(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0036669
(43) 공개일자 2020년04월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/074 (2006.01) *A23L 31/00* (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61K 36/282* (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/074 (2013.01)
A23L 31/00 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0116603
(22) 출원일자 2018년09월28일
심사청구일자 2018년09월28일

(71) 출원인
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 덕진구 농생명로 300 (중동)
(72) 발명자
신유수
충청북도 음성군 맹동면 학예로 55, 508동 2304호(엘에이치이노밸리)
박찬흠
서울특별시 중랑구 망우로72길 3(망우동)
(74) 대리인
위병갑

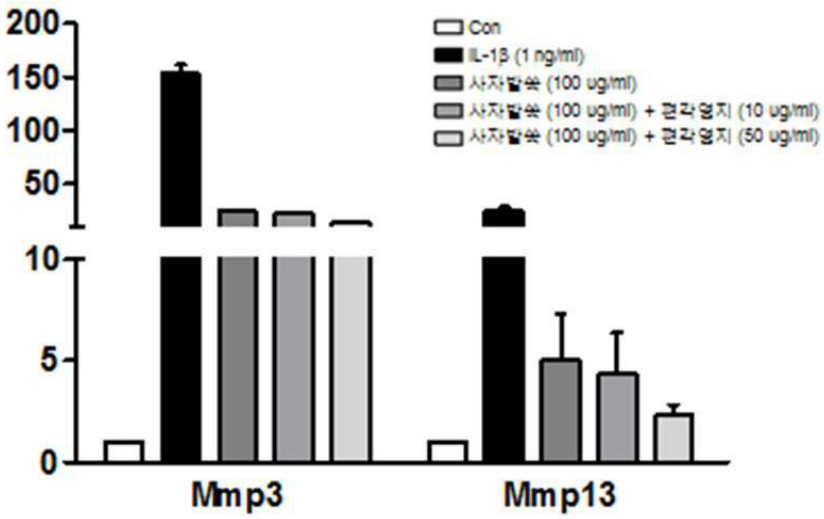
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시킴으로써 관절 염증 또는 연골 파괴를 억제하는 효과를 나타내는 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및/또는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

대 표 도 - 도5



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 36/282 (2013.01)
A61P 19/02 (2018.01)
A61P 29/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/306 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ01330501
부처명 농촌진흥청
연구관리전문기관 농촌진흥청
연구사업명 차세대바이오그린21
연구과제명 엉겅퀴, 황해쑥 및 잇꽃씨의 기능성분 분석
기 여 율 1/1
주관기관 국립원예특작과학원
연구기간 2018.01.01 ~ 2020.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 편각영지버섯 추출물 또는 사자발쑥 추출물은 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것이고, 상기 혼합물은 상기 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물을 혼합한 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 혼합물은 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물을 1:1 내지 1:20의 중량비로 혼합한 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 관절염은 퇴행성 관절염 또는 류마티스 관절염인 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시킴으로써 관절 염증 또는 연골 파괴를 억제하는 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 편각영지버섯 추출물 또는 사자발쑥 추출물은 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것이고, 상기 혼합물은 상기 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물을 혼합한 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 혼합물은 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물을 1:1 내지 1:20의 중량비로 혼합한 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 관절염은 퇴행성 관절염 또는 류마티스 관절염인 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 10

제6항에 있어서, 상기 조성물은 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현 을 감소시킴으로써 관절 염증 또는 연골 파괴를 억제하는 것을 특징으로 하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시킴으로써 관절 염증 또는 연골 파괴를 억제하는 효과를 나타내는 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및/또는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

배 경 기 술

[0002] 관절염은 크게 퇴행성 관절염(degenerative arthritis)과 류마티스성 관절염(rheumatoid arthritis)으로 구분된다. 퇴행성 관절염은 중년 또는 노년에 주로 발생하고, 무릎 관절 및 엉덩이 관절과 같이 체중을 많이 받는 관절에 통증, 경직감 및 운동장애 등을 초래하는 질환이다. 과거에는 단순히 노화현상으로 생각하였으나, 현재는 연령, 유전적 요소, 비만, 관절의 모양, 호르몬 등의 여러 가지 원인이 복합적으로 이루어짐으로써 증상이 다르게 나타나는 것으로 생각되고 있다.

[0003] 퇴행성 관절염은 주로 관절연골의 점진적 손상에 따라 만성 염증이 형성되고, 이에 따라 주변 조직의 퇴행화 과정을 수반하는 것으로 알려져 있다. 좀더 구체적으로, 물리적인 스트레스의 누적에 의하여 연골조직에 NF-kB 및 AP-1과 같은 전사인자들이 활성화되어 만성염증이 일어나게 되면 COX-2, LOX 등의 염증반응을 매개, 증폭시키는 인자들이 발현되고, 주변의 혈행이 억제되며, 매트릭스 메탈로프로테이나제(matrix metalloproteinases, MMPs), 히알루로니다제(hyaluronidase), iNOS 등 조직 파괴인자들이 과발현되어 연골조직을 파괴하게 되며, 이로 인하여 주변의 근육, 건, 인대 등과 같은 조직에도 영향을 끼쳐 심한 통증을 일으킨다.

[0004] 류마티스성 관절염은 여러 관절에 다발성으로 나타나는 염증성 자가면역질환이다. 류마티스성 관절염 증상을 가진 환자의 활막조직과 활액은 염증성 세포들(대식세포, T-세포, B 세포, 수지상 세포 등)이 과도하게 작용하여 만성염증을 일으키고, 관절 및 연골 손상을 야기시키고 통증을 유발하는 것을 특징으로 한다.

[0005] 지금까지 관절염 치료제는 개발되어 있지 않고, 일반적으로 관절 염증 완화를 목적으로 NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drugs) 약물을 사용하고 있다. 하지만, NSAID 계열 약물은 관절 염증만을 일시적으로 완화시키는 효과가 주된 목적이기 때문에 연골 형성 촉진 및 연골조직 파괴 억제를 필요로 하는 비염증성 관절염인 퇴행성 관절염에는 NSAID 계열의 약물 사용은 적합하지 않은 치료 방법이다 (Pritchard MH et al., Annals of the Rheumatic Diseases, 37:493-503, 1978). 이러한 비스테로이드성 항염증 약물(NSAIDs)은 염증성 관절염인 류마티스 관절염 치료제로서 염증 기전을 차단하기 위해서는 적합하나, 오히려 연골 손상을 가속화시키거나 심혈관, 위장관, 신장, 간 등에 부작용이 문제로 지적되고 있다.

[0006] 또한, 현재 연골형성을 위해 개발된 자기유래 연골세포 이식술은 환자의 정상부위에서 이미 생성되어 있는 연골과 연골하골 부분을 함께 채취하여, 손상된 연골부 위에 적당한 구멍을 파고 이식하여 초자연골을 생성하는 방법으로 일부 환자에게서 성공을 거두었지만, 연골 조직 파괴 부분이 적고 자가이식이 가능한 환자만을 대상으로 시행할 수 있어 보편적인 방법이 될 수 없다 (Peterson L et al., J Bone Joint Surg Am. 85-A Suppl:17-24, 2003).

[0007] 따라서, 관절염 예방, 개선 또는 치료를 위한 신규 약제의 개발이 여전히 요구되고 있으며, 그 중 부작용이 거의 없는 천연물을 이용한 연구들이 진행되고 있다. 대한민국 공개특허 제10-2017-0111272호는 영지버섯 발효 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 개시하고 있고, 대한민국 공개특허 제10-2018-0074296호는 영지버섯 추출물을 포함하는 비만 예방 및 개선용 초콜릿 및 이의 제조방법을 개시하고 있으며, 대한민국 등록특허 제10-1286133호는 강화사자발쑥과 감잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 소취, 항균 효과를 갖는 피부 화장료 조성물을 개시하고 있고, 대한민국 공개특허 제10-2009-0064700호는 사자발쑥으로부터 추출된 유파폴린(Eupafolin)을 유효성분으로 포함하는 암 질환 또는 심장순환계 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 개시하고 있다. 그러나, 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물에 대한 관절염 치료 효과에 대해서는 알려진 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물이 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현 수준을 감소시킴으로써 관절 염증 및 연골 파괴를 억제할 수 있음을

확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0009] 본 발명의 목적은 편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물 이용한 관절염 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상술한 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명은 또한, 편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 편각영지버섯 추출물은 편각영지버섯의 배지를 제외한 전부분으로부터 추출된 것이고, 상기 사자발쑥 추출물은 사자발쑥의 지상부로부터 추출된 것일 수 있다.

[0013] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 편각영지버섯 추출물 또는 사자발쑥 추출물은 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것이고, 상기 혼합물은 상기 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물을 혼합한 것일 수 있다.

[0014] 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 혼합물은 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물을 1:1 내지 1:20의 중량비로 혼합한 것일 수 있다.

[0015] 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 따르면, 상기 관절염은 퇴행성 관절염 또는 류마티스 관절염일 수 있다.

[0016] 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 조성물은 Mmp3 또는 Mmp-13의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시킴으로써 관절 염증 또는 연골 파괴를 억제할 수 있다.

발명의 효과

[0017] 본 발명의 편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 또는 Mmp-13의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시킴으로써 관절 염증 또는 연골 파괴를 억제하는 효과를 나타낸다. 따라서, 본 발명의 조성물은 관절염, 특히 퇴행성 관절염의 예방, 개선 또는 치료에 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 사자발쑥 추출물을 연골세포에 농도별(0, 10, 50, 100 또는 200 μg/ml)로 처리하여, 사자발쑥 추출물이 연골세포에 세포독성을 나타내지 않음을 확인한 결과이다.

도 2는 편각영지버섯 추출물을 연골세포에 농도별(0, 5, 10 또는 50μg/ml)로 처리하여, 편각영지버섯 추출물이 연골세포에 세포독성을 나타내지 않음을 확인한 결과이다.

도 3의 A 및 B는 연골세포에서 관절 파괴를 유도하는 Mmp3과 Mmp13의 mRNA 및 단백질 발현이 IL-1β에 의해 증가하지만, 사자발쑥 추출물에 의해 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인한 결과이다.

도 4는 연골세포에서 관절 파괴를 유도하는 Mmp3 및 Mmp13의 증가된 mRNA 발현이 IL-1β에 의해 증가하지만, 편각영지버섯 추출물에 의해 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인한 결과이다.

도 5는 연골세포에서 관절 파괴를 유도하는 Mmp3 및 Mmp13의 mRNA 발현이 IL-1β에 의해 증가하지만, 사자발쑥 추출물 또는 사자발쑥 추출물과 편각영지버섯 추출물의 혼합물에 의해 현저하게 감소하는 것을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 상술한 바와 같이, 종래에는 관절 염증 완화를 목적으로 NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drugs) 약물을 사용하였으나, NSAID 계열 약물은 관절 염증만을 일시적으로 완화시키는 효과가 주된 목적이기 때문에 연골형성 촉진 및 연골조직 파괴 억제를 필요로 하는 비염증성 관절염인 퇴행성 관절염에는 적합하지 않고, 연골형

성을 위해 개발된 자기유래 연골세포 이식술은 환자의 정상부위에서 이미 생성되어 있는 연골과 연골하골 부분을 함께 채취하여, 손상된 연골부 위에 적당한 구멍을 파고 이식하여 초자연골을 생성하는 방법으로 일부 환자에게서 성공을 거두었지만, 연골 조직 파괴 부분이 적고 자가이식이 가능한 환자만을 대상으로 시행할 수 있어 보편적인 방법이 될 수 없다는 문제점이 있었다.

[0020] 본 발명자들은 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물을 이용한 관절염 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공함으로써 상술한 문제의 해결방안을 모색하였다. 본 발명에 따른 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현 수준을 감소시킴으로써 관절 염증 및 연골 파괴를 억제할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 관절염, 특히 퇴행성관절염의 예방, 개선 또는 치료에 유용하다.

[0021] 본 발명에서 사용되는 용어는 다음과 같이 정의된다.

[0022] 용어 "약학적 조성물(pharmaceutical composition)"은 본 발명의 편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물에 희석제 또는 담체와 같은 다른 화학 성분들을 혼합한 혼합물을 의미한다.

[0023] 용어 "담체(carrier)"는 세포 또는 조직 내로의 화합물의 부가를 용이하게 하는 화합물로 정의된다. 예를 들어, 디메틸술폭사이드(DMSO)는 생물체의 세포 또는 조직 내로의 많은 유기 화합물들의 투입을 용이하게 하는 통상 사용되는 담체이다.

[0024] 용어 "희석제(diluent)"는 대상 화합물의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 화합물을 용해시키게 되는 물에서 희석되는 화합물로 정의된다. 버퍼 용액에 용해되어 있는 염은 당해 분야에서 희석제로 사용된다. 통상 사용되는 버퍼 용액은 포스페이트 버퍼 식염수이며, 이는 인간 용액의 염 상태를 모방하고 있기 때문이다. 버퍼 염은 낮은 농도에서 용액의 pH를 제어할 수 있기 때문에, 버퍼 희석제가 화합물의 생물학적 활성을 변형하는 일은 드물다.

[0025] 용어 "치료"는 이롭거나 바람직한 임상적 결과를 수득하기 위한 접근을 의미한다. 본 발명의 목적을 위해서, 이롭거나 바람직한 임상적 결과는 비제한적으로, 증상의 완화, 질병 범위의 감소, 질병 상태의 안정화(즉, 악화되지 않음), 질병 진행의 지연 또는 속도의 감소, 질병 상태의 개선 또는 일시적 완화 및 경감 (부분적이거나 전체적으로), 검출가능하거나 또는 검출되지 않거나의 여부를 포함한다. 또한, "치료"는 치료를 받지 않았을 때 예상되는 생존율과 비교하여 생존율을 늘이는 것을 의미할 수도 있다. "치료"는 치료학적 치료 및 예방적 또는 예방조치 방법 모두를 가리킨다. 상기 치료들은 예방되는 장애뿐만 아니라 이미 발생한 장애에 있어서 요구되는 치료를 포함한다. 질병을 "완화(alleviating)"하는 것은 치료를 하지 않은 경우와 비교하여, 질병상태의 범위 및/또는 바람직하지 않은 임상적 징후가 감소되거나 및/또는 진행의 시간적 추이(time course)가 늦춰지거나 길어지는 것을 의미한다.

[0026] "상승적인(synergistic)"은 각 성분이 병용(조합) 투여될 때 발생되는 효과가, 단일 성분으로서 단독으로 투여될 때 발생되는 효과의 합보다 더 큰 것을 말한다[Chou and Talalay, Adv. Enzyme. Regul., 22:27-55, 1984]. 본 발명의 편각영지버섯 추출물 및 사자발쑥 추출물의 혼합물은 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시키는데 있어서 상승 효과를 나타낸다.

[0027] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다.

[0028] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0029] 본 발명은 편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0030] 영지버섯은 우리나라는 물론 중국, 일본 등지에서 진귀한 약재로 이용되어 왔으며 열대, 아열대, 온대 지방에까지 전 세계적으로 널리 분포하는 버섯으로 보통 Ganoderma lucidum(Fr). karst을 말한다. 영지버섯에는 다당류 이외에 트리테르펜, 뉴클레오사이드, 스테로이드, 지방산, 알칼로이드, 단백질, 아미노산, 무기 염류 등 다양한 물질들이 함유되어 있고, 이 중 고분자 물질 (다당류 등)과 저분자물질(트리테르펜 등)이 다양하다. 저분자물질은 항염증, 항산화, 간세포보호, 항고혈압, 콜레스테롤 저하 및 혈소판 응집 저해 등의 활성이 있으며, 고분자 물질은 혈압강하, 정혈, 고지혈증 개선, 혈당강하, 면역, 그리고 항종양 등의 효과가 보고되었다. 특히, 영지의

생리활성과 약리적 기능을 갖는 주요 이차 대사산물은 다당류와 트리테르펜이며, 이들 물질과 관련된 여러 약효와 유효성분이 과학적으로 규명되고 있다.

[0031] 영지버섯은 형태적으로 크게 편각형과 녹각형으로 나누어진다. 편각영지버섯과 녹각영지버섯의 학명은 Ganodermalucidum으로 같으나 생리활성 물질 및 생리효능이 다르다. 녹각영지버섯(antler-shaped Ganoderma lucidum)은 사슴뿔 모양을 한 활엽수 그루터기에 자생하는 영지버섯의 일종으로, 자연계에서 쉽게 발견되지 않으며, 중국과 일본에서 의학적으로 높게 평가되고 있다. 우리나라에서는 녹각영지버섯이 수량성은 높으나 시장성이 좋지 않은 단점이 있어 영지버섯 재배 초기인 1980년대 초에 많이 재배하였으나 그 후 재배하지 않다가 최근에 관상용 및 가공품을 목적으로 일부 농가에서 재배하기도 한다. 그러나 최근 녹각영지버섯이 편각영지버섯보다 더 많은 양의 베타-D-글루칸 및 트리테르페노이드(triterpenoids)가 함유되어 있으며, 면역증강 및 종양억제에 더 강한 생리활성이 있다고 보고되었다. 편각영지버섯(kidney-shaped Ganoderma lucidum)은 자루없이 평편한 모양을 한 활엽수 그루터기에 자생하는 영지버섯을 말하며, 일반적으로 시중에서 판매되고 있는 영지버섯들이 편각영지버섯이다. 본 발명의 약학적 조성물에는 편각영지버섯의 배지를 제외한 전부분을 사용하였다.

[0032] 사자발쑥(Artemisia princeps Pampanini)은 아르테미시아(Artemisia) 종에 속하는 쑥으로 사자발과 비슷하게 생겼다하여 붙여진 이름이다. 사자발쑥(Artemisia princeps Pampanini)은 강화도 지역에서만 주로 자생하는 다년생 초본으로 한방에서는 소염제, 진통제, 강심제, 진해제 및 흡입제 등으로 널리 이용되었으며, 주요 약리작용으로는 항균 작용이 알려져 있다. 본 발명에서 사용된 사자발쑥 추출물은 사자발쑥 전초를 원료로 하여 제조될 수 있고, 바람직하게는 줄기 및 잎 등을 포함한 지상부를 원료로 하여 제조될 수 있다.

[0033] 본 발명에서 사용된 편각영지버섯과 사자발쑥은 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 직접 채취 또는 재배한 것을 사용할 수 있다.

[0034] 본 발명의 용어 "추출물"은 상기 편각영지버섯 또는 사자발쑥의 추출처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 희석액이나 농충액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다. 구체적으로 본 발명의 상기 추출물은 추출 후 건조 분말 형태로 제조되어 사용될 수 있다.

[0035] 본 발명에서 편각영지버섯과 사자발쑥을 추출하는데 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물; 메탄올, 에탄올, 프로필 알코올, 부틸 알코올 등의 C_1 내지 C_4의 저급 알코올; 글리세린, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 등의 다가 알코올; 및 메틸아세테이트, 에틸아세테이트, 아세톤, 벤젠, 헥산, 디에틸에테르, 디클로로메탄 등의 탄화수소계 용매; 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있고, 물, C_1 내지 C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출하는 것이 바람직하며, 상기 저급 알코올은 에탄올(주정), 메탄올 또는 부탄올인 것이 바람직하다.

[0036] 상기 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물은 각각 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:

[0037] 1) 편각영지버섯 또는 사자발쑥에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0038] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

[0039] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하는 단계.

[0040] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 추출 방법으로는 여과법, 열수 추출, 침지 추출, 환류냉각 추출 및 초음파 추출 등 당업계의 통상적인 방법을 이용할 수 있다. 추출과정은 예를 들어, 50℃ 내지 150℃, 또는 75℃ 내지 120℃, 또는 90℃ 내지 110℃ 에서 수행될 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 또한, 추출시간은 특별히 한정되지는 않으나, 10분 내지 12시간, 또는 30분 내지 6시간, 또는 2시간 내지 4시간일 수 있다.

[0041] 상기 방법에 있어서, 단계 3)의 감압 농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0042] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 혼합물은 편각영지버섯 단독 추출물과 사자발쑥 단독 추출물을 혼합한 것으로, 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물은 1:1 내지 1:20의 중량비로 혼합될 수 있고, 바람직하게는 1:2 내지 1:10, 더욱 바람직하게는 1:2 이상 1:10 미만의 중량비로 혼합될 수 있다. 상기 범위를 벗어난 중량비

로 혼합할 경우, 혼합물의 상승효과가 감소하여 최적의 활성을 나타낼 수 없다.

[0043] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 관절염은 퇴행성 관절염 또는 류마티스 관절염일 수 있고, 바람직하게는 퇴행성 관절염일 수 있다.

[0044] 상기 퇴행성 관절염(degenerative arthritis)은 윤활 관절에서 연골과 주위골에 퇴행성 변화가 나타나서 생기는 관절염을 말한다. 즉, 퇴행성 관절염은 관절 연골의 점차적인 소실과 더불어 연골 하방에 위치한 뼈의 비대, 관절 가장자리 부위의 골 생성, 및 비특이적인 활막 염증을 특징으로 하며, 노화나 과도한 물리적 압박(예를 들어, 비만, 외상 등)에 의해서 연골이 손상되어 발생하는 질환이다. 따라서, 퇴행성 관절염은 체중을 많이 받는 관절, 즉, 무릎(슬)관절, 엉덩이 (고)관절 등에 심한 통증과 운동 장애를 나타내며, 장기간 방치할 경우에는 관절의 변형까지 초래하게 된다.

[0045] 본 발명의 약학적 조성물에 포함되는 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물은 도 3 내지 5에서 확인되는 바와 같이 퇴행성 관절염과 관련된 사이토카인인 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시킴으로써 관절 염증 또는 연골 파괴를 억제한다. 특히, 편각영지버섯 추출물과 사자발쑥 추출물이 특정 중량비로 혼합된 혼합물은 Mmp3 또는 Mmp13의 mRNA 또는 단백질 발현 감소에 상승 효과(synergy effect)를 나타낸다. 따라서, 본 발명의 약학적 조성물은 IL-1β에 의해 유도된 퇴행성 관절염의 예방, 개선 또는 치료에 유용하다.

[0046] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0047] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0048] 본 발명의 약학적 조성물에 함유될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오즈(lactose), 덱스트로즈, 수크로스(sucrose), 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.

[0049] 본 발명의 약학적 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0050] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 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.

[0051] 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.

[0052] 상기 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다.

[0053] 본 발명에서 용어 "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질환의 진행 정도, 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.

[0054] 상기 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0055] 본 발명은 또한, 편각영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 추출물, 사자발쑥(*Artemisia princeps*) 추출물 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0056] 상기 건강기능식품 조성물에서 편각영지버섯 추출물, 사자발쑥 추출물 또는 이의 혼합물에 대한 설명은 전술한 바와 동일하므로, 중복 기재에 따른 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

[0057] 마찬가지로, 상기 건강기능식품 조성물에서 관절염에 대한 설명은 전술한 바와 동일하므로, 중복 기재에 따른 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

[0058] 본 발명에서 "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0059] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0060] 상기 "식품 첨가물 공전"에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다.

[0061] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0062] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0063] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 상기 약제학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.

[0064] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다.

[0065] 캅셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캅셀제는 통상의 경질 캅셀에 본 발명의 유효성분인 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질 캅셀제는 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0066] 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 혼합 생약 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.

[0067] 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 혼합 생약 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0068] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

실 시 예 1

[0069] **사자발쑥 및 편각영지버섯 추출물의 제조**

[0070] 1-1. 사자발쑥 추출물의 제조

[0071] 시판되는 편각영지버섯을 구입하여 배지를 제외한 전부분을 분말화 한 후, 물로 24시간 실내에서 정치추출(2회 반복) 후, 거름종이로 여과 후 얻어진 추출물을 동결건조기로 동결건조하여 분말화 하였다.

[0072] 1-2. 편각영지버섯 추출물의 제조

[0073] 시판되는 사자발쑥을 구입하여 지상부를 주정을 사용하여 24시간 실내에서 정치추출(2회 반복) 후, 거름종이로 여과하고, 농축기로 80% 농축 후, 동결건조기로 동결건조 한 후 분말화 하였다.

실 시 예 2

[0074] **사자발쑥 또는 편각영지버섯 추출물에 의한 연골세포 독성 측정**

[0075] 2-1. 사자발쑥 추출물에 의한 연골세포 독성 측정

[0076] 연골세포 (Chondrocyte)는 생후 5일된 정상 마우스(중앙실험동물(주))의 대퇴골두 (femoral heads), 대퇴골 관절 (femoral condyles) 및 경골 고원부 (tibial plateaus) 유래의 연골 조직으로부터 수득하였다. 수득한 연골세포는 10%(v/v) 우태아혈청(fetal bovine serum, Gibco, USA), 50㎍/ml의 스트렙토마이신(Sigma-Aldrich, USA) 및 50 unit/ml 페니실린(Sigma-Aldrich, USA)이 함유된 DMEM 배지(Gibco, USA)에서 배양하였다.

[0077] 사자발쑥추출물이 연골세포에 독성을 나타내지 않는다는 것을 확인하기 위해, 연골세포를 96웰 배양 용기에 9×10^3 세포/웰 기준으로 배양한 후, 사자발쑥 추출물을 0, 10, 50, 100 및 200 ㎍/ml의 농도별로 각각 처리하여 24시간 동안 37℃, 5% CO_2의 인큐베이터에서 배양하였다. 사자발쑥추출물의 연골세포에 대한 독성은 EZ-Cytox 세포 생존 검정 키트 (도젠, 대한민국)를 사용하여 450nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였다.

[0078] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 사자발쑥 추출물은 10, 50 및 100 ㎍/ml 의 모든 농도에서 연골세포에 대한 세포독성을 나타내지 않았으며, 연골세포 증식에 부정적인 영향을 미치지 않는 것을 확인하였다.

[0079] 2-2. 편각영지버섯 추출물에 의한 연골세포 독성 측정

[0080] 연골세포에 처리된 편각영지버섯 추출물의 농도가 각각 5, 10 및 50 ㎍/ml이라는 것을 제외하고, 상기 실시예 2-1과 동일한 방법으로 편각영지버섯 추출물에 의한 연골세포 독성을 측정하였다.

[0081] 도 2에 나타난 바와 같이, 편각영지버섯 추출물은 5, 10 및 50 ㎍/ml의 모든 농도에서 연골세포에 대한 세포독성을 나타내지 않았으며, 연골세포 증식에 부정적인 영향을 미치지 않는 것을 확인하였다.

실 시 예 3

[0082] **사자발쑥 추출물에 의한 관절 염증 억제 및 연골 파괴 억제 효과 확인**

[0083] 3-1. Mmp3 및 Mmp13의 전사 수준 억제 효과 확인

[0084] IL-1β는 연골세포에서 관절 염증 및 연골 조직 파괴를 촉진하는 대표적인 염증성 사이토카인이다. 관절 염증 및 연골 파괴 억제 효과를 확인하기 위해, 상기 실시예 2-1에서 수득한 연골세포에 1 ng/ml의 IL-1β (GeneScript, 미국)를 처리하여 36시간 배양한 후, 사자발쑥 추출물을 각각 0, 10, 50 및 100 ㎍/ml으로 처리하여 24시간 추가 배양하였다. 아무것도 처리하지 않은 연골세포를 대조군(Con)으로 사용하였다.

[0085] 그 다음, qRT-PCR을 수행하고자 연골세포로부터 TRI 시약(Molecular Research Center Inc.)을 이용하여 RNA를 추출하고, 상기 RNA를 역전사시켜 얻은 cDNA를 서열번호 1, 2, 3 및 4의 프라이머를 사용하여 어닐링 온도 58℃의 조건에서 PCR로 증폭하여 연골파괴에 중요한 Mmp3 및 Mmp13의 발현을 확인하였다. 대조군으로는 서열번호 5 및 6의 프라이머로 Gapdh (450bp, 어닐링 온도 58℃)를 확인하였다.

표 1

[0086]

서열번호	서열 (5'-3')	센스/안티센스	유전자	크기(bp)	어닐링 온도 (AT, ℃)
1	TCCTGATGTTGGTGGCTTCAG	S	Mmp3	102	58
2	TGTCTTGGCAAATCCGGTGTA	AS			
3	TGATGGACCTTCTGGTCTTCTGG	S	Mmp13	473	58
4	CATCCACATGGTTGGGAAGTTCT	AS			
5	TCACTGCCACCCAGAAGAC	S	Gapdh	450	58

6	TGTAGGCCATGAGGTCCAC	AS

[0087] 그 결과, 도 3A에 나타난 바와 같이 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 및 Mmp13의 전사 발현이 사자발쑥 추출물에 의해 농도 의존적으로 억제됨을 확인하였다.

[0088] 3-2. Mmp3 및 Mmp13의 단백질 발현 수준 억제 효과 확인

[0089] 상기 실시예 2-1에서 수득한 연골세포에 1 ng/ml의 IL-1β와 사자발쑥추출물을 각각 0, 10, 50 및 100 μg/ml 24시간 동안 처리하여 Mmp3과 Mmp13의 단백질 발현 정도를 확인하였다. 아무것도 처리하지 않은 연골세포를 대조군(Con)으로 사용하였다.

[0090] 분비 단백질인 Mmp3 및 Mmp13은 900 ㎕의 혈청-부재 조건 배지(conditioned medium)를 100 ㎕ TCA(trichloroacetic acid)와 반응시킨 후, 0℃에서 20분간 반응시켰다. 그 다음 12,000 rpm, 4℃에서 10분간 원심분리기를 통해 상층액을 제거하고, 차가운 100% 아세톤 500 ㎕와 20℃에서 1 시간 반응시켰다. 100% 아세톤과 반응 중인 샘플을 원심분리기를 통해 상층액을 제거하고, 단백질을 최종적으로 침전시킨 후 검출하여 항-Mmp3 항체 (Abcam) 및 항-Mmp13 항체 (Abcam)를 이용한 웨스턴 블랏팅 및 웨스턴 블랏 밴드를 컴퓨터 프로그램을 활용하여 밴드의 두께 및 농도를 측정하여 그 상대적인 값을 농도계(densitometer)로 나타내었다.

[0091] 그 결과, 도 3B에 나타난 바와 같이 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 및 Mmp13의 단백질 발현이 사자발쑥 추출물에 의해 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다. 이는 사자발쑥 추출물에 의해 관절 및 연골 조직 파괴가 완화 또는 억제될 수 있음을 나타낸다.

실 시 예 4

[0092] **편각영지버섯 추출물에 의한 관절 염증 억제 및 연골파괴 억제 효과 확인**

[0093] 연골세포에 처리된 IL-1β의 농도가 5 ng/ml이고, 편각영지버섯 추출물의 농도가 각각 5, 10 및 50 μg/ml이라는 것을 제외하고, 상기 실시예 3-1과 동일한 방법으로 편각영지버섯 추출물에 의한 Mmp3 및 Mmp13의 전사 수준 억제 효과를 확인하였다.

[0094] 도 4에서 확인되는 바와 같이, 연골세포에서 IL-1β에 의해 증가된 Mmp3 및 Mmp13의 전사 발현이 편각영지버섯 추출물에 의해 농도 의존적으로 억제됨을 확인하였다.

실 시 예 5

[0095] **사자발쑥 추출물 및 편각영지버섯 추출물의 혼합물에 의한 관절 염증 억제 및 연골파괴 억제 확인**

[0096] 연골세포에 처리된 IL-1β의 농도가 1 ng/ml이고, 100 μg/ml의 사자발쑥 추출물과 0, 10 또는 50 μg/ml의 편각영지버섯 추출물을 조합하여 처리한 것을 제외하고, 상기 실시예 3-1과 동일한 방법으로 사자발쑥 추출물 및 편각영지버섯 추출물의 혼합물에 의한 Mmp3 및 Mmp13의 전사 수준 억제 효과를 확인하였다.

[0097] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이 사자발쑥 추출물 및 편각영지버섯 추출물의 혼합물에 의한 Mmp3 및 Mmp13의 전사 수준 억제 효과는 각 단독 추출물에 의한 억제 효과 보다 현저히 우수함을 확인하였다.

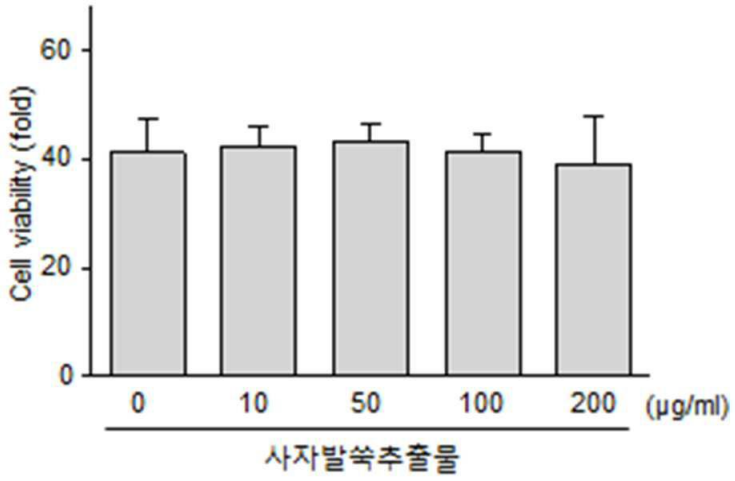
[0098] **통계분석**

[0099] 본 발명의 모든 실시예의 결과들은 만킨 스코어(Mankin score)와 같은 서수 등급 시스템에 기반하여 정량된 데이터로 비모수(non-parametric) 통계학적 방법들을 이용하여 분석하였다. 상대적인 배수 변화(fold changes)로 표시된 qRT-PCR 데이터는 먼저 샤피로-윌크(Shapiro-wilk) 검정을 이용하여 정규 분포(normal distribution)을 확인한 후 쌍대 비교(pair-wisecomparisons) 및 다중 비교(multi-comparisons)를 위해 각각 스튜던츠 t-검정(Student's t test) 및 사후검정(post hoc test)을 포함하는 ANOVA(analysis of variance)를 이용하였다. 통계적으로 유의성은 0.05 레벨의 확률로 받아들여졌다 ($P < 0.05$).

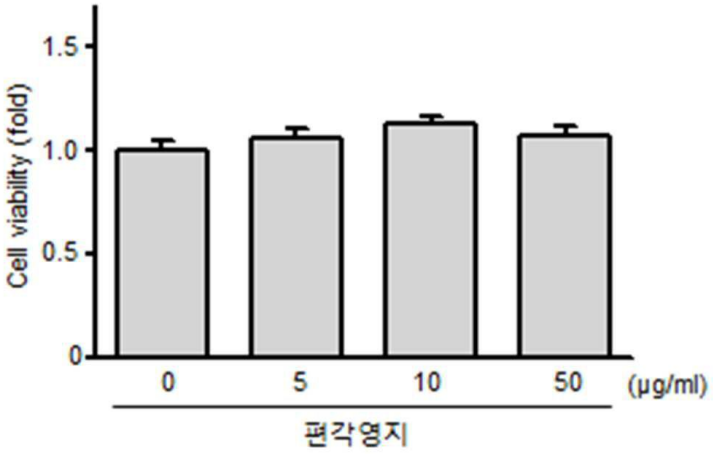
[0100] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

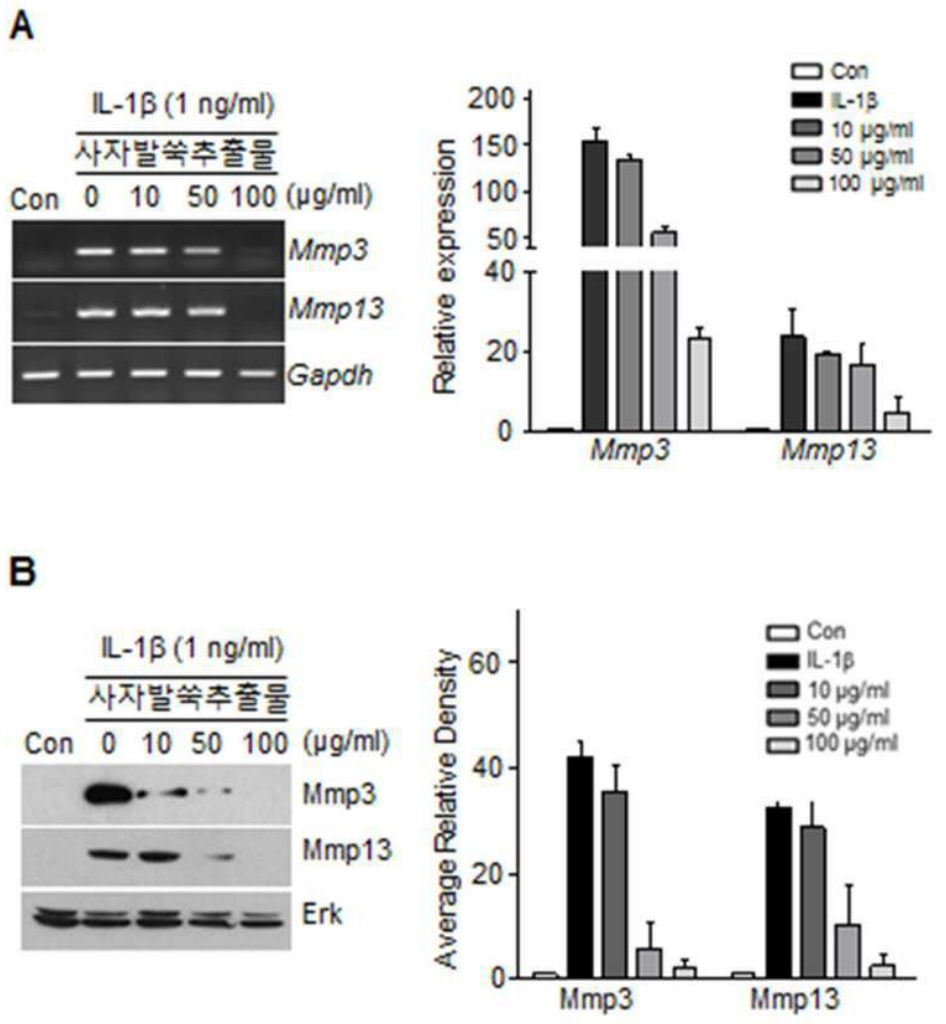
도면1


60
40
20
0
Cell viability (fold)
0
10
50
100
200
(μg/ml)
사자발쑥추출물

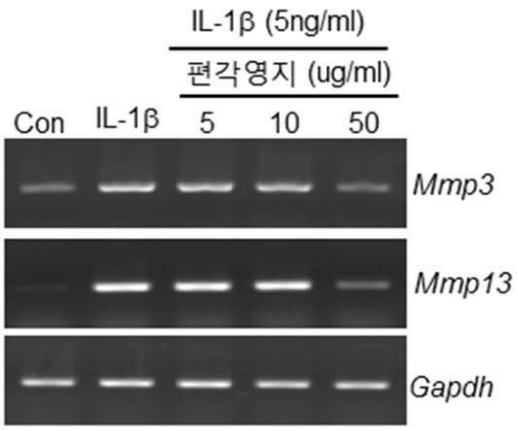
도면2


1.5
1.0
0.5
0
Cell viability (fold)
0
5
10
50
(μg/ml)
편각영지

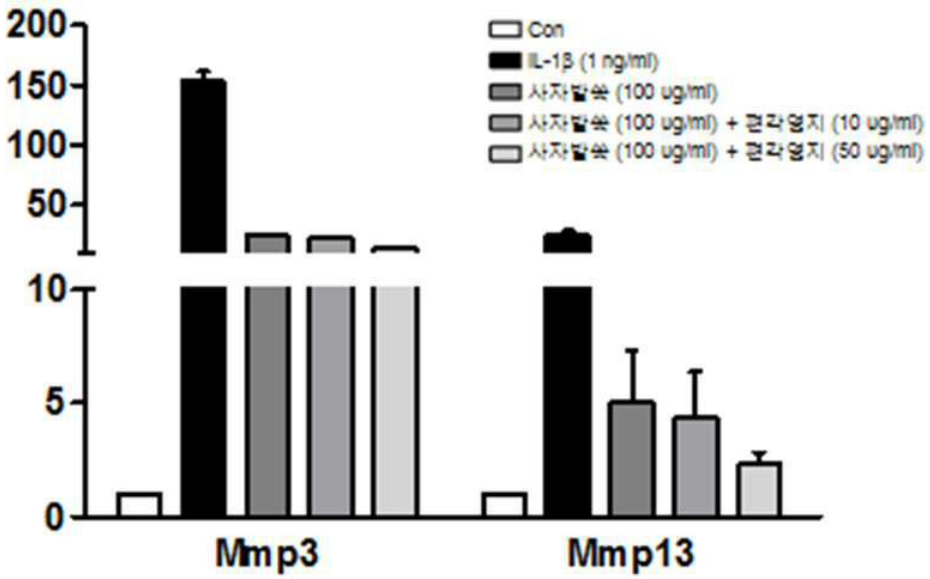
도면3


A
IL-1β (1 ng/ml)
사자발쑥추출물
Con 0 10 50 100 (μg/ml)
Mmp3
Mmp13
Gapdh
Relative expression
200
150
100
50
40
20
0
Con
IL-1β
10 μg/ml
50 μg/ml
100 μg/ml
Mmp3
Mmp13
B
IL-1β (1 ng/ml)
사자발쑥추출물
Con 0 10 50 100 (μg/ml)
Mmp3
Mmp13
Erk
Average Relative Density
60
40
20
0
Con
IL-1β
10 μg/ml
50 μg/ml
100 μg/ml
Mmp3
Mmp13

도면4


IL-1β (5ng/ml)
편각영지 (ug/ml)
Con IL-1β 5 10 50
Mmp3
Mmp13
Gapdh

도면5



서 열 목 록

<110> REPUBLIC OF KOREA(MANAGEMENT : RURAL DEVELOPMENT ADMINISTRATION)

<120> Composition for preventing, improving or treating arthritis comprising extract of Ganoderma lucidum, extract of Artemisia princeps or mixture thereof

<130> 1064323

<160> 6

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mmp3 primer(sense)

<400> 1

tcctgatgtt ggtggcttca g 21

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mmp3 primer(antisense)

<400> 2

tgtcttggca aatccggtgt a 21

<210> 3

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mmp13 primer(sense)

<400> 3

tgatggacct tctggtcttc tgg 23

<210> 4

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mmp13 primer(antisense)

<400> 4

catccacatg gttgggaagt tct 23

<210> 5

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gapdh primer(sense)

<400> 5

tcactgccac ccagaagac 19

<210> 6

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gapdh primer(antisense)

<400> 6

tgtaggccat gaggtccac 19