



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0050523
(43) 공개일자 2017년05월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/03 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/03 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0152164
(22) 출원일자 2015년10월30일
심사청구일자 2015년10월30일

(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,
부경대학교)
(72) 발명자
김형탁
부산광역시 남구 황령대로319번길 26, 104동 210
2호(대연동, 대연경동메르빌아파트)
권위경
부산광역시 남구 수영로250번길 11-24, 302호(대
연동, 상상하우스)
정은지
부산광역시 남구 천제등로24번길 5
(74) 대리인
위병갑

전체 청구항 수 : 총 6 항

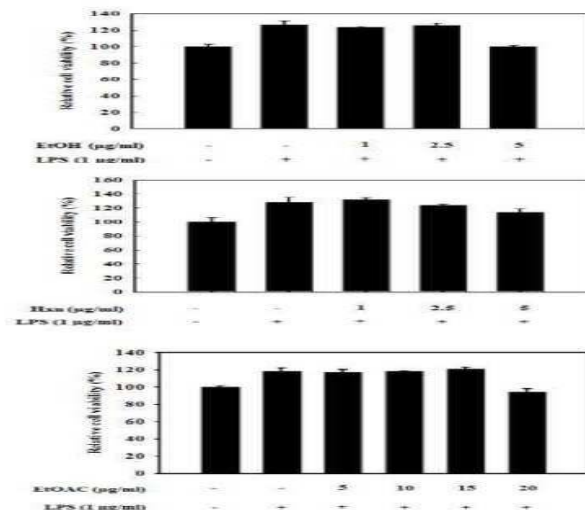
(54) 발명의 명칭 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 톱니모자반 추출물은 염증성 사이토카인 IL-1 β , IL-6 또는 TNF- α 의 활성을 감소 또는 억제시키는 활성이 우수하고, 관절염 동물모델에서 관절염을 개선하는 효과가 우수하여 관절염 치료용 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

또한, 세포독성이 일어나지 않으며, 약물에 대한 독성 및 부작용도 없어 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있으며, 체내에서도 안정한 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

A23V 2250/202 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C-D-2015-0417

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 수산실용화기술개발사업

연구과제명 톱니모자반을 이용한 건강 기능성 식품소재 개발

기 여 율 50/100

주관기관 부경대학교

연구기간 2015.06.08 ~ 2018.06.07이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C-D-2015-0360

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 중견연구자지원사업

연구과제명 톱니모자반에 함유된 sargahydroquinoic acid, sargachromenol 및 sargaquinoic acid의 항산화/항염증 기전의 상호작용 규명

기 여 율 50/100

주관기관 부경대학교

연구기간 2015.05.01 ~ 2018.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

톱니모자반 추출물(*Sargassum serratifolium*)을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 톱니모자반 추출물은 물 또는 유기용매를 이용하여 수득한 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 유기용매는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 아세톤, 에테르, 벤젠, 클로로포름, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드, 헥산 및 시클로헥산으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 톱니모자반 추출물은 염증성 사이토카인 IL-1 β , IL-6 또는 TNF- α 의 활성을 감소 또는 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 관절염은 퇴행성 관절염, 류마티스 관절염 또는 루푸스(Lupus) 관절염인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

톱니모자반 추출물(*Sargassum serratifolium*)을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인체는 약 200 여개의 관절로 이루어져 있다. 관절이란 뼈와 뼈가 만나는 부위이다. 관절은 뼈와 뼈 사이가 부드럽게 운동할 수 있도록, 연골, 관절낭, 활막, 인대, 힘줄, 근육 등으로 구성되어 있으며, 움직임에 따라 발생하는 충격을 흡수하는 역할을 한다.

[0003] 이러한 관절에 나타나는 염증성 질환은 자가면역이 원인인 것으로 이해되는 만성 관절 류마티스, 세균 감염에 의한 감염성 관절염, 여러 원인으로 인하여 관절 연골이나 뼈에 변성이나 파괴가 일어나는 변형성 관절염, 결합 조직의 퇴행성 변화로 인하여 가용성 대사 산물이 관절 주변의 결합 조직 내에 결정으로 침착되는 결정성 관절염 등으로 크게 구분될 수 있다.

[0004] 퇴행성 관절염, 즉 골관절염은 관절을 구성하는 연골세포(chondrocytes)에 노화로 인한 퇴행이 발생하여, 연골 세포에서 관절의 기질 물질들인 유형II 콜라겐(type II collagen) 및 프로테오글리칸 등의 합성이 저해됨과 동시에, 인터루킨-1 β (interleukin-1 β) 및 종양괴사인자- α (tumor necrosis factor- α) 등의 염증성 사이토카인

이 생성됨에 따라, 관절기질을 분해하는 기질 금속단백질 분해효소 (matrix metalloproteinase; MMP)의 합성 및 활성이 관절세포에서 증가됨으로 인해 관절조직이 파괴됨으로써 유발되는 질병이다.

[0005] 또한, 관절염은 염증성 사이토카인에 의한 일산화질소의 생성과, 생성된 일산화질소에 의한 자가 증폭적인 사이토카인의 생성으로 인해 더욱 많은 MMP의 합성이 유발되어 관절기질의 분해가 촉진됨으로써 더욱 악화된다. 이와 동시에, 염증성 사이토카인은 기질 대사산물인 프로스타글란딘 E2의 생성을 증가시켜 관절염에서의 염증반응을 유발시킨다.

[0006] 생체에 있어서 염증반응은 다양한 생화학적 현상이 관여하고 있으며, 특히, 면역세포에 의해 생산되는 염증반응과 관련된 다양한 효소에 의해 반응이 개시되거나 조절된다. 구체적으로, 상기 면역세포들은 히스타민(histamine), 일산화질소(nitric oxide, NO) 또는 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2) 등의 도움으로 혈관을 통해 손상된 부위로 이동하여 염증반응을 개시한다. 상기 손상된 부위로 이동한 면역세포는 TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL-1 β (interleukin-1 β) 또는 IL-6(interleukin-6)와 같은 사이토카인(cytokine)이나 MIP-1, IL-8 또는 MCP-1 등과 같은 케모카인(chemokine)을 분비하여 직접적인 외부침입물질을 파괴하거나 다른 면역세포들을 모아 염증반응을 개시한다.

[0007] 상기 염증반응을 일으키는 인터페론- γ (interferon- γ), 리포테이코산(lipoteichoic acid), lipopolysaccharide(LPS) 등의 염증유발 물질이나 다양한 염증 유도 사이토카인에 노출될 경우, iNOS(inducible Nitric Oxide synthase)와 COX-2(cyclooxygenase-2)가 발현되어, NO와 PGE2가 과량 생성된다. 이들 여러 염증 개시인자들(iNOS, COX-2, TNF- α , IL-6 등)은 활성화된 NF- κ B에 의해 전사가 촉진되며, 이로 인해 NO가 필요이상으로 생성되면 쇼크에 의한 혈관확장, 염증반응에 의해 유발되는 조직손상, mutagenesis, 신경조직의 손상 등을 일으킨다.

[0008] 산화질소(Nitric oxide; NO)는 NO 합성효소 (NOS)에 의하여 L-arginine과 분자상의 산소로써 만들어진다. 포유동물에는 세가지 형태의 NOS가 존재한다; 즉, neuronal NOS (nNOS), endothelial NOS (eNOS) 및 inducible NOS(iNOS). nNOS와 eNOS는 신경세포와 내피세포에서 구성적으로 발현된다. 그러나, iNOS는 유도성으로 LPS나 전구성 염증 사이토카인(cytokine)의 노출에 의하여 거식세포나 단구세포에서 만들어진다 (Vane et al., 1994). iNOS에 생성된 NO는 염증이나 면역반응을 일으켜 세포로 침입한 병원체의 증식억제제나 세포독성물질로 작용한다. 그러나 iNOS의 과발현에 의하여 생성된 과잉의 NO는 병리적인 상태를 야기시키는 것으로 알려져 있다 (Kim et al., 2005; Pan et al., 2011). 세포내에서 과잉의 NO에 의한 유해한 효과는 자체로써 염증매개인자로 작용할 뿐만 아니라 superoxide와 반응하여 퍼옥시니트리트(peroxynitrite)를 생성한다. 퍼옥시니트리트는 단백질, 지방, DNA와 같은 세포내 분자의 산화적 손상을 야기시킬뿐만 아니라 정상적인 유전자 조절을 변형시키기도 한다. 따라서 다량의 NO 뿐만 아니라 iNOS의 과발현은 여러 가지 염증성 질환과 관련된 병리적인 상태와 밀접한 관련이 있다(MacMicking et al., 1997; Maeda and Akaike, 1998).

[0009] Nuclear factor kappa B (NF- κ B)는 세포의 성장은 물론 면역과 급성 염증반응에 주요한 역할을 한다(Li and Verma, 2002; Makarov, 2001). NF- κ B 활성화는 iNOS와 여러 가지 전구염증성 유전자들의 발현을 촉진한다(Kim et al., 2005; Makarov, 2001). NF- κ B의 활성화 경로는 LPS에 의해 inhibitor of κ B (I κ B)- α kinase의 인산화 다음으로 I κ B- α 가 인산화되어 ubiquitine에 의해 인산화된 I κ B- α 가 분해됨으로써 유리상태의 NF- κ B가 핵으로 이동하게 되어 염증관련 유전자들의 발현을 조절한다(Chen et al., 1995). 또 다른 NF- κ B의 활성화는 mitogen-activated protein kinases (MAPKs) (Guha and Mackman, 2001)나 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) 경로 (Sheu et al., 2005)를 통하여 일어난다. MAPKs에는 extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-Jun NH2-terminal kinase(JNK) 및 p38 MAPK이 있으며, 이들은 NF- κ B 활성화를 통한 염증 유전자들의 전사조절과 관련이 있다 (Bhat et al., 1998; Kao et al., 2005; Shin et al., 2010). PI3K 또한 NF- κ B 활성화를 통한 염증성 사이토카인의 생성에 관여하고 있다 (Cremer et al., 2011; Sheu et al., 2005). PI3K 활성화는 포스파티딜인오시타이드(phosphatidylinositide)를 인산화시켜 Akt 단백질을 활성화시킨다. 활성화된 PI3K/Akt은 거식세포의 활성화에 주요한 역할을 한다 (MacMicking et al., 1997; Sheu et al., 2005). 따라서, 항염증제를 개발하기 위하여 NF- κ B의 활성화를 억제시키거나, NF- κ B를 활성화시키는 MAPKs과 Akt의 활성화를 억제시키는 물질을 찾기 위한 많은 연구가 진행되고 있다.

[0010] MMPs는 골 및 연골의 기질 구성요소를 파괴하는 단백질 분해효소로서, 염증질환상태일 때 염증성 사이토카인(cytokine)에 의해서 자극을 받은 연골조직에서 발현되어 활성이 증가한다. MMPs는 최소 21개의 효소를 구성하는데, collagenase (MMP-1,8,13), stromelysin (MMP-3,10,11), gelatinase (MMP-2,9)와 matrix type-1 metalloproteinase (MMP-14)의 하위그룹으로 세분화된다. 이 중 MMP-2와 MMP-9은 젤라티나아제 서브패밀리

(gelatinase subfamily)로써, 연골조직의 콜라겐 분해에 특히 중요한 효소이다. 이 두 가지 효소는 연골에 다량 존재하는 섬유성 콜라겐 I과 II 및 aggrecan을 포함한 다른 기질들을 분해한다.

- [0011] 류마티스와 퇴행성 관절염은 관절 활막조직 내로의 염증세포 침윤이 그 특징이며, 이는 chemokine에 의해서 매개된다. 관절염의 활막조직에는 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 등의 chemokine이 발현되며, 이들은 활막섬유아세포(synovial fibroblast) 등에서 생성되는 것으로 알려져 있다. 관절염에 의해 생성된 과잉의 MCP-1은 염증부위로 단구세포와 거식세포를 불러들이고, 이들세포들을 활성화함으로써 염증성 사이토카인의 생성을 촉진하여 염증을 더욱 악화시키는 역할을 한다.
- [0012] 류마티스와 퇴행성 관절염의 활막 조직에서 사이토카인에 의해 혈관 내피세포에서 vascular cellular adhesion molecule 1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)과 E-selectin 등과 같은 유착 분자(adhesion molecule) 발현을 증가시켜 염증 세포의 침윤을 유도한다. 과발현된 ICAM-1과 VCAM-1은 류마티스성 관절염, 퇴행성 관절염과 같은 만성염증과 관련이 있다.
- [0013] 류마티스와 퇴행성 관절염은 만성 전신성 염증 질환으로 대칭성, 다발성의 관절염과 이에 따른 관절의 손상 및 변형이 생기는 질환이다. 이러한 관절염에 대한 치료를 받지 않을 경우에는 경과가 불량하여 관절 기능의 장애를 나타내며, 더 지속되면 관절 기능의 장애로 인하여 일상생활에 지장을 받는다. 국내에서는 전인구의 약 1%가 류마티스성 관절염으로 고생하고 있을 것으로 추정되는데, 류마티스성 관절염의 발생률은 남성보다 여성이 3배 정도 높으며 주로 20 ~ 40대에서 발생하는 것으로 알려져 있다.
- [0014] 류마티스성 관절염의 주요 원인이 점차 밝혀지고 있으며, 유전적인 요인과 감염, 호르몬의 이상 등이 원인 인자로 생각되고 있다. 이러한 원인 인자로 인하여 '자가면역' 현상이 생기는데, 자가면역이란, 우리 몸의 면역조절 기능 이상으로 인해 만성 염증이 몸의 여러 부위에서 다발적, 지속적으로 일어나는 현상이다.
- [0015] 한편, 상기 관절염 치료에 사용되는 약물은 염증의 감소, 질병 진행의 지연, 요산 농도의 감소라는 주된 작용기전을 근거로 대별할 수 있는데, 많은 신경관절염 치료 약물들이 염증을 감소시키는 작용을 한다. 염증은 통증, 부종, 열감, 발작, 경직을 일으키는 병적 과정이며, 염증을 신속히 완화시키는 약물에는 아스피린을 비롯한 비스테로이드성 항염제와 코티손을 비롯한 스테로이드성 항염제가 있다.
- [0016] 비스테로이드성 항염제는 통증을 감소시켜서 신경관절을 편안하게 하고 염증을 완화시키는 효과가 있으나, 위장 장애가 나타나거나 복통을 유발하는 경우도 있기 때문에, 활동성 소화성 궤양이나 위장 부위의 출혈적 병력이 있는 사람에게는 사용이 금지된다. 스테로이드성 항염제는 그 효과에 비해 체중 증가나 고혈압 등의 부작용이 심각하여 퇴행성 신경관절염에는 잘 사용하지 않는다.
- [0017] 특히, 스테로이드성 항염제는 질환의 원인 치료와는 전혀 무관하고, 단순히 통증을 일시적으로 감소시켜 관절의 과잉 사용을 유도할 소지가 있으며, 이는 신경관절을 파괴하고 장애를 악화시키는 요인이 되기 때문에 사용에 주의를 요한다.
- [0018] 따라서, 관절염 등의 관절손상에 사용되는 종래의 치료법은 한정적인 유효성을 갖고, 명백한 유독성 부작용을 수반하며, 장기간 동안 지속적으로 사용할 수 없어 그 유효성이 제한되므로, 기존의 치료법이 갖는 단점을 극복한 새로운 신규 치료법 내지는 치료제가 절실히 요구되고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0019] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제656571호
(특허문헌 0002) 한국등록특허 제585562호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0020] 이에 본 발명자들은 톱니모자반이 염증성 사이토카인을 억제하고 관절염 실험동물에서 관절염을 개선시킨다는 것을 규명함으로써 관절염 치료제로 사용할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0021] 따라서, 본 발명의 목적은 톱니모자반 추출물(*Sargassum serratifolium*)을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0022] 또한 본 발명의 다른 목적은 톱니모자반 추출물(*Sargassum serratifolium*)을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0023] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 톱니모자반 추출물(*Sargassum serratifolium*)을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0024] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 톱니모자반 추출물은 물 또는 유기용매를 이용하여 수득한 추출물일 수 있다.

[0025] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 유기용매는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 아세톤, 에테르, 벤젠, 클로로포름, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드, 헥산 및 시클로헥산으로 이루어진 군 중에서 선택된 것일 수 있다.

[0026] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 톱니모자반 추출물은 염증성 사이토카인 IL-1 β , IL-6 또는 TNF- α 의 활성을 감소 또는 억제할 수 있다.

[0027] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 관절염은 퇴행성 관절염, 류마티스 관절염 또는 루푸스(Lupus) 관절염일 수 있다.

[0028] 또한, 본 발명은 톱니모자반 추출물(*Sargassum serratifolium*)을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0029] 본 발명은 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 톱니모자반 추출물은 염증성 사이토카인 IL-1 β , IL-6 또는 TNF- α 의 활성을 감소 또는 억제시키는 활성이 우수하고, 관절염 동물모델에서 관절염을 개선하는 효과가 우수하여 관절염 치료용 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

[0030] 또한, 세포독성이 일어나지 않으며, 약물에 대한 독성 및 부작용도 없어 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있으며, 체내에서도 안정한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 톱니모자반의 주정추출물(EtOH)을 농도별로 처리한 후, 세포에 미치는 세포 독성을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 류마티스 관절염 실험동물모델 제작 과정을 나타낸 모식도이다.

도 3은 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주 동안의 체중 변화를 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 발 두께의 변화를 확인한 결과이다.

도 5는 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 관절염 지수의 변화를 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주째에 실험동물을 희생시킨 다음 체중 당 비장의 무게를 확인한 결과이다.

도 7은 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 육안으로 관절염 정도를 확인한 결과이다.

도 8은 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주째에 실험동물을 희생시킨 다음 혈청 내 염증성사이토카인(IL-1 β , IL-6 또는 TNF- α) 생성 억제 정도를 확인한 결과이다.

도 9는 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주째에 실험동물을 희생시킨 다음 뒷발 조직 내 염증성사이토카인(IL-1 β , IL-6 또는 TNF- α) 생성 억제 정도를 웨스턴블랏으로 확인한 결과이다.

도 10은 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주째에 실험동물을 희생시킨 다음 뒷발 조직내 전염증성 단백질인(iNOS, COX-2)의 발현억제 정도를 확인한 결과이다.

도 11은 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주째에 실험동물을 희생시킨 다음 뒷발 조직내 전염증성 단백질인(iNOS, COX-2)의 발현억제 정도를 확인한 결과이다.

도 12는 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주째에 실험동물을 희생시킨 다음 뒷발 조직내 전염증성 단백질과 사이토카인의 전사조절을 담당하는 NF- κ B의 인산화 정도를 확인한 결과이다.

도 13은 본 발명의 톱니모자반 추출물을 류마티스 관절염 실험동물에 투여한 후 6주째에 실험동물을 희생시킨 다음 뒷발 조직내 염증을 조절하는 전사인자인 NF- κ B의 활성화에 관여하는 상위 단백질 (Akt, JNK, p38 단백질)의 인산화 정도를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 본 발명은 톱니모자반 추출물에 관절염 치료 활성이 우수함을 규명한 톱니모자반 추출물의 신규 용도에 관한 것이다.
- [0033] 본 발명에서는 새로운 관절염 치료제로서의 소재로서 톱니모자반 추출물에 주목하였는데, 톱니모자반은 조간대에서 점심대에 걸쳐 생육하는 식물로서 1 ~ 4m인 다년생 대형 갈조류이다. 뿌리는 지름 4 ~ 5cm로 원뿔상이고, 고무와도 같으며 나이트가 있고, 줄기는 원주상으로 짧고 다수의 중심가지로 나뉘며 편압되어 있다. 또한 줄기의 양 가장자리가 얇고, 세로로 중륜처럼 한쪽으로 융기하며, 가장자리에서 짧은 가지를 내고 있으며 줄기잎은 기부로 향하여 있고, 가장자리에 2중으로 된 톱니가 있으며, 기포는 둥근 모양에 가까우며 그 꼭대기에 관엽 또는 가지 모양의 돌기가 있다. 특히 우리나라의 남해안과 제주에 생육하는 것으로 알려져 있으며, 지질강하, 혈압강하, 방사성 동위원소 배출작용에 대한 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있을 뿐, 아직까지 관절염과 관련된 작용에 대해서는 알려진 바가 없다.
- [0034] 본 발명자들은 톱니모자반 추출물이 관절염 치료 활성이 있다는 것을 본 발명의 일실시예를 통하여 확인하였는데, 본 발명의 일실시예에 의하면, 톱니모자반 추출물 처리에 따른 관절염과 관계되어 있는 염증성 사이토카인 발현 정도를 측정한 결과, 류마티스 관절염이 유도된 실험동물군에서는 염증성 사이토카인이 급격히 증가하였지만, 본 발명의 톱니모자반 추출물 처리군에서는 TNF- α , IL-6 또는 IL-1 β 에 대한 염증성 사이토카인 발현이 유의적으로 억제되는 것을 알 수 있었다. 또한, 톱니모자반 추출물 처리가 류마티스 관절염 실험동물의 관절염을 개선할 수 있음을 실험으로 확인하였다.
- [0035] 따라서, 본 발명자들은 톱니모자반 추출물이 관절염에 대한 치료 활성을 갖는다는 사실을 알 수 있었으며, 다른 모자반 추출물에 비해 톱니모자반 추출물이 더 월등하게 관절염 치료 활성을 나타내고 있다. 따라서, 본 발명자들은 다른 모자반 중에 비해 본 발명의 톱니모자반이 관절염 치료제로 더 유용한 소재임을 알 수 있었다.
- [0036] 따라서, 본 발명의 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 관절염을 효과적을 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0037] 본 발명에서 “관절염”이란 퇴행성 관절염, 류마티스 관절염 또는 루푸스(Lupus) 관절염을 의미하며, 이에 제한되는 것은 아니지만 가장 바람직하게는 류마티스 관절염과 퇴행성 관절염을 의미한다.
- [0038] 본 발명에 따른 톱니모자반은 당업계에서 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 ‘추출물’은 적절한 용매를 이용하여 톱니모자반으로부터 추출한 것이며, 예를 들어, 톱니모자반의 열수추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 모두 포함할 수 있다.
- [0039] 톱니모자반으로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 당업계에서 허용되는 용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있다. 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로

혹은 혼합하여 사용할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

- [0040] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 톱니모자반 추출물의 제조 방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.
- [0041] 예를 들면, 본 발명의 조성물에 포함되는 톱니모자반 추출물은 상기한 열수 추출 또는 용매 추출법으로 추출된 1차 추출물을, 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수 있다. 또한 상기 1차 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획을 얻을 수도 있다.
- [0042] 따라서 본 발명에 있어서 톱니모자반 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.
- [0043] 이러한 톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 약제학적 조성물일 수 있다.
- [0044] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [0045] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0046] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트라케칸스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다. 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 일실시예에 있어서, 본 발명의 톱니모자반 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.001 내지 20 중량%로 포함될 수 있다.
- [0048] 또한, 본 발명의 조성물은 또한 식품 조성물일 수 있는데, 이러한 식품 조성물은 유효성분인 톱니모자반 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0049] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 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.
- [0050] 본 발명의 식품 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 건강 보조식품류 등이 있다.

- [0051] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 톱니모자반 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0052] 본 발명의 유효성분인 톱니모자반 추출물은 천연물질로서 독성 및 부작용은 거의 없으므로 관절염의 예방 및 치료를 위한 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있다.
- [0053] 본 발명의 건강기능식품은 관절염의 예방 및 치료를 위한 목적으로 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.
- [0054] 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.
- [0055] 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.
- [0056] 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.
- [0057] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 톱니모자반 추출물을 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.
- [0058] 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분인 톱니모자반 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 톱니모자반 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0059] 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 톱니모자반 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.
- [0060] 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 톱니모자반 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0061] 상기 건강기능식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.
- [0062] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0063] <실시예 1>
- [0064] **톱니모자반 주정추출물의 제조**
- [0065] 본 발명에서 사용한 톱니모자반은 부산시 기장군에서 채집하여 사용하였고, 아래와 같은 방법을 통해 톱니모자반의 주정추출물을 수득하였다. 먼저 주정추출물의 제조를 위해 톱니모자반을 음지 또는 양지에서 자연건조 후 마쇄하여 얻은 분말 2 kg과 주정(95% 에탄올)을 각각 8 L씩 넣고 70℃에서 3시간 동안 3회 반복하여 환류냉각기가 장착된 추출기로 추출한 후 한외여과장치(MWCO, 50 kDa) 여과하여 이물질을 제거한 후, 여과된 추출물을 진

공회전농축기로 40℃에서 용매를 제거한 다음 추출된 잔사로서 톱니모자반추출물 (200 ± 25 g)을 수득하였다.

[0066] <실험예 2>

[0067] 톱니모자반의 주정추출물의 류마티스 관절염 치료 효과

[0068] <2-1> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 체중 변화 측정

[0069] 본 발명자들은 톱니모자반 추출물에 류마티스 관절염을 치료할 수 있는지 여부를 확인하기 위하여, 먼저 류마티스 관절염이 유도된 실험동물을 제작하였다.

[0070] Male DBA/1J mouse (8 주령) 사용하여, 1주일간 순화 및 사육을 하였으며, 일주일 뒤에 DBA/1J mouse를 제2형 콜라겐 (Bovine type II collagen, 2 mg/mL)을 Complete Freund's Adjuvant (CFA)와 혼합, 유화시켜서 emulsion(CII/CFA)을 만든다. DBA/1J mouse의 꼬리 끝으로부터 2 ~3 cm 정도 떨어진 꼬리의 아랫부분에 있는 정맥을 찾아 100 μ l의 CII/CFA를 피하주사하였다. CII/CFA 투여 3 주 후 제 2형 콜라겐과 동량의 Incomplete Freund's Adjuvant (IFA)를 혼합, 유화시켜 만든 유상액 CII/IFA 100 μ l를 DBA/1J mouse의 엉덩이 부분과 꼬리 부분의 연결 부위인 근육에 2차 피하주사를 실시하였다. 2차 피하 주사하는 날부터 19일 동안 본 발명의 방법으로 제조된 톱니모자반 추출물을 0.01%(0.024 g/체중 kg), 0.05%(0.12 g/체중 kg)로 첨가하여 동물실험을 하였다. .

[0071] 아무것도 처리하지 않은 대조군, 관절염 동물군(CIA 처리군), 관절염 실험동물에 0.01%, 0.05%의 톱니모자반 추출물을 처리한 처리군을 대상으로 7주까지 매주 체중을 측정하였는데, 그 결과 모든 군에서 3주째에서 4주째 넘어가는 시기에 체중이 약간 증가하였으나, 그룹별 체중변화는 유의적으로 나타나지 않았다. (도 3 참조).

[0072] <2-2> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 발 두께의 변화 측정

[0073] 본 발명자들은 톱니모자반 추출물에 의한 류마티스 관절염 치료효과를 확인하기 위하여 관절염의 지표가 되는 발 두께(paw thickness) 변화를 측정하였다.

[0074] 상기 <2-1>의 류마티스 관절염이 유도된 실험동물 제작 과정 중 2차 피하 주사 후 19일간 전자 caliper를 사용하여 3일마다 톱니모자반 추출물 처리에 따른 발 두께 변화를 측정하였다.

[0075] 그 결과, 관절염이 유도된 실험동물은 염증에 의해 발 두께가 증가한 반면에, 톱니모자반 추출물 처리군의 발 두께는 관절염 유도 실험동물군에 비하여 유의적으로 두께가 감소하였음을 알 수 있었고, 19일 후에는 대조군과 비슷한 정도의 두께로 나타났음을 확인하였다(도 4 참조).

[0076] <2-3> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 관절염 지수 측정

[0077] 본 발명자들은 톱니모자반 추출물의 류마티스 관절염 치료효과를 확인하기 위하여 육안으로 관절염 지수를 관찰하였으며, 각각에 대한 관절염 지수는 0 ~ 4점으로 점수를 매기고, 비실험자 5인에 의해 측정되었다.

[0078] 관절염 지수는 한 마리당 각각의 발에 대한 점수를 합산하여 얻게 되었다(최고점수=16점).

[0079] -평가 기준-

[0080] 0점: 아무 증상이 없음

[0081] 0.5점: 하나의 손가락이 붓고 부음

[0082] 1점: 2 ~ 5개의 손가락이 붓고 조금의 부음

[0083] 2점: 2 ~ 5개의 관절의 붓음과 중도의 부음

[0084] 3점: 전체 발의 붓음과 부음

- [0085] 4점: 감소된 부음과 기형
- [0086] 각각의 처리군을 대상으로 류마티스 관절염 평가점수를 확인한 결과, 관절염이 유도된 실험동물군에서는 관절염 지수가 높게 나타났으나, 본 발명의 톱니모자반 추출물을 처리한 처리군에서는 관절염 평가 지수가 유의적으로 낮아졌음을 알 수 있었다(도 5 참조).
- [0087] **<2-4> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 체중 당 비장의 무게 측정**
- [0088] 본 발명자들은 톱니모자반 추출물이 류마티스 관절염을 치료할 수 있는지 여부를 확인하기 위하여 비장의 무게를 측정하였다.
- [0089] 비장은 인체 면역 시스템의 주요한 조직으로써, 상대적인 무게는 흔히 테스트하고자하는 샘플의 면역조절활성을 평가하기 위한 예비지표로써 많이 사용된다.
- [0090] 체중 당 비장의 무게를 측정한 결과, 관절염이 유도된 실험동물에서는 비중(비장이 부어서 커진 상태)을 드러냈지만, 본 발명의 톱니모자반 추출물을 처리한 군에서는 비중이 나타나지 않았으며, 이는 톱니모자반 주정추출물에 의한 비장의 확장과 면역 세포의 침투성의 억제를 확인할 수 있었다(도 6 참조).
- [0091] **<2-5> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 관절염 치료 정도 육안 관찰**
- [0092] 본 발명자들은 톱니모자반 추출물 처리에 따른 관절염 치료 정도를 육안으로 관찰한 결과, 관절염이 유발된 실험동물군에서는 뒷발이 심하게 부었으며, 홍반 증세를 보였다. 그러나, 본 발명의 톱니모자반 추출물을 0.01%, 0.05%로 19일간 처리한 처리군에서는 붓기가 감소되었고, 홍반 증상이 완화되었음을 확인할 수 있었다(도 7 참조).
- [0093] **<2-6> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 염증성 사이토카인 억제 효과**
- [0094] 보통 류마티스 관절염이 발달하면 염증부위로 모여든 활성화된 면역세포에 의해 인터루킨(IL)과 PGE₂와 같은 염증매개체(inflammatory mediator)들이 관절과 혈액으로 방출되는데, 특히 TNF- α , IL-6, IL-1 β 는 류마티스 관절염의 질병 정도 유무를 파악할 수 있는 지표로 사용될 수 있다.
- [0095] 본 발명자들은 실험동물의 혈액 중 상기 염증성 사이토카인 발현 정도를 측정하기 위하여 ELISA kit를 사용하여 측정한 결과, 류마티스 관절염이 유도된 실험동물군에서는 염증성 사이토카인이 급격히 증가하였지만, 본 발명의 톱니모자반 추출물을 19일간 급이한 처리군에서는 TNF- α , IL-6 또는 IL-1 β 에 대한 염증성 사이토카인 발현이 유의적으로 억제되는 것을 알 수 있었다(도 8 참조).
- [0096] **<2-7> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 염증성 사이토카인 억제 효과**
- [0097] 본 발명자들은 염증부위인 뒷발을 마쇄하여 추출한 단백질 중 염증성 사이토카인 발현 정도를 측정하기 위하여 웨스턴 블롯(Western blot)으로 측정하였다.
- [0098] 그 결과, 류마티스 관절염이 유도된 실험동물군에서는 염증성 사이토카인이 급격히 증가하였지만, 본 발명의 톱니모자반 추출물 처리군에서는 TNF- α , IL-6 또는 IL-1 β 에 대한 염증성 사이토카인 발현이 유의적으로 억제되는 것을 알 수 있었다(도 9 참조).
- [0099] **<2-8> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 iNOS와 COX-2 단백질 생성억제 효과**
- [0100] NO와 PGEs는 nitric oxide synthase (NOS)와 cyclooxygenase (COX)에 의해 각각 L-arginine 및 인지질로부터 합성된다. 병리적인 조건 하에서 NO와 PGE2의 과도한 증가는 염증 과정을 자극하고 다른 염증 매개체와 함께 상승효과를 나타낸다. 이러한 상태 하에서 과도한 NO와 PGE2는 inducible NOS (iNOS)와 COX-2에 의해 합성된다. 또한, iNOS와 COX-2는 염증성 사이토카인과 박테리아성 내독소(endotoxin)에 노출되었을 때 강하게 발현된다.
- [0101] 따라서 CIA 처리로 유도된 실험동물의 염증부위인 뒷발조직에서 iNOS와 COX-2의 단백질 발현에 대한 톱니모자반

주정추출물의 염증억제효과를 Western blot을 통하여 관찰하였는데, 즉 실험에 사용한 각 동물군을 대상으로 조직 용해물을 수득한 후, iNOS와 COX-2에 대한 항체를 사용하여 웨스턴 블릿을 수행하였다.

[0102] 분석 결과, 도 10에 나타난 바와 같이, 톱니모자반 주정추출물은 CIA 처리로 유도된 실험동물의 관절조직내 iNOS와 COX-2 단백질의 발현을 농도 의존적으로 감소시켰다. 이러한 결과는 톱니모자반 주정 추출물이 iNOS와 COX-2의 발현을 억제하여 관절조직에서의 항염증 효과를 발휘하는 것을 알 수 있다.

[0103] <2-9> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 NF-κB 인산화 억제 효과

[0104] CIA 처리에 의한 iNOS와 COX-2 및 전구염증성 사이토카인인 TNF-α, IL-1β 및 IL-6 등은 전사인자인 NF-κB에 의하여 조절된다. NF-κB는 일반적인 상태에서는 inhibitory κB-α (IκB-α)와 함께 결합하여 세포질에서 불활성화 상태로 존재한다. 하지만 콜라겐과 같은 항원을 동물체내에 주입하면 거식세포, 단구세포 등의 면역세포들이 활성화되어 염증 작용을 일으킨다. 이러한 외부 자극에 의하여 세포내 불활성화 상태의 NF-κB는 인산화에 의하여 활성화되어 핵내로 이동하여 염증 관련 단백질의 전사작용에 기여하게 된다.

[0105] 따라서 본 발명자들은 본 발명의 톱니모자반 주정추출물이 NF-κB가 핵으로 이동하는 것에 대한 영향을 주는지 확인하기 위해, CIA 처리로 염증이 유도된 실험동물에 톱니모자반 주정추출물을 19일 동안 사료와 섞어서 급여하였다. 실험에 사용한 각 동물군을 대상으로 조직 용해물을 수득한 후, NF-κB 인산화에 대한 항체를 사용하여 웨스턴 블릿을 수행하였다.

[0106] 분석결과, 도 11에 나타난 바와 같이, CIA 처리로 유도된 NF-κB 인산화는 톱니모자반 주정추출물의 급여에 의해 농도의존적으로 감소하였으며, 0.05%의 주정추출물 급여에 의하여 대조구와 비슷한 정도의 인산화 수준을 나타내었다.

[0107] 따라서 상기 실험을 통해 톱니모자반 주정추출물은 CIA 처리로 유도된 실험동물의 관절조직내 NF-κB의 인산화를 억제함으로써 NF-κB가 핵으로 이동하여 염증성사이토카인 등의 염증인자로 작용하는 NF-κB의 활성화를 차단시킬 수 있다는 것을 실험동물을 통해 확인할 수 있었다.

[0108] <2-10> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 MAPKs와 Akt 활성화 억제 효과

[0109] 다양한 외부자극에 의한 NF-κB 전사인자의 활성화를 통해 iNOS나 COX-2 또는 전구염증성 사이토카인의 발현을 유도하는 과정을 조절하는 분자신호 전달기전은 주요 MAPK 서브 패밀리에 속하는 세 가지 효소들, 즉 extracellular-regulated protein kinase (ERK), c-Jun NH2-protein kinase (JNK), p38 MAPK와 PI3K/Akt들을 들 수 있다. 이에 관절내 단백질의 인산화에 관한 본 발명의 톱니모자반 주정추출물의 효과를 확인하기 위해 웨스턴 블릿을 수행하였다.

[0110] 그 결과, 도 12에 나타나 있듯이, CIA 처리로 유도된 실험동물의 염증 반응에서 톱니모자반 주정추출물은 Akt, JNK, p38 MAPK의 인산화(활성화)억제를 보였다. 따라서 상기 결과를 통해 톱니모자반 주정 추출물은 관절조직내 다양한 신호 단백질 경로를 차단함으로써 염증 반응을 저해한다는 것을 알 수 있었다.

[0111] <2-11> 톱니모자반 추출물 처리에 따른 ICAM-1, VCAM-1, MCP-1, MMP-1, 2, 9의 생성억제 효과

[0112] CIA로 류마티스 관절염을 유도하면 관절부위의 연골조직을 분해하는 MMP-1, MMP-2 및 MMP-9의 발현의 증가, 관절 활막조직 내로의 염증세포 침윤을 유도하는 MCP-1의 증가, 그리고 관절의 활막조직에 염증세포의 침윤을 증가시키는 ICAM-1과 VCAM-1 등이 증가한다. 이에 관절 염증부위의 ICAM-1, VCAM-1, MCP-1, MMP-1, 2, 9의 생성 억제효과에 관한 본 발명의 톱니모자반 주정추출물의 효과를 확인하기 위해 웨스턴 블릿을 수행하였다.

[0113] 그 결과, 도 13에 나타나 있듯이, CIA 처리로 유도된 실험동물의 염증 반응에서 톱니모자반 주정추출물은 ICAM-1, VCAM-1, MCP-1, MMP-1, 2, 9의 생성억제효과를 보였다. 따라서 이러한 결과를 통해 톱니모자반 주정 추출물은 관절조직내 다양한 신호 단백질 경로를 차단함으로써 염증 반응을 저해한다는 것을 알 수 있었다.

[0114] <실험예 3>

[0115] 다양한 모자반 추출물에서의 관절염 치료 효과 확인

[0116] 본 발명의 톱니모자반 추출물과 비교하여 다른 모자반 중에서도 관절염 치료 효과가 있는지 여부를 확인하기 위하여 다양한 염증성 사이토카인 중 TNF- α 의 발현 정도를 ELISA kit를 사용하여 측정하였다.

[0117] 그 결과, 류마티스 관절염이 유도된 실험동물군에서는 염증성 사이토카인인 TNF- α 가 급격히 증가하였지만, 다양한 모자반 추출물을 처리하였을 때에는 TNF- α 의 발현이 감소하였다. 관절염 실험동물군에 참모자반, 팽생이모자반, 왜모자반, 알송이모자반, 큰잎모자반, 큰열매모자반, 엔도오모자반 또는 외톨개모자반을 처리하고 TNF- α 발현양을 확인 결과, 몇몇 모자반 추출물에서 모자반 추출물을 처리하지 않은 군에 비하여 TNF- α 발현양이 억제되었으며, 본 발명의 톱니모자반에서는 다른 종의 모자반 추출물에 비해 염증성사이토카인을 확연하게 억제할 수 있음을 알 수 있었다(표 1 참조).

[표 1] 수종 모자반 추출물의 TNF- α 생성억제 효과

모자반 명 (학명)	EC ₅₀
톱니모자반 (<i>Sargassum serratifolium</i>)	4.6 ug/mL
참모자반 (<i>S. fulvellum</i>)	32.4 ug/mL
팽생이모자반 (<i>S. horneri</i>)	> 200 ug/mL
왜모자반 (<i>S. yezoense</i>)	> 200 ug/mL
알송이모자반 (<i>S. confusum</i>)	87.6 ug/mL
큰잎모자반 (<i>S. coreanum</i> = <i>S. ringgoldianum</i>)	> 200 ug/mL
큰열매모자반 (<i>S. macrocarpum</i>)	> 200 ug/mL
엔도오모자반 (<i>S. yendoi</i>)	62 ug/mL
외톨개모자반 (<i>Myagropsis myagroides</i>)	13.5 ug/mL

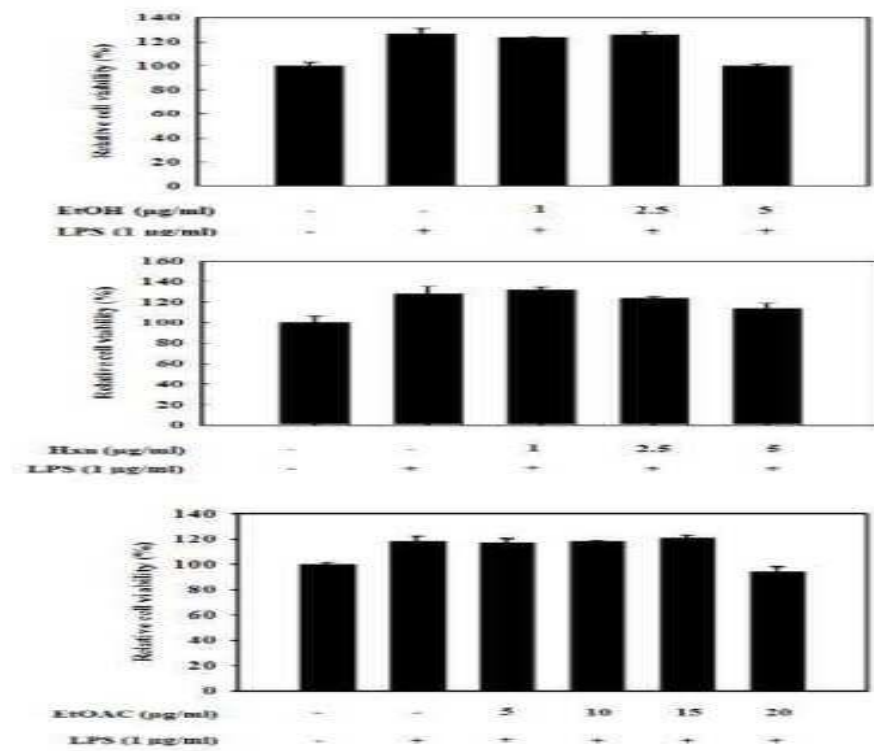
[0118]

[0119] 따라서, 본 발명에서는 모자반 추출물에 관절염 치료 효과가 있음을 알 수 있었고, 특히 본 발명의 톱니모자반 추출물에서는 다른 모자반 추출물 보다 관절염 치료 효과가 더 월등함을 확인할 수 있었다.

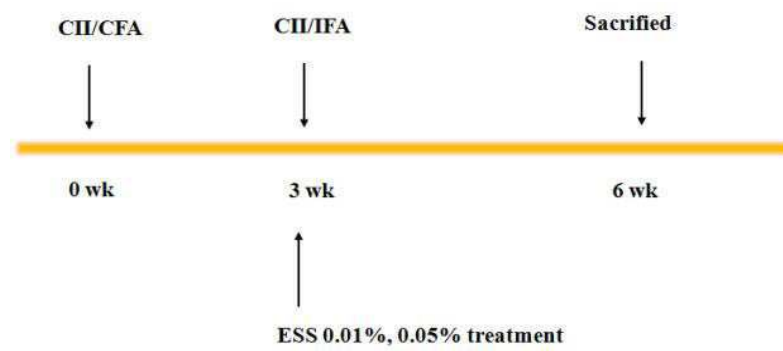
[0120] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

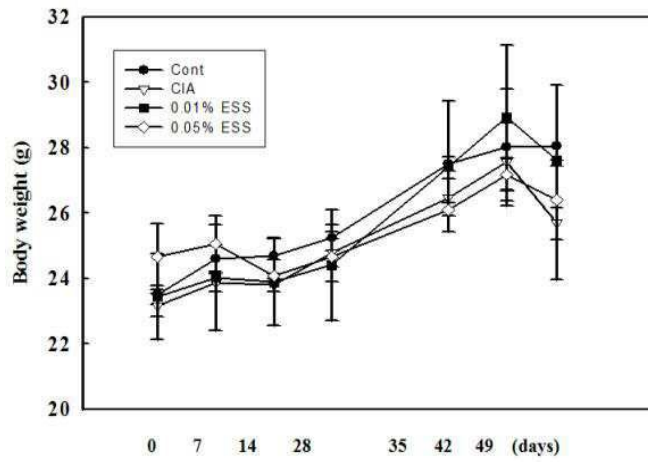
도면1



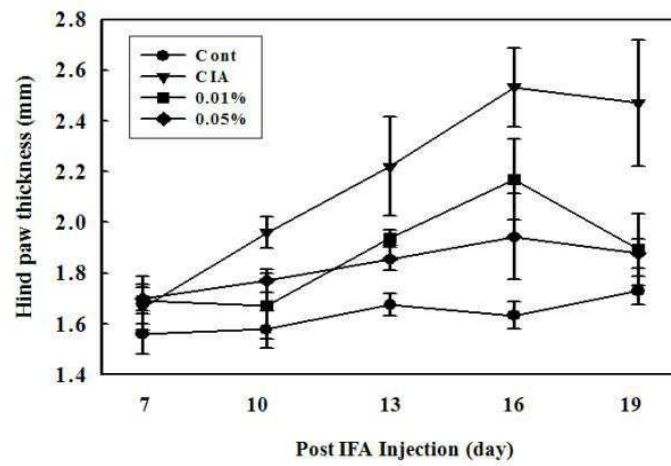
도면2



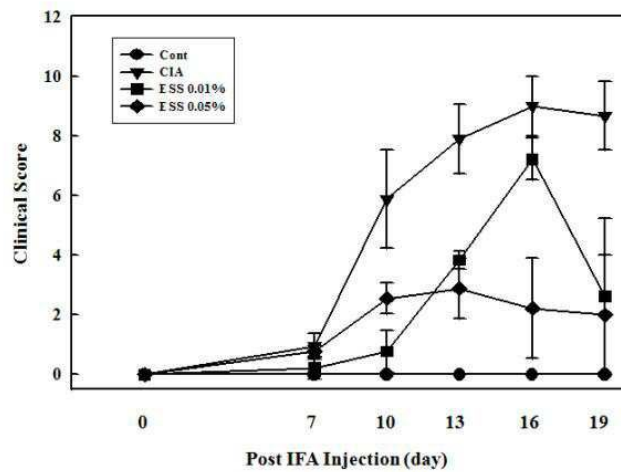
도면3



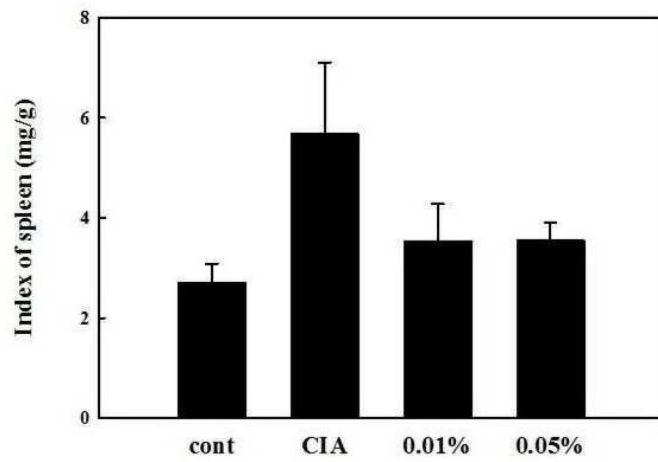
도면4



도면5



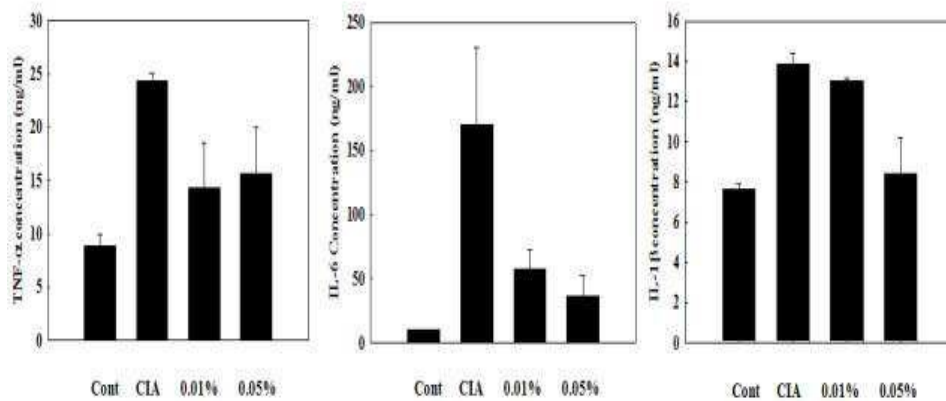
도면6



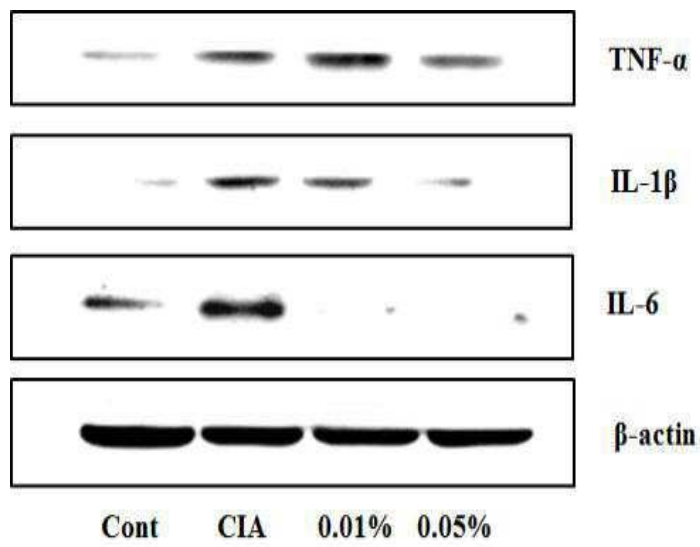
도면7



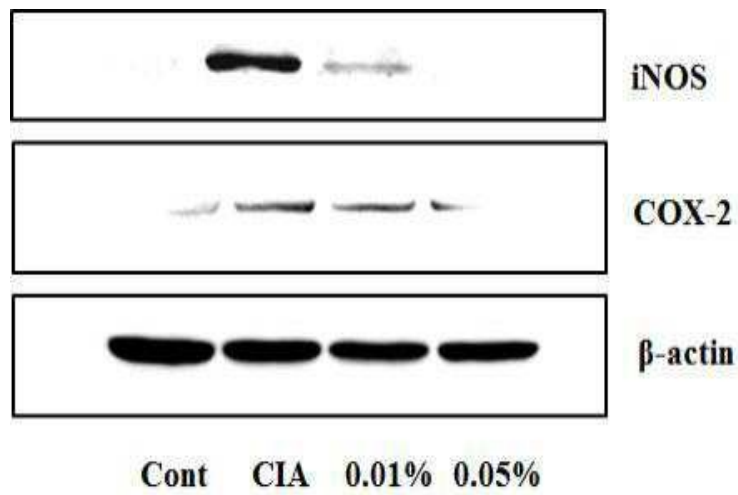
도면8



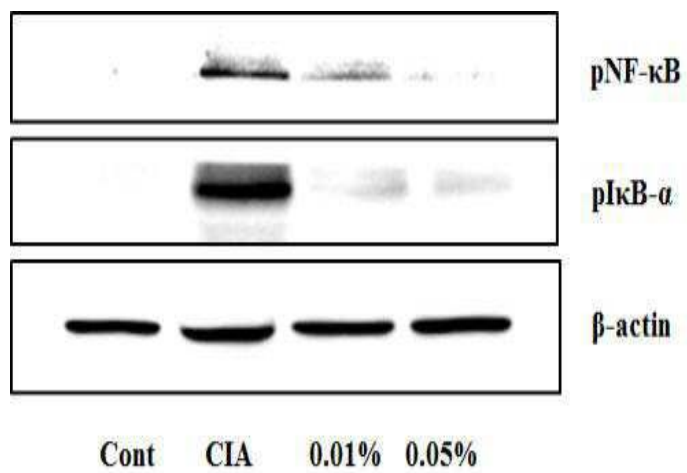
도면9



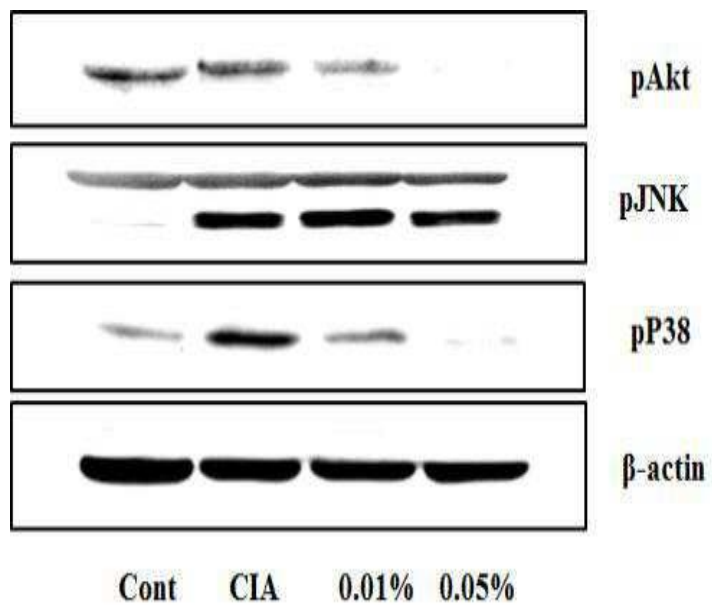
도면10



도면11



도면12



도면13

