



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0059211
(43) 공개일자 2018년06월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/70 (2006.01) A61K 36/22 (2006.01)
A61K 8/02 (2006.01) A61K 8/97 (2017.01)
A61K 9/06 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 9/7023 (2013.01)
A61K 36/22 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0158506

(22) 출원일자 2016년11월25일

심사청구일자 2016년11월25일

(71) 출원인

건양대학교산학협력단

충청남도 논산시 대학로 121 (내동)

(72) 발명자

한승연

대전광역시 유성구 노은동로 187 열매마을6단지
601동 702호

김도경

대전광역시 서구 관저북로 87 원앙마을1단지아파트
106동 1903호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김대영

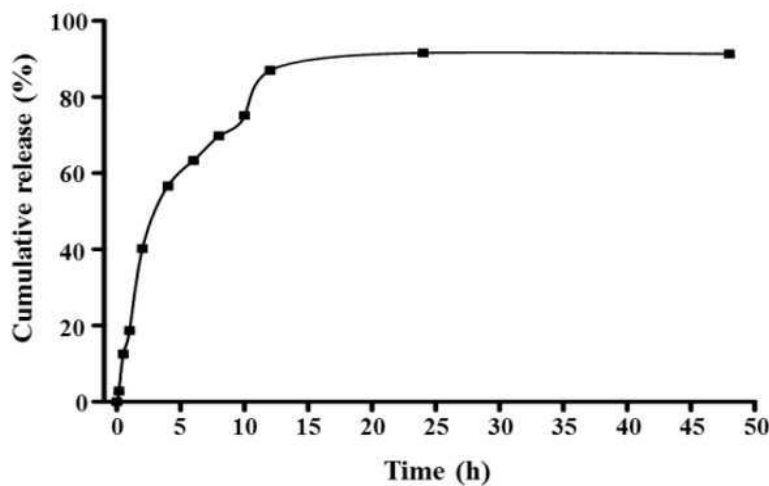
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **옻나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 옻나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물에 관한 것으로, 옻나무 추출물을 유효성분으로 하여 환부에 지속적으로 원활히 전달시키는 한편, 피부의 건조를 방지하는 기능을 하는 플루란(pullulan) 소재의 하이드로겔을 통해 장시간에 걸쳐 아토피성 피부염 개선에 사용할 수 있는 특징이 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 8/0208 (2013.01)

A61K 8/97 (2013.01)

A61K 9/06 (2013.01)

A61Q 19/005 (2013.01)

A61Q 19/007 (2013.01)

Y10S 514/857 (2013.01)

(72) 발명자

정지훈

대전광역시 서구 구봉로147번길 95, 204호

나천수

경기도 수원시 권선구 금곡로73번길 71 LG빌리지
102동 1801호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016B0014010108

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학공동기술개발지원사업

연구과제명 아토피 피부염 치료를 위한 옷나무 추출물 방출형 하이드로겔 필름 개발

기 여 율 1/1

주관기관 건양대학교산학협력단

연구기간 2016.06.01 ~ 2016.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

플루란 1 ~ 3g 중량부와, 증류수 50g 중량부와, 옷나무추출물 0.4 ~ 0.6g 중량부를 혼합한 하이드로겔 혼합물과,

하이드로겔 혼합물을 패치 형태로 점적한 후 60 ~ 80℃의 온도로 조절된 건조 오븐에 넣어 24시간 반응시켜 하이드로겔 패치 형태로 조성되는 것을 특징으로 하는 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 플루란은 저분자량 플루란으로 이루어지되, 저분자량 플루란 대비 0.01 ~ 0.05중량부의 고분자량 하이드로겔을 더 포함하여 구성되는 것을 특징으로 하는 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 하이드로겔 혼합물 100중량부에 20 ~ 30중량부의 다가 알코올이 더 포함되는 것을 특징으로 하는 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서,

상기 고분자량 하이드로겔은 플루란 이외에, 아가(Agar), 텍스트란, 텍스트린, 폴리에틸렌 클라이콜, 폴리비닐 알코올 중 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 하이드로겔 혼합물은 플라스틱 재질의 필름 위에 점적한 후 60 ~ 80℃의 온도로 조절된 건조 오븐에 넣어 24시간 반응시켜 딱딱한 필름 형태의 패치 형태로 조성되는 것을 특징으로 하는 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 옷나무 추출물을 유효성분으로 하여 환부에 지속적으로 원활히 전달시키는 한편, 피부의 건조를 방지하는 기능을 하는 플루란(pullulan) 소재의 하이드로겔을 통해 장시간에 걸쳐 아토피성 피부염 개선에 사용할 수 있도록 한 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용

하이드로겔 패치형 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 일반적으로 아토피성 피부염(atopic dermatitis)은 피부소양증(skin pruritus)을 동반하여 오랜 기간 호전과 악화를 반복하는 만성(chronic), 비전염성(non-contagious), 염증성(inflammatory) 피부질환이다.
- [0003] 상기 질환은 습진(eczema)의 한 유형으로서 천식(asthma), 알레르기성 비염(allergic rhinitis)과 함께 대표적인 알레르기성 질환 중 하나이며, 최근 선진국을 중심으로 그 유병률이 꾸준히 증가하고 있다.
- [0004] 환자의 70~80%에서 가족력이 있는 것으로 미루어 아토피성 피부염의 발병에 유전적 요인이 깊이 관여하는 것으로 추측된다.
- [0005] 아토피성 피부염은 질병 자체에서 오는 고통도 상당할 뿐만 아니라 미용적 부작용에서 오는 사회적, 정신적 스트레스로 인하여 온전한 사회생활에 치명적인 지장을 초래하고 이로 인해 만성 불안 및 우울증과 같은 정신질환을 동반할 수 있기 때문에 심각한 문제로 대두되고 있다.
- [0006] 아토피성 피부염의 원인은 아직 정확히 알려져 있지 않으나, 환자의 유전적 소인과 함께 면역학적 이상, 피부보호막의 결여, 병원성 박테리아의 감염 및 환경적 요인 등 여러 원인이 복합적으로 작용하는 유발되는 다원성(multifactorial)의 질환인 것으로 알려진다.
- [0007] 최근 연구결과들에 의하면 영유아기 아토피성 피부염을 경험한 환자 중 일부는 천식이나 알레르기성 비염 등의 다른 알레르기성 질환으로 이행하는 아토피행진(atopic march)의 경과를 보이기도 한다.
- [0008] 아토피성 피부염의 증상은 환자마다 매우 다양하게 나타나지만, 피부건조(dryness), 피부발진(rash)과 가려움증(itch)은 일반적인 대표 증상들이다. 가려움증은 피부를 긁어 통증을 유발함으로써 억제할 수 있으나, 아토피성 피부염 환자는 가려움증에 민감하여 이를 억제하기 위해서는 정상인에 비해 장시간의 긁는 자극을 필요로 한다.
- [0009] 따라서, 환자는 매우 심하게 긁게 되며, 이는 가려움증을 더욱 증가시켜 질병을 악화시킨다.
- [0100] 조직학적으로는 습진성 피부염(eczematous dermatitis)과 함께 표피(epidermis)의 비후(hyperplasia)가 나타나며, 면역학적 이상으로 환자의 약 80%에서 혈중 면역글로블린E(IgE)가 증가되어 이와 관련된 비만세포(mast cell)의 활성화가 동반되는 것이 특징이다.
- [0101] 아토피성 피부염 환자에서 일반적으로 나타나는 피부건조증은 아토피성 피부염 환자에서 대부분 저하되어있는 표피투과장벽기능(epidermal permeability barrier function) 이상과 밀접하게 관련되어 있다.
- [0102] 이로 인해 아토피성 피부염 환자는 환부를 통한 수분손실량이 현저히 증가되어 있으며, 이는 또한 병원성 미생물 또는 알레르기 유발물질에 대한 피부노출 가능성을 증가시킨다.
- [0103] 아토피성 피부염은 적절한 피부관리 또는 생활습관의 변화를 통해서도 호전될 수 있으나, 질환이 심각한 경우 현재 통용되는 치료법으로는 완치가 어렵다. 일반적으로 스테로이드제를 통한 면역조절요법(immune modulation)이 치료에 이용되고 있으나, 그 효과가 미미한 데 반해 약물 부작용이 심각하여 기존 치료방법에 대한 거부감이 증가하고 있어 아토피성 피부염에 대한 새로운 치료법의 연구가 필요하다.
- [0104] 최근 들어 아토피성 피부염은 현대의학으로 완치되지 않는다는 인식과 발맞추어 유사요법(homeotherapy)이나 한방요법(traditional therapy)과 같은 대체의학(alternative medicine)에 대한 관심이 증대되고 있으며, 이에 따라 미국을 중심으로 천연소재를 이용하여 아토피성 피부염을 치료하려는 시도가 이루어지고 있다.
- [0105] 그러나 단순히 유효성분의 차별화만으로는 치료적 한계점이 존재한다. 일례로, 다양한 유효성분을 함유하고 있는 기존의 아토피성 피부염 증상 완화를 위한 제품들은 주로 바르는 로션이나 크림타입으로 제품의 제형이 다양하지 못하며, 일상 생활 도중 쉽게 씻겨나가는(wash-out) 이유로 여러 번 도포해야 하는 단점으로 인해 바쁜 현대인들이 사용하기에는 불편하고 일시적인 증상 완화효과만을 나타내므로 새로운 방안의 모색이 필요하다.
- [0106] 대한민국 특허출원 제10-2010-0024449호의 옷 발효 추출물 및 자외선으로 처리한 항아토피 활성 섬유 및 직물 및 그 제조방법이 있으나, 이는 항아토피 활성이 후수한 효과가 있을 뿐, 아토피 피부염을 국소적으로 개선할 수 없는 문제점이 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0017] (특허문헌 0001) 대한민국 특허출원 제10-2010-0024449호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 감안하여 안출된 것으로, 본 발명의 목적은, 피부에 안정하게 접촉하여 옷나무 추출물의 유효성분을 장시간에 걸쳐 지속적으로 방출하여 아토피성 피부염 진피 내 비만세포의 침윤 방지와 미엘로페르옥시다아제 활성 저하 등을 통하여 아토피성 피부염 치료에 유의한 효능을 갖도록 한 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 특징에 따르면, 제 1발명은, 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물에 관한 것으로, 이를 위해 플루란 1 ~ 3g 중량부와, 증류수 50g 중량부와, 옷나무추출물 0.4 ~ 0.6g 중량부를 혼합한 하이드로겔 혼합물과, 하이드로겔 혼합물을 패치 형태로 점적한 후 60 ~ 80℃의 온도로 조절된 건조 오븐에 넣어 24시간 반응시켜 하이드로겔 패치 형태로 조성되는 것을 특징으로 한다.

[0021] 제 2발명은, 제 1발명에서, 상기 플루란은 저분자량 플루란으로 이루어지되, 상기 저분자량 플루란 대비 0.01 ~ 0.05중량부의 고분자량 하이드로겔을 더 포함하여 구성되는 것을 특징으로 한다.

[0023] 제 3발명은, 제 1발명에서, 상기 하이드로겔 혼합물 100중량부에 20 ~ 30중량부의 다가 알코올이 더 포함되는 것을 특징으로 한다.

[0025] 제 4발명은, 제 2발명에서, 상기 고분자량 하이드로겔은 플루란, 아가(Agar), 텍스트란, 텍스트린, 폴리에틸렌 클라이콜, 폴리비닐 알코올 중 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 한다.

[0027] 제 5발명은 제 1발명에서, 상기 하이드로겔 혼합물은 플라스틱 재질의 필름 위에 점적한 후 60 ~ 80℃의 온도로 조절된 건조 오븐에 넣어 24시간 반응시켜 딱딱한 필름 형태의 패치 형태로 조성되는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0028] 본 발명의 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물에 따르면, 옷나무 추출물을 유효성분으로 하여 환부에 장시간에 걸쳐 지속적으로 원활히 전달시켜 아토피성 피부염을 개선시킬 수 있는 효과가 있다.

[0029] 또한 피부의 건조를 방지하는 기능을 하는 플루란(pullulan) 소재의 하이드로겔을 통해 피부 손상을 방지할 수 있으며, 장기간에 걸쳐 여러 번 지속적으로 피부에 접촉시켜 아토피 표피두께의 증가를 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라, 비만세포 증가와, 미엘로페르옥시다아제 활성을 증가를 감소시킬 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 본 발명에 따른 하이드로겔 패치형 조성물의 옷나무 추출물 용출 시간을 나타낸 그래프,

도 2는 본 발명에 따른 하이드로겔 패치형 조성물의 옷나무 추출물 함유 여부를 푸리에 변환 적외선 분광분석법으로 나타낸 히스토그램,

도 3은 5주령 및 8주령의 4군(control, Cap, HP, RVS-HP)의 환부를 촬영한 대표사진,

도 4는 5주령 및 8주령의 4군(control, Cap, HP, RVS-HP)의 만성피부염 정도를 평가한 결과 그래프,

도 5는 8주령 4군(control, Cap, HP, RVS-HP) 환부 표피와 진피를 대상으로 헤마톡실린(hematoxylin)-에오신(eosin) 염색을 시행한 현미경 사진과 표피의 두께를 분석한 그래프,

도 6은 8주령 4 군(control, Cap, HP, RVS-HP) 환부 표피와 진피를 대상으로 톨루이딘 블루(toluidine blue) 염색을 시행한 현미경 사진과 염색된 비만세포를 정량화한 그래프,

도 7은 8주령 4 군(control, Cap, HP, RVS-HP)의 혈장 내 미엘로페르옥시다아제의 활성도를 측정한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0031] 이하의 본 발명의 목적들, 다른 목적들, 특징들 및 이점들은 첨부된 도면과 관련된 이하의 바람직한 실시예들을 통해서 쉽게 이해될 것이다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다.
- [0032] 오히려, 여기서 소개되는 실시예들은 개시된 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 그리고 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이다.
- [0033] 여기에 설명되고 예시되는 실시예들은 그것의 상보적인 실시예들도 포함한다.
- [0034] 아래의 특정 실시예들을 기술하는데 있어서, 여러가지의 특정적인 내용들은 발명을 더 구체적으로 설명하고 이해를 돕기 위해 작성되었다. 하지만 본 발명을 이해할 수 있을 정도로 이 분야의 지식을 갖고 있는 독자는 이러한 여러 가지의 특정적인 내용들이 없어도 사용될수 있다는 것을 인지할 수 있다. 어떤 경우에는, 발명을 기술하는 데 있어서 흔히 알려졌으면서 발명과 크게 관련 없는 부분들은 본 발명을 설명하는 데 있어 혼돈을 막기 위해 기술하지 않음을 미리 언급해 둔다.
- [0036] 이하에서는 본 발명에 따른 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물에 관하여 상세히 설명하기로 한다.
- [0037] 본 발명은 옷나무 추출물을 유효성분으로 하여 환부에 지속적으로 원활히 전달시키는 한편, 피부의 건조를 방지하는 기능을 하는 풀루란(pullulan) 소재의 하이드로겔을 통해 장시간에 걸쳐 아토피성 피부염 개선에 사용할 수 있도록 한 옷나무 추출물을 유효성분으로 함유 및 방출하는 아토피성 피부염 개선용 하이드로겔 패치형 조성물(이하에서는 본 발명의 명칭을 하이드로겔 패치형 조성물 또는 RVS-HP로 칭하기로 한다)에 관한 것이다.
- [0038] 본 발명의 하이드로겔 패치형 조성물은 풀루란 1 ~ 3g 중량부와, 증류수 50g 중량부와, 옷나무추출물 0.4 ~ 0.6g 중량부를 혼합한 하이드로겔 혼합물과, 하이드로겔 혼합물을 패치 형태로 점적한 후 60 ~ 80℃의 온도로 조절된 건조 오븐에 넣어 24시간 반응시켜 하이드로겔 패치 형태로 조성된다.
- [0039] 상기 풀루란은 흑효모(Aureobasidium pullulans)로부터 생산된 다당류를 분리 정제하여 얻어지는 물질로서 주성분은 중성 다당류이고, 평균 분자량은 200,000과 100,000의 2종류가 있다. 점도는 1 ~ 2cps이며, 물에 잘 녹으며, 알코올류와 유류에는 녹지 않는다. 다른 검류에 비해 점도는 낮은 편에 속하나, 산, 알칼리, 열 등에 안정하고, 피막성 외에 강력한 점착력을 가지고 있다.
- [0040] 본 발명에서는 상기 풀루란은 저분자량 풀루란으로 이루어지되, 저분자량 풀루란 대비 0.01 ~ 0.05중량부의 고분자량 하이드로겔을 더 포함시켜 피부점착도를 향상시킬 수 있도록 구성된다.
- [0041] 이 때 상기 고분자량 하이드로겔은 풀루란 이외에, 아가(Agar), 텍스트란, 텍스트린, 폴리에틸렌 글라이콜, 폴리비닐 알코올 중 선택되는 어느 하나로 구성될 수 있음은 물론이다.
- [0042] 또한 본 발명의 하이드로겔 혼합물의 100중량부에 20 ~ 30중량부의 다가 알코올이 더 포함시켜 부패를 방지하고, 패치 형태로 제조할 시 하이드로겔 혼합물의 증발 속도를 조절하여 균질한 품질을 갖는 필름형태의 패치가 제조될 수 있도록 구성된다.
- [0044] [실험예 1]
- [0045] 본 발명에 따른 하이드로겔 패치형 조성물의 유효성분으로서의 옷나무추출물(RVS)을 방출량을 단위 시간 당 실

험하였다.

[0046] 이 때, 시험관 용출 시험은 생체(in vivo) 환경을 최대한 유사하게 반영하기 위하여 마개가 없는 50mL 튜브의 뚜껑에 하이드로겔 패치형 조성물을 접착시킨 반투막성 셀로판 필름을 위치시켜 밀봉하고, 36.5° C의 온도로 유지되는 증류수 안에서 점차 용출될 수 있도록 교반기 위에서 실시하였다.

[0047] 여기서 하이드로겔 패치형 조성물은 증류수와 직접 맞닿는 면이 아닌 50mL 튜브 내 밀봉된 공간 쪽에 위치할 수 있도록 하였다. 시간이 흐름에 따른 하이드로겔 패치형 조성물의 반투막성 셀로판 필름을 투과 및 증류수로의 용출량을 spectrophotometer로 측정하였다.

[0048] 그 결과, 도 1과 같이, 하이드로겔 패치형 조성물로부터 옷나무 추출물이 즉각적인 용출이 시작되며, 시간에 따라 점차 용출량이 증가하여 대략 15시간이 되면 용출이 멈추는 것을 발견하였으며, 이를 통해 옷나무 추출물 시간에 비례하여 안정적으로 용출되며, 용출 지속시간은 15시간인 것을 규명하였다.

[0050] [실험예 2]

[0051] 본 발명에 따른 하이드로겔 패치형 조성물 내 옷나무 추출물의 성공적인 함유 여부를 푸리에 변환 적외선 분광 분석법으로 확인하였다.

[0052] 우선, 청구항1에 의해 제조된 하이드로겔 패치형 조성물(RVS-HP)을 무균 환경에서 실온 보관하였다.

[0053] 이 때, 옷나무 추출물(RVS)을 혼합하지 않은 패치형 조성물(HP)을 부가적으로 제조하였다. 이렇게 제작된 HP, RVS, RVS-HP를 시료로 사용하여 푸리에 변환 적외선 분광분석법으로 각각의 포함 여부를 확인한 결과, 도 2와 같이, RVS와 HP에서 보이는 특징적인 peak들이 RVS-HP에서도 보임을 관찰하였으며, 이를 통하여 RVS-HP의 성공적인 제조를 증명하였다.

[0055] [실험예 3]

[0056] 동물 모델 대상 RVS-HP의 효과를 입증하기 위하여 캡사이신이 투여되지 않은 control 군, 캡사이신이 투여된 Cap 군, 캡사이신이 투여된 후 HP가 적용된 HP 군 및 RVS-HP가 적용된 RVS-HP 군의 4군으로 나누어 그 효과를 비교 분석하였다.

[0057] 이를 위하여 HP 군과 RVS-HP 군은 6주령 시작일(생후 43일)부터 8주령 종료일(생후 63일)까지 이틀에 한 번씩 각각 HP와 RVS-HP를 지름 3cm으로 미리 면도되어 노출된 원형의 어깨 부위에 접착시켰다.

[0058] 이 때, 경도가 있는 형태의 HP와 RVS-HP의 안정된 접착을 위하여 소량의 증류수를 도포하고 그 위에 적용하는 방법을 사용하였다. 4군의 동물들을 대상으로 5주령 종료일(생후 42일), 즉 치료가 들어가기 직전에 마취 후 사진을 촬영하고 8주령 종료일(생후 63일), 즉 치료가 끝난 직후에 추가로 마취 후 사진을 촬영하였다. 그 결과, control 군을 제외하고 캡사이신 처리 후 5주령 종료일 때에 모든 군에서 캡사이신으로 인한 심한 피부 병변이 있음을 확인하였다.

[0059] 그 결과, 도 3과 같이, 캡사이신 처리 후 8주령 종료일 때에 RVS-HP 군의 피부 병변은 HP와 cap군에 비해 상처의 정도가 확연히 감소된 것을 확인 할 수 있었다.

[0060] 더욱이 RVS-HP 군은 거의 처음과 같은 정상 피부 상태로 회복되는 것을 보아 캡사이신으로 인한 피부병변을 RVS-HP가 완화 시킨다는 것을 규명하였다.

[0062] [실험예 4]

[0063] 동물 모델 대상 RVS-HP의 효과를 입증하기 위하여, 캡사이신이 투여된 Cap 군, 캡사이신이 투여된 후 HP가 적용된 HP 군 및 RVS-HP가 적용된 RVS-HP 군의 3 군으로 나누어 그 효과를 점수화시켜 비교 분석하였다.

[0064] 점수화는 아토피성 피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가법을 수정하여 사용하였다. 가로 세로 5mm × 5mm 상처를 평가 기준으로 삼았고, 평가는 홍반, 출혈, 털빠짐이 전혀 없는 정상피부 = 0, 약한 홍반, 출혈과 털빠짐 = 1, 중등도의 홍반과 출혈 = 2, 심한 출혈과 흉터와 깃무름 = 3 을 기준으로 점수화하였다. 위 평가 기준에 의거하여 점수를 산출하되 맹검법에 의해 선정된 3명의 관찰자에게 무작위로 배정하여 피부상태를 수치

화하고 각 개체 별로 합산하게 하였으며, 각 군 별 평균값을 도출하였다.

- [0065] 그 결과 도 4와 같이, control 군을 제외하고 캡사이신 처리 후 5주령 종료일 때에 Cap, HP, RVS-HP 군은 각각 12.00 ± 4.89 , 12.25 ± 3.30 , 11.75 ± 1.25 수치로 모두 비슷한 정도의 피부병변이 있음을 확인하였다.
- [0066] 그러나, 캡사이신 처리 후 8주령 종료일 때에 Cap군은 15.25 ± 1.89 으로 심한 피부 병변 점수를 받은 것에 비해 HP와 RVS-HP 군은 각각 10.66 ± 4.16 , 8.00 ± 1.63 으로 피부 병변의 점수가 cap군에 비해 눈에 띄게 감소 된 것을 확인할 수 있었다.
- [0067] 더욱이 RVS-HP 군은 HP 군보다도 유의하게 감소하는 것으로 보아 RVS-HP는 캡사이신으로 인한 피부병변을 완화시킬 뿐만 아니라 HP보다 더욱 효과적으로 피부병변을 완화시킨다는 것을 규명하였다.
- [0069] [실험예 5]
- [0070] 조직병리학적 병변에서 RVS-HP의 효과를 입증하기 위하여, 캡사이신이 투여되지 않은 control 군, 캡사이신이 투여된 Cap 군, 캡사이신이 투여된 후 HP가 적용된 HP 군 및 RVS-HP가 적용된 RVS-HP 군의 4 군으로 나누어 그 효과를 점수화 시켜 비교 분석하였다.
- [0071] 포르말린으로 고정된 환부 조직을 파라핀 블록으로 만들어 $5\mu\text{m}$ 두께의 절편 슬라이드를 제작하였다. 슬라이드는 헤마톡실린(BBC Biochemical, 미국)과 에오신(Shimakyu's Pure Chemicals, 일본)으로 염색하여 광학 현미경으로 관찰하였다. 각 개체 당 3개의 시료(군 별 21개) 당 한 장의 디지털 현미경 사진을 얻었으며 현미경의 고정된 200배율로 촬영하였다.
- [0072] ImageJ(NIH, 미국) 이미지 분석 프로그램을 이용하여 각 디지털 현미경 사진 상 표피의 두께를 측정한 후 각 군 별로 평균치를 계산하였다.
- [0073] 그 결과, 도 5의 A의 사진에서 Control군에 비해 Cap군의 표피의 두께가 뚜렷하게 증가 된 것을 확인하였고, HP 군과 RVS-HP는 Cap군에 비해 표피의 두께가 상대적으로 감소 된 것을 확인하였다.
- [0074] 더욱이 RVS-HP군은 표피두께가 HP군보다 더욱 감소된 것을 확인하였다. 도 5의 A를 수치화시킨 B에서도 Control 군의 표피두께가 $13.78 \pm 1.62\mu\text{m}$ 에 비해 Cap군은 $123.24 \pm 12.32\mu\text{m}$ 으로 표피의 두께가 크게 증가 한 것을 확인할 수 있었다.
- [0075] 그러나 HP와 RVS-HP 군은 각각 70.11 ± 11.83 , $39.75 \pm 7.08\mu\text{m}$ 으로 표피의 두께가 cap군에 비해 감소 된 것을 확인할 수 있었고, RVS-HP 군은 HP 군보다 더 유의하게 감소하는 것을 확인하였다. 이를 통하여 RVS-HP는 HP보다 더욱 효과적으로 캡사이신으로 인한 표피두께의 증가를 감소시킨다는 것을 규명하였다.
- [0077] [실험예 6]
- [0078] 캡사이신으로 인한 비만세포의 변화에서 RVS-HP의 효과를 입증하기 위하여, 캡사이신이 투여되지 않은 control 군, 캡사이신이 투여된 Cap군, 캡사이신이 투여된 후 HP가 적용된 HP 군 및 RVS-HP가 적용된 RVS-HP 군의 4군으로 나누어 그 효과를 점수화시켜 비교 분석하였다.
- [0079] 비만세포를 관찰하기 위해, 귀 조직의 절단면을 톨루이딘 블루(Sigma Aldrich, 미국)로 염색하였다.
- [0080] 탈파라핀과 수화 과정을 거친 후, 절편을 톨루이딘 블루 용액에 2-3분간 염색시킨 후, 알코올과 자일렌(xylene)으로 탈수 및 투명화하였다.
- [0081] 염색된 환부 조직의 절편은 광학현미경으로 관찰했으며, 200배율로 비만세포를 확인하였다.
- [0082] 이 또한 각 개체 당 3개의 시료(군 별 21개) 당 한 장의 디지털 현미경 사진을 얻었으며 ImageJ를 이용하여 각 디지털 현미경 사진 상 비만세포의 수를 센 후 각 군 별로 평균치를 계산하였다.
- [0083] 그 결과, 도 6의 A에서 Control군에 비해 Cap군에서 화살표가 가리키는 비만세포의 수가 크게 증가 된 것을 확인 하였고, HP군과 RVS-HP는 Cap군에 비해 비만세포의 수가 상대적으로 감소 된 것을 확인하였다. 더욱이 RVS-HP군은 비만세포의 수가 HP군보다 더욱 감소된 것을 확인하였다.
- [0084] 도 6의 A를 수치화시킨 B에서도 Control군의 비만세포의 수는 평균 15.83 ± 3.33 개 인 것에 비해 Cap군은 평균

54.33±10.88개로 비만세포의 수가 크게 증가 한 것을 확인 할 수 있었다.

[0085] 그러나, HP와 RVS-HP 군은 각각 평균 35.50±5.57, 28.41±3.23개로 비만세포의 수가 Cap 군에 비해 감소 된 것을 확인할 수 있었고, RVS-HP 군은 HP 군보다 더 유의하게 감소 한 것을 확인하였다. 이를 통하여 RVS-HP는 HP보다 더욱 효과적으로 캡사이신으로 인한 비만세포의 증가를 감소시킨다는 것을 규명하였다.

[0087] [실험예 7]

[0088] 캡사이신으로 인한 미엘로페르옥시다아제(myeloperoxidase; MPO) 활성의 증가에서 RVS-HP의 효과를 입증하기 위하여, 캡사이신이 투여되지 않은 control군, 캡사이신이 투여된 Cap 군, 캡사이신이 투여된 후 HP가 적용된 HP 군 및 RVS-HP가 적용된 RVS-HP 군의 4군으로 나누어 그 효과를 비교 분석하였다.

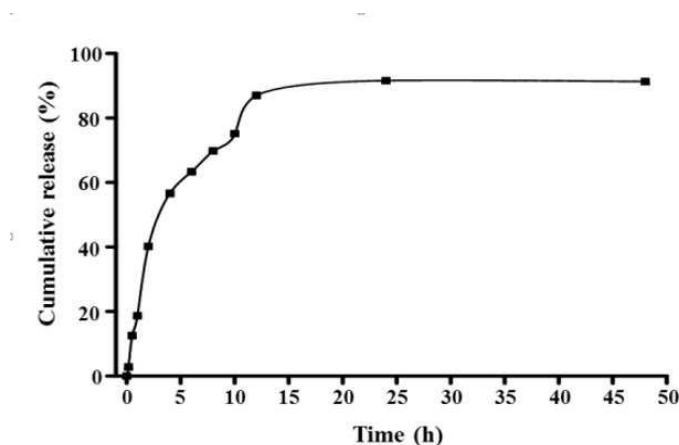
[0089] 8주령의 실험동물들의 우심실에서 1ml의 혈액을 채취한 후, 혈장을 분리하기 위하여 4℃에서 10,000g로 원심분리하였다. 분리된 혈장을 0.167 mg/ml o-디아니시딘 하이드로클로라이드(o-dianisidine hydrochloride) 및 0.0005% 과산화수소(hydrogen peroxide)가 함유된 2.9ml의 0.05m 포스페이트 완충 용액(pH 6.0)에 혼합하였다. 460nm에서의 흡광도 변화는 UV spectrophotometer(Shimadzu, 일본)를 이용하여 25℃에서 5분 동안 측정하였다. 각 군 별 미엘로페르옥시다아제 활성도 평균값은 control 군의 활성도 평균값의 %로 전환하여 표현하였다.

[0090] 그 결과, 도 7과 같이, Control군의 미엘로페르옥시다아제 활성도를 100으로 기준으로 다른 군들의 활성도를 비교하였을 때, Control군은 100.00±6.29%인 것에 비해 Cap군은 136.57±41.86% 로 미엘로페르옥시다아제 활성이 크게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 그러나, HP와 RVS-HP 군은 각각 80.38±17.06, 76.59±9.66%로 미엘로페르옥시다아제 활성이 Cap 군에 비해 감소 된 것을 확인할 수 있었고, RVS-HP 군은 HP 군보다 약간 더 감소한 것을 확인하였다. 이를 통하여 RVS-HP는 HP보다 더욱 효과적으로 캡사이신으로 인한 미엘로페르옥시다아제 활성의 증가를 감소 시킨다는 것을 규명하였다.

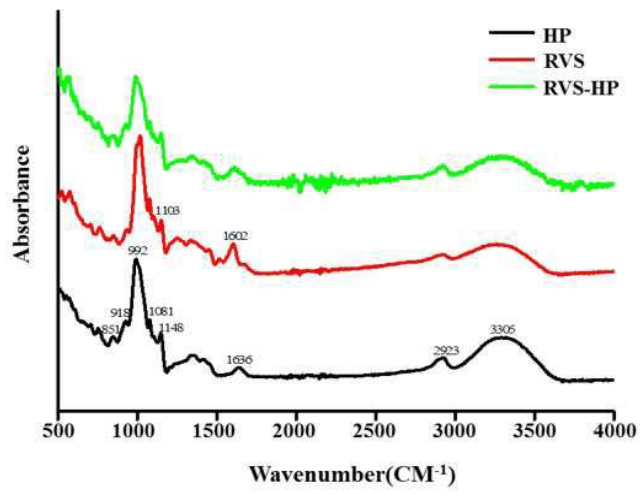
[0092] 본 명세서에 기재된 실시예와 도면에 도시된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 일 실시예에 불과할 뿐이고 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형 예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.

도면

도면1



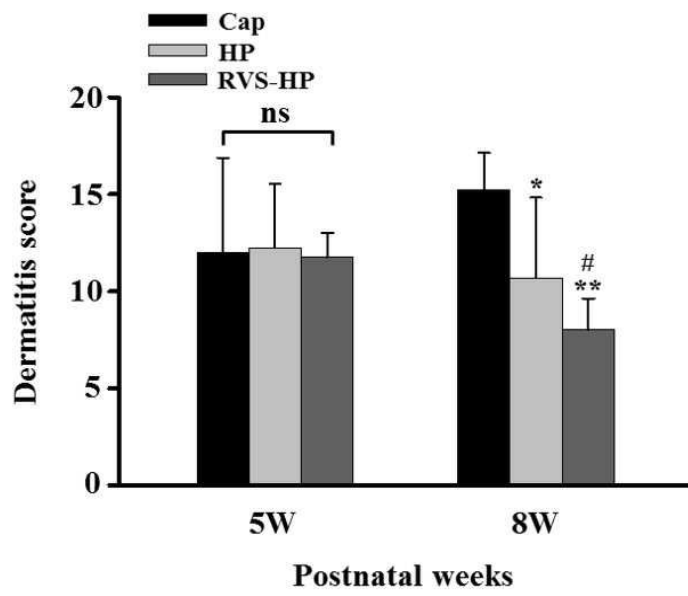
도면2



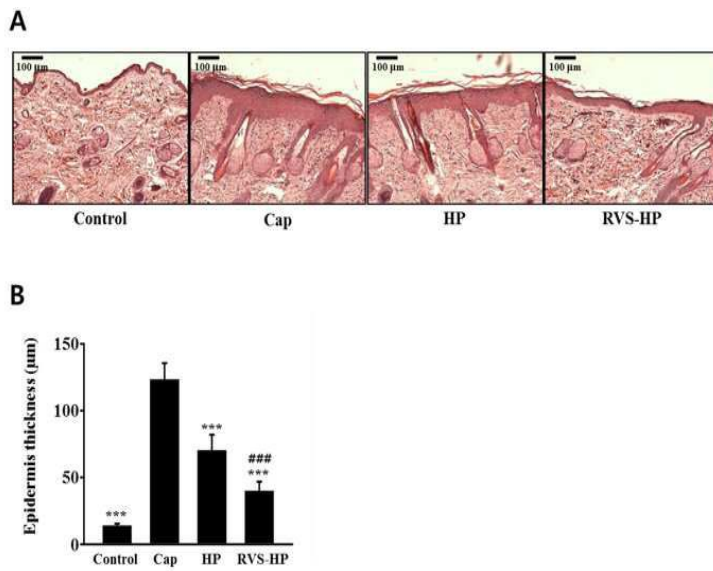
도면3



도면4

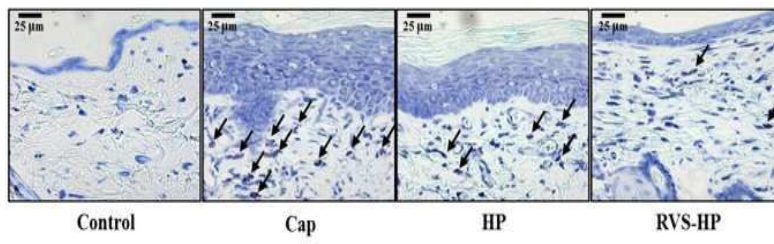


도면5

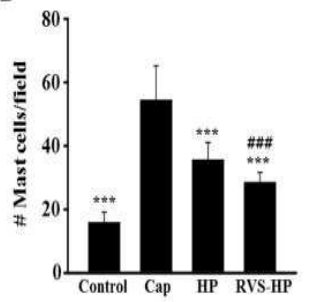


도면6

A



B



도면7

