



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년12월24일

(11) 등록번호 10-1579688

(24) 등록일자 2015년12월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/185 (2006.01) A61P 1/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0084902

(22) 출원일자 2014년07월08일

심사청구일자 2014년07월08일

(56) 선행기술조사문헌

Phytotherapy Research. Vol.12(S1), S70-S73\*

KR1020060087846 A

KR1020080088925 A

KR101136285 B1

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

재단법인 전남생물산업진흥원

전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)

(72) 발명자

최철용

광주 서구 풍암순환로 14, 105동 203호 (풍암동, 호반중흥아파트)

김재용

전라남도 순천시 왕궁길 60 중흥파크맨션 304동 207호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최석진

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 **좁쌀풀 추출물을 유효성분으로 함유하는 과민성 대장증후군에 의한 내장 통증 억제예방 또는 치료용 약학 조성물**

**(57) 요약**

좁쌀풀 추출물을 유효성분으로 함유하는 과민성 대장 증후군의 예방 및 치료를 위한 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 좁쌀풀 추출물은 복통을 동반한 설사 억제에 대한 개선효과가 우수하여, 과민성 대장 증후군 예방 및 치료에 유용한 약학 조성물에 이용될 수 있고, 식물인 천연물질 유래의 소재로 부작용이나 독성의 문제가 발생될 가능성이 적으므로, 장 기능 개선 및 치료에 효과가 있어 의약 조성물 또는 기능성 식품 조성물로도 사용될 수 있다.

**대표도** - 도1



(72) 발명자

**강후원**

광주광역시 남구 독립로 70-1 백운 우방아이유셀아파트 107동 402호

**반상오**

광주 북구 평교로29번길 23

**장옥진**

전남 장흥군 장흥읍 장흥대로 3492, 1005호 (장흥계명아파트)

**박성윤**

전라남도 화순군 화순읍 광덕로 215 부영6차아파트 606-705

**이규욱**

전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136 성은연립주택 101동 404호

**설희진**

광주 남구 봉선2로 96-14, 203동 806호 (봉선동, 무등2차아파트)

**배동혁**

전라남도 화순군 화순읍 오성로 558 화순서라3차아파트 303ehd 1106gh

**오들리**

전라남도 화순군 화순읍 광덕로 202 부영5차아파트 503동 203호

**이선영**

광주 서구 상무시민로 65, 102동 404호 (치평동, 한국아파트)

**김선오**

광주광역시 북구 양일로 52 연제2차대주피오레아파트 201-1003

**이동욱**

전남 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호 (수창아트빌아파트)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

좁쌀풀 추출물을 유효성분으로 함유하는 세로토닌 수용체의 길항 작용을 갖는 복통을 동반한 설사 예방 또는 치료용 약학조성물

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 좁쌀풀 추출물은 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 또는 이들의 혼합 용매 중에서 선택되는 어느 하나로부터 가용한 추출물인 것을 특징으로 하는 세로토닌 수용체의 길항 작용을 갖는 복통을 동반한 설사 예방 또는 치료용 약학조성물

#### 청구항 3

제2항에 있어서, 상기 좁쌀풀 추출물은 좁쌀풀 추출물에 클로로포름, 에칠아세테이트 용매로 분획한 것을 특징으로 하는 세로토닌 수용체의 길항 작용을 갖는 복통을 동반한 설사 예방 또는 치료용 약학조성물

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 복통을 동반한 설사 예방 또는 치료용 약학조성물에는 좁쌀풀 추출물이 0.01 내지 99.9 중량 %의 양으로 포함되는 것을 특징으로 하는 세로토닌 수용체의 길항 작용을 갖는 복통을 동반한 설사 예방 또는 치료용 약학조성물

#### 청구항 5

제4항에 있어서 상기 좁쌀풀 추출물의 1일당 투여량은 체중 kg당 10 내지 2000 mg/kg 체중 포함되는 함량으로 제공되는 것을 특징으로 하는 세로토닌 수용체의 길항 작용을 갖는 복통을 동반한 설사 예방 또는 치료용 약학조성물

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 경피제, 좌제 또는 멸균 주사용 액으로 제형화된 것을 특징으로 하는 좁쌀풀 추출물을 함유하는 세로토닌 수용체의 길항 작용을 갖는 복통을 동반한 설사 예방 또는 치료용 약학조성물

#### 청구항 7

삭제

#### 청구항 8

삭제

## 발명의 설명

### 기술분야

[0001] 본 발명은 좁쌀풀 추출물을 유효성분을 이용하여 과민성 대장증후군에 의한 내장 통증 억제 예방 및 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 과민성 대장 증후군(irritable bowel syndrome: IBS)은 대장 내시경이나 엑스선검사로 확인되는 특정 질환은 없지만 식사나 가벼운 스트레스 후 복통, 복부 팽만감과 같은 불쾌한 소화기 증상이 반복되며, 설사 혹은 변비 등의 배변장애 증상을 가져오는 만성적인 질환이다.

[0003] 전형적인 증상으로는 복통과 배변 습관의 변화를 들 수 있는데 복통이 심하더라도 배변 후에는 호전되는 특징을 보인다. 과민성 대장 증후군의 진단을 지지하는 다른 증상은 비정상적인 대변이 통과하는 등의 통증, 점액의 통과 및 더부룩함(bloating) 또는 복부 팽창감을 포함한다.

[0004] 점액질 변, 복부팽만이나 잦은 트림, 방귀, 전신 피로, 두통, 불면, 어깨 결림 등의 증상도 나타나지만, 이러한 증상이 수개월 또는 수년간 계속되더라도 몸 상태에 별다른 영향을 미치지 않는 것이 과민성 대장 증후군의 특징으로 과민성 대장 증후군은 환자의 사회적 및 개인적 생활을 손상시켜 삶의 질을 떨어뜨리고, 증상이 심할수록 삶의 질을 더 떨어뜨린다.

[0005] IBS의 발병 원인은 아직까지 명확하게 밝혀지지 않았지만, 내장 과민, 면역활성화, 장 신경근육 기능장애, 및 뇌-장 축 기능장애가 원인인 것으로 추정되고 있다. 또한 정신적 스트레스는 과민성 대장 증상을 유발하는 원인으로 알려져 있으며 전체 인구의 약 7-15% 정도가 과민성 대장 증후군으로 의심되는 증상을 가지고 있다.

[0006] 과민성 대장 증후군을 갖는 사람의 25%만이 의료적 지원을 구하고 있는 것으로 추정되며, 과민성 대장 증후군으로 진단된 환자는 섬유근육통(fibromyalgia) 및 간질성 방광염(interstitial cystitis)과 같은 다른, 비-위장관 기능성 장애의 증가된 위험에 노출된다.

[0007] 한편, 좁쌀풀(Lysimachia vulgaris var. davurica)은 우리나라 전국의 산과 들에 흔하게 분포하는 여러해살이풀이다. 땅속줄기는 옆으로 길게 뻗고, 줄기는 곧추서며, 높이 40-100cm, 끝에서 가지가 조금 갈라지기도 한다. 잎은 줄기 아래쪽에서는 어긋나지만 중간 이상에서는 마주나거나 3-4장씩 돌려나며, 피침형, 길이 4-12cm, 폭 1-3cm, 가장자리가 밋밋하다.

[0008] 꽃은 줄기 끝의 원추꽃차례에 달리며, 노란색, 지름 1.2-1.5cm다. 꽃차례는 잎 뒷면 아래쪽과 더불어 샘털이 나며 꽃받침은 통 모양, 5갈래로 깊게 갈라진 형태를 갖는다.

[0009] 본 발명에서는 우리나라의 각지에 분포하는 자생식물인 좁쌀풀 추출물의 분획물에서 칼슘 이온 통로 채널을 차단하여 5-HT<sub>3</sub> 활성 억제에 탁월한 효과를 보임으로서, 좁쌀풀 추출물은 복통을 동반한 설사 억제에 대한 개선효과가 우수하여, 과민성 대장 증후군 예방 및 치료에 유용한 약학 조성물로 이용될 수 있다는 것을 실험적으로 증명함으로써 좁쌀풀 추출물을 이용한 과민성 대장 증후군의 예방 및 치료를 위한 조성물을 제공한다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

[0010] (특허문헌 0001) 국내 특허공보 제10-1355064호에는 뉴로키닌 길항성, 특히 NK1 길항성, NK3 길항성, 결합된 NK1/NK2 길항성 및 결합된 NK1/NK2/NK3 길항성을 갖는 치환된 옥사-디아자-스피로-[5.5]-운데카논 유도체, 그들의 제조, 그들을 포함하는 조성물이 개시되어있다.

(특허문헌 0002) 국내 특허공보 제10-0675033호에는 세로토닌 5-HT<sub>3</sub> 수용체 길항 작용과 세로토닌 5-HT<sub>3</sub> 수용체 부분 활성 작용을 갖는 벤즈옥사졸 유도체 및 이의 염에 관한 것으로 상기 벤즈옥사졸 유도체 또는 약제학적으로 허용되는 이의 염을 유효 성분으로서 포함하고, 과민성 대장증후군, 소화관 기능 장애 또는 설사 증상의 예방 및/또는 치료제, 및 제제로서 유용한 의약 조성물이 개시되어있다.

(특허문헌 0003) 국내 특허공개 제10-2009-9292호에는 변비 우세형 과민성 대장 증후군(c-IBS)을 치료하는데 충분한 양의 크로톤 종(Croton spp.) 또는 칼로필럼 종(Calophyllum spp.)으로부터 분리된 중합체성 프로안토시아닌 조성물을, 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 변비 우세형 과민성 대장 증후군(c-

IBS)를 치료하는 방법이 개시되어있다.

(특허문헌 0004) 국내 특허공개 제10-2009-9291호에는 설사 우세형 과민성 대장 증후군(d-IBS)을 치료하는데 충분한 양의 염소 이온 수송의 저해제를, 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 설사 우세형 과민성 대장 증후군(d-IBS)을 치료하는 방법이 개시되어있다.

(특허문헌 0005) 그러나 상기 선행문헌에는 본 발명의 기술적 특징인 좁쌀풀 추출물을 혼합물을 유효성분으로 포함하는 과민성 대장증후군에 의한 내장 통증 억제 예방 및 치료용 약학 조성물에 대한 구성은 개시되지 않아 차이를 보인다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0011] 본 발명은 과민성 대장증후군에 유효하게 작용하는 좁쌀풀 추출물 함유 과민성 대장 증후군 치료용 조성물을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다. 따라서, 본 발명의 목적은 좁쌀풀 추출물을 유효성분으로 사용함으로써 과민성 대장증후군에 의한 내장 통증 억제 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0012] 상기 과제를 해결하기 위해 본 발명은 좁쌀풀 추출물을 유효성분으로 포함하는 과민성 대장증후군에 의한 내장 통증 억제 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0013] 좁쌀풀 추출물은 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올 또는 이들의 혼합용매 중 어느 하나로부터 가용한 추출물을 포함한다.

[0014] 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 또는 이들의 혼합용매 중 어느 하나에서 가용한 추출물 일수 있으며, 상기 추출용매를 사용하여 좁쌀풀 추출물에 비극성 용매로서 헥산, 클로로포름, 디클로메탄 및 에틸아세테이트 중 어느 하나를 분획용매로 사용하여 분획할 수 있다.

[0015] 상기 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 또는 이들의 혼합용매 중 어느 하나에서 가용한 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 과민성 대장증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물의 0.01 내지 99.9 중량%의 양으로 포함될 수 있으며, 상기 추출물의 1일당 투여량은 체중 kg당 10 내지 2000 mg/kg의 양으로 응용 할 수 있다.

[0016] 또한 상기 조성물은 기능성 장장애, 기능성 복통증후군, 기능성 직장 항문 장애, 기능성 소화관 장애 또는 과민성 대장 증후군 중에서 선택되는 어느 하나의 질환을 치료하기 위한 것을 특징으로 하며, 과민성대장증후군은 통증 우세형 과민성 대장증후군, 설사형 과민성 대장증후군 또는 변비형 과민성 대장증후군으로부터 선택된 어느 하나의 질환을 치료하기 위한 세로토닌 5-HT<sub>3</sub> 수용체 길항제로 사용되는 것을 특징으로 한다.

[0017] 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 경피제, 좌제 또는 멸균 주사용 액으로 제형 화 된 과민성 대장 증후군 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물로 사용되는 것을 특징으로 한다.

**발명의 효과**

[0018] 본 발명의 좁쌀풀 추출물은 스트레스 또는 대장 과민성에 의한 내장 통증 억제 및 배변 이상에 대한 개선에 우수하므로, 과민성 대장 증후군 예방 또는 치료에 유용한 약학조성물로 이용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0019] 도 1은 좁쌀풀 추출물 및 분획물 모식도를 나타낸다.

도 2는 좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물에 대한 구속 스트레스 마우스 설사 개선 효과를 나타낸다.

도 3은 좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물에 대한 5-HT에 의해 유도된 마우스 설사에 대한 개선 효과를 나타낸다.

도 4는 좁쌀풀 메탄올 추출물에 대한 CRD (Colorectal Distension) 모델을 통한 내장 통증 억제 효과를 나타낸다.

도 5는 좁쌀풀 메탄올 추출물에 대한 5-HT<sub>3</sub> 수용체에 대한 저해 활성 효과에 대한 결과를 나타낸다.

도 6은 좁쌀풀 메탄올 추출물의 용매 분획물에 대한 5-HT<sub>3</sub> 수용체에 대한 저해 활성 효과에 대한 결과를 나타낸다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0020] 본 발명에서는 좁쌀풀 추출물 또는 비극성가용 추출물을 유효성분으로 함유하는 과민성 대장증후군에 의한 내장 통증 억제예방 또는 치료용 약학 조성물이 제공된다. 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명한다. 하기에 서 본 발명을 설명함에 있어서, 공지기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략하였다.

[0021] **1. 좁쌀풀 열수추출물 및 메탄올 추출물 제조**

[0022] 도 1는 좁쌀풀 추출물 및 유기용매에 의한 분획물을 얻는 과정을 나타낸다. 건조된 좁쌀풀 1kg을 증류수로 수세한 다음 증류수, 메탄올로 각각 10L를 가하고, 전기약탕기로 100℃, 60℃ 에서 3시간 동안 가열, 추출하였다.

[0023] 400 메쉬 여과포로 여과한 다음 감압회전농축기로 농축하였다. 여과 후 남은 잔사에 다시 동량의 증류수 및 메탄올을 사용하여 동일 과정으로 2번 더 추출, 여과 및 감압 농축하였다.

[0024] **2. 좁쌀풀의 극성 용매, 비극성용매 가용 분획물 제조**

[0025] 도 1에 도시된 바와 같이 제조된 좁쌀풀 메탄올 추출물을 유기 용매를 이용하여 분획물을 제조하였다. 좁쌀풀의 극성, 비극성 용매 가용 분획물의 제조는 좁쌀풀 메탄올 추출물 1 kg을 증류수 1 L에 완전히 용해시킨 후 분획여두 깔대기에 넣고 헥산 (Hexane) 1L를 첨가하여 물층과 헥산 층을 분리하였고 이와 같은 공정을 3번 반복하였다.

[0026] 동일한 과정을 통해 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 부탄올(butanol), 물을 순차적으로 가하여 각 분획물을 얻었고, 얻어진 각각의 분획물을 감압 여과하여 농축한 후 동결 건조하여 용매를 완전히 제거한 뒤 본 실험에 사용하였다.

[0027] **2.1. 헥산 가용성 분획 분리**

[0028] 실시예 1의 좁쌀풀 메탄올추출물 65 g을 1L의 증류수에 완전히 용해시킨 후에 분획여두에 넣고 헥산 1L를 첨가하여 헥산 불용성층(수층)과 헥산가용성층을 분리하였다. 다시 헥산 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 헥산 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0029] **2.2. 클로로포름 가용성 분획분리**

[0030] 헥산불용성 분획(수층)에 클로로포름 5L를 가하여 섞은 후에 클로로포름가용성 분획 및 불용성 분획을 분리하였고, 클로로포름 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 클로로포름 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0031] **2.3. 에틸아세테이트 가용성 분획분리**

[0032] 클로로포름 불용성 분획(수층)에 에틸아세테이트 5L를 가하여 섞은 후에 에틸아세테이트 가용성 분획 및 불용성 분획을 분리하였고, 에틸아세테이트 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 에틸아세테이트 불

용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0033]

**2.4. 부탄올 가용성 분획분리**

[0034]

상기 에틸아세테이트 불용성 분획(수층)에 부탄올 5L를 가하여 섞은 후에 부탄올 가용성 분획 및 불용성 분획을 분리하였고, 부탄올 불용성층을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 부탄올 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0035]

**2.5. 좁쌀풀 메탄올 추출물 및 분획물 습득**

[0036]

좁쌀풀 메탄올 추출물 65.0 g에서 헥산 가용성 분획, 클로로포름 가용성 분획, 에틸아세테이트 가용성 분획 및 부탄올 가용성 분획을 감압 농축 및 건조하여 헥산분획 22.60g (34.76%), 클로로포름 분획 13.57g (8.82%), 에틸아세테이트 분획 12.95g (8.42%), 부탄올 분획 6.42g (9.26%) 및 물 분획 5.76g (8.24%)을 얻어 시료로 사용하였다.

[0037]

**3. 실험 동물 및 사육**

[0038]

좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물의 과민성 대장 증후군 효과 측정을 위한 실험동물로서 생후 9주령 된 수컷 ICR 마우스를 (주)샘타코 (SAMTACO, Korea)부터 구입 하여 동물 사육실에서 일정한 조건(온도: 22±2℃, 습도:50±5%, 명암: 12시간 light/dark cycle)으로 일주일간 적응시킨 후 사용하였다.

[0039]

**4. 구속 스트레스 유발 마우스 설사에 대한 작용(추출물) 실험**

[0040]

절식한 수컷 ICR mouse를 50 mL Falcon tube에 삽입함으로써 구속 스트레스를 부하였다. 구속 스트레스의 부하 개시 후 3시간에서 배설된 변의 상태가 정상변, 연변 또는 이상의 형태를 이루지 않는 수양변 중 어디에 해당하는가를 관찰하여, 이상의 형태를 이루지 않는 수양변이 보여 진 경우를 설사로 판정 하였다. 정상군은 PBS, 양성대조군은 이리보정 (라모세트론)을 30 ug/kg 농도 및 실험군은 좁쌀풀 물 추출물 및 메탄추출물 300 mg/kg 농도로 각각 200 uL을 경구 투여 하였다. 모든 피검 물질은 구속 스트레스의 부하를 개시하기 2시간 전에 경구 투여하였다.

[0041]

도 2는 좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물에 대한 구속 스트레스 마우스 설사 개선 효과를 나타낸다. 도 2에 나타낸 바와 같이 좁쌀풀 물 및 메탄올 300 mg/kg 처리군은 속박에 의해 발생하는 fecal pellet output을 정상군 (PBS 군) 대비 감소시켰다. Fecal pellet output 개수가 정상군 7.4개, 양성대조군으로 사용된 이리보정 (라모스테론) 30 ug/kg군은 2.0개, 좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물 300 mg/kg 처리군에서 각각 4.8, 2.6개로 감소되었다.

[0042]

**5. 5-HT 유발 마우스 설사에 대한 작용 (추출물) 실험**

[0043]

수컷 ICR 마우스에게 각 피검 물질을 경구 투여하고, 2시간 후에 5-HT (3 mg/kg)를 복강에 투여하였다. 마우스를 개별 케이지에 넣고 5-HT 투여로부터 3시간에 배설된 분변의 상태가 정상변, 수분을 약간 포함하는 연변, 수분을 많이 포함하는 죽상변, 이상의 형태를 이루지 않는 수양변이 보여 진 경우를 설사로 판정하였다. 정상군은 PBS, 양성대조군은 라모세트론 (이리보정)을 30 ug/kg 농도 및 실험군은 좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물 300mg/kg 농도로 각각 200uL을 경구 투여하였다.

[0044]

도 3은 좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물에 대한 5-HT에 의해 유도된 마우스 설사에 대한 개선 효과를 나타낸다. 도 3에 나타낸바와 같이 좁쌀풀 물 및 메탄올 추출물 300 mg/kg 처리군은 5-HT에 의한 마우스 설사를 정상군 (PBS 군)에 비하여 억제하였다. 마우스 설사 개수가 정상군은 6.5개, 양성대조군으로 사용된 라모스테론 30 ug/kg 군은 1.8개, 좁쌀풀 물추출 및 메탄올 추출물 300 mg/kg 처리군에서 각각 5.0, 2.0개로 나타났다.

[0045]

**6. CRD (Colorectal Distension) model을 통한 내장통증 억제 실험**

[0046] 좁쌀풀 추출물의 내장통증 억제효과를 조사하기 위하여 직장확장 테스트 (colorectal Distension ; CRD)를 이용한 동물 실험을 아래와 같이 실시하였다.

[0047] 체중 250-300g의 Sprague-Dawley rat (SD) 수컷을 이용하였다. 온도 25℃, 습도 50% 낮-밤 cycle 12 : 12시간으로 조절된 동물실에서 사육하였다. 음수와 사료는 자유롭게 접근 할 수 있도록 하였으며 5일간 적응시킨 후 본 실험에 사용하였다. SD rat을 cage에서 1시간 동안 안정화 시킨 후 각 피검물질을 경구 투여하였다. Ether로 동물을 마취시킨 후 rubber 카테터를 항문에서부터 안쪽 2cm 길이로 직장을 통하여 삽입하였다.

[0048] 0.2% 아세트산(acetic acid in 0.9% saline) 1ml을 카테터 (catheter)를 통하여 동물 항문에 투여하여 통증 유발을 1시간 동안 유발 시켰다. 마취에서 회복된 것을 확인 후 30 mm Hg 압력으로 고무풍선을 팽창 시킨 후 10분 동안 유지하면서 동물 행동을 관찰하였다.

[0049] 도 4는 좁쌀풀 메탄올 추출물에 대한 CRD (Colorectal Distension) 모델을 통한 내장 통증 억제 효과를 나타낸다. 도 4에 나타낸바와 같이 좁쌀풀 메탄올 추출물 300 mg/kg 처리군은 정상군 (PBS)에 비하여 내장 통증 억제 효과 나타내었다. 대조군 (PBS 군) 4.08 score 비하여 좁쌀풀 메탄올 추출물 (300 mg/kg)은 3.55 score로 통증을 억제하였다.

[0050] **7. 5-HT<sub>3</sub> 수용체에 대한 저해 활성 (추출물) 실험**

[0051] CHO-K1 세포주 (CHO-K1 Chinese hamster ovary) 를 ATCC로부터 구입하고 배양액(RPMI 1640, fetal bovine serum 10%, penicillin 100 IU/ml, streptomycin 100 ug/ml)을 사용하여 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 세포주를 다양하게 희석하여 96 well plate에 seeding 하고 24시간 배양 후 serotonin 3 receptor (5HT<sub>3</sub>) cDNA를 lipofectamin 2000을 이용하여 48시간 세포내 발현시켜 사용하였다. 세포내 칼슘농도 측정은 high throughput system을 이용하였다.

[0052] 칼슘이온의 농도를 측정하기 위한 형광염료는 칼슘의 농도를 반영하는 Fura-2/AM을 5 uM 농도로 처리하여 37℃ 세포 배양기에서 빛이 차단된 상태에서 40-60분간 세포 내로 부하시켰다.

[0053] 부하가 끝나면 HEPES-buffered solution (155 mM NaCl, 2mM CaCl<sub>2</sub>, 1mM MgCl<sub>2</sub>, 3 mM KCl, 10 mM HEPES, 10 mM Glucose, pH 7.4) 으로 1회 세척한 다음 340/380nm 빛을 이용해 세포내 칼슘 양을 측정하였다.

[0054] 세로토닌 100 uM을 처리하여 얻은 값을 control로 사용하였고, 좁쌀풀 메탄올 추출물을 1, 3, 10, 30, 100 ug/mL농도로 1분간 처리한 후 세로토닌 (100 uM)을 처리하여 칼슘양의 변화를 확인하였다.

[0055] 도 5는 좁쌀풀 메탄올 추출물에 대한 5-HT<sub>3</sub> 수용체에 대한 저해 활성 효과에 대한 결과를 나타낸다. 도 5에 나타낸바와 같이 세로토닌(5-HT<sub>3</sub>) 100 uM을 처리한 control 보다 좁쌀풀 메탄올 추출물 300 mg/kg 처리군은 농도 의존적으로 칼슘양을 조절하여 5-HT<sub>3</sub> 활성을 억제하였다. EC<sub>50</sub>값은 3.401 ug/ml 이었다.

[0056] **8. 5-HT<sub>3</sub> 수용체에 대한 저해 활성 (용매 분획물) 실험**

[0057] CHO-K1 세포주 (CHO-K1 Chinese hamster ovary) 를 ATCC로부터 구입하고 배양액(RPMI 1640, fetal bovine serum 10%, penicillin 100 IU/ml, streptomycin 100 ug/ml)을 사용하여 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 세포주를 다양하게 희석하여 96 well plate에 seeding 하고 24시간 배양 후 serotonin 3 receptor (5HT<sub>3</sub>) cDNA를 lipofectamin 2000을 이용하여 48시간 세포내 발현시켜 사용하였다. 세포내 칼슘농도 측정은 high throughput system을 이용하였다.

[0058] 칼슘이온의 농도를 측정하기 위한 형광염료는 칼슘의 농도를 반영하는 Fura-2/AM을 5 uM 농도로 처리하여 37℃ 세포 배양기에서 빛이 차단된 상태에서 40-60분간 세포내로 부하시켰다, 부하가 끝나면 HEPES-buffered solution (155 mM NaCl, 2mM CaCl<sub>2</sub>, 1mM MgCl<sub>2</sub>, 3 mM KCl, 10 mM HEPES, 10 mM Glucose, pH 7.4) 으로 1회 세척한 다음 340/380nm 빛을 이용해 세포내 칼슘 양을 측정하였다.

[0059] 세로토닌 100 uM을 처리하여 얻은 값을 control로 사용하였고, 좁쌀풀 메탄올 추출물의 헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물 분획물을 10 ug/mL농도로 1분간 처리한 후 세로토닌 (100 uM)을 처리하여 칼슘양의

변화를 확인하였다.

[0060]

도 6은 좁쌀풀 메탄올 추출물의 용매 분획물에 대한 5-HT<sub>3</sub> 수용체에 대한 지해 활성 효과에 대한 결과를 나타낸다. 도 6에 나타낸바와 같이 좁쌀풀 메탄올 추출물의 헥산, 클로로포름, 에칠아세테이트, 부탄올 및 물 분획물 중 클로로포름 및 에칠아세테이트 분획물에서 칼슘 이온 통로 채널을 차단하여 5-HT<sub>3</sub> 활성 억제율이 가장 높았다.

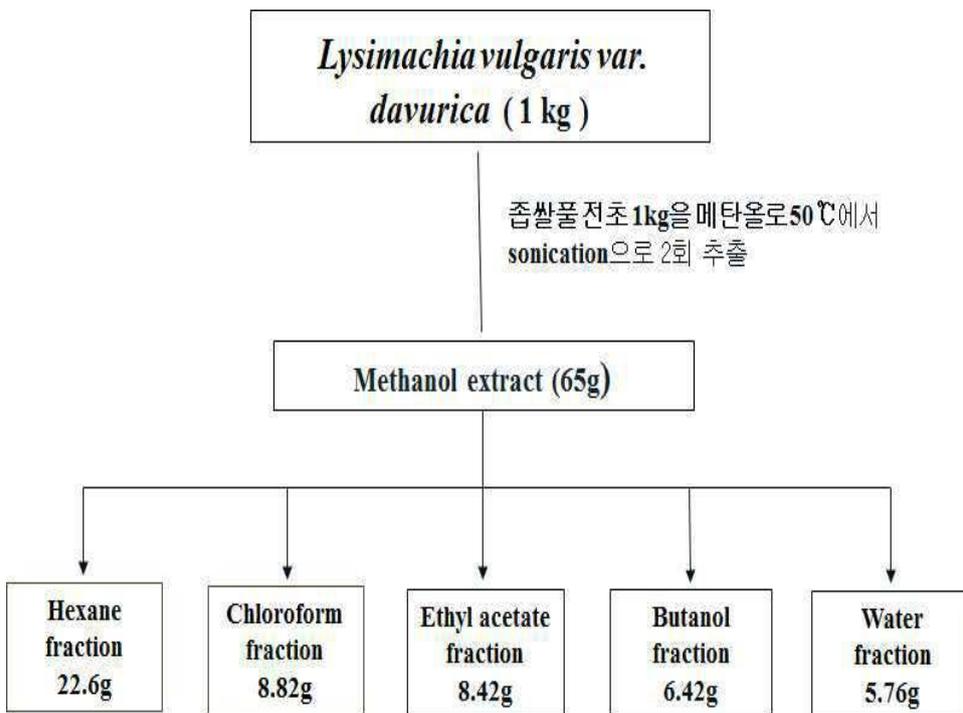
**산업상 이용가능성**

[0061]

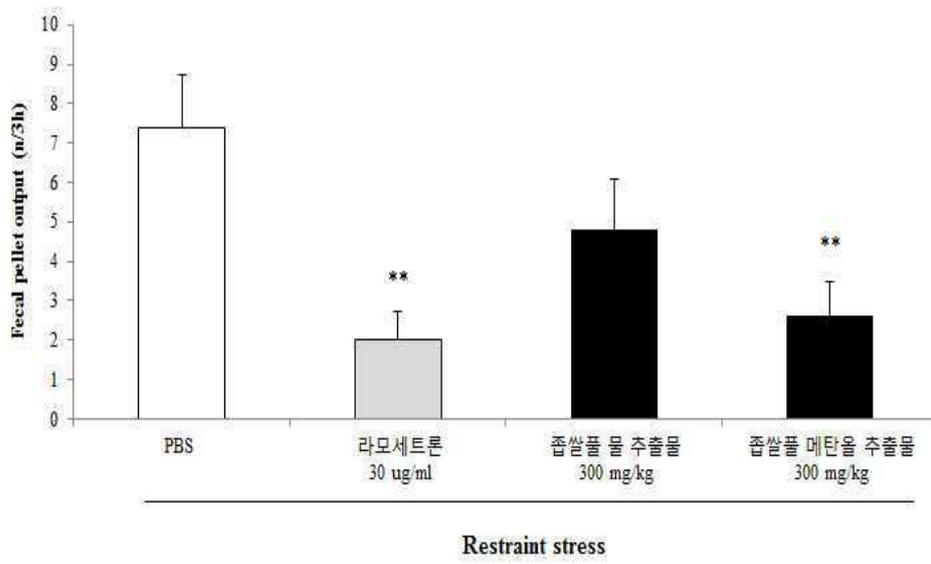
본 발명의 좁쌀풀 추출물을 유효성분으로 함유하는 과민성 대장 증후군의 예방 및 치료를 위한 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 좁쌀풀 추출물은 복통을 동반한 설사 억제에 대한 개선효과가 우수하여, 과민성 대장 증후군 예방 및 치료에 유용한 약학 조성물에 이용될 수 있다. 또한 식물인 천연물질 유래의 소재로 부작용이나 독성의 문제가 발생될 가능성이 적으므로, 장 기능 개선 및 치료에 효과가 있어 안전한 의약 조성물 또는 기능성 식품 조성물로도 사용될 수 있으므로, 천연약물 관련 산업적 이용 가능성이 있다.

**도면**

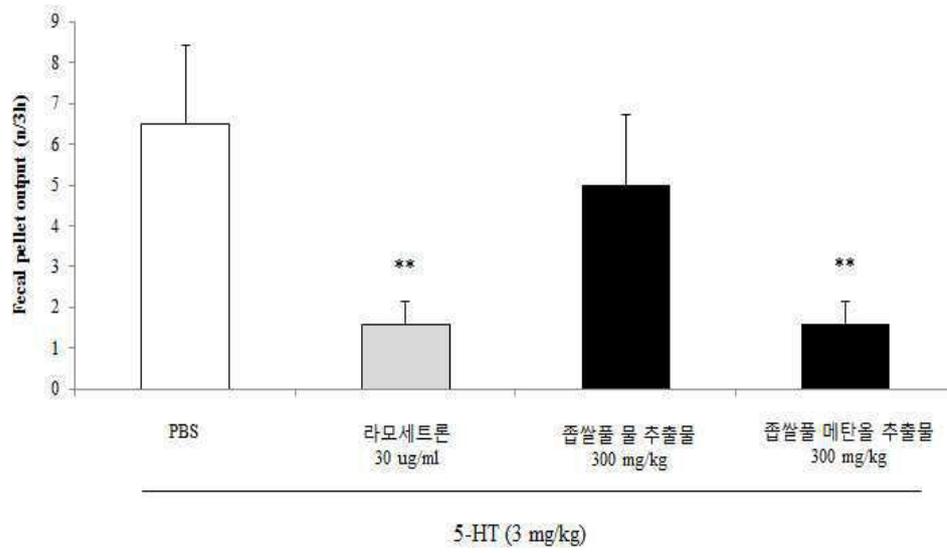
**도면1**



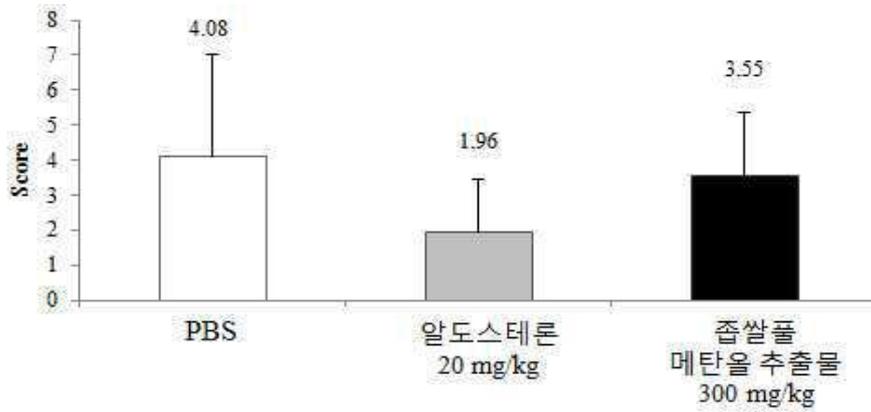
도면2



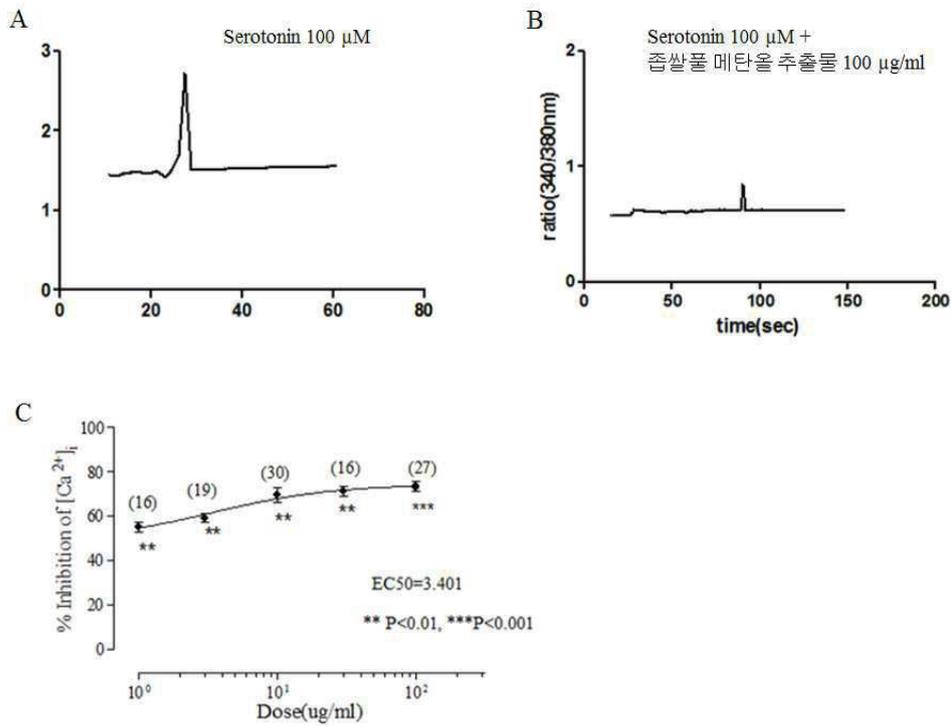
도면3



도면4



도면5



도면6

