



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년01월19일

(11) 등록번호 10-1483585

(24) 등록일자 2015년01월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/481 (2006.01) A61K 36/79 (2006.01)

A61K 36/346 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0054107

(22) 출원일자 2013년05월14일

심사청구일자 2013년05월14일

(65) 공개번호 10-2014-0134774

(43) 공개일자 2014년11월25일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020000002041 A\*

KR1020070109004 A\*

KR1020120118188 A\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

인하대학교 산학협력단

인천광역시 남구 인화로 100, 인하대학교 (용현동)

(72) 발명자

소재성

서울 마포구 서강로 95, 104동 1601호 (창전동, 창전동삼성아파트)

강창호

인천광역시 서구 염곡로 330-3 2층

곽대영

전북 전주시 덕진구 인교3길 16, B동 302호 (우아동1가, 미주빌B)

(74) 대리인

김순용

전체 청구항 수 : 총 4 항

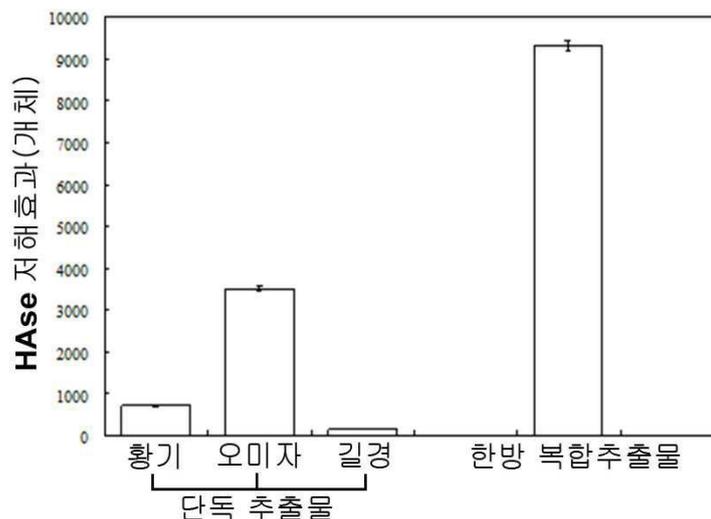
심사관 : 윤동준

(54) 발명의 명칭 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물은 단독 추출물에 비해, 높은 NO 억제 활성 및 Hase 저해 활성을 나타내는 등, 염증을 억제하는 효과가 우수하다.

대표도 - 도1



**특허청구의 범위**

**청구항 1**

황기, 오미자 및 길경을 1 내지 2 : 1 내지 2 : 1 내지 2의 중량비로 혼합한 복합 추출물을 유효성분으로 포함하되, 상기 복합 추출물은 95% 에탄올 추출물, n-헥산 분획물, 클로로포름 분획물, 에틸 아세테이트 분획물 및 n-부탄올 분획물 중 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

제 1항에 있어서, 상기 복합 추출물은 황기, 오미자 및 길경의 혼합물을 95% 에탄올로 추출하여 얻은 복합 추출물에 증류수를 가한 후, n-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 n-부탄올로 순차 분획하여 얻은 복합 에틸 아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 5**

제 1항에 있어서, 상기 염증성 질환은 정맥두염, 위염, 비염, 결막염, 천식, 피부염, 아토피성 피부염, 염증성 장질환, 염증성 간질환, 염증성 혈관질환, 염증성 류마티스성 관절염, 재발협착증, 건선, 다발성 경화증 및 염증성 폐질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 염증성 질환을 포함하는 것을 특징으로 하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 6**

황기, 오미자 및 길경을 1 내지 2 : 1 내지 2 : 1 내지 2의 중량비로 혼합한 복합 추출물을 유효성분으로 포함하되, 상기 복합 추출물은 95% 에탄올 추출물, n-헥산 분획물, 클로로포름 분획물, 에틸 아세테이트 분획물 및 n-부탄올 분획물 중 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 염증 반응(inflammation)은 외부의 물리적인 상해 또는 미생물의 체내 감염으로부터 신체를 보호하는 비-특이적 방어작용이다.

[0003] 이원자 자유라디칼인 일산화질소(Nitric Oxide; NO)는 염증 반응을 일으키는 대표적인 매개체이다. NO는 생체내 일산화질소 합성효소(NOS)에 의해 L-아르기닌으로부터 생성되는 반응성이 강한 자유라디칼이다. NO는 생리적 현

상인 혈압조절과 신경전달 매개체로 작용하며, 혈액응고 및 면역 등의 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0004] 그러나, NO가 과도하게 생성될 경우, 염증 반응이 일어나며, 조직의 파괴 및 면역 체계의 이상이 나타난다. NO는 일정 시간이 지남에 따라 아질산염인 NO<sub>2</sub> 또는 NO<sub>3</sub> 등의 안정한 화합물로 치환되고, 이때, 형성되는 퍼옥시니트라이트 음이온 (peroxynitrite anion) (ONOO<sup>-</sup>)이 염증을 발생시켜 세포내 독소작용을 야기함으로써, 조직의 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다.

[0005] 히알루론산(Hyaluronic acid; HA)은 D-글루쿠론산과 N-아세틸-D-글루코사민이 반복해서 연결된 직선상의 고분자 다당류로서, 태반, 피부, 눈의 유리체, 활막액, 연골 등에 존재한다. 히알루론산은 세포의 분화와 성장에 관여하는 세포의 매트릭스의 주요한 구성 성분으로 세포의 분화 및 증식에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

[0006] 또한, 히알루로니다아제(Hyaluronidase, Hase)는 일반적으로 불활성 상태로 체내 리소좀 등에 존재한다. 히알루로니다아제는 신체적 상해를 입었거나 류마티즘과 같은 염증성 질환이 발병하였을 경우, 활성화되어 혈관투과성 및 염증 반응에 관여하므로, 염증 유발 물질로 알려져 있다. 또한, 히알루로니다아제는 알레르기 반응과 암세포 전이에도 관여한다는 보고가 있다. 항염증 약물로 이용되고 있는 인도메타신(indomethacin), 아스피린(aspirin) 등은 히알루로니다아제에 대하여 강한 저해 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0007] 한편, 황기(Astragalus membranaceus BUNGE)는 산지에서 자라며 높이가 1m에 달하고 표면 전체에 잔털이 있다. 황기의 뿌리는 약재로 이용하는데 약효성분으로는 폴리산(folic acid)·콜린(choline) 등이 있다. 흔히 약초로 재배하며 한방에서는 가을에 채취하여 노두와 잔뿌리를 제거하고 햇빛에 말린 것을 한약재의 황기라 하며, 강장·지한·이뇨·소종 등의 효능이 있어 신체허약·피로권태·기혈허탈·탈항·자궁탈·내장하수·식은땀·말초신경 등을 치료하는 데 사용되어 왔다.

[0008] 한편, 오미자(Schisandra chinensis (Turcz.) Baill)는 단맛·신맛·쓴맛·짠맛·매운맛의 5가지 맛이 나는 것이 특징이며, 주로 태백산 일대에 많이 자라며, 남오미자는 남부 섬지방, 흑오미자는 제주도에서 자생하는 것으로 알려져 있다. 오미자는 한국을 비롯하여 일본·사할린섬·중국 등지에서 자생하는 것으로 알려져 있다. 오미자는 시잔드린·고미신·시트릴·사과산·시트르산 등의 성분이 들어 있어 심장을 강하게 하고 혈압을 내리며 면역력을 높여 주어 강장제로 사용되어 왔다. 폐 기능을 강하게 하고, 진해·거담 작용이 있어서 기침이나 갈증 등을 치료하는 데 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

[0009] 길경(Platycodon grandiflorum A. De Candolle)은 도라지의 다른 용어로, 해수와 가래가 많고 호흡이 불편한 증상을 치료하며, 폐를 맑게 해 답답한 가슴을 풀어주며 뱃속의 찬 기운을 없애 기침을 멈추고 담을 제거하는 효과가 있다. 길경은 소변량이 적어 발생하는 전신부종을 치료하고 소변량을 증가시키는 효과가 있다. 또한, 길경은 인후통, 감기로 인한 기침, 가래, 코막힘, 천식, 두통 및 오한 등의 질환을 치료하기 위해 사용되어 왔다. 길경의 약리작용으로는 거담작용, 혈당강하작용, 콜레스테롤 강하작용 및 개선균 저해작용 등이 보고되어 있다.

[0010] 상기한 바와 같이, 황기, 오미자 및 길경에 대해 다양한 약리 효과가 알려져 있지만, 이들 모두를 포함하는 복합 생약재의 항염증 효과에 관한 연구는 미미한 실정이다.

[0011] 본 발명자들은 항염증 효과가 우수한 한약재를 선별하여 연구하던 중, 특정 비율의 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물이 단독 추출물에 비해, 높은 NO 억제 활성 및 Hase 저해 활성을 나타내는 등, 염증을 억제하는 효과가 우수함을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

#### 과제의 해결 수단

[0014] 본 발명은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

**발명의 효과**

[0016] 본 발명의 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물은 단독 추출물에 비해, 높은 NO 억제 활성 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 저해 활성을 나타내는 등, 염증을 억제하는 효과가 우수하다.

**도면의 간단한 설명**

[0017] 도 1은 본 발명의 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물과 이들의 복합 추출물에 대한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 저해 활성을 측정된 결과를 나타낸 도이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0018] 본 발명은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0019] 상기 조성물은 약학적 조성물 또는 식품 조성물을 포함한다.

[0020] 이하 본 발명에 관하여 상세히 설명한다.

[0021] 본 발명에 따른 조성물에서 유효성분인 복합 추출물은 황기, 오미자 및 길경을 1 내지 2 : 1 내지 2 : 1 내지 2의 중량비로 혼합하여 추출한 것을 특징으로 한다.

[0022] 상기 복합 추출물은 통상적인 추출 방법에 의해 얻을 수 있고, 시판되는 것을 구입하여 사용할 수 있다. 통상적인 추출 방법으로는 초음파 추출법, 여과법 및 환류 추출법 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0023] 본 발명에서는 하기와 같은 방법으로 수득될 수 있다.

[0024] 먼저, 황기, 오미자 및 길경을 각각 물로 세척하여 이물질을 제거하고 그늘에서 건조한 다음 마쇄하였다. 황기, 오미자 및 길경은 재배한 것 또는 시판되는 것을 제한없이 사용할 수 있다. 마쇄된 각각의 황기, 오미자 및 길경을 1 내지 2 : 1 내지 2 : 1 내지 2의 중량비, 더욱 바람직하게는 1:2:1의 중량비로 혼합한 다음, 혼합된 시료에 용매를 가하고 실온에서 11 내지 13시간 동안 추출한 후 여과한다. 용매는 적당한 양의 용매를 첨가하여 시료가 완전히 침지되도록 한다. 다시 잔사에 용매를 가하여 침지하고 다시 여과하는 과정을 3회 반복하고, 여과된 추출물을 모아 45℃ 수욕상에서 감압 농축한 후 동결 건조함으로써, 본 발명의 최종 복합 추출물을 수득한다. 상기 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 혼합용매로부터 선택된 1종 이상이 바람직하다. 상기 탄소수 1 내지 4의 알코올은 1 내지 100% (v/v)의 메탄올 또는 에탄올인 것이 바람직하다. 상기 에탄올은 50 내지 95% (v/v)의 에탄올인 발효주정인 것이 더욱 바람직하다.

[0025] 또한, 상기 복합 추출물에 증류수를 가한 후, n-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 n-부탄올로 순차 분획하여 각 용매 분획물을 얻을 수 있다. 이들 용매 분획물 중 에틸 아세테이트 분획물에서 NO 억제 활성이 가장 우수하게 나타남을 확인하였다.

[0026] 본 발명의 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물은 단독 추출물에 비해, 높은 NO 억제 활성 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 저해 활성을 나타내는 등, 염증을 억제하는 효과가 우수하므로, 염증성 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0027] 상기 염증성 질환은 정맥두염, 위염, 비염, 결막염, 천식, 피부염, 아토피성 피부염, 염증성 장질환, 염증성 관절염, 염증성 혈관질환, 염증성 류마티스성 관절염, 재발협착증, 건선, 다발성 경화증 및 염증성 폐질환 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0028] 본 발명의 조성물은 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물과 함께 항염증 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이

상 더 함유할 수 있다.

- [0029] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science, 최근, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 것을 사용하는 것이 바람직하다. 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸 히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등이 있다. 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로오스, 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, 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 위텡솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0030] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [0031] 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 복합 추출물은 1일 1 mg/ kg 내지 10000 mg/kg의 양으로 투여할 수 있으며, 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0032] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 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.
- [0033] 본 발명의 조성물은 염증의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0034] 본 발명에서, "건강기능식품"이란, 질병의 예방 및 개선, 생체방어, 면역, 병후의 회복, 노화 억제 등 생체조절 기능을 가지는 식품을 말하는 것으로, 장기적으로 복용하였을 때 인체에 무해해야 한다.
- [0035] 본 발명의 조성물은 염증의 예방 또는 개선을 목적으로 건강기능식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 복합 추출물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 복합 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 복합 추출물은 원료에 대하여 15중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0036] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0037] 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제

등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 0.01 내지 10 g, 바람직하게는 약 0.01 내지 0.1 g 이다.

[0038] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택 되는 것이 일반적이다.

[0039] 이하 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예, 실험예 및 제조예를 제시한다. 그러나 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예, 실험예 및 제조예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0040] **[실시예 1. 황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물의 제조]**

[0041] **1. 복합 추출물의 제조**

[0042] 한약재 황기(A.G), 오미자(S.F) 및 길경(P.G)을 서울경동시장 약재도매 상가에서 원산지를 확인한 후 구입하였다. 구입된 한약재를 각각 물로 세척하고 그늘에서 건조한 후, 마쇄하고 혼합하였다. 이때, 황기, 오미자 및 길경은 1 내지 2 : 1 내지 2 : 1 내지 2의 중량비로 혼합하였다. 상기 혼합된 시료 3 g에 발효주정(95% EtOH, 진로주정) 100 mL를 가하여 실온에서 24시간 동안 방치하여 추출한 후 여과하였다. 다시 잔사에 발효주정을 가하여 침지하고 다시 여과하는 과정을 3회 반복하였으며, 여과된 추출액을 45℃의 수욕상에서 감압 농축한 후 동결 건조시킴으로써, 본 발명의 최종 복합 조추출물을 수득하였으며, 이를 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

[0043] **2. 용매 분획물의 제조**

[0044] 상기 1에서 얻은 복합 조추출물에 증류수를 가한 다음, n-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 n-부탄올을 순차적으로 분획하여 각각의 용매 분획물을 얻었다. 이들 용매 분획물의 수율 및 NO 저해 활성을 확인한 결과, 에틸 아세테이트 분획물에서 NO 저해 활성이 가장 우수하게 나타남을 확인하였다(표 4 참조).

[0045] **[비교예 1. 황기 단독 추출물의 제조]**

[0046] 구입한 황기를 물로 세척하고 건조한 다음, 황기 시료 3 g에 발효주정(95% EtOH, 진로주정) 100 mL를 가하여 실온에서 24시간 동안 방치하여 추출한 후 여과하였다. 다시 잔사에 발효주정을 가하여 침지하고 다시 여과하는 과정을 3회 반복하였으며, 여과된 추출액을 45℃의 수욕상에서 감압 농축한 후 동결 건조함으로써, 황기 단독 조추출물을 수득하였으며, 이를 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

[0047] **[비교예 2. 오미자 단독 추출물의 제조]**

[0048] 구입한 오미자를 물로 세척하고 건조한 다음, 오미자 시료 3 g에 발효주정(95% EtOH, 진로주정) 100 mL를 가하여 실온에서 24시간 동안 방치하여 추출한 후 여과하였다. 다시 잔사에 발효주정을 가하여 침지하고 다시 여과하는 과정을 3회 반복하였으며, 여과된 추출액을 45℃의 수욕상에서 감압 농축한 후 동결 건조함으로써, 오미자 단독 조추출물을 수득하였으며, 이를 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

[0049] **[비교예 3. 길경 단독 추출물의 제조]**

[0050] 구입한 길경을 물로 세척하고 건조한 다음, 길경 시료 3 g에 발효주정(95% EtOH, 진로주정) 100 mL를 가하여 실온에서 24시간 동안 방치하여 추출한 후 여과하였다. 다시 잔사에 발효주정을 가하여 침지하고 다시 여과하는 과정을 3회 반복하였으며, 여과된 추출액을 45℃의 수욕상에서 감압 농축한 후 동결 건조함으로써, 길경 단독 조

추출물을 수득하였으며, 이를 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

[0051] **[실험예 1. 단독 추출물과 복합 추출물의 NO 저해 활성 및 최적 추출 조건 비교]**

[0052] 상기 실시예 1에서 제조된 복합 추출물과 상기 비교예 1 내지 3에서 제조된 각각의 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물에 대한 항염증 효과를 확인하기 위하여, NO 저해 활성 및 최적 추출 조건을 비교하는 실험을 수행하였다.

[0053] **1. 세포의 준비 및 배양**

[0054] 대식세포인 RAW264.7 세포주는 한국세포주은행(KCTC)에서 구입하여 사용하였으며, 10% FBS, 페니실린-스트렙토마이신을 첨가한 DMEM 배지에서 37℃, 5% CO<sub>2</sub>의 조건하에서 배양하면서 실험에 사용하였다.

[0055] **2. 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물에 대한 NO 저해 활성 및 최적 추출 조건 확인**

[0056] 가. 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물에 대한 수율, NO 저해 활성 측정 및 추출 조건 최적화

[0057] 상기 비교예 1 내지 3에서 제조된 각각의 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물에 대한 수율과 NO 저해 활성을 확인하기 위하여, 다음의 실험조건을 바탕으로 추출 조건 최적화 실험을 실시하였다.

[0058] 상기 단독 추출물에 대한 최초의 추출 조건인 미마쇄(not grinded), 95% EtOH, 24시간, 실온의 조건을 기준으로 하여 용매의 농도, 추출 온도, 추출 시간, 입자의 크기 총 4가지 조건에 대하여 측정하여, 각각의 수율과 NO 저해 활성을 측정하였다. 추출 용매인 주정의 농도는 0%, 12.5%, 25%, 50% 및 95%의 총 5가지 조건으로 나누었으며, 추출 온도는 20 내지 60℃까지 10℃ 간격으로 5구간으로 각각 나누어 각 한약재의 수율과 NO 저해 활성을 측정하였다. 추출시간은 6 내지 36시간까지 6시간 간격의 총 6 구간으로 나누었으며, 입자의 크기는 표준체(Standard sieve)를 사용하여 미마쇄, <0.85, 0.85 내지 2, 2 내지 3.36, >3.36 mm의 총 5구간으로 나누어 수율과 NO 저해 활성을 각각 측정하였으며, 단일 한약재 별 각각의 최적화된 추출 조건을 확인하였다.

[0059] 나. 결과

[0060] 각각의 추출 조건에 단독 추출물 각각의 NO 저해 활성을 측정한 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

		수율 (%)			NO 저해 활성 (%)		
		황기	오미자	길경	황기	오미자	길경
입자 크기 (mm)	미마쇄	7.53±0.45 <sup>1a</sup>	18.87±0.32 <sup>c</sup>	1.17±0.25 <sup>a</sup>	56.83±0.38 <sup>c</sup>	88.30±0.26 <sup>a</sup>	87.70±1.82 <sup>a</sup>
	<0.85	8.23±0.23 <sup>a</sup>	37.9±0.35 <sup>b</sup>	1.43±0.16 <sup>a</sup>	74.30±0.26 <sup>a</sup>	87.00±0.46 <sup>a</sup>	89.87±0.32 <sup>a</sup>
	0.85~2	8.13±0.32 <sup>a</sup>	37.3±0.26 <sup>b</sup>	1.40±0.00 <sup>a</sup>	74.10±0.53 <sup>a</sup>	86.50±0.50 <sup>a</sup>	88.97±0.50 <sup>a</sup>
	2~3.36	7.67±0.30 <sup>a</sup>	36.77±0.32 <sup>b</sup>	1.00±0.20 <sup>ab</sup>	63.07±0.49 <sup>b</sup>	79.93±0.51 <sup>b</sup>	89.33±0.31 <sup>a</sup>
	>3.36	7.57±0.06 <sup>a</sup>	43.3±1.74 <sup>a</sup>	0.53±0.15 <sup>b</sup>	62.80±0.26 <sup>b</sup>	66.23±3.27 <sup>c</sup>	89.07±0.81 <sup>a</sup>
에탄올 농도 (%)	0	26.63±0.21 <sup>a</sup>	56.80±0.61 <sup>ab</sup>	42.03±0.57 <sup>b</sup>	58.47±1.40 <sup>a</sup>	21.00±0.20 <sup>b</sup>	56.83±1.76 <sup>b</sup>
	12.5	28.77±1.16 <sup>a</sup>	54.97±0.84 <sup>bc</sup>	41.37±1.12 <sup>b</sup>	55.00±0.26 <sup>b</sup>	20.40±0.36 <sup>b</sup>	55.53±0.90 <sup>b</sup>
	25	27.63±0.25 <sup>a</sup>	54.63±0.55 <sup>c</sup>	45.83±1.16 <sup>a</sup>	49.27±1.19 <sup>a</sup>	18.37±0.76 <sup>c</sup>	18.03±0.21 <sup>d</sup>
	50	23.30±0.70 <sup>b</sup>	57.57±0.38 <sup>a</sup>	39.27±0.32 <sup>b</sup>	7.90±0.26 <sup>c</sup>	20.93±0.38 <sup>b</sup>	46.87±0.23 <sup>c</sup>
	95	6.27±0.61 <sup>c</sup>	42.63±0.32 <sup>d</sup>	4.40±0.61 <sup>c</sup>	42.03±0.55 <sup>d</sup>	61.00±0.44 <sup>a</sup>	64.03±0.21 <sup>a</sup>
추출 온도 (°C)	20	20.60±0.66 <sup>a</sup>	42.50±0.56 <sup>b</sup>	39.90±0.17 <sup>b</sup>	57.73±0.42 <sup>ab</sup>	41.93±0.15 <sup>a</sup>	57.67±0.31 <sup>a</sup>
	30	23.83±0.32 <sup>a</sup>	43.20±0.26 <sup>ab</sup>	40.83±0.23 <sup>ab</sup>	60.10±0.35 <sup>a</sup>	41.93±0.12 <sup>a</sup>	60.17±0.31 <sup>a</sup>
	40	23.80±0.17 <sup>a</sup>	43.77±0.21 <sup>a</sup>	41.10±0.10 <sup>ab</sup>	56.73±1.88 <sup>b</sup>	40.50±0.70 <sup>ab</sup>	58.97±1.71 <sup>a</sup>
	50	23.73±0.32 <sup>a</sup>	42.83±0.06 <sup>ab</sup>	41.20±0.30 <sup>a</sup>	57.70±0.26 <sup>ab</sup>	40.20±0.46 <sup>b</sup>	58.30±0.70 <sup>a</sup>
	60	23.83±0.38 <sup>a</sup>	42.83±0.38 <sup>ab</sup>	40.56±0.67 <sup>ab</sup>	56.70±0.17 <sup>b</sup>	40.60±0.62 <sup>ab</sup>	58.67±0.42 <sup>a</sup>
추출 시간 (h)	6	22.47±0.55 <sup>a</sup>	24.43±0.49 <sup>c</sup>	48.33±0.21 <sup>b</sup>	57.33±2.04 <sup>a</sup>	54.30±1.06 <sup>a</sup>	11.43±0.90 <sup>d</sup>
	12	22.07±1.42 <sup>a</sup>	29.83±1.52 <sup>d</sup>	49.27±1.19 <sup>b</sup>	58.57±1.19 <sup>a</sup>	47.30±1.39 <sup>b</sup>	50.80±0.95 <sup>bc</sup>
	18	20.87±0.21 <sup>a</sup>	36.93±0.55 <sup>bc</sup>	56.80±0.89 <sup>a</sup>	59.33±0.98 <sup>a</sup>	43.57±0.51 <sup>bc</sup>	56.43±1.55 <sup>ab</sup>
	24	21.83±1.67 <sup>a</sup>	38.50±0.46 <sup>b</sup>	49.93±0.15 <sup>b</sup>	56.73±1.88 <sup>a</sup>	42.37±1.31 <sup>c</sup>	58.17±3.00 <sup>a</sup>
	30	21.70±1.59 <sup>a</sup>	42.97±1.33 <sup>a</sup>	50.60±0.46 <sup>b</sup>	58.57±1.19 <sup>a</sup>	9.03±1.50 <sup>d</sup>	60.77±2.05 <sup>a</sup>
	36	21.90±1.57 <sup>a</sup>	33.97±0.32 <sup>c</sup>	50.93±1.03 <sup>b</sup>	49.27±1.19 <sup>b</sup>	9.77±0.85 <sup>d</sup>	58.43±1.20 <sup>a</sup>
	42	22.80±1.30 <sup>a</sup>	35.47±0.12 <sup>c</sup>	43.20±0.46 <sup>c</sup>	45.83±1.16 <sup>b</sup>	- <sup>2)</sup>	46.93±2.31 <sup>c</sup>
	48	20.90±0.26 <sup>a</sup>	36.13±0.93 <sup>bc</sup>	42.47±1.46 <sup>c</sup>	23.80±0.17 <sup>c</sup>	-	58.23±0.67 <sup>a</sup>

[0061]

[0062]

<sup>1)</sup> 값은 SD 로 표현되었음(n=3).

[0063]

<sup>2)</sup> 효과 없음.

[0064]

<sup>a-d</sup> 다른 문자의 의미는 터키 HSD 테스트(p<0.05)로 유의한 차이를 의미함.

[0065]

상기 표 1에 나타난 바와 같이, 상기 황기, 오미자, 길경의 단독 추출물에 대한 NO 저해 활성에 따른 최적 추출 조건을 확인해본 결과, 입자 크기의 경우, 황기는 <0.852 mm, 오미자는 <2 mm에서 가장 우수한 NO 저해 활성을 나타내는 것을 확인하였으며, 길경은 입자크기의 영향을 받지 않는 것으로 확인되었다.

[0066]

주정 농도의 경우, 황기는 0%, 오미자와 길경은 95%의 농도에서 추출한 시료의 NO 저해 활성이 가장 우수한 것

으로 나타났다.

[0067] 추출 시간의 경우, 황기는 6 내지 30시간, 오미자는 6시간, 길경은 24 내지 36시간에서 추출한 시료에서 가장 우수한 NO 저해 활성이 나타나는 것으로 확인되었다.

[0068] 추출 온도의 경우, 황기는 30℃, 오미자는 20 내지 30℃에서 추출한 시료가 가장 우수한 NO 저해 활성을 나타내었으며, 길경은 추출 온도의 영향을 받지 않는 것으로 확인되었다.

[0069] 따라서, 상기 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물에 대한 최적의 추출 조건은, 황기의 경우 <0.852 mm, 0%의 주정, 6 내지 30시간, 30℃, 오미자의 경우 <2 mm, 95%의 주정, 6시간, 20내지 30℃, 길경의 경우 95%의 주정, 24 내지 36시간인 것으로 확인되었으며, 상기 조건에서 가장 높은 NO 저해 활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0070] **3. 복합 추출물의 NO 저해 활성 및 최적 추출 조건 확인**

[0071] 가. 복합 추출물의 최적 혼합비율

[0072] 본 발명의 복합 추출물에 대한 최적 혼합비율(중량비)을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0073] (1) 샘플 제조

[0074] 황기, 오미자 및 길경을 모두 마쇄한 다음 혼합하였으며, 이하 과정은 상기 실시예 1의 과정과 동일하게 수행하였다. 하기 표 2에 기재된 혼합비율로 혼합하여 복합 추출물 샘플 1 내지 5를 제조하였다.

**표 2**

[0075]

혼합비율	샘플 1	샘플 2	샘플 3	샘플 4	샘플 5
황기:오미자:길경(중량비)	1:1:1	1:2:1	1:1:2	2:1:1	2:2:1

[0076] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 서로 다른 혼합비율로 제조된 샘플 1 내지 5의 혼합물을 추출하여 총 5가지의 복합 추출물 샘플을 제조하였다.

[0077] (2) 결과

[0078] 상기 (1)에서 제조된 샘플 1 내지 5의 NO 저해 활성을 측정하였다. 이의 결과를 하기 표 3 나타내었다.

**표 3**

[0079]

샘플	수율(%)	NO 저해 활성(%)
샘플 1	41.60±0.56 <sup>1)b</sup>	47.43±0.49 <sup>a</sup>
샘플 2	42.90±0.35 <sup>ab</sup>	47.33±0.86 <sup>a</sup>
샘플 3	43.93±0.06 <sup>a</sup>	39.83±0.15 <sup>d</sup>
샘플 4	38.47±0.65 <sup>c</sup>	45.53±0.45 <sup>ab</sup>
샘플 5	41.53±0.47 <sup>b</sup>	43.00±0.35 <sup>c</sup>

[0080] 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 샘플 1 내지 5의 수율과 NO 저해 활성을 종합하여 비교해 본 결과, 샘플 2, 즉 1:2:1(황기:오미자:길경)의 중량비로 혼합된 복합 추출물이 다른 비율의 복합 추출물에 비해 높은 수율과 우수한 NO 저해 활성 효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

[0081] 나. 복합 추출물의 최적 추출 조건 및 NO 저해 활성 측정

[0082] 본 발명의 복합 추출물에 대한 최적 추출 조건 및 NO 저해 활성을 측정하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다. 상기 가.에서 확인된 최적 혼합비율(중량비)의 복합 추출물을 사용하였다. 상기 복합 추출물에 대한 용매

의 농도, 추출 온도, 추출 시간, 입자의 크기의 4가지 조건에 대해서는 각각의 조건별로 상기 1.의 단일 생약재의 추출 조건과 동일하게 수행하여 각각의 수율과 NO 저해 활성을 측정하였다.

[0083] 또한, 상기 복합 추출물의 혼합속도를 0, 50, 100, 150 및 200 rpm의 총 5 구간으로 나누어 측정하였으며, 용매 분획별로 n-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트, n-부탄올 순으로 나누어 측정하였다.

[0084] 다. 결과

[0085] 본 발명의 복합 추출물에 대하여 각각의 추출 조건에 따른 수율과 NO 저해 활성을 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

[0086]

		혼합	
		수율 (%)	NO 저해 활성 (%)
혼합비율 (황기:오미자:길경) (중량비)	1 : 1 : 1	41.60±0.56 <sup>1) b</sup>	47.43±0.49 <sup>a</sup>
	1 : 2 : 1	42.90±0.35 <sup>ab</sup>	47.33±0.86 <sup>a</sup>
	1 : 1 : 2	43.93±0.06 <sup>a</sup>	39.83±0.15 <sup>d</sup>
	2 : 1 : 1	38.47±0.65 <sup>c</sup>	45.53±0.45 <sup>ab</sup>
	2 : 2 : 1	41.53±0.47 <sup>b</sup>	43.00±0.35 <sup>c</sup>
에탄올 농도(%)	0	28.13±0.55 <sup>c</sup>	39.70±0.20 <sup>d</sup>
	12.5	38.07±1.22 <sup>a</sup>	51.93±0.21 <sup>b</sup>
	25	33.83±0.38 <sup>b</sup>	46.17±0.21 <sup>c</sup>
	50	24.40±0.26 <sup>d</sup>	37.87±0.15 <sup>e</sup>
	95	3.93±0.21 <sup>e</sup>	71.63±0.47 <sup>a</sup>
추출 시간(h)	3	29.40±0.44 <sup>f</sup>	28.50±0.44 <sup>d</sup>
	6	32.70±0.36 <sup>e</sup>	39.83±0.31 <sup>bc</sup>
	9	38.00±0.10 <sup>d</sup>	40.87±0.21 <sup>ab</sup>
	12	41.00±0.20 <sup>bc</sup>	41.87±0.21 <sup>a</sup>
	15	41.87±0.12 <sup>ab</sup>	39.60±0.36 <sup>bc</sup>
	18	40.50±0.50 <sup>c</sup>	40.37±0.32 <sup>bc</sup>
	21	42.10±0.20 <sup>a</sup>	39.23±0.67 <sup>c</sup>
	24	41.87±0.06 <sup>ab</sup>	40.03±0.50 <sup>bc</sup>
추출 온도(℃)	20	42.07±0.31 <sup>c</sup>	47.97±0.15 <sup>b</sup>
	30	45.17±0.31 <sup>ab</sup>	50.90±0.36 <sup>a</sup>
	40	45.07±0.38 <sup>ab</sup>	48.43±1.40 <sup>ab</sup>
	50	45.97±0.15 <sup>a</sup>	49.57±0.68 <sup>ab</sup>
	60	45.00±0.10 <sup>b</sup>	42.93±0.15 <sup>c</sup>

혼합 유속(rpm)	0	42.00±0.10 <sup>b</sup>	47.93±0.86 <sup>a</sup>
	50	44.07±1.12 <sup>ab</sup>	50.03±0.60 <sup>a</sup>
	100	43.93±0.15 <sup>ab</sup>	49.07±0.15 <sup>a</sup>
	150	44.97±0.15 <sup>a</sup>	49.67±0.67 <sup>a</sup>
	200	45.27±0.72 <sup>a</sup>	44.80±0.44 <sup>b</sup>
분획 용매	헥산	8.27±0.23 <sup>c</sup>	34.97±0.90 <sup>d</sup>
	클로로포름	2.00±0.10 <sup>e</sup>	27.00±0.10 <sup>e</sup>
	에틸 아세테이트	13.23±0.23 <sup>a</sup>	72.90±2.69 <sup>a</sup>
	<i>n</i> -부탄올	3.93±0.06 <sup>d</sup>	55.03±0.38 <sup>b</sup>
	물	9.73±0.46 <sup>b</sup>	47.93±0.12 <sup>c</sup>

[0087] 1) 값은 SD 로 표현되었음(n=3).

[0088] 2) 효과 없음.

[0089] <sup>a-d</sup> 다른 문자의 의미는 터키 HSD 테스트(p<0.05)로 유의한 차이를 의미함.

[0090] 표 4에 나타난 바와 같이, 복합 추출물의 수율과 NO 저해 활성을 측정된 결과, 황기, 오미자, 길경을 각각 1:2:1의 중량비로 혼합하여 추출한 시료가 가장 우수한 NO 저해 활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0091] 상기 결과에 따라, 황기, 오미자 및 길경의 최적 혼합비율인 1:2:1의 중량비로 혼합된 복합 추출물에 대한 각각의 추출 조건을 실험한 결과, 주정 농도는 95%, 추출 시간은 12시간, 추출 온도는 30℃, 혼합속도는 50 rpm, 추출 용매는 에틸 아세테이트에서 가장 우수한 NO 저해 활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0092] 따라서, 본 발명의 복합 추출물은 황기:오미자:길경의 혼합비율이 1:2:1의 중량비인 것이 가장 우수한 NO 저해 활성을 나타내며, 95%의 주정, 12시간, 30℃, 혼합속도 50 rpm, 추출용매로 에틸 아세테이트의 조건이 최적의 추출 조건이며, 가장 우수한 NO 저해 활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

#### [0093] 4. 결론

[0094] 상기 실험 결과에 따라 각 한약재들을 비교한 결과, 황기:오미자:길경이 1:2:1의 중량비로 혼합된 복합 추출물이 다양한 추출 조건에 따라 단일 생약재 추출물에 비해 2 내지 4 배 더 수율이 우수한 것으로 확인되었으며, NO 저해 활성도 더 우수한 것으로 확인되었다. 이는 황기, 오미자 및 길경의 상승 효과에 의한 것으로 사료된다. 수율과 NO 저해 활성을 고려할 경우, 복합 추출물의 최적추출 조건은 황기, 오미자, 길경의 혼합비율이 1:2:1의 중량비, 추출 시간은 12시간, 추출 온도는 30℃, 혼합속도는 50rpm, 추출 용매는 에틸 아세테이트임을 확인하였다.

#### [0095] 5. 통계분석

[0096] 모든 실험은 3회 반복으로 측정하여 측정치를 평균값±표준편차로 나타내었으며, 실험결과의 통계적 유의성은 Minitab program (Minitab 16, Minitab Inc, PA, USA) one-way 분산분석(ANOVA)의 Turkey HSD test에 의해 시료간의 유의적 차이(p<0.05)를 검정하였다.

#### [0097] [실험예 2. 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물과 이들의 복합 추출물에 대한 HAse 저해 활성 비교]

[0098] 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물과 이들의 복합 추출물에 대한 HAse 저해 활성을 알아보기 위하여, 하기와

같은 실험을 수행하였다.

[0099] 상기 실시예 1에서 제조된 복합 추출물과 상기 비교예 1 내지 3에서 제조된 각각의 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물에 대한 HAsE 저해활성을 측정하기 위하여, HA가 HAsE에 의해 분해되어 생성되는 N-아세틸글루코사민(N-acetylglucosamine)을 0.1 M 아세테이트 완충용액으로 발색시킨 다음, 마이크로플레이트 리더(microplate reader)를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조군에 대한 저해율을 계산하였다.

[0100] 구체적으로, 마이크로플레이트에 0.1 M 아세테이트 완충용액(pH 3.5)에 녹인 HAsE 3  $\mu$ l(23 개체 포함)와 0.1 M 아세테이트 완충용액(pH 3.5, 5% DMSO)에 상기 복합 추출물 또는 상기 단독 추출물 6  $\mu$ l를 각각의 웰에 넣고 37  $^{\circ}$ C에서 20분간 배양하였다. 이후, 각 웰에 HAsE 활성제로 12.5 mM 염화칼슘 6  $\mu$ l를 가한 후 다시 37  $^{\circ}$ C에서 20분간 배양하였다. 배양 종료 후, 각 혼합용액에 기질로 HA(12 mg/mL) 15  $\mu$ l를 녹인 0.1 M 아세테이트 완충용액(pH 3.5)을 넣고 37  $^{\circ}$ C에서 40분간 배양하였다. 효소반응을 중지시키기 위하여, 상기 배양 혼합용액에 0.4 N NaOH 6  $\mu$ l 및 0.4 M 사중붕산 칼륨(potassium tetraborate) 6  $\mu$ l를 첨가하여 3분 동안 수욕상에서 가열하고 완전히 냉각시켰다. 이후, 냉각된 배양 혼합용액에 3,2'-다이메틸-4-아미노비페닐(aminobiphenyl) (DMAB, p-다이메틸아미노벤알데하이드(p-dimethylaminobenzaldehyde) 0.4 g, 아세트산 35 mL 및 10 N HCl 용액 5 mL의 혼합용액) 180  $\mu$ l를 가하여 37  $^{\circ}$ C에서 20분간 배양한 다음 595 nm에서 흡광도를 측정하였으며, HAsE 활성 저해율(%)을 하기 수학적 식 1을 이용하여 계산하였다.

**수학적 식 1**

$$\text{저해율}(\%) = \{(Ac - As) \div Ac\} \times 100$$

[0101]

(Ac : 대조군의 흡광도, As : 실험군의 흡광도)

[0102]

상기 실험군은 본 발명의 복합 추출물 또는 단독 추출물(시료)의 처리군이며, 상기 대조군은 상기 시료 대신 0.1 M 아세테이트 완충용액(pH 3.5, 5% DMSO)처리군이다.

[0103]

[0104]

상기 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물과 이들의 복합 추출물에 대한 HAsE 저해 활성을 도 1에 나타내었다.

[0105]

도 1에 나타난 바와 같이, 황기, 오미자 및 길경의 단독 추출물과 이들의 복합 추출물에 대한 HAsE 저해 활성을 측정한 결과, 1 g의 한약재로부터 최초의 추출 조건(미마쇄, 95% EtOH, 24시간, 실온)하에서 얻어진 시료에서 황기는 719.1 개체(유닛; unit), 오미자는 3503.0 개체, 길경은 143.3 개체의 HAsE 저해 활성을 나타내는 것을 확인하였으며, 최적 추출 조건(혼합비율 1:2:1의 중량비, 12시간, 30  $^{\circ}$ C, 50 rpm, 에틸 아세테이트)하에서 얻어진 복합 추출물은 9305.8 개체의 우수한 HAsE 저해 활성을 나타내는 것을 확인하였다.

[0106]

따라서, 상기 최적 추출 조건을 적용한 복합 추출물의 HAsE 저해 활성은 최초 추출 조건(미마쇄, 95% EtOH, 24시간, 실온)을 적용한 단독 추출물보다 약 16% 정도의 더 우수한 것으로 확인되었으며, 이는 황기, 오미자 및 길경의 상승 효과에 의한 작용으로 판단된다.

[0107]

이하 본 발명의 복합 추출물을 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0108]

**[제제예 1. 약학적 제제의 제조]**

[0109]

1. 산제의 제조

[0110]

황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물 20 ml

[0111]

유당 100 mg

[0112]	탈크	10 mg
[0113]	상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.	
[0114]	<u>2. 정제의 제조</u>	
[0115]	황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물	10 ml
[0116]	옥수수전분	100 mg
[0117]	유당	100 mg
[0118]	스테아린산 마그네슘	2 mg
[0119]	상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.	
[0120]	<u>3. 캡슐제의 제조</u>	
[0121]	황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물	10 ml
[0122]	결정성 셀룰로오스	3 mg
[0123]	락토오스	14.8 mg
[0124]	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg
[0125]	통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.	
[0126]	<u>4. 주사제의 제조</u>	
[0127]	황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물	10 ml
[0128]	만니톨	180 mg
[0129]	주사용 멸균 증류수	2974 mg
[0130]	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	26 mg
[0131]	통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.	
[0132]	<u>5. 액제의 제조</u>	
[0133]	황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물	20 ml
[0134]	이성화당	10 g
[0135]	만니톨	5 g
[0136]	정제수	적량
[0137]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	
[0138]	<b>[제제예 2. 식품 제제의 제조]</b>	
[0139]	<u>1. 건강식품의 제조</u>	
[0140]	황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물	100 ml

[0141]	비타민 혼합물	적량
[0142]	비타민 A 아세테이트	70 g
[0143]	비타민 E	1.0 mg
[0144]	비타민 B1	0.13 mg
[0145]	비타민 B2	0.15 mg
[0146]	비타민 B6	0.5 mg
[0147]	비타민 B12	0.2 g
[0148]	비타민 C	10 mg
[0149]	비오틴	10 g
[0150]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0151]	엽산	50 g
[0152]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0153]	무기질 혼합물	적량
[0154]	황산제1철	1.75 mg
[0155]	산화아연	0.82 mg
[0156]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0157]	제1인산칼륨	15 mg
[0158]	제2인산칼슘	55 mg
[0159]	구연산칼륨	90 mg
[0160]	탄산칼슘	100 mg
[0161]	염화마그네슘	24.8 mg

[0162] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0163] 2. 건강음료의 제조

[0164]	황기, 오미자 및 길경의 복합 추출물	100 ml
[0165]	비타민 C	15 g
[0166]	비타민 E(분말)	100 g
[0167]	젓산철	19.75 g
[0168]	산화아연	3.5 g
[0169]	니코틴산아미드	3.5 g
[0170]	비타민 A	0.2 g
[0171]	비타민 B1	0.25 g
[0172]	비타민 B2	0.3g

[0173] 물 정량

[0174] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 l 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

[0175] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

**도면**

**도면1**

