



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년08월31일
(11) 등록번호 10-1893754
(24) 등록일자 2018년08월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/07 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61K 31/56 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/07 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0024047
(22) 출원일자 2017년02월23일
심사청구일자 2017년02월23일
(56) 선행기술조사문헌
International Immunopharmacology, 2013, 제15권, 페이지 666-670*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
황인규
경기도 용인시 기흥구 용구대로2518번길 15, 203동 702호(보정동, 신촌마을포스홈타운1단지아파트)
김영호
대전광역시 유성구 봉명로 48, 801동 302호(원신동, 신안인스빌리베라)
강중성
대전광역시 유성구 어은로 57, 118동 801호(어은동, 한빛아파트)
(74) 대리인
특허법인 공간

전체 청구항 수 : 총 12 항

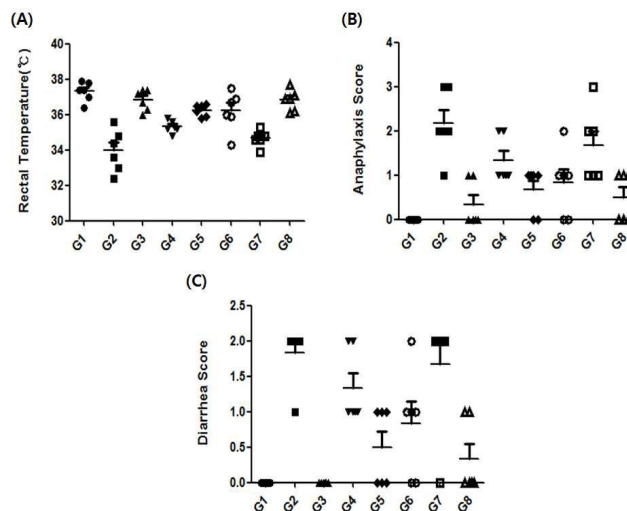
심사관 : 최승희

(54) 발명의 명칭 이노토디올 화합물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 이노토디올 화합물 및 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯(*Inototus obliquus*) 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 구체적으로, 식품 알레르기가 유도된 마우스 모델에 이노토디올 화합물 또는 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물을 투여하여 알레르기에 의한 증상들이 완화 및 치료되는 것을 확인함으로써, 본 발명의 이노토디올 화합물 및 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물이 알레르기 질환의 예방 또는 치료 조성물로써 활용 가치가 높을 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/56 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/304 (2013.01)

A23V 2250/208 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020040087593 A

KR1020130037154 A

KR100636801 B1

Mediators of Inflammation, 2014, 2014권, 논문
번호 805841

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

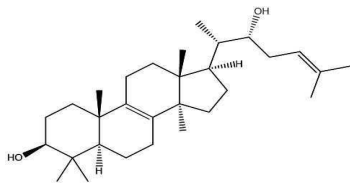
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 이노토디올(Inotodiol) 화합물을 유효성분으로 포함하는, 차가버섯을 70% 에탄올을 용매로 하여 추출한 추출물에 클로로포름(chloroform) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate)를 순차적으로 가하여 분획한 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는 차가버섯(*Inototus obliquus*) 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

삭제

청구항 3

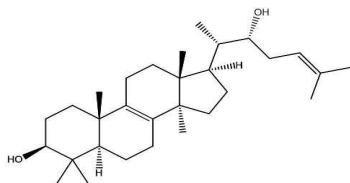
제1항에 있어서,

상기 차가버섯 추출물은 클로로포름 분획물인 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

하기 화학식 1의 이노토디올(Inotodiol) 화합물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

[화학식 1]



청구항 5

제1항, 제3항 및 제4항 중 어느 한 항에서 있어서,

상기 알레르기는 꽃가루, 약물, 식물성 섬유, 세균, 식품, 염색약 및 화학 물질로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상에 의해 유도되는 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 알레르기는 식품에 의해 유도되는 알레르기인 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 7

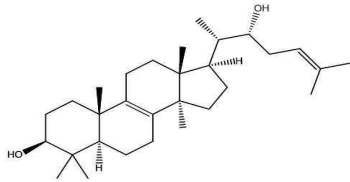
제1항, 제3항 및 제4항 중 어느 한 항에서 있어서,

상기 알레르기 질환은 두드러기, 아나필락시스(anaphylaxis), 알레르기성 비염, 기관지천식 및 아토피성 피부염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 8

하기 화학식 1의 이노토디올(Inotodiol) 화합물을 유효성분으로 포함하는, 차가버섯을 70% 에탄올을 용매로 하여 추출한 추출물에 클로로포름(chloroform) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate)를 순차적으로 가하여 분획한 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는 차가버섯(*Inototus obliquus*) 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[화학식 1]



청구항 9

삭제

청구항 10

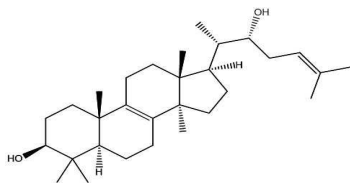
제8항에 있어서,

상기 차가버섯 추출물은 클로로포름 분획물인 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 11

하기 화학식 1의 이노토디올(Inotodiol) 화합물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[화학식 1]



청구항 12

제8항, 제10항 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 알레르기는 꽃가루, 약물, 식물성 섬유, 세균, 식품, 염색약 및 화학 물질로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상에 의해 유도되는 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 알레르기는 식품에 의해 유도되는 알레르기인 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 14

제8항, 제10항 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 알레르기 질환은 두드러기, 아나필락시스, 알레르기성 비염, 기관지천식 및 아토피성 피부염으로 이루어진

군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 이노토디올(inotodiol) 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 우리나라는 경제 발전과 함께 각종 알레르기(allergy) 질환이 증가하고 있는 추세이다. 알레르기는 과민반응이란 뜻으로, 생물체가 어떤 외래성 물질과 접하게 되어 항원-항체반응에 의하여 생체 내에서 급격한 반응이 일어나는 현상을 의미한다. 알레르기 반응을 유발하는 항원을 알레르겐(allergen)이라고 하며, 전형적인 알레르겐은 꽃가루, 약물, 식물성 섬유, 세균, 음식물, 염색약, 화학물질 등이 있다.

[0003] 최근에는 식품에 의해 유발되는 알레르기 질환에 대해 관심이 높아지고 있는데, 한 조사에 의하면 전 국민의 5~10%에서 식품과 관련된 알레르기 증상을 경험하였다고 한다(박용민, 2015). 식품에는 알레르겐 이외에 매우 다양한 생물학적 기능을 가진 성분과 첨가물이 포함되어 있고, 또 이들에 의해서 알레르기와 유사한 증상이 나타날 수 있기 때문에 식품으로 나타나는 증상을 포괄적으로 식품 유해 반응(adverse food reaction)이라고 한다. 식품 유해반응 중 면역학적 기전과 연관되어 나타나는 것을 식품 알레르기(food allergy)라고 한다(Sampson H.A., 2003).

[0004] 지난 20년 간 식품 알레르기는 지속적인 증가를 보이며 중증도 또한 심해지고 있다(Norwak-Wegrzyn A., et al., 2006; Grundy J., et al., 2002). 식품 알레르기는 주로 영유아기에 가장 높은 발병을 보여 전체 영유아의 5~8%가 식품 알레르기를 나타내고 특히, 아토피 피부염 환자들에서 흔하며(Bock S.A., 1987; Venter C., et al., 2008), 나이가 들면서 현저히 감소한다(Kjaer H.F., et al., 2008; Venter C., et al., 2006).

[0005] 식품 알레르기의 증상은 발생 기전에 따라 IgE 매개형, IgE/세포 복합 매개형, 세포 매개형으로 분류하여 설명할 수 있다(Norwak-Wegrzyn A., et al., 2006).

[0006] IgE 매개형 식품 알레르기는 경구관용의 실패로 생성된 특이 IgE에 의한 즉시형 면역반응으로 식품 섭취 후에 즉시 증상이 발생한다(Sampson H.A., 1999). 두드러기는 흔한 증상으로 단독으로 혹은 아나필락시스(anaphylaxis)의 증상으로 나타난다. 구강 알레르기 증후군은 특정 화분에 알레르기가 있는 환자가 생과일이나 야채를 섭취할 경우에 증상이 발생하며 대부분 입술부종이나 입 주위 가려움 정도로 경미하나 10% 정도에서는 후두부종을 보이고 매우 드물게 아나필락시스가 발생하는 경우도 있다(Ortolani C., et al., 1993). 아나필락시스의 증상은 일반적으로 수 초~2시간 내에 이상한 기분, 답답함, 오심, 구토, 복통, 기침 등이 나타나며 환자의 80% 이상에서 피부 증상을 보인다.

[0007] IgE 매개/세포 매개 복합 기전에 의해서는 아토피 피부염, 알레르기성 호산구 식도염(allergic eosinophilic esophagitis, AEE), 위장염(allergic eosinophilic gastroenteritis, AEG) 등의 증상이 발생한다. 원인 식품 섭취 후 2시간 정도부터 증상이 나타나며 만성, 재발성의 경과를 보인다. 중등증/중증 아토피 피부염의 35%에서 IgE 매개 식품 알레르기와 관련된다(Hill D.J., et al., 2008). 알레르기성 호산구 식도염 환자들은 주로 영유아나 소아기 환자들이며 지속적인 오심, 상복부 통증, 소화불량, 구토 등을 호소하며 제산제에 반응하지 않는다. 위장염도 어느 연령에서도 발생하나 영유아에서 가장 많고 위유문부의 폐쇄와 유사한 증상을 일으켜 구토, 복통이 나타나며 광범위한 부위를 침범할 경우에는 설사, 위장관 단백소실 등을 일으킬 수 있다.

[0008] 세포 매개형 기전에 의해서는 식품단백 직장염(food protein-induced proctocolitis, FPP)과 식품단백 장염증후군(food protein-induced enterocolitis syndrome, FPIES)이 발생한다. 식품단백 직장염은 주로 대장상피와 고유상피(laminal propria)에 호산구의 침윤과 부종이 나타난다. 식품단백 장염증후군의 경우에는 구토, 설사가 나타나며 심한 경우에는 복수, 성장 장애를 일으킨다. 식품단백질 장염증후군은 TGF- β (transforming growth factor- β) 분비의 감소와 식품 항원에 특이적인 T 세포의 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 분비에 의한 장 점막의 부종 및 염증과 관련이 있다. 원인 식품의 섭취 1~3시간 후부터 구토, 설사가 시작되고 심한 경우에는 저혈압이 나타날 수 있다(Sicherer S.H., 2005).

- [0009] 식품 알레르기에 대한 치료는 원인 식품 제거, 증상이 있을 경우 증상의 치료, 적절한 영양 공급이다. 증상의 치료에서는 두드러기나 아토피 피부염과 같은 피부 증상은 항히스타민제를 투여한다. 기관지 수축에 의한 쌉쌉 거림이나 기침이 있는 경우는 기관지 확장제를 사용할 수 있다. 식품에 의한 급성 아나필락시스 반응의 경우에는 즉각적인 처치가 필요하며 에피네프린 근육 주사를 통해 증상을 치료할 수 있다(최선희, et al., 2009).
- [0010] 식품 알레르기에 대한 새로운 치료법으로 항원 특이면역 요법, 유전자 조작 단백질을 이용한 면역 요법과 항 IgE(anti-IgE), 항IL-5(anti-IL-5) 등을 이용한 항염증 요법 등이 연구 중이다(Sicherer S.H., et al., 2009).
- [0011] 차가버섯(*Inototus obliquus*, Chaga mushroom)은 담자균류(Basidiomycota)의 민주름버섯목(Aphyllphorales), 소나무비늘버섯과(*Hymenochaetaceae*)에 속하는 버섯으로, 러시아의 시베리아, 핀란드, 노르웨이, 우크라이나, 일본의 홋카이도 및 우리나라의 오대산 등 한랭 다습한 북반구에서 자작나무, 오리나무, 마가목 등의 줄기 및 그루터기에 자생하는 버섯이다. 차가버섯은 리그닌(lignin), 셀룰로오스(cellulose), 헤미셀룰로오스(hemicellulose) 등을 분해하는 백색부후균(white rot fungus)으로, 야생에서 흑색의 균핵체를 자작나무 등 기주의 줄기에 형성하면서 기생하는 것으로 알려져 있다(Guk M.H., et al., 2013).
- [0012] 1950년대 말부터 러시아에서 연구가 시작되어 차가버섯의 자실체(fruit body)에서 추출한 β -글루칸(β -glucan), 폴리페놀(polyphenol) 및 스테롤(sterol) 등의 물질이 인체에 생리활성 효과를 나타내는 것으로 보고되었다. 지금까지 밝혀진 차가버섯의 효과로는 항암작용(Youn M.J., et al., 2008; Nomura M., et al., 2008) 뿐만 아니라 항산화 작용(Park Y.K., et al., 2004), 항고지혈증, 항당뇨(Kim M.A., et al., 2009), 항진균, 항바이러스, 항염증, 진통작용 등이 있다.
- [0013] 이러한 다양한 생리활성을 가진 차가버섯으로부터 유용한 화합물들을 분리하는 연구들이 진행되어 왔고, 이노토디올(inotodiol), 트라메테놀산(trametenolic acid), 라노스테롤(lanosterol), 이노노트술리드(inonotsulide) 등과 같은 다양한 화합물들이 분리되었다(Ma L., et al., 2013). 이 중, 이노토디올(inotodiol) 화합물의 경우에는, 항암, 항염증, 멜라닌 형성 억제 등과 같은 활성이 있음이 밝혀져 있다.
- [0014] 이에, 본 발명자들은 차가버섯 추출물로부터 분리한 이노토디올 화합물 및 이를 포함하는 차가버섯 추출물을 식품 알레르기를 유도한 마우스 모델에 투여하여 알레르기에 의한 증상들이 치료되는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성할 수 있었다.
- [0015] 종래 선행기술로서 일본공개특허 제2006-347991호에는 차가버섯을 포함하는 버섯 균사체 유래 물질이 알레르기 유발과 관련된 물질인 히스타민의 방출을 억제하는 것이 기재되어 있어, 본 발명의 구성과 유사하나, 본 발명의 이노토디올 화합물이 기재되어 있지 않다. 또한, 한국등록특허 제1351054호에는 차가버섯을 포함하는 생약 조성물의 아토피성 피부염 치료 효과 및 차가버섯이 전체적인 면역력을 강화시켜 아토피성 피부염을 근본적으로 치료하는데 도움을 준다고 기재되어 있으나, 본 발명의 이노토디올 화합물은 기재되어 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0016] (특허문헌 0001) 일본공개특허 제2006-347991호, 히스타민 유리 억제제, 2006. 12. 28. 공개.
- (특허문헌 0002) 한국등록특허 제1351054호, 아토피성 피부염 예방 및 치료용 생약 조성물 및 그 제조방법, 2014. 01. 06. 등록.

비특허문헌

- [0017] (비특허문헌 0001) 박용민, 식품알레르기의 개요, 식품과학과 산업, 48(1), 1-9, 2015.
- (비특허문헌 0002) 최선희, et al., 소아의 식품 알레르기, J. Korean Med., Assoc., 52(11), 1090-1099, 2009.
- (비특허문헌 0003) Bock S.A., Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first 3 years of life, Pediatrics, 79, 683-688, 1987.
- (비특허문헌 0004) Du D., et al., Rapid isolation and purification of Inotodiol and Trametenolic acid from Inototus obliquus by high-speed counter-current chromatography with evaporative light scattering

detection, *Phytochemical Analysis*, 22(5), 419-423, 2011.

(비특허문헌 0005) Grundy J., et al., Rising prevalence of allergy to peanut in children: Data from 2 sequential cohorts, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 110, 784-789, 2002.

(비특허문헌 0006) Guk M.H., et al., Antioxidant and skin whitening effects of *Inonotus obliquus* methanol extract, *J. Mushroom Sci. Prod.*, 11(2), 99-106, 2013.

(비특허문헌 0007) Hill D.J., et al., Confirmation of the association between high levels of immunoglobulin E food sensitization and eczema in infancy: an international study, *Clin. Exp. Allergy*, 38, 161-168, 2008.

(비특허문헌 0008) Kim M.A., et al., Antihyperlipidemic and glycemic control effects of mycelia of *Inonotus obliquus* including protein-bound polysaccharides extract in C57BL/6J mice, *Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 38(6), 667-673, 2009.

(비특허문헌 0009) Kjaer H.F., et al., The prevalence of allergic diseases in an unselected group of 6-year-old children. The DARC birth cohort study, *Pediatr Allergy Immunol.*, 19, 737-745, 2008.

(비특허문헌 0010) Ma L., et al., Anti-inflammatory and anticancer activities of extracts and compounds from the mushroom *Inonotus obliquus*, *Food Chemistry*, 139, 503-508, 2013.

(비특허문헌 0011) Nomura M., et al., Inotodiol, a lanostane triterpenoid, from *Inonotus obliquus* inhibits cell proliferation through caspase-3-dependent apoptosis, *Anticancer Res.*, 28(5A), 2691-2696, 2008.

(비특허문헌 0012) Norwak-Węgrzyn A., et al., Adverse reactions to foods, *Med. Clin. N. Am.*, 90, 97-127, 2006.

(비특허문헌 0013) Ortolani C., et al., IgE-mediated allergy from vegetable allergens, *Ann. Allergy*, 71, 470-476, 1993.

(비특허문헌 0014) Park Y.K., et al., Chaga mushroom extract inhibits oxidative DNA damage in human lymphocytes as assessed by comet assay, *Biofactors*, 21(1-4), 109-112, 2004.

(비특허문헌 0015) Sampson H.A., Food allergy, Part I: Immunopathogenesis and clinical disorders, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 103, 717-728, 1999.

(비특허문헌 0016) Sampson H.A., Food allergy, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 111(Suppl 2), 540-547, 2003.

(비특허문헌 0017) Sicherer S.H., Food protein-induced enterocolitis syndrome: case presentations and managements lesson, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 115, 149-156, 2005.

(비특허문헌 0018) Sicherer S.H., et al., Food allergy: Recent advances in pathophysiology and treatment, *Annu. Rev. Med.*, 60, 261-277, 2009.

(비특허문헌 0019) Venter C., et al., Prevalence of sensitization reported and objectively assessed food hypersensitivity among 6-year-old children: a population-based study, *Pediatr Allergy Immunol.*, 17, 356-363, 2006.

(비특허문헌 0020) Venter C., et al., Prevalence and cumulative incidence of food hypersensitivity in the first 3 years of life, *Allergy*, 63, 354-359, 2008.

(비특허문헌 0021) Youn M.J., et al., Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) induces G0/G1 arrest and apoptosis in human hepatoma HepG2 cells, *World J. Gastroenterol.*, 14(4), 511-517, 2008.

발명의 내용

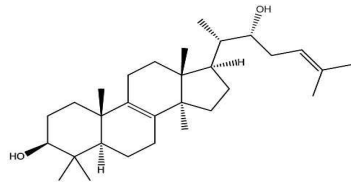
해결하려는 과제

[0018] 본 발명의 목적은 이노토디올(inotodiol) 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0019] 본 발명은 하기 화학식 1의 이노토디올(Inotodiol) 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯(*Inototus obliquus*) 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0020] [화학식 1]



[0021]

[0022] 상기 차가버섯 추출물은 차가버섯을 70% 에탄올을 용매로 하여 추출한 추출물에 클로로포름(chloroform) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate)를 순차적으로 가하여 분획한 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물 일 수 있다. 바람직하게는 클로로포름 분획물이다.

[0023] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 이노토디올 화합물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0024] 상기 알레르기는 꽃가루, 약물, 식물성 섬유, 세균, 식품, 염색약 및 화학 물질로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상에 의해 유도되는 알레르기 질환일 수 있으며, 바람직하게는 식품에 의해 유도되는 알레르기 질환이다.

[0025] 상기 알레르기 질환은 두드러기 아나필락시스(anaphylaxis), 알레르기성 비염, 기관지천식 및 아토피성 피부염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있다.

[0026] 또 다른 일면에 있어서, 본 발명은 상기 화학식 1의 이노토디올(Inotodiol) 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯(*Inototus obliquus*) 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

[0027] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 이노토디올 화합물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

[0028] 이하 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0029] 본 발명은 상기 화학식 1의 이노토디올(Inotodiol) 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯(*Inototus obliquus*) 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0030] 상기 차가버섯 추출물은 70% 에탄올을 용매로 하여 추출한 추출물에 클로로포름(chloroform) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate)를 순차적으로 가하여 분획한 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이며, 바람직하게는 클로로포름 분획물이다.

[0031] 상기 차가버섯 추출물은 이노토디올 화합물을 유효성분으로 함유하고 있다.

[0032] 또한, 본 발명은 이노토디올 화합물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0033] 상기 이노토디올 화합물은 통상적인 방법에 따라 합성할 수 있으며, 약학적으로 허용 가능한 염으로 제조될 수 있으며, 또는 차가버섯 추출물로부터 분리, 정제될 수 있다.

[0034] 상기 차가버섯으로부터 분리된 이노토디올 화합물은 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 정제할 수 있다. 상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), HP-20 컬럼 크로마토그래피(HP-20 column chromatography), RP-18 컬럼 크로마토그래피(RP-18 column chromatography), LH-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(High-performance liquid chromatography) 등에서 선택하여 사용할 수 있다.

[0035] 상기 알레르기는 알레르기 유발 물질인 알레르겐과의 접촉을 통해 항원-항체 반응에 의하여 생체 내에서 급격한 반응이 일어나는 현상을 의미하는 것으로, 상기 알레르겐은 꽃가루, 약물, 식물성 섬유, 세균, 식품, 염색약 및 화학 물질로 이루어진 군중에서 선택되는 1종 이상일 수 있으며, 바람직하게는 식품일 수 있으며, 이에 한정하

는 것은 아니다.

- [0036] 또한, 상기 알레르기 질환은 알레르기에 의해 생기는 질환으로, 주된 질환은 기관지천식, 알레르기성 비염, 두드러기, 약진, 약제 알레르기, 혈청병 등이고, 알레르겐의 종류나 알레르기 반응을 일으키는 조직에 따라 여러 가지 질환의 유형을 나타낸다.
- [0037] 상기 알레르기 질환은 두드러기, 아나필락시스, 알레르기성 비염, 기관지천식 및 아토피성 피부염으로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 이상일 수 있다.
- [0038] 또한, 본 발명은 이노토디올 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 약학 조성물에는 이노토디올 화합물 또는 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물이 0.001중량% 내지 100중량%로 함유될 수 있다.
- [0039] 상기 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 약학 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. 제제화할 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 본 발명의 이노토디올 화합물 또는 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 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 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, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 치료받을 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 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 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. 본 발명의 화합물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.
- [0042] 또한, 본 발명은 이노토디올 화합물 또는 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 이노토디올 화합물 또는 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물은 본 발명의 건강기능식품에 0.001~100중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제 등이 있다.

발명의 효과

- [0043] 본 발명은 이노토디올 화합물 및 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물을 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 식품 알레르기가 유도된 마우스 모델에 이노토디올 화합물 또는 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물을 투여하여 알레르기에 의한 증상들이 완화 및 치료되는 것을 확인하였다.
- [0044] 이에 따라, 본 발명의 이노토디올 화합물 및 이노토디올 화합물을 유효성분으로 포함하는 차가버섯 추출물이 알

레르기 질환의 예방 또는 치료 조성물로서 활용 가치가 높을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0045] 도 1은 식품 알레르기 유도 및 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯 분획물의 처리에 따른 알레르기 증상의 변화를 보여주고 있다. (A)는 직장 온도의 변화를, (B)는 아나필락시스 증상 완화 또는 치료 정도를, (C)는 설사 증상에 대한 점수를 보여주고 있다.
- 도 2는 식품 알레르기 유도 및 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯 분획물의 처리에 따른 소장에서의 호산구 침윤 변화를 보여주고 있다. (A)는 침윤된 호산구(붉은색 화살표)를 보여주고 있고, (B)는 침윤된 호산구 세포 수의 변화를 그래프로 보여주고 있다.
- 도 3은 식품 알레르기 유도 및 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯 분획물의 처리에 따른 소장에서의 비만세포 수의 변화를 보여주고 있다. (A)는 비만세포(보라색 화살표)를 보여주고 있고, (B)는 비만세포 수의 변화를 그래프로 보여주고 있다.
- 도 4는 식품 알레르기 유도 및 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯 분획물의 처리에 따른 알레르기 관련 IgE(A) 및 MCPT-1(B)의 혈청내 발현량을 보여주고 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0046] 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 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.
- [0047] <실시예 1. 이노토디올(inotodiol) 화합물의 분리>
- [0048] 실시예 1-1. 차가버섯 추출물의 제조 및 이노토디올 화합물의 함량 확인
- [0049] 본 발명의 이노토디올 화합물은 차가버섯(*Inonotus obliquus*)의 추출물로부터 분리하였다.
- [0050] 차가버섯 300g에 70%[v/v] 에탄올 3,000ml를 가하여 3시간 동안 환류 추출하는 것을 2회 반복하여 70% 에탄올 추출물을 얻었고, 이를 진공회전농축기(rotary evaporator)를 이용하여 분말 형태의 70% 에탄올 추출물 25g을 얻었다.
- [0051] 차가버섯 에탄올 추출물 25g을 물에 녹이고, 클로로포름(chloroform)을 가하여 클로로포름 분획물 2.5g을 확보하고, 클로로포름 분획물을 분리하고 남은 분획물에 다시 에틸아세테이트(ethyl acetate)를 가하여 에틸아세테이트 분획물 1.2g과 물 분획물 12g을 확보하였다.
- [0052] 상기에서 확보한 차가버섯 추출물 및 분획물에 포함되어 있는 이노토디올 화합물의 함량을 확인하기 위해 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 수행하였다. HPLC는 아세토니트릴(acetonitrile) 농도 구배(0-30분; 40→95%[v/v], 30-60분; 95%[v/v] 유지) 조건으로 LC10AD(Shimadzu Co. Kyoto, Japan)를 사용하여 진행하였고, 각각의 차가버섯 추출물 및 분획물의 농도가 2mg/ml이 되도록 만든 후, 10 μ l씩을 주입하였다. 컬럼은 Endurosil C18(4.6 $\times$ 250mm, 5 μ m 입자크기, Shimadzu Co. Kyoto, Japan)를 사용하였으며, 유속은 1ml/분, UV 탐지(210nm)로 이노토디올 화합물의 함유량을 확인하였고, 그 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1

[0053]	시료	이노토디올 화합물의 함유량(%)
	70% 에탄올 추출물	1.2
	클로로포름 분획물	7.8
	에틸아세테이트 분획물	3.3
	물 분획물	0.05

- [0054] 상기 표 1을 참고하면, 이노토디올 화합물의 함량이 차가버섯의 70% 에탄올 수용액 추출물은 1.2%이었으며, 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물은 각각 7.8%, 3.3%이었다. 물 분획물의 경우에는 이노토디올 화합물의 함유량이 가장 낮게 나타났다.

[0055] 실시예 1-2. 이노토디올 화합물의 분리

[0056] 상기 실시예 1-1에서 확보한 차가버섯의 클로로포름 분획물로부터 이노토디올 화합물을 분리하였다.

[0057] 클로로포름 분획물 2.5g을 헥산:아세톤이 20:1, 9:1, 4:1, 2:1 및 1:2[v/v] 비율로 혼합된 혼합용매를 각각 1ℓ 씩 이용하여 농도구배 용출 조건에 따른 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography)로 분획하여 5개의 소분획물을 얻었다(Fr.C1~Fr.C5). 상기 소분획물 중 Fr.C3을 헥산:아세톤이 10:1[v/v]로 혼합된 혼합용액의 등용매 조건에 따른 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 이노토디올 화합물 150mg을 분리하였다.

[0058] <실시예 2. 이노토디올 화합물의 물리화학적 구조 확인>

[0059] Inotodiol;

[0060] 백색 무정형 분말;

[0061] ESI-MS: $[M+Na]^+$ 465.37 m/z ($C_{30}H_{50}O_2$: 442.27);

[0062] 1H NMR 및 ^{13}C NMR 데이터는 하기 표 2 참조;

[0063] ESI-MS 분석 결과와 ^{13}C NMR 데이터를 통해 분자식이 $C_{30}H_{50}O_2$ 로 확인되었다.

[0064] 이노토디올에 대한 ^{13}C -NMR에서 탄소 30개의 피크(peak)를 확인 할 수 있었으며, δ_c 121.2, 134.0, 134.4, 134.8 피크에서 두 개의 이중 결합(double bond)이 있고, δ_c 73.2, 78.7 피크를 통해서 2개의 히드록실 그룹(hydroxyl group)이 있는 것을 추정할 수 있었다(표 2 참조). 또한 1H -NMR 스펙트럼(표 2 참조)에서, δ_H 0.67, 0.76, 0.82, 0.88, 0.93, 1.60, 1.69 (3H, s)에서 단일(singlet)의 메틸 피크(methyl peak)와 δ_H 0.88에서 이중(doublet)의 메틸 피크를 확인할 수 있었다. 또한 δ_H 5.16 (1H, t, $J = 7.2$ Hz)에서 H-24에 해당하는 올레핀(olefinic)의 피크와, δ_H 3.18 (1H, m, H-3)과 δ_H 3.65 (1H, H-22)에서 산소에 결합하고 있는 옥시메틴(oxy methine)의 피크가 나타남을 확인하였다.

[0065] 이상의 결과를 논문에 보고된 데이터(Du. D., et al., 2011)와 비교하여 이노토디올 화합물의 구조를 확증할 수 있었다.

표 2

[0066]

	δ_c (100MHz)	δ_H (400MHz)
1	35.4	
2	27.6	
3	78.7	3.18 (m, 1H)
4	38.7	
5	50.2	0.94 (m, 1H)
6	18.9	
7	26.3	
8	134.4	
9	134.0	
10	36.8	
11	20.8	
12	28.9	
13	44.5	
14	49.2	
15	30.7	
16	30.7	
17	47.0	1.55 (m, 1H)
18	15.5	0.67 (s, 3H)
19	18.0	0.93 (s, 3H)
20	41.5	1.97 (m, 1H)

21	12.4	0.88 (d, J = 6.5 Hz, 1H)
22	73.2	3.65 (m, 1H)
23	27.0	
24	121.2	5.16 (t, J = 7.2 Hz, 1H)
25	134.8	
26	25.7	1.60 (s, 3H)
27	17.9	1.69 (s, 3H)
28	27.7	0.90 (s, 3H)
29	15.2	0.76 (s, 3H)
30	24.1	0.82 (s, 3H)

[0067] <실험예 1. 식품 알레르기 마우스 모델의 제조 및 추출물의 투여>

[0068] 식품 알레르기 마우스 모델을 제조하기 위해 5주령의 수컷 BALB/C 마우스를 이용하였고, 알레르기 유도물질(알레르겐, allergen)로 닭의 난백알부민(ovalbumin)을 이용하였다.

[0069] 마우스의 면역을 유도(immunization)하기 위해 20 μ g의 난백알부민을 2mg의 명반(alum)과 혼합하여 2주 간격으로 2회, 쥐의 복강 내로 주사하였다. 식품 알레르기 유도는, 2번째 면역유도 주사 후 2주 뒤에 50mg의 난백알부민을 3일 간격으로 5회 경구 투여함으로써 알레르기 반응이 일어나도록 하였다. 또한, 알레르기 치료 효과를 확인하기 위해 상기 실시예 1에서 확보한 차가버섯의 추출물, 분획물 및 이노토디올 화합물을 식품 알레르기 유발을 위해 난백알부민을 투여하는 동안 매일 마우스에 경구 투여하였다. 이때, 양성대조군으로 텍사메타손(dexamethasone)을 매일 투여하였다. 50mg 난백알부민 단독 또는 차가버섯 추출물, 분획물 또는 이노토디올 화합물을 마지막으로 투여 하고, 1시간 후에 알레르기에 의한 증상들을 관찰하였다.

[0070] 실험 그룹 당 마우스를 6마리 이용하였고, 각각의 실험 그룹을 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0071]

그룹	설명
G1	정상 그룹
G2	식품 알레르기 유도 그룹
G3	텍사메타손(dexamethasone) 20mg/kg 처리 그룹
G4	차가버섯 70% 에탄올 추출물 320mg/kg 처리 그룹
G5	차가버섯 클로로포름 분획물 추출물 320mg/kg 처리 그룹
G6	차가버섯 에틸아세테이트 분획물 추출물 320mg/kg 처리 그룹
G7	차가버섯 물 분획물 추출물 320mg/kg 처리 그룹
G8	이노토디올 화합물 20mg/kg 처리 그룹

[0072] <실험예 2. 식품 알레르기 증상의 개선 효과 확인>

[0073] 실험예 2-1. 직장(rectal) 온도 변화 확인

[0074] 식품 알레르기 유발 및 약물 처리에 따른 직장의 온도 변화를 확인하기 위해 각 그룹에 해당되는 마우스를 이용해 직장의 온도를 측정하였다. 직장 온도는 직장체온계의 센서 끝을 직장에 삽입하여 측정하였고, 그 결과를 도 1(A)에 나타내었다.

[0075] 도 1(A)에서 보여주듯이, 식품 알레르기 유도 그룹(G2)의 경우에는 정상 그룹(G1)에 비해 직장 온도가 낮아진 것을 알 수 있다. 그러나 텍사메타손(G3) 또는 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물(G8)과 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)을 처리한 그룹에서는 식품 알레르기 유도 그룹(G2)에 비해 직장 온도가 높은 것을 확인하였고, 특히나, 이노토디올 화합물을 처리한 그룹(G8)의 경우에는 정상 그룹(G1)과 비슷한 수준의 직장 온도를 나타내는 것을 확인하였다. 반면에, 이노토디올 화합물 함량이 낮은 차가버섯의 물 분획물(G7)을 처리한 경우의 직장 온도는 식품 알레르기 유도 그룹(G2)과 비슷한 수준의 직장 온도를 나타내었다.

[0076] 이를 통해, 본 발명의 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 알레르기 유발에 의해 나타나는 증상 중의 하나인 직장 온도 저하를 개선한다는 것을 알 수 있었다.

[0077] 실험예 2-2. 아나필락시스(anaphylaxis) 관찰

[0078] 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물 및 이를 포함하는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물의 식품 알레르기에 의한 아나필락시스 증상 개선 또는 치료 효과를 확인하기 위해, 실험 그룹별 마우스 반응을 관찰하였고, 하기 표 4에 따라 아나필락시스 증상을 점수화하였고, 그 결과를 도 1(B)에 나타내었다.

표 4

[0079]

아나필락시스 증상	점수
정상	0
느린 반응	1
무반응	2
떨림	3
사망	4

[0080] 도 1(B)에서 보여주듯이, 식품 알레르기 유도 그룹(G2)의 경우에는 정상 그룹(G1)에 비해 아나필락시스 점수가 높은 것을 알 수 있다. 그러나 텍사메타손(G3), 차가버섯의 70% 에탄올 추출물(G4), 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6) 및 이노토디올 화합물(G8)을 처리한 그룹의 아나필락시스 점수는 식품 알레르기 유도 그룹(G2)에 비해 낮은 것을 알 수 있었고, 특히나, 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5), 에틸아세테이트 분획물(G6) 및 이노토디올 화합물(G8)을 처리한 그룹의 아나필락시스 점수가 더 낮음을 알 수 있었다. 반면에, 이노토디올 화합물의 함유량이 낮은 차가버섯의 물 분획물(G7)의 경우에는 식품 알레르기 유도 그룹(G2)과 비슷한 수준의 아나필락시스 점수를 나타내었다.

[0081] 이를 통해, 본 발명의 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 알레르기 유발에 의한 아나필락시스 증상을 개선한다는 것을 알 수 있었다.

[0082] 실험예 2-3. 대장에서의 대변(stool) 관찰

[0083] 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물 및 이를 포함하는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물의 식품 알레르기에 의한 대변 형태 변화를 관찰하였다. 실험 그룹별 마우스의 대장 내의 대변의 형태를 육안으로 관찰하고, 하기 표 5에 따라 설사 증상을 점수화하여, 그 결과를 도 1(C)에 나타내었다.

표 5

[0084]

설사 증상	점수
정상	0
정상/뭉은 변	1
빈번하고, 조절되지 않은 뭉은 변	2
완전한 설사	3
사망	4

[0085] 도 1(C)에서 보여주듯이, 식품 알레르기 유도 그룹(G2)의 경우에는 정상 그룹(G1)에 비해 설사 증상에 대한 점수가 높은 것을 알 수 있다. 그러나 텍사메타손(G3) 또는 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물(G8) 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)을 처리한 그룹의 설사 증상에 대한 점수는 식품 알레르기 유도 그룹(G2)에 비해 낮은 것을 알 수 있다. 반면, 이노토디올 화합물의 함유량이 가장 낮은 차가버섯의 물 분획물(G7)을 처리한 그룹에서 설사 증상 완화 효과가 거의 나타나지 않는 것으로 확인되었다.

[0086] 이를 통해, 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 알레르기 유발에 의한 설사 증상을 개선한다는 것을 알 수 있었다.

[0087] 상기 직장 온도, 아나필락시스 증상 및 대변 관찰을 통해, 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물이 알레르기 증상을 완화하는 유효성분임을 알 수 있었으며, 또한, 이노토디올 화합물을 유효성분으로 함유하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물의 경우에도 알레르기 증상을 완화하는 효과가 우수함

을 알 수 있었다.

[0088] <실험예 3. 식품 알레르기에 의한 소장의 세포 변화 관찰>

[0089] 실험예 3-1. 소장의 호산구(eosinophils) 관찰

[0090] 호산구는 식품 알레르기에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 즉, 호산구는 소장에서 알레르기성 염증을 유발시킨다. 이에 소장에서의 호산구 변화를 관찰함으로써, 본 발명의 이노토디올 화합물 및 이를 포함하는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물의 알레르기 예방 및 치료 효과를 확인하였다.

[0091] 상기 실험예 1의 각 실험 그룹의 마우스를 마취한 후 개복하여 소장을 꺼낸 후 프로말린(formalin)으로 고정시킨 후 파라핀(paraffin)으로 처리하여 조직에 파라핀을 침투시키고 포매한 후 마이크로톰으로 박절하여 조직 절편을 확보 하였다. 확보한 소장의 절편을 이용해 H&E(hematoxylin and eosin) 염색을 한 후, 호산구 세포를 관찰하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0092] 도 2의 조직 염색을 통해 염색된 호산구(빨간색 화살표)(A) 및 염색된 호산구의 세포 수를 측정한 결과(B)를 통해 알 수 있듯이, 식품 알레르기 유도 그룹(G2)이 정상 그룹(G1)에 비해 소장 내의 호산구 침윤이 증가하였고, 텍사메타손(G3)과 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물(G8) 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)을 처리한 그룹의 경우에는 호산구의 침윤이 감소하였다. 차가버섯 추출물(G4)을 처리한 그룹의 경우에도 식품 알레르기 유도 그룹(G2)에 비해 호산구의 수가 감소되었으나, 본 발명의 이노토디올 화합물(G8) 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)보다 그 감소 효과가 낮음을 알 수 있었다.

[0093] 이를 통해, 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 알레르기에 의한 염증을 완화시킴으로써 알레르기를 예방 또는 치료할 수 있음을 알 수 있었다.

[0094] 실험예 3-2. 소장의 비만세포 관찰

[0095] 알레르기 반응을 유발한다고 알려진 비만세포를 관찰함으로써 본 발명의 이노토디올 화합물 및 이를 포함하는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물의 알레르기 예방 및 치료 효과를 확인하였다.

[0096] 상기 실험예 3-1에서 확보한 소장의 조직 절편을 이용하여 비만세포를 관찰하기 위해 톨루이딘(toluidine)으로 염색하고, 현미경 상에서 비만세포를 관찰하고, 비만세포 수를 측정하여 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0097] 도 3의 톨루이딘 염색을 통해 염색된 비만세포(보라색 화살표)(A) 및 염색된 비만세포의 세포 수를 측정한 결과(B)를 통해 알 수 있듯이, 식품 알레르기 유도 그룹(G2)이 정상 그룹(G1)에 비해 소장 내의 비만세포 수가 증가하였고, 텍사메타손(G3)과 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물(G8) 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)을 처리한 그룹의 경우에는 비만세포의 수가 감소하였다. 차가버섯 추출물(G4)을 처리한 그룹의 경우에도 식품 알레르기 유도 그룹(G2)에 비해 비만세포의 수가 감소되었으나, 본 발명의 이노토디올 화합물(G8) 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)보다 그 감소 효과가 낮음을 알 수 있었다.

[0098] 이를 통해, 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 알레르기 예방 또는 치료 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0099] <실험예 4. 알레르기에 의한 IgE 및 MCPT-1 발현량 확인>

[0100] 알레르기 반응은 알레르겐에 반응하는 IgE의 발현이 증가하고, 비만세포의 경우에는 히스타민(histamine), 세린 프로테아제(serine protease), 프로테오글리칸(proteoglycan)과 같은 알레르기 염증과 관련된 과립물질들을 분비한다. 따라서, 본 발명의 이노토디올 화합물 및 이를 포함하는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물의 알레르기 예방 및 치료 효과를 확인하기 위해 마우스의 혈청 내의 IgE 및 세린 프로테아제인 MCPT-1(mast cell protease-1)의 발현량을 측정하였다.

[0101] 혈청은 상기 실험예 1에서 50mg 난백알부민 단독 또는 차가버섯 추출물, 분획물 또는 이노토디올 화합물을 마지막으로 투여 하고 1일 후에 마우스의 혈액을 채취하여 확보하였다. 확보한 혈청을 100배 희석하여 이용하였다.

[0102] 혈청 내 IgE의 양은 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)를 이용하여 측정하였다. 96웰 플레이트에 2μg/ml의 난백알부민이 포함되어 있는 카보네이트 코팅 버퍼(carbonate coating buffer, pH9.5)를 웰 당 100μl씩

넣고, 4℃에서 하룻밤 동안 반응시켜 코팅하였다. 반응 후 세척 버퍼(washing buffer)(0.05% tween 20 in PBS)로 3회 세척한 후, 1% BSA(bovine serum albumin)이 포함된 PBS(phosphate buffered saline)를 웰 당 200 μ l씩 넣고 상온에서 1시간 동안 처리하여 블로킹시킨 다음 세척 버퍼로 3회 세척하였다. 세척 후 혈청을 웰 당 100 μ l씩 첨가하고 상온에서 2시간 동안 반응 시키고 세척 버퍼로 세척하였다. 1 μ g/ml의 바이오틴으로 표지된 항-마우스 IgE(anti-mouse IgE)를 웰 당 100 μ l씩 넣고 1시간 동안 반응시킨 후 세척 버퍼로 세척하고, 다시 HRP(horseradish peroxidase)가 붙어있는 스트렙타비딘(streptavidin-HRP)을 30분 동안 처리하였다. 플레이트를 세척 버퍼로 5회 세척한 후 테트라메틸렌벤지딘(tetramethylenbenzidine) 100 μ l를 처리하여 발색을 유도하였다. 발색이 되면 2N 황산(H₂SO₄)를 100 μ l씩 처리하여 발색반응을 정지시킨 후 450nm에서 흡광도를 측정하여, 혈청 내 IgE의 양을 분석하였고, 그 결과를 도 4(A)에 나타내었다.

[0103] 또한, 세린 프로테아제인 MCPT-1(mast cell protease-1)의 발현량은 mMCP-1 ELISA kit(eBioscience사)를 이용하여하였고, 제조사에서 제공하는 방법대로 실험을 진행하여 측정하였고, 그 결과를 도 4(B)에 나타내었다.

[0104] 도 4에서 보여주듯이, 식품 알레르기 유도 그룹(G2)이 정상 그룹(G1)에 비해 혈청 내 IgE(A) 및 MCPT-1(B)의 발현량이 증가하였고, 텍사메타손(G3)과 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물(G8) 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)을 처리한 그룹의 경우에는 IgE 및 MCPT-1의 발현량이 감소하였다. 차가버섯 추출물을 처리한 그룹(G4)의 경우에도 식품 알레르기 유도 그룹(G2)에 비해 IgE 및 MCPT-1의 양이 감소되었으나, 본 발명의 이노토디올 화합물(G8) 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물(G5) 및 에틸아세테이트 분획물(G6)보다 그 감소 효과가 낮음을 알 수 있었으며, 물 분획물(G7)을 처리한 경우에는 알레르기에 유도에 의해 증가된 IgE 및 MCPT-1의 양이 거의 변화가 없음을 알 수 있습니다.

[0105] 이를 통해, 본 발명의 차가버섯으로부터 분리한 이노토디올 화합물 및 이를 포함하고 있는 차가버섯의 클로로포름 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 알레르기 예방 또는 치료 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0106] <제제예 1. 약학적 제제>

[0107] 제제예 1-1. 정제의 제조

[0108] 본 발명의 차가버섯의 클로로포름 분획물 200g을 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.

[0109] 제제예 1-2. 주사액제의 제조

[0110] 본 발명의 이노토디올 화합물 1g, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100ml를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

[0111] <제제예 2. 식품 제조>

[0112] 제제예 2-1. 조리용 양념의 제조

[0113] 본 발명의 이노토디올 화합물을 조리용 양념에 1중량%로 첨가하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0114] 제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조

[0115] 본 발명의 이노토디올 화합물을 밀가루에 0.1중량%로 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0116] 제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조

[0117] 본 발명의 이노토디올 화합물을 스프 및 육즙에 0.1중량%로 첨가하여 건강 증진용 수프 및 육즙을 제조하였다.

[0118] 제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조

[0119] 본 발명의 이노토디올 화합물을 우유에 0.1중량%로 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0120] 제제예 2-5. 야채주스 제조

[0121] 본 발명의 이노토디올 화합물 0.5g을 토마토주스 또는 당근주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조

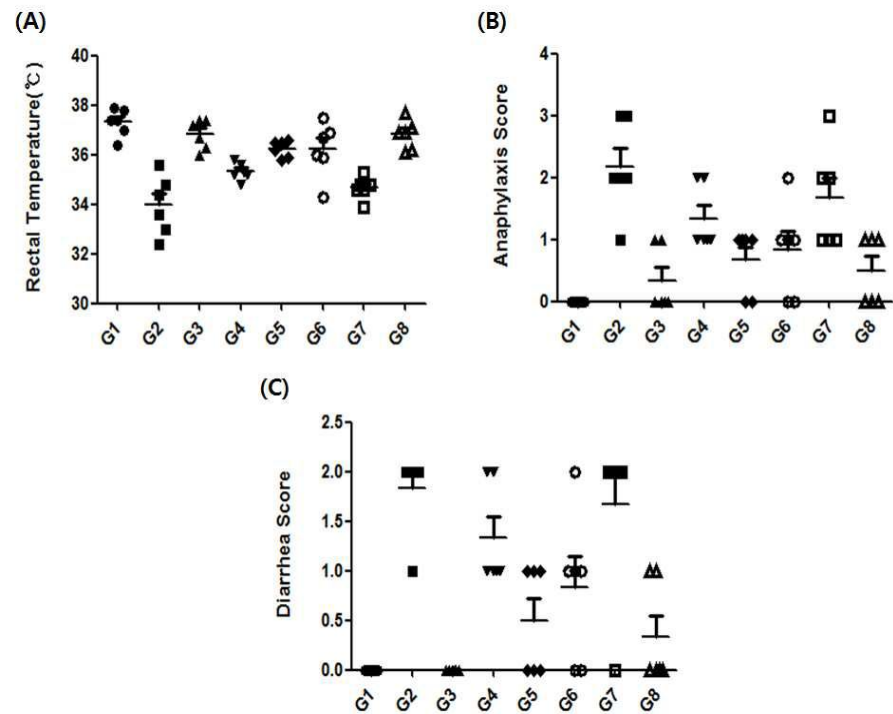
하였다.

제제예 2-6. 과일주스 제조

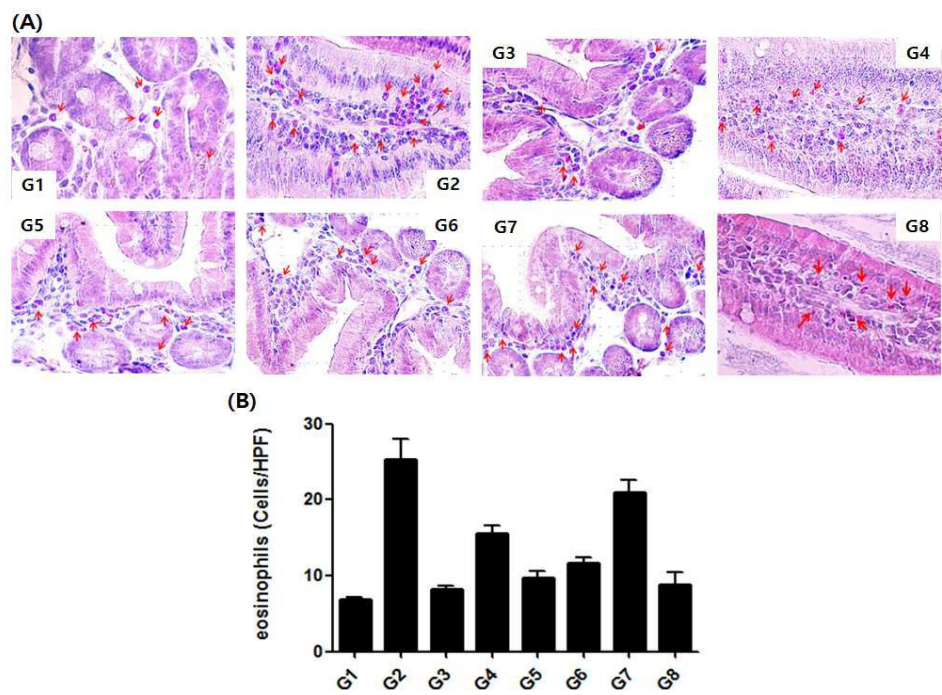
본 발명의 이노토디올 화합물 0.1g을 사과주스 또는 포도주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

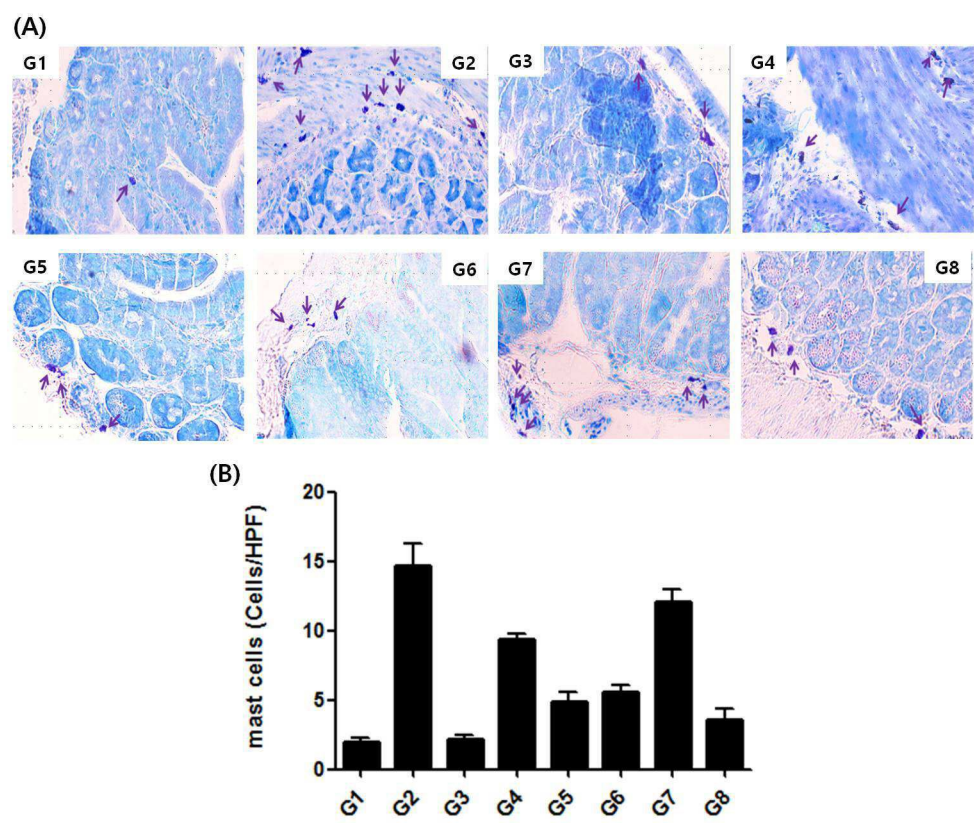
도면1



도면2



도면3



도면4

