



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0100414  
(43) 공개일자 2012년09월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 36/07 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)  
A23L 1/29 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2011-0019281  
(22) 출원일자 2011년03월04일  
심사청구일자 2011년03월04일

(71) 출원인  
충남대학교산학협력단  
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)  
(주)머쉬토피아  
경상남도 진주시 대곡면 널방재길 342  
(72) 발명자  
정혜광  
대전광역시 유성구 반석서로 98, 609동 1102호 (반석동, 반석마을6단지아파트)  
이현옥  
경상남도 진주시 금산면 장사리 705 두산위브 106-1503  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
백경업

전체 청구항 수 : 총 4 항

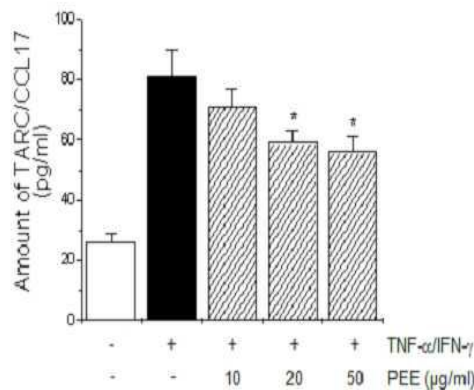
(54) 발명의 명칭 새송이버섯 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물

### (57) 요약

본 발명은 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 아토피 피부염과 같은 각종 피부질환의 증세를 치료 또는 경감시키는 활성이 탁월한 새송이버섯 추출물에 관한 것이다.

본 발명에서는 상기 새송이버섯 추출물이 아토피 피부염에서 증가된다고 알려진 사이토카인 및 단백질인 TARC/CCL17, MDC/CCL22, CTACK/CCL27, ICAM-1 등의 발현을 감소시키는 것을 나타냄으로, 상기 추출물이 아토피 피부염의 치료제로 사용될 수 있음을 확인할 수 있다.

**대 표 도** - 도2



(72) 발명자

**한은희**

광주광역시 서구 화개1로 33, 호반 리센시빌 APT  
206동 2009호 (금호동)

**황용필**

대전광역시 유성구 문화원로 119, 707호 (봉명동,  
봉명시터빌)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 70006470

부처명 지식경제부

연구사업명 농림기술개발과제 연구개발

연구과제명 새송이버섯 부산물을 이용한 아토피 피부염 억제 기능성 소재의 개발

주관기관 (주)머쉬토피아

연구기간 2010.04.01 ~ 2011.03.31

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

새송이버섯의 유기용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 유기용매는 에탄올인 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물.

### 청구항 3

새송이버섯의 유기용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 유기용매는 에탄올인 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

## 명세서

### 기술분야

[0001] 본 발명은 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 아토피 피부염과 같은 각종 피부질환의 증세를 치료 또는 경감시키는 활성이 탁월한 새송이버섯 추출물에 관한 것이다.

### 배경기술

[0002] 아토피 피부염(atopic dermatitis)은 천식과 알레르기성 질환의 발달 전에 발생하는 만성적인 염증질환으로, 케모카인의 농도, 양적변화나 활성 정도에 따라 그 증상에 차이가 있으며(Pivarcsi and Hone, 2005), Th2 타입의 림프구가 병변부(lesional skin)로 침입하는 현상을 말하기도 한다(Grew *et al.*, 1998).

[0003] Th2 케모카인 중의 하나인 TARC/CCL17(thymus and activation-regulated chemokine)은 흉선(thymus)에서 지속적으로 발현되며 각질형성세포(keratinocytes)에서도 생성된다(Vestergaard *et al.*, 1999). 상기 TARC 케모카인은 림프구를 끌어들이는 역할을 하며, Th2 림프구(Th2 lymphocytes), 호염기성 세포(basophils), 자연살해세포(natural killer cells)에서 우선적으로 발현된다(Sallusto *et al.*, 1998; Nickel *et al.*, 1999; Godisk *et al.*, 1997). TARC와 밀접한 관계를 맺고 있는 케모카인으로 MDC/CCL22(macrophage-derived chemokine)가 있는데, 상기 MDC/CCL22도 각질형성세포에서 생성되는 것으로 알려져 있으며(Hino *et al.*, 2007), 아토피 피부염 환자들의 혈청에는 TARC와 MDC가 과량으로 발현되는 것이 특징이다(Shimada *et al.*, 2004; Hashimoto *et al.*, 2006). 또한, CTACK/CCL27(cutaneous T cell-attracting chemokine)은 피부에서 발현되는 케모카인으로(Reiss *et al.*, 2001) 피부 염증 질환에 관련이 되어 있다고 알려져 있다(Kakinuma *et al.*, 2003).

[0004] 아토피 피부염의 다른 증상으로, ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1)이 과발현되는 것이 확인되는데(Campbell *et al.*, 1999), ICAM-1은 림프구의 표면 항원(leukocyte surface antigen)을 위한 수용체(receptor)로 작용함으로써, 세포와 세포의 고착(adhesion)을 매개하는 역할을 한다.

[0005] 아토피 피부염은 면역학적 요인에 의해 각질형성세포의 증식이 비정상적으로 일어나는 현상이라고 할 수 있는데, 각질형성세포를 IFN- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ )나 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ )에 노출시키면 TARC, MDC, CTACK 등의 케모카인이 비정상적으로 발현하는 것을 확인할 수 있다. 이러한 현상은 염증반응이 일어나면서 단핵구/T세포(monocytes/T cells)가 피부로 침투되는 현상이 증가되기 때문이다(Sebastiani *et al.*, 2002).

[0006] 아토피 피부염의 치료는 그 근원을 찾아 치료하는 것이 쉽지 않기 때문에, 완치를 목표로 하기보다는 유발인자를 피하고 적절한 치료를 통해 아토피 피부염의 증상을 조절해 나가는 것이 일반적이다. 아토피 피부염에 대한

처방은 스테로이드제, 항히스타민제, 항생제 등과 같은 약물요법이 주로 이루어지고 있는데, 스테로이드제(부신 피질호르몬제)는 크게 소염작용과 면역억제 작용이 있으며 효과가 우수하지만, 장기간 바르면 피부약화, 전신 호르몬증상, 중독성 등의 부작용이 나타날 수 있다. 항히스타민제는 비만세포에서 히스타민이 유리되지 못하도록 하여 가려운 증상을 경감시키나 임시방편으로 사용하는 것으로 장기간 복용시 불면, 불안, 식욕감퇴 등의 부작용이 있을 수 있다. 따라서 아토피 피부염에 효과가 있으면서도 부작용이 없는 새로운 개념의 아토피 피부염 치료 조성물이 요청되고 있다.

[0007] 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 한국에서 식재료와 전통의약품으로 폭 넓게 사용되고 있는 버섯 종류이다. 새송이버섯에는 지방이나 탄수화물은 거의 없지만 대부분의 채소류보다 단백질의 함량이 높은 편이다. 또한 비타민 B, D, K, A, C가 풍부하며, 저열량 식사에 적합하다(Kurtzman, 1997; Manzi and Aguzzi, 2001; Mattila *et al.*, 2001; Yildiz *et al.*, 1998). 새송이버섯의 활성과 관련되어서 새송이버섯이 항미생물 작용, 항산화 작용(Kalyoncu *et al.*, 2010), 항염증, 항알레르기 효과 등이 있다고 알려져 있기는 하지만 아토피 피부염에 대한 치료 효과나 그 외의 기능은 다양하게 알려져 있는 편이 아니다.

[0008] 이에 대해, 본 발명자들은 새송이버섯의 에탄올 추출물(PEE)이 아토피 피부염의 완화 및 억제에 현저한 효과가 있다는 것을 발견함으로써 본 발명을 완성할 수 있었다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 새송이버섯 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

### 과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 아토피 피부염과 같은 각종 피부질환의 증세를 치료 또는 경감시키는 활성이 탁월한 새송이버섯 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0011] 상기 새송이버섯 추출물은 상기 새송이버섯을 에탄올 수용액, 프로판올, 부탄올, 이소프로판올, 에틸아세테이트, 에테르, 아세톤, 클로로포름 등과 같은 극성용매 및 이들의 혼합용매로 추출한 후, 이를 헥산과 물의 분배, 디아이온 HP-20 레진과 같은 흡착수지 사용방법, 칼럼 크로마토그래피에 의한 방법 등 식물체 성분의 분리 추출에 이용되는 공지의 방법을 단독 또는 적합하게 조합하여 용이하게 얻을 수가 있다. 조추출물은 필요에 따라서 상법에 따라서 더욱 정제할 수 있다.

[0012] 본 발명에서 사용하는 크로마토그래피에는 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 칼럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등이 이용될 수 있다.

[0013] 또한 본 발명은 새송이버섯 추출물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명에 따른 새송이버섯 추출물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 새송이버섯 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 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. 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 새송이버섯 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 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. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용

제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0015] 상기 새송이버섯 추출물의 투여량은 치료 받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 0.1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 새송이버섯 추출물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0016] 특히, 새송이버섯은 예로부터 식품 또는 약재로 사용해 왔던 것으로 본 발명의 새송이버섯 추출물을 인체에 투여할 경우 다른 합성 의약품에 비해 부작용의 염려가 없을 것으로 사료되며, 실제로도 동물 실험을 통한 독성 시험 결과 생체 내 아무런 영향이 없는 것으로 판명되었다.

[0017] 또한, 본 발명은 새송이버섯 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 상기 건강기능식품으로는 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스낵류, 면류, 아이스크림을 포함한 낙농제품, 스프, 이온음료를 포함한 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제를 포함한 영양 공급용 제품이 포함될 수 있다.

### 발명의 효과

[0018] 본 발명은 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 아토피 피부염과 같은 각종 피부질환의 증세를 치료 또는 경감시키는 활성이 탁월한 새송이버섯 추출물에 관한 것이다.

[0019] 본 발명에서는 상기 새송이버섯 추출물이 아토피 피부염에서 증가된다고 알려진 사이토카인 및 단백질인 TARC/CCL17, MDC/CCL22, CTACK/CCL27, ICAM-1 등의 발현을 감소시키는 것을 나타냄으로, 상기 추출물이 아토피 피부염의 치료제로 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

### 도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)이 세포독성이 없음을 나타내는 WST-1 어세이 결과이다.

도 2는 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)이 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 로 증가된 TARC/CCL17의 발현을 억제하는 효과가 있음을 나타내는 면역측정법 결과이다.

도 3은 새송이버섯의 열수추출물(PEW)이 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)과 달리, TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 로 증가된 TARC/CCL17의 발현억제능력이 없음을 나타내는 면역측정법 결과이다.

도 4는 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)이 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 로 증가된 TARC/CCL17, MDC/CCL22 및 CTACK/CCL27의 발현을 억제하는 효과가 있음을 나타내는 RT-PCR 결과이다.

도 5는 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)이 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 로 증가된 ICAM-1의 발현을 억제하는 효과가 있음을 나타내는 웨스턴 블로팅 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 그리고 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이다.

[0022] <실시예 1. 새송이 버섯의 에탄올 추출물(PEE) 제조>

[0023] 새송이 버섯의 추출방법은 [Seo et al., 2005]의 방법을 이용하였다.

[0024] 새송이버섯은 육안으로 선별된 새송이버섯 부산물을 수돗물 또는 음용수로 낙하 세척하여, 가로와 세로가 각각

2±1cm, 두께 0.5±1cm 정도의 크기로 세절한 다음, 전기열풍건조기를 사용하여 45℃에서 36시간 건조시켰다. 이 후 상기 건조된 새송이버섯(130g)을 에탄올 500ml를 이용하여 60℃에서 4시간 동안 2회 추출하였다. 이 후, 상기 추출액을 회전농축기(EYELA, SB-1000)로 55℃에서 30rpm으로 농축시켜 동결한 후, 이를 동결건조하여 분말(PEE, *Pleurotus eryngii* ethanol extracts, 분말 회수율 0.23%)로 제조하였고, 상기 분말을 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여서 사용하였다.

[0025] 또한 본 발명의 새송이버섯의 에탄올 추출물의 효과를 비교하기 위해 새송이버섯의 열수추출물을 제조하였다. 이를 위해 새송이버섯(130g)을 물 1000ml를 이용하여 90℃에서 8시간 동안 추출하였다. 이 후, 상기 추출액을 회전농축기(EYELA, SB-1000)로 55℃에서 30rpm으로 농축시켜 동결한 후, 이를 동결건조하여 분말(PEW, *Pleurotus eryngii* water extracts, 분말 회수율 0.22%)로 제조하였고, 상기 분말을 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여서 사용하였다.

[0026] <실시예 2. 새송이버섯 추출물의 세포독성 확인>

[0027] 세포독성은 WST-1 어레이 키트를 사용하였으며, 본 발명의 새송이버섯 추출물의 처리로 인해 어떠한 독성도 확인되지 않았다. 이를 위해 먼저 인간각질형성세포주(human keratinocyte cell line)인 HaCaT 세포를 10%의 FBS(fetal bovine serum), 2mM L-글루타민(L-glutamine), 100U/ml 페니실린(penicillin), 및 100μg/ml 스트렙토마이신(streptomycin)이 포함된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에서 배양하였다. 이 후의 모든 세포 배양은 상기 방법으로 배양하여 이용하였다. 본 발명의 새송이버섯 추출물은 DMSO에 녹여서 세포에 처리하였으며, 대조군에는 DMSO만을 처리하였다. 세포에 처리되는 DMSO는 0.1% 미만의 농도로 처리되었다. 상기 WST-1 어레이 결과는 도 1에 나타내었다.

[0028] 도 1을 확인하면, 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)이 세포독성이 없음을 확인할 수 있다.

[0029] <실시예 3. 아토피 피부염 관련 케모카인과 단백질의 발현 확인>

[0030] 3-1. TARC/CCL17 발현 확인 - 면역 측정법 이용

[0031] 사이토카인 TARC/CCL17의 발현 확인을 위해, HaCaT 세포에 본 발명의 새송이버섯 추출물을 10~50μg/ml로 농도별로 30분간 처리하였고, 이후 TNF-α (20ng/ml)/IFN-γ (20ng/ml)를 24시간 동안 처리하였다. 24시간 이후에는, 세포 처리액의 상등액을 수거하여 TARC의 발현을 면역 측정법(immunoassay, R&D Systems)으로 확인하였으며 이에 대한 결과는 도 2에 나타내었다.

[0032] 또한 동일한 조건으로 새송이버섯 열수추출물(PEW)도 HaCaT 세포에 처리하여 이에 대한 효과를 본 발명의 새송이버섯 추출물과 비교하였고, 상기 결과는 도 3에 나타내었다.

[0033] 도 2의 결과는, TNF-α/IFN-γ의 처리로 인해 증가되었던 TARC/CCL17이, 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)의 처리로 인해 농도 의존적으로 억제되는 것을 나타내며, 이로 인해 상기 추출물이 아토피 피부염의 억제 효과가 있음을 확인할 수 있다.

[0034] 도 3의 결과는 새송이버섯 열수추출물(PEW)이 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)과 달리, TNF-α/IFN-γ의 처리로 인해 증가되었던 TARC/CCL17에 대해 억제효과가 거의 없음을 알 수 있으며, 따라서, TARC/CCL17에 대한 억제 효과는 새송이버섯의 에탄올 추출물만의 특징인 것으로 확인된다.

[0035] 3-2. MDC/CCL22와 CTACK/CCL27 확인 - RT-PCR 이용

[0036] 사이토카인 MDC/CCL22와 CTACK/CCL27의 발현 확인을 위해, RT-PCR을 수행하였다.

[0037] 이를 위해 HaCaT 세포에 본 발명의 새송이버섯 추출물을 10~50μg/ml로 농도 별로 30분간 전처리하고, 이 후, TNF-α (20ng/ml)/IFN-γ (20ng/ml)를 24시간 동안 처리하였다.

[0038] 총 RNA는 RNAiso Reagent(Takara)를 이용하여 추출하였다. RT-PCR을 위한 프라이머(primer)의 조건은 다음과 같으며, S16r 유전자(S16 ribosomal protein)는 하우스키핑 유전자(house keeping gene)로서, 전체 유전자의 증감을 비교하기 위한 비교군으로 사용되었다.

[0039] MDC/CCL22 forward : 5' -AGG ACA GAG CAT GGC TCG CCT ACA GA-3'

[0040] MDC/CCL22 reverse : 5' -TAA TGG CAG GGA GGT AGG GCT CCT GA-3'

[0041] CTACK/CCL27 forward : 5' -CTC AGC TCT ACC GAA AGC C-3'

- [0042] CTACK/CCL27 reverse : 5' -GCC CAT TTT CCT TAG CAT CC-3'
- [0043] S16 ribosomal protein (S16r) genes forward : 5' -TCC AAG GGT CCG CTG CAG TC-3'
- [0044] S16 ribosomal protein (S16r) genes reverse : 5' -CGT TCA CCT TGA TGA GCC CAT T-3'
- [0045] PCR은 하기 조건으로 35 사이클을 수행하였으며, 증폭된 DNA의 확인은 SYBR Safe DNA 젤 염색 키트를 이용하였고, 상기 결과는 도 4에 나타내었다.
- [0046] PCR 조건 : [denaturation at 98° C for 10 sec, annealing at 60° C for 30 sec, elongation at 72° C for 60 sec]
- [0047] 도 4의 결과는 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 의 처리로 인해 증가되었던 MDC/CCL22와 CTACK/CCL27이, 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)의 처리로 인해 농도 의존적으로 억제되는 것을 나타내며, 이로 인해 상기 추출물이 아토피 피부염의 억제 효과가 있음을 확인할 수 있다.
- [0048] 3-3. ICAM-1의 발현 확인 - 웨스턴 블로팅 이용
- [0049] 림프구의 표면 항원(leukocyte surface antigen)을 위한 수용체(receptor) 단백질인 ICAM-1의 발현 확인을 위해, 웨스턴 블로팅을 수행하였다.
- [0050] HaCaT 세포에 본 발명의 새송이버섯 추출물을 10~50 $\mu$ g/ml로 30분간 전처리하고, TNF- $\alpha$  (20ng/ml)/IFN- $\gamma$  (20ng/ml)를 24시간 동안 처리하였고, 각각 80 $\mu$ g의 단백질을 10% SDS-PAGE 및 PVDF(polyvinylidene difluoride) 멤브레인으로 전이시켰다. 멤브레인을 블로킹 이후에 1차 항체를 반응시켰으며, 2차 항체(horseradish peroxidase-conjugated anti-IgG secondary antibody)를 반응시켰다. 최종적인 발현 비교는 ECL reagent를 이용하였으며,  $\beta$ -actin(house keeping gene)을 비교군으로 하였고, 이에 대한 결과는 도 5에 나타내었다.
- [0051] 상기 도 5를 확인하면, TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 의 처리로 인해 증가되었던 ICAM-1이 본 발명의 새송이버섯 추출물(PEE)의 처리로 인해 농도 의존적으로 억제되는 것을 나타내며, 이로 인해 상기 추출물이 아토피 피부염의 억제 효과가 있음을 확인할 수 있다.
- [0052] <실시예 4 : 독성시험>
- [0053] 4-1 : 경구투여
- [0054] ICR계 마우스(25g)를 10마리씩 5개의 군으로 나누어 본 발명에 따른 새송이버섯 추출물을 각각 0, 2, 10, 20 및 50 $\mu$ g/kg의 용량으로 경구 투여한 후 2주간 독성여부를 관찰한 결과, 5개의 군에서 모두 생존하였다.
- [0055] 4-2 : 복강투여
- [0056] ICR계 마우스(25g)를 10마리씩 5개의 군으로 나누어 본 발명에 따른 새송이버섯 추출물을 각각 0, 2, 10, 20 및 50 $\mu$ g/kg의 용량으로 복강 투여한 후 24시간 동안 독성여부를 관찰한 결과 5개의 군 모두 생존하였다.
- [0057] 이상의 결과에서 본 발명의 새송이버섯 추출물은 급성독성이 거의 없음을 확인하였다.
- [0058] <사용예 1 : 약학적 제제예>
- [0059] 1-1 : 정제의 제조
- [0060] 본 발명의 새송이버섯 추출물 20g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.
- [0061] 1-2 : 주사액제의 제조
- [0062] 본 발명의 새송이버섯 추출물 2g을 증류수에 용해시켜서 100ml을 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.
- [0063] <사용예 2 : 식품 제제예>
- [0064] 2-1 : 조리용 양념의 제조
- [0065] 본 발명의 새송이버섯 추출물을 0.2~10 중량%로 하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0066] 2-2 : 밀가루 식품의 제조

[0067] 본 발명의 새송이버섯 추출물을 0.1~5.0 중량%로 하여 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0068] 2-3 : 스프 및 육즙(gravies)의 제조

[0069] 본 발명의 새송이버섯 추출물을 0.1~1.0 중량%로 하여 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.

[0070] 2-4 : 유제품(dairy products)의 제조

[0071] 본 발명의 새송이버섯 추출물을 0.1~1.0 중량%로 하여 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0072] <사용예 3 : 음료 제조예>

[0073] 3-1 : 야채주스 제조

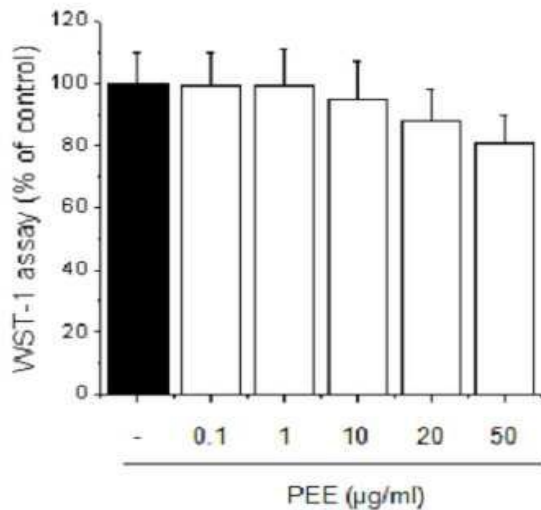
[0074] 본 발명의 새송이버섯 추출물 0.5g을 토마토 또는 당근 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0075] 3-2 : 과일주스 제조

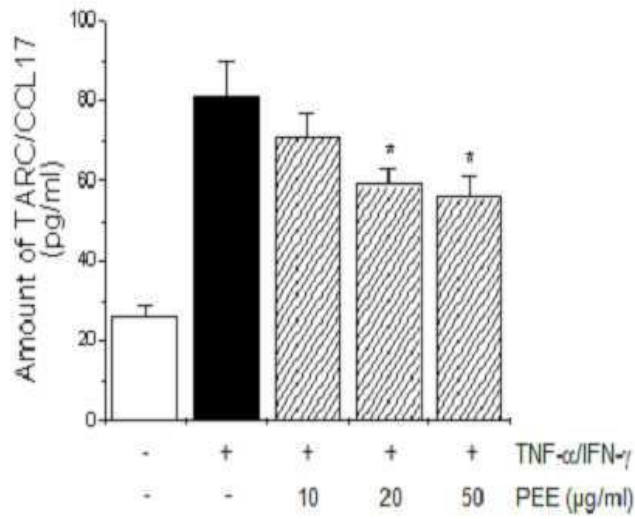
[0076] 본 발명의 새송이버섯 추출물 0.1g을 사과 또는 포도 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

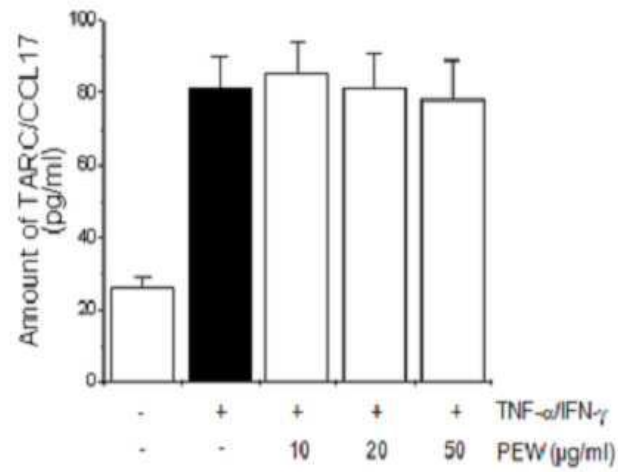
도면1



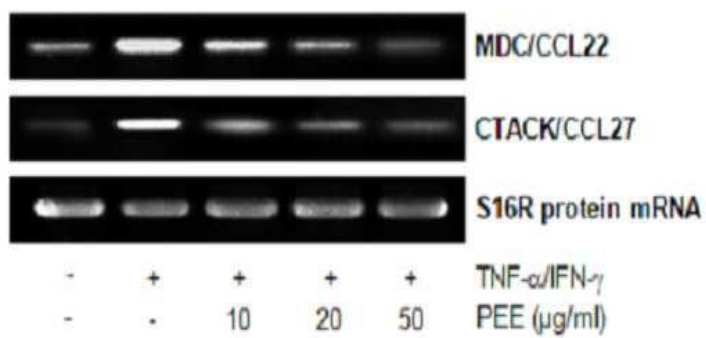
도면2



도면3



도면4



도면5

