간 동안 배양하였다. 배양 후 마이크로 플레이트 리더를 사용하여, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 데이터는 최소 3번의 독립적인 실험에서 평균 ± SEM으로 표시하였다.

[0099] **실험예 5. DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 분석**

[0100] 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOAc 분획물의 자유 라디칼 소거 활성을 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 분석으로 평가하였다. 구체적으로, 10㎛M DPPH(Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 150㎕를 연속 희석 샘플 200㎕ 및 양성 대조군(아스코르브산)에 첨가하였다. 그 다음 혼합물을 실온 조건인 암실에서 15분 동안 반응시켰다. 마이크로플레이트 리더를 사용하여 각 샘플 용액의 흡광도(515nm)를 측정하였다. 데이터는 최소 3회 이상의 독립적인 실험에서 평균 ± SEM으로 표시하였다.

[0102] **실험예 6. 글루타티온/글루타티온 이황화물 비율**

[0103] 글루타티온/글루타티온 이황화물(GSH/GSSG) 비율은 GSH/GSSG-Glo™ 분석(Promega, Southampton, UK)을 통해 확인하였다. 세포를 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOAc 분획으로 1시간 동안 전처리한 후, LPS(5ng/ml)를 처리하였다. 그 후, 배지를 버리고 전체 글루타티온 용해 시약 또는 산화된 글루타티온 용해 시약으로 교체하고 세포를 5분 동안 교반하였다. 루시페린 생성 시약을 첨가하기 전, 두 플레이트를 실온에서 30분 동안 유지하였다. 루시페린

검출 시약을 첨가하고 15분 동안 반응시킨 후 발광성을 측정하였다(integration time = 0.3s). GSH/GSSG 비율은 다음과 같이 계산하였다.

[0104] GSH/GSSG 비율 = (총 글루타티온 처리량(μM) - (GSSG 처리량(μM) × 2)) / GSSG 처리량(μM)

[0106] **실험예 7. 세포 내 활성산소종 분석**

[0107] 세포 내 ROS 생성은 2',7'-Dichlorofluorescin diac-etate(DCF-DA)를 사용하여 측정하였다. 상기 기질 DCF-DA는 세포를 자유롭게 투과하며, 결합 시 형광성 DCF로 산화된다. 구체적으로, 세포를 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOAc 분획을 처리한 후 1시간 동안 전배양하였다. 전배양 후 LPS(5μg/ml)를 처리하여 18시간 동안 배양하였다. 그 후, 세포를 20μM DCF-DA(Sigma-Aldrich, #D6883 St. Louis, MO, U.S.A.)로 37°C 암실에서 30분 동안 염색하였다. 세포를 수집하고 PBS로 2회 세척한 후 유세포 분석기(BD Biosciences, San Jose, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 본 실험의 대조군은 LPS 처리 전 Ascorbic acid(100μM)을 처리하여 1시간 동안 전배양하였다.

[0109] **실험예 8. Real-time quantitative PCR**

[0110] RAW264.7 세포(5×10^5 세포/웰)를 6-웰 플레이트에 시딩한 후 밤새도록 배양하였다. LPS(5 또는 10ng/ml) 처리하기 1시간 전, 세포를 개양귀비 또는 꽃양귀비의 EtOAc 분획을 4 또는 8시간 동안 전처리하였다. 총 RNA는 TRI Reagent solution (Ambion, Waltham, MA, USA)을 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 분리하였다. 분리된 총 RNA(1 μg)를 cDNA로 역전사하였다. 상기 cDNA 역전사는 PrimeScript first-strand cDNA 합성 키트(Takara Korea Biomedical Inc., Seoul, Republic of Korea)를 사용하였고, 제조사의 매뉴얼에 따라 수행하였다. 각 cDNA의 증폭은 StepOnePlus instrument(Waltham, Massachusetts, USA)에서 Sensi FAST SYBR No-ROX 키트(Bioline, Taunton, MA, USA)를 사용하여 모니터링하였다. 상기 Real-time quantitative PCR에 사용된 프라이머는 다음과 같다.

[0111] - HO-1(정방향: 5'-AAGCCGAGAATGCTGAGTTCA-3' 및 역방향: 5'-GCCGTGTAGATATGGTACAAGGA-3')

[0112] - GCLC(정방향: 5'-GTCCTCAGGTGACATTCCAAGC-3' 및 역방향: 5'- TGTTCTTCAGGGGCTCCAGTC-3')

[0113] - NQO1(정방향: 5'-GGCAGAAGAGCACTGATCGTA-3' 및 역방향: 5'-TGATGGGATTGAAGTTCATGGC-3')

[0114] - IL-6(정방향: 5'-CCACGGCCTTCCCTTTACTTC-3' 및 역방향: TCGGCTGAGT 5'-TAGG -3')

[0115] - TNF-α(정방향: 5'-CACCGTCAGCCGATTTGC-3', 역방향: 5'-TTGACGGCAGAGAGGAGGTT-3')

[0116] - IL-1β(정방향: 5'-AGTTGACGGACCCCAAAAGAT-3', 역방향: 5' -GGACAGCCCAGGTCAAAGG-3')

[0117] - GAPDH(정방향: 5'-CAAGGCTGTGGGCAAGGT-3', 역방향: 5'-GGAAGGCCATGCCAGTGA-3')

[0119] **실험예 9. 핵 및 세포질 추출물의 제조**

[0120] RAW264.7 세포를 4° C에서 30분 동안 200μl의 10mM KCl, 0.2mM EDTA, 1.5mM $MgCl_2$, 0.5mM DTT 및 0.2mM PMSF로 용해시켰다. 용해물을 14,000 xg에서 5분 동안 원심분리하였다. 그 후 상층액, 즉 세포질 추출물을 취하였다. 상기 세포질 추출물은 -70℃ 조건으로 저장하였다. 원심분리 후 생성된 펠렛을 혼합액 30μl(차가운 20mM HEPES(pH 7.9), 420mM NaCl, 1.5mM $MgCl_2$, 20%(v/v) 글리세롤, 0.2mM EDTA, 0.5mM DTT 및 0.2mM PMSF)에 재현탁시켰다. 4℃에서 30분간 배양한 후 용해물을 14,000 xg에서 10분간 원심분리하고 상층액(즉, 핵 추출물)을 취하였다. 상기 핵 추출물은 -70℃에서 저장하였다. 세포질 및 핵 추출물의 농도는 BCA 키트(Bio-Rad, Richmond, CA)를 사용하여 결정하였다.

[0122] **실험예 10. 웨스턴 블롯팅 분석**

[0123] 핵 추출물, 세포질 추출물 및 전체 세포 용해물을 제조하고, 웨스턴 블롯팅을 수행하였다. 구체적으로, 세포(3

× 10^6 세포)를 100 mm 접시에 시딩하고 밤새도록 배양하였다. 세포를 개양귀비 또는 꽃양귀비의 EtOAc 분획물과 함께 1시간 동안 전배양한 후, LPS(5ng/ml)를 처리하여 30분 내지 24시간 동안 배양하였다. Nrf2, Lamin B, Cyclooxygenase(COX) 2, inducible NO synthase(iNOS), NF-κB p65, phospho-p65, IκBα, phospho-IκBα, STAT3 및 phospho-STAT3에 대한 1차 항체는 Cell Signaling Technology(Danvers, MA, USA)에서 구입하였다. 또한 β-액틴에 대한 1차 항체는 Sigma-Aldrich 사에서 구입하였다. 2차 항체인 HRP 결합 항-마우스 IgG 및 항-토끼(1:5000-1:10000; Jackson Immuno Research Laboratories, Inc., PA, USA)를 웨스턴 블롯팅에 사용하였다. 웨스턴 블롯팅 후 ImageJ 소프트웨어(https://imagej.nih.gov/ij/)를 사용하여 각 단백질 밴드의 밀도를 계산하였다.

[0125] **실험예 11. ELISA 분석**

[0126] PGE2에 대한 ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 키트는 Biochem Inc.(Farmingdale, NY, USA)에서 구입하였다. 배양 상층액에서 PGE2 분비를 측정하기 위해 세포(5 × 10^5 세포/웰)를 6웰 플레이트에서 1 시간 동안 개양귀비 또는 꽃양귀비의 EtOAc 분획과 함께 전배양하였다. 배양 후 LPS(5ng/ml)을 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 상층액을 수집하고 마이크로 플레이트 판독기를 사용하여 PGE2의 농도를 측정하였다. 데이터는 최소 3개의 독립적인 실험에서 평균 ± SEM으로 표시하였다.

[0128] **[실시예]**

[0129] **실시예 1. 세포 독성 확인**

[0130] 개양귀비 및 꽃양귀비의 잠재적 항산화 및 항염증 효과를 조사하기 위해 두 식물의 EtOH 추출물과 EtOAc 분획물을 준비하였다. 준비된 추출물 및 분획물은 상기 표 1과 같다.

[0131] RAW264.7 세포에서 표 1의 추출물 및 분획물을 처리하여 세포 독성을 확인하였으며, EtOH 추출물 및 EtOAc 분획물의 세포 독성을 확인한 결과는 도 1a에 나타내었다.

[0132] 도 1a에 나타낸 바와 같이, EtOAc 분획물은 일반적으로 EtOH 추출물보다 독성이 낮은 것을 확인하였다. 구체적으로, EtOAc 분획물은 25μg/ml(NW-Fr, NP-Fr 및 NO-Fr) 및 50μg/ml(RA-Fr, NS-Fr, NY-Fr)까지 세포독성이 없었지만 EtOH 추출물은 3.125μg/ml(RA), 6.25μg/ml(NW) 및 12.5μg/ml(NP, NS, NY 및 NO)까지 정상이었다. 상기 결과를 바탕으로 각 EtOH 추출물과 EtOAc 분획물의 독성이 없는 농도를 후술되는 실험에 이용하였다.

[0134] **실시예 2. 산화질소 분석**

[0135] RAW264.7 세포에서 표 1의 EtOH 추출물과 EtOAc 분획물의 NO 생성 억제 효과를 확인하였다. NO 생성 억제 활성을 평가한 결과는 도 1b에 나타내었다.

[0136] 도 1b에 나타낸 바와 같이, 개양귀비 및 꽃양귀비의 모든 EtOH 추출물은 LPS-유도된 NO 생성 억제에 미치는 영향이 미미했다. 한편, 개양귀비 및 꽃양귀비의 모든 EtOAc 분획은 LPS-유도된 NO 생성을 용량 의존적으로 억제하는 것을 확인하였다. 또한 꽃양귀비의 모든 품종의 억제 효과는 개양귀비보다 전반적으로 우수하였다.

[0137] 특히, NS-Fr 및 NO-Fr에서 LPS에 의한 NO 생성 억제 효과가 가장 우수하였다. 따라서 꽃양귀비 분획물 중 NO-Fr 및 NS-Fr을 선택하여 개양귀비 분획물(RA-Fr)과 함께 후술되는 실험에 사용하였다.

[0139] **실시예 3. PGE2, COX2 및 iNOS의 발현 확인**

[0140] iNOS는 특정 사이토카인 또는 미생물 산물이 매개하는 NO 생산을 담당하고, NO는 대식세포에서 COX 경로를 통해 프로스타글란딘 생산을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 이에, 본 실시예에서는 RA-Fr, NO-Fr 및 NO-Fr의 RAW264.7 세포에서 LPS에 의한 PGE2, COX2 및 iNOS의 발현을 확인하였다. PGE2의 발현을 확인한 결과는 도 2a에 나타내었고, COX2 및 iNOS의 발현을 확인한 결과는 각각 도 2b, c 및 d에 나타내었다.

[0141] 도 2a에 나타난 바와 같이, EtOAc 분획물은 LPS-유도된 PGE2를 용량 의존적으로 감소시켰다.

[0142] 도 2b, c 및 d에 나타낸 바와 같이, 모든 분획물은 LPS 유도 iNOS 및 COX2의 발현을 억제했다. 특히, NO-Fr은 LPS에 의해 유도된 PGE2, iNOS 및 COX2의 감소 효과가 가장 좋았다.

[0143] 상기 결과는 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOAc 분획물이 항염증제뿐만 아니라 강력한 항산화제일 수 있음을 의미한다.

[0145] **실시예 4. 전염증 사이토카인의 발현 분석**

[0146] 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOAc 분획물의 항염증 효과와 이들의 작용 메커니즘을 추가로 조사하였다. 이를 위해, 전염증 사이토카인 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 mRNA 발현 수준을 분석하였으며, 그 결과는 도 3에 나타내었다.

[0147] 도 3에 나타낸 바와 같이, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr은 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 LPS에 의한 mRNA 발현을 효과적으로 억제시켰다. 상기 결과는 NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr이 전사 수준에서 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 발현을 조절할 수 있음을 의미한다.

[0149] NF-κB와 STAT3는 COX2와 iNOS 뿐만 아니라 염증유발 사이토카인의 발현을 조절하는 전사인자로 알려져 있다. 또한, TNF-α 및 IL-6은 NF-κB 및 STAT3 신호 전달 경로를 활성화시킨다.

[0150] 이에, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr 처리에 따른 STAT3의 인산화 여부를 조사하였으며, 그 결과는 도 4a 및 c에 나타내었다.

[0151] 도 4a 및 c에 나타낸 바와 같이, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr은 STAT3의 LPS 유도 인산화 수준을 억제했지만, STAT3의 발현에는 영향을 미치지 않았다.

[0153] 또한 IκBα 및 p65에 대한 NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr의 효과를 조사하였으며, 그 결과는 도 4b 및 d에 나타내었다.

[0154] 도 4b 및 d에 나타낸 바와 같이, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr은 IκBα 및 p65의 LPS 유도 인산화 수준을 감소시켰다.

[0156] 상기 결과는 개양귀비 및 꽃양귀비의 EtOAc 분획물이 NF-κB 및 STAT3활성을 억제하여 LPS로 자극된 대식세포에서 항염증 효과를 발휘한다는 것을 의미한다.

[0158] **실시예 5. DPPH 자유 라디칼 소거 활성 분석**

[0159] 산화 스트레스는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이라고도 하는 반응성 대사산물과 신체의 항산화 시스템 간의 불균형의 결과로 발생한다. superoxides, hydrogen peroxide 및 hydroxyl free radical과 같은 ROS는 호기성 유기체에서 지속적으로 생성된다. ROS 및 자유 라디칼 산화 손상의 증가된 수준은 전염증 상태의 생성을 촉진하고 질병 진행을 유발한다. 이에, DPPH 자유 라디칼 소거 활성을 측정을 통해, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr의 항산화 활성을 분석하였다. DPPH 자유 라디칼 소거 활성 분석 결과는 도 5a에 나타내었다.

[0160] 도 5a에 나타낸 바와 같이, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr은 DPPH 라디칼 소거 활성이 용량 의존적으로 증가되는 것을 확인하였다.

[0162] **실시예 6. 세포 내 활성산소종 분석**

[0163] NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr의 항산화 활성을 확인하기 위하여, LPS로 자극된 RAW264.7 세포에서 세포 내 ROS를 분석하였다. 세포 내 ROS를 분석한 결과는 도 5b에 나타내었다.

[0164] 도 5b에 나타낸 바와 같이, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr은 LPS가 증가된 세포 내 ROS를 용량 의존적으로 유의하게 감소시켰고, 그 활성은 양성 대조군인 ascorbic acid보다 우수했다.

[0166] 또한, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr 처리에 따른 GSH/GSSG 비율을 확인하였으며, 그 결과는 도 5c에 나타내었다.

[0167] 도 5c에 나타낸 바와 같이, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr은 RAW264.7 세포에서 LPS 처리에 의해 낮아진 GSH/GSSG 비율을 회복시켰다. 즉, 상기 GSH/GSSG 비율의 회복은 LPS에 의해 유발된 산화 스트레스가 감소되었다는 것을 의미한다.

[0169] **실시예 7. Nrf2 신호전달 분석**

[0170] Nrf2 신호전달은 HO-1, NQO1 및 GCLC를 포함한 세포 내 항산화 시스템에서 중요한 역할을 한다. 이에, NO-Fr, NS-Fr 및 RA-Fr이 항산화 효과를 유도하는 메커니즘인 Nrf2 신호전달을 추가로 조사하였다. Nrf2 신호활성의 주요 타겟 인자인 HO-1, NQO1 및 GCLC의 mRNA 발현을 조사한 결과는 도 6a에 나타내었다.

[0171] 도 6a에 나타낸 바와 같이, NO-Fr과 NS-Fr은 HO-1, GCLC 및 NQO1의 mRNA 발현 수준을 증가시켰고, RA-Fr은 LPS로 자극된 RAW264.7 세포에서 NQO1의 발현을 증가시켰다.

[0173] 항산화 조절인자의 발현이 Nrf2에 의해 조절됨에 따라 LPS로 자극된 세포의 세포질 및 핵에서 Nrf2의 발현을 조사하였으며, 그 결과는 도 6b에 나타내었다. 또한 Nrf2의 활성은 핵에서 나타나기 때문에 핵에서의 Nrf2의 발현 조사 결과를 기반으로 그래프를 작성하였고, 이를 도 6c에 나타내었다.

[0174] 도 6b 및 c에 나타낸 바와 같이, NO-Fr 및 NS-Fr은 핵에서 Nrf2 발현을 유의하게 증가시켰지만, 세포질에서는 증가시키지 않았다. 반면에, RA-Fr은 세포질 및 핵 모두에서 Nrf2의 발현에 영향을 미치지 않았다. 상기 결과는 꽃양귀비의 EtOAc 분획물이 항산화 유전자의 Nrf2 매개 유도를 통해 항산화 효과를 발휘하지만, 개양귀비의 EtOAc 분획물은 NQO1의 독립적 증가에 의해 항산화 효과를 발휘한다는 것을 의미한다.

[0176] 종합적으로 본 발명자들은 개양귀비 및 꽃양귀비의 에탄올 추출한 후 에틸아세테이트로 분획하여 분획물을 제조하고, 이의 우수한 항산화 및 항염증 효과를 확인하였다. 따라서 본 발명의 개양귀비 및 꽃양귀비의 에틸아세테이트 분획물은 식품 및 의약 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

[0178] 이하, 제제예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 제제예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 제제예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는다.

[0180] **제제예 1. 약학적 조성물의 제조**

[0181] **1-1. 산제의 제조**

[0182] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 20 mg

[0183] 유당 100 mg

[0184] 탈크 10 mg

[0185] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

[0187] **1-2. 정제의 제조**

[0188] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 10 mg

[0189] 옥수수전분 100 mg

[0190] 유당 100 mg

[0191] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0192] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0194] **1-3. 캡슐제의 제조**

[0195] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 10 mg

[0196] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0197] 락토오스 14.8 mg

[0198] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0199] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0201] **1-4. 주사제의 제조**

[0202] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 10 mg

[0203] 만니톨 180 mg

[0204] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0205] 인산이나트륨 이수화물 26 mg

[0206] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0208] **1-5. 액제의 제조**

[0209] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 20 mg

[0210] 이성화당 10 g

[0211] 만니톨 5 g

[0212] 정제수 적량

[0213] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충진하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0215] **제제예 2 식품 제제의 제조**

[0216] **2-1. 건강식품의 제조**

[0217] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 100 mg

[0218] 비타민 혼합물 적량

[0219] 비타민 A 아세테이트 70 g

[0220] 비타민 E 1.0 mg

[0221] 비타민 B1 0.13 mg

[0222] 비타민 B2 0.15 mg

[0223] 비타민 B6 0.5 mg

[0224] 비타민 B12 0.2 g

[0225] 비타민 C 10 mg

[0226] 비오틴 10 g

[0227] 니코틴산아미드 1.7 mg

[0228] 엽산 50 g

[0229] 판토텐산 칼슘 0.5 mg

[0230] 무기질 혼합물 적량

[0231] 황산제1철 1.75 mg

[0232] 산화아연 0.82 mg

[0233] 탄산마그네슘 25.3 mg

[0234] 제1인산칼륨 15 mg

[0235] 제2인산칼슘 55 mg

[0236] 구연산칼륨 90 mg

[0237] 탄산칼슘 100 mg

[0238] 염화마그네슘 24.8 mg

[0240] 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.

[0242] **2-2. 건강음료의 제조**

[0243] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 100 mg

[0244] 비타민 C 15 g

[0245] 비타민 E(분말) 100 g

[0246] 젖산철 19.75 g

[0247] 산화아연 3.5 g

[0248] 니코틴산아미드 3.5 g

[0249] 비타민 A 0.2 g

[0250] 비타민 B1 0.25 g

[0251] 비타민 B2 0.3 g

[0252] 물 정량

[0254] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 ℃ 에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

[0255] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0257] **제제예 3. 항균용 화장료 조성물의 제조**

[0258] **3-1. 유연화장수(스킨로션)의 제조**

[0259] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 0.5%

[0260] 베타-1,3-글루칸 1.0%

[0261] 부틸렌글리콜 2.0%

[0262] 프로필렌글리콜 2.0%

[0263] 카르복시비닐폴리머 0.1%

[0264] 피이지-12 노닐페닐에테르 0.2%

[0265] 폴리솔베이트 80 0.4%

[0266] 에탄올 10.0%

[0267] 트리에탄올아민 0.1%

[0268] 방부제, 색소, 향료 적량

[0269] 정제수 to 100%

[0271] **3-2. 영양화장수(밀크로션)의 제조**

[0272] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 0.5 %

[0273] 베타-1,3-글루칸 1.0 %

[0274] 밀납 4.0 %

[0275] 폴리솔베이트 60 1.5 %

[0276] 솔비탄세스퀴올레이트 1.5 %

[0277] 유동파라핀 0.5 %

[0278] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 %

[0279] 글리세린 3.0 %

[0280] 부틸렌글리콜 3.0 %

[0281] 프로필렌글리콜 3.0 %

[0282] 카르복시비닐 폴리머 0.1 %

[0283] 트리에탄올아민 0.2 %

[0284] 방부제, 색소, 향료 적량

[0285] 정제수 to 100 %

[0287] **3-3. 영양크림의 제조**

[0288] 양귀비속 식물의 추출물 또는 이의 분획물 1.0 %

[0289] 베타-1,3-글루칸 5.0 %

[0290] 밀납 10.0 %

[0291] 폴리솔베이트 60 1.5 %

[0292] 피이지 60 경화피마자유 2.0 %

[0293] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 %

[0294] 유동파라핀 10.0 %

[0295] 스쿠알란 5.0 %

[0296] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 %

[0297] 글리세린 5.0 %

[0298] 부틸렌글리콜 3.0 %

[0299] 프로필렌글리콜 3.0 %

[0300] 트리에탄올아민 0.2 %

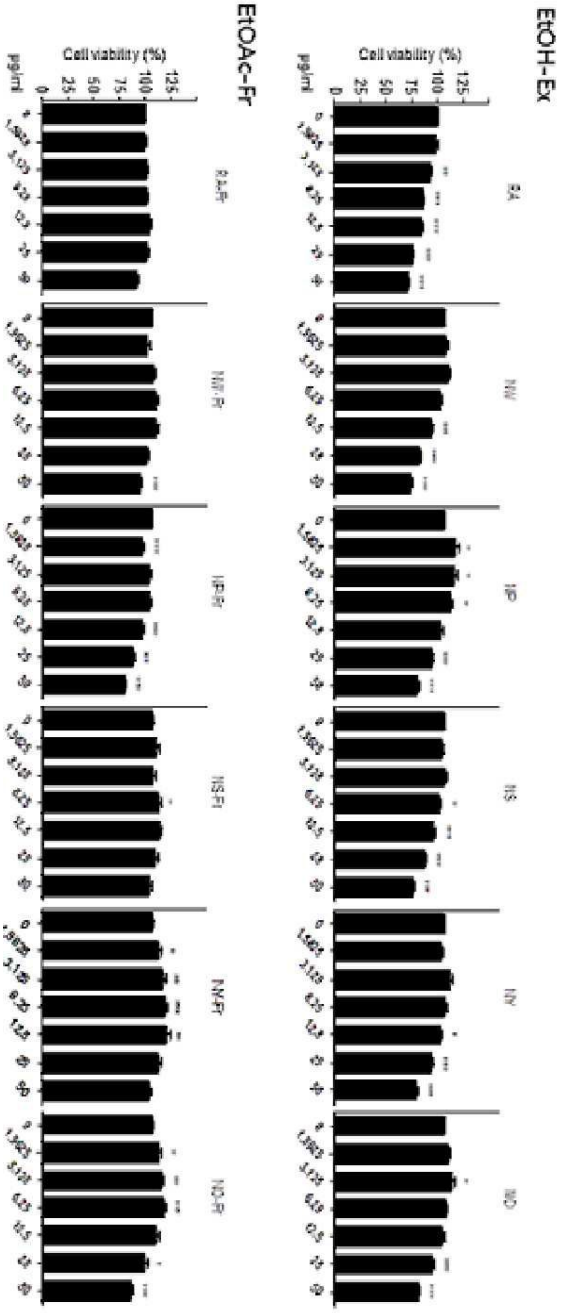
[0301] 방부제, 색소, 향료 적량

[0302] 정제수 to 100%

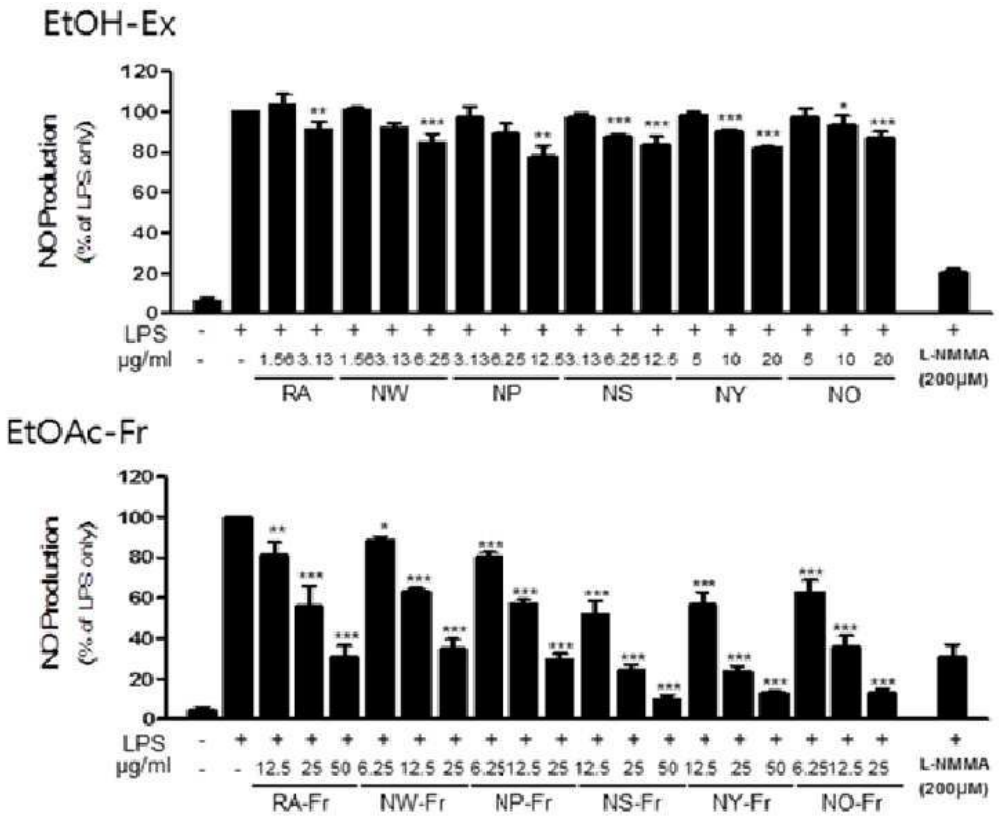
[0304] 이상, 본 발명내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 정의된다고 할 것이다.

도면

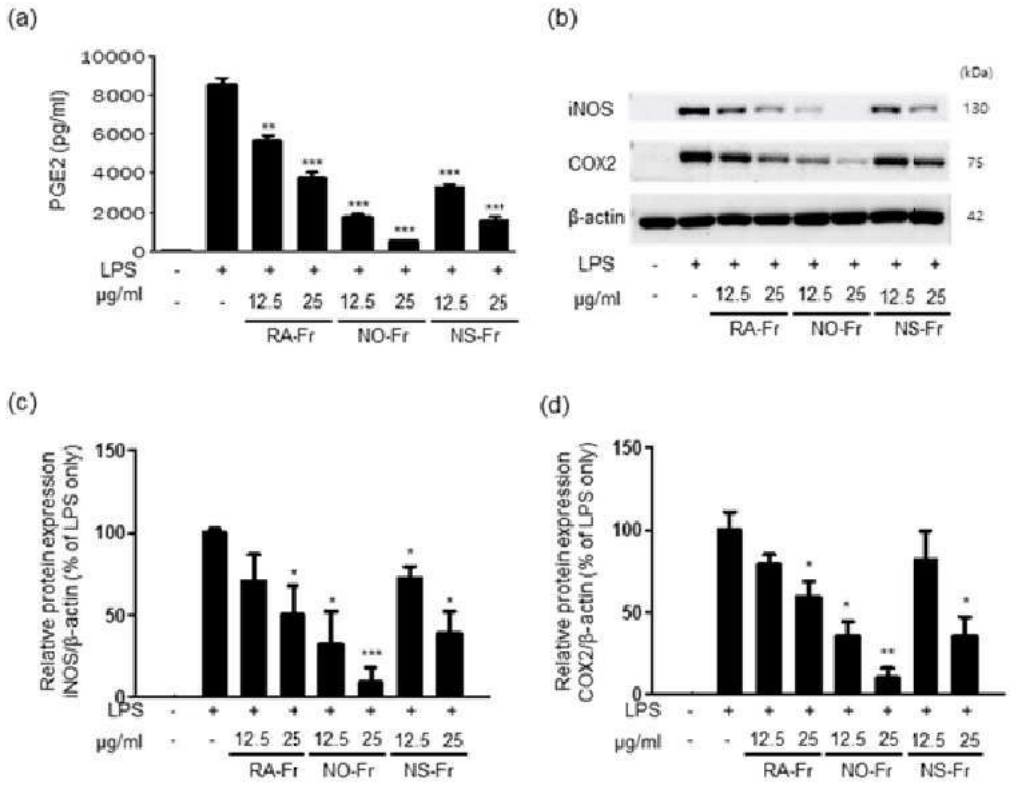
도면1a


EtOAc-Fr
EtOH-Ex
Cell viability (%)
μg/ml
0
25
50
75
100
125
EA-Fr
NW-Fr
HP-Fr
NS-Fr
NY-Fr
ND-Fr
EA
NW
HP
NS
NY
ND

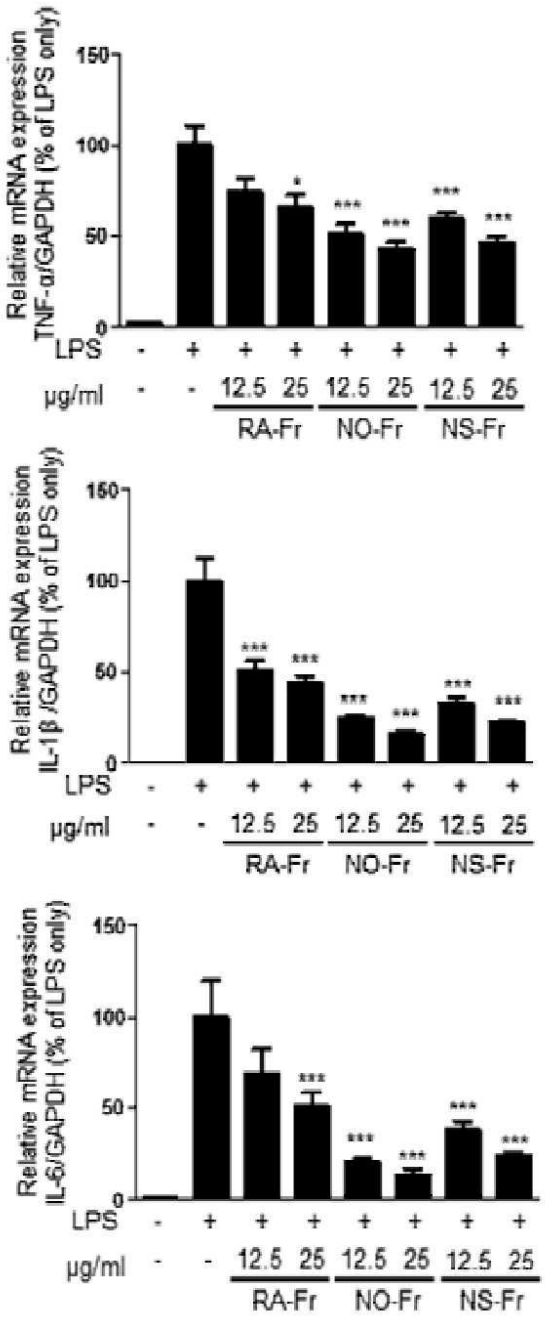
도면1b


EtOH-Ex
NO Production (% of LPS only)
LPS
μg/ml
RA
NW
NP
NS
NY
NO
L-NMMA (200μM)
EtOAc-Fr
RA-Fr
NW-Fr
NP-Fr
NS-Fr
NY-Fr
NO-Fr

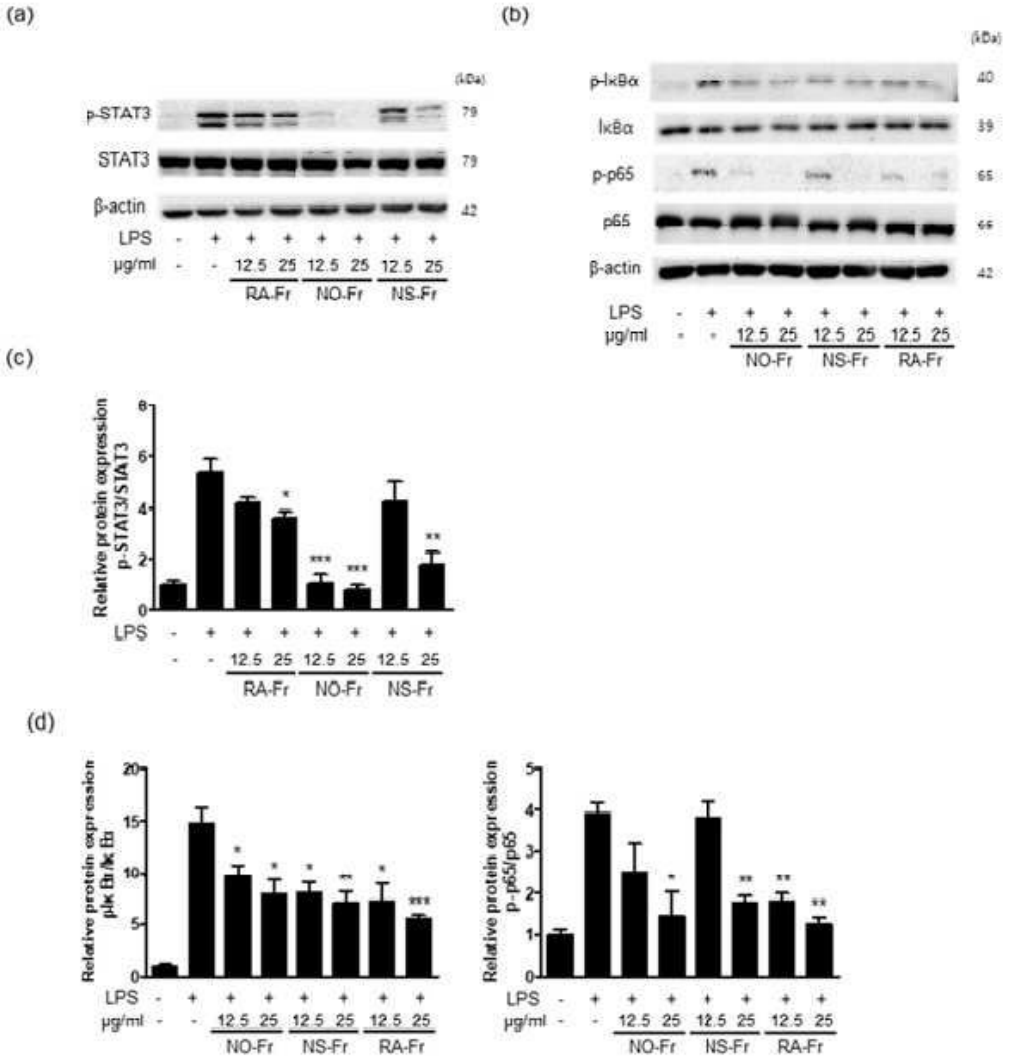
도면2


(a)
PGE2 (pg/ml)
(b)
iNOS
COX2
β-actin
(kDa)
(c)
Relative protein expression iNOS/β-actin (% of LPS only)
(d)
Relative protein expression COX2/β-actin (% of LPS only)
RA-Fr
NO-Fr
NS-Fr

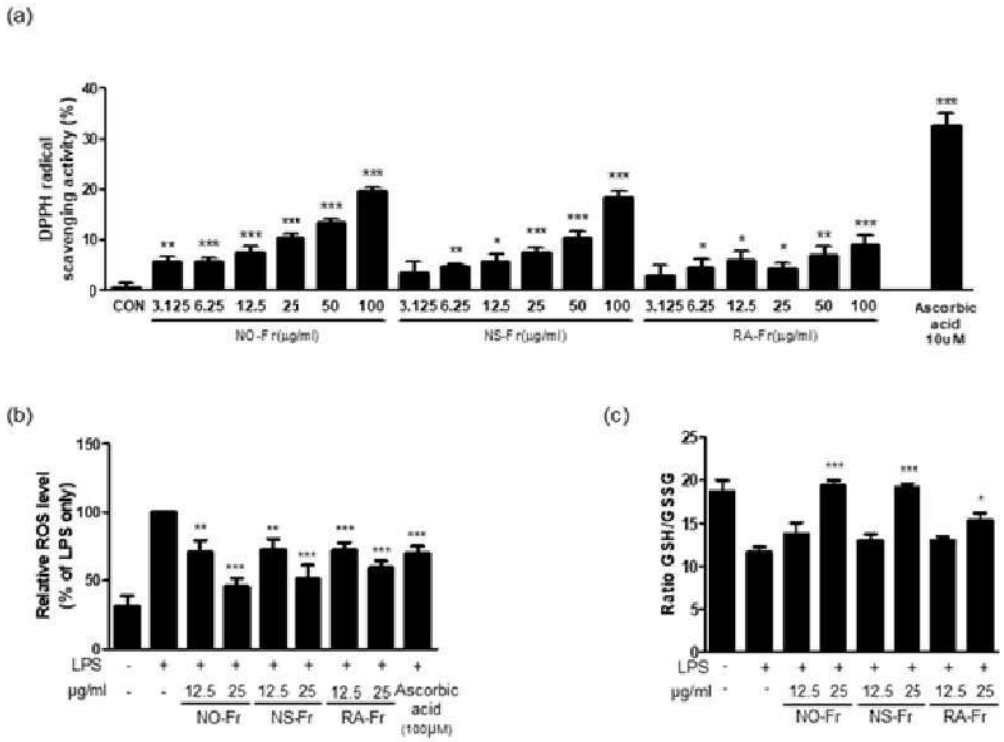
도면3


Relative mRNA expression
TNF-α/GAPDH (% of LPS only)
150
100
50
0
LPS - + + + + + + +
μg/ml - - 12.5 25 12.5 25 12.5 25
RA-Fr NO-Fr NS-Fr
Relative mRNA expression
IL-1β /GAPDH (% of LPS only)
150
100
50
0
LPS - + + + + + + +
μg/ml - - 12.5 25 12.5 25 12.5 25
RA-Fr NO-Fr NS-Fr
Relative mRNA expression
IL-6/GAPDH (% of LPS only)
150
100
50
0
LPS - + + + + + + +
μg/ml - - 12.5 25 12.5 25 12.5 25
RA-Fr NO-Fr NS-Fr

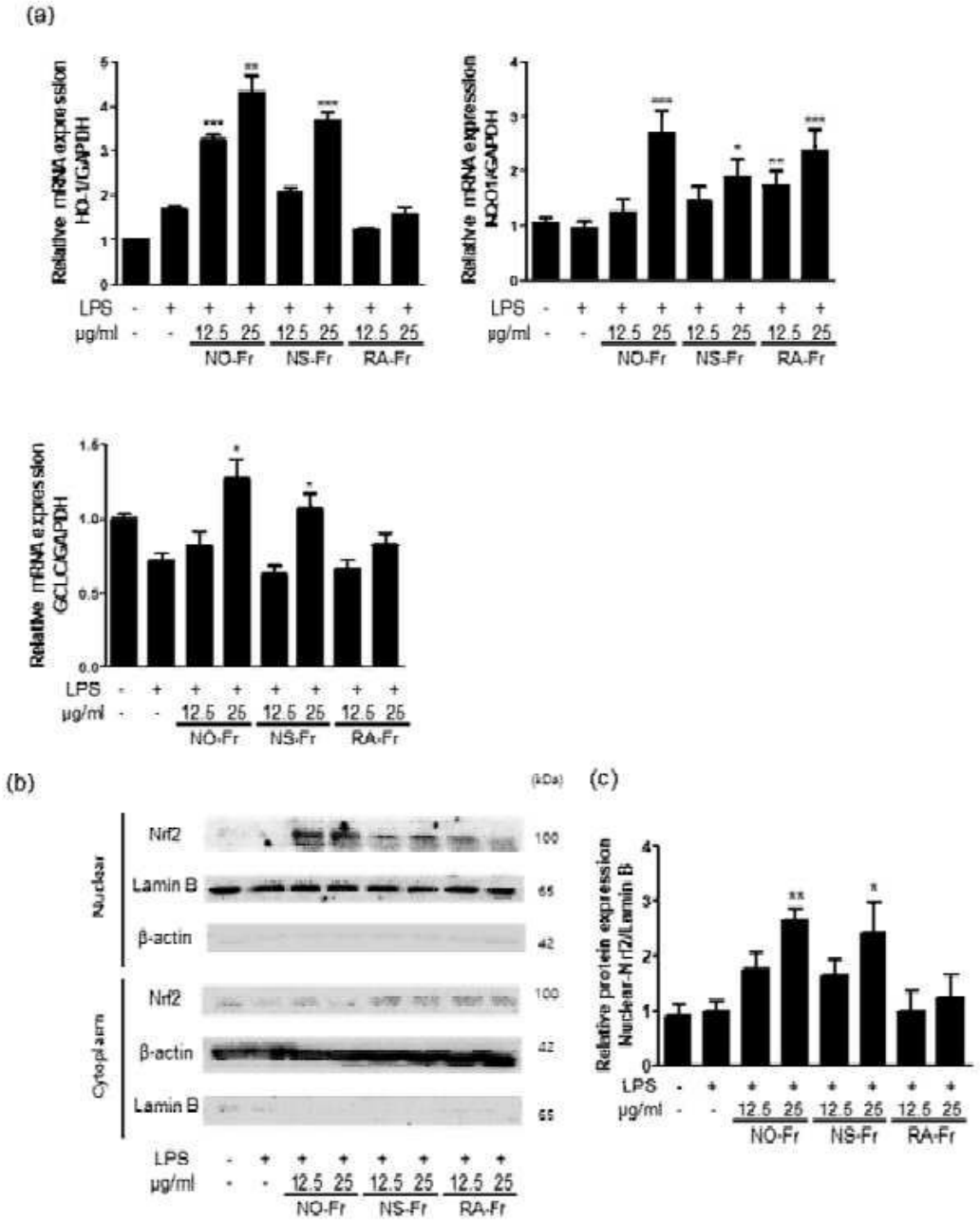
도면4


(a)
p-STAT3
STAT3
β-actin
(kDa)
79
79
42
LPS
μg/ml
12.5 25 12.5 25 12.5 25
RA-Fr NO-Fr NS-Fr
(b)
p-IκBα
IκBα
p-p65
p65
β-actin
40
39
65
65
42
NO-Fr NS-Fr RA-Fr
(c)
Relative protein expression p-STAT3/STAT3
(d)
Relative protein expression p-p65/p65

도면5


(a)
DPPH radical scavenging activity (%)
CON
3.125 6.25 12.5 25 50 100
NO-Fr(μg/ml)
NS-Fr(μg/ml)
RA-Fr(μg/ml)
Ascorbic acid 10uM
(b)
Relative ROS level (% of LPS only)
LPS
μg/ml
NO-Fr
NS-Fr
RA-Fr
Ascorbic acid (100μM)
(c)
Ratio GSH/GSSG
LPS
μg/ml
NO-Fr
NS-Fr
RA-Fr

도면6


(a)
Relative mRNA expression HO-1/GAPDH
Relative mRNA expression NQO1/GAPDH
Relative mRNA expression GCLC/GAPDH
LPS
μg/ml
12.5 25
NO-Fr
NS-Fr
RA-Fr
(b)
(kDa)
Nuclear
Cytoplasm
Nrf2
Lamin B
β-actin
100
65
42
(c)
Relative protein expression Nuclear-Nrf2/Lamin B