



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년11월28일
(11) 등록번호 10-2049375
(24) 등록일자 2019년11월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/185 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 8/9789 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/185 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0164446
(22) 출원일자 2017년12월01일
심사청구일자 2017년12월01일
(65) 공개번호 10-2019-0065029
(43) 공개일자 2019년06월11일
(56) 선행기술조사문헌
International journal of molecular sciences,
2017, 18(2), 451, pp. 1-14*
Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2016,
39(10), pp. 1675-1682
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
대한민국(환경부 국립생물자원관장)
인천 서구 환경로 42, 종합환경연구단지 국립생물
자원관 (경서동)
재단법인 경기도경제과학진흥원
경기도 수원시 영통구 광교로 107 (이의동)
(72) 발명자
강재신
서울특별시 강남구 삼성로 212, 27동 1202호 (대
치동, 은마아파트)
현창우
인천광역시 계양구 계산새로 108, 404동 101호(계
산동, 은행마을강북.삼보아파트)
(74) 대리인
특허법인 태웅
(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 5 항

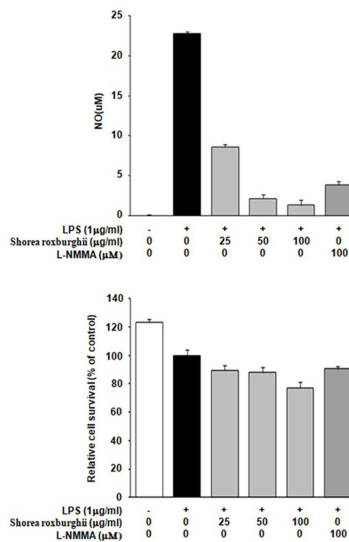
심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 쇼레아 록스부르그히이 추출물을 이용한 항염증용 조성물

(57) 요약

본 발명은 쇼레아 록스부르그히이 추출물을 이용한 항염증용 조성물을 개시한다. 상기 쇼레아 록스부르그히이 추출물은 LPS(lipopolysaccharide)로 자극된 마우스 대식세포주(RAW 264.7 cells)에서 NO 생성 억제 활성을 보이고, 염증성 사이토카인(TNF- α , IL-6, IL-1 β), COX-2 및 iNOS의 생성 억제 활성을 보인다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 8/9789 (2017.08)

A61Q 19/00 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

(72) 발명자

웅삼앗

캄보디아, 칸 돈 뻬, 상캣 프싸 칸달 2, 프레아 노로돔 거리 #40

크라이 마스팔

캄보디아, 칸 돈 뻬, 상캣 프싸 칸달 2, 프레아 노로돔 거리 #40

김영동

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교 생명과학과

안은경

경기도 수원시 영통구 웰빙타운로 130, 8901동 303호(이의동, 광고파크자이더테라스)

신주영

서울특별시 동대문구 이문로8길 23-9, 204호 (휘경동)

고혜진

경기도 안산시 단원구 당곡로 33, 프라움시티동 7층 102-706호(고잔동)

명세서

청구범위

청구항 1

쇼레아 록스부르그히이 잎의 물과 에탄올의 혼합용매 추출물을 유효성분으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 추출물은 70% 에탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 화장료 조성물인 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 쇼레아 록스부르그히이(*Shorea roxburghii*) 추출물을 이용한 항염증용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 염증은 물리적인 외상, 유해한 화학물질, 박테리아, 곰팡이, 바이러스에 의한 감염이나 생체 내 대사산물 중의 자극성 물질에 의하여 야기되는 병리적 상태에 대응하여 나타나는 국소적인 생체의 방어 반응이다. 염증은 손상된 조직과 이동하는 세포(migrating cells)로부터 생산되는 다양한 염증 매개 인자에 의하여 촉발된다. 염증 반응 시에는 염증 부위에 혈장이 축적되어 세균이 분비한 독성을 희석시키며, 혈류가 증가하고, 홍반, 통증, 부종, 발열 등의 증상이 수반되게 된다. 정상적인 경우에 생체는 염증 반응을 통하여 발병 요인을 중화시키거나 제거하고 상한 조직을 재생시켜서 정상적인 구조와 기능을 회복시키지만, 그렇지 못한 경우에는 만성 염증과 같은 질병 상태로 진행되기도 한다.

- [0003] 최근 분자생물학의 발달로 분자적 수준에서 염증 반응에 대한 많은 연구가 이루어져 있다.
- [0004] 염증 반응에는 다양한 생화학적 현상이 관여하지만, 특히 대식세포(Macrophage)는 화학적 자극 등에 의하여 산화질소(NO)와 여러 염증성 사이토카인을 생성하여 염증반응에서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(Ito T., et al., *Curr Drug Target Inflamm Allergy*, 2(3):257-265, 2003). 산화질소는 산화질소의 합성효소(nitric oxide synthase, NOS)의 작용에 의하여 L-아르기닌(L-arginine)으로부터 합성되는데, NOS는 몇 가지 이소 형태가 존재한다. 뇌에 존재하는 bNOS(brain NOS), 신경계에 존재하는 nNOS(neuronal NOS), 혈관 내피계에 존재하는 eNOS(endothelial NOS) 등은 체내에서 항상 일정수준으로 발현되고 있으며, 이들에 의해 소량 생성되는 일산화질소(NO)는 혈압 조절 작용, 신경 전달 작용, 학습, 기억 등과 관련된 다양한 생리 반응을 수행함으로써 인체의 항상성 유지에 중요한 역할을 수행한다. 이에 반하여 어떤 자극에 의하여 그 발현이 유도되는 iNOS(induced NOS)는 NO를 과다 생성하며, iNOS에 의해 과다 생성된 산화질소는 슈퍼옥사이드(superoxide)와 반응하여 퍼옥시니트라이트(peroxynitrite)를 형성하고 이는 강력한 산화제로 작용하여 세포에 손상을 입힘으로써 염증과 암을 포함한 다양한 병리적 과정에 관여한다(Gupta SC et al., *Exp Biol Med.*, 236:658-671, 2011; Riehemann et al., *FEBS Lett.*, 442:89-94, 1999; Stamler et al., *Science*, 258:1898-1902, 1992).
- [0005] 한편 시클로옥시게나제(cyclooxygenase, COX)는 COX의 기능과 함께 하이드로퍼옥시다제(hydroperoxidase, HOX) 활성을 가지고 아라키돈산으로부터 중간체인 PGG₂와 PGH₂를 합성하며, 이들 화합물로 PGE₂, PGF₂, PGD₂, 프로스타시클린 및 트롬복산A₂(thromboxane A₂, TxA₂)를 생성하는데, COX에도 2종류의 이소 형태가 존재한다. COX-1은 대부분의 조직에 항상 발현되어 세포 보호 작용에 필요한 프로스타글란딘(PGs)을 합성하는 데 반하여, COX-2는 염증 반응 시 신속히 그 발현이 유도되어 PGE₂ 등을 생성함으로써 염증 반응을 일으키는 데 중요한 역할을 수행한다(Weisz A., *Biochem. J.*, 316:209-215, 1996; Miller M. J. et al., *Mediators of inflammation*, 4:387-396, 1995; Appleton L. et al., *Adv. Pharmacol.*, 35:27-28, 1996).
- [0006] NO와 PGs의 과다 생성을 유도하는 iNOS 및 COX-2의 발현은 핵전사인자인 NF-κB에 의해 조절된다. NF-κB는 Rel 유전자계(Rel gene family)의 핵단백질로서, 세포질에서는 I-κB와 결합되어 불활성인 형태로 존재하나, 어떤 요인에 의하여 I-κB 키나제(kinase)가 활성화되면 인산화 과정을 통해 I-κB가 떨어져 나가게 됨으로써 활성화된다. p50과 p65의 헤테로이량체(heterodimer)로 구성된 NF-κB는 활성화된 후, 핵으로 이동하여 염증 반응을 유도하는 iNOS 및 COX-2의 유전자 발현을 유도한다(Oh, G. T. et al., *Atherosclerosis*, 159(1):17-26, 2001).
- [0007] LPS(lipopolysaccharide) 등의 세균 내독소는 TLR4(toll-like receptor 4)와의 결합함으로써 전사인자인 NF-κB를 활성화시키며, iNOS 및 COX-2의 발현을 유도하여 NO, 염증성 사이토카인, PGE₂ 등 여러 염증 조절 물질을 분비하게 한다(Chen YC, et al, *Biochem. Pharmacol.*, 61:1417-1427, 2001; Dobrovolskaia MA, et al., *J Immunol.*, 170:508-19, 2003; Ji Y, et al., *Cell Physiol Biochem.*, 25:631-640, 2010). NO, TNF-α, IL-6 등의 염증성 사이토카인, PGE₂ 등은 관절염(Jang C. H. et al., *Rheumatology*, 2006, 45(6):703-710), 섬유근통(Hernandez M. E. et. al., *BMC Res. Notes.*, 2010, 3(1):156), 쇼그렌 증후군(Baturone R. et. al., *Scand J Rheumatol.*, 2009, 38(5):386-389) 등에서 염증 반응의 유도하는 중요한 인자로 보고되어 있다(Jang C. H. et al., *Rheumatology*, 45(6):703-710, 2006; Hernandez M. E. et. al., *BMC Res. Notes.*, 3(1):156, 2010; Baturone R. et. al., *Scand J Rheumatol.*, 38(5):386-389, 2009).
- [0008] 이러한 연구 결과는 NO 생성을 억제하거나 TNF-α, IL-6 등의 염증성 사이토카인의 생성을 억제하는 약물, iNOS나 COX-2의 발현을 억제하는 약물은 유효한 항염증제로서의 가능성을 가짐을 시사한다(Karin M. et al., *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 1, pp1-14, 2009).
- [0009] 현재 항염증제로서 널리 사용되고 있는 비스테로이드성 소염제(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)는 위장관 장애, 간장애, 신장애 등의 심각한 부작용을 야기한다고 알려져 있다(Rainsford KD., *Subcell biochem.*, 42:3-27, 2007; Guruprasad P. Aithal., *Rheumatology.*, 7:139-150, 2011; Praveen P. N. Rao et al., *Pharmaceuticals.*, 3:1530-1549, 2010).
- [0010] 따라서 항염 활성을 가지면서 부작용이 적고 효과가 지속적인 새로운 약물의 개발이 여전히 필요하다고 할 수 있다.
- [0011] 쇼레아 록스부르그히이는 캄보디아, 인디아, 라오스, 태국 등에서 발견되는 식물종으로 최근 그 줄기 껍질 추출물이나 그로부터 분리된 호페페놀(hopeaphenol) 등이 항산화 활성을 가진다고 보고 되어 있다(SpringerPlus

2013, 2:28; Journal of Taibah University for Science 9 (2015) 237-44).

[0012] 본 발명은 상기 쇼레아 록스부르그히이 추출물의 항염증 활성을 개시한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 쇼레아 록스부르그히이 추출물을 이용한 항염증용 조성물을 제공하는 데 있다.

[0014] 본 발명의 다른 목적이나 구체적인 목적은 이하에서 제시될 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명자들은 아래의 실시예 및 실험예에서 확인되는 바와 같이, 로우레이리 추출물이 LPS(lipopolysaccharide)로 자극된 마우스 대식세포주(RAW 264.7 cells)에서 농도 의존적으로 NO 생성 억제 활성을 보이고 또한 염증성 사이토카인(IL-6 및 IL-1 β), COX-2 및 iNOS의 생성 억제 활성을 보임을 확인하였다.

[0016] 전술한 바를 고려할 때, 본 발명은 쇼레아 록스부르그히이 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물로 파악할 수 있다.

[0017] 본 명세서에서, "쇼레아 록스부르그히이 추출물"이란 추출 대상인 쇼레아 록스부르그히이의 줄기, 잎, 열매, 꽃, 뿌리 등을 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜(메탄올, 에탄올, 부탄올 등), 메틸렌클로라이드, 에틸렌, 아세톤, 헥산, 에테르, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, N,N-디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 또는 이들의 혼합 용매를 사용하여 침출하여 얻어진 추출물, 이산화탄소, 펜탄 등 초임계 추출 용매를 사용하여 얻어진 추출물 또는 그 추출물을 분획하여 얻어진 분획물을 의미하며, 추출 방법은 활성물질의 극성, 추출 정도, 보존 정도를 고려하여 냉침, 환류, 가온, 초음파 방사, 초임계 추출 등 임의의 방법을 적용할 수 있다. 분획된 추출물의 경우 추출물을 특정 용매에 현탁시킨 후 극성이 다른 용매와 혼합·정지시켜 얻은 분획물, 상기 조추출물을 실리카겔 등이 충전된 칼럼에 흡착시킨 후 소수성 용매, 친수성 용매 또는 이들의 혼합 용매를 이동상으로 하여 얻은 분획물을 포함하는 의미이다. 또한 상기 추출물의 의미에는 동결건조, 진공건조, 열풍건조, 분무건조 등의 방식으로 추출 용매가 제거된 농축된 액상의 추출물 또는 고형상의 추출물이 포함된다. 바람직하게는 추출용매로서 물, 에탄올 또는 이들의 혼합 용매를 사용하여 얻어진 추출물, 더 바람직하게는 추출용매로서 물과 에탄올의 혼합 용매를 사용하여 얻어진 추출물을 의미한다.

[0018] 본 명세서에서 "유효성분"이란 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.

[0019] 또 본 명세서에서, "항염증"은 아래에서 정의되는 염증성 질환의 개선(증상의 경감), 치료, 그러한 질환의 발병 억제 또는 지연을 포함하는 의미이다.

[0020] 또 본 명세서에서, 상기 "염증성 질환"이란 외부의 물리·화학적 자극 또는 박테리아, 곰팡이, 바이러스, 각종 알레르기 유발 물질 등 외부 감염원의 감염 또는 자가면역에 대한 국부적 또는 전신적 생체 방어 반응으로 특정되는 염증 반응이 일으키는 병리적 증상으로서 정의될 있다. 이러한 염증 반응은 각종 염증 매개 인자와 면역세포와 관련된 효소(예컨대 iNOS, COX-2 등) 활성화, 염증 매개 물질의 분비(예컨대, NO, TNF- α , IL-6 등의 분비), 체액 침윤, 세포 이동, 조직 파괴 등의 일련의 복합적인 생리적 반응을 수반하며, 홍반, 통증, 부종, 발열, 신체의 특정 기능의 저하 또는 상실 등의 증상에 의해 외적으로 나타난다. 상기 염증성 질환은 급성, 만성, 궤양성, 알레르기성 또는 과사성을 띌 수 있으므로, 어떠한 질환이 상기와 같은 염증성 질환의 정의에 포함되는 한 그것이 급성이든지, 만성이든지, 궤양성이든지, 알레르기성이든지 또는 과사성이든지를 불문한다. 구체적으로 상기 염증성 질환에는 천식, 알레르기성 및 비-알레르기성 비염, 만성 및 급성 비염, 만성 및 급성 위염 또는 장염, 궤양성 위염, 급성 및 만성 신장염, 급성 및 만성 간염, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐섬유증, 과민성 대장 증후군, 염증성 통증, 편두통, 두통, 허리 통증, 섬유 근육통, 근막 질환, 바이러스 감염(예컨대, C형 감염), 박테리아 감염, 곰팡이 감염, 화상, 외과적 또는 치과적 수술에 의한 상처, 프로스타글라딘 E 과다 증후군, 아테롬성 동맥 경화증, 통풍, 관절염, 류머티스성 관절염, 강직성 척추염, 호지킨병, 췌장염, 결막염, 홍채염, 공막염, 포도막염, 피부염(아토피성 피부염 포함), 습진, 다발성 경화증 등이 포함될 것이다.

[0021] 본 발명의 항염증용 조성물은 그 유효성분을 용도, 제형, 배합 목적 등에 따라 치료를 의도하는 염증성 질환의 개선 활성 등을 나타낼 수 있는 한 임의의 양(유효량)으로 포함할 수 있는데, 통상적인 유효량은 조성물 전체

중량을 기준으로 할 때 0.001 중량 % 내지 15 중량 % 범위 내에서 결정될 것이다. 여기서 "유효량"이란 그 적용 대상인 포유동물 바람직하게는 사람에게 의료 전문가 등의 제언에 의한 투여 기간 동안 본 발명의 조성물이 투여될 때, 염증성 질환의 개선 효과 등 의도한 의료적·약리학적 효과를 나타낼 수 있는, 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 양을 말한다. 이러한 유효량은 당업자의 통상의 능력 범위 내에서 실험적으로 결정될 수 있다.

[0022] 본 발명의 항염증 조성물은 유효성분 이외에, 항염증 효과의 상승·보강을 위하여 또는 항알러지 활성, 피부 보호 활성(자외선에 의한 피부 손상 억제, 피부 보습 등) 등 유사활성의 부가를 통한 복용이나 섭취의 편리성을 증진시키기 위하여, 당업계에서 이미 안전성이 검증되고 해당 활성을 갖는 것으로 공지된 임의의 화합물이나 천연 추출물을 추가로 포함할 수 있다.

[0023] 이러한 화합물 또는 추출물에는 각국 약전(한국에서는 "대한민국약전"), 각국 건강기능식품공전(한국에서는 식약처 고시인 "건강기능식품 기준 및 규격"임) 등의 공정서에 실려 있는 화합물 또는 추출물, 의약품의 제조·판매를 규율하는 각국의 법률(한국에서는 "약사법"임)에 따라 품목 허가를 받은 화합물 또는 추출물, 건강기능식품의 제조·판매를 규율하는 각국 법률(한국에서는 "건강기능식품에관한법률"임)에 따라 개별적으로 기능성을 인정받은 화합물 또는 추출물이 포함된다. 예컨대 한국 건강기능식품공전상의 '관절염 개선' 기능성을 가진 MSM(dimethylsulfonylmethane), '관절염 개선' 기능성과 '피부 보습' 기능성을 가진 N-아세틸글루코사민, '관절염 개선' 기능성을 가진 글루코사민 등과, 한국 "건강기능식품에관한법률"에 따라 '관절염 개선' 기능성으로 개별적으로 인정받은 CMO 함유 FAC(Fatty acid Complex), 가시오갈피 등의 복합추출물, 강황 추출물, 닭가슴 연골 분말, 로즈힙 분말, 보스웰리아 추출물, 비즈왁스알코올, 전칠삼 추출물 등의 복합물, 지방산 복합물, 차조기 등의 복합 추출물, 초록입홍합 추출 오일, 호프 추출물, 황금 추출물 등의 복합물 등과, 그리고 '과민 면역 반응 완화' 기능성으로 개별적으로 인정받은 *Enterococcus faecalis* 가열 처리 건조 분말, 구아바 잎 추출물 등의 복합물, 다래 추출물, 소엽 추출물, 피카오프레토 분말 등의 복합물, PLAG(1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-acetyl-rac-glycerol) 등이 이러한 화합물 또는 추출물에 해당할 것이다.

[0024] 이러한 화합물 또는 천연 추출물은 본 발명의 항염증 조성물에 그 유효성분과 함께 하나 이상 포함될 수 있다.

[0025] 본 발명의 항염증 조성물은 구체적인 양태에 있어서, 식품 조성물로서 파악할 수 있다.

[0026] 본 발명의 식품 조성물은 어떠한 형태로도 제조될 수 있으며, 예컨대 차, 주스, 탄산음료, 이온음료 등의 음료류, 우유, 요구르트 등의 가공 유류, 껌류, 떡, 한과, 빵, 과자, 면 등의 식품류, 정제, 캡슐, 환, 과립, 액상, 분말, 편상, 페이스트상, 시럽, 젤, 젤리, 바 등의 건강기능식품 제제류 등으로 제조될 수 있다.

[0027] 또 본 발명의 식품 조성물은 법률상·기능상의 구분에 있어서 제조·유통 시점의 시행 법규에 부합하는 한 임의의 제품 구분을 떨 수 있다. 예컨대 한국 "건강기능식품에관한법률"에 따른 건강기능식품이거나, 한국 "식품위생법"의 식품공전(식약처 고시, 식품의 기준 및 규격)상 각 식품유형에 따른 과자류, 두류, 다류, 음료류, 특수 용도식품 등일 수 있다.

[0028] 본 발명의 식품 조성물에는 그 유효성분 이외에 식품첨가물이 포함될 수 있다. 식품첨가물은 일반적으로 식품을 제조, 가공 또는 보존함에 있어 식품에 첨가되어 혼합되거나 침윤되는 물질로서 이해될 수 있는데, 식품과 함께 매일 그리고 장기간 섭취되므로 그 안전성이 보장되어야 한다. 식품의 제조·유통을 규율하는 각국 법률(한국에서는 "식품위생법"임)에 따른 식품첨가물공전에는 안전성이 보장된 식품첨가물이 성분 면에서 또는 기능 면에서 한정적으로 규정되어 있다. 한국 식품첨가물공전(식약처 고시 "식품첨가물 기준 및 규격")에서는 식품첨가물이 성분 면에서 화학적 합성품, 천연 첨가물 및 혼합 제제류로 구분되어 규정되어 있는데, 이러한 식품첨가물은 기능 면에 있어서는 감미제, 풍미제, 보존제, 유효제, 산미료, 점증제 등으로 구분된다.

[0029] 감미제는 식품에 적당한 단맛을 부여하기 위하여 사용되는 것으로, 천연의 것이거나 합성된 것 모두 본 발명의 조성물에 사용할 수 있다. 바람직하게는 천연 감미제를 사용하는 경우인데, 천연 감미제로서는 옥수수 시럽 고형물, 꿀, 수크로오스, 프룩토오스, 락토오스, 말토오스 등의 당 감미제를 들 수 있다.

[0030] 풍미제는 맛이나 향을 좋게 하기 위하여 사용될 수 있는데, 천연의 것과 합성된 것 모두 사용될 수 있다. 바람직하게는 천연의 것을 사용하는 경우이다. 천연의 것을 사용할 경우에 풍미 이외에 영양 강화의 목적도 병행할 수 있다. 천연 풍미제로서는 사과, 레몬, 감귤, 포도, 딸기, 복숭아 등에서 얻어진 것이거나 녹차잎, 둥굴레, 대잎, 계피, 국화 잎, 자스민 등에서 얻어진 것일 수 있다. 또 인삼(홍삼), 죽순, 알로에 베라, 은행 등에서 얻어진 것을 사용할 수 있다. 천연 풍미제는 액상의 농축액이나 고형상의 추출물일 수 있다. 경우에 따라서 합성 풍미제가 사용될 수 있는데, 합성 풍미제는 에스테르, 알콜, 알데하이드, 테르펜 등이 이용될 수 있다.

- [0031] 보존제로서는 소듐 소르브산칼슘, 소르브산나트륨, 소르브산칼륨, 벤조산칼슘, 벤조산나트륨, 벤조산칼륨, EDTA(에틸렌디아민테트라아세트산) 등이 사용될 수 있고, 또 유화제로서는 아카시아검, 카르복시메틸셀룰로스, 잔탄검, 펙틴 등을 들 수 있으며, 산미료로서는 연산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 인산, 글루콘산, 타르타르산, 아스코르브산, 아세트산, 인산 등이 사용될 수 있다. 산미료는 맛을 증진시키는 목적 이외에 미생물의 증식을 억제할 목적으로 식품 조성물이 적정 산도로 되도록 첨가될 수 있다.
- [0032] 점증제로서는 현탁화 구현제, 칩강제, 겔형성제, 팽화제 등이 사용될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 식품 조성물은 전술한 바의 식품첨가물 이외에, 기능성과 영양성을 보충, 보강할 목적으로 당업계에 공지되고 식품첨가물로서 안정성이 보장된 생리활성 물질이나 미네랄류를 포함할 수 있다.
- [0034] 그러한 생리활성 물질로서는 녹차 등에 포함된 카테킨류, 비타민 B1, 비타민 C, 비타민 E, 비타민 B12 등의 비타민류, 토코페롤, 디벤조일티아민 등을 들 수 있으며, 미네랄류로서는 구연산 칼슘 등의 칼슘 제제, 스테아린 산마그네슘 등의 마그네슘 제제, 구연산철 등의 철 제제, 염화 크롬, 요오드칼륨, 셀레늄, 게르마늄, 바나듐, 아연 등을 들 수 있다.
- [0035] 본 발명의 식품 조성물에는 전술한 바의 식품첨가물이 제품 유형에 따라 그 첨가 목적을 달성할 수 있는 적량으로 포함될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 식품 조성물에 포함될 수 있는 기타의 식품첨가물과 관련하여서는 식품공전이나 식품첨가물 공전을 참조할 수 있다.
- [0037] 본 발명의 조성물은 다른 구체적인 양태에 있어서는 약제학적 조성물로 파악될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 약제학적 조성물은 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하여 당업계에 공지된 통상의 방법으로 투여 경로에 따라 경구용 제형 또는 비경구용 제형으로 제조될 수 있다. 여기서 "약제학적으로 허용되는" 의미는 유효성분의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적용 가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다.
- [0039] 본 발명의 약제학적 조성물이 경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 현탁액, 웨이퍼 등의 제형으로 제조될 수 있다. 이때 약제학적으로 허용되는 적합한 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 텍스트로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨 등의 당류, 옥수수 전분, 감자 전분, 밀 전분 등의 전분류, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 마그네슘 스테아레이트, 광물유, 맥아, 젤라틴, 탈크, 폴리올, 식물성유 등을 들 수 있다. 제제화할 경우 필요에 따라 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 및/또는 부형제를 포함하여 제제화할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 약제학적 조성물이 비경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 주사제, 경피 투여제, 비강 흡입제 및 좌제의 형태로 제제화될 수 있다. 주사제로 제제화할 경우 적합한 담체로서는 멸균수, 에탄올, 글리세롤이나 프로필렌 글리콜 등의 폴리올 또는 이들의 혼합물을 들 수 있으며, 바람직하게는 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline)나 주사용 멸균수, 5% 텍스트로스 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 경피 투여제로 제제화할 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태로 제제화될 수 있다. 비강 흡입제의 경우 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로메탄, 이산화탄소 등의 적합한 추진제를 사용하여 에어로졸 스프레이 형태로 제제화될 수 있으며, 좌제로 제제화할 경우 그 기제로는 위텡솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 폴리에틸렌글리콜류, 카카오지, 라우린지, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르류, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트류, 소르비탄 지방산 에스테르류 등이 사용될 수 있다.
- [0041] 약제학적 조성물의 제제화와 관련하여서는 당업계에 공지되어 있으며, 구체적으로 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences(19th ed., 1995)] 등을 참조할 수 있다. 상기 문헌은 본 명세서의 일부로서 간주된다.
- [0042] 본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태, 체중, 성별, 연령, 환자의 중증도, 투여 경로에 따라 1일 0.001mg/kg ~ 10g/kg 범위, 바람직하게는 0.001mg/kg ~ 1g/kg 범위일 수 있다. 투여는 1일 1회 또는 수회로 나누어 이루어질 수 있다. 이러한 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 아니 된다.

- [0043] 본 발명의 항염증용 조성물은 다른 구체적인 양태에 있어서, 화장료 조성물로 파악할 수 있다. 본 발명의 항염증용 조성물이 화장료 조성물로 파악될 경우, 그 용도는 염증성 피부 자극의 완화로 이해될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 화장료 조성물은 그 유효성분 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들, 예컨대, 안정화제, 용해화제, 계면활성제, 비타민, 색소 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 및 담체를 포함할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0049] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록사이드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 화장료 조성물은 항염증 활성을 나타내는 그 유효성분을 포함하는 것을 제외하고는 당업계에 통상적으로 행하여지는 화장료 조성물의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.

발명의 효과

- [0052] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 쇼레아 록스부르그히이 추출물을 이용한 항염증용 조성물을 제공할 수 있다.
- [0053] 본 발명의 항염증용 조성물은 염증성 질환의 개선 등의 용도, 염증성 피부 자극의 완화 용도 등으로 식품, 화장품, 약품 등으로 제품화될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0054] 도 1은 쇼레아 록스부르그히이 추출물이 LPS로 자극된 마우스 대식세포주(RAW 264.7 cells)에서 NO 생성을 억제하는 활성을 보여주는 결과이다.
- 도 2는 쇼레아 록스부르그히이 추출물이 LPS로 자극된 마우스 대식세포주(RAW 264.7 cells)에서 세포독성을 보이는가를 확인한 결과이다.
- 도 3은 쇼레아 록스부르그히이 추출물이 LPS로 자극된 마우스 대식세포주(RAW 264.7 cells)에서 COX-2와 iNOS 그리고 염증성 사이토카인(TNF- α , IL-6, IL-1 β)의 생성을 억제하는 활성을 보여주는 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 참조하여 설명한다. 그러나 본 발명의 범위가 이러한 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0056] <실시예> 쇼레아 록스부르그히이 추출물의 제조

[0057] 건조된 쇼레아 록스부르그히이(*Shorea roxburghii*) 잎 100 g에 70% 에탄올 1 L를 가하여 상온에서 24 시간 1회 침지추출 후 여과지로 여과하였다. 추출 방법 확인 바랍니다. 얻어진 70% 에탄올 여액을 감압 농축 후 동결 건조하여 쇼레아 록스부르그히이 추출물을 얻었다.

[0058] <실험예> 쇼레아 록스부르그히이 추출물의 항염증 활성 실험

[0059] <실험예 1> NO 생성 억제 활성 평가

[0060] 마우스 대식세포인 RAW264.7 cell에서 상기 실시예 추출물의 세포 내 항염 활성을 평가하기 위해 96 well plate에 5×10^4 cells/well의 세포 수로 분주하고 37°C, 5% CO₂의 조건에서 24시간 동안 배양하였다. 96 well plate에 시료를 농도별로 1시간 동안 처리한 뒤, LPS (Lipopolysaccharide) 1µg/ml를 처리하고 24시간 동안 배양하여 항염 활성 평가에 활용하였다. NO assay를 통한 항염 활성 평가는 griess A, B reagent를 이용한 방법으로, 1% sulfanilamide, 0.1% N-(1-naphtyl)ethylenediamine dihydrochloride reagent를 1:1 비율로 혼합하여 사용하였다. 96 well plate에서 시료 처리 후 37°C, 5% CO₂의 조건에서 24시간 동안 배양된 배지의 상등액을 griess (A+B) reagent와 1:1 비율로 각각 50µl씩 혼합하여 10분간 상온에서 보관한 후 540nm에서 ELISA 측정을 통해 대조군 대비 NO 생성 억제능을 측정하였다.

[0061] 세포독성은 MTT법으로 측정하였다. 구체적으로 96 well plate 내에 남아있는 배지를 제거하고 5mg/ml MTT solution이 10% 포함된 serum free 배지를 well당 각각 100ul씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에 넣어 2시간 동안 반응시켰다. 배지를 제거하고 난 뒤, DMSO를 100µl/well로 넣어 Shaker에서 15분간 용해시켜 ELISA reader를 이용해 540nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 구하여 시료의 독성 유무를 확인하였다.

[0062] NO 생성 억제능에 대한 결과를 도 1에 나타내었고, 세포 생존율 측정 결과를 도 2에 나타내었다.

[0063] 실시예의 추출물은 농도 의존적으로 NO 생성 억제 활성을 나타내었고, 모든 처리 농도에 특별한 세포독성을 보이지 않았다.

[0064] <실험예 2> 염증성 사이토카인 등의 생성 억제 활성 평가(RT-PCR)

[0065] Raw 264.7 마우스 대식세포주를 6 well plate에 1.6×10^6 /well로 분주한 후 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양하였다. 시료를 농도별로 1시간 동안 처리한 뒤, LPS (Lipopolysaccharide) 1µg/ml를 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 세포를 PBS(Phosphate buffered saline)로 2번 세척 후 Trizol(Invitrogen)과 chloroform(Sigma)를 넣고 반응시켜 RNA를 분리하였다. 분리한 RNA를 이용하여 정량 후 역전사 연쇄증합반응 키트인 Superscript kit(Invitrogen)를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 cDNA를 합성하였다. 구체적으로 역전사 반응은 1의 total RNA를 random hexamers (50ng), dNTP (1mM)을 넣고 65에서 5분간 반응시키고 10X RT buffer, 25mM MgCl₂, 0.1M DTT, RNase OUT, Superscript 역전사 효소 (200U)로 25 10분, 50 50분, 85 5분 그리고 37 20분 동안 반응시켜 수행하였다. 증합효소 연쇄 반응(PCR)은 합성된 cDNA로부터 사이토카인과 COX-2, iNOS 유전자를 증폭시키기 위하여 Premix kit(Bioneer)를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 1 cDNA, 1 l의 5'과 3' primer를 섞고 증류수로 전체를 20 로 맞추는 다음, 95 30초, 55 40초, 72 1분을 설정하여 30 cycle 반응시켰다. 사용된 프라이머 서열은 아래의 [표 1]과 같다. 반응 후 아가로오스 겔 상에서 발현량을 비교하였다. 결과를 도 3에 나타내었다.

표 1

프라이머

[0066]

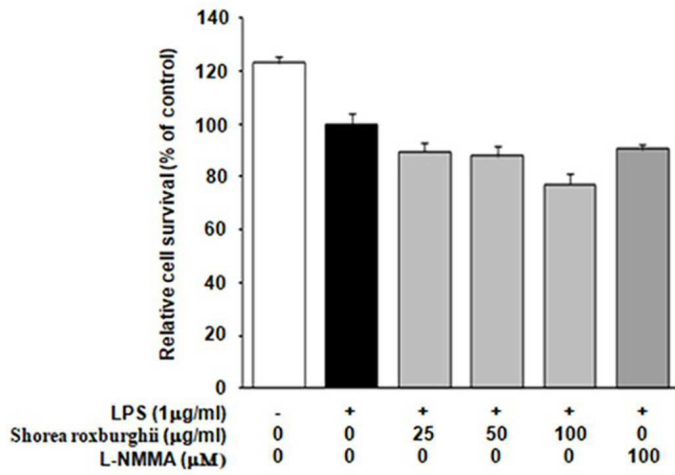
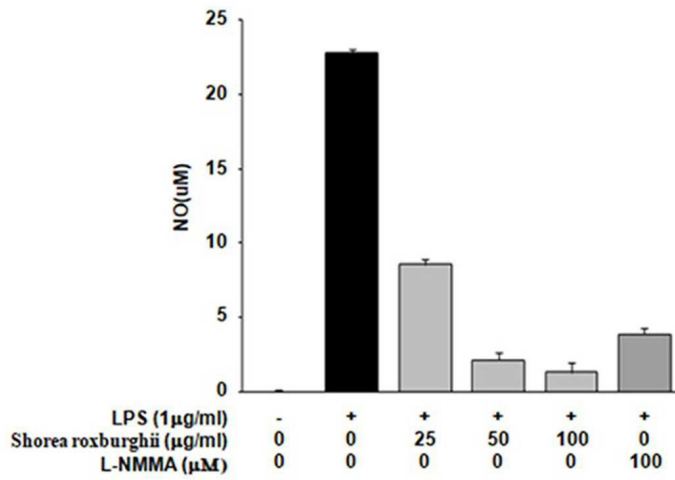
IL-6	F: 5' CACTTCACAAGTCGGAGGCTT 3'(서열번호 3)
	R: 5' GCAAGTGCATCATCGTTGTTC 3'(서열번호 4)
IL-1β	F: 5' CTTGAAGAAGAGCCCATCC 3'(서열번호 5)
	R: 5' TTGTGCTTGCTTGGTTCTC 3'(서열번호 6)
COX-2	F: 5' GTCAAAGACACTCAGGTAGA 3'(서열번호 7)
	R: 5' CTGTACTCCTGGTCTCAAT 3'(서열번호 8)

iNOS	F: 5' GAGTTCGAGACTTCTGTGA 3' (서열번호 9)
	R: 5' GGCATCTGGTAGTAGTG 3' (서열번호 10)
GAPDH	F: 5' CAGGTACCAGGAGAGTG 3' (서열번호 11)
	R: 5' GTAGACTCCACGACATCTC 3' (서열번호 12)

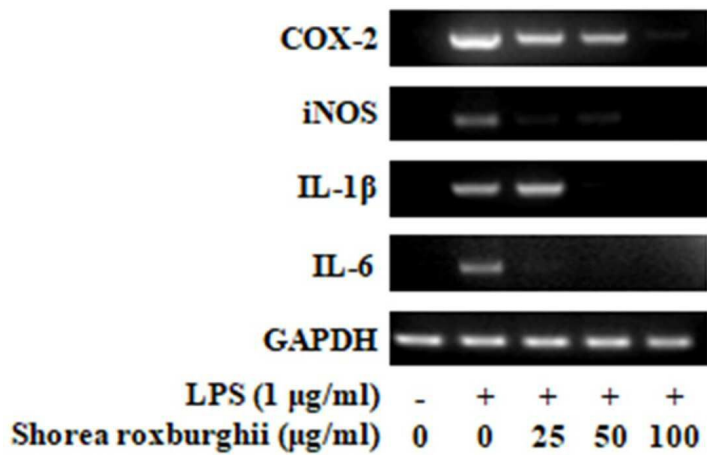
- [0067] 도 2를 참조하여 보면, 실시예의 추출물은 농도 의존적으로 COX-2와 iNOS 그리고 염증성 사이토카인(TNF- α , IL-6, IL-1 β)의 생성을 억제함으로 알 수 있다.
- [0068] <실험예 3> iNOS 및 COX-2의 생성 억제 활성 평가(웨스턴 블롯)
- [0069] 마우스 대식세포인 RAW264.7 cell을 6well plate에 1.6×10^6 cell/ml의 세포 수로 분주하고 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 동안 배양하였다. 실시예의 시료를 농도별로 1시간 동안 우선 처리하고 LPS (Lipopolysaccharide)를 1 μ g/ml의 농도로 처리하였다. 시료 처리 후, PBS로 세척 후 lysis buffer (RIPA buffer, protease inhibitor)에 용해시켰다. 4°C, 13000rpm에서 15분간 원심 분리하여 단백질을 추출하였다. 정량된 단백질을 SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel eletrophoresis)를 이용하여 전기영동 후 nitrocellulose membrane으로 이동시켰다. membrane은 0.1% Tween 20과 4% BSA를 포함하고 있는 Tris-buffered saline으로 blocking하여 1차 항체와 horseradish peroxidase와 복합된 2차 항체에 반응시킨 후, ECL western detection 시약으로 원하는 단백질의 발현을 확인하였다.
- [0070] 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3의 결과를 참조하여 보면 실시예의 시료는 농도 의존적으로 iNOS 및 COX-2의 생성을 억제함을 확인할 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

