



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2011년08월16일  
(11) 등록번호 10-1057007  
(24) 등록일자 2011년08월09일

(51) Int. Cl.

A61K 36/03 (2006.01) A61K 31/35 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0007913

(22) 출원일자 2011년01월26일

심사청구일자 2011년01월26일

(56) 선행기술조사문헌

KR100833121 B1\*

KR1020090121102 A

KR100839225 B1

KR1020060082214 A

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

한국해양연구원

경기 안산시 상록구 사동 1270번지

(72) 발명자

허수진

경기도 안산시 상록구 사동 1405-18 하이즈빌라 202호

강도형

경기도 안산시 상록구 사1동 푸르지오 대우6차 620동 1801호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 대아

전체 청구항 수 : 총 12 항

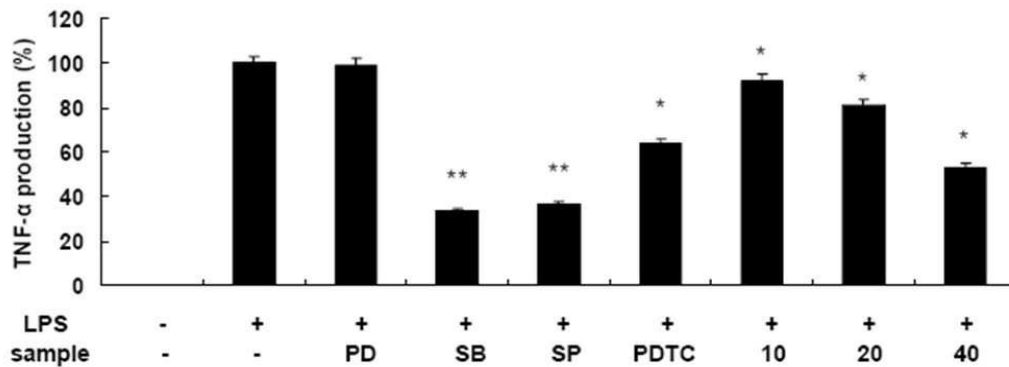
심사관 : 박종일

(54) 파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방, 치료 및 개선용 조성물에 대한 것이다. 또한 본 발명은 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방, 치료 및 개선용 조성물에 대한 것이다. 상기 사가크로마놀 G는 파배기모자반 등과 같은 천연물로부터 유래할 수 있으며, 합성할 수도 있다.

대표도 - 도11



(72) 발명자

**윤원중**

제주특별자치도 제주시 노형동 1047-10

**김길남**

제주특별자치도 제주시 연동 290-2 학산맨션 403호

**오철홍**

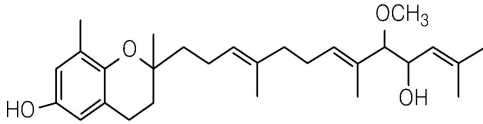
제주특별자치도 제주시 이도2동 1177-5

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

파베기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물로, 상기 파베기모자반 추출물은 하기 화학식 1로 표시되는 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 포함하며, 질소 산화물 및 PGE<sub>2</sub>의 생성을 저해하는 약학적 조성물:

<화학식 1>



**청구항 2**

제 1항에 있어서,

상기 파베기모자반 추출물은 파베기모자반을 물, 탄소수 4 이하의 저급 알코올, n-헥산, 에틸아세테이트 및 디클로로메탄으로 구성되는 균으로부터 선택되는 용매로 추출하거나 분획하여 제조되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**청구항 3**

제 1항에 있어서,

상기 염증성 질환은 퇴행성 신경관절염, 류마티스성 관절염, 물리적 손상으로 인한 신경관절염, 염증성 창자염, 강직 척추염, 긴선, 죽상동맥경화증, 다발성경화증 및 염증성 요통으로 구성되는 균으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**청구항 4**

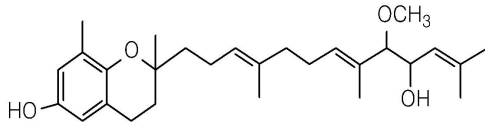
제 1항에 있어서,

TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , 및 IL-6로 구성되는 균으로부터 선택되는 염증성 사이토카인의 생성을 저해하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**청구항 5**

하기 화학식 1로 표시되는 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 유효성분으로 포함하고, 질소 산화물 및 PGE<sub>2</sub>의 생성을 저해하는, 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물:

<화학식 1>



**청구항 6**

제 5항에 있어서,

상기 염증성 질환은 퇴행성 신경관절염, 류마티스성 관절염, 물리적 손상으로 인한 신경관절염, 염증성 창자염, 강직 척추염, 건선, 죽상동맥경화증, 다발성경화증 및 염증성 요통으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**청구항 7**

제 5항에 있어서,

TNF- $\alpha$  IL-1 $\beta$ , 및 IL-6로 구성되는 군으로부터 선택되는 염증성 사이토카인의 생성을 저해하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**청구항 8**

제 5항에 있어서,

상기 사가크로마놀 G는 파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*)으로부터 유래한 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**청구항 9**

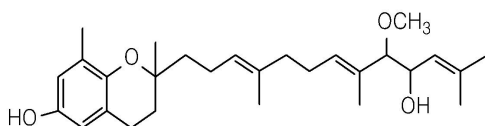
파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물 또는 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물로,

상기 파배기모자반 추출물은 사가크로마놀 G를 유효성분으로 포함하고,

상기 사가크로마놀 G는 하기 화학식 1로 표시되며,

질소 산화물 및 PGE<sub>2</sub>의 생성을 저해하는 식품 조성물:

<화학식 1>



**청구항 10**

제 9항에 있어서,

상기 파배기모자반 추출물은 파배기모자반을 물, 탄소수 4 이하의 저급 알코올, n-헥산, 에틸아세테이트 및 디클로로메탄으로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 추출하거나 분획하여 제조되는 것을 특징으로 하는 식품

조성물.

**청구항 11**

제 9항에 있어서,

상기 염증성 질환은 퇴행성 신경관절염, 류마티스성 관절염, 물리적 손상으로 인한 신경관절염, 염증성 창자염, 강직 척추염, 건선, 죽상동맥경화증, 다발성경화증 및 염증성 요통으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

**청구항 12**

제 9항에 있어서,

TNF- $\alpha$  IL-1 $\beta$ , 및 IL-6로 구성되는 군으로부터 선택되는 염증성 사이토카인의 생성을 저해하는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 파베기모자반 추출물 및 분획물, 또는 사가크로마놀 G를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방, 치료 및 개선용 조성물 및 그 제조방법에 대한 것이다.

**배경기술**

[0002] 염증이란 세균 유래의 농양(abscess)으로서 조직에 침입하여 증식된 화농균류를 백혈구가 왕성히 탐식하여, 그 결과 생기는 백혈구의 사해, 균에 의해 장해를 받은 조직, 세포 파괴물 등이 조직 내에서 용해하여 농이 축적된 곳의 병리적 상태를 말한다. 또한, 소염작용이라 함은 침입균의 증식을 항균제 등에 의하여 억제한다든지, 혹은 농양 중에 축적된 이물을 탐식하는 대식세포(macrophage)를 활성화하여 그것들을 소화, 배설하는 기능을 높여서 농양의 치료과정이 촉진되는 것을 말한다. 일반적으로 염증 반응은 생체의 세포나 조직에 어떠한 기질적 변화를 가져오는 침습이 가해질 때 그 손상부위를 수복 재생하려고 하는 생체의 방어 반응과정이다. 따라서, 이러한 일련의 반응에는 국소의 혈관, 체액의 각종 조직세포, 면역관여 세포 등이 포함된다고 한다.

[0003] 세포사멸, 면역반응 및 염증 반응 등의 다양한 세포 반응에 관련된 단백질들의 발현 조절 작용 인자로서 전사인자 NF- $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)가 있으며, NF- $\kappa$ B는 염증유발 사이토카인, 독성화합물, 박테리아 감염, 바이러스감염, 방사선, UV, 활성산소 등의 다양한 외부자극에 의해 활성화되는 것으로 알려져 있다.

[0004] 따라서 비정상적인 NF- $\kappa$ B의 활성화는 백혈병 등 각종 암, 관절염 등 염증질환, 천식, 동맥경화, 알츠하이머, 호지킨씨병 등 암, 염증, 면역질환과 관련되어 있어, 이러한 NF- $\kappa$ B의 활성을 저해하는 화합물은 상기한 질환을 치료하기 위한 치료제로서의 표적이 되고 있다.

[0005] 대식세포(Macrophage)는 다양한 기능을 가진 세포로 화학적 자극에 의하여 여러 가지 사이토카인(cytokine)과 NO를 생성하여 염증반응에서 중요한 역할을 한다. 특히 대식세포에서 지질다당류(lipopolysaccharide; LPS)나 인터페론  $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 와 같은 사이토카인 자극에 의해 발현되는 유도성 질소산화물 합성효소(iNOS)는 장시간 동안 다량의 질소산화물(NO)을 생산한다. 이러한 산화적 스트레스는 I $\kappa$ B에 의하여 억제되어 있는 염증 반응의 전사인자인 NF $\kappa$ B 활성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. NF- $\kappa$ B는 전사인자로서, p50 단백질과 p65(RelA) 단백질을 포함한 5 종의 단백질의 동종이량체(homodimer) 또는 이종 이량체(heterodimer)로 구성되어 있다. 활성화된 NF $\kappa$ B는 핵으로 이동하여 iNOS, COX-2 및 IL-1 $\beta$ 나 TNF- $\alpha$ 와 같은 여러 종류의 사이토카인 등 염증반응을 유도

하는 유전자 발현을 촉진시키는 것으로 알려져 있으며, 이들 인자들을 저해하면 염증 반응을 억제하는 것으로 알려져 있다.

[0006] 질소산화물(NO)은 세 가지 주요한 질소산화물 합성효소(NOS) 이성질체인 neuronal NOS(nNOS), endothelial NOS(eNOS), inducible NOS(iNOS)에 의해 L-아르기닌(L-arginine)으로부터 생성된다. nNOS와 eNOS는 Ca<sup>2+</sup>/칼모듈린(calmodulin)에 의해 조절되지만, iNOS는 인터루킨(interleukin), 인터페론(interferon), LPS와 같은 염증성 자극에 의해 전사 수준에서 조절된다. nNOS나 eNOS에 의해 소량 생성된 NO는 혈관확장, 신경전달, 병원에 대한 세포파괴 등과 같은 정상적인 생리기능을 담당하지만, 대식세포에서 iNOS에 의해 과다 생성된 NO는 염증과 암을 포함한 다양한 병리생리학적 과정에 관여하며, 슈퍼옥사이드(superoxide)와 반응하여 퍼옥시니트라이트(peroxynitrite)를 형성하고 이는 강력한 산화제로 작용하여 세포에 손상을 입히고, 염증성 자극에 의해 활성화된 대식세포에서 NF-κB를 활성화시켜 염증반응, 암, 동맥경화 등 만성질환에 관련하는 것으로 알려져 있다.

[0007] 프로스타글란딘은 환상구조를 지닌 20개의 탄소를 포함하고 있는 불포화 지방산 유도체로 주로 만성 염증성 질환에 관여하는 화학 전달물질이며 천식 등의 자가면역질환에도 관여한다. 프로스타글란딘은 COX에 의하여 생성되는데 이 효소는 COX-1과 COX-2의 두 가지 이성질체가 존재한다. COX-1은 위나 신장과 같은 조직에서 일정하게 존재하는 효소로서 정상적인 항상성을 유지하는데 관여하는 반면, COX-2는 염증이나 기타 면역 반응시 세포 분열인자나 사이토카인에 의해 세포 내에서 일시적이고 빠르게 발현된다. 급성 혹은 류마티스성 관절염과 같은 만성적 염증 질환의 치료에 사용되는 NSAIDs는 COX-2 효소를 억제할 뿐만 아니라 COX-1 효소도 억제함으로써 앞서 언급한 위장관 장애와 같은 여러 가지 부작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0008] 따라서, 상기 질소산화물(NO) 생성을 억제하거나, 프로스타글란딘 생성을 억제하거나, iNOS 발현 또는 IL-1β, TNF-α, IL-1β, IL-6과 같은 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 물질을 확인하면, 항염증용 물질로 이용할 수 있을 것이다.

[0009] 한편, 파베기모자반(*Sargassum siliquastrum*)은 갈조식물, 모자반목, 모자반과의 해조류로 한국과 일본에 주로 분포한다. 간조선부근에서 점심대에 걸쳐 바위위에 주로 붙어서 살고 있고, 길이가 보통 2-3m이나 수심 m까지 자라기도 한다. 계절과 지형에 따라 다양한 모양을 가지고 있지만 대체로 밀동의 잎은 폭이 넓고 2중의 틈니가 없으며 가지가 3릉형이고 파베기 모양으로 꼬여 있다. 윗부분에는 공기방울이 붙어 있어서 바닷속에서도 위로 곧게 뻗어 있다.

[0010] 본 발명자는 파베기모자반을 추출 및 분획하여 연구하던 중, 파베기모자반의 추출물 및 분획물, 또한 파베기모자반 유래의 사카크로마놀 G가 항염증 용도를 갖는 것을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0011] 본 발명의 목적은 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 그 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또다른 목적은 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물 및 그 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또다른 목적은 염증성 질환의 개선 및 치료 방법을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 파베기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물을 유효성분으로 포함하

는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 파베기모자반을 추출하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0015] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 파베기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 파베기모자반을 추출하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0016] 또한 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 파베기모자반과 같은 천연물로부터 사가크로마놀 G를 분리하는 단계; 또는 사가크로마놀 G를 합성하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0017] 또한 본 발명은 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 파베기모자반과 같은 천연물로부터 사가크로마놀 G를 분리하는 단계; 또는 사가크로마놀 G를 합성하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0018] 또한 본 발명은 파베기모자반 추출물 또는 사가크로마놀 G를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 개선 및 치료 방법을 제공한다. 상기 환자는 인간, 또는 인간을 제외한 포유동물일 수 있다.

### 발명의 효과

[0019] 본 발명의 파베기모자반 추출물 또는 분획물; 및 사가크로마놀 G는 염증성 질환의 예방, 개선 및 치료 효과가 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 파베기모자반 추출물 및 분획물의 수득 및 사가크로마놀 G(sargachromanol G)의 분리 과정을 나타낸다.  
 도 2는 RAW 264.7 세포에 파베기모자반 추출물 및 분획물을 처리 시 세포 생존력을 나타낸다.  
 도 3은 RAW 264.7 세포에, 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 농도를 달리하여 처리시 세포 생존력을 나타낸다.  
 도 4는 파베기모자반 추출물 및 분획물의 질소산화물 생성 저해능 및 세포 독성을 나타낸다.  
 도 5는 파베기모자반 디클로로메탄 분획물의 질소산화물 생성 저해능 및 세포 독성을 나타낸다.  
 도 6은 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G의 질소산화물 생성 저해능 및 세포 독성을 나타낸다.  
 도 7은 RAW 264.7 세포에 파베기모자반 추출물 및 분획물을 처리시 PGE<sub>2</sub> 생성이 저해되는 것을 나타낸다.  
 도 8은 RAW 264.7 세포에 파베기모자반 디클로로메탄 분획물을 농도별로 처리시 PGE<sub>2</sub> 생성이 저해되는 것을 나타낸다.  
 도 9는 RAW 264.7 세포에 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리시 PGE<sub>2</sub> 생성이 저해되는 것을 나타낸다.  
 도 10은 사가크로마놀 G의 유도성 질소산화물 합성효소(iNOS) 및 COX-2 생성 저해능을 나타낸다.  
 도 11은 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 TNF- $\alpha$  저해능을

나타낸다.

도 12는 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 IL-1 $\beta$  저해능을 나타낸다.

도 13은 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 IL-6 저해능을 나타낸다.

도 14는 PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 I $\kappa$ B- $\alpha$  단백질 저해능을 나타낸다.

도 15는 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 I $\kappa$ B- $\alpha$  단백질 저해능을 나타낸다.

도 16은 PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 p65 단백질 저해능을 나타낸다.

도 17은 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 p65 단백질 저해능을 나타낸다.

도 18은 PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 p50 단백질 저해능을 나타낸다.

도 19는 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 p50 단백질 저해능을 나타낸다.

도 20은 PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 ERK 단백질 저해능을 나타낸다.

도 21은 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 ERK 단백질 저해능을 나타낸다.

도 22는 PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 JNK 단백질 저해능을 나타낸다.

도 23은 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 JNK 단백질 저해능을 나타낸다.

도 24는 PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 p38 단백질 저해능을 나타낸다.

도 25는 파베기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 처리한 경우, RAW 264.7 세포에서의 p38 단백질 저해능을 나타낸다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

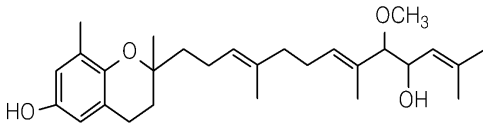
[0021] 본 발명은 파베기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 파베기모자반을 추출하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0022] 또한 본 발명은 파베기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 파베기모자반을 추출하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0023] 또한 본 발명은 사가크로마놀 G(sargachromanol G)(화학식 1)를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 아울러 본 발명은 천연물로부터 사가크로마놀 G를 분리하는 단계; 또는 사가크로마놀 G를 합성하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물의 제조 방법을 제공한다.



화학식 1



[0024]

[0025]

또한 본 발명은 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 천연물로부터 사가크로마놀 G를 분리하는 단계; 또는 사가크로마놀 G를 합성하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0026]

또한 본 발명은 파배기모자반 추출물 또는 사가크로마놀 G를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 개선 및 치료 방법을 제공한다. 상기 환자는 인간, 또는 인간을 제외한 포유동물일 수 있다.

[0027]

이하, 본 발명을 자세히 설명한다.

[0028]

본 발명의 파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*)은 자연에서 채취하여 이용할 수 있고, 양식하여 이용할 수도 있다. 본 발명의 파배기모자반은 신선한 상태로 이용할 수도 있으며, 동결건조, 자연건조 등을 한 상태로 보관하여 이용할 수도 있다.

[0029]

상기 파배기모자반 추출물은 파배기모자반을 물 또는 유기용매로 추출하거나 분획한 것일 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 파배기모자반 추출물은 물, 탄소수 4 이하의 저급 알코올, n-헥산, 에틸아세테이트 및 디클로로메탄으로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 추출하거나 분획한 것일 수 있다.

[0030]

본 발명의 염증성 질환은 신경성 염증 질환일 수 있다. 또한 상기 염증성 질환은 퇴행성 신경관절염, 류마티스성 관절염, 물리적 손상으로 인한 신경관절염, 염증성 창자염, 강직 척추염, 건선, 죽상동맥경화증, 다발성경화증 및 염증성 요통으로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031]

본 발명의 약학적 조성물 또는 식품 조성물은 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , 및 IL-6로 구성되는 군으로부터 선택되는 염증성 사이토카인의 생성을 저해하거나, I $\kappa$ B- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B의 p65 또는 p50 단백질, ERK 단백질, JNK 단백질 또는 p38 단백질 등을 저해하여, 염증성 질환을 예방, 치료 또는 개선시킬 수 있다.

[0032]

본 발명의 사가크로마놀 G(sargachromanol G)는 천연물에서 분리할 수 있으며, 합성하여 이용할 수도 있다. 상기 천연물은 파배기모자반일 수 있다.

[0033]

본 발명의 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 바람직한 약제학적 제제는 정제, 경질 또는 연질 캡슐제, 액제, 현탁제 등과 같은 경구투여용 제제가 있으며 이들 약제학적 제제는 약제학적으로 허용 가능한 통상의 담체, 예를 들어 경구투여용 제제의 경우에는 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 가용화제, 현탁화제, 보존제 또는 증량제 등을 사용하여 조제할 수 있다.

- [0034] 본 발명의 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물의 투여 용량은, 환자의 상태, 연령, 성별 및 합병증 등의 다양한 요인에 따라 전문가에 의해 결정될 수 있지만 일반적으로는 성인 1kg 당 0.1mg 내지 10g, 바람직하게는 10 mg 내지 5g의 용량으로 투여될 수 있다. 또, 단위 제형당 상기 약학적 조성물의 1일 용량 또는 이의 1/2, 1/3 또는 1/4의 용량이 함유되도록 하며, 하루 1 내지 6 회 투여될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0035] 또한 본 발명은 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다. 상기 식품이란 건강보조식품, 건강기능식품, 기능성 식품 등이나 이에 제한되는 것은 아니며, 천연식품, 가공식품, 일반적인 식자재 등에 본 발명의 염증성 질환의 예방 및 개선용 조성물을 첨가한 것도 포함된다.
- [0036] 본 발명의 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물은, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 조성물과 함께 사용될 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 염증성 예방 및 개선용 조성물을 식품 또는 음료의 제조 시에 식품 또는 음료의 원료 100 중량부에 대하여 0.1 내지 70 중량부, 바람직하게는 2 내지 50 중량부 첨가될 수 있다. 상기 염증성 질환의 예방 및 개선용 조성물의 유효용량은 상기 약학적 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0037] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 염증성 질환의 예방 및 개선용 식품 조성물은 정제, 경질 또는 연질 캡슐제, 액제, 현탁제 등과 같은 경구투여용 제제의 형태로 이용될 수 있으며, 이들 제제는 허용 가능한 통상의 담체, 예를 들어 경구투여용 제제의 경우에는 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 가용화제, 현탁화제, 보존제 또는 증량제 등을 사용하여 조제할 수 있다.
- [0038] 상기 염증성 질환의 예방 및 개선용 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있으나 이들 종류의 식품으로 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 이하, 본 발명을 다음의 실시예 및 실험예에 의해 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 발명의 범위가 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0040] <실험예 1> 재료 및 방법
- [0041] < 1-1> 화합물 및 시약
- [0042] Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 및 fetal bovine serum (FBS)은 Invitrogen-Gibco (Grand Island, NY)로부터 취득하였다. PGE<sub>2</sub> 및 IL-6 ELISA 키트는 R&D systems, Inc. (St. Louis, MO) 및 BD biosciences (San Diego, CA)로부터 구입하였다. COX-2 및 iNOS 항체는 BD Biosciences (San Diego, CA, USA) 및 Calbiochem (San Diego, CA, USA)으로부터 구입하였다. NF-κB(anti-p50, anti-p65 및 anti-IκBα), MAPKs (anti-ERK1/2, anti-JNK 및 anti-p38) 및 골골세포 형성 인자(osteoclastogenic factors) (TRAP, MMP-9, TRAF6, anti-SFK, anti-Lyn, anti-MEK and anti-ATF2), 마우스 또는 토끼 항체들은 각각 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA) 및 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)로부터 구입하였다. PD98059 (a specific inhibitor of ERK1/2), SB203580 (a specific inhibitor of p38), SP600125 (a specific inhibitor of JNK), PDTC (a specific inhibitor of NF-κB) 및 다른 시약들은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St Louis, MO, USA)로부터 구입하였다.

[0043] <1-2>파배기모자반 추출물의 수득 및 사가크로마놀 G(sargachromanol G)의 분리

[0044] 해조류인 파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*)은 2005년 10월 ~ 2006년 3월 사이에 한국의 제주도 연안에서 채취하였다. 샘플들은 수돗물로 3회 세척하여 표면의 염분, 착생식물 및 모래 등을 제거하고, 신선한 물로 주의 깊게 세척(rinse)하였으며, -20 °C의 의료용 냉동고에서 보관하였다. 냉동된 샘플들은 추출을 수행하기 전에 감압 하에 동결건조(lyophilize) 및 균질화(homogenize)를 실시하였다. 상기 분말화된 파배기모자반(400 g)을 80 % 메탄올 수용액으로 3 회 추출하고 여과하였다. 여과액을 진공 조건에서 증발시켜, 80 % 메탄올 추출물을 수득하였다. 이를 증류수에 용해하고, 디클로로메탄으로 분획하였다. 상기 디클로로메탄 분획물 9 g을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 혼합물(100:1-1:1)을 단계 용리액으로 하여 실리카 칼럼 크로마토그래피를 수행하여, 활성 분획을 분리하였다. 실리카 겔 크로마토그래피로부터 수득한 결합된 활성 분획은 80% 메탄올 수용액을 이용하여 Sephadex LH-20 칼럼으로 분별하고, 역상 HPLC로 최종적으로 정제하여 사가크로마놀 G(sargachromanol G)를 수득하였다(도 1).

[0045] <1-3> 세포 배양

[0046] American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA)로부터 생쥐(murine) 대식세포주인 RAW 264.7을 구입하여, 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin (100 units/mL), 및 streptomycin (100 µg/mL)을 첨가하여 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM; GIBCO Inc.)에서 보관하였다. 이들 세포들은 37 °C 에서 95% air, 5% CO<sub>2</sub> 가습 공기 조건 하 포화 상태(subconfluence)에서 보관하였으며, 3-4일마다 계대배양하였다. 혈구계를 이용하여 세포의 수를 측정하였으며, trypan blue dye exclusion을 통하여 생세포의 수를 확인하였다.

[0047] <1-4> 단백질 수준의 측정-이뮤노블롯팅 분석

[0048] 세포들이 lysis buffer [50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1% Nonident P-40, 2 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaVO<sub>3</sub>, 10 mM NaF, 1 mM dithiothreitol, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 25 g/mL leupeptin] 내 용해되고, 30분 간 얼음 위에서 보관되었다. 상기 세포 용해물을 4 °C에서 15분간 12,000 × g로 원심분리하고, 상등액을 사용하기 전까지 -70 °C에서 보관하였다. Bradford 방법으로 단백질 농도를 측정하였다. 8-12% SDS-폴리아크릴아마이드 겔로 용해물의 부분 표본(단백질 30-40 µg)을 분리하여, 글라이신 이동 버퍼[192 mM glycine, 25 mM Tris-HCl (pH 8.8), 20% MeOH (v/v)]를 이용하여 polyvinylidene fluoride (PVDF) 멤브레인(BIO-RAD, HC, USA)으로 이동시켰다. 5% 무지방 건조 우유를 이용하여 비특이적 위치를 blocking한 후, 상기 멤브레인을 1 차 항체(primary antibody)(1:1000)로 4 °C에서 밤새 배양하였다. 상기 멤브레인을 60분간 horseradish peroxidase와 콘쥬게이트된 염소 항-마우스 IgG 이차 항체(secondary antibody) (1:5000, Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, UK)로 60분간 배양하였다. enhanced chemiluminescence (ECL) 웨스턴 블롯팅 검출 키트(Amersham Pharmacia Biotech., NY, USA)로 상기 단백질을 검출하였다.

[0049] <1-5> 통계 분석

[0050] 스튜던트 t-검정 및 one-way ANOVA를 사용하여 통계 분석을 수행하였다. 데이터들은 최소 3회 수행된 독립적인 시험 결과를 이용하여, 평균±표준편차로 나타내었다. 0.005 이하의 P- values를 통계적으로 중요한 것으로 간주하였다.

[0051] <실험예 2> 세포 생존력

[0052] Lactate dehydrogenase (LDH) 및 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) 분석을 통하여 세포 생존력(Cell viability)을 측정하였다. LDH 유출은 세포질로부터 배지로 유출되는 세포질 LDH의 양의 작용으로써 세포막의 강도를 측정하는 것이다. LDH 활성은 젖산이 피루베이트로 전환되는 동안 NADH의 생산량에 따라 결정된다. 즉, 세포를 제거하기 위하여 상온에서 3 분간 12,000 rpm으로 배양 배지를 원심분리하였다. 상기 무세포(cell-free) 배양 배지(50 µl)를 모아, 세포 독성 탐지 키트의 반응 혼합물 50 µl와 함께 암

소에서 상온 조건 하 30 분간 배양하였다. HCl (1N) 50  $\mu$ l을 각각의 웰에 첨가하여 효소 반응을 중단시켰다. 490 nm에서 ELISA plate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 퍼센트 세포독성(percent cytotoxicity)은 대조군에 대한 상대값으로 결정하였다(Fernandez et al., 2006).

- [0053] conventional MTT assay를 이용하여 세포 생존력을 측정하였다. 세포를 96-웰 플레이트에 넣고, 24시간 동안 배양한 후, 말 태반 배지에 24 시간 두었다. 웰마다 MTT 용액(10 mg/mL in phosphate buffered-saline, pH 7.4)을 50  $\mu$ l씩 첨가하고(최종 농도 0.5 mg/mL), 플레이트를 37  $^{\circ}$ C에서 4 시간동안 배양하여 formazan crystal을 완전히 용해하였다. Formazan의 가용화를 위하여 15% sodium dodesyl sulfate을 첨가하여 배양을 중단하고, microplate reader를 이용하여 570 nm 에서 흡광도를 측정하였다(OD<sub>570-630</sub>).
- [0054] <2-1>파배기모자반 추출물 및 분획물 처리시 세포 생존력
- [0055] 파배기모자반의 80% 에탄올 추출물 및 유기용매(n-헥산, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, 부탄올 및 증류수) 분획물들(50 ug/mL)을 RAW 264.7 세포들에 처리하여 37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 공기 조건 하 24시간 동안 배양한 후 MTT 분석을 수행하였다(도 2). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean  $\pm$  SEM로 나타내었다(\*, P<0.05; \*\*, P<0.01).
- [0056] <2-2> 사가크로마놀 G의 처리시 세포 생존력
- [0057] RAW 264.7 세포에 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40 uM 처리한 후 37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 공기 조건 하 24시간 동안 배양한 후 MTT 분석을 수행하였다(도 3). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean  $\pm$  SEM로 나타내었다(\*, P<0.05; \*\*, P<0.01).
- [0058] <실험예 3> 질소산화물 생성 저해능 및 세포 생존력 저해능
- [0059] NO의 생성량 측정
- [0060] RAW 264.7 세포(1.5 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/mL)들을 18시간 동안 전배양한 후, LPS (1  $\mu$ g/mL) 및 사가크로마놀 G를 24시간 처리하였다. Griess 시약 100  $\mu$ l(1% sulfanilamide 및 0.1% N-[1-naphthyl]-ethylenediamine dihydrochloride in 5% phosphoric acid)를 100  $\mu$ l 배지에 첨가하여, 배양 상등액 내 아질산염(Nitrite)을 측정하였다. NaNO<sub>2</sub>를 이용하여 만든 표준 커브와 비교하여 NO<sub>2</sub>의 농도를 계산하였다. 모든 실험은 3회 수행되었다.
- [0061] <3-1> 파배기모자반 추출물 및 분획물의 질소산화물 생성 저해능 및 세포 독성
- [0062] RAW 264.7 세포에 파배기모자반의 80% 에탄올 추출물 및 유기용매(n-헥산, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, 부탄올 및 증류수) 분획물들(50 ug/mL)을 처리하고, LPS (1 ug/mL)로 24시간 동안 세포를 자극하였다. 배양 배지의 질소산화물의 생성량을 측정하고, LDH 방법을 이용하여 세포독성을 확인하였다(도 4). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean  $\pm$  SEM로 나타내었다(\*, P<0.05; \*\*, P<0.01). 그 결과, 파배기모자반 추출물 및 분획물은 NO 생성을 저해능이 있으며, 특히 n-헥산 분획물 및 디클로로메탄 분획물의 NO 생성 저해능이 높았다.
- [0063] <3-2> 파배기모자반 디클로로메탄 분획물의 질소산화물 생성 저해능 및 세포 독성
- [0064] RAW 264.7 세포에 파배기모자반의 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 분획물을 각각 12.5, 25 및 50 ug/mL 처리하고, LPS (1

ug/mL)로 24시간 자극하여, 배양 배지의 질소 산화물의 생성량을 측정하였다. 또한 LDH 방법을 이용하여 세포독성을 측정하였다(도 5). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean ± SEM로 나타내었다(\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). 그 결과 파배기모자반의 디클로로메탄 분획물의 농도가 증가할수록 NO 생성 저해능도 증가하는 것으로 확인되었다.

[0065] <3-3> 사가크로마놀 G의 질소산화물 생성 저해능 및 세포 독성

[0066] 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G(각각 10, 20 및 40 uM), PD98059(20 uM), SB203580(20 uM), SP600125 (10 uM) 및 PDTC(10 uM)를 RAW 264.7 세포에 각각 처리하고, LPS (1 ug/mL)로 24시간 자극하여, 배양 배지의 질소 산화물의 생성량을 측정하였다. 또한 LDH 방법을 이용하여 세포독성을 측정하였다(도 6)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean ± SEM로 나타내었다(\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). 그 결과, 사가크로마놀 G의 양이 증가할수록 NO 생성 저해능 역시 증가하는 것으로 확인되었다.

[0067] <실험예 4> 파배기모자반 추출물, 분획물 및 사가크로마놀 G의 PGE<sub>2</sub> 저해능

[0068] PGE<sub>2</sub>의 생성량 측정

[0069] IL-1β(10 ng/mL) 및 LPS (1 μg/mL)로 RAW 264.7 세포( $1.5 \times 10^5$  cells/mL)를 24시간 동안 자극하였다. ELISA 키트 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 그 제조사의 지시에 따라 배양 상등액 내 PGE<sub>2</sub> 수준을 측정하였다.

[0070] 상기 분석은, PGE<sub>2</sub>-특이적 항체의 결합 부위의 수가 제한되어 있는데, 이에 대한 표지되지 않은 PGE<sub>2</sub>와 과산화효소(peroxidase)로 표지된 PGE<sub>2</sub>의 고정량 사이의 경쟁을 기초로 한 것이다. 450 nm에서 microplate reader 를 이용하여 상기 용액의 흡광도를 측정하였다. 모든 실험은 3회에 걸쳐 수행되었다.

[0071] <4-1> 파배기모자반 추출물 및 분획물의 PGE<sub>2</sub> 생성 저해능

[0072] 파배기모자반의 80% 에탄올 추출물 및 유기용매 분획물(n-헥산, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, 부탄올 및 증류수) 분획물들(50 ug/mL)을 RAW 264.7세포들( $1.5 \times 10^5$  cells/mL)에 처리하고 LPS (1 ug/mL)로 24시간 자극하였다. 상등액을 수거하여, 상등액 내 PGE<sub>2</sub> 농도를 ELISA로 측정하였다(도 7). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean ± SEM로 나타내었다(\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). 그 결과, 파배기모자반 추출물 및 분획물은 PGE<sub>2</sub> 생성을 저해하는 것으로 확인되었다.

[0073] <4-2> 파배기모자반 디클로로메탄 분획물의 PGE<sub>2</sub> 생성 저해능

[0074] RAW 264.7 세포( $1.5 \times 10^5$  cells/mL)에 PGE<sub>2</sub> 생성 저해능이 특히 높았던, 파배기모자반의 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 분획물을 각각 12.5, 25 및 50 ug/mL 처리하고, LPS (1 ug/mL)로 24시간 자극하였다. 상등액을 수거하여, 상등액 내 PGE<sub>2</sub> 농도를 ELISA로 측정하였다(도 8). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean ± SEM로 나타내었다(\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). 그 결과 분획물의 농도가 높아질수록 PGE<sub>2</sub> 생성 저해능이 증가하는 것을 알 수 있었다.

[0075] <4-3> 사가크로마놀 G의 PGE<sub>2</sub> 생성 저해능

[0076] 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G(각각 10, 20 및 40 uM), PD98059(20 uM), SB203580(20 uM), SP600125 (10 uM) 및 PDTC(10 uM)를 RAW 264.7 세포( $1.5 \times 10^5$  cells/mL)에 각각 처리하고, LPS (1 ug/mL)로 24시간 자극하였다. 상등액을 수거하여, 상등액 내 PGE<sub>2</sub> 농도를 ELISA로 측정하였다(도 9) (PD: PD98059, SB:

SB203580, SP: SP600125를 나타냄). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean ± SEM로 나타내었다(\*, P<0.05; \*\*, P<0.01). 그 결과 사가크로마놀 G는 PGE<sub>2</sub> 생성을 저해하였으며, 사가크로마놀 G의 양이 증가할수록 PGE<sub>2</sub> 생성 저해능이 증가하는 것을 알 수 있었다.

[0077] <실험예 5> 사가크로마놀 G이 유도성 질소산화물 합성효소(iNOS) 및 COX-2 생성 저해능

[0078] RAW 264.7 세포( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)들을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40 μM 처리하고, LPS(1 μg/mL)로 24시간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 iNOS 및 COX-2 단백질 수준을 측정하였다(도 10). 그 결과 사가크로마놀 G의 양이 증가할수록 iNOS 및 COX-2 생성 저해능이 증가하는 것이 확인되었다.

[0079] <실험예 6> 사가크로마놀 G의 사이토카인 생성 저해능

[0080] 사이토카인(TNF-α, IL-1β 및 IL-6)의 생성량 측정

[0081] 샌드위치 ELISA를 이용하여 사이토카인의 생성량을 측정하였다. 처리 전 DMEM에서 에탄올(0.1 % 미만)로 사가크로마놀 G를 희석하였다. 18 시간 동안 RAW 264.7 세포들 ( $2.0 \times 10^5$  cells/mL)을 배양한 후, LPS (1 μg/mL) 및 사가크로마놀 G를 24시간 동안 처리하였다. 마우스 ELISA 키트 (R & D Systems Inc, MN, USA)를 이용하여 450 nm에서 배지 내 TNF-α IL-1β 및 IL-6 수준을 분석하였다. 모든 실험은 3회 수행되었다.

[0082] 사가크로마놀 G의 TNF-α, IL-1β 및 IL-6의 생성 저해능

[0083] 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G(각각 10, 20 및 40 μM), PD98059(20 μM), SB203580(20 μM), SP600125 (10 μM) 및 PDTC(10 μM)를 RAW 264.7 세포( $1.5 \times 10^5$  cells/mL)에 각각 처리하고, LPS (1 μg/mL)로 24시간 자극하였다. 상등액을 수거하여, 상등액 내 TNF-α, IL-1β 및 IL-6 농도를 ELISA로 측정하였다(각각 도 11, 도 12 및 도 13)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄). 결과 값은 3회 반복 실험의 mean ± SEM로 나타내었다(\*, P<0.05; \*\*, P<0.01). 그 결과, 사가크로마놀 G의 양이 증가할수록 이들 사이토카인들의 생성이 저해되는 것을 알 수 있었다.

[0084] <실험예 7> 사가크로마놀 G의 IκB-α 저해능

[0085] PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC의 IκB-α 저해능

[0086] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 PD98059(20 μM), SB203580(20 μM), SP600125(10 μM) 및 PDTC(10 μM)를 각각 처리하여 24시간 동안 전배양한 후, LPS(1 μg/mL)로 10분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-IκB-α (phosphorylated-IκB-α) 및 Pan-IκB-α 수준을 측정하였다(도 14)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄).

[0087] 사가크로마놀 G의 IκB-α 저해능

[0088] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40 μM 처리하여 24시간 동안 전배양하고, LPS (1 μg/mL)로 10분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-IκB-α (phosphorylated-IκB-α) 및 Pan-IκB-α의 수준을 측정하였다(도 15). 그 결과, 사가크로마놀 G가 IκB-α 활성을 저해하는 것이 확인되었다.

[0089] <실험예 8> p65 저해능

[0090] PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC의 NF-κB의 p65 저해능

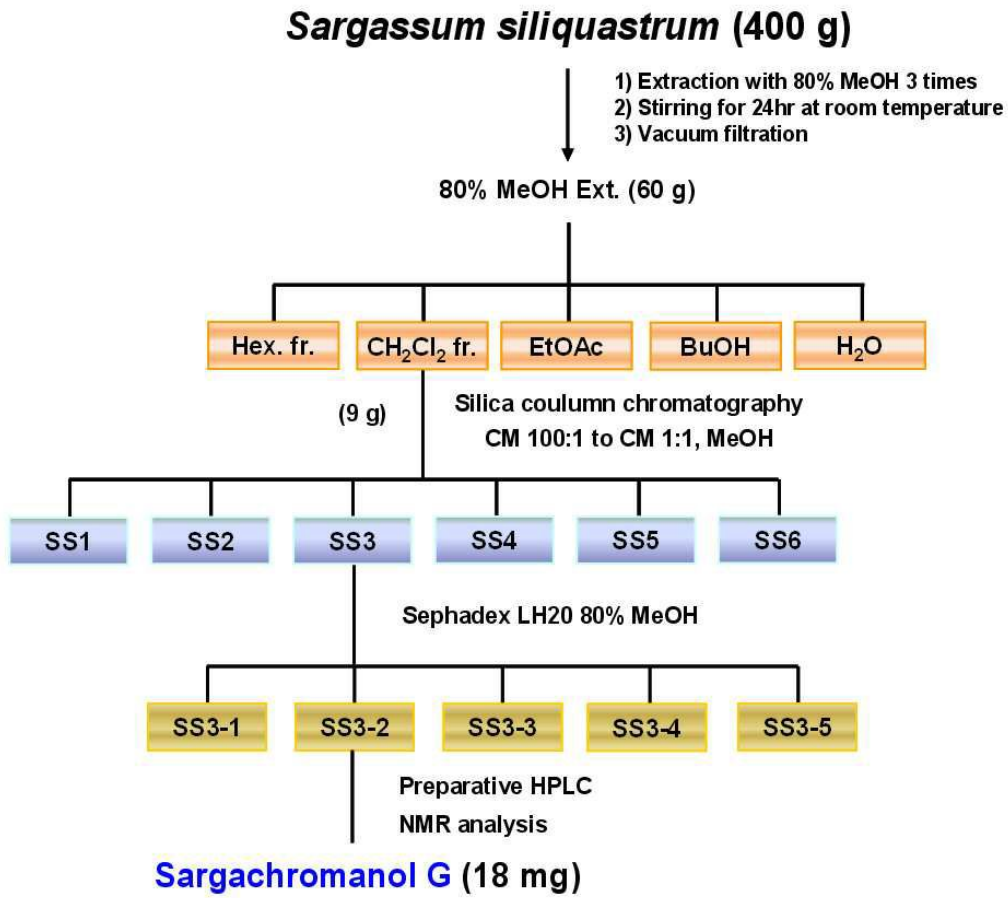
- [0091] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 PD98059(20  $\mu$ M), SB203580(20  $\mu$ M), SP600125(10  $\mu$ M) 및 PDTC(10  $\mu$ M)을 각각 처리하여 24시간 동안 전배양한 후, LPS(1  $\mu$ g/mL)로 10분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-p65 (phosphorylated-p65) and Pan-p65의 수준을 측정하였다(도 16)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄).
- [0092] 사가크로마놀 G의 NF- $\kappa$ B의 p65 저해능
- [0093] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40  $\mu$ M 처리하여 24시간 동안 전배양하고, LPS (1  $\mu$ g/mL)로 10분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-p65(phosphorylated-p65) 및 Pan-p65의 수준을 측정하였다(도 17). 그 결과, 사가크로마놀 G가 NF- $\kappa$ B의 p65의 활성을 저해하는 것이 확인되었다.
- [0094] <실험예 9> p50 저해능
- [0095] PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC의 NF- $\kappa$ B의 p50 저해능
- [0096] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 PD98059(20  $\mu$ M), SB203580(20  $\mu$ M), SP600125(10  $\mu$ M) 및 PDTC(10  $\mu$ M)을 각각 처리하여 24시간 동안 전배양한 후, LPS(1  $\mu$ g/mL)로 10분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-p50 (phosphorylated-p50) 및 Pan-p50의 수준을 측정하였다(도 18)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄).
- [0097] 사가크로마놀 G의 NF- $\kappa$ B의 p50 저해능
- [0098] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40  $\mu$ M 처리하여 24시간 동안 전배양하고, LPS (1  $\mu$ g/mL)로 10분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-p50 (phosphorylated-p50) 및 Pan-p50 의 수준을 측정하였다(도 19). 그 결과, 사가크로마놀 G가 NF- $\kappa$ B의 p50의 활성을 저해하는 것이 확인되었다.
- [0099] <실험예 10> ERK 단백질 저해능
- [0100] PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC의 ERK 저해능
- [0101] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 PD98059(20  $\mu$ M), SB203580(20  $\mu$ M), SP600125(20  $\mu$ M) 및 PDTC(20  $\mu$ M)을 각각 처리하여 24시간 동안 전배양한 후, LPS(1  $\mu$ g/mL)로 20분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-ERK (phosphorylated-ERK) 및 Pan-ERK의 수준을 측정하였다(도 20)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄).
- [0102] 사가크로마놀 G의 ERK 저해능
- [0103] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40  $\mu$ M 처리하여 24시간 동안 전배양하고, LPS (1  $\mu$ g/mL)로 20분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-ERK (phosphorylated-ERK) 및 Pan-ERK 의 수준을 측정하였다(도 21). 그 결과, 사가크로마놀 G가 ERK의 활성을 저해하는 것이 확인되었다.
- [0104] <실험예 11> JNK 단백질 저해능
- [0105] PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC의 JNK 저해능

- [0106] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 PD98059(20  $\mu$ M), SB203580(20  $\mu$ M), SP600125(10  $\mu$ M) 및 PDTC(10  $\mu$ M)을 각각 처리하여 24시간 동안 전배양한 후, LPS(1  $\mu$ g/mL)로 30분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-JNK (phosphorylated-JNK) 및 Pan-JNK의 수준을 측정하였다(도 22)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄).
- [0107] 사가크로마놀 G의 JNK 저해능
- [0108] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40  $\mu$ M 처리하여 24시간 동안 전배양하고, LPS (1  $\mu$ g/mL)로 30분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-JNK(phosphorylated-JNK) 및 Pan-JNK의 수준을 측정하였다(도 23). 그 결과, 사가크로마놀 G가 JNK의 활성을 저해하는 것이 확인되었다.
- [0109] <실험예 12> p38 단백질 저해능
- [0110] PD98059, SB203580, SP600125 및 PDTC의 p38 저해능
- [0111] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 PD98059(20  $\mu$ M), SB203580(20  $\mu$ M), SP600125(10  $\mu$ M) 및 PDTC(10  $\mu$ M)을 각각 처리하여 24시간 동안 전배양한 후, LPS(1  $\mu$ g/mL)로 30분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-p38 (phosphorylated-p38) 및 Pan-p38의 수준을 측정하였다(도 24)(PD: PD98059, SB: SB203580, SP: SP600125를 나타냄).
- [0112] 사가크로마놀 G의 p38 저해능
- [0113] RAW 264.7 세포들( $1.0 \times 10^6$  cells/mL)을 18시간 동안 전배양하였다. 여기에 파배기모자반으로부터 분리한 사가크로마놀 G를 각각 10, 20 및 40  $\mu$ M 처리하여 24시간 동안 전배양하고, LPS (1  $\mu$ g/mL)로 30분간 자극하였다. 이뮤노블롯팅 방법을 이용하여 P-p38 (phosphorylated-p38) 및 Pan-p38의 수준을 측정하였다(도 25). 그 결과, 사가크로마놀 G가 p38의 활성을 저해하는 것이 확인되었다.

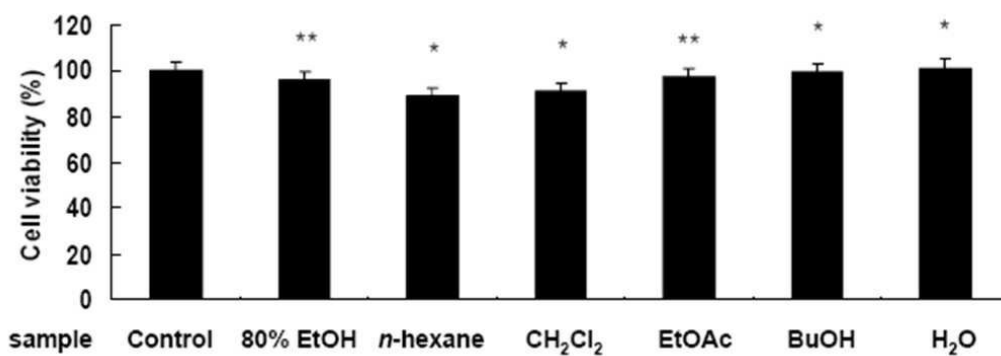


도면

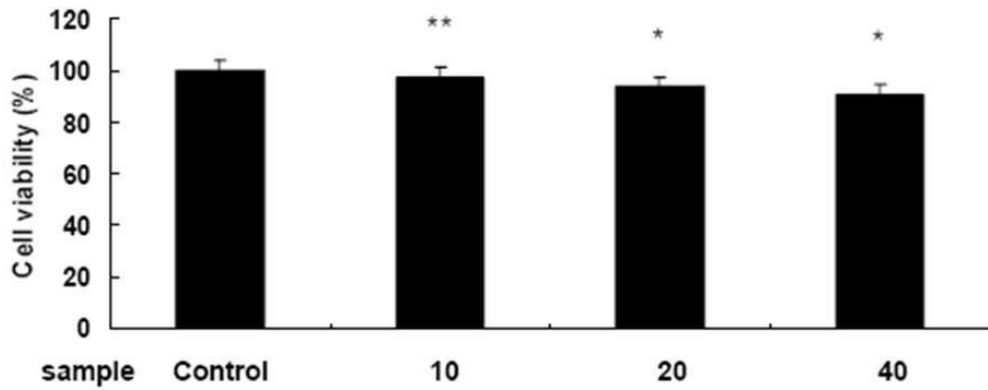
도면1



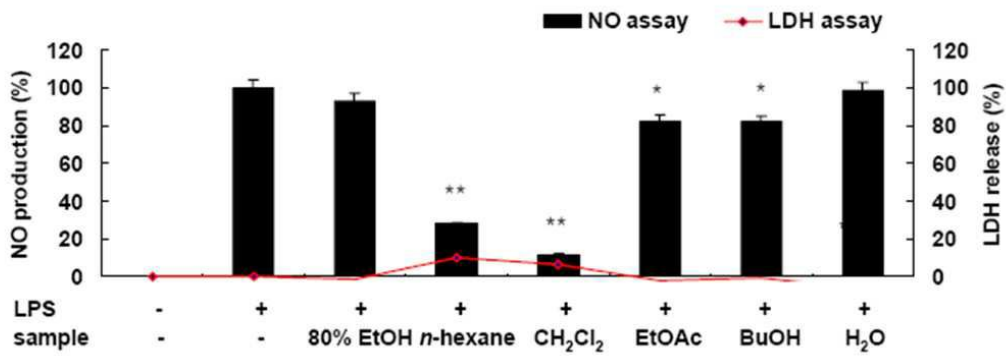
도면2



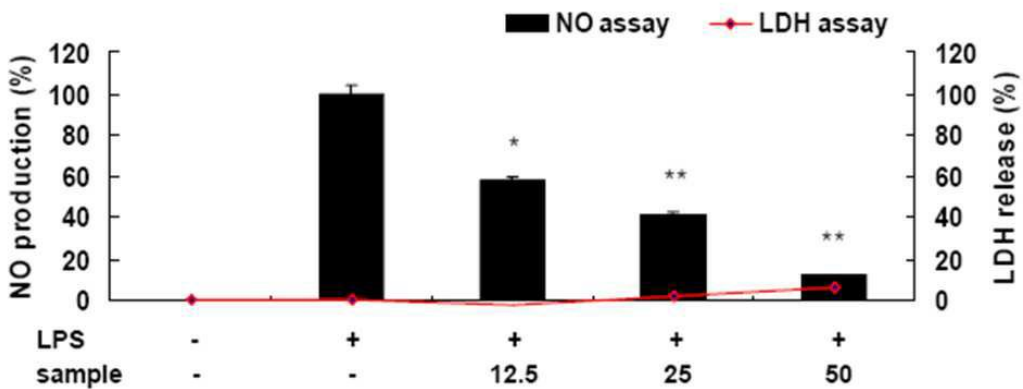
도면3



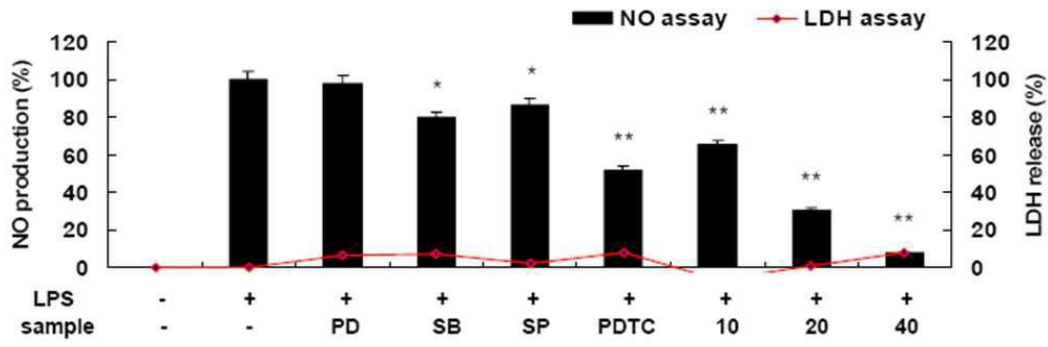
도면4



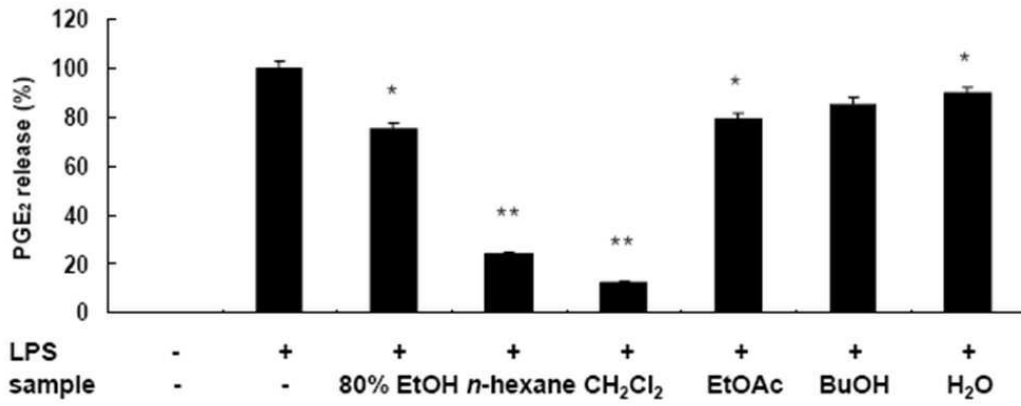
도면5



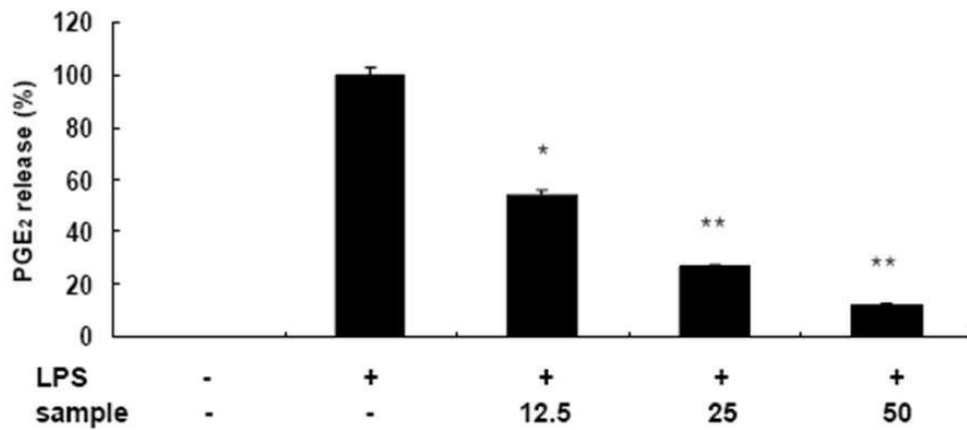
도면6



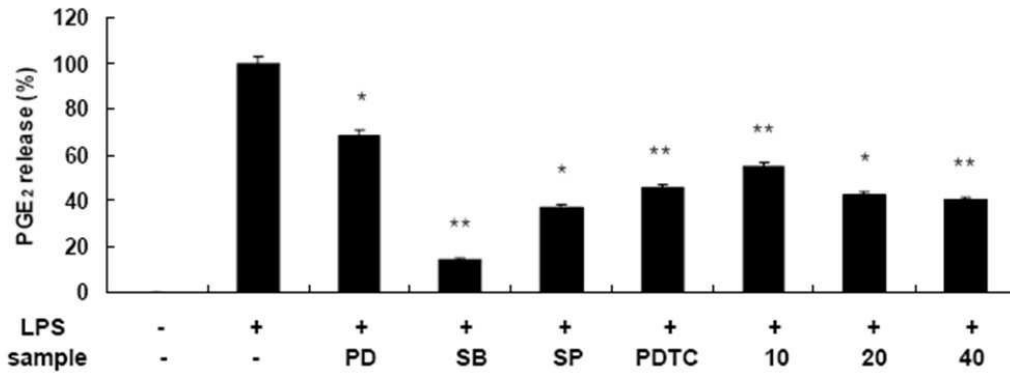
도면7



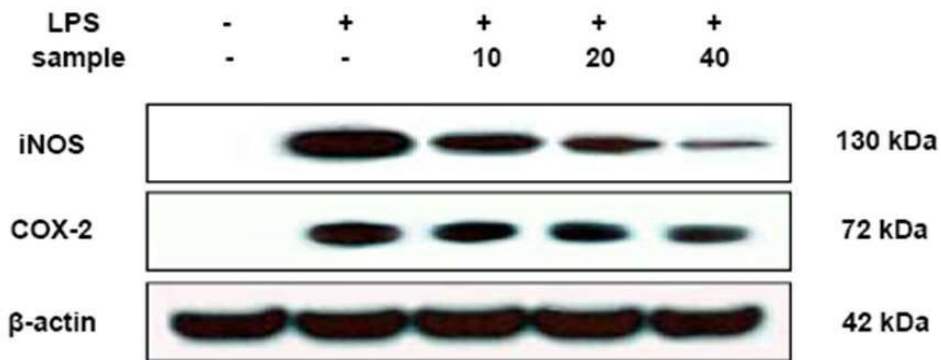
도면8



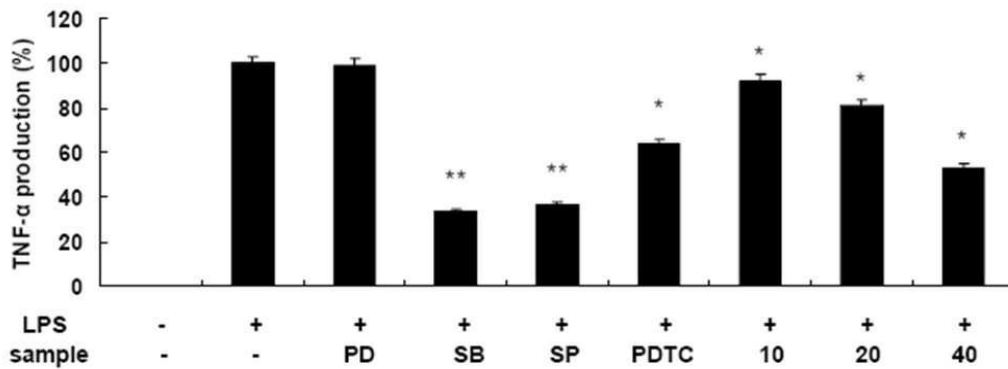
도면9



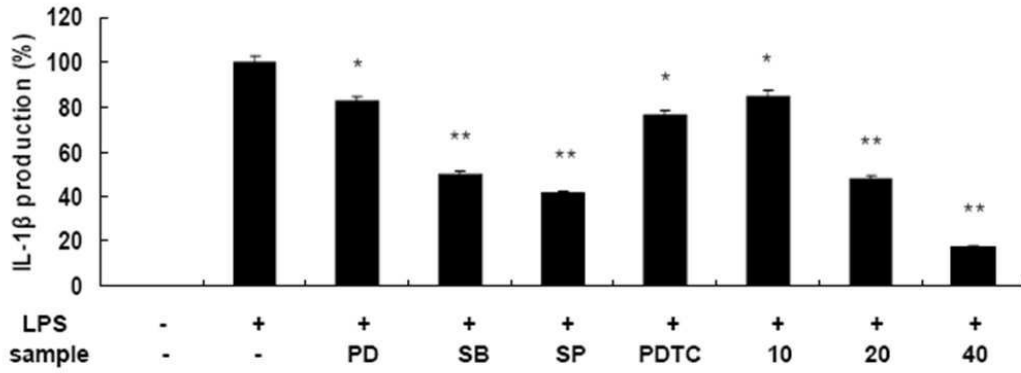
도면10



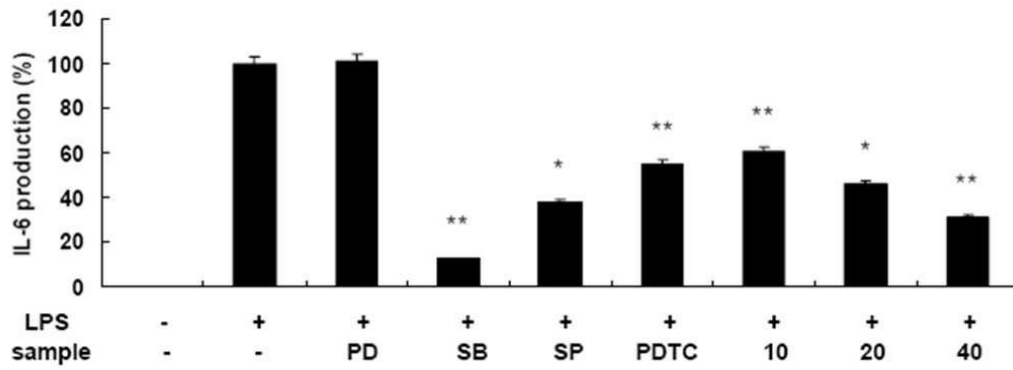
도면11



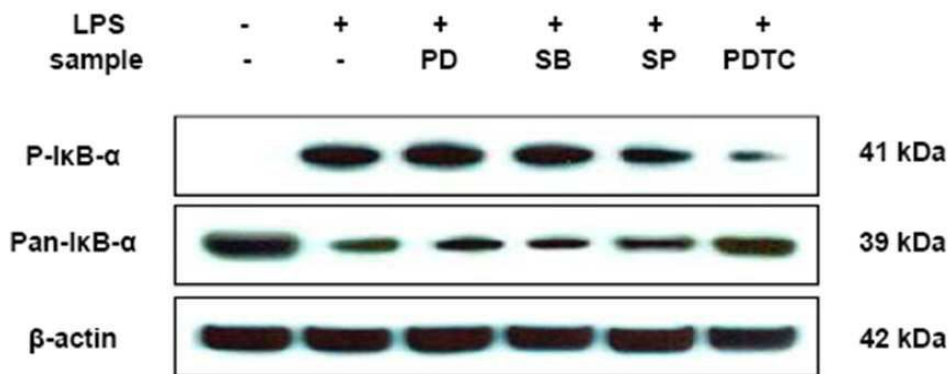
도면12



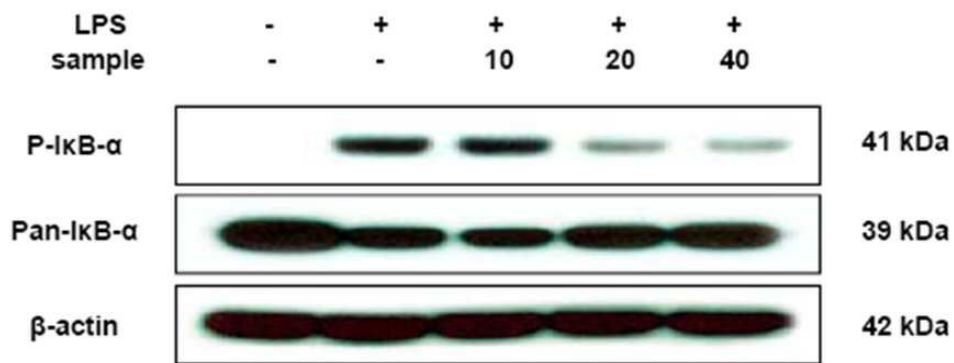
도면13



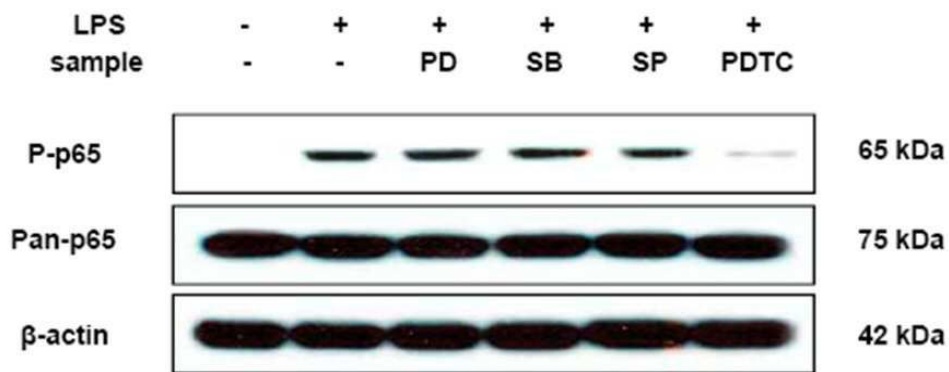
도면14



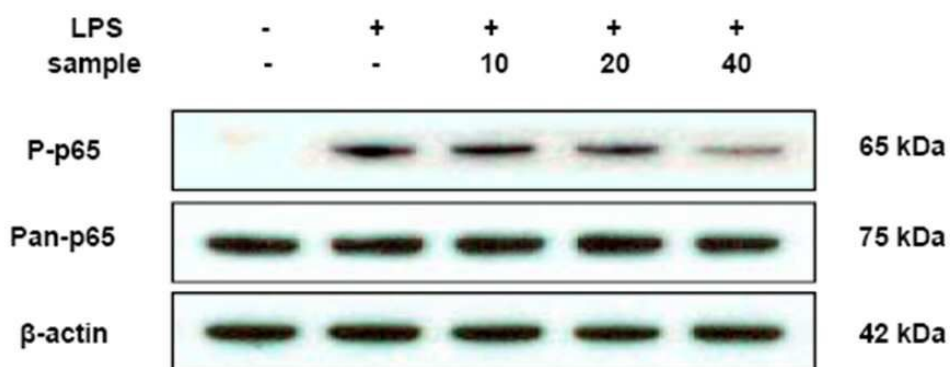
도면15



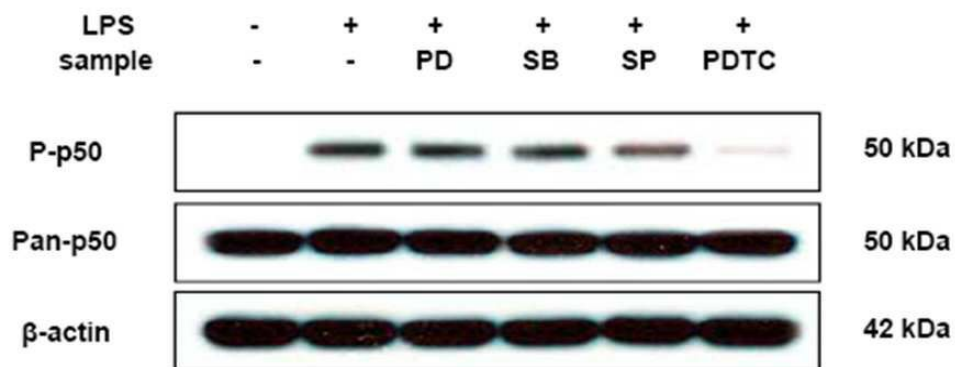
도면16



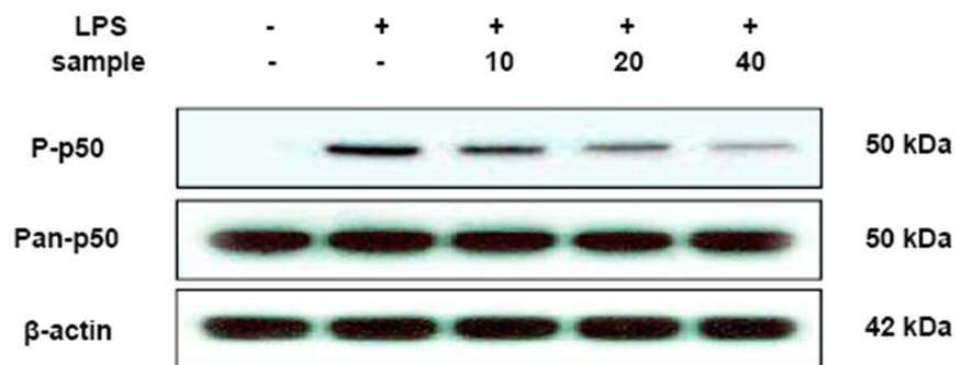
도면17



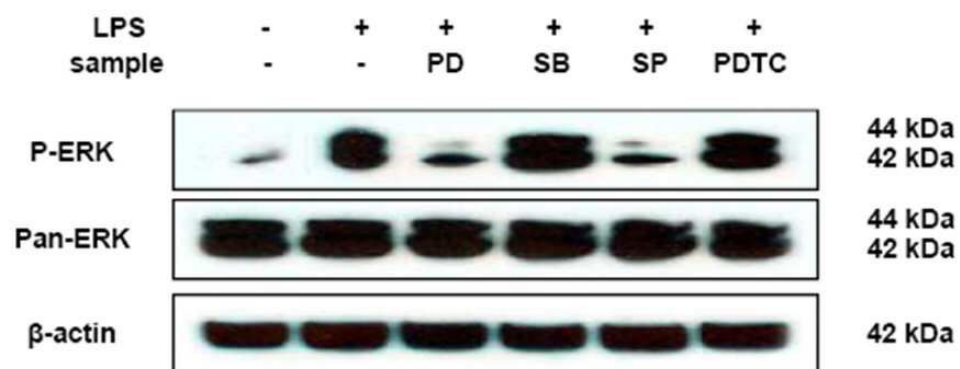
도면18



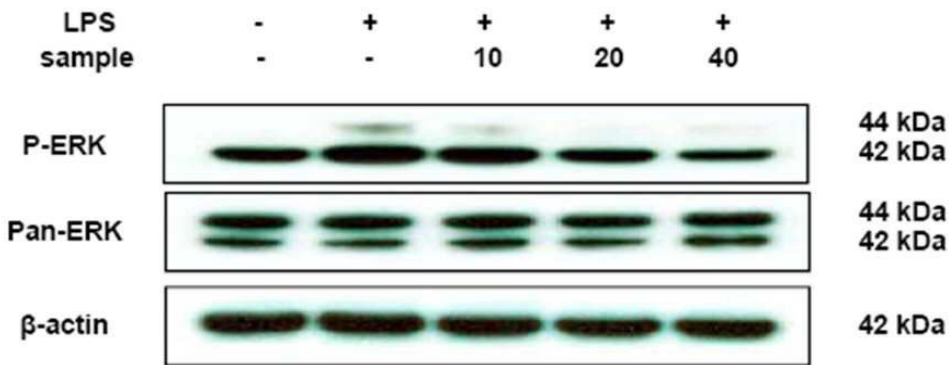
도면19



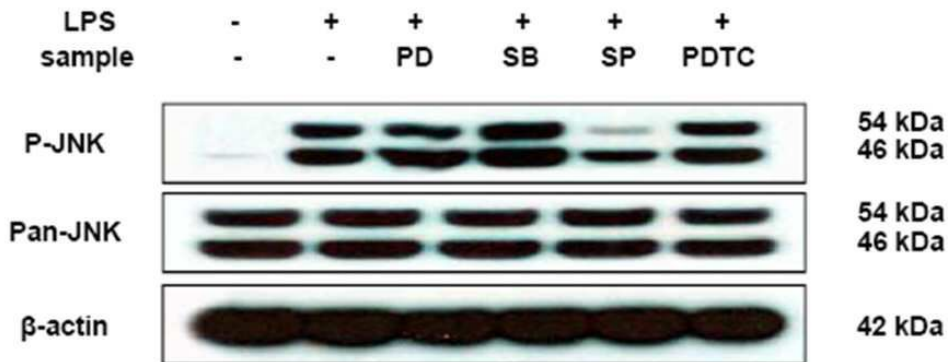
도면20



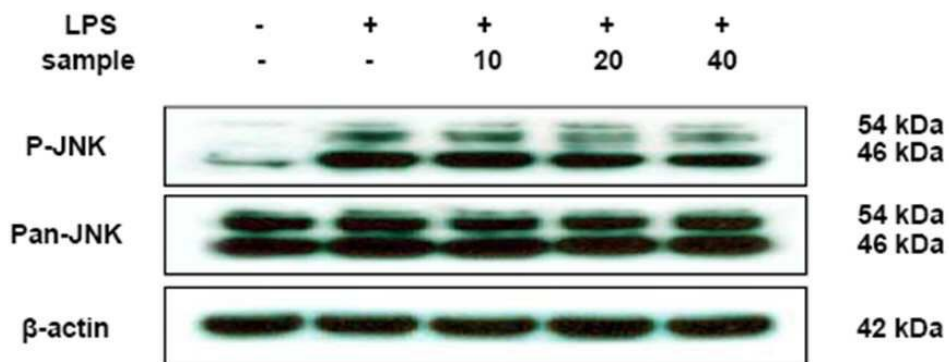
도면21



도면22

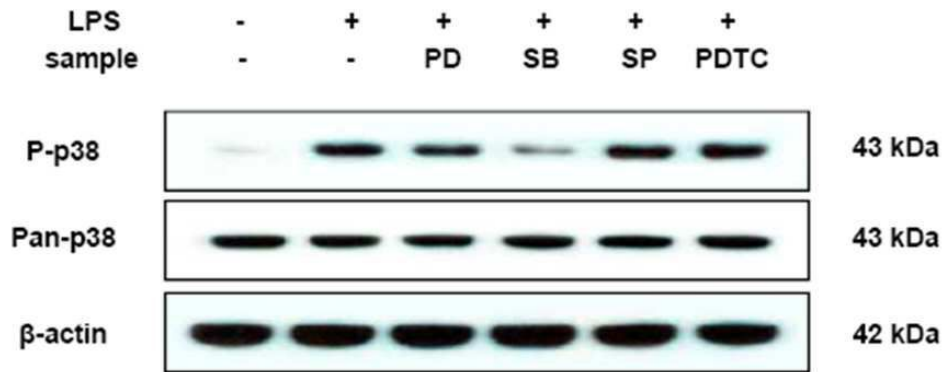


도면23





도면24



도면25

