(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년08월28일
(11) 등록번호 10-2852149
(24) 등록일자 2025년08월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/53 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61P 29/00 (2023.01) *A61P 31/04* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/53 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2023-0101909(분할)
(22) 출원일자 2023년08월04일
심사청구일자 2023년08월04일
(65) 공개번호 10-2023-0118790
(43) 공개일자 2023년08월14일
(62) 원출원 특허 10-2020-0122009
원출원일자 2020년09월22일
심사청구일자 2020년09월22일
(56) 선행기술조사문헌
Hui Yu et al.,Frontiers in Microbiology, Vol. 10, No, 1249, 2019.06.06.*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
강원대학교산학협력단
강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)
(72) 발명자
박세진
강원특별자치도 춘천시 남춘천새길 11 휴먼시아 남춘천1단지아파트104동 103호
김소연
강원특별자치도 춘천시 도화길6번길 42-1 준하우스 402호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

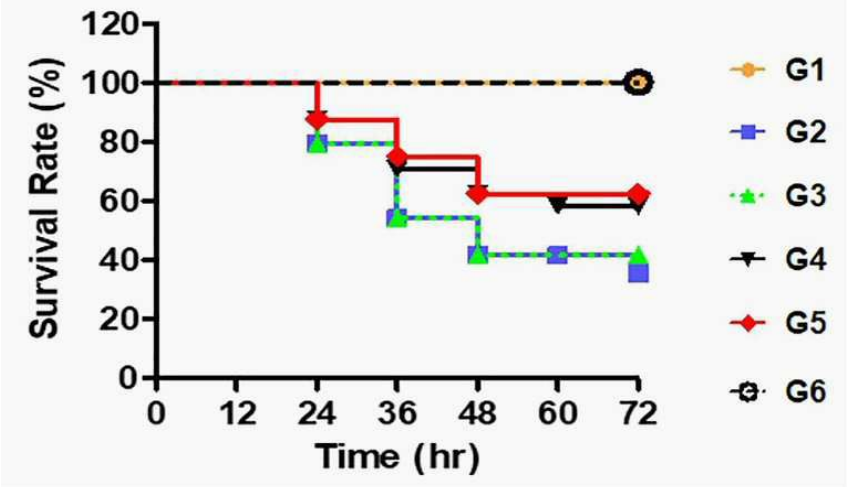
전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 문영준

(54) 발명의 명칭 **향청란 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 및 통증의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 향청란(*Dracocephalum moldavica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 상기 향청란 추출물을 포함하는 조성물은 마우스 모델에서 패혈증으로 인해 증가된 염증성 사이토카인을 감소시키는 것을 특징으로 한다. 구체적으로는, iNOS, COX2, 및 IL-6의 mRNA 및 단백질의 발현을 감소시켜 패혈증 또는 통증을 예방, 개선, 또는 치료하는 것을 특징으로 하며, 이에 따라 상기 조성물이 패혈증에 의한 사망율을 감소시켜 생존율을 개선시키고, 염증성 통증 및 신경병증성 통증 반응을 감소시키는 효과를 나타냄을 확인하여, 상기 조성물은 패혈증 또는 통증의 예방, 치료 또는 개선용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도10



(52) CPC특허분류
A61P 29/00 (2023.02)
A61P 31/04 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/324 (2013.01)

(72) 발명자
김경민
강원특별자치도 춘천시 둥지길47번길 7 104호
박현배
강원특별자치도 춘천시 돌담길 10 201호
한상덕
경기도 남양주시 화도읍 수레로 1142-7 현대1차아파트 105동204호
이은석
강원특별자치도 춘천시 백령로 215 110동 404호

(56) 선행기술조사문헌
K.R.Keikhaie et al., Int J Infect., Vol.5(1):e65295, 2017.12.24.*
Masoud Maham et al., 'Chemical Composition and Antinociceptive Effect of the Essential Oil of Dracocephalum moldavica L', Pharmaceutical sciences , Vol. 18, No. 4, pp. 187-192, 2013.*
Wibke Schulte et al., 'Cytokines in Sepsis: Potent Immunoregulators and Potential Therapeutic Targets-An Updated View', Vol. 2013, Article ID 165974, 2013.*
송은수 석사학위논문, 명지대학교 식품영양학과 (2019. 8. 31.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711108711
과제번호	2020R1C1C1004911
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	신진연구
연구과제명	미세먼지가 조현병의 신경발달 및 신경염증에 미치는영향 및 발병기전 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	강원대학교 산학협력단
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

향청란(Dracocephalum moldavica) 추출물을 유효성분으로 포함하는 iNOS(inducible nitric oxide synthase), COX2, 및 IL-6 의 mRNA 및 단백질의 발현 억제용 시약 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

향청란(Dracocephalum moldavica) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 생체 외(in vitro)에서 iNOS(inducible nitric oxide synthase), COX2, 및 IL-6 의 mRNA 및 단백질 발현 억제용 조성물.

청구항 17

향청란(Dracocephalum moldavica) 추출물을 투여하는 단계;를 포함하는,

생체 외(in vitro)에서 iNOS(inducible nitric oxide synthase), COX2, 및 IL-6 의 mRNA 및 단백질 발현을 억제하는 방법.

청구항 18

삭제

청구항 19

향청란(Dracocephalum moldavica) 추출물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계;를 포함하는,

LPS 로 유도된 iNOS(inducible nitric oxide synthase), COX2, 및 IL-6 의 mRNA 및 단백질의 증가된 발현을 억제하는 방법.

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 향청란(*Dracocephalum moldavica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 또는 통증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 패혈증(Sepsis)은 감염에 대한 비정상적인 숙주 반응으로 인해 발병되는 질환이다. 세계적으로 30일 이내 사망률이 20~30%에 달하고 국내 패혈증에 의한 사망률 역시 약 34.3%로 뇌졸중(9.3%), 심근경색(9.6%)보다 훨씬 높은 사망률을 기록하고 있지만 패혈증에 대한 인지도는 매우 낮은 실정이다. 최근 인구의 노령화와 만성질환자의 수명이 연장되고, 에이즈 등으로 면역력이 저하된 환자가 늘어나면서 감염으로 인한 패혈증 발생과 사망하는 환자 수가 급격히 증가하고 있다.

[0003] 현재 사용되고 있는 패혈증의 치료제로는 항생제와 스테로이드제 투여, 그리고 혈역학적인 보조제가 복합적으로 사용되고 있으나, 임상적으로 사망률에 뚜렷한 효과를 보이는 치료제 개발은 여전히 미흡한 실정이다. 패혈증의 진행과정에서 나타나는 임상적 특성의 하나가 전신에 걸친 체내 염증계가 과활성화되는 것이므로, 패혈증의 치료를 위하여 이러한 염증반응을 수반하거나 촉진하는 TNF-α, 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-6(IL-6) 및 HMGB1 등의 염증 유발 매개체를 억제할 수 있는 저해제 또는 억제제들을 중심으로 수많은 시도가 있어왔으나 환자의 생존율을 개선하지 못해 개발에 실패하였고, 현재까지 임상시험을 통과하여 패혈증 치료제로 개발에 성공한 사례가 거의 없다. 따라서, 패혈증을 예방 또는 치료하기 위해서는 염증 유발 사이토카인의 농도를 억제할 뿐만 아

니라 패혈증으로 인한 사망율, 즉 생존율을 개선시키는 것이 매우 중요하다.

[0004] 또한, 염증 과정은 의래 병원성 인자에 대한 방어 기작이지만, 독성 물질의 자극이 없는 경우에도 통증을 유발할 수 있다. 국소적 염증 반응은 전염증성 사이토키닌을 방출시키고, 사이클로옥시제나제-2를 상향조절하여 프로스타글라딘을 합성시킨다. 이는 일차 구심성신경(Primary neurons)을 민감하게 하는데, 주변의 신경세포를 민감하게 함으로써 신경 면역을 활성화시킨다. 따라서, 긍극적으로 열적 또는 기계적 과민 현상(hypersensitivity)이 일어난다. 상기와 같은 염증반응이 일어나는 경우, 통증이 수반되는데 이러한 통증은 조직에 손상을 주거나 잠재적인 손상을 줄 수 있는 유해 자극에 의해 나타나는 일종의 경고성 감각인 통각(nociceptive pain)과 손상된 조직, 그 주변조직으로부터 활성화되어 분비되는 IL-1β(인터류킨1) 등의 염증성 매개물들이 유해 감수기에 작용하여 나타나는 염증성 통증(inflammatory pain) 그리고 말초와 중추 신경의 자체 손상으로 인해 유해하지 않은 자극에도 지속적으로 나타나는 신경병증성 통증(neuropathic pain)으로 구별될 수 있다.

[0005] 그러나, 패혈증과 마찬가지로, 염증반응 억제 효과가 있는 물질이 반드시 통증을 예방 또는 치료하는 효과를 나타내는 것은 아니다. 한 연구결과에 따르면, 비스테로이드성 소염통증제 중 하나인 멜록시캄(Meloxicam)이 생쥐의 개복술 후 COX-2 관련 항염증 효과가 있었으나, 통증에는 효과적이지 못하였음을 확인하여, 항염증 효과가 반드시 통증의 예방 또는 치료 효과로 이어지지 않는다는 것을 확인한 바 있다.

[0006] 한편, 향청란(*Dracocephalum moldavica*)은 중앙아시아, 중국 북부, 동유럽 및 중부 유럽에 서식하는 다년생의 식물로서, 일반적으로 몰다비카용머리(Moldavian dragonhead) 혹은 Moldavian balm이라고 부른다. 전통적으로 심혈관계 질병 치료에 동아시아 지역에서 사용되어왔으며, 항산화와 같은 약리학적 효과가 있음이 알려진 바 있다. 그러나, 지금까지 향청란 추출물의 패혈증 또는 염증성 통증의 치료 및 개선에 대해서는 전혀 시사 또는 개시된 바가 없다.

[0007] 이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 체내의 과도한 염증반응을 개선하고 생존율을 개선시켜 패혈증의 예방 및 치료 효과를 나타내면서 부작용이 적은 천연물을 찾고자 예의 노력한 결과, 향청란 (*Dracocephalum moldavica*) 에탄올 추출물이 NO의 생성, COX2 또는 IL-6의 발현을 효과적으로 억제함으로써 패혈증 동물 모델에서 패혈증으로 인해 발생하는 사망률을 현저히 감소시키는 등의 패혈증의 예방 및 치료 효과를 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2019-0020469호

(특허문헌 0002) 한국공개특허 제10-2016-0106341호

비특허문헌

[0009] (비특허문헌 0001) JV Roughan et al., European Journal of pain. 20(2); 231-240, 2016

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 패혈증 또는 통증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 패혈증 또는 통증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0013] 본 발명은 향청란(*Dracocephalum moldavica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 또는 통증의 예방 또는 치

료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 향청란(*Dracocephalum moldavica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 또는 통증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 향청란 추출물을 포함하는 조성물은 마우스 모델에서 패혈증으로 인해 증가된 염증성 사이토카인을 감소시킬뿐만 아니라, 패혈증에 의한 사망율을 감소시켜 생존율을 개선시키고, 염증성 통증 및 신경병증성 통증 반응을 감소시키는 효과를 나타냄을 확인함에 따라, 패혈증 또는 통증의 예방, 치료 또는 개선용 조성물로 유용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 RAW 264.7 세포 배양액에서 NO assay를 통해 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 NO의 농도를 정량한 그래프이다.

도 2는 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 iNOS의 mRNA 발현량을 RT-qPCR로 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 iNOS의 단백질 발현량을 확인하여 정량한 그래프이다.

도 4는 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포 배양액의 PGE_2의 농도를 ELISA kit로 정량한 그래프이다.

도 5는 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 COX-2의 mRNA 발현량을 RT-qPCR로 확인한 그래프이다.

도 6은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 COX-2의 단백질 발현량을 western blot으로 확인한 그래프이다.

도 7은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 IL-6의 mRNA 발현량을 RT-qPCR로 확인한 그래프이다.

도 8은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포 배양액의 IL-6의 단백질 발현량을 ELISA kit로 정량한 그래프이다.

도 9는 마우스 모델을 이용하여 향청란 추출물의 항패혈증 효과를 확인하기 위한 실험 절차를 나타낸 것이다.

도 10은 본 발명의 향청란 추출물의 LPS 유도 패혈증 모델에서 생존율 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 11은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 LPS 유도 패혈증 모델의 혈장내 IL-6 농도를 정량한 그래프이다.

도 12는 마우스 모델을 이용하여 향청란 추출물의 항통증 효과를 확인하기 위한 실험 절차를 나타낸 것이다.

도 13은 시간에 따른 통증 관련 행동 시간(sec)을 기록한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 14는 향청란 추출물 처리에 따른 Phase Ⅰ과 Ⅱ에 해당하는 통증 관련 행동 시간을 합산하여 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명의 실시예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 실시예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허 청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0018] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따

라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다.

[0019] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 도입된다.

[0020] 본 발명에서 어떤 구성요소를 "포함"한다는 것은, 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0022] **패혈증 또는 통증 예방 또는 개선용 약학적 조성물**

[0023] 본 발명은 향청란(*Dracocephalum moldavica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 또는 통증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0024] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 특정 질환 의 증상을 억제하거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0025] 본 발명에서 사용되는 용어 "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 특정 질환의 증상을 호전 또는 이롭게 변경시키는 모든 행위를 의미한다.

[0026] 본 발명의 향청란 추출물은 패혈증으로 인해 증가된 염증성 사이토카인의 생성 또는 발현을 감소시킬뿐만 아니라, 패혈증에 의한 사망율을 감소시켜 생존율을 개선시키는 효과를 나타냄으로서 패혈증 예방 또는 치료 효과를 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0027] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 패혈증은 그람 음성균의 외막에 존재하는 지질다당류(Lipopolysaccharide)에 의해 유발되는 세균성 패혈증인 것일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0028] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 패혈증으로 인한 사망율 증가를 감소시키는 것일 수 있다.

[0029] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 마우스 모델에서 패혈증에 의해 폭풍적으로 증가된 혈장내 염증 인자 IL-6 농도를 감소시킬뿐만 아니라, 패혈증으로 인한 사망률 증가를 억제하여 마우스의 생존율을 개선시킬 수 있음을 확인하였다(실험예 1 및 2 참조).

[0030] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 패혈증으로 인한 염증성 사이토카인의 생성 또는 발현 증가를 억제하여 패혈증 예방 또는 치료 효과를 나타내는 것일 수 있다. 이때, 상기 염증성 사이토카인은 염증성 사이토카인 및 염증 관련 인자들을 의미하는 것일 수 있고, 바람직하게는, NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2 및 IL-6로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.

[0031] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 LPS에 의한 NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2, 및 IL-6의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시키는 항염증 효과가 있음을 확인하였으며(실험예 1 참조), 마우스 모델에서 패혈증에 의해 폭풍적으로 증가된 혈장내 염증 인자 IL-6 농도를 감소시키는 효과가 있음을 확인하였다(실험예 2 참조).

[0032] 본 발명의 향청란 추출물은 염증성 사이토카인 및 염증 관련 인자의 생성 또는 발현을 감소시킬뿐만 아니라, 통증 반응 자체를 억제하는 진통 효과를 나타냄으로써 통증의 예방 또는 치료 효과를 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0033] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 통증은 물리적 자극 또는 화학적 자극에 의한 통증인 것일 수 있고, 바람직하게는, 염증성(inflammatory) 통증 또는 신경병증성(neuropathic) 통증인 것일 수 있다.

[0034] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 염증성 사이토카인의 생성 또는 발현 증가를 억제하여 통증 예방 또는 치료 효과를 나타내는 것일 수 있다. 이때, 상기 염증성 사이토카인은 염증성 사이토카인 및 염증 관련 인자들을 의미하는 것일 수 있고, 바람직하게는, NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2 및 IL-6로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.

[0035] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 LPS에 의한 NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2, 및 IL-6의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시키는 항염증 효과가 있음을 확인하였다(실험예 1 참조).

[0036] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 통증 반응을 억제하는 진통효과를 나타내는 것일 수 있다.

[0037] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 마우스 모델에서 약물반응으로 인해 유발된 염증성 통증 및 신경병증성 통증 관련 행동을 억제하는 진통 효과가 있음을 확인하였다(실험예 3 참조).

[0038] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 향청란 잎 또는 전초로부터 추출되는 것일 수 있다.

[0039] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 추출물을 분리 및 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 추출물은 적절한 용매를 이용하여 상기의 방법으로 준비된 유효성분 원료를 그대로 또는 분말 상태로 분쇄하여 추출할 수 있다. 이때 추출물을 수득하기 위해 사용할 수 있는 적절한 용매로는 당업계에서 허용되는 용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물, 탄소수 1 내지 탄소수 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 추출물을 제조할 수 있다. 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는 바람직하게는 물 또는 에탄올로부터 선택되는 1종 이상의 추출용매를 사용하여 추출할 수 있고, 보다 바람직하게는 50-90% 에탄올 수용액을 이용하여 추출할 수 있고, 70% 에탄올 수용액을 이용하는 것이 가장 바람직하다.

[0040] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 추출물의 제조방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.

[0041] 예를 들면, 본 발명의 조성물에 포함되는 추출물은 상기한 용매 추출법으로 추출된 1차 추출물을, 원심분리, 여과, 농축후 동결 건조하여 냉장실에 보관하면서 그대로 사용할 수도 있고, 상기 1차 추출물을 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수 있다. 또한, 상기 1차 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography)등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획을 얻을 수도 있다.

[0042] 따라서 본 발명에 있어서 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.

[0043] 상기 약학적 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다. 상기에서 "약학적으로 허용되는"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 약학적으로 허용되는 담체로는, 예를 들면, 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등과 같은 경구투여용 담체 및 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등과 같은 비경구 투여용 담체 등이 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed, Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).

[0044] 본 발명에 따른 약학 조성물은 상술한 바와 같은 약학적으로 허용되는 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 적합한 형태로 제형화 될 수 있다. 즉, 본 발명의 약학 조성물은 공지의 방법에 따라 다양한 비경구 또는 경구 투여용 형태로 제조될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.

[0045] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이

해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0046] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0047] 상기 약학적 조성물은 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 담체, 부형제, 또는 희석제는 예를 들어, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알기네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 또는 광물유를 포함할 수 있다.

[0048] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어, "투여"란 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한, 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여, 뇌혈관내 투여될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0049] 상기 용어, "개체"란 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 바람직하게는, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.

[0050] 상기 용어, "약학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며, 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 일반적으로 약 0.001~100 mg/kg/day이며, 바람직하게는 0.01~35 mg/kg/day이다. 몸무게가 70kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.07~7000 mg/day이며, 바람직하게는 0.7~2500 mg/day이며, 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.

[0051] 본 발명의 조성물은 패혈증 또는 통증의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0053] **패혈증 또는 통증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물**

[0054] 본 발명은 향청란(*Dracocephalum moldavica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 또는 통증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0055] 본 발명에서 사용되는 용어 "개선"은 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0056] 본 발명에서 사용되는 용어 "건강기능식품"이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캡슐제, 환제, 액제, 분말 또는 과립 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 말한다. 여기서 '기능성'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 기술분야에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 통상의 기술분야에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 건강기능식품의 제형 또한 건강기능식품으로 인정되는 제형이면 제한없이 제조될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품 유래 성분을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 발명의 건강기능식품은 패혈증 치료제의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0057] 또한, 본 발명은 향청란(*Dracocephalum moldavica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 패혈증 또는 통증의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0058] 본 발명의 상기 향청란 추출물은 패혈증으로 인해 증가된 염증성 사이토카인의 생성 또는 발현을 감소시킬뿐만 아니라, 패혈증에 의한 사망율을 감소시켜 생존율을 개선시키는 효과를 나타냄으로써 패혈증 예방 또는 개선 효

과를 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0059] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 패혈증은 그람 음성균의 외막에 존재하는 지질다당류(Lipopolysaccharide)에 의해 유발되는 세균성 패혈증인 것일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0060] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 패혈증으로 인한 사망율 증가를 감소시키는 것일 수 있다.

[0061] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 마우스 모델에서 패혈증에 의해 폭풍적으로 증가된 혈장내 염증 인자 IL-6 농도를 감소시킬뿐만 아니라, 패혈증으로 인한 사망률 증가를 억제하여 마우스의 생존율을 개선시킬 수 있음을 확인하였다(실험예 1 및 2 참조).

[0062] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 패혈증으로 인한 염증성 사이토카인의 생성 또는 발현 증가를 억제하여 패혈증 예방 또는 치료 효과를 나타내는 것일 수 있다. 이때, 상기 염증성 사이토카인은 염증성 사이토카인 및 염증 관련 인자들을 의미하는 것일 수 있고, 바람직하게는, NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2 및 IL-6로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.

[0063] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 LPS에 의한 NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2, 및 IL-6의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시키는 항염증 효과가 있음을 확인하였으며(실험예 1 참조), 마우스 모델에서 패혈증에 의해 증가된 혈장내 염증 인자 IL-6 농도를 감소시키는 효과가 있음을 확인하였다(실험예 2 참조).

[0064] 본 발명의 향청란 추출물은 염증성 사이토카인 및 염증 관련 인자의 생성 또는 발현을 감소시킬뿐만 아니라, 통증 반응 자체를 억제하는 진통 효과를 나타냄으로써 통증의 예방 또는 개선 효과를 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0065] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 통증은 물리적 자극 또는 화학적 자극에 의한 통증인 것일 수 있고, 바람직하게는, 염증성(inflammatory) 통증 또는 신경병증성(neuropathic) 통증인 것일 수 있다.

[0066] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 염증성 사이토카인의 생성 또는 발현 증가를 억제하여 통증 예방 또는 개선 효과를 나타내는 것일 수 있다. 이때, 상기 염증성 사이토카인은 염증성 사이토카인 및 염증 관련 인자들을 의미하는 것일 수 있고, 바람직하게는, NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2 및 IL-6로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.

[0067] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 LPS에 의한 NO(nitric oxide), PGE_2, iNOS, COX-2, 및 IL-6의 mRNA 또는 단백질 발현을 감소시키는 항염증 효과가 있음을 확인하였다(실험예 1 참조).

[0068] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 통증 반응을 억제하는 진통효과를 나타내는 것일 수 있다.

[0069] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물이 마우스 모델에서 약물반응으로 인해 유발된 염증성 통증 및 신경병증성 통증 관련 행동을 억제하는 진통 효과가 있음을 확인하였다(실험예 3 참조).

[0070] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 향청란 잎 또는 전초로부터 추출되는 것일 수 있다.

[0071] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물에 있어서, 상기 향청란 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 추출물을 분리 및 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 추출물은 적절한 용매를 이용하여 상기의 방법으로 준비된 유효성분 원료를 그대로 또는 분말 상태로 분쇄하여 추출할 수 있다. 이때 추출물을 수득하기 위해 사용할 수 있는 적절한 용매로는 당업계에서 허용되는 용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물, 탄소수 1 내지 탄소수 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 추출물을 제조할 수 있다. 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있

으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는 바람직하게는 물 또는 에탄올로부터 선택되는 1종 이상의 추출용매를 사용하여 추출할 수 있고, 보다 바람직하게는 50-90% 에탄올 수용액을 이용하여 추출할 수 있고, 70% 에탄올 수용액을 이용하는 것이 가장 바람직하다.

[0072] 본 발명에 따른 상기 건강기능식품 조성물 또는 건강식품 조성물은 패혈증을 예방 또는 개선시키기 위한 목적으로 상기 향청란 추출물을 식품, 음료 등의 건강기능식품 또는 건강식품에 첨가한 것일 수 있다.

[0073] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명에 따른 향청란 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소시지, 빵, 비스킷, 떡, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제, 유제품 및 유가공 제품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품 및 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0074] 본 발명에 따른 건강식품 및 건강기능식품 조성물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 상기 향청란 추출물의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 및 건강기능식품 중의 상기 향청란 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 유지를 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0075] 본 발명의 건강식품 및 건강기능식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명에 따른 향청란 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트라이톨 등의 당알코올이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능성 식품 조성물 100 g당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0076] 상기 외에 본 발명에 따른 향청란 추출물을 함유하는 건강식품 및 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강식품 및 건강기능식품 조성물은 천연 과일쥬스 및 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0077] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 유효물질을 함유하는 건강식품 및 건강기능식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0079] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0081] **<실시예 1> 향청란 추출물의 제조**

[0082] 건조된 향청란(*Dracocephalum moldavica*)을 구입(내몽고몽약고분유한공사, 중국 내몽고 통랴오시)하여 전초를 분쇄기(mixer)를 이용하여 극세말하였다. 상기 극세말한 분말에 70% 에탄올 10배량(v/v)을 가하여 60℃에서 초음파 추출장치(POWERSONIC 410, 화신테크)로 2시간 동안 2회 추출하였다. 추출액을 filter paper (110mmØ, whatman)를 이용하여 감압여과 후, 감압농축기(NE-1001, EYELA)로 감압 농축하고, 동결건조기(FDU-2200, EYELA)로 동결건조하여 향청란 추출물 분말을 얻었다. 동결 건조한 분말을 -70℃ 냉동고에 보관하고, 실험시 0.9% 생리식염수에 녹여 사용하였다. 향청란 추출물의 수득률은 11.98%였다.

[0084] **<실험예 1> 향청란 추출물의 항염증 효과**

[0085] 본 발명의 향청란 추출물의 항염증 효과를 확인하기 위해 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포에 실시예 1의 향청란 추출물 (50, 100, 200 μg/mL)을 전처리 하였다. 1시간 뒤에 Lipopolysaccharide (LPS) 1 μg/mL를 처리하여 염증을 유도하였다. LPS 처리 24시간 후 세포의 배양액을 수거하여 NO, PGE_2 및 IL-6의 농도를 정량하였다.

또한, 세포를 수거하여 RT-qPCR을 이용하여 mRNA 수준의 iNOS와 COX-2, IL-6의 변화를 확인하였고, western blot으로 단백질 수준의 iNOS와 COX-2의 변화를 확인하였다.

[0086] 도 1은 RAW 264.7 세포 배양액에서 NO assay를 통해 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 NO의 농도를 정량한 그래프이다. LPS로 NO의 농도가 증가하였고 본 발명의 향청란 추출물을 전처리 하였을 때 농도 의존적으로 NO의 생성량을 감소시키는 것을 확인하였다.

[0087] 도 2는 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 iNOS의 mRNA 발현량을 RT-qPCR로 확인한 결과를 나타낸 그래프이다. NO를 생성하는 효소인 iNOS의 mRNA 발현량이 LPS에 의해 유의적으로 증가하였고, 본 발명의 향청란 추출물의 전처리로 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.

[0088] 도 3은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 iNOS의 단백질 발현량을 확인하여 정량한 그래프이다. LPS로 iNOS의 단백질 발현량이 유의적으로 증가하였고, 본 발명의 향청란 추출물의 전처리로 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.

[0089] 도 4는 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포 배양액의 PGE_2의 농도를 ELISA kit로 정량한 그래프이다. LPS로 인해 PGE_2의 농도가 증가하였고 본 발명의 향청란 추출물을 전처리 하였을 때 농도 의존적으로 PGE_2의 생성량을 감소시키는 것을 확인하였다.

[0090] 도 5는 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 COX-2의 mRNA 발현량을 RT-qPCR로 확인한 그래프이다. PGE_2를 생성하는 효소인 COX-2의 mRNA 발현량이 LPS로 인해 유의적으로 증가하였고, 본 발명의 향청란 추출물 200 μg/mL이상 전처리하였을 때, 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.

[0091] 도 6은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 COX-2의 단백질 발현량을 western blot으로 확인한 그래프이다. LPS로 COX-2의 단백질 발현량이 유의적으로 증가하였고, 본 발명의 향청란 추출물 200 μg/mL이상 전처리하였을 때, 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.

[0092] 도 7은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포에서 IL-6의 mRNA 발현량을 RT-qPCR로 확인한 그래프이다. 본 발명의 향청란 추출물이 LPS로 유도된 염증성 사이토카인인 IL-6의 mRNA 발현을 농도 의존적으로 억제하는 것을 확인하였다.

[0093] 도 8은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 RAW 264.7 세포 배양액의 IL-6의 단백질 발현량을 ELISA kit로 정량한 그래프이다. LPS로 유도된 IL-6의 발현 증가는 본 발명의 향청란 추출물에 의해 농도 의존적으로 감소하였다.

[0094] 결과적으로, 본 발명의 향청란 추출물은 염증성 사이토카인 및 염증 관련 인자들의 mRNA 발현 및 단백질 발현을 감소시키는 항염증 효과가 있음을 확인하였다.

[0096] **<준비예 1> 실험 동물 준비**

[0097] 수컷 CD1-ICR 마우스(5주령, 25-30g)를 Charles River Laboratories(한국 서울)의 Orient Co. Ltd.에서 구입하여, 마우스를 케이지당 5 그룹으로 수용하고, 일정한 온도(23±1℃) 및 상대 습도(60±10%)에서 12시간 명/암주기(07:00~19:00에 점등)를 유지하면서 음식 및 물을 자유롭게 제공하였다. 동물 처리 및 유지 관리는 실험실 동물 관리 원칙(NIH 공보 번호 85-23, 1985년 개정)과 대한민국 강원대학교 동물실험윤리위원회(KW-200128-1)에 따라 수행하였다.

[0099] **<실험예 2> 향청란 추출물의 항패혈증 효과**

[0100] 본 발명의 향청란 추출물의 항패혈증 효과를 확인하기 위해 5주령 수컷 ICR 마우스에게 향청란 추출물 (50, 100, 200 mg/kg)을 함께 7일간 경구투여 하였다. 8일차에 Lipopolysaccharide (LPS) 25 mg/kg를 복강투여하여 패혈증을 유도하였다. 항패혈증 효과를 확인하기 위한 실험 절차는 도 9에 나타난 바와 같으며, 각 실험그룹당 투여 조건은 하기 표 1에 나타난 바와 같이 처리하였다. 대조군으로는 향청란 추출물 대신 식염수(9% saline)를 투여하였고, 실험그룹은 각 군당 12마리씩 총 6개 군으로 하였다. 각 군당 8마리는 12시간 간격으로 최대 72시간 생존율을 확인하여 표 1 및 도 10에 나타내었다. 또한, 각 군당 4마리는 희생시켜 배대정맥에서 채혈하여 혈장내 염증 물질인 IL-6를 정량하여 도 11에 나타내었다.

표 1

[0101]

그룹명		투여 조건	생존율(Survival Rate, %)
정상군	G1	0.9% Saline	100
대조군	G2	0.9% Saline + LPS 25 mg/kg	38

실시예군 1-1	G3	향청란 추출물 50 mg/kg + LPS 25 mg/kg	42
실시예군 1-2	G4	향청란 추출물 100 mg/kg + LPS 25 mg/kg	58
실시예군 1-3	G5	향청란 추출물 200 mg/kg + LPS 25 mg/kg	63
실시예군 1-4	G6	향청란 추출물 100 mg/kg + 0.9% Saline	100

[0103] 도 10은 본 발명의 향청란 추출물의 LPS 유도 패혈증 모델에서 생존율 증가 효과를 나타낸 그래프이다. 실험 결과, 향청란 추출물의 처리 농도가 높아질수록 대조군 대비 생존율이 현저하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0104] 도 11은 본 발명의 향청란 추출물 처리에 따른 LPS 유도 패혈증 모델의 혈장내 IL-6 농도를 정량한 그래프이다. LPS에 의해 혈장내 IL-6의 농도가 유의적으로 증가하였고, 본 발명의 향청란 추출물을 7일간 경구투여 한 그룹에서 유의적으로 감소시키는 것을 확인하였다.

[0105] 결과적으로, 본 발명의 향청란 추출물은 패혈증에 의해 폭발적으로 증가된 염증성 사이토카인을 현저하게 감소시킬 뿐만 아니라, 패혈증으로 인한 사망율을 감소시켜 생존율을 크게 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

[0107] **<실험예 3> 향청란 추출물의 진통 효과**

[0108] 본 발명의 향청란 추출물의 항통증 효과를 확인하기 위해 5주령 수컷 ICR 마우스에게 향청란 추출물 (200, 500 mg/kg)을 경구투여하였다. 향청란 경구투여 1시간 뒤, 5% 포르말린(formalin) 40 μL를 마우스의 우측 뒷 발바닥에 투여하여 통증을 유발하였다. 항통증 효과를 확인하기 위한 실험 절차는 도 12에 나타난 바와 같으며, 각 실험그룹당 처리 조건은 하기 표 2에 나타난 바와 같다. 구체적으로, 군 당 8마리씩 5분 간격으로 통증 관련 행동(Pain Related Behavior)을 40분 동안 관찰해 향청란 추출물의 항진통 효과 여부를 확인하였다. 통증 유발 직후, 0분~5분 (Phase Ⅰ)은 급성통증으로 물리적인 자극 (주사바늘)에 의한 염증성 통증으로 정의하였고, 20분~40분 (Phase Ⅱ)은 화학적 자극 (약물반응)에 의한 염증성 통증 및 신경과민화에 의한 신경병증성 통증으로 정의하였다. 각 군별 통증 관련 행동을 나타낸 시간(sec)을 측정한 결과는 표 2 및 도 13 내지 14에 나타내었다.

표 2

[0109]

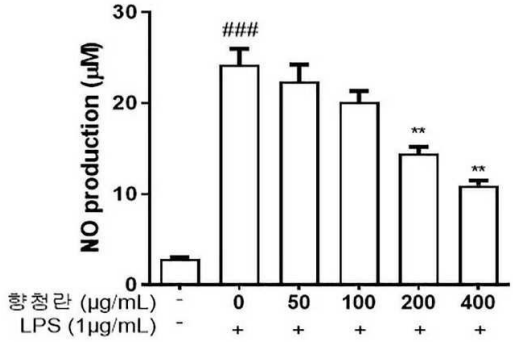
그룹명		투여 조건	Phase Ⅰ (sec)	Phase Ⅱ (sec)
대조군	G1	0.9% Saline + 5% 포르말린 40 μL	2,242	4,738
실시예군 2-1	G2	향청란 추출물 200 mg/kg + 5% 포르말린 40 μL	1,746	3,254
실시예군 2-2	G3	향청란 추출물 100 mg/kg + 5% 포르말린 40 μL	1,656	2,853
양성대조군	G4	디클로페낙 100 mg/kg + 5% 포르말린 40 μL	1,157	1,349

[0111] 도 13은 시간에 따른 통증 관련 행동 시간(sec)을 기록한 결과를 나타낸 그래프이다. 표 2는 각각 Phase Ⅰ과 Ⅱ에 해당하는 통증 관련 행동 시간을 합산하여 나타낸 표이고, 이를 도 14에 막대 그래프로 나타내었다. 본 발명의 향청란 추출물을 투여한 그룹에서 대조군 대비 통증 관련 행동 시간이 감소한 것으로 나타났고, 이러한 결과로부터 향청란 추출물이 염증성 통증 및 신경병증성 통증을 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

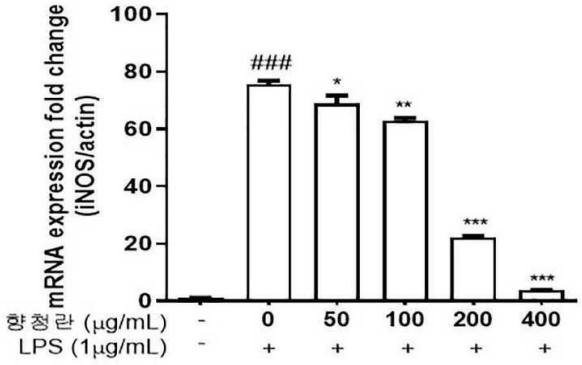
[0113] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특히 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

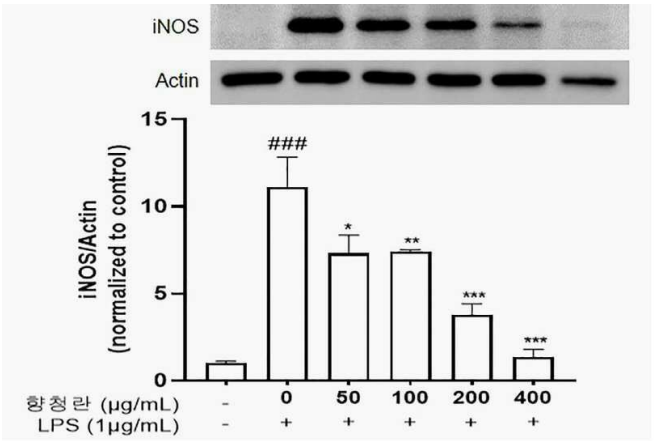
도면1



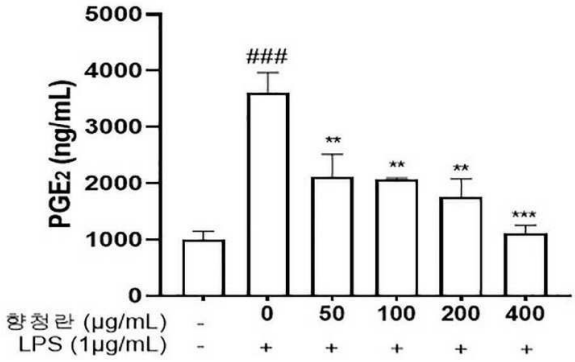
도면2



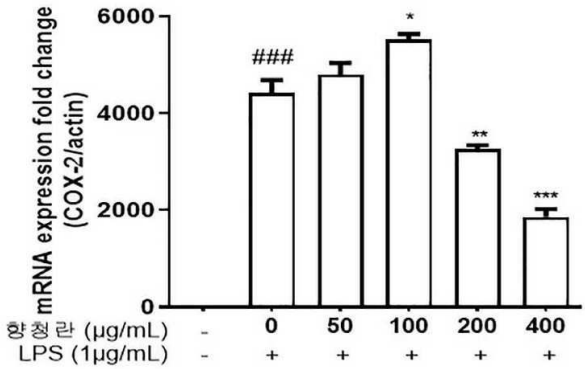
도면3



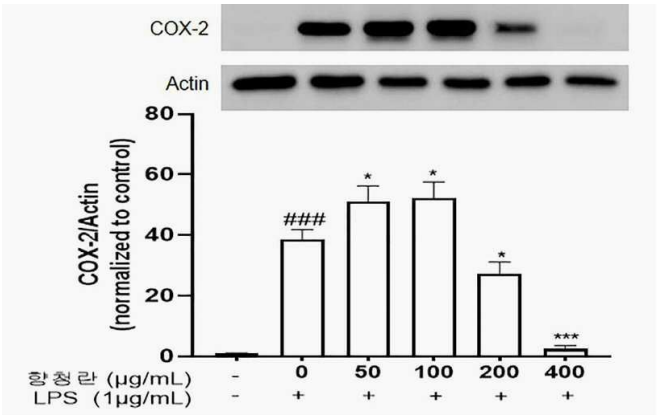
도면4


5000
4000
3000
2000
1000
0
PGE2 (ng/mL)
###
**
**
**
***
향청란 (μg/mL) - 0 50 100 200 400
LPS (1μg/mL) - + + + + +

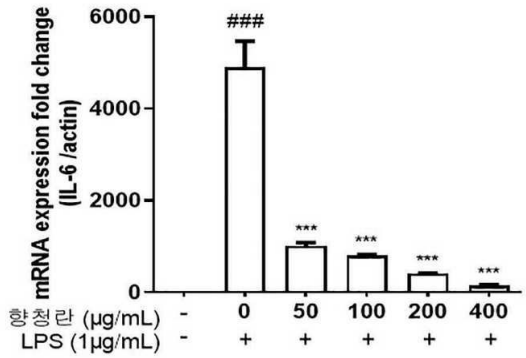
도면5


6000
4000
2000
0
mRNA expression fold change (COX-2/actin)
###
*
**
***
향청란 (μg/mL) - 0 50 100 200 400
LPS (1μg/mL) - + + + + +

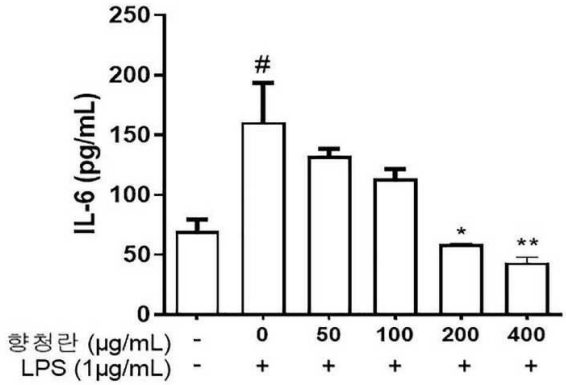
도면6


COX-2
Actin
80
60
40
20
0
COX-2/Actin (normalized to control)
###
*
*
*
***
향청란 (μg/mL) - 0 50 100 200 400
LPS (1μg/mL) - + + + + +

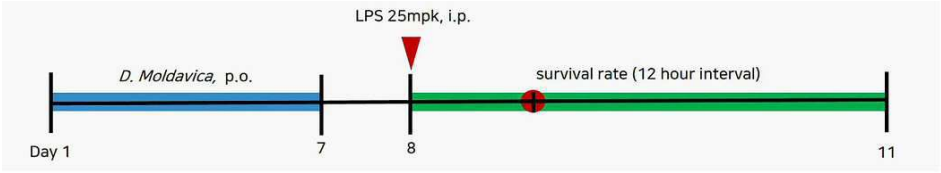
도면7


mRNA expression fold change
(IL-6 /actin)
6000
4000
2000
0
###
***
***
***
***
향청란 (μg/mL) - 0 50 100 200 400
LPS (1μg/mL) - + + + + +

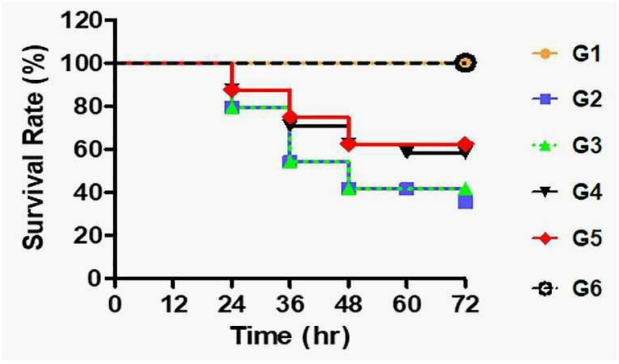
도면8


IL-6 (pg/mL)
250
200
150
100
50
0
#
*
**
향청란 (μg/mL) - 0 50 100 200 400
LPS (1μg/mL) - + + + + +

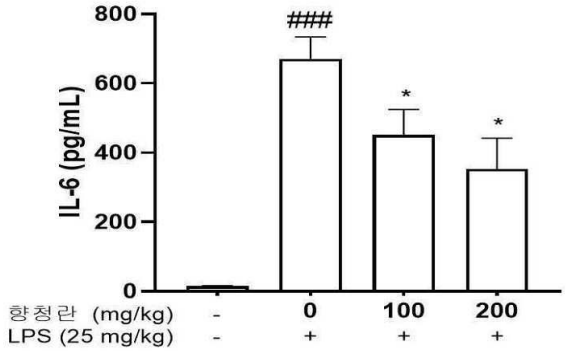
도면9


LPS 25mpk, i.p.
D. Moldavica, p.o.
survival rate (12 hour interval)
Day 1
7
8
11

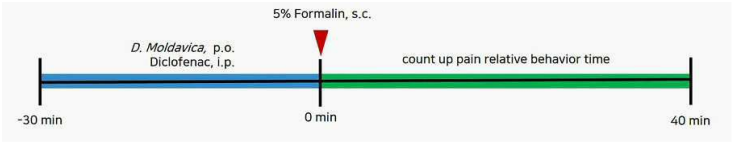
도면10



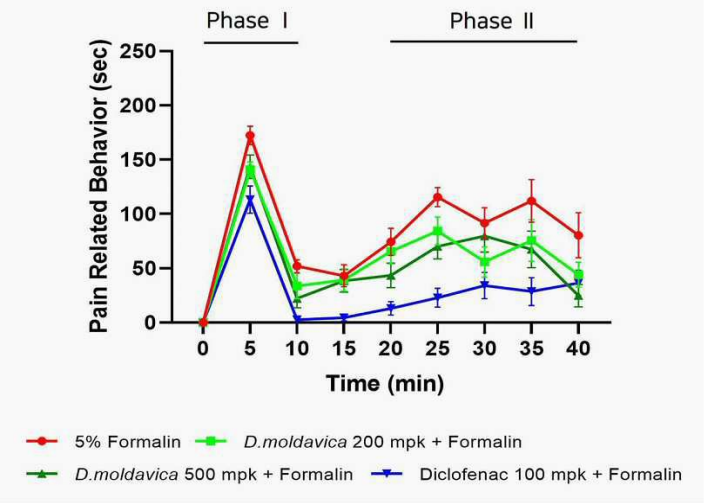
도면11



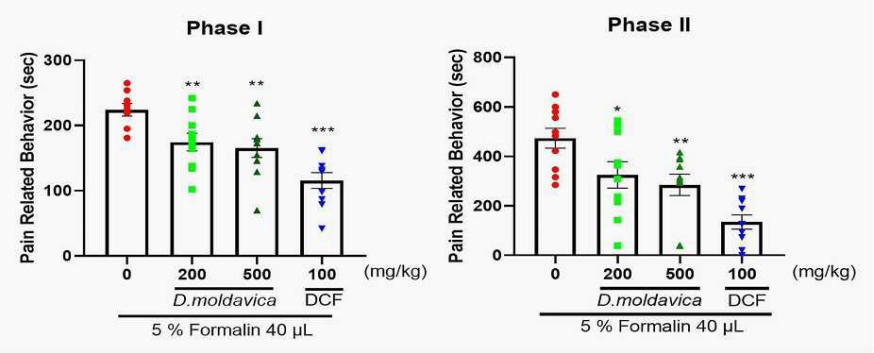
도면12



도면13


Phase I
Phase II
Pain Related Behavior (sec)
250
200
150
100
50
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40
Time (min)
5% Formalin
D.moldavica 200 mpk + Formalin
D.moldavica 500 mpk + Formalin
Diclofenac 100 mpk + Formalin

도면14


Phase I
Pain Related Behavior (sec)
300
200
100
0
**
**
***
0
200
500
100
(mg/kg)
D.moldavica
DCF
5 % Formalin 40 μL
Phase II
Pain Related Behavior (sec)
800
600
400
200
0
*
**
***
0
200
500
100
(mg/kg)
D.moldavica
DCF
5 % Formalin 40 μL