



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0110778
(43) 공개일자 2009년10월22일

(51) Int. Cl.

A61K 36/03 (2006.01) A61P 27/12 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0133847

(22) 출원일자 2008년12월24일

심사청구일자 2008년12월24일

(30) 우선권주장

1020080036407 2008년04월18일 대한민국(KR)

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천 남구 용현동 253 인하대학교

(72) 발명자

오중협

인천 남구 용현동 253 인하대학교

(74) 대리인

현중철

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 다시마 추출물을 함유하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 다시마 추출물을 함유하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물

(57) 요약

다시마 추출물을 함유하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물이 제공된다.

본 발명에 따른 약학적 조성물은 수정체 내의 글루타티온의 합성을 촉진하고 글루타티온 퍼옥시다제의 수정체 내 농도를 증가시키기 때문에 산화적 스트레스에 의한 백내장의 발생을 예방하고 억제하는 효과가 있으며, 적절한 농도를 투여하면 효과적인 백내장 예방 및 치료제로서 역할을 할 수 있다.

대 표 도 - 도6

	OD	OS		OD	OS
1			2		
3			4		
5			6		
7			8		
9			10		

특허청구의 범위

청구항 1

다시마 추출물을 유효성분으로 함유하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 글루타메이트, 글리신 및 시스테인을 포함하는 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 글루타메이트, 글리신 및 시스테인은 안구 내에서 글루타티온을 형성하고 글루타티온 퍼옥시다제의 안구 내 농도를 증가시키는 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 마그네슘을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 조성물이 경구용 또는 비경구용인 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 조성물이 주사제인 경우에 상기 주사제의 투여량은 10~200mg/kg bwt인 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 열수추출물인 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 추출 후 철 이온 성분이 제거된 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 이온교환수지를 이용하여 철 이온 성분이 제거된 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 10

다시마 추출물을 유효성분으로 함유하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 11

제 10항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 글루타메이트, 글리신 및 시스테인을 포함하는 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 글루타메이트, 글리신 및 시스테인은 수정체 내에서 글루타티온을 형성하고 글루타티온 퍼옥시다제의 수정체 내 농도를 증가시키는 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 13

제 10항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 마그네슘을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 14

제 10항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 열수추출물인 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 15

제 10항 내지 14항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 다시마 추출물은 이온교환수지를 이용하여 철 이온 성분이 제거된 것을 특징으로 하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 16

(a) 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올, 아세톤, 헥산, 클로로포름, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 추출용매를 이용하여 다시마를 추출하는 추출물 제조단계; 및

(b) 상기 추출물 제조단계에서 얻어진 추출물에 이온 교환 수지를 이용하여 철 이온 성분을 제거하는 철이온 제거단계를 포함하는 다시마 추출물의 제조방법.

청구항 17

제 16항에 있어서,

상기 추출용매는 물인 것을 특징으로 하는 다시마 추출물의 제조방법.

청구항 18

제 16항에 있어서,

상기 (b) 단계 이후에, 마그네슘을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 다시마 추출물의 제조방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

<1> 본 발명은 다시마 추출물을 함유하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 다시마에서 추출한 글루타메이트, 글리신 및 시스테인을 포함하는 백내장 예방 및 치료용 조성물과 상기 다시마 추출물을 함유하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 사람은 어느 정도의 연령에 이르면 눈의 수정체(카메라의 렌즈에 해당하는 기관)가 딱딱해지고 뿌옇게 탁해져 빛을 통과시키기 어려워져 점차 시야도 흐려지게 되는데 이것이 백내장이다. 특히, 활성산소 등에 의한 산화적 스트레스가 눈에 작용하면 수정체의 단백질이 산화되어 백내장이 유발될 수 있으며, 고령자일수록 활성산소 등의 산화적 스트레스에 대한 방어력이 감소하기 때문에 백내장 유발 가능성이 높아진다. 백내장 초기발병률은 60대에는 60%, 70대에는 80% 정도이며, 80대에는 대부분 발생하는데 최근에는 30~40대에서도 다양한 원인에 의해 발생률이 증가하고 있는 추세이다.
- <3> 백내장이 발생하면 안개 낀 것처럼 뿌옇게 보이거나, 시력저하, 눈부심, 사물이 겹쳐 보이는 증상 등이 생길 수 있다. 일단 백내장이 발생하면 진행을 억제하는 안약을 사용하거나, 수술로 백내장이 발생한 수정체를 제거하고 인공수정체를 삽입하는 것이 현재 시행되고 있는 치료법이다. 상기 치료법 중 수술적 치료법의 경우, 근 10년 동안 많은 발전이 있었지만, 안약 등의 점안제 또는 경구치료제 등 비 수술적인 방법으로 백내장을 치료하는 방법의 경우 그 효과가 아직 미약한 실정이다.
- <4> 상기 백내장의 발생원인은 산화적 스트레스, 단백질 응집 등 다양하지만 백내장의 환자의 경우 수정체중의 글루타티온(glutathione: GSH)량이 감소된다는 보고가 있고, GSH의 감소에 수반하여, 산화장해에 대한 방호능력이 저하되기 때문에 수정체가 혼탁되는 것으로 생각되고 있다. 글루타티온은 생체 내에 폭넓게 분포되는 항산화 물질로서, 화학명은 γ -L-글루타밀-L-시스테인-글리신(γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glycine)으로 표시된다. 상기 글루타티온은 산화시 두분자가 결합하여 디설파이드 결합을 이루게 되고(GSSH) 환원형태의 글루타티온의 경우에는 글루타티온 퍼옥시다제의 기질로서 생체 내에 발생한 과산화수소나 과산화기질 등의 과산화물을 분해하며 자신이 산화됨으로써 생체 내 미치는 산화장해를 억제하는 작용을 한다.
- <5> 따라서, 지나친 산화 스트레스 등이 가해지면 생체 내의 글루타티온은 소비/고갈되어 정상적인 세포의 기능을 유지하기 어렵게 되며 글루타티온의 세포내 농도 저하에 의해 야기되는 병상을 치료하기 위하여 글루타티온 제제가 사용되어 왔으며, 예를 들어, 대한민국 공개특허공보 제1990-2770호에는 백내장 치료용으로 사용되는 산화형 글루타티온을 함유하는 점안제가 개시되어 있으나 분자량이 커서 제대로 흡수되지 못하기 때문에 그 효과가 미비하다는 단점이 있었다.
- <6> 또한, 미국 등록특허공보 제5110796호에는 글루타티온 모노알킬 에스테르를 함유하는 백내장 예방 및 치료제가 개시되어 있으나, 이 역시 분자량이 크기 때문에 흡수량이 크지 않아서 효과가 미약하다는 문제가 있었다.

발명의 내용

해결 하고자 하는 과제

- <7> 따라서, 본 발명이 해결하고자 하는 첫 번째 과제는 천연추출물을 이용하여 제조되며 피하주사는 물론, 경구투여제 또는 점안제로 사용하더라도 안구 내의 글루타티온 및 글루타티온 퍼옥시다제의 농도를 증가시킴으로써 백내장을 효과적으로 예방할 수 있는 다시마 추출물을 함유하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- <8> 본 발명이 해결하고자 하는 두 번째 과제는 상기 다시마 추출물을 함유하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- <9> 본 발명이 해결하고자 하는 세 번째 과제는 상기 다시마 추출물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- <10> 본 발명은 상기 첫 번째 과제를 해결하기 위하여,
- <11> 다시마 추출물을 유효성분으로 함유하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- <12> 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 다시마 추출물은 글루타메이트, 글리신 및 시스테인을 포함하는 것일 수 있다.
- <13> 또한, 상기 글루타메이트, 글리신 및 시스테인은 수정체 내에서 글루타티온을 형성하고 글루타티온 퍼옥시다제의 수정체 내 농도를 증가시키는 것이 바람직하다.
- <14> 또한, 상기 다시마 추출물은 마그네슘을 더 포함하는 것이 바람직하다.
- <15> 본 발명의 다른 실시예에 의하면, 상기 조성물은 경구용 또는 비경구용일 수 있으며, 상기 조성물이 주사제인

경우에 상기 주사제의 투여량은 10~200mg/kg bwt 인 것이 바람직하다.

- <16> 본 발명의 또 다른 실시예에 의하면, 상기 다시마 추출물은 열수추출물일 수 있다.
- <17> 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면, 상기 다시마 추출물은 추출 후 철 이온 성분이 제거된 것일 수 있으며 이는 이온교환수지를 이용하는 것이 바람직하다.
- <18> 본 발명은 상기 두 번째 과제를 해결하기 위하여,
- <19> 다시마 추출물을 유효성분으로 함유하는 백내장 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- <20> 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 다시마 추출물은 글루타메이트, 글리신 및 시스테인을 포함하는 것일 수 있다.
- <21> 상기 글루타메이트, 글리신 및 시스테인은 수정체 내에서 글루타티온을 형성하고 글루타티온 퍼옥시다제의 수정체 내 농도를 증가시키는 것이 바람직하다.
- <22> 또한, 상기 다시마 추출물은 마그네슘을 더 포함하는 것이 바람직하다.
- <23> 본 발명의 또 다른 실시예에 의하면, 상기 다시마 추출물은 열수추출물일 수 있으며, 이온교환수지를 이용하여 철 이온 성분이 제거된 것이 바람직하다.
- <24> 본 발명은 상기 세 번째 과제를 해결하기 위하여,
- <25> 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올, 아세톤, 헥산, 클로로포름, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 추출용매를 이용하여 다시마를 추출하는 추출물 제조단계; 및
- <26> 상기 추출물 제조단계에서 얻어진 추출물에 이온 교환 수지를 이용하여 철 이온 성분을 제거하는 철이온 제거단계를 포함하는 다시마 추출물의 제조방법을 제공한다.
- <27> 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 추출용매는 물인 것이 바람직하며, 상기 철이온 제거단계 이후에 마그네슘 이온을 첨가하는 단계를 더 포함할 수 있다.

효 과

- <28> 본 발명에 따른 수정체 내의 글루타티온의 합성을 촉진하고 글루타티온 퍼옥시다제의 수정체 내 농도를 증가시키기 때문에 산화적 스트레스에 의한 백내장의 발생을 예방하고 억제하는 효과가 있으며, 적절한 농도를 투여하면 효과적인 백내장 예방 및 치료제로서 역할을 할 수 있으며 특히 철 이온을 제거하는 경우에는 백내장 예방 및 치료효과가 더욱 우수하다는 장점이 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

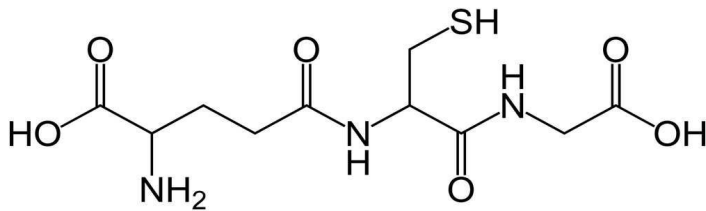
- <29> 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다.
- <30> 본 발명에 따른 다시마 추출물을 유효성분으로 함유하는 백내장 예방 및 치료용 약학적 조성물은 천연추출물을 이용하여 제조되며 안구 내의 글루타티온 및 글루타티온 퍼옥시다제의 농도를 증가시킴으로써 과산화수소나 과산화지질 등의 과산화물을 무독화하여 백내장을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다는 것을 특징으로 한다.
- <31> 산소는 전자배열에 따라 전자를 획득하기 쉬운 상태가 되어 강력한 산화제가 될 수 있다. 세포 내의 호흡과정에서 산소분자는 네 개의 전자에 의해 환원되어 물로 바뀐다. 그러나 산소분자가 불완전하게 환원되면 강력한 산화제가 되며 이러한 것을 반응성 산소(Reactive Oxygen Species:ROS)라고 한다. 산소분자가 한 개, 두 개 혹은 세 개의 전자에 의해 환원된 것을 각각 O^{2-} (superoxide radical anion), H_2O_2 (hydrogen peroxide) 혹은 OH (hydroxyl radical)이라고하며 이들 모두 강력한 산화제들이다.
- <32> 세포 내에서 생성된 상기 ROS는 지질, 핵산 및 단백질 등 세 종류의 생리학적 거대분자를 공격하게 되며 지질 과산화 연쇄반응(autoxidation)의 결과 지방이 산패하게 되고 사이클릭 엔도퍼옥사이드(cyclic endoperoxide)와 불포화 알데히드를 생산하여 돌연변이를 일으키거나 효소를 불활성화시키며 단백질과 핵산을 교차결합시키는 고정작용을 하기도 한다. 또한 지질 과산화는 세포막의 유동성을 감소시키고 막단백의 기능을 저하시킨다. 핵산에 대한 산화적 손상은 염기나 당의 부가 생성물(adducts)을 생성시키고, 단일 혹은 이중나선을 파괴하며, 다른 분자들과의 교차결합 등을 초래한다. 한편, 단백질이 산화되면 아미노산의 산화적 부가물 생성, 단백질-단백간의 교차

결합, 펩타이드 분열 등이 초래될 수도 있다.

<33> 특히, 백내장의 경우에는 과산화수소가 축적됨에 따른 산화적 스트레스에 의하여 효소 시스템이 불활성화되고 단백질이 응집하게 되며 수정체의 변색 등이 발생하게 되는 것으로 알려져 있다.

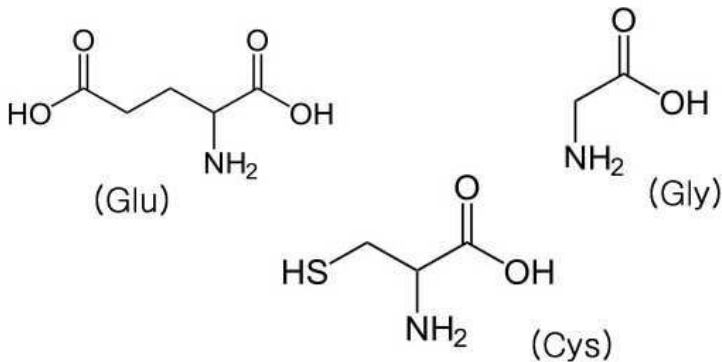
<34> 따라서, 이러한 ROS의 축적이나 해로운 산화작용을 막기 위해서 세포 내에서는 ROS제거 시스템이 작동하고 있다. 예를 들어, 티올기를 함유하는 성분(글루타티온의 시스테인 잔기)은 환원력을 가지고 있기 때문에 상기 ROS에 전자를 제공함으로써 ROS의 산화능을 제거한다. 세포 내의 글루타티온의 함량은 약 5~10 mM로써 세포 내부에 따라 약간씩 다르다. 백내장의 경우 산화적 스트레스에 노출되면 안구 내의 글루타티온의 농도가 감소하게 되어 상기와 같은 항산화작용 시스템이 제대로 작동하지 못하게 된다. 하기 화학식 1에는 글루타티온의 구조를 도시하였으며, 화학식 2에는 Gly(글리신), Glu(글루탐산) 및 Cys(시스테인)의 3가지 아미노산의 구조를 도시하였다.

화학식 1



<35>

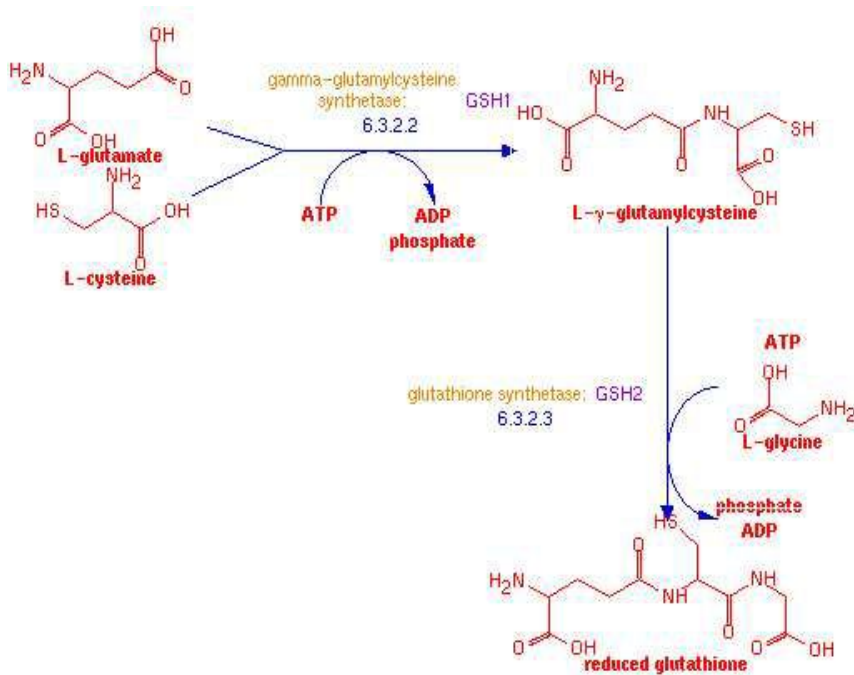
화학식 2



<36>

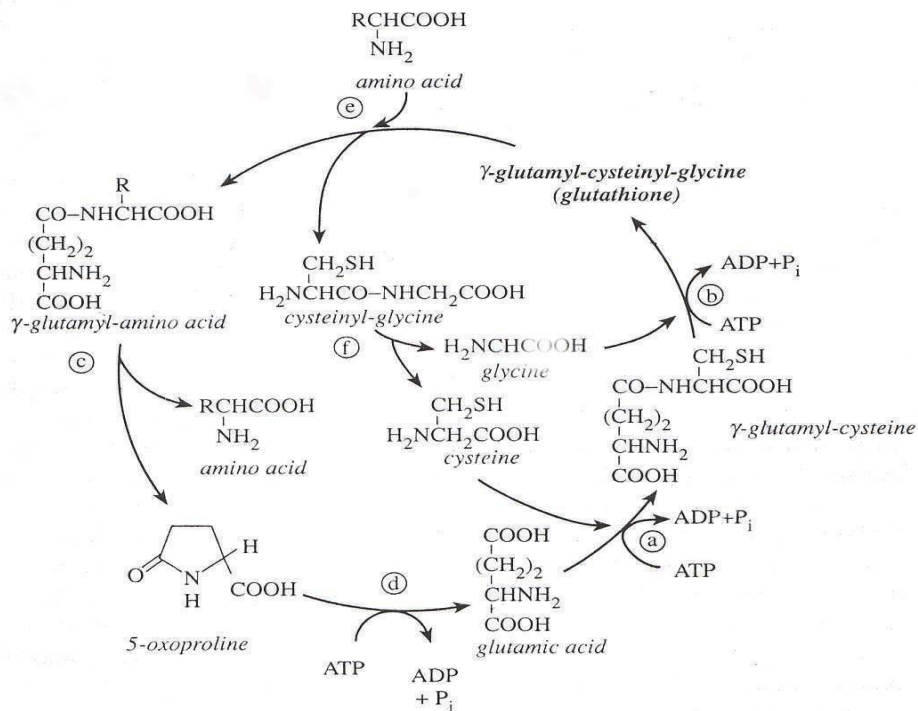
<37> 상기 화학식 1 및 2에서 알 수 있듯이 글루타티온은 Gly(글리신), Glu(글루탐산) 및 Cys(시스테인)의 3가지 아미노산으로 구성되어 있는 트리펩티드인데, 하기 반응식 1에는 글루타티온의 합성 사이클을 도시하였으며, 반응식 2에는 글루타티온의 합성 및 대사 사이클을 도시하였다.

반응식 1



<38>

반응식 2



<39>

<40>

본 발명에 따른 백내장 예방 및 개선용 약학적 조성물의 작용기전은 다시마 추출물에 포함되어 있는 유효성분이 수정체 내에서 글루타티온의 합성을 촉진시키기 때문인 것으로 판단된다. 이미 언급한 바와 같이, 글루타티온 자체는 분자량이 커서 세포 내로 흡수될 수 없기 때문에 글루타티온 자체를 안구 또는 수정체 내로 공급하기는 어렵다. 그러나, 본 발명에서는 다시마 추출물에 함유되어 있는 글루타메이트, 글리신 및 시스테인이 수정체 내에서 공유결합을 통해 글루타티온을 형성하게 되며, 이로 인해 글루타티온 퍼옥시다제의 농도 역시 향상되는 것으로 판단된다. 상기 글루타티온 퍼옥시다제는 체내에 존재하는 효소로서 과산화수소를 소멸시키는 활동을 갖고 있으며, 이때 글루타티온을 기질로 하기 때문에 체내에 존재하는 글루타티온의 양이 상기 글루타티온 퍼옥시다

제의 효소활성에 커다란 영향을 미친다.

- <41> 상기 반응식 1을 참조하면, 글루타메이트, 글리신 및 시스테인이 결합하여 글루타티온을 합성하는데 있어서는 γ -글루타밀시스테인 합성효소(γ -glutamylcysteine synthetase, E.C. 6.3.2.2.)와 글루타티온 합성효소(Glutathione Synthetase가 작용을 하게 되는데, 이들 중 상기 γ -글루타밀시스테인 합성효소는 ATP의 존재하에서 글루탐산염과 시스테인으로부터 γ -글루타밀시스테인을 합성하는 글루타티온 생합성의 첫번째 단계이자 반응 속도 제한단계(rate-limiting step)를 촉매함으로써, 생물체의 글루타티온 합성에 결정적 역할을 담당하는 약 68kDa의 효소이다. 상기 효소는 마그네슘의 존재 하에 촉매 작용을 하는데, 다시마 추출물에는 마그네슘이 함유되어 있기 때문에 상기 γ -글루타밀시스테인 합성효소의 효소 작용을 촉진시킬 수 있다고 판단된다. 다시마 추출물 내에 함유된 마그네슘의 함량은 통상 0.5% 이기 때문에 본 발명에 따른 백내장 예방 및 치료용 조성물에는 추가적으로 마그네슘을 더 첨가하는 것이 바람직하며, 상기 마그네슘은 이온화합물 형태로 첨가될 수 있다.
- <42> 본 발명에 따른 백내장 예방 및 치료용 조성물을 투여하게 되면 수정체 내의 글루타티온 및 글루타티온 퍼옥시다제의 농도가 증가하게 되고 이에 따라 과산화수소 및 히드록시 라디칼을 환원시켜 백내장을 예방하고 증상을 개선시킬 수 있다. 또한, 다시마에는 푸코이단이 함유되어 있는데, 푸코이단이란 갈조류에 포함된 미끌미끌한 점질물에 포함된 황산화 다당체를 의미하는데, 해조가 파도나 바위에 부딪혀 상처 입은 부위에, 세균침입을 못하도록 항균, 면역 위해 생성되는 생리 활성 물질이다. 이러한 푸코이단은 U-푸코이단, F-푸코이단, G-푸코이단 3종류가 있으며 황산화 기능이 뛰어나기 때문에 본 발명에 따른 조성물에서도 백내장의 예방 효과를 증진시킬 수 있다고 사료된다.
- <43> 본 발명에 사용되는 다시마 추출물은 조추출물, 극성용매 가용 추출물일 수 있으며, 비극성용매 가용추출물일 수도 있다. 상기 조추출물은 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로부터 추출한 것을 포함하고, 극성용매 가용 추출물은 아세톤, 부탄올, 에탄올, 메탄올 또는 물로부터 선택된 극성 용매로 추출한 것을 의미하며, 비극성용매 가용 추출물은 헥산, 클로로포름, 디클로로메탄 또는 에틸 아세테이트로부터 선택된 비극성용매로, 바람직하게는 에틸 아세테이트로 추출한 것을 포함한다.
- <44> 상기 추출방법은 글루타메이트, 글리신 및 시스테인을 효율적으로 추출할 수 있는 한, 특별히 제한되지 않으며, 열수추출로 간단하게 추출하는 것이 바람직하다. 추출시의 압력은 상압, 가압 및 감압 어느 것이라도 좋다. 또한, 마그네슘 이온의 추출이 용이하도록 극성용매를 이용한 추출법이 바람직하며 이러한 이유로 인해 가장 바람직한 추출용매는 물이다.
- <45> 한편, 본 발명에 따른 백내장 예방 및 개선용 조성물은 다시마 추출물을 추출하고 난 이후에 그 추출물에 포함되어 있는 철 이온을 제거한 것이 더욱 바람직하다. 그 이유는 비타민 C 등의 황산화제의 경우 철 이온의 존재 하에 오히려 산화제로서의 역할을 할 수 있으며, 세포 내에서 H_2O_2 는 Fe^{2+} 이온의 존재 하에 히드록시 라디칼을 형성할 수 있으므로 이를 방지하기 위함이다. 상기 철 이온을 제거하는 방법은 당업계에서 통상적으로 알려져 있는 방법인 한 특별한 제한 없이 사용될 수 있으며, 예를 들어, 실리카를 이용하여 철 이온을 흡착시켜 제거하는 방법, 철 이온과 킬레이트 결합을 할 수 있는 킬레이트 이온교환 수지를 사용하는 방법 등을 들 수 있다. 상기 킬레이트 이온교환 수지로는, 예를 들어 스티렌/디비닐벤젠 킬레이트 이온 교환 수지, 쌍을 이룬 이미노디아세테이트 작용기 또는 이미노디아세트산 작용기를 갖는 킬레이트 이온 교환 수지 등을 들 수 있으며, 구체적으로는 롬 앤드 하스 컴패니에서 시판하는 AMBERLITE(등록상표)IRC 718(나트륨 형태) 또는 바이오 래드 컴패니에서 시판하는 Chelex(등록상표)20 또는 Chelex(등록상표)100 (나트륨 형태) 등을 사용할 수 있다.
- <46> 한편, 상기와 같이 킬레이트 이온교환 수지를 사용하여 철 이온을 제거하는 경우에는 마그네슘 이온도 함께 제거될 수 있기 때문에, 상기 철 이온 제거공정 이후에 마그네슘을 추가적으로 더 첨가하는 것이 바람직하다.
- <47> 본 발명에 따른 약학적 조성물은 실제 임상투여시에 경구 및 비경구의 여러가지 제형으로 투여될 수 있다. 경구 투여를 위한 고형 제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose), 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘(Magnesium stearate), 탈크(talc) 등과 같은 활택제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀(liquid paraffin) 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 등이 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol), 올리브 오일(olive oil)과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트(ethyl oleate)와 같은

주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 투약 단위는, 예를들면 개별 투약량의 1, 2, 3 또는 4배를 함유하거나 또는 1/2, 1/3 또는 1/4배를 함유할 수 있다. 개별 투약량은 바람직하기로는 유효 약물이 1회에 투여되는 양을 함유하며, 이는 통상 1일 투여량의 전부, 1/2, 1/3 또는 1/4배에 해당한다.

<48> 상기 약학적 조성물에서, 다시마 추출물의 유효용량은 200mg/kg(체중)미만이며, 더 바람직하게는 10~150 mg/kg(체중)이지만, 특정 환자에 대한 투여용량 수준은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율, 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다.

<49> 본 발명에 따른 식품 조성물의 경우 상기 다시마 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있고, 상기 약학조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

<50> 한편, 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없으며, 영양 보조식품, 기능성 식품, 건강 식품 또는 미용 식품 등을 들 수 있는데, 그 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있다.

<51> 이하, 바람직한 실시예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명하지만 본 발명이 이에 의해 제한되는 것은 아니다.

<52> 실시예 1

<53> 다시마 추출물 및 스톡용액의 제조

<54> 인천광역시 옹진군에서 양식한 다시마 500g에 증류수 3L를 가하여 100℃에서 4시간 동안 열수추출하고 필터링한 다음, 추출액을 동결건조하였다. 상기 동결건조된 추출물을 식염수에 용해시켜 각각 25, 50, 100 및 200mg/ml의 스톡용액을 제조하였다.

<55> 실시예 2

<56> 다시마 추출물에 함유되어 있는 아미노산 및 그 함량의 분석

<57> 상기 분석은 한국기초과학지원연구원에서 수행하였으며, 추출물 시료 중 10.38mg를 취하여 PICO-tag 방법을 이용하여 가수분해 및 PITC(Phenyl isothiocyanate) labeling을 한 다음 시료 10μl를 취하여 HPLC에 로딩하고 크로마토그램을 얻었으며, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

아미노산	함량(pmol)
Asp	12943.780
Glu	39309.887
Cys2	235.162
Gly	9862.749
Ser	5864.743
His	2170.835
Arg	2818.017
Thr	6370.933
Ala	19275.175
Pro	7635.962
Tyr	1915.901
Val	7717.756
Met	2788.048
Ile	4998.947
Leu	8667.008
Lys	4834.982

<59> 상기 pmol은 시료 0.259mg 당 아미노산의 함량을 의미한다.

<60> 상기 표 1을 참조하면 다시마 추출물에는 다양한 아미노산이 존재하며 이들 중에 클루탐산, 글리신 및 시스테인(Cys2)를 포함하는데, 이들이 수정체 내에서 글루타티온을 형성할 수 있다.

<61> 실시예 3

<62> 백내장 억제 효과의 측정

<63> SD rat 70마리를 각각 10마리씩 7개의 군으로 나누어 정상군(1군)을 제외하고 나머지 6군에 생후 11일째에 소듐 셀레나이트(Sodium selenite) 15 μ mol/kg bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발하였다. 대조군(2군)은 생리식염수, 3군은 Ascorbic acid (1000mg/kg bwt), 다음으로 실시예 1에서 제조된 다시마 추출물 스톡용액을 이용하여 4군은 25mg/kg bwt, 5군은 50mg/kg bwt, 6군은 100mg/kg bwt, 7군은 200mg/kg bwt를 생후 3일째부터 복강 내로 투여하였다. 다음으로 소듐 셀레나이트 주사 4일째 백내장 발생 정도를 Slit lamp photo (FS-3, Nikon, Japan)로 촬영하였고 이 후 1주, 2주, 3주에 백내장 정도를 각각 촬영하였으며, 3주 후의 오른쪽 눈(OD) 및 왼쪽 눈(OS)에 대한 촬영 결과를 도 1 내지 7에 도시하였고 백내장 발생의 정도를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

군	백내장 발생 개체수
1군	0마리 / 10마리
2군	8마리 / 10마리
3군	4마리 / 10마리
4군	3마리 / 10마리
5군	2마리 / 10마리
6군	1마리 / 10마리
7군	6마리 / 10마리

<65> 도 1 내지 7 및 상기 표 2를 참조하면, 소듐 셀레나이트를 주사하고 3주 후 평균 백내장 발생율은 정상군 0/10마리, 대조군 8/10마리, 3군 4/10마리, 4군 3/10마리, 5군 2/10마리, 6군 1/10마리, 7군 6/10마리로, 대조군에 비해 3, 4, 5, 6, 7군 모두 낮은 발생 정도를 보였으며 특히 6군에서 제일 발생률이 낮았다 ($p<0.05$). 대조군과 의미있는 차이를 보이는 군은 4군, 5군 및 6군이었으며($p<0.05$) 다시마 추출물 농도가 높은 7군에서는 오히려 발생률이 증가하는 경향을 보였다. 따라서, 상기 다시마 추출물을 주사제로 사용하는 경우의 주사제의 투여량은 10~200mg/kg bwt인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 25~100mg/kg bwt이다. 상기 투여량이 10mg/kg bwt 미만인 때에는 효과가 미약하고, 200mg/kg bwt을 초과하는 때에는 철 이온의 영향으로 인해 백내장 발생률이 다시 증가할 우려가 있으므로 바람직하지 않다. 발생한 백내장은 모두 central dense nucleosclerosis 소견을 보였다.

<66> 실시예 4

<67> 수정체 조직의 MDA, SOD 및 GPx 농도의 측정

<68> 상기 수정체의 백내장 발생 정도를 촬영한 후, 안구를 적출하고 수정체와 방수를 채취하여 원심분리한 다음, 수정체 조직의 말론디알데히드(Malondialdehyde: MDA), SOD(Superoxide dismutase) 및 글루타티온 퍼옥시다제(GPx)의 농도를 ELISA 법으로 측정하고 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

군	MDA(μ mol/l)	GPx(nmol/min/ml)	SOD(U/ml)
1군	< 0.01	93	32.20
2군	< 0.01	207	38.15
3군	0.81	210	50.10
5군	0.60	230	44.75
6군	< 0.01	289	52.95
7군	0.05	241	50.10

<70> 상기 표 3을 참조하면, 5군과 6군 및 7군에서 글루타티온 퍼옥시다제의 농도가 상당히 증가하였으며, 이는 수정체 내의 글루타티온의 농도의 증가에 따른 것으로 판단되는데, 따라서, 본 발명에 따른 조성물이 수정체 내에서 글루타티온의 합성을 촉진시키며, 글루타티온 퍼옥시다제의 농도를 증가시키는 역할을 한다고 할 수 있다.

<71> 실시예 5

<72> 철이온을 제거한 추출물의 백내장 억제 효과 측정

<73> 상기 실시예 1에서 제조된 다시마 추출액에 대하여 이온교환수지로서 2-methyl-8-hydroxyquinoline(MHQ)을 침윤시킨 Amberlite XAD-4(롬앤하스사 제조) 수지를 채운 이온교환 크로마토그래피를 사용하여 철 이온을 제거한 후에 동결건조한 다음 상기 동결건조된 추출물을 식염수에 용해시켜 200mg/ml의 스톡용액을 제조하였다. 철이온의 함량은 ICP-AEA로 분석하였으며, 철이온 제거 전의 다시마 추출액에는 약 40ppm의 철이온이 존재하였으나 상기에서 철이온을 제거한 후에 측정된 결과 철이온이 거의 존재하지 않는다는 것을 확인하였다.

<74> 다음으로 SD rat 30마리를 각각 10마리씩 3개의 군으로 나누어 각각의 군에 생후 11일째에 소듐 셀레나이트(Sodium selenite) 15 μ mol/kg bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발하였다. 대조군(1군)은 생리식염수, 2군은 실시예 1에서 제조된 다시마 추출물 스톡용액 50mg/kg bwt를 투입하였으며, 마지막으로 3군의 경우에는 상기에서 철이온이 제거된 다시마 추출물 스톡용액을 상기 2군과 동일한 양인 50mg/kg bwt를 생후 3일째부터 복강 내로 투여하였다. 다음으로 소듐 셀레나이트 주사 4일째 백내장 발생 정도를 Slit lamp photo (FS-3, Nikon, Japan)로 촬영하였고 이 후 3주에 백내장 정도를 각각 촬영하였으며, 백내장 발생의 정도를 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

<75>

군	백내장 발생 개체수
1군	9마리 / 10마리
2군	2마리 / 10마리
3군	1마리 / 10마리

<76> 상기 결과를 참조할 때에, 2군의 경우 백내장 발생율이 20%인데 비하여 3군의 경우에는 10%로서 발생율이 낮았으며, 이는 철이온이 제거된 데에 따른 효과라고 할 수 있다.

<77>

<78> 제제예 1

<79> 정제의 제조

<80> 실시예 1에서 얻어진 건조 추출물 200mg

<81> 젓당 100mg

<82> 콘스타치 100mg

<83> 스테아린산 마그네슘 적량

<84> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

<85> 제제예 2

<86> 주사제제의 제조

<87> 실시예 1에서 얻어진 건조 추출물 100mg

<88> 소듐 메타비설파이트 3.0mg

<89> 메틸파라벤 0.8mg

<90> 프로필파라벤 0.1mg

<91> 주사용 멸균증류수 적량

<92> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 방법으로 2ml로 한 후, 2ml용량의 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조하

였다.

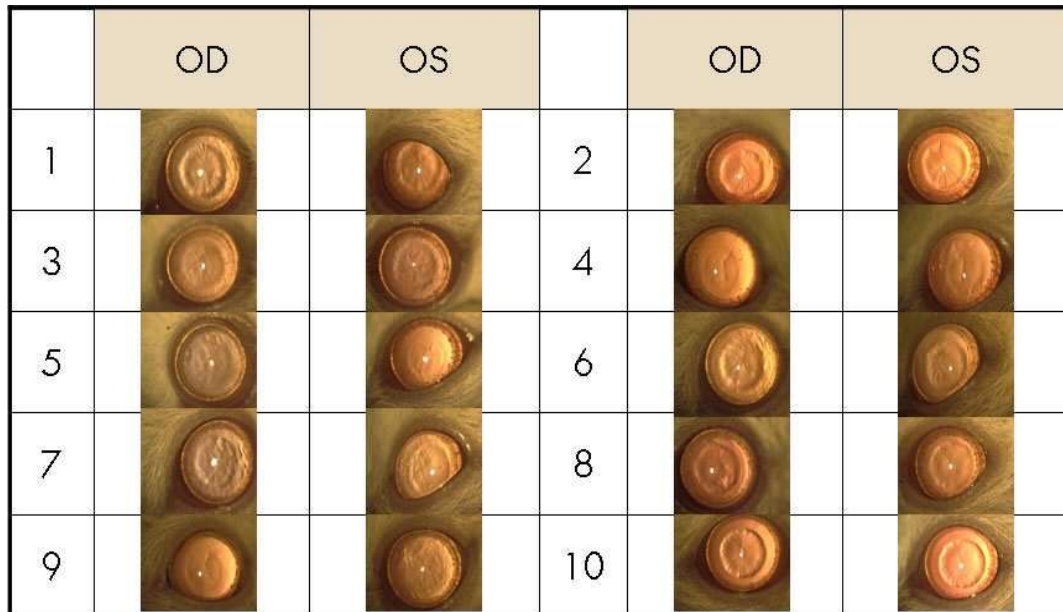
- <93> 제제예 3
- <94> 캡슐제의 제조
- <95> 실시예 1에서 얻어진 건조 추출물 100mg
- <96> 젓당 50mg
- <97> 콘스타치 50mg
- <98> 탈크 2mg
- <99> 스테아린산 마그네슘 적량
- <100> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- <101> 제제예 4
- <102> 건강음료의 제조
- <103> 실시예 1에서 얻어진 건조 추출물 200mg
- <104> 액상과당 20g
- <105> 올리고당 20g
- <106> 구연산 적량
- <107> 레몬향 적량
- <108> 여기에 정제수를 혼합하여 시럽을 만들고, 상기 시럽을 가열살균한 다음 냉각수와 혼합하여 건강음료를 제조하였다.

도면의 간단한 설명

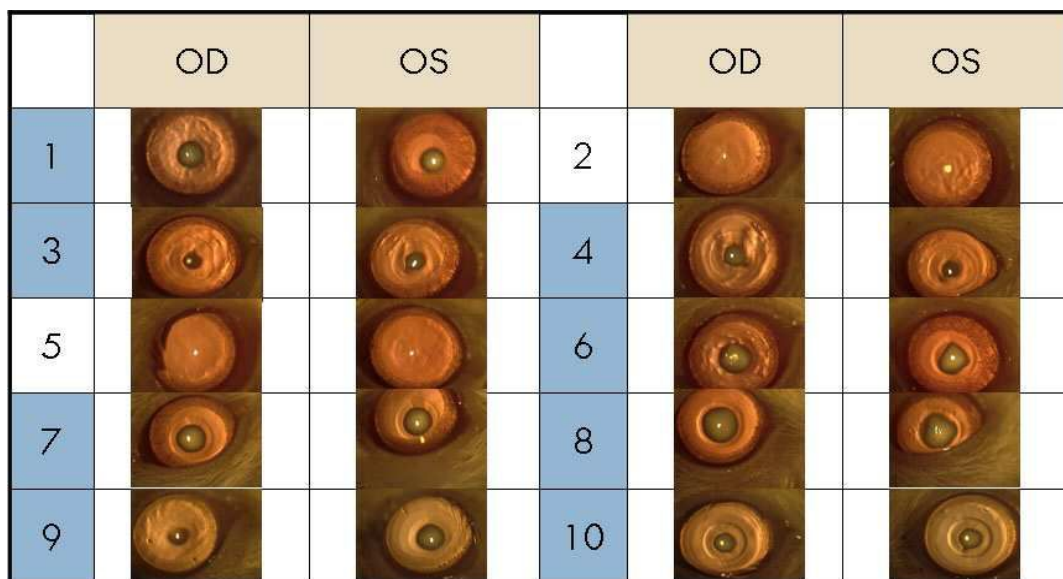
- <109> 도 1은 아무것도 투여하지 않은 1군의 안구에 대한 슬릿 램프 사진이다.
- <110> 도 2는 소듐 셀레나이트 15 $\mu\text{mol/kg}$ bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발한 후 생리식염수를 주사한 군의 안구에 대한 슬릿 램프 사진이다.
- <111> 도 3은 소듐 셀레나이트 15 $\mu\text{mol/kg}$ bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발한 후 아스코빅산 1000mg/kg bwt를 주사한 군의 안구에 대한 슬릿 램프 사진이다.
- <112> 도 4는 소듐 셀레나이트 15 $\mu\text{mol/kg}$ bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발한 후 본 발명에 따른 다시마 추출물 25mg/kg bwt를 주사한 군의 안구에 대한 슬릿 램프 사진이다.
- <113> 도 5는 소듐 셀레나이트 15 $\mu\text{mol/kg}$ bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발한 후 본 발명에 따른 다시마 추출물 50mg/kg bwt를 주사한 군의 안구에 대한 슬릿 램프 사진이다.
- <114> 도 6은 소듐 셀레나이트 15 $\mu\text{mol/kg}$ bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발한 후 본 발명에 따른 다시마 추출물 100mg/kg bwt를 주사한 군의 안구에 대한 슬릿 램프 사진이다.
- <115> 도 7은 소듐 셀레나이트 15 $\mu\text{mol/kg}$ bwt를 피하 주사하여 백내장을 유발한 후 본 발명에 따른 다시마 추출물 200mg/kg bwt를 주사한 군의 안구에 대한 슬릿 램프 사진이다.

도면

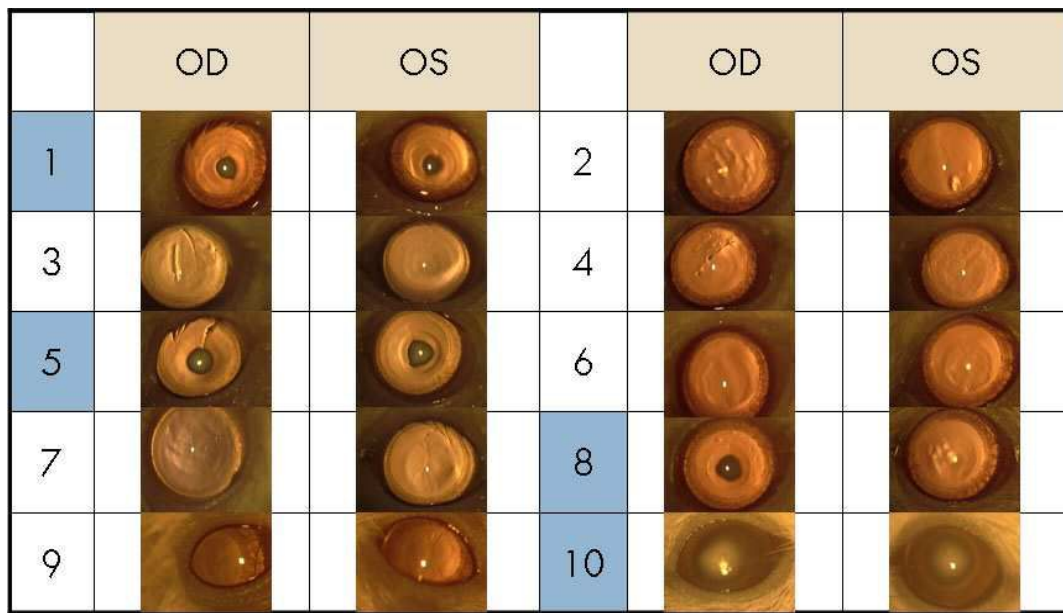
도면1



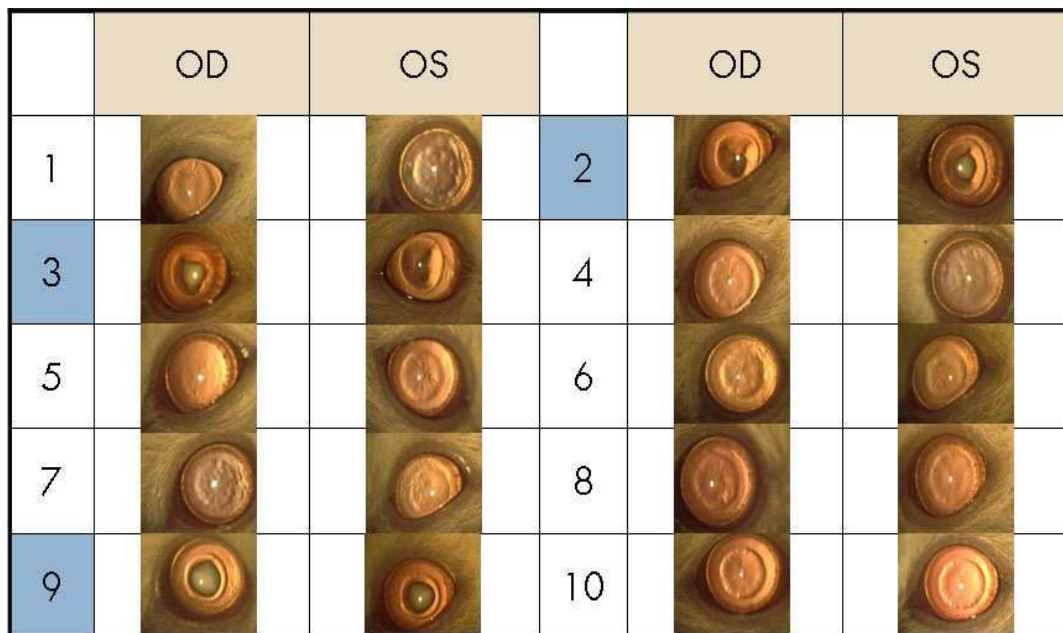
도면2



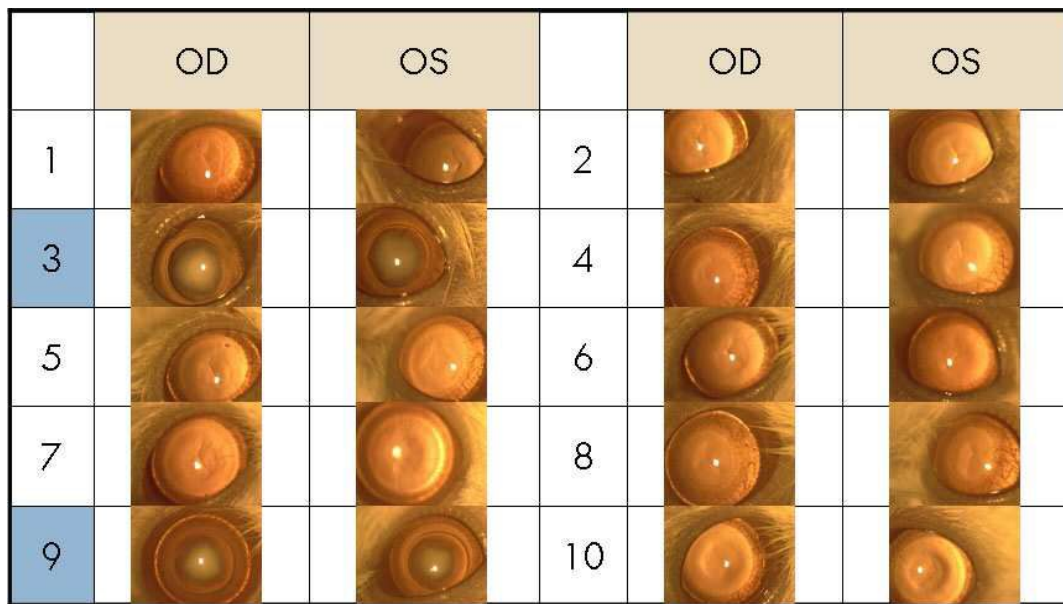
도면3



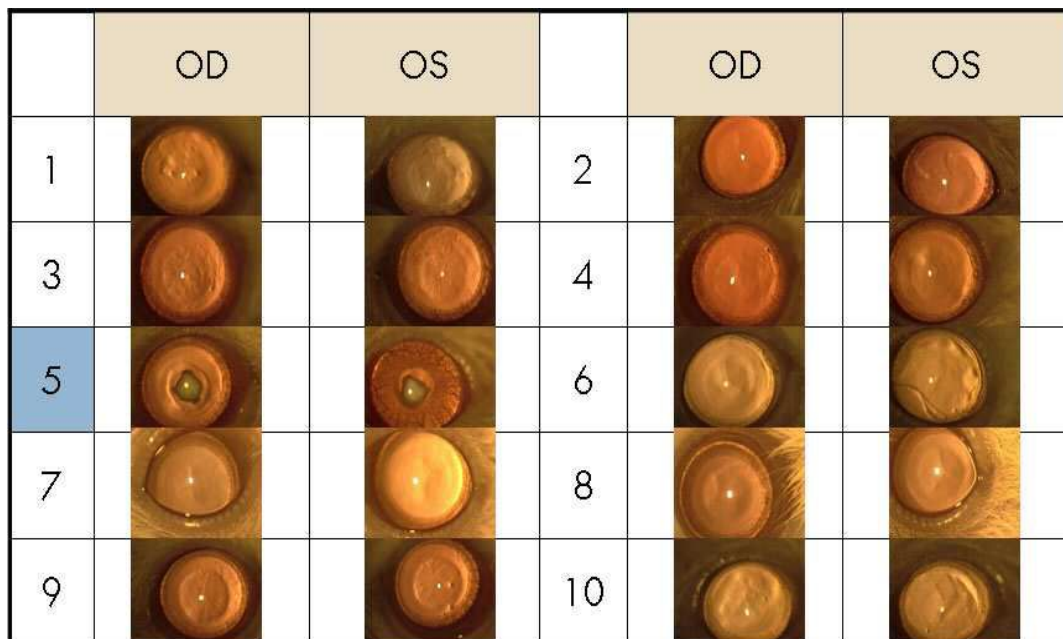
도면4



도면5



도면6



도면7

