



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0099126
(43) 공개일자 2007년10월09일

(51) Int. Cl.

A61K 36/03(2006.01) A61P 29/00(2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0030124

(22) 출원일자 2006년04월03일

심사청구일자 2006년04월03일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산 남구 용당동 산 100번지 부경대학교내

(72) 발명자

홍용기

부산 해운대구 우1동 974번지 경동아파트 103동 703호

(74) 대리인

박병석, 서장찬

전체 청구항 수 : 총 4 항

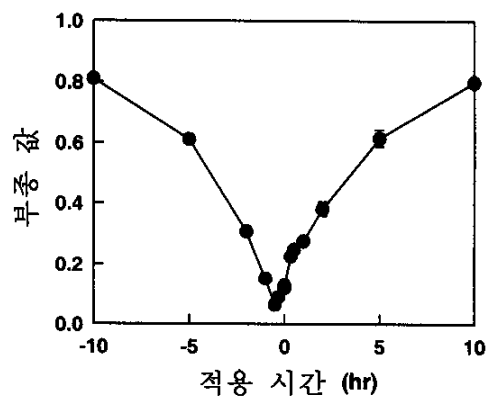
(54) 항염증 활성을 갖는 미역 추출물

(57) 요약

본 발명은 항염증 활성을 갖는 미역 추출물 및 그 분획물, 이들의 항염증제로서의 용도, 및 당해 미역 추출물 또는 분획물을 함유하는 항염증용 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 식용 해조류인 미역 (*Undaria pinnatifida* Suringar)으로부터 알코올을 이용한 추출물, 아세토니트릴 (acetonitrile)을 이용하여 추출한 아세토니트릴 분획물, 및 이들을 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것으로서, 당해 조성물은 항염증 작용, 즉 부종, 충혈, 발열 및 통증에 대한 예방 및 억제 작용을 나타내므로 이러한 증상 대한 피부 스프레이 제제, 티슈 제제, 연고제 등으로서 외용약, 의약, 건강기능성 식품 등으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도2

부종 유발제인 피엠에이 도포 이전 및 도포 이후에 미역 추출물을 도포하였을 경우의 부종 억제효과.



특허청구의 범위

청구항 1

메탄올, 에탄올, 아세트니트릴, 벤젠, 클로르포름, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 사이클로헥산, 에틸아세테이트 및 에테르로 이루어진 그룹 중에서 선택된 단일 용매 또는 2종 이상의 혼합 용매를 사용하여 미역 또는 미역 분말을 침지시킨 후 추출하고, 추출 원액을 여과 및 농축시킴으로써 수득한 항염증용 미역 추출물.

청구항 2

미역 분말을 헥산으로 1차 추출한 헥산 추출액을 제거한 후, 메탄올, 에탄올, 아세트니트릴, 벤젠, 클로르포름, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 사이클로헥산, 에틸아세테이트 및 에테르로 이루어진 그룹으로부터 선택된 단일 용매 또는 2종 이상의 혼합 용매를 사용하여 2차 추출한 항염증용 미역 추출물.

청구항 3

제1항에 있어서, 부종, 충혈, 통증, 고열의 예방 및 치료용인 미역 추출물.

청구항 4

제2항에 있어서, 부종, 충혈, 통증, 고열의 예방 및 치료용인 미역 추출물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <7> 본 발명은 특정 용매를 사용하여 추출한 항염증 활성을 갖는 미역 추출물 및 분획물, 및 당해 미역 추출물 및 분획물을 함유하는 항염증용 조성물에 관한 것이다.
- <8> 염증이란 다양한 물리적, 화학적 또는 생물학적인 원인, 즉 물리적 상해, 고온, 저온, 방사선, 자외선, 화학약품, 독물, 병원성 세균, 자가면역, 엘러지(allergy) 등으로 야기될 수 있으며 그 발생 과정도 복잡하다. 염증반응으로서 나타나는 증상은 체액이 조직세포 사이에 증가하여 나타나는 부종, 혈관확장에 따른 충혈, 발열물질과 혈관확장에 의한 발열, 히스타민의 방출과 부종에 의한 통증 현상 등으로 나타난다. 이러한 일련의 염증반응은 주로 지방산인 아라키돈산(arachidonic acid)이 사이클로옥시게나제-2(cyclooxygenase-2, COX-2) 및 5-리폭시게나제(5-lipoxygenase) 등에 의하여 프로스타글란딘(prostaglandin), 류코트리엔(leukotriene) 등으로 합성되어 염증반응과 퇴행성 질환의 발병에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(참조: Serhan CN., Pharmacol. Ther. 105, pp7-21, 2005).
- <9> 이피에이(EPA: Eicosapentaenoic acid) 및 디에이치에이(DHA: Docosahexaenoic acid)와 같은 n-3 계열의 고도 불포화 지방산들도 아라키돈산의 대사를 저해하여 관절염과 같은 염증의 완화작용을 나타내는 것으로 알려져 있으며(참조: Curtis CL., et al., J. Biol. Chem., 275, pp721-724, 2000), 이는 식품첨가(참조: Lee TH., et al., New Eng. J. Med., 312, pp1217-1224, 1985)로나 피부도포(참조: Puglia C., Int. J. Pharm., 299, pp41-48, 2005)로서도 효과를 나타낸다. 또한 미역에서 분리한 지방산인 18:4 n-3도 염증 유발에 관여하는 류코트리엔(leukotriene)의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다(참조: Ishihara K., et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 62, pp1412-1415, 1998).
- <10> 미역(Undaria pinnatifida)은 갈조류의 해조류로서 우리나라, 일본, 중국의 온대해역에서만 서식하는 일년생이며 주로 외해 또는 외해에 가까운 만의 수심 1 내지 8 m 암반에 분포한다. 겨울철 및 봄철에 성장하며, 성숙한 염체는 1 내지 2 m에 이른다. 우리나라에서는 2004년의 경우 자연산 채취로서 약 7 백톤(습중량) 정도 수확하였으며, 양식산으로서는 약 26 만톤(습중량)을 수확하였다(참조: 한국수산회, 수산연감. <http://fs.fips.go.kr>. 2005). 이는 물미역, 건조미역 또는 염장미역의 형태로 가공되어 대부분 식용으로 소비되고 있다.
- <11> 이와 같은 미역은 예로부터 해채, 머육, 자채, 참미역, 진곽 등의 이름으로 산모들이 출산 후에 산후조리용으로 많이 섭취하여 왔다. 1613년에 편찬된 허준의 동의보감(참조: 동의보감 편찬위원회, 대역 동의보감, pp. 2198,

1999)에 의하면 미역은 성질이 차고 맛이 짜며, 독이 없다. 이는 열이 나면서 답답한 것을 없애고 영류와 기가 뭉친 것을 치료하며 소변이 잘 나오게 한다고 한다. 중국에서도 전통적으로 미역을 소변이 잘 나오게 한다거나 부종의 치료에 사용하였다고 한다(참조: Tseng and Chang, Hydrobiologia, 116/117, pp. 152-154, 1984). 이러한 사용 목적은 대부분 항염증 효과와 관련된 것으로 여겨진다.

<12> 한편, 미역에 대한 국내에서의 최근 연구개발은 미역의 유기용매 추출물이 쥐의 자궁 수축작용 촉진(참조: 허 등, 생약학회지, 23, pp. 146-152, 1992), 미역의 쥐 대장암 상피세포 분열 영향(참조: 이 및 성, 한국식품영양학회지, 30, pp. 535-539, 2001), 미역 포자엽에서의 푸코이단(fucoidan)의 항 혈액응고 작용(참조: 구 등, 한국수산학회지, 34, pp. 515-520, 2001), 미역 섭취가 지질, 혈당, 항산화에 작용(참조: 조 및 방, 한국식품영양과학회지, 33, pp. 987-994, 2004), 미역 포자엽에서 분리한 항산화 물질의 특성연구(참조: 유 등, 한국미생물학회지, 32, pp. 307-311, 2004) 등이 항염증 작용과 관련하여 간접적으로나마 연구되어 있는 것으로 보인다. 또한, 외국에서 수행된 미역의 효능연구들은 다음과 같다. 미역은 간에서 지방함량 감소와 지방분해의 베타-산화(beta-oxidation) 관련 효소들의 증가효과로서 고지혈증을 예방할 수 있으며(참조: Murata et al., J. Nutr., 129, pp.146-151, 1999), 미역의 황 함유 다당류인 푸코이단(fucoidan)은 헤르페스 심플렉스(Herpes simplex) 바이러스에 대하여 항 바이러스 작용이 있고(참조: Thompson and Dragar, Phytother. Res., 18, pp.551-555, 2004), 미역의 수용성 디펩티드(di-peptide)들은 안지오텐신 I 전환효소(angiotensin I converting enzyme)를 억제하는 고혈압 억제효과를 갖는다(참조: Suetsuna et al., J. Nutr. Biochem., 15, pp. 267-272, 2004)고 알려져 있다. 그러나, 지금까지 미역의 염증반응에 대한 연구는 미역에서 분리한 지방산인 18:4 n-3이 염증 유발에 관여하는 류코트리엔(leukotriene)의 생성을 억제한다(참조: Ishihara K., et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 62, pp. 1412-1415, 1998)는 논문 이외에는 구체적인 염증 억제효과에 대해서 보고된 바가 없다.

<13> 염증질환의 치료를 위하여는 국내에서도 여러가지 항염증 물질이 연구개발 되었으며 한국 특허로서는 고삼 추출물(등록특허 10-384661), 곰취 추출물(등록특허 10-0416482), 개오동나무의 카탈포사이드(등록특허 10-0421625), 클로렐라 추출물(공개특허 10-2004-0084376)에 대해 개시하고 있다. 그러나, 상기 문헌들에서도 미역 추출물의 항염증 작용에 대해서는 개시된 것이 없다.

<14> 따라서, 본 발명에서는 미역 추출물의 염증반응 억제효과를 생쥐를 사용한 항 부종(anti-edema), 항 충혈(anti-erythema), 해열(antipyretic) 및 진통(analgesic) 작용효과를 실험을 통하여 실시한 결과, 그 염증반응을 강력하게 억제시킴으로써 항염증 효과를 갖는다는 사실을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<15> 본 발명의 목적은 항염증 활성을 갖는 미역 추출물 및 분획물, 이의 제조방법 및 당해 미역 추출물 및 분획물의 항염증제로서의 용도, 및 당해 미역 추출물 또는 분획물을 함유하는 항염증용 조성물, 특히 부종의 억제 및 감소 촉진, 충혈의 제거 촉진, 진통, 및 해열 효과를 위한 스프레이 제제, 티슈 제제, 연고제 등을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

<16> 상기한 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 당해 분야에 일반적으로 공지된 미역을 집중적으로 연구한 결과, 본 발명자들은 미역으로부터 알코올을 이용한 추출물, 및 아세트니트릴을 이용한 아세트니트릴 분획물을 제조하였고, 이러한 미역 추출물 및 아세트니트릴 분획물을 함유하는 조성물을 마우스를 대상으로 하여 항 부종, 항 충혈, 해열, 및 진통 작용 효과를 실험한 결과, 항 염증 효과, 즉 부종, 충혈, 발열 및 진통에 대한 예방 및 억제 작용을 나타낸다는 놀라운 사실을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

<17> 따라서, 본 발명은 미역으로부터 알코올을 이용하여 추출한 미역 추출물, 미역으로부터 아세트니트릴을 사용하여 추출한 미역 분획물, 이러한 미역 추출물 및 분획물의 항염증제로서의 용도, 및 이들을 유효성분으로 포함하는, 염증 반응, 즉, 부종, 충혈, 발열 및 통증에 대한 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

<18> 한 가지 양태에서, 본 발명은 메탄올, 에탄올, 아세트니트릴, 벤젠, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 사이클로헥산, 에틸아세테이트 및 에테르로 이루어진 그룹으로부터 선택된 단일 용매 또는 2종 이상의 혼합 용매를 사용하여 미역 분말을 침지시킨 후 추출하고, 수득한 추출 원액을 여과 및 농축시킴으로써 수득한 항 염증용 미역 추출물에 관한 것이다.

<19> 다른 양태에서, 본 발명은 미역 분말을 헥산으로 1차 추출한 다음, 메탄올, 에탄올, 아세트니트릴, 벤젠, 클로

로포름, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 사이클로헥산, 에틸아세테이트 및 에테르로 이루어진 그룹으로부터 선택된 단일 용매 또는 2종 이상의 혼합 용매를 사용하여 2차 추출한 미역 분획물 및 이들의 유효 성분에 관한 것이다.

<20> 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기한 미역 추출물 및 미역 분획물의 항염증제로서의 용도에 관한 것이다.

<21> 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기한 미역 추출물 또는 미역 분획물을 유효 성분으로 함유하는, 부종, 충혈, 통증, 고열 등에 대한 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

<22> 본 발명에서 사용되는 미역은 갈조류에 속하는 해조류로서, 수심 1 내지 8 m 암반에서 서식하는 성체 길이가 약 1 내지 2 m의 것을 사용하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 발명에서 사용되는 미역은 충분히 성숙하면 엽면부, 줄기, 미역귀의 엽면, 미역귀의 줄기, 가근 부위로 분화되며, 미숙기에는 미역귀 부분이 성숙되기 전의 자루로서 구성되어 있다. 미역은 개체가 크기 때문에 쉽게 조직 부위들을 분리할 수 있어, 가장 효능이 좋은 부위만을 선택적으로 이용하는 것이 가능하다.

<23> 또한, 미역은 형태 및 서식지에 따라 크게 엽면이 넓은 남방형(*U. pinnatifida* f. *typica*)과 비교적 엽면이 좁고 줄기까지 길게 갈라져 있는 북방형(*U. pinnatifida* f. *distans*)으로 나뉘어지므로, 서식지에 따라서 보다 효능이 우수한 미역을 선택적으로 이용할 수가 있는데, 항 부종 효과에 있어서 북방형이 남방형보다 효력이 약간 더 높으나, 통상 둘 다 우수한 항 부종 효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다.

<24> 본 발명에 따라, 미역 또는 미역 분말로부터 유용한 성분을 추출하는데 사용되는 용매로서의 알코올은 메탄올, 에탄올, 아세토니트릴, 벤젠, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 사이클로헥산, 에틸아세테이트, 및 에테르로 이루어진 그룹 중에서 선택될 수 있으며, 이들은 단독으로 사용되거나 2개 이상의 혼합 용매로서 사용될 수 있다.

<25> 또한, 본 발명에 따라, 미역 또는 미역 분말로부터 유용한 성분을 추출하기 위해서는, 1월 내지 5월에 채취한 미역을 음건(陰乾)한 후 이를 과쇄하여 사용하는데, 미역 분말을 상기한 바와 같은 알코올 용매중에서 1일 동안 침지시킨 후 실온에서 추출하여 이를 농축시킨다. 일반적으로, 해조류인 미역에는 본질적으로 소금 등의 기타 성분 등이 포함되어 있으므로, 이러한 소금 성분 등이 알코올 추출물에 섞이는 것을 방지하거나, 당해 성분들을 제거하기 위해 미역 분말을 알코올에 용해 및 농축하여 미역 추출물을 추출하는 과정을 수회 반복하는 것이 바람직하다.

<26> 한편, 상기한 바와 같은 본 발명의 미역 추출물 제조방법에 따라, 용매로서 메탄올로 추출한 미역 추출물을 사용하여 사람 피부세포주인 HaCaT 세포주에 대한 세포독성을 조사한 결과, 처음의 미역 분말 상태에서 핵산을 사용하여 핵산 용해분을 제거한 다음 수득된 생성물을 다시 메탄올로 추출하여 제조한 미역 추출물을 사용하여 시험하는 경우에, 동일 농도에서 훨씬 더 우수한 세포 생육 효과를 나타내었다. 따라서, 상기 미역 추출물중에 포함되는 세포 생육, 특히 사람 피부세포주의 생육을 억제하는 물질은 핵산 처리에 의해 쉽게 제거할 수 있다는 사실을 밝혀내었다.

<27> 이러한 관점에서, 본 발명에서는 소금 성분 및 핵산 가용 성분이 없는 미역 추출물을 만들기 위한 아세토니트릴 추출물을 제조하였으며, 당해 추출물은, 예들 들면, 미역 분말을 핵산으로 1차 추출한 핵산 추출물을 제거하고 난 후, 아세토니트릴을 가하여 1일 동안 실온에서 2회 추출한 후 이를 농축시켜 제조하였다.

<28> 상기와 같이 제조한 본 발명의 미역 추출물, 또는 이의 분획물은 약학적 조성물에 유효 성분으로서 포함되어 각종 염증질환 또는 알레르기요 야기되는 부종, 충혈, 통증, 발열 등을 예방 및 치료하는데 사용될 수 있다.

<29> 또한, 본 발명의 미역 추출물, 이의 분획물은 염증 반응의 증상인 부종, 충혈, 발열 및 통증을 예방 및 치료하기 위해 스프레이 제제, 티슈 제제, 연고제 등으로 제제화시킬 수 있다.

<30> 본 발명은 다음의 실시예에 의해 보다 상세히 설명되지만, 이는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 기술적 사상 및 범위가 이러한 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<31> 실시예 1

<32> 미역 추출물의 제조

<33> 부산광역시 기장군 연근해 미역 양식장에서 2004년 및 2005년 1-5월에 채취한 미역을 음건한 후 과쇄하여 사용하며, 메탄올을 사용한 미역 추출물은 미역 분말 20 g에 메탄올 1 리터(ℓ)를 가하여 1일 동안 실온에서 추출한 다음 이를 농축하여 제조한다. 이때 미역 추출물에 함유된 소금 성분 등을 제거하기 위하여, 소금 성분이 눈에 보이지 않을 때까지 메탄올에 용해 및 농축을 수회 반복하여 추출하면 미역 분말 1 kg 당 11.2 g 정도로 제조할

수 있다. 또한 소금성분 및 헥산(hexane) 가용 성분이 없는 추출물을 만들기 위한 아세토니트릴 추출물은 미역분말 1 kg 당 20 ℓ의 헥산으로 1차 추출하여 헥산 추출액을 제거한 후에, 20 ℓ의 아세토니트릴을 가하여 1 일 동안 실온에서 2회 추출한 다음, 이를 농축하면 4.7 g 정도의 미역 건조 추출물을 얻었고, 이들 모두 -20℃에서 보관하면서 본 발명의 실험에 사용하였다.

<34> 실험예 1

<35> 동물 모델에서의 부종 억제효과

<36> 당해 실험예에서는, 상기 실시예 1의 미역 추출물에 대한 생체내(in vivo) 부종 억제능력 및 약리효과를 확인하기 위하여, 실험군당 최소 7마리 이상의 발브씨 마우스(BALB/c mouse)를 사용하였다. 미역 추출물은 40 mg 당 1 ml의 에탄올에 용해시켜서 사용하였다. 부종의 유발은 마우스 한쪽 귀의 안쪽 면에 아세톤(acetone)으로 용해한 피엠에이(PMA: Phorbol myristate acetate: 0.2 µg/10 µL 농도)를 10 µL 씩 골고루 도포하여 10시간 후에 마이크로미터(Spring-loaded micrometer: Mitutoyo Corp.)로 부종 두께를 측정한다. 이때 미역 추출물은 0.4 mg/10 µL 농도로서 10 µL 씩 같은 방법으로 도포한다. 부종값은 $(T_{10}-T_0)/T_0$ 로서 표시하며, 이때 T_{10} 은 PMA 도포 10시간 후의 귀 두께이며 T_0 는 0 시간 때의 귀 두께이다. 추출물이 없는 에탄올 자체만을 포함한 대조구의 PMA 경우 약 0.81 ± 0.04 의 값을 보였다. 상대적 억제율(%)은 $(1 - \text{추출물부종값}/\text{대조구부종값}) \times 100$ 으로 표시한다.

<37> 피엠에이(0.2 µg/10 µL 아세톤)에 대한 미역 추출물(10 µL)의 농도를 달리하면서 50% 부종 억제율을 보이는 농도, 즉 IC_{50} 은 10.3 mg/mL이었다(참조: 도 1). 미역 추출물의 40 mg/mL 농도에서는 85% 억제로서 거의 대부분 억제하였다. 미역추출물의 80 mg/mL 농도에서도 대부분 억제하였으나, 농도가 너무 진하여 실험하기가 곤란함으로 다음부터의 실험은 40 mg/mL 농도에서 실험하였다.

<38> 미역 추출물의 부종 예방효과를 확인하기 위하여, 미역 추출물을 미리 실험동물에 도포한 후 피엠에이를 나중에 도포하여 부종을 야기시켰다. 이때 추출물을 30분 정도 이전에 도포하여 두면 나중에 부종을 최대한 완벽하게 예방할 수 있으며, 1시간 이내에 도포하여 두어도 나중에 부종을 거의 완벽히 예방할 수 있다(참조: 도 2). 부종을 일으키는 피엠에이를 먼저 도포하고 나서 나중에 미역추출물을 도포할 경우는 시간이 경과될수록 억제 효과가 약해지므로 가능한 빨리 도포하는 것이 바람직하다. 부종의 50% 정도를 감소시키기 위해서는, 부종 야기시점을 기준으로 사전예방은 3시간 이내, 사후치료는 2시간 이내에 도포하여야만 이를 감소시킬 수 있다.

<39> 또한, 부종이 가장 심할 시기, 즉 피엠에이를 도포한 후 10시간 후에 미역 추출물을 도포하여 부종의 감소 정도를 조사한 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 추출물에 의하여 부종이 보다 빠르게 감소되었다. 부종이 50% 감소되는데 걸리는 시간을 비교하면 자연적 감소에는 31.5 시간이 소요되는데 반하여, 미역 추출물을 도포한 경우는 23.5 시간만이 소요되었다.

<40> 미역은 충분히 성숙하면 엽면부, 줄기, 미역귀의 엽면, 미역귀의 줄기, 가근 부위로 분화되며 미숙기에는 미역귀 부분이 성숙되기 전의 자루로서 구성되어 있다. 미역은 개체가 크기 때문에 쉽게 조직부위들을 분리할 수 있고 이에 따라 가장 효능이 좋은 부위만을 선택적으로 이용할 수도 있으므로, 이들 부위들을 완전 성숙된 미역(길이 1 m 이상)과 미성숙된 미역(길이 20 cm 이하)으로부터 분리하여, 조직 부위별로 부종에 대한 억제 효과를 각각 조사하였다. 그 결과, 표 1에 나타난 바와 같이, 미역의 엽면부가 부종을 96% 만큼 억제하는 가장 강한 효력을 지녔다. 전반적으로는 성숙된 미역이 부종 억제 효능이 높았다.

【표 1】

	성숙미역		미성숙미역	
	부종값	억제율 (%)	부종값	억제율 (%)
엽면	0.03 ± 0.02	96	0.16 ± 0.04	80
줄기	0.16 ± 0.06	80	0.26 ± 0.03	68
자루	-	-	0.24 ± 0.03	70
미역귀엽면	0.08 ± 0.05	91	-	-
미역귀줄기	0.45 ± 0.05	44	-	-
가근	0.37 ± 0.12	54	0.23 ± 0.06	72

<42> 한편, 미역은 형태 및 서식지에 따라 크게, 엽면이 넓은 남방형 (*U. pinnatifida* f. *typica*)과 엽면이 비교적 좁고 줄기까지 길게 갈라져 있는 북방형 (*U. pinnatifida* f. *distans*)으로 나누어진다. 이들도 서식지에 따라 구분이 가능하기 때문에, 효능이 보다 우수한 미역을 선택적으로 이용할 수가 있으므로 이들을 각각 8번 이상 비교 시험하여 그 결과에 대한 평균치를 측정하였다. 그 결과, 표 2에 나타난 바와 같이 북방형이 약 92% 정도로서 약간 효력이 높았으나 남방형도 수치상으로는 낮은 값이지만, 이들 모두 부종을 거의 완전히 억제시켰다.

【표 2】

<43> 미역의 남방형 및 북방형 간의 부종 억제효과 비교. *: 평균±표준편차(P< 0.001).

	부종값	억제율 (%)
북방형(<i>Undaria pinnatifida</i> f. <i>distans</i>)	0.06±0.03*	92
남방형(<i>Undaria pinnatifida</i> f. <i>typica</i>)	0.14±0.03*	83

<44> 실험예 2

<45> 동물모델에서의 충혈 소멸 촉진효과

<46> 상기 실시예 1의 미역추출물을 이용하여 피부 충혈이 감소될 때 이를 촉진시킬 수 있는 효과를 알아보기 위하여, 실험군당 최소 7마리 이상의 발브씨 마우스(BALB/c mouse)의 귀에 부종을 일으키는 조건과 같이 피엠에이 (0.2 μg/10 μL 아세톤)와 미역 추출물 (0.4 mg/10 μL)을 도포한 후, 10시간 후에 충혈 정도를 디지털카메라로 촬영한다. 이를 컴퓨터상에서 포토샵 프로그램으로 충혈의 색상을 마젠타(Magenta) 값을 측정하였다. 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이 미역 추출물 처리로서 훨씬 빨리 충혈 정도가 사라지는 것을 볼 수 있다. 충혈 정도가 50% 감소되는데 소요되는 시간은 자연적 감소에는 25시간이 걸리는데 반하여, 미역 추출물 처리 경우는 12시간 만이 소요되었다.

<47> 실험예 3

<48> 동물모델에서의 진통효과

<49> 상기 실시예 1의 미역 추출물에 대한 생체내(in vivo) 진통효과를 알아보기 위하여 실험군당 최소 10마리 이상의 발브씨 마우스 (BALB/c mouse)를 사용하였다. 미역 추출물을 쥐의 복강에 주사한 후 30분 지나서 통증을 유발시켰다. 통증 유발은 Nakamura 등 (1986)의 방법에 따라 0.7% 초산을 쥐의 복강에 체중 10 g 당 0.1 mL 씩 주사하여 통증으로 인한 몸통의 뒤틀림 수를 측정하였다. 이때 초산 주사 후 5분 이후부터 시작하여 15분 동안 몸통 뒤틀림 횟수를 계산하였다. 초산만을 주사하였을 경우는 33 ±0.7 회였으나, 미역 추출물을 많이 주사할수록 진통효과는 강하게 나타났으며, IC₅₀, 즉 통증을 1/2로 줄이는데 필요한 미역추출물의 양은 마우스의 체중 1 kg 당 0.48g 이었다(참조: 도 5).

<50> 실험예 4

<51> 동물모델에서의 해열효과

<52> 상기 실시예 1의 미역 추출물에 대한 생체내(in vivo) 해열효과를 알아보기 위하여, 실험군당 최소 10마리 이상의 발브씨 마우스 (BALB/c mouse)를 사용하여, 쥐의 체온을 문헌[참조: Teotino et al. (1963), J. Med. Chem., 6. PP248-250, 1963]과 같은 방법으로 상승시켰다. 이 방법은 생리식염수에 15%의 효모 현탁액을 만든 후 쥐의 체중 10 g 당 0.1 mL 정도로 등 부위에 피하 주사하였다. 이후에, 시간 별로 항문의 온도를 가느다란 센서가 달린 전자온도계 (Fisher Traceable Total-Range Thermometer)로서 측정하였다. 온도는 효모 주사 후, 24 시간 후에 최대로 상승하였으므로, 24시간 때에 추출물을 체중 10 g 당 0.1g의 농도로 5% 트윈-80 (Tween-80) 0.1 mL에 용해시켜 경구투여하였다. 경구투여 후 체온의 변화를 조사한 결과, 시간에 따라 체온의 감소가 많이 이루어지기 시작하여 2 시간 반까지도 감소된 체온이 유지되었다(참조: 도 6). 참고로 비교한 아스피린의 경우와도 상당히 유사한 정도의 해열 작용 효과를 지닌다.

<53> 실험예 5

<54> 동물모델에서의 독성검사

<55> 상기 실시예 1의 미역 추출물에 대한 동물모델에서의 독성검사를 하기 위하여 실험군당 최소 10마리 이상의 마

우스를 사용하여, 6시간 동안 끓인 후, 체중 1 kg 당 15 g 또는 10 g에 상당하는 미역 추출물을 10 mL의 5% 트윈-80 (Tween-80) 용액에 용해시켜 1회 경구투여 하였다. 이후에, 3시간 동안 어떤 행동의 변화 및 2주 동안의 사망률을 조사하였다. 체중 1 kg 당 10 g의 미역 추출물을 투여한 경우는 3시간 동안 어떤 행동의 변화도 없었으며, 2주 동안에도 10마리 모두 생존하였다. 그러나, 15 g의 미역 추출물을 투여한 경우는 대부분 5 내지 10 분 내에 몸을 뒤로 움직이며 비틀거나 구토하려는 행동과 잠을 잘려고 하는 행동을 보였으며, 이는 너무 진한 고농도의 추출물에 기인하는 것으로 보인다. 또한, 19마리 중 6마리는 1일 이내에 사망하였으며, 나머지 13마리는 계속 생존하였다. 1일 후에 사망한 6마리를 해부하여 주요 장기의 변화를 조사한 결과, 표 3에 나타낸 바와 같이 위와 심장이 비대해져 있었으며, 위에는 다량의 미역 추출물이 그대로 남아 있었다. 그 외의 장기에는 유의할 만한 변화가 없었다. 따라서 쥐의 체중 1 kg 당 10 g을 투여하였을 경우에는 아무런 독성도 나타내지 않았으며, 또한 미역을 식품으로도 많이 섭취하고 있지만 아무런 부작용도 보고되어있지 않으므로 상용량의 섭취로서는 독성이 없는 것으로 판정하였다.

【표 3】

<56> 쥐의 체중 1 kg 당 미역 추출물 15g을 경구투여한 19마리 중 사망한 6마리의 주요 장기의 무게변화. *: 평균 ± 표준편차; P < 0.01.

	대조구	추출물 투여구 (15 g/kg)
심장	4.7±0.3	7.9±0.5*
신장	19.8±0.7	16.1±1.3
간	66.7±3.3	61.0±4.5
허파	7.4±0.1	7.2±0.2
췌장	4.0±0.1	5.0±0.5
지라	2.9±0.2	3.6±0.5
위	57.3±6.9	89.4±2.8*

<57> 추가로, 사람 피부세포주인 HaCaT 세포주를 사용하여 크리스탈 바이올렛 (crystal violet)으로 세포독성을 조사한 결과, 세포 배양액에 메탄올 추출물을 1%되게 첨가한 경우는 57.1% 정도 세포생육을 보였다. 그러나, 처음의 미역 분말 상태에서 헥산(hexane)으로 헥산 용해분을 제거한 후 이를 다시 메탄올로 추출물을 만들면 동일 농도로 첨가할 경우 90.6%의 세포생육을 나타내었다(데이터 생략). 따라서, 세포생육을 억제하는 물질은 헥산 처리로서 쉽게 제거할 수 있다.

<58> 임상에서 이들은 40 mg/mL (4%) 농도에서 부종을 85% 이상 거의 완벽하게 억제시켰으며, 부종을 일으키기 전 3 시간 또는 부종을 일으킨 후 2시간 이내 처리하면 부종을 50% 억제시킬 수 있고, 부종의 감소 시간도, 자연적으로 50% 감소하는데 31.5 시간이 소요되는 데 비하여 미역 추출물을 도포한 경우는 23.5 시간이 소요되었다. 충혈 정도가 50% 감소하는데 소요되는 시간은 자연적 감소에는 25시간이 소요되는 데 반하여 미역추출물 처리 경우는 12시간 만이 소요되었다. 그 외의 진통 해열 작용도 동시에 가지면서 독성이 거의 없는 상태로서 이는 피부에 스프레이 제제, 티슈 제제, 연고제 등으로 사용할 수 있다.

<59> 제제 예 1

<60> 스프레이 제제의 제조방법

<61> 본 발명의 미역 추출물을 유효성분으로 하는 항염증제는 피부 도포로 투여될 수 있으며, 하기에 일례로서 피부용 스프레이 제형으로 제조하였다. 그 외의 티슈용 제제는 동일방법으로 제조하여 티슈에 습윤시켜 제조하였다. 연고용 제제는 알코올 대신에 연고성분만 교체하여 동일하게 제조하였다. 유효성분 4%가 함유된 스프레이 제제는 통상의 액제의 제조방법에 따라서 혼합하고 50 mL의 피스톤방식 스프레이 용도의 플라스틱 용기에 충전한 액제로서 제조하였다.

<62>

<63> 실시예 1의 추출물.....4%

<64> 알코올.....80% (v/v)

- <65> 트윈-80 (Tween-80).....5%
- <66> 기타 글리세린, 트리스, 항산화제, 향료.....적량
- <67> 정제수를 가하여 전체 100%가 되게 맞추었다.

발명의 효과

- <68> 본 발명의 미역 추출물, 그 분획물 및 이들을 유효성분으로 하는 약학적 조성물은 부종의 억제 및 감소 촉진, 충혈의 제거 촉진, 진통, 해열의 작용 효과도 동시에 가지면서 독성이 거의 없으므로, 이는 피부에 각종 염증질환 또는 알레르기로 인해 야기되는 부종 및 충혈 등을 예방 및 치료하기 위한 스프레이 제제, 티슈 제제, 연고제 등으로 사용하기에 매우 유용하며, 결과적으로 외용약, 의약, 건강기능성 식품 등으로 광범위하게 사용할 수 있다.

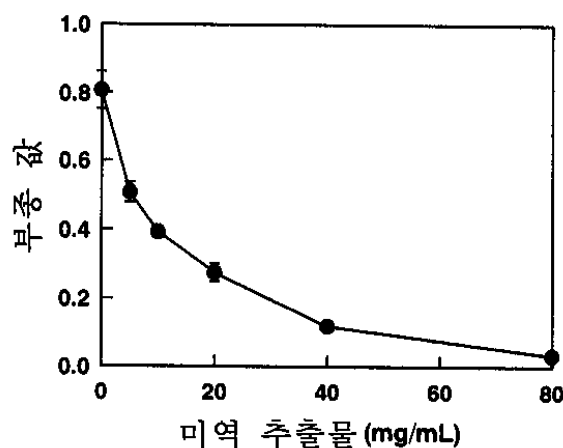
도면의 간단한 설명

- <1> 도 1은 본 발명에 따르는 미역 추출물의 농도에 따른 부종 억제효과를 도시한 것이다.
- <2> 도 2는 부종 유발제인 피엠에이(PMA: Phorbol myristate acetate)의 도포 이전 및 도포 이후에 본 발명에 따르는 미역 추출물을 도포하였을 경우의 부종 억제효과를 도시한 것이다.
- <3> 도 3은 부종이 소멸될 때 본 발명에 따르는 미역 추출물에 의한 소멸 촉진 효과를 도시한 것이다.
- <4> 도 4는 피부충혈이 소멸될 때 본 발명에 따르는 미역 추출물에 의한 소멸 촉진 효과를 도시한 것이다.
- <5> 도 5는 본 발명에 따르는 미역 추출물에 의한 진통 효과를 도시한 것이다.
- <6> 도 6은 본 발명에 따르는 미역 추출물에 의한 해열작용 효과를 도시한 것이다.

도면

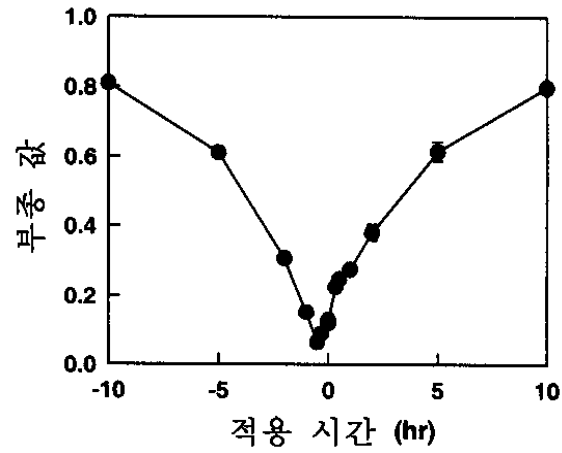
도면1

미역 추출물 농도에 따른 부종 억제효과.



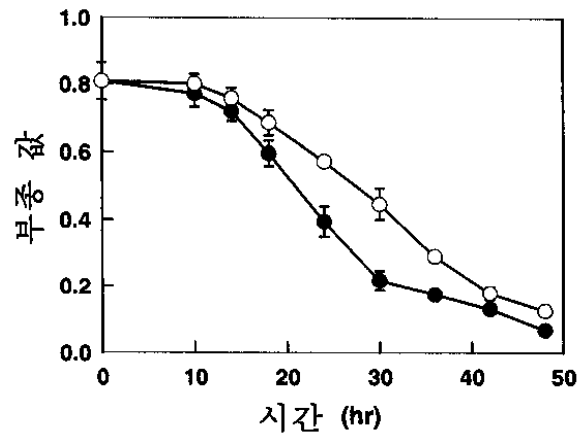
도면2

부종 유발제인 피엠에이 도포 이전 및 도포 이후에
미역 추출물을 도포하였을 경우의 부종 억제효과.



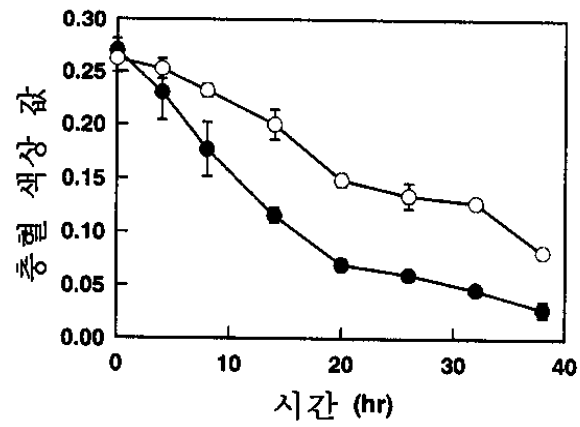
도면3

부종이 소멸될 때 미역 추출물에 의하여 소멸 촉진 효과.
미역 추출물 도포 경우 (●), 자연 소멸 경우 (○).



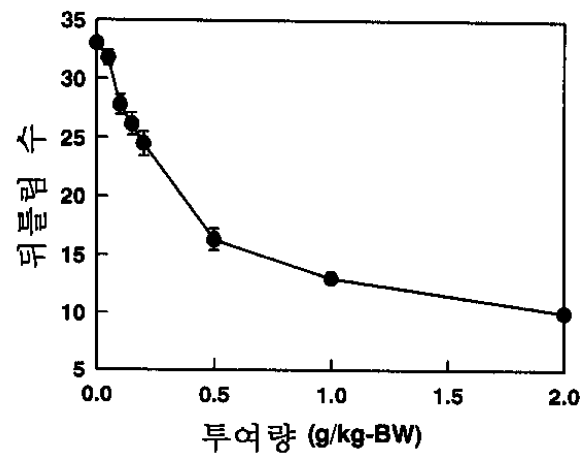
도면4

피부층혈이 소멸될 때 미역 추출물에 의한 소멸 촉진 효과.
미역 추출물 도포 경우 (●), 자연 소멸 경우 (○).



도면5

미역 추출물에 의한 진통 효과.



도면6

미역 추출물에 의한 해열작용 효과.

미역 추출물의 무처리구 (●);

미역추출물 10 g/kg 주사 (○);

아스피린 150 mg/kg 주사 (▼).

