(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0004936
(43) 공개일자 2014년01월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/8967 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0072393
(22) 출원일자 2012년07월03일
심사청구일자 2012년07월03일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
(72) 발명자
김진주
경기도 과천시 향교말길 23-14 (중앙동)
고은정
서울특별시 구로구 가마산로 97 (구로동, 구로현대아파트) 1동 803호
이의정
서울특별시 금천구 시흥대로47길 43 (시흥동, 럭키아파트) 9동 602호
(74) 대리인
손민

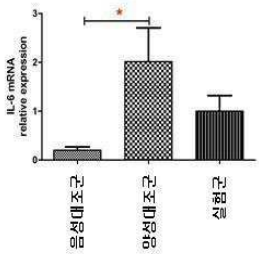
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **백합 추출물을 포함하는 염증성 장질환의 예방 또는 치료효과를 갖는 약학 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 백합 추출물을 포함하고, 담배연기로 인한 염증성 장질환의 발병을 억제할 수 있는 약학 조성물, 백합 추출물을 포함하고, 담배연기로 인한 염증성 장질환을 예방 또는 개선시킬 수 있는 식품 조성물, 상기 약학 조성물을 이용하여 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 방법 및 상기 약학 조성물을 이용하여 장내 유산균수의 감소를 억제하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 백합 추출물을 포함하는 약학 조성물은 염증성 장질환의 발병에 수반되는 염증성 사이토카인인 IL-6 및 TNF-α와, 엘라스틴과 콜라겐을 파괴하는 것으로 알려진 MMP12의 발현수준을 감소시키고, 장내 유산균수의 감소를 억제할 수 있으므로, 안전하면서도 효과적인 염증성 장질환 치료제의 개발에 널리 활용될 수 있을 것이다.

대 표 도 - 도1a



특허청구의 범위

청구항 1

백합 추출물을 포함하는, 염증성 장질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 백합 추출물은 백합의 수 추출물인 것인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 염증성 장질환은 궤양성 대장염 또는 크론병인 것인 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함하는 것인 조성물.

청구항 5

백합 추출물을 포함하는, 염증성 장질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 약학 조성물을 염증성 사이토카인의 발현이 과다한 조직 또는 세포에 처리하는 단계를 포함하는 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

염증성 사이토카인은 IL-1β, TNF-α, IL-6, MCP-1 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 백합 추출물을 포함하는 염증성 장질환의 예방 또는 치료효과를 갖는 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 본 발명은 백합 추출물을 포함하고, 담배연기로 인한 염증성 장질환의 발병을 억제할 수 있는 약학 조성물, 백합 추출물을 포함하고, 담배연기로 인한 염증성 장질환을 예방 또는 개선시킬 수 있는 식품 조성물 및 상기 약학 조성물을 이용하여 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 염증성 장질환(Inflammatory bowel disease, IBD)은 위장관 내에 만성적인 염증을 유발하는 질환으로, 비교적 청년층부터 발병하며 복통, 발열, 설사, 하혈 등의 증상을 수반한다. 대체로, 궤양성 대장염(Ulcerative colitis, UC)과 크론병(Cron's disease, CD)의 2가지 형태로 분류되는데, 궤양성 대장염은 주로 점막을 침범하여, 자주 문드러짐이나 궤양을 형성하는 대장의 원인불명의 확산성 비특이성 염증(diffuse nonspecific inflammation)의 일종으로서, 혈성 설사를 비롯하여 다양한 전신 증상을 수반하고, 크론병은 구강에서 항문까지 전 소화관을 비연속성으로 점막에서 장관(腸管) 전 층에 궤양, 섬유화, 협착과 병변(病變)이 진전되는 원인불명의 육아종성 염증성 병변으로, 복통, 만성 설사, 발열, 영양장애 등의 전신 증상을 수반한다.

[0003] 상기 염증성 장질환의 발병원인은 아직까지 구체적으로 밝혀져 있지 않으나, 면역기능의 이상이 관여하는 것으로 알려져 있는데, 이에 관여하는 면역학적 요인으로는 선천적 면역성, 사이토카인(Cytokine)의 생성, CD4의 활성화 등이 알려져 있다. 특히, 사이토카인이 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있는데, 염증 부위에서 종양괴사인자(Tumor nerosis cytokine; TNF-α), 인터루킨(Interluekin; IL)-1, IL-6, IL-8 생성이 궤양성 대장염과 크론병 환자에게 현저하게 증가되는 것이 확인되었다.

[0004] 이러한 염증성 장질환을 치료하기 위하여 사용되는 약물로는 스테로이드성 면역억제제, 프로스타글란딘(prostaglandins)의 생성을 차단하는 5-아미노살리실산(5-aminosalicylic acid; 5-ASA) 계통 약물(예, 설파살라진 등), 메살라진 등이 사용되고 있는데, 이들은 염증성 장질환의 치료효과가 미미할 뿐만 아니라 복부허실(fullness), 두통, 발진, 간질환, 백혈구 감소증, 무과립구증, 남성 불임 등의 심각한 부작용을 유발하기 때문에, 상기 치료제의 사용이 제한되고 있다.

[0005] 만일, 부작용을 유발하지 않는 염증성 장질환 치료제를 개발할 수 있다면, 보다 안전하면서도 효과적으로 염증성 장질환 환자들을 치료할 수 있을 것으로 예상되고 있으나, 아직까지는 부작용이 없는 치료제가 개발되지 못하고 있는 실정이다.

[0006] 이러한 배경하에서, 본 발명자들은 부작용을 유발하지 않는 천연물로부터 유래된 염증성 장질환 치료제를 개발하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 백합 추출물이 염증성 사이토카인 및 엘라스틴과 콜라겐을 파괴하는 것으로 알려진 MMP12의 발현을 억제하고, 장내 유산균의 감소를 억제할 수 있어, 염증성 장질환의 치료에 사용될 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 하나의 목적은 백합 추출물을 포함하는 염증성 장질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 백합 추출물을 포함하는 염증성 장질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 약학 조성물을 이용하여 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상술한 목적을 달성하기 위한 일 실시양태로서, 본 발명은 백합 추출물을 포함하는, 염증성 장질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명의 용어 "백합(百合, Lillium brownii F.E.)"이란, 백합과의 참나리(Lilium lancifolium Thunberg) 또는 동속 근연식물의 비늘줄기를 의미하는데, 형태학적으로, 긴 타원형, 피침형 혹은 긴 삼각형의 각질성 인편이

며 중심부는 두꺼우나 가장자리는 얇고 주름져 있거나 안쪽으로 구부러져 있고, 바깥면은 유백색 또는 엷은 황갈색으로 광택이 조금 있고 반투명하다. 인편에는 여러 줄의 평행맥이 있고 질은 단단하나 쉽게 부서지고 꺾은 면은 매끈하다. 진해작용, 백혈구감소증유효반응, 강장작용, 항산화작용, 진정작용, 항알레르기작용 등의 약리활성이 알려져 있고, 한방에서는 진액을 생성시키고 폐를 윤택하게 하여 오랜 기침, 마른 기침을 멈추게 하고 정신을 안정시키며 사고력, 언어, 행동, 미각이 상실되고 입맛이 없고 소변이 붉은 증상의 치료에 사용되어 왔다.

[0012] 본 발명의 용어 "백합 추출물"이란, 상기 백합을 물 또는 유기용매로 추출하여 수득한 추출물을 의미하며, 본 발명의 목적상 염증성 장질환의 예방, 치료 또는 개선용 조성물의 유효성분이 될 수 있다. 상기 백합 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 알코올, 핵산, 클로로포름, 메틸아세테이트, 부탄올 등의 용매를 사용하여 추출된 것을 사용함이 바람직하다. 보다 바람직하게는 본 발명의 백합 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 알코올 또는 이들의 혼합용매인 추출용매를 사용하여 추출된 것일 수 있으며, 가장 바람직하게는 백합의 열수 추출물 또는 70% 에탄올 추출물이 될 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.

[0013] 본 발명의 용어 "염증성 장질환(Inflammatory bowel disease, IBD)"이란, 복통, 발열, 설사, 하혈 등의 증상을 수반하면서, 위장관 내에 만성적인 염증을 유발하는 질환을 의미한다. 상기 염증성 장질환은 궤양성 대장염(Ulcerative colitis, UC)과 크론병(Cron's disease, CD)의 2가지 형태로 분류되는데, 궤양성 대장염은 주로 점막을 침범하여, 자주 문드러짐이나 궤양을 형성하는 대장의 원인불명의 확산성 비특이성 염증(diffuse nonspecific inflammation)의 일종으로서, 혈성 설사를 비롯하여 다양한 전신 증상을 수반하고, 크론병은 구강에서 항문까지 전 소화관을 비연속성으로 점막에서 장관(腸管) 전 층에 궤양, 섬유화, 협착과 병변(病變)이 진전되는 원인불명의 육아종성 염증성 병변으로, 복통, 만성 설사, 발열, 영양장애 등의 전신 증상을 수반한다.

[0014] 본 발명의 용어 "예방"이란, 상기 약학 조성물의 투여로 염증성 장질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0015] 본 발명의 용어 "치료"란, 치료하고자 하는 개개인 또는 세포의 천연 과정을 변경시키기 위해 임상적으로 개입하는 모든 행위를 의미하는데, 임상 병리 상태가 진행되는 동안 또는 이를 예방하기 위해 수행할 수 있다. 목적하는 치료 효과에는 질병의 발생 또는 재발을 예방하고, 증상을 완화시키며, 질병에 따른 모든 직접 또는 간접적인 병리학적 결과를 저하시키며, 전이를 예방하고, 질병 진행 속도를 감소시키며, 질병 상태를 경감 또는 일시적 완화시키며, 차도시키거나 예후를 개선시키는 것이 포함된다. 본 발명의 목적상 상기 치료는 상기 약학 조성물의 투여로 염증성 장질환의 증세가 호전되거나 완치되는 모든 행위를 포함하는 것으로 해석될 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.

[0016] 본 발명에서 제공하는 약학 조성물은 유효성분으로서 백합 추출물을 포함하는데, 상기 약학 조성물은 담배연기로 인한 염증성 장질환의 발병시에 증가하는 염증성 사이토카인 및 엘라스틴과 콜라겐을 파괴하는 것으로 알려진 MMP12의 발현량을 감소시킬 수 있고, 상기 염증성 장질환에 의한 장내 유산균수의 감소를 억제할 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 백합의 분말을 수 추출하여 백합 추출물을 수득하고(실시예 1), 상기 백합 추출물을 경구투여한 마우스를 담배연기에 노출시킨 결과, 담배연기로 인해 발병된 염증성 장질환의 증상이 완화되고(도 1a 내지 도 1e), 상기 염증성 장질환에 의해 유발되는 장내 유산균수의 감소가 억제되며(도 2), 상기 염증성 장질환에 의해 유발되는 체중의 감소가 억제됨(도 3)을 확인하였다.

[0018] 상기 약학 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0019] 한편, 본 발명의 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화하여 사용될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하

여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 백합 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순희석제인 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, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 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.

[0020] 상술한 목적을 달성하기 위한 다른 실시양태로서, 본 발명은 상기 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 장질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0021] 본 발명의 용어 "개체"란, 상기 염증성 장질환이 발병될 가능성이 있거나, 또는 발병된 인간을 포함한 모든 동물을 의미한다. 본 발명의 조성물을 개체에 투여함으로써, 염증성 장질환을 완화 또는 치료할 수 있다.

[0022] 본 발명에서 용어, "완화"는 본 발명에 따른 조성물의 투여로 염증성 장질환이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 말한다.

[0023] 상기 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다.

[0024] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 대상에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 말하며, 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.

[0025] 상기 약학적 조성물은 목적 또는 필요에 따라 당업계에서 사용되는 통상적인 방법, 투여 경로, 투여량에 따라 적절하게 개체에 투여될 수 있다. 투여 경로의 예로는 경구, 비경구, 피하, 복강 내, 폐 내, 및 비강 내로 투여될 수 있으며, 비경구 주입에는 근육 내, 정맥 내, 동맥 내, 복강 내 또는 피하투여가 포함된다. 또한 당업계에 공지된 방법에 따라 적절한 투여량 및 투여 횟수가 선택될 수 있으며, 실제로 투여되는 본 발명의 약학적 조성물의 양 및 투여 횟수는 치료하고자 하는 증상의 종류, 투여 경로, 성별, 건강 상태, 식이, 개체의 연령 및 체중, 및 질환의 중증도와 같은 다양한 인자에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

[0026] 본 발명에서의 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 용도에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 혈관 투과성 증가를 억제 또는 완화하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0027] 상술한 목적을 달성하기 위한 또 다른 실시양태로서, 본 발명은 백합 추출물을 포함하는, 염증성 장질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0028] 본 발명의 백합은 종래로부터 약재로 사용되어 그의 안전성이 입증되었으므로, 상기 성분을 식품 조성물로 사용할 수 있다.

[0029] 상기 백합 추출물을 포함하는 조성물은 식품 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%, 보다 바람직하게는 1 내지 80 중량%로 포함한다. 식품이 음료인 경우에는 100㎖를 기준으로 1~30g, 바람직하게는 3 ~ 20g의 비율로 포함될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있

는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예들 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크륨(Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨류엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용된다.

[0030] 한편, 상기 백합 추출물을 포함하는 식품 조성물을 이용하여 염증성 장질환의 예방 또는 개선용 기능성식품을 제조할 수 있다.

[0031] 구체적인 예로, 상기 조성물을 이용하여 농산물, 축산물 또는 수산물의 특성을 살려 변형시키는 동시에 저장성을 좋게한 가공식품을 제조할 수 있다. 이런 가공식품에는 예들 들어, 과자, 음료, 주류, 발효식품, 통조림, 우유가공식품, 육륙가공식품, 국수 등을 포함한다. 과자는 비스킷, 파이, 케익, 빵, 캔디, 젤리, 껌, 시리얼(곡물 푸레이크 등의 식사대용품류 포함) 등을 포함한다. 음료는 탄산음료, 기능성이온음료, 쥬스(예들 들어, 사과, 배, 포도, 알로에, 감귤, 복숭아, 당근, 토마토 쥬스 등), 식혜 등을 포함한다. 주류는 청주, 위스키, 소주, 맥주, 양주, 과실주 등을 포함한다. 발효식품은 간장, 된장, 고추장 등을 포함한다. 통조림은 수산물 통조림(예들 들어, 참치, 고등어, 꽁치, 소라 통조림 등), 축산물 통조림(쇠고기, 돼지고기, 닭고기, 칠면조 통조림 등), 농산물 통조림(옥수수, 복숭아, 파일애플 통조림 등)을 포함한다. 우유가공식품은 치즈, 버터, 요구르트 등을 포함한다. 육류가공식품은 돈까스, 비프까스, 치킨까스, 소세지. 탕수육, 너겟류, 너비아니 등을 포함한다. 밀봉포장생면 등의 국수를 포함한다. 이 외에도 상기 조성물은 레토르트식품, 스프류 등에 사용될 수 있다.

[0032] 본 발명의 용어 "기능성식품(functional food)"이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)와 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 본 발명에서 용어, “건강식품(health food)"은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)는 건강 보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 기능성식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 호용된다. 상기 식품은 치주질환의 예방 또는 개선에 유용한 효과를 얻기 위하여 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다.

[0033] 상술한 목적을 달성하기 위한 또 다른 실시양태로서, 본 발명은 상기 약학 조성물을 염증성 사이토카인의 발현이 과다한 조직 또는 세포에 처리하는 단계를 포함하는 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 방법을 제공한다.

[0034] 본 발명의 용어 "염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)"이란, 체내에서 발생하는 염증반응을 유발시키는 사이토카인을 의미하는데, 이들 염증성 사이토카인은 특별히 이에 제한되지 않으나, IL-1β, TNF-α, IL-6, MCP-1 등이 될 수 있다.

[0035] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 담배연기에 노출된 마우스에서는 염증성 장질환이 유발되어, 대장조직에서 염증성 사이토카인인 TNF-α 및 IL-6의 발현수준이 증가하지만, 본 발명의 약학 조성물을 투여할 경우, TNF-α 및 IL-6의 발현 증가가 억제됨을 확인하였다(도 1a 내지 도 1b). 뿐만 아니라, 엘라스틴과 콜라겐을 파괴하는 것으로 알려진 MMP12의 mRNA 수준 역시 동일한 양상을 나타냄을 확인하였다(도 1c).

[0036] 상술한 목적을 달성하기 위한 또 다른 실시양태로서, 상기 약학 조성물을 유산균수가 감소하는 환경에 노출된 유산균에 처리하는 단계를 포함하는 유산균수의 감소를 억제하는 방법을 제공한다.

[0037] 본 발명의 용어 "유산균"이란, 젖산균이라고도 하며, 당류를 발효하여 에너지를 획득하고 다량의 젖산을 생성하는 세균을 포괄적으로 의미한다. 상기 유산균은 형태적으로는 구균(*Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*)과 간균(*Lactobacillus*, *Bifidobacterim*)으로 나누어지고 그람(Gram) 염색성은 양성이며, 산에 내성을 나타내는 것이 많고 영양요구성은 매우 복잡하여 당류 이외에 많은 종류의 아미노산이나 비타민을 요구하는데, 대체로 산소가 적은 환경에서 잘 발육하여 각종 당으로부터 젖산을 생성한다. 상기 유산균에 포함되는 균주는 특별히 이에 제한되지 않으나, 락토바실러스 속(*Lactobacillus sp.*), 락토코커스 속(*Lactococcus sp.*), 류코노스톡 속(*Leuconostoc sp.*), 페디오코커스 속(*Pediococcus sp.*), 비피도박테리움 속(*Bifidobacterium sp.*) 균주 등이 될 수 있다.

[0038] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 담배연기에 노출된 마우스에서는 염증성 장질환이 유발되어, 장내 유산균의 수가 감소하지만, 본 발명의 약학 조성물을 투여할 경우, 장내 유산균수의 감소가 억제됨을 확인하였다(도 2).

발명의 효과

[0039] 본 발명의 백합 추출물을 포함하는 약학 조성물은 염증성 장질환의 발병에 수반되는 염증성 사이토카인인 IL-6 및 TNF-α와, 엘라스틴과 콜라겐을 파괴하는 것으로 알려진 MMP12의 발현수준을 감소시키고, 장내 유산균수의 감소를 억제할 수 있으므로, 안전하면서도 효과적인 염증성 장질환 치료제의 개발에 널리 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0040] 도 1a는 백합 추출물의 처리에 따른 IL-6의 mRNA 수준의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 1b는 백합 추출물의 처리에 따른 TNF-α의 mRNA 수준의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 1c는 백합 추출물의 처리에 따른 MMP12의 mRNA 수준의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 2는 백합 추출물의 처리에 따른 유산균수의 변화를 비교한 그래프이다.

도 3은 백합 추출물의 처리에 따른 마우스 체중의 변화를 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0041] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0042] **실시예 1: 시료의 준비**

[0043] SUN TEN(Taipei, 대만)에서 구입한 백합 파우더를 물에 용해시키고 여과하여 수득한 백합 추출물 용액을 마우스에 경구투여하는데 사용하였다.

[0044] **실시예 2: 담배연기 처리에 의한 염증성 장질환(Infalmmation bowel dieases, IBD)의 유발**

[0045] 담배가 염증성 장질환(Infalmmation bowel dieases, IBD)을 유발할 수 있다고 알려져 있으므로(Gareth A O Thomas, et al., Postgrad. Med. J., 76(895):273-279, 2000 May), 담배연기에 마우스를 노출시켜서 IBD를 유발시키고자 하였다.

[0046] 먼저, 체중 20-25g의 6주령 암컷 C57BL/6 마우스(Orient Bio Inc, South Korea)를 물과 사료는 자유롭게 먹도록 하였으며, 사육실 내의 온도는 21-24℃ 및 습도는 40-60%로 유지하였고 낮과 밤 주기는 각각 12시간으로 하

여 사육하였다.

[0047] 상기 사육된 마우스에 상기 실시예 1에서 수득한 백합 추출물 용액을 50mg/kg의 용량으로 경구투여한 다음, 이를 Smoking chamber에 넣고, Reference cigarette 3R4F(University of Kentucky, Lexington, Kentuchy)를 3개피 피운 연기에 30분동안 노출시키고, 연기를 제거한 상태에서 다시 30분간 방치하는 단계를 4회 반복하는 담배연기 처리과정을 수행하였고, 이러한 처리과정을 하루에 1회씩 일주일 동안 5회 수행하는 단계를 3주동안 수행하여 염증성 장질환(Infalmmation bowel dieases, IBD)을 유발시켜 이를 실험군으로 사용하였다. 이때, 음성대조군으로는 담배연기를 처리하지 않은 마우스를 사용하고, 양성대조군으로는 담배연기를 처리하고 백합 추출물 용액을 투여하지 않은 마우스를 사용하였으며, 음성대조군과 양성대조군은 각각 3마리, 실험군은 2마리로 설정하였다.

[0048] **실시예 3: 염증성 장질환에 대한 백합 추출물의 효과**

[0049] **실시예 3-1: 염증성 사이토카인 및 MMP12의 발현수준 비교**

[0050] 먼저, 상기 실시예 2에서 수득한 각 음성대조군, 양성대조군 및 실시예의 마우스를 희생시키고, 이로부터 각각의 대장조직을 적출한 다음, RNeasy Mini kit (QIAGEN, USA)를 사용하여 상기 적출된 대장조직으로부터 총 RNA를 수득하였다. 구체적으로, 각각의 대장조직에 600㎕의 RLT 완충액을 가하여 세포를 파괴하고, 다시 600㎕의 70% 에탄올을 가하여 혼합하였다. 이어, 상기 혼합물 700㎕를 상기 키트의 RNeasy mini column에 담고, 8,000 ×g에서 15초간 원심분리한 다음, 잔류액에 상기 키트에 포함된 700㎕의 RW1 완충액을 가하고, 다시 8,000 ×g에서 15초간 원심분리하여 잔류액을 수득하였다. 다음으로, 상기 잔류액에 상기 키트에 포함된 500㎕ RPE 완충액을 가하고, 8,000 ×g에서 15초간 원심분리하여 잔류액을 수득하였으며, 상기 잔류액에 상기 키트에 포함된 50㎕ RNase free water를 가하고, 8,000 ×g에서 1분간 원심분리하여 총 RNA를 수득하였다. 상기 수득한 총 RNA를 spectrophotometer(ND-1000, NanoDrop Technologies Inc. USA)로 정량하고, 1% agarose gel에서 전기영동하고 ethidium-bromide(Et-Br, Sigma-Aldrich, USA)로 염색하여 상태를 평가하였다.

[0051] 한편, 상기 수득한 총 RNA를 이용하여 실시간 RT-PCR 분석을 수행하였다. 상기 분석을 위하여 상기 수득한 총 RNA 2㎍, SYBR Green I Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 및 primers(Genotech Inc., Korea)를 사용한 RT-PCR(95℃: 15sec 및 60℃: 1min, 40 cycles)을 수행하여 cDNA를 수득하고, 상기 수득한 cDNA를 Applied Biosystems 7300 Real time PCR System에 적용하여 실시간 PCR을 수행하여, 각 대조군 및 실험군에서 염증성 사이토카인인 IL-6 및 TNF-α와, 엘라스틴과 콜라겐을 파괴하는 것으로 알려진 MMP12의 mRNA 수준을 비교하였다(도 1a 내지 1c).

[0052] 도 1a는 백합 추출물의 처리에 따른 IL-6의 mRNA 수준의 변화를 나타내는 그래프이고, 도 1b는 백합 추출물의 처리에 따른 TNF-α의 mRNA 수준의 변화를 나타내는 그래프이며, 도 1c는 백합 추출물의 처리에 따른 MMP12의 mRNA 수준의 변화를 나타내는 그래프이다. 도 1a 내지 1c에서 보듯이, 담배연기를 처리하지 않은 음성대조군에서는 IL-6, TNF-α 및 MMP12의 mRNA 수준이 낮은 수준을 나타내었으나, 담배연기만을 처리한 양성대조군에서는 IL-6, TNF-α 및 MMP12의 mRNA 수준이 급격히 증가하였고, 담배연기를 처리하기 전에 백합 추출물을 투여한 실험군에서는 담배연기에 의하여 유발된 IL-6, TNF-α 및 MMP12의 mRNA 수준의 증가가 억제됨을 확인하였다.

[0053] 상기 결과로부터, 본 발명에서 제공하는 백합 추출물이 담배연기에 의한 염증성 장질환의 발병을 억제하는 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

[0054] **실시예 3-2: 유산균 총균수 비교**

[0055] 염증성 장질환이 발병된 경우 장내 미생물의 수준이 감소된다고 알려져 있으므로, 본 발명의 백합 추출물 용액이 장내 유산균수에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

[0056] 구체적으로, 상기 실시예 2에서 수득한 각 음성대조군, 양성대조군 및 실시예의 마우스를 희생시키고, 이로부터

각각의 맹장조직을 적출한 다음, 적출된 맹장조직 1g과 생리식염수 9㎖을 혼합하고 물리적으로 파쇄한 다음, 상기 파쇄물에 10배 부피의 생리식염수를 가하여 희석하는 과정을 3회 수행하여 각각의 희석액을 수득하였다. 상기 수득한 각각의 희석액 100㎕을 유산균 배양용 고체배지(MRS agar plate)에 도말하고, 37℃에서 48시간 동안 배양한 다음, 상기 고체배지에 형성된 유산균 콜로니의 수를 계수하여 비교하였다(도 2).

[0057] 도 2는 백합 추출물의 처리에 따른 유산균수의 변화를 비교한 그래프이다. 도 2에서 보듯이, 담배연기를 처리하지 않은 음성대조군에서는 유산균수가 높은 수준을 유지하였으나, 담배연기만을 처리한 양성대조군에서는 유산균수가 급격히 감소하였으며, 담배연기를 처리하기 전에 백합 추출물을 투여한 실험군에서는 담배연기에 의한 유산균수의 감소가 억제됨을 확인하였다.

[0058] 상기 결과로부터, 본 발명에서 제공하는 백합 추출물이 담배연기에 의한 유산균수의 감소를 유도하는 염증성 장질환의 발명을 억제하는 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

[0059] **실시예 3-3: 체중변화 비교**

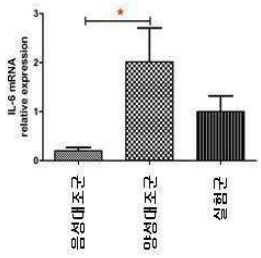
[0060] 염증성 장질환이 유발된 동물에서는 체중이 감소한다고 알려져 있으므로, 체중의 변화의 측면에서 본 발명의 백합 추출물이 염증성 장질환에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

[0061] 즉, 상기 실시예 2에서 수득한 각 음성대조군, 양성대조군 및 실시예의 마우스를 대상으로 하여, 실험 시작일(0일)에 체중을 정밀 저울 E06120을 이용하여 측정하고, 2일 간격으로 체중변화를 측정한 후, 비교하였다(도 3). 도 3은 백합 추출물의 처리에 따른 마우스 체중의 변화를 비교한 그래프이다. 도 3에서 보듯이, 담배연기를 처리하지 않은 음성대조군에서는 체중이 높은 수준을 유지하였으나, 담배연기만을 처리하여 염증성 장질환을 유발시킨 양성대조군에서는 체중이 급격히 감소하였으며, 담배연기를 처리하기 전에 백합 추출물을 투여한 실험군에서는 담배연기에 의한 체중의 감소가 억제됨을 확인하였다.

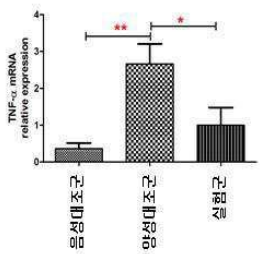
[0062] 상기 결과로부터, 본 발명에서 제공하는 백합 추출물이 담배연기에 의한 체중의 감소를 유도하는 염증성 장질환의 발명을 억제하는 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

도면

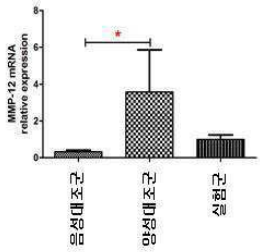
도면1a



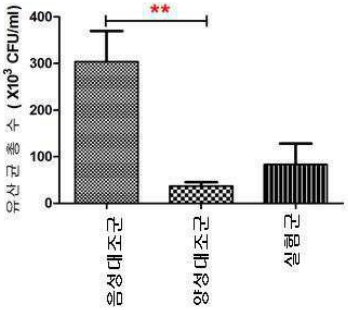
도면1b



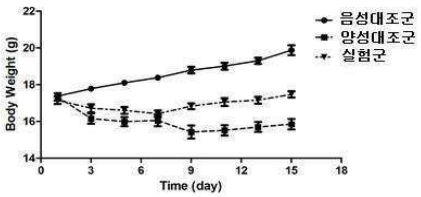
도면1c


MMP-12 mRNA relative expression
*
음성대조군
양성대조군
실험군

도면2


유산균 총 수 (X10³ CFU/ml)
**
음성대조군
양성대조군
실험군

도면3


Body Weight (g)
Time (day)
음성대조군
양성대조군
실험군