(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년10월04일
(11) 등록번호 10-0761248
(24) 등록일자 2007년09월18일

(51) Int. Cl.
A61K 36/899(2006.01) *A61K 36/539*(2006.01)
A61P 17/00(2006.01) *A61P 29/00*(2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-0099182
(22) 출원일자 2006년10월12일
심사청구일자 2006년10월12일
(56) 선행기술조사문헌
KR 10-2004-0039663 A
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
주식회사 유니젠
서울 송파구 방이1동 182-2
(72) 발명자
우성식
서울 서초구 방배4동 843-15 상지리츠빌 3차 5층 501호
차지민
서울 서초구 방배동 771-1 삼호아파트 3동 411호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

전체 청구항 수 : 총 8 항 심사관 : 여호섭

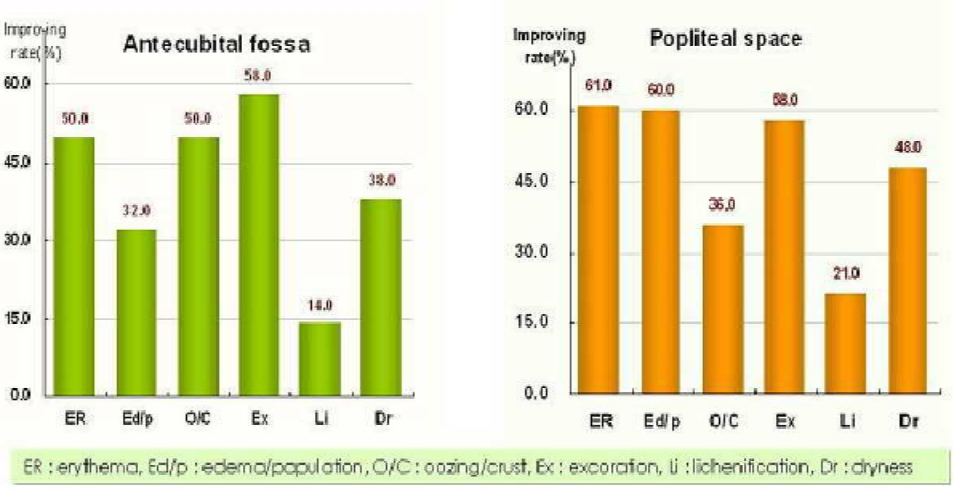
(54) 대나무 및 황금 추출물을 유효성분으로 함유하는 아토피성피부염 치료를 위한 조성물

(57) 요 약

본 발명은 식물 추출물을 유효성분으로 하는 아토피성 피부염 치료를 위한조성물에 관한 것으로, 대나무 및 황금 추출물을 일정 비율로 혼합한 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 의한 조성물은 식물로부터 분리한 천연소재로서, 항히스타민과 류코트리엔의 방출을 저해하여 과잉 면역 반응을 조절하는 효과를 가짐으로써 이로 인해 야기되는 각종 알러지 질환, 염증 질환, 피부질환 그리고 아토피 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로서, 임상실험을 통하여 안정성과 아토피성 피부염에 대한 효능을 확인함으로써 아토피성 피부염 치료를 위한 조성물로서 유용하게 이용될 수 있을 것으로 평가되었다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김동선

대전 대덕구 와동 현대아파트 104동 1002호

도선길

충북 청주시 상당구 율량동 724 한울2차아파트 201동 1106호

이영철

대전 중구 오류동 삼성아파트 14동 1103호

손은정

충남 천안시 목천읍 신계리 이수 프라임아파트 104동 312호

(56) 선행기술조사문헌

JP 07-277942 A

JP 61-161219 A

특허청구의 범위

청구항 1

대나무 추출물 및 황금 추출물의 혼합 조성물을 유효성분으로 함유하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 혼합 조성물은 (대나무 추출물):(황금 추출물)의 중량 혼합비가 1~10 : 1~10인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 중량 혼합비가 1~5 : 1~5인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 중량 혼합비가 1~3 : 1~3인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대나무 추출물은 50~90% 에탄올 추출물의 물 난용성 분획물인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대나무 추출물은 열수추출물의 에탄올 용해성 분획물인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 황금 추출물은 물, 메탄올, 에탄올 또는 이들의 혼합물로 추출하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 황금 추출물은 물, 메탄올, 에탄올 또는 이들의 혼합물로 추출하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<4> 본 발명은 식물 추출물을 유효성분으로 하는 아토피성 피부염 치료를 위한 조성물에 관한 것으로, 대나무(Bamboo) 및 황금(Scutellaria) 추출물의 혼합 조성물로 이루어진다.

<5> 아토피성 피부염(atopic dermatitis)은 유전적, 환경적, 면역학적인 원인으로 피부 가장 바깥에 있는 보호벽인 각질층에 이상이 생긴 것으로 건조한 기후에서 더욱 심해지는 알레르기 질환이다. 아토피성 피부염은 상당히 많은 사람들이 앓고 있는데, 전 인구의 0.5~1%, 어린이의 경우 5~10%가 아토피성 피부염으로 고통을 받고 있으며, 환자의 50%는 두 돌 이내에 치유되나 25%는 청소년기까지 가며, 나머지 25%는 성인이 되어서도 아토피 피부염이 없어지지 않고 계속된다.

<6> 아토피성 피부염의 주요증상은 심한 가려움증, 피부건조, 발진, 진물, 부스럼딱지, 비늘 같은 껍질이 있는 피부(인비늘) 등이다.

<7> 이러한 아토피성 피부염의 원인은 잘 알려져 있지 않으나 주로 유전적인 요소가 많고 면역 반응과 관련되어 있는 것으로 밝혀져 있으며, 그 외에 건조한 피부, 정상인에 비해 쉽게 피부 가려움증을 느끼는 특성, 세균·바이러스·곰팡이 등에 의한 감염, 정서적 요인, 환경적 요인 등이 서로 복합적으로 작용하여 일어나는 것으로 보인다.

<8> 특히, 인체에 접촉하거나 들어온 두드러기의 원인이 되는 물질을 자연치유력으로 제거하는 과정에서 비만세포(mast cell)에 생긴 항체(IgE)가 다시 그 물질(항원)이 들어오면 과민반응을 일으켜서 히스타민을 생기게 하여 아토피성 피부염의 원인이 된다. 비만세포는 피부, 호흡기, 위장관의 점막, 임파관 주위, 뇌 등 전신의 장기에 널리 분포하며, 다양한 염증 반응 및 알레르기 반응의 원인 세포로 알려져 있다. 또한 비만세포에서 방출된 히스타민은 혈관확장, 장관내 및/또는 기관지 평활근 수축, 선세포의 분비, 항진작용 등을 나태내어 염증 반응 및 즉각형 알레르기 반응을 야기하며, 점액분비 및 국소 단백질 분비와 같은 다양한 생물학적 효과를 매개한다.

<9> 아토피성 피부염에 대한 처방은 스테로이드제, 항히스타민제, 항생제 등과 같은 약물요법이 주로 이루어지고 있다. 스테로이드제(부신피질호르몬제)는 크게 소염작용과 면역억제 작용이 있고 효과가 우수하지만, 장기간 바르면 피부약화, 전신 호르몬증상, 중독성 등의 부작용이 나타날 수 있다. 요즘 연구중인 아토피성 피부염의 치료 방향은 면역억제제를 사용하는 것과 새로운 항히스타민제를 사용하는 것이다. 그러나 항히스타민제만으로는 알레르기반응을 완벽하게 차단하지는 못한다. 이는 알레르기 반응을 야기하는 화학전달물질이 히스타민만은 아니기 때문이다. 비만세포에서 방출되는 화학전달물질에는 히스타민 외에도, 류코트리엔(leukotriene) C4와 류코트리엔 B4등이 있다. 류코트리엔 C4는 히스타민과 마찬가지로 기관지 평활근을 수축시키고, 류코트리엔 B4는 염증성 백혈구인 호중구와 호산구를 유도하는데 이는 염증을 만성화시켜 주위 세포에 상처를 준다.

<10> 따라서 아토피성 피부염에 효과가 있으면서도 부작용이 없는 새로운 아토피성 피부염 치료를 위한 조성물 개발이 요구되고 있다.

<11> 대나무(Bamboo)는 화본과 식물로 세계적으로 약 280여종이 알려져 있으며, 우리나라에는 약 70종의 대나무 종류가 자생 또는 재배되고 있다. 대의 종류에는 솜대, 왕대(참죽), 맹종죽(죽순대), 오죽, 반죽, 섬대, 해장죽, 갓대, 조릿대, 산죽, 이대 등 11종의 대표적인 품종이 있고 이 중 주 재배 품종은 왕대(참죽), 솜대, 맹종죽이다. 동의보감, 본초강목, 신농본초경에 따르면 대나무는 중풍, 고혈압을 치료하는데 탁월한 효과가 있고, 특히 해열, 거담, 청량 등의 목적으로 폐렴, 기관지염 등에 사용하였으며, 최근 보고된 바에 의하면 고혈압, 죽상동맥경화, 심혈관계질환의 치료에 사용되고 있고 항암 및 노화방지에 좋은 식물로 소개되고 있는데 대나무의 이러한 기능성은 항산화 효과와 밀접한 관련이 있을 것으로 여겨진다. 또한 대나무 추출물에 존재하는 유기산, 식이섬유, 탄닌, 벤조후란과 같은 피토케미칼(phytochemical)들은 항산화 작용, 혈전용해활성, 지질저하작용 등의 기작을 통하여 순환기계통의 질병 예방에 기여할 것으로 기대된다.

<12> 종래 맹종죽을 비롯한 대나무의 생리활성 물질의 연구는 대부분 항균활성 중심으로 국내 및 일본에서 보고되어 왔다. 이미 대나무 잎에서 항균성 물질인 2,6-디메틸벤조퀴논과 벤조산이 일본 연구자에 의하여 밝혀져 있으며,

<13> 한국특허등록 제10-0465113호에는 대나무추출물을 이용한 혈액순환 개선 및 항염증 효과가 개시되어 있다. 또한 일본공개특허공보 평09-278662호에는 에테르를 용매로 속슬렛(soxhlet)방법으로 추출한 대나무 추출물을 함유한 항알러지 효과가 있는 지방(fats)과 오일(oil)이 개시되어 있으며, 국제공개특허공보 WO 2002/07745호에는 단순히 물로 추출한 대나무 엑기스의 아토피성 피부염 등에 대한 진양 효과가 개시되어 있다.

<14> 황금(Scutellaria)은 한방에서 생리활성 및 약리작용으로 해열, 소열, 항알레르기 작용을 나타내며, 혈관을 확장시키고 더욱이 혈압을 강하시키는 작용을 하며 죽상 동맥경화를 억제한다. 황금에 함유된 플라보노이드의 일종인 바이칼린은 진정작용을 하며 모세혈관의 투과성을 저하시키므로 지혈작용을 한다. 또한, 비만 세포막을 강화하여 화학전달물질의 유리를 억제하여 항알러지 작용을 하며, 특히 알러지로 인한 감염을 개선하고 혈관 투과성 항진을 억제하며 소염작용이 강하여 혈관의 염증성 출혈, 울혈을 완화하는 작용 등 황금엑스가 나타내는 약리작용은 주로 바이칼린에 기인한 것으로 알려져 있다. 바이칼린은 가수분해되어 바이칼레인 및 글루쿠로닉산(glucuronic acid)이 되고, 바이칼레인은 이뇨작용을, 글루쿠로닉산은 해독작용을 한다. 이와 관련된 특허로, 한국공개특허 제1996-0003725호에서는 황금의 플라보노이드 성분으로 된 백내장 치료제에 대해 개시되어 있고, 한국공개특허 제1996-0040370호에서는 황금추출물을 비롯한 플라본 배당체들을 함유함을 특징으로 하는 알콜장해 예방 및 치료제 조성물에 관해 개시되어 있으며, 한국공개특허 제2002-0031608호에서는 항균효과가 우수한 황금 추출물, 그의 제조방법 및 그를 포함하는 약학적 조성물에 관해 개시되어 있다. 또한 한국등록특허

제10-0522579호에서는 항스트레스 효과를 갖는 황금 및 오미자 혼합추출물이 개시되어 있다.

<15> 그러나 대나무 또는 황금이 상기와 같은 종래 기술이 알려져 있으나, 대나무 및 황금 추출물의 혼합 조성물에서 아토피성 피부염에 대한 효과 보고는 아직 없다.

<16> 이에, 본 발명자들은 새로운 아토피성 피부염 치료를 위한 물질을 주의 연구해오던 중 대나무 및 황금 추출물의 혼합 조성물이 항히스타민과 류코트리엔의 방출을 강력하게 저해하고 부작용은 거의 없으며 아토피성 피부염에 탁월한 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<17> 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 안출된 것으로서, 본 발명은 아토피성 피부염에 효과가 탁월하면서도 부작용이 없는 식물 추출물을 유효성분으로 하는 아토피성 피부염 치료를 위한 조성물을 제공하는데 그 목적이 있다.

발명의 구성 및 작용

<18> 이와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명은 대나무 및 황금 추출물을 유효성분으로 하는 아토피성 피부염의 치료를 위한 조성물을 제공한다.

<19> 본 발명의 조성물에 있어, 대나무는 왕대속(*Phyllostachys*), 조릿대속(*Sasa*) 또는 이대속(*Pseudosasa*) 대나무에서 선택될 수 있고, 상기 왕대속 대나무는 맹종죽(*Phyllostachys edulis*), 분죽(*Phyllostachys nigra* var. *henonis*), 오죽(*P. nigra*), 왕대(*P. bambusoides*), 죽순대(*P. pubescence*), 반죽(*P. nigra* for. *punctata*) 또는 관암죽(*P. comprossa*)에서 선택되는 것이 바람직하고, 조릿대속 대나무는 신이대(*Sasa coreana* Nakai), 고려조릿대(*S. coreana*), 섬조릿대(*S. kurilensis*), 제주조릿대(*S. quelpaertensis*), 조릿대(*S. borealis*), 갓대(*S. borealis* var. *chiisanensis*) 또는 섬대(*S. borealis* var. *gracilis*)에서 선택되는 것이 바람직하며, 이대속 대나무는 이대(*Pseudosasa japonica*)와 자주이대(*Pseudosasa japonica* var. *purpurascens*)에서 선택되는 것이 바람직하다.

<20> 본 발명의 조성물에 있어서, 대나무(Bamboo) 및 황금(*Scutellaria baicalensis*) 은 상업적으로 구입할 수 있는 통상의 생약 원물을 사용할 수 있고, 이들 생약의 전초, 가지, 껍질, 잎, 순, 뿌리, 내피 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 이를 분말화하거나 추출물을 제조하여 사용할 수 있다.

<21> 본 발명의 대나무 및 황금 추출물은 물 또는 유기용매, 또는 이들의 혼합용매로서 추출한 것을 사용할 수 있다. 상기 유기용매는 통상 사용할 수 있는 모든 용매가 가능하며, 바람직하게는 물, C_{1-4}알콜(예: 메탄올, 에탄올 등) 등의 극성용매 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 바람직하기로는 상기 대나무 추출물은 50~90% 에탄올 추출물의 물 난용성 분획물이나, 열수추출물의 에탄올 용해성 분획물을 사용할 수 있다.

<22> 상기 추출은 열탕추출, 소니케이션 등 통상의 방법으로 수행할 수 있으며, 이 추출물의 동결건조물을 형성하여 본 발명의 조성물에 사용할 수도 있다. 또한 상기 추출물은 통상의 분획법 또는 크로마토그라피에 의해 보다 정제하여 사용할 수 있으며, 이러한 분획물 또는 정제물이 본 발명의 범위에 속함은 물론이다.

<23> 본 발명의 조성물에 있어서, 대나무 또는 황금을 단독으로 사용할 수 있으나, 상기 추출물을 혼합하여 사용할 경우 상승효과를 나타내어 특히 바람직하다.

<24> 본 발명의 조성물에 있어서, 추출물 단독 처리시와 비교시 혼합물에 의한 상승효과의 측정은 콜비식(COLBY S. R., Calculating synergistic and antagonistic response of herbicide combinations, Weeds 15, p20-22, 1967)을 이용하여 확인하였다.

<25> 상기와 같이 대나무 및 황금 추출물을 병용하여 사용할 경우, 이들의 혼합비는 예컨대, 대나무 및 황금 추출물을 1~10 : 1~10. 바람직하게는 1~5 : 1~5, 더욱 바람직하게는 1~3 : 1~3의 중량비로 혼합할 수 있다.

<26> 본 발명의 조성물은 약제학적 분야에서 공지의 방법에 의해 제제화할 수 있고, 추출물 자체 또는 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 등과 혼합하여 통상의 약학적 제제, 예를 들면 액제, 시럽제, 캡슐제, 과립제, 분말, 연고, 에멀젼, 겔, 크림 등으로 제제화할 수 있으며, 이를 여러 경로로 투여할 수 있다.

<27> 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 추출

물은 1일 0.0001~100 ㎎/㎏으로, 바람직하게는 0.001~100 ㎎/㎏으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위을 한정하는 것은 아니다.

<28> 이하, 본 발명을 하기 실시예 및 실험예에 의하여 보다 구체적으로 설명하지만, 이들에 의하여 본 발명의 범위가 어떤 식으로든 제한되는 것은 아니다.

<29> <실시예 1> 대나무 추출물의 제조

<30> 1-1. 대나무 주정추출물의 제조

<31> 건조된 대나무 20㎏에 200ℓ의 70%의 에탄올을 가한 후 추출기를 이용하여 80℃에서 6시간 가열하여 추출하였다. 추출액을 여과하고 추출액의 부피가 약 5ℓ가 될 때까지 농축하여 에탄올을 제거한 후 다시 실온으로 냉각하여 생성된 침전물을 회수, 건조하여 대나무 추출물 390g을 수득하였다.

<32> 1-2. 대나무 열수추출물의 제조

<33> 건조된 대나무 20㎏에 중량 대비 10배의 물을 가한 후 100℃에서 4시간 가열하여 추출하였다. 추출액을 여과하여 잔사를 제거하고 감압농축한 후 에탄올 10ℓ를 가하여 70℃에서 2시간 동안 교반한 후 실온으로 냉각하였다. 이어 침전물을 여과하여 제거한 후 여과액을 감압농축하여 350g의 대나무 추출물을 수득하였다.

<34> <실시예 2> 황금 추출물의 제조

<35> 황금 1㎏에 물 8 L를 가하고, 80℃에서 2시간동안 환류추출하였다. 추출물을 냉각, 여과, 농축하여 황금 추출분말 330g을 얻었다.

<36> <실시예 3> 혼합 조성물 제조

<37> 상기 실시예 1과 실시예 2에서 각각 수득한 대나무와 황금 추출물을 각각 1:1, 1:2, 1:3 또는 2:1, 3:1의 비율로 혼합하여 혼합 조성물을 제조하였다.

<38> <실험예 1> 비만세포에서 각각의 실시예에 대한 히스타민 및 류코트리엔 방출 저해 활성 측정

<39> 비만세포(mast cell)로부터 히스타민 및 류코트리엔의 방출은 알러지반응의 중요한 원인 중 하나이다. 대나무와 황금추출물의 혼합 조성물에서 비만세포로부터 히스타민 및 류코트리엔 방출에 대한 저해 효과를 평가하였다.

<40> 1-1. 간의 비만 세포 분리

<41> 8마리의 기니피그(guinea pig) 암컷(200g)에서 폐 조직(3g/1마리)을 분리하여 지방조직과 기관지, 혈액을 제거한 후 Ca^{2+}, Mg^{2+} 및 0.1% 젤라틴(gelatin)이 함유된 타이로드(Tyrode) 완충액(TGCM buffer)을 사용하여 15, 15, 25분 동안 3번 효소처리(5㎎/㎖의 콜라게나아제(collagenase), 1.8unit/27㎕의 엘라스타아제(elastase))를 하였다. 각 효소처리마다 나일론 메쉬(nylon mesh)와 메탈 메쉬(metal mesh, 100㎛)로 여과한 후 원심 분리하였다('monodispersed mast cells'라 함). 침전물(pellets)을 Ca^{2+}, Mg^{2+}-결핍, 0.1% 젤라틴(gelatin)을 함유하는 완충액(TG buffer) 16㎖에 현탁(suspension)하여 조 퍌콜(rough Percoll) (1.041㎎/㎖ density)에 로딩(loading)하여 25분간 1,400rpm에서 원심 분리하여 침전물을 얻었다. 다시 TG 완충액 8㎖에 세포를 현탁하여 불연속 퍌콜(discontinuous Percoll) (1.06-1.10㎎/㎖ density)에 로딩(loading)하고 25분간 1,400rpm에서 원심 분리하여 다양한 세포층으로 분리하였다. 그 중 3, 4층에 주로 비만세포가 존재하므로 이 층의 세포를 얻어 TGCM 완충액으로 두 번 세척하였다. 전체세포 및 비만세포는 각각 트립판 블루(trypan blue) 및 알시안 블루(alcian blue) 염색, 현미경으로 세포 수를 측정하여 비만세포의 순수도(purity)를 측정하며 약 80~90%를 얻었다.

<42> 1-2. 비만 세포로부터 히스타민의 방출 저해

<43> 비만세포(4105 cells)에 기니피그 IgG1 항체(anti-OVA 1㎖/106 cells)를 가하여 37℃에서 45분간 반응시킨 후 비만세포 막에 결합되지 않은 anti-OVA 항체를 제거하기 위하여 TGCM 완충액으로 세척하였다. 세포를 1㎖ TGCM에 현탁한 후 각각의 시료를 30 ㎍의 농도로 세포에 5분 동안 전처치하였다. 1.0㎍/㎖ OVA(ovalbumin)로 감작하여 10분 동안 반응시킨 후 얼음에서 냉각하여 원심분리 후 상층액에서 히스타민을 측정하였다.

<44> 각 샘플(samples)에 유리된 히스타민양은 시라가니안(Siraganian)의 방법을 변형하여 자동 연속-흐름

추출(automated continuous-flow extraction) 및 형광계량 분석기(flourometric analyzer)(Astoria analyzer series 300, Astoria-pacific international, Oragon, USA)를 사용하여 측정하였다. 1N-hydrochloric acid, 0.73M phosphoric acid, 5N sodium hydroxide, 1N sodium hydroxide, saline diluent and sampler wash, o-phthalaldehyde 용액을 준비하여 analyzer에 연결된 튜브(tube)를 연결한 후 히스타민 저장 용액을 20ng, 10ng, 5ng, 3ng, 1ng로 희석하여 표준 곡선(standard curve)의 농도-의존적 결과를 얻은 후, 2% 과염소산(perchloric acid)으로 각 샘플을 희석(dilution)하여 히스타민 양을 측정하였다. 그 결과 대나무 추출물 및 황금 추출물 각각에 대하여서도 활성이 나타났지만, 그의 혼합 조성물이 강력한 활성을 나타내었으며, 이러한 상승효과는 콜비식(COLBY S. R., Calculating synergistic and antagonistic response of herbicide combinations, Weeds 15, p20-22, 1967)을 이용하여 확인하였다(표 1).

<45> [표 1] 비만세포에서 각각의 추출물의 히스타민 저해 활성

<46>

시료 명	히스타민 방출 저해율(%)
유도군	32.5±0.25
대나무 추출물	22.4±0.09 (31.1%)
황금 추출물	26.4±0.11 (18.8%)
대나무 : 황금=1 : 1 조성물	10.1±0.25 (70.5%)
대나무 : 황금=1 : 2 조성물	15.4±0.46 (52.6%)
대나무 : 황금=1 : 3 조성물	19.7±0.52 (39.4%)
대나무 : 황금=2 : 1 조성물	9.3±0.32 (71.3%)
대나무 : 황금=3 : 1 조성물	13.2±0.11 (59.4%)

<47> 1-3. 비만세포로부터 류코트리엔의 방출 저해

<48> 각각의 시료에서 류코트리엔의 방출양은 Aharoney 등(Biochem. Biophys. Res. Commum., p574-579, 1983)의 방법에 의하여 측정하였다.

<49> 즉, 류코트리엔 항체를 0.1% 젤라틴이 포함되어 있는 5 mM MES 완충용액으로 희석을 하고, 각각의 실험 튜브에 30 μg의 농도로 시료가 처리된 세포의 상층액을 100 ㎕씩 첨가하고, 류코트리엔 항체와 [^{3}H] 류코트리엔 D4(LTD_4)를 첨가하여 4℃에서 2시간 반응시킨 후 덱스트란 코팅 활성탄(dextran coated charcol)을 이용하여 중단시킨 다음 액체섬광 분광계(liquid scintillation spectrometry)를 사용하여 측정하였다. 그 결과 대나무 추출물 및 황금 추출물 각각에 대하여서도 활성이 나타났지만, 그의 혼합 조성물이 강력한 활성을 나타내었으며, 이러한 상승효과는 콜비식(COLBY S. R., Calculating synergistic and antagonistic response of herbicide combinations, Weeds 15, p20-22, 1967)을 이용하여 확인하였다(표 2).

<50> [표 2] 비만세포에서 각각의 추출물의 류코트리엔 저해 활성

<51>

시료 명	류코트리엔 방출 저해율(%)
유도군	679.0±54.19
대나무 추출물	449.0±40.47 (33.8%)
황금 추출물	569.4±32.89 (16.1%)
대나무 : 황금=1 : 1 조성물	149.5±8.26 (78.0%)
대나무 : 황금=1 : 2 조성물	282.1±47.55 (58.5%)
대나무 : 황금=1 : 3 조성물	350.1±33.1 (48.4%)
대나무 : 황금=2 : 1 조성물	147.5±11.92 (78.3%)
대나무 : 황금=3 : 1 조성물	322.9±33.65 (52.4%)

<52> <실험예 2> 임상 실험

<53> 아토피성 피부염을 앓고 있는 중등도 환자 20명을 대상으로 실험예 1의 결과로부터 선택된 대나무 및 황금 추출물의 혼합 조성물을 사용하여 4주간 임상시험을 실시하였으며, 슬와(popliteal fossa)와 전주와(antecubital fossa)에 본 발명의 조성물을 골고루 도포하여 결과를 관찰하였다.

<54> 임상 평가는 제품 사용 전과 제품 사용 후 아토피 개선효과 평가법(Local SCORAD)를 사용, 6개의 임상 평가 항목(Intensity items) 즉, 홍반(Erythema), 부종/구진(Edema/Papulation), 삼출/가피(Oozing/Crust), 표피박리(Excoriation), 태선화(Lichenification), 건조(Dryness)를 정도에 따라 각각 전주와, 슬와 부위의 좌측과 우측으로 구분하여 4단계(0=absence, 1=mild, 2=moderate, 3=severe)로 평가한 후 개선율로 나타내었으며, 그 결과 제품 사용 후 개선되는 경향을 보였으며, 특히 홍반(Erythema), 삼출/가피(Oozing/Crust), 표피박리(Excoriation) 항목에서 50% 이상의 개선율을 보였다(도 1). 사진촬영은 제품 사용 전과 제품 사용 후 시점에서 디지털 스틸 카메라(Digital Still Camera DSC-S75, Sony)로 일반 사진 촬영하였다(도 2). 또한, 수분 증발량은 제품 사용 전과 제품 사용 후 시점에서 Tewameter TM300 (Courage+ Khazaka, Germany)을 사용하여 전주와, 슬와 10㎝ 하부에서 단위면적 및 단위시간에 발생하는 수분 증발량(g/㎡·h)을 측정하였으며, 그 결과 경피 수분 손실량은 각 시점에 따라 감소하는 경향을 보였으며, 특히 전주와 부위 보다 슬와 부위의 개선 정도가 높았다(도 3).

발명의 효과

<55> 이상에서 상술한 바와 같이, 본 발명에 의한 조성물은 식물로부터 분리한 천연소재이며, 항히스타민과 류코트리엔의 방출을 조절함으로써 면역활성을 조절하고, 임상실험을 통하여 안정성과 아토피성 피부염에 대한 효능을 확인함으로써 아토피성 피부염 치료를 위한 조성물로서 유용하게 이용될 수 있을 것으로 평가되었다.

도면의 간단한 설명

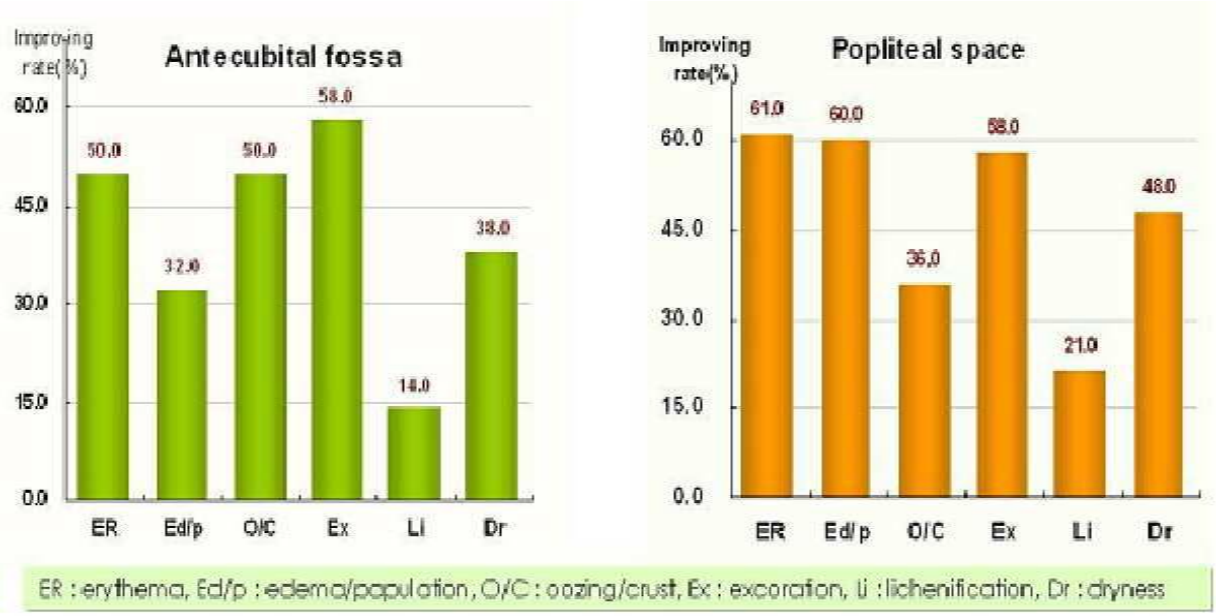
<1> 도 1은 본 발명의 조성물 투여시 전주와와 슬와에서의 각각의 임상평가 항목의 개선율을 보여주는 그래프이다.

<2> 도 2는 본 발명의 조성물의 투여에 따른 아토피 개선 효과를 제품 사용 전과 제품 사용 후를 비교하여 보여주는 디지털 스틸 사진이다.

<3> 도 3은 본 발명의 조성물 사용 전과 사용 후 시점에서 Tewameter TM300을 사용하여 전주와 슬와 10㎝ 하부에서 단위면적 및 단위시간당 발생하는 수분 증발량(g/㎡·h)을 측정한 결과를 보여주는 그래프이다.

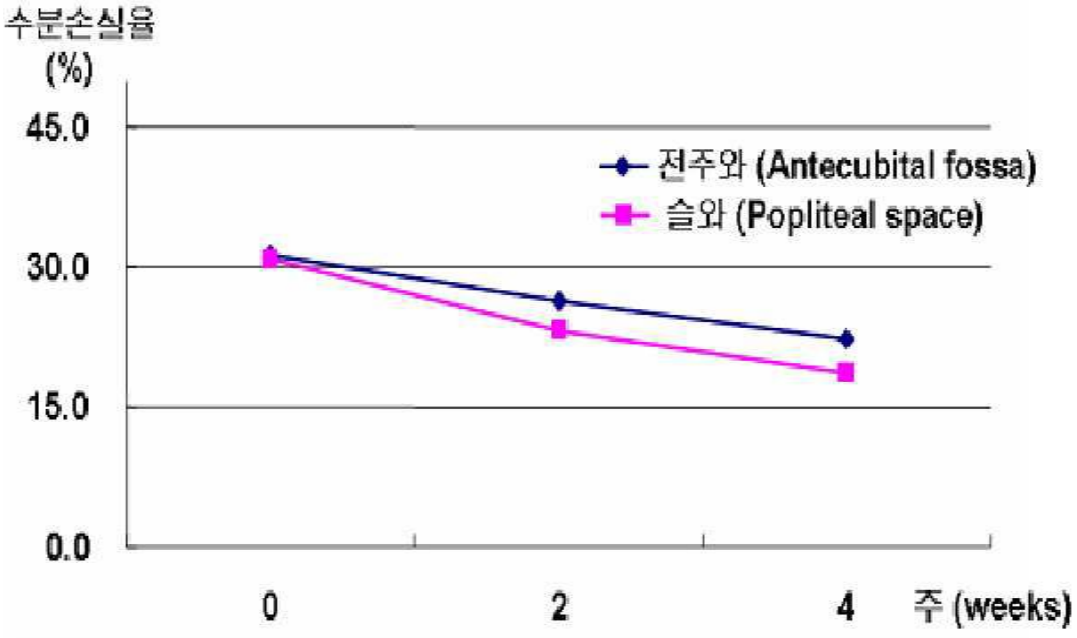
도면

도면1



도면2

도면3


수분손실율
(%)
45.0
30.0
15.0
0.0
0
2
4
주 (weeks)
전주와 (Antecubital fossa)
슬와 (Popliteal space)