



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0101561
(43) 공개일자 2020년08월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/655 (2014.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61P 1/00 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 35/655 (2015.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0019183
(22) 출원일자 2019년02월19일
심사청구일자 2020년02월07일

(71) 출원인
군산대학교산학협력단
전라북도 군산시 대학로 558 (미륵동,
군산대학교)
한국화학연구원
대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)
경남과학기술대학교 산학협력단
경상남도 진주시 동진로 33 (칠암동)
(72) 발명자
김나현
경상남도 진주시 내동로 348번길 10 그린빌아파트
106동 1401호
허정두
대전광역시 유성구 문지로 300 효성해링턴플레이
스 107동 1901호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

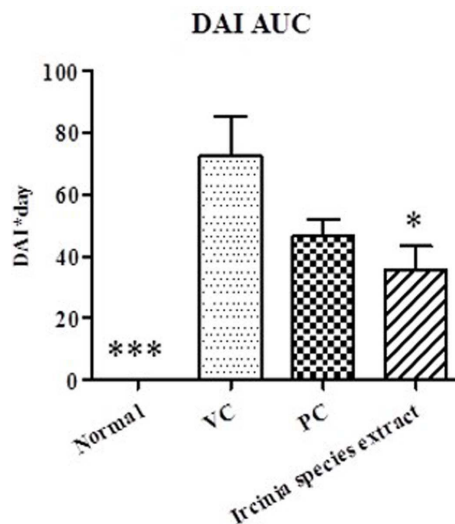
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 가는실해면속 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 가는실해면속 추출물의 분획물은 DSS(dextran sodium sulfate)로 유도된 만성 장염 유도 마우스의 체중 감소, 및 설사와 혈변과 같은 임상 증상을 완화시키고, 장 조직 내 침윤한 대식세포의 활성을 감소시키므로, 염증성 장 질환의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61P 1/00 (2018.01)
A61P 29/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/32 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)
A23V 2250/2042 (2013.01)

(72) 발명자

노정래

전라북도 군산시 미룡로 42 308동 1304호 (미룡동, 주공아파트3단지)

정은주

경상남도 진주시 동진로 33 21동 311호 (칠암동, 경남과학기술대학교)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20170488

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 해양수산과학기술진흥원

연구사업명 해양수산생명공학기술개발사업

연구과제명 해외 해양 생물로부터 사이토카인 조절을 통한 염증성 장질환 치료제 신규 선도물질 도출

기 여 율 1/1

주관기관 국립해양생물자원관

연구기간 2017.09.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, C₁ 내지 C₂의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출된, 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인, 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 분획물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조된, 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

- 1) 가는실해면속 추출물을 물과 염화메틸렌으로 분배하는 단계;
- 2) 단계 1)의 분배한 추출물을 헥산 및 메탄올 수용액 용매로 재분배하는 단계; 및
- 3) 단계 2)의 재분배하여 얻은 메탄올 분액층을 물 및 메탄올이 혼합된 용매로 분획하여 분획물을 얻는 단계.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 단계 3)의 물 및 메탄올이 혼합된 용매는 물 및 메탄올이 1: 1 내지 9의 비율로 혼합된 것인, 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 염증성 장 질환은 궤양성 대장염, 크론병, 베체트병 또는 만성 장염인, 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 추출물은 물, C₁ 내지 C₂의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출된, 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인, 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 분획물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조된, 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

- 1) 가는실해면속 추출물을 물과 염화메틸렌으로 분배하는 단계;
- 2) 단계 1)의 분배한 추출물을 헥산 및 메탄올 수용액 용매로 재분배하는 단계; 및
- 3) 단계 2)의 재분배하여 얻은 메탄올 분액층을 물 및 메탄올이 혼합된 용매로 분획하여 분획물을 얻는 단계.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 단계 3)의 물 및 메탄올이 혼합된 용매는 물 및 메탄올이 1: 1 내지 9의 비율로 혼합된 것인, 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 염증성 장 질환은 궤양성 대장염, 크론병, 베체트병 또는 만성 장염인, 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 가는실해면속 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장 질환의 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 염증성 장질환은 호전과 악화를 반복하며 6개월 이상 만성적으로 소화기관에 염증을 일으키는 질환으로 아직까지 정확한 발병 원인이나 발병의 기전이 밝혀지지 않았으나, 대표적으로 크론병, 궤양성 대장염, 베체트병이 본 범주에 속하며, 넓은 의미로는 세균성, 바이러스성, 아메바성, 결핵성 장염 등의 감염성 장염과 허혈성 장질환, 방사선 장염, 만성 장염 등의 장에서 발생하는 모든 염증성 질환을 포함할 수 있다.

[0004] 현재까지 밝혀진 염증성 장질환의 유력한 발병원인 중 한 가지는 염증매개물질(proinflammatory mediator)의 과도한 생성으로 인해 장내 항상성이 파괴되어 일어나는 것으로 생각되고 있다 (비특허문헌 1). 염증매개물질은 선천성 면역에서 외부 이물질에 대한 방어 및 재구성에 중요한 역할을 하지만, 과도하게 분비된 염증매개물질은 장내 면역 항상성을 파괴시키고, 또한 면역세포의 장조직에 대한 침입을 유도시키고 이는 지속적인 염증매개물질을 발현시키며 심한 경우 암으로 발전하게 된다.

[0005] 최근에는 서구화되어 가는 생활 습관의 영향으로 인하여 우리나라에서도 발병 빈도가 증가하고 있는 추세이다. 특히 염증성 장 질환 환자의 경우 정상인에 비해 대장으로 발전할 가능성이 6배 이상 높기 때문에 적기에 치료

가 필수적이거나, 아직까지 염증성 장 질환을 근본적으로 치료할 수 있는 치료제가 개발되지 못한 실정이며, 프로스타글란딘(prostaglandins)의 생성을 차단하는 5-아미노살리실산(5-aminosalicylic acid, 5-ASA) 계통 약물을 들어, 설파살라진 등을 이용하거나 스테로이드류의 면역억제제를 사용하고 있으나, 치료 효과가 미미하거나 복부허실, 두통, 간질환, 소화성 궤양, 당뇨병, 스테로이드성 신장병 등과 같은 부작용이 문제가 되고 있다.

[0006] 따라서, 천연물을 이용하여 부작용이 없으면서 염증성 장 질환 치료에 효과적인 치료제 개발이 이루어지고 있다. 한국공개특허 제10-2014-0004935호에서는 담배 연기로 인한 염증성 장 질환의 치료제로서 오배자 추출물을 개시하고 있으며, 한국공개특허 제10-2007-0117889호에서는 염증성 장 질환의 치료제로서 강화약쑥 추출물을 개시하고 있다.

[0007] 한편, 해면은 간단한 구조의 후생동물로서, 근육·신경계·소화계·배설계의 분화가 없는 하등동물로서 현재 약 1,000종 정도가 알려져 있다. 동정세포가 있어서 이것으로 입수공을 통해 들어온 먹이를 받아들이는데, 이때의 동정세포는 한 개의 편모를 가지므로 원생동물의 편모충류와 비슷하다고 여겨진다. 다른 후생동물과 구별하여 '측생동물(側生動物)'이라고도 한다. 해면동물의 생활은 바다 밑바닥에서 생존하는 극소수를 제외하고는 대부분 다른 물체에 부착하여 살고 있다. 특히, 파도가 세찬 해변가에서 흔히 볼 수 있는 해변 해면류는 바위에 밀착하여 살아간다. 해면동물은 골편의 특징에 따라, 석회해면강(Calcarea), 육방해면강(Hexactinellida), 보통해면강(Demospongiae), 동골해면강(Homoscleromorpha) 네 개의 강(class)으로 나뉘며, 석회해면강에는 싸리버섯해면, 우테나팔해면, 흰나팔해면, 오목해면 등이 속하고, 육방해면강에는 바다수세미, 상모끝 등이 속하며, 보통해면강에는 목욕해면, 보라해면, 민물해면, 화산해면 등이 속해 있다.

[0008] 최근 해양 해면에 다양한 이차 대사산물이 존재함이 밝혀짐에 따라, 해면을 이용한 생리활성 물질 발굴에 관한 연구가 활발하며, 해면에서 발견된 아우란토사이드(Aurantioside) 및 스폰지스타틴 1(spongistatin 1) 화합물은 항진균 활성이 있음이 밝혀져 상업적으로 이용되고 있다. 그러나, 아직까지 가는실해면속(*Ircinia* sp.)의 생리활성 효과를 확인한 바가 없다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 가는실해면속 추출물 및 이의 분획물을 제조하여 만성 장염이 유도된 동물모델에 투여한 결과, 마우스의 체중 감소, 설사와 혈변 증상을 완화시키고, 대장 길이가 회복되며 장 조직 내 침윤한 대식세포의 활성을 감소시키는 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2014-0004935호
(특허문헌 0002) 한국공개특허 제10-2007-0117889호

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) Singh UP et al., Chemokine and cytokine levels in inflammatory bowel disease patients, Cytokine. 2016 Jan;77:44-9.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 다른 목적은 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로

포함하는 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명의 가는실해면속 추출물의 분획물은 DSS(dextran sodium sulfate)로 유도된 만성 장염 유도 마우스의 체중 감소, 설사 및 혈변 증상을 완화시키고, 대장 길이를 회복시키며 장 조직 내 침윤한 대식세포의 활성을 감소 시킴을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 마우스에 DSS를 급여하여 만성 장염을 유도하는 실험 기간 동안, 각 마우스 그룹의 체중을 나타낸 도이다

(Normal: 정상 대조군;

VC: 음성 대조군(만성 장염 유도군);

PC: 양성 대조군(만성 장염 유도군 + 5-아미노살리실산 투여);

Ircinia species extract: 가는실해면속 투여군(가는실해면속 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물)).

도 2는 마우스에 DSS를 급여하여 만성 장염을 유도하는 실험 기간 동안, 각 마우스 그룹의 체중 및 장염 증상을 바탕으로 산출한 질병 활성도(disease activity index, DAI)를 나타낸 도이다

(Normal: 정상 대조군;

VC: 음성 대조군(만성 장염 유도군);

PC: 양성 대조군(만성 장염 유도군 + 5-아미노살리실산 투여);

Ircinia species extract: 가는실해면속 투여군(가는실해면속 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물)).

도 3은 각 마우스 그룹의 질병 활성도의 AUC(area under the curve) 값을 구하여 마우스 그룹별로 실시한 일원 배치 분산 분석의 결과를 나타낸 도이다

(Normal: 정상 대조군;

VC: 음성 대조군(만성 장염 유도군);

PC: 양성 대조군(만성 장염 유도군 + 5-아미노살리실산 투여);

Ircinia species extract: 가는실해면속 투여군(가는실해면속 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물)).

도 4는 마우스에 DSS를 급여하여 만성 장염을 유도하는 실험 종료 후, 각 마우스 그룹으로부터 적출한 대장을 촬영한 사진 및 대장의 길이를 나타낸 도이다

(Normal: 정상 대조군;

VC: 음성 대조군(만성 장염 유도군);

PC: 양성 대조군(만성 장염 유도군 + 5-아미노살리실산 투여);

Ircinia species extract: 가는실해면속 투여군(가는실해면속 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물)).

도 5는 마우스에 DSS를 급여하여 만성 장염을 유도하는 실험 종료 후, 각 마우스 그룹으로부터 적출한 대장 조직의 미엘로퍼옥시다제(myeloperoxidase) 활성을 측정한 결과이다

(Normal: 정상 대조군;

VC: 음성 대조군(만성 장염 유도군);

PC: 양성 대조군(만성 장염 유도군 + 5-아미노살리실산 투여);

Ircinia species extract: 가는실해면속 투여군(가는실해면속 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물)).

도 6은 가는실해면속(*Ircinia* sp.)의 모습을 촬영한 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0020] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0021] 본 발명은 가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0022] 상기 가는실해면속 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조될 수 있다:
- [0023] 1) 가는실해면속에 추출 용매를 가하여 추출하는 단계;
- [0024] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및
- [0025] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하는 단계.
- [0026] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 가는실해면속은 가는실해면속(*Ircinia* sp.)에 속하는 해면이라면, 종에 관계없이 사용될 수 있다.
- [0027] 또한, 상기 단계 1)의 추출 용매는 물, C₁ 내지 C₂의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매일 수 있다. 상기 C₁ 내지 C₂의 저급 알코올은 메탄올 또는 에탄올일 수 있다.
- [0028] 상기 단계 1)의 추출 방법은 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류추출일 수 있다. 이때, 추출 온도는 15 내지 35℃일 수 있고, 구체적으로 17 내지 33℃, 더 구체적으로 20 내지 30℃, 더 구체적으로 22 내지 28℃일 수 있으나 이에 한정하지 않는다. 또한, 상기 추출 용매는 추출에 사용되는 가는실해면속의 습식 중량 1 g 당 0.1 내지 1 ml의 양으로 첨가될 수 있고, 구체적으로, 0.1 내지 0.8 ml의 양으로 첨가될 수 있고, 더 구체적으로, 0.2 내지 0.6 ml의 양으로 첨가될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 또한, 추출 시간은 24 내지 72시간일 수 있고, 구체적으로 30 내지 60시간일 수 있고, 더 구체적으로 35 내지 55시간일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 아울러, 추출 횟수는 1 내지 5회일 수 있고, 구체적으로 1 내지 3회일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출 온도, 추출 시간 또는 추출 횟수의 조건을 벗어난 범위에서는 추출이 충분히 이루어지지 않아 가는실해면속 추출물 내에 유효성분의 함량이 미미할 수 있다. 또는 더 이상 추출 수율이 증가하지 않아 추출 작업의 효율이 떨어질 수 있다.
- [0029] 상기 단계 3)의 감압 농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용할 수 있다. 또한, 상기 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조일 수 있다.
- [0031] 상기 분획물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조된 것일 수 있다:
- [0032] 1) 가는실해면속 추출물을 물과 염화메틸렌으로 분배하는 단계;
- [0033] 2) 단계 1)의 분배한 추출물을 헥산 및 메탄올 수용액 용매로 재분배하는 단계; 및
- [0034] 3) 단계 2)의 재분배하여 얻은 메탄올 분액층을 물 및 메탄올이 혼합된 용매로 분획하여 분획물을 얻는 단계.
- [0035] 상기 단계 1)의 가는실해면속 추출물은 상술한 방법을 수행하여 얻을 수 있다.
- [0036] 상기 단계 3)의 물 및 메탄올이 혼합된 용매는 물 및 메탄올이 1: 1 내지 9의 비율로 혼합된 것일 수 있다. 구체적으로, 물 및 메탄올이 혼합된 용매는 물 및 메탄올이 1: 1 내지 8의 비율, 더 구체적으로 1:1 내지 6의 비율, 보다 더 구체적으로 1:2 내지 5의 비율로 혼합된 것일 수 있다.
- [0037] 상기 염증성 장 질환은 궤양성 대장염, 크론병, 베체트병 또는 만성 장염일 수 있다.
- [0039] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 가는실해면속 추출물을 물과 염화메틸렌으로 분배하고, 분배한 추출물을 헥산 및 메탄올 수용액 용매로 재분배한 후, 재분배하여 얻은 메탄올 분액층을 물 및 메탄올이 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 및 0:100으로 혼합된 용매로 순차적으로 분획하여 MR1(물 50:메탄올 50), MR2(물

40:메탄올 60), MR3(물 30:메탄올 70), MR4(물 20:메탄올 80), MR5(물 10:메탄올 90) 및 MR6(물 0:메탄올 100) 분획물을 수득하였다.

- [0040] 또한, 본 발명자들은 수득한 MR1 내지 MR6 분획물 중 염증성 사이토카인에 대한 저해 활성이 우수한 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물을 만성 장염이 유도된 동물모델에 경구 투여한 결과, 음성 대조군에 비해 체중 감소가 유의적으로 회복됨을 확인하였다 (도 1 내지 도 3).
- [0041] 또한, 본 발명자들은 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물을 만성 장염이 유도된 동물모델에 경구 투여한 결과, 설사와 혈변 증상이 완화된 확인하였다 (도 2 및 도 3).
- [0042] 또한, 본 발명자들은 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물을 만성 장염이 유도된 동물모델에 경구 투여한 결과, 음성 대조군에 비해 대장 길이가 유의할 정도로 회복됨을 확인하였다 (도 4).
- [0043] 또한, 본 발명자들은 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물을 만성 장염이 유도된 동물모델에 경구 투여한 결과, 음성 대조군에 비해 대장 조직의 미엘로퍼옥시다아제(myeloperoxidase, MPO) 활성이 유의할 정도로 낮아져, 대식 조직 내 침윤한 대식세포의 활성이 감소함을 확인하였다 (도 5).
- [0044] 따라서, 본 발명의 가는실해면속 추출물의 분획물은 만성 장염 유도 마우스의 체중 감소, 및 설사와 혈변과 같은 임상 증상을 완화시키고 장 조직 내 침윤한 대식세포의 활성을 감소시키므로, 염증성 장 질환의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0046] 본 발명에 따른 약학 조성물은 조성물 전체 중량에 대하여 유효성분인 가는실해면속 추출물 또는 이의 분획물을 10 내지 95 중량%로 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 추가로 포함할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 약학적 조성물은 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체는 조성물을 생체 내에 전달하는데 적합한 것이면 모두 사용할 수 있다. 구체적으로, 상기 담체는 Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc.에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 텍스트로스 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 또는 이의 혼합물일 수 있다. 또한, 필요에 따라 향산화제, 완충액, 정균제 등과 같은 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.
- [0048] 상기 조성물을 제제화하는 경우, 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 첨가할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 조성물은 경구용 제제 또는 비경구용 제제로 제형화될 수 있다. 경구용 제제로는 고형 제제 및 액상 제제가 포함될 수 있다. 상기 고형 제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 또는 트로키제일 수 있고, 이러한 고형 제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제를 첨가하여 조제할 수 있다. 상기 부형제는 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 또는 이의 혼합물일 수 있다. 또한, 상기 고형 제제는 윤활제를 포함할 수 있고, 그 예로는 마그네슘 스테arate, 탈크등이 있다. 한편, 상기 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제일 수 있다. 이때, 상기 액상 제제에는 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등과 같은 부형제가 포함될 수 있다.
- [0050] 상기 비경구용 제제는 주사제, 좌제, 호흡기 흡입용 분말, 스프레이용 에어로졸제, 파우더 및 크림 등을 포함할 수 있다. 상기 주사제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제 등을 포함할 수 있다. 이때, 비수성용제 또는 현탁용제로서는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름이나, 에틸올레이트와 같이 주사가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 또는 비경구로 투여될 수 있다. 비경구 투여는 복강내, 직장내, 피하, 정맥, 근육내 또는 흉부내 주사 방식을 포함할 수 있다.
- [0052] 상기 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 이는 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 환자의 민감도, 투여 시간, 투여 경로, 치료기간, 동시에 사용되는 약물 등에 따라 달라질 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명에 따른 약학 조성물에 포함되는 유효성분의 양은 0.0001 내지 100 mg/kg, 구체적으로 0.001 내지 70 mg/kg일 수 있다. 상기 투여는 하루에 1회 또는 수회일 수 있다.
- [0053] 본 발명의 조성물은 단독 또는 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 병용 투여시, 투여는 순차적 또는 동시에 일 수 있다.

- [0055] 또한, 본 발명은 가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 염증성 장 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0056] 본 발명에 따른 가는실해면속 추출물 또는 이의 분획물은 상기 서술한 바와 같다.
- [0057] 상기 염증성 장 질환은 궤양성 대장염, 크론병, 베체트병 또는 만성 장염일 수 있다.
- [0059] 본 발명의 조성물은 식품에 그대로 첨가하거나, 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있다. 이때, 첨가되는 유효성분의 함량은 목적에 따라 결정될 수 있고, 일반적으로는 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부일 수 있다.
- [0060] 건강기능식품의 형태 및 종류는 특별히 제한되지 않는다. 구체적으로, 상기 건강기능식품은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상 및 환의 형태일 수 있다. 상기 건강기능식품은 추가성분으로서 여러 가지 향미제, 감미제 또는 천연 탄수화물을 포함할 수 있다. 상기 감미제는 천연 또는 합성 감미제일 수 있고, 천연 감미제의 예로는 타우마틴, 스테비아 추출물 등이 있다. 한편, 합성 감미제의 예로는 사카린, 아스파르탐 등이 있다. 또한, 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드, 디사카라이드, 폴리사카라이드, 올리고당 및 당알코올 등일 수 있다.
- [0061] 본 발명의 건강기능식품은 상기 서술한 추가성분 외에, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙스탄 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 등을 더 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합으로 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 본 발명의 조성물의 100 중량부당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택될 수 있다.
- [0063] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- [0064] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0066] <실시예 1> 가는실해면속(*Ircinia* sp.) 추출물 및 그의 분획물의 제조

[0067] <1-1> 추출물

[0068] 먼저, 실험에 사용한 해면은 보통해면류(Demospongiae)의 망각 해면목(Dictyoceratida)에 속하는 가는실해면속(*Ircinia* sp.)으로 외관상 균체성 형태를 가지며 무수히 많은 편목실을 가지고 있고, 개체는 매우 질겨서 쉽게 절단되지 않는 특성을 나타낸다 (도 6). 습식중량 4.5 kg의 가는실해면속(*Ircinia* sp., 베트남, No. 0014028)을 길이 5 cm 간격으로 절단하고, 5일 동안 동결건조 과정을 거쳐 수분을 제거하였다. 5 L 삼각플라스크에 건조된 가는실해면속을 넣고, 2 L 메탄올 용매로 2일간 2회 걸쳐 상온에서 추출하여 가는실해면속 메탄올 추출물을 제조하였다. 슝 필터를 이용하여 제조한 가는실해면속 메탄올 추출물을 분리하고, 회전 증발기를 이용하여 추출 용매를 제거하여 가는실해면속 조추출물을 얻었다. 얻어진 조추출물은 다량의 염분을 함유하고 있으므로 물과 염화메틸렌 각각 1 L를 가하여 조추출물을 분배하였다. 이어서 염화메틸렌 층(7 g)을 다시 핵산, 85% 메탄올 수용액으로 순차적으로 재분배하여 핵산 분획물(2.5 g)과 85% 메탄올 분액(4 g)을 얻었다.

[0069] <1-2> 분획물

[0070] 역상 실리카겔(YMC-Ge1 ODS-A, S-75 μ m)이 슬러리 형태로 충전되어 있는 유리관(10×7 cm)에 실시예 <1-1>에서 얻은 85% 메탄올 분액을 역상 레진과 혼합하여 상층부에 놓았다. 하기 표 1의 6가지 용매를 제조한 후, 유리관에 진공을 가해 각 용매를 전개하는 플래쉬 크로마토그래피를 실시하여 6개의 분획물을 수득하였다. 각 분획물의 양은 MR1은 1.52 g, MR2은 451 mg, MR3은 189 mg, MR4는 141 mg, MR5는 192 mg, MR6은 124 mg 이다.

표 1

시료명	용매 종류
MR1	50% 물 : 50% 메탄올
MR2	40% 물 : 60% 메탄올
MR3	30% 물 : 70% 메탄올

MR4	20% 물 : 80% 메탄올
MR5	10% 물 : 90% 메탄올
MR6	100% 메탄올

[0073] <실험예 1> 염증성 사이토카인 저해 활성 평가

[0074] 실시예 1에서 얻은 MR1 내지 MR6 분획물의 *in vitro* 염증성 사이토카인 저해 실험을 진행하였다.

[0075] 구체적으로, 대식세포주 RAW264.7 세포는 한국세포주은행으로부터 분양받아 사용하였다. 세포는 10% heat-inactivated FBS(fetal bovine serum, 소태아혈청), 페니실린(Penicillin, P/S) 및 스트렙토마이신(streptomycin)이 첨가된 DMEM(Dulbecco's modified Eable's medium) 배지에서 5%-CO₂, 37℃ 배양조건으로 유지시켰다. RAW264.7 세포를 96-웰 플레이트에 씨딩(seeding)하고 24시간 동안 배양하였다. MR1~MR6 분획물은 디메틸 설펍사이드(dimethyl sulfoxide, DMSO)에 녹여 100 mg/ml 농도로 제조 후 세포배양액으로 희석하여 최종 농도 20 µg/ml로 처리하였다. 분획물을 처리하고 30분 후에 LPS(lipopolysaccharide) 100 ng/ml을 처리한 후 세포배양액에 생성된 NO(nitric oxide) 및 염증성 사이토카인 IL-10(Interleukin-10), IL-1β의 양을 ELISA 키트를 이용하여 측정하였으며, 시료 처리에 따른 세포독성 여부를 확인하기 위하여 세포배양액을 취한 직후에 MTT 어세이를 통해 세포 생존율을 측정하였다.

[0076] 그 결과, MR5는 20 ng/ml의 투여 농도에서 세포독성이 관찰되어 제외하였고, MR3, MR4, MR6 분획물이 우수한 사이토카인 생성 저해활성을 나타내었다. HPLC를 이용한 추출물의 크로마토그램 비교실험에서 MR3와 MR4 분획물이 매우 유사한 패턴을 나타내어, 두 분획물을 합친 120 mg의 양으로 *in vivo* 실험을 진행하였다.

표 2

[0077]

	무처리 대조군 대비 %		
	NO	IL-10	IL-1β
MR1	82.2	5.3	112.3
MR2	83.6	3.2	113.7
MR3	56.1	2.3	104.1
MR4	21.0	2.0	45.6
MR6	38.5	35.6	56.3

[0079] <실험예 2> 만성 장염 동물모델의 제조 및 가는실해면속 분획물 투여

[0080] Japan SLC로부터 구매한 암컷 C57BL/6 마우스를 체중이 충분히 증가할 수 있도록 10일 이상의 순화기간을 준 후, 체중이 평균 19±2 g 이 되면 무작위로 8마리씩 4개의 그룹으로 분리하여 개별 와이어 케이지에 넣어 실험을 진행하였다. 4개의 그룹은 각각 정상 대조군, 음성 대조군, 양성 대조군 및 가는실해면속 투여군이다. 정상 대조군을 제외한 나머지 그룹의 마우스에 사람에서 발생하는 염증성 장 질환(IBD, Inflammatory bowel disease)을 유도하기 위하여 DSS(dextran sodium sulfate)를 음수를 통해 투여하는 방법을 이용하였다. 구체적으로, 1.5% DSS(P bioscience 사의 colitis grade DSS)를 7일간 음수로 급이하고 이후 7일간 멸균 사육수를 급이하는 것을 3회 반복하여 총 42일간 진행하였다 (표 3). 42일 동안 가는실해면속 투여군의 마우스에는 실시예 1에서 제조한 가는실해면속 MR3 및 MR4 분획물의 혼합물을 15 mg/kg의 용량으로, 양성 대조군의 마우스에는 5-아미노살리실산(5-aminosalicylic acid)을 50 mg/kg의 용량으로 매일 1회 경구 투여하였고, 음성 대조군의 마우스에는 어떠한 것도 투여하지 않았다.

표 3

[0081]

	1 cycle		2 cycle		3 cycle		
순화기간	1.5% DSS (7일)	물 (7일)	1.5% DSS (7일)	물 (7일)	1.5% DSS (7일)	물 (7일)	실험종료
	임상 증상 관찰 및 체중 측정						

[0083] <실험예 3> 임상 증상 및 체중 변화 관찰

[0084] 가는실해면속 분획물이 만성 장염 동물모델의 임상 증상 및 체중에 영향을 주는지 확인하기 위하여, 실험 기간 동안 각 마우스 그룹의 만성 장염 증상 및 체중 변화를 측정하였다.

[0085] 구체적으로, 체중은 실험 기간 동안 매일 오전 9~10시 사이에 측정하였고, 장염 증상은 케이지 아래에 흰 종이를 깔고 하루 1회 설사 및 혈변 유무를 기록하였다. 측정된 체중 및 장염 증상을 바탕으로, 아래 표 4에 따라 질병 활성도(disease activity index, DAI)를 산출하였다. 질병 활성도(DAI)는 기존의 참고문헌을 바탕으로 변형한 것이며, 질병 활성도 분석은 AUC(area under the curve) 값을 구하여 마우스 그룹별로 일원배치 분산분석을 실시하였다.

[0086] 그 결과, 정상 대조군을 제외한 만성 장염이 유도된 그룹은 DSS 투여 시 급격한 체중변화를 보였으며 2 및 3 번째 사이클에서는 체중감소의 폭이 줄어들고 서서히 정상 대조군의 체중에 가까워짐이 확인되었다. 그 중 가는실해면속 투여군에서는 체중의 변동 폭이 음성 대조군 및 양성 대조군에 비해 작은 것을 확인하였다 (도 1). 또한, 가는실해면속 투여군의 DAI 수치는 평균 35.77 ± 21.45 로, 음성 대조군의 DAI 수치 72.62 ± 31.48 보다 유의적으로 감소함을 확인하였다 (도 2 및 도 3).

표 4

[0087]

체중 손실	① 음성 대조군의 당일 평균 체중 - 모든 만성 장염 유도군의 당일 체중 (단, 음의 값은 0으로 평가)
설사 (loose stool)	② 0=증상 없음(negative), 1=중등도(moderate), 2=중증(severe)
혈변 (blood in the stool)	③ 0=증상 없음(negative), 2=증상 있음(positive) (혈변에 가중치를 두고 평가)
DAI	①+②+③

[0089] <실험예 4> 대장 길이 측정

[0090] 가는실해면속 분획물이 만성 장염 동물모델의 대장 길이에 영향을 주는지 확인하기 위하여, 실험 종료 후 각 마우스를 안락사한 후 부검하여 대장을 적출하고, 회맹연점부부터 항문까지 펼쳐 대장의 길이를 측정하고 사진 촬영하였다.

[0091] 그 결과, 가는실해면속 투여군의 대장 길이는 평균 6.54 ± 0.35 cm, 음성 대조군의 대장 길이는 평균 5.94 ± 0.09 cm로, 가는실해면속 투여군의 장 길이가 통계적으로 유의할 정도로 회복됨을 확인하였다 (도 4).

[0093] <실험예 5> 미엘로퍼옥시다아제 (MPO, myeloperoxidase) 활성 측정

[0094] 가는실해면속 분획물이 만성 장염 동물모델의 대장 조직 내 침윤한 대식세포의 활성에 영향을 주는지 확인하기 위하여, 실험 종료 후 각 마우스를 안락사한 후 부검하여 대장을 적출하고, 일부 대장 조직을 채취하여 미엘로퍼옥시다아제(MPO, myeloperoxidase) 활성을 측정하였다. MPO 활성은 바이오랩스(biolabs)사의 OxiselectTM myeloperoxidase peroxidation activity assay kit를 사용하였다.

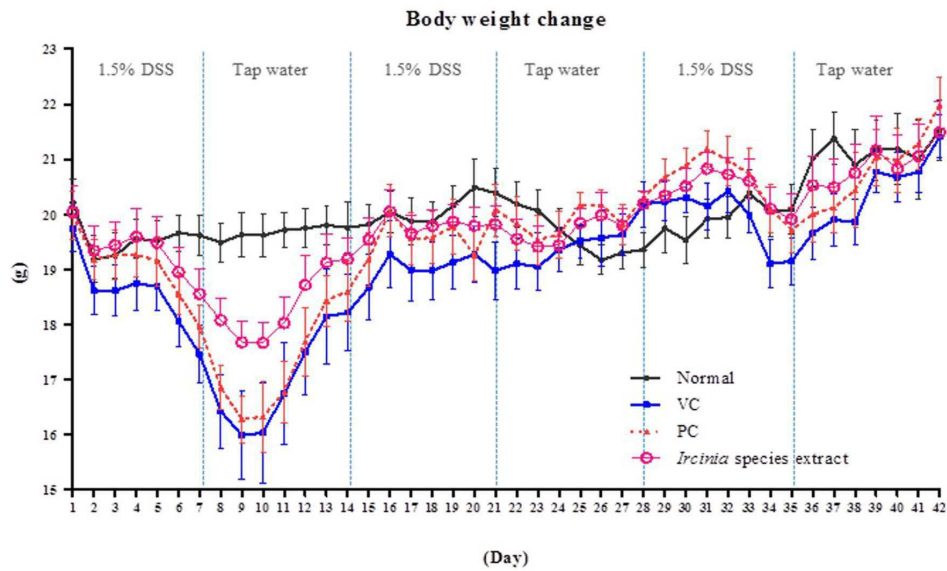
[0095] 그 결과, 가는실해면속 투여군의 MPO 평균 활성은 32.81 ± 15.24 μ U/mg, 음성 대조군의 MPO 평균 활성은 75.00 ± 37.80 μ U/mg 로, 가는실해면속 투여군의 MPO 활성이 통계적으로 유의할 정도로 낮아짐을 확인하였다 (도 5).

[0097] 가는실해면속 분획물을 만성 장염 유도 마우스에 투여한 결과, 체중 감소 및 설사 등의 임상 증상이 완화되었고, 장 조직에서의 대식세포 활성 또한 감소하였다. 따라서, 가는실해면속 분획물은 만성 장염 치료에

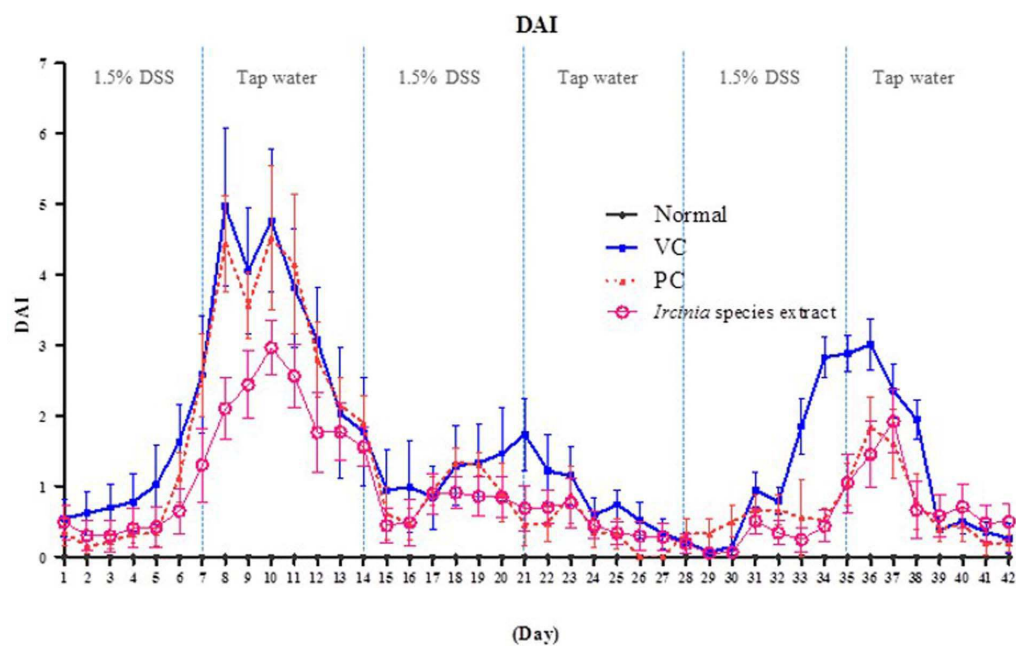
유용하게 사용될 수 있다.

도면

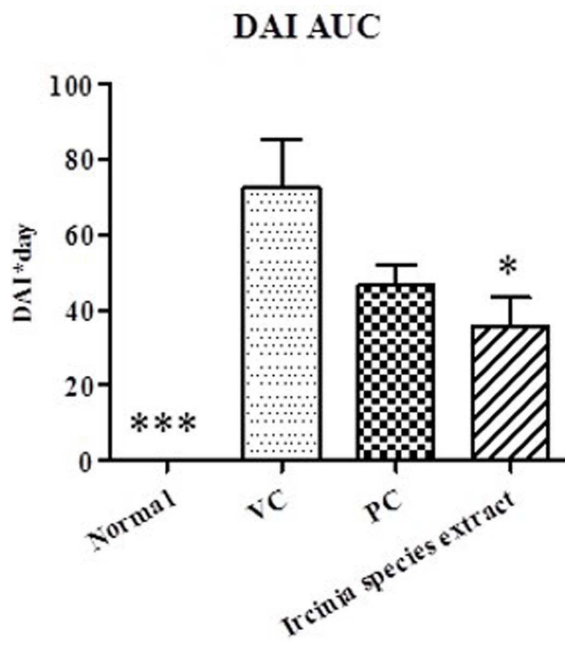
도면1



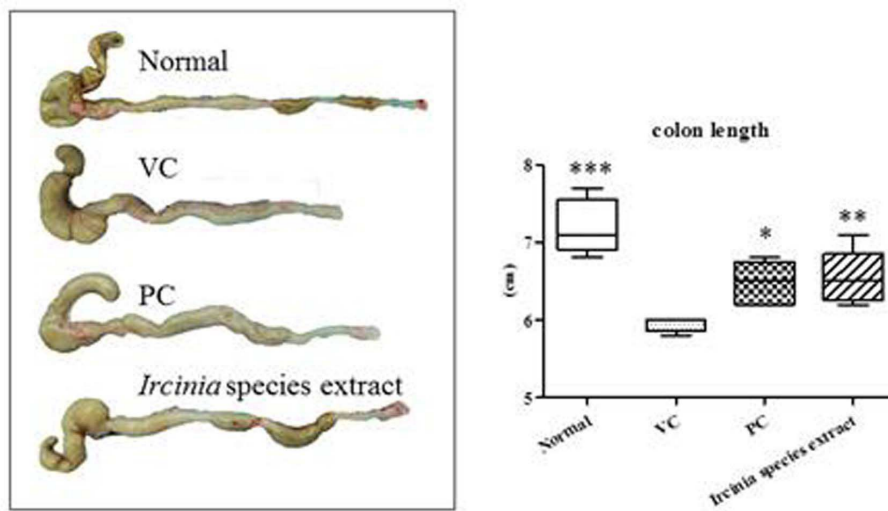
도면2



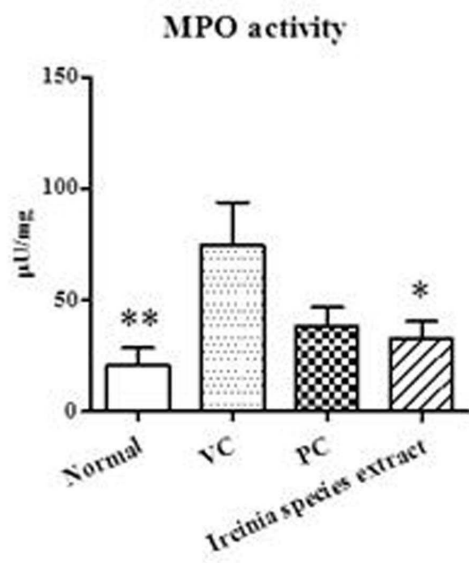
도면3



도면4



도면5



도면6

