



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0113320
(43) 공개일자 2012년10월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/05 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0030963

(22) 출원일자 2011년04월05일

심사청구일자 2011년04월05일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가 1

(72) 발명자

이광원

경기도 성남시 분당구 양현로 220, 삼환아파트
1104동 1901호 (이매동)

홍충의

서울특별시 동대문구 안암로20가길 13, 1층 (제기
동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김선애

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제와, 당뇨병 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 및 당뇨병 및 당뇨병병증 예방, 치료 또는 개선용 약제학적 조성물 및 건강기능성 식품 조성물에 관한 것이다. 상기 본 발명에 의한 매생이 추출물은 부작용 및 독성 발현율이 극히 낮고 생체 친화적이며 항산화 효과 및 항글라이케이션 활성이 우수하여 항산화 및 당뇨병/당뇨합병증 등의 예방, 치료 또는 개선에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도5

Fractions	Concen(μg/ml)	Inhibition(%)	IC50(μg/ml)
CFE	100	16.48±1.18	635.37
	500	51.26±0.26	
	1000	66.34±0.23	
CFE-H	100	31.61±0.54	571.38
	500	52.55±0.33	
	1000	74.69±0.17	
CFE-C	100	25.83±3.19	1007.69
	500	37.87±0.08	
	1000	49.37±1.16	
CFE-E	100	10.96±0.51	2757.33
	500	14.69±0.52	
	1000	24.30±4.19	
CFE-B	100	4.15±0.38	2852.35
	500	8.57±0.43	
	1000	19.57±0.22	
CFE-W	100	-0.43±0.17	4631.81
	500	5.97±0.42	
	1000	10.11±1.47	
Aminoguanidine	10mM	53.77±0.27	

(72) 발명자

남미현

대구광역시 동구 안심로22길 55, 712동 1206호 (율하동, 율하휴먼시아7단지)

왕중

중국 산둥성 하택시 중화동로 916호

특허청구의 범위

청구항 1

매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 글라이케이션을 저해하는 것을 특징으로 하는 당뇨병 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 기재된 조성물을 포함하는 당뇨병 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 기재된 조성물을 포함하는 당뇨병 및 당뇨병병증 예방 또는 개선용 건강기능성 식품조성물.

청구항 5

매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 조성물은 화장품 조성물인 것을 특징으로 하는 항산화 제제 조성물.

청구항 7

- i) 매생이의 알콜 추출물을 수득하여 분말화하는 단계;
- ii) 단계 i)에서 얻어진 분말을 물에 녹인 후 1종 이상의 유기 용매를 이용하여 극성에 따라 순차적으로 추출하는 단계; 및
- iii) 단계 ii)에서 수득된 유기 용매 추출액을 젤 여과 크로마토그래피를 수행하는 단계를 포함하는 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물, 또는 당뇨 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 단계 iii)에서 유기 용매 추출액은 헥산 분획물인 것을 특징으로 하는 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물, 또는 당뇨 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 단계 iii)에서 젤 여과 크로마토그래피의 용출은 헥산 및 에틸아세테이트의 혼합용액을 이용하여 수행하는 것을 특징으로 하는 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물, 또는 당뇨 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법.

명 세 서

기술 분야

본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제와, 당뇨병 및 당뇨병병증 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 부작용이 전혀 없고 안전성이 확보되며 효능이 우수한 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제와, 당뇨병 및 당뇨병병증 예방, 치료 또는 개선용 약제학적 조성물 및 건강기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 비효소적 글라이케이션 또는 갈변 반응이라고도 불리는 마이알 반응은 1912년 프랑스 과학자 Louis Camille Maillard에 의해 처음으로 발견되었다. 1912년 이 반응에 대한 연구를 진행하면서 과학자 Maillard는 환원당을 아미노산과 함께 고온에서 가열했을 때, 노란색에서 갈색으로 색 변화가 일어난 것을 확인했다(Maillard, 1912, Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences 154:66-68).
- [0003] 상기 마이알 반응은 이전에는 식품 산업에서 식품의 조직감을 조절하기 위해 널리 사용되어 왔지만, 최근에는 다양한 질병과의 연관성으로 더 잘 알려져 있다. 특히, 마이알 반응과 밀접한 연관이 있는 질병으로는 알츠하이머와 같은 신경퇴행성 질병과 당뇨병과 그와 관련된 합병증이 있다(Reddy and Beyaz, 2006, Drug Discovery Today 11:646-54). 당화된 단백질의 구조적 변화는 세포에 존재하는 다양한 수용체를 변화시킴으로써 생리활성 기능을 상실하고 독성을 가지게 됨으로써 세포의 손상을 야기한다(Vlassara et al., 1994, Laboratory Investigation 70:138-151). 당화된 단백질은 알부민, 피부 콜라겐, 면역글로불린, 눈, 신장, 혈관조직과 같은 short 및 long-lived proteins에 형성된다(Thorpe and Baynes, 2003, Amino Acids 25:275-281).
- [0004] 글라이케이션 반응은 환원당의 카보닐 그룹과 단백질, 핵산, 인지질 등의 아미노 그룹 사이의 비효소적 반응으로서 최종당화산물인 AGEs(advanced glycation end-product)를 형성하는 것으로 초기 Schiff base를 형성하고 산화, 축합, 전위, 재배열에 의해 아마도리 화합물(Adadori compound)이 형성되고 최종적으로 비가역적인 최종당화산물이 생성된다(Reddy and Beyaz, 2006, Drug Discovery Today 11:646-54).
- [0005] 이미 많은 연구를 통해 당뇨병, 동맥경화, 말기 신부전증, 류머티스성 관절염, 신경퇴행성 질환 등 노화와 관련된 여러 가지 질병의 진행과정에서 글라이케이션이 밀접하게 관련되어 있다는 것을 보여주었다. 글라이케이션과 최종당화산물은 주로 long living 단백질의 기능에 영향을 미친다. 최종당화산물과 최종지질산화산물(ALEs)은 당뇨병에서 관찰되는 미세혈관 합병증(microvasculopathy), 거대혈관합병증(macrovasculopathy)의 진행을 가속화시킨다. AGEs는 당뇨병에 걸린 사람의 혈액과 조직에서 발견되며, 그 외에도 동맥경화, 알츠하이머, 말기신부전증, 류머티스 관절염, 간 경화증 등 다양한 병리학적인 상태에서도 발견된다(Sebekova et al., 2002, J Hepatol 36:66-71).
- [0006] 최종당화산물은 화학적 변형(chemical modification)과 교차결합이 단백질, 지질 그리고 DNA 조직의 구조와 기능에 영향을 미치고, 이로 인해 조직기능이 감소되며 당뇨와 당뇨합병증이 유발된다는 것이 알려져 있다(Jakus and Rietbrock, 2004, Physiol Res 53:131-42).
- [0007] 도 1은 비효소적 Maillard reaction의 반응과정과 AGEs의 생성을 보여주는 것으로, 반응초기에는 환원당의 카보닐 그룹과 단백질의 첫 번째 아미노산(라이신 알지닌) 그룹사이의 비효소적 반응으로 Shift-base를 형성하고 이는 더 나아가 아마도리 재배열(Adadori rearrangement)를 형성한다. 그리고 나서 분자간 산화와 탈수소작용, 응축의 복합적인 과정으로 AGRs와 같은, 일부는 형광성을 띄는, 축합물을 만든다(Derbre et al., 2010, Analytical and Bioanalytical Chemistry 398:1747-1758).
- [0008] 한편, 전이 금속 킬레이터 또는 자유 라디칼 소거능을 사용하거나 AGEs의 교차결합을 깨서 산화를 막아주는 즉, 반응성 디카보닐 종(reactive dicarbonyl species)을 억제하는 AGE 저해제(AGE inhibitor) 또는 브레이커(breaker)에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다.
- [0009] 아미노구아니딘(Aminoguanidine, AG), 피리독사민(pyridoxamine), 2,3-디아미노-펜나진(2,3-diaminophenazine), OPB-9195, 그리고 테닐세탐(tenilsetam)은 반응성 카보닐 중간체(reactive carbonyl intermediates)를 소거하여 AGEs 형성을 저해하며, N-phenacetylthiazoliumbromide (PTB)과 ALT-711는 AGE-크로스-링크 브레이커(AGE-cross-link breakers)로서 작용을 한다.
- [0010] RAGE를 통한 신호전달은 AS-ODNs(antisense oligodeoxynucleotides), RAGE 항체(RAGE antibodies) 또는 가용성 RAGE(soluble RAGE)에 의해 저해될 수 있다.
- [0011] 아미노구아니딘(AG)은 잘 알려진 최종당화산물 저해제로서 *in vitro*와 *in vivo*에서 메틸글리옥살(methylglyoxal), 3-디옥시글루코손(3-deoxyglucosone)과 같은 아마도리(Adadori) 생성물, 중간생성물, 그리고 환원당의 카보닐 그룹과 반응하여 최종당화산물의 형성을 억제하였다.

- [0012] 도 2는 아미노구아니딘에 의해 AGEs 생성 저해 과정을 나타내며, AGEs에 의한 단백질의 결합이 아미노구아니딘에 의해 저해되는 과정을 도식화 하였다.
- [0013] 한편, 녹색 해조류인 매생이(*Capsosiphon fulvescens*; CF)는 한국과 일본에서 식재료로서 중요한 해조 중 하나이다. 매생이는 독특한 향미와 부드러운 텍스처를 가지고 있으며, 한국에서는 전통적인 민간 식품으로 널리 섭취하고 있다. 매생이는 필수 및 유리아미노산과 단백질 함량은 매우 높은 반면에, 지질, 탄수화물, 식이섬유의 함량은 매우 낮다(Hwang et al., 2008, Applied Phycology 20:147-151).
- [0014] 매생이는 AGS cell line을 이용한 IGF-IR-mediated PI3K/Akt 경로를 통해 위암 세포의 자멸을 유발하는 것으로 알려져 있고, 매생이에 포함되어 있는 다당류는 MAPK 신호 통로를 활성화시켜서 IEC-6 세포의 성장을 자극하는 것으로 알려져 있다(Go et al., 2010, Mar Biotechnol (NY)). 또한 매생이의 추출물이 알코올과 연관된 질병에 대한 효과의 유무를 입증하기 위한 연구가 진행되어 왔다(Hwang et al., 2008, Food and Chemical Toxicology 46:2653-2657).
- [0015] 그러나 매생이는 오래전부터 식재료로 섭취가 되어 왔으나 당뇨/당뇨합병증의 치료 및 예방효능에 대해서는 현재까지 연구되거나 알려진 바 없다.
- [0016] 당뇨병은 대표적인 만성 성인병의 하나로, 우리나라의 당뇨병 환자는 전체 인구의 약 5 % 정도, 최소 250만 명으로 추정되고 있다. 선진국의 경우에 당뇨병 환자 수가 매년 격증하고 있으며, 우리나라도 생활수준의 향상과 더불어 생활양식이 서구화되면서 점차 환자의 수가 증가될 것으로 예상된다. 당뇨병은 신체 세포들이 혈당(glucose)을 정상적으로 사용할 수 있는 능력에 장애가 생겨 혈당치가 증가하여, 혈당이 증가됨에 따라 과량의 당분이 소변으로 배설되는 대사성 질환이다. 따라서 당뇨병은 인슐린이 부족하거나 인슐린 저항성이 생긴 경우에 발병하게 되는데 인슐린을 대체하여 혈액 내의 포도당 농도를 낮추는 약물이 당뇨 치료제로 사용되고 있다. 종래 당뇨 치료제는 여러가지 부작용으로 사용에 한계가 있다. 또한, 당뇨병의 위험성은 당뇨로 인해 나타나는 여러가지 합병증 때문이므로, 합병증의 예방 및 치료가 매우 중요하다.
- [0017] 따라서, 종래의 당뇨 치료제와 동등하거나 그 이상의 효능을 나타내면서도 인체에 대해서는 좀 더 안전한 새로운 항산화 제제와, 당뇨병/당뇨병 합병증 예방, 치료 또는 개선용 물질을 개발해야 할 필요성이 계속적으로 대두되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0018] 본 발명자들은 부작용이 전혀 없고 안전성이 확보되면서도 우수한 항산화 효과와, 당뇨/당뇨합병증의 치료 및 예방효능 효과를 나타내는 소재를 천연물로부터 개발하고자 연구를 거듭하였으며, 그 결과, 우리나라 전역에 다량 서식하나 크게 활용되지 못하고 있었던 매생이의 항산화 효과와 당뇨/당뇨합병증의 치료, 예방 및 개선 효능을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0019] 따라서 본 발명의 목적은 독성 및 부작용이 전혀 없으며 효능이 우수한 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 및 당뇨합병증 예방, 치료 또는 개선용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0020] 본 발명의 다른 목적은 상기 조성물을 함유하는 약제학적 조성물 및 건강기능성 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 목적은 독성 및 부작용이 전혀 없으며 효능이 우수한 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물을 제공하는 것이다.
- [0022] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 더욱 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

- [0023] 상기한 목적을 달성하기 위해, 본 발명의 일측면에 따르면, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 및 당뇨병증 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 다른 일측면에 따르면, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 상기 조성물을 포함하는 당뇨병 및 당뇨병증 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 상기 조성물을 포함하는 당뇨병 및 당뇨병증 예방 또는 개선용 건강기능성 식품조성물을 제공한다.
- [0026] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 본 발명은 i) 매생이의 알콜 추출물을 수득하여 분말화하는 단계, ii) 단계 i)에서 얻어진 분말을 물에 녹인 후 1종 이상의 유기 용매를 이용하여 극성에 따라 순차적으로 추출하는 단계; 및 iii) 단계 ii)에서 수득된 유기 용매 추출액을 젤 여과 크로마토그래피를 수행하는 단계를 포함하는 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물, 또는 당뇨/당뇨합병증 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법을 제공한다.
- [0028] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다.
- [0029] 본 발명자들은 매생이를 70% 에탄올을 사용하여 추출하였고, 글라이케이션에 대한 매생이의 활성 물질을 분리하기 위해서 용매 분획법을 사용하였다. 상기 매생이 추출물 및 그로부터 분리된 헥산 분획물의 총폴리페놀 함량, 철이온의 환원력을 이용한 항산화 효과 및 글라이케이션 저해효과를 확인하고 본 발명을 완성하였다(도 3 ~ 도 6).
- [0030] 따라서, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 및 당뇨병증 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [0031] 또한, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물을 제공한다.
- [0032] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물, 건강기능성 식품 조성물 또는 화장료 조성물인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.
- [0033] 본 발명의 상기 조성물은 항산화 효과와 글라이케이션을 저해하여 당뇨와 당뇨병증 유발과 관련된 최종당화산물의 생성을 억제하는 것을 특징으로 한다.
- [0034] 본 발명에 있어서, 추출물에는, 추출, 분획 및 정제 처리의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그 회석액 또는 농축액, 또는 그 건조물 중 어느 하나라도 포함하는 것으로 한다.
- [0035] 본 발명에 있어서, 상기 추출용매는 물, 탄소 수 1 내지 4의 저급 알코올 및 이들의 혼합용매로 이루어진 군 중에서 선택된 것이 바람직하고, 상기 추출은 70% 에탄올을 용매로 사용하여 추출된 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.
- [0036] 상기 알코올 추출물은 극성이 다른 유기용매를 이용하여 더욱 분획할 수 있으며, 각종 크로마토그래피를 이용하여 더욱 정제할 수도 있다. 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 조성물은 바람직하게 매생이의 헥산(hexane) 분획물을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0037] 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 헥산 분획물은 실리카 겔 60 또는 sepadex LH-20 컬럼 등 공지의 기술을 이용하여 분리, 정제될 수 있다. 또한, 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 조성물은 크로마토그래피를 이용하여 헥산 및 에틸아세테이트의 혼합용액으로 용출된 분획물을 포함한다. 더욱 바람직하게 상기 조성물은 실리카겔 80:20 (헥산:에틸아세테이트) 분획물을 포함한다.
- [0038] 본 발명의 조성물에서, 바람직하게는 조성물 총중량에 대하여 상기 매생이 추출물은 0.0001 내지 90 중량%로 포함할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 다른 일측면에 따르면, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 상기 조성물을 포함하는 당뇨병 및 당뇨병증 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

- [0040] 앞에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 매생이 및 이를 포함하는 매생이 추출물(또는 분획물)은 최종당화산물인 AGE의 생성을 억제하여, 본 발명의 조성물은 최종당화산물의 생성에서 기인되는 당뇨 또는 당뇨성 망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경병증, 당뇨성 지방간 등과 같은 당뇨합병증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 약제학적 조성물은 당업계에 알려진 통상의 방법에 의해 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 주사제, 크림, 젤, 패취, 분무제 또는 연고제 등의 형태로 제제화될 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 추출물을 유효성분으로 함유하는 약제학적 조성물은, 약제학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0043] 통상적으로 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 추출물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 추출물은 1일 기준으로 0.001 내지 2000 mg/kg으로, 보다 효과적이기 위해 0.01 내지 150 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0045] 본 발명의 추출물은 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 본 발명은 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 상기 조성물을 포함하는 당뇨병 및 당뇨합병증 예방 또는 개선용 건강기능성 식품조성물을 제공한다.
- [0047] 앞에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 매생이 및 이를 포함하는 매생이 추출물(또는 분획물)은 최종당화산물인 AGEs의 생성을 억제하여, 본 발명의 조성물은 최종당화산물의 생성에서 기인되는 당뇨 또는 당뇨성 망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경병증, 당뇨성 지방간 등과 같은 당뇨합병증의 예방 및 개선에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0048] 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함한다. 본 명세서에서 건강기능성 식품이란, 건강기능 식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [0049] 본 발명의 식품 조성물에서, 유효성분의 혼합량은 사용목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 이에 한정되는 것은 아니며 상기 추출물은 조성물 총중량에 대하여 0.0001 내지 90 중량%로 포함될 수 있다. 본 발명의 식품은, 식품학적으로 허용 가능한 식품보조첨가제를 더 포함할 수도 있으며, 환제, 분

말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 음료 형태로 제제화될 수 있다.

- [0050] 예를 들어, 상기 정제 형태의 건강기능성 식품은 그대로 또는 부형제, 결합제, 붕해제 또는 다른 첨가제를 넣어 고르게 섞은 것을 적당한 방법으로 과립상으로 한 다음 활택제 등을 넣어 압축성형하여 조제하거나 정제 형태의 건강기능식품을 그대로 또는 부형제, 결합제, 붕해제 또는 다른 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 것을 직접 압축성형하여 만들거나 또는 미리 만든 과립에 건강기능식품을 그대로 혹은 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 다음 압축성형하여 조제하거나 건강기능식품에 부형제, 결합제 또는 다른 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 분말을 용매로 습윤시키고, 습윤된 분말을 저압으로 틀에 넣어서 성형한 후, 적당한 방법으로 건조하여 조제한다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품에 필요에 따라 교미제 등을 넣을 수 있으며, 적당한 제피제로 제피 가능하다.
- [0051] 상기 캡셀 형태의 건강기능성 식품 중 경질캡셀제는 보통 캡셀에 건강기능식품 또는 건강기능식품에 적당한 부형제 등을 고르게 섞은 것 또는 적당한 방법으로 입상으로 한 것 또는 입상으로 한 것에 적당한 제피제로 제피한 것을 그대로 또는 가볍게 성형하여 충전하여 조제하며, 연질캡셀제는 보통 캡셀에 건강기능식품 또는 건강기능식품에 적당한 부형제 등을 넣은 것을 젤라틴 등 적당한 캡셀기체에 글리세린 또는 소르비톨 등을 넣어 소성을 높인 캡셀기체로 피포하여 일정한 형상으로 성형하여 조제하며, 필요에 따라 상기 캡셀기체에 착색료 보존료 등을 첨가할 수 있다.
- [0052] 상기 환형태의 건강기능성 식품은 보통 건강기능식품에 부형제, 결합제, 붕해제 등을 고르게 섞은 다음 적당한 방법으로 구상으로 성형하여 조제하며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0053] 또한, 본 발명의 조성물은, 관련 질환의 예방을 위한 건강보조식품의 식품보조첨가제로서 사용될 수 있다. 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있으며, 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.
- [0054] 이때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물의 양은, 일반적으로 본 발명의 식품 조성물의 경우 전체식품 중량의 0.0001 내지 50 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물의 경우 100ml를 기준으로 0.0001 내지 20 중량%로 가할 수 있다.
- [0055] 본 발명에서 정의되는 추출물 이외의 식품보조첨가제는 당업계에 통상적인 식품첨가제, 예를 들어 향미제, 풍미제, 착색제, 증진제, 안정화제 등을 포함한다.
- [0056] 상기 음료 조성물의 경우, 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물 이외 함유하는 액체 성분에는 특별한 제한점은 없으며, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 예를 들어, 포도당, 과당 등의 모노사카라이드 예를 들어, 말토오스, 수크로오스 등의 디사카라이드 예를 들어, 텍스트린, 사이클로 텍스트린 등의 폴리사카라이드 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.
- [0057] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.001 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0058] 또한, 본 발명은 본 발명의 매생이 추출물 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물을 제공한다. 상술한 바와 같이, 본 발명에 의한 조성물은 항산화 효과가 있으므로, 화장료 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.
- [0059] 화장료 조성물에 포함되는 성분은 매생이와 그로부터 분리된 핵산 분획물, 핵산 분획물로부터 분리된 실리카겔 80:20 (핵산:에틸아세테이트) 분획물 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예를 들어 항산화제, 안정화제, 용제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다.

또한 상기 화장료 조성물은 그 효과를 증진시키기 위해 피부 흡수 촉진제를 추가로 포함할 수 있다.

[0060] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 또는 스프레이 등으로 제형화 될 수 있다. 보다 상세하게는 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 매생이와 그로부터 분리된 핵산 분획물, 핵산 분획물로부터 분리된 실리카겔 80:20 (핵산:에틸아세테이트) 분획물은 화장료 총 중량에 대해 0.001~50 중량%의 양으로 첨가되어 사용될 수 있지만 이에 한정되는 것은 아니다.

[0062] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 본 발명은 i) 매생이의 알콜 추출물을 수득하여 분말화하는 단계, ii) 단계 i)에서 얻어진 분말을 물에 녹인 후 1종 이상의 유기 용매를 이용하여 극성에 따라 순차적으로 추출하는 단계; 및 iii) 단계 ii)에서 수득된 유기 용매 추출액을 젤 여과 크로마토그래피를 수행하는 단계를 포함하는 매생이 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 제제 조성물, 또는 당뇨/당뇨합병증 예방 또는 치료용 조성물의 제조방법을 제공한다.

[0063] 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 유기 용매 추출은 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 및 부탄올의 순서로 수행될 수 있다(도 3 참조).

[0064] 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 젤 여과 크로마토그래피는 silca gel 60 또는 Sepadex LH-20 컬럼을 이용하여 수행될 수 있다.

[0065] 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 단계 iii)에서 유기 용매 추출액은 핵산 분획물인 것이 바람직하다. 핵산 분획물이 항산화 효과 및 항글라이케이션 효과가 우수한 것으로 나타났다(도 4 및 도 5 참조).

[0066] 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 단계 iii)에서 젤 여과 크로마토그래피의 용출은 핵산 및 에틸아세테이트의 혼합용액을 이용하여 수행하고, 상기 조성물은 실리카겔 80:20(핵산:에틸아세테이트) 분획물을 포함하는 것이 바람직하다. 상기 핵산층의 실리카겔 80:20(핵산:에틸아세테이트) 분획물의 항글라이케이션 효과가 우수한 것으로 나타났다(도 6 참조).

발명의 효과

[0067] 이상에서 설명한 바와 같이, 본 발명에 의한 매생이 추출물은 글라이케이션 저해효과가 있으므로 당뇨병 및 당뇨합병증 예방 또는 치료에 효과적으로 이용될 수 있다. 또한, 본 발명에 의한 매생이 추출물은 천연물 추출물로서 부작용 및 독성 발현율이 매우 낮고 생체 친화적으로 당뇨병/당뇨합병증을 예방 또는 치료할 수 있는 효과를 도모할 수 있다.

[0068] 또한, 본 발명에 의한 매생이 추출물은 총폴리페놀 함량이 높고, 항산화 효과가 있으므로 항산화 제제로서 효과적으로 이용될 수 있다.

[0069] 나아가, 본 발명은 매생이 추출물의 활용범위를 단순한 식품에서 예방용 혹은 치료용 약물로까지 확대시킴으로써 매생이의 가치를 높이고 관련 업종 종사자의 수입증대로 까지 이어질 것으로 예상된다.

도면의 간단한 설명

[0070] 도 1은 비효소적 Maillard reaction의 반응과정과 AGEs의 생성 과정을 나타낸 것이다.

도 2는 아미노구아니딘에 의한 AGEs 생성 저해과정을 나타낸 것이다.

도 3은 매생이의 항산화 효과와 항글라이케이션(antiglycation) 효과가 큰 분획물을 얻기 위한 추출, 분리, 정제 단계를 도식화 한 것이다.

도 4는 매생이와 극성을 달리한 그 분획물들의 총폴리페놀과 철이온의 환원력을 이용한 항산화 능력을 평가한

결과를 나타낸 것이다. 각 값은 3반복 실험결과와 평균±표준편차로 나타내었으며, 철이온 환원력(FRAP)는 mole FeSO₄/μg sample로 나타내었고, 총폴리페놀은 추출물의 μg-gallic acid equivalents/mg로 나타내었다.

도 5는 매생이와 극성을 달리한 그 분획물들의 항글라이케이션 능력을 평가한 결과를 나타낸 것이다. 양적대조군인 아미노구아니딘(10mM)과 매생이의 70% 에탄올 추출물(CFE) 및 CFE-H, CFE-C, CFE-E, CFE-B, CFE-D의 항글라이케이션 활성을 나타낸다.

도 6은 매생이 활성 분획물인 핵산층의 실리카겔 컬럼 분획물들의 항글라이케이션 능력을 평가한 결과를 나타낸 것이다. 글라이케이션 저해 활성 백분율은 블랭크 그룹(100%)과 비교하여 계산되었고, 값은 평균(n=3)±SD를 나타내고, 아미노구아니딘의 최종농도는 10mM이었다. P<0.05

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0071] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0072] 실시예 1. 매생이의 항산화 효과와 항글라이케이션 효과가 큰 분획물을 얻기 위한 추출, 분리, 정제

[0073] 도 3은 매생이의 항산화 효과와 항글라이케이션 효과가 큰 분획물을 얻기 위한 추출, 분리, 정제 단계를 도식화한 것이다. 물로 3회 이상 수세 후 동결건조기를 이용하여 건조된 매생이(*Capsosiphon fulvescens*) 500g을 70% 에탄올 5 L를 이용하여 3시간 동안 환류냉각 추출하여 얻은 후 7,500 rpm, 30 min, 4℃에서 원심분리하여 상등액을 얻었다. 원심분리된 상층액에 남아 있을지 모르는 불용성 물질을 제거하기 위하여 재차 상등액을 whatman No. 42 여과하였다.

[0074] 여과된 상등액을 감압증류한 다음 동결건조를 통하여 분말 형태의 매생이 70% 에탄올 추출물(CFE)을 얻었다. 이렇게 얻어진 CFE를 물에 녹인 뒤 순차적으로 유기용매의 극성도를 달리하며 핵산(CFE-H), 클로로포름(CFE-C), 에틸아세테이트 (CFE-E), 부탄올(CFE-B), 물(CFE-D) 희분으로 극성에 따라 일차적 분리를 하였다. 항산화와 항글라이케이션 활성이 가장 높은 CFE-H를 연속적으로 실리카겔 크로마토그래피에 흡착시킨 후 <핵산 : 에틸아세테이트> 혼합용출액의 농도를 달리하여 10개의 희분을 얻은 뒤, 역시 항산화와 항글라이케이션 활성이 가장 높은 <80% 핵산 : 20% 에틸아세테이트> 희분(CFE-H-2)을 재차 Sephadex LH-20 column (2×35cm)를 이용하여 분리하였다.

[0075] 실시예 2. 매생이와 그로부터 분리된 분획물들의 항산화 효과 (총폴리페놀, 철이온 환원력)

[0076] 항산화능은 총폴리페놀 함량과 철이온 환원력을 통해 측정하였다. 총폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu reagent (Anesini et al., 2008, Agricultural and Food Chemistry 56:9225-9229)를 사용하여 측정하였다. 각 튜브에 샘플 0.1 ml, methanol 2 ml, 2 N Folin-Ciocalteu reagent 0.2 ml을 넣고 3분 동안 반응시킨다. 15% Na₂CO₃ 1 ml을 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시킨 후 Gallic acid를 standard로 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 철이온 환원력은 10 mM 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)와 20 mM FeCl₃·H₂O를 0.3 M 아세테이트 버퍼에 용해시킨 FRAP 시험액을 각 농도 별로 희석한 샘플과 5분 동안 반응시켜 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0077] 도 4에 나타난 바와 같이, 총폴리페놀 함량 측정결과 CFE는 18.61 μg gallic acid/mg sample로 많은 양의 항산화 능력을 나타낼 수 있는 폴리페놀 함량을 나타냈으며, 이를 다시 유기용매별로 분획한 분획물들 중에서는 CFE-H층(핵산 분획물)과 CFE-E(에틸아세테이트 분획물)층이 24.25, 24.53 μg gallic acid/mg sample로 높은 항산화 지표를 나타냈다. 철이온 환원력(FRAP)에서 CFE는 71.42 mole FeSO₄/mg sample로 높은 철이온 환원력, 즉 항산화 효과를 보였으며, 이를 다시 분획한 분획물들 중에서는 CFE-H(핵산층)층이 73.34 mole FeSO₄/mg sample로 뛰어난 항산화력을 나타냈다. 이를 토대로 매생이와 이를 분획한 분획물은 항산화 능력이 기존에 알려진 어떤 항산화물질보다 더 높은, 우수한 항산화물질임을 알 수 있으며 이를 바탕으로 항산화와 당뇨/당뇨합병증 치료 및 예방효과가 있음을 알 수 있다.

[0078] **실시예 3. 매생이와 그로부터 분획된 분획물들의 항글라이케이션 효과**

[0079] 항글라이케이션 측정은 BSA 10 mg, 10 mM glyceraldehyde 1.0 ml, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)에 녹인 1 mM DTPA, 0.02% sodium azide를 혼합한 후 37 °C에서 incubation하였다. 이 혼합물 중 1 ml을 1.5 ml ep-tube (Corning Costar Co.)에 옮긴 후 밀봉하여 O₂ incubator에서 7일동안 반응시켰다. 이를 100μl씩 3등분하여 96well plate에 옮기고 spectrofluorometer (VICTOR3™, PerkinElmer, USA)을 사용하여 excitation 파장 370 nm, emission 파장 440 nm에서 형광도를 측정하였다. 글라이케이션 저해제(Glycation inhibitor)인 아미노구아니딘은 증류수에 녹여서 사용하였다.

[0080] 매생이 추출물인 CFE, 그로부터 분획된 CFE-H(헥산층), CFE-C(클로로포름 층), CFH-E(에틸아세테이트 층), CFE-B(부탄올 층), 및 CFE-D(물 층)의 항글라이케이션 활성 실험을 진행하였다.

[0081] 음성대조군(negative control) 그룹은 당을 넣지 않아 100% 억제 효과 있다고 생각하였으며, 도 5의 결과에서 100, 500, 1000μg/ml 농도의 CFE 억제 효과는 각각 16.48, 51.26, 66.34% 이고 IC₅₀값은 635.37μg/ml이다. 이를 통해 매생이가 항글라이케이션 활성이 있는 것을 확인하였으며, 이를 다시 분획한 층에서는 CFE-H가 IC₅₀ 571.38 μg/ml로 다른 분획층에 비해 가장 높은 항글라이케이션 효과를 보였다. 글라이케이션 생성에 억제 효과가 있는 분획의 결과를 기준으로 CFE-H를 실리카겔 컬럼을 사용하여 활성물질을 분리 정제할 필요가 있다.

[0082] **실시예 4. 매생이의 분획물 중 항글라이케이션 활성이 가장 큰 헥산층의 실리카겔 컬럼 분획물들의 항글라이케이션 효과**

[0083] CFE-H(헥산층)는 매생이 분획물들 중 글라이케이션 억제 효과가 제일 우수한 CFE-H를 실리카겔 오픈 컬럼(silica gel open column)을 사용하여 stepwise gradient식으로 다시 분리정제를 하였다. 용매는 에틸아세테이트와 헥산을 사용하여 10개의 호기분으로 분리하여 각 획분에 대한 항글라이케이션 활성 실험을 실행하였다.

[0084] 도 6에 나타난 바와 같이 그 결과 헥산과 에틸아세테이트 80:20 (v/v) 분획에서 가장 높은 항글라이케이션 활성을 나타내었다(CFE-H-2). 또한, 이 분획에서 500 μg/ml 농도에서 70% 이상의 글라이케이션 억제 활성을 나타내었다. 그래서 CFE-H-2에 활성물질이 있는 것을 추정하고 Sephadex LH-20 column chromatography를 이용해서 활성 물질을 분리정제하였다.

[0085] **제제예 1 : 정제의 제조**

[0086] 매생이 추출물 100mg, 옥수수전분 90.0mg, 유당 175.0mg, 엘-히드록시프로필셀룰로오스 15.0mg, 폴리비닐피롤리돈 905.0mg 및 에탄올 적량의 원료를 균질하게 혼합하여 습식과립법으로 과립화하고 스테아린산 마그네슘 1.8mg을 가하여 혼합한 후 1정이 400mg이 되도록 타정하였다.

[0087] **제제예 2. 건강기능성 식품의 제조**

[0088] 매생이 추출물 500 mg

[0089] 비타민 혼합물 적량

[0090] 비타민 A 아세테이트 70 μg

[0091] 비타민 E 1.0 mg

[0092] 비타민 B1 0.13 mg

[0093] 비타민 B2 0.15 mg

[0094] 비타민 B6 0.5 mg

[0095] 비타민 B12 0.2 μg

[0096] 비타민 C 10 mg

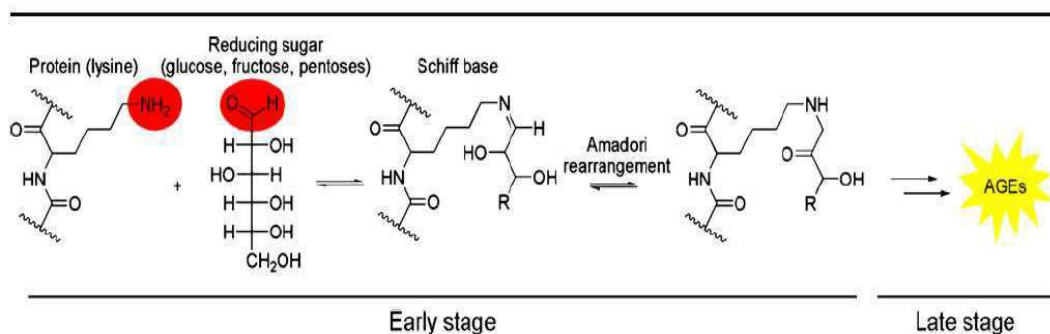
[0097]	비오틴	10 μ g
[0098]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0099]	엽산	50 μ g
[0100]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0101]	무기질 혼합물	적량
[0102]	황산제1철	1.75 mg
[0103]	산화아연	0.82 mg
[0104]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0105]	제1인산칼륨	15 mg
[0106]	제2인산칼슘	55 mg
[0107]	구연산칼륨	90 mg
[0108]	탄산칼슘	100 mg
[0109]	염화마그네슘	24.8 mg

[0110] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능성 식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능성 식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능성 식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

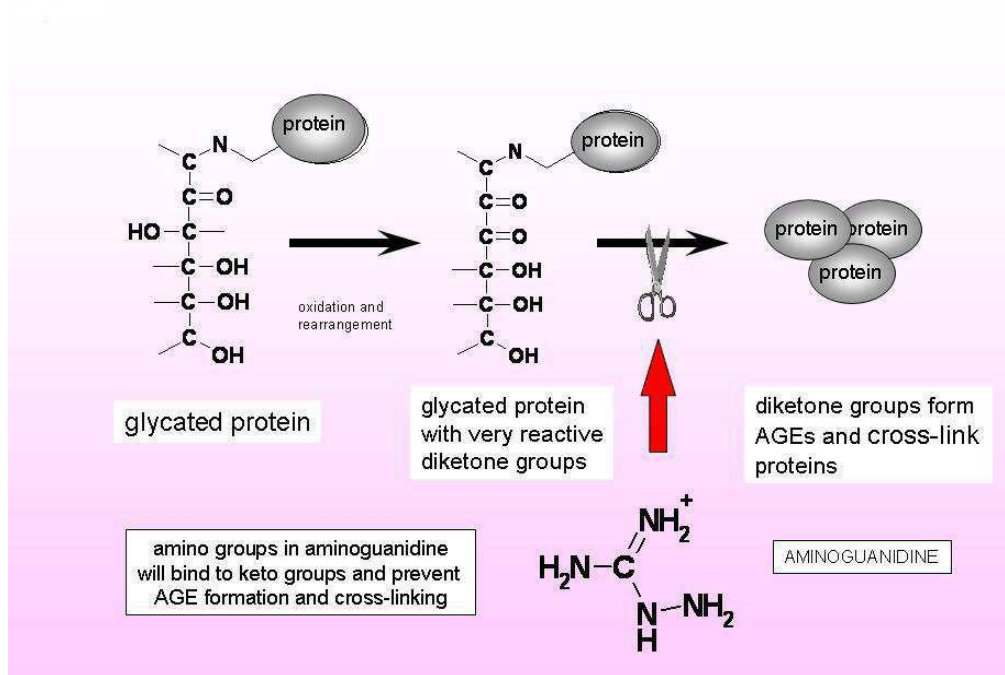
[0111] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였으나, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 균등물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

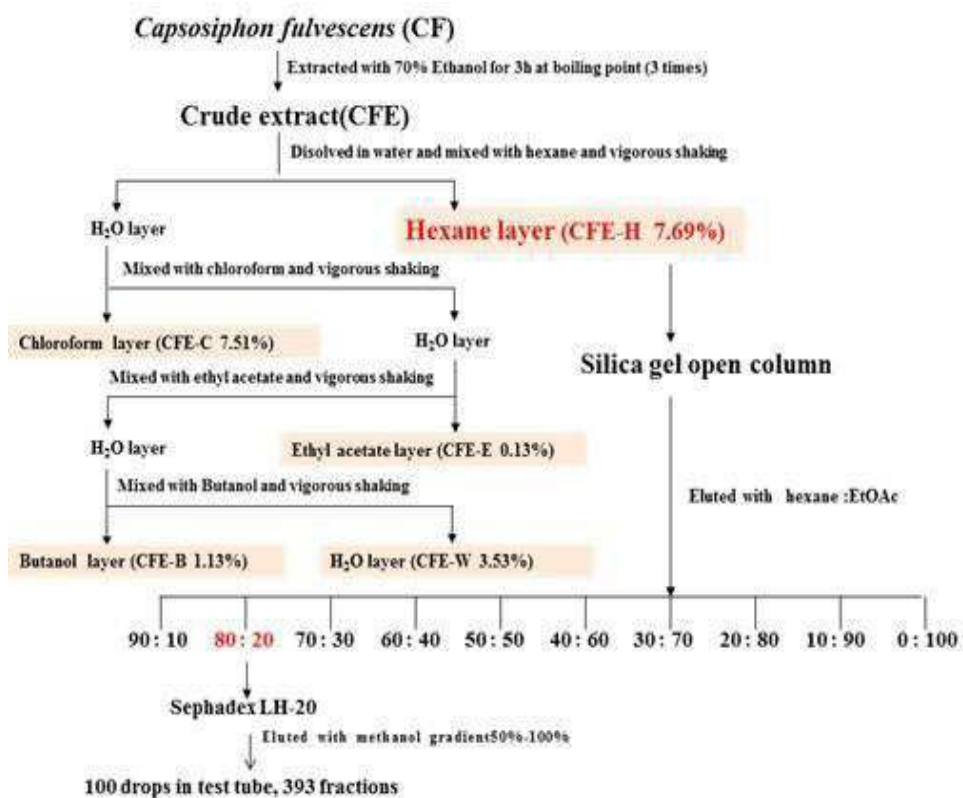
도면1



도면2



도면3



도면4

Fractions	Concentration	Total polyphenol (μg -gallic acid/1mg sample)	FRAP (moleFeSO ₄ /mg sample)
CFE	1mg/ml	18.61 ± 0.01^a	71.42 ± 5.28^a
CFE-H	1mg/ml	24.25 ± 0.22^b	73.34 ± 7.75^a
CFE-C	1mg/ml	15.66 ± 0.22^a	17.19 ± 1.46^b
CFE-E	1mg/ml	24.53 ± 1.33^b	31.57 ± 2.53^b
CFE-B	1mg/ml	13.48 ± 0.44^c	2.81 ± 1.46^c
CFE-W	1mg/ml	1.56 ± 0.22^d	16.35 ± 0.01^b

도면5

Fractions	Concen($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Inhibition(%)	IC50($\mu\text{g}/\text{ml}$)
CFE	100	16.48 ± 1.18	635.37
	500	51.26 ± 0.26	
	1000	66.34 ± 0.23	
CFE-H	100	31.61 ± 0.54	571.38
	500	52.55 ± 0.33	
	1000	74.69 ± 0.17	
CFE-C	100	25.83 ± 3.19	1007.69
	500	37.87 ± 0.08	
	1000	49.37 ± 1.16	
CFE-E	100	10.96 ± 0.51	2757.33
	500	14.69 ± 0.52	
	1000	24.30 ± 4.19	
CFE-B	100	4.15 ± 0.38	2852.35
	500	8.57 ± 0.43	
	1000	19.57 ± 0.22	
CFE-W	100	-0.43 ± 0.17	4631.81
	500	5.97 ± 0.42	
	1000	10.11 ± 1.47	
Aminoguanidine	10mM	53.77 ± 0.27	

도면6

Fractions	Concen(μ g/ml)	Inhibition(%)	IC50(μ g/ml)
CFE-H-1	100	4.85 $\pm$ 1.69	1097.81
	500	30.84 $\pm$ 0.68	
	1000	43.48 $\pm$ 0.40	
CFE-H-2	100	15.37 $\pm$ 0.60	323.15
	500	70.63 $\pm$ 0.15	
	1000	84.48 $\pm$ 0.12	
CFE-H-3	100	1.92 $\pm$ 0.74	1446.3
	500	22.50 $\pm$ 0.57	
	1000	31.69 $\pm$ 1.19	
CFE-H-4	100	4.97 $\pm$ 0.12	1856.34
	500	14.14 $\pm$ 0.80	
	1000	28.99 $\pm$ 0.47	
CFE-H-5	100	0.44 $\pm$ 1.02	1146.73
	500	25.90 $\pm$ 0.46	
	1000	42.23 $\pm$ 0.26	
CFE-H-6	100	7.15 $\pm$ 1.80	1006.90
	500	37.43 $\pm$ 0.61	
	1000	46.09 $\pm$ 0.46	
CFE-H-7	100	4.40 $\pm$ 0.34	988.77
	500	30.34 $\pm$ 0.45	
	1000	49.71 $\pm$ 0.60	
Aminoguanidine	10mM	53.77 $\pm$ 0.27	