



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104379155 B

(45)授权公告日 2018.02.23

(21)申请号 201280073440.9

崔顺玉

(22)申请日 2012.10.31

(74)专利代理机构 北京铭硕知识产权代理有限公司 11286

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104379155 A

代理人 李盛泉 孙昌浩

(43)申请公布日 2015.02.25

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

10-2012-0054488 2012.05.22 KR

A61K 36/03(2006.01)

A61P 17/00(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61K 35/56(2015.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2014.11.24

(56)对比文件

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2012/009070 2012.10.31

KR 20100025237 A, 2010.03.09,

KR 20080111787 A, 2008.12.24,

US 2010093847 A1, 2010.04.15,

(87)PCT国际申请的公布数据

W02013/176351 KO 2013.11.28

张慧等. 几种海洋生物多糖对疫苗免疫效果的影响比较.《海军医学杂志》.2008,第29卷(第4期),

(73)专利权人 庆尚大学校产学协力团

地址 韩国庆尚南道

审查员 梁永焯

(72)发明人 崔炳大 郑成勋 朴是香 金明淑

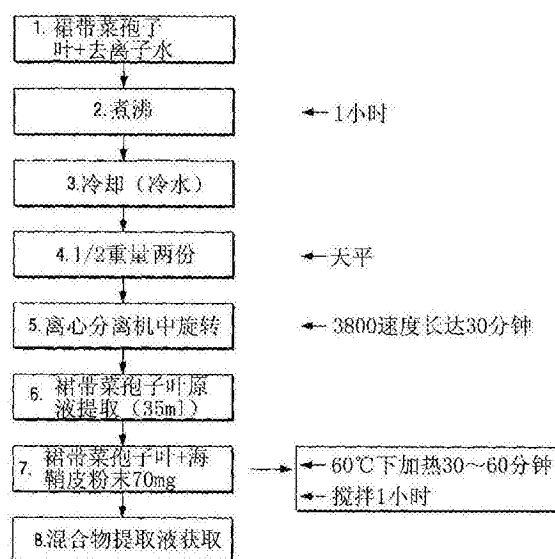
权利要求书1页 说明书18页 附图2页

(54)发明名称

包含裙带菜孢子叶和海鞘皮的混合物提取液的异位性皮肤炎改善用组合物

(57)摘要

本发明涉及包含裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液的异位性皮肤炎改善用组合物,裙带菜孢子叶提取物的抗炎效果和海鞘皮提炼物的细胞再生效果通过彼此提高作用而表现出优异的异位性皮肤炎的改善效果。本发明的组合物预计虽然不参与到抑制细胞因子的生成,然而通过抑制炎症生成的同时使皮肤再生的效果而表现出其功效。



1. 一种异位性皮肤炎改善用组合物, 包含裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液,

其中, 裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物不参与细胞因子的生成抑制而是通过炎症抑制与细胞再生的协同作用来改善异位性皮肤炎,

其中, 裙带菜孢子叶提取物包含岩藻聚糖作为有效成分, 海鞘皮提炼物包含糖胺聚糖作为有效成分, 裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的体积质量比为1:0.5至1:4。

2. 根据权利要求1所述的异位性皮肤炎改善用组合物, 其特征在于, 所述裙带菜孢子叶提取物为热水提取物。

3. 根据权利要求2所述的异位性皮肤炎改善用组合物, 其特征在于, 所述裙带菜孢子叶是机张产的裙带菜孢子叶和统营产的裙带菜孢子叶。

4. 根据权利要求1所述的异位性皮肤炎改善用组合物, 其特征在于, 所述海鞘皮提炼物为海鞘皮的干燥粉末。

5. 根据权利要求1所述的异位性皮肤炎改善用组合物, 其特征在于, 所述异位性皮肤炎改善用组合物为食品学组合物、化妆学组合物或药理学组合物。

6. 一种具有异位性皮肤炎改善功效的裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液的制造方法, 包括如下步骤:

1) 干燥并破碎裙带菜孢子叶和海鞘皮而获得粉末;

2) 将在所述1) 中获得的裙带菜孢子叶粉末投入到水中煮沸之后离心分离, 由此获得裙带菜孢子叶提取物; 以及

3) 将在所述2) 中获得的裙带菜孢子叶提取物和在所述1) 中获得的海鞘皮粉末混合之后进行加热并搅拌, 由此获得混合物提取液,

其中, 裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物不参与细胞因子的生成抑制而是通过炎症抑制与细胞再生的协同作用来改善异位性皮肤炎,

其中, 裙带菜孢子叶提取物包含岩藻聚糖作为有效成分, 海鞘皮提炼物包含糖胺聚糖作为有效成分, 裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的体积质量比为1:0.5至1:4。

7. 根据权利要求6所述的混合物提取液的制造方法, 其特征在于, 所述步骤1) 中干燥是在1天至5天的时间内在大气中进行自然干燥之后, 在80至150℃温度的干燥机中进行0.5小时至4小时的干燥。

8. 根据权利要求6所述的混合物提取液的制造方法, 其特征在于, 在所述步骤2) 中, 水是去离子水。

9. 根据权利要求6所述的混合物提取液的制造方法, 其特征在于, 在所述步骤3) 中, 在40至80℃下加热10至120分钟之后, 以300至700rpm的速度搅拌0.5至3小时。

包含裙带菜孢子叶和海鞘皮的混合物提取液的异位性皮肤炎 改善用组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及包含裙带菜孢子叶和海鞘皮(ascidian shell)的混合物提取液的异位性皮肤炎改善用组合物及所述裙带菜孢子叶和海鞘皮的混合物提取液的制造方法。

背景技术

[0002] 异位性皮肤炎除了由皮肤炎症和色素沉积、瘙痒等带来的痛苦之外,还由于因频繁的再发引起的治疗时间的增加而带来精神上的压力,对于在这种情况下生活的人而言在精神方面会显著降低生活品质,而且,错误传达的异位性皮肤炎的治疗信息导致不相信类固醇制剂,从而寻求各种民间疗法以及二次治疗法,这导致治疗费用提高而降低患者们的生活品质。

[0003] 为了治疗这种异位性皮肤炎,现有技术中提出有神经酰胺(Ceramide)、亚油酸(linoleic acid)、植物油或矿物质性油等的成分、氢化可的松(hydrocortisone)等的类固醇(steroid)制剂或对这些强化了抗菌及抗炎功能的物质、经过紫外线疗法的DNA合成抑制剂、细胞增殖抑制剂、炎症及瘙痒症抑制剂等。

[0004] 然而,所述类固醇制剂有可能引发表皮的生长抑制或副作用等相反效果,且过氧化脲等可能会引起皮肤的过度刺激,而抗组胺剂等的抗生素存在引发对菌的耐性以及光过敏等的副作用的可能性高的问题。

[0005] 虽然到目前为止没有完全了解异位性皮肤炎的准确的病理生理原因,然而有报告指出免疫学、非免疫学机制与遗传学因素一同造成影响。由诸多报告显示,异位性皮肤炎中比率最大的外因性异位性皮肤炎因与免疫球蛋白E(IgE)相关的免疫机制而发生,然而相比于针对特定过敏原(allergen)的即现型免疫反应,造成影响的是T细胞异常的迟发性免疫反应。

[0006] 而且,近来有报告显示,从B细胞诱导生成IgE的白介素(IL)-4等Th2相关细胞因子(cytokine)是异位性皮肤炎的原因。因此,异位性皮肤炎的最大问题是,因免疫功能的非正常的激活而导致炎症反应亢奋,从而导致增加细胞因子的产生。

[0007] 在最近的研究中有报告显示,当作为存在于皮肤细胞膜的蛋白质分解酶激活受体的蛋白酶激活受体-2(proteinase-activated receptor-2;PAR-2)的表达得到增加且激活时,激活细胞内的I κ B激酶(IKK)→核转录因子- κ B(nuclear factor kappa B,NF- κ B)的机制而增加炎症反应,其结果使多样的炎症物质的细胞因子(肿瘤坏死因子(TNF)- α ,IL-6,IL-10)和环氧酶(COX)-2、细胞因子-诱生型一氧化氮合酶(iNOS)、粘附分子(adhesion molecules)的表达增加,导致异位性皮肤炎恶化。

[0008] 即,PAR-2激活会引发皮肤炎症和色素沉积、瘙痒等,因此抑制PAR-2激活将会有助于异位性皮肤炎的好转。根据最近的研究报告显示,当PAR-2抑制剂在临床上使用为局部涂敷剂时,临床上可使异位性皮肤炎得到好转,因此可以看出存在将PAR-2抑制剂作为局部涂敷剂而开发的可能性。

发明内容

[0009] 技术问题

[0010] 本发明的目的在提供一种作为天然提取物而包含表现出抗炎效果及细胞再生效果的裙带菜孢子叶和海鞘皮提取物的对异位性皮肤炎的治疗及改善有用的组合物。

[0011] 技术方案

[0012] 用于实现上述目的的本发明的一个方面提供包含裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液的异位性皮肤炎改善用组合物。

[0013] 在一个例子中,所述裙带菜孢子叶提取物可以为热水提取物,且作为有效成分而可含有岩藻聚糖。优选地,可以用去离子水进行热水提取的提取物,但不限于此,只要是包含岩藻聚糖作为有效成分,也可以是通过诸如乙醇提取等的公知的多种提取法而获得的提取物。

[0014] 在一个例子中,所述裙带菜孢子叶可以从釜山市机张获得的机张产的裙带菜孢子叶或者是从庆南统营市获得的统营产的裙带菜孢子叶。在本发明的一个实施例中,使用了在庆南统营市闲山面龙草岛和釜山市机张养殖的裙带菜孢子叶。

[0015] 在一个例子中,所述海鞘皮提炼物可以是海鞘皮的干燥粉末,且可以是作为有效成分而含有糖胺聚糖的物质。然而,只要是包含糖胺聚糖作为有效成分,也可以是通过诸如乙醇提取等的公知的多种提取法而获得的提取物。

[0016] 在一个例子中,所述裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合比优选为1:0.5至1:4。

[0017] 在一个例子中,所述异位性皮肤炎改善用组合物可利用为多种用途,例如可以是食品学组合物、化妆学组合物或药理学组合物。

[0018] 本发明的另一方面提供裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液的制造方法,包括如下步骤:

[0019] 1) 干燥并破碎裙带菜孢子叶和海鞘皮而获得粉末;

[0020] 2) 将在所述1)中获得的裙带菜孢子叶粉末投入到水中煮沸之后离心分离,由此获得裙带菜孢子叶提取物;以及

[0021] 3) 将在所述2)中获得的裙带菜孢子叶提取物和在所述1)中获得的海鞘皮粉末混合之后进行加热并搅拌,由此获得混合物提取液。

[0022] 在一个例子中,所述步骤1)中干燥可以经过如下的两步骤干燥过程,即,在1天至5天的时间内在大气中进行自然干燥之后,在80至150℃温度的干燥机中进行0.5小时至4小时的干燥。

[0023] 在一个例子中,在所述步骤2)中水可以是去离子水。

[0024] 在一个例子中,在所述步骤3)中,在40至80℃下加热10至120分钟之后,以300至700rpm的速度搅拌0.5至3小时。

[0025] 发明效果

[0026] 根据本发明的异位性皮肤炎改善用组合物包含对将岩藻聚糖作为有效成分包含的裙带菜孢子叶提取物和含有糖胺聚糖的海鞘皮提炼物进行混合/提取的提取液,而且裙带菜孢子叶提取物的抗炎效果的海鞘皮提炼物的细胞再生效果通过彼此提高作用而表现

出优异异位性皮肤炎的改善效果。

[0027] 本发明的组合物预计虽然不参与到抑制细胞因子的生成,然而通过抑制炎症生成的同时使皮肤再生的效果而表现功效。而且,本发明的组合物是天然物质,因而无毒性,且具有即便长期使用也比较安全的优点。

附图说明

[0028] 图1为根据本发明的一个示例的混合物提取液的制造过程的顺序图;

[0029] 图2至图5为根据本发明的实验例1的异位性皮肤炎的治疗前/后的比较照片。

具体实施方式

[0030] 本发明中所使用的所有技术术语在没有定义为不同的情况下具有以下定义,且符合本发明的相关领域中一般的技术人员所通常理解的意思。并且,本说明书中虽然记载了优选的方法或试料,然而与此类似或等同的方法或试料也包含在本发明的范畴内。在本说明书中以参考文献的方式记载的所有刊物的内容均被引入到本发明中。

[0031] 术语“约”是指相对于参照量、标准、值、数、频数、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度变化为30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%的程度的量、标准、值、数、频数、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度。

[0032] 除非通过本说明书在上下文中另有所指,否则“包含”及“包含的”这一描述应被理解为包括所揭示的步骤或构成要素、或者步骤或构成要素的群,且不排除任意的其他步骤或构成要素、或者步骤或构成要素的群。

[0033] 以下,对本发明进行详细说明。

[0034] 异位性皮肤炎改善用组合物

[0035] 根据本发明的异位性皮肤炎改善用组合物的特征在于包含裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液。

[0036] 所述裙带菜孢子叶属于褐藻类昆布科(海带科)的裙带菜的孢子叶,其被揭示为是一种作为抗菌、抗癌等的功能性食品而开发的可能性较高的物质,最近有报告显示对关于美白以及抗氧化活性的研究进行较多,因此可以期待多样的生理活性。尤其,有报告显示,诸如岩藻聚糖(Fucoidan)的海藻多糖类的关于美白活性的研究进行较多,裙带菜孢子叶中含有约3倍于海带(Laminaria) (2.71%)的岩藻聚糖(6.65%)。

[0037] 而且,本发明人在最近的研究中揭示为如下:海鞘皮含糖胺聚糖(glycosaminoglycan)作为有效成分,这种海鞘皮提炼物没有皮肤刺激并在与皮肤褶皱改善相关的胶原酶活性阻碍效果、胶原蛋白(collagen)生成促进、细胞再生活性方面优异,从而能够有利地使用于皮肤褶皱的改善。(韩国专利申请10-2012-0045314)

[0038] 鉴于此,本发明人对于混合了具有免疫增强、抗菌、抗癌效果的裙带菜孢子叶的岩藻聚糖和具有防止老化和保湿效果的海鞘皮的糖胺聚糖的混合提取液,在体外(in vitro)、体内(in vivo)评价了生理活性,同时评价了对异位性皮肤病患者的皮肤进行涂敷之后表现出的皮肤的状态变化。

[0039] 其结果,确认到了虽然裙带菜孢子叶和海鞘皮提炼物质没有参与到抑制细胞因子的生成,然而裙带菜孢子叶提取物表现出抗炎效果而海鞘皮GAG表现出细胞再生效果。由此

认为,本发明的组合物相比于抑制细胞基因的效果,在抑制炎症的生成的同时再生皮肤的效果方面更突出。

[0040] 并且,本发明的发明人找出了裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的最佳的混合比。混合比可以为1:0.5至1:4,优选为1:1至1:2,尤其优选为约1:1。在海鞘皮提炼物相对裙带菜孢子叶提取物的比例小于0.5的情况下,抑制炎症生成的效果及皮肤再生效果较弱,而且,海鞘皮提炼物相对裙带菜孢子叶提取物的比例即便超过4也起到与4以下的情形差不多的效果,因此从经济性方面考虑,没有足够的理由提高海鞘皮的混合物提取液的比例。

[0041] 而且,本发明的组合物可多样地使用于食品学组合物、化妆学组合物或药理学组合物等,其使用范围不受特别的限制。

[0042] 所述药理学组合物可包含药理学上可允许的载体(vehicle)、稀释剂(diluent)、赋形剂(excipient)或者这些的组合而制造。

[0043] 所述载体定义为使化合物向细胞或组织内的附加变得容易的化合物。作为所述药理学上允许的载体,例如包含离子交换树脂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(例如,人血清白蛋白)、缓冲物质(例如,各种磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的部分的甘油酯混合物)、水、盐或者电解质(例如,硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠和锌的盐)、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素类基质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙二醇和羊毛脂等,但并不限于此。

[0044] 而且,所述载体应当能够与本发明的有效成分共存,其可使用生理盐水,无菌水,林格氏液,缓冲生理盐水,右旋糖(dextrose)溶液,麦芽糊精溶液,甘油,乙醇及混合这些成分中的一种成分以上而使用,根据需要可添加抗氧化剂、缓冲液、抑菌剂等其他通常的添加剂。

[0045] 所述稀释剂定义为能够稳定化对象化合物的生物学活性形态的同时在溶解化合物的水中被稀释的化合物。溶解于缓冲溶液的盐在本领域中被使用为稀释剂。通常所适用的缓冲溶液是磷酸盐缓冲生理盐水,这是因为其模仿着人体溶液的盐状态。缓冲盐在低浓度下可以控制溶液的pH,因此难以遇到缓冲稀释剂使化合物的生物学活性改变的情况。

[0046] 所述赋形剂是例如包含淀粉、碳酸钙、蔗糖、以及乳糖、明胶(gelatine)等的固态制剂用赋形剂、湿润剂、甜味剂、芳香剂和保鲜剂等的概念。

[0047] 根据需要,所述药理学组合物是从药理学上可允许的成分,还可进一步包含润湿剂(wetting agent),缓冲剂,助悬剂,润滑剂(lubrication agent),乳化剂,崩解剂,吸收剂,保鲜剂,表面活性剂,着色剂,增香剂,增甜剂(flavorant)、甜味剂(sweetener)以及追加的治疗剂中选择的一种以上的添加剂。

[0048] 而且,本发明的药理学组合物可通过口服、经皮给药、静脉注射、局部给药(topically)、吸入或直肠而传递到测验对象,传递可以是基于持续放泄(sustained release)而进行的。所述药理学组合物可通过由胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂、糖浆剂、注射液、乳膏、软膏、亲水性软膏、吸入性流体(inhalable fluids)以及栓剂组成的群中所选择的方法而给药。

[0049] 根据本发明的药理学组合物可通过本领域技术人员所知晓的所有方法而给药。例如,本发明的化合物可通过口服、肠胃外给药、吸入喷雾、局部给药、直肠给药、鼻腔、颊(口腔)、阴道、或植入式药盒(implanted reservoir)而给药。在此,所使用的术语“肠胃外”包

括皮下、腹膜内、囊内、口服片剂、静脉内、肌内、动脉内、髓内、鞘内、心内、皮内、皮下、腹腔内、舌下或注射技术。正确的给药方法依赖于包括患者的年龄、体重、总体健康状态 (general health)、性别以及饮食在内的多种因素而变更,对于本领域技术人员而言,特定的给药步骤通过通常的方法来确定。

[0050] 本发明的药理学组合物可通过一次量、多个离散剂量 (multiple discrete doses) 或连续注射而给药。泵方法 (尤其皮下泵方法) 对于连续注射是有利的。

[0051] 根据本发明的药理学组合物的给药单位例如包括个别给药量的1、2、3或4倍或者包括1/2、1/3或1/4倍。个别给药量包括有效药物给药一次的量,这通常相当于一天给药量的全部、1/2、1/3、1/4倍。裙带菜孢子叶的提取物和海鞘皮的提炼物的混合物提取液的有效用量依赖于浓度,优选为0.1mg至1,000mg/kg,更优选为0.1至500mg/kg,一天可给药1-6次。因此,成人体重每1kg的给药范围为0.1至6,000mg/天。

[0052] 任意的给药量标准可依赖于包括所使用的特定化合物的活性及可能的毒性;患者的年龄、体重/总体健康状态 (general health)、性别以及饮食;给药时间;排出速度;药物组合;疾病的严重性;以及给药的形态在内的多种因素而变更。

[0053] 通常来说,实验管内的用量-效果结果针对用于给患者用药的适宜的给药量提供有用的指导路线 (guide-line)。而且,以动物为对象的研究是可借鉴的。为了确定适宜的给药量标准而需要考虑的事项对于本领域来说是公知的,这是一般医生所具备的技术。

[0054] 为使时间变得有规律且实现药物传递的连续而公知的所有的给药疗法,在本发明的方法中对于有效果的治疗来说是必需的,其可以被使用且可重新体验。所述疗法可包括与预处理 (pretreatment) 和/或追加的治疗剂 (多个治疗剂) 的复合给药。

[0055] 本发明的药理学组合物的给药量根据患者的体重、年龄、性别、健康状态、饮食、给药时间、给药方法、排泄率以及疾病的重症度等而其范围具有多样性,然而对于本技术领域的通常的专家而言可容易地确定。

[0056] 所述食品组合物优选为是可使裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液表现出抗炎活性的健康及功能性食品组合物。在本说明书中“健康及功能性食品”是指对一般的食品添加本发明的提取液而提高了一般食品的功能的食品,其可通过将提取液添加到一般的食品中,或者利用胶囊化、粉末化、悬浊液等而制造。当摄取该食品时,从健康上带来特定效果,且与一般药品不同,由于是将食品作为了原料,因而具有不会存在长期服用药品时可能发生的副作用等的优点。

[0057] 当将本发明的提取液使用为食品添加物时,可直接添加所述提取液,或者可以与对异位性皮肤炎的治疗表现活性的其他食品或食品成分一同使用。而且可根据除此之外的通常的方法而适宜地使用。有效成分的混合量可根据其使用目的 (预防、健康或治疗性处置) 而适宜地确定。一般来说,在制造食品或饮料时,相对于原料的整体重量添加0.0001至30重量%的量,优选为添加0.0001至10重量%的量、更优选为添加0.1至5重量%的量。但是,如果是以健康和卫生为目的或者以健康调节为目的的长时间的摄取,则所述量可调节为所述范围以下。并且,在本发明的健康食品被利用为所述药理学组合物的情况下,优选为含有所测定的毒性范围内的提取液。

[0058] 所述食品的种类没有特别的限制,例如有肉类、香肠、面包、巧克力、糖果类、零食类、饼干类、比萨饼、面条、其他面类、口香糖类、奶粉、鲜食、生食、乳酸菌发酵乳、包括冰淇

淋类的乳制品、各种汤、饮料、茶、饮品(drink)、酒精饮料和维生素复合物等。例如、本发明花青素-多糖类复合物可以以预定浓度添加到诸如牛奶或酸奶的饮料、食品等而使用。

[0059] 本发明的食品组合物除了所述有效成分之外,作为添加成分可含有各种香味剂或天然碳水化合物等,除此之外还可含有营养剂、维生素、电解质、着色剂、果胶酸及其盐、海藻酸及其盐、有机酸、保护性胶体增稠剂、PH调节剂、稳定剂、防腐剂、甘油、乙醇、使用于碳酸饮料的碳氧化剂等。这种添加剂成分相对于组合物100重量份可添加0.0001至10重量份。

[0060] 在所述化妆学组合物中,可直接添加本发明的提取液或将本发明的提取液与其他化妆品成分一起使用,且可通过通常的方法而适宜地使用。有效成分的混合量可根据其使用目的而适宜地确定。一般来说,在制造化妆品时,本发明的提取液相对于整体重量可添加为0.0001至10重量%的量,优选添加为0.1至5重量%的量。化妆品可适用于护肤水、乳液、面霜、面膜、彩妆品等,但并不限于此。

[0061] 裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物的混合物提取液制造方法

[0062] 根据本发明的对异位性皮肤炎具有改善功效的裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮干燥粉末的混合物提取液可通过如下工艺制造。

[0063] 1) 干燥并破碎裙带菜孢子叶和海鞘皮而获得粉末的步骤;

[0064] 2) 将在上述1)中获得的裙带菜孢子叶粉末投入到水中煮沸之后离心分离,由此获得裙带菜孢子叶提取物的步骤;以及

[0065] 3) 将在上述2)中获得的裙带菜孢子叶提取物和在上述1)中获得的海鞘皮粉末混合之后进行加热并搅拌,由此获得混合物提取液的步骤。

[0066] 在上述步骤1)中,裙带菜孢子叶和海鞘皮可以是自然产的或是养殖的,且可从韩国国内或国外获取,并不特别限定。所述干燥进行为如下:1天至5天的时间内在大气中进行自然干燥之后,在80至150℃温度的干燥机中进行0.5小时至4小时的干燥。

[0067] 在上述步骤2)中,溶剂使用水,具体来讲以裙带菜孢子叶的4倍至15倍的含量使用精制水或去离子水,并在90至150℃下进行煮沸1至4小时。然后进行冷却,通过离心分离去除沉淀物,获得水裙带菜孢子叶原液提取物。

[0068] 在上述步骤3)中,将裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮粉末在40至80℃下加热10至120分钟之后,以300至700rpm的速度搅拌0.5至3小时,由此获得混合提取液。此时,裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮粉末的混合比为0.5:1至4:1。

[0069] 如上所述,裙带菜孢子叶提取液和海鞘皮干燥粉末的混合物提取液中,裙带菜孢子叶提取液内的岩藻聚糖成分表现出抗炎功效,海鞘皮提取物内的糖胺聚糖成分可发挥胶原酶活性阻碍效果、促进胶原蛋白(collagen)的生成、使细胞再生活性化的作用。

[0070] 因此,含有所述混合提取液的本发明的组合物可有利地使用于异位性皮肤炎的治疗及改善。

[0071] 以下,基于下面的实施例进一步详细说明本发明。其中,下面的实施例是用于例示本发明的,并不是用来限定本发明的。

[0072] <实施例1>

[0073] 1-1. 裙带菜孢子叶和海鞘皮的粉末的制造步骤

[0074] 本实验中使用的裙带菜孢子叶使用了在庆南统营市闲山面龙草岛(A-1)和釜山市机张郡(A-2)养殖的裙带菜孢子叶。并且,海鞘皮是从统营市水陆村回收之后用水进行了清

洗。在大气中自然干燥了3天之后,在干燥机中以107℃干燥了2小时。干燥之后经过1、2次破碎过程而得到了裙带菜孢子叶和海鞘皮粉末,并将此作为了试料。

[0075] 1-2. 裙带菜孢子叶和海鞘粉末混合提取物获取步骤

[0076] 如图1的顺序图中所示,将30g的裙带菜孢子叶粉末试料均匀地混合到180ml的去离子水之后,在燃气炉中煮沸(boiling)1小时,然后用冷水将其冷却。通过在天平上称重而分成等质量的两等份之后,在离心分离机上以3,800速度(3,800speed)旋转30分钟。当获得原液提取物35ml时,在盐度测定仪上以56%、Bix 7进行测定。

[0077] 测量出35ml的裙带菜孢子叶提取物和70mg的海鞘粉末之后,在60℃下加热30~60分钟。然后,以500rpm的速度搅拌(stirring)1小时,据此获得混合物提取液。

[0078] <实验例1>异位性皮肤炎临床效果

[0079] 本研究的临床实验是通过选定平时从异位性皮肤炎和生活中受到心理压力的临床实验对象20名而进行了临床实验。经过4周的临床实验过程之后,综合各个临床实验者自己感觉的异位性皮肤炎的状态和本研究人员的观察而汇总了异位性皮肤炎的变化、皮肤状态,并表示在了下面的表1中。图2至图5为将使用裙带菜孢子叶和海鞘皮粉末混合提取液2周之后表现出的结果进行比较的照片。

[0080] 根据研究人员的观察和各个临床实验者自己感觉的异位性皮肤炎的临床实验结果,混合提取物对年龄以及其疾病的各种形态表现出了积极地功效。临床实验者中53岁的男子借助混合提取物的使用方法的3天之后开始瘙痒得到减少且红色斑点几乎消失,只有些许的抓挠痕迹,3周之后几乎完全治愈。16名的临床实验者在使用之后,1周的时候开始瘙痒显著减少,2周之后减少的为1名,3周之后减少的为1名。整个临床实验者中有7名是在4周之后接近完全治愈的水准。

[0081] 通过这个结果可以知道这样一个事实,即,裙带菜孢子叶和海鞘皮的混合提取液即便在4周的较短的期间内对异位性皮肤炎的改善起到的作用也比较大。而且,观察临床实验者的异位性皮肤炎得到改善的过程可知,即便使用相同的混合提取液,治疗的过程也表现为互不相同,因而临床试验者所具备的各个不同的因素和特性以及体质也会对相同的疗法有影响。

[0082] 表1

[0083] [表1]

[0084] <表1>异位性皮肤炎的调查表

[0085]

编号	性别	年龄	使用前	4周之后
1	女	8	脸部整体红色斑点多,发热,瘙痒症严重	瘙痒症几乎消失,红色斑印也消失,完全治愈
2	男	8	脸部(上眼皮之上、额头、嘴部周围、鼻子)和身体经常瘙痒	在涂抹提取液的过程中好转,但是之后再次出现
3	女	8	稍微瘙痒	瘙痒症消失,皮肤也变干净

[0086]

4	女	8	嘴唇周围溃烂且瘙痒	涂抹到有分泌物(discharge)的部位时,伤口愈合而结痂,不瘙痒,好转很多。
5	男	10	稍微严重,但服用医院给的药之后好转很多	涂抹量较多时,有1~2处鼓起,涂抹两较少时,效果微小
6	女	11	稍微瘙痒,皮肤色改变	具有瘙痒平缓的效果
7	女	11	瘙痒症严重	瘙痒变少,斑点变浅
8	男	11	仅臂弯处偶尔瘙痒	瘙痒减少,伤口也变好转
9	女	11	臂弯处依然瘙痒	初次涂抹时稍微瘙痒,但持续涂抹之后发现瘙痒症好转
10	女	12	胳膊肘、膝弯处抓挠痕迹严重,改变了皮肤色	皮肤色变浅,大大恢复到原来的颜色,且变得干净
11	女	12	嘴唇结痂,胳膊肘、膝弯处等有红色斑点,瘙痒症严重	嘴唇结痂的大小大幅变小,瘙痒症得到缓和
12	女	13	皮肤干燥,有轻微的瘙痒症	如果皮肤瘙痒时涂抹,则红扑扑的部分消失,稍微变干净
13	女	13	轻微瘙痒	如果瘙痒时涂抹,则瘙痒减轻
14	男	19	症状较轻	到1周为止,差别不是很大
15	男	21	破皮,瘙痒且皮肤稍微红肿	瘙痒症得到缓和
16	男	21	干燥且瘙痒	治疗剂非常黏糊,但是瘙痒症减轻很多,红色的皮肤减退
17	女	24	脸部瘙痒且发红发烫	2周之后瘙痒得到减少,第4周开始发红发烫的情况消失
18	男	50	皮肤干燥,背部瘙痒严重	1周后开始,在瘙痒时涂抹的话,瘙痒症消失
19	男	53	背部和嘎鸡窝之间红色斑点较多,皮肤干燥	3天之后瘙痒症消失,红色斑点完全消退
20	女	74	瘙痒症严重,臂上有抓挠痕迹和痂皮	痂皮的大小变小,且瘙痒减轻

[0087] <实验例2>混合提取物提炼实验;抗炎功效的测定

[0088] (1) 细胞毒性测定

[0089] 实验中使用的细胞株均从韩国细胞株银行(KCLB,首尔,韩国)购入而使用。将各个细胞株在10cm孔板(well plate)中培养,并每1周传代了2~3次,培养基使用了含有10%FBS培养基的生长培养基。细胞株在调节成湿度95%、5%CO₂、36.5℃的培养器中进行了培养,培养基每2天更换了1次。

[0090] 岩藻聚糖提取物的细胞毒性用RAW264.7细胞(cell)进行了确认。即,用含有10% FBS的达尔伯克(氏)改良伊格尔(氏)培养基(DMEM:Dulbecco's modified Eagle's Medium)培养了细胞培养用烧瓶中培养的RAW264.7细胞。以 1×10^4 细胞/孔(cells/well)的浓度分别注入到96孔板,并在调节为35℃、湿度95%、CO₂ 5%的CO₂培养器上培养了24小时。在新的培养基上将试料溶解成使其最终浓度变为0.1μg/mL、1μg/mL、10μg/mL、100μg/mL以及200μg/mL,并将该试料对细胞株进行处理之后培养了24小时。为了测定细胞株的存活率,利用MTS试剂并使用酶标仪(microplate reader) (Molecular Devices, VersaMax ELISA酶标仪,美国)在490nm下测定了吸光度。细胞的存活率由与没有处理试料的对照组进行比对的试料处理组的吸光度来进行了表示。

[0091] 将0.1μg/mL、1μg/mL、10μg/mL、100μg/mL以及200μg/mL的海鞘皮GAG和裙带菜孢子叶提取物添加到RAW264.7细胞系(cell line)之后,测定了是否对细胞表现出毒性。测定结果,在上述的浓度区间内,没有表现出对于细胞的毒性。

[0092] 表2

[0093] [表2]

[0094] <表2>样品处置24小时后RAW264.7细胞株的细胞毒性结果

[0095]

样品浓度 (μg/mL)		细胞存活率 (%)
对照		100.0± 4.0
GAG	0.1	102.3± 2.8
	1	101.2± 4.4
	10	107.1± 2.9
	100	109.3± 2.7
	200	100.2± 2.3
GAG: TSM (1:1)	0.1	96.6± 2.8
	1	99.4± 2.5
	10	105.4± 2.5
	100	104.0± 2.0

[0096]

	200	102.3± 3.5
TF	0.1	99.9± 4.5
	1	91.7± 8.4
	10	107.7± 1.5
	100	109.5± 2.4
	200	109.2± 4.4
GF	0.1	102.6± 3.4
	1	107.1± 4.4
	10	104.6± 2.4
	100	110.2± 2.5
	200	109.5± 2.5

[0097] GAG:糖胺聚糖(glycosaminoglycans),TSM:统营裙带菜孢子叶提取物(Tongyeong seamustard extract),TF:统营裙带菜孢子岩藻聚糖(Tongyeong seamustard fucoidan):GF:机张裙带菜孢子叶岩藻聚糖(Gijang seamustard fucoidan)。

[0098] (2) 一氧化氮(NO:Nitric oxide)生成量的测定

[0099] 将RAW264.7细胞株分别注入到96孔(well)之后,培养至细胞覆盖底面70~80%左右。作为对照组使用了试料未处理组,作为阳性对照组将脂多糖(LPS:lipopolysaccharide)处理成1μg/mL的浓度。在实验组中,与阳性对照组相同浓度的LPS一同,将试料的最终浓度处理为变成0.01μg/mL、0.1μg/mL、1μg/mL、10μg/mL、100μg/mL以及200μg/mL,并用试料处理之后培养了24小时。NO生成量用格里斯(Griess)试剂进行了测定。格里斯试剂是通过将5%的硝酸溶液中添加1%的磺胺(sulfanilamide)并混合0.1%的盐酸萘乙二胺(naphthylethylene diamine dihydrochloride)而制备。在96孔板中取50μl的之前培养的细胞的上清液,并对其添加格里斯试剂50μl之后在室温下反应了15分钟,然后利用酶标仪(microplate reader)(Molecular Devices,VersaMax ELISA酶标仪,美国)在540nm下测定了吸光度。NO生成量的变化由相对于没有处理试料的对照组的NO生成量的试料处理组的NO生成量进行了表示。

[0100] 一氧化氮(NO:Nitric oxide)是一种从由于如LPS那样的刺激物质而被活性化了的巨噬细胞中分泌的物质,已知该物质对生物体内多种免疫反应起到媒介的作用。对于海鞘皮GAG和裙带菜孢子叶提取物的抗炎功效,将巨噬细胞株试料和脂多糖(LPS)一同处理之后用LPS诱导炎症,然后用RAW264.7细胞系(cell line)测定了生成量的变化。各个提取物处理为0.1μg/mL、1μg/mL、10μg/mL、100μg/mL以及200μg/mL的浓度,并与对照组进行了比较(表3)。LPS是诱导NO的生成和炎症性细胞因子的生成的物质,其被使用为炎症诱发因子。

[0101] 与没有处理LPS及试料的对照组的NO生成量进行比较的结果,对于统营及机张的裙带菜孢子叶中获得的提取物(TSM、GSM)的情形而言,在200μg/mL浓度下NO生成阻碍效果分别表现为61.3%、68.0%。而且,在将海鞘皮GAG和煮沸统营裙带菜孢子叶之后的物质

(TSM)以1:1混合的200 μ g/mL区中也确认到了抗炎功效。

[0102] 然而,对于从海鞘皮中提取、提炼的GAG、TF(统营裙带菜孢子叶中获得的岩藻聚糖提取物)以及GF(机张裙带菜孢子叶中获得的岩藻聚糖提取物)的情形而言,表现出与1 μ g/mL的LPS几乎差不多的NO生成阻碍效果。一般来说,NO生成起到杀菌或抑制肿瘤的作用,然而过多的生成会导致组织损伤、基因变异以及神经损伤。

[0103] (3) PGE2生成量测定

[0104] 对于前列腺素E2(PGE2)的测定而言,从Cayman化学公司(Cayman Chemical Company)(安阿伯市,密歇根州,美国)购买而使用了前列腺素E2酶免疫检测试剂盒(Prostaglandin E2EIA Kit),测定方法根据制造公司的分析方法进行了定量分析。即,对于RAW264.7细胞,将海藻提取物与0.1%的LPS一起以1 μ g/mL、10 μ g/mL、100 μ g/mL以及200 μ g/mL的浓度进行24小时的预处理之后,将细胞培养上清液使用于PGE2的测定中,在此,用羊抗小鼠(goat anti-mouse)涂敷的96孔板中每一孔分别装入(loading)了50 μ L的培养液。其中,每一孔中添加50 μ L的一级抗体溶液(primary antibody solution)和50 μ L的PGE2conjugate,并在4 $^{\circ}$ C下反应18小时,然后用洗涤缓冲液清洗5次之后,对每个孔用200 μ L的Ellman's试剂(reagent)进行处理并搅拌60~90分钟而使其反应,然后在405~420nm下测定了吸光度。

[0105] 根据环氧酶(COX)-2而生成的PGE2是伴随炎症反应引起的红斑、浮肿以及痛症等症状的原因。不仅如此,PGE2在包含炎症性疾病的多种生物反应中对细胞分裂或增殖产生影响,从而参与到各种疾病的诱发和发病之中。因此,为了评价岩藻聚糖标准品和裙带菜孢子叶岩藻聚糖提取物对PGE2的生成有何种影响,测定了用LPS诱导的RAW264.7细胞中的炎症生成因子的PGE2生成抑制效果,其结果(表4),使用为对照组的岩藻聚糖标准品随着浓度从10、100 μ g/mL增加为71.7%、38.0%,表现为抑制了PGE2生成。裙煮沸带菜孢子叶而获得的物质的试料的GSM和TSM,在1 μ g/mL浓度下抑制效果较小,然而在100 μ g/mL及200 μ g/mL浓度下分别表现为77.9%、77.9%及49.1%、56.9%,从而可确认到依赖于浓度来抑制PGE2。另外,已知晓在细胞内生成的过量的NO促进COX-2活性而诱导PG等的合成,从而使炎症反应变得严重。

[0106] 表3

[0107] [表3]

[0108] <表3>样品处理24小时之后RAW264.7细胞株的NO生成量

[0109]

样品浓度（μg/mL）			NO 生成（%）
对照+LPS（1μg/mL）			100.0±3.5
GAG	+LPS （1μg/mL）	0.1	103.0±4.8
		1	106.7±4.6
		10	106.6±2.6
		100	108.7±4.8
		200	99.9±8.7
GAG: TSM（1:1）		0.1	119.6±3.0
		1	122.3±1.3
		10	122.9±0.9
		100	96.2±3.5
		200	76.5±4.3
TF		0.1	113.1±1.6
		1	113.1±1.7
		10	104.3±8.0
		100	102.0±3.7
		200	135.3±1.3

[0110]

GF		0.1	120.9±1.9
		1	118.4±2.3
		10	120.9±2.1
		100	116.0±0.5
		200	139.1±9.5
GSM		0.1	119.7±6.0
		1	116.0±3.7
		10	118.6±3.1
		100	107.1±1.4
		200	68.0±3.1
TSM		0.1	116.4±5.5
		1	113.5±2.6
		10	112.3±6.1
		100	92.0±5.8
		200	61.3±6.2

[0111] LPS:脂多糖 (lipopolysaccharides) ,GAG:糖胺聚糖,TF:统营裙带菜孢子岩藻聚糖,GF:机张裙带菜孢子叶岩藻聚糖,GSM:机张裙带菜孢子叶提取物,TSM:统营裙带菜孢子叶提取物。

[0112] 表4

[0113] [表4]

[0114] <表4>RAW264.7细胞中因PGE2引起的岩藻聚糖和提取物的阻碍活性

[0115]

样品浓度 (μg/mL)		PGE2 生成 (%)	
对照 + LPS (1 μg/mL)		100.0± 9.2	
岩藻聚糖	+LPS (1μg/mL)	10	71.7± 11.1
		100	38.0± 10.4
GSM	+LPS (1μg/mL)	1	93.6± 15.4
		10	98.5± 6.3
		100	77.9± 14.6
		200	49.1± 13.3

[0116]

TSM	1	90.1± 9.4
	10	97.9± 15.7
	100	77.9± 5.7
	200	56.9± 7.9

[0117] LPS:脂多糖,GSM:机张裙带菜孢子叶提取物,TSM:统营裙带菜孢子叶提取物。

[0118] <实验例3>异位治愈功效实验

[0119] (1) HaCaT细胞培养及试料提取

[0120] 细胞增殖能用作人体表皮细胞株的HaCaT细胞进行了确认。即,对于细胞培养用烧瓶中培养的HaCaT细胞株,利用10ml移液管从烧瓶中取的细胞之后进行了传代,细胞用含有10%的FBS的DMEM培养基进行了培养。将HaCaT细胞以 1×10^4 细胞/孔(cells/well)的浓度分别注入到96孔板,并在调节为35℃、湿度95%、CO₂5%的CO₂培养器上培养了24小时。在新的培养基上将试料溶解成使其最终浓度变为1μg/mL、10μg/mL、100μg/mL以及200μg/mL,并将该试料对细胞株进行处理之后培养了24小时。为了测定细胞株的存活率,利用MTS试剂并使用酶标仪(microplate reader) (Molecular Devices,VersaMax ELISA酶标仪,美国)在490nm下测定了吸光度。细胞的存活率由与没有处理试料的对照组进行比对的试料处理组的吸光度进行了表示。

[0121] 将作为角质形成细胞的HaCaT细胞在包含10%FBS的DMEM培养基中培养之后,以每个孔为500μL分别注入到12孔板,然后培养至细胞覆盖底面70~80%左右。在新的培养基上将试料溶解成使其最终浓度变为0.1μg/mL、1μg/mL、10μg/mL、100μg/mL以及200μg/mL,并将该试料对细胞株进行处理之后培养了8小时,然后更换为了重碳酸盐(KRB:Krebs-Ringer bicarbonate)缓冲液(115mM NaCl,4.7mM KCl,1.2mM MgSO₄,1.28mM CaCl₂,1.2mM KH₂PO₄,25mM HEPES,8.4%NaHCO₃(wt/vol),1mg/mL BSA,pH 7.2)。提取了2小时之后从各个孔(well)收集KRB溶液,并用ELISA Kit对作为收集到的KRB溶液内的炎症性细胞因子(inflammatory cytokines)的TNF-α(eBioscience,圣地亚哥,CAUSA)和IL-6的浓度进行了测定。

[0122] (2) 炎症性细胞因子生成量测定

[0123] 对于TNF-α和IL-6生成量,利用ELISA Kit(eBioscience,圣地亚哥,CA,USA)进行测定为如下。对每个孔分别注入100μL的捕获抗体(capture antibody)而在4℃下过一夜(overnight)之后,对每一孔加入200μL的稀释液(Assay diluent),并在室温下反应了1小时,然后加入从HaCaT细胞提取的提取液、KRB溶液以及标准物质100μL而在室温下反应了2小时。然后,向各个孔加入100μL的检测抗体(detection antibody)并在室温下反应了1小时,并加入100μL的抗生物素蛋白-HRR(Avidin-HRR)而在室温下反应了30分钟。在之前的每一步骤,用洗涤缓冲液(1xPBS,0.05%Tween 20/DIW)清洗5次之后进行了下一步骤,并在暗处盖上封盖之后进行了反应。最后,对每个孔加入100μL的基质溶液并反应15分钟之后,用50μL的停止液(stop solution)(2NH₂SO₄)进行处理,利用酶标仪(Molecular Devices,VersaMax ELISA酶标仪,美国)在450以及570nm下测定了吸光度。

[0124] (3) 测定结果

[0125] 为了了解作为过敏症诱发细胞因子的TNF- α 及IL-6生成量,对于HaCaT细胞系使最终浓度为0.1 μ g/mL、1 μ g/mL、10 μ g/mL、100 μ g/mL以及200 μ g/mL的情况下测定了抑制效果,以用于了解岩藻聚糖和提取物的过敏症抑制功效,其结果如表5、表6。对于使用为对照组的岩藻聚糖的情形而言,浓度在0.1 μ g/mL、1.0 μ g/mL下,TNF- α 的生成量分别被抑制50.1%、42.3%,在10 μ g/mL以上时,TNF- α 的生成量没有变化。与此相反,可以确认到,对于提取物的情况而言,在海鞘皮GAG、煮沸裙带菜孢子叶的物质等所有的试料中,TNF- α 的生成量随着浓度的增加而增加。而且,测定IL-6生成量抑制效果的结果,对于使用为对照组的岩藻聚糖的情形而言具有这样一种倾向:随着浓度的增加,IL-6的生成量一点一点地减少,且在100 μ g/mL浓度下,抑制了28.3%。对于海鞘皮GAG和裙带菜孢子叶的提取物的情形而言,随着浓度的增加而IL-6的生成量急剧地增加。尤其,对于海鞘皮GAG的情形而言,TNF- α 及IL-6生成量增加约2.4~4.3倍。

[0126] 然而,与对过敏症患者进行实验的结果进行比较时,整个脸部红色斑点较多且发烫以及瘙痒症严重的患者在开始使用GAG:TSM(1:1)区之后,瘙痒症消失且红色斑痕消失而得到了完好的治愈,由此表现出与细胞实验相反的结果。虽然裙带菜孢子叶提取物和海鞘皮提炼物质没有参与到细胞因子的生成抑制,但是从裙带菜孢子叶提取物表现出抗炎效果且海鞘皮GAG表现出细胞再生效果的报告来看,可以认为相比于抑制细胞因子的机制,抑制炎症生成的同时使皮肤再生的效果更加突出。

[0127] 表5

[0128] [表5]

[0129] <表5>HaCaT细胞培养中针对TNF- α 表达的岩藻聚糖的影响

[0130]

样品浓度 (μg/mL)		TNF-α 生成 (%)
对照		100.0± 25.3
岩藻聚糖	0.1	50.1± 8.6
	1	42.3± 3.3
	10	27.9± 17.9
	100	24.1± 4.6
	200	26.7± 10.9
GAG	0.1	96.0± 1.7
	1	94.8± 0.0
	10	145.7± 37.1
	100	121.1± 4.9
	200	246.3± 6.6
GAG:TSM(1:1)	0.1	108.7± 6.1
	1	102.3± 7.2
	10	110.1± 21.1
	100	125.2± 4.7
	200	174.3± 5.6
TF	0.1	99.4± 3.3
	1	101.2± 5.6
	10	101.2± 2.4
	100	104.1± 14.2
	200	137.4± 5.3
GF	0.1	101.2± 4.0

[0131]

	1	102.3± 2.4
	10	92.6± 3.5
	100	126.1± 18.2
	200	114.0± 4.7
GSM	0.1	104.1± 9.5
	1	119.3± 1.4
	10	112.8± 3.7
	100	117.6± 2.1
	200	113.4± 6.2
TSM	0.1	94.8± 3.7
	1	108.7± 9.1
	10	113.4± 4.4
	100	105.2± 1.6
	200	110.5± 3.8

[0132] GAG:糖胺聚糖,TF:统营裙带菜孢子岩藻聚糖,GF:机张裙带菜孢子叶岩藻聚糖,GSM:机张裙带菜孢子叶提取物,TSM:统营裙带菜孢子叶提取物。

[0133] 表6

[0134] [表6]

[0135] <表6>HaCaT细胞培养中针对IL-6表达的岩藻聚糖的影响

[0136]

样品浓度 (μg/mL)		IL-6 生成 (%)
对照		100.0± 0.3
岩藻聚糖	0.1	93.9± 0.3
	1	87.2± 0.4
	10	88.5± 0.7
	100	71.7± 0.4
	200	75.4± 0.3
GAG	0.1	129.0± 2.9
	1	157.9± 3.6

[0137]

	10	296.2± 7.7
	100	321.3± 8.6
	200	428.3± 5.1
GAG:TSM(1:1)	0.1	270.8± 0.1
	1	99.3± 1.0
	10	116.9± 6.1
	100	173.0± 2.0
	200	213.1± 6.4
TF	0.1	109.6± 21.6
	1	111.1± 18.8
	10	107.4± 12.3
	100	113.9± 8.9
	200	130.3± 8.1
GF	0.1	110.6± 12.2
	1	112.8± 7.6
	10	118.0± 14.7
	100	136.1± 6.0
	200	162.2± 5.7
GSM	0.1	114.5± 3.8
	1	113.0± 6.8
	10	116.1± 10.9
	100	152.2± 13.3
	200	194.2± 0.7
TSM	0.1	125.5± 5.0
	1	117.3± 7.1
	10	108.6± 2.5
	100	131.5± 13.1
	200	151.2± 7.1

[0138] GAG:糖胺聚糖,TF:统营裙带菜孢子岩藻聚糖,GF:机张裙带菜孢子叶岩藻聚糖,GSM:机张裙带菜孢子叶提取物,TSM:统营裙带菜孢子叶提取物。

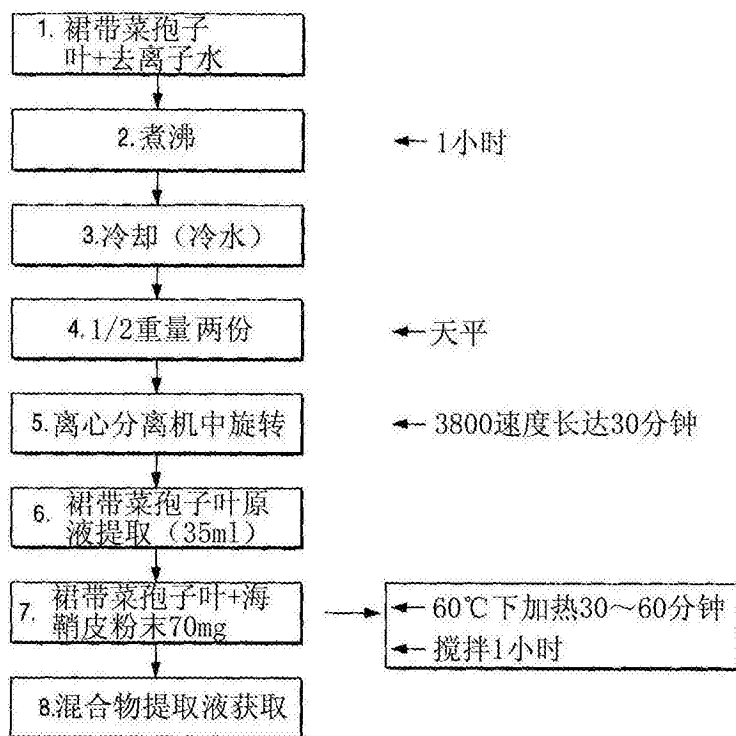


图1

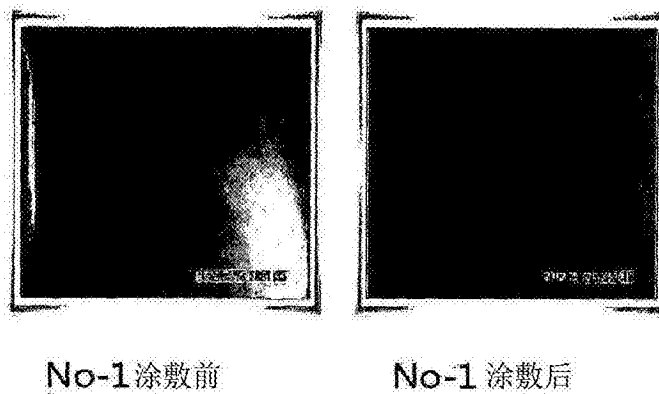
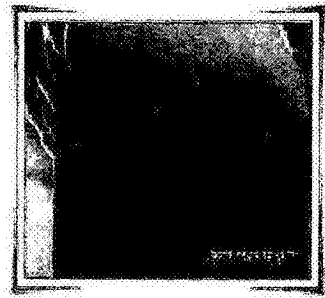
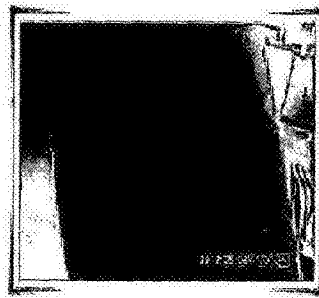


图2

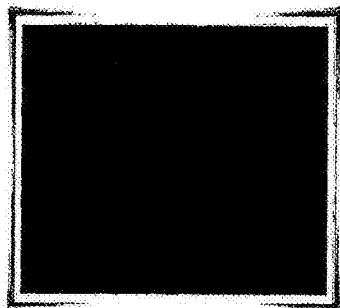


No-2 涂敷前

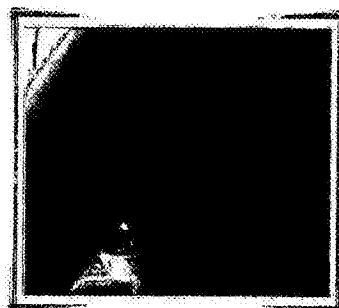


No-2 涂敷后

图3



No-3 涂敷前



No-3 涂敷后

图4



No-4 涂敷前



No-4 涂敷后

图5