



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0089527
(43) 공개일자 2020년07월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/882 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/25 (2006.01) A61K 8/9783 (2017.01)
A61P 25/28 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/882 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2019-0006372

(22) 출원일자 2019년01월17일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

건국대학교 글로벌산학협력단

충청북도 충주시 충원대로 268 (단월동, 건국대학교글로벌캠퍼스)

(72) 발명자

최동국

충청북도 충주시 호암대로 17,레이크뷰아파트 913호 (호암동)

조송희

경기도 광명시 도덕공원로 35, 206동 902호(철산동, 브라운스톤2차아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인이름리온

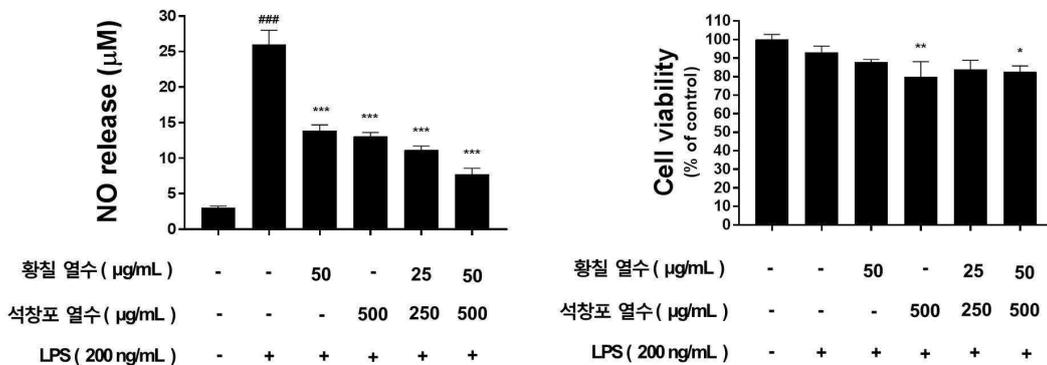
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 석창포 및 황칠 혼합 추출물을 포함하는 항염증용 조성물

(57) 요약

본 발명은 석창포 및 황칠 혼합 추출물을 포함하는 항염증용 조성물에 관한 것으로, 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 처리시 항염증 효과에 대한 상승효과를 보이며, 세포 독성은 감소한 것을 확인하였으므로, 염증성 질환의 치료 및 예방용 약학적 조성물 또는 건강기능성 식품뿐만 아니라 항염증용 화장품 조성물에 유용하게 이용할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 36/25 (2013.01)

A61K 8/9783 (2017.08)

A61P 25/28 (2018.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

박신영

충청남도 서산시 대산읍 대산3길 33

김인수

충청북도 충주시 지곡11길 15, A동 101호(지현동,
호암아트빌)

명세서

청구범위

청구항 1

석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드 및 이들의 혼합용매로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 용매에 의해 추출되는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 석창포 추출물은 석창포의 뿌리줄기에서 추출되며, 황칠 추출물은 황칠의 잎, 가지 또는 수피에서 추출되는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 10 : 1 내지 9 : 2 비율로 혼합되는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 NO, iNOS 및 COX-2를 포함하는 염증반응 매개인자 (inflammatory mediators) 생성을 억제하는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 염증성 질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 백내장, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 폐혈증, 위궤양, 위염, 크론병, 치질, 강직성 척추염, 루푸스, 섬유근통, 건선, 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 다발성 경화증, 당뇨병, 피부경화증, 통풍, 퇴행성 신경변성질환, 규폐증, 죽상동맥경화증 및 허혈 중 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 7

석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드 및 이들의 혼합용매로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 용매에 의해 추출되는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 석창포 추출물은 석창포의 뿌리줄기에서 추출되며, 황칠 추출물은 황칠의 잎, 가지 또는 수피에서 추출되는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 10 : 1 내지 9 : 2 비율로 혼합되는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 NO, iNOS 및 COX-2를 포함하는 염증반응 매개인자 (inflammatory mediators) 생성을 억제하는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 염증성 질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 백내장, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 폐혈증, 위궤양, 위염, 크론병, 치질, 강직성 척추염, 루푸스, 섬유근통, 건선, 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 다발성 경화증, 당뇨병, 피부경화증, 통풍, 퇴행성 신경변성질환, 규폐증, 죽상동맥경화증 및 허혈 중 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 13

석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염용 화장료 조성물.

청구항 14

석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지 기능 증진용 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 인지 기능은 학습 능력, 기억 능력 및 집중력으로 이루어진 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 인지 기능 증진용 조성물.

청구항 16

석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지 장애 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 인지 장애 질환은 경도인지장애, 주의력 결핍장애(ADHD), 우울증, 알츠하이머병 및 노인성 치매(senile dementia)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 질환인 것을 특징으로 하는 인지 장애 질환

예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 18

석창포 추출물 및 황칠 추출물을 포함하는 인지 장애 질환 또는 기억력 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 석창포 및 황칠 혼합 추출물을 포함하는 항염증용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 처리시 항염증 효과에 대한 상승효과를 보이며, 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 건강기능성 식품뿐만 아니라 항염증용 화장품 조성물에 유용하게 이용할 수 있는 석창포 및 황칠 혼합 추출물을 포함하는 항염증용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 염증은 손상에 대한 살아있는 조직의 반응으로 염증 반응은 면역계를 동원 하는 생체의 방어와 치유에 핵심적인 역할을 하고 있을 뿐 아니라 많은 질병의 병리작용에 관련되어 있는 대단히 중요한 과정이다. 염증을 일으키는 원인은 무수히 많으나 세균, 진균, 바이러스와 같은 생물성 원인도 그 중 하나이다. 또한, 염증 반응 시, 면역 세포인 매크로파지(macrophage)는 인터루킨(interleukin-1 β , IL-1 β)이나 종양괴사인자(tumor necrosis factor- α ; TNF- α)와 같은 사이토카인(cytokine)류 또는 일산화질소(nitric oxide, NO)나 프로스타글란딘(prostaglandin, PG)등의 다른 염증 매개체(inflammatory mediator)를 생산함으로써 반응 진행과정에서 중요한 역할을 수행한다. 매크로파지(Macrophage)에 의한 이런 매개체의 생산은 많은 염증성 조직에서 발견된다.

[0004] 예를 들어 생체가 세균 내독소(bacterial endotoxin)인 리포폴리사카라이드(lipopolysaccharide, LPS)와 같은 외부 면역 자극 물질에 노출되면 생체신호전달 경로를 거쳐 면역세포들이 활성화되며 동시에 이들 세포에 의한 염증 유발 인자들의 발현이 증가하게 되는데, 이 과정의 첫 단계로 해당 인자의 mRNA 발현이 증가하게 된다. 또한, 증가된 IL-1 β , TNF- α , iNOS 및 COX-2 등과 같은 사이토카인이나 생체 효소들은 염증(inflammation), 통증조절 (pain control), 세포사멸(apoptosis), 종양생성(tumorigenesis), 자가면역반응(autoimmune response) 등의 약리학적 또는 생리학적 생체반응에서 중요한 역할을 수행한다.

[0005] 염증 매개 인자의 과생산은 류마티스성 관절염, 아테롬성 동맥경화증, 만성 간염, 폐섬유화증 등과 같은 많은 염증성 질환에서 쉽게 발견되며 이들 질환의 병리현상에 대한 주요인이 된다. 따라서, 이러한 염증 유발 매개 인자에 대한 유전자 발현의 저해방법은 다양한 염증성 질환을 예방하거나 억제할 수 있는 치료원리 및 방법이 될 수 있다.

[0006] 염증성 질환은 감염, 외상, 면역학적 반응을 포함한 인체 내의 반응으로, 발열, 홍조, 부종, 통증 등의 급성 염증 증후가 있으며, 염증 과정의 후반에는 염증부위로의 백혈구의 이주 및 사이토카인(cytokine), 변성 효소(degradative enzyme), 일과성 활성산소(transient reactive oxygen species), 민감림프구(sensitized lymphocyte)의 생성 등 세포 내의 변화가 일어난다. 만성적인 염증질환에서는 백혈구의 침윤에 의해 세포 활성화 및 세포사멸이 일어난다.

[0008] 한편, 황칠나무(*Dendropanax morbiifera*)는 두릅나무과에 속하는 식물이다. 세계에서 오직 한국의 해남, 완도와 같은 남부 해안 지역과 제주도에서만 자생하는 상록 활엽교목으로 수피에 상처를 주면 황색의 수지액이 나오는데 이것을 황칠(黃漆)이라고 한다. 본초 강목에서는 황칠나무가 번열을 제거하고, 안질 및 화상치료에 효과가 있다고 알려져 있다. 종래의 황칠나무에 관한 관련 기술로는 한국 특허공개 제2000-0004499호에 항암활성을 가지는 황칠나무 추출물이 기재되어 있고, 간세포 보호효과를 갖는 황칠 추출물, 황칠 분획물 및 이들을 함유한 약학 조성물이 기재되어 있으나, 고농도의 황칠 추출물은 세포 독성을 보이는 것으로 확인되었다.

[0009] 석창포(*Acorus gramineus*)는 한국, 일본, 중국 및 다른 아시안 국가에서, 소화 문제, 우울증, 뇌전증 및 중추신경계 질환과 같은 다양한 질병을 치료하는데 사용되는 전통적인 약물로 오랫동안 알려져 왔다 (Koo, BS, et

al., *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 26:978-982, 2000). 약물학적으로, 석창포는 항진균성, 항균성, 살충력 및 신경보호력을 가지고 있으며, 석창포를 배양된 쥐의 뉴런에 처리하였을 때, 글루타메이트에 의한 세포독성으로부터 보호한다는 보고가 있었다. 또한, 뉴런의 죽음에 의한 약화된 히열과 억제된 메탐프타민에 의해 유발된 과다활동으로부터 보호하며, 알츠하이머 질환의 예방 및 치료에 사용된다고 보고되었다 (Lee, HS, *et al.*, *Bioresource Technology*, 98:1324-1328, 2007; Cho, J, *et al.*, *Journal of Ethnopharmacology*, 73:31-37, 2000; Kwon, YS, *et al.*, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27:906-909, 2004).

[0010] 이에, 본 발명에서는 황칠 추출물의 독성을 감소시키고 항염증 효과를 증대시키기 위해 예의 노력한 결과, 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 사용시에 세포 독성은 감소한 반면, 항염증 효과에 대해 상승효과를 보이는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 데 있다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능성 식품 조성물을 제공하는 데 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염증 화장료 조성물을 제공하는 데 있다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지 기능 증진용 조성물, 인지 장애 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 인지 장애 질환 또는 기억력 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0017] 상술한 문제를 해결하기 위해,

[0018] 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명의 바람직한 일실시예에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드 및 이들의 혼합용매로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 용매에 의해 추출될 수 있다.

[0020] 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 물에 의해 추출될 수 있다.

[0021] 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 있어서, 상기 석창포 추출물은 석창포의 뿌리줄기에서 추출되며, 황칠 추출물은 황칠의 잎, 가지 또는 수피에서 추출될 수 있다.

[0022] 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 9 : 1 내지 8 : 2 비율로 혼합될 수 있다.

[0023] 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 NO, iNOS 및 COX-2를 포함하는 염증반응 매개인자(inflammatory mediators) 생성을 억제할 수 있다.

[0024] 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 있어서, 상기 염증성 질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 백내장, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 폐혈증, 위궤양, 위염, 크론병, 치질, 강직성 척추염, 루푸스, 섬유근통, 건선, 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 다발성 경화증, 당뇨병, 피부경화증, 통풍, 퇴행성 신경변성질환, 규폐증, 죽상동맥경화증 및 허혈 중 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강

기능식품 조성물을 제공한다.

- [0026] 또한, 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0027] 또한, 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지 기능 증진용 조성물을 제공한다.
- [0028] 또한, 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지 장애 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 인지 장애 질환 또는 기억력 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0030] 본 발명의 석창포 및 황칠 혼합 추출물을 포함하는 항염증용 조성물은 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 사용시에 항염증 효과에 대해 상승효과를 보이며, 세포 독성은 감소한 것을 확인하였으므로, 염증성 질환의 치료 및 예방용 약학적 조성물 또는 건강기능성 식품뿐만 아니라 항염증용 화장료 조성물에 유용하게 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0032] 도 1은 석창포 추출물 및 황칠 추출물 단독 처리시 항염증 효과 및 세포 독성을 확인한 데이터이다.
- 도 2는 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 처리시 항염증 효과 및 세포 독성을 확인한 데이터이다.
- 도 3은 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 처리시 iNOS 및 COX-2를 포함하는 염증반응 매개인자(inflammatory mediators)의 단백질 발현 정도를 확인한 데이터이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0033] 상술한 바와 같이, 고농도의 황칠 추출물을 세포 독성을 보이는 문제점이 있다. 이에, 본 발명에서는 황칠 추출물의 독성을 감소시키고 항염증 효과를 증대시키기 위해 세포 독성 없이 항염증 효과가 우수한 물질을 선별하고자 예의 노력한 결과, 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 사용시에 세포 독성은 감소한 반면, 항염증 효과에 대해 상승효과를 보이는 것을 확인하였다.
- [0035] 따라서, 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0036] 본 발명에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드 및 이들의 혼합용매로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 용매에 의해 추출될 수 있다. 또한 추출방법으로는 상온추출법, 열수추출법, 냉침추출법, 환류추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법이 사용될 수 있다. 본 발명의 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 바람직하게는 열수추출법을 이용하여 각각 추출하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0037] 본 발명에 있어서, 상기 석창포 추출물은 석창포의 뿌리줄기에서 추출되며, 황칠 추출물은 황칠의 잎, 가지 또는 수피에서 추출되는 것을 특징으로 한다.
- [0038] 본 발명에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 9 : 1 내지 8 : 2 비율로 혼합될 수 있다.
- [0039] 본 발명에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 NO, iNOS 및 COX-2를 포함하는 염증반응 매개인자(inflammatory mediators) 생성을 억제하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0040] 또한, 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 를 포함하는 염증성 사이토카인(cytokines) 생성을 억제하거나 MAPK(mitogen-activated protein kinases) 및 NF- κ B(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)의 활성을 억제하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 구체적인 일구현예에서, 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물을 추출한 다음 각각의 추출물에 대한 세포 독성 및 항염증 활성을 확인하였다. 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 황칠 열수 추출물은 농도 의존적으로 NO 발생을 억제하나, 고농도에서는 세포 독성을 보이는 것을 확인하였다. 반면, 석창포 열수 추출물은 세포독성이 없는 것을 확인하였으며, 황칠 추출물 보다 항염증 활성은 낮으나 농도 의존적으로 NO 발생을 억제

하는 것을 확인하였다.

- [0042] 본 발명의 구체적인 다른 일구현예에서, 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물을 혼합하였을 때, 상승효과 (synergy effect)를 알아보기 위해 IC₅₀ 농도 값을 기준으로 두 추출물을 배합하였다. 황칠 열수 추출물의 IC₅₀ 값은 50 µg/ml, 석창포 추출물의 IC₅₀ 값은 500 µg/ml로 나타났다.
- [0043] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물을 혼합하였을 때, 단독 처리군보다 NO 발생이 효과적으로 억제되는 것을 확인하였을 뿐만아니라, 세포 독성이 감소한 것을 확인하였다.
- [0044] 또한, 본 발명의 구체적인 또 다른 일구현예에서, 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합하였을 때, iNOS 및 COX-2를 포함하는 염증반응 매개인자(inflammatory mediators)의 단백질 발현 정도를 확인하였다. 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 석창포 및 황칠 혼합 추출물에 의해 염증반응 매개인자(inflammatory mediators)인 iNOS 및 COX-2 단백질 발현이 감소하는 것을 확인하였다. 또한, 석창포 추출물 및 황칠 추출물 단독 처리군 보다 석창포 및 황칠 추출물을 혼합하였을 때, iNOS 및 COX-2 단백질 발현이 효과적으로 억제되는 것을 확인하였다.
- [0045] 즉, 본 발명에서는 석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 사용시에 항염증 효과에 대해 상승효과를 보이며, 세포 독성은 감소한 것을 확인하였으므로, 염증성 질환의 치료 및 예방에 활용될 수 있음을 확인하였다.
- [0046] 본 발명에 있어서, 상기 염증성 질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 백내장, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 폐혈증, 위궤양, 위염, 크론병, 치질, 강직성 척추염, 루푸스, 섬유근통, 건선, 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 견관절주위염, 건염, 건초염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 다발성 경화증, 당뇨병, 피부경화증, 통풍, 퇴행성 신경변성질환, 규폐증, 죽상동맥경화증 및 허혈 중 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 또한, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 젤제 또는 에어로졸제 등의 피부외용제의 형태로 사용될 수 있다.
- [0048] 각각의 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경구제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 제형을 가질 수 있다. 예컨대, 해당 부위에 국부적으로 사용되는 피부외용제인 경우에는 통상적인 첨가제, 예를 들어 보존제, 의약 침투를 보조하는 용매, 연고 및 크림의 경우 연화제 등을 포함할 수 있으며, 에탄올 또는 올레일 알코올과 같은 통상적 담체를 함유할 수 있다.
- [0049] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리ケート, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유 등이 있다. 상기 약학 조성물을 제제화나 제형화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [0050] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로오스(sucrose), 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 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, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 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.
- [0051] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 본 발명의 약학 조성물을 제공하는 것을 의미한다. 본 발명은 약학 조성물은 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양, 즉 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양인 치료상 유효량으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 대한 치료상

유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여시간, 투여 경로 및 조성물의분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자 등에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 개체에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 예를 들어, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 구강, 심장내, 골수내, 경막내, 경피, 장관, 피하, 설하 또는 국소 투여할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 약학 조성물은 1~10,000mg/kg/일의 양으로 투여할 수 있으며, 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수 회에 나누어 투여할 수도 있다.

[0053] 또한, 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 건강 기능식품 조성물에 관한 것이다.

[0054] 본 발명의 석창포 추출물 및 황칠 추출물은 건강기능식품, 식품 첨가제 또는 식이보조제로 사용될 수 있다. 본 발명의 추출물이 식품 첨가제로 사용할 경우, 추출물을 그대로 첨가하거나, 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 혼합하여 사용되는 등 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0055] 또한 상기 석창포 추출물 및 황칠 추출물의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 변경될 수 있다. 구체적인 예로, 식품 또는 음료의 제조 시에는 본 발명의 추출물은 원료에 대하여 15중량% 이하, 바람직하게는 10중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하여 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 양으로 첨가될 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0056] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없으나, 본 발명의 추출물을 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, 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0057] 본 발명의 식품 조성물이 음료로 제조될 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등의 추가 성분을 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물로는 포도당, 과당 등의 모노사카라이드; 말토오스, 수크로오스 등의 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린 등의 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐 등의 합성 감미제 등이 사용될 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01~10중량%, 바람직하게는 0.01~0.1중량%로 포함된다.

[0058] 본 발명의 식품 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있으며, 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기의 첨가제 비율은 크게 제한되는 않으나, 본 발명의 식품 조성물 총 중량에 대하여 0.01~0.1중량% 범위내로 포함되는 것이 바람직하다.

[0060] 또한, 본 발명은 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 향염용 화장료 조성물에 관한 것이다.

[0061] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 유효성분 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 향료 등과 같은 통상적인 보조제 및 담체가 더 포함될 수 있다. 예를 들어, 상기 화장료 조성물에는 글리세린, 부틸렌 글라이콜, 폴리옥시에틸렌 경화피마자유, 토크페릴 아세테이트, 시트릭산, 판테놀, 스쿠알란, 소듐 시트레이트, 알란토인 등의 보조성분이 추가로 더 포함될 수 있다.

[0062] 본 발명의 화장료 조성물은 기본적으로 피부에 도포되는 것이므로, 당업계의 화장료 조성물을 참조하여 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있다. 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 마스크팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0064] 나아가, 본 발명의 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지 기능 증진용 조성물에 관한 것이다. 상기 인지 기능은 학습 능력, 기억 능력 및 집중력으로 이루어진 어느 하나 이상인 것을 특징으로 한다.

[0065] 또한, 석창포 추출물 및 황칠 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지 장애 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 인지 장애 질환 또는 기억력 개선용 건강기능식품조성물에 관한 것이다. 상기 인지 장애 질환은 경도인지장애, 주의력 결핍장애(ADHD), 우울증, 알츠하이머병 및 노인성 치매(senile dementia)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 질환인 것을 특징으로 한다.

[0067] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다.

[0068] 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

실시예 1

[0070] **석창포 추출물 및 황칠 추출물 제조**

[0071] 1-1 : 석창포 추출물 제조

[0072] 석창포(*Acorus gramineus*, AG)의 뿌리줄기(rhizome) 부분은 제주 산야초 Co(Jeju, Korea)에서 구입한 것을 사용하였다. 건조된 석창포 뿌리줄기 150 g에 증류수를 넣고 100℃에서 4시간동안 끓여서 추출물을 추출한 다음, 상기 추출물을 동결건조시킨 다음, 4℃냉장고에 보관하였다(수율 152g) 상기 동결건조된 샘플은 사용 전에 PBS에 재현탁한 다음, 0.22 μM 필터로 필터링하였다.

[0074] 1-2 : 황칠 추출물 제조

[0075] 황칠(*Dendropanax morbiiferus*)의 잎을 3 ~ 5일간 50℃ ~ 60℃의 온도를 유지하여 건조시켜 준비하였다. 건조된 황칠 잎 1kg 당 5ℓ의 물을 첨가한 다음, 90℃에서 8 시간동안 끓여서 추출물을 추출하였다. 열수 추출과정은 2회 수행하였으며, 추출한 황칠 잎 열수 추출물을 60℃ ~ 70℃에서 진공 농축 후 동결건조 하여 보관하였다.

실시예 2

[0077] **석창포 추출물 및 황칠 추출물의 항염증 효능 확인**

[0078] 2-1 : 세포 독성 확인

[0079] 본 발명에서는 상기 실시예 1에서 수득한 석창포 열수 추출물 및 황칠 열수 추출물 각각에 대한 세포 독성 정도를 측정하였다. BV-2 세포 생존율은 공지된 방법(Kim, J J, et al., *Journal of Ethnopharmacology*, 140:213-221, 2012)을 사용하여 측정하였다.

[0080] 먼저, 무린 미세아교세포(microglia) 세포주(Murine microglia cell line) BV-2를 실험에 사용하였으며, BV-2 세포는 열로 비활성화시킨 10% FBS와 항생제(페니실린 100 U/ml, 스트렙토마이신 100 μg/ml)가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 배양하여 준비하였다 (37.0℃, 5% CO₂ 및 95% 공기).

[0081] 그 다음, BV-2 세포를 96 웰 플레이트에 1×10⁴ 세포/웰로 도말(plating)한 다음, 농도를 달리한 시료를 처리하였다. 1시간 후에 신경염증 유발 인자인 LPS(200 ng/ml)로 처리한 다음, 24시간 동안 BV-2 세포를 자극하였으며, 처리 후에는 배지를 버리고, MTT(500 μg/ml)을 포함한 100 μl DMEM 배지를 각 웰에 첨가하여 37℃에서 4시간 배양하였다. 배양 후, 배지는 버리고 DMSO를 각 웰에 첨가하여 포마잔(formazan)을 용해하였다. 광학농도(OD)는 540 nm에서 측정하여 대조구와 비교하였다.

표 1

[0082] 황칠 및 석창포 농도별 세포 독성

황칠 열수 추출물			석창포 열수 추출물		
첨가량($\mu\text{g}/\text{mL}$)	LPS(200ng/mL)	세포 생존율(%)	첨가량($\mu\text{g}/\text{mL}$)	LPS(200ng/mL)	세포 생존율(%)
-	-	100%	-	-	100%
-	+	84.22%	-	+	97.21%
62.5	+	94.65%	125	+	102.12%
125	+	89.12%	250	+	97.79%
250	+	85.31%	500	+	95.67%
500	+	72.01%	1000	+	95.53%

[0083] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 고농도의 황칠 열수 추출물에서는 세포 독성을 보이는 것을 확인한 반면, 석창포 추출물은 세포 독성이 거의 없는 것을 확인하였다.

[0085] 2-2 : NO 생성 측정

[0086] 본 발명에서는 상기 실시예 1에서 수득한 석창포 열수 추출물 및 황칠 열수 추출물 각각에 대한 항염증 효능을 확인하기 위해, 아질산염(NO) 방출 저해 작용효능을 측정하였으며, 아질산염 농도에 측정은 공지된 방법(Kim, JJ, et al., *Journal of Ethnopharmacology*, 140:213-221, 2012)을 사용하여 측정하였다.

[0087] 구체적으로, BV-2 세포를 96 웰 플레이트에 1×10^4 세포/웰로 도말(plating)한 다음, 항염증 효능을 분석하기 위하여 석창포 열수 추출물 및 황칠 열수 추출물을 농도별로 처리하였다. 1시간 후에 신경염증 유발 인자인 LPS(200ng/mL)로 처리한 다음, 24시간 동안 BV-2 세포를 자극하였으며, 이 때 생산되는 아질산염(NO)가 농도 의존적으로 저해효능을 보이는지 분석하였다.

[0088] 아질산염(NO)의 측정은 그리스(Griess) 시약을 이용한 NO 어세이 키트(NO assay kit; Abcam)를 사용하였으며, 측정 방법은 키트의 사용설명서에 따라 진행하였다. 세포배양액 100 μL 및 그리스 시약을 혼합한 후 10분간 반응시키고 550 nm의 흡광도에서 관찰하였으며, 농도는 표준곡선(standard curve)을 이용하여 최종 확인하였다.

표 2

[0089] 황칠 및 석창포 농도별 NO 발생 억제 효능

황칠 열수 추출물			석창포 열수 추출물		
첨가량($\mu\text{g}/\text{mL}$)	LPS(200ng/mL)	NO 발생(μM)	첨가량($\mu\text{g}/\text{mL}$)	LPS(200ng/mL)	NO 발생(μM)
-	-	2.10	-	-	2.57
-	+	24.01	-	+	20.61
62.5	+	11.14	125	+	18.43
125	+	7.44	250	+	14.62
250	+	5.42	500	+	10.77
500	+	4.22	1000	+	7.79

[0090] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물 모두 농도 의존적으로 NO 발생을 억제시키는 것을 확인하였다.

실시예 3

[0092] 석창포 추출물 및 황칠 추출물의 혼합 사용으로 인한 상승효과 확인

[0093] 3-1 : 세포 독성 확인

[0094] 본 발명에서는 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물을 혼합하였을 때, 세포 독성 정도를 상기 실시예 2-1과 동일한 방법으로 수행하였다.

[0095] 석창포 추출물 및 황칠 추출물의 NO 발생 억제 효능에 대한 IC₅₀ 농도 값을 기준으로 두 추출물을 배합하였다.

황칠 열수 추출물의 IC₅₀ 값은 50 µg/ml, 석창포 추출물의 IC₅₀ 값은 500 µg/ml으로 나타났으며, 하기 표 3과 같은 농도로 처리하였다.

표 3

석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 투여에 따른 세포 독성

황칠 추출물	석창포 추출물	LPS(200ng/ml)	세포 생존율(%)
-	-	-	100%
-	-	+	92.90
50	-	+	87.77
-	500	+	79.97
25	250	+	83.83
50	500	+	82.43

[0097]

[0098]

그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물을 혼합하였을 때, 단독 처리군보다 세포 독성이 감소한 것을 확인하였다.

[0100]

3-2 : NO 생성 측정

[0101]

본 발명에서는 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물을 혼합하였을 때, 상승효과를 확인하기 위해 NO 발생 억제 정도를 상기 실시예 2-2와 동일한 방법으로 수행하였다.

표 4

석창포 추출물 및 황칠 추출물 혼합 투여에 따른 항염 효능

황칠 추출물	석창포 추출물	LPS(200ng/ml)	NO 발생 (µM)
-	-	-	3
-	-	+	25.95
50	-	+	13.88
-	500	+	13.05
25	250	+	11.14
50	500	+	7.73

[0104]

그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 황칠 열수 추출물 및 석창포 열수 추출물을 혼합하였을 때, 단독 처리군보다 NO 발생이 효과적으로 억제되는 것을 확인하였다.

실시예 4

[0106]

석창포 및 황칠 혼합 추출물에 따른 iNOS 및 COX-2 단백질 발현 변화 확인

[0107]

본 발명에서는 LPS로 자극된 BV-2 세포에 석창포 및 황칠 혼합 추출물을 처리하였을 때 염증반응 매개인자 (inflammatory mediators)인 iNOS 및 COX-2 단백질 발현이 억제되는지 확인하였다.

[0108]

먼저, BV-2 세포를 각 웰당 5×10^5 세포/웰이 되도록 6-웰 플레이트에 분주한 다음, 석창포 열수 추출물 및 황칠 열수 추출물을 농도별로 처리한 후, 1시간 후에 신경염증 유발 인자인 LPS(200 ng/ml)로 처리하여 배양하였다.

[0109]

24시간 후, 세포를 차가운 PBS(ice cold PBS)로 2회 세척한 다음, RIPA 버퍼(PBS, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, and 0.1% SDS, containing fresh protease inhibitor cocktail) 50 ml 또는 100 ml를 첨가하여 전체 세포 용해물을 수득하였다. 바이오-라드 DC 단백질 어세이(Bio-Rad DC Protein Assay)는 단백질 농도를 결

정하는데 사용하였다.

[0110] 전체 세포 용해물 40 μ g을 10% SDS-PAGE 겔로 전기영동 한 다음, 분리된 단백질을 PVDF막(Millipore; 미국)으로 트랜스퍼 시켰다. 비특이적 결합을 차단하기 위해 PVDF막을 5% 스킴밀크가 포함된 PBS로 1시간 동안 반응시켰다. PVDF막은 항-iNOS 항체 (1:1000), 항-COX-2 항체 (1:1000), 항- β -actin 항체 (1:2000)를 처리하여 4 $^{\circ}$ C에서 하룻밤 동안 반응시킨 다음, 2차 항체(horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody; 1:1000-2000)를 처리하여 1시간 동안 반응시켰다.

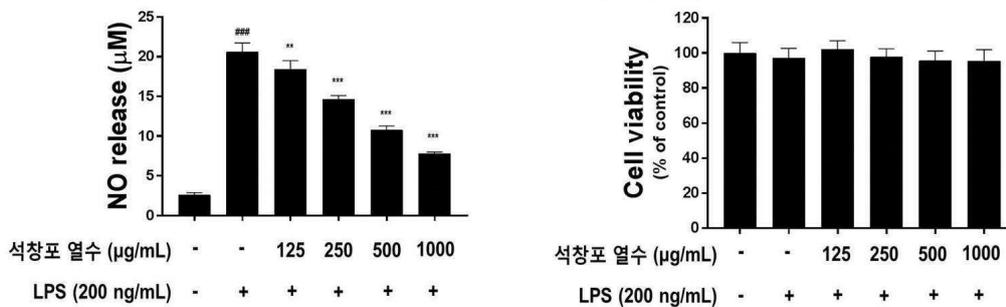
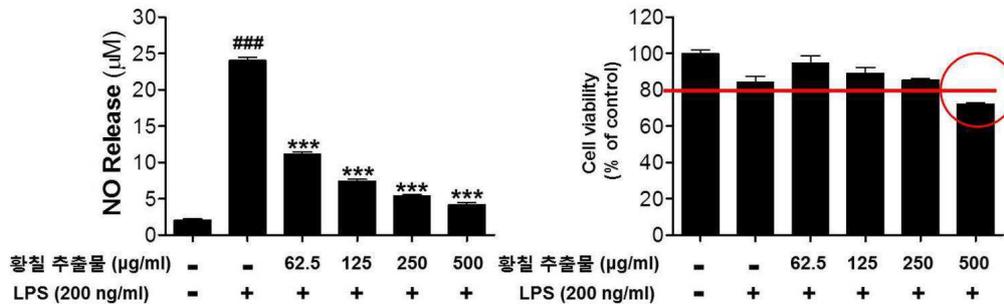
[0111] 그 다음, ECL 검출 키트(detection kit)와 발광 영상 분석기(Luminescent Image Analyzer; LAS-3000, Fujifilm, 일본)를 사용하여 항체 특이적 밴드를 관찰하였다.

[0112] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 석창포 및 황칠 혼합 추출물에 의해 염증반응 매개인자(inflammatory mediators)인 iNOS 및 COX-2 단백질 발현이 감소하는 것을 확인하였다.

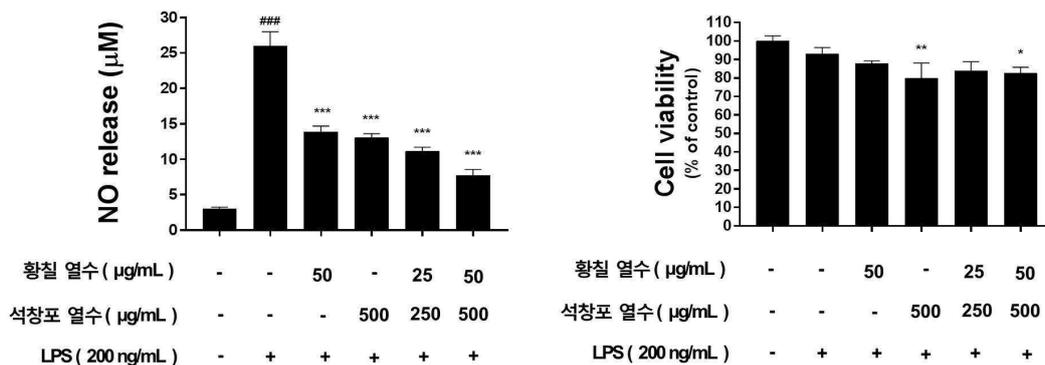
[0113] 또한, 석창포 추출물 및 황칠 추출물 단독 처리군 보다 석창포 및 황칠 추출물을 혼합하였을 때, iNOS 및 COX-2 단백질 발현이 효과적으로 억제되는 것을 확인하였다.

도면

도면1



도면2



도면3

