(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0121102
(43) 공개일자 2009년11월25일

(51) Int. Cl.
A61K 36/02 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-0047224
(22) 출원일자 2008년05월21일
심사청구일자 2008년05월21일

(71) 출원인
재단법인 제주하이테크산업진흥원
제주 제주시 아라1동 4-8번지
(72) 발명자
현창구
제주도 제주시 일도2동 삼화아파트 나동 106호
윤원종
제주도 제주시 노형동 1047-10번지
이남호
제주도 제주시 아라2동 1148번지 프로빌아파트 104동 202호
(74) 대리인
손민

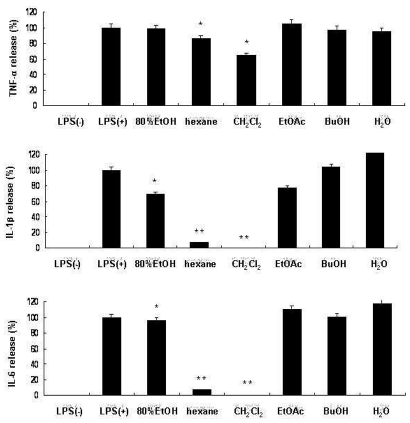
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 해조추출물을 포함하는 염증 및 피부자극 개선 및 완화용조성물

(57) 요 약

본 발명은 항염 및 항자극 효과가 뛰어난 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합 추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 피부외용 약학 조성물 또는 화장료 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 상기 조성물은 피부자극에 핵심적으로 작용하는 시토카인 생성을 효과적으로 억제하고 인체 피부에 안전하므로 약제학적 조성물 또는 화장료 조성물로써 유용하게 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도9



특허청구의 범위

청구항 1

경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택되는 물질을 포함하는 염증 및 피부자극의 개선 및 완화용 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1-4의 무수 또는 함수 저급 알코올 및 이들의 혼합용매로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 것인 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 용매는 물, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 물질은 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 내지 5 중량%로 포함된 것인 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 크림, 젤, 패취, 스프레이제, 연고제, 경고제 및 로션제로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 6

경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택되는 물질을 포함하는 염증 및 피부자극의 개선 및 완화용 화장료 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1-4의 무수 또는 함수 저급 알코올 및 이들의 혼합용매로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 것인 화장료 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 용매는 물, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 물질은 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 내지 5 중량%로 포함된 것인 화장료 조성물.

청구항 10

제6항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 스킨로션, 스킨소프터, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스쳐로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

<1> 본 발명은 항염 및 항자극 효과가 뛰어난 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합 추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 약제학적 조성물 또는 화장료 조

성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

<2> 산업화가 진행되면서 건조한 실내 환경, 공해, 자외선, 바람, 오용된 화장품이나 세제류 등 외부 자극에 의해 피부가 민감해져가는 여성들이 늘어나고 있다. 외부 자극에 의해 민감해진 피부는 홍반과 같이 단순히 가시적인 경우도 있으며, 또한 가려움, 따가움 등과 같이 격심하고 불쾌한 염증 반응을 나타내는 경우가 있으므로 대중적인 피부화장료 조성물을 사용하기에는 약간 부담스럽고 지속적으로 사용하는 것을 자제하게 된다.

<3> 화장품의 사용에 의해 일어날 수 있는 피부 자극에는 가려움 (itching), 따끔거림 (stinging) 및 화끈거림 (burning)등의 자극감과 홍반 (erythema) 및 부종 (edema) 등이 있다. 이러한 자극들은 염증 반응의 현상으로 염증을 경감시키거나 제거시키는 작용을 하는 것을 항염제라 한다. 현재까지 항염의 목적으로 이용되고 있는 물질로는 비스테로이드계로서 플루페나믹산 (flufenamic acid), 이부프로펜 (ibuprofen), 벤지다민 (benzydamine), 인도메타신 (indometacine)등이 있고, 스테로이드 계통으로 프레드니솔론 (prednisolone), 덱사메타손 (dexamethasone) 등이 있으며 (김창종, 병태생리학, 한림상사, p61-69, 1988), 알란토인, 아즈렌, ε-아미노키프론산, 하이드로코티존(v), 감초산 및 그 유도체 (β-글리칠레친산, 글리칠레친산유도체) 등이 항염증에 효과가 있는 것으로 알려져 있으나 (광정무부, 신화장품학, 남산당, p162, 1993), 인도메타신은 화장료에는 사용할 수 없는 물질이고 하이드로코티존은 사용량이 제한되어 있으며, 감초산 및 그 유도체는 안정화시키기 어렵거나 용해도가 좋지않아 실제 적용시 농도의 제한으로 인하여 실질적인 효과를 거두기가 어려운 문제점을 가지고 있다.

<4> 피부 자극반응의 메카니즘은 정확히 밝혀지지는 않았으나, 피부 방어벽에 이상이 생겨 자극물질이 피부속으로 침투, 염증을 일으킬 것이라는 의견이 지배적이다. 피부 자극물질은 세포내 신진대사 기능의 비가역적 반응을 일으키고, 자극과 함께 수반된 통증에 의해 자극된 피부신경계는 염증 반응을 더 확대시킨다.

<5> 그러므로 피부자극 완화 효과를 확인하는 방법으로서 염증인자인 시토카인을 억제하는 천연추출물에 대한 탐색이 활발히 진행되고 있다. 구체적으로, 한국 등록특허 제10-0444599호에는 피부자극 및 염증완화 효과를 갖는 라스베리 잎 또는 열매추출물을 함유한 피부 외용제 조성물이 개시되어 있고, 한국 공개특허 제10-2004-0008305호에는 수박 내피 추출물을 함유하는 민감성 화장료 조성물이 공개되어 있으며, 한국 공개특허 제10-2004-0046519호에는 피부자극 완화 및 항염증 효능을 갖는 천문동 추출물 및 이를 함유한 화장료 조성물에 대하여 공개하고 있다. 그러나 상기 성분들을 사용하여 화장품을 제조하는 경우 그 제조과정 또는 제품보관 중에 빛과의 반응에 의해 산화되어 화장품의 색이 변색되는 등의 단점이 있다. 따라서 산화방지제, UV 흡수제, 금속킬레이트제등의 첨가제를 첨가하여 이러한 변색을 줄이고자 하였으나, 이러한 첨가제를 다량 사용하는 경우에 피부를 자극하는 등 피부안정성에 문제점이 있고, 목적하는 만큼의 충분한 자극완화 효과를 얻을 수 없다는 단점이 있다.

<6> 한편, 경단구슬모자반(*Sargassum muticum*)은 한국산 모자반속 식물중 다른 모자반속 식물과 구분하여 새로이 명명된 종으로 제주 전통 토속음식인 몸국의 주된 재료로 생리활성에 대한 연구로는 항산화 및 항균효과에 대한 연구결과가 보고되었다. (한국식품영양과학회지 36(6): 663-669, 2007). 잔가시모자반(*Sargassum micracanthum*)는 갈조식물 모자반과의 바닷말로 해안가의 조간대 하부에서 뭉쳐난다. 식물체는 반상(盤狀)의 뿌리에서 줄기가 1개 또는 여러 개로 직립하고 삼릉형(三陵形)이며 다소 비틀어진다. 줄기의 능선에는 흔히 가시가 있으며 약 30cm 정도 자란다. 잔가시모자반에 대한 생리활성 효과에 대한 연구는 보고되어 있지 않다.

<7> 이에 본 발명자들은, 피부자극 완화에 효능이 있는 해조류유래 천연물질을 찾고자 제주도 해조 추출물을 연구한 결과, 본 발명의 경단구슬모자반과 잔가시모자반 추출물이 피부자극 현상을 완화하고 항염증 효과 및 인체 피부 안전성을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<8> 본 발명의 목적은 항염 및 항자극 효과가 뛰어난 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합 추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 피부외용 약학 조성물 및 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

<9> 하나의 양태로서, 본 발명은 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합 추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택되는 물질을 포함하는 염증 및 피부자극의 개선 및 완화용 조성물에 관한 것이다.

<10> 본 발명에서 사용된 용어, "추출물(extract)"은 천연물로부터 분리된 염증 및 피부자극 개선 및 완화 활성을 가지는 물질을 말한다. 또한 본 발명에서 추출물은 추출액뿐만 아니라 이의 건조 분말 또는 이를 이용하여 제형화된 모든 형태를 포함하는 의미로 사용된다.

<11> 본 발명에서 추출물은 물, 유기 용매 또는 이의 혼합 용매를 사용하여 추출할 수 있으며, 바람직하게는 유기 용매를 사용하여 추출할 수 있다. 추출한 액은 액체 형태로 사용하거나 또는 농축 및/또는 건조하여 사용할 수 있다. 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 저급알코올(메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 부탄올 등), 에틸렌, 아세톤, 헥산, 에테르, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 디클로로메탄, N, N-디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 또는 이들의 혼합용매 등을 사용할 수 있으며, 추출물의 유효 성분이 파괴되지 않거나 최소화된 조건에서 실온 또는 가온하여 추출할 수 있다. 추출하는 유기용매에 따라 추출물의 유효성분의 추출정도와 손실정도가 차이가 날 수 있으므로, 알맞은 유기용매를 선택하여 사용하도록 한다. 추출 방법은 특별히 제한되지 않고, 예를 들어 냉침 추출, 초음파 추출, 환류 냉각 추출 등이 있다.

<12> 여과는 추출액으로부터 부유하는 고체 입자를 제거하는 과정으로, 면, 나일론 등을 이용하여 입자를 걸러 내거나 한외여과, 냉동여과법, 원심분리법 등을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 크로마토그래피)에 의한 분리 과정을 추가로 포함할 수 있다. 여액을 건조하는 단계는 동결건조, 진공건조, 열풍건조, 분무건조, 감압건조, 포말건조, 고주파건조, 적외선건조 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 경우에 따라, 최종 건조된 추출물을 분쇄하는 공정을 추가할 수 있다.

<13> 하나의 구체적 실시에서, 본 발명의 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 및 경단구슬모자반과 잔가시모자반의 혼합 추출물은, 건조된 경단구슬모자반, 잔가시모자반 또는 이의 혼합 시료를 조말로 하여 무게(kg)의 3배 내지 20배, 바람직하게는 3배 내지 15배의 물, C_1 내지 C_4의 무수 또는 함수 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매, 바람직하게는 물, 에탄올 또는 메탄올 용매; 10 내지 40℃, 바람직하게는 15 내지 37℃ 추출 온도; 5시간 내지 15일, 바람직하게는 3일 내지 14일의 시간; 1회 내지 5회, 바람직하게는 1회 내지 3회의 회수; 냉침, 초음파 추출, 환류 냉각 추출, 바람직하게는 냉침 추출 방법을 이용하여 수득한 추출액을 여과, 감압 농축함으로써 수득하였다.

<14> 본 발명에서 용매분획물은 상술한 추출물을 용매, 예를 들어 물, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 등에 의하여 분획된 염증 및 피부자극 개선 및 완화 활성을 가지는 물질을 말한다. 또한 본 발명에서 용매분획물은 분획액뿐만 아니라 이의 건조 분말 또는 이를 이용하여 제형화된 모든 형태를 포함하는 의미를 포함한다.

<15> 본 발명의 구체적 실시에서, 본 발명의 용매분획물은 상술한 추출물에 증류수와 용매를 첨가하여 일정 시간 분획하고 감압 농축한 후 분획물을 획득하였다. 이러한 분획 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

<16> 상기 제조방법에 의하여 얻어진 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합 추출물 및 상기 추출물의 용매분획물은 NO 생성 및 PGE2 생성을 효과적으로 억제하고, iNOS와 COX-2 유전자 발현을 억제하며, 여러 염증인자인 IL-1β, IL-6, TNF-α 등의 생성을 억제하는 효과를 발휘한다. 또한, 상기 추출물 및/또는 분획물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 상기 추출물 및/또는 분획물을 포함하는 조성물은 염증 및 피부자극의 개선 및 완화용 약제학적 조성물 및 화장료 조성물로 사용할 수 있다.

<17> 본 발명에서 사용된 용어, "염증"은 일반적인 염증질환을 포함하며, 각종 피부염, 전신성 홍반성 낭창, 망막염, 위염, 간염, 장염, 췌장염, 신장염, 바람직하게는 피부염을 포함한다.

<18> 본 발명에서 사용된 용어, "피부자극"은 외부 환경, 특히 화장품 등의 사용에 의해 일어나는 가려움(itching), 따끔거림(stinging) 및 화끈거림(burning) 등의 자극감과 홍반(erythema) 및 부종(edema) 등을 포함한다.

<19> 상기 제조방법에 의하여 얻어진 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합 추출물 및 상기 추출물의 분획물은 본 발명의 조성물의 전체 중량에 대하여 0.0001 내지 5 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 5 중량%, 보다 바람직하게는 0.001 내지 3중량%로 포함될 수 있다.

<20> 본 발명의 조성물은 염증 및 피부자극 개선 및 완화 효과를 위한 의약, 화장품, 세안제 및 샴푸 등에 다양하게 이용될 수 있다. 상기 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 연고제, 로션제, 스프레이제, 젤 등의 의약품, 각종 크림, 로션, 스킨 등과 같은 화장품류와 샴푸, 린스, 클레징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 미용액 등이 있다.

<21> 하나의 구체적 양태로서, 본 발명은 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 염증 및 피부자극 개선 및 완화용 약제학적 조성물을 제공한다.

<22> 본 발명의 약제학적 조성물은 상기의 추출물 및 분획물 외에 공지되고 본 발명의 추출물 및 분획물의 효과에 영향을 미치지 않는 다양한 항염증 및 항자극 효과가 있는 물질을 추가로 포함할 수 있다.

<23> 상기 약제학적 조성물은 치료 목적에 따라 약제학 분야에서 통상적인 제제로 제형화될 수 있으며, 예를 들어, 정제, 캅셀제, 산제, 과립, 현탁제, 유제, 시럽제, 유탁제, 경고제, 연고제, 스프레이제, 오일제, 겔제, 주정제, 틴크제, 욕제, 리니먼트제, 로션제, 패취제, 패드제, 크림제 등으로 제형화될 수 있다. 환부에 직접 도포하는 국소투여를 목적으로 하는 피부 외용제로서 바람직하게 사용될 수 있는데, 크림, 연고제, 로션제, 스프레이제, 젤, 패취 등의 형태가 바람직하다. 이들 피부외용제는 또한 치료 부위에 직접 적용될 수 있는 지지기재(support base) 또는 매트릭스 등에 포함될 수 있으며, 지지기재의 예는 거즈 또는 붕대를 포함한다. 상기 제형화에 사용되는 천연 식물 추출물은 콜로이드 형태 또는 건조된 분말 형태 등일 수 있다.

<24> 연고제로 제형화하는 경우, 피부 표면 온도, 피부의 pH, 경피수분손실(transdermal water loss) 값, 표피의 총 지질값 등을 고려하여야 하며, 바세린, 유동파라핀, 파라핀, 플라스티베이스, 실리콘, 돈지(lard), 식물유, 왁스, 정제 라놀린(purified lanolin) 등의 유지성 기재, 수용성 기재, 유제성 기재, 현탁성 기재 등과 배합하여 제형화한다. 이러한 연고제는 산화방지제(예, 토코페롤, BHA, BHT, NDGA 등), 방부제(예, 페놀성 물질, 클로로부탄올, 벤질알코올, 파라벤류, 안식향산 등), 보습제(예, 글리세린, 프로필렌글리콘, 소르비톨), 용해보조제(예, 에탄올, 프로필렌글리콜), 연화보조제(예, 유동파라핀, 글리세린, 프로필렌글리콜, 게면활성제 등) 등의 첨가제와 함께 배합될 수 있다.

<25> 로션제로 제형화하는 경우, 용액형, 현탁형 또는 유제형 등의 로션제로 제조될 수 있으며, 피부에 바르는 로션의 경우 예를 들어 200cps 내지 500cps의 점성을 가지도록 제조할 수 있으며, 도포시 부드러운 느낌을 주기 위하여 글리세린, 프로필렌글리콜 같은 습윤제를 배합하여 제조하는 것이 바람직하다.

<26> 스프레이제로 제형화하는 경우, 수분산된 농축물 또는 습윤 분말이 분산되도록 추진제 등이 첨가제와 함께 배합될 수 있다.

<27> 패취제로 제형화하는 경우, 피부를 통한 화합물의 흡수를 증가시키기 위해서 흡수촉진제를 사용할 수 있다.

<28> 본 발명의 상기 약제학적 조성물은 경구, 비경구, 국소 투여, 비내 투여 등 다양한 투여방식으로 투여할 수 있다. 경구 투여하는 경우, 예를 들어 경구용 고형제는 활성물과 함께 희석제(예, 락토즈, 덱스트로즈, 자당, 셀룰로즈, 옥수수 전분, 감자 전분 등), 활탁제(예, 실리카, 탈크, 스테아린산, 마그네슘 또는 칼슘 스테아레이트, 폴리에틸렌 글리콜 등), 결합제(예, 전분, 아라빅 검, 젤라틴 메틸셀룰로즈, 카르복시메틸셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈 등), 붕해제(예, 전분, 알긴산, 알기네이트, 나트륨 전분 글리콜레이트 등), 포르말 혼합물, 염료, 감미제, 습윤제(예, 레시틴, 폴리솔베이트, 라우릴설페이트 등), 기타 일반적으로 약제에 사용되는 약물학적 불활성 물질 등을 포함할 수 있다. 국소 투여하는 경우, 부형제(예, 락토스, 전분, 셀룰로스, 유당, 폴리에틸렌 글리콜 등), 윤활제(예, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 글리세릴 베헤네이트(behenate), 활석 등), 보존제(예, 벤질알코늄 클로라이드 등) 등을 포함할 수 있다.

<29> 비경구 투여는 전신 효과를 가져오는 주사 또는 고통받는 영역에 직접 투여되는 주사를 포함한다. 비경구 투여의 예로는, 피하, 정맥내, 근육내, 진피내, 경막내, 안내 및 일반적인 주입 기법이 있다.

<30> 국소 투여는, 예를 들어 눈, 외이 및 중이 감염을 비롯한 귀, 질, 열리고 봉합된 상처 또는 닫힌 상처 및 피부와 같은 국소 적용에 의해 용이하게 접근가능한 감염 영역 또는 기관의 치료를 포함한다. 또한, 전신 효과를 가져오는 경피 전달을 포함한다.

<31> 비내 투여는 코 에어로졸 또는 흡입 적용을 포함한다.

<32> 본 발명의 약제학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료 또는 예방에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 예방하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 질환의 종류 및 이의 중증도; 약물의 활성; 환자의 연령, 체중, 건강, 성별; 환자의 약물에 대한 민감도; 사용된 특정 추출물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율; 치료 기간; 사용된 특정 추출물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 일반적으로, 성인에게 1일에 0.1 내지 1000mg/kg의 양을, 바람직하게는 10 내지 100mg/kg의 용량을, 일일 1회 내지 수회 투여할 수 있다.

<33> 하나의 구체적 양태로서, 본 발명은 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 염증 및 피부자극 개선 및 완화용 화장료 조성물을 제공한다.

<34> 본 발명의 화장료 조성물은 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스핑고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 성분을 추가로 포함할 수 있다.

<35> 수용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B6, 피리독신, 염산피리독신, 비타민 B12, 판토텐산, 니코틴산, 니코틴산아미드, 엽산, 비타민 C, 비타민 H 등을 들 수 있으며, 그들의 염(티아민염산염, 아스코르빈산나트륨염 등)이나 유도체(아스코르빈산-2-인산나트륨염, 아스코르빈산-2-인산마그네슘염 등)도 본 발명에서 사용할 수 있는 수용성 비타민에 포함된다. 수용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 수득할 수 있다.

<36> 유용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 A, 카로틴, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E(dl-α토코페롤, d-α토코페롤, d-δ토코페롤) 등을 들 수 있으며, 그들의 유도체(팔미틴산아스코르빈, 스테아르산아스코르빈, 디팔미틴산아스코르빈, 아세트산dl-α토코페롤, 니코틴산dl-α토코페롤비타민 E, DL-판토테닐알코올, D-판토테닐알코올, 판토테닐에틸에테르 등) 등도 본 발명에서 사용되는 유용성 비타민에 포함된다. 유용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 취득할 수 있다.

<37> 고분자 펩티드로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 콜라겐, 가수 분해 콜라겐, 젤라틴, 엘라스틴, 가수 분해 엘라스틴, 케라틴 등을 들 수 있다. 고분자 펩티드는 미생물의 배양액으로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 정제 취득할 수 있으며, 또는 통상 돼지나 소 등의 진피, 누에의 견섬유 등의 천연물로부터 정제하여 사용할 수 있다.

<38> 고분자 다당으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 히드록시에틸셀룰로오스, 크산탄검, 히알루론산나트륨, 콘드로이틴 황산 또는 그 염(나트륨염 등) 등을 들 수 있다. 예를 들어, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 등은 통상 포유 동물이나 어류로부터 정제하여 사용할 수 있다.

<39> 스핑고 지질로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 세라미드, 피토스핑고신, 스핑고당지질 등을 들 수 있다. 스핑고 지질은 통상 포유류, 어류, 패류, 효모 또는 식물 등으로부터 통상의 방법에 의해 정제하거나 화학 합성법에 의해 취득할 수 있다.

<40> 해초 엑기스로는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 갈조 엑기스, 홍조 엑기스, 녹조엑기스 등을 들 수 있으며, 또, 이들의 해초 엑기스로부터 정제된 칼라기난, 아르긴산, 아르긴산나트륨, 아르긴산칼륨 등도 본 발명에서 사용되는 해초 엑기스에 포함된다. 해초 엑기스는 해초로부터 통상의 방법에 의해 정제하여 취득할 수 있다.

<41> 본 발명의 화장료 조성물은 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다. 이외에 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.

<42> 유지 성분으로서는 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지, 식물 유지 등을 들 수 있다.

<43> 에스테르계 유지로서는 트리2-에틸헥산산글리세릴, 2-에틸헥산산세틸, 미리스틴산이소프로필, 미리스틴산부틸,

팔미틴산이소프로필, 스테아르산에틸, 팔미틴산옥틸, 이소스테아르산이소세틸, 스테아르산부틸, 리놀레산에틸, 리놀레산이소프로필, 올레인산에틸, 미리스틴산이소세틸, 미리스틴산이소스테아릴, 팔미틴산이소스테아릴, 미리스틴산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 세바신산디에틸, 아디핀산디이소프로필, 네오펜탄산이소알킬, 트리(카프릴, 카프린산)글리세릴, 트리2-에틸헥산산트리메틸롤프로판, 트리이소스테아르산트리메틸롤프로판, 테트라2-에틸헥산산펜타엘리슬리톨, 카프릴산세틸, 라우린산데실, 라우린산헥실, 미리스틴산데실, 미리스틴산미리스틸, 미리스틴산세틸, 스테아르산스테아릴, 올레인산데실, 리시노올레인산세틸, 라우린산이소스테아릴, 미리스틴산이소트리데실, 팔미틴산이소세틸, 스테아르산옥틸, 스테아르산이소세틸, 올레인산이소데실, 올레인산옥틸도데실, 리놀레산옥틸도데실, 이소스테아르산이소프로필, 2-에틸헥산산세토스테아릴, 2-에틸헥산산스테아릴, 이소스테아르산헥실, 디옥탄산에틸렌글리콜, 디올레인산에틸렌글리콜, 디카프린산프로필렌글리콜, 디(카프릴,카프린산)프로필렌글리콜, 디카프릴산프로필렌글리콜, 디카프린산네오펜틸글리콜, 디옥탄산네오펜틸글리콜, 트리카프릴산글리세릴, 트리운데실산글리세릴, 트리이소팔미틴산글리세릴, 트리이소스테아르산글리세릴, 네오펜탄산옥틸도데실, 옥탄산이소스테아릴, 이소노난산옥틸, 네오데칸산헥실데실, 네오데칸산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 이소스테아르산이소스테아릴, 이소스테아르산옥틸데실, 폴리글리세린올레인산에스테르, 폴리글리세린이소스테아르산에스테르, 시트르산트리이소세틸, 시트르산트리이소알킬, 시트르산트리이소옥틸, 락트산라우릴, 락트산미리스틸, 락트산세틸, 락트산옥틸데실, 시트르산트리에틸, 시트르산아세틸트리에틸, 시트르산아세틸트리부틸, 시트르산트리옥틸, 말산디이소스테아릴, 히드록시스테아르산2-에틸헥실, 숙신산디2-에틸헥실, 아디핀산디이소부틸, 세바신산디이소프로필, 세바신산디옥틸, 스테아르산콜레스테릴, 이소스테아르산콜레스테릴, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 올레인산콜레스테릴, 올레인산디히드로콜레스테릴, 이소스테아르산피트스테릴, 올레인산피트스테릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소세틸, 12-스테알로일히드록시스테아르산스테아릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소스테아릴 등의 에스테르계 등을 들 수 있다.

<44> 탄화 수소계 유지로서는 스쿠알렌, 유동 파라핀, α-올레핀올리고머, 이소파라핀, 세레신, 파라핀, 유동 이소파라핀, 폴리부텐, 마이크로크리스탈린왁스, 와셀린 등의 탄화 수소계 유지 등을 들 수 있다.

<45> 실리콘계 유지로서는 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘, 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 데카메틸폴리실록산, 도데카메틸시클로실록산, 디메틸실록산・메틸세틸옥시실록산 공중합체, 디메틸실록산・메틸스테알록시실록산 공중합체, 알킬 변성 실리콘유, 아미노 변성 실리콘유 등을 들 수 있다.

<46> 불소계 유지로서는 퍼플루오로폴리에테르 등을 들 수 있다.

<47> 동물 또는 식물 유지로서는 아보카도유, 아르몬드유, 올리브유, 참깨유, 쌀겨유, 새플라워유, 대두유, 옥수수유, 유채유, 행인(杏仁)유, 팜핵유, 팜유, 피마자유, 해바라기유, 포도종자유, 면실유, 야자유, 쿠쿠이너트유, 소맥배아유, 쌀 배아유, 시아버터, 월견초유, 마커데이미아너트유, 메도홈유, 난황유, 우지(牛脂), 마유, 밍크유, 오렌지라피유, 호호바유, 캔데리러왁스, 카르나바왁스, 액상 라놀린, 경화피마자유 등의 동물 또는 식물 유지를 들 수 있다.

<48> 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자, 지용성 고분자 등을 들 수 있다.

<49> 수용성 저분자 보습제로서는 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨, 피롤리돈-카르복실산나트륨, 글리세린, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜(중합도 n = 2 이상), 폴리프로필렌글리콜(중합도 n = 2 이상), 폴리글리세린(중합도 n = 2 이상), 락트산, 락트산염 등을 들 수 있다.

<50> 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 등을 들 수 있다.

<51> 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 트라가칸트, 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성 키틴, 키토산, 덱스트린 등을 들 수 있다.

<52> 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈・에이코센 공중합체, 폴리비닐피롤리돈・헥사데센 공중합체, 니트로셀룰로오스, 덱스트린지방산에스테르, 고분자 실리콘 등을 들 수 있다.

<53> 에몰리엔트제로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 들 수 있다.

<54> 계면 활성제로서는 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제, 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.

<55> 비이온성 계면 활성제로서는 자기 유화형 모노스테아르산글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린지

방산에스테르, 폴리글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산에스테르, POE(폴리옥시에틸렌)솔비탄지방산에스테르, POE 솔비트지방산에스테르, POE 글리세린지방산에스테르, POE 알킬에테르, POE 지방산에스테르, POE 경화피마자유, POE 피마자유, POE·POP (폴리옥시에틸렌·폴리옥시프로필렌) 공중합체, POE·POP 알킬에테르, 폴리에테르변성실리콘, 라우린산알카놀아미드, 알킬아민옥시드, 수소첨가대두인지질 등을 들 수 있다.

<56> 음이온성 계면 활성제로서는 지방산비누, α-아실술폰산염, 알킬술폰산염, 알킬알릴술폰산염, 알킬나프탈렌술폰산염, 알킬황산염, POE 알킬에테르황산염, 알킬아미드황산염, 알킬인산염, POE 알킬인삼염, 알킬아미드인산염, 알킬로일알킬타우린염, N-아실아미노산염, POE 알킬에테르카르복실산염, 알킬술포숙신산염, 알킬술포아세트산나트륨, 아실화 가수분해 콜라겐펩티드염, 퍼플루오로알킬인산에스테르 등을 들 수 있다.

<57> 양이온성 계면 활성제로서는 염화알킬트리메틸암모늄, 염화스테아릴트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화세토스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 염화스테아릴디메틸벤질암모늄, 브롬화베헤닐트리메틸암모늄, 염화벤잘코늄, 스테아르산디에틸아미노에틸아미드, 스테아르산디메틸아미노프로필아미드, 라놀린 유도체 제4급 암모늄염 등을 들 수 있다.

<58> 양성 계면 활성제로서는 카르복시베타인형, 아미드베타인형, 술포베타인형, 히드록시술포베타인형, 아미드술포베타인형, 포스포베타인형, 아미노카르복실산염형, 이미다졸린 유도체형, 아미드아민형 등의 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.

<59> 유기 및 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 규산마그네슘, 탤크, 세리사이트, 마이카, 카올린, 벵갈라, 클레이, 벤토나이트, 티탄피막운모, 옥시염화비스무트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화아연, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화철, 군청, 산화크롬, 수산화크롬, 칼라민 및 이들의 복합체등의 무기 안료 ; 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 비닐수지, 요소수지, 페놀수지, 불소수지, 규소수지, 아크릴수지, 멜라민수지, 에폭시수지, 폴리카보네이트수지, 디비닐벤젠·스티렌 공중합체, 실크파우더, 셀룰로오스, CI 피그먼트옐로우, CI 피그먼트오렌지 등의 유기 안료 및 이들의 무기 안료와 유기 안료의 복합 안료 등을 들 수 있다.

<60> 유기 분체로서는 스테아르산칼슘 등의 금속비누 ; 세틸린산아연나트륨, 라우릴린산아연, 라우릴린산칼슘 등의 알킬인산금속염 ; N-라우로일-β-알라닌칼슘, N-라우로일-β-알라닌아연, N-라우로일글리신칼슘 등의 아실아미노산 다가금속염 ; N-라우로일-타우린칼슘, N-팔미토일-타우린칼슘 등의 아미드술폰산 다가금속염 ; Nε-라우로일-L-리진, Nε-팔미토일리진, Nα-파리토일올니틴, Nα-라우로일아르기닌, Nα-경화우지지방산아실아르기닌 등의 N-아실염기성아미노산 ; N-라우로일글리실글리신 등의 N-아실폴리펩티드 ; α-아미노카프릴산, α-아미노라우린산 등의 α-아미노지방산 ; 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌, 디비닐벤젠·스티렌 공중합체, 사불화에틸렌 등을 들 수 있다.

<61> 자외선 흡수제로서는 파라아미노벤조산, 파라아미노벤조산에틸, 파라아미노벤조산아밀, 파라아미노벤조산옥틸, 살리실산에틸렌글리콜, 살리신산페닐, 살리신산옥틸, 살리신산벤질, 살리신산부틸페닐, 살리신산호모멘틸, 계피산벤질, 파라메톡시계피산-2-에톡시에틸, 파라메톡시계피산옥틸, 디파라메톡시계피산모노2-에틸헥산글리세릴, 파라메톡시계피산이소프로필, 디이소프로필·디이소프로필계피산에스테르 혼합물, 우로카닌산, 우로카닌산에틸, 히드록시메톡시벤조페논, 히드록시메톡시벤조페논술폰산 및 그 염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시메톡시벤조페논디술폰산나트륨, 디히드록시벤조페논, 테트라히드록시벤조페논, 4-tert-부틸-4'-메톡시디벤조일메탄, 2,4,6-트리아닐리노-p -(카르보-2'-에틸헥실-1'-옥시)-1,3,5-트리아진, 2-(2-히드록시-5-메틸페닐)벤조트리아졸 등을 들 수 있다.

<62> 살균제로서는 히노키티올, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리티온, 염화벤잘코늄, 감광소 301 호, 모노니트로과이어콜나트륨, 운데시렌산 등을 들 수 있다.

<63> 산화 방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필, 엘리소르빈산 등을 들 수 있다. pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 들 수 있다.

<64> 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급 알코올을 들 수 있다.

<65> 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하지만, 총중량에 대하여 바람직하게는 0.01 내지 5 중량%, 보다

바람직하게는 0.01 내지 3중량 % 배합된다.

<66> 본 발명의 화장료는 용액, 유화물, 점성형 혼합물 등의 형상을 취할 수 있다.

<67> 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 상기 추출물 또는 화합물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함한다.

<68> 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 유액, 크림, 화장수, 팩, 파운데이션, 로션, 미용액, 모발화장료 등을 들 수 있다.

<69> 구체적으로, 본 발명의 화장료 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저의 제형을 포함한다.

<70> 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

<71> 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

<72> 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

<73> 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

<74> 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

효 과

<75> 상술한 바와 같이, 본 발명의 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 이들의 혼합추출물 및 상기 추출물의 용매분획물로 이루어진 군으로부터 선택되는 물질을 포함하는 약제학적 조성물 또는 화장료 조성물은 염증 및 피부자극의 개선 및 완화 효과가 우수하고 인체에 안전하므로, 약제학적 조성물 및 화장료 조성물로서 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<76> 이하, 실시예를 들어 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 하기 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서 본 발명을 이에 제한하고자 함이 아니다.

<77> **실시예 1: 해조 추출물의 제조 방법**

<78> 1-1. 물 가용 추출물의 제조

<79> 완전 건조시킨, 경단구슬모자반, 잔가시모자반, 및 경단구슬모자반과 잔가시모자반 혼합시료 1kg을 증류수 3ℓ에 넣고 냉각 콘덴서가 달린 추출기에서 15 내지 37℃에서 14일간 추출하였다. 그 추출물을 400 메쉬 여과포로 여과하고, 5 내지 15℃에서 7일간 방치하여 숙성시킨 후 와트만 2번 여과지로 여과하였다. 이들 식물 추출물을 냉각 콘덴서가 달린 증류장치에서 감압 농축하여 각각 27g, 39g, 25g(건조중량)을 얻었다.

<80> 1-2. 에탄올 가용 추출물의 제조

<81> 완전 건조시킨, 경단구슬모자반, 잔가시모자반, 및 경단구슬모자반과 잔가시모자반 혼합시료 1kg을 에탄올 3ℓ에 넣고 냉각 콘덴서가 달린 추출기에서 15 내지 37℃에서 14일간 추출하였다. 그 추출물을 400 메쉬 여과포로 여과하고, 5 내지 15℃에서 7일간 방치하여 숙성시킨 후 와트만 2번 여과지로 여과하였다. 이들 식물 추출물을 냉각 콘덴서가 달린 증류장치에서 감압 농축하여 각각 30g, 38g, 36g(건조중량)을 얻었다.

<82> 1-3. 메탄올 가용 추출물의 제조

<83> 완전 건조시킨, 경단구슬모자반, 잔가시모자반, 및 경단구슬모자반과 잔가시모자반혼합시료 1kg을 메탄올 3ℓ에 넣고 냉각 콘덴서가 달린 추출기에서 15 내지 37℃에서 14일간 추출하였다. 그 추출물을 400 메쉬 여과포로 여과하고, 5 내지 15℃에서 7일간 방치하여 숙성시킨 후 와트만 2번 여과지로 여과하였다. 이들 식물 추출물을 냉각 콘덴서가 달린 증류장치에서 감압 농축하여 각각 37g, 39g, 36g(건조중량)을 얻었다.

<84> 1-4. 용매분획물의 제조

<85> 경단구슬모자반 및 잔가시모자반 에탄올 추출물의 각각에 10배량의 증류수와 동량의 헥산 (n-hexane)을 첨가하여 분획한 후 감압 농축하여 헥산 분획물을 얻었다. 동일한 방법으로 디클로로메탄 (CH_2Cl_2), 에틸아세테이트 (EtOAc), 부탄올 (BuOH) 그리고 물 (H_2O)층을 분획하여 각각의 순차 분획물을 얻었으며, 모든 과정은 3회 반복 실시하였다.

<86> **실시예 2: 해조추출물 및 용매분획물의 염증인자(시토카인) 억제 효과**

<87> 2-1. 실험방법

<88> ① 세포배양

<89> 대식세포 계열 (Murine macrophage cell line)인 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행 (KCLB; Seoul, Korea)으로부터 분양 받아 penicillin-streptomycin 100 units/mL과 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 DMEM 배지(GIBCO, Grand Island, NY, USA)를 사용하여 37℃, 5% CO_2항온기에서 배양하였으며, 3일에 한 번씩 계대배양을 시행하였다.

<90>

<91> ② Nitric oxide 생성 억제 평가

<92> RAW 264.7 세포를 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1.5×10^5cells/mL로 조절한 후 24 well plate 에 접종하고, 실시예 1의 시료와 LPS (1 μg/mL)를 동시에 처리하여 24시간 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약 [1% (w/v) sulfanilamide, 0.1% (w/v) naphylethylenediamine in 2.5% (v/v) phosphoric acid]을 이용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO_2^-의 형태로 측정하였다. 세포배양 상등액 100 μL와 Griess 시약 100 μL를 혼합하여 96 well plates에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO의 양은 sodium nitrite ($NaNO_2$)를 standard로 비교하였다.

<93>

<94> ③ Prostaglandin E_2(PGE_2)생성 평가

<95> RAW 264.7 세포를 DMEM 배지를 이용하여 1.5×10^5cells/mL로 조절한 후 24 well plate 에 접종하고, 5% CO_2항온기에서 18시간 전 배양 하였다. 이후 배지를 제거하고 10배 농도 (1 mg/mL)로 조제된 실시예 1의 시료 50 μL와 450 μL의 LPS (1 μg/mL)를 함유한 새로운 배지를 동시에 처리하여 전배양과 동일 조건에서 배양하였다. 24시간 후 prostaglandin E_2(PGE_2)를 측정하기 위해 배양 배지를 원심분리 (12,000 rpm, 3 min)하여 상층액을 얻었다. PGE_2의 측정은 PGE_2ELISAkit(R&DSystemsInc.,Minneapolis,MN,USA)를 이용하여 정량하였으며 standard 에 대한 표준곡선의 r^2값은 0.99 이상이었다.

<96> ④ 세포독성 평가 (LDH assay)

<97> RAW 264.7 세포 (1.5×10^5cells/mL)를 DMEM 배지에 실시예 1의 시료와 LPS (1 μg/mL)를 동시 처리하여 24시간 배양한 후 배양 배지를 얻어 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. LDH (lactate dehydrogenase) assay는

non-radioactive cytotoxicity assay kit (Promega)를 이용하여 측정했으며, 96 well plate에 원심 분리하여 얻은 배양 배지 50 μL와 reconstituted substrate mix를 50 μL를 넣고, 실온에서 30분 반응시킨 후 50 μL의 stop solution을 넣은 후 microplate reader (Bio-TEK Instruments Inc., Vermont, WI, USA)를 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군 (LDH control, 1:5000)의 흡광도 값과 비교하여 세포독성을 평가하였다.

<98> ⑤ RNA 분리 및 RT-PCR

<99> 세포로부터의 total RNA 추출은 TRI-reagent (MRC, Cincinnati, OH, USA)를 이용하였으며, RNase-free한 조건하에서 이루어졌다. 1 μg의 total RNA를 oligo (dT) 18 primer, dNTP (0.5 μM), 1 unit RNase inhibitor 그리고 M-MuLV reverse transcriptase (2U)로 70℃ 5 min, 25℃ 5 min, 37℃ 60 min, 그리고 70℃에서 10 min간 가열(heating) 시킴으로서 반응을 중지시켰다.

<100> PCR(Polymerase chain reaction)은 합성된 cDNA로부터 유전자를 증폭시키기 위하여 2 μL cDNA, 4 μM의 5' 과 3' primer, 10X buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 0.1% Triton X-100), 250 μM dNTP, 25 mM $MgCl_2$,1unitTaqpolymerase(Promega)를 섞고 distilled water로 전체를 25 μL로 맞춘 다음 Perkin-Elmer Thermal Cycler (Perkin-Elmer Co., Norwalk, CT, USA)를 이용하여 PCR을 실시하였다. 이때 PCR cycle은 94℃/45초, 55~60℃/45초, 72℃/60초, 30회 이며, PCR에 의하여 생성된 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동을 실시하고 ethidium bromide로 염색하여 특정 band을 확인하였다.

<101>

<102> ⑥ Immunoblotting

<103> 배양이 끝난 세포를 수집하여 2~3회 PBS (phosphate buffered saline)로 세척한 후 1 mL의 lysis buffer를 첨가하여 30분간 용해(lysis)시킨 후 12,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 세포막 성분 등을 제거하였다. 단백질 농도는 BSA (bovine serum albumin)를 표준화하여 Bio-Rad Protein Assay Kit를 사용하여 정량하였다. 20~30 μg의 lysate를 8~12% mini gel SDS-PAGE로 변성 분리하여, 이를 PVDF (polyvinylidene difluoride) membrane (BIO-RAD, Richmond, CA, USA)에 200 mA로 2시간 동안 transfer하였다. 그리고 membrane의 blocking은 5% skim milk가 함유된 TTBS (0.1% Tween 20 + TBS) 용액에서 상온에서 2시간 동안 실시하였다. iNOS의 발현 양을 검토하기 위한 항체로는 anti-mouse iNOS (1:1000) (Calbiochem, La Jolla, CA, USA)를 COX-2의 발현양을 검토하기 위한 항체로는 anti-mouse COX-2 (1:1000) (BD Biosciences Pharmingen, San Jose, CA, USA)을 TTBS 용액에서 희석하여 상온에서 2시간 반응시킨 후 TTBS로 3회 세정하였다. 2차 항체로는 HRP (horse radish peroxidase)가 결합된 anti-mouse IgG (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, UK)를 1:5000으로 희석하여 상온에서 30분 간 반응시킨 후, TTBS로 3회 세정하여 ECL 기질 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA)과 1~3분 간 반응 후 X-ray 필름에 감광하였다.

<104>

<105> ⑦ Pro-inflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β and IL-6) 생성 억제 평가

<106> RAW 264.7 세포 (1.5×10^5 cells/mL)를 DMEM 배지를 이용하여 24 well plate 에 접종하고, 5 % CO2 항온기에서 18 시간 전 배양하였다. 이후 배지를 제거하고 10배 농도 (1 mg/mL)로 조제된 시험물질 50 ㎕와 LPS (1 μg/mL) 450 ㎕를 함유한 새로운 배지를 동시에 처리하여 전 배양과 동일 조건에서 배양하였다. 24 시간 후 배양 배지를 원심분리 (12,000 rpm, 3 분)하여 얻어진 상층액의 pro-inflammatory cytokines 생성 함량을 측정하였다. 모든 시료는 정량 전까지 -20 ℃ 이하에 보관하였다. pro-inflammatory cytokines 정량은 mouse enzyme-linked immnunosorbent assay (ELISA) kit (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 정량하였으며 standard 에 대한 표준곡선의 r^2값은 0.99 이상이었다.

<107> 2-2. 결과

<108> 표 1, 도 1 내지 4에서 보듯이, 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물 및 이들의 용매분획물들은 NO 생성 및 PGE_2 생성을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 LDH assay 결과, 이러한 억제현상이 세포독성에 기인하지 않음을 확인하였다. 또한 도 7 내지 8에서 보듯이, NO 및 PGE_2 생성 억제가 iNOS와 COX-2 유전자 발현을 억제하고, 그 결과 각각의 단백질 생성을 저해한다는 결과를 도출하였다.

<109> 피부자극은 여러 가지 시토카인의 생산을 증대시키는 바, 이러한 염증인자인 IL-1β, IL-6, TNF-α 생산억제 여부를 확인하였다. 실험결과 도 9 내지 12에서 보듯이 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물 및 이들의 용매분획물들은 염증인자인 IL-1β, IL-6, TNF-α 생산 억제를 유전자발현 수준에서 억제함을 확인할 수 있었다.

표 1

<110> 경단구슬모자반 및 잔가시모자반의 추출물 및 분획물의 NO 생성 억제 효과

Crude extract and solvent fractions	저해율 (25ug/ml; %)	
	경단구슬모자반	잔가시모자반
80% EtOH	14.07 ± 2.16	35.79 ± 1.37
hexane	51.92 ± 2.69	85.15 ± 1.30
CH_2Cl_2	85.71 ± 1.37	85.59 ± 1.23
EtOAc	4.58 ± 7.81	52.69 ± 1.87
BuOH	2.18± 4.65	N.D
H_2O	N.D.	3.78 ± 2.31

<111> **실험예 3 : 본 발명의 추출물의 인간 각질세포에서의 안전성평가**

<112> 천연 해조추출물의 세포독성 효과에 대해 인간 각질세포주인 HaCaT(한국세포주은행)를 이용해 MTT 실험을 수행하였다. HaCaT의 경우, 해조 추출물 100㎍/㎖에서 경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물 및 경단구슬모자반과 잔가시모자반 혼합 추출물 모두 세포독성을 나타내지 않았다(도 13 및 14).

<113> **실험예 4 : 인체 피부에 대한 안전성 확인 실험**

<114> 4-1. 해조추출물을 포함한 피부외용제의 제조

<115> 상기와 같이 시토카인 생산억제 효과가 우수하다고 판명된 본 발명의 천연 해조 추출물이 인체피부에도 안전한지 확인하기 위하여, 본 발명의 천연 해조추출물을 함유한 피부외용제를 제조하고 이에 의한 피부 안전성 검증 실험을 수행하였다.

<116> 천연 해조추출물을 함유한 피부외용제는 하기 표 2의 성분함량으로 제조하였다. 하기 표 2에서 대조군은 해조추출물을 포함하지 않은 피부외용제이다.

<117> 피부외용제 제조를 위하여, 정제수, 글리세린, 부틸렌글리콜을 혼합하고 70 ℃에서 용해하였으며 (물파트), 상기 세 성분과 트리메탄올아민을 제외한 나머지 성분을 70 ℃에서 용해하였다 (오일파트). 상기 오일파트를 물파트에 첨가하고 호모믹서 (일본 Tokushu Kika사)로 교반하여 1차 유화하였고, 여기에 트리메탄올아민을 최종 첨가하였다. 혼합액에서 생성된 기포를 제거한 후, 실온으로 냉각시켜 피부외용제를 제조하였다.

<118>

표 2

<119>

성분	함량 (%)	
	대조군	시험군
정제수	72	72
글리세린	8.0	8.0
부틸렌글리콜	4.0	4.0
경단구슬모자반 추출물, 잔가시모자반 추출물, 또는 경단구슬모자반 및 잔가시모자반 혼합 추출물	0	1.0
카프릴릭 카프리 트리글리세라이드	8.0	8.0
스쿠알란	5.0	5.0
세테아릴 글루쿠사이드	1.5	1.5
소르비탄 스테아레이트	0.4	0.4
세테아릴 알코올	1.0	1.0

트리메탄올아민	0.1	0.1
총중량	100	100

<120> 4-2. 피부누적 자극 시험

<121> 상기 실시예 4-1에서 제조한 각 피부외용제를 사용하여 건강한 30명의 성인을 대상으로 윗팔뚝 부위에 격일로 총 9회의 24시간 누적첩포를 시행하는 것에 의하여 본 발명의 식물추출물이 피부에 자극을 주는지의 여부를 측정하였다.

<122> 첩포 방법은 핀 챔버 (Finn chamber, Epitest Ltd, 핀란드)를 이용하였다. 챔버에 상기 각 피부외용제를 15ul 씩 적하한 후 첩포를 실시하였다. 매회 피부에 나타난 반응의 정도를 아래의 수학식을 이용하여 점수화 하였으며, 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

수학식 1

$$평균반응도=[\frac{반응지수X반응도}{총피검자수X최고점수(4점)}X100]\div검사회수(9회)$$

<123>

<124> 이 때, 반응도에서 ±는 1점, +는 2점, ++는 4점의 점수를 부여하며, 평균반응도가 3 미만일 때 안전한 조성물로 판정된다.

표 3

<125>

시험물질	반응이 나타난 피검자 수									평균반응도
	1주			2주			3주			
	1차	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차	9차	
	± + ++	± + ++	± + ++	± + ++	± + ++	± + ++	± + ++	± + ++	± + + +	
대조군	1 - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	0.11
혼합 추출물	2 1 -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	0.33
경단구슬모자반 추출물	1 - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	0.11
잔가시모자반 추출물	1 1 -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	0.18
피검인원	30	30	30	30	30	30	30	30	30	

<126> 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 시험군의 경우 특별한 부작용을 보이지 않았다. 상기 실험식 1에 따라 계산하면 경단구슬모자반 추출물을 포함한 3종의 평균반응도가 0.11에서 0.33이 되어, 4종 모두 3이하가 되므로 안전한 조성물로 판단되었다.

<127> **실험예 5 : 급성경구독성시험**

<128> 천연 해조추출물들이 식품에도 안전하게 적용될 수 있는가를 확인하기 위해 급성 경구독성시험을 실시하였다. 실험동물로서 5 내지 6주령 된 SPF SD계 랫드 20마리를 사용하여 하기와 같은 조건에서 급성독성시험을 실시하였다.

<129> 온, 습도조건: 온도 22도 +/- 2도. 상대습도 50 +/- 10%

<130> 명암 사이클: 형광등조명(08시 점등~20시 소등)

<131> 조도: 200-300Lux

<132> 자외선 처리된 음용수는 자유섭취 시킴

<133> 시험물질을 멸균증류수에 희석하여 투여시료를 제조하여 대조구로서 멸균 증류수를 사용하여 동량 투입하였다. 투여 당일은 4시간까지 매 시간마다 일반상태를 관찰하고, 투여 다음날부터 14일까지는 매일 1회씩 일반상태의 변화, 중독증상, 운동성, 외관, 자율신경 및 사망동물의 유무를 주의깊게 관찰하고 여러 가지 병리 해부학적인 검증을 거쳐 독성 유무를 판단하였다. LD_{50}이 2700mg/kg B.W.이었으며, 3종의 해조추출물 모두 독성은 없는 것으로 판단되었다.

<134> **실험예 6. 피부 상태 개선효과 확인 실험**

<135> 실시예 1과 비교예 1의 영양크림에 대한 피부도포 시, 피부상태 개선효과를 확인하기 위하여 다음과 같은 임상 확인 실험을 하였다. 20-55세의 여성층으로서 정상, 지성, 건성, 복합성 피부의 소유자 50명을 각각 25%씩으로 구성하여 피부상태 개선과 피부의 유수분 상태를 조사하였다. 동일인에게 안면 윗쪽 부분에는 실시예 1의 영양크림을, 안면 오른쪽 부분에는 비교예 3의 영양크림을 매일 아침 세안 후 피부에 1일 1회 20일간 도포한 후 피부상태 개선을 확인하기 위하여 피부상태 개선 정도를 측정하였다. 시험결과를 표 4에 나타낸다.

표 4

<136> 피부 상태 개선효과 확인 실험 결과

조사항목		피부상태 개선		비 고
		인원수	%	
실험구 (제조예 1)	매우 좋다	25	50.0	
	좋다	15	30.0	
	보통이다	10	20.0	
	그저 그렇다	-	-	
대조구 (제조예 1)	매우 좋다	-	-	
	좋다	5	10.0	
	보통이다	15	30.0	
	그저 그렇다	30	60.0	

<137> 상기 조사결과와 같이 혼합 해조추출물을 첨가하여 제조한 실시예 1의 화장료가 첨가되지 않고 제조한 비교예 1보다 피부 개선효과가 우수하다는 것을 알 수 있다

<138> **제조예 :**

<139> <u>제조예 1 : 영양크림</u>

<140> 하기와 같이, 실시예 1에서 수득한 해조추출물을 함유한 영양크림을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 5

<141>

성분	함량(중량%)	
	실험구	대조구
해조추출물	3.0	-
유동파라핀	6.0	6.0
스쿠알란	4.0	4.0
소르비탄세스퀴올레이트	0.5	0.5
폴리솔베이트 60	1.5	1.5
밀랍	10.0	10.0
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	5.0	5.0
농 글리세린	6.0	6.0
프로필렌글리콜	3.0	3.0
부틸렌글리콜	2.0	2.0
트리에탄올아민	0.2	0.2
방부제	미량	미량

색소	미량	미량
향료	미량	미량
정제수	잔부	잔부

<142> 제조예 2 : 영양화장수

<143> 하기와 같이, 실시예 1에서 수득한 해조추출물을 함유한 영양화장수(로션)를 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 6

<144>

성분	함량(중량%)
해조추출물	3.0
에탄올	1.0
스테아릴알코올	1.0
글리세린모노스테아레이트	3.0
소르비탄모노스테아레이트	1.0
폴리옥시에틸렌소르비탄 모노올레이트	2.0
바셀린	2.0
유동파라핀	6.0
스쿠알란	5.0
옥틸도데실미리스테이트	5.0
글리세린	5.0
1,3-부틸렌글리콜	5.0
카르복시비닐폴리머	0.3
트리에탄올아민	0.3
방부제	미량
향료	미량
정제수	잔부

<145> 제조예 3 : 유연화장수

<146> 하기와 같이, 실시예 1에서 수득한 해조추출물을 함유한 유연화장수(스킨)를 통상의 방법에 따라 제조하였다

표 7

<147>

성분	함량(중량%)
해조추출물	3.0
에탄올	10.0
프로필렌글리콜	3.0
농 글리세린	2.0
부틸렌글리콜	2.0
카르복시비닐폴리머	0.1
트리에탄올아민	0.1
방부제	미량
향료	미량
색소	미량
정제수	잔부

<148> 제조예 4 : 에센스

<149> 하기와 같이, 실시예 1에서 수득한 해조추출물을 함유한 에센스를 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 8

<150>

성분	함량(중량%)
해조추출물	3.0
에탄올	5.0
플로필렌글리콜	5.0
폴리에틸렌글리콜 1500	5.0
히드록시에틸셀룰로오스	0.5
폴리옥시에틸렌노닐페닐에테르	0.7
글리세린	10.0
1,3-부틸렌글리콜	10.0
카르복시비닐폴리머	0.5
트리에탄올아민	0.5
방부제	미량
색소	미량
향료	미량
정제수	잔부

<151> 제조예 5: 맛사지크림

<152> 하기와 같이, 실시예 1에서 수득한 해조추출물을 함유한 맛사지크림을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 9

<153>

성분	함량(중량%)
해조추출물	3.0
유동파라핀	40.0
플로필렌글리콜	2.0
스쿠알란	5.0
소르비탄세스퀴올레이트	0.8
폴리솔베이트 60	1.5
카프필릭/카프릭트리글리세라이드	4.0
농 글리세린	6.0
부틸렌글리콜	4.0
밀랍	10.0
트리에탄올아민	0.2
방부제	미량
색소	미량
향료	미량
정제수	잔부

<154> 제조예 6 : 팩

<155> 하기와 같이, 실시예 1에서 수득한 해조추출물을 함유한 팩을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 10

<156>

성분	함량(중량%)
해조추출물	3.0
에탄올	5.0
알란토인	0.2
노닐페닐에테르	0.3
나트륨카르복시메틸셀룰로오스	0.2

폴리비닐알코올	13.0
방부제	미량
색소	미량
향료	미량
정제수	잔부

도면의 간단한 설명

<157> 도 1은 경단구슬모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 NO 생성억제 및 세포독성여부를 나타낸 그림이다.

<158> 도 2는 잔가시모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 NO 생성억제 및 세포독성여부를 나타낸 그림이다.

<159> 도 3은 경단구슬모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 PGE_2 생성 억제를 나타낸 그림이다.

<160> 도 4는 잔가시모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 PGE_2 생성 억제를 나타낸 그림이다.

<161> 도 5는 경단구슬모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 염증인자인 iNOS와 COX-2 유전자발현 억제 현상을 나타낸 그림이다.

<162> 도 6은 잔가시모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 염증인자인 iNOS와 COX-2 유전자발현 억제 현상을 나타낸 그림이다.

<163> 도 7은 경단구슬모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 iNOS와 COX-2 단백질생성 억제 현상을 나타낸 그림이다.

<164> 도 8은 잔가시모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 iNOS와 COX-2 단백질생성 억제 현상을 나타낸 그림이다.

<165> 도 9는 경단구슬모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 염증인자 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 생산억제 현상을 나타낸 그림이다.

<166> 도 10은 잔가시모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 염증인자 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 생산억제 현상을 나타낸 그림이다.

<167> 도 11은 경단구슬모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 염증인자 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 유전자발현 억제 현상을 나타낸 그림이다.

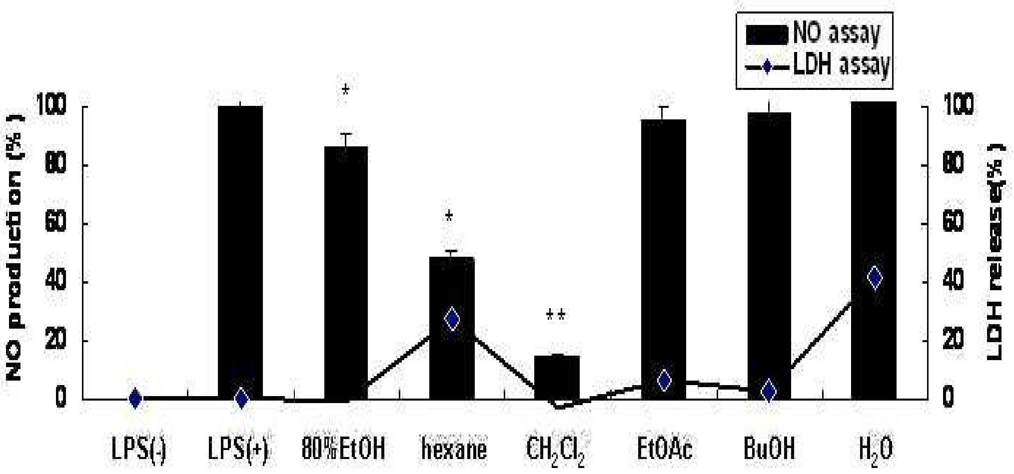
<168> 도 12는 잔가시모자반 추출물 및 이의 용매분획물의 염증인자 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 유전자발현 억제 현상을 나타낸 그림이다.

<169> 도 13은 경단구슬모자반 추출물의 인간 각질세포인 HaCaT 세포에 대한 세포독성 여부를 나타내는 그림이다.

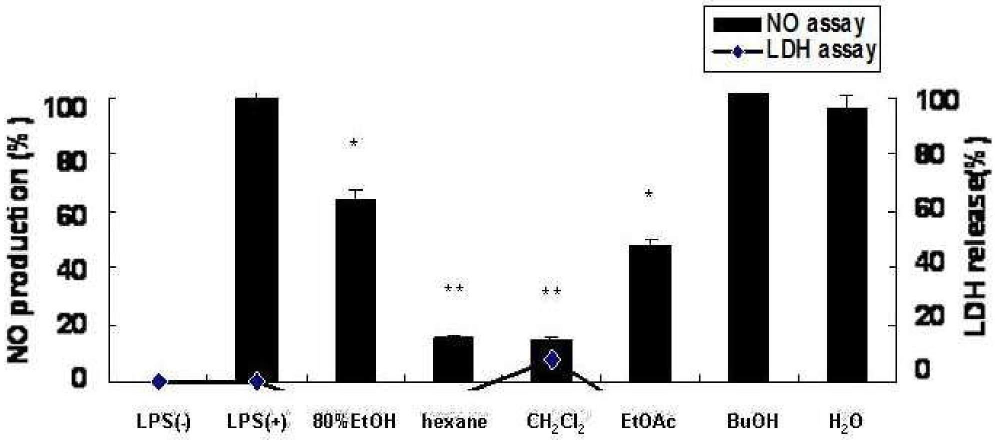
<170> 도 14는 잔가시모자반 추출물의 인간 각질세포인 HaCaT 세포에 대한 세포독성 여부를 나타내는 그림이다.

도면

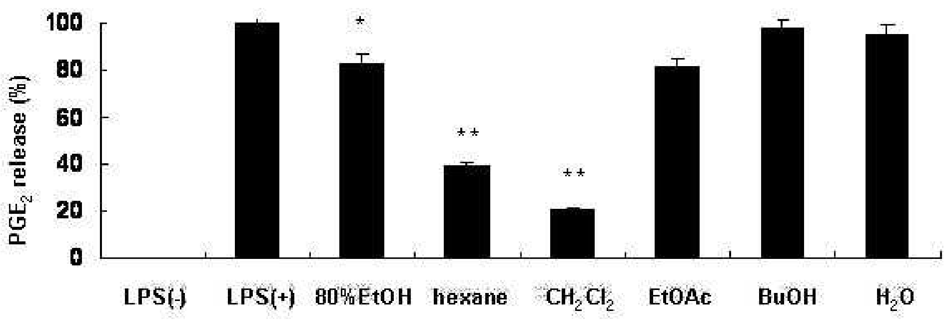
도면1



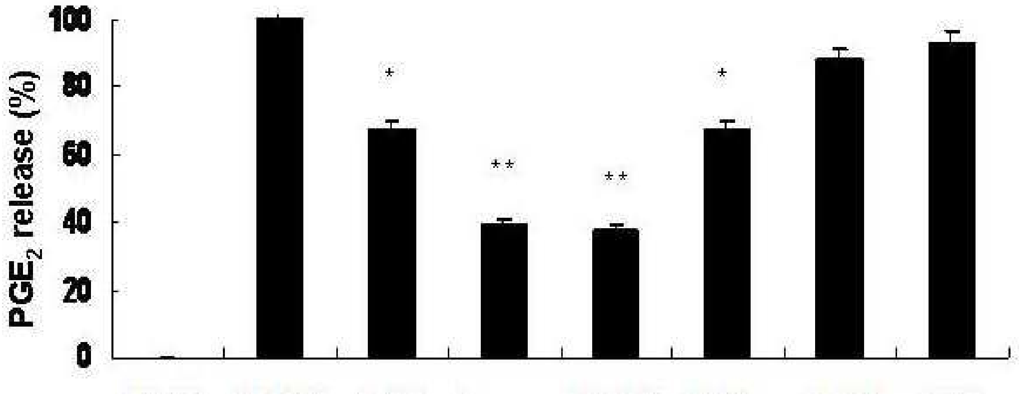
도면2



도면3

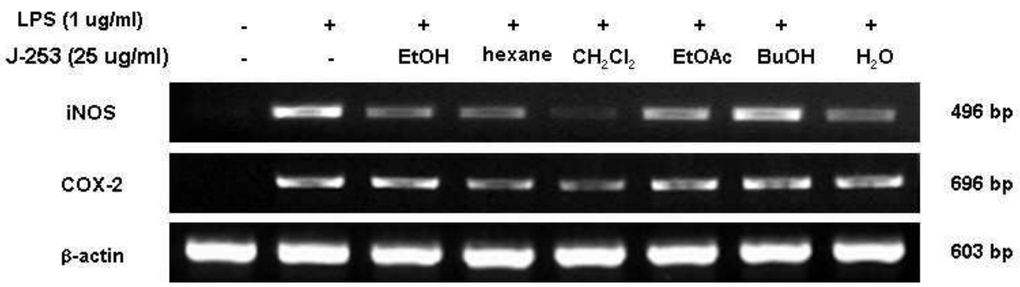


도면4



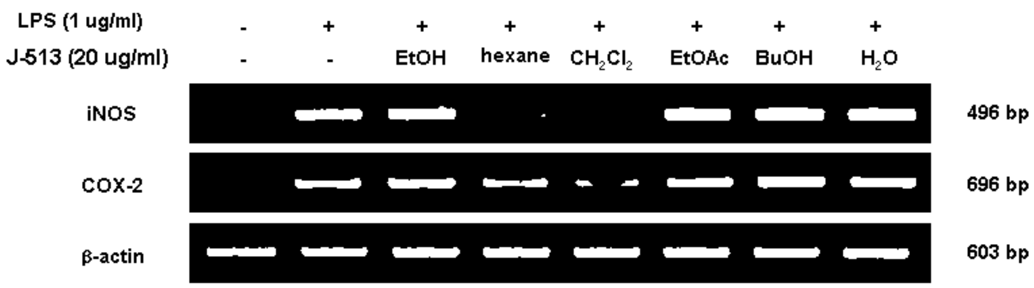
PGE2 release (%)
100
80
60
40
20
0
*
**
**
*

도면5



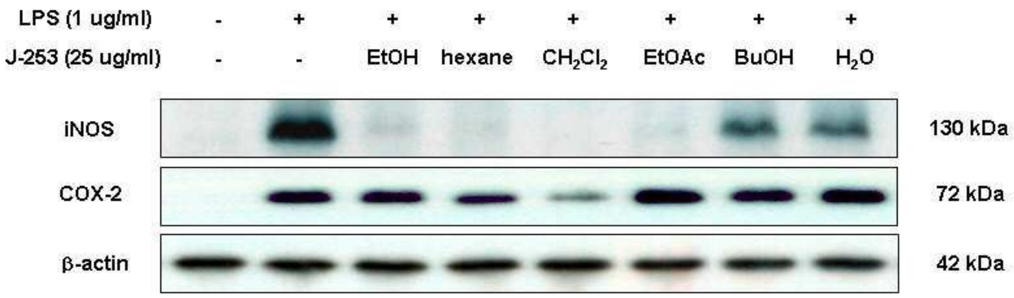
LPS (1 ug/ml)
- + + + + + + +
J-253 (25 ug/ml)
- - EtOH hexane CH2Cl2 EtOAc BuOH H2O
iNOS
COX-2
β-actin
496 bp
696 bp
603 bp

도면6

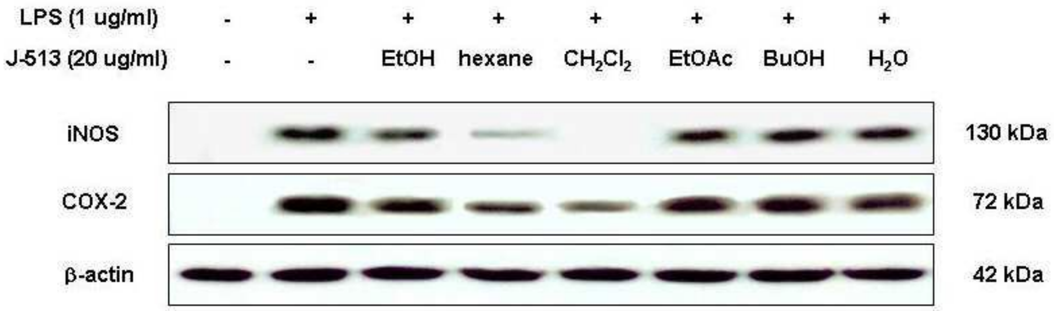


LPS (1 ug/ml)
- + + + + + + +
J-513 (20 ug/ml)
- - EtOH hexane CH2Cl2 EtOAc BuOH H2O
iNOS
COX-2
β-actin
496 bp
696 bp
603 bp

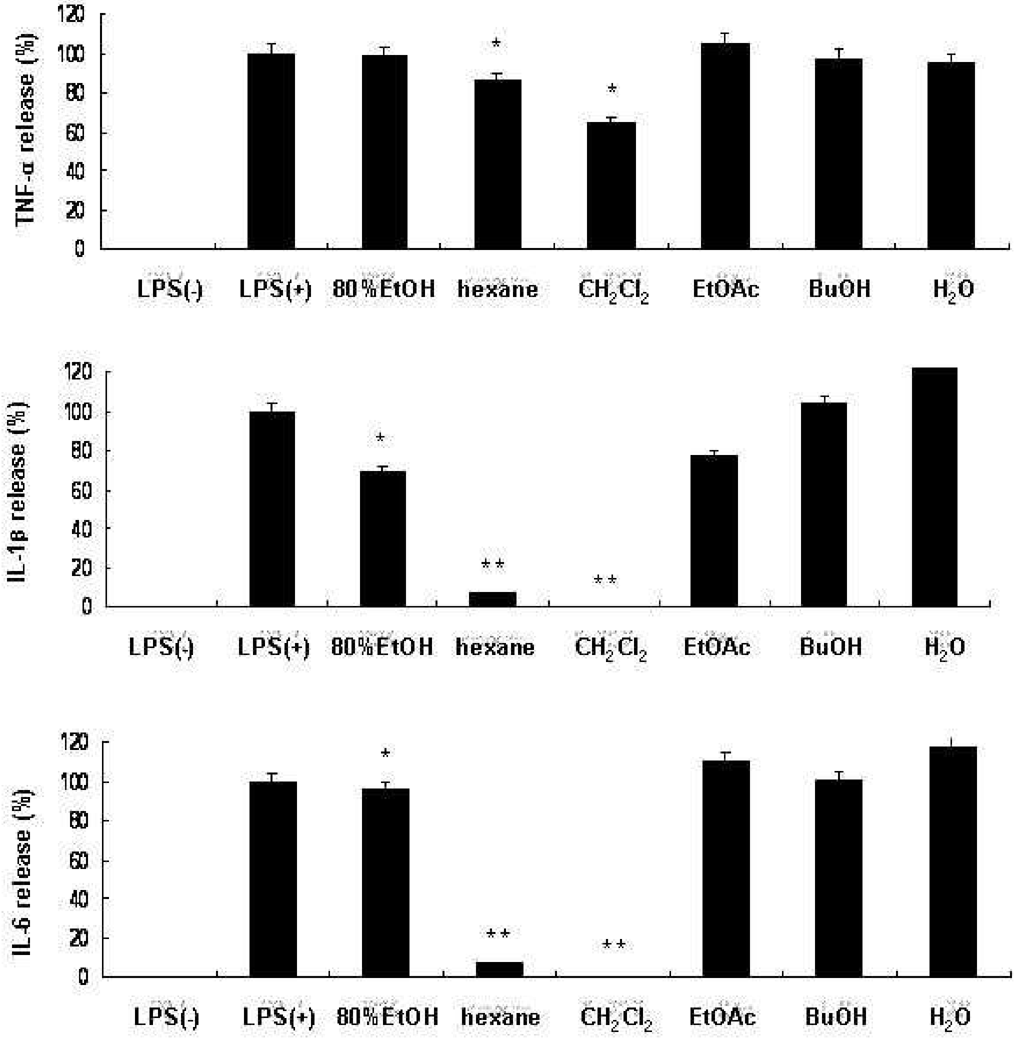
도면7


LPS (1 ug/ml) - + + + + + + +
J-253 (25 ug/ml) - - EtOH hexane CH2Cl2 EtOAc BuOH H2O
iNOS
COX-2
β-actin
130 kDa
72 kDa
42 kDa

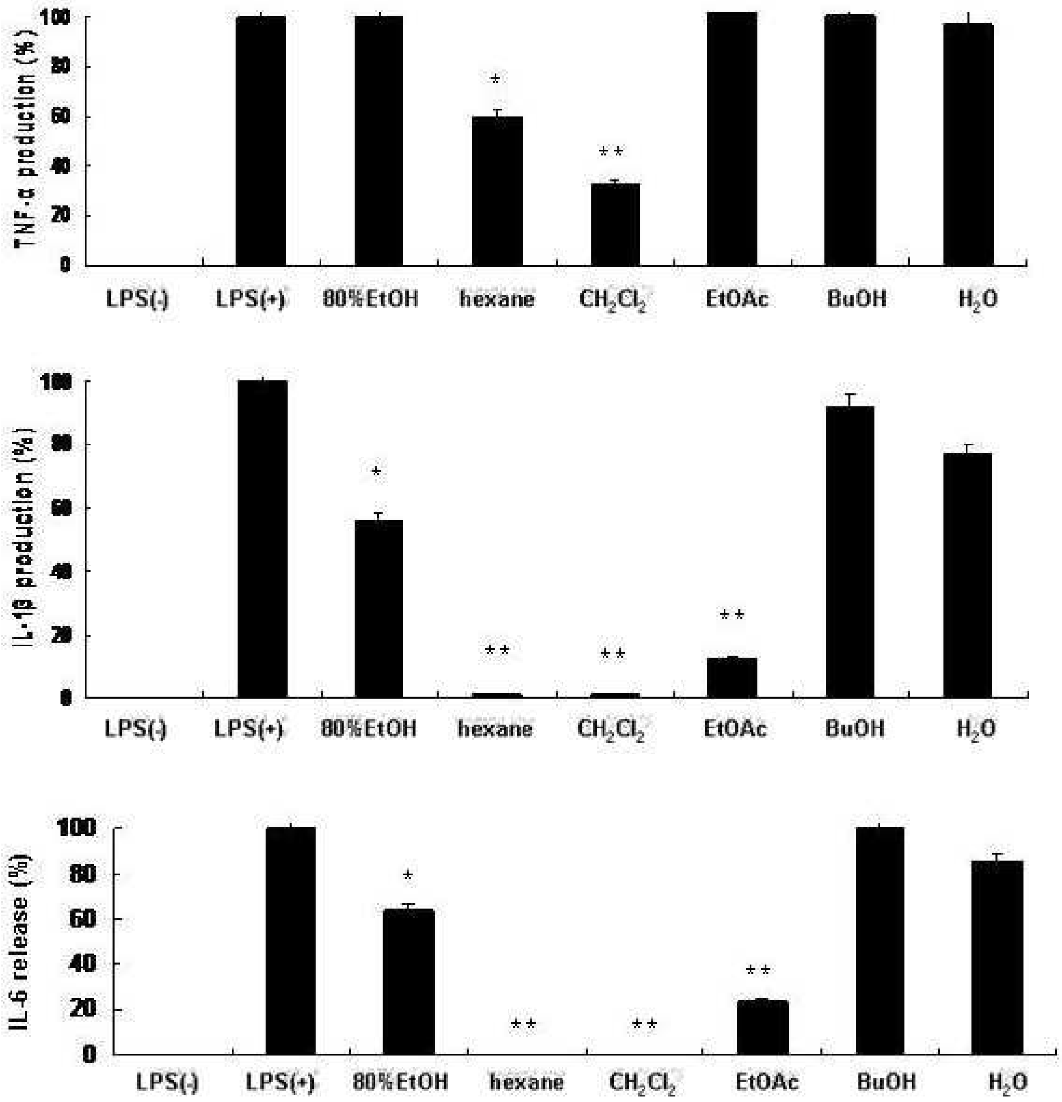
도면8


LPS (1 ug/ml) - + + + + + + +
J-513 (20 ug/ml) - - EtOH hexane CH2Cl2 EtOAc BuOH H2O
iNOS
COX-2
β-actin
130 kDa
72 kDa
42 kDa

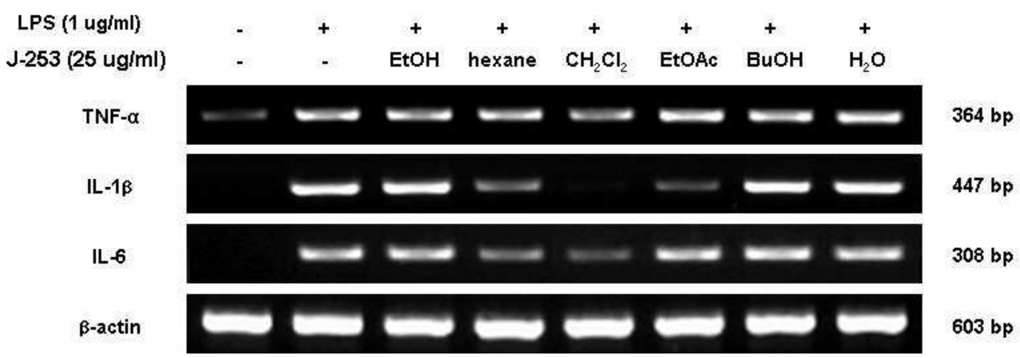
도면9


TNF-α release (%)
IL-1β release (%)
IL-6 release (%)
0
20
40
60
80
100
120
*
**
LPS(-)
LPS(+)
80%EtOH
hexane
CH2Cl2
EtOAc
BuOH
H2O

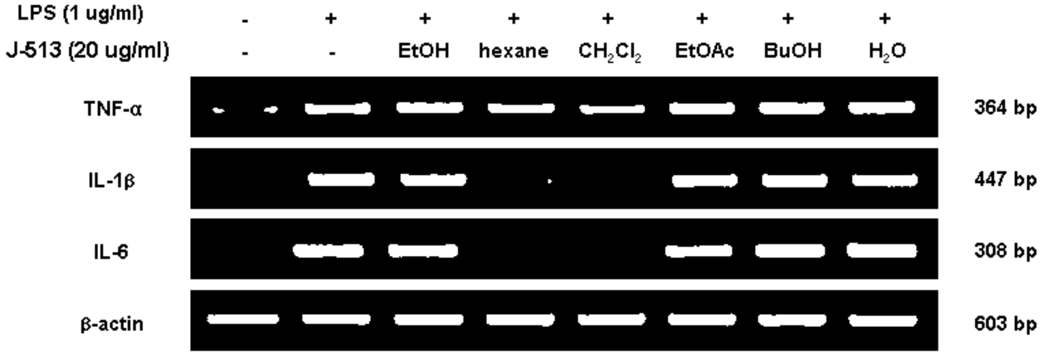
도면10


TNF-α production (%)
100
80
60
40
20
0
LPS(-)
LPS(+)
80%EtOH
hexane
CH_2Cl_2
EtOAc
BuOH
H_2O
IL-1β production (%)
IL-6 release (%)
*
**

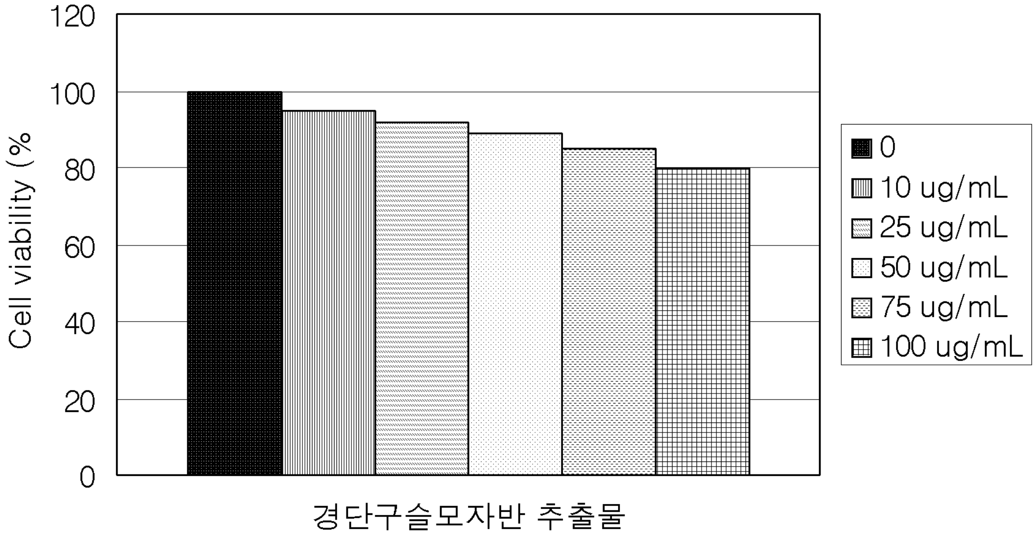
도면11


LPS (1 ug/ml)
J-253 (25 ug/ml)
EtOH
hexane
CH_2Cl_2
EtOAc
BuOH
H_2O
TNF-α
IL-1β
IL-6
β-actin
364 bp
447 bp
308 bp
603 bp

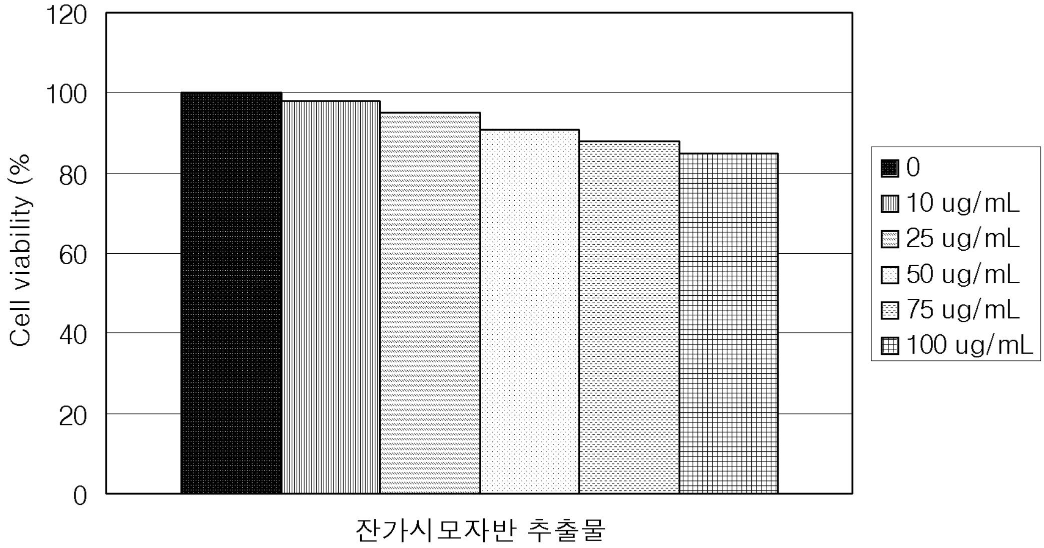
도면12


LPS (1 ug/ml) - + + + + + + +
J-513 (20 ug/ml) - - EtOH hexane CH2Cl2 EtOAc BuOH H2O
TNF-α
IL-1β
IL-6
β-actin
364 bp
447 bp
308 bp
603 bp

도면13


Cell viability (%
120
100
80
60
40
20
0
0
10 ug/mL
25 ug/mL
50 ug/mL
75 ug/mL
100 ug/mL
경단구슬모자반 추출물

도면14


120
100
80
60
40
20
0
Cell viability (%
잔가시모자반 추출물
0
10 ug/mL
25 ug/mL
50 ug/mL
75 ug/mL
100 ug/mL