(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0129858
(43) 공개일자 2010년12월10일

(51) Int. Cl.
A61K 31/353 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0048427
(22) 출원일자 2009년06월02일
심사청구일자 2009년06월02일

(71) 출원인
중앙대학교 산학협력단
서울 동작구 흑석동 221
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
이민원
서울 동작구 사당3동 롯대 낙천대아파트 107동 1903호
최영욱
서울시 서초구 반포본동 주공아파트 112-105
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양부현, 김승진

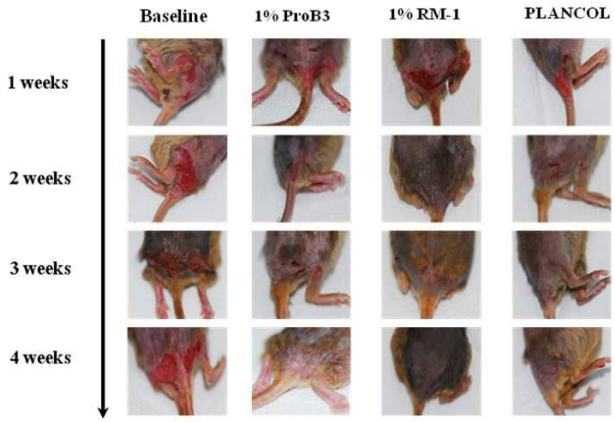
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 프로시아니딘 B3 화합물 또는 신규의 축합형 타닌 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염 치료용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 화학식 1로 표시되는 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물 또는 화학식 2로 표시되는 축합형 타닌(condensed tannin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염 치료, 개선 또는 완화 용도의 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 화학식 1 및 화학식 2의 화합물은 아토피 피부염 동물모델 NC/Nga 마우스에서 아토피 피부염의 치료 효능을 보이며, NC/Nga 마우스로부터 채취한 혈액의 호산성백혈구(eosinophil)의 수 및 IgE의 수준을 감소시키고, 혈액 및 림프구에서의 Th2 면역조절 사이토카인인 IL-4, 5 및 13의 수준을 감소시키며, NC/Nga 마우스 피부로부터 채취한 세포의 iNOS의 COX mRNA 및 단백질의 발현을 억제하는 효능을 가지므로 아토피 피부염의 면역치료제로 개발될 가능성이 매우 높다.

대 표 도 - 도11



(72) 발명자

서성준

경기도 안양시 동안구 비산동 245번지 뉴타운아파트 9동 807호

김성규

서울시 구로구 구로동 429-225

최선은

서울특별시 금천구 시흥5동 1017번지 신도브래뉴아파트 101동 1206호

박관희

서울특별시 동작구 흑석1동 204-26번지 202호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10574

부처명 서울특별시

연구관리전문기관

연구사업명 서울시 산학연 협력사업 - 기술기반구축사업

연구과제명 분자영상기반 난치병 치료 신기술 개발

기여율

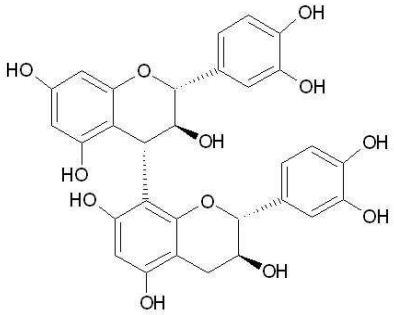
주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2005년 12월 01일 ~ 2010년 11월 30일

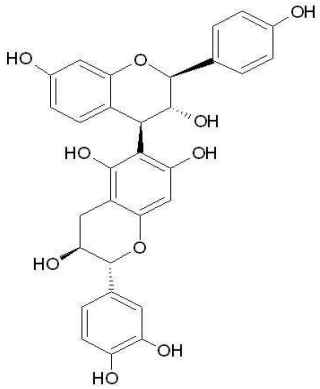
특허청구의 범위

청구항 1

(a) 하기 화학식 1 또는 하기 화학식 2로 표현되는 화합물의 약제학적 유효량; 및 (b) 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 아토피 피부염의 치료 또는 예방용 약제학적 조성물.



[화학식 1]



[화학식 2]

청구항 2

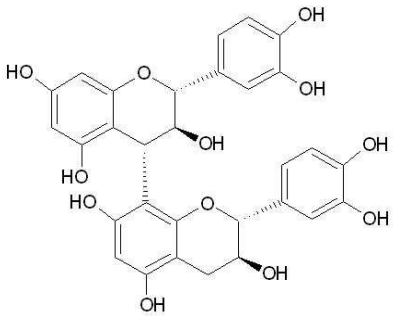
제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 피부 외용 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 3

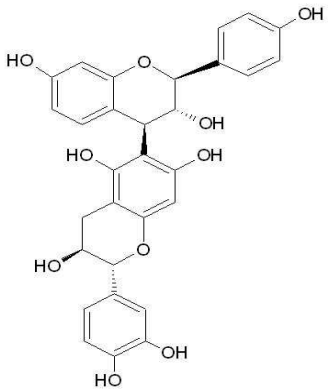
제 2 항에 있어서, 상기 피부 외용 제형은 파우더, 젤, 연고, 크림, 액체 또는 에어로졸 제형인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 4

(a) 하기 화학식 1 또는 하기 화학식 2로 표현되는 화합물의 화장품학적 유효량; 및 (b) 화장품학적으로 허용되는 담체를 포함하는 아토피 피부염의 개선용 화장품학적 조성물.



[화학식 1]



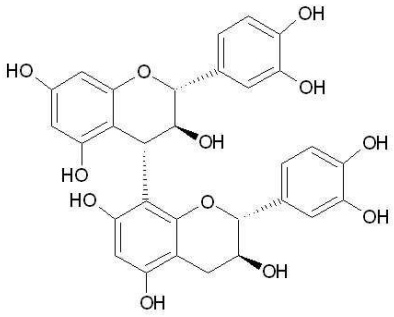
[화학식 2]

청구항 5

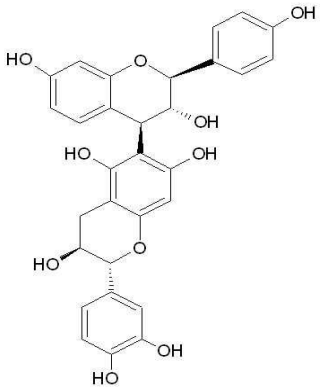
제 4 항에 있어서, 상기 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 화장품학적 조성물.

청구항 6

하기 화학식 1 또는 하기 화학식 2로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염 개선용 기능성 식품 조성물.



[화학식 1]



[화학식 2]

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 프로시아니딘 B3 화합물 또는 신규의 축합형 타닌 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 아토피라는 용어는 어원상 "이상한" 또는 "부적절한"이란 의미를 갖는 용어이다. 아토피성 피부염은 대부분 유아기나 소아 때 발생하여 호전과 악화를 반복하는 비교적 흔한 만성 염증성 피부질환으로, 아토피의 개인 또는 가족력, 심한 가려움증 및 습진의 3가지 특징으로 진단할 수 있으며 감염, 정신적인 스트레스, 계절과 기후변화, 자극 및 알레르기에 의해 악화될 수 있다.

[0003] 아토피 피부염의 병인론은 아직 확실히 밝혀 있지 않지만, 현재까지의 연구에 의하면 IgE 항체의 증가에 따른 과감작 반응에 의하거나, 세포매개성 면역기능의 저하로 나타나는 T 림프구의 불균열 분화에 의한 기능적 결여, 피부에 존재하는 아드레날린 수용체의 차단 등이 발병의 원인이라는 설 등이 있다. 따라서, 아토피 피부염은 면역학적인 이상이 관여하는 유전적인 질환으로 생각되고 있다.

[0004] 아토피성 피부염의 치료 및 관리를 위해, 대부분의 피부과 진료 시 피부 표면의 수분을 유지시켜주는 보습제와 함께 염증반응을 호전시키기 위한 스테로이드 호르몬 즉, 국소 부신피질호르몬 제제를 동시에 처방하는 하는 것이 일반적이다. 하지만, 국소 부신피질호르몬을 장기간 사용하는 경우, 피부 위축, 혈관 확장, 색소 탈실 및 팽창 선조의 발생 등 다양한 피부 부작용을 야기 시킨다는 문제점이 있다. 따라서, 이러한 부작용을 나타내지 않으면서, 항염증 효능을 보유하는 아토피 치료용 원료나 제약의 개발 필요성이 꾸준히 대두되고 있는 상황이다.

[0005] 찔레나무(Rosa multiflora Thunberg)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 식물로 한국, 중국, 일본 등 동아시아에 널

리 분포하고 있다. 길이는 5m 정도이고, 전체에 밑을 향한 가시가 드문드문 있다. 잎은 어긋나고 홀수 1회 깃꼴 겹잎이며 잎자루와 주맥에 가시가 있다. 작은 잎은 5-7 개로 달걀 모양 또는 달걀을 거꾸로 세운 듯한 모양이고 길이 15-45 mm, 나비 5-28 mm이다. 작은 잎의 앞면은 녹색이고 뒷면은 연한 녹색 또는 회색 빛을 띤 녹색이다. 가장자리에 날카로운 톱니는 있으며 털이 없는 것도 있다. 턱잎은 녹색이며 빗살같이 깊게 갈라지고 끝이 뾰족하다. 꽃은 5-6월에 피며, 흔히 붉은색이지만 다른 여러 가지 색이 있다. 꽃자루와 작은 꽃자루에 선모가 있는 것도 있고 없는 것도 있다. 수술은 꽃잎보다 짧고 암술대는 합쳐져서 1 개이며 수술대와 길이가 같다. 열매는 9월에 익는다. 덩굴을 벋으며 장미꽃을 피워서 이런 이름이 붙었으며 옛날에는 찔레 또는 덩굴찔레라고 하였다(식품원재료 검색, 식약청).

[0006] 예로부터 찔레나무의 약용부위로는 주로 열매로써 영실(Rosae Multiflorae Fructus)이 이뇨제로 민간에서 쓰이고 있으나 찔레나무 뿌리인 '장미근'은 당뇨, 출혈, 류마티스 관절염, 옴 등에 사용되고 있다. 장미근을 사용한 연구보고는 거의 없으며, 장미근에서 몇 종의 트리테르펜(triterpene) 및 리그난(lignan)을 분리하였다는 보고가 있으며, 대한민국 공개특허 제10-2002-0086326호에는 찔레나무 추출물과 이로부터 분리한 프로시아니딘 B3(procyanidin B3) 화합물을 유효성분으로 함유하는 항산화 활성의 화장품 조성물에 관해 개시되어 있다. 그러나, 찔레나무로부터 얻은 추출물 및 이 추출물에 포함된 활성 화합물에 대해서 아토피 피부염의 치료 효능에 대해서는 아직 보고되어 있지 않다.

[0007] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0008] 본 발명자들은 아토피 피부염의 치료효능을 갖는 활성성분을 천연물로부터 찾기 위해 연구 노력하였다. 그 결과 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물로부터 분리한 단일화합물인 프로시아니딘 B3(procyanidin B3) 화합물과 신규의 축합형 타닌 화합물이 아토피 피부염 유발 동물모델인 Nc/Nga 마우스를 사용한 실험 및 다양한 인 비보(in vivo) 실험에서 매우 우수한 아토피 피부염 치료 효능을 나타낸다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

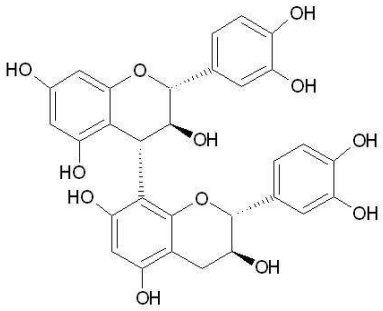
[0009] 따라서, 본 발명의 목적은 프로시아니딘 B3(procyanidin B3) 화합물 또는 신규 축합형 타닌 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염 치료 또는 개선용 조성물을 제공하는 것에 있다.

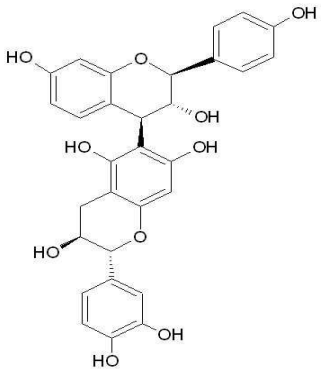
[0010] 본 발명의 목적 및 장점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구의 범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제 해결수단

[0011] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 하기 화학식 1로 표현되는 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물 또는 하기 화학식 2로 표현되는 축합형 타닌(tannin) 화합물의 약제학적 유효량; 및 (b) 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 아토피 피부염의 치료 또는 예방용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0012]





[0013] [화학식 1] [화학식 2]

[0014] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 상기 화학식 1로 표현되는 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물 또는 상기 화학식 2로 표현되는 축합형 타닌(tannin) 화합물의 화장품학적 유효량; 및 (b) 화장품학적으로 허용되는 담체를 포함하는 아토피성 피부염의 개선용 화장품학적 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 또 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 상기 화학식 1로 표현되는 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물 또는 상기 화학식 2로 표현되는 축합형 타닌(tannin) 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염 개선용 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명자들은 아토피 피부염의 치료효능을 갖는 활성성분을 천연물로부터 찾기 위해 연구 노력하였다. 그 결과 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물로부터 분리한 단일화합물인 프로시아니딘 (procyanidin) B3 화합물과 신규의 축합형 타닌 화합물이 아토피 피부염 유발 동물모델인 Nc/Nga 마우스를 사용한 실험 및 다양한 인 비보(in vivo) 실험에서 매우 우수한 아토피 피부염 치료 효능을 나타낸다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0017] 본 발명 조성물의 유효성분인 상기 화학식 1로 표현되는 프로시아니딘(Procyanidin) B3 화합물 또는 상기 화학식 2로 표현되는 축합형 타닌(condensed tannin) 화합물은 천연물, 예를 들어 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리로부터 추출된 것을 사용할 수 있으나, 화학적으로 합성된 것도 추출된 것과 동일한 효과를 나타낸다는 것은 당업자에게 자명하다.

[0018] 본 발명의 화학식 1로 표현되는 프로시아니딘 (Procyanidin) B3 화합물 및 화학식 2로 표현되는 축합형 타닌 (condensed tannin) 화합물은 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물로부터 분리될 수 있다.

[0019] 본 발명에서 찔레나무 뿌리 추출물은 천연물로부터 추출물을 추출하는 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도, 압력의 존건 하에서 통상적인 용매를 사용하여 분리할 수 있다.

[0020] 본 발명의 찔레나무 뿌리 추출물을 추출하기 위한 추출 용매로는 추출공정에서 일반적으로 사용할 수 있는 용매를 사용할 수 있는데, 물, 탄소수 1-4개의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 및 1,3-부틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 용매를 사용하여 추출되는 것이 바람직하다.

[0021] 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물로부터는 유효성분인 화학식 1 또는 화학식 2으로 표현되는 단일화합물은 통상적인 화합물의 분리 정제 방법에 의해 얻을 수 있다. 예컨대, 실리카겔 또는 셀라이트(celite)겔 컬럼을 이용한 여과(filtration), 액체 컬럼 크로마토그래피를 이용한 크기배제(Size-exclusion) 크로마토그래피, 이온교환(Ion-exchange) 크로마토그래피, 분배 크로마토그래피, 친화(Affinity) 크로마토그래피 또는 이들 크로마토그래피의 조합을 이용하여 분리 정제할 수 있다.

[0022] 천연물 추출물로부터 분리된 단일 화합물은 MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectroscopy), EI MS (Electron Ionization Mass Spectroscopy), CI (Chemical Ionization Mass Spectroscopy), FABI (Fast Atom Bombardment Ionization)와 같은 질량분석법과, 적외선 분광법(IR Sectrum), 핵자기공명법(NMR, Nuclear Magnetic Resonance), CD (Circular Dichroism) 등을 이용하여 최종적으로 동정할 수 있다.

[0023] 본 발명 조성물의 유효성분인 화학식 1의 프로시아니딘 B3 화합물 및 화학식 2의 축합형 타닌 화합물은 아토피 피부염을 유발시킨 동물모델 NC/Nga 마우스에서 아토피 피부염 치료 효능을 나타내고, 아토피성 피부염에서 증

가되는 호산성백혈구(eosinophil)의 수와 IgE (immunoglobulin E)의 수준을 감소시키며, 아토피성 피부염의 병변과 관련된 Th2 면역조절 사이토카인인 IL(interleukin)-4, 5, 13의 발현을 감소시키고, NC/Nga 마우스의 피부 세포에서 iNOS 및 COX-2의 mRNA 및 단백질 발현을 억제한다.

[0024] 본 발명의 아토피성 피부염 치료 또는 예방용 약제학적 조성물에는 유효성분으로서 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다.

[0025] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 *Remington's Pharmaceutical Sciences* (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

[0026] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 한편, 본 발명의 약제학적 조성물의 경구 투여량은 바람직하게는 1일 당 0.001-100 mg/kg(체중)이다.

[0027] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구로 투여되는 경우, 피부에 국소적으로 도포, 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물이 아토피성 피부염의 치료를 위해 적용되는 점을 감안하면, 조성물의 투여는 피부에 국소적으로 도포되어 이루어지는 것이 바람직하다.

[0028] 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분인 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.

[0029] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캅셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0030] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 약제학적 조성물은 피부외용 제형을 갖는다. 피부외용 제형은 특별히 한정되지 않으며 바람직하게는 파우더, 젤, 연고, 크림, 액체 또는 에어로졸 제형이다.

[0031] 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 아토피성 피부염 개선용 화장품학적 조성물에 유효성분으로 사용될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어 "화장품학적 유효량"은 상술한 본 발명의 화합물이 아토피 피부염 개선 효능을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다.

[0032] 본 발명의 화장품 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 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, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 포옴, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0033] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0034] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0035] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르

가 있다.

[0036] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0037] 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, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0038] 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분과 담체 성분 이외에, 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

[0039] 또한, 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 아토피 피부염 개선용 기능성 식품 조성물에서 유효성분으로 사용될 수 있다.

[0040] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 향미제 또는 천연 탄수화물을 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 예를 들어, 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등); 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등); 올리고당; 폴리사카라이드(예컨대, 덱스트린, 시클로덱스트린 등); 및 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리쓰리톨 등)을 포함한다. 향미제로서 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등) 및 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)을 이용할 수 있다.

[0041] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0042] (i) 본 발명의 조성물의 유효성분인 화학식 1의 프로시아니딘 B3 화합물 또는 화학식 2의 축합형 타닌 화합물은 아토피 피부염의 치료, 경감 또는 완화 활성을 갖는다.

[0043] (ii) 본 발명 조성물의 유효성분인 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 아토피 피부염 동물모델 NC/Nga 마우스에서 아토피 피부염의 현저한 치료 효능을 보였다.

[0044] (iii) 그 밖에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 NC/Nga 마우스로부터 채취한 혈액 내에서 호산성백혈구의 수 및 IgE의 수준을 감소시켰고, 혈액 및 림프구에서의 Th2 면역조절 사이토카인인 IL-4, 5 및 13의 수준을 감소시켰으며, NC/Nga 피부로부터 채취한 세포의 iNOS의 COX mRNA 및 단백질의 발현을 억제하였다.

효 과

[0045] 이상에서 상세히 설명된 바와 같이, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물 또는 화학식 2로 표시되는 축합형 타닌 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염의 치료, 개선 또는 완화 용도의 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물의 유효성분인 화학식 1 및 화학식 2의 화합물은 아토피 피부염 동물모델인 NC/Nga 마우스에서 매우 우수한 아토피 피부염 치료 효능을 나타내고, NC/Nga 마우스로부터 채취한 혈액 내에서 호산성백혈구의 수 및 IgE의 수준을 감소시켰고, 혈액 및 림프구에서의 Th2 면역조절 사이토카인인 IL-4, 5 및 13의 수준을 감소시켰으며, NC/Nga 마우스 피부로부터 채취한 세포의 iNOS의 COX mRNA 및 단백질의 발현을 억제하는 효능을 가지므로 아토피 피부염의 면역 치료제로 개발될 가능성이 매우 높다.

[0046]

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0047] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0048] **실시예**

[0049] **실시예 1: 유효성분 화합물의 분리**

[0050] **1-1. 실험재료**

[0051] 본 실험에 사용한 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리는 2007년 3월 경동시장에서 구입한 것을 경북 영천에서 직접 채집한 찔레나무 뿌리와 비교하여 식물학적 감정을 거쳐 사용하였다.

[0052] **1-2. TLC 테스트**

[0053] 80% 아세톤으로 추출한 찔레나무 뿌리 추출물을 TLC (Thin Layer Chromatography) 테스트하였다. Silica gel 60 F_{254} plate 를 사용하여 벤젠:에틸포메이트:포름산=1:7:1 이동상 조건하에 10% 황산 및 아니스알데히드(anisaldehyde) 황산을 뿌린 뒤 가열하여 확인하는 방법과, $FeCl_3$를 이용하여 발색시키는 방법을 사용하여 각 밴드를 확인하였다(도 2 참조).

[0054] **1-3. 추출 및 성분 분리 및 구조 동정**

[0055] 음건한 찔래나무 뿌리 재료 (1.7 kg)를 80% 아세톤(acetone)으로 실온에서 24 시간 동안 3회 추출하여 여과 후 그 추출액을 감압 농축하여 추출물 160 g 을 얻었다. 추출물을 H_2O에 현탁하여 Celite 545 (Duksan pure chemical, Ansan, Korea)으로 감압 여과한 후 수용성 부분에 대하여 Sephadex LH-20 column chromatography (2 kg, 10 ㎐ 80 cm)를 실시하였다. 이동상은 물에서부터 메탄올을 10% 씩 올려 100% 까지 농도를 높였으며, 총 3개의 서브-분획(sub-fraction)으로 나누었다. 그 중 분획 2 (Fr. 2)에 대해서는 MCI-gel CHP20P (600 g, 5 X 60 cm)에 물-메탄올 농도구배 시스템을 이용하여 총 4개의 서브-분획(subfraction)으로 나눈 후 반복적으로 MPLC (middle pressure liquid column chromatography)를 실시하여 150 mg 의 catechin-(4α→6)-catechin (ProB-3)와 237 mg 의 ent-guibourtinidol-(4β→6)-catechin (RM-1)을 얻었다.

[0056] **실시예 2: 구조동정**

[0057] **2-1. catechin-(4α→6)-catechin (Procyanidin B-3)의 구조동정**

[0058] 분리한 프로시아니딘(Procyanidin) B3 화합물의 성상 및 구조 데이터는 다음과 같았다.

[0059] 갈색의 무정형 분말

[0060] EI-MS m/z : 578.1655 $[M]^+$ (도 4 참조)

[0061] IR $\upsilon_{max}^{KBr}Cm^{-1}$: 3350 (OH), 1600 and 1475 (aromatic C=C) cm-1 (도 5 참조)

[0062] 1H-NMR (600 MHz, DMSO-d6 + D2O) and 13C-NMR (125 MHz, DMSO-d6 + D2O) : 데이터는 하기 표 1에 나타내었다.

[0063] [표 1] Procyanidin B-3의 ^{1}H- 및 ^{13}C-NMR 데이터(in DMSO-d_6 + D_2O)

Positions		ProB-3		Conformer of ProB-3	
		δ_H(mult,J,Hz)[a]	δ_C[b]	δ_H(mult,J,Hz)[a]	δ_C[b]
A and C rings	2	4.20 (d, 7.8)	82.9	4.25 (d, 7.8)	82.7
	3	4.23 (m)	71.4	4.02 (m)	71.9
	4_{ax}	4.14 (d, 9.6)	37.5	4.09 (d, 9.6)	37.6
	5		156.3		156.5
	6	5.60 (d, 2.1)	96.2	5.56 (d, 2.1)	96.2
	7		157.7		157.6
	8	5.66 (d, 2.1)	94.6	5.74 (d, 2.1)	95.3
	9		153.8		153.9
	10		106.6		106.2
B ring	1		131.3		130.8
	2	6.83 (d, 1.8)	115.3	6.60 (d,1.8)	115.3
	3		144.8		144.2
	4		145.0		144.3
	5	6.68 (d, 8.1)	115.6	6.56 (d, 8.1)	116.2
	6	6.73 (dd, 1.8, 8.1)	119.3	6.28 (dd, 1.8, 8.1)	117.9
D and F rings	2	4.37 (d, 8.4)	81.7		80.8
	3	3.81 (m)	67.0	3.51 (m)	67.1
	4_{ax}	2.37 (dd, 8.7, 15.9)	29.8	2.32 (dd, 7.8, 15.9)	28.5
	4_{eq}	2.76 (dd, 6.0, 15.9)		2.52 (dd, 5.4, 15.9)	
	5		155.0		154.6
	6	5.84 (*s*)	96.2	6.00 (s)	96.2
	7		157.7		157.6
	8		108.3		108.8
	9		153.5		153.5
	10		99.4		100.2
E ring	1		131.3		131.5
	2	6.80 (br s)	115.2	6.54 (br, s)	114.9
	3		145.0		144.3
	4		145.1		144.4
	5	6.67 (d, 8.1)	115.4	6.49 (d, 8.1)	115.4
	6	6.63 (dd, 1.8, 8.1)	119.9	5.93 (dd, 1.8, 8.1)	119.2

[a] Recorded at 600 MHz

[0064]

[0065] **2-2. ent-guibourtinidol-(4β→6)-catechin (RM-1)의 구조동정**

[0066] 신규 분리한 축합형 타닌계 화합물 RM-1의 성상 및 구조 데이터는 다음과 같았다.

[0067] 붉은 빛을 띤 갈색 무정형 분말,

[0068] $[\alpha]_D^{25}$: +100°C (c 0.0014, MeOH)

[0069] HRFAB-MS m/z 545.1453$[M-H]^-$(calculated for C30H25O10,545.1448) (도 6 참조)

[0070] IR υ_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3350 (OH),1600 and 1475 (aromatic C=C)cm^{-1} (도 7 참조)

[0071] c.d. $[\Theta]_{286}$ 22.25, $[\Theta]_{281}$ 0,$[\Theta]_{272}$ -35.18, $[\Theta]_{248}$ 0,$[\Theta]_{243}$ 18.19,$[\Theta]_{239}$ 0 (도 8 참조)

[0072] ^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6 + D_2O) and ^{13}C-NMR (125MHz, DMSO-d_6 + D_2O) : 데이터는 아래 표 2에 나타내었다.

[0073] 2D-NMR에 기초한 상관관계는 도 9에 나타내었다.

[0074] [표 2] RM-1의 ^{1}H- 및 ^{13}C-NMR 데이터(in DMSO-d_6 + D_2O)

Positions		RM-1		Conformer of RM-1	
		δ_H (mult,J,Hz)[a]	δ_C[b]	δ_H (mult,J,Hz)[a]	δ_C[b]
A and C Rings	2	4.44 (d, 9.3)	83.1	4.40 (d, 9.3)	83.1
	3	4.48 (t, 9.3)	68.2	4.46 (t, 9.3)	68.5
	4_{eq}	4.34 (d, 9.3)	40.7	4.31 (d, 9.3)	40.7
	5	6.48 (d, 9.0)	128.9	6.30 (d, 9.0)	128.3
	6	6.17 (dd, 2.4, 9.0)	108.5	6.08 (dd, 2.4, 9.0)	108.0
	7		155.4		155.2
	8	6.07 (d, 2.4)	102.3	5.88 (d, 2.4)	102.1
	9		155.8		155.8
	10		118.5		118.1
B ring	1		130.7		131.0
	2	7.17 (d, 8.4)	129.6	7.00 (d, 8.4)	129.9
	3	6.72 (d, 8.4)	115.0	6.72 (d, 8.4)	115.1
	4		157.1		157.2
	5	6.72 (d, 8.4)	115.0	6.72 (d, 8.4)	115.1
	6	7.17 (d, 8.4)	129.6	7.00 (d, 8.4)	129.9
D and F rings	2	4.51 (d, 7.8)	81.6	3.88 (d, 9.0)	81.3
	3	3.77 (ddd, 5.4, 7.8, 8.4)	67.1	3.62 (m)	66.9
	4_{ax}	2.41 (dd, 8.4, 15.9)	28.9	2.27 (dd, 9.6, 15.9)	29.8
	4_{eq}	2.80 (dd, 5.4, 15.9)		2.80 (dd, 5.4, 15.9)	
	5		154.5		154.1
	6		106.7		106.8
	7		154.1		154.1
	8	5.90 (s)	96.1	6.07 (s)	95.0
	9		155.6		155.0
	10		99.8		100.4
E ring	1		130.9		131.6
	2	6.75 (d, 1.8)	114.9	6.67 (d, 1.8)	115.1
	3		144.6		144.7
	4		145.0		145.0
	5	6.67 (d, 8.4)	115.3	6.66 (d, 8.4)	115.3
	6	6.63 (dd, 1.8, 8.4)	118.8	6.44 (dd, 1.8, 8.4)	119.2

[a] Recorded at 600 MHz

[0075]

[0076] **실시예 3: 항아토피 효능 평가**

[0077] **3-1. 아토피 피부염 동물 모델 확립**

[0078] 총 20 마리의 5주령의 암컷 Nc/Nga 마우스((Vestergaard C, Yoneyama H, Murai M, Nakamura K, Tamaki K, Terashima Y, Imai T, Yoshie O, Irimura T, Mizutani H and Matsushima K. Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions, J Clin Invest 104(8),1097-105; 1999)를 12시간 명(light)/12시간 암(dark) 조건 사이클, 22-23℃, 습도 55ㅁ 15℃ 하에서 마이트 패취(mite patch)와 DPCP를 이용하여 아토피 피부염을 유도하였고, 실험군은 다음과 같은 4 그룹으로 나누어 실험하였다.

[0079] 그룹 I (Group I) : 음성대조군으로 부형제(vehicle)투여군 (baseline)

[0080] 그룹 II (Group II) : 실험군으로서 1% ProB-3 화합물 투여군

[0081] 그룹 III (Group III) : 실험군으로서 1% RM-1 화합물 투여군

[0082] 그룹 IV (Group IV) : 양성대조군으로서 1% plancol 투여군

[0083] **3-2. 크림 샘플의 제조 (연고제)**

[0084] O/W 크림은 아래의 표 3의 조성에 따라 제조하였다.

[0085] [표 3] ProB3 또는 RM-1을 포함하는 O/W 크림의 조성

[0086]

Ingredients	(w/w %)
Oil phase	
Stearic acid	5.0
Cetyl alcohol	2.0
Mineral oil	7.0
Aqueous phase	
Glycerin	10.0
Polyglyceryl-3 methylglucose distearate	3.0
Pro-B-3 or RM-1	1.0
Water	q.s.
Total	100

[0087] **3-3. 효능 평가**

[0088] **3-3-1. 임상평가(SCORAD)**

[0089] 활성성분을 포함하는 샘플(sample)과 음성대조군 및 양성대조군의 샘플을 피부에 도포한 NC/Nga 마우스들의 아토피 피부염의 피부 외관 형상을 4주 동안 관찰하였다(도 11의 사진 참조). 또한, 24주 동안 SCORAD 법으로 홍반(erythema), 출혈(hemorrhage), 부종(edema), 찰과상(excoriation), 진무름(erosion), 스케일링(scaling) 및 건조(dryness)의 정도를 수치(score)로 합산하여 평가하였다(도 12 참조). SCORAD 평가 결과 1% ProB-3와 1 % RM-1을 투여한 군에서 아토피 피부염이 호전됨이 확인되었다.

[0090] **3-3-2. 호산성 백혈구의 계수 (Eosinophil Count)**

[0091] 모세관 튜브(Capillary tube)에 NC/Nga 마우스 혈액을 채취하고, 마우스 전혈 30 ㎕에 식염수(saline) 150 ㎕를 첨가하여 6배 희석하였다. Sysmex XE-2100 hematology analyzer를 이용하여 호산성백혈구(eosinophil)를 계수하였다. 호산성백혈구의 산출은 말초혈액 도말 슬라이드를 제작하고, Wright-Giemsa 염색을 한 후 200개의 백혈구를 감별 계산하여 행하였다. 실험 결과에 의하면 1% Pro-B3와 1% RM-1을 투여한 후에 호산성 백혈구(Eosinophil)의 수가 투여 전에 비해 현저히 줄었다(도 13 참조).

[0092]

[0093] **3-3-3. IgE 수준 측정**

[0094] 모세관 튜브(Capillary tube)에 NC/Nga 마우스 혈액을 채취하고, 마우스의 혈액내에서 ELISA 방법을 이용하여 혈청 내 IgE(immunoglobulin E)의 수준을 측정하였다. 실험결과 1%의 Pro-B3 와 1%의 RM-1 투여한 그룹에서 IgE의 수준이 투여 전에 비해 현저히 줄어들었음을 확인하였다(도 14의 결과 참조).

[0095]

[0096] **3-3-4. Th2 사이토카인(cytokine)**

[0097] Th2 사이토카인(IL-4, IL-5 및 IL-13)의 측정은 NC/Nga 마우스의 혈액과 비장(spleen)에서 샘플을 채취하여 행하였다. 혈액 샘플의 경우 대동맥에서 혈액을 채취하여 혈장(serum) 내의 Th2 사이토카인의 수준을 측정하였다. 비장 샘플의 경우 비장(spleen)을 분쇄한 후 메쉬(mesh)를 통과시켜 단일 세포(single cell)로 분리하고, RBC 용해 완충액(RBC lysis buffer)를 첨가하여 RBC를 용해시켰다. 이어서 원심분리에 의해 상등액을 제거한 후 림프구(lymphocyte) 농도가 1 X 10^6/㎖이 되도록 RPMI 배지를 첨가하여 24 웰 플레이트(well plate)에서 배양하였다. 3일 후에 배양한 배지에서의 Th2 사이토카인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 수준을 측정하였다. 측정 결과, 1%의 Pro-B3와 1%의 RM-1 투여한 후에 Th2 사이토카인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 수준이 현저히 감소하였음을 확인하였다(도 16 참조).

[0098] **3-3-5. iNOS 및 COX의 mRNA 및 단백질 발현 측정**

[0099] 아토피 피부염을 발생시킨 NC/Nga 마우스에 1% Pro-B3(화학식 1의 Procyanidin B3 화합물)와 1% RM-1(화학식 2의 신규 축합형 타닌화합물)을 투여하고 마우스 피부세포를 분리하여 iNOS 및 COX-2의 mRNA 수준을 RT-PCR 방법을 이용하여 측정하였다. mRNA 수준의 측정에 사용된 PCR 프라이머는 아래의 표와 같다.

프라이머	서 열
iNOS (65bp)	5'-CTG ATG CCT CTT CCA GGT GT-3' (sense)
	5'-GAG GGA GCC CTT TCT GAA TC-3' (anti-sense)
COX-2 (80bp)	5'-CCA CCC ATG GCA AAT TCC ATG GCA-3' (sense)
	5'-GGT GCT GCT TGT TAG GAG GTC AAG TAA AGG GC-3' (anti-sense)
GAPDH (93bp)	5'-CCA CCC ATG GCA AAT TCC ATG GCA-3' (sense)
	5'-CCC TGT TGC TGT AGC CGT AT-3' (anti-sense)

[0100]

[0101] 측정결과 1% Pro-B3와 1% RM-1의 투여 그룹에서 iNOS, COX-2의 mRNA 발현이 현저히 억제됨을 확인하였다(도 17 및 도 18 참조).

[0102] 한편, 아토피 피부염을 발생시킨 NC/Nga 마우스에 Pro-B3와 RM-1을 투여하고 마우스 피부로부터 단백질을 분리하여 웨스턴 블로팅(western blotting)을 통해 iNOS 및 COS-2 단백질의 발현량을 측정하였다. 측정결과 1% Pro-B3와 1% RM-1의 투여 그룹에서 iNOS, COX-2 단백질 발현이 현저히 억제됨을 확인하였다(도 19 및 도 20 참조).

[0103] **3-3-6. In Vivo 실험 결과의 정리**

[0104] 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리로부터 분리한 Pro-B3 및 RM-1 화합물의 항아토피 효과를 평가하기 위해 DPCP와 마이트 패취(mite patch)로 아토피 피부염을 유발시킨 Nc/Nga 마우스를 이용하여 인 비보 테스트(in vivo test)를 실시하였다.

[0105] 실험 결과, ProB3 및 RM-1 화합물은 임상적인 관찰에서 뿐만 아니라 호산성백혈구(Eosinophil)의 수, IgE 수준, Th2 사이토카인, iNOS 및 COX-2 단백질의 수준을 저해하여 항아토피 효능을 가지고 있음이 입증되었다. 이 화합물들은 아토피 예방 및 치료 물질로 개발 가능성이 매우 높다.

[0106]

[0107] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0108] 도 1는 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)의 뿌리부분 및 꽃 부분을 보여주는 사진이다.

[0109] 도 2는 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리 추출물의 TLC (Thin Layer Chromatography) 테스트한 패턴을 보여주는 사진이다. TLC는 미리-코팅된 실리카겔 60 F254 플레이트를 사용하여 이동상으로 벤젠(benzene), 에틸포르메이트(ethylformate) 및 포르메이트(formate) = 1:7:1 (부피비)에 대해 수행하였다. 도 2에서 각각 A는 10% 황산을 분무하여 스폿을 검출한 것, B는 아니스알데히드(anisaldehyde)-황산을 분무하여 스폿을 검출한 것, C는 아니스알데히드(anisaldehyde)-황산을 분무하여 가열한 후 $FeCl_3$ 용액으로 검출한 것이다. 1 : 경동시장에서 구입한 찔레나무 뿌리를 80% 아세톤으로 추출한 뒤 물에 녹여 여과시킨 것, 2 : 경북 영천에서 채집한 찔레나무 뿌리를 80% 아세톤으로 추출한 것, 3 : 찔레나무 뿌리로부터 분리한 ent-guibourtinidol-(4β→6)-catechin (RM-1), 4 : 찔레나무 뿌리로부터 분리한 catechin-(4α→6)-catechin (ProB-3).

[0110] 도 3은 찔레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 뿌리로부터 추출물, 분획물을 얻고, 다시 이로부터 화학식 1 및 화학식 2의 화합물을 분리하는 과정을 보여주는 모식도이다.

[0111] 도 4는 화학식 1의 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물의 EI-MS 스펙트럼 결과를 보여준다.

[0112] 도 5는 화학식 1의 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물의 FT-IR 스펙트럼의 결과를 보여준다.

[0113] 도 6은 화학식 2의 축합형 타닌 화합물의 EI-MS 스펙트럼 결과를 보여준다.

[0114] 도 7은 화학식 2의 축합형 타닌 화합물의 FT-IR 스펙트럼 결과를 보여준다.

[0115] 도 8은 화학식 2의 축합형 타닌 화합물의 CD 스펙트럼 결과를 보여준다.

[0116] 도 9는 화학식 2의 축합형 타닌 화합물의 COSY (H-H) 및 CMBC (C->H)의 주요 상관관계를 보여준다.

[0117] 도 10a은 화학식 1의 프로시아니딘(procyanidin) B3 화합물 (ProB-3)의 화학 구조를 보여주고, 도 10b는 화학식 2의 축합형 타닌 화합물(RM-1)의 화학구조를 보여준다.

[0118] 도 11은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여한 후 아토피 피부염을 나타내는 외관을 관찰한 사진이다. 음성대조군은 Baseline으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다.

[0119] 도 12는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여한 후 아토피 피부염의 개선정도를 SCORAD 법으로 측정한 결과이다.

[0120] 도 13은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 전 및 후의 호산성백혈구(Eosinophil)의 수를 측정한 결과를 보여준다. 음성대조군은 Baseline으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다.

[0121] 도 14는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 전 및 후의 혈청내의 IgE (immunoglobulin E)의 수준을 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)를 이용하여 측정한 결과를 보 여준다. 음성대조군은 Baseline으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다.

[0122] 도 15는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 후의 혈액내 Th2 사이토카인인 IL(interleukin)-4, IL-5 및 IL-13의 수준을 측정한 결과를 보여준다. 음성대조군은 Baseline (Blank)으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다. (student t-test; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).

[0123] 도 16은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 후의 림프구(lymphocyte)에서 Th2 사이토카인인 IL(interleukin)-4, IL-5 및 IL-13의 수준을 측정한 결과를 보여준다. 음성대조군은 Baseline (Blank)으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다. (student t-test; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).

[0124] 도 17은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 후 피부세포에서의 COX-2의 mRNA의 발현정도를 RT-PCR로 측정한 결과를 보여준다. 음성대조군은 Baseline (Blank)으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다. (student t-test; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).

[0125] 도 18은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 후 피부세포에서의 iNOS의 mRNA의 발현정도를 RT-PCR로 측정한 결과를 보여준다. 음성대조군은 Baseline (Blank)으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다. (student t-test; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).

[0126] 도 19는 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 후 피부세포에서의 COX-2의 단백질 발현정도를 웨스턴블로팅(Western Blotting)으로 측정한 결과를 보여준다. 음성대조군은 Baseline (Blank)으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다. (student t-test; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).

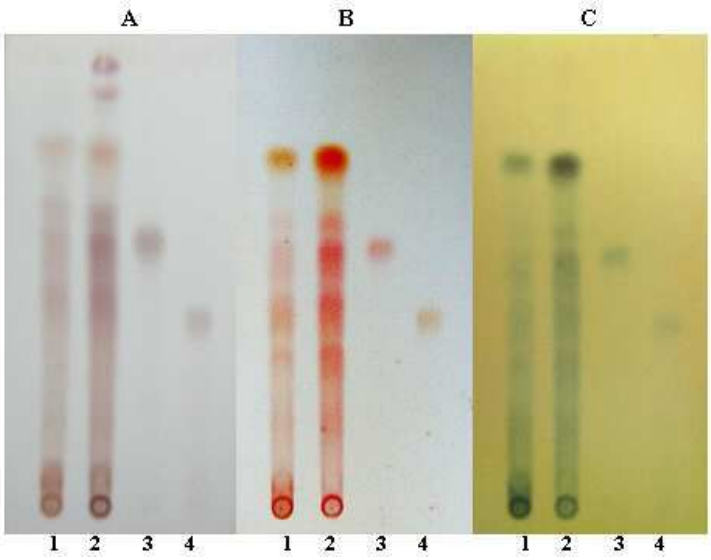
[0127] 도 20은 아토피 피부염 유발 동물모델인 NC/Nga 마우스에 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여 후 피부세포에서의 iNOS의 단백질 발현정도를 웨스턴 블로팅(Western Blotting)으로 측정한 결과를 보여준다. 음성대조군은 Baseline (Blank)으로 측정하였고 양성대조군은 PLANCOL을 투여하였다. (student t-test; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; baseline(blank)와 각 실험군을 비교, n=5).

도면

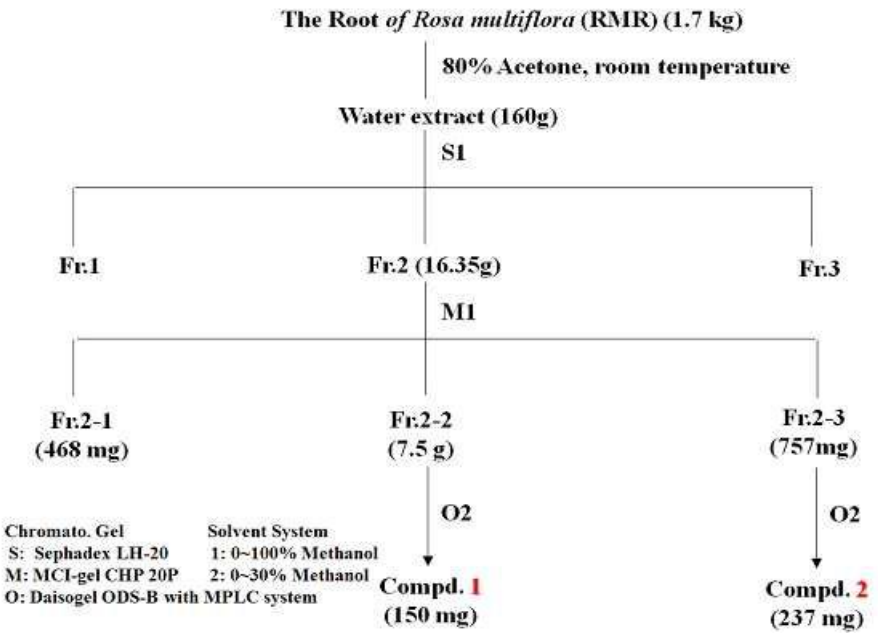
도면1



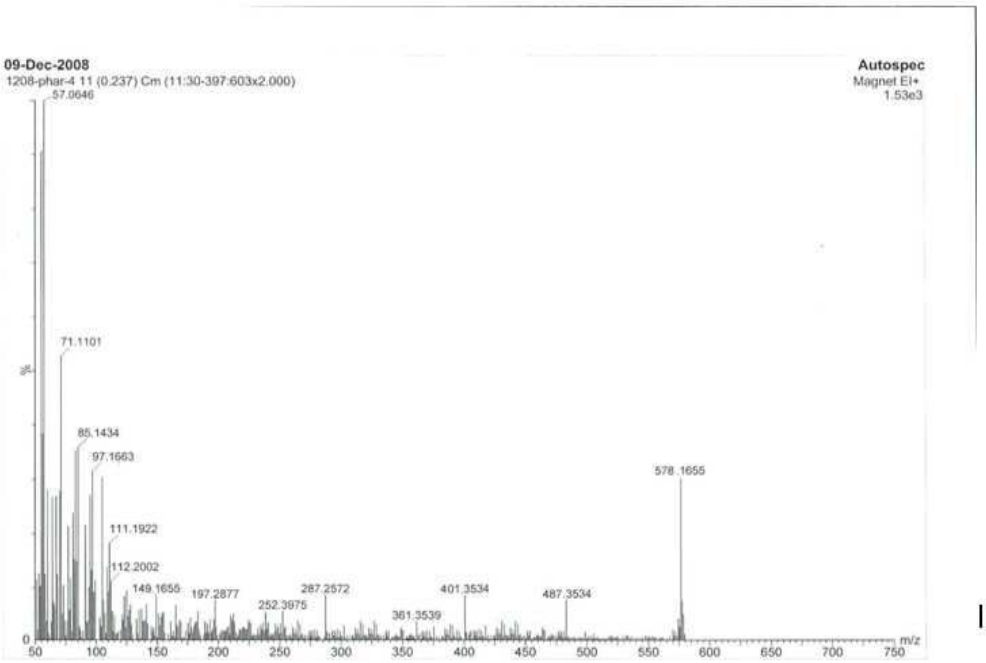
도면2



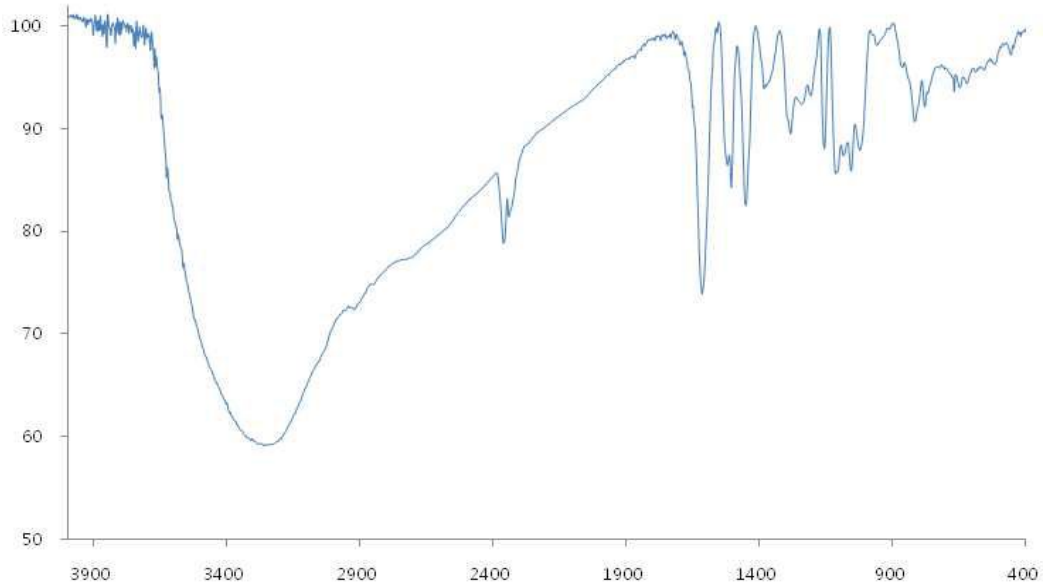
도면3


The Root of Rosa multiflora (RMR) (1.7 kg)
80% Acetone, room temperature
Water extract (160g)
S1
Fr.1
Fr.2 (16.35g)
Fr.3
M1
Fr.2-1
(468 mg)
Fr.2-2
(7.5 g)
Fr.2-3
(757mg)
O2
O2
Chromato. Gel
S: Sephadex LH-20
M: MCI-gel CHP 20P
O: Daisogel ODS-B with MPLC system
Solvent System
1: 0~100% Methanol
2: 0~30% Methanol
Compd. 1
(150 mg)
Compd. 2
(237 mg)

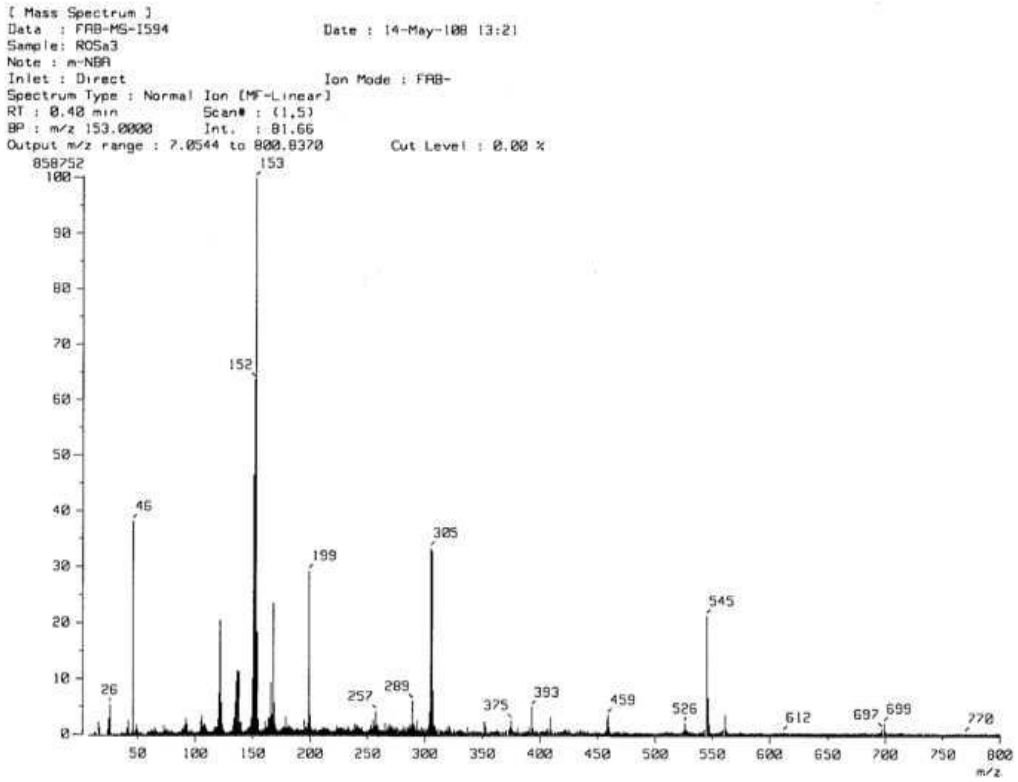
도면4


09-Dec-2008
1208-phar-4 11 (0.237) Cm (11:30-397:603x2.000)
Autospec
Magnet EI+
1.53e3
57.0646
71.1101
85.1434
97.1663
111.1922
112.2002
149.1655
197.2877
252.3975
287.2572
361.3539
401.3534
487.3534
578.1655
m/z

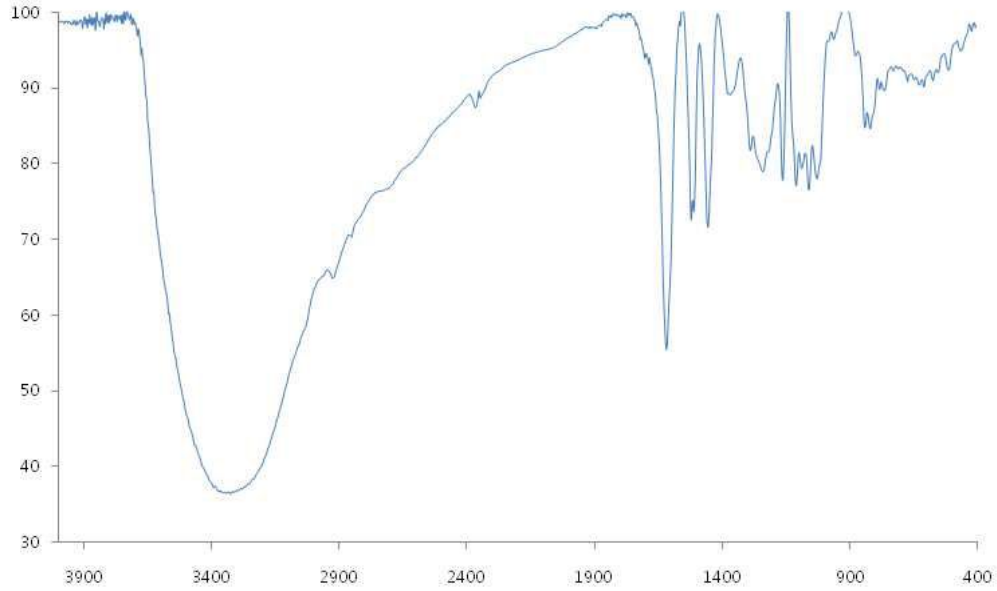
도면5


100
90
80
70
60
50
3900
3400
2900
2400
1900
1400
900
400

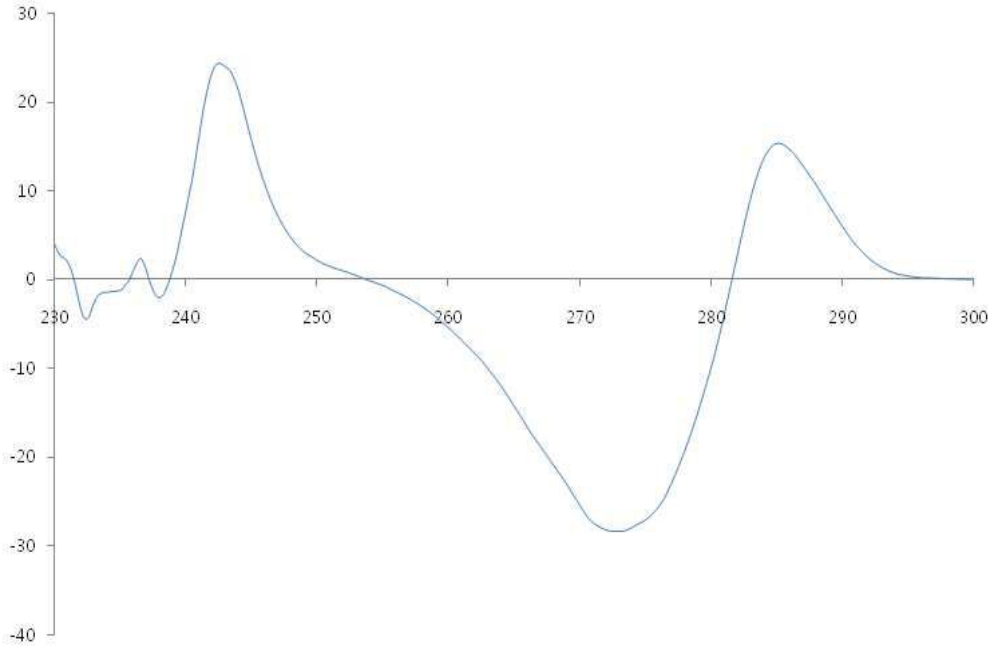
도면6


[Mass Spectrum]
Data : FAB-MS-1594
Date : 14-May-108 13:21
Sample: ROSa3
Note : m-NBA
Inlet : Direct
Ion Mode : FAB-
Spectrum Type : Normal Ion (MF-Linear)
RT : 0.40 min
Scan# : (1,5)
BP : m/z 153.0000
Int. : 81.66
Output m/z range : 7.0544 to 800.8370
Cut Level : 0.00 %
858752
153
152
46
199
305
545
26
257
289
375
393
459
526
612
697
699
770
m/z

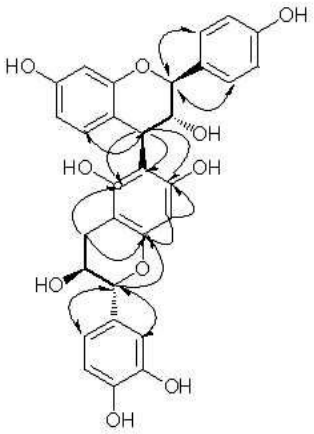
도면7


100
90
80
70
60
50
40
30
3900
3400
2900
2400
1900
1400
900
400

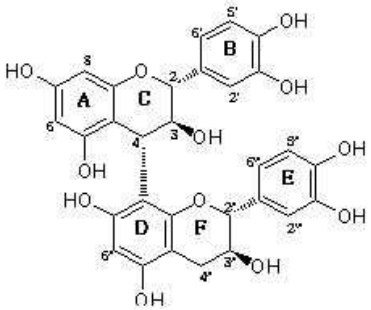
도면8


30
20
10
0
-10
-20
-30
-40
230
240
250
260
270
280
290
300

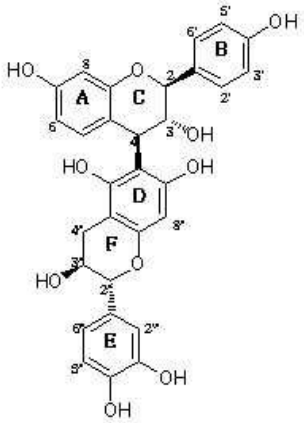
도면9



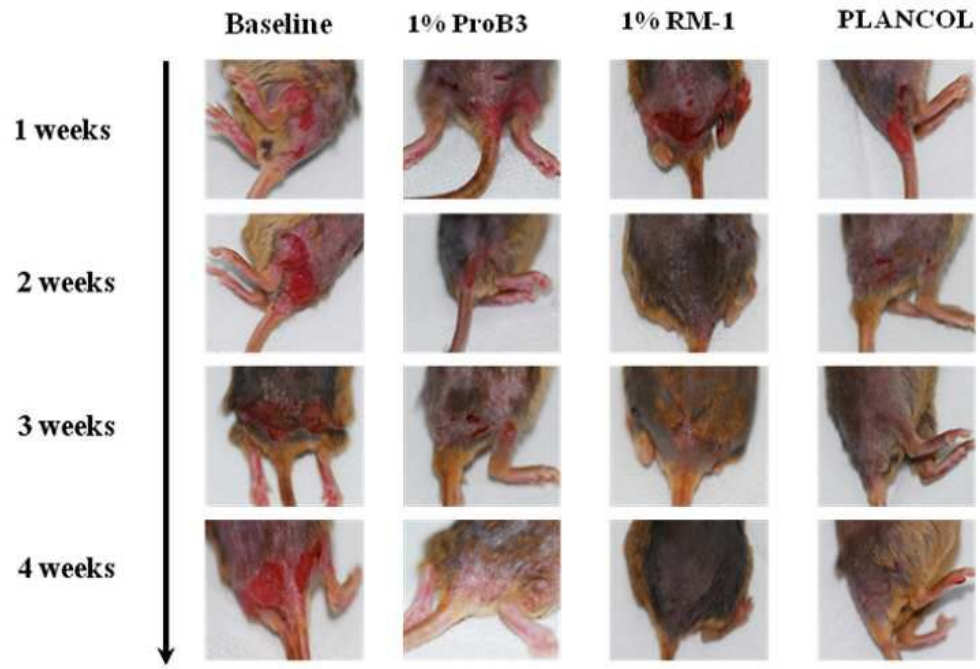
도면10a



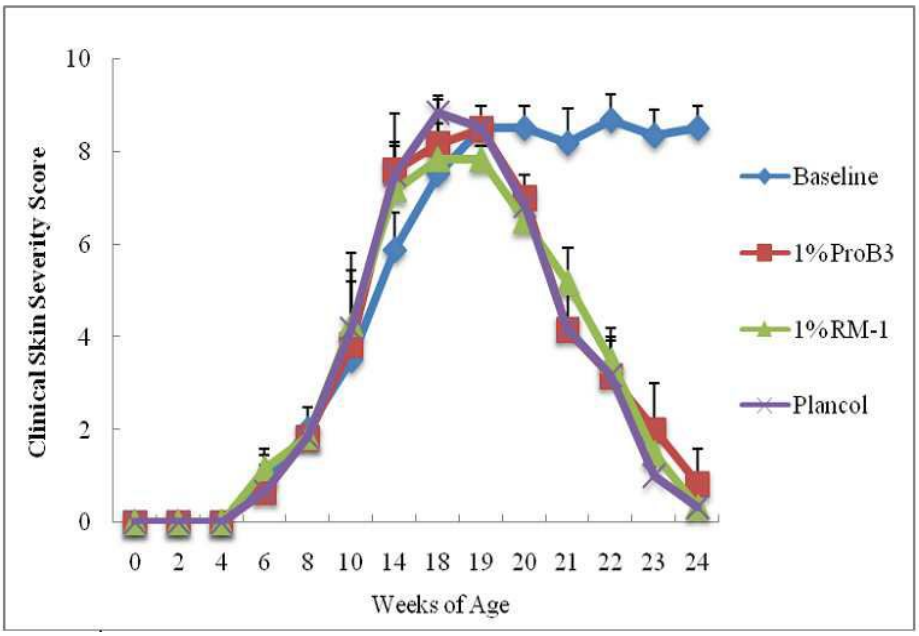
도면10b



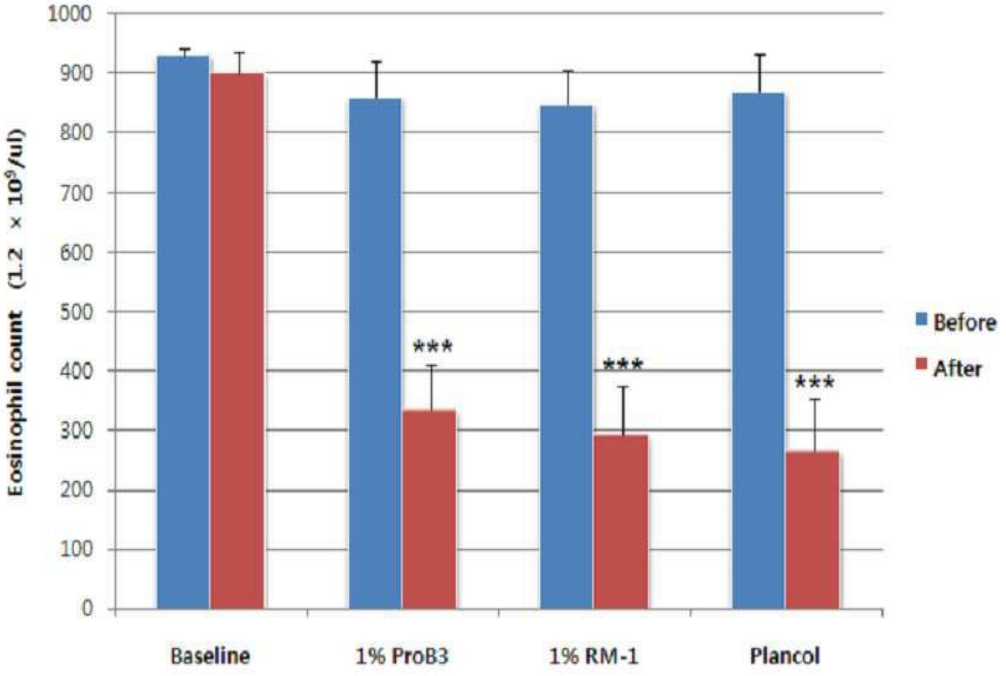
도면11


Baseline
1% ProB3
1% RM-1
PLANCOL
1 weeks
2 weeks
3 weeks
4 weeks

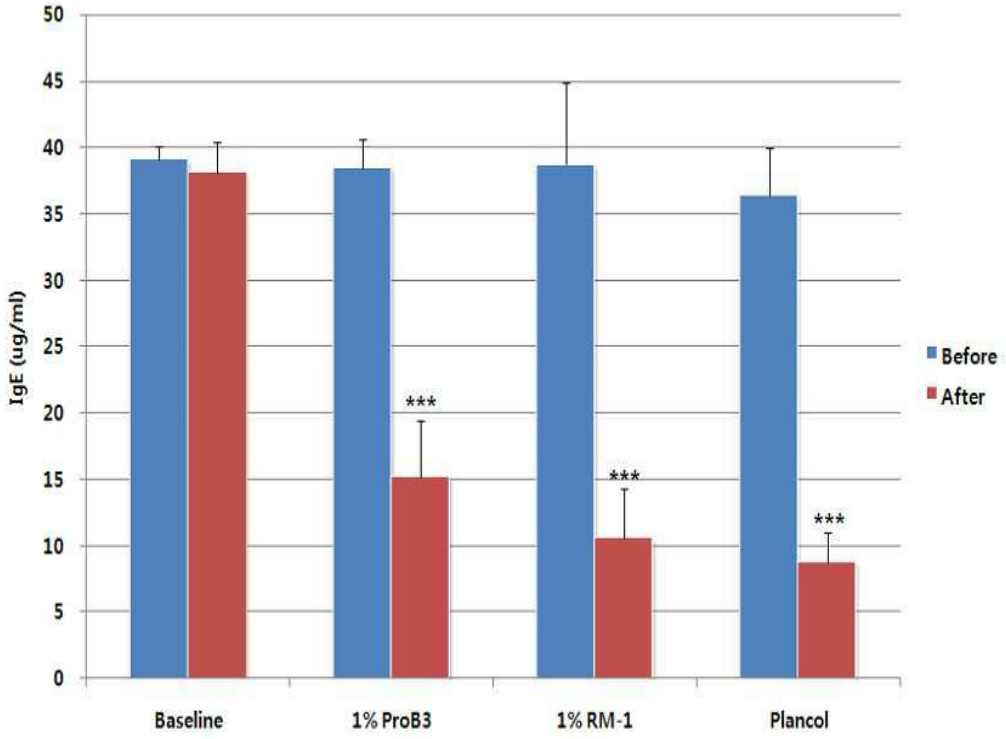
도면12


Clinical Skin Severity Score
10
8
6
4
2
0
0 2 4 6 8 10 14 18 19 20 21 22 23 24
Weeks of Age
Baseline
1%ProB3
1%RM-1
Plancol

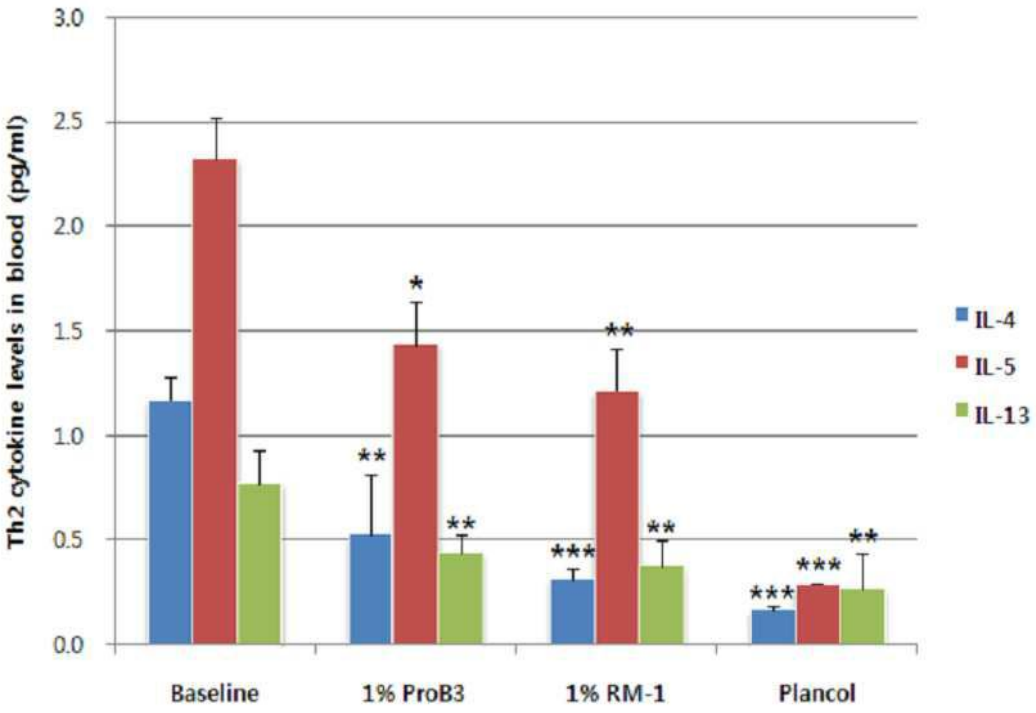
도면13


Eosinophil count (1.2 × 10⁹/ul)
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
***
***
***
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
Plancol
Before
After

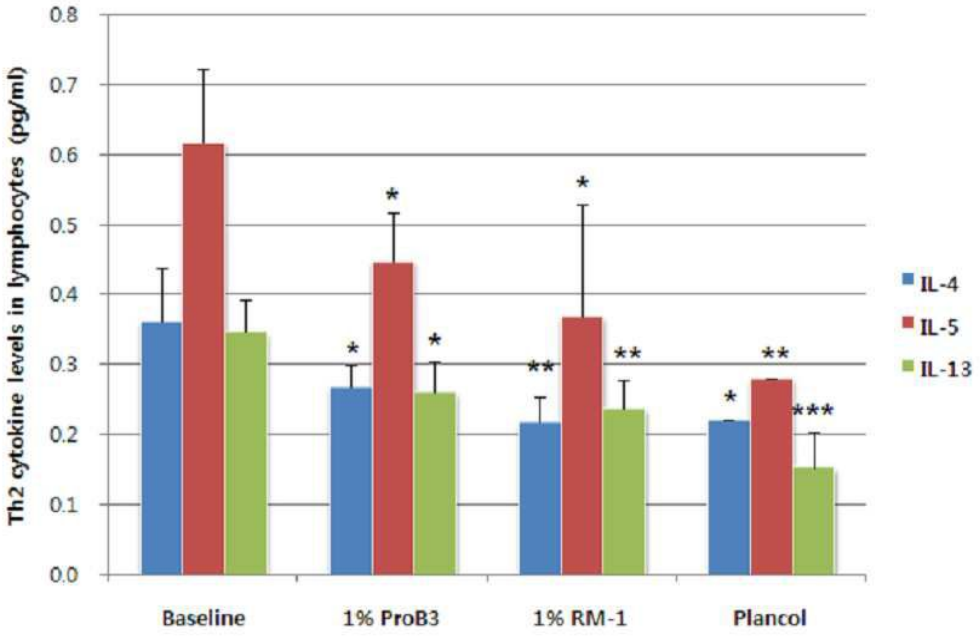
도면14


IgE (ug/ml)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
***
***
***
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
Plancol
Before
After

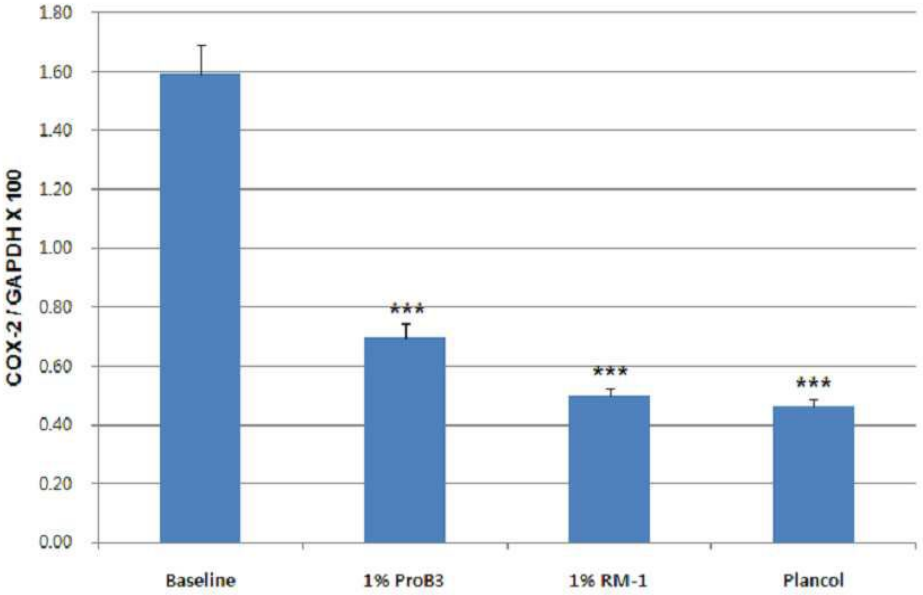
도면15


Th2 cytokine levels in blood (pg/ml)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
Plancol
IL-4
IL-5
IL-13

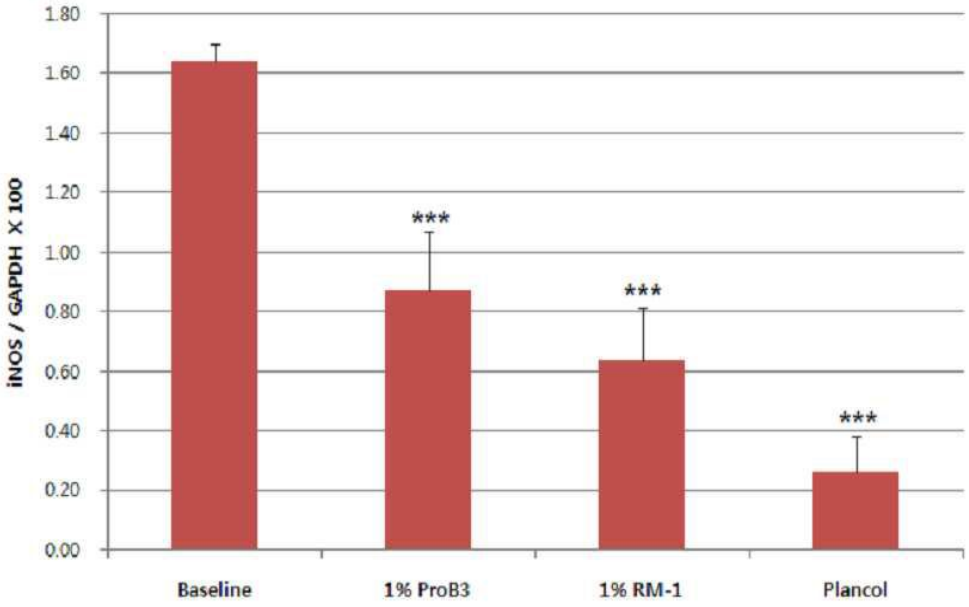
도면16


Th2 cytokine levels in lymphocytes (pg/ml)
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
Plancol
IL-4
IL-5
IL-13

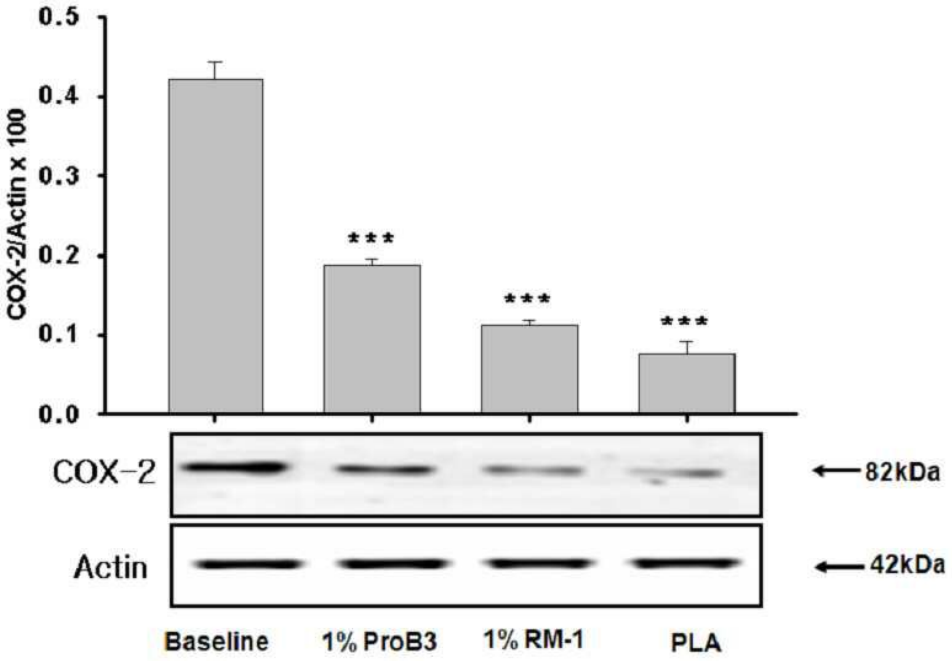
도면17


COX-2 / GAPDH X 100
1.80
1.60
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
***
***
***
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
Plancol

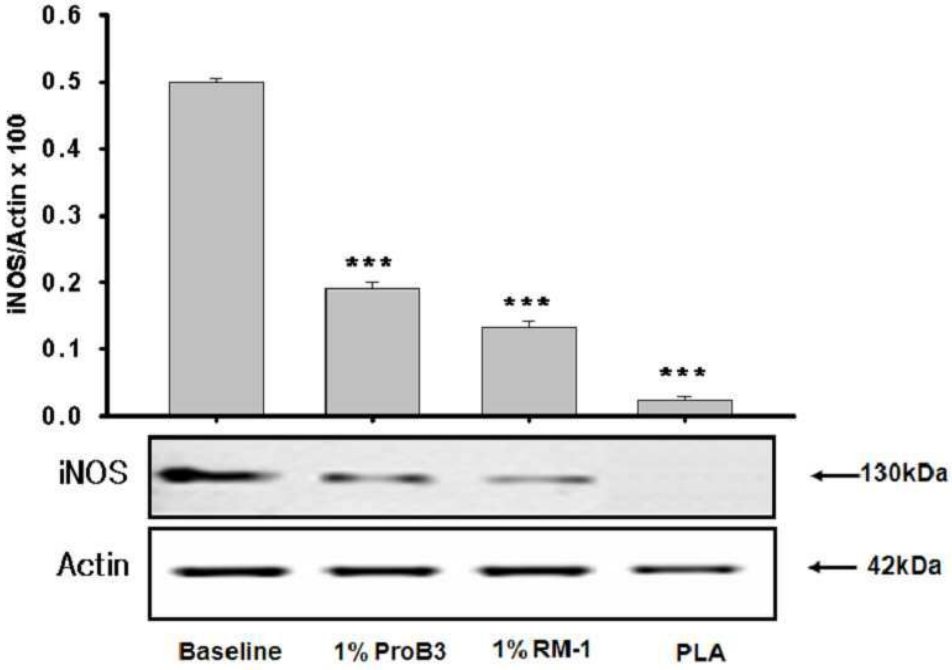
도면18


iNOS / GAPDH X 100
1.80
1.60
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
***
***
***
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
Plancol

도면19


0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
COX-2/Actin x 100
***
***
***
COX-2
Actin
82kDa
42kDa
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
PLA

도면20


0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
iNOS/Actin x 100
***
***
***
iNOS
Actin
130kDa
42kDa
Baseline
1% ProB3
1% RM-1
PLA