(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년02월24일
(11) 등록번호 10-1710303
(24) 등록일자 2017년02월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/185 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01) *A61K 9/20* (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/185 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0055224
(22) 출원일자 2016년05월04일
심사청구일자 2016년05월04일
(56) 선행기술조사문헌
Seema Patel. et al, `Plant genus Elaeagnus: underutilized lycopene and linoleic acid reserve with permaculture potential', Fruits journal, 2015, Vol.70, No.4, 191-199*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
재단법인 전남생물산업진흥원
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)
(72) 발명자
최철웅
광주광역시 서구 풍암순환로 10 호반중흥1단지 아파트 105동 203호
김재용
전라남도 순천시 왕궁길 60 (조례동, 중흥3차아파트) 304동 207호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최석진

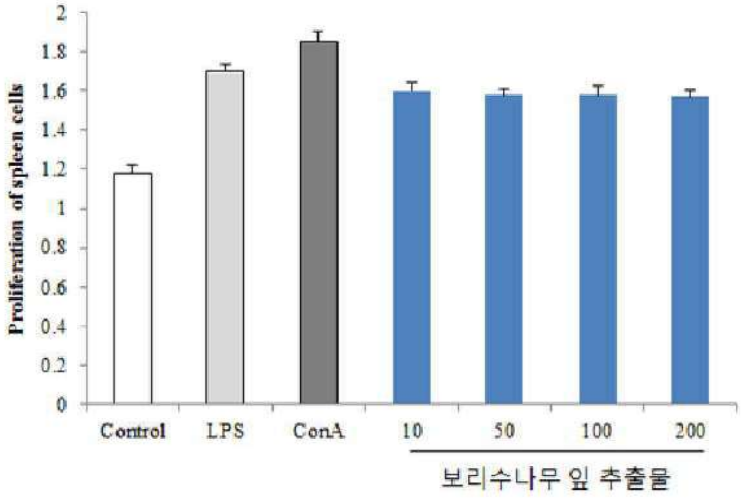
전체 청구항 수 : 총 5 항 심사관 : 홍수민

(54) 발명의 명칭 **보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 하는 면역 증강용 약학 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 면역증강용 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 보리수나무 잎 추출물은 마우스 비장세포 증식능 및 비장세포에서 분비되는 IL-2 및 IL-10 과 같은 사이토카인 분비량을 증가시켰으며, Balb/C 마우스에 경구투여한 후 혈청 내 IL-4, IL-10 과 같은 면역 사이토카인 분비량을 증가시켜 면역 증강을 유도하는 약학조성물 및 식품성 물에 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 9/08 (2013.01)
A61K 9/20 (2013.01)
A61K 9/48 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)
(72) 발명자
김영옥
전남 장흥군 장흥읍 중앙로 81번지 2층
강후원
광주광역시 남구 독립로 70-1 (백운동, 우방아이유쉘아파트) 107동 402호
조아라
광주광역시 남구 백양로 39번길 7-2, 푸르지오 301호
최학준
광주광역시 동구 동계로15번길 1-23 (동명동)
신자원
대전광역시 유성구 상대남로 26 (상대동, 도안신도시9블록 트리풀시티아파트) 903동 202호
이규옥
전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136 성은연립주택 101동 404호
반상오
전남 화순군 화순읍 대리길 41 광신프로그레스 101동 1805호
박성윤
전라남도 화순군 화순읍 광덕로 215 부영6차아파트 606동 705호
윤효정
광주광역시 남구 제중로 11, 110동 701호
임소정
광주광역시 서구 화개1로78번길 8 (금호동, 금호5차호반리젠시빌) 505동 303호
이경은
전남 순천시 중앙초등길 132(풍덕동, 한신아파트) 3동 101호
김미리
광주광역시 남구 제중로 11, 107동 903호
성락선
전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 39 (수창아트빌아파트) 203호

명 세 서

청구범위

청구항 1

보리수나무(*Elaeagnus umbellata* Thunberg) 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 면역증강용 약학적 조성물

청구항 2

제1항에 있어서, 보리수나무 잎 추출물은 물 또는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매 중에서 선택되는 어느 하나로부터 가용한 추출물인 것을 특징으로 하는 면역증강용 약학적 조성물

청구항 3

제2항에 있어서, 보리수나무 잎 추출물의 1일당 투여량은 체중 kg당 10 내지 2000 ㎎의 함량으로 제공되는 것을 특징으로 하는 면역증강용 약학적 조성물

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 조성물의 제공은 정제 및 캡슐제, 연질 캡슐제, 과립제, 액제 형태로 제조되는 것을 특징으로 하는 면역증강용 약학적 조성물

청구항 5

제1항 또는 제2항의 추출물은 면역 지표인 IL-2(Interlukin-2), IL-4(Interlukine-4) 또는 IL-10(Interlukine-5) 중의 어느 하나의 사이토카인 생성을 유도함으로써 면역증강 활성을 가지는 것을 특징으로 하는 면역증강용 약학적 조성물

청구항 6

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증강용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 천연원료인 보리수나무 (Elaeagnus umbellata Thungberg) 잎 추출물을 이용하여 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있는 면역증강용 약학조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 보리수나무는 우리나라 북구, 중부, 남부, 제주도의 산기슭에서 자라는 낙엽관목으로서 나무 높이는 보통 3-4m까지 자라고, 세계적으로는 중국, 일본에 분포되어 있다.

[0003] 우리나라에서 대부분 자생하는 Elaeagnus 속 식물의 보리수나무(*Elaeagnus umbellata* Thunberg)는 잔가지의 일

부가 가시로 변하고, 잎의 형태는 타원형이거나 달걀 모양의 끝이 무딘 긴 타원형이며 밑은 쐐기 모양으로 이루어진다. 잎의 윗면은 초록색이나 아랫면은 은백색의 비늘쪽으로 덮여있어 백색으로 보인다.

[0004] 꽃은 암, 수 딴 그루로 잎겨드랑이에 1-7개가 달려서 5-6월에 처음에는 누런빛을 띄는 백색으로 피어 연한 황색으로 변한다. 열매는 둥근물열매로 은백색의 비늘털로 덮여 있으며 9-10월에 빨갛게 익기 시작하여 가을에 노랗게 물든다.

[0005] 보리수나무는 생약으로 널리 알려져 있고, 그 사용부위는 열매(Fructus Elaeagni), 보리수잎(Folium Elaeagni), 보리수껍질(Cortex Elaeagni)로 그 맛은 시고 쓰며 약성은 시원한 성질이다. 중국에서도 보리수나무의 잎, 열매, 뿌리를 우내자(牛子)라고 지칭하며 이질, 지혈, 지사제 등으로 사용하고 있고, 우리나라에서도 소화불량, 기침 등의 치료에서 민간약물로 쓰이고 있다.

[0006] 열매는 붉게 익으면 과일로 식용할 수 있고, 피로해소와 자양강장 작용이 있으며, 잎과 줄기 뿌리 종자 등은 지혈, 지사, 진해, 거담, 소염, 염증, 번열, 소갈, 대하증 등을 치료하고 진정 및 안정 우울증의 치료에도 도움을 준다고 알려져 있다.

[0007] 따라서 민간에서는 익은 열매를 따서 말리며 8~10월 사이에 잎을 뜯어 그늘에서 말리고, 껍질은 봄, 가을에 벗겨 햇볕에서 말리는 방법으로 열매는 강장약과 완화약으로 설사에도 이용되고 잎과 껍질은 지혈제로 쓰며, 잎은 또한 기침과 천식에도 사용되고 있다.

[0008] 최근 현대인의 생활수준이 향상됨에 따라 부작용이 거의 없고 자연에서 채취가 가능한 천연자원에 대해서 관심이 높아지고 있다. 특히, 인체에 필요한 영양소를 우수하게 함유하거나 질병의 예방과 회복에 특이하게 도움을 주는 천연 기능성 물질을 함유한 건강식품에 대한 연구가 활발히 진행됨에 따라 여러 민간적인 기능이 알려진 보리수나무 또한 그 기능에 대한 조사가 실시되고 있으나, 아직까지는 보리수나무에 대한 영양학적 가치나 생리활성 기능성에 대한 관련정보가 부족한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 국내 공개특허공보 제10-2016-0012540호에는 비타민나무를 이용한 초산발효 조성물의 제조방법 및 그로부터 수득되는 초산발효 조성물에 관한 것으로 (1) 곡류, 비타민나무 잎 추출액, 코지, 개량누룩 및 물을 포함하는 제1 혼합물을 알콜발효시키는 단계; 및 (2) 상기 단계(1)에서 얻어지는 알콜발효물, 종초 및 비타민나무 열매 쥬스를 포함하는 제2 혼합물을 초산발효시키는 단계를 포함하고, 제1 혼합물에 포함되는 비타민나무 잎 추출액의 함량은 곡류 100 중량부를 기준으로 2 중량부이고, 제2 혼합물에 포함되는 비타민나무 열매 쥬스의 함량은 제2 혼합물 전체량 100 부피%를 기준으로 6 부피%인 것을 특징으로 하는 비타민 나무를 이용한 초산발효 조성물의 제조방법 및 그로부터 수득되는 초산발효 조성물에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0002) 국내 공개특허공보 제10-2014-0140902호에는 사극나무 열매 추출물은 알코올에 유발되는 간 손상을 억제하고 알코올 대사에 의해 발생하는 숙취 유발물질인 아세트알데히드의 분해를 촉진하는 효과를 가지므로, 이를 포함하는 조성물은 알코올성 간 손상 방지 또는 숙취해소를 위한 조성물로 다양하게 활용 가능한 사극나무 열매 추출물을 함유하는 간 손상 억제 또는 숙취해소용 약학적 조성물에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0003) 국내 등록특허번호 제10-1220519호에는 산자나무 추출물 또는 이로부터 분

(특허문헌 0004) 리된 퀘세틴 3-글루코사이드-7-람노사이드를 유효성분으로 포함함으로써, 특이적으로 IL-6에 의해 유도되는 신호 전달체계를 저해하여 IL-6으로 매개되는 질환을 예방하고 치료할 수 있음은 물론, 라이노바이러스의 감염성 질환을 예방하고 치료할 수 있는 조성물에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0005) 국내 등록특허번호 제10-1276141호에는 갈매보리수나무 씨앗 추출물은 갈매보리수나무 씨앗 알콜 추출물에 규조토를 첨가하고 저온상태에서 보관한 후 여과함으로써 지질성분 및 용해도가 낮은 물질들을 응집시켜 효과적으로 제거할 수 있어, 추출물 내에 지질성분 및 용해도가 낮은 물질들이 잔존하지 않아서 시간이 경과하여도 침전물이 발생하지 않으며, 항산화 활성 및 항균 활성이 매우 우수하여, 항산화제 또는 피부노화방지에 유용한 의약품, 화장품, 건강식품으로 사용가능한 갈매보리수나무 씨앗 추출물 및 이의 제조방법에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0006) 그러나 상기 선행문헌은 본 발명의 보리수나무를 증류수로 수세한 다음 증류수와 혼합하여 열수추출 또는 탄소수 1 내지 5의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 추출용매로 사용하여 추출하는 구성은 개시되지 않는 점에서 본 발명과는 차이를 보인다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 민간에서 건강향상을 위해서 널리 사용되고 있으나 생리활성기능에 대해서는 확실하게 알려지지 않은 천연자원인 보리수나무의 기능성 식품 조성물 및 약학조성물을 제공하기 위해, 보리수나무 잎으로부터 유효성분을 추출하여 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있는 보리수나무 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증강 기능을 갖는 약학조성물 및 기능성 식품 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서 본 발명은 우리나라 천연자원인 보리수나무 추출물을 이용하여 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있는 면역증강용 조성물을 제공하고자 한다. 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 보리수나무 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역증강 기능을 갖는 약학조성물 및 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0012] 면역증강 기능을 갖는 약학조성물 및 기능성 식품 조성물의 추출방법은 보리수나무를 증류수로 수세한 다음 증류수와 혼합하여 열수추출 또는 탄소수 1 내지 5의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 추출용매로 사용하여 추출할 수 있다.

[0013] 상기 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 또는 이들의 혼합용매 중 어느 하나에서 가용한 추출물을 유효성분으로 포함하는 추출물은 0.01 내지 99.9 중량%의 양으로 포함하는 보리수나무 면역 증강용 약학 및 기능성 식품 조성물이 제공된다.

[0014] 상기 추출물로 제조된 조성물의 1일당 투여량은 체중 kg당 10 내지 2000 ㎎/kg의 양으로 포함하여 경구 투여하며, 본 발명의 면역증강을 위한 약학적 조성물 및 기능성 식품 조성물 일 수 있다.

[0015] 상기 조성물은 정제 및 캡슐제, 연질 캡슐제, 과립제, 액제 또는 음료 중에서 선택된 하나 이상의 형태로 제조될 수 있다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 면역 증강 기능을 갖는 보리수나무 추출물은 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 마우스 비장세포 증식 및 IL-2, IL-4, IL-10 과 같은 면역 사이토카인 분비량을 증가시킴으로써 면역 증강에 유용한 약학조성물 및 기능성 식품 조성물로 유용하게 이용되는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 보리수나무 추출물에 대한 비장세포증식능을 확인한 결과를 나타낸다.

도 2는 보리수나무 추출물에 대한 비장세포의 IL-2 cytokine 수준의 변화를 나타낸다.

도 3은 보리수나무 추출물에 대한 비장세포의 IL-10 cytokine 수준의 변화를 나타낸다.

도 4은 보리수나무 추출물에 대한 Bablc/c 마우스 혈청의 IL-4 cytokine 수준의 변화를 나타낸다.

도 5은 보리수나무 추출물에 대한 Bablc/c 마우스 혈청의 IL-10 cytokine 수준의 변화를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 구체적인 실시예 및 비교예를 통하여 본 발명의 구성 및 효과를 보다 상세히 설명하기로 한다.

[0019] **1. 보리수나무 추출물 제조**

[0020] **1.1 보리수나무 열수추출물의 제조**

[0021] 건조된 보리수나무 잎 100g을 증류수로 수세한 다음 증류수로 500 mL를 가하여, 환류 추출기 100℃ 에서 3시간 동안 가열, 추출하였다. 여과지(와트만 41번)를 이용하여 여과한 후, 여액을 감압 농축하였다.

[0022] 여과후 남은 잔사에 다시 동량의 증류수를 사용하여 동일과정으로 2번 더 추출, 여과 및 감압 농축한다. 농축된 열수추출물을 동결건조기(Freeze dryer)를 이용하여 50℃에서 48시간 동안 동결 건조시켰다. 이상의 방법으로 상기 열수추출물은 추출용매에 따라, 보리수 잎 열수 추출물 15g (15%)를 수득하여 하기 실험예의 시료로 사용하였다.

[0023] **1.2 보리수나무의 극성용매, 비극성용매 가용 분획물의 제조**

[0024] 상기단계의 보리수나무 열수 추출물은 유기용매를 이용하여 다음과 같이 분획하였다.

[0025] 1.2.1 헥산 가용성 분획분리

[0026] 보리수나무 추출물 15g을 5L의 증류수에 완전히 용해시킨 후에 분획 여두에 넣고 헥산 5L를 첨가하여 헥산 불용성층(수층)과 헥산가용성층을 분리하였다. 다시 헥산 불용성층(수층)을 대상으로 동일한 공정을 3번 반복하여 헥산 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0027] 1.2.2 클로로포름 가용성 분획분리

[0028] 핵산불용성 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.

[0029] 1.2.3 에틸아세테이트 가용성 분획분리

[0030] 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 불용성 분획 및 가용성 분획을 수집하였다.

[0031] 1.2.4. 부탄올 가용성 분획분리

[0032] 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.

[0033] 1.2.5 물층 분획분리

[0034] 보리수나무 추출물 15g을 5L의 증류수에 완전히 용해시킨 후에 분획 여두에 넣고 상기 헥산 가용성층, 클로로포름 가용성층, 에틸아세테이트 가용성층 그리고 부탄올 가용성층을 분획 분리 후 농축하여 남아있는 유기용매를 제거하고 물 분획을 수집하였다.

[0035] 이와 같은 보리수나무 열수 추출 및 분획물 수득과정을 통해 제조된 보리수나무 열수추출물 15g에서 헥산 가용성 분획, 클로로포름 가용성 분획, 에틸아세테이트 가용성 분획 및 부탄올 가용성 분획을 감압 농축한 후에 동결 건조함으로써 얻어진 분획물을 시료로 사용하였다.

[0036] **2. 보리수나무 추출물에 의한 비장세포 증식 측정**

[0037] 6주령의 Bablc/c 수컷 생쥐를 경추 탈골하여 치사시키고 무균적으로 비장을 적출하여 100 mesh망 위에서 분쇄하여 single 세포로 만들었다. 단핵 세포층만 취하여 12,000 rpm에서 5분씩 3회 원심 분리하여 비장세포를 준비하

였다. 비장세포를 2^5 cells/mL가 되도록 10% heat-inactivate FBS가 함유된 RPMI1640 배지로 희석하여 96 well plate에 100 uL씩 분주하였다.

[0038] 보리수나무 열수추출물을 50, 100, 200 ug/mL 농도로 희석하여 분주하였으며, 30분 후 5 ug/mL, lipopolysaccharide(LPS), 0.1 ug/mL ConA를 처리한 후 37℃의 5% CO_2 incubator에서 24, 48시간 배양하였다. 암 조건에서 5 mg/mL 농도의 WST-1 solution 첨가하여 2시간 반응 후 440 nm에서 O.D값을 측정하였다.

[0039] 도 1은 보리수나무 잎 물추출물에 대한 비장세포 증식능 효과를 나타낸다. 비장세포는 다양한 보리수나무 잎 추출량(*Elaeagnus umbellat*Thunberg)과, 5 ug/mL의 lipopolysaccharide(LPS), 0.1 ug/mL ConA에 48시간 동안 자극되었다.

[0040] 도 2는 쥐의 비장에 의해 LPS와 ConA를 유도하는 IL-2 분비상에서 보리수나무 잎 물추출의 효과를 나타낸다. 세포는 오직 물로만 처리되고 48시간동안 5 ug/mL의 lipopolysaccharide(LPS) 또는 0.1 ug/mL ConA와 함께 자극된다. 데이터 값들은 각각의 실험으로부터 평균±SD의 중복값을 나타낸다. 도 2에 나타낸 바와 같이 T 세포와 B 세포의 mitogen인 Con A (0.1 ug/mL)와 LPS (5 ug/mL)를 처리하여 대조군으로 사용하였다. 대조군은 정상으로 유도하는 것을 확인하였으며, 보리수나무 잎 물 추출물 10 ug/mL 농도 이상에서 무처리군과 LPS (5 ug/mL)에 비하여 비장세포 증식능을 현저하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0041] **3. 보리수나무 추출물에 의한 비장세포 사이토카인 분비량 측정**

[0042] 비장세포가 분비하는 사이토카인(IL-2, IL-10) 농도 측정은 ELISA법을 이용하여 측정하였다. 생성된 사이토카인의 양을 Duoset sandwich ELISA Mouse kit(R&D system, USA)를 사용하여 측정하였다. ELISA용 96well plate에 각 cytokine 측정에 특성화 된 1차 항체를 PBS에 희석 후 100 uL 씩 분주해 하루 동안 처리한 후, 그 다음날, washing buffer로 1차 항체를 세척한 뒤, 항체가 붙지 않은 plate 의 다른 공간을 메워 주기 위해 buffer를 넣어 2시간 동안 처리 한 뒤 세척용 완충액으로 씻어내었다. standard, sample을 100 ul씩 각 well에 넣어 2시간 동안 반응 시킨 후 반응이 끝난 뒤 washing buffer로 씻어내고 희석된 완충액을 각 well에 100 ul씩 분주하고 2시간 동안 처리한다.

[0043] 이 과정이 끝나면 세척용 완충액을 이용해 plate를 씻어내고 발색을 도와주는 기질을 100 ul 넣어 반응 시킨 뒤, ELISA reader 570 nm에서 흡광도를 측정하고 Standard curve를 이용해 세포에서 생성된 사이토카인의 양을 계산하였다.

[0044] 도 2, 3은 보리수나무 잎 추출물에 대한 비장세포 IL-2, IL-10 사이토카인 분비량을 나타낸다. T 세포와 B세포의 mitogen인 Con A(0.1 ug/mL)와 LPS(5 ug/mL)를 처리하여 대조군으로 사용하였다. 도 2에 나타낸 바와 같이 대조군은 정상으로 유도하는 것을 확인하였으며, IL-2 분비의 경우, 보리수나무 잎 물 추출물 10 ug/mL 농도에서 3배가량 분비량이 증가하는 것을 확인하였다.

[0045] 도 3은 쥐의 비장에 의해 LPS와 ConA를 유도하는 IL-10 분비상에서 보리수나무 잎 물추출의 효과를 나타낸다. 세포는 오직 물로만 처리되고 48시간 동안 5 ug/mL의 lipopolysaccharide(LPS) 또는 0.1 ug/mL ConA와 함께 자극된다. 데이터 값들은 각각의 실험으로부터 평균±SD의 중복값을 나타낸다. 도 3에 나타낸 바와 같이 IL-10 생성은 대조군에서는 97.94 pg/mL 인데 반하여 보리수나무 물추출물 50 ug/mL 농도에서 658.27 ug/mL으로 대조군에 비하여 그 분비량을 현저하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0046] **4. 보리수나무 추출물에 의한 Balbc/c 마우스 혈청으로부터 사이토카인 분비량 측정**

[0047] 6~8주령 수컷 Balb/c 마우스를 1 주일 동안 23 ℃, 40-60 % 습도, 12시간 명암주기 조건 환경에서 적응시킨 후 보리수나무 추출물을 200 mg/kg의 용량으로 첨가하여 4일 동안 경구 투여하였으며, 양성대조군으로 concanavalin (ConA)를 2mg/kg를 4일째에 마우스의 꼬리정맥에 주사 한 후 1시간, 2시간, 4시간, 8시간 시간별로 혈액을 채취하여 IL-4 및 IL-10 과 같은 면역 사이토카인을 ELISA reader를 이용하여 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

[0048] 도 4는 보리수나무 잎 물추출물에 대한 Balbc/c 마우스 혈청의 IL-4 사이토카인 분비량을 나타낸다. 쥐들은 4일 동안 200mg/kg 무게의 보리수나무 잎으로부터 추출된 다양한 농도의 물과 함께 관리되었다. IL-4 사이토카인은 마지막날에 경구 투여후 4시간째 측정되었다. 데이터 값들은 각각의 실험으로부터 평균±SD의 중복값을 나타낸

다. 도 4에 나타낸 바와 같이 무처리군에서 3.315 pg/mL인데 비하여 보리수나무 잎 물추출물 200 mg/kg 투여군에서 17.945 pg/mL 생성하여 무처리군에 비하여 현저하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0049] 도 5는 보리수나무 잎 물추출물에 대한 Balbc/c 마우스 혈청의 IL-10 사이토카인 분비량을 나타낸다. 쥐들은 4일동안 200mg/kg 무게의 보리수나무 잎으로부터 추출된 다양한 농도의 물과 함께 관리되었다. IL-10 사이토카인은 마지막날에 경구 투여후, 4시간째에 측정되었다. 데이터 값들은 각각의 실험으로부터 평균±SD의 중복 값을 나타낸다.

[0050] 도 5에서 나타낸 바와 같이 IL-10의 생성량은 무처리군에서 1.708 pg/mL인데 비하여 보리수나무잎 물추출물 200 mg/mL에서 57.32 pg/mL을 생성하여 무처리군에 비하여 현저하게 IL-10 분비량을 증가하는 것을 알 수 있었다.

[0051] 이로부터 본 발명의 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 하는 면역 증강용 약학적 조성물 또는 건강식품 조성물은 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 마우스 비장세포 증식 및 IL-2, IL-4, IL-10 과 같은 면역 사이토카인 분비량을 증가시키는 효과가 확인된 것을 알 수 있다. 또한 Balb/C 마우스에 경구 투여함으로서 혈청 내 IL-4, IL-10 과 같은 면역 사이토카인 분비량을 증가시키는 효과를 확인할 수 있었다.

[0052] 따라서 본 발명의 조성물은 면역 증강을 유도하는 유용한 약학조성물 및 기능성 식품 조성물로 유용하게 이용될 수 있으며 제조 원료를 자연에 서식하는 식물로 대체함으로 생산단가 절감과 산업화를 통한 수입대체 및 수출효과를 기대할 수 있다.

[0053] **5. 보리수나무 잎 추출물을 이용한 약제 또는 건강식품 제조**

[0054] 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 하는 면역 증강용 약학적 조성물 또는 건강식품 조성물은 정제 및 캡슐제, 연질 캡슐제, 과립제, 액제 형태로 제조될수 있다. 또 다른 적절한 실시 형태에 따르면, 상기 조성물은 음료 첨가제로 제조할 수 있다. 상기 면역 증강용 약제 또는 건강식품은 상기 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물이 0.01 내지 99.9중량%로 포함되도록 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸, 경피제, 좌제 또는 멸균 주사용 액으로 제형화하여 제조할 수 있다.

[0055] 멸균주사액의 경우, 상기 약학 조성물이 0.01 내지 99.9중량%로 포함하도록 하고 정제수 또는 포도당을 99.9 내지 0.01 중량%를 혼합하여 제조 가능하며, 캡슐제의 경우, 상기 약학조성물을 동결 건조하여 0.01 내지 99.9중량%로 포함하도록 하고, 비타민제, 칼슘제을 99.9 내지 0.01 중량%를 혼합하여 제조 가능하다.

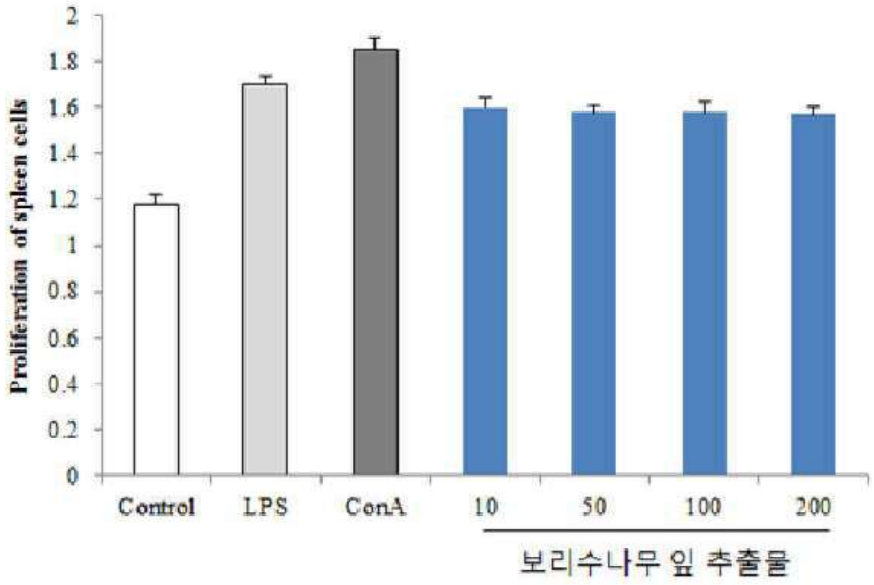
[0056] 상기 제조된 약학조성물의 1일당 투여량은 상기 추출물이 10 내지 2000mg/kg 체중 포함되는 함량으로 제공하며, 또한 상기 약학 조성물을 0.01 내지 99.9중량%로 포함하는 면역 증강용 기능성 건강식품으로도 제조 가능하다.

산업상 이용가능성

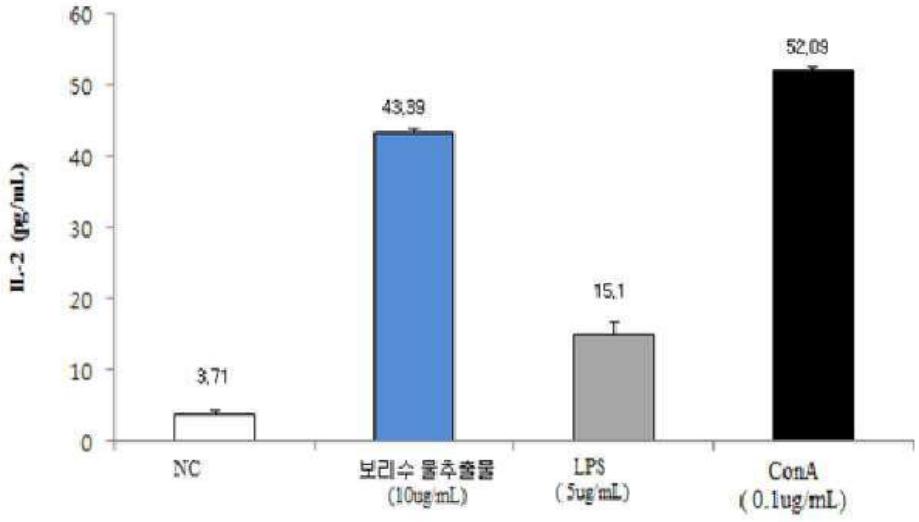
[0057] 본 발명의 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 하는 면역 증강용 약학조성물은 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 마우스 비장세포 증식 및 IL-2, IL-4, IL-10 과 같은 면역 사이토카인 분비량을 증가시키는 효과가 확인됨으로써 면역 증강에 유용한 약학조성물 및 기능성 식품 조성물 로 유용하게 이용될 수 있고 제조 원료를 자연에 서식하는 식물로 대체함으로 제조생산단가 절감과 산업화를 통한 수입대체 및 수출효과를 기대할 수 있어 산업상 이용가능성이 있다.

도면

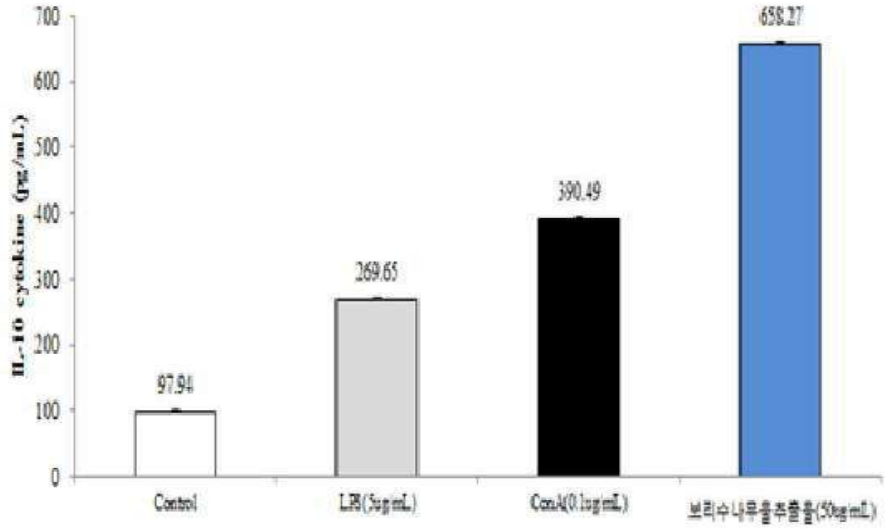
도면1


Proliferation of spleen cells
2
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Control
LPS
ConA
10
50
100
200
보리수나무 잎 추출물

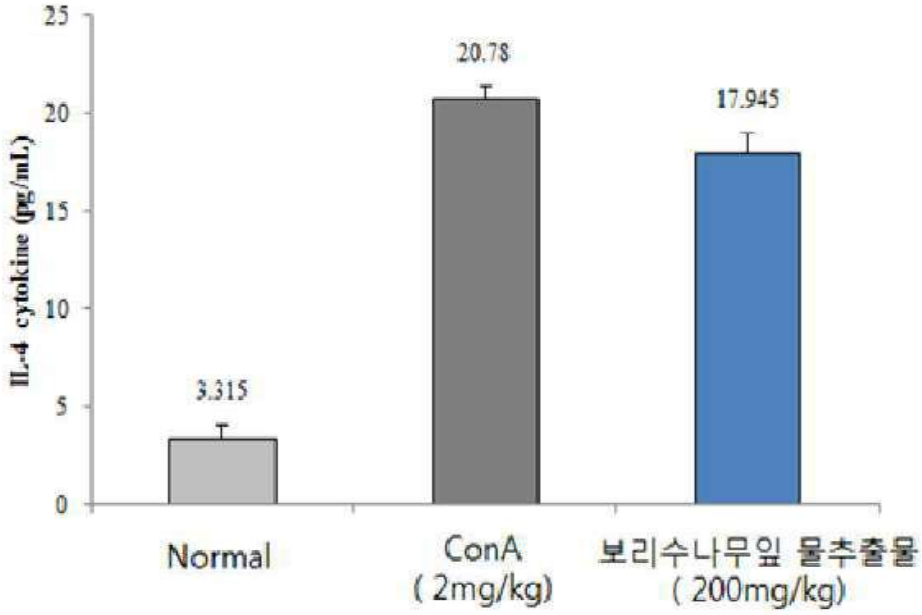
도면2


IL-2 (pg/mL)
60
50
40
30
20
10
0
3.71
43.39
15.1
52.09
NC
보리수 물추출물
(10ug/mL)
LPS
(5ug/mL)
ConA
(0.1ug/mL)

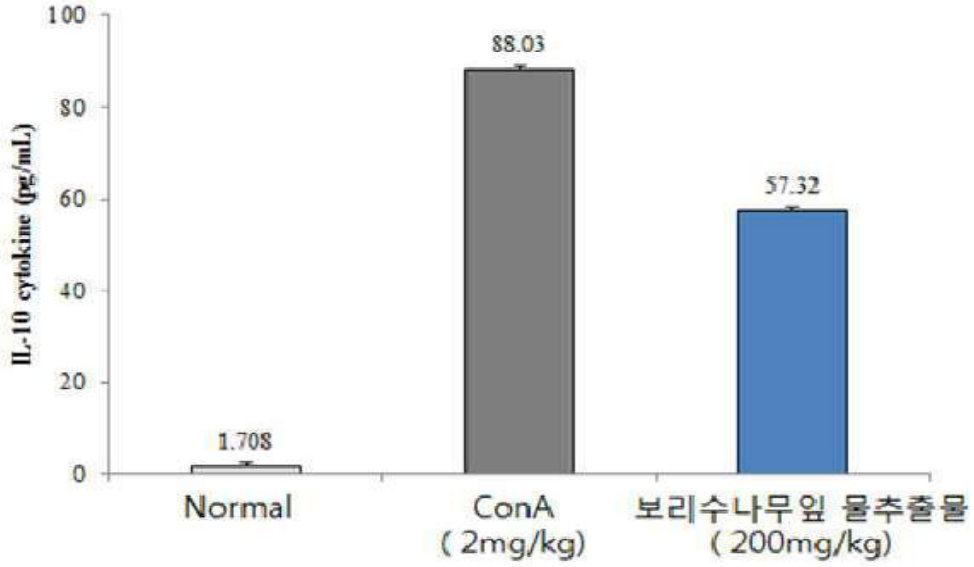
도면3


IL-10 cytokine (pg/mL)
700
600
500
400
300
200
100
0
97.94
269.65
390.49
658.27
Control
LPS(5ug/mL)
ConA(0.1ug/mL)
보리수나무물추출물(50ug/mL)

도면4


IL-4 cytokine (pg/mL)
25
20
15
10
5
0
3.315
20.78
17.945
Normal
ConA
(2mg/kg)
보리수나무잎 물추출물
(200mg/kg)

도면5


IL-10 cytokine (pg/mL)
100
80
60
40
20
0
88.03
57.32
1.708
Normal
ConA
(2mg/kg)
보리수나무잎 물추출물
(200mg/kg)