



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0160903
(43) 공개일자 2024년11월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) A61K 36/758 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 36/758 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0057814
(22) 출원일자 2023년05월03일
심사청구일자 2023년05월03일

(71) 출원인
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
한양대학교 산학협력단
서울특별시 성동구 왕십리로 222 (행당동, 한양대학교내)
(72) 발명자
변상균
경기도 과천시 별양로 12, 306동 1402호
이용준
경기도 고양시 일산동구 강송로 156, 214동 602호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

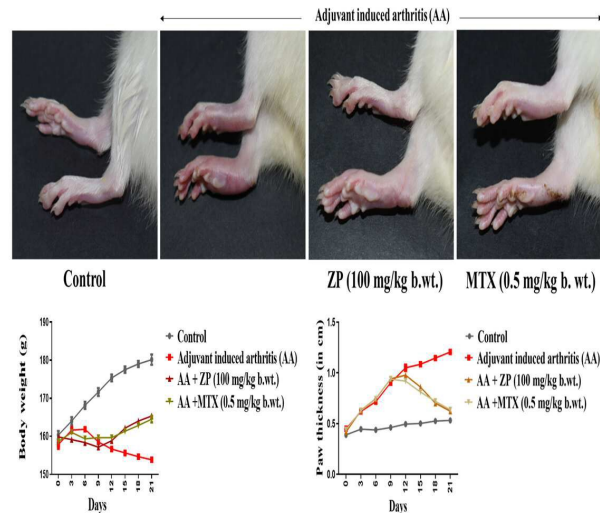
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염의 개선, 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강에 도움을 주는 관절 건강 개선용 식품 조성물 및 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 천초 추출물은 활막세포에서 염증인자를 억제하는데 우수한 효과를 나타내는 바, 관절 건강 개선, 다양한 관절염의 예방 또는 치료에 유용한 약제학적 조성물 또는 식품 조성물로 이용될 수 있다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

A61P 19/02 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/306 (2013.01)
A23V 2250/21 (2013.01)

(72) 발명자

조예령

서울특별시 서대문구 성산로18길 50

김재환

서울특별시 영등포구 도영로 16, 하나아파트 A동 1212호

정민주

경기도 과천시 별양로 163, 래미안센트럴스위트 705동 802호

마하뚝칸 라술

벨로르 공과대학교 에스엠브이 240, 벨로르 632014, 타밀나두, 인도

스니그다 사마르피타

벨로르 공과대학교 에스엠브이 240, 벨로르 632014, 타밀나두, 인도

이봉근

서울특별시 강남구 남부순환로 2803, 도곡삼성래미안 106동 302호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711115565
과제번호	2020R1A2C1010703
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	[통합이지바로]High-throughput screening을 이용한 바이오마커 기반의 개인 맞춤형
관절염 개선 기능성식품 소재 개발(3/3)	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 천초는 초피나무 (*Zanthoxylum piperitum*)의 열매인 것인, 관절 건강 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 천초 추출물은 물, 및 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 것인, 관절 건강 개선용 식품 조성물.

청구항 4

천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 천초는 초피나무 (*Zanthoxylum piperitum*)의 열매인 것인, 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 관절염은 퇴행성 관절염 (Osteoarthritis), 류마티스성 관절염 (Rheumatoid arthritis), 건선성 관절염 (Psoriatic Arthritis) 및 감염에 의한 패혈성 관절염 (Septic arthritis)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것인, 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 천초 추출물은 물, 및 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 것인, 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강 개선용 식품 조성물 및 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 관절은 연골, 관절낭, 활막, 인대, 힘줄, 근육 등으로 구성되어 있으며, 뼈의 움직임에 따라 발생하는 충격을 흡수하는 역할을 한다. 이러한 관절에서 나타나는 질환인 관절염 (Arthritis)은 세균이나 외상과 같은 다양한 원인에 의해 관절 내에 염증성 변화로 유발되는 질환으로, 관절염의 발생 빈도는 60세 이상 인구의 약 30% 정도로 추산되고 있고, 외국 통계에 따르면 심장질환 다음으로 자주 발생하고 있는 질병으로 알려져 있다. 또한, 최근 보건사회 연구원의 조사에 따르면 우리나라의 경우 50세 이후를 대상으로 당뇨병과 고혈압을 제치고 관절염이 가장 높은 발병율을 보이는 질병으로 보고된 바 있다.

[0003] 한편, 염증성 질환인 관절염은 주로 노화에 의해 발병하는 퇴행성 관절 질환 (Degenerative joint disease)인 골관절염 (Osteoarthritis), 자가면역 기전으로 인한 관절 내 활막의 염증 반응으로 발병하는 류마티스 관절염 (Rheumatoid arthritis) 및 건선성 관절염 (Psoriatic arthritis), 감염에 의한 패혈성 관절염 (Septic arthritis)등으로 구분된다. 종래 관절염을 치료하기 위해 아세트아미노펜, 트라마돌, 비스테로이드성 항염제

(NSAIDs), 디아세린, 글루코사민 등의 약물이 사용되었으나, 대부분의 약물이 합성된 화합물로서 장기 복용시 다양한 부작용을 야기하고 있어 종래 치료제를 대체할 수 있을 만큼 치료 효과가 우수하며, 대량 또는 장기간 투여 시에도 부작용 없는 천연물을 이용한 새로운 관절염 치료제의 개발이 시급한 실정이다.

[0004] 한편, 천초는 운향과 (*Rutaceae*) 화초속 (*Zanthoxylum*)에 속하는 초피나무 (*Zanthoxylum piperitum*), 산초나무 (*Zanthoxylum schinifolium*) 또는 화초의 잘 익은 열매껍질을 말한다. 약리 작용으로 국부마취작용, 장관연동작용, 항균작용 등이 보고 되었으며, 한방에서는 성미가 맵고 열이 있다 하여 비장, 위장, 신장에 작용하여 차가운 기운을 제거하는데 사용하며, 통증을 완화시키는데 사용한다. 또한, 기생충으로 인한 복통 및 가려움증의 병증을 치료한다는 연구가 보고된 바 있지만, 천초 추출물의 관절염 개선, 예방 또는 치료 효과를 대상으로 한 구체적인 연구는 알려진 바 없다.

[0005] 따라서, 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강 개선용 식품 조성물 및 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물의 개발이 시급히 요구되고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에, 본 발명자들은 관절 건강 개선용 식품 조성물 및 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 천초 추출물이 염증인자를 억제하는 효과가 우수하다는 것을 규명함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0007] 본 발명의 목적은 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 다른 목적은 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강 개선용 식품 조성물 및 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0010] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0011] 본 발명의 일 양태는 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

[0012] 본 발명에 있어서 천초는 초피나무 (*Zanthoxylum piperitum*)의 열매인 것일 수 있다.

[0013] 본 발명에 있어서 천초는 초피나무의 열매 껍질인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0014] 본 명세서상 용어 "천초"는 운향과 (*Rutaceae*) 화초속 (*Zanthoxylum*)에 속하는 초피나무, 산초나무 (*Zanthoxylum schinifolium*) 또는 화초의 잘 익은 열매껍질로서, 알파산스쿨 (Alpha-sanschool), 베타산스쿨 (Beta-sanschool), sanshoamide, 리모닌 (Limonin), 타민 (Tammin), 하이페린 (Hyperin), 크산토실린 (Xanthoxylin)을 포함하며, 정유로 시트로넬랄 (Citronellal), 펠란드렌 (Phellandren), 디펜텐 (Dipentene), 제라니알 (Geranial) 등이 함유되어 있다.

[0015] 본 명세서상 용어 "추출물"은 용매 추출물, 특정 용매 가용 추출물 (용매 분획물) 및 용매 추출물의 용매 분획물을 포함하며, 상기 천초 추출물은 용액, 농축물 또는 분말 상태일 수 있다.

[0016] 본 발명에 있어서 천초 추출물은 물, 및 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0017] 본 발명에 있어서 용매는 알코올 함량이 50 내지 100 %(v/v), 50 내지 95 %(v/v), 55 내지 100 %(v/v), 55 내지 95 %(v/v), 60 내지 100 %(v/v), 60 내지 95 %(v/v), 65 내지 100 %(v/v), 65 내지 95 %(v/v), 70 내지 100 %(v/v), 70 내지 95 %(v/v), 75 내지 100 %(v/v), 75 내지 95 %(v/v), 80 내지 100 %(v/v), 80 내지 95 %(v/v), 85 내지 100 %(v/v), 85 내지 95 %(v/v), 90 내지 100 %(v/v), 90 내지 95 %(v/v), 예를 들어, 95 %(v/v)의 알코올 수용액인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0018] 본 발명에 있어서 건강 개선용 식품 조성물이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가 가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어 리듬

조절, 질병방지와 회복 등에 관한 신체 조절 기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 일반 식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지고, 건강 보조 식품 (Health supplement food)은 건강보조 목적의 식품, 건강 식품, 건강 보조 식품의 용어는 혼용된다.

- [0019] 구체적으로, 상기 건강 기능 식품은 본 발명의 유효성분을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분 말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.
- [0020] 상기 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 건강 기능 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0021] 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산 (panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연 (Zn), 철 (Fe), 칼슘 (Ca), 크롬 (Cr), 마그네슘 (Mg), 망간 (Mn), 구리 (Cu), 크롬 (Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 조성물은 방부제 (소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 테 히드로초산나트륨 등), 살균제 (표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화 방지제(부틸히드록시아니졸 (BHA), 부틸히드록시톨류엔 (BHT) 등), 착색제 (타르색소 등), 발색제 (아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제 (아황산나트륨), 조미료 (MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료 (돌신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료 (바닐린, 락톤류 등), 팽창제 (명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제 (호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물 (food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 식품 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 식품 조성물은 원료에 대하여 고형분 중량 기준으로 0.001 내지 1000 mg/kg, 0.01 내지 100 mg/kg, 100, 10 내지 1000 mg/kg, 10 내지 100 mg/kg, 예를 들어, 0.1 내지 20 mg/kg의 범위로 포함되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명의 다른 일 양태는 천초 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0025] 상기 천초 추출물은 천초 추출물의 용매 추출물을 포함하며, 상술한 바와 같다.
- [0026] 본 발명에 따른 천초 추출물의 제조 과정을 보다 상세하게 설명하면 다음과 같다: 천초 열매 껍질의 중량에 대하여 약 10 내지 50배 중량의 추출용매로 상온 추출한다. 추출 후 여과하여 여과액을 모은다. 추출 온도는 특별한 제한은 없지만, 예를 들어, 20 내지 30 ℃, 20 내지 28 ℃, 20 내지 26 ℃, 20 내지 24 ℃, 20 내지 22 ℃, 22 내지 30 ℃, 22 내지 28 ℃, 22 내지 26 ℃, 22 내지 24 ℃, 24 내지 30 ℃, 24 내지 28 ℃, 24 내지 26 ℃, 예를 들어, 20 내지 25 ℃인 것이 좋다.
- [0027] 추출공정은 1회 또는 수회 반복할 수 있으며, 본 발명의 일 바람직한 예에서는 1차 추출 후 다시 재추출하는 방법을 선택할 수 있는데, 이는 추출물을 대량 생산하는 경우 효과적으로 여과를 한다 하더라도 자체의 수분 함량이 높기 때문에 손실이 발생하게 되어 1차 추출만으로는 추출 효율이 떨어지므로 이를 방지하기 위함이다. 또한, 각 단계별 추출효율을 검증한 결과 2차 추출에 의해 전체 추출량의 80 내지 90 % 정도가 추출되는 것으로 밝혀졌다.
- [0028] 본 발명의 일 예에서, 추출공정을 2회 반복하는 경우, 상기 얻어진 잔사에 다시 추출용매, 약 5 내지 15 부피배, 예를 들어, 8 내지 12 부피배로 환류 추출한다. 추출 후 여과하고 이전에 얻어진 여과액과 합쳐서 감압 농축을 하여 천초 추출물을 제조한다. 이와 같이 2차에 걸친 추출 및 각각의 추출 후 얻어진 여과액을 혼합함으로써 추출 효율을 높일 수 있으나, 본 발명의 추출물이 추출 회수에 한정되는 것은 아니다.
- [0029] 상기 천초 추출물을 제조시 사용되는 용매의 양이 너무 적으면 교반이 어렵게 되고, 추출물의 용해도가 낮아져 추출효율이 떨어지게 되고, 지나치게 많은 경우는 다음의 정제단계에서 사용되는 용매의 사용량이 많아서 경제적이지 못하여 취급상 문제가 발생할 수 있으므로, 용매의 사용량은 상기 범위로 하는 것이 좋다.
- [0030] 이와 같이 얻어진 여과된 추출물은 의약품 원료로 사용하기에 적합하도록 잔존하는 저급 알코올의 함량을 조절

하기 위하여 농축물 총량의 약 10 내지 30배, 예를 들어, 15 내지 25배, 예를 들어, 약 20 중량배의 물로 1 내지 5회, 예를 들어, 2 내지 3회 공비 농축하고 재차 동량의 물을 가하여 균질 하게 현탁시킨 후 동결 건조하여 분말상태의 천초 추출물로 제조될 수 있다.

- [0031] 본 발명에 사용된 추출 방법은 통상적으로 사용되는 모든 방법일 수 있으며, 예컨대, 열수추출, 초음파 추출, 또는 환류 추출법일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명의 다른 일 양태는 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0033] 본 발명에 있어서 천초는 초피나무 (*Zanthoxylum piperitum*)의 열매인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명에 있어서 관절염은 퇴행성 관절염 (Osteoarthritis), 류마티스성 관절염 (Rheumatoid arthritis), 건선성 관절염 (Psoriatic Arthritis) 및 감염에 의한 패혈성 관절염 (Septic arthritis)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명에 있어서 천초 추출물은 물, 및 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 본 명세서 상 용어 "관절염"은 관절에서 염증성 변화가 일어나는 질환이며, 세균이나 외상과 같은 다양한 원인에 의해 관절 내에 염증성 변화로 유발된다. 염증성 질환인 관절염은 주로 노화에 의해 발명하는 퇴행성 관절 질환 (Degenerative joint disease)인 골관절염 (Osteoarthritis), 자가면역 기전으로 인한 관절 내 활막의 염증 반응으로 발명하는 류마티스 관절염 (Rheumatoid arthritis) 및 건선성 관절염 (Psoriatic arthritis), 감염에 의한 패혈성 관절염 (Septic arthritis)등으로 구분된다.
- [0037] 본 발명의 약제학적 조성물은 천초 추출물의 약제학적 유효량 및/또는 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물로 이용될 수 있다.
- [0038] 본 명세서 상의 용어 "약제학적 유효량"은 상술한 천초 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는데 충분한 양을 의미한다.
- [0039] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0040] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여 방식은 통상적으로 사용되는 모든 방식일 수 있으며, 예컨대, 경구, 피부, 정맥, 근육, 피하 등의 경로로 투여될 수 있으며, 예를 들어, 경구로 투여될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 환자의 연령, 체중, 성별, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 조성물은 상기 혼합 추출물 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 및 희석제 등의 보조제를 추가로 함유하는 것일 수 있다.
- [0043] 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0044] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용할 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한
- [0045] 고형 제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calciumcarbonate),

수크로스 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0046] 경구를 위한 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 연고제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순회석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0047] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제, 경피제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0048] 좌제의 제제로는 위텡솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 조성물을 인간에게 적용하는 구체예에 있어서, 본 발명의 생약 추출물 조성물은 단독으로 투여될 수 있으나, 일반적으로 투여방식과 표준 약제학적 관행 (standard pharmaceutical practice)을 고려하여 선택된 약제학적 담체와 혼합되어 투여될 수 있다.

[0050] 예를 들면, 본 발명의 생약 추출물 함유 조성물은 전분 또는 락토오스를 함유하는 정제 형태로, 또는 단독 또는 부형제를 함유하는 캡슐 형태로, 또는 맛을 내거나 색을 띄게 하는 화학 약품을 함유하는 엘릭시르 또는 현탁제 형태로 경구, 구강 내 또는 혀 밑 투여될 수 있다. 이러한 액체 제제는 현탁제 (예를 들면, 메틸셀룰로오스, 위텡솔 (witepsol)과 같은 반합성 글리세라이드 또는 행인유 (apricot kernel oil)와 PEG-6 에스테르의 혼합물 또는 PEG-8과 카프릴릭/카프릭 글리세라이드의 혼합물과 같은 글리세라이드 혼합물)와 같은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제와 함께 제형화 될 수 있다.

[0051] 본 발명의 추출물 함유 조성물의 투여 용량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0052] 본 발명에 있어서 약제학적 조성물은 천초 추출물의 함량을 체중 1 kg 당 10 내지 1,000 mg/day, 10 내지 500 mg/day, 10 내지 300 mg/day, 예를 들어, 10 내지 100 mg/day범위로 하여 투여되는 것일 수 있다.

[0053] 본 발명의 천초 추출물 함유 조성물의 1일 투여량이 상기 투여 용량 미만이면 유의성 있는 효과를 얻을 수 없으며, 그 이상을 초과하는 경우 비경제적일 뿐만 아니라 상용량의 범위를 벗어나므로 바람직하지 않은 부작용이 나타날 우려가 발생할 수 있으므로, 상기 범위로 하는 것이 좋다.

[0054] 본 발명의 천초 추출물 함유 조성물의 1일 투여량이 상기 투여 용량 미만이면 유의성 있는 효과를 얻을 수 없으며, 그 이상을 초과하는 경우 비경제적일 뿐만 아니라 상용량의 범위를 벗어나므로 바람직하지 않은 부작용이 나타날 우려가 발생할 수 있으므로, 상기 범위로 하는 것이 좋다.

발명의 효과

[0055] 본 발명은 천초 추출물을 유효성분으로 포함하는 관절 건강 개선용 식품 조성물 및 관절염 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 천초 추출물은 활막세포에서 염증인자를 억제하는데 우수한 효과를 나타내는 바, 관절 건강 개선, 다양한 관절염의 예방 또는 치료에 유용한 약제학적 조성물 또는 식품 조성물로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0056] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 관절활막세포주 (SW982)에 대한 천연물 추출물 라이브러리의 염증 인자 발현 조절 효능을 평가한 결과를 보여주는 도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 활막세포 (FLS) 및 인간 섬유아세포 (Hs68)에 대한 천초 추출물의 세포 독성 결과를 보여주는 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물을 처리한 활막세포에서 류마티스 관절염 관련 염증 인자인 IL-6, IL-8 및 CCL2의 유전자 발현을 보여주는 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 염증성 사이토카인 억제 효과를 보여주는 도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 퇴행성 관절염 염증인자의 발현 억제를 보여주는

그래프이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 관절염 억제 효과를 보여주는 도 및 그래프이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 관절염 억제 효과를 보여주는 도 및 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 관절염 발병 후 회복 효과를 보여주는 그래프이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 염증의 관절 침범 억제, 염증 세포 및 활막 세포의 증식 감소 효과를 보여주는 도 및 그래프이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 혈청의 염증 인자 감소 효과를 보여주는 그래프이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 천초 추출물의 염증 인자의 mRNA 발현 억제 효과를 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0057] 이상 본 명세서에 기재된 수치 값은 달리 명시되어 있지 않은 한 균 등범위까지 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0058] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예 등을 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 실시예들에 한정되는 것으로 해석되서는 안된다. 본 발명의 실시예들은 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0060] 제조예 1. 천초 추출물 제조

[0061] 천초 열매 껍질을 그늘에서 건조시키고 분쇄하여 가루화하였다. 95 %(v/v) 에탄올 (GR grade) 1L에 가루화된 천초 열매 껍질 103 g을 넣고 초음파 파쇄기 (SDN-900H, SD-ULTRASONIC CO., LTD)를 이용하여 상온에서 15분 초음파 처리, 120분의 과정을 30회 반복하여 추출하였다. 그 다음, 정성 여과지 (Qualitative Filter No.100, HYUNDAI MICRO CO., LTD)로 여과하여 에탄올 추출액을 얻었다. 수득한 에탄올 추출액을 감압 농축하여 천초 열매 껍질 에탄올 추출물 (5.28g)을 제조하였다.

[0063] 실험예 1: 천초 추출물의 선별

[0064] 한국식물추출물은행에서 식품 및 천연물의 에탄올 추출물을 분양 받아 라이브러리를 구축하였다. 그 다음, 관절 활막세포주 (SW982 cell line)에 추출물 라이브러리를 처리하여 1시간 동안 배양한 후, IL-17을 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배지를 프랩 (Prep) 하여 4 °C, 13,000 rpm 조건으로 2분간 원심분리 후 상층액을 획득하였다. 획득한 상층액을 Human IL-8 DuoSet ELISA kit (R&D system)을 활용하여 IL-8 생성을 확인하고 관절활막 세포주 (SW982)에 대한 천연물 추출물 라이브러리의 관절염 관련 염증 인자 감소능을 비교하여 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0065] 실험 결과, 약 300여개의 추출물 라이브러리 중 천초 추출물이 가장 효과적으로 IL-8 생성량을 감소시킴을 확인하였다.

[0067] 실험예 2. 천초 추출물의 세포 독성 평가

[0068] 관절염 환자의 활막세포 (FLS) 및 인간 섬유아세포 (Hs68, HGF)에 천초 추출물을 처리하고 24시간동안 배양하였다. 50% 트리클로로아세트산 (Trichloroacetic acid) 용액을 세포가 있는 배지에 넣고, 4 °C 냉장에서 1시간동안 인큐베이션하여 세포를 고정하였다. 고정된 세포에 셀포로다민 (Sulforhodamine B, SRB) 용액을 넣어 세포의 단백질을 염색했다. 염색된 세포에 10 mM Tris base 용액을 넣어 세포의 단백질에 결합된 SRB dye를 추출해냈다. 추출된 SRB dye에 대한 554 nm의 흡광도 값을 측정하여 대조군 대비 천초 추출물 처리 세포군에서의 세포 생존율을 확인하였다.

[0069] 또한, 천초 추출물의 세포 독성 평가를 위해 SRB assay를 진행하였다. 세포의 단백질을 염색하는 Sulforhodamine B (SRB) staining을 통해 살아있는 세포의 수를 정량적으로 측정하였고, 실험 결과는 도 2에 나

타내었다.

[0070] 도 2에서 확인할 수 있듯이, 관절염 환자 유래 활막세포 (FLS) 및 인간 섬유아세포 (Hs68, HGF)에서 대조군과 천초 추출물을 처리한 세포군간에 살아있는 세포수 차이가 발생하지 않음을 확인하였다. 또한, 천초 추출물이 관절염 환자 유래 활막세포 (FLS) 및 인간 섬유아세포 (Hs68, HGF)에서 세포 독성을 나타내지 않음을 확인하였다. 이를 통해 천초 추출물이 체내에서 독성을 나타내지 않으면서 관절염 개선 효과를 나타내는 것임을 확인할 수 있었다.

[0072] 실험예 3. 천초 추출물의 류마티스 관절염 관련 염증인자 저감효과 평가

[0073] RA-FLS에 천초 추출물을 처리하여 1시간 동안 배양한 후, IL-17, IL-1 β 및 TNF- α 를 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배지를 프랩 (prep) 하여 4 ° C, 13,000 rpm 조건으로 2분간 원심분리 후 상층액을 획득하였다. 획득한 상층액을 human IL-6, IL-8, CCL2 DuoSet ELISA kit (R&D system)을 활용하여 IL-6, IL-8, CCL2 생성을 확인하고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0074] 도 3에서 확인할 수 있듯이, 천초 추출물을 활막세포에 처리하고 각각의 IL-17, IL-1 β 및 TNF- α 를 처리하여 관절염을 유발시켰을 때, 활막세포에서 나타나는 염증 인자인 IL-6, IL-8 및 CCL2 단백질의 발현이 억제되는 것을 확인하였다.

[0075] 이를 통해 천초 추출물이 활막세포의 염증 인자 발현을 감소시켜 류마티스 관절염을 완화할 수 있음을 확인하였다.

[0077] 실험예 4. 천초 추출물의 염증인자 억제 기전 평가

[0078] 염증성 사이토카인 (IL-1 β 및 TNF- α)를 처리하여 류마티스 관절염을 유발한 활막세포에 천초 추출물 (ZP)을 농도별 (10 및 20 μ g/ml)처리 한 후 염증인자 억제 기전을 확인하여 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0079] 도 4에서 확인할 수 있듯이, 활막세포에서 PI3K 신호전달체계의 단백질인 p-Akt, mTOR 신호전달체계의 단백질인 p-p70S6K, MAPK 기전의 단백질인 p-ERK, NF- κ B의 발현이 억제된 것을 확인할 수 있었다.

[0081] 실험예 5. 천초 추출물의 퇴행성 관절염 염증인자 저감 평가

[0082] 염증성 사이토카인 (IL-1 β)를 처리하여 퇴행성 관절염을 유발한 활막세포에 천초 추출물 (ZP)을 농도별 (10 및 20 μ g/ml)처리한 후, 염증인자 억제 기전을 확인하여 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0083] 도 5에서 확인할 수 있듯이, 퇴행성 관절염이 유발된 활막세포에 천초 추출물을 처리시 농도 의존적으로 단백질 분해 효소인 MMP-3, MMP-9 및 MMP-13의 mRNA 발현 억제 효과를 나타내었다. 또한, 염증인자인 IL-6 및 IL-8의 mRNA 발현이 억제된 것을 확인할 수 있었다.

[0085] 실험예 6. 관절염 유도 동물 모델을 이용한 천초 추출물의 관절염 억제 평가

[0086] 6-1. 관절염 유도 동물 모델의 발 붓기 평가

[0087] Albino wistar rats (150-200 g B.W.)에 관절염을 유도한 후, 천초 추출물 100mg/kg을 투여하여 관절염의 개선 여부를 평가하였으며, 그 결과를 도 6 및 7에 나타내었다. MTX를 투여한 군은 투여 후 개선 효과를 비교할 수 있으며, 본 동물 모델의 평가가 제대로 진행된 것이 맞는지 확인할 수 있는 비교군으로 사용하였다.

[0088] 도 6 및 7에서 확인할 수 있듯이, 천초 추출물을 100 mg/kg 투여 시 투여 12일 차부터 발의 붓기가 감소하는 것을 확인할 수 있다 (도 6).

[0089] 또한, 천초 추출물을 100 mg/kg 투여할 경우, 기존의 관절염 제제인 MTX를 투여한 것과 유사한 개선 효과를 나타내는 것을 확인하였다 (도 7).

[0091] **6-2. 관절염 유도 동물 모델의 빔 워킹 평가**

[0092] 관절염 유도 동물 모델에서 Albino wistar rats의 균형 및 이동 능력을 빔 워킹 (Beam walking)으로 평가하였다. 관절염이 유도된 Albino wistar rats에 100 mg/kg 천초 추출물 (ZP)을 섭취 시킨 후, 회복 능력을 평가하여 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0093] 도 8에서 확인할 수 있듯이, Albino wistar rats은 관절염 발병시 균형을 잡고 이동하는 능력이 약화되나, 천초 추출물을 섭취 후에는 균형 및 이동성이 회복된 것을 확인할 수 있었다.

[0095] **6-3. 관절염 유도 동물 모델의 조직 병리학적 평가**

[0096] 관절염 유도 동물 모델에서 천초 추출물 섭취 시 관절에 침윤된 염증 세포, 관절 활막 세포의 증식 정도를 측정하여 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[0097] 도 9에서 확인할 수 있듯이, 염증의 관절 침범이나 관절에 침윤된 염증 세포, 관절 활막 세포의 과도한 증식이 감소된 것을 확인할 수 있었다.

[0099] **6-4. 관절염 유도 동물 모델의 혈청에서의 염증인자 평가**

[0100] 관절염 유도 동물 모델에서 천초 추출물 (ZP) 섭취 시 염증 인자의 생성 정도를 Albino wistar rats의 혈청을 측정하고 그 결과를 도 10에 나타내었다.

[0101] 도 10에서 확인할 수 있듯이, Albino wistar rats의 천초 추출물의 섭취양에 따라 혈청내 염증인자의 생성이 억제 되는 것을 확인할 수 있었다.

[0103] **6-5. 관절염 유도 동물 모델의 염증인자의 mRNA 발현도 평가**

[0104] 관절염 유도 동물의 관절 조직에서 TRIZOL 시약 (Sigma-Aldrich)를 이용해 제조사의 프로토콜에 따라 RNA를 분리했다. NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, USA) 장비를 이용해 추출한 RNA의 순도와 농도를 측정했다. C1000 Touch thermal cycler (Bio-Rad Laboratories Inc.) 장비를 이용해 EvaGreen Supermix PCR 키트 (Bio-Rad, Laboratories Inc.)로 RNA를 cDNA로 전사했다. 그 다음, PCR 증폭을 수행하였으며, 조건은 다음과 같다:

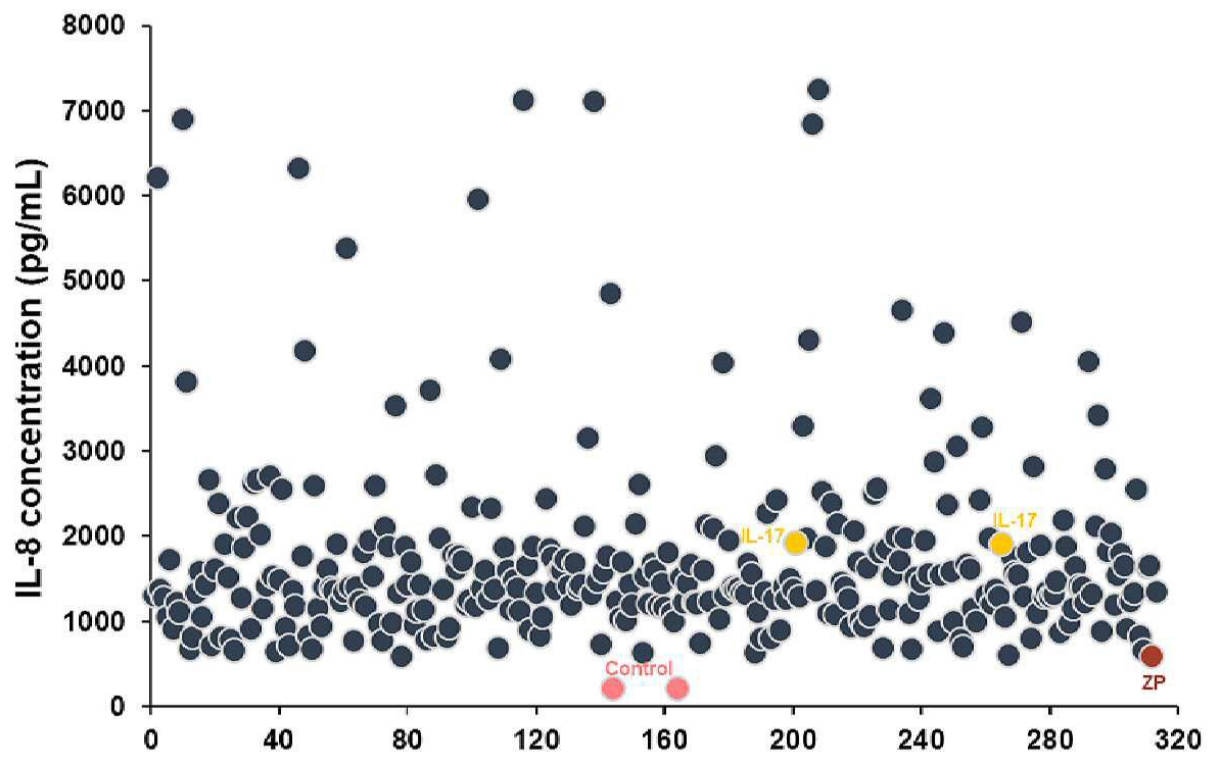
[0105] 95 °C에서 15 분, 94 °C 에서 15초, 60 °C에서 30초 동안 40 사이클 및 72 °C에서 30초.

[0106] 그 다음, 2-ΔΔ방식을 이용하여 염증인자의 유전자 발현을 하우스키핑 유전자인 GAPDH의 발현량을 바탕으로 계산하여 관절염 유도 동물 모델에서 천초 추출물 (ZP) 섭취 시 염증 인자의 mRNA 발현 결과를 도 11에 나타내었다.

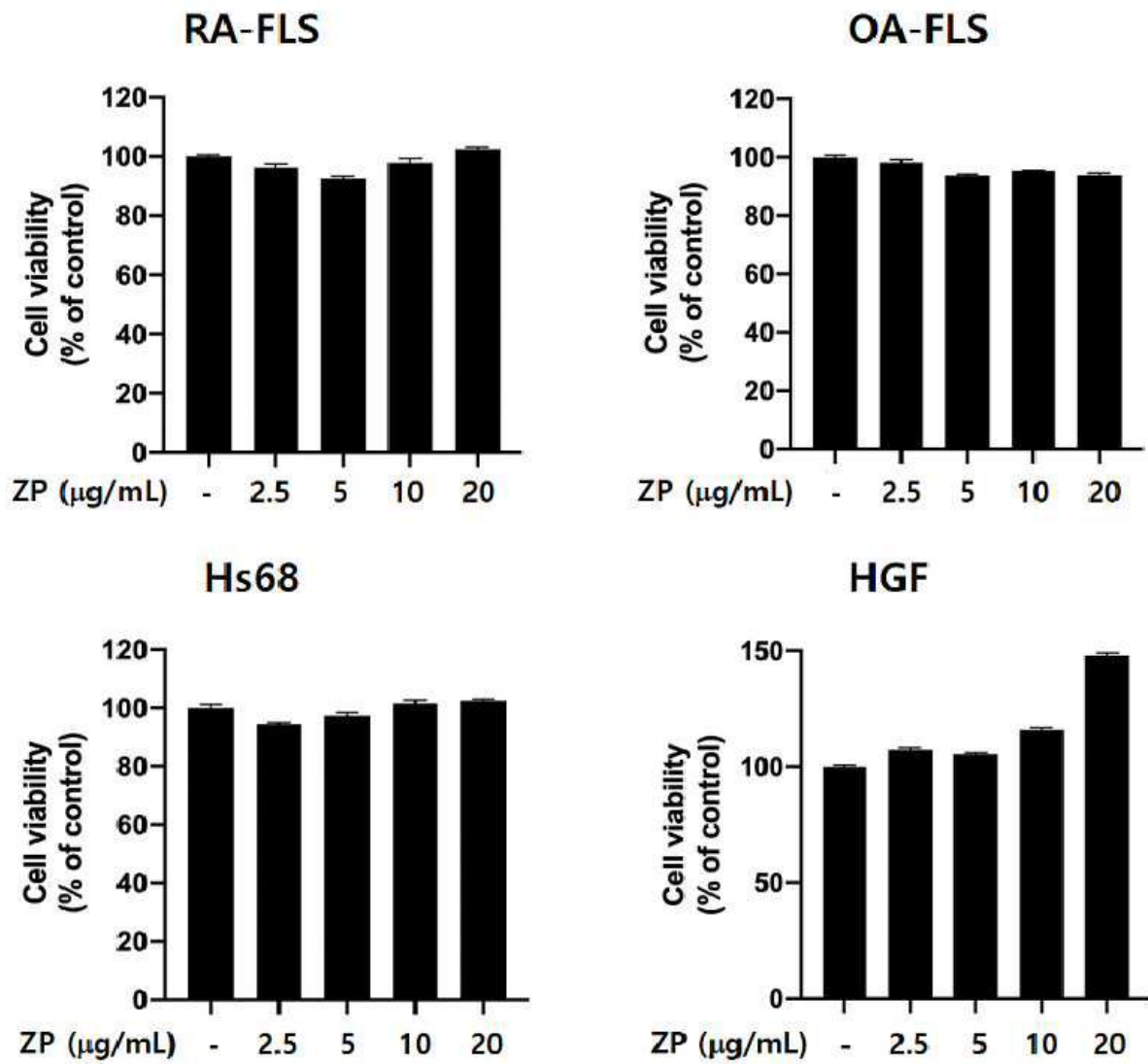
[0107] 도 11에서 확인할 수 있듯이, Albino wistar rats의 관절 조직에서 천초 추출물의 섭취에 따라 염증인자의 mRNA 발현이 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

도면

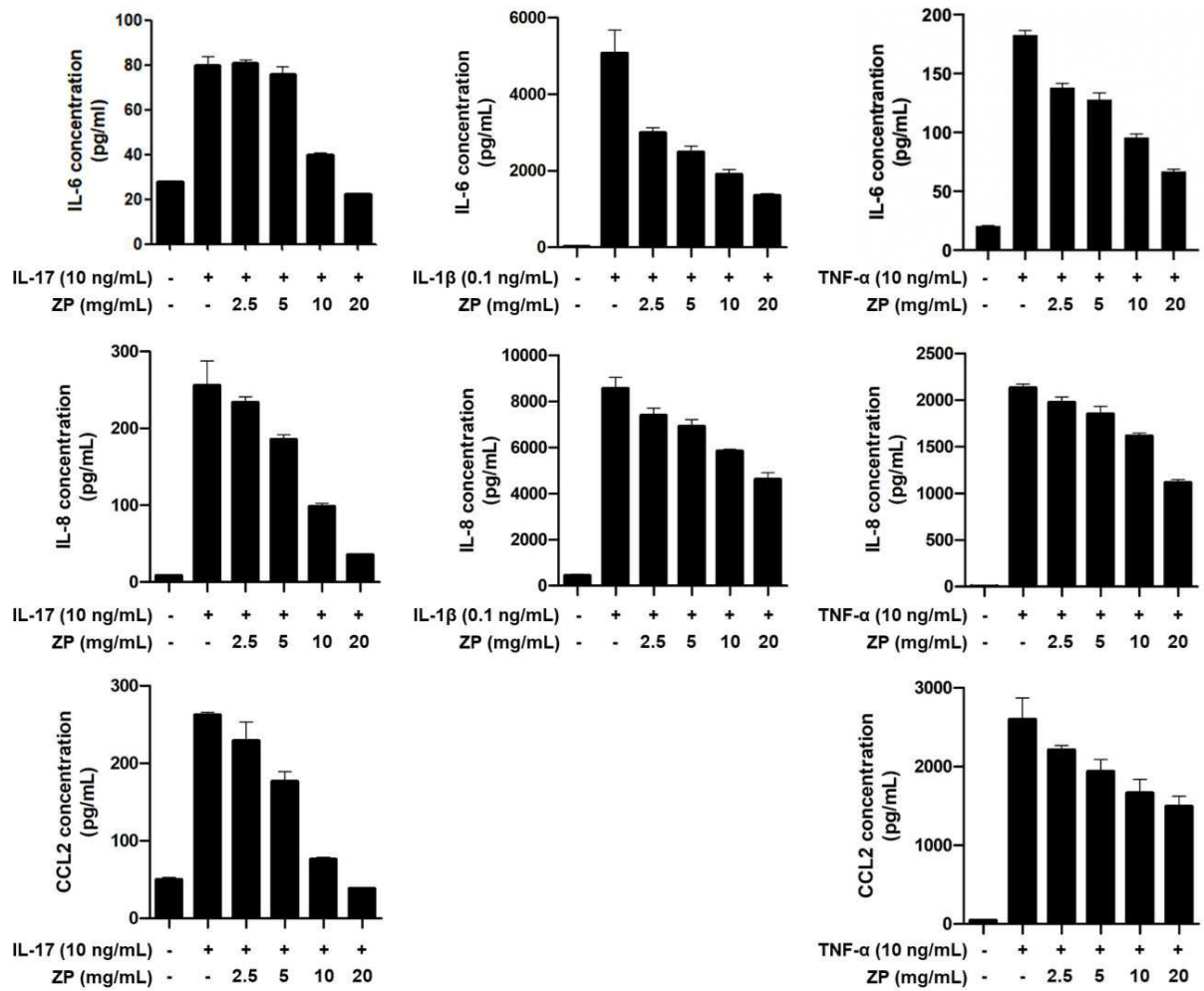
도면1



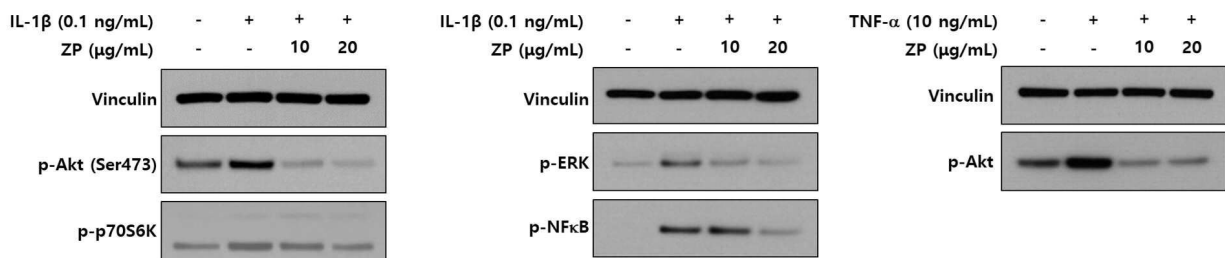
도면2



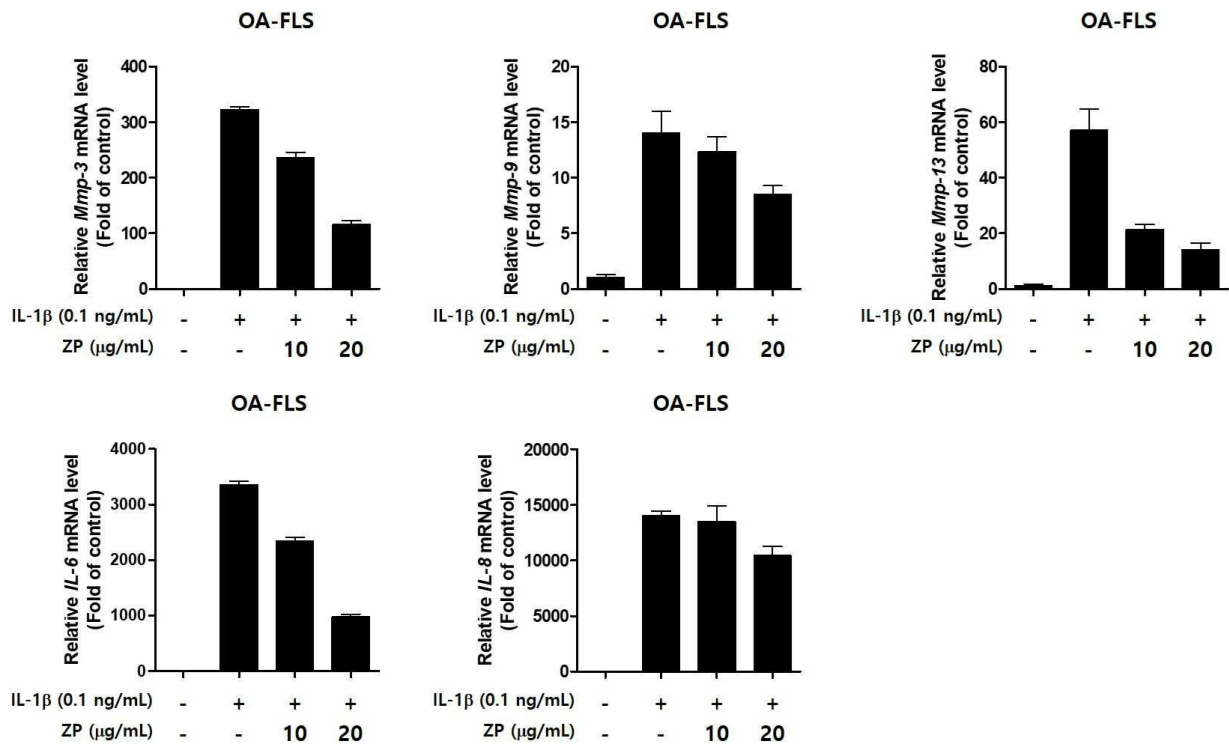
도면3



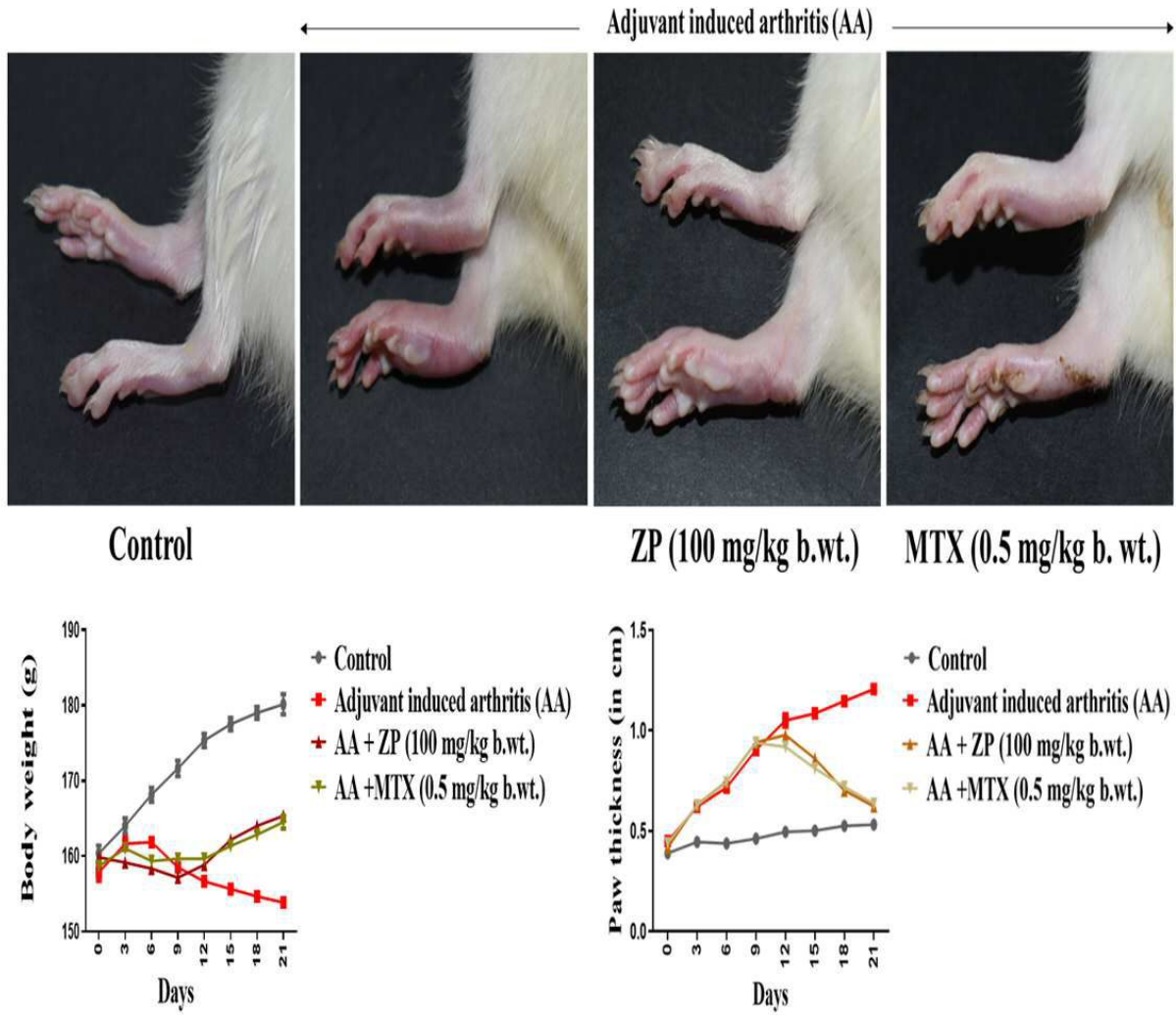
도면4



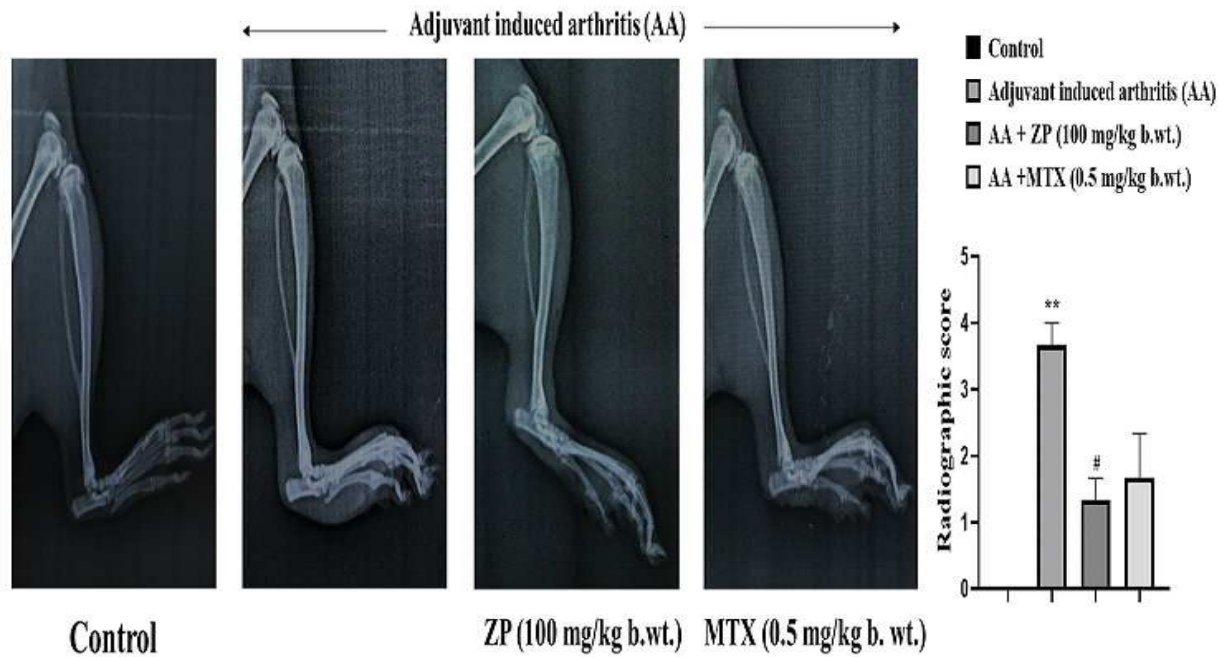
도면5



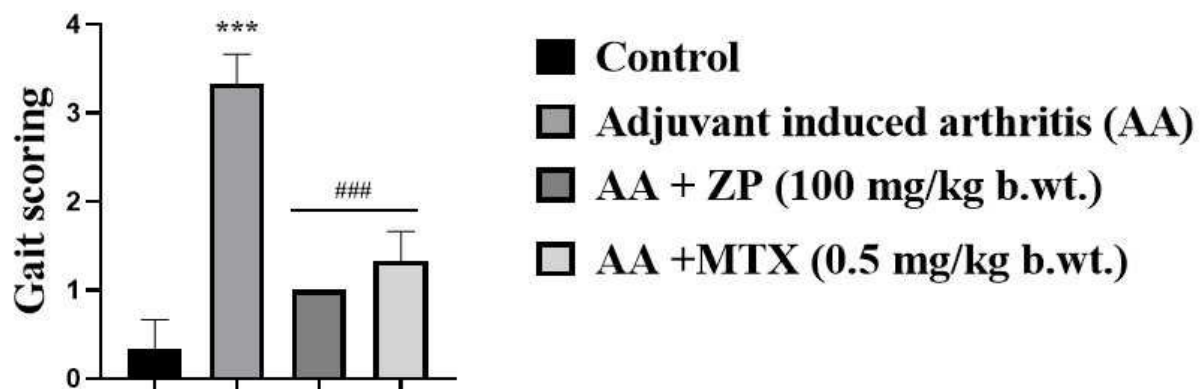
도면6



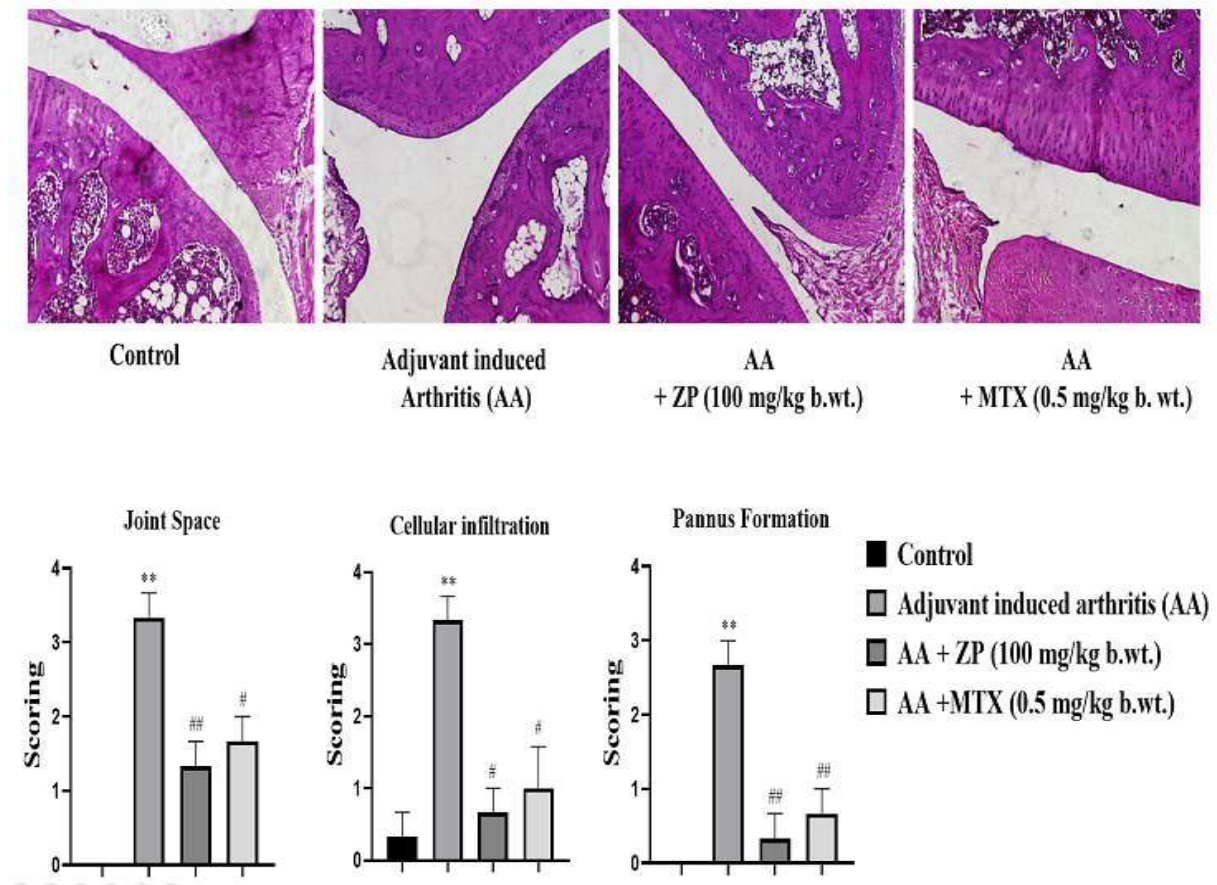
도면7



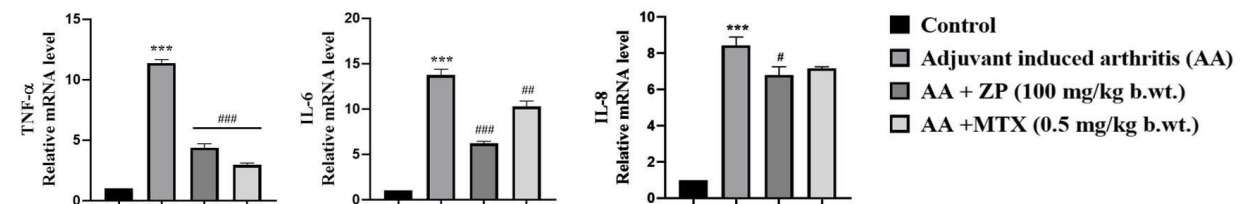
도면8



도면9



도면10



도면11

