(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년01월14일
(11) 등록번호 10-1938055
(24) 등록일자 2019년01월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 36/04* (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 36/04* (2013.01)
*A23L 33/10* (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0044161
(22) 출원일자 2017년04월05일
심사청구일자 2017년04월05일
(65) 공개번호 10-2018-0113013
(43) 공개일자 2018년10월15일
(56) 선행기술조사문헌
KR101354167 B1
*(뒷면에 계속)*

(73) 특허권자
**성균관대학교산학협력단**
경기도 수원시 장안구 서부로 2066 (천천동, 성균관대학교내)
(72) 발명자
**곽종환**
경기도 수원시 장안구 하률로1번길 6-13, 303호(천천동, 은하수빌)
**표석능**
서울특별시 양천구 목동동로 100, 1302동 202호(신정동, 목동신시가지아파트13단지)
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**위병갑**

전체 청구항 수 : 총 13 항 심사관 : 최원철

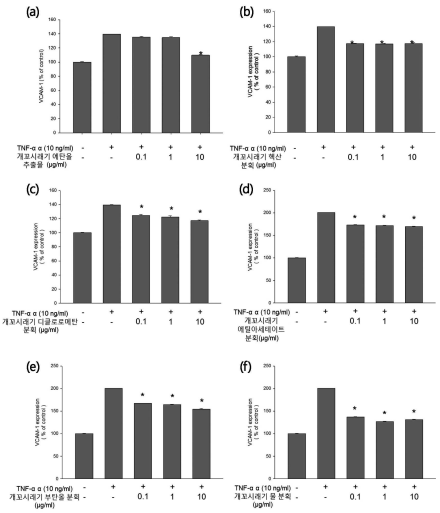
(54) 발명의 명칭 **개꼬시래기 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증의 예방 및 치료용 약학 조성물**

## (57) 요 약

본 발명에 따른 개꼬시래기 추출물 또는 분획물은 TNF-α에 의해 유도된 VACM-1의 억제활성을 가지고 있는 것으로써, 동맥경화증을 치료하거나 예방할 수 있는 효능이 매우 뛰어나 경쟁력 있는 의약 조성물 및 식품 조성물 제조에 효과적이다.

또한 상기 개꼬시래기는 우리나라에서 식용으로 사용되어온 천연물로, 부작용이 없다는 장점을 갖는다.

*대 표 도* - 도4



(52) CPC특허분류
*A23V 2002/00* (2013.01)
*A23V 2200/326* (2013.01)
*A23V 2250/202* (2013.01)

(72) 발명자
**윤환수**
경기도 수원시 장안구 정자천로189번길 47, 411동 701호(정자동, 연꽃마을 풍림아파트)
**전유경**
서울특별시 마포구 월드컵로30가길 15, 2층(성산동)

(56) 선행기술조사문헌
KR1020020062892 A
KR1020100042414 A
KR1020130094145 A
KR1020140080953 A
KR1020140096972 A
WO2002092779 A2

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJT200620
부처명 해양수산부
연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원
연구사업명 포스트게놈다부처유전체사업(해수부)
연구과제명 해양수산생물 유전체정보 분석 및 활용기반 연구
기 여 율 1/1
주관기관 한국해양과학기술진흥원
연구기간 2015.09.01 ~ 2016.07.31
공지예외적용 : 있음

# *명 세 서*

## *청구범위*

### 청구항 1

개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 추출물은 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)*을 20 내지 26 ℃의 추출용매에 침지시킨 후 40 내지 80 ℃의 추출용매에 침지시켜 수득된 추출물인 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)*) 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 4

제3항에 있어서,

상기 혼합용매는 20 내지 98 부피%의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 프로판올 수용액인 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 동맥경화증은 TNF-α에 의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증인 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 6

개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 7

제6항에 있어서,

상기 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 분획물은 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 추출물을 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, n-부탄올 또는 물로 분획한 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 8

제6항에 있어서,

상기 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 분획물은 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 추출물을 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, n-부탄올로 순차적으로 분획한 후, 얻은 물 분획물인 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

### 청구항 9

제6항에 있어서,

상기 동맥경화증은 TNF-α에 의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증인 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물.

**청구항 10**

개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 개선 또는 예방용 식품 조성물.

**청구항 11**

제10항에 있어서,

상기 동맥경화증은 TNF-α에 의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증인 것을 특징으로 하는 동맥경화증 개선 또는 예방용 식품 조성물.

**청구항 12**

개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 개선 또는 예방용 식품 조성물.

**청구항 13**

제12항에 있어서,

상기 동맥경화증은 TNF-α에 의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증인 것을 특징으로 하는 동맥경화증 개선 또는 예방용 식품 조성물.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 함유함으로써 동맥경화증을 치료, 개선 또는 예방할 수 있는 약학 조성물에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 동맥경화증(*atherosclerosis*)은 동맥 내벽 표면에 지질과 섬유요소의 축적으로 혈류를 막아 조직의 괴사를 일으키는 혈관질환으로 위치에 따라 뇌졸중 및 심장마비를 유발하게 된다. 동맥경화증으로 인해 미국의 경우 한 해 66,000명이 사망하고 있으며, 과거 아테롬성 동맥경화증의 치사율이 낮아지고 있는 상황이지만 아직까지 관상동맥 질환이 주요한 사망원인으로 파악되고 있다. 현재 가장 주요한 치료 방법은 스타틴류 약물의 복용이며, 스타틴류 약물은 LDL(low-density lipoprotein)의 감소를 유발하나, HDL(High-density lipoprotein) level을 높이지는 못하는 단점을 지니고 있다. 또한 스타틴류 약물이 근육의 에너지 생산을 돕는 코엔자임 Q10의 체내 합성을 줄이고 근육 독성을 유발하는 물질을 증가시키며 스타틴류 약물의 복용시 약 9%의 당뇨병 발생 확률이 연구결과를 통해 확인되었다. 2012년 미국에서는 모든 스타틴 계열 약물에 당뇨 발생의 위험성을 고지하는 내용의 라벨을 추가한 바 있으며 한국 역시 스타틴 성분의 몇몇 제품의 당뇨병 유발 가능성을 알린 바 있다. 게다가 스타틴 사용 시 폐암, 대장암, 유방암, 위암, 피부암의 발생과 연관이 있다는 연구 결과도 있었다.

[0003] 따라서 이러한 많은 부작용을 가지고 있는 스타틴계 약물을 대체할 동맥경화증의 치료제 개발이 매우 절실한 실정이다.

### *선행기술문헌*

#### *특허문헌*

[0004] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 대한민국 공개특허 제10-1354167호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 상술한 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 본 발명의 목적은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물을 유효성분으로 함유하여 동맥경화증을 치료 또는 예방할 수 있는 조성물 제공하는 것이다.

[0006] 또한, 본 발명의 다른 목적은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 분획물을 유효성분으로 함유하여 동맥경화증을 치료 또는 예방할 수 있는 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 또한 본 발명의 또 다른 목적은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 함유하여 동맥경화증을 개선 또는 예방할 수 있는 식품 조성물 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0008] 상술한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물을 제공한다.

[0009] 상기 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*)을 20 내지 26 ℃의 추출용매에 침지시킨 후 40 내지 80 ℃의 추출용매에 침지시켜 수득된 추출물일 수 있다.

[0010] 상기 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*)) 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것일 수 있다.

[0011] 상기 혼합용매는 20 내지 98 부피%의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 프로판올 수용액일 수 있다.

[0012] 상기 동맥경화증은 TNF-α에 의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증일 수 있다.

[0013] 상술한 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물을 제공한다.

[0014] 상기 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 분획물은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물을 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, n-부탄올 또는 물로 분획한 것일 수 있다.

[0015] 상기 동맥경화증은 TNF-α에 의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증일 수 있다.

[0016] 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물은 액제, 피부 외용제, 주사제 또는 경구제일 수 있다.

[0017] 상술한 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 개선 또는 예방용 식품 조성물을 제공한다.

[0018] 상기 동맥경화증은 TNF-α에 의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증일 수 있다.

[0019] 상술한 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*)를 에탄올로 추출하여, 개꼬시래기 추출물을 제조하는 단계;

[0020] 상기 개꼬시래기 추출물을 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 및 물을 이용하여 순차적으로 분획하는 단계; 및

[0021] 상기 물 분획물을 여과 및 농축하여 해조류 개꼬시개기 물 분획물을 수득하는 단계;를 포함하고,

[0022] 상기 개꼬시래기는 혈관세포 접합분자 1(vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 예방 또는 개선용 식품 조성물의 제조방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0023] 본 발명에 따른 개꼬시래기 추출물 또는 분획물은 TNF-α에 의해 유도된 VACM-1의 억제활성을 가지고 있는 것으

로써, 동맥경화증을 치료하거나 예방할 수 있는 효능이 매우 뛰어나 경쟁력 있는 의약 조성물 및 식품 조성물 제조에 효과적이다.

[0024] 또한 상기 개꼬시래기는 우리나라에서 식용으로 사용되어온 천연물로, 부작용이 없다는 장점을 갖는다.

## 도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 실시예 1 및 실시예 3 내지 7의 개꼬시래기 추출물과 분획물을 제조하는 과정을 전체적으로 나타내는 개략도이다.

도 2는 MOVAS 세포주에 대한 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1) 및 용매분획물(실시예 3 내지 7)의 세포 증식률을 측정하여 나타낸 그래프이다. 이때, a는 실시예 1의 개꼬시래기 에탄올 추출물, b는 실시예 3의 개꼬시래기 헥산 분획물 c는 실시예 4의 개꼬시래기 디클로로메탄 분획물, d는 실시예 5의 개꼬시래기 에틸 아세테이트 분획물, e는 실시예 6의 개꼬시래기 부탄올 분획물, f는 실시예 7의 개꼬시래기 물 분획물이다.

도 3은 MOVAS 세포주에서, 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)의 웨스턴 블롯 분석에 의한 농도별 VCAM-1 발현 억제 활성을 나타낸 그래프이다. 이때, a는 실시예 1의 개꼬시래기 에탄올 추출물, b는 실시예 3의 개꼬시래기 헥산 분획물 c는 실시예 4의 개꼬시래기 디클로로메탄 분획물, d는 실시예 5의 개꼬시래기 에틸 아세테이트 분획물, e는 실시예 6의 개꼬시래기 부탄올 분획물, f는 실시예 7의 개꼬시래기 물 분획물이다.

도 4는 MOVAS 세포주에서, 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)의 ELISA에 의한 농도별 VCAM-1 발현 억제 활성을 나타낸 그래프이다. 이때, a는 실시예 1의 개꼬시래기 에탄올 추출물, b는 실시예 3의 개꼬시래기 헥산 분획물 c는 실시예 4의 개꼬시래기 디클로로메탄 분획물, d는 실시예 5의 개꼬시래기 에틸 아세테이트 분획물, e는 실시예 6의 개꼬시래기 부탄올 분획물, f는 실시예 7의 개꼬시래기 물 분획물이다.

도 5는 MOVAS 세포주에서, 실시예 1과 비교예 1로부터 각각 제조된 개꼬시래기 및 꼬시래기 에탄올 추출물의 ELISA에 의한 VCAM-1 발현 억제 활성을 나타낸 그래프이다.

도 6은 MOVAS 세포주에서, 실시예 2과 비교예 2로부터 각각 제조된 개꼬시래기 및 꼬시래기 열수 추출물의 ELISA에 의한 VCAM-1 발현 억제 활성을 나타낸 그래프이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이에 본 발명자들은 스타틴 계열의 약물을 대체할 수 있는 새로운 동맥경화증 치료제를 개발하기 위하여 예의 연구 노력한 결과, 본 발명에 따른  동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

[0027] 이하, 본 발명을 상세하게 설명하기로 한다.

[0028] 본 발명의 일 측면은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0029] 상기 개꼬시래기는 일명 해조류 개꼬시래기로, 학명은 *Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*이고, 한국, 중국, 일본에서 자생하고 있으며, 특히 우리나라 남서해안의 조하대에서 많이 발견되고 있다.

[0030] 상기 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*)을 20 내지 26 ℃의 추출용매에 침지시킨 후 40 내지 80 ℃의 추출용매에 침지시켜 수득된 추출물일 수 있다. 상기 추출물을 수득하는 추출 조건이 상기 범위를 벗어나는 경우에는 추출물에 개꼬시래기의 유효성분이 적은 양으로 추출될 수 있다.

[0031] 예를 들어, 본 발명의 개꼬시래기 추출물은 20 내지 26 ℃의 추출용매 침지시켜 10 분 내지 5시간 동안 냉침시킨 후 40 내지 80 ℃의 추출용매에 침지시켜 10분 내지 5시간 동안 온침시킨 다음 농축하여 수득할 수 있다. 이때 상기 냉침에 사용된 추출용매와 온침에 사용된 추출용매는 동일한 추출용매인 것이 바람직하다.

[0032] 상기 추출물을 추출하는 각 추출용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것일 수 있다. 상기 추출용매로 특별히 한정되는 것은 아니지만, 에탄올 추출된 추출물이 동맥경화증, 특히 TNF-α에

의해 유도된 세포부착분자의 발현으로 발생한 아테롬성 동맥경화증의 개선, 예방 또는 치료에 바람직하게 작용한다.

[0033] 상기 혼합용매로는 특별히 한정하는 것은 아니지만, 바람직하게는 20 내지 98 부피%의 메탄올, 에탄올, 부탄올 또는 프로판올 수용액, 더욱 바람직하게는 60 내지 95 부피%의 에탄올 수용액으로 추출된 추출물을 들 수 있다.

[0034] 본 명세서에서 개꼬시래기를 언급하면서 사용되는 용어 '추출물'은 추출용매를 처리하여 얻은 조추출물뿐만 아니라 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)*의 추출물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0035] 또한, 본 발명의 개꼬시래기 추출물은 광의로는 개꼬시래기를 동물에게 투여할 수 있도록 제형화된 개꼬시래기 가공물, 예컨대, 개꼬시래기의 분말도 포함하는 의미를 갖는다.

[0036] 비록 본 발명에서 개꼬시래기로 실험을 진행하긴 하였으나, 개꼬시래기(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi) 가공물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상가능할 것이다.

[0037] 한편, 본 명세서에서 용어 '유효성분으로 함유하는'이란 개꼬시래기 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 일예로, 상기 개꼬시래기 추출물은 10 내지 1500 ㎍/㎖, 바람직하게는 100 내지 1000 ㎍/㎖의 농도로 사용된다. 개꼬시래기의 추출물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 개꼬시래기 추출물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0038] 상기 동맥경화증은 아테롬성 동맥경화증일 수 있다. 구체적으로 아테롬성 동맥경화증의 바이오마커로 여겨지는 VCAM-1의 양을 실질적으로 감소시켜, 내피상에 단세포의 고정을 억제하고, 결과적으로 내피의 기능의 복원을 공고히하고, 아테롬성 동맥 경화의 진행을 방지하거나 늦추는 것이 가능하다.

[0039] 이는 단순히 정상범위를 넘어서 지속적으로 높은 혈압을 유지하는 고혈압 질환과는 질환 대상이 전혀 상이한 질환이라 할 수 있다.

[0040] 다시 말해 고혈압은 안지오텐신전환효소(Angiotensin coverting enzyme, ACE)라는 펩티딜 디펩티다아제(peptidyl dipeptidase)라는 효소를 바이오마커로 한 것이다. 구체적으로 ACE는 가장 강력한 승압 물질로 알려진 안지오텐신 Ⅱ의 생성을 촉매하여, 동시에 가장 강력한 혈관확장물질인 브라디키닌의 분해를 촉매하는 효소이다. ACE에 의해 불활성인 안지오텐신 Ⅰ의 C말단 히스티딘-류신(His-Leu)이 절단되어 생성된 약리적 활성물질인 안지오텐신 Ⅱ는 강력한 혈관 수축작용으로 혈압을 상승시키며, 부신피질에서 알도스테론(Aldosterone)의 유리를 자극함으로써 나트륨을 보존시키는 작용을 하여 혈관내 용적을 증가시킨다. 또한 안지오텐신 Ⅱ의 구조 중 C-말단의 6개의 아미노산이 약리작용에 필수적인 대부분의 정보를 가지고 있다고 알려져 있다. 이러한 안지오텐신전환효소(ACE)의 활성 저해를 목적으로 하는 고혈압 치료제는 앞서 설명한 바와 같이 혈관내 용적과 관련된 효소를 저해함으로써, 일관성있는 혈압 강화 효과를 나타내게 하는 것일 뿐으로, 혈관 내피세포에서 아테롬성 동맥경화를 야기하는 근복적인 원인인 아테롬성 플라크 발생을 저해하도록 내피세포에 단세포의 고정을 억제하도록 VCAM-1의 양을 실질적으로 감소시키는 본 발명의 아테롬성 동맥경화와는 전혀 대상부위가 상이하다.

[0041] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0042] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0043] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는

것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.

[0044] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0045] 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0046] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.

[0047] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.001-10 g/kg이다.

[0048] 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캅셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0049] 본 발명의 다른 측면은 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 동맥경화증 치료 또는 예방용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0050] 본 발명의 용어 "분획물"이란 다양한 구성성분을 포함하는 혼합물로부터 특정성분 또는 특정 그룹을 분리하는 분획방법에 의하여 얻어진 결과물을 의미한다. 본 발명에서는 구체적으로 상기 개꼬시래기의 추출물을 용매 분획법, 한외여과 분획법, 크로마토그래피 분획법 등의 다양한 방법으로 분획한 결과물이 될 수 있으나 본 발명에서는 용매 분획법을 사용하였다.

[0051] 상기 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 분획물은 상기 농축된 개꼬시래기 추출물에 5 내지 30배(w/w), 바람직하게는 8 내지 20배(w/w)의 물과 혼합한 후 극성용매, 비극성용매를 이용한 통상적인 분획과정을 수행하여 극성용매 분획물 및 비극성용매 분획물을 각각 수득한다. 상기 극성용매로는 n-부탄올 및 물 등을 들 수 있으며, 상기 비극성용매로는 디클로로메탄, 에틸아세테이트 등을 들 수 있다. 가장 바람직하게는 상기 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 분획물은 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 추출물을 디클로로메탄, 에틸아세테이트, n-부탄올로 순차적으로 분획한 후, 얻은 물 분획물인 것일 수 있는데, 일반 다른 분획물에 비해 VCAM-1 억제활성이 2 배 이상이였고, TNF-α에 의해 VCAM-1 발현을 증가시키기 전과 거의 유사한 정도(ㅁ10%)로 VCAM-1 발현 수준을 억제하였기 때문이다.

[0052] 본 명세서에서 개꼬시래기를 언급하면서 사용되는 용어 '분획물'은 추출용매를 처리하여 얻은 분획물뿐만 아니라 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)*의 분획물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 개꼬시래기*(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi)* 분획물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0053] 또한, 본 발명의 개꼬시래기 분획물은 광의로는 개꼬시래기를 동물에게 투여할 수 있도록 제형화된 개꼬시래기 가공물, 예컨대, 개꼬시래기의 분말도 포함하는 의미를 갖는다.

[0054] 비록 본 발명에서 개꼬시래기로 실험을 진행하긴 하였으나, 개꼬시래기(Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi) 가공물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상가능할 것이다.

[0055] 한편, 본 명세서에서 용어 '유효성분으로 함유하는'이란 개꼬시래기 분획물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 일예로, 상기 개꼬시래기 분획물은 10 내지 1500 ㎍/㎖, 바람직하게는 100 내지 1000 ㎍/㎖의 농도로 사용된다. 개꼬시래기의 분획물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 개꼬시래기 분획물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여

실시할 수 있다.

[0056] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0057] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0058] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.

[0059] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0060] 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0061] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.

[0062] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.001-10 g/kg이다.

[0063] 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캅셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0064] 또한, 본 발명은 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증 개선 또는 예방용 식품 조성물을 제공한다.

[0065] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약제학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.

[0066] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물 뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등]) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물 이외에 구연산, 액상과당,

설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0067] 본 발명은 상기 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 동맥경화증의 개선, 예방 또는 치료용 식품 조성물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다. 건강기능식품이란, 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품에 있어서의 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.

[0068] 또한, 본 발명은 동맥경화증의 개선, 예방 또는 치료용 의약 또는 식품의 제조를 위한 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물의 용도를 제공한다. 상기한 바와 같이 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물은 동맥경화증의 개선, 예방 또는 치료를 위한 용도로 이용될 수 있다.

[0069] 또한, 본 발명은 포유동물에게 유효량의 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 투여하는 것을 포함하는 동맥경화증의 개선, 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0070] 여기에서 사용된 용어 "포유동물"은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.

[0071] 여기에서 사용된 용어 "유효량"은 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 임상 의에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 해당 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 유효량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 수 있다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 예방, 치료 또는 개선 방법에 있어서, 성인의 경우, 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.001 g/kg 내지 10 g/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.

[0072] 본 발명의 치료방법에서 개꼬시래기(*Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi*) 추출물 또는 분획물을 유효 성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

[0073] 이하 본 발명을 바람직한 실시예를 참고로 하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0074] **실시예 1. 개꼬시래기 에탄올 추출물의 제조.**

[0075] 동결 건조한 개꼬시래기(2.84 kg)을 세절하고 에탄올(17 L)로 실온에서 2 회 냉침한 다음, 60 ℃ 수욕 상에서 1 회 온침하고, 농축하여 개꼬시래기 에탄올 추출물을 얻었다.

[0076] **실시예 2. 개꼬시래기 열수 추출물의 제조.**

[0077] 동결 건조한 개꼬시래기(100 g)을 세절하고 50 ℃열수( 4 L)로 3시간 동안 2회 추출하였다, 추출된 용액을 여과하여 추출액만 수거한 후, 농축하여 개꼬시래기 열수 추출물을 얻었다.

[0078] **실시예 3 내지 7. 개꼬시래기 분획물의 제조.**

[0079] 동결 건조한 개꼬시래기(2.84 kg)을 세절하고 에탄올(17 L)로 실온에서 2 회 냉침한 다음, 60 ℃ 수욕 상에서 1 회 온침하고, 농축하여 개꼬시래기 에탄올 추출물166.58 g을 얻었다.

[0080] 상기 개꼬시래기 추출물 중 161.58 g을 증류수 1.6L에 현탁하고 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, n-부탄올로 각각 3회 상법에 따라 분획하여 헥산 분획물(실시예 3) 27.64 g, 디클로로메탄 분획물(실시예 4) 0.51 g, 에틸 아세테이트 분획물(실시예 5) 0.15 g, n-부탄올 분획물(실시예 6) 4.80 g 및 물 분획물(실시예 7) 126.18 g을 얻었다. 이의 구체적인 과정은 도 1에 나타내었다.

[0081] **비교예 1. 꼬시래기(Gracilaria verrucosa) 에탄올 추출물의 제조.**

[0082] 동결 건조한 해조류 꼬시래기(Gracilaria verrucosa)(300 g)을 세절하고 에탄올(1.8 L)로 실온에서 2 회 냉침한 다음, 60 ℃ 수욕 상에서 1회 온침하고, 농축하여 꼬시래기 에탄올 추출물을 얻었다.

[0083] **비교예 2. 꼬시래기(Gracilaria verrucosa) 열수 추출물의 제조.**

[0084] 동결 건조한 해조류 꼬시래기(100 g)을 세절하고 50 ℃열수( 4 L)로 3시간 동안 2회 추출하였다, 추출된 용액을 여과하여 추출액만 수거한 후, 농축하여 꼬시래기 열수 추출물을 얻었다.

[0085] **실험예 1. 개꼬시래기 추출물 및 분획물의 세포 독성 분석.**

[0086] 우선 실시예 1 내지 3으로부터 얻은 개꼬시래기 추출물 및 분획물이 Mouse aortic smooth muscle cell인 MOVAS 세포주에 독성을 가지는지 확인하고자, MTT assay를 실시하였다.

[0087] 세포의 생존율은 살아있는 세포의 미토콘드리아에 있는 환원효소(reductase)에 의해 환원되어 formazan이라 불리는 적자색 결정(crystal)이 형성되는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 환원 방법을 이용하여 측정하였다.

[0088] 모든 데이터는 평균 ㅁ 표준오차로 나타내었다. 대조군과 처리군과의 통계학적인 차이는 Student's t-test 분석법을 이용하여 유의성을 결정하였으며, P 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

[0089] 도 2는 MOVAS 세포주에 대한 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1) 및 용매분획물(실시에 3 내지 7)의 세포 증식률을 측정하여 나타낸 그래프이다. MOVAS 세포주에서 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1) 및 용매분획물(실시에 3 내지 7)의 세포독성을 분석한 결과, 각 시료는 세포 증식율에 큰 영향을 끼치지 않는 것을 확인 할 수 있었다. 즉 본 발명에 따른 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1) 및 용매분획물(실시에 3 내지 7)은 모두 세포에 대해 독성을 가지고 있지 않음을 알 수 있다.

[0090] 상술한 결과와 더불어 본 발명에 따른 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1) 및 용매분획물(실시에 3 내지 7)은 원재료가 천연물에 근거를 두고 있으므로, 이를 이용하여 약학 조성물 또는 화장료 조성물 또는 식품 조성물로써 안정하게 사용할 수 있음을 알 수 있다.

[0091] **실험예 2. 개꼬시래기 추출물 및 분획물의 VCAM-1 억제 활성**

[0092] 다음으로, 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)의 혈관내피세포 표면에서 VCAM-1의 세포표면의 발현 정도를 알아보기 위해 Western blot analysis와 ELISA를 수행하였다.

[0093] VCAM-1의 단백질 발현을 확인하기 위해, 세포를 6 well plate에 배양한 후 여기에 각각 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)을 처리하고, 2 시간동안 전배양한 후, TNF-α(10 ng/㎖)를 첨가하고 8시간 동안 배양하였다. 배양된 세포를 회수하여 d-PBS를 이용하여 세척하고 lysis buffer를 이용하여 단백질을 추출하였다. 웨스턴 블롯 분석방법(Western blot analysis)을 통해 이 단백질의 VCAM-1 발현을 확인하였다.

[0094] ELISA를 수행하기 위해서는, 세포를 96 well plate에 배양한 후 여기에 각각 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예

1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)을 처리하고, 2 시간동안 전배양한 후, TNF-α(10 ng/㎖)를 첨가하고 8시간 동안 배양하였다. 배양된 세포를 회수하여 d-PBS를 이용하여 세척하고 blocking buffer 200 ㎕를 넣어 상온에서 30 분동안 비특이적 결합(non-specific binding)을 진행시켰다. 세척버퍼(Washing buffer)로 3회 세척하고 VCAM-1 1차 항체(primary antibody)를 blocking buffer에 1:1,00으로 희석하여 100 ㎕씩 첨가하여 상온에서 2 시간 동안 방치 하였다. 그 후 세척 버퍼(washing buffer)로 5회 세척하고 AP와 결합한 goat anti-rat 2차 항체(alkline phosphatase-conjugated goat anti-rat secondary antibody)를 blocking buffer에 1:1,000배로 희석하여 100 ㎕씩 첨가하여 상온에서 1 시간 방치 후 세척 버퍼(washing buffer)로 7회 세척하였다. 여기에 과산화효소 기질(Peroxidase substrate)을 100 ㎕ 첨가하여 차광시키고 30 분 동안 상온 배양하였다. 마이크로플레이트 리더기(microplate reader)를 이용하여 650 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

[0095] 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)을 비롯하여 개꼬시래기 열수 추출물(실시예 2) 및 비교예 1 및 2에서 얻어진 꼬시래기 추출물 또한 혈관내피세포 표면에서 VCAM-1의 세포표면의 발현 정도를 알아보기 위해 ELISA를 수행하였다.

[0096] 모든 데이터는 평균 ± 표준오차로 나타내었다. 대조군과 처리군과의 통계학적인 차이는 Student's t-test 분석법을 이용하여 유의성을 결정하였으며, P 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

[0097] 도 3은 MOVAS 세포주에서, 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)의 웨스턴 블롯 분석에 의한 농도별 VCAM-1 발현 억제 활성을 나타낸 그래프이다. 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7) 가운데 부탄올 분획물(실시예 6)에서 MOVAS 세포주에서, TNF-α에 의해 유도된 VCAM-1의 발현을 효과적으로 억제하고 있음을 확인하였으며, 디클로로메탄 분획물(실시예 4) 또한 10 μg/ml의 농도에서 VCAM-1의 발현을 억제함을 확인하였다.

[0098] 도 4는 MOVAS 세포주에서, 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 용매 분획물(실시예 3 내지 7)의 ELISA에 의한 농도별 VCAM-1 발현 억제 활성을 나타낸 그래프이다. 그 결과, 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)은 10 μg/ml의 농도에서 VCAM-1의 발현을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났으며, 실시예 3 내지 7에서 얻어진 모든 용매 분획물은 0.1, 1, 10 10 μg/ml의 농도에서 VCAM-1 발현을 억제하였고, 그 가운데 개꼬시래기 물 분획물(실시예 7)이 가장 강한 VCAM-1 발현 억제능을 가지고 있음을 확인하였다. 구체적으로 실시예 7의 개꼬시래기 물 분획물은 VCAM-1 발현을 80% 가까이 억제하여, TNF-α에 의해 VCAM-1 발현을 증가시키기 전과 거의 유사한 정도로 VCAM-1 발현 수준을 억제하였다.

[0099] 즉 개꼬시래기의 경우, 용매에 의한 단순 추출보다 분획할 경우 비활성 물질들이 제거되고, VCAM-1 발현 억제 활성을 갖는 물질이 높은 효율로 분리되어, 조성물에 함유되는 것을 알 수 있다.

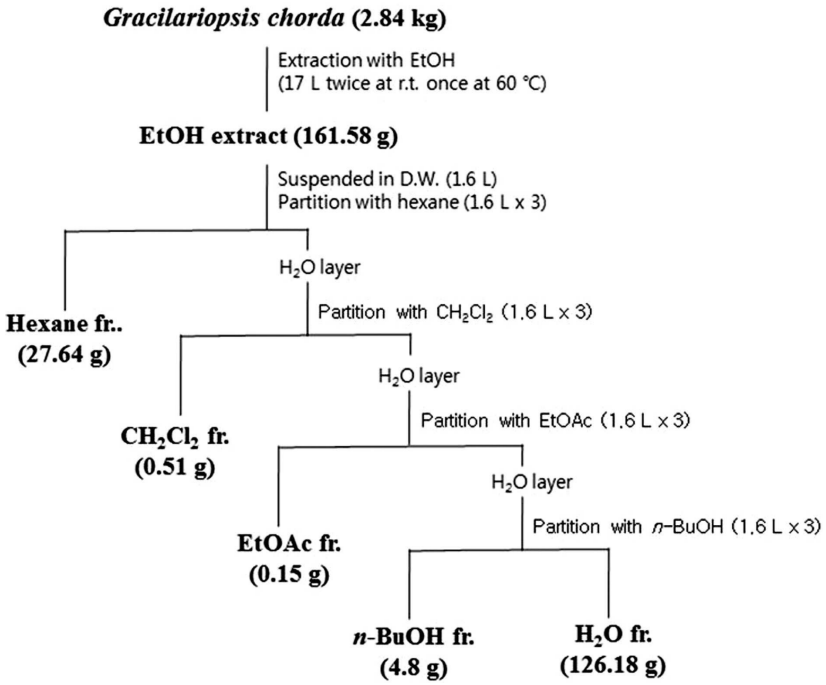
[0100] 도 5와 도 6은 실시예 1 및 2에서 제조된 개꼬시래기 추출물과 비교예 1 및 2에서 만들어진 꼬시래기 추출물의 ELISA법에 의한 혈관내피세포 표면에서 VCAM-1의 세포표면 발현 정도를 비교하여 나타낸 것이다. 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)과 개꼬시래기 열수 추출물(실시예 2)은 10 μg/ml의 농도에서 VCAM-1의 발현을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났으며, 개꼬시래기 에탄올 추출물(실시예 1)은 개꼬시래기 열수 추출물(실시예 2)에 비해 보다 강한 VCAM-1의 발현 억제 효능을 보였다. 개꼬시래기 추출물(실시예 1, 2)과 비교하여 꼬시래기의 에탄올 추출물(비교예 1) 및 꼬시래기 열수 추출물(비교예 2)은 0.1, 1, 10 μg/ml의 농도에서 모두 VCAM-1의 유의한 발현억제 효능을 보이지 않았다.

[0101] 따라서 실시예 1과 2로부터 제조된 개꼬시래기 추출물과 실시예 3 내지 7로부터 제조된 개꼬시래기 분획물 모두 동맥경화증의 예방 또는 치료의 약학 조성물 및 식품 조성물로 사용이 가능한 정도의 활성을 가지고 있음을 확인할 수 있으나, 실시예 3 내지 7로부터 제조된 개꼬시래기 분획물을 사용하는 것이 바람직하고, 가장 바람직하게는 실시예 7로부터 제조된 개꼬시래기 물 분획물을 사용하는 것이다.

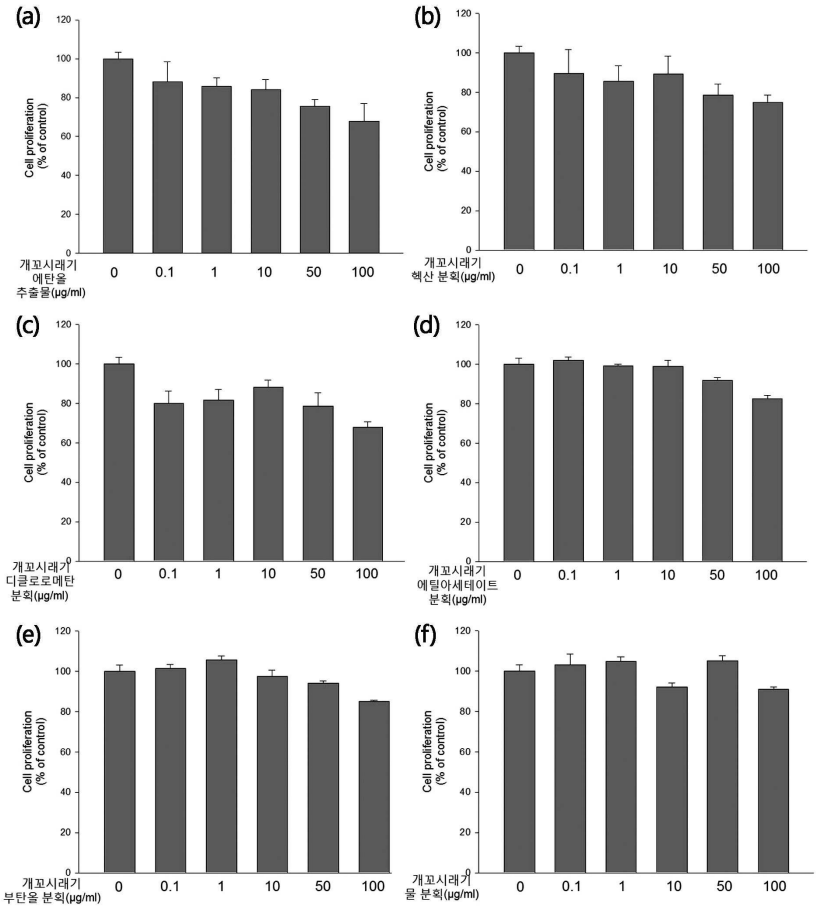
[0102] 상기에서는 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 설명하였지만, 본 발명은 이에 한정되는 것은 아니고, 본 발명의 기술 사상 범위 내에서 여러 가지로 변형하여 실시하는 것이 가능하고, 이 또한 첨부된 특허 청구 범위에 속하는 것은 당연하다.

도면

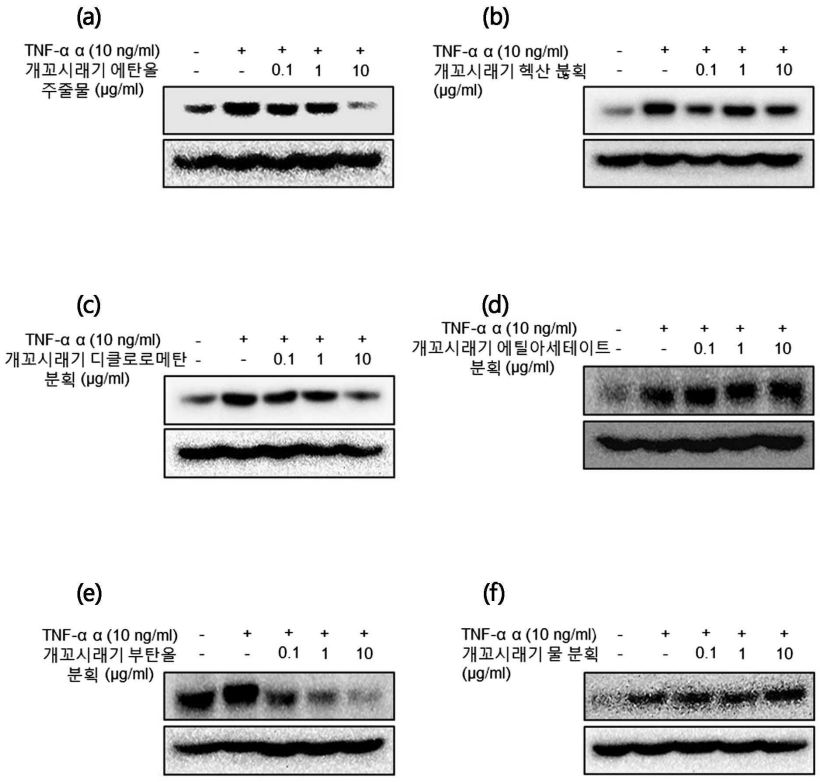
도면1


*Gracilariopsis chorda* (2.84 kg)
Extraction with EtOH
(17 L twice at r.t. once at 60 ℃)
EtOH extract (161.58 g)
Suspended in D.W. (1.6 L)
Partition with hexane (1.6 L x 3)
$H_2O$ layer
Hexane fr..
(27.64 g)
Partition with $CH_2Cl_2$ (1.6 L x 3)
$H_2O$ layer
$CH_2Cl_2$ fr.
(0.51 g)
Partition with EtOAc (1.6 L x 3)
$H_2O$ layer
EtOAc fr.
(0.15 g)
Partition with *n*-BuOH (1.6 L x 3)
*n*-BuOH fr.
(4.8 g)
$H_2O$ fr.
(126.18 g)

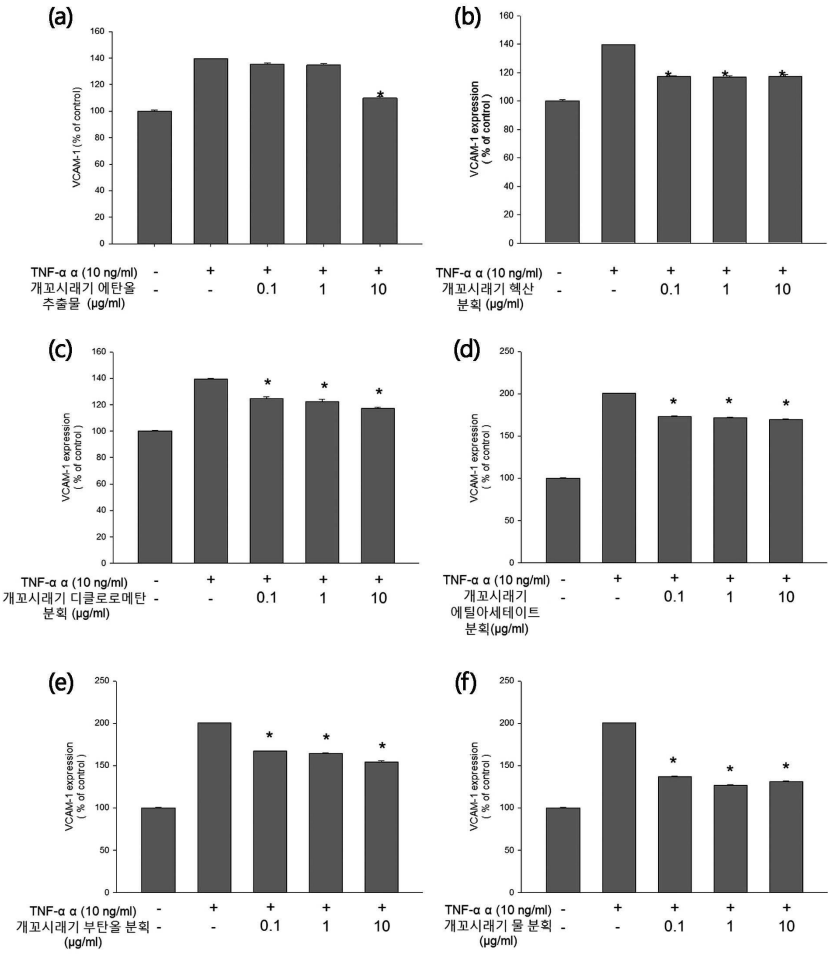
도면2


(a)
Cell proliferation (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
0
0.1
1
10
50
100
개꼬시래기 에탄올 추출물(μg/ml)
(b)
Cell proliferation (% of control)
개꼬시래기 헥산 분획(μg/ml)
(c)
Cell proliferation (% of control)
개꼬시래기 디클로로메탄 분획(μg/ml)
(d)
Cell proliferation (% of control)
개꼬시래기 에틸아세테이트 분획(μg/ml)
(e)
Cell proliferation (% of control)
개꼬시래기 부탄올 분획(μg/ml)
(f)
Cell proliferation (% of control)
개꼬시래기 물 분획(μg/ml)

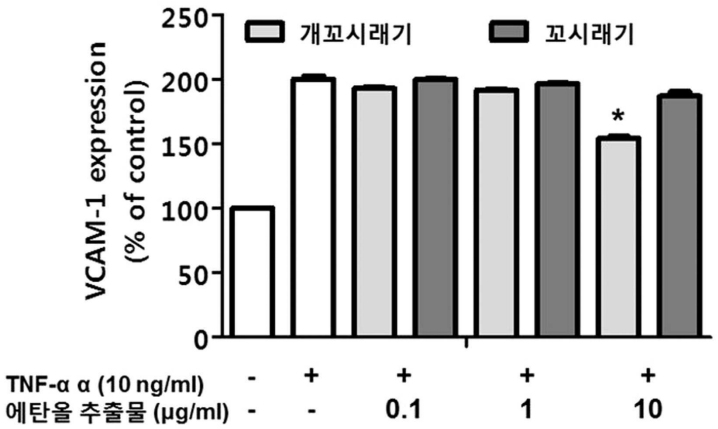
도면3


(a)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 에탄올 주줄물 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(b)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 헥산 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(c)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 디클로로메탄 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(d)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 에틸아세테이트 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(e)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 부탄올 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(f)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 물 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10

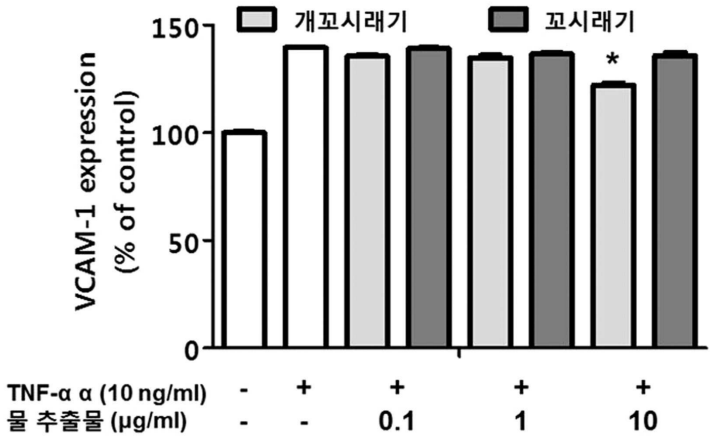
도면4


(a)
VCAM-1 (% of control)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 에탄올 추출물 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(b)
VCAM-1 expression (% of control)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 헥산 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(c)
VCAM-1 expression (% of control)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 디클로로메탄 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(d)
VCAM-1 expression (% of control)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 에틸아세테이트 분획(μg/ml) - - 0.1 1 10
(e)
VCAM-1 expression (% of control)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 부탄올 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10
(f)
VCAM-1 expression (% of control)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
개꼬시래기 물 분획 (μg/ml) - - 0.1 1 10

도면5


개꼬시래기
꼬시래기
VCAM-1 expression (% of control)
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
에탄올 추출물 (μg/ml) - - 0.1 1 10

도면6


개꼬시래기
꼬시래기
VCAM-1 expression
(% of control)
150
100
50
0
*
TNF-α α (10 ng/ml) - + + + +
물 추출물 (μg/ml) - - 0.1 1 10