



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2013년03월12일  
 (11) 등록번호 10-1243115  
 (24) 등록일자 2013년03월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**A61K 36/71** (2006.01) **A61P 29/00** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-0050532  
 (22) 출원일자 2012년05월11일  
 심사청구일자 2012년05월11일  
 (30) 우선권주장  
 1020120039446 2012년04월17일 대한민국(KR)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 KR1020090048848 A\*  
 2011년도 한국생물공학회 춘계학술발표대회 요약  
 집 p.205 (2011.04.)\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
**재단법인 전라남도생물산업진흥재단**  
 전남 나주시 동수동 산15-1  
 (72) 발명자  
**최철웅**  
 광주광역시 서구 풍암순환로 10, 105동 203호 (풍  
 암동, 호반 · 중흥1단지)  
**반상오**  
 광주광역시 북구 평교로29번길 23 (문흥동)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**특허법인 천지**

전체 청구항 수 : 총 6 항

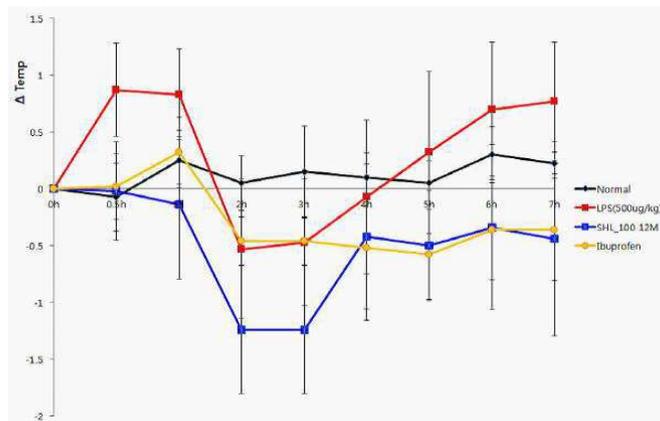
심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 **멸꿀 잎 추출물을 포함하는 해열제**

**(57) 요약**

본 발명은 멸꿀 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열제에 관한 것이다. 본 발명은 상기 멸꿀 잎 추출물이 세포독성이 없을 뿐만 아니라, 기존 해열효과를 갖는 해열제와 비교하여서도 우수한 해열 효과를 가지는 것을 확인하여 완성한 것으로, 이를 유효성분으로 포함하는 상기 해열용 조성물은 그 해열효과가 매우 우수하다 할 것이다.

**대표도 - 도4**



(72) 발명자

**설희진**

광주광역시 남구 용대로119번길 13, 203-806 (봉선동, 무등2차아파트)

**박가현**

전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136, 102동 103호(성은빌라)

**김희숙**

경상남도 고성군 개천면 구만로 337-8

**김현**

광주광역시 북구 서방로31번길 51 (중흥2동)

**장욱진**

전라남도 장흥군 장흥읍 못골길 32, 102-402 (동산빌라)

**이규옥**

전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136, 102-103 (성은연립)

**이동욱**

전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호 (수창아트빌)

**김선오**

광주광역시 북구 양일로 55, 101-605 (연계동, 현대아파트)

**김재갑**

경기도 부천시 소사구 경인로134번길 51, 2동 507호 (송내동, 삼익아파트)

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

멸꿀(*Stauntonia Hexaphylla*)의 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열용 조성물.

**청구항 2**

제1항에 있어서,

상기 멸꿀의 추출물은 멸꿀 잎을 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올 및 이의 혼합물로 이루어진 균 중에서 선택된 1종 이상을 추출용매로 추출한 것인 해열용 조성물.

**청구항 3**

제2항에 있어서,

상기 멸꿀의 추출물은 멸꿀 잎 열수추출물에 클로로포름, 부탄올 또는 에틸아세테이트를 분획용매로 분획한 분획물인 해열용 조성물.

**청구항 4**

제3항에 있어서,

상기 멸꿀의 추출물은 멸꿀 잎 열수추출물에 에틸아세테이트 또는 클로로포름을 분획용매로 분획한 분획물인 해열용 조성물.

**청구항 5**

제4항에 있어서,

상기 멸꿀의 추출물은 멸꿀 잎 열수추출물에 에틸아세테이트를 분획용매로 분획한 분획물인 해열용 조성물.

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

멸꿀(*Stauntonia hexaphylla*) 잎에 물을 가하고 열수 추출하는 멸꿀 열수추출물 제조단계; 및

상기 제조된 멸꿀 열수추출물에 에틸아세테이트를 가하여 에틸아세테이트 분획물을 제조하는 단계를 포함하는 해열 효과를 갖는 멸꿀의 추출물의 분획물 제조방법.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 해열효과가 있는 식물 추출물, 구체적으로 멸꿀의 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열제에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 해열제(antipyretic drug)는 발열 상태의 체온을 하강시키는 작용을 하는 약제로, 일반적으로 진통 작용도 동시에 나타내므로 해열진통제라고 한다.

[0003] 해열제와 관련된 작용기작으로 현재 주로 지지받고 있는 견해는 상기 해열제가 프로스타글란딘(prostaglandin; PG)의 생합성을 저해함으로써 발열을 진정시키고, 해열이 가능하게 한다는 것이다.

[0004] 구체적으로, 발열 시에는 시상하부 체온조절중추의 프로스타글란딘 농도가 상승하므로, 상기 체온조절중추의 프

로스타글란딘 함량을 낮추는 경우에 발열 작용을 억제하여 해열효과를 발휘할 수 있다. 또한, 상기 프로스타글란딘은 통증 유발의 매개물질로 알려져 있다. 그러나, 이 외에도 발열 증상과 관련하여 다양한 메커니즘이 제시되고 있다.

- [0005] 현재 처방되고 있는 해열제로는 아스피린 등의 살리실산 유도체, 아세톤아닐리드, 페나세틴 등의 아닐린 유도체, 안티피린, 아미노피린 또는 술피린 등의 파라조론 유도체 등이 있다. 또한, 항염증제 중에서 인도메탄신과 같은 비스테로이드계항염증제 중에도 해열진통작용을 가지는 것이 있다.
- [0006] 상기한 바와 같이, 해열진통작용과 항염 효과 즉 소염효과와 관련하여 일부 연관성이 발견되는 경우도 있기는 하나, 항염증 작용은 거의 없으면서도 해열 작용에는 강력한 약제도 있는 반면, 해열 작용은 거의 없으나 항염 효과는 우수한 물질도 있으므로, 항염 효과와 해열 및 진통 효과가 반드시 상호 직접적인 연관관계가 있는 것은 아닌 것으로 판단된다.
- [0007] 따라서, 급성중독증을 일으키는 아닐린계 등과 같이 최근에 여러 가지 부작용이 문제되는 화합물질 유래 성분이 아닌 천연물 유래 성분으로 해열작용이 우수할 뿐만 아니라 천연물질 유래 물질로 이러한 부작용이나 세포독성에 대한 위험이 거의 없는 물질의 개발이 요구되고 있다.
- [0008] 특히, 최근에는 소비자들의 욕구에 부응하기 위하여 천연 원료를 이용한 천연물 의약으로서 해열제에 대한 연구 개발이 활발히 진행되고 있는 실정이다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0009] (특허문헌 0001) KR 0234495 B
- (특허문헌 0002) KR 0329685 B
- (특허문헌 0003) KR 0484525 B
- (특허문헌 0004) KR 0922987 B

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0010] 상기와 같은 요구에 부응하기 위하여, 본 발명은 부작용과 관련된 문제가 발생될 가능성이 적은 식물 추출물을 유효성분으로 하는 해열용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

**과제의 해결 수단**

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 멸균 및 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열용 조성물을 제공한다. 상기 해열용 조성물은 의약품 조성물일 수 있고, 일 예로 해열제 또는 해열진통제일 수 있다.
- [0012] 상기 멸균 및 추출물은 해열 효과가 우수할 뿐만 아니라, 추가로 상기 멸균 및 열수추출물의 여러 용매 분획 중에서 클로로포름 분획은 독성이 문제되지 아니한 범위에서 다른 분획에 비해 해열 효과가 우수하다는 것이 확인되었다.
- [0013] 본 발명자들은 멸균 및 추출물은 다른 항염 효과가 있는 식물 추출물이 해열 효과가 없거나 미비한 것과 달리 현저하게 뛰어난 해열 효과가 있고, 특히 상기 멸균 및 열수추출물의 클로로포름 분획물은 다른 분획용매를 이용한 분획물에 비하여 해열 효과가 뛰어나다는 것을 동물 실험을 통하여 확인하였으며, 추가로 부탄올을 분획용매로 사용하는 경우, 분획물 수율이 우수하고, 속성 해열 효과가 우수할 뿐만 아니라 해열 효과도 핵산 분획에 비해 우수하다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [0014] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0015] 본 발명은 멸균 추출물, 바람직하게는 멸균 및 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열용 조성물에 관한 것이다.
- [0016] 상기 멸균(*Stauntoniahexapillya*)은 쌍떡잎식물 미나리아재비목 으름덩굴과의 상록 덩굴 식물으로, 멸균나무라고

도 한다. 상기 멸꽃은 암수 한그루로 원줄기는 약 5m 정도 뻗어가고, 잎은 어긋나며 5개 내지 7개의 작은 잎으로 된 손바닥모양 겹잎이다. 작은 잎은 두껍고 달걀모양 또는 타원형이며, 가장자리가 밋밋하다. 잎자루는 길이가 6cm 내지 8cm 정도이고, 작은 잎자루는 약 3cm 정도이다. 꽃은 5월에 피고, 황백색이며 총상꽃차례에 달린다. 암꽃의 작은 꽃 가지는 가을에 적갈색으로 되고, 많은 피복이 있어 거칠다. 열매는 장과로 달걀모양 또는 타원형이고 길이가 5cm 내지 10cm이며, 10월에 적갈색으로 익고 과육은 으름보다 맛이 좋다. 종자는 달걀모양의 타원형으로 흑색이다. 상기 멸꽃은 주로 한국, 일본, 타이완 또는 중국 등지에 분포한다. 우리나라에서는 주로 전라남도, 경상남도 및 충청남도 등의 남쪽지방의 계곡이나 숲 속에서 잘 생육한다.

- [0017] 상기 멸꽃 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있으며, 일 예로 멸꽃의 잎, 가지, 줄기, 뿌리 또는 껍질이나 이의 분쇄물, 바람직하게는 멸꽃의 잎에 추출용매를 가하여 추출함으로써 제조하거나 추출용매로 추출하여 제조한 조추출물에 분획용매를 가하여 분획하여 제조된 것일 수 있다.
- [0018] 상기 추출용매는 물 및 유기용매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올, 상기 알코올 희석수, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매와 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 상기 탄소수 1 내지 5의 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 이소프로판올 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 알코올 희석수는 알코올을 50%(v/v) 내지 99.9%(v/v)로 물에 희석한 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 멸꽃 잎 추출물의 추출용매는 바람직하게는 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올, 알코올 희석수 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 더욱 바람직하게는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있으며, 더더욱 바람직하게는 물일 수 있다. 상기 추출과정은 일 예로, 50℃ 내지 150℃, 또는 75℃ 내지 120℃, 또는 90℃ 내지 115℃에서 수행될 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 또한, 상기 추출시간은 특별히 한정되지는 않으나, 10분 내지 12시간, 또는 30분 내지 8시간, 또는 2시간 내지 6시간일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 멸꽃 잎 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있으며, 구체적으로는 열수 추출법을 포함한 열 추출법, 냉침추출법, 온침추출법, 초음파 추출법 등일 수 있으며, 통상의 추출기기, 초음파 분쇄 추출기 또는 분획기를 이용할 수 있다.
- [0021] 또한, 상기 용매로 추출한 추출물은 이후, 헥산, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트, 에틸에테르, 아세톤, 부탄올, 물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 용매, 바람직하게는 에틸아세테이트, 클로로포름, 또는 부탄올, 더욱 바람직하게는 에틸아세테이트 또는 클로로포름, 더더욱 바람직하게는 에틸아세테이트로 분획과정을 더욱 실시할 수 있다. 상기 분획 시 용매는 2종 이상 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하거나 혼합하여 사용하여, 각 용매 추출물을 제조할 수 있다.
- [0022] 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물은 이후 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있으며, 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있으며, 상기 농축은 감압 농축기, 일예로 회전 증발기를 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 상기 건조는 일 예로 동결건조법으로 수행할 수 있다.
- [0023] 상기 해열용 조성물은 약제로 사용되거나, 의약 또는 약학적 용도로 사용될 수 있고, 이러한 측면에서 상기 해열용 조성물은 의약용 조성물일 수 있으며, 일 예로 해열제 또는 해열진통제일 수 있다.
- [0024] 상기 해열용 조성물이 의약 또는 약학적 용도로 사용되는 경우, 상기 해열용 조성물은 이상 발열을 억제하거나 질병에 수반된 이상 발열을 치료 또는 예방하기 위하여 사용될 수 있다.
- [0025] 이러한 측면에서, 본 발명은 멸꽃 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열용 조성물에 관한 것일 수 있다. 상기 멸꽃 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열용 조성물은 이상 발열 또는 질병이나 질환에 수반된 이상 발열을 억제하거나 치료, 개선 또는 예방하기 위하여 사용될 수 있으며, 구체적으로 해열제 또는 해열진통제일 수 있다.
- [0026] 상기 멸꽃 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열용 조성물에 있어서, 상기 멸꽃 잎 추출물은 멸꽃 잎열수추출물, 바람직하게는 멸꽃 잎 열수 추출물의 클로로포름 분획물, 에틸아세테이트 분획물 또는 부탄올 분획물, 더욱 바람직하게는 에틸아세테이트 분획물 또는 클로로포름 분획물, 더더욱 바람직하게는 에틸아세테이트 분획물일 수 있다.
- [0027] 상기 이상 발열이란 체온이 비정상적으로 높은 것을 의미한다.

- [0028] 상기 해열제는 해열 또는 이상 발열을 해소하기 위해 사용되는 약으로, 체온이 비정상적으로 높아졌을 때 열을 내리기 위해 사용되는 의약품을 말하며, 기존 보고된 해열제로는 안티피린(antipyryn), 안티페브린(antifebrin), 아스피린(aspyrin) 또는 살리피린(salipyryn) 등이 있다. 상기 해열제는 대개는 진통완화 효력도 있으므로, 해열진통제라 불리우기도 한다.
- [0029] 상기 멸균 및 추출물을 유효성분으로 포함하는 해열용 조성물은 인간을 포함한 동물에 직접 적용될 수 있다. 상기 동물은 식물에 대응하는 생물군으로 주로 유기물을 영양분으로 섭취하고, 소화기관, 배설기관 및 호흡기관이 분화되어 있는 것을 말하며, 바람직하게는 포유류, 더욱 바람직하게는 인간일 수 있다.
- [0030] 상기 멸균 및 추출물은 상기 해열용 조성물 내에 단독으로 사용될 수 있으며, 그 외 약리학적으로 허용가능한 담체, 부형제, 희석제 또는 부성분을 추가로 포함할 수 있다.
- [0031] 보다 상세하게는, 상기 멸균 및 추출물을 포함하는 조성물이 약제로 사용되거나, 의약 또는 약학적 용도로 사용되는 경우, 상기 멸균 및 추출물은 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제와 혼합하거나 희석제로 희석하여 사용될 수 있다.
- [0032] 이 경우 상기 조성물 내 멸균 및 추출물의 함량은 0.001 중량 % 내지 99.9 중량 %, 0.1 중량% 내지 99 중량% 또는 1 중량% 내지 50 중량%일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 조성물의 사용태양 및 사용방법에 따라 상기 추출물의 함량은 바람직한 함량으로 적절히 조절하여 사용될 수 있다.
- [0033] 상기 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀 및 생리식염수로 이루어진 군에서 선택된 1 이상을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용 가능하다. 담체 또는 부형제는 2종이상 사용될 수 있다.
- [0034] 또한, 상기 해열용 조성물은 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 붕해제, 항응집제, 운환제, 습윤제, pH 조절제, 영양제, 비타민, 전해질, 알긴산 및 그의 염, 펙트산 및 그의 염, 보호성 콜로라이드, 글리세린, 향료, 유효제 또는 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기 성분들은 상기 유효성분인 멸균 및 추출물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.
- [0035] 또한, 본 발명의 해열용 조성물은 상기 유효성분 이외에 공지의 해열효과가 있는 것으로 인정된 물질을 더욱 포함할 수 있다.
- [0036] 또한 본 발명의 해열제는, 상기 유효성분 이외에 공지의 해열작용을 하는 화합물 또는 식물 추출물을 더욱 포함할 수 있으며, 상기 유효성분 100 중량부에 대하여 각각 0.1 중량부 내지 99.9 중량부 또는 0.5 중량부 내지 20 중량부로 포함될 수 있다.
- [0037] 상기 조성물이 약제로 사용하는 경우 투여방법은 경구 또는 비경구 모두 가능하며, 일 예로는 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다.
- [0038] 또한, 상기 조성물의 제형은 사용방법에 따라 달라질 수 있으며, 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 본 발명이 속하는 기술분야에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있다.
- [0039] 일반적으로는, 경구 투여를 위한 고형제에는 정제(TABLETS), 알약, 연질 또는 경질 캡셀제(CAPSULES), 환제(PILLS), 산제(POWDERS) 및 과립제(GRANULES) 등이 포함되고, 이러한 제제는 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 운환제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제(SUSTESIONS), 내용액제, 유제(EMULSIONS) 및 시럽제(SYRUPS) 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0040] 비경구투여를 위한 형태는 크림(CREAM), 로션제(LOTIONS), 연고제(ONITMENTS), 경고제(PLASTERS), 액제(LIQUIDS AND SOULTIONS), 에어로솔제(AEROSOLS), 유동엑스제(FRUIDEXTRACTS), 엘릭서(ELIXIR), 침제

(INFUSIONS), 향낭(SACHET), 패취제(PATCH) 또는 주사제(INJECTIONS) 등의 형태일 수 있다.

- [0041] 더 나아가, 본 발명의 조성물은 당해 기술 분야의 공지된 적절한 방법을 사용하여 또는 레밍턴의 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 제형화될 수 있다.
- [0042] 상기 조성물의 투여량은 투여방법, 복용자의 연령, 성별, 환자의 중증도, 상태, 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성물 및 병용되는 약물을 고려하여 결정할 수 있으며, 일 예로 1일 유효성분을 기준으로 하였을 때 0.1 mg/kg(체중) 내지 500 mg/kg(체중), 0.1 mg/kg(체중) 내지 400 mg/kg(체중) 또는 1 mg/kg(체중) 내지 300 mg/kg(체중)으로 투여할 수 있으며, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0043] 또한, 본 발명은 일 측면에 있어서, 해열 효과가 있는 멸균 및 추출물의 분획물 제조방법에 관한 것이다.
- [0044] 보다 구체적으로, 본 발명의 일 실시예에서 확인된 바와 같이, 멸균 및 열수 추출물의 용매 분획에 있어서, 헥산을 분획용매로 이용하는 경우 수율이 너무 낮고, 해열 효과도 미비하여 산업화에 있어서 공정상의 문제가 발생될 수 있으므로 부적절한 것으로 평가하였다. 반면, 부탄올 분획의 경우에는 높은 수율로 경제성은 인정되나, 해열 효과가 높지 않은 것으로 확인되었다. 한편, 에틸아세테이트를 분획용매로 이용하는 경우, 부탄올을 제외한 다른 분획용매에 비하여 가장 수율이 높을 뿐만 아니라, 해열 효과도 우수하여, 치료효과와 경제성이 인정되므로 산업적으로 효과가 우수할 것으로 평가된다.
- [0045] 따라서, 해열효과가 있는 멸균 분획물 제조방법과 관련하여 산업적 측면 즉, 해열효과 및 생산수율이란 측면에서 에틸아세테이트 분획이 우수한 것으로 판단되어, 에틸아세테이트를 분획용매로 선택하였다.
- [0046] 구체적으로, 상기 해열효과를 갖는 멸균 분획물 제조방법은 멸균(*Stautoni ahexaphylla*)에 물을 가하고 열수 추출하는 멸균 열수 추출물 제조단계 및 상기 제조된 멸균 열수 추출물에 에틸아세테이트를 가하여 에틸아세테이트 분획물을 제조하는 단계를 포함하는 방법일 수 있다.
- [0047] 상기 멸균 열수 추출물 제조단계는 상기 멸균(*Stautoni ahexaphylla*) 잎에 물, 일 예로 증류수를 가한 후, 80℃ 내지 150℃, 바람직하게는 90℃ 내지 130℃, 더욱 바람직하게는 100℃ 내지 120℃에서 0.5시간 내지 20시간, 바람직하게는 1시간 내지 10시간, 더욱 바람직하게는 2시간 내지 8시간 동안 가열하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0048] 상기 멸균 잎 100 중량부에 대해 첨가되는 물의 양은 중량을 기준으로 100 중량부 내지 10,000 중량부 또는 500 중량부 내지 5,000 중량부 또는 1,000 중량부 내지 3,000 중량부일 수 있다.
- [0049] 일 예로, 상기 멸균 열수 추출물 제조단계는 상기 멸균 잎을 유수에서 세수하는 과정; 상기 멸균 잎 100 중량부에 대하여 물, 더욱 구체적으로 증류수를 1,500 중량부 내지 2,500 중량부 첨가하는 과정 및 상기 멸균 및 물 혼합액을 100℃ 내지 120℃에서 3시간 내지 5시간 동안 가열하는 과정을 포함하는 방법으로 수행할 수 있고, 상기 방법으로 제조된 추출액을 여과포를 이용하여 여과하는 과정, 상기 여과과정에 의해 수득한 여액을 감압농축하는 방법 등을 통하여 농축하는 과정 및 상기 농축된 농축액을 동결건조 등의 방법으로 건조하는 과정을 더욱 포함할 수 있다.
- [0050] 상기 에틸아세테이트 분획물을 제조하는 단계는 상기 열수 추출물에 에틸아세테이트를 첨가하는 과정; 및 에틸아세테이트 분획을 분리하는 과정을 포함하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0051] 일 예로, 상기 에틸아세테이트 분획물을 제조하는 단계는 상기 열수 추출물을 증류수에 용해시키는 과정; 상기 용액에 에틸아세테이트를 첨가하고 혼합하는 과정 및 상기 혼합액에서 에틸아세테이트 층을 분리하는 과정을 포함하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0052] 상기 에틸아세테이트 분획물을 제조하는 단계는 상기 증류수로 열수 추출물을 용해한 용액에 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올의 순으로 순차적으로 용매를 첨가하고 혼합한 후, 해당 용매층을 분리하고, 남은 수층에 다음 용매를 첨가하고 해당 용매의 분획액을 제조하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0053] 또한, 상기 에틸아세테이트 분획물을 제조하는 단계는 상기 방법으로 제조된 분획액을 여과포를 이용하여 여과하는 과정, 상기 분획액 또는 여과과정에 의해 수득한 여액을 감압농축 방법 등을 통하여 농축하는 과정 및 상기 농축된 농축액을 동결건조 등의 방법으로 건조하는 과정을 더욱 포함할 수 있다.
- [0054] 멸균 및 열수 추출물의 분획물 제조와 관련하여, 헥산 분획의 경우 수율이 0.015%이고, 클로로포름 분획의 경우

수율이 0.27%에 불과한 반면, 상기 에틸아세테이트 분획의 경우에는 수율이 1.05%로 현저하게 우수하고, 속성해열 효과도 뛰어나며, 멸균 및 소재의 경우 멸균 열매와 달리 그 수확량이 풍부하고 보관도 용이하므로, 상기 멸균 및 열수 추출물의 에틸아세테이트 분획물 제조방법은 분획물 제조의 효율에 있어서 높은 수율로 인해 경제성이 인정되고, 해열효과도 인정되므로 산업적으로 효과가 우수할 것으로 평가된다.

**발명의 효과**

[0055] 본 발명의 멸균 및 추출물은 식용으로 사용되는 식물 유래 추출물로서 부작용이나 안전성에 대한 문제가 없고, MTT 분석 결과, 세포 독성이 없을 뿐만 아니라, 멸균 열매에 비하여 수확량이 많으므로 생산이 용이하며, 해열 효과도 인정되며, 특히 멸균 및 추출물의 분획물 중 에틸아세테이트 분획물은 동물 실험을 통해 해열 효과가 현저하게 우수하다는 것을 확인하였다.

**도면의 간단한 설명**

[0056] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, 멸균 및 열수추출물과 상기 열수추출물의 용매 분획물을 제조하는 과정을 나타내는 도식도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, RAW264.7 세포주를 이용하여, 멸균 및 추출물의 세포독성을 MTT assay법으로 측정된 결과를 나타낸 그래프로, 상기 그래프에서 +는 LPS(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 또는 추출물을 처리한 것을 의미하고, -는 처리하지 않은 것을 의미하며, 가로축의 SHL수치는 멸균 및 열수추출물의 투여량( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )을 나타내는 수치이고, 세로축은 아무런 시료를 투여하지 않은 대조군 대비 세포 독성을 나타낸 수치(%)이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른, 실험동물을 이용하여, 멸균 및 열수추출물의 해열효과를 확인하기 위하여, LPS에 의해 유도된 발열을 해열시킨 결과를 나타낸 그래프로, 가로축의 수치는 시료 투여 후 경과된 시간(hour, h)을 의미하고, 세로축의 수치는 측정된 체온을 의미한다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른, 실험동물을 이용하여, 멸균 및 열수추출물의 해열효과를 확인하기 위하여, LPS에 의해 유도된 발열을 해열시킨 결과를 나타낸 그래프로, 가로축의 수치는 시료 투여 후 경과된 시간(hour, h)을 의미하고, 세로축의 수치는 시료 투여 전 측정된 체온으로부터 변동된 체온의 변화 즉, 해당 시간에 측정된 실험동물의 체온에서 시료 투여 전 측정된 실험동물의 체온을 뺀 값을 의미한다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른, RAW264.7 세포주를 이용하여, 멸균 및 추출물의 분획물의 세포독성을 MTT assay법으로 측정된 결과를 나타낸 그래프로, 상기 그래프에서 +는 LPS(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 또는 용매 분획물을 처리한 것을 의미하고, -는 시료를 처리하지 않은 것을 의미하며, 가로축의 각 수치는 멸균 및 열수추출물의 각 분획 용매별 분획물의 투여량( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )을 나타내는 수치이고, 세로축은 아무런 시료를 투여하지 않은 대조군 대비 세포 독성을 나타낸 수치(%)이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른, 실험동물을 이용하여, 멸균 및 열수추출물의 분획물의 해열효과를 확인하기 위하여, LPS에 의해 유도된 발열을 해열시킨 결과를 나타낸 그래프로, 가로축의 수치는 시료 투여 후 경과된 시간(hour, h)을 의미하고, 세로축의 수치는 시료 투여 전 측정된 체온으로부터 변동된 체온의 변화 즉, 해당 시간에 측정된 실험동물의 체온에서 시료 투여 전 측정된 실험동물의 체온을 뺀 값을 의미한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0057] 이하, 본 명의 이해를 돕기 위하여 구체적인 실시예 및 비교예를 통하여 본 발명의 구성 및 효과를 보다 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명을 보다 명확하게 이해시키기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 하기 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 보호범위는 특허청구범위에 의하여 해석되어야 하고, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술사상은 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

[0058] <실시예 1> 멸균 및 추출물 및 분획물의 제조

[0059] 1-1. 멸균 및 추출물 제조

[0060] 멸균(*Stauntonia hexaphylla*)의 잎 10 kg을 열수를 이용하여 110℃에서 열수추출법을 수행하여 열수추출물을 제조하였다.

[0061] 보다 구체적으로, 증류수로 수세한 멸균 잎 10 kg에 증류수 200L를 가한 후, 전기약탕기를 이용하여 100℃에서

3시간 동안 가열하면서, 열수추출을 수행하였다. 상기 추출을 수행한 후, 400 메쉬 여과포로 여과한 다음, 수득한 여액을 감압회전농축기를 이용하여 농축하였다. 여과 후, 남은 잔사에 다시 동량의 증류수를 사용하여 동일과정으로 2번 더 추출, 여과 및 감압과정을 수행하였다.

[0062] 상기 과정을 통해 제조된 멸균 및 열수 추출액을 동결건조기(Freeze dryer)에서 동결건조하였다. 상기 동결건조를 통하여, 1 kg의 멸균 및 열수 추출물을 수득하였으며, 이로 인해 상기 멸균 및 열수 추출법에 의한 수율이 10%인 것으로 확인되었다.

[0063] 1-2. 멸균 및 추출물의 분획물 제조

[0064] 멸균 및 열수 추출물의 분획물 제조는 도 1에 나타난 제조방법에 의해 수행하였다.

[0065] 구체적으로, 상기 열수 추출물 250 g을 5 L의 증류수에 완전히 용해시킨 후, 분획여두에 넣고 헥산(Hexane) 5 L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 헥산 가용성층인 헥산층과 헥산 불용성층인 수층을 분리하고, 헥산층만을 수득함으로써, 헥산 분획액을 제조하였다.

[0066] 나머지 용액(수층)에 클로로포름 5 L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 클로로포름 가용성층인 클로로포름층과 클로로포름 불용성층인 수층을 분리하고, 클로로포름층만을 수득함으로써, 클로로포름 분획액을 제조하였다.

[0067] 나머지 용액(수층)에 에틸아세테이트 5 L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 에틸아세테이트 가용성층인 에틸아세테이트층과 에틸아세테이트 불용성층인 수층을 분리하고, 에틸아세테이트층만을 수득함으로써, 에틸아세테이트 분획액을 제조하였다.

[0068] 나머지 용액(수층)에 부탄올 5 L를 첨가하고 섞은 후에 분획하여, 부탄올 가용성층인 부탄올층과 부탄올 불용성층인 수층을 분리하고, 부탄올층만을 수득함으로써, 부탄올 분획액을 제조하였다.

[0069] 상기 부탄올 가용성층을 분획 분리 후 남은 부탄올 불용성층을 농축하여 남아있는 유기용매를 제거함으로써, 물 분획액을 제조하였다.

[0070] 상기 얻어진 각각의 분획액을 감압여과장치로 여과하여 농축한후, -20℃에서 동결건조하여 용매를 완전히 제거한 뒤 본 실험에 사용하였다. 상기 과정을 통하여 0.02 g의 헥산 분획물(0.015%), 0.67 g의 클로로포름 분획물(0.27%), 2g의 에틸아세테이트 분획물(1.05%), 68.75 g의 부탄올 분획물(27.5%)을 얻어 시료로 사용하였다. 상기 제조공정에서 헥산 분획물의 경우 수율이 너무 낮아서 산업화에 있어서 공정상의 문제가 발생할 수 있으므로, 부적절한 것으로 평가하였다. 상기 수득한 추출물 및 분획물은 실험에 사용하기 전까지 냉동보관하였다.

[0071] **<실시예 2> 추출물 및 분획물의 세포독성 실험**

[0072] 상기 실시예 1에서 제조된 멸균 및 열수추출물 및 멸균 및 열수추출물의 분획물의 세포 독성을 측정하기 위하여, 쥐의 대식세포인 RAW264.7 세포를 ATCC에서 구입하여 이용하였다.

[0073] 상기 세포의 배양(Cell culture)에 사용된 DMEM/F12(Dulbecco's modified Eagle's medium / Nutrient Mixture Ham's F12), FBS(fetal bovine serum), L-글루타민(L-glutamine) 및 페니실린-스트렙토마이신은 Gibco/BRL(USA)에서 구입하였다.

[0074] 상기 RAW264.7 세포는 DMEM/F12 배지에 10% FBS, 1% 페니실린스트렙토마이신 및 1% L-글루타민을 첨가한 배양액을 사용하여 배양하였고, 37℃ 습윤한 CO<sub>2</sub> 배양기(5% CO<sub>2</sub> /95% air)에서 배양하였다.

[0075] 상기 세포가 배양접시의 약 80%가 차게 배양시킨 후, PBS(pH 7.4)로 세포의 단층을 씻어낸 후 세척하고, 0.25% 트립신 및 2.56 mmol/L EDTA를 처리하여 계대배양하였다. 배지는 2일마다 교환하였다.

[0076] 상기 배양한 세포는, 50,000 cells/well의 밀도로 48 well-plate에 분주하여, 24시간 더 배양하였다. 상기 24시간 경과 후, 아무런 처리를 하지 않고 LPS만 처리한 대조군과 LPS와 상기 실시예 1의 멸균 및 추출물 및 분획물을 세포 생존에 별 다른 영향을 미치지 않는 것으로 확인된 DMSO를 사용하여 다양한 농도로 제조된 멸균 및 추출물 및 분획물을 처리한 실험군으로 나누어, 24시간 동안 더 배양시킨 후, 배양액을 제거하고 MTT 분석(MTT assay) 방법으로 살아있는 세포의 수를 측정하였다. 상기 MTT 분석은 다음과 같은 방법으로 수행하였다.

- [0077] 우선, 세포배양배지를 제거한 후 MTT를 1 mg/ml로 포함하는 DMEM/F12 배지를 웰당 1 ml씩 처리하고, 37℃ 습윤한 CO<sub>2</sub> 배양기에서 4시간 더 배양하였다. 이후 배지를 제거한 후, tetrazoliumbromide salt를 제거하고, DMSO 200 μl를 분주하여 각 웰에 생성된 포르마잔 크리스탈을 용해시키고, 마이크로 플레이트 리더(BIO-RAD)에서 540 nm 파장으로 흡광도를 측정하여 세포생존율을 확인하였다.
- [0078] 상기 멸균 및 추출물로 처리한 결과는 상기 실험을 동일하게 3회 수행하여, 측정된 값의 평균값으로 도 2에 나타내었고, 상기 멸균 및 열수추출물의 분획물로 처리한 결과는 상기 실험을 동일하게 3회 수행하여, 측정된 값의 평균값으로 도 5에 나타내었다.
- [0079] 상기 도 2에 나타낸 바와 같이, 상기 실시예 1-1에서 제조된 멸균 및 열수추출물을 다양한 농도, 구체적으로 멸균 및 열수추출물을 10 μg/ml 내지 200 μg/ml까지 농도 별로 처리하고 24시간을 경과한 경우에도, 아무런 시료를 처리하지 않고, LPS만 처리한 대조예와 비교하여 모두 세포의 증식에 별 다른 영향을 나타내지 않는 것으로 확인되었다. 따라서, 상기 결과로부터 멸균 및 추출물은 200 μg/ml까지는 세포독성이 없는 것으로 확인되었다.
- [0080] 또한, 상기 도 5에 나타낸 바와 같이, 상기 실시예 1-2에서 제조된 멸균 및 열수추출물의 분획물의 경우, 헥산 분획물에서는 25 μg/ml 투여한 실험군에서 세포 생존률이 유의적으로 감소하는 것이 확인되어 세포독성이 있는 것으로 확인되었다. 또한, 에틸아세테이트 분획물에서는 100 μg/ml 투여한 실험군에서 유의적이지 않으나, 다소 세포생존률이 감소되었고, 추가로 200 μg/ml 투여한 실험군에서 세포생존률이 유의적으로 감소되어, 100 μg/ml까지 안전한 것으로 확인되었다. 이 외에 다른 용매의 경우에도 50 μg/ml 또는 100 μg/ml에서 세포생존률이 유지되어, 헥산을 제외한 다른 용매를 분획용매로 사용한 분획물의 경우, 50 μg/ml 투여한 경우에는 세포독성이 없고, 안전한 것으로 확인되었다.
- [0081] <실시예 3> 추출물 및 분획물의 해열효과 측정
- [0082] 3-1. 멸균 및 추출물의 해열효과 확인
- [0083] 상기 실시예 1에서 제조된 멸균 및 추출물 및 분획물의 해열효과를 확인하기 위하여, 실험동물을 이용하였다.
- [0084] 상기 실험동물은 5주령의 Sprague-Dawley(SD) 수컷 흰쥐((주)샘타코, 대한민국)를 구입하여 이용하였다. 상기 실험동물의 사육은 20℃ 내지 24℃의 온도조건, 50% 내지 60%의 습도조건 및 12시간 주기의 주야조명조건으로 수행하였고, 물과 식이는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 상기 식이는 고휘사료(삼양사료, 대한민국)를 이용하였다. 상기 실험동물은 상기 조건으로 7일간 사육하여 실험실 환경에 적응시킨 후, 실험에 사용하였다.
- [0085] 상기 실험동물을 이용한 해열작용 효능을 확인하기 위한 미생물 독소(bacterial endotoxin)인 lipopolysaccharide(LPS) 유도성 발열(LPS-induced fever) 실험은 Vilela FC 등의 방법(Vilela FC *et al*, Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Sonchus oleraceus* in rats. *J Ethnopharmacol*. 17;127(3):737-41(2010))을 응용하여 수행하였다.
- [0086] 구체적으로, 상기 실험동물 중 임의로 5마리를 선택하여 1군으로 하고, lipopolysaccharide(LPS, Sigma, USA) 500 μg/kg을 복강 주사하여 발열을 유도시켰다. 상기 체온 측정은 직장체온측정기(Portable Thermocouple Thermometer(Physitemp Instruments, USA) 및 Stainless Steel Rectal Probe for Rats(Physitemp Instruments, USA))를 이용하여 직장체온을 측정하였으며, 실험 전 흰쥐의 체온을 세 차례 측정하여 온도 측정 스트레스로 인한 온도 상승을 최소화하였다.
- [0087] 우선, 멸균 및 열수추출물의 해열효과를 확인하기 위하여, 아무런 시료를 투여하지 않은 음성대조군(LPS)과 기존 해열효과가 확인된 아세트아미노펜(Acetaminophen, APAP, Sigma, USA)을 50 mg/kg 경구투여한 제1 양성대조군(APAP) 및 덱사메타손(Dexamethasone, Sigma, USA)을 1 mg/kg 경구투여한 제2 양성대조군(Dexamethasone)을 이용하였다.
- [0088] 우선, 상기 온도 측정 스트레스로 인한 온도 상승을 최소화하기 위한 준비를 마친 실험동물에 발열물질(LPS)을 500 μg/kg을 복강 주사 (i.p.)하여 투여한 다음, 실험군의 종류에 따라 아무런 시료를 투여하지 않거나(LPS), 멸균 및 열수추출액 200 mg/kg을 경구투여(SHL-200), 아세트아미노펜을 50 mg/kg 경구투여(APAP) 및 덱사메타손(Dexamethasone)을 1 mg/kg 경구투여(Dexamethasone)하였다. 또한, 상기 멸균 및 열수추출액 200 mg/kg을 상기 발열물질 투여 후, 1시간이 경과한 다음 경구투여(SHL-200(1h))하고, 발열물질 투여 후 8시간 동안 1시간, 4시간 및 8시간 경과 시점에서 직장체온을 측정하였다. 상기 측정결과를 도 3 및 하기 표 1에 나타내었다. 하

기 표 1의 수치는 각 시간별로 측정된 체온(℃)을 의미한다.

표 1

	Normal	LPS	SHL 200	SHL 200(1h)	Dexamethasone	APAP
0h	37.2	37.2	37.2	37.2	37.2	37.2
1h	37.55±0.21	38.2±0.68	36.65±0.69	38.23±0.41	37.3±0.52	36.58±0.67
4h	37.65±0.07	37.85±0.33	37.20±0.45	36.95±0.54	37.6±0.12	37.53±0.59
8h	37.55±0.07	37.6±0.61	37.7±0.14	37.73±0.22	37.73±0.13	37.78±0.13

[0090] 상기 도 3 및 표 1에 나타난 바와 같이, 발열물질(LPS)을 투여한 경우, 1시간이 경과된 시점에서 체온이 약 1℃ 내지 1.8℃ 이상 급격하게 증가하였다. 그러나, 본 발명의 멸균 및 열수추출액(SHL-200)을 투여한 경우, 오히려 현저하게 체온이 감소하였으나, 이러한 감소 정도는 텍사메타손(Dexamethasone)을 1 mg/kg 경구투여(Dexamethasone)한 경우보다 더 우수할 뿐만 아니라, 해열제로 널리 사용되고 있는 아세트아미노펜을 50 mg/kg 경구투여(APAP)한 경우가 거의 유사한 정도를 나타내어 우수한 해열 효과를 나타내었으며, 4시간이 경과된 시점에서는 아세트아미노펜을 50 mg/kg 경구투여(APAP)한 경우보다 체온이 증가되지 아니하여 지속성도 우수한 것으로 확인되었다.

[0091] 또한, 발열물질(LPS)을 투여한 후 1시간이 경과된 시점에서 멸균 및 열수추출액 200 mg/kg을 경구투여(SHL-200(1h))한 경우, 대조군과 같이 체온이 급격하게 증가하였다 다시 현저하게 감소되어, 4시간이 경과된 시점에서는 발열물질과 함께 아세트아미노펜을 50 mg/kg 경구투여(APAP)한 것과 유사한 정도로 감소되어, 시점에서 멸균 및 열수추출액은 발열이 시작된 이후 즉, 일정 수준 체온이 상승된 후에도 유효하게 작용하는 것으로 확인되었다.

[0092] 또한, 상기 온도 측정 스트레스로 인한 온도 상승을 최소화하기 위한 준비를 마친 실험동물에 발열물질(LPS)을 투여한 다음, 실험군의 종류에 따라 아무런 시료를 투여하지 않거나(LPS), 멸균 및 열수추출액 200 mg/kg을 경구투여(SHL-200) 또는 이브프로펜(Ibuprofen, 대웅제약, 대한민국)을 20 mg/kg 경구투여(Ibuprofen)하였다. 상기 발열물질 및 시료를 투여 후 8시간 동안 30분 또는 1시간 간격으로 8시간 동안 실험동물의 직장체온을 측정하였다. 상기 측정결과를 도 4에 나타내었다.

[0093] 상기 도 4에 나타난 바와 같이, 아무런 시료를 투여하지 않은 정상군(Normal)의 경우, 거의 체온 변화가 없었으나, 발열물질(LPS)을 투여한 경우, 30분 경과시점부터 체온이 급격하게 상승하여, 1시간이 경과된 시점에서 체온이 약 1℃ 정도 체온이 증가하였고, 다소 감소된 시점이 있기는 하나 7시간이 경과된 시점에서 다시 약 1℃ 가량 증가되는 것으로 확인되었다. 한편, 본 발명의 멸균 및 열수추출액(SHL-200)을 투여한 경우, 30분이 경과된 시점에서도 체온이 유지되었고, 1시간이 경과된 시점부터는 오히려 현저하게 체온이 감소하였으며, 체중적으로도 체온이 증가되지 않는 것이 확인되었다. 이러한 체온감소 정도는 이브프로펜(Ibuprofen)을 20 mg/kg 경구투여(Dexamethasone)한 경우와 달리 체온 상승이 확인되지 아니하고, 거의 대부분의 구간에서 이브프로펜 투여군에 비해 체온이 낮게 측정되어, 상기 멸균 및 열수 추출액은 이브프로펜 보다 더 우수한 것으로 확인되었다.

[0094] 3-2. 멸균 및 추출물의 분획물의 해열효과 확인

[0095] 상기 실시예 1-2에서 제조된 멸균 및 추출물의 분획물의 해열효과를 확인하기 위하여, 상기 실시예 3-1의 방법으로 사육된 실험동물(5주령의 SD 수컷 흰쥐((주)샘타코, 대한민국))을 이용하였다.

[0096] 상기 실험동물을 이용한 해열작용 효능을 확인하기 상기 실시예 3-1과 같이, 실험은 Vilela FC 등의 방법을 응용하여 미생물 독소(Lipopolysaccharide(LPS) from *E. coli* 0111:B4(Sigma, USA))를 이용한 미생물 독소 유도성 발열(LPS-induced fever) 후, 직장체온측정기로 체온을 측정하였다.

[0097] 상기 우선, 멸균 및 열수추출물의 해열효과를 확인하기 위하여, 아무런 시료를 투여하지 않은 음성대조군(LPS)과 기존 해열효과가 확인된 이브프로펜(대웅제약, 대한민국)을 20 mg/kg 경구투여한 양성대조군(Ibuprofen)을 이용하였다. 또한, 실험군으로, 헥산 분획물(Hx), 클로로포름 분획물(CHCl3), 에틸아세테이트 분획물(EA) 및 부탄올 분획물(BuOH)을 20 mg/kg을 투여하였다.

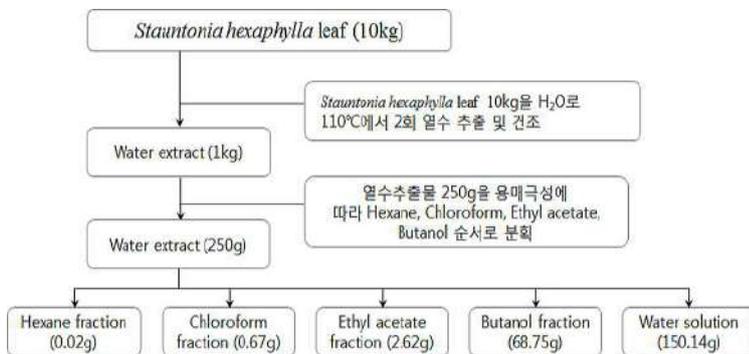
[0098] 우선, 실험 전 실험동물의 체온을 체온계(Portable Thermocouple Thermometer, physitemp, USA)를 이용하여, 직장체온을 측정하는 방법으로 3 번 측정하여 온도 측정 스트레스로 인한 온도 상승을 최소화한다.

[0099] 상기 온도 측정을 한 실험동물에 상기 발열물질인 미생물 독소(LPS)를 투여 5분 전에 각 시료를 함량 별로 경구 투여한 후, 5분이 경과한 뒤 미생물 독소를 500 μg/kg을 복강 주사(i.p.)로 투여하고, 2시간 동안 30분 간격으로 실험동물의 직장체온을 측정하였다. 상기 측정결과를 도 6에 나타내었다.

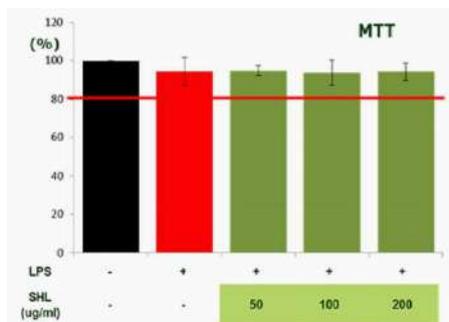
[0100] 상기 도 6에 나타난 바와 같이, 아무런 시료를 투여하지 않은 정상군(Normal)의 경우, 거의 체온 변화가 없었으나, 발열물질(LPS)을 투여한 경우, 30분 경과시점부터 체온이 급격하게 상승하여 1℃ 이상 체온이 상승되었고, 1시간이 경과된 시점에서도 체온이 약1℃ 정도 증가된 체온이 유지되었고, 2시간이 경과된 시점에서도 약 0.5℃ 가량 증가되는 것으로 확인되었다. 한편, 본 발명의 멸균 및 열수추출액의 핵산 분획을 투여한 경우에는 발열 물질을 투여한 경우에 비하여 온도 증가폭은 낮으나, 2시간이 경과된 시점에서 최종 온도는 오히려 높았으며, 부탄올 분획의 경우에도 핵산 분획에 비하여 온도 상승폭은 낮으나 전체적으로 체온상승 효과가 낮은 것으로 확인되었다. 한편, 클로로포름 분획을 투여한 경우에는 초기에는 온도가 상승되나, 2시간이 경과된 시점에서 거의 체온이 정상으로 돌아와서, 체온 증가 억제 효과 즉 해열효과를 갖는 것으로 확인되었고, 에틸아세테이트 분획물은 1시간 경과된 시점에서 체온이 정상으로 돌아왔고, 2시간 경과시점에서는 오히려 체온이 초기 온도보다 낮아져, 해열제로 널리 사용되고 효과가 검증된 이브프로펜과 거의 유사한 정도의 현저하게 우수한 해열효과를 갖는 것으로 확인되었다.

도면

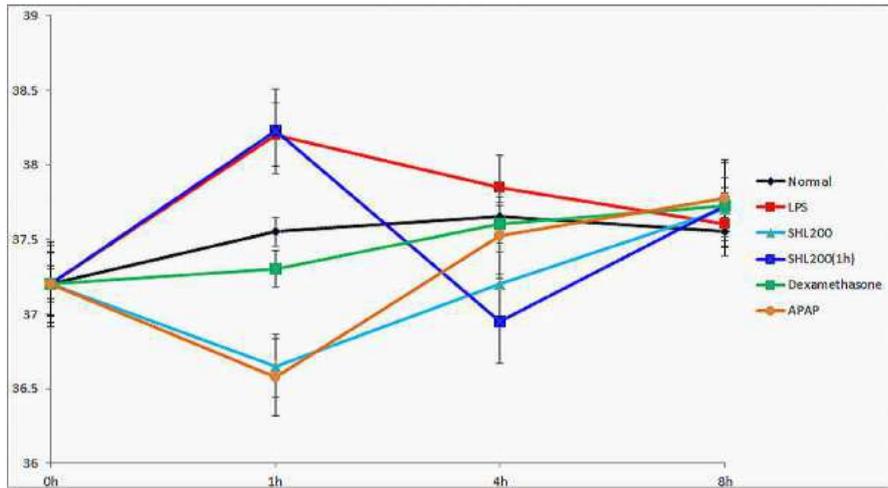
도면1



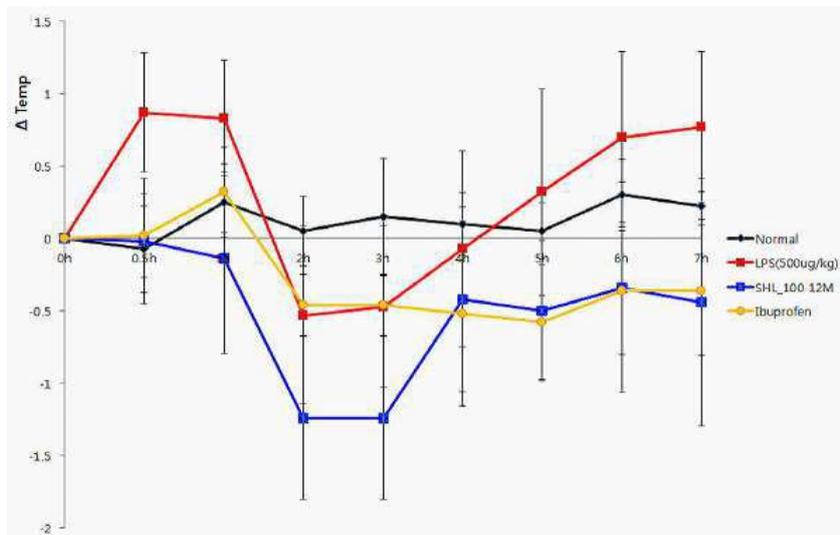
도면2



도면3



도면4



도면5



도면6

