

| | | |
|---|--|--|
| <p style="text-align: center;"> 주 의 (편집순서8) (16 포인트 고딕체) </p> <p style="text-align: center;"> ↑ 7cm ↓ </p> | <p style="writing-mode: vertical-rl; text-orientation: upright;"> 보고서 발간 번호 </p> <p style="writing-mode: vertical-rl; text-orientation: upright;"> 해조류 유래 복합 염증성 질환의 예방 및 치료소재 탐색 </p> <p style="writing-mode: vertical-rl; text-orientation: upright;"> 한국해양과학기술원 </p> <p style="text-align: center;"> ↑ 5cm ↓ </p> | <p style="text-align: center;"> ↑ 보고서발간번호 (14포인트 중고딕체) 7cm ↓ </p> <p style="text-align: center;"> 해조류 유래 복합 염증성 질환의 예방 및 치료소재 탐색 Exploration of prevention and remedy materials on complex inflammatory disease from marine algae </p> <p style="text-align: center;"> ↑ 5cm ↓ </p> <p style="text-align: center;"> 2014. 04. 30 </p> <p style="text-align: center;"> 한 국 해 양 과 학 기 술 원 </p> <p style="text-align: center;"> ↑ 7cm ↓ </p> |
|---|--|--|

| |
|---------|
| 보고서발간번호 |
| |

신진연구자지원과제 최종보고서

해조류 유래 복합 염증성 질환의 예방 및
치료소재 탐색

2014. 4. 30.

한 국 해 양 과 학 기 술 원

제 출 문

한국해양과학기술원장 귀하

본 보고서를 “해조류 유래 복합 염증성 질환의 예방 및 치료소재 탐색”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2014. 4. 30

총괄연구책임자 : 허 수 진

참 여 연 구 원 : 예 보 람

장 지 이

김 민 선

보고서 초록

| | | | | | |
|--|--------------------------|---|---|-------------|---|
| 과제고유 번호 | PE98989 | 해당단계 연구기간 | 2013.05.01 - 2014.04.30 | 단계 구분 | |
| 연구사업명 | 중사업명 | | | | |
| | 세부사업명 | | | | |
| 연구과제명 | 대과제명 | 신진연구자지원과제 | | | |
| | 세부과제명 | 해조류 유래 복합 염증성 질환의 예방 및 치료소재 탐색 | | | |
| 연구책임자 | 허 수 진 | 해당단계 참여연구원수 | 총 : 명 내부: 명 외부: 명 | 해당단계 연구비 | 정부: 천원 기업: 천원 계 : 천원 |
| | | 총연구기간 참여연구원수 | 총 : 4 명 내부: 1 명 외부: 3 명 | 총 연구비 | 정부: 51,000천원 기업: 천원 계 : 51,000천원 |
| 연구기관명 및 소속부서명 | 한국해양과학기술원/ 해외생물자원연구센터 | | 참여기업명 | | |
| 국제공동연구 위탁연구 | | | | | |
| 요약 | | | | 보고서 면수 | |
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ 여러 종류의 해조류들 중 효과가 우수했던 파배기모자반을 대상으로 실험을 진행함 ▪ 파배기모자반 추출물 중 CHCl₃ 분획에서 세포독성도 나타나지 않고 효과도 우수해 활성성분 분리를 수행함 ▪ 활성성분의 구조를 분석한 결과 chromene계열의 성분인 sargachromano D, E, G, I 라는 것이 밝혀짐 ▪ 4개의 활성성분들은 세포독성이 나타나지 않고 RAW 264.7 세포에서 우수한 NO생성 억제 효과를 나타내었음 ▪ 또한 다양한 기전분석을 통해 염증억제효과를 보이는 것을 확인하였음 ▪ 골 항상성은 골 흡수에 관여하는 파골세포와 골 형성에 관여하는 조골세포의 긴밀한 상호작용에 의해 유지되므로 복합염증성예방소재 탐색을 위해 활성성분들의 효과를 분석함 ▪ 활성성분들은 파골세포분화에 관련된 인자들을 효과적으로 억제하였음 ▪ 조골세포인 MG-63을 대상으로 실험한 결과에서도 우수한 효과가 입증됨 ▪ 이러한 결과들을 바탕으로 파배기모자반유래 활성성분들은 일반 염증성질환 예방과 더불어 조골세포/파골세포와 관련된 골다공증 분야에도 적용할 수 있을 뿐만 아니라 이러한 것들을 조합한 복합 염증성질환의 예방 및 치료소재로서의 이용 가능성이 있다는 것을 확인할 수 있었음 | | | | | |
| 색인어 (각 5개 이상) | 한 글 | 해조류, 파배기모자반, chromene 계열, 항염증, 파골세포형성 | | | |
| | 영 어 | seaweed, Sargassum siliquastrum, chromene series, Anti-inflammation, osteoclastogenesis | | | |

요 약 문

I. 제 목

해조류 유래 복합 염증성 질환의 예방 및 치료소재 탐색

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 최근 건강관리에 대한 관심이 고조되고 생활습관이 변화됨에 따라 삶의 질 향상을 위한 소비자의 노력이 증가하고 있으며, 의약품 및 식품의 안전성 등에 대한 관심이 고조되고 있음.
- 염증 반응은 선천성 면역의 일부로서 조직이 충격을 받거나 상처가 생겼을 때, 고온이나 저온에 노출 됐을 때, 조직이 괴사 했을 때, 조직이 감염 됐을 때 등과 같은 외부 자극에 대한 생체조직 방어반응의 하나로 조직 내 이상 현상(변질, 순환장애와 삼출, 부종 등)을 이끄는 복잡한 병변임.
- 즉, 염증반응은 초기에는 생체 내 방어기전으로 평가되는 생리적 역할을 수행하지만 만성적인 과도한 염증반응은 정상세포들의 활성화와 생리적 기능을 감소시키는 독성효과로 평가됨.
- 이 염증반응의 이상으로 정상조직까지 파괴하는 질병을 염증성 질환이라 하며 대표적인 복합 염증성 질환으로 관절염을 들 수 있음.
- 현재 이러한 복합 염증성질환으로 고생하는 환자는 각종질병 보유환자 전체 중에 큰 비중을 차지하고 있으나 현재까지 많은 노력에도 불구하고 염증성 질환에 선택적으로 효과적인 치료제가 개발되지 않아 새로운 소염제의 개발이 절실히 요구되고 있음.
- 따라서 염증의 발생 기작을 분자생물학, 세포생물학, 면역학적인 면에서 연구하여 관련된 신호전달물질을 밝혀내고 이를 이용한 항염증 치료제 검색기술을 새로이 개발하여 항염증 신규물질을 탐색 획득하는 것은 염증의 치료 및 예방에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 결과적으로 엄청난 부가가치를 창출할 것으로 예측됨.
- 유엔해양법 및 생물다양성협약 이후 고부가가치의 유용생물자원소재 확보를 위한 세계 각국의 자원전쟁이 시작되었고, 그 중 천연 신약이나 식품의학 소재, 천연 화장품소재 등 활용도가 높은 해양생물자원을 발굴하고 활용하기 위한 노력이 진행 중임.

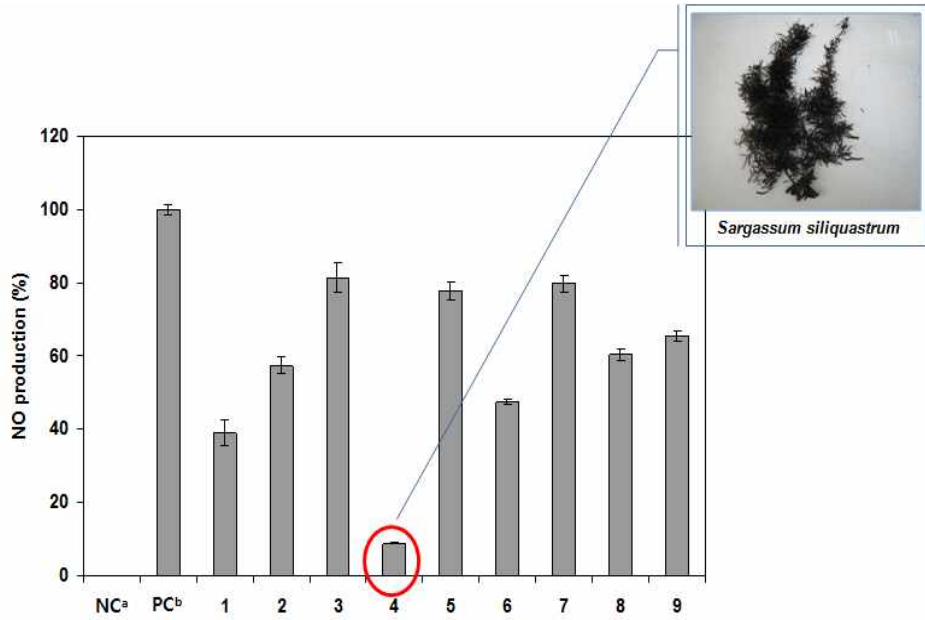
- 국내에서도 유수의 제약업체들이 관련 상품을 판매하고 있지만 이러한 제품들은 대부분이 합성 유래의 제품이거나 원료 자체를 수입한 후 판매하는 형태여서 국내 자체 브랜드화를 위한 천연물의 개발이 필요한 실정임.
- 본 과제에서는 현재 개별인정형 건강기능성식품 품목중 70%이상을 차지하는 노화방지, 골관절염, 당뇨, 고혈압 등 관련분야 중 염증성 질환과 관련된 천연소재 원료개발 및 산업화 촉진을 통하여 해조류 관련 1차 산업과 3차 산업의 동반성장을 목표로 함.
- 이 연구에 사용하게 될 해조류는 우리나라 전 연안에 분포하고 있는 종으로서 육상생물과는 다른 환경에서 서식하고 있기 때문에 기존에 나와 있는 천연물과는 다른 형태의 생리활성성분이 다양하게 함유되어 있음.
- 뿐만 아니라, 전 세계의 많은 사람들은 웰빙문화와 함께 천연물질에 주목하고 있으며, 기능성 소재라는 측면에서 보다 더 많은 관심을 가지고 있음.
- 이러한 관심은 천연 기능성 소재의 중요성을 한 층 더 부각시켜주고 지금 사회나 문화적 측면에서 부각되고 있는 천연물질의 중요성을 확인시켜주는 자료라고 할 수 있음.

III. 연구개발의 내용 및 범위

- 해조류 채집 및 추출
- 항염증효과 스크리닝을 통한 후보종 선정
- 활성성분의 분리 및 구조분석
- 활성성분의 항염증효과 및 세포독성 분석
- 활성성분의 복합염증관련 효과 및 세포독성 분석

IV. 연구개발결과

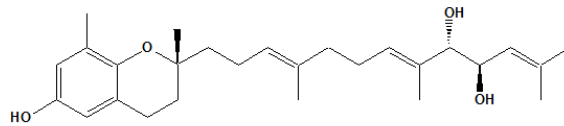
- 해조류 채집 및 추출
 - 해조류가 풍부하게 서식하고 있는 제주 연안에서 50여종의 해조류를 채집하였고 그 중 실험을 수행할 수 있을만한 양이 확보된 9종의 갈조류를 대상으로 추출물을 제조함
- 항염증효과 스크리닝을 통한 후보종 선정
 - 9종의 해조류 추출물을 대상으로 항염증효과를 분석한 결과 파배기모자반 추출물에서 가장 우수한 효과를 나타냄
 - 이에 파배기모자반 추출물을 극성별로 분획하여 활성성분의 분리를 수행함



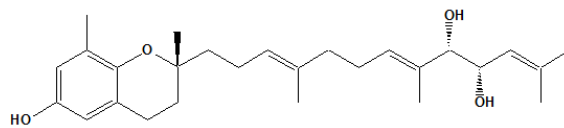
[해조류 추출물의 항염증효과 스크리닝 결과]

○ 활성성분의 분리 및 구조분석

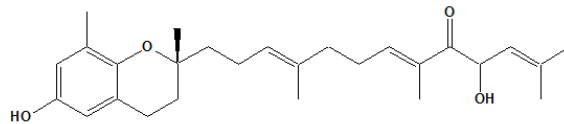
- 활성성분들의 구조를 분석한 결과 chromene계열의 화합물 sargachromanol D, E, G, I라는 것이 확인됨



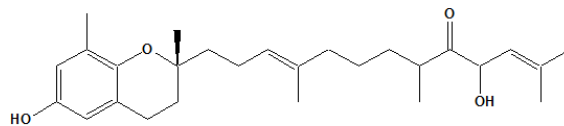
Sargachromanol D



Sargachromanol E



Sargachromanol G

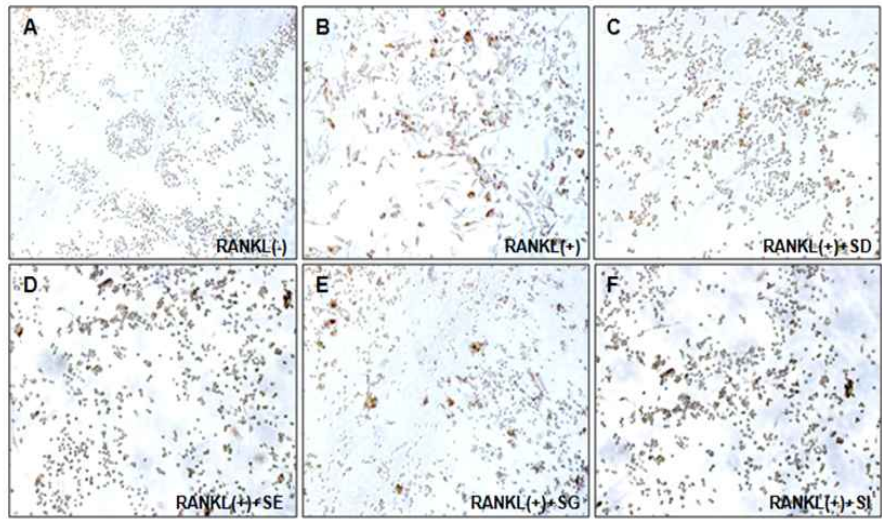
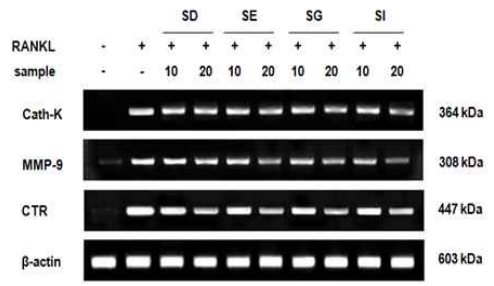
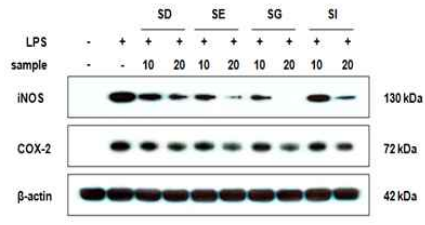
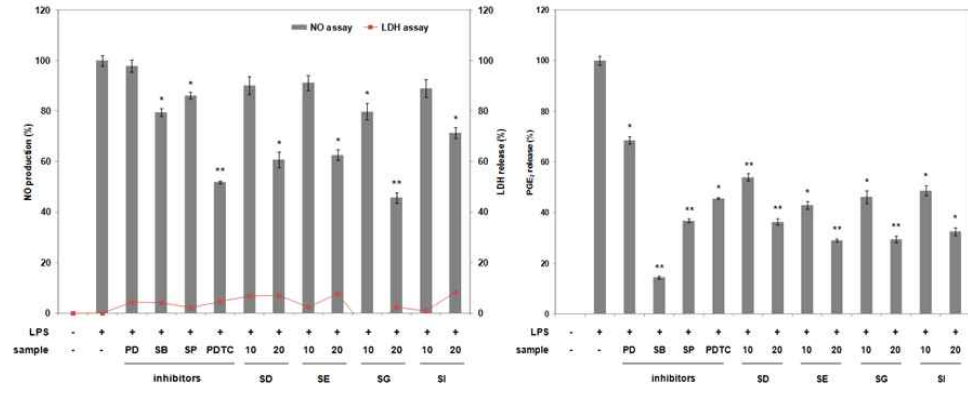


Sargachromanol I

[활성성분의 화학구조]

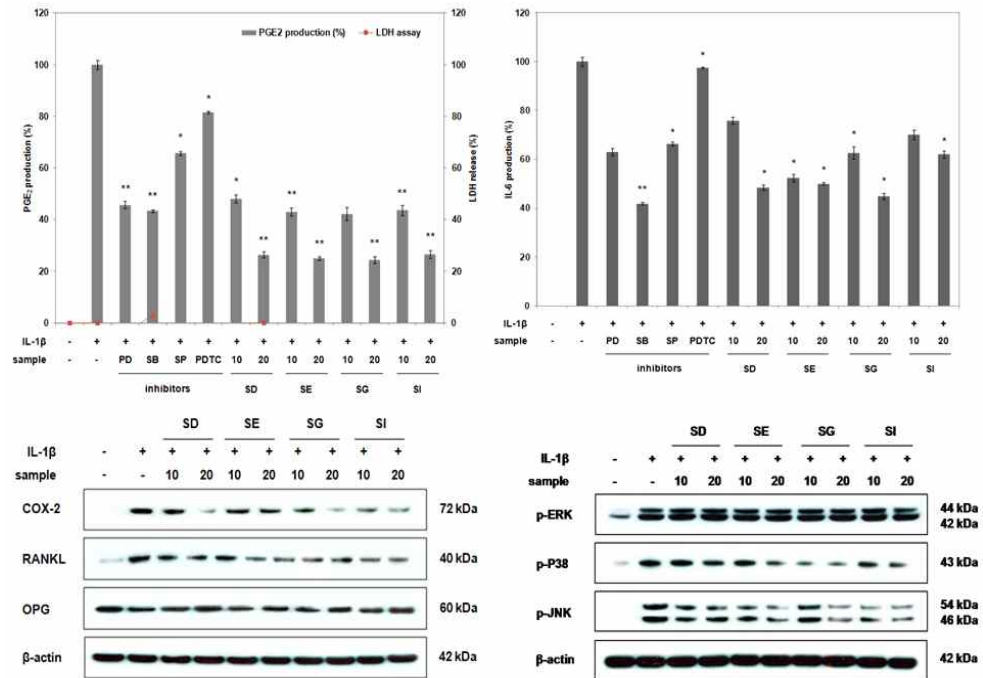
○ 활성성분의 항염증효과 및 세포독성 분석

- 활성성분들의 항염증효과를 다양한 요소별로 분석한 결과 모두 항염증효과를 나타내는 것을 확인하였음
- 파골전구세포로부터 파골세포 분화 억제효과도 확인하였음



[활성성분의 항염증효과 분석 결과]

- 활성성분의 복합염증관련 효과 및 세포독성 분석
 - 조골세포를 이용하여 골 항상성관련 실험을 확인하였음
 - 세포분화를 촉진시키는 IL-1 β 를 이용해 실험한 결과 모든 활성성분에서 우수한 효과를 나타내었음
 - 이는 골다공증 뿐만 아니라 복합염증성질환의 예방소재로서의 가능성을 입증하는 결과임



[활성성분의 복합염증관련 억제효과 분석 결과]

V. 연구개발결과의 활용계획

- 추출물, 정제 대사산물 및 관련 데이터들을 다양한 의약/식품 소재 개발에 지속적으로 활용
- 대사산물 및 대사경로 활용 기술의 해양관련 분야를 비롯한 생명공학 및 생물공학 전반의 다양한 연구에서의 활용 유도
- 해조류 유래 유효성분들이 나타내는 구체적인 작용기전의 해석으로 인한 기타 기능성 및 제약 분야로의 응용 유도
- 현재 대량으로 폐기되거나 그 처분에 많은 자금이 소요되는 해양수산물, 부산물을 활용하여 고가가의 생체재료를 대량으로 생산, 공급할 수 있는 기술을 개발 가능
- 연구 결과를 기획보고서로 활용하여 기관고유사업 및 국가연구개발 사업을 추진하기 위한 기본 자료로 활용

목 차

| | |
|-----------------------------------|----|
| 제 1 장 서론..... | 1 |
| 제 1 절 연구개발의 목적..... | 1 |
| 제 2 절 연구개발의 필요성..... | 1 |
| 1. 기술적 측면..... | 1 |
| 2. 경제, 산업적 측면..... | 3 |
| 3. 사회, 문화적 측면..... | 4 |
| 제 2 장 국내외 기술개발 현황..... | 6 |
| 1. 국외..... | 6 |
| 2. 국내..... | 11 |
| 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과..... | 17 |
| 1. 헤조류 채집 및 추출..... | 17 |
| 2. 항염증효과 스크리닝을 통한 후보종 선정..... | 17 |
| 3. 활성성분의 분리 및 구조분석..... | 20 |
| 4. 활성성분의 항염증효과 분석..... | 25 |
| 5. 활성성분의 골염증(조골세포분화)관련 효과 분석..... | 31 |
| 제 4 장 연구개발결과의 활용계획..... | 38 |
| 제 5 장 참고문헌..... | 39 |

제 1 장 서론

제 1 절 연구개발의 목적

해조류 유래 복합 염증성 질환의 예방 및 치료소재 탐색

- 해조류로부터 기능성 유효성분의 효율적 추출
- 기능성 유효성분의 복합 염증성 관련 질환 억제효과 탐색
- 활성성분의 분자구조 규명 및 기전 연구
- 천연 복합 염증성 관련 질환 예방 및 치료소재 개발을 통한 해양생물자원 유래 기능성/의약 제품 개발을 위한 기초단계 확립

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

- 최근 건강관리에 대한 관심이 고조되고 생활습관이 변화됨에 따라 삶의 질 향상을 위한 소비자의 노력이 증가하고 있으며, 의약품 및 식품의 안전성 등에 대한 관심이 고조되고 있음.
- 염증 반응은 선천성 면역의 일부로서 조직이 충격을 받거나 상처가 생겼을 때, 고온이나 저온에 노출 됐을 때, 조직이 괴사 했을 때, 조직이 감염 됐을 때 등과 같은 외부 자극에 대한 생체조직 방어반응의 하나로 조직 내 이상 현상(변질, 순환장애와 삼출, 부종 등)을 이끄는 복잡한 병변임.
- 즉, 염증반응은 초기에는 생체 내 방어기전으로 평가되는 생리적 역할을 수행하지만 만성적인 과도한 염증반응은 정상세포들의 활성화와 생리적 기능을 감소시키는 독성효과로 평가됨.
- 이 염증반응의 이상으로 정상조직까지 파괴하는 질병을 염증성 질환이라 하며 대표적인 복합 염증성 질환으로 관절염을 들 수 있음.
- 현재 이러한 복합 염증성질환으로 고생하는 환자는 각종질병 보유환자 전체 중에 큰 비중을 차지하고 있으나 현재까지 많은 노력에도 불구하고 염증성 질환에 선택적으로 효과적인 치료제가 개발되지 않아 새로운 소염제의 개발이 절실히 요구되고 있음.
- 신약신규물질의 성공적 탐색은 기존의 알려진 탐색방법을 이용하여 기존에 밝혀진

물질보다 우수한 새로운 물질의 탐색을 시도하는 방법과, 신규 탐색방법을 발견하고 이를 이용하여 신규 물질을 탐색하는 방법이 있음.

- 현재까지 여러 방법들 중 염증 유도제로 알려진 lipopolysaccharide(LPS)로 Raw 264.7세포인 대식세포를 자극하고 활성화시켜 염증상태를 유도한 후 그 기능을 억제할 수 있는 물질들을 찾는 연구가 상당히 진행되어 왔고, 아직도 진행 중에 있음.
- 새로운 검색법을 이용하는 방법은 신약신규물질 개발 확률이 기존의 탐색방법을 이용했을 때에 비하여 매우 높을 뿐 아니라 중간기술의 도입이 아닌 순수원천기술 발견이라는 점에서 경쟁력이 높아 현재 세계적으로 새로운 방법을 찾기 위한 연구가 활발히 진행되고 있으나 국내에서는 아직까지 독창적으로 개발된 검색방법은 거의 없는 실정임.
- 전 세계적으로 관절염과 같은 퇴행성 염증질환이 점차 늘어나는 추세이며, 인간 수명의 연장으로 인해 그 수는 더욱 증가할 것이므로 항염증제에 대한 사용은 엄청난 증가 추세를 보일 것으로 예측됨.
- 따라서 염증의 발생 기작을 분자생물학, 세포생물학, 면역학적인 면에서 연구하여 관련된 신호전달물질을 밝혀내고 이를 이용한 항염증 치료제 검색기술을 새로이 개발하여 항염증 신규물질을 탐색 획득하는 것은 염증의 치료 및 예방에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 결과적으로 엄청난 부가가치를 창출할 것으로 예측됨.
- 유엔해양법 및 생물다양성협약 이후 고부가가치의 유용생물자원소재 확보를 위한 세계 각국의 자원전쟁이 시작되었고, 그 중 천연 신약이나 식품의학 소재, 천연 화장품소재 등 활용도가 높은 해양생물자원을 발굴하고 활용하기 위한 노력이 진행 중임.
- 해조류는 미세조류와 함께 해양생태계를 유지시켜주는 대표적인 1차 생산자이지만 단순 식량자원으로만 여겼을 뿐 이들을 대상으로 한 생리활성의 연구는 최근에야 국한됨.
- 이는 해조류로부터 생리활성물질들을 효율적으로 분리할 수 있는 추출기술의 미비와 산업화를 위한 활성성분의 대량생산공정상의 문제점이라고 볼 수 있음.
- 추출공정의 단순화, 높은 추출효율의 확보과정을 확립해 기존의 제품들에 비해 가격경쟁력을 높일 필요가 있음.
- 해조류는 바다라는 특수한 환경에서 생육하고 있는 까닭에 물질 대사의 경로도 특이하여 육상식물과는 다르게 새로운 구조를 갖는 생리활성 물질을 생산할 수 있는 잠재성을 갖고 있음.

- 본 연구책임자는 해조류의 효소적 가수분해방법을 최초로 시도하여 우수한 항산화 성분들을 분리한 경험을 가지고 있음.
- 해조류 유래의 다양한 생리활성을 갖는 천연물의 개발은 제약, 기능성원료, 기능성 화장품 등 다양한 분야에 기술적 접목이 가능한 기초연구분야로서 중요한 역할을 할 것으로 기대됨.

2. 경제, 산업적 측면

- 해양 생태계의 총 가치는 26조 달러, 식량과 에너지를 포함한 해양자원의 가치는 1조 달러를 상회할 것으로 추정됨.
- 세계 해양 바이오 기술 관련 시장 규모는 약 50억 달러로 추정되며, 2003년에서 2012년 사이에 5% 수준의 성장률을 나타낼 것으로 예측됨.
- 미국 내 해양생물관련 제품 및 서비스 시장은 2012년 37억 8천만 달러규모를 형성할 것으로 전망됨.
- 이중 건강 기능성 소재 제품 시장이 가장 크게 성장할 것으로 예측되는데, 2012년 도에는 20억 4천만 달러의 시장을 형성할 것으로 예측됨. 또한 해양생물을 이용한 기술개발을 통해 해양생물자원 활용기반 기술, 신소재, 신의약소재, 해양식량, 해양생태환경 기술개발을 통한 기존 산업대체를 통해 산업 성장이 이루어질 것으로 예측됨.
- 우리나라의 식품산업은 원재료의 70%를 수입에 의존하고 있으나, 건강기능식품 산업은 선진기술을 바탕으로 국내 자생원료만으로 개발이 가능하므로, 국내식품산업 구조개선 전력분야로도 평가되고 있음.
- 그 중 국내 해양 바이오 기술 관련 시장 규모는 07년 기준 960억원 정도로 추정되는데, 대부분이 식품산업분야로 의약품을 포함한 신소재 개발연구는 초기 단계에 진입해있는 것으로 평가됨.
- 본 과제에서는 현재 개별인정형 건강기능성식품 품목중 70%이상을 차지하는 노화방지, 골관절염, 당뇨, 고혈압 등 관련분야 중 염증성 질환과 관련된 천연소재 원료 개발 및 산업화 촉진을 통하여 해조류 관련 1차산업과 3차산업의 동반성장을 목표로 함.
- 2008년 기준 국내 관절염치료제 시장은 전체 3,760억원이며 매년 5%이상 성장하는 시장으로 현재 최대 매출 품목은 화이자 제약의 세레브렉스캡슐이며, 국내전체시장의 약 6.8%의 시장점유율을 나타냄.
- 이중 퇴행성관절염 치료제 국내시장을 보면 2008년 전체 194억원이며, 매년 성장하

는 시장으로 최대 매출 품목은 명문제약의 명문아트로다캡셀로, 국내전체시장의 약 43.2%의 시장점유율을 나타냄.

- 또한 상위 3개 업체의 제품이 전체 시장의 71.4%를 점유하고 있어 과점현상이 있는 것으로 평가됨.
- 하지만 이러한 제품들은 대부분이 합성 유래의 제품이거나 원료 자체를 수입한 후 판매하는 형태여서 국내 자체 브랜드화를 위한 천연물의 개발이 필요한 실정임.
- 향후 염증성 질환 관련 시장은 내수 경기 침체에도 불구하고 고령화 및 비만 시대의 급속한 진행으로 지속적으로 성장할 것으로 예측됨.
- 따라서 이러한 염증관련 질환의 예방 및 치료 소재 개발의 근본적인 해결을 위한 해양유래 천연물질의 발견은 매우 중요하다고 할 수 있음.
- 해조류를 비롯한 해양유래 천연물들은 특이적 성장환경으로 인해 신규후보물질일 가능성이 높고 오랫동안 먹어 온 식품 중에 함유되어 있는 물질로 합성에 의한 물질들보다 안전성의 확보가 용이함.
- 물질에 따라서는 현재 수입되고 있는 유사소재를 대체할 수 있을 뿐만 아니라 의약 및 기능성식품의 소재로써 거대 수출품목이 될 것으로 예상됨.
- 미이용 해조자원을 이용함으로써 어민의 소득향상에 크게 기여할 수 있고 기존 식품으로 이용되는 종과의 차별을 통해 가격경쟁력을 확보할 수 있음.
- 세계 보건정책의 새로운 패러다임이 질병치료에서 질병예방으로 바뀌어 가고 있음에 따라 건강기능식품산업은 질병예방을 통한 국민의료비절감과 건강증진으로 삶의 질 향상에 기여하는 미래 핵심 동력산업으로 육성하기 위한 국가적인 기능성소재 연구개발과 제품화 연구개발 지원이 기대되고 있음.

3. 사회, 문화적 측면

- 의학의 발달과 더불어 급격한 고령화 사회로의 진입으로 인한 많은 사회적 패러다임의 전환점에 전 세계가 직면함.
- 현재의 의료기술로 치료할 수 없는 다양한 감염성질환의 예방 및 치료를 위한 대사기능 향상물질의 개발을 통해 안정적 노후 설계의 기반 마련이 시급함.
- 식습관의 서구화로 인해 각종 대사성 질환 발병 연령이 급격히 낮아지는 시점에서 이를 극복하기 위한 대사기능 향상 시스템 개발이 필요함.
- 노인성 질환으로 분류되는 신경계질환(알츠하이머, 파킨슨병 등), 대사관련질환(당뇨, 고지혈증 등), 뇌혈관계질환(고혈압, 뇌졸중 등)에 대한 적극적인 예방, 치료 대책이 필요함.

- 류마티스성 관절염은 모든 연령층에서 발생되지만, 전체 환자의 70%이상은 30세 이상으로 많은 관절들에서 동시에 발생할 수도 있음.
- 세계 관절염치료제 시장은 42조원(2008년 기준)으로 현재 시판중인 약물들은 심장, 위장 및 혈압상승 등의 부작용이 나타나 장기복용 시 환자들에게 부담 있음.
- 따라서 부작용이 적은 천연물 유래의 신소재에 대한 관심이 증폭되고 있고 이러한 천연소재 유래의 염증성질환 예방 및 치료소재가 개발될 경우 성장 가능성이 무궁무진함.
- 이 연구에 사용하게 될 해조류는 우리나라 전 연안에 분포하고 있는 종으로서 육상생물과는 다른 환경에서 서식하고 있기 때문에 기존에 나와 있는 천연물과는 다른 형태의 생리활성성분이 다양하게 함유되어 있음.
- 후코이단 등 해조류 함유의 다당체가 당뇨, 암, 면역성 질환 등의 예방에 효과가 있다는 것은 이미 널리 알려져 있으며, 최근 bryostatin (태형동물로부터 분리, 항암제로 임상 2상까지 진입했다가 reposition 되어 현재 알츠하이머 치료제로 임상 완료)의 예에서 볼 수 있듯이 해양생물 활용의 노인성 질환 예방 및 치료제 개발이 활발하게 이루어지고 있음.
- 또한 천연물 유래 기능성 소재는 식품, 화장품 및 의약품 등 다양한 산업분야에 사용되고 있으며, 그 시장은 계속해서 증가하고 있는 추세임.
- 바이오 강국들은 고부가 바이오 신물질 및 신소재를 생물종 다양성이 우수한 열대 및 아열대 지역의 육상 및 해상 자원을 활용하여 개발 중에 있음.
- 뿐만 아니라, 전 세계의 많은 사람들은 웰빙문화와 함께 천연물질에 주목하고 있으며, 기능성 소재라는 측면에서 보다 더 많은 관심을 가지고 있음.
- 이러한 관심은 천연 기능성 소재의 중요성을 한 층 더 부각시켜주고 지금 사회나 문화적 측면에서 부각되고 있는 천연물질의 중요성을 확인시켜주는 자료라고 할 수 있음.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국외

- 삶의 질 향상과 의료서비스의 개선으로 평균 수명이 연장됨에 따라 심장질환, 암, 당뇨, 정신질환, 관절염, 비만 등 만성 또는 난치성 질환이 증가하고 있으며, 이런 만성질환에 대한 예방적 개념이 도입됨에 따라 치료형에서 예방형으로 의약품 및 건강기능식품의 역할 변화가 두드러짐.
- 선진국에서는 이미 전 세계에 분포하는 천연물에 대한 경제적 효용가치를 평가하여 보다 다양한 식물 종의 확보에 주력하고 있으며, 이들로부터 신기능성 의약품 소재를 분리 생산하는 체계적인 개발 정책을 펼치고 있음.
- 미국은 기능성 식용식물 및 phytochemical의 소재화를 통하여 천연재료를 사용한 부작용 및 위험을 완화시킬 수 있는 친숙한 식품형태의 의약품 대체 기능성식품의 선호도가 증가 추세 임.
- 일본은 최초로 기능성식품이라는 용어를 사용하였으며, 1996년과 2001년 법개정에 따른 기능성식품 관련제도를 완성하면서 기능성식품에 대한 기초연구와 산업연구가 활발히 진행되고 있음.
- 유럽은 기능성식품의 연구발전을 위한 국제기구와 기능성식품의 실천전개를 위한 활동체제가 조직되었으며, “유럽의 기능성식품 과학 현상”회의의 연구보고서에 따르면 크게 6가지 항목으로 기능성식품을 분리하여 정리하고 있음.
- 식생활 및 경제여건의 발달로 식품의 일차적 기능인 영양과 이차적 기능인 맛과 조직 감에 대해 21세기는 식품을 1, 2차적인 단순한 기능을 넘어서 생체조절기능에 대한 관심이 집중되고 있음.
- 기능성 식품에 대한 세계시장규모를 보면, 통계기관별로 다소 차이는 있지만 1997년 650억 달러, 2002년 2,023억 달러로 높은 성장률을 나타내었으며 2007년에도 3,771억 달러(2002년 대비 86% 증가)에 도달함.

[표 1] 연도별 기능성식품 시장 현황

| 년도 | 1997 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2007 |
|-----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 시장 규모 (억 달러) | 650 | 1,090 | 1,280 | 1,380 | 1,501 | 2,023 | 3,771 |

※ 출처: Nutrition Business Journal 2003 Food Technology USA, 2003

- 또한 의료비 증가에 따른 국가 부담가중, 노령화 사회 진입, 소비자의 건강관심 고조, 식품산업계의 신제품 개발 방향 등을 고려할 때 건강기능식품의 수요는 지속적으로 증가될 것으로 전망됨.
- 2005년 기준, 미국 기능성 식품 시장규모는 약 41억 달러로서 2000년에 비해 약 80%이상의 성장을 보였으며 작년에 비해 8% 증가하였음. 이같이 80%라는 거대한 성장을 보인 기능성 식품 시장은 미국인들의 건강, 웰빙에 관한 관심 증대와 더불어 제품의 맛과 질 개선이 이루어낸 결과로 보임.
- 세계 관절염치료제 세계시장은 25조원(2006년 기준)이지만 시판중인 약물들의 부작용으로 환자들의 만족도가 크지 않은 상황임.
- 높은 매출을 기록하고 있는 염증치료 약물을 살펴보면 표 2와 같음.

[표 2] 주요 표적별로 살펴본 매출상위의 염증질환 치료제

| 작용점(약효군) | 질환 | 약물(개발기관) | 2004매출액 (백만 US\$) |
|------------------------------|-------------|----------------------------------|----------------------|
| COS-2 저해제 | RA, OA관련 통증 | cerebrex(Pfizer) | 3302 |
| | | bextra(Merck) | 1286 |
| | | vioxx(dropped) | 1489 |
| COX-1, COX-2 NSAIDs | RA, OA관련 통증 | voltaren | 638 |
| | | mobic | 836 |
| cysLTB4 수용체 저해제 | 천식 | singulair(Merck) | 2622 |
| | | accolate | 116 |
| 스테로이드(흡입제) | 비염 | flonase-flixonase(GSK) | 1058 |
| | | nasonex(Schering) | 594 |
| | | rhinocort | 361 |
| | 천식 | flovent-flixotide(GSK) | 1131 |
| | | pulmicort(AstraZeneca) | 1050 |
| 스테로이드 (흡입 & β -작용제) | 천식 | advair-seretide(GSK) | 4503 |
| | | ymbicort(AstraZeneca) | 797 |
| H1 길항제 | 비염 | zyrtec(Pfizer) | 1287 |
| | | clarinex-aerius | 692 |
| | | allergra-telfast(Sanofi-Aventis) | 1868 |
| IMPDH 저해제 | 이식거부반응 | cellcept(Roche) | 1129 |

| | | | |
|------------------------------|-------------------------|------------------------|------|
| FKBP12-Calcineurin 저해제 | 이식거부반응 | prograf(Astellas) | 985 |
| Cyclosporin | 이식거부반응 | neoral-sandimmune | 1011 |
| TNF- α 저해제 (생물학제제) | RA, 크론씨병, 건 선, 강직척추염 | remicade(Centocor) | 2891 |
| | | enbrel(Wyeth) | 2580 |
| | | humira(Abbott) | 852 |
| CD2 항체, LFA3-Fc | 건선 | amevive(Biogen Idec) | 43 |
| LFS-1 CD11a 항체 | 건선 | raptiva(Genentech) | 56 |
| IFN- β 1 | 다발성경화증 | rebif(Serono & Pfizer) | 1091 |
| | | avonex | 1420 |
| | | betaseron-betaferon | 973 |
| 합성 펩티드폴리머 | 다발성경화증 | copaxone | 936 |

※ 출처: DDT 11, 210-219 (2006)

- 관절염에는 COX-2제제와 TNF- α 제제가 많이 처방되고 있으며, 천식에는 steroid 계열의 약물이 많이 사용되고, 건선, 경화증 등의 질환에는 cytokine제제를 사용한 면역조절약물이 주로 이용되는 경향임.
- 고령화 및 비만 시대의 급속한 진행으로 시장이 지속적으로 성장할 것으로 예측되며, 2세대(COX-2 저해제) 저해제들의 심장 질환 부작용 우려에도 불구하고, 시장은 2005년도 이후 증가 추세임.
- 약효가 우수하고 위장관 및 심장 질환 부작용을 극복한 신약이 개발될 경우 성장 가능성이 높은 분야라 할 수 있음.
- 최근에는 당뇨나 고혈압, 뇌경색, 심근경색 등도 만성염증이 주원인이라는 보고들이 증가하고 있고 다른 분야보다 더욱 주의깊게 면역반응을 조절해야 한다는 측면에서 cytokine 제제가 많이 개발되고 있음.
- 염증질환치료의 작용점은 크게 COX-2와 같은 효소군, GPCR군, 핵으로 이동되는 호르몬 수용체군, cytokine 군과 세포상호작용에 관련된 단백질군 등 5종류로 나뉠 수 있음.
- TNF- α , 인터루킨, 인터페론- γ 등의 cytokine을 조절하는 생물학적 제제는 주로 주사제로 개발되어 있으나 cytokine을 조절하는 저분자 화합물이 임상2상에 진입해 있는 경우도 있음(Celgene사의 CC-10004).
- 생물학적 제제의 개발동향을 살펴보면 Genentech사의 rituxan(CD20 항체)이 RA를 위한 임상3상에 있고, IL-1 길항제(Amegen의 kineret), IL-2길항제(zenapax (Roche),

simulect (Norvatis))가 출시되어 사용되고 있으며, IL-6, 12, 13, 18 길항제들과 integrin $\alpha 4\beta 7$ 길항제(MLN-0002, Millennium)가 임상에 진입해 있음.

- cytokine과 cytokine의 수용체 조절물질 이외의 염증질환치료제 개발에 있어서는 화합물 신약이 절대적 우위를 차지하고 있음.
- 현재 개발되고 있는 저분자약물을 작용점별로 살펴보면(표 3), 관절염의 염증과 통증을 치유하기 위해서는 아직도 전통적인 COX-2 저해제가 많이 개발되고 있고 이와 더불어 프로스타글란딘, 트롬복산, 류코트리엔을 조절하는 물질 및 인터루킨, TNF- α 를 조절하는 물질도 많이 연구되고 있음.

[표 3] 신호전달을 차단하는 염증질환 치료제의 주요 후보물질들

| 작용점(약효군) | 화합물(개발기관) | 질환 | 개발단계 |
|-------------------------|-----------------------------------|----------------|-----------|
| cAMP PDE | cilomilast(Ariflo: GSK) | 천식, COPD | approved |
| | roflumilast | 천식, COPD | phase III |
| p38 | BIRB-796(Boehringer Ingelheim) | RA, 크론씨병, 건선 | phase II |
| | SCIO469 | 다발성골수종, RA, 치통 | phase II |
| | VX-702(Vertex) | RA | phase II |
| Calcineurin | ISA247 | 건선 | phase III |
| S1P receptor | FTY-720(Novartis) | 다발성경화증 | phase III |
| mTOR | rapamycin | 이식거부 | approved |
| | everolimus | RA | phase II |
| | temsirolimus | 다발성경화증 | phase II |
| TRAF6 complex | RDP-58(Sangstat Medical) | 크론씨병 | phase II |
| Caspase 1 | pralnacasan(Vertex) | OA, RA | phase II |
| Glucocorticoid receptor | ciclesonide(Alvesco; Altana) | 천식 | approved |
| PPAR- γ | rosiglitazone(Avandia, GSK) | 천식, RA | phase II |
| c-PLA2 저해제 | PLA-902(Wyeth) | OA | phase II |
| ICE 저해제 | pralacasan(Vertex/Sanofi-Aventis) | OA | phase II |
| MMP 발현억제 | CPA-926(Kureha) | OA | phase II |
| MMP 저해제 | PG-530742(Procter & Gamble) | OA | phase II |
| COX-2 저해제 | GW-406381(GSK) | OA | phase II |

| | | | |
|----------------------|------------------------|--------|-----------|
| | LAS-34475(Almirall) | OA | phase II |
| | CS-502(Sankyo) | OA | phase II |
| | prexige(Novartis) | OA | phase III |
| | lumiracoxib(Novartis) | RA | phase III |
| ACOX/LOX 저해제 | licofelone(Merck) | OA | phase III |
| NO 진통제 | NO-naproxen(NicOX) | OA | phase II |
| | NCX-701(NicOX) | OA | phase II |
| Bradykinin b2 길항제 | HOE140(Sanofi-Aventis) | OA | phase II |
| P2X7 차단제 | AZD9056(AstraZeneca) | OA, RA | phase II |
| iNOS 저해제 | 274150(GSK) | RA | phase II |
| FKBP12 저해제 | prograf(Astellas) | RA | phase III |

※ 출처: Nature Reviews Drug Discovery 5, 549-563 (2006)

Nature Reviews Drug Discovery 4, 331-345 (2005) & DDT 11, 210-219 (2006)

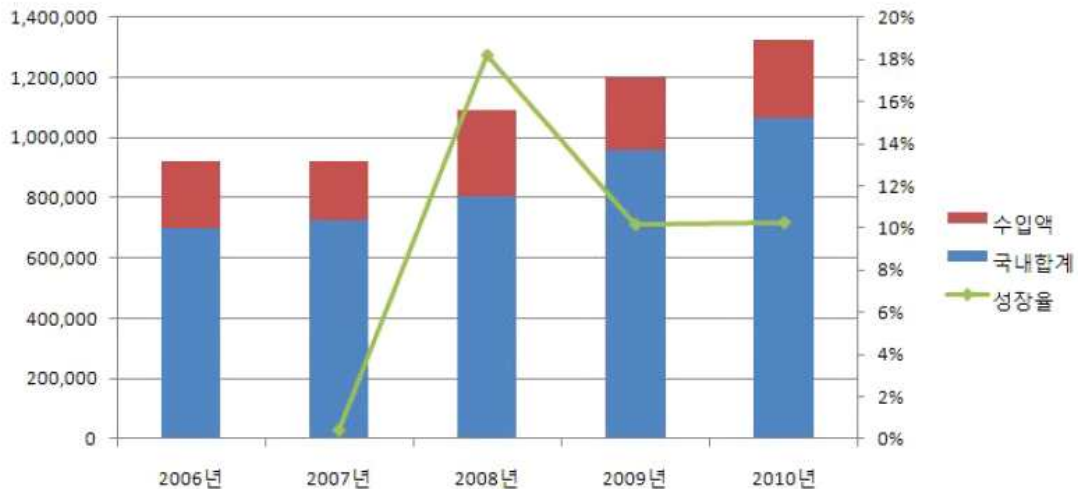
- 또한 골관절염 치료를 위하여 ICE(interleukin-1 β converting enzyme) 차단제, MMP(matrix metalloproteinase) 저해제, cathepsin K 저해제 등이 개발되고 있음.
- 한편 최근에는 기존의 전통적인 작용점 이외에 T 세포의 활성화 신호전달을 차단하는 mTOR 저해제, S1P 수용체 길항제가 다양한 염증 질환의 임단단계에 진입하고 있고, 새로운 치료제 개발을 위해 여러 종류의 GPCR, cell-adhesion molecules가 연구 진행중에 있음.
- 류마티스 관절염과 관련된 질병인 Osteoarthritis는 관절염의 대표적인 질병으로 1천 600만명의 미국인이 걸려 있으며, 퇴행성 관절질환으로 주로 연골의 위축을 나타내며, 심한 경우 연골이 제거되기도 함.
- 류마티스성 관절염은 세계적으로는 약 1-2%가 걸려있으며, 55세 이상의 여성의 경우 약 5%가 고통을 당하고 있는 가장 심각한 질병 중의 하나로 미국의 Arthritis Foundation의 보고에 의하면, 6명중 1명이 류마티스성 관절염과 유사 질병에 시달리고 있으며 이 질병의 기전은 아직 밝혀지지 않았고 정확한 치료제가 개발되지 않을 경우 2020년에는 약 6천만 명이 걸릴 것으로 CDCP는 예상하고 있음.
- 류마티스성 관절염의 약물에 대한 전반적인 시장규모는 정확하지 않으나, 약 30%의 성장세로 높은 성장률을 나타내고 있음(약업신문, 2000년 10월 19일자).
- COX-2 inhibitor를 발매하고 있는 Searle과 Merck의 경우 발매한지 3년만에 33억\$를

- 예상하고 있고, American Home products와 Immunex에서 공동으로 개발한 TNF receptor fusion protein의 경우 1-2억\$의 판매실적을 기록할 것으로 예상하고 있음.
- 예전까지는 식물 유래의 물질을 이용하는 경우가 많았으나 최근에는 해양으로부터 많은 생리활성물질을 찾아내고 이를 염증성질환에 응용하려는 연구가 활발히 진행되고 있음.
 - 현재 해양에서 얻어진 생리 활성물질들은 7,000여 종이 넘었고, 이들을 활용한 다양한 제품 개발을 위한 연구가 이뤄지고 있음.
 - 미국은 지속적인 국가해양정책을 마련하여 특정 중점기술 개발 분야에 대한 지원을 확대하고 있음.
 - Woods Hole Oceanographic Institution, Scripps Institution of Oceanography 등 국책 연구소를 중심으로 세계 각 지역으로부터 해양생물자원을 확보하고 다양한 생리활성탐색을 위한 연구를 수행중.
 - 일본은 정부와 민간 24개 기업이 출자하여 Marine Biological Institute (해양생명공학 연구소)를 설립, 해양생물로부터 신의약품 및 유용신물질 개발에 주력하고 있음.
 - JAMSTECH, 농림수산성, IODP 등을 중심으로 해양생물자원의 확보 및 신기술개발에 주력하고 있음.
 - 중국은 해양산업 발전 촉진 125 개발계획 (2011-2015), 중국 해양사업발전계획 (06-20) 등을 통해 해양바이오산업 집중 육성에 나서고 있음.
 - EU 및 세계 각국에서도 정부 및 기업주도의 해양생물자원 확보 및 이용을 위한 다각적인 투자와 지원을 아끼지 않고 있음.

2. 국내

- 천연식물, 특히 효능 있는 생약을 의약 및 식용으로 이용한 역사는 인간의 생활과 함께 해 왔다고 할 수 있을 정도로 오래되었음.
- 그 후 산삼, 홍삼뿐만 아니라 감초, 녹두, 흑두, 한란, 단풍잎, 대나무, 닥나무, 주목(朱木), 굴나무, 오가피, 야자수, 생강, 영지버섯, 녹차, 꽃잎, 우엉, 뽕나무 등 다양한 식물자원으로부터 효능 성분을 추출하여 적극적으로 활용하고 있으며, 끊임없이 소재개발이 이루어지고 있음.
- 우리나라는 전통의약에 대한 정보 및 infra가 풍부하다고 평가되고 있으며, 전통의약에 대한 역사가 오래되었을 뿐만 아니라 우수 연구자들의 노하우 및 기술, 생산 시설 등을 갖추고 있어 지속적인 기술개발을 통한 건강기능식품이 출시되고 있는 상태임.

- 그러나, 국내 식품과학 관련 기술들의 선진국 대비 기술수준은 약 65%선에 위치하고 있으며 핵심기술의 기술격차는 5년 이상을 보이고 있을 뿐만 아니라 대부분의 기술들이 도입기에 있어 건강기능식품 기반기술인 식품과학 관련 기술의 선진화가 요구됨.
- 건강지향적인 사회 트렌드에 힘입어 국내 출하액과 수출액을 합친 국내 생산실적이 2006년도 7,008억에서 2010년 국내생산액 10,671억원으로 약 52.3% 성장을 하였으며 2009년 9,598억원 대비 11.2%가 증가하였음.
- 2010년 신종인플루엔자의 대유행으로 인하여 2008년 약 20% 성장을 한데에 비하여 낮은 수치이나 2004년 건강기능식품에 관한 법률 공포 이후 국내 생산실적이 1조 원 시장에 진입한 것으로 봄.

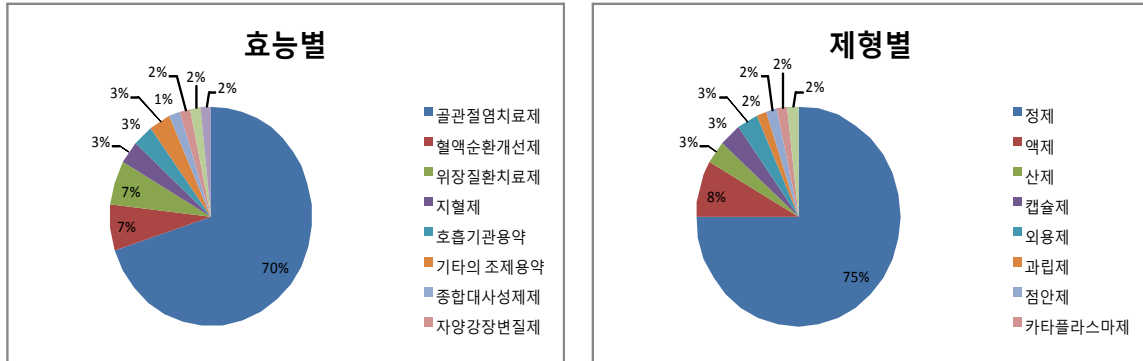


[그림 1] 연도별 건강기능식품 생산 및 수입실적 추이

※ 출처: 식품의약품안전청

- 2010년 천연물의약품 60건의 신규 품목허가(신고) 현황을 분석한 결과, 인구 고령화 추세에 따라 2010년 허가(신고)된 천연물의약품은 70%정도가 관절염 치료제인 것으로 나타났음.
- 또한 2010년 천연물의약품 임상시험계획 승인현황에서는 22건의 임상시험계획이 승인되었음.
- 이는 천연물의약품이 합성의약품과 비교하여 부작용의 부담이 낮고, 적은 개발비용과 투자기간이 짧은 장점을 가지고 있으며, 「천연물신약연구개발촉진법(2001)」 및 「한의학육성법(2004)」의 제정으로, 천연물과 전통약물을 이용한 연구개발이

활발해졌기 때문인 것으로 풀이됨.



효능별 허가 현황

제형별 허가 현황

[그림 2] 2010년 효능별·제형별 천연물의약품 허가(신고)현황

※ 출처: KFDA 2011년 2월 25일 보도자료

- 국내 의료용물질 및 의약품 제조업체는 총 664개로 이중 기초 의약품 및 생물학적 제제 제조업을 영위하는 업체가 170개, 의약품 제조업체가 294개이며, 의료용품 및 기타 의약품관련제품 제조업체가 200개로 파악됨.
- 국내의 경우, reverse pharmacology 전략으로 식물자원에서부터 개발된 천연물의약품은 스티렌정(위염치료제, 850억원 매출/2009년), 조인스정(관절염치료제, 250억원 매출/2009년)이 대표적인 성공사례이고 현재 7개 품목이 시판중임.
- 2004-2010년 기간 중 천연물의약품으로 개발 중인 사례는 48건(골관절염 7건, 치매 5건, 암 5건, 천식 3건, 아토피 3건, 기타 주의력결핍, 당뇨, 간질환 등)으로 임상 시험이 진행(2상 29건, 3상 15건) 중에 있음.

[표 4] 식물추출물유래 국내 시판 주요 천연물의약품

| 기업 | 제품 | 대상질환 | 주성분 | 매출('08) | 비고 |
|-----------|-------|------|------------------|---------|-----------------|
| 동아제약 | 스티렌캡셀 | 위염 | 애엽 | 700억원 | '02.06 허가 |
| SK 케미칼 | 조인스정 | 관절염 | 위령선, 갈루근, 하고초 | 160억원 | '01.07 허가 |
| | 기백신 | 혈액순환 | 은행잎 | - | '93 허가후 500억 매출 |
| 안국약품 | 프로스판 | 진해거담 | 담쟁이잎 | | '00.02 허가 |
| 휴온스 | 살사라진 | 복부비만 | 당귀, 작약, 천궁 등 18종 | 100억원 | '03/04 허가 |

※ 출처: IMS Health 2008, 국내외 천연물의약품 시장동향 2007 (한국보건산업진흥원)

- 2008년 기준 국내 관절염치료제 시장은 전체 3,760억원이며 매년 5%이상 성장하는 시장으로 현재 최대 매출 품목은 화이자 제약의 쉐레브렉스캡슐이며, 국내전체시장의 약 6.8%의 시장점유율을 나타냄.

[표 5] 국내 관절염 치료제 시장현황

(단위: 백만원)

| 제품명 | 제조사 | 2008년 | 점유율 | 2007년 | 점유율 | 2006년 | 점유율 |
|---------|-----------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
| 쉐레브렉스캡슐 | 화이자제약(주) | 25,637 | 6.8% | 21,458 | 6.0% | 17,051 | 5.2% |
| 에어탈정 | (주)대웅제약 | 12,130 | 3.2% | 12,772 | 3.6% | 13,163 | 4.0% |
| 록스펜정 | 신풍제약(주) | 11,910 | 3.2% | 12,600 | 3.5% | 12,287 | 3.7% |
| 솔레톤정 | 씨제이 | 11,173 | 3.0% | 10,321 | 2.9% | 7,349 | 2.2% |
| 모빅캡셀 | 베링거인겔하임 | 10,010 | 2.7% | 11,139 | 3.1% | 11,639 | 3.5% |
| 아크로펜정 | 동아제약(주) | 9,819 | 2.6% | 7,210 | 2.0% | 5,134 | 1.6% |
| 오스테민캡셀 | 삼진제약(주) | 9,486 | 2.5% | 9,375 | 2.6% | 9,455 | 2.9% |
| 아트로다캡셀 | 명문제약(주) | 8,375 | 2.2% | 7,508 | 2.1% | 5,413 | 1.6% |
| 애니펜정 | 안국약품(주) | 8,212 | 2.2% | 7,443 | 2.1% | 6,029 | 1.8% |
| 동화록소닌정 | 동화약품공업(주) | 7,422 | 2.0% | 6,997 | 2.0% | 6,252 | 1.9% |
| OTHERS | | 261,881 | 69.6% | 248,877 | 70.0% | 235,168 | 71.5% |
| TOTAL | | 376,054 | 100% | 355,701 | 100% | 328,941 | 100% |

※ 출처: UBCare 2009.01

- 이중 퇴행성 관절염 치료제 국내시장을 보면 2008년 전체 194억원이며, 매년 성장하는 시장으로 최대 매출 품목은 명문제약의 명문아트로다캡셀로, 국내전체시장의 약 43.2%의 시장점유율을 나타냄.
- 또한 상위 3개 업체의 제품이 전체 시장의 71.4%를 점유하고 있어 과점현상이 있는 것으로 평가됨.

[표 6] 국내 퇴행성 관절염 치료제 시장현황

(단위: 백만원)

| 제품명 | 제조사 | 2008년 | 점유율 | 2007년 | 점유율 | 2006년 | 점유율 |
|----------|-----------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| 명문아트로다캡셀 | 명문제약(주) | 8,375 | 43.2% | 7,508 | 41.6% | 5,413 | 41.7% |
| 루마테린캡셀 | 유영제약 | 3,212 | 16.6% | 2,455 | 13.6% | 2,046 | 15.8% |
| 포인티캡셀 | (주)메디카코리아 | 2,240 | 11.6% | 2,369 | 13.1% | 1,337 | 10.3% |
| 아트렌캡슐 | 신풍제약(주) | 1,343 | 6.9% | 1,215 | 6.7% | 677 | 5.2% |
| 디스트린캡셀 | (주)제이알팜 | 1,028 | 5.3% | 1,358 | 7.5% | 1,366 | 10.5% |
| 아세렌캡슐 | 대화제약(주) | 956 | 4.9% | 452 | 2.5% | 0 | 0.0% |
| 디아세렌캡셀 | (주)구주제약 | 925 | 4.8% | 935 | 5.2% | 889 | 6.8% |
| 아디레센캡슐 | 이연제약(주) | 898 | 4.6% | 892 | 4.9% | 363 | 2.8% |
| 디아로다캡슐 | 한국슈넬제약(주) | 232 | 1.2% | 287 | 1.6% | 199 | 1.5% |
| OTHERS | | 162 | 0.8% | 579 | 3.2% | 682 | 5.3% |
| TOTAL | | 19,371 | 100% | 18,050 | 100% | 12,972 | 100% |

※ 출처: UBCare 2009.01

- 골다공증 치료제 시장은 고령화 사회로 접어들면서 폭발적으로 증가할 것으로 보이며, 특히 단일클론항체 암젠의 Prolia(성분 denosumab) 출시로 2012년에는 골다공증 치료제 시장이 75억 달러로 성장할 것으로 예상되고 있음.
- 이에 따라 현재 국내 골다공증 치료제 시장은 연간 약 1,200억원대로 추산되면서 높은 성장이 예상되고 있음.
- 현 골다공증 시장의 주된 약물은 에스트로젠 등과 같은 호르몬 제제와 칼시토닌, 칼슘제제, 비스포스포네이트 제제가 주류를 이루고 있으며, 이 중 현재까지 사용하고 있는 치료제중 비스포스포네이트 제제의 치료 효과가 가장 우수한 것으로 알려져 있음.
- 그러나 이 치료제들의 생체 이용률이 낮고, 여러 가지 부작용이 나타나 많은 제약 회사들이 새로운 치료제 개발에 박차를 가하고 있는 실정임.

- 국내 골다공증 치료제 시장은 사노피-아벤티스의 '악토넬정'과 한국MSD의 '포사맥스플러스'는 경쟁 제품과는 엄청난 매출 격차를 보여주고 있으며, 2009년 기준 '악토넬'이 269억6840만원을 지난해 청구해 1위 자리를 고수했으며, '포사맥스플러스'가 247억4510만원으로 2위였으며, 그 다음으로 '본비바'는 131억9840만원(주사제 포함)으로 3위를 기록하고 있음.

[표 7] 국내 시판중인 골다공증 치료제

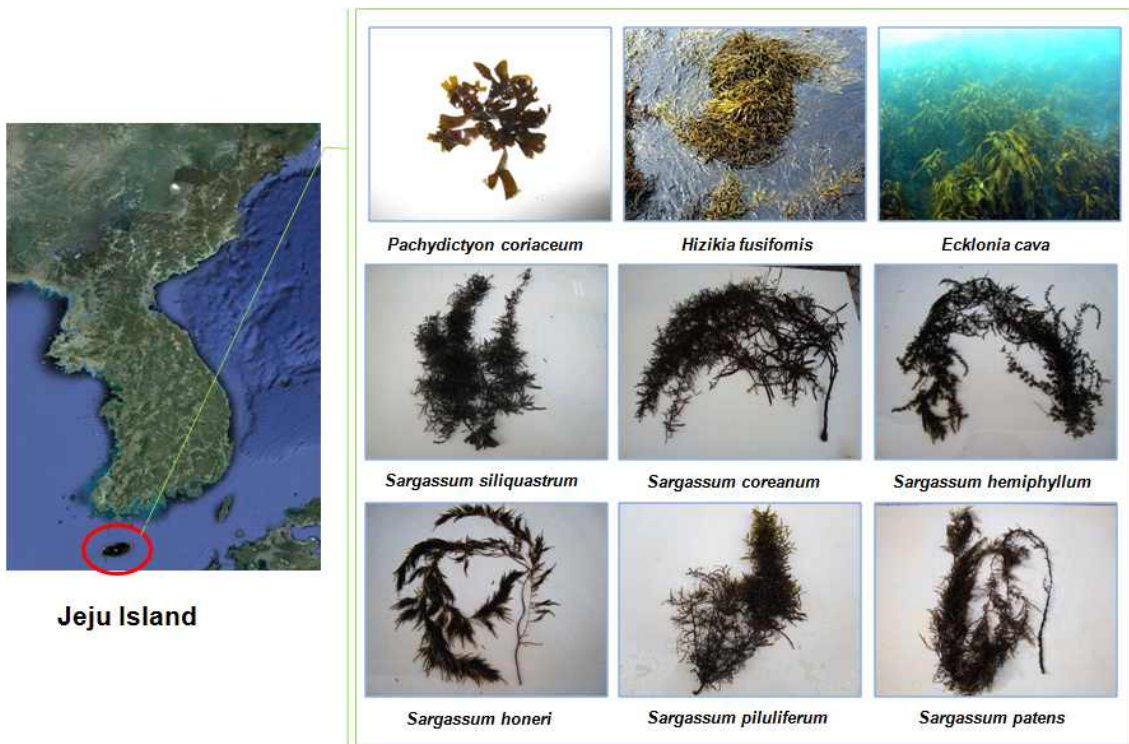
| | |
|-------------------------|---------------------------------------|
| 칼슘 제제 | 칼디비타, 오스칼, 애드칼, 디카맥스, 칼테오 |
| 여성 호르몬 | 안젤릭, 액티벨, 프로그노바, 스로겐 정, 프로베라정, 유트로제스탄 |
| 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(SERM) | 에비스타 정 |
| 티볼론 | 리비알 정, 리브론 정 |
| 알렌드로네이트 | 포사맥스 정, 마빌 정, 아렌드 정, 포사퀸 정, 테바네이트 정 |
| 리세드로네이트 | 악토넬 정 |
| 파미드로네이트 | 파노린 연질 캡슐, 파노린 주 |
| 졸레드로네이트 | 아클라스타 주사액 |
| 이반드로네이트 | 본비바 정, 본비바 |
| 칼시토닌 | 메노칼 비강분무액, 엘씨토닌 주, 엘카토닌 주, 칼토닌 비강분무액 |
| 활성형 비타민 D제제 | 본키 연질캡슐 |
| 칼시트리올 | 본키 주, 칼시오 연질캡슐, 칼트리올 연질캡슐 |
| 알파칼시돌 | 원알파 정, 알파디트리 연질캡슐, 알파롤 연질캡슐 |
| 부갑상선호르몬제(teriparatide) | 포스테오 |
| 이프리플라본 | 데오본정 |
| 복합제 | 맥스마빌 정, 포사맥스 플러스 정 |
| 비타민 K2 | 글라케이 연질캡슐 |

※ 출처: 골다공증 진단 및 치료 지침 2007

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1. 해조류 채집 및 추출

제주 연안에 서식하고 있는 해조류를 채집하고 형태학적 분류 및 동정과정을 거쳐 시료로 사용하였다. 시료에 붙어있는 불순물을 제거하기 위해 수회의 세척을 수행하였고, 동결건조시켜 얻은 건조물을 분말화 하여 실험에 사용하였다. 해조류는 총 50여종을 채집할 수 있었고 그 중 실험을 수행할 수 있을만한 양이 확보된 9종의 갈조류를 대상으로 추출물을 제조하였다. 추출은 80% 에탄올을 이용하였고, 우수한 효과가 검증된 시료에 한해서 극성별 분획을 수행하였다.



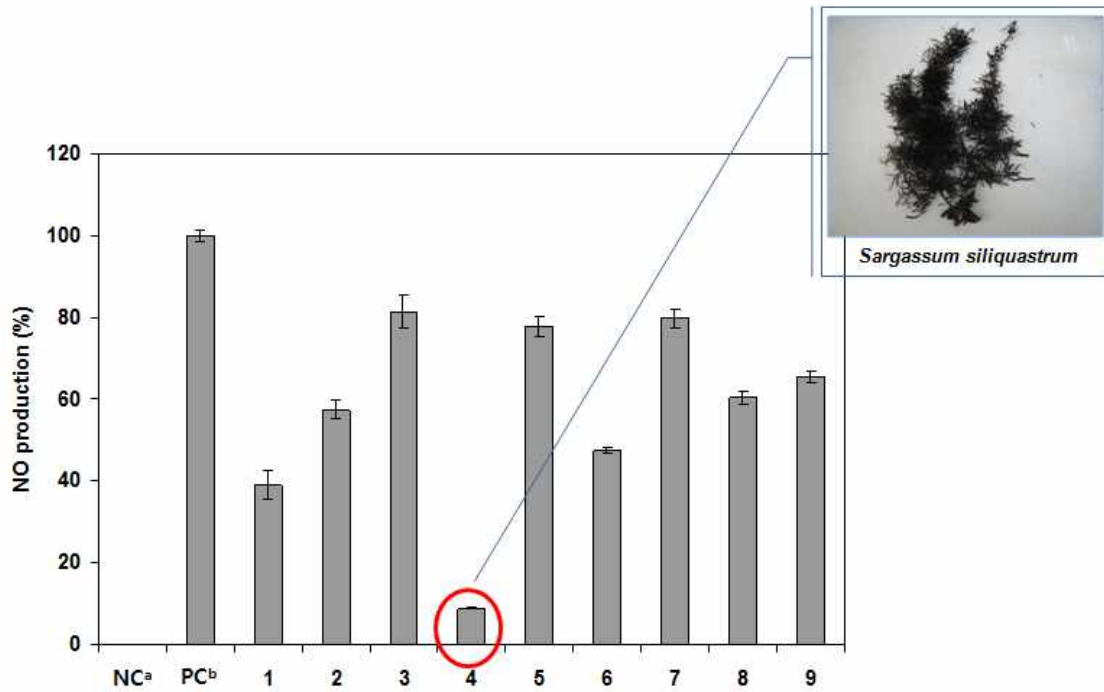
[그림 3] 해조류 채집 site 및 실험에 사용한 해조류 목록

2. 항염증효과 스크리닝을 통한 후보종 선정

2.1. 항염증효과 스크리닝

9개의 해조류 추출물을 대상으로 항염증효과를 측정하였다. 실험은 Raw 264.7 세포

에 LPS로 염증을 유도한 후 생성되는 NO 억제효과로 분석을 수행하였다. 그 결과 파배기모자반(4)에서 약 92%의 NO 생성 억제효과가 확인되었고, 감태(1)에서도 약 41%의 NO 생성 억제효과가 확인되었다. 이 결과에 따라 파배기모자반을 주 후보종으로 선정을 하여 추가 실험을 수행하였다.

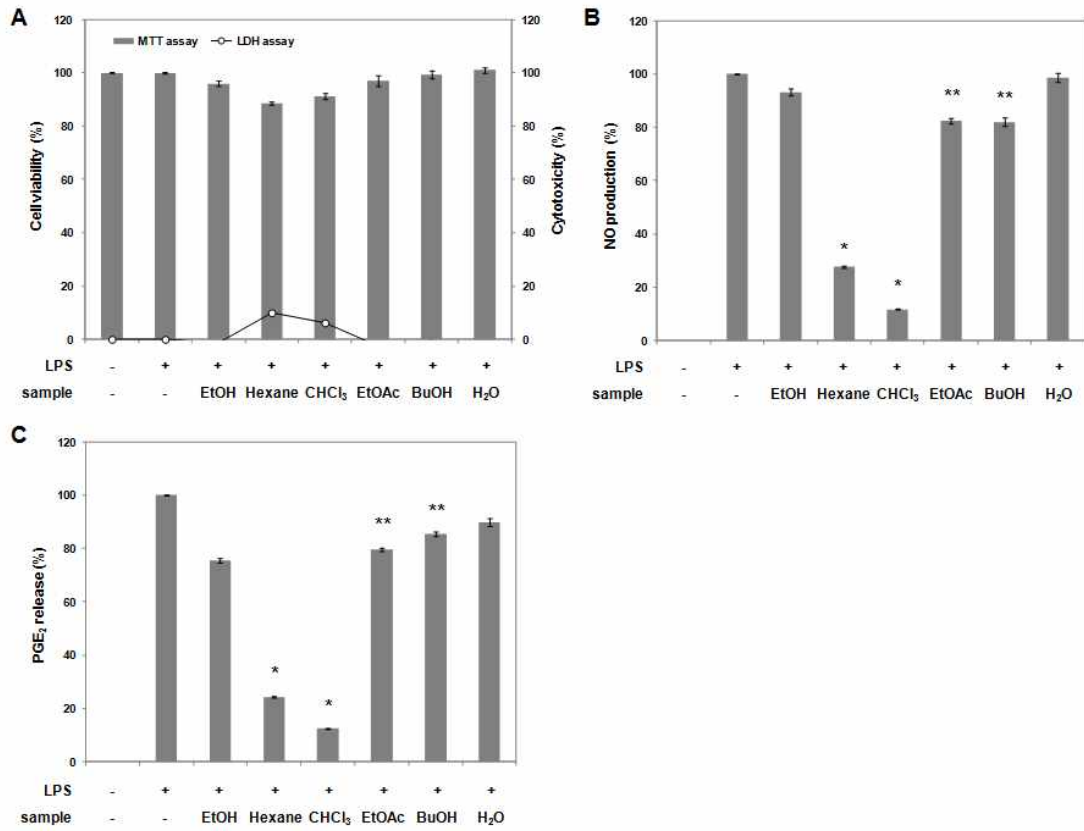


[그림 4] 해조류 추출물의 항염증효과 스크리닝 결과

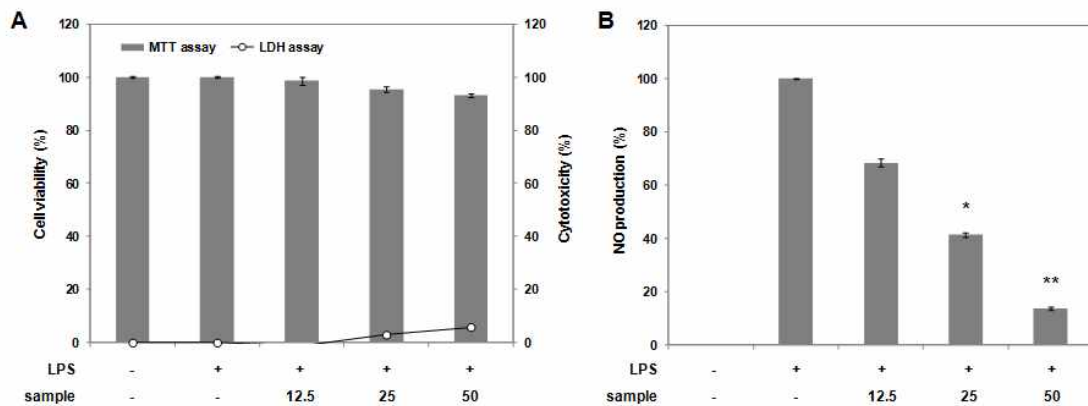
2.2. 용매분획별 항염증효과 분석

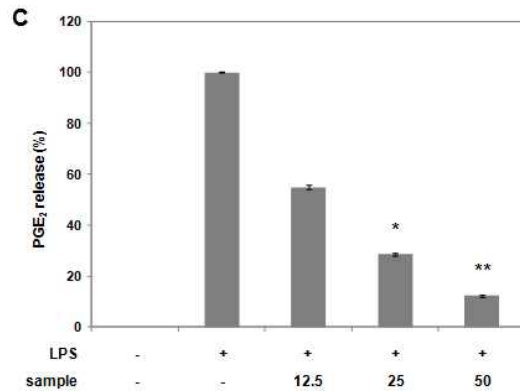
항염증효과가 가장 우수했던 파배기모자반 추출물을 대상으로 활성성분을 찾아내기 위해 유기용매의 극성별로 분획을 수행하였다. 용매는 비극성에서 극성의 순서대로 Hexane, CHCl₃, EtOAc, BuOH를 사용하여 분획을 하였고 분획 후 남은 물층 또한 실험에 사용하였다. 각 용매분획별 세포독성은 MTT assay와 LDH assay 두 방법을 사용하였고, 측정된 결과는 그림 5-A와 같다. 그 결과 대부분의 용매분획에서 세포독성이 나타나지 않았고, Hexane과 CHCl₃ 분획에서만 각각 약 8.7%와 4.3%의 세포독성이 측정되었다. 하지만 실험에 영향을 줄 만큼의 세포독성은 관찰되지 않았다. 각 용매분획별 NO와 PGE₂의 생성 억제효과를 측정해본 결과(그림 5-B, C), CHCl₃ 분획에서 가장 우수한 효과를 나타내었고, Hexane 분획에서도 좋은 결과를 확인하였다. 이러한 결과에 따라 CHCl₃ 분획을 대상으로 농도별 세포독성과 항염증 효과를 추가적으로 분석하였다.

그 결과, 실험에 사용한 농도범위 내에서는 세포독성이 관찰되지 않았고, 농도에 의존적으로 항염증효과를 보이는 것을 확인하였다(그림 6).



[그림 5] 추출물의 용매분획별 세포독성 및 항염증효과 분석





[그림 6] CHCl₃ 분획의 농도별 세포독성과 항염증 효과

3. 활성성분의 분리 및 구조분석

3.1. 활성성분의 분리

활성성분을 분리하기 위해 짜배기모자반의 CHCl₃ 분획을 silica column과 sephadex LH-20 column을 사용하여 분리한 후 prep HPLC를 통해 활성성분을 순수 분리하였다. HPLC는 Photodiode array detector 가 구비된 Waters HPLC system을 이용하였다. 그 결과 4종의 활성성분이 분리되었으며 이에 대한 구조분석을 수행하였다.

3.2. 활성성분의 구조분석

활성성분의 선광도는 JASCO P-1020 polarimeter를 이용하여 측정을 하였고, UV와 FT-IR spectra 측정을 위해 Pharmacia Biotech Ultrospec 3000 UV/Visible spectrometer와 SHIMAZU 8400s FT-IR spectrometer를 각각 이용하였다, NMR spectra는 Bruker 500 MHz 와 Varian INOVA 400 MHz를 사용하였고, NMR 측정을 위한 용매는 CD₃OD와 CDCl₃를 각각 이용하였다. ESI와 HREI mass spectra는 Finnigan Navigator 30086과 JMS-700 MSTATION high resolution mass spectrometer system을 각각 이용하였다. 그 결과, Sargachromanol D (SD)는 colorless gum 형태로 분리가 되었고, $[\alpha]_D^{20}$ 는 +19.4° (*c* 0.16, MeOH)를 나타내었다. IR (NaCl)은 ν_{\max} 3400-3300, 2975, 2930, 1470, 1375, 1200 cm⁻¹을 나타내었다. Sargachromanol E (SE)는 colorless gum 형태로 분리가 되었고, $[\alpha]_D^{20}$ 는 +14.4° (*c* 0.12, MeOH)를 나타내었다. IR (NaCl)은 ν_{\max} 3400-3300, 2975, 2930, 1645, 1470 cm⁻¹을 나타내었다. SD와 SE는 구조분석 결과 서로 isomeric metabolites 관계에 있었으며, HREIMS (triacetate) 분석결과 각각 m/z 554.3244[M]⁺ (calcd for C₃₃H₄₆O₇, 554.33244)와 m/z 554.3239[M]⁺ (calcd for C₃₃H₄₆O₇, 554.33244)를 나타내었다.

[표 8] 활성성분의 NMR assignments

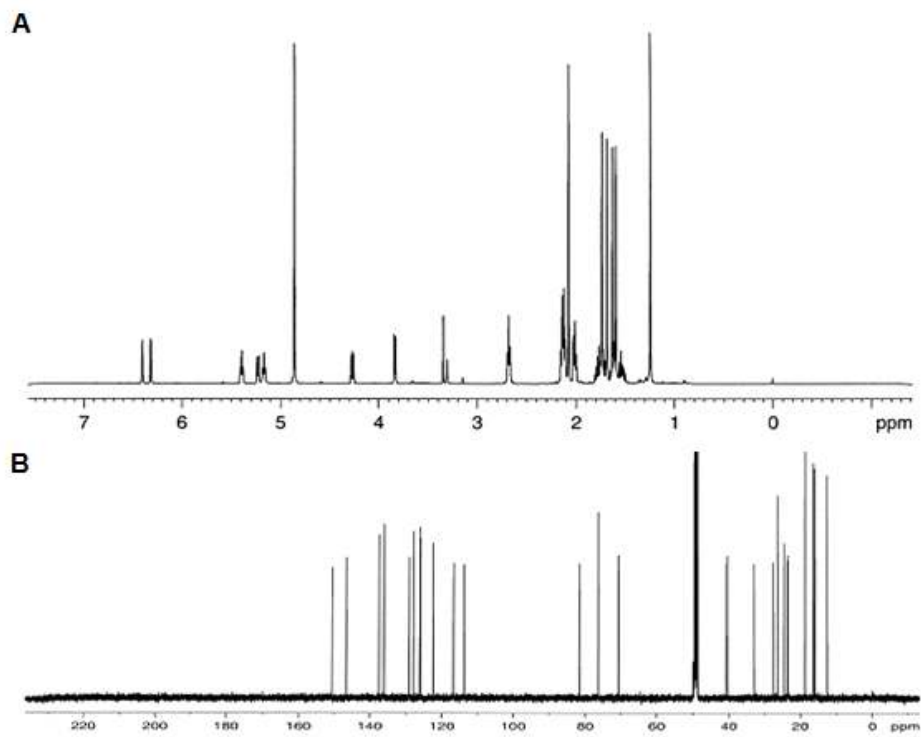
| A: sargachromanol D | | | B: sargachromanol E | | |
|---------------------|-----------------|------------------------------|---------------------|-----------------|------------------------------|
| position | ¹³ C | ¹ H (mult. J=Hz) | position | ¹³ C | ¹ H (mult. J=Hz) |
| 1 | 23.6 | 2.68 (2H, t, J = 6.5) | 1 | 23.6 | 2.68 (2H, t, J = 6.5) |
| 2 | 32.9 | 1.78 (1H, m) | 2 | 32.9 | 1.78 (1H, dt, J = 13.2, 6.8) |
| 3 | 76.3 | 1.72 (1H, m) | 3 | 76.3 | 1.72 (1H, dt, J = 13.2, 6.8) |
| 4 | 40.7 | 1.62 (1H, dt, J = 15.1, 7.3) | 4 | 40.7 | 1.62 (1H, m) |
| 5 | 23.4 | 1.53 (1H, m) | 5 | 23.4 | 1.53 (1H, m) |
| 6 | 126.0 | 2.11 (2H, dh, J = 7.3, 7.0) | 6 | 126.0 | 2.11 (2H, dt, J = 6.8, 7.3) |
| 7 | 136.0 | 5.17 (1H, t, J = 7.0) | 7 | 126.0 | 5.17 (1H, t, J = 6.8) |
| 8 | 40.6 | 2.00 (2H, t, J = 7.5) | 8 | 136.0 | 2.00 (2H, t, J = 7.3) |
| 9 | 27.5 | 2.12 (2H, m) | 9 | 40.6 | 2.12 (2H, dt, J = 6.8, 7.3) |
| 10 | 129.0 | 5.39 (1H, t, J = 7.0) | 10 | 27.5 | 2.12 (2H, dt, J = 6.8, 7.3) |
| 11 | 136.0 | | 11 | 129.0 | 5.39 (1H, t, J = 6.8) |
| 12 | 81.7 | 3.84 (1H, d, J = 6.5) | 12 | 136.0 | |
| 13 | 70.7 | 4.27 (1H, dd, J = 9.0, 6.5) | 13 | 81.7 | 3.84 (1H, d, J = 6.5) |
| 14 | 126.1 | 5.23 (1H, dt, J = 9.0, 1.0) | 14 | 70.7 | 4.27 (1H, dd, J = 9.0, 6.5) |
| 15 | 137.4 | | 15 | 126.1 | 5.23 (1H, dt, J = 9.0, 1.0) |
| 16 | 26.3 | 1.74 (3H, s) | 16 | 137.4 | |
| 17 | 18.7 | 1.68 (3H, s) | 17 | 26.3 | 1.74 (3H, d, J = 1.0) |
| 18 | 12.6 | 1.63 (3H, s) | 18 | 18.7 | 1.68 (3H, d, J = 1.5) |
| 19 | 16.1 | 1.59 (3H, s) | 19 | 12.6 | 1.63 (3H, s) |
| 20 | 24.6 | 1.24 (3H, s) | 20 | 16.1 | 1.59 (3H, s) |
| 1' | 146.5 | | 21 | 24.6 | 1.24 (3H, s) |
| 2' | 122.4 | | 2' | 146.5 | |
| 3' | 113.7 | 6.32 (1H, d, J = 2.5) | 3' | 122.4 | |
| 4' | 150.5 | | 4' | 113.7 | 6.32 (1H, d, J = 2.5) |
| 5' | 116.7 | 6.41 (1H, d, J = 2.5) | 5' | 150.5 | |
| 6' | 127.9 | | 6' | 116.7 | 6.41 (1H, d, J = 2.5) |
| 7' | 16.5 | 2.08 (3H, s) | 7' | 127.9 | |
| | | | 7' | 16.5 | 2.08 (3H, s) |

* 500 MHz for ¹H and 125 MHz for ¹³C

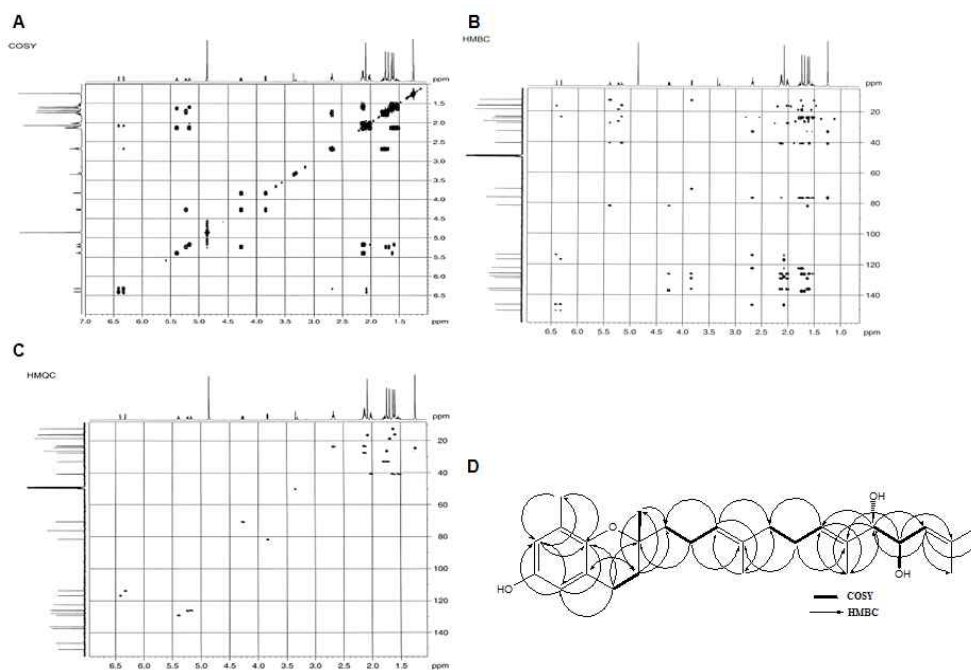
| C: sargachromanol G | | | D: sargachromanol I | | |
|---------------------|-----------------|-----------------------------|---------------------|-----------------|------------------------------|
| position | ¹³ C | ¹ H (mult. J=Hz) | position | ¹³ C | ¹ H (mult. J=Hz) |
| 1 | 22.2 | 2.65 (2H, J = 7.2) | 1 | 23.6 | 2.68 (2H, t, J = 6.5) |
| 2 | 31.6 | 1.79 (1H, m) | 2 | 32.9 | 1.78 (1H, dt, J = 13.7, 6.8) |
| 3 | 75.0 | 1.72 (1H, m) | 3 | 76.3 | 1.73 (1H, dt, J = 13.7, 6.8) |
| 4 | 39.1 | 1.63 (1H, m) | 4 | 40.7 | 1.62 (1H, m) |
| 5 | 22.1 | 1.48 (1H, m) | 5 | 23.3 | 1.53 (1H, m) |
| 6 | 125.6 | 2.12 (2H, m) | 6 | 126.2 | 2.10 (2H, m) |
| 7 | 133.7 | 5.14 (1H, t, J = 7.3) | 7 | 135.7 | 5.15 (1H, t, J = 7.0) |
| 8 | 37.9 | 2.10 (2H, t, J = 7.8) | 8 | 40.7 | 1.93 (2H, dd, J = 6.8, 5.4) |
| 9 | 27.1 | 2.34 (2H, m) | 9 | 26.6 | 1.32 (2H, m) |
| 10 | 144.5 | 6.55 (1H, t, J = 7.3) | 10 | 34.6 | 1.32 (2H, m) |
| 11 | 134.4 | | 11 | 42.6 | 2.69 (1H, m) |
| 12 | 201.3 | | 12 | 216.0 | |
| 13 | 69.8 | 5.36 (1H, d, J = 9.6) | 13 | 75.9 | 4.87 (1H, d, J = 9.8) |
| 14 | 123.4 | 5.00 (1H, dh, J = 9.6, 1.5) | 14 | 122.4 | 5.02 (1H, br d, J = 9.8) |
| 15 | 137.9 | | 15 | 140.7 | |
| 16 | 24.9 | 1.72 (3H, s) | 16 | 26.2 | 1.78 (3H, s) |
| 17 | 17.3 | 1.82 (3H, s) | 17 | 18.9 | 1.82 (3H, s) |
| 18 | 10.7 | 1.80 (3H, s) | 18 | 17.0 | 1.01 (3H, d, J = 6.5) |
| 19 | 14.6 | 1.59 (3H, s) | 19 | 15.9 | 1.56 (3H, s) |
| 20 | 23.3 | 1.25 (3H, s) | 20 | 24.6 | 1.24 (3H, s) |
| 1' | 145.1 | | 21 | 146.5 | |
| 2' | 121.1 | | 2' | 122.7 | |
| 3' | 112.4 | 6.30 (1H, d, J = 2.8) | 3' | 113.7 | 6.32 (1H, d, J = 2.5) |
| 4' | 149.2 | | 4' | 152.7 | |
| 5' | 115.4 | 6.39 (1H, d, J = 2.8) | 5' | 226.7 | 6.41 (1H, d, J = 2.5) |
| 6' | 126.5 | | 6' | 127.9 | |
| 7' | 15.2 | 2.05 (3H, s) | 7' | 16.0 | 2.07 (3H, s) |

* 400 MHz for ¹H and 100 MHz for ¹³C

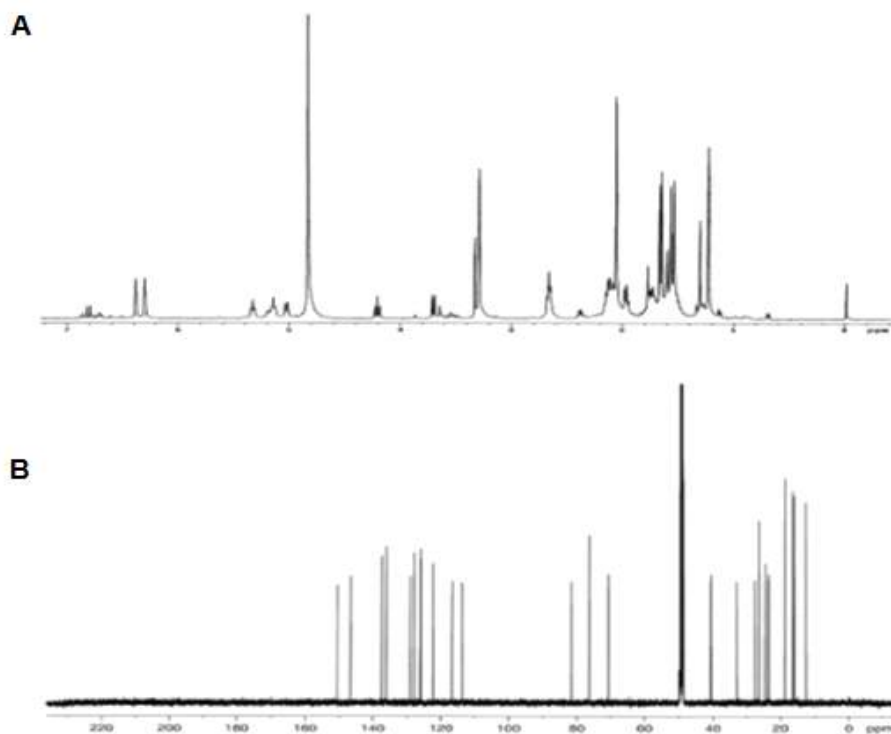
* 500 MHz for ¹H and 125 MHz for ¹³C



[그림 7] Sargachromanol D (SD)의 ^1H (A)와 ^{13}C (B) NMR spectrum



[그림 8] Sargachromanol D (SD)의 2D NMR spectrum (A: COSY, B: HMBC, C: HMQC)과 selective long range correlations (D)

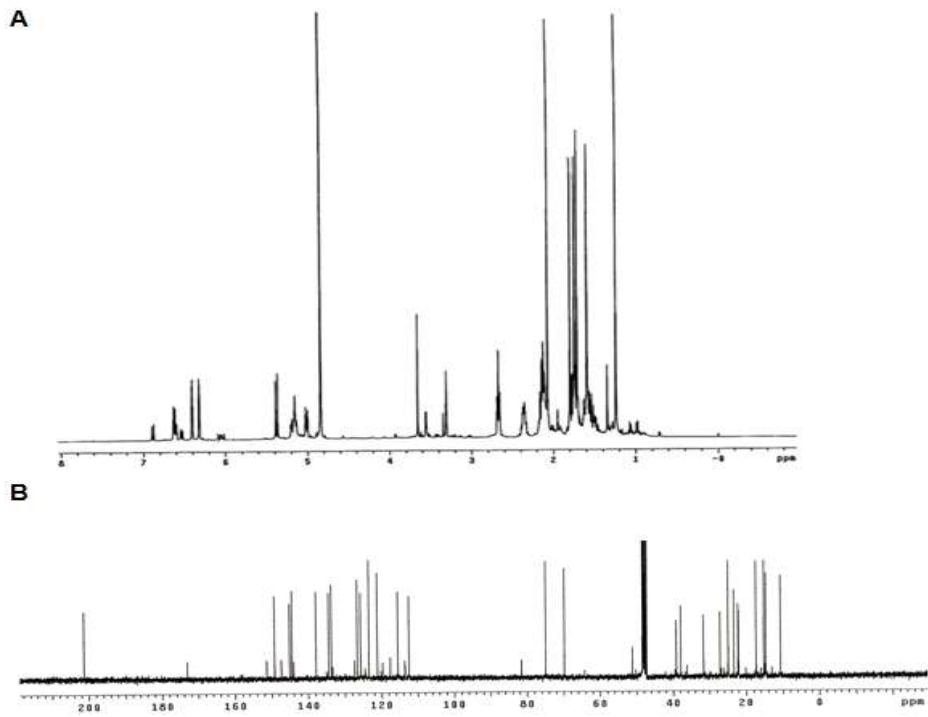


[그림 9] Sargachromanol E (SE)의 ^1H (A)와 ^{13}C (B) NMR spectrum

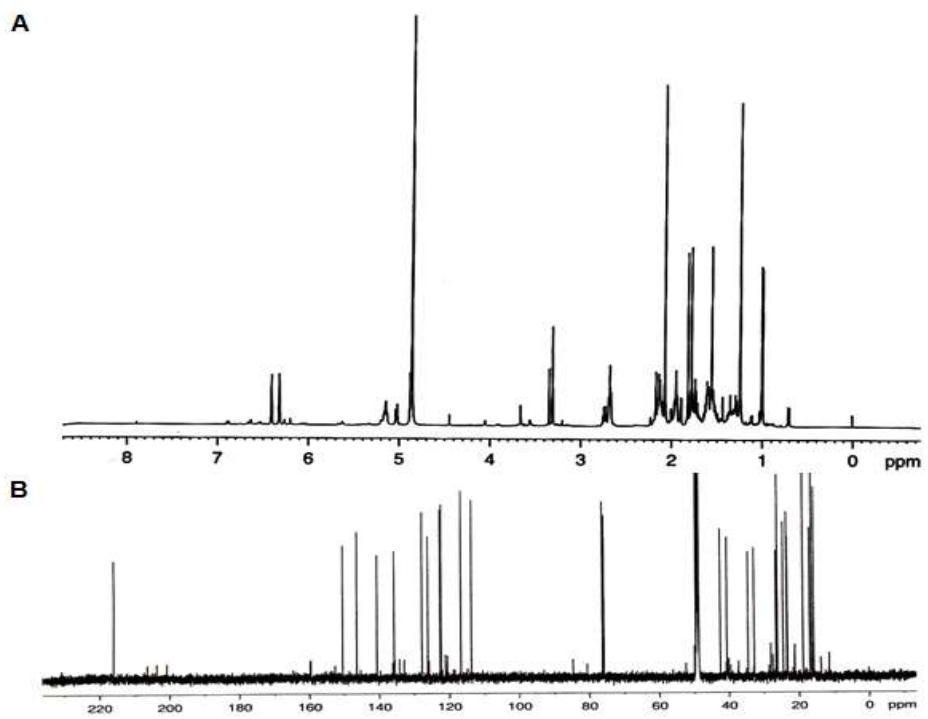
NMR 분석 결과, δ_{H} 5.39, 5.23, 5.17에 세 개의 olefinic proton이 존재하였고, δ_{H} 2.08, 1.74, 1.68, 1.63, 1.59, 1.24에 여섯 개의 methyl proton이 존재함을 확인하였다. 2D NMR 분석 결과, SD와 SE의 구조 중 C-12와 C-13의 hydroxyl group에 tetraprenyl chromanol이 있음을 확인하였고, 여러 가지 chemical shift와 asymmetric center, nearby position, coupling constants 등을 분석한 결과 SD와 SE는 서로 diastereomer인 것을 확인할 수 있었다.

Sargachromanol G (SG)는 colorless gum 형태로 분리가 되었고, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 는 -79.2° (c 0.12, MeOH)를 나타내었다. IR (NaCl)은 ν_{max} 3400-3300, 2970, 2930, 1665, 1470, 1220 cm^{-1} 을 나타내었고, UV (MeOH)는 λ_{max} nm ($\log \epsilon$) 230(3.80) nm를 나타내었다. HREIMS 분석결과 분자량은 m/z 426.2774[M] $^+$ (calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_4$, 426.2770)를 나타내었다.

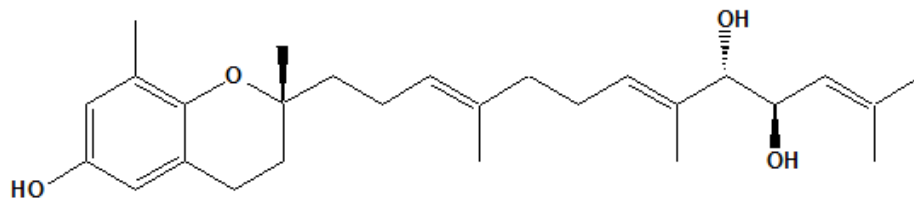
Sargachromanol I (SI)는 colorless gum 형태로 분리가 되었고, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 는 -118.2° (c 0.11, MeOH)를 나타내었다. IR (NaCl)은 ν_{max} 3400-3300, 2935, 1710, 1470, 1220 cm^{-1} 을 나타내었고, HREIMS 분석결과 분자량은 m/z 428.2924[M] $^+$ (calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_4$, 428.2927)를 나타내었다. SG와 SI는 매우 유사한 구조를 가지고 있었는데, 2D NMR을 분석한 결과 SI는 SG의 10, 11-dihydro derivative라는 것을 확인할 수 있었다.



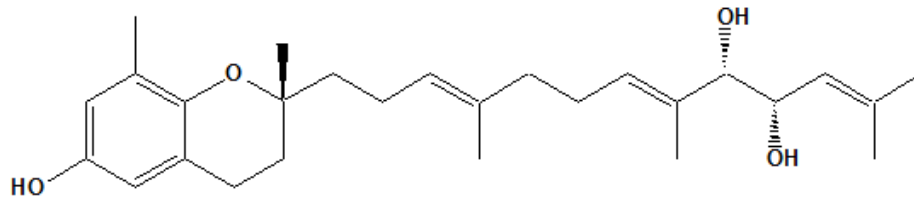
[그림 10] Sargachromanol G (SG)의 ^1H (A)와 ^{13}C (B) NMR spectrum



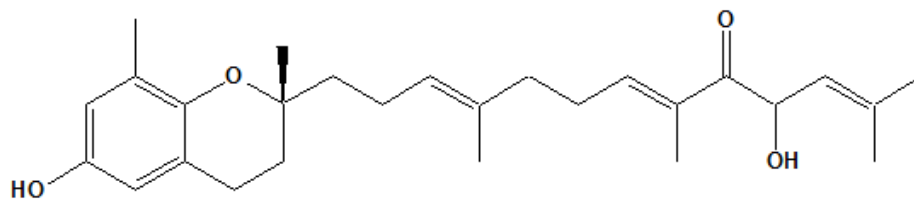
[그림 11] Sargachromanol I (SI)의 ^1H (A)와 ^{13}C (B) NMR spectrum



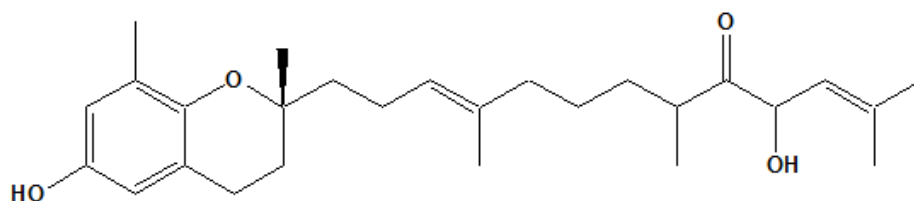
Sargachromanol D



Sargachromanol E



Sargachromanol G



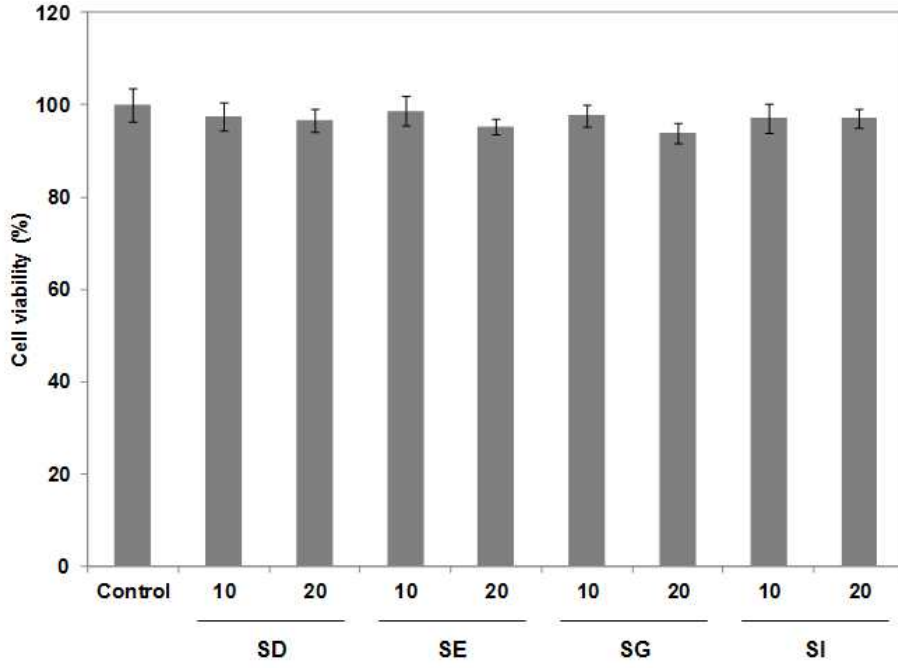
Sargachromanol I

[그림 12] 파배기모자반에서 분리된 활성성분의 화학구조

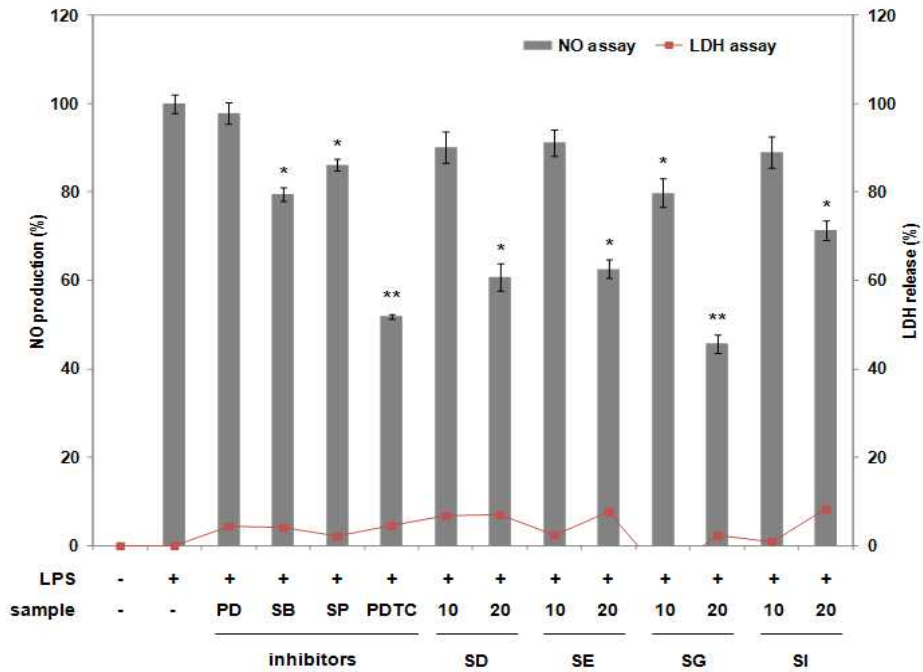
4. 활성성분의 항염증효과 분석

분리된 활성성분들의 항염증효과를 분석하기 전에 각 활성성분들이 나타내는 세포 독성 유무를 확인하기 위해 MTT assay를 이용해 세포독성을 측정하였다(그림 13). 그 결과 모든 활성성분들이 실험한 범위군 내에서는 세포독성을 나타내지 않는 것을 확인하였다. 이에 4개의 활성성분을 대상으로 항염증효과를 측정하였다(그림 14). 실험은 Raw 264.7 세포에 LPS로 염증을 유도한 후 생성되는 NO 억제효과로 분석을 수행하였고, 각 기전별 주요 인자들의 inhibitor인 PD(ERK inhibitor), SB(p38 inhibitor), SP(JNK

inhibitor), PDTC(NF- κ B inhibitor)도 함께 실험을 수행하였다.

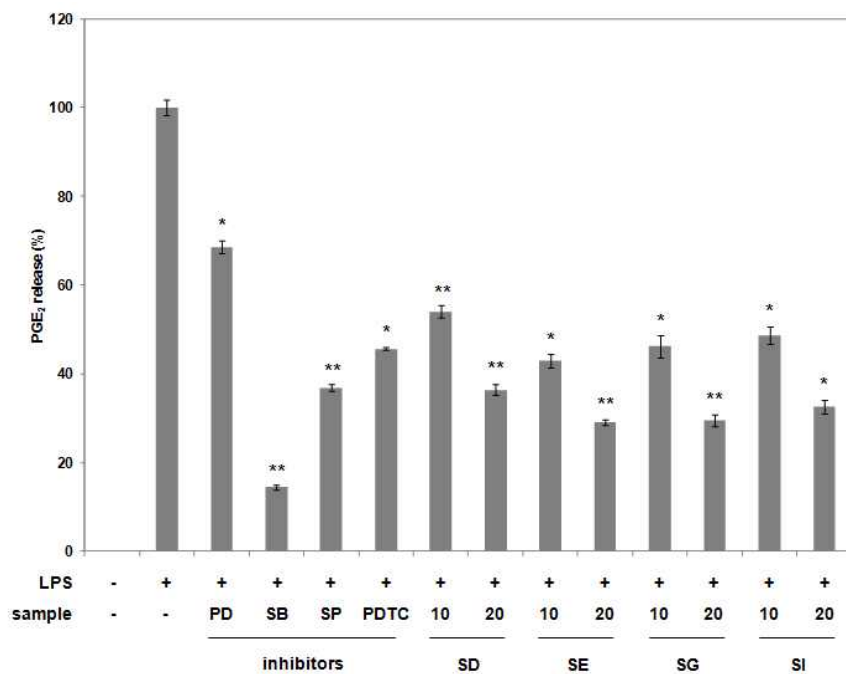


[그림 13] 활성성분의 세포독성 평가

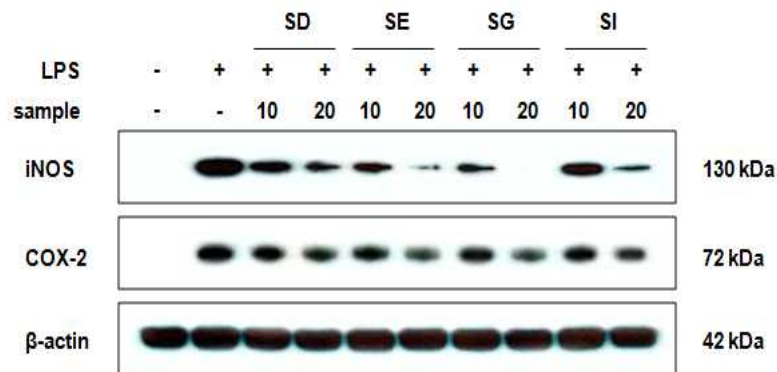


[그림 14] 활성성분의 NO 생성 억제효과 및 세포독성 평가

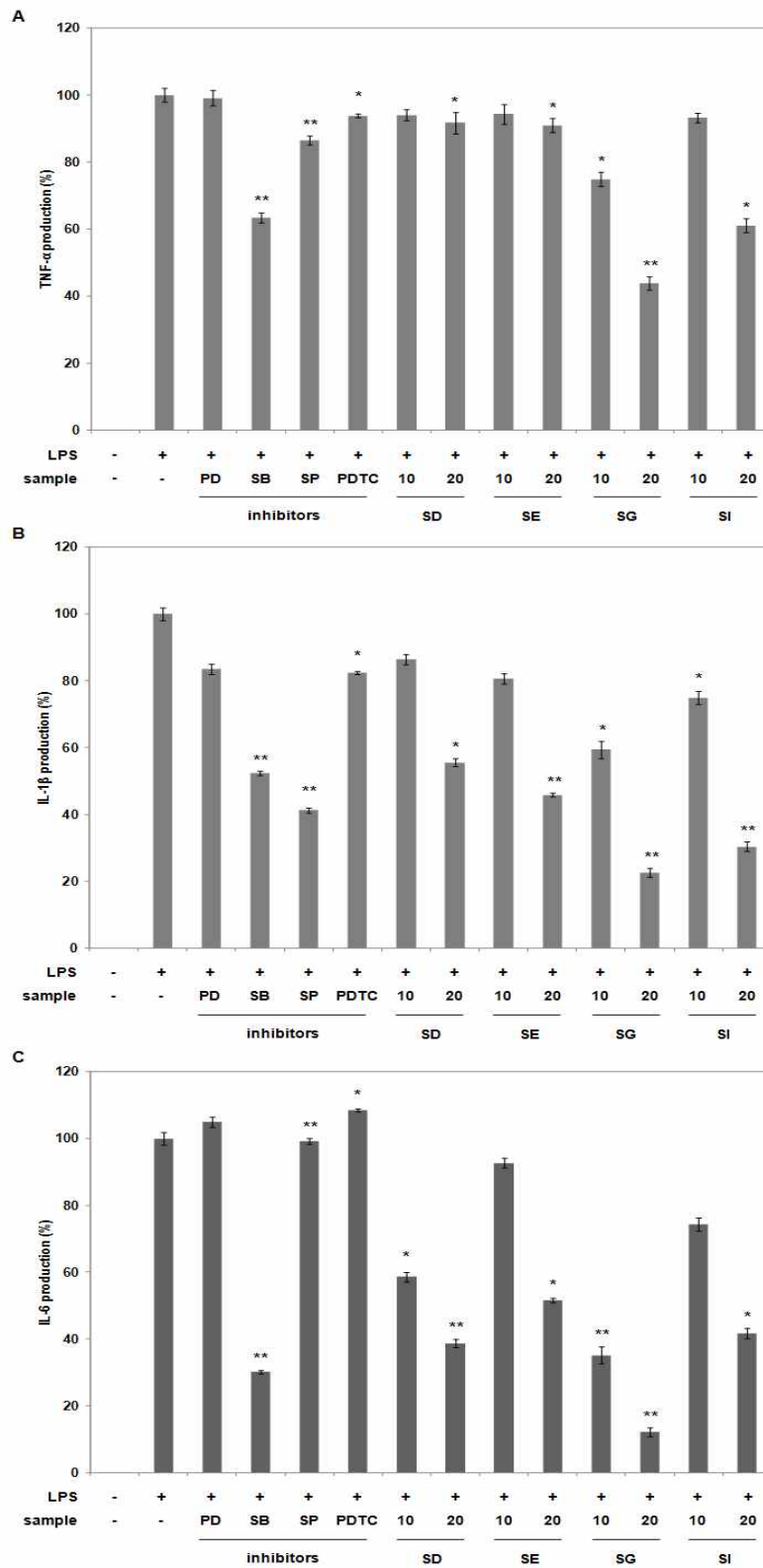
활성성분의 NO 생성 억제효과를 측정한 결과 모든 활성성분들이 20 μ M의 농도에
서 NO 생성 억제효과를 나타내었다. 또한 LPS의 유무에 따른 세포독성의 영향은 없는
것으로 확인되었고, 활성성분들에서도 약간의 세포독성이 나타났으나 실험에 영향을
끼칠만한 정도는 아닌 것으로 확인을 하였다. PGE₂ 생성 억제효과는 모든 활성성분들
이 NO 생성 억제효과보다 높은 효과를 나타내었고(그림 15), 단백질 발현 양을 측정한
결과 모든 활성성분들이 COX-2 보다 iNOS 발현을 효과적으로 억제시킨 것을 확인할
수 있었다(그림 16).



[그림 15] 활성성분의 PGE₂ 생성 억제효과



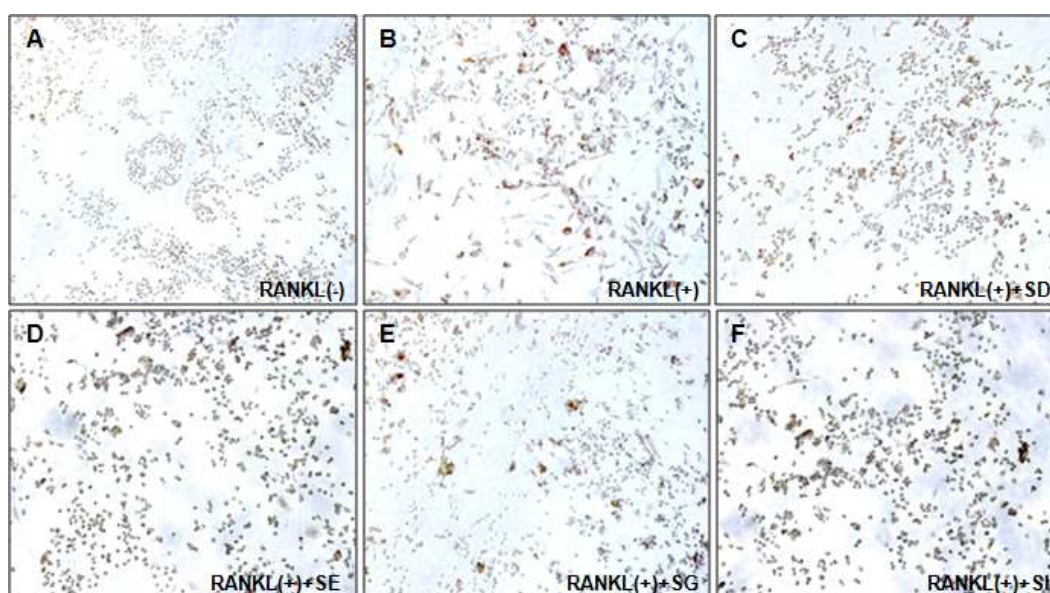
[그림 16] 활성성분의 iNOS, COX-2 단백질 발현 억제효과



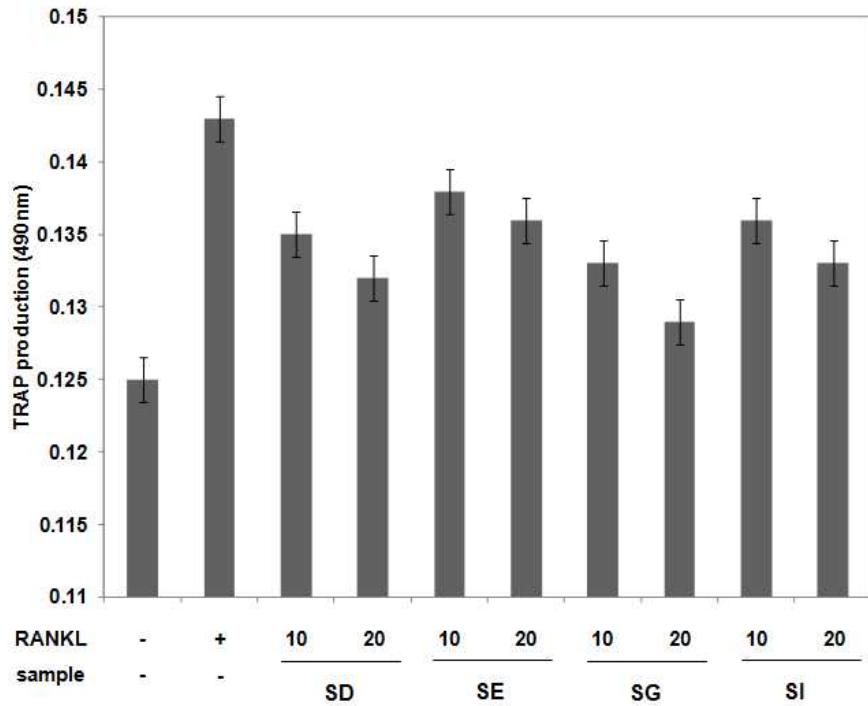
[그림 17] 활성성분의 cytokine(A: TNF- α , B: IL-1 β , C: IL-6) 생성 억제효과

활성성분의 염증관련 cytokine 생성 억제효과를 측정 한 결과 TNF- α 에서는 SG와 SI에서만 효과가 나타났고, IL-1 β 와 IL-6에서는 대부분의 활성성분들에서 억제 효과가 나타났으며, 그 중 SG에서 가장 우수한 효과를 나타내었다(그림 17).

RAW 264.7 세포는 항염증효과를 측정하기 위해 사용하는 대표적인 세포이지만 파골전구세포이기도 하기 때문에 골형성 관련 실험에도 주로 사용된다. 이는 복합염증성 질환의 일환으로 골형성과 관련하여 골다공증 혹은 관절염 억제 분야에 응용이 가능하기 때문에 파골세포 분화유도인자인 RANKL을 처리한 세포에 활성성분들이 어떻게 반응하는지 확인해 보았다(그림 18). TRAP 효소의 활성화는 파골세포가 골 흡수 작용을 할 때 증가하는 것으로 보고되었는데, 파골세포는 골 내막에 위치하며 골 조직에 존재하는 유일한 다핵세포로서 RANKL에 의한 분화초기 단계에는 단핵의 파골전구세포를 형성하지만 이후 세포가 유합되어 다핵의 성숙 파골세포로 분화되면 골 표면에 부착되어 주름 막을 형성하여 TRAP 염색 시 보라색으로 염색되는 특징을 가진다. RANKL을 처리하지 않은 일반 RAW 264.7 세포(그림 18-A)는 파골세포의 특징인 다핵과 주름 막을 형성하지 않았다. 그러나 RANKL 처리에 의해 파골세포로 분화된 RAW 264.7 세포(그림 18-B)에서 파골세포의 특징인 다핵이 관찰되었으며, 주름 막을 형성하여 파골세포의 화학적 표지효소인 TRAP 염색 시 보라색으로 염색되었다. 활성성분들을 복합 처리함에 따라 TRAP 염색으로 나타나는 파골세포의 분화가 줄어드는 것을 확인하였으며, 이는 수치상으로도 확인할 수 있었다(그림 19).

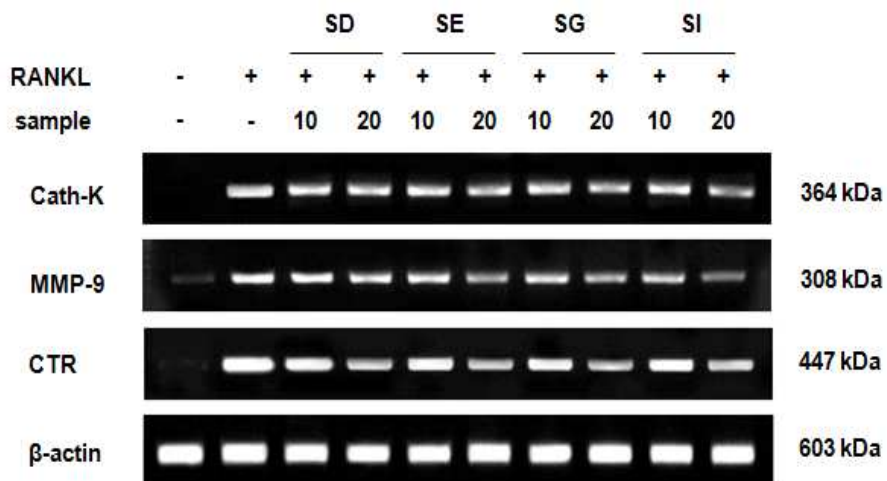


[그림 18] TRAP 염색법을 통한 활성성분들의 파골세포 형성 억제효과



[그림 19] 활성성분들의 TRAP 생성 억제효과

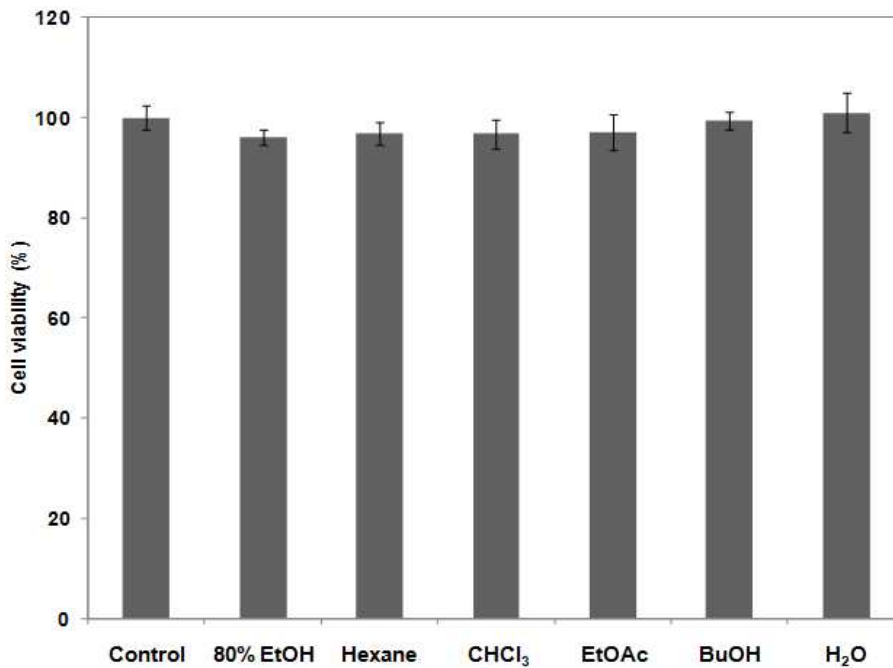
활성성분의 파골세포분화 억제정도를 RANKL처리한 RAW 264.7 세포에서 파골세포분화 관련지표로 알려진 MMP-9, Cath-K 및 CTR의 발현을 통해 확인하였다(그림 20). 그 결과 양성대조군에 비해 전반적으로 mRNA 발현이 억제되는 것을 확인하였고, 지표들 중에는 MMP-9에서 그 효과가 가장 뚜렷하게 나타났다.



[그림 20] 활성성분의 파골세포분화 관련 인자 발현 억제효과

5. 활성성분의 골염증(조골세포분화) 관련 효과 분석

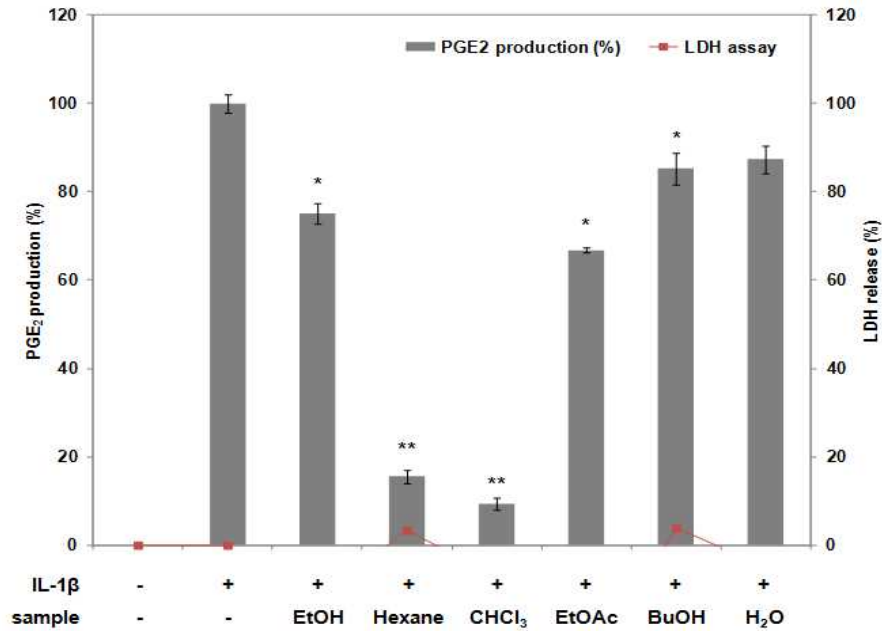
골 항상성은 골 흡수에 관여하는 파골세포와 골 형성에 관여하는 조골세포의 긴밀한 상호작용에 의해 유지된다. 파골전구세포로부터 파골세포로의 분화과정에 조골세포가 관여함은 여러 보고를 통해 잘 알려져 있다. 조골세포에서 분비되는 국소인자 중 monocyte-macrophage colony-stimulating factor(M-CSF), tumor necrosis factor(TNF)- α , interleukin(IL)-1 β 그리고 IL-6 등이 파골세포의 분화 조절에 관여하는 것으로 알려져 있는데 이중 IL-1 β 의 발현이 파골세포분화를 가장 강력히 촉진하는 것으로 알려져 있다. 분리된 활성성분들은 일반 염증성반응 뿐만 아니라 파골세포분화 관련 인자들의 발현을 억제시켰기 때문에, 활성성분들을 대상으로 골다공증 및 복합염증성질환의 치료제로서 가능성을 타진하기 위해 조골세포인 MG-63 세포를 이용하여 관련 실험을 진행하였다. 먼저 파배기모자반 추출물 및 용매별 분획물을 대상으로 MG-63 세포에 대한 세포독성을 측정 한 결과 모든 실험군에서 세포독성을 나타내지 않는 것을 확인 하였다(그림 21).



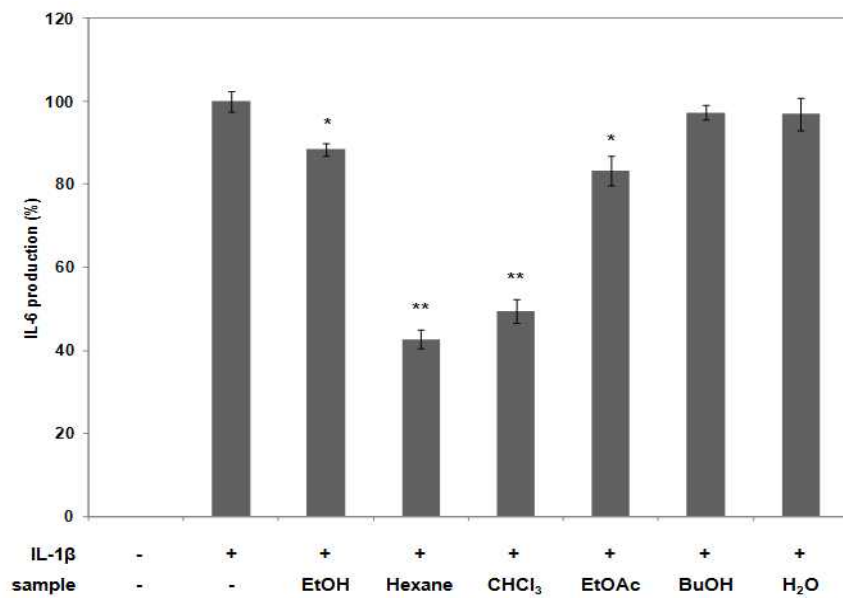
[그림 21] MG-63 세포에서 추출물의 용매분획별 세포독성

이에 MG-63 세포에 IL-1 β 을 처리하여 나타나는 염증유도 및 파골세포분화로의 촉진을 추출물들이 억제할 수 있는지를 확인해 보았다. 그 결과 추출물들이 IL-1 β 의 처

리에 의해 나타나는 요인들을 효과적으로 억제시키는 것을 확인하였고, 그중 CHCl_3 분획에서 약 91%의 우수한 효과를 나타내었다. Hexane 분획 에서도 약 85%의 우수한 억제효과를 나타내었으나 약간의 세포독성이 유발되었다(그림 22).

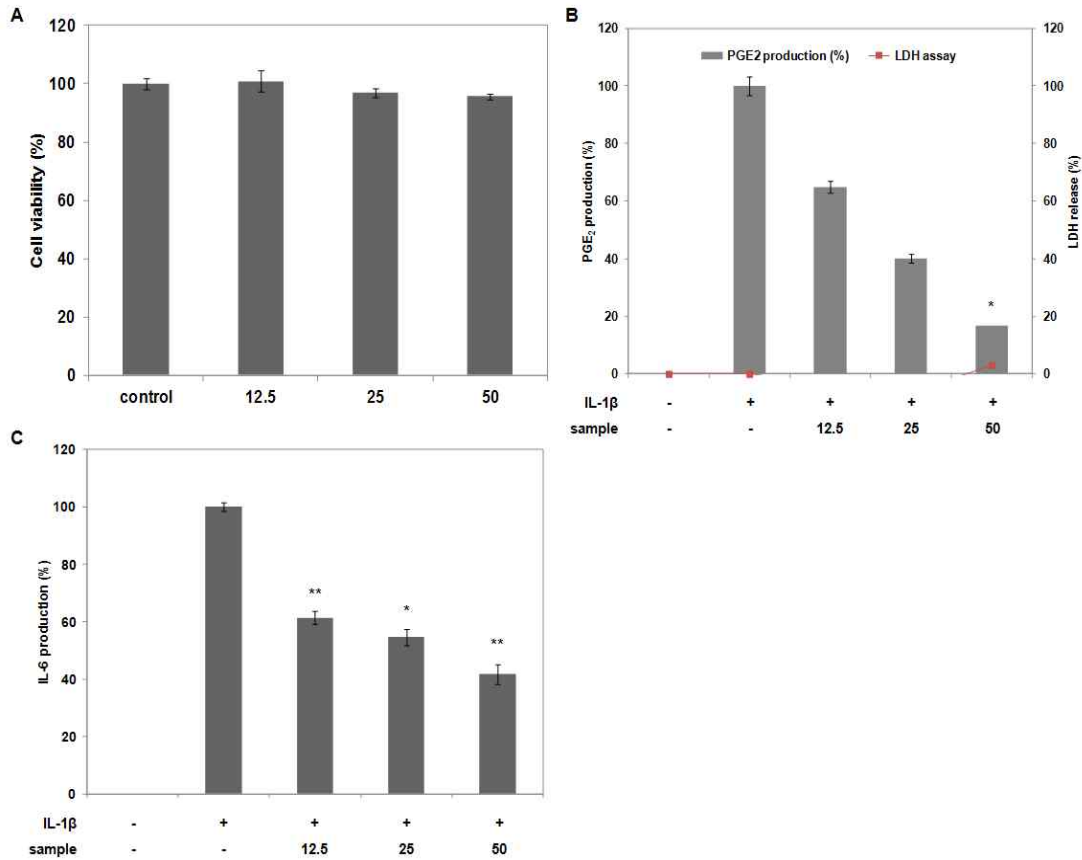


[그림 22] MG-63 세포에서 추출물의 PGE₂ 생성 억제효과 및 세포독성



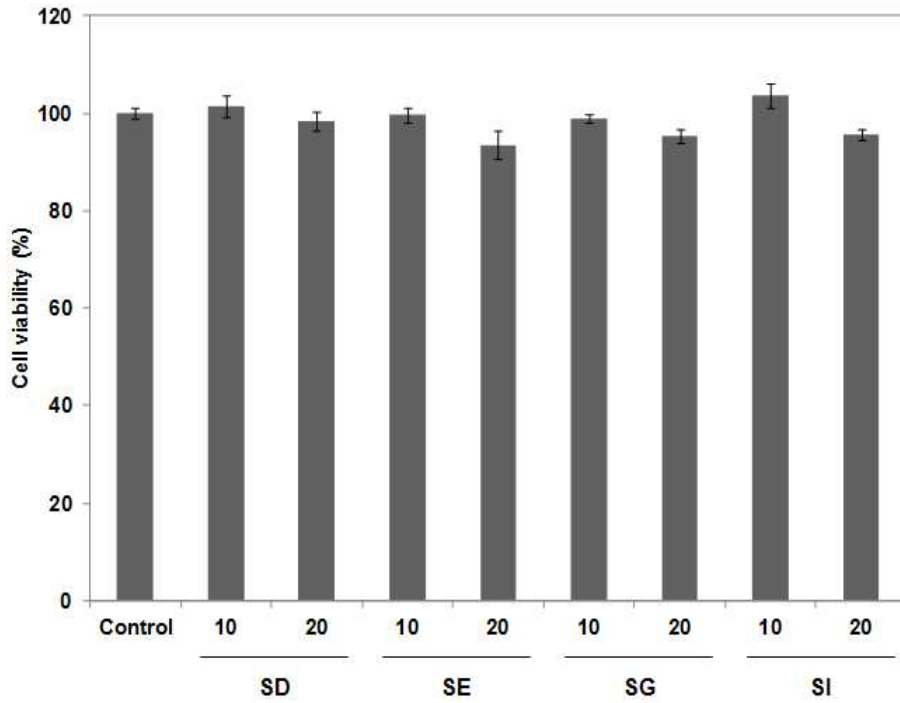
[그림 23] MG-63 세포에서 추출물의 IL-6 생성 억제효과

추출물들의 IL-6 억제효과는 CHCl₃ 분획보다 Hexane 분획에서 다소 우수한 효과를 나타내었다(그림 23). 전체적으로 CHCl₃ 분획에서 우수한 효과를 나타냈기 때문에 CHCl₃ 분획을 대상으로 추가적인 분석을 수행한 결과 세포독성은 50 μM의 농도에서 유의적으로 나타났으나 실험에 영향을 끼칠 정도는 아니었으며, 농도에 의존적으로 PGE₂와 IL-6의 생성을 효과적으로 억제하는 것을 확인하였다(그림 24).

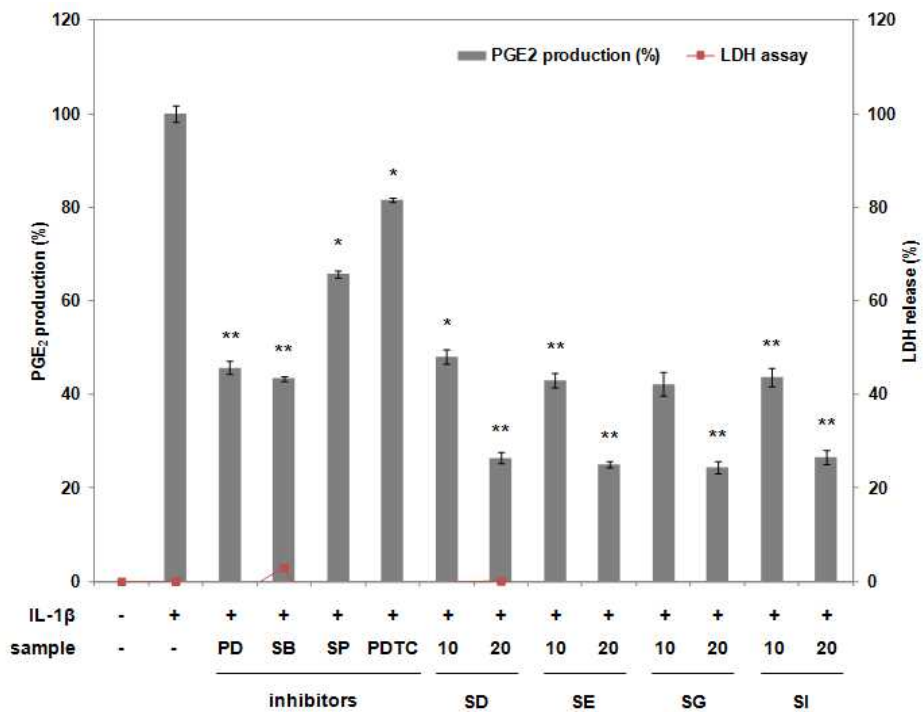


[그림 24] MG-63 세포에서 CHCl₃ 분획의 세포독성(A), PGE₂(B) 및 IL-6(C) 생성 억제효과

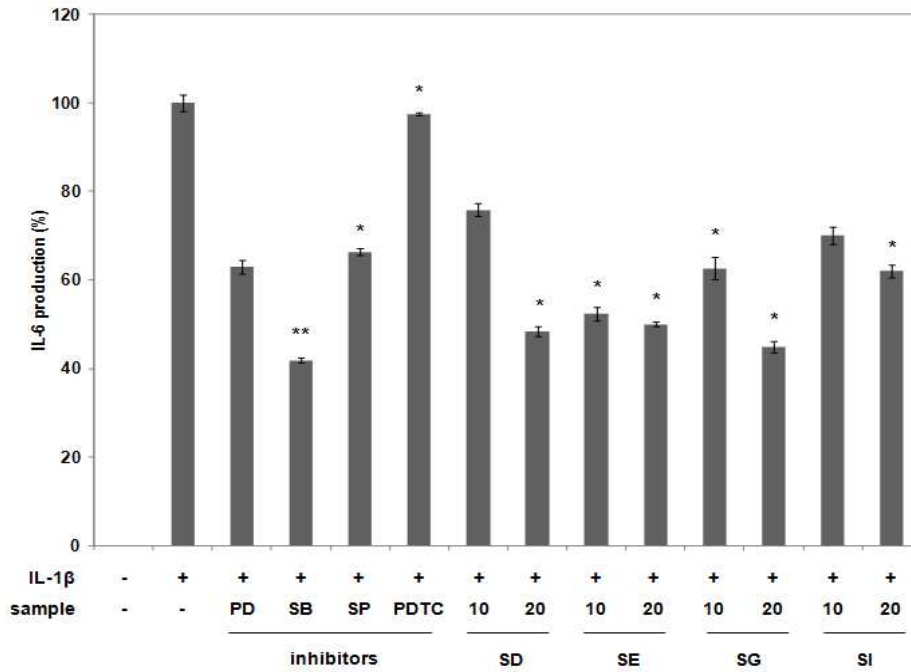
CHCl₃ 분획으로부터 활성성분을 분리한 결과 그림 12에 나타난 네 개의 활성성분과 동일하게 나타났다. 이에 분리된 활성성분들의 MG-63 세포에서 세포독성 유무를 확인하였다(그림 25). 그 결과 모든 활성성분들이 실험한 범위군 내에서는 세포독성을 나타내지 않는 것을 확인하였다. 이에 4개의 활성성분을 대상으로 MG-63 세포에 IL-1β를 처리하여 나타나는 염증유도 및 파골세포분화로의 촉진을 억제할 수 있는지를 확인해 보았다. 그 결과 활성성분들이 IL-1β의 처리에 의해 나타나는 PGE₂(그림 26)와 IL-6(그림 27) 생성을 효과적으로 억제시키는 것을 확인하였다.



[그림 25] MG-63 세포에서 활성성분의 세포독성 평가

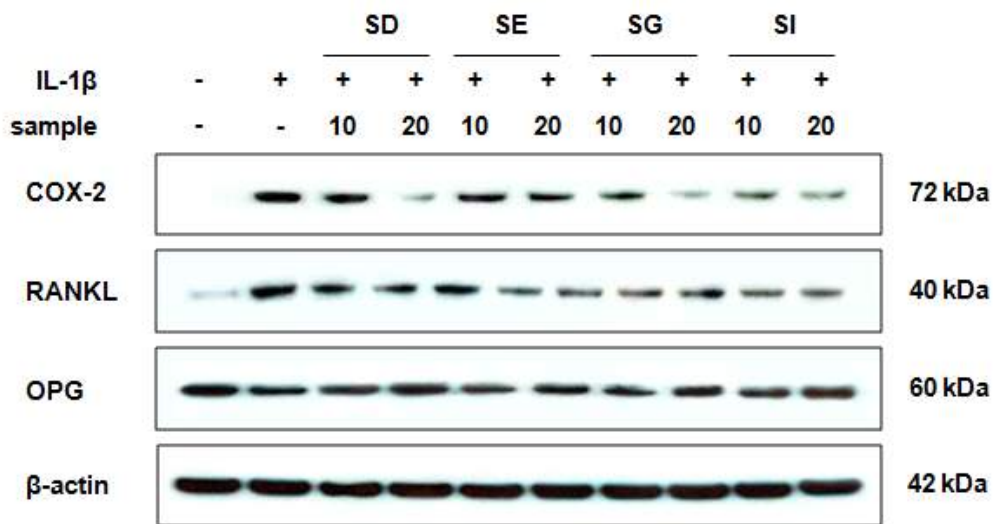


[그림 26] MG-63 세포에서 활성성분의 PGE₂ 생성 억제효과 및 세포독성



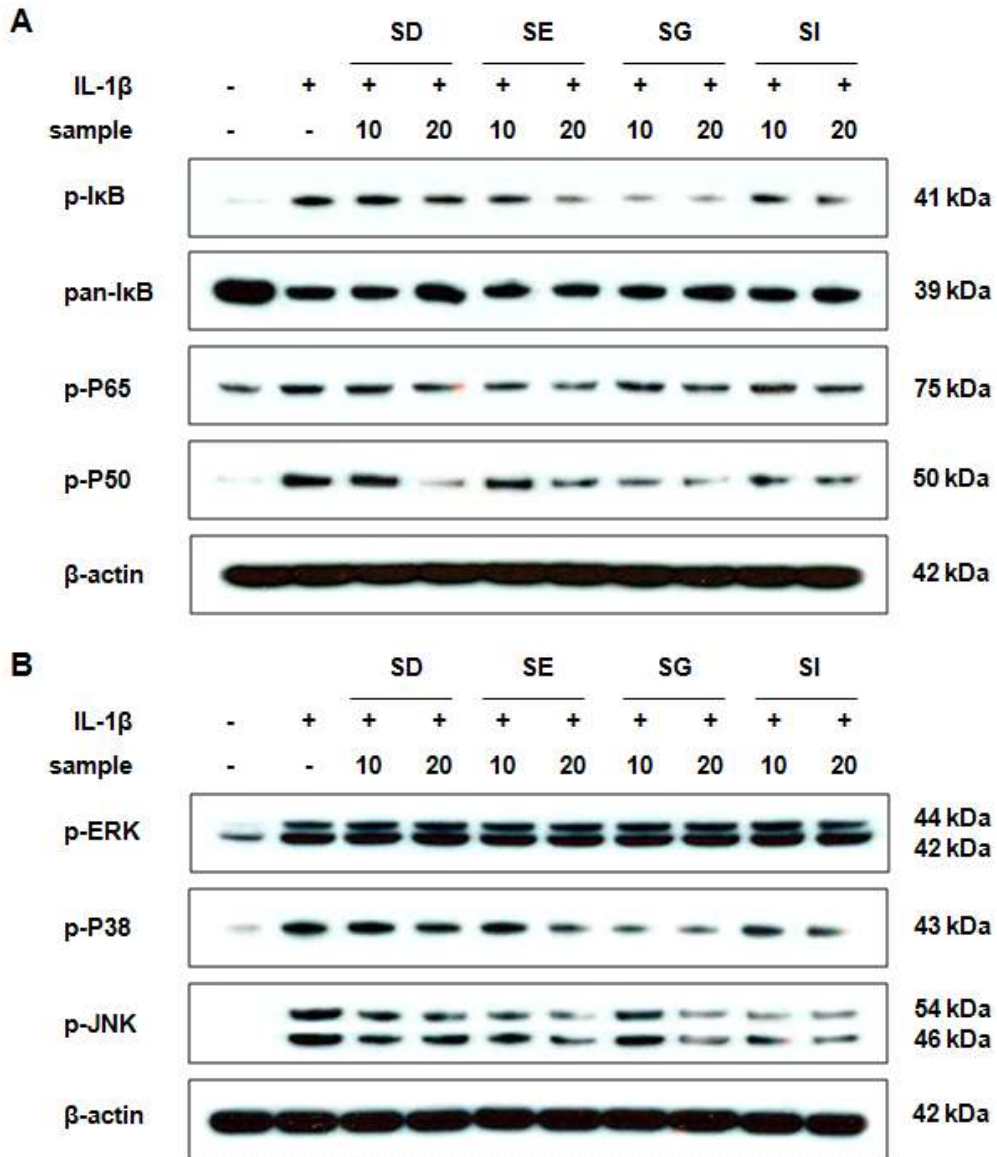
[그림 27] MG-63 세포에서 활성성분의 IL-6 생성 억제효과

조골세포에서 생성, 분비되어 파골세포 분화조절에 관여한다고 알려져 있는 인자들에 대한 활성성분들의 효과를 측정된 결과, 활성성분들은 각 인자들의 단백질 발현을 억제효과를 나타내었고 그 중 COX-2를 가장 강력히 억제하는 것을 확인하였다(그림 28).



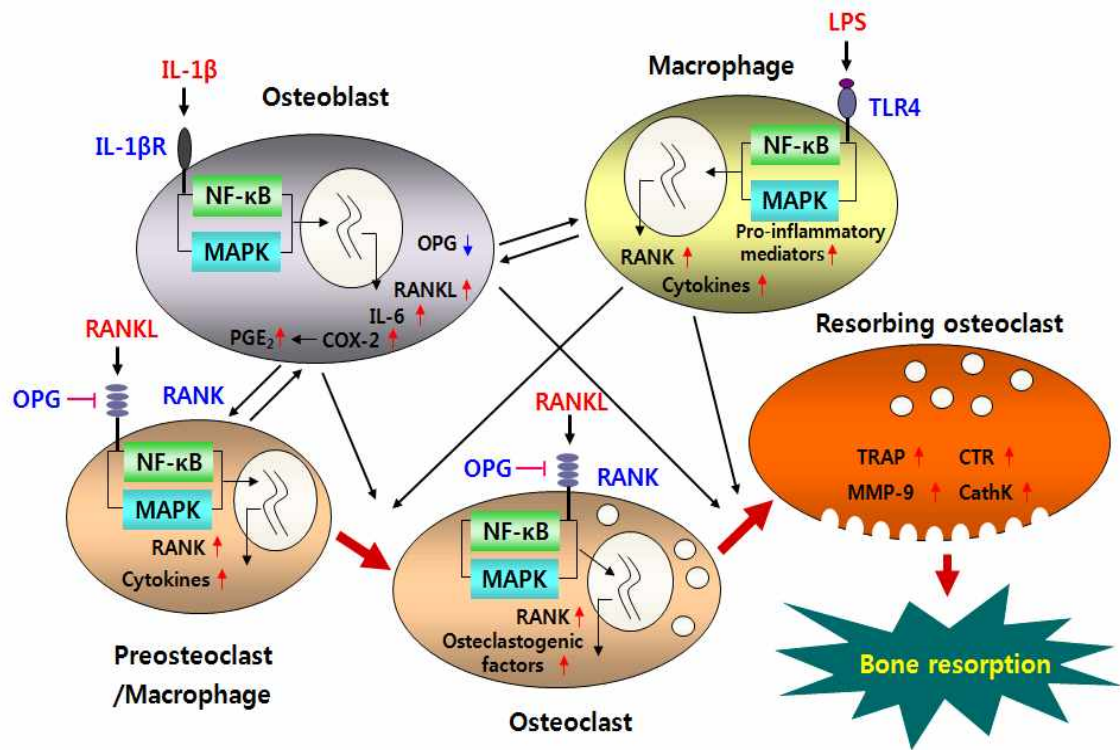
[그림 28] 활성성분들의 osteoclastogenic factor 관련 단백질 발현 억제효과

또한 다른 기전에 관여하는 단백질들의 발현 억제효과를 측정 한 결과, NF- κ B 경로에 관여하는 단백질인 I κ B- α , p-65, p-50 단백질의 발현을 효과적으로 억제하는 것을 확인하였고(그림 29-A), MAPK 경로에 관여하는 단백질인 ERK, p-38, JNK의 발현도 유의적으로 억제하는 효과가 있음을 확인하였다(그림 29-B).



[그림 29] 활성성분들의 NF- κ B 관련 단백질 발현(A) 및 MAPK 관련 단백질 발현(B) 억제효과

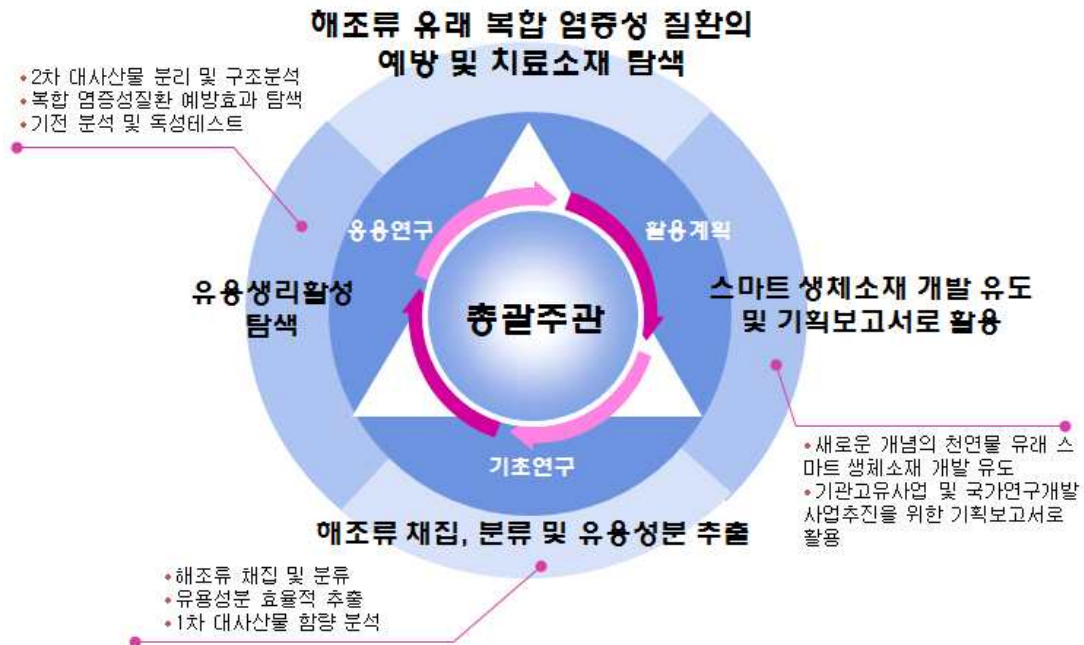
이러한 결과들을 바탕으로 파배기모자반에서 분리된 활성성분인 SD, SE, SG, SI는 일반 염증성질환 예방과 더불어 조골세포/파골세포와 관련된 골다공증 분야에도 적용할 수 있을 뿐만 아니라 이러한 것들을 조합한 복합 염증성질환의 예방 및 치료소재로서의 이용 가능성이 있다는 것을 확인할 수 있었다.



[그림 30] 활성성분이 나타내는 복합염증성질환 관련 메커니즘

제 4 장 연구개발결과의 활용계획

1. 추출물, 정제 대사산물 및 관련 데이터들을 다양한 의약/식품 소재 개발에 지속적으로 활용
2. 대사산물 및 대사경로 활용 기술의 해양관련 분야를 비롯한 생명공학 및 생물공학 전반의 다양한 연구에서의 활용 유도
3. 해조류 유래 유효성분들이 나타내는 구체적인 작용기전의 해석으로 인한 기타 기능성 및 제약 분야로의 응용 유도
4. 현재 대량으로 폐기되거나 그 처분에 많은 자금이 소요되는 해양수산물, 부산물을 활용하여 고가가치의 생체재료를 대량으로 생산, 공급할 수 있는 기술을 개발 가능
5. 연구 결과를 기획보고서로 활용하여 기관고유사업 및 국가연구개발 사업을 추진하기 위한 기본 자료로 활용



제 5 장 참고문헌

1. Nutrition Business Journal 2003 Food Technology USA
2. Nature Reviews Drug Discovery 2006, 5, 549-563
3. Nature Reviews Drug Discovery 2005, 4, 331-345
4. 국내외 천연물의약품 시장동향 2007, (한국보건산업진흥원)
5. Soo-Jin Heo et al., 2014, Chromene suppresses the activation of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. Food Chem. Toxicol. 67, 169-175
6. Ji-Hyeok Lee et al., 2013, Preparative isolation of sargachromanol E from Sargassum siliquastrum by centrifugal partition chromatography and its anti-inflammatory activity. Food Chem. Toxicol. 62, 54-60
7. Weon-Jong Yoon et al., 2013, Sargachromanol G inhibits osteoclastogenesis by suppressing the activation NF- κ B and MAPKs in RANKL-induced RAW 264.7 cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 434, 892-897
8. Jiyi Jang et al., 2012, Photo-oxidative stress by ultraviolet-B radiation and antioxidative defense of eckstolonol in human keratinocytes. Environ. Toxicol. Pharmacol. 34, 926-934
9. Weon-Jong Yoon et al., 2012, Anti-inflammatory effect of sargachromanol G isolated from Sargassum siliquastrum in RAW 264.7 cells, Arch. Pharm. Res. 35, 1421-1430
10. Weon-Jong Yoon et al., 2012, Sargachromanol G regulates the expression of osteoclastogenic factors in human osteoblast-like MG-63 cells. Food Chem. Toxicol. 50, 3273-3279

주 의

1. 이 보고서는 한국해양과학기술원에서 수행한 Lab창의사업의 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 한국해양과학기술원에서 수행한 주요사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.