

해조류의 지방세포 분해 성분(비만  
해소) 분리·정제 산업화 기술 개발

Development and industrialization of  
separation technology of lipolytic  
compounds from seaweed extracts

비만 해소 성분의 분리·정제 및 생화학적 작용 분석  
비만 해소 임상 실험 연구

비만 해소 성분의 피하 지방층 침적 기술 개발  
Separation and purification of lipolytic compounds  
and analysis of biochemical mechanism

Clinical research of lipolysis

Development of skin absorption technique of  
lipolytic compounds

2002. 12.

주관연구기관명 : 경북대학교

협동연구기관명 : 영남대학교

협동연구기관명 : 대구가톨릭대학교

해 양 수 산 부

## 제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “해조류의 지방세포 분해 성분(비만 해소) 분리·정제 산업화 기술 개발” 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2002년 12월 21일

주관 연구 기관명 : 경북대학교

총괄 연구 책임자 : 김 유영

연 구 원 : 김 상기

협동 연구 기관명 : 영남대학교

협동 연구 책임자 : 박 승한

연 구 원 : 조 영주

협동 연구 기관명 : 대구 가톨릭대학교

협동 연구 책임자 : 김 종기

연 구 원 : 윤 연희

## 요 약 문

### I. 제 목

해조류의 지방세포 분해 성분(비만 해소) 분리·정제 산업화  
기술 개발

### II. 연구 개발 목적

- (1). 해조류 비만 해소 성분의 추출, 분리, 정제 기술의 개발.
- (2). 해조류 추출물의 비만 해소 효과와 작용 기작의 확립.
- (3). 국부 처치용 gel type의 비만 해소제 개발 및 산업화.

### III. 연구 개발 내용

- (1). 다양한 해조류와 solvent를 사용하여 추출한 crude extracts와 비만 해소 주효 성분을 사용하여 gel type의 국부 처치용 비만 해소제를 제작한 후 임상 실험을 통한 비만 해소 효과를 입증.
- (2). *In vitro*에서 비만 해소 주효 성분들의 지방 분해 효과 측정과 지방 세포의  $\beta_3$ -adrenergic receptor agonist로서의 유용성의 평가.
- (3). 피부 흡수 증강제를 추가한 해조류 crude extracts와 비만 해소 주효 성분들의 비만 해소 효과를 입증.
- (4). 해조류를 이용한 국부 처치용 비만 해소제의 formulation.

#### IV. 연구 개발 결과

- (1). 다양한 해조류와 solvent를 이용하여 추출한 crude extracts를 gel type화하여 임상 실험 한 결과 미역+다시마를 30% ethanol/sea water를 solvent로 추출한 것이 비만 해소 효과가 가장 좋았는데 비만인을 대상으로 한달 동안 국부 처치 한 결과, 8%의 체지방이 감소하였고 주4회 30분 동안 에어로빅 운동을 병행 시 20%의 체지방이 감소하였다.
- (2). 해조류 추출물에서 분리한 2개의 ethanol soluble 성분과 1개의 water soluble 성분이 지방 분해 효소인 lipase의 활성화에 관계하는  $\beta_3$ -adrenergic receptor의 agonist로서의 activity를 보였다.
- (3). 미역+다시마를 30% ethanol/sea water와 80% ethanol/sea water로 각각 추출한 crude extracts를 혼합한 후, 피부 흡수 증강제인 oleyl alcohol을 추가한 후 gel type화 하여 비만인을 대상으로 일주간 국부 처치 한 결과 30.22%의 체지방이 감소하였다.

#### V. 연구 개발 결과의 활용 계획

- (1). 미역, 다시마의 추출물을 이용한 국부 처치용 비만 해소제 제품의 산업화.
- (2). 알긴산의 저분자량 기술의 확립에 따른 생체 재생용 조직 공학적 활용.

## SUMMARY

### I. Title

Development and industrialization of separation technology of lipolytic compounds from seaweed extracts.

### II. Purpose and significance

- (1). Development of separation technique of lipolytic compounds from seaweed extracts.
- (2). Identification of lipolytic effects and their biochemical mechanism of seaweed extract compounds.
- (3). Development and industrialization of topical treating lipolytic product.

### III. Contents of research

- (1). Clinical test for lipolysis of crude extracts and lipolytic candidate compounds extracted from the various seaweeds using different organic solvents.
- (2). Lipolytic activity test of seaweed extract compounds as a candidate for a  $\beta_3$ -adrenergic receptor agonist.
- (3). Clinical test for lipolysis of crude extracts supplemented with various skin absorption enhancer.

#### IV. Results

- (1). Gel type of crude extracts, extracted from sea tangle and sea mustard using 30% ethanol/sea water solvent, shown significant lipolysis effect. There were body fat reduction about 8% and 21% after 4 week's topical treatment and combination topical treatment with aerobic exercise of obesity adults respectively.
- (2). Two ethanol soluble compounds and one water soluble compound separated from seaweed crude extracts shown lipolytic activity as a  $\beta_3$ -adrenergic receptor agonist.
- (3). Gel type of crude extracts, extracted from sea tangle and sea mustard mixture using 30% ethanol/sea water and 80% ethanol/sea water respectively and supplemented with oleyl alcohol as a skin absorption enhancer, reduced about 30.22% of body fat after one week's topical treatment of obesity adults.

#### V. Utility of research results

- (1). Industrialization of topical treating lipolytic products from seaweed extracts.
- (2). Application of low-molecular alginate in tissue engineering.

## CONTENTS

Chapter 1. Introduction-----	10
Part 1. Necessity of researches-----	10
Part 2. A specific aim-----	13
Chapter 2. Present condition of research development-----	16
Part 1. Present condition of seaweeds research-----	16
Part 2. Present condition of seaweeds manufacturing-----	17
Part 3. Prospect of seaweeds research-----	19
Chapter 3. Experimental designs, procedures and results-----	20
Part 1. Background and rationale-----	20
(1). Lipolysis efficacy of seaweeds-----	20
(2). Bioactivity of seaweeds-----	22
(3). Biochemical mechanisms of obesity-----	23
Part 2. Results and interpretation of data-----	25
(1). Lipolytic efficacy test of crude extracts, extracted from various seaweeds and solvents-----	25
(2). Clinical lipolytic efficacy test of crude extracts, extracted from sea mustard and sea tangle using 30% ethanol/sea water solvent-----	30
(3). Clinical lipolytic efficacy test of topical treatment and combination topical treatment with exercise, respectively-----	46

(4). Measurement of skin absorption effects of crude extracts-----	54
(5). Separation and purification of lipolytic candidate compounds from crude extracts and lipolytic efficacy test-----	61
(6). Clinical lipolytic efficacy test of lipolytic candidate compounds-----	76
(7). Clinical test of lipolysis using crude extracts and lipolytic candidate compounds supplemented with various skin absorption enhancer-----	81
(8). Conclusion-----	91
 Chapter 4. Degrees of achievement and contribution of purpose-----	 93
 Chapter 5. Plan of commercial application of research results-----	 95
 Chapter 6. Technical information of foreign country-----	 96
 Chapter 7. References-----	 97

## 목 차

제 1 장. 연구 개발 과제의 개요-----	10
제 1 절. 연구 개발의 필요성-----	10
제 2 절. 연구 개발의 목적-----	13
제 2 장. 국내·외 기술개발 현황-----	16
제 1 절. 국내·외 해조류 연구 현황-----	16
제 2 절. 해조류 가공 산업 현황-----	17
제 3 절. 해조류 연구의 전망-----	19
제 3 장. 연구 수행 내용 및 결과-----	20
제 1 절. 이론적 배경-----	20
1. 해조류 추출물의 비만 해소 효과-----	20
2. 해조류 추출 성분의 생리 활성 효과-----	22
3. 비만과 비만 해소의 생화학적 기작-----	23
제 2 절. 연구 내용 및 결과-----	25
1. 다양한 해조류와 solvent를 이용하여 추출한 해조류 crude extracts의 비만 해소 효과 유효성 판정-----	25
2. 30% ethanol/sea water crude extracts의 비만 해소 효과의 임상 효능 분석-----	30
3. 국부 처치 및 운동 병행 시 비만 해소 효과의 임상 효능 분석-----	46
4. 비만 해소 crude extracts의 피부 흡수 효과 측정-----	54
5. 해조류 crude extracts로부터 비만 해소 유효 성분의 분리·정제 및 비만 해소 효과 유효성 판정-----	61
6. 비만 해소 유효 성분에 따른 비만 해소 임상 실험-----	76

7. 다양한 피부 흡수 증강제를 추가한 해조류 crude extracts의 비만 해소 효과 판정-----	81
8. 결론-----	91
제 4 장. 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도-----	93
제 5 장. 연구 개발 결과의 활용 계획-----	95
제 6 장. 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보-----	96
제 7 장. 참고문헌-----	97

## 제 1 장. 연구 개발 과제의 개요

### 제 1 절. 연구 개발의 필요성

비만이란 피하지방을 비롯한 체내 지방 저장량이 비정상적으로 많아진 상태를 뜻한다. 지방량이 본래의 역할 수행에 필요한 양 이상으로 지나치게 많게 되면 여러 가지 건강상의 장해를 일으키게 된다. 신장과 체중을 기준으로 판단하는 과체중(over weight)은 비만 상태를 간접적으로 나타내지만 그것만으로 정확하게 비만 여부를 판단할 수 없다. 웨이트 트레이닝으로 근육이 발달된 사람의 경우에는 신장에 비해 상대적으로 체중이 무거운 과체중의 경향을 보이지만 이것은 동일한 양의 지방 무게에 비해 근육조직을 포함하는 체지방의 무게가 더욱 무겁기 때문이다. 따라서 단순히 상대적인 체중만으로는 비만이라고 판단할 수 없고, 보다 정확한 비만 여부는 체지방율을 기준으로 판정한다.<sup>1</sup> 대체로 체지방율이 남자의 경우 20% 이상, 여자는 30% 이상일 때 비만으로 판정한다. 이 기준치는 활동적인 성인 남녀의 표준 체지방율인 각각 15%와 25%에 5%를 더하여 설정된 것이다.

비만의 증가 추세는 국내·외적으로 확산되고 있으며 그 대상자도 아동기에서 소년기, 청년기, 장년기에 이르기까지 전 연령층에서 나타나고 있다. 이러한 비만은 사회구조의 변화에 따른 문화의 소산으로서 생활 수단의 자동화로 인한 신체 활동의 감소, 식생활의 개선, 그리고 생활 환경의 변화 등에 기인된다. 현재 비만 인구는 전세계적으로 3억 명을 넘어섰고, 국가나 연령 대의 구분 없

이 확산되는 추세로 세계 보건 기구(WHO)에 따르면 지난 7년 사이 전세계 비만 인구의 증가는 50%의 가파른 상승세를 보이고 있다. 우리 나라의 경우 최근에 비만 인구가 증가하여 과체중 인구는 약 11-12%에 이르고 있고, 특히 소아 비만이 급격하게 증가하여 14%에 이른다는 보고도 있다. 미국에서 전국적으로 성인 20-74세 연령층을 대상으로 한 조사에서 1988년-1991년 사이에 이들 중 1/3이 과체중으로 나타났다고 한다. 특히 18-29세의 성인에게 비만이 빠르게 확산되고 있으며 어린이의 과체중과 비만이 25%에 이를 정도로 심각하다. 미국 남성의 22%, 여성의 37%가 체중 감량을 하고 있는 것으로 알려져 있으며 연간 350억 달러의 천문학적인 돈을 소비하고 있다.

이처럼 비만 인구가 급증하면서 비만은 이제 전세계적인 전염병이자, 인류의 미래 건강을 위해 반드시 극복해야 할 질병이라는 공감대가 형성되고 있다. 비만은 그 자체가 질병이라고 할 수는 없지만, 각종 질병의 주된 원인으로 비만과 밀접한 관련을 갖고 있는 질병의 범위는 매우 광범위하다. 비만과 가장 관련을 있는 질환으로는 고혈압, 동맥경화증, 뇌혈관 질환, 고지혈증, 허혈성 심장 질환, 저산소증, 폐동맥 고혈압, 관절염, 지방간, 임신중독증, 당뇨병, 피로, 습참 등이 있으며 비만에 의해 그 위험에 더욱 쉽게 노출된다. 인체 내 지방조직의 증가는 지방조직까지의 혈류 공급을 위한 심장 운동의 부담을 초래하고, 그 결과 혈압이 상승하는 원인이 된다. 또한 지방 조직의 증가는 체내 인슐린 수요량을 증가시켜 인슐린을 생산하는 췌장에 더 큰 부담을 주게 되며, 결국 장기적으로는 췌장의 인슐린 생성 및 분비 기능을 저하시키는 원인이 된다. 비만으로 인한 고혈압과 당뇨병의 경우, 체중을 줄임으로써 효과적

으로 혈압을 감소시키고 혈당을 조절할 수 있다. 이 외에도 관절염, 통풍, 호흡 기능장애, 불임, 여자의 경우 월경불순과 그밖에 장암이나 유방암과 같은 암 발생 빈도도 매우 높다고 보고되고 있다. 그러므로 비만은 인간의 생명을 단축시키는 중요한 원인 요소이다.

각종 공해와 인공 화합물의 부작용에 시달리는 현대인들은 화학적, 인공적인 것보다 자연에서 추출된 대체 식품, 의약품 등을 선호하고 있지만 이들은 대부분 과학적인 자료나 검정 없이 유통되고 있다. 한가지 음식만 먹는 단품 다이어트(달걀, 분유, 사과 등), 차요법(녹차, 오미자차, 쑥차, 울무차, 방기차, 옥수수차), 가만히 누워만 있어도 뱃살을 빼 준다는 토닝 시스템, 바르는 제품(뽕장, 죽염 등), 이노제 등이 유통되지만 대부분 허위 광고된 것이 많으며 효능도 별로 없는 것으로 드러나고 있다. 보건 복지부와 의료계에 따르면 현재 국내 이노제 시장은 백억원 규모로 35개사 46개 품목이 나와 있는데 60% 이상의 비만자들이 다이어트 약으로 오·남용하고 있는 것이 오늘의 실정이라고 한다. 전문의들이 밝힌 이노제의 장기 복용 시 부작용은 빈혈 등의 혈액 장애, 전해질 이상, 혈중 요소 및 질소치의 상승, 발진, 설사 및 변비, 구역, 구토, 시력 장애 등이다. 특히 보조 식품의 형태로 생산 유통되는 비만 해소용 방법이나 식품 등은 편리함 때문에 일반 사람들이 가장 선호하는 방법이지만 과학적인 성분 분석과 작용 기작의 규명 없이 불확실한 임상적 효능만을 강조하는 경우가 대부분이다.

이러한 방법들의 경우 일상적인 생활 방식의 억제라든지 생리적인 욕구에 대한 방해로 전제로 하기 때문에 지속적이고 안전한 효과를 기대하기 어려우므로 체외에서 부분적 처치를 하였을 때 원

하는 부위에서 비만을 해소시키는 제품이나 경구용이라도 사용상 생리적 억제가 필요 없는 안전한 기능성 제품의 개발이 필요한 실정이다.

## 제 2 절. 연구 개발의 목적

현대 성인의 경우 비만을 치료함으로써 미적인 아름다움이 더해진다는 인식이 넓어져 신체의 부분적인 비만을 해소하려는 미용적인 욕구가 대단히 크다. 대표적으로 복부와 허벅지의 비만 해소가 주목표 중의 하나이다. 비만 해소 방법으로는 체내 지방 대사 조절법, 신경계 조절법, 식이요법, 운동, 외과적 수술 등이 시술되고 있지만 경구 투여 방식의 경우 지방 분해에 대한 정확한 조절 기능 보다는 호르몬의 조절을 통한 식욕 억제, 지방 흡수 방해 등 복용의 부작용이 있고, 또한 성형 외과적인 국부 지방 제거는 그후의 미용적인 불만 문제 등이 내재해 있어 부분적으로 지방을 해소하려는 현대인의 요구에 잘 부합하지 못하여 별다른 성과를 거두지 못하고 있다. 지금까지 가장 권장되는 방법이 운동요법이다. 적합한 운동에 관한 전문가의 처방에 따라 지속적인 노력을 필요로 하므로 단기적인 효과보다는 장기적인 지속력을 필요로 한다. 그러나 상용되는 운동 기구가 정확한 임상적 효능의 분석 없이 통용되고 있으며, 운동 처방이 제대로 되지 않아 효과가 의문시되고 있다.

지방조직이 과도하게 형성되면 대개 cellulite라는 것이 조직의 함몰과 같은 형태로 존재하기 때문에 특히 여성의 경우 복부나 둔부에 미용상 문제점을 유발하게 되어 cellulite 치료에 성형 외과적인 관심이 큰 실정이다. 그러나 cellulite는 식이요법을 통해

단순히 체중을 줄인다고 없어지는 것이 아니기 때문에 더욱 더 국부적 처치(topical treatment)가 필요하다. Cellulite가 형성되는 부위에는 혈류가 감소되기 때문에 지방이 쉽게 형성되면서 외형상 보기 흉한 상태를 나타내어 이들의 제거가 관건이다.

현재 해조류를 이용한 건강 보조 식품은 많지만 정확한 성분 분석이나 각각의 효능에 관한 의과학적 분석 없이 복용하는 방법이 대부분이며 궁극적으로 구성 성분이 분해되지 않고 체내에서 어떤 기능을 어떻게 하는지에 대한 정확한 의학적 자료가 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 비만 해소와 생리 활성화에 결정적 역할을 하는 지방 분해 및 호르몬의 신진대사를 이해하고 해조류 추출물을 국부적으로 처치했을 때 각 성분이 대사에 미치는 생화학적, 생리적 기작을 규명함으로써 이들 성분을 원료로 한 새로운 고기능성 지방 해소 제품을 개발하여 엄청난 수요 시장을 형성할 수 있다.<sup>2</sup>

미역, 다시마 등의 해조류는 비만 해소에 효과가 있다고 알려져 있고 경구 투여용 제품이 시중에 선을 보이고 있으나 구체적으로 어떠한 성분이 어떤 mechanism에 의해 비만을 해소하는지는 잘 알려지지 않은 상태이다. 예를 들어 해조류의 주효 성분인 알긴산의 경우 위나 장에서 흡수가 되지 않기 때문에 지방 대사에 영향을 미치려면 피부 흡수나 다른 방법으로 직접 지방조직에 투여가 되어야 한다. 따라서 해조류에 포함된 다양한 주효 성분들이 국부적인 처치로 효과적인 흡수가 되어 어떤 기작에 따라 국부적 비만 해소 작용을 할 수 있는지를 밝히면 강력하고도 안전한 국부 처치용 비만 치료제를 만들 수 있다. 이들 비만 해소 성분을 추출하여 기능성 화장품 화하여 비만 부위에 국부 처치하면 피부를 통하여 직접 흡수하여 지방 분해를 촉진시킬 것으로 생각된다. “해조류의 지방

세포 분해 성분 분리·정제 산업화 기술개발”의 궁극적 연구 목표는 심각하게 사회 문제화되고 있는 비만을 해조류를 이용해서 해소시켜 국민 건강 증진을 이루고, 한일 어업 협정 등으로 줄어드는 수산물 식량 자원의 안정적 공급 기반을 위한 소비층과 어민 소득 증대를 모색하고자 하는데 있다. 이러한 궁극적 목표를 달성하기 위하여 1) 해조류로부터 여러 가지 solvent를 사용해서 crude extracts를 제작하여 비만 부위의 피부 표면에 국부 처치 한 후 임상 실험과 피부 흡수 효과 실험을 통하여 가장 효능이 있는 crude extracts를 선정하고, 2) 선정된 crude extracts에 대한 비만 해소 유효 성분을 분리·정제를 하고 물리·화학적 성질을 밝히고, 3) 정제된 비만 해소 주효성분의 생리 생화학적 작용 기작을 이해하기 위해, 배양된 지방세포와 동물실험에서 주효성분을 투여했을 때  $\beta$ -adrenergic receptor agonist 작용, 지방 분해, 지방 대사 조절 호르몬 등의 작용을 분석하여 최종적으로 비만 해소에 관계하는 성분과 기작을 결정하며, 4) 마지막으로 비만 해소 성분의 피부 흡수 효과를 극대화시키기 위해 피부 흡수 증강제를 추가시킨 가장 효능이 있는 crude extracts와 비만 해소 주효 성분을 포함하는 비만 해소용 국부 처치 시제품을 제작, 임상 실험을 통하여 효과를 검증하고 경제적으로 대량 생산할 수 있는 분리, 추출 방법을 확립하여 고부가가치의 상품을 개발하고자 한다.

## 제 2 장. 국내·외 기술개발 현황

### 제 1 절. 국내·외 해조류 연구 현황

#### 1. 국내의 연구 현황

국내에서 해조류 추출물의 생리 활성에 관한 연구 및 개발은 주로 항균 성분을 검색, 분리하는 것과 알긴산의 생리 활성에 관한 연구였다. 항암성이 있다고 알려진 미역 및 다시마로부터의 fucoidan 당의 추출 및 정제는 식품 개발원에서 수행되었고 항균 성분의 검색은 아직 초보 단계로 효과만 검색하고 추출물로부터 구체적 활성 물질의 분리 및 특성 규명은 되지 않고 있다. 그밖에 당질 대사에 관한 효과도 석사 학위 논문의 수준에 머물러 날로 식품, 향장산업 및 의약학 분야로 이용 범위가 급증하는 해조류의 기능성 물질에 대한 체계적 연구가 지속되지 않아 산업화에 필요한 기반 기술이 확립되지 못한 실정이다. 따라서 해조류 추출물의 구체적 임상 효능 분석과 생화학적 작용 기작을 밝히면서 활성 성분을 분리·정제하는 기술에 대한 연구가 시급히 필요하다.

#### 2. 국외의 연구 현황

지금까지는 주로 알긴산의 용도 개발에 주력해 왔는데 새로운 신물질을 검색·추출하려는 연구가 많이 진행되어 가시적 결과가 있으나 비만 해소에 관해서는 효능만 발표되고 구체적 작용 물질에 관한 연구는 없는 실정이다. 해조류 추출물을 이용한 body slimming 제품은 프랑스의 TECHNATURE사를 비롯하여 몇 개의 회사가 시장에 진출해 있다. 그러나 이런 제품들의 임상적 효능과 생화학적 기작

에 관한 연구는 극히 초보 수준이라 활성 물질이 구체적으로 파악이 되지 않고 crude extracts 형태로 제품만 나오고 있다. 알긴산을 경구용으로 쥐에게 실험한 연구에서는 체중이 감소되었다는 보고가 있으나 지방 대사에 미치는 영향에 관한 연구는 없는 실정이다.

## 제 2 절. 해조류 가공 산업 현황

해조류의 가공 및 이용 면에서, 1993년의 경우 전체 해조류 생산량의 15.9%만이 가공되어 이용되고 있으며, 그 나머지는 원래 상태로 이용되고 있다. 알긴산의 단일 세계시 장만도 4년 전에 5억 5천만불에 이르며, 현재 세계 시장에서의 해조류의 이용 범위는 화장품, 자연 식품, 기능성 건강 식품, 생명 공학, 의약학산업, 섬유 산업 등으로 매우 다양하다. 최근에는 해조류에서 기능성 및 생리 활성 성분을 선택적으로 추출하여 새로운 이용 분야를 창출하고 있다. 따라서 해조류에서 비만 해소 성분의 추출과 기능성 제품의 개발은 해조류 가공 산업의 새로운 장르를 열고 거대한 건강 산업의 시장에 부응하는 적합한 개발 품목이다. 현재 개발되고 있는 대표적인 이용 분야는 다음과 같다.

- Cosmetics: 해조류에 포함된 다양한 성분이 피부 영양에 적합하므로 revitalizing agent로서, collagen-like 성분의 피부 탄력성 유지에 이용하거나, alginate를 lipstick에 이용함으로써 화학적인 화장품의 대체 상품으로 급성장하고 있다. 이 분야에서 프랑스는 선두 주자로서 브류타뉴 지방에 대대적인 해조류 가공 화장품 제조 연구소 및 산업체가 있다. Alginate를 이용한 hair regeneration

제품도 개발 중에 있다.

- Food derivatives: 오랫동안 해조류에 포함된 다당류는 식품 가공에 필수적으로 사용되어 왔으며, 주로 agar, alginate, carageenan 등이다. Agar는 홍조류로부터 추출하는 것으로 gelatin의 대용물로서 이용되고, alginates는 식품의 고형 안정화에 사용되어 ice cream, 과자류에 사용되며 carageenan도 ice cream, chocolate, salad, jelly, jam 등에 이용된다.

- Health benefits: 특히 해조류는 trace mineral을 많이 포함하고 있고, 특정한 기능성 다당류가 많이 포함되어 있으며 대표적인 개발 분야는 다음과 같다.

- Removal of metals: Alginate 등의 다당류가 중금속을 흡수하여 체외로 배출시킨다.
- Antitumor and immune potential: Fucoidan과 같은 다당류나, 최근에 Oregon State University에서 발견한 curacin A는 탁월한 항암 효과를 가지고 있어 개발이 진행 중이다.
- Encapsulation: Alginates의 비독성과 소화되지 않는 성질을 이용하여 insulin을 비롯한 약물의 capsule로 사용하여 시간에 따라 서서히 배출시키는 기능성 제품이 개발되고 있다.
- Wound dressing: Alginate를 이용한 상처 소독용 제품은 이미 미국 시장에 판매되고 있는 선풍적인 상품이다.

### 제 3 절. 해조류 연구의 전망

해조류 추출물을 body slimming에 이용하고는 있지만 특별히 지방 분해 및 비만 해소 성분을 분리, 정제하여 제품화한 것은 없는 실정이다. 비만 해소를 위하여 복용하지 않고 원하는 부위의 지방을 선택적으로 부작용 없이 국부적 처치로 제거하는 미용적 요구가 증가한다. 따라서 해조류 추출물의 생리 활성 물질에 대한 분리, 정제가 산업화의 관건이면서 이에 대한 연구가 증진됨으로써 효과면과 안전성에서 확실한 제품의 개발이 기대된다. 따라서 국외로부터의 기술 도입 필요성의 근거는 없고, 오히려 국내에서 먼저 개발하여 기술을 보유함으로써 수출의 대상이 될 수 있다.

## 제 3 장. 연구 수행 내용 및 결과

### 제 1 절. 이론적 배경

#### 1. 해조류 추출물의 비만 해소 효과

미역이나 다시마 등의 해조류에는 비만 해소에 관련된다고 보고<sup>3</sup>되어 있는 알긴산, 타우린(taurine), 요오드(iodine) 등이 함유되어 있다. 알긴산은 경구 투여 시 위와 장에서 흡수되지 않고 지방과 결합하여 체외로 배출되어 체지방을 감소시키는 것으로 알려져 있다.<sup>4</sup> 즉, 알긴산의 gel matrix에 지방산이 결합되는 것으로 설명되고 있다. 비만인을 대상으로 알긴산을 투약<sup>5</sup>하거나 쥐에게 알긴산을 첨가한 사료를 먹인 실험에서는<sup>6,7</sup> 알긴산을 투여한 실험군에서 확실한 체중 감소가 있었으며, 체중 감소 효과는 알긴산의 첨가량에 따라 현저한 변화를 나타내었다.

타우린은 해조류에 많이 포함되어 있는 생리 활성 물질로서 동맥경화, 뇌졸중, 고혈압, 심부전증의 예방 및 치료, 알코올 해독 작용, 면역 작용의 활성화, 세포 내 해독 및 독성 물질 제거 등에 효과가 있음이 보고되고 있다. 타우린은 포유류의 거의 모든 조직에 함유되어 있으며 특히, 심장, 뇌, 골격근, 생식기에 고농도로 존재하는 것으로 보아 생체의 생리적 기능 유지에 중요한 역할을 하고 있음을 시사하고 있다. 특히 타우린은 지방조직의 지방 대사 촉진 작용이 있는 것으로 알려져 있다. 동경학예대학교 Watanabe 교수 팀은 건강한 성인에게 일정량의 타우린을 투여하고 운동을 시킨 결과 혈중 지방산(free fatty acid)이 통제 집단에 비해 유의성 있게 증가되었으며, 혈당 농도가 일정하게 유지됨을 알 수 있었는

데, 이는 운동 시 타우린의 섭취가 에너지원의 공급 과정에서 당의 대사보다는 지방 대사를 촉진시킴으로 혈중 지방산의 증가를 유도하는 것으로 보고하였다. Obinata 교수 팀이 비만인 어린이들에게 타우린을 투여한 결과 지방간(fatty liver)이 유의성 있게 감소됨을 알 수 있었다.<sup>8</sup> 언급한 바와 같이 타우린은 치료제뿐만 아니라 심지어 건강 음료수로도 활용되고 있으나 명확한 효과나 기작에 대해서는 아직도 의문점으로 남아 있으며 현재 많은 학자들에 의해 연구되고 있다.

음식물과 더불어 섭취된 요오드는 iodide로 전환되어 소화관을 통해 흡수되어 갑상선 세포에 저장된 후 갑상선 호르몬의 합성에 이용된다. 혈장 내에 갑상선 호르몬 증가는 대사 과정의 항진, 성장 촉진,  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase의 activity를 증가시켜 세포막으로의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ 의 이동을 촉진시킬 뿐만 아니라 지방세포로부터 지방을 이동시켜 혈장의 지방산을 증가시킨다. 또한 cholesterol, phospholipid, triglyceride의 감소를 가져오고 간에 쌓인 지방의 축적을 경감시킨다.<sup>9,10,11,12</sup> 생체가 항상성을 유지하기 위해서는 물과 전해질의 균형이 중요하며 이는 세포막에 존재하는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  channel,  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase의 활성, 그리고 aldosterone, ADH에 의해 조절되고 있다. 비만은 이러한 조절 불균형에 의해 야기된다. 비만인 여성과 어린이를 대상으로 Isotope dilution method에 의한 연구 결과, TBW(total body water), ECW(extracellular water), ICW(intracellular water),  $\text{Na}_e$ (exchangeable sodium), TBK(total body potassium)의 함량이 모두 정상인에 비해 20-25%가 증가되었으며 ECW/ICW,  $\text{Na}_e$ /TBK의 비율도 높음이 보고되었다.<sup>13,14,15</sup> 또한 해조류에는 다량의  $\text{K}^+$ 를 함유되어 있다. 따라서 이들 해조류 추출물을

피부에 침투시켰을 때 물과 전해질의 균형을 유지하기 위해서 과잉 존재하는 물은 체외로 배출될 수 있을 것이다.<sup>16,17,18,19</sup>

몇 가지 해조류 성분이 비만 해소에 직·간접적인 관련이 있는 것으로 알려져 있으나 지방조직의 분해에 관한 연구는 전무한 실정이며, 더구나 phenol 화합물, sterol, prostaglandin류 등의 매우 다양한 해조류 성분에 대한 지방 대사 관련 연구는 없는 상황이다.

## 2. 해조류 추출 성분의 생리 활성 효과

우리 나라 근해에서는 400여종의 해조류가 자생하고, 그 중에서 식용으로 활용될 수 있는 것이 50여종이나 되며 그 가운데서도 대표적인 것이 미역, 다시마 등이다. 해조류는 특유의 풍미와 식감으로 전통적인 기호 식품으로 이용되고 있으며, 식품 학적인 측면에서도 미네랄 중  $Fe^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $K^+$  및 요오드 등이 다량으로 함유되어 있고 비타민, 식이 섬유, 알긴산 및 후코이단 등이 풍부하여, 정장 작용, 중금속 배출 효과, 비만 억제 효과, 항혈액 응고 작용 등이 기대되는 기능성 건강 식품으로 그 가치가 매우 크며, 현대인의 식생활 패턴에 적합한 식품이라 할 수 있다. 대표적인 해조류인 미역과 다시마는 의학뿐만 아니라 여러 산업에서도 응용될 수 있는 연구가 활발히 진행되고 있다. 미역은 찬거리로 그리고 출산을 앞둔 가정에 산후 조리 식품으로 미리 마련해 두는 등 널리 식용으로 사용되어 왔다. 미역국이 산모에게 좋은 점은 첫째, 산모는 변비가 생기기 쉬운데, 미역에는 점성 다당류가 많아 장을 통과하면서 장벽을 자극하여 장의 운동을 활발하게 하여 배변을 용이하게 해준다는 것이다. 둘째로, 미역에는 산모에게 필수적인 무기질과 양질의 단백질이 많아 영양 섭취에 크게 도움이 되며, 셋째로 젓을 많이

분비 할 수 있도록 수분 단백질을 충분히 공급해 준다는 것이다.

또한 수산 식품을 많이 섭취하면 건강·장수에 매우 효과적인 것으로 알려져 있다.<sup>20</sup> 수산 식품은 알칼리성 식품인데 비해 육류나 동물성 지방 등은 칼로리가 높으며, 체내의 분해 과정 중에 인산, 황산, 질산, 요산 등을 생성하므로 체액을 산성화시키고 이러한 산성화가 계속되면 여러 가지 장애가 나타나 성인병이 가속화되어 노화를 촉진하고, 결국은 수명이 단축 될 수밖에 없다는 것이다.

### 3. 비만과 비만 해소의 생화학적 기작

Leptin은 뇌신경계를 통하여 국부 지방조직의 leptin 농도에 반응하여 생체 내에서 음식물 섭취를 감소시키거나 당과 지방 대사를 조절하는 중심적인 역할을 한다. 체지방의 감소 상태는 leptin level의 감소를 유발하고 음식 섭취가 에너지 소비보다 많은 positive energy balance 상태가 되어 지방의 축적이 생긴다. 반대로 체지방이 증가하면 leptin의 증가를 가져오고 negative energy balance 상태를 야기하여 지방산의 산화가 증가되어 체지방의 감소를 유도하게 된다. 따라서 leptin 생성에 문제점이 생기거나, leptin 생성 지방조직에서 leptin에 반응하는 sensitivity가 떨어지면 비만의 상태로 발전된다. 또한 수분의 체내 불균형도 비만의 상태로 발전할 수 있다. 그러나 뇌신경계에 주입한 leptin이 어떤 경로로 지방을 분해하여 체지방 감소를 유발하는지에 대한 기작은 아직 밝혀지지 않고 있으며, 또한 중추신경계가 leptin에 반응하여 지방 및 당대사를 조절하는 기작 또한 아직 밝혀지지 않았다.<sup>21</sup>

지방조직의 분해는 hormone-sensitive lipase(HSL)에 의해 triglyceride를 유리 지방산과 glycerol로 가수분해하는 것으로 호

르몬과 대뇌신경 조절에 지배를 받는다.<sup>22</sup> Catecholamine, glucagon, ACTH, TSH는 지방 분해를 촉진하고, insulin은 유일하게 지방 분해를 억제하는 작용을 한다.

지방조직 분해를 조절하는 분자적 기작은 세 단계로 나누어 볼 수 있다. 첫 번째, 지방조직 분해의 primary regulator인 catecholamine이 지방 세포막에 존재하는  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ -adrenergic receptor와 결합하는 단계이다.  $\alpha_2$ -receptor는  $G_i$ -protein과 반응하여 cyclic AMP의 형성과 지방 분해를 억제하며, 반면에  $\beta$  receptor들은  $G_s$ -protein과 반응하여 cyclic AMP의 형성과 지방 분해를 촉진시키는데 특히,  $\beta_3$ -adrenergic receptor와 catecholamine이 결합하여 지방 분해가 크게 촉진됨이 알려져 있다.<sup>23</sup> 따라서  $\beta_3$ -adrenergic receptor의 agonist로 작용하는 분자는 anti-obesity drug으로 간주되어 왔다.<sup>24,25</sup> 두 번째 단계에서는 protein kinase A를 활성화시키는 cyclic AMP의 regulation이며, 세 번째 단계는 hormone-sensitive lipase의 가역적 인산화에 의한 조절이다. 따라서 근본적으로 해조류 추출물에서 지방 대사에 관계하는 성분을 위의 세 단계에서 찾는 것이 관건이며 지금까지 알려진 몇 가지 가능성 있는 물질의 작용을 이런 관점에서 조사를 해야 한다.

미용적인 측면에서 보면 국부적으로 지방을 해소하거나 제거해야 할 필요가 있다. 가령 여성의 허벅지 지방은 estrogen에 의해 유도된  $\alpha_2$ -adrenergic receptor의 활성 증가 때문에 유동성 지방이 되기가 매우 어렵다. 많은 여성들이 성형 외과적인 수술 없이 국부적 지방 해소에 굉장히 많은 관심을 보이고 있다. 따라서 피부에 직접 바르는 국부적 처치에 의해 지방을 해소시킬 수 있다면 기능

성 화장품으로서의 엄청난 수요 시장을 형성할 수 있다.<sup>2</sup>

## 제 2 절. 연구 내용 및 결과

### 1. 다양한 해조류와 solvent를 이용하여 추출한 해조류 crude extracts의 비만 해소 효과 유효성 판정

#### (1). 연구 방법

##### (가). 임상 실험용 sample 대량 생산 제작

해조류 crude extracts를 이용하여 경구 투여 시 비만 해소 효과가 있다는 보고는 부분적으로 연구되어 있으나 비만 부위의 피부 표면에 국부 처치했을 때 비만 해소 효과가 있다는 보고는 없다. 해조류의 비만 해소 성분의 분리, 정제 연구에 앞서 해조류 추출물을 국부 처치 시 과연 비만 해소 효과가 있는지를 알기 위해서는 적절한 해조류의 선택, 추출 조건의 결정과 임상 실험이 우선적으로 선행되어야 했다. Crude extracts sample 제작용 해조류는 비교적 다량으로 쉽게 구입할 수 있는 미역, 다시마, 갈래곰보, 툇을 선택하였고 부산시 기장에 위치한 C기업으로부터 동결 건조하여 분쇄한 미세 분말 가루를 각각 구입하였다. 비만 해소 효과가 가장 좋은 해조류 및 추출 조건을 선택하기 위해서, 각각의 해조류 종류에 따른 crude extracts는 30% ethanol/sea water로 추출하였고 solvent에 따른 crude extracts는 미역+다시마를 사용하여 30% methanol/sea water, propylene glycol/sea water, glycerine/sea water를 각각 solvent로 사용하여 대량 추출하여 gel type화하였으며 그 방법을 요약하면 다음과 같다.

- ①. 일정량의 미역, 다시마, 갈래곰보, 툇을 각각 30%

ethanol/sea water, methanol/sea water, propylene glycol/sea water, glycerine/sea water의 solvent에 넣어 실험실에서 고안한 추출기를 사용하여 40℃에서 5시간 동안 stirring하여 crude extracts를 추출.

- ②. crude extracts를 착즙기와 200 mesh filter를 사용하여 filtration.
- ③. crude extracts 1kg 당 각각 3g의 undecide와 phenol ethanol로 방부 처리.
- ④. 0.6% 구아검을 추가시켜 55℃에서 1시간 동안 stirring 한 후 향을 추가시켜 crude extracts sample을 제작.

#### (나). 임상 실험

앞으로 시행되는 비만 해소 효과가 있는 특정한 해조류와 추출을 위한 solvent 선택을 위한 예비 단계의 실험으로서 소수의 비만인을 대상으로 각각의 gel type화한 crude extracts sample을 비만 부위에 국부 처치 전, 처치 1주 후의 신체 구성 성분의 변화를 측정하고 분석하였다.

#### (2). 연구 결과

##### (가). 해조류 종류에 따른 gel type crude extracts의 비만 해소 효과 측정

<표 1>은 해조류의 종류에 따라 다양한 30% solvent/sea water를 이용하여 추출한 gel type의 crude extracts를 국부 처치 전, 처치 1주 후 체지방율의 변화를 나타내었다. 모든 그룹에서 통계적인 유의성은 없었으나 미역, 다시마를 사용한 sample에서 체지방율이 감소하는 경향을 보였고 갈래곰보, 툫에서는 차이가 없었다.

<표 1> 다양한 해조류를 다양한 30% solvent/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 체지방율의 변화

평균±표준 오차

SW : sea water

Solvent 종류	미역		다시마		갈래곰보		뽕	
	처치 전 (%)	처치 후 (%)	처치 전 (%)	처치 후 (%)	처치 전 (%)	처치 후 (%)	처치 전 (%)	처치 후 (%)
30% Propylene glycol/SW	21.2 ±4.21	21.4 ±5.41	17.3 ±3.75	17.0 ±3.21	23.1 ±5.47	24.3 ±4.75	21.2 ±3.75	21.2 ±2.98
30% Glycerine /SW	21.4 ±3.42	19.4 ±5.01	16.3 ±3.40	15.0 ±4.01	17.1 ±3.74	17.3 ±4.71	16.1 ±4.21	17.1 ±3.75
30% Ethanol /SW	17.6 ±2.28	16.0 ±2.54	19.3 ±4.40	18.2 ±3.74	17.1 ±4.75	17.2 ±4.01	15.4 ±3.40	15.2 ±3.21
30% Methanol /SW	24.1 ±3.27	25.0 ±4.01	18.1 ±3.21	18.3 ±3.01	21.1 ±4.21	20.1 ±4.11	18.4 ±3.21	18.2 ±3.87

(나). 다양한 solvent로 추출한 미역+다시마 crude extracts의  
비만 해소 효과 측정

<표 2>는 다양한 30% solvent로 추출한 미역+다시마 crude extracts를 사용했을 때 신체 구성 성분의 변화를 나타내었다. 4종의 sample을 예비 실험 한 결과, 미역+다시마를 30% ethanol/sea water를 solvent로 하여 제작된 crude extracts sample을 1주 처리 후 통계적으로 유의성 있는 체중과 체지방율의 감소가 있으므로 이 경우가 비만 해소에 가장 우수한 것으로 판정되었다.

<표 2> 미역+다시마를 다양한 30% solvent/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 신체 구성 성분의 변화

Solvent 종류	측정 항목	처치 전	처치 후
30% Propylene glycol/SW	체중(Kg)	82.50±7.53	83.03±7.82
	체지방율(%)	40.00±5.56	43.23±5.53
	체수분량(L)	34.26±3.13	43.43±3.36
	제지방량(Kg)	46.83±4.30	47.00±4.57
30% Glycerine/SW	체중(Kg)	70.20±5.47	70.23±6.09
	체지방율(%)	37.63±2.28	36.70±3.13
	체수분량(L)	31.83±1.59	32.46±1.30
	제지방량(Kg)	43.50±2.17	43.33±1.79
30% Ethanol/SW	체중(Kg)	64.26±4.38	62.83±4.02*
	체지방율(%)	36.06±2.01	35.73±1.59*
	체수분량(L)	28.40±2.77	27.93±2.37
	제지방량(Kg)	41.13±3.92	40.46±3.44
30% Methanol /SW	체중(Kg)	69.36±1.45	69.96±1.65
	체지방율(%)	42.13±1.95	43.36±1.28
	체수분량(L)	29.40±0.87	29.00±0.10
	제지방량(Kg)	40.13±1.19	39.63±0.15

평균±표준 오차

\*p<.05

## 2. 30% ethanol/sea water crude extracts의 비만 해소 효과의 임상 효능 분석

다양한 gel type의 해조류 crude extracts를 소수의 비만인을 대상으로 한 예비 임상 실험에서 체지방율을 측정된 결과, 미역과 다시마를 혼합하여 30% ethanol/sea water를 solvent로 하여 제작된 것이 비만 해소 효과가 가장 우수한 것으로 판정됨으로서, 이 sample을 사용하여 다수의 비만인을 대상으로 국부 처치 한 후 신체 구성 성분과 혈액 성분의 변화를 측정, 분석하여 구체적인 비만 해소 효과를 판명하고자 한다.

(가). 국부 처치 시 비만 해소 효과의 임상 효능 분석

### ①. 연구 방법

#### ㉠. 연구 대상

본 연구의 피험자는 대구·경북 지역에 거주하는 신체 결함이 없고 건강한 20-40세 여자 60명을 대상으로 하였고 해조류 crude extracts의 국부 처치는 처치 전, 처치 1주 후 그리고 처치 4주 후로 구분하였으며, 4주 동안 신체 구성 성분과 혈액 성분의 변화를 분석하였다.

#### ㉡. 체격 측정

체격의 측정은 신장과 체중을 측정하였으며, 신장은 Martin 식 생체 계측기를 이용하여 cm 단위로 측정하였고, 체중은 전자 체중계를 이용하여 Kg 단위로 기록하였다.

#### ㉢. 신체 구성 성분 측정

피험자들의 체지방율을 알기 위해 생체 전기 저항법 (bioelectrical impedance: body fat analyzer TBF-105, 일본: Tanita 사)에 의해 분석된 결과를 이용하였다.

㉠. 피지후계(skinfold caliper)에 의한 피하지방 두께 측정  
 피험자들의 신체 부위별 피하지방 두께를 알기 위해 피지후계(동화 과학사 DT-8 Skinfold Caliper)를 이용하여 왼손 엄지와 검지로 피부와 피하지방을 위에서 아래 방향으로 집기 한 다음 손끝에서 1cm 정도 떨어진 부위를 피지후계로 바르게 집어 0.1mm 단위까지 측정하였다. 이 측정을 3회 반복 측정하여 일정한 값이 유지되었을 때를 측정치로 인정하였으며, 측정 부위로는 상완(triceps), 복부(abdomen), 대퇴(thigh)의 세부위를 측정하였다.

-상완(triceps skinfold) : 우측 상완부 후면의 어깨와 팔꿈치의 중간 부위

-복부(abdomen skinfold) : 배꼽의 우측 2cm 부위

-대퇴(thigh skinfold) : 우측 전면의 대퇴와 무릎 관절의 중간 부위

㉡. 혈액 성분 분석

혈액 채취는 1회용 주사기를 사용하여 상완 정맥에서 20cc를 채혈하여 원심 분리시킨 후 혈청과 혈장을 분리하여 분석하였다. 혈액 중 1.5cc는 EDTA로 처리한 후 자동 혈구계산기(ABBOT, Cell-Dyn 1300)로 Hematocrit, WBC, RBC, Hemoglobin, Platelet, MCV, MCH, MCHC를 측정하였다. 혈청과 혈장의 ALP, AST, ALT, BUN, Creatine, Uric acid, GGT, LDH, CHOL, HDL, LDL, TRIG, RISK, TBIL, Leptin, Insulin 등은 대구 소재 D의원, 경북대학교 생화학과, 영남대학교 생리학 실험실에서 분석하였다.

## ②. 연구 결과

신체 건강한 20-40세 사이의 성인 여성 20명을 대상으로 미역, 다시마에서 추출한 해조류 crude extracts를 gel type화 한 sample을 비만 부위에 4주간 국부 처치하여 신체 구성 성분의 변화 및 비만 해소에 어떠한 영향을 주는지에 대한 연구 결과는 <표 3>, <표 4>, <표 5>, <표 6>, <표 7>, <표 8>, <표 9>와 같다.

<표 3> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 신체 구성 성분의 변화

처치	키 (cm)	체중 (Kg)	연령 (yr)	체지방율 (%)	체지방량 (Kg)	Fatness	BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	LBM (cm)	체수 분량 (L)
처치전	160.1 ±7.9	62.9 ±10.9	28.9 ±12.6	31.3 ±5.8	19.7 ±5.3	116.5 ±13.0	24.2 ±2.6	42.8 ±7.8	31.3 ±5.7
처치 1주 후	160.1 ±7.9	63.0 ±11.0	28.9 ±12.6	28.4 ±8.7	18.1 ±7.1	116.2 ±12.3	24.2 ±2.6	44.4 ±7.4	32.5 ±5.4
처치 4주 후	160.1 ±7.9	62.4 ±10.4	28.9 ±12.6	27.2* ±8.1	17.0 ±6.0	115.5 ±12.1	24.1 ±2.6	45.1 ±9.5	32.6 ±6.8

평균±표준 오차 \*p<.05

BMI: body mass index, LBM: lean body mass,

TBW: total body water

<표 3>에서 보는 바와 같이 해조류 crude extracts를 국부 처치 시 피험자들의 체지방율은 처치 전  $31.3 \pm 5.8$ , 1주 후  $28.4 \pm 8.7$ , 4주 후  $27.2 \pm 8.1$ 로 유의하게 감소하였다( $p < .05$ ). 체지방량은 처치 전  $19.7 \pm 5.3$ , 1주 후  $18.1 \pm 7.1$ , 4주 후  $17.0 \pm 6.0$ 으로 유의한 차이는 없었으며, 비만도의 경우도 처치 전  $116.5 \pm 13.0$ , 1주 후  $116.2 \pm 12.3$ ,  $115.5 \pm 12.1$ 로 유의한 차이는 없었다. BMI는 처치 전  $24.2 \pm 2.6$ , 1주 후  $24.2 \pm 2.6$ , 4주 후  $24.1 \pm 2.6$ 으로 나타났고, LBM은 처치 전  $42.8 \pm 7.8$ , 1주 후  $44.4 \pm 7.4$ , 4주 후  $45.1 \pm 9.5$ 로 나타났으며, TBW은 처치 전  $31.3 \pm 5.7$ , 1주 후  $32.5 \pm 5.4$ , 4주 후  $32.6 \pm 6.8$ 로 유의한 차이는 나타나지 않았다.

<표 4> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 피하지방 두께 측정 결과

	처치 전	처치 1주 후	처치 4주 후
측정 부위			
상완(mm)	33.07±8.94	25.69±5.53	26.38±5.11*
복부(mm)	39.51±6.55	28.36±7.90	29.70±4.90*
대퇴(mm)	39.72±6.70	28.39±5.30	31.82±5.97*

평균±표준 오차      \*p<.05

<표 4>에서 보는 바와 같이 해조류의 crude extracts를 국부 처치 하기 전 상완의 피하지방 두께는  $33.07 \pm 8.94$ , 1주 후  $25.69 \pm 5.53$ , 4주 후에는  $26.38 \pm 5.11$ 로서 유의하게 감소하였으며 ( $p < .05$ ), 복부 지방의 경우 처치 전  $39.51 \pm 6.55$ , 1주 후  $28.36 \pm 7.90$ , 4주 후  $29.70 \pm 4.90$ 으로 유의하게 감소하였다( $p < .05$ ). 대퇴의 경우에도 처치 전  $39.72 \pm 6.70$ , 1주 후  $28.39 \pm 5.30$ , 4주 후  $31.82 \pm 5.97$ 로 처치 전보다 4주간의 처치 후 통계적으로 유의한 감소를 보였다.

<표 5> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 혈액 세포의 비교

	처치 전	처치 1주 후	처치 4주 후
<b>혈액 세포</b>			
HCT(%)	42.97±5.09	42.13±5.68	41.40±6.52*
HB(g/dL)	14.24±1.81	13.93±1.91	13.46±2.25*
PLT(k/uL)	243.33±45.68	238.92±42.67	238.17±40.09
MCV(fL)	90.75±4.92	90.92±4.74	89.67±4.87
MCH(pg)	30.08±2.21	30.07±1.90	29.14±1.84
MCHC(g/dL)	33.13±.92	33.04±.71	32.49±.77
RBC(M/uL)	4.73±.42	4.63±.50	4.60±.54
WBC(k/uL)	5.83±1.76	5.61±1.34	5.57±1.49*

평균±표준 오차 \*p<.05

<표 5>에서 보는 바와 같이 혈구 성분에 있어서 국부 처치 전, 1주 후, 4주 후의 PLT, MCV, MCH, MCHC, RBC의 경우는 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. HCT의 경우 국부 처치 전  $42.97 \pm 5.09$ , 1주 후  $42.13 \pm 5.68$ , 4주 후  $41.40 \pm 6.52$ 로서 통계적으로 유의한 차이를 나타냈으며( $p < .05$ ), HB의 경우 국부 처치 전  $14.24 \pm 1.81$ , 1주 후  $13.93 \pm 1.91$ , 4주 후  $13.46 \pm 2.25$ 로서 통계적으로 유의한 차이가 나타났다( $p < .05$ ). 그리고 WBC에 있어서도 국부 처치 전  $5.83 \pm 1.76$ , 1주 후  $5.61 \pm 1.34$ , 4주 후  $5.57 \pm 1.49$ 로서 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다.

<표 6> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 혈청 효소의 비교

혈청 효소	처치 전	처치 1주 후	처치 4주 후
AG	1.29±.14	1.30±.13	1.27±.13
ALP(U/L)	82.83±18.44	80.00±19.37	79.58±19.46
ALT(U/L)	29.17±6.15	38.00±29.43	28.58±5.84
AST(U/L)	21.58±7.61	35.17±60.87	18.58±5.95
BUN(mg/dL)	13.25±2.60	13.75±2.99	13.50±3.45
CHOL(mg/dL)	190.08±26.75	184.67±28.71	193.25±41.20
GGT(U/L)	24.25±7.63	25.83±16.48	23.25±8.47
LDH(U/L)	241.92±39.30	188.83±57.85	173.75±27.25*
URCA(mg/dL)	4.18±0.51	7.83±0.40	8.19±0.49*
CREA(mg/dL)	0.83±0.11	0.78±0.13	0.82±0.16*

평균±표준 오차 \*p<.05

<표 6>에서 보는 바와 같이 혈청 효소 성분에서 국부 처치 전, 1주 후, 4주 후 AG, ALP, ALT, AST, BUN, GGT 성분에는 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다. 그러나 LDH 경우 국부 처치 전  $241.92 \pm 39.30$ , 1주 후  $188.83 \pm 57.85$ , 4주 후  $173.75 \pm 27.25$ 로서 통계적으로 유의한 차이가 나타났으며( $p < .05$ ), CREA의 경우에도 국부 처치 전  $0.83 \pm 0.11$ , 1주 후  $0.78 \pm 0.13$ , 4주 후  $0.82 \pm 0.16$ 으로 국부 처치 전보다 4주 후에 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

<표 7> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 혈청 지질의 비교

	처치 전	처치 1주 후	처치 4주 후
혈청 지질			
CHOL(mg/dL)	190.08±26.75	184.67±28.71	193.25±41.20
HDL(mg/dL)	73.67±16.01	78.33±12.66	79.83±18.75*
LDL(mg/dL)	99.15±27.12	88.00±29.08	97.67±31.94*
TRIG(mg/dL)	86.33±41.54	91.67±32.78	78.75±27.31
RISK	2.68±0.58	2.41±0.51	2.49±0.57
TBIL(mg/dL)	0.76±0.33	0.71±0.55	0.87±0.51

평균±표준 오차      \*p<.05

<표 7>에서 보는 바와 같이 해조류 crude extracts를 국부 처치했을 때 CHOL, TRIG, RISK, TBIL에서는 유의한 변화를 보이지 않았다. HDL은 국부 처치 전  $73.67 \pm 16.01$ , 1주 후  $78.33 \pm 12.66$ , 4주 후  $79.83 \pm 18.75$ 로서 처치 후에 유의하게 증가하였고( $p < .05$ ), LDL에 있어서도 국부 처치 전  $99.15 \pm 27.12$ , 1주 후  $88.00 \pm 29.08$ , 4주 후  $97.67 \pm 31.94$ 로서 유의하게 감소하였다.

〈표 8〉 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 혈장 단백질의 비교

	처치 전	처치 1주 후	처치 4주 후
혈장 단백질			
ALB(g/dL)	4.47±0.22	4.43±0.24	4.56±0.40
TP(g/dL)	7.97±0.40	7.83±0.40	8.19±0.49*

평균±표준 오차      \*p<.05

<표 8>에서 보는 바와 같이 해조류 crude extracts를 국부 처치했을 때 혈청 단백질의 변화에서 ALB는 처치 전  $4.47 \pm 0.22$ , 1주 후  $4.43 \pm 0.24$ , 4주 후  $4.56 \pm 0.40$ 으로 처치 전과 처치 후간의 유의한 변화는 나타나지 않았으나, TP에 있어서는 처치 전  $7.97 \pm 0.40$ , 1주 후  $7.83 \pm 0.40$ , 4주 후  $8.19 \pm 0.49$ 로서 처치 전보다 처치 후에 유의한 증가를 보였다.

〈표 9〉 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts를 처치하기 전·후의 혈청 호르몬 반응의 비교

혈청 호르몬	처치 전	처치 1주 후	처치 4주 후
Insulin(mU/mL)	5.51±2.51	9.52±2.79	7.23±1.80*
Leptin(μg/L)	6.55±2.86	6.98±3.52	8.29±3.54*

평균±표준 오차      \*p<.05

<표 9>에서 보는 바와 같이 해조류 crude extracts를 국부 처치했을 때 혈장 호르몬의 변화에서 insulin의 경우 처치 전  $5.51 \pm 2.51$ , 1주 후  $9.52 \pm 2.79$ , 4주 후  $7.23 \pm 1.80$ 으로 나타났고 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p < .05$ ). Leptin에서도 처치 전  $6.55 \pm 2.86$ , 1주 후  $6.98 \pm 3.52$ , 4주 후  $8.29 \pm 3.54$ 로서 기간이 경과함에 따라 변화가 있었으며, 통계적으로 유의하게 증가하였다.

위의 결과를 요약하면, 일정 비율의 미역과 다시마를 30% ethanol/sea water를 solvent로 하여 해조류 crude extracts를 대량 추출한 후 gel type화하여 비만 부위에 4주간 국부 처치하여 신체 구성 성분 및 비만 해소 효과를 측정된 결과, 8%의 체지방 감소와 피하지방 두께, 혈액 세포, 혈청 효소, 혈청 지질, 혈청 단백질, 혈청 호르몬에서 변화를 볼 수 있는 매우 긍정적인 결과를 가져왔다.

### 3. 국부 처치 및 운동 병행 시 비만 해소 효과의 임상 효능 분석

위의 예비 실험에서 미역과 다시마를 혼합하여 30% ethanol/sea water로 추출한 sample이 비만 해소 효과가 있다는 것이 입증되었고, 효과를 배가시키기 위해서 국부 처치와 운동을 병행해서 실시하였다.

#### (1). 연구 방법

본 연구의 피험자로서는 대구·경북 지역에 거주하는 사람을 대상으로 신체 조성 검사 결과 정상적인 체지방을 초과 한 20-50세 사이의 평소 운동을 하지 않는 성인 여성 20명을 대상으로 하였다. 피험자들을 두 그룹(통제군과 위약군 각각 10명)으로 나누어 두 그

를 모두 운동을 실시하였으며, 운동은 주 4회로 운동 시간은 30분 간 최대 심박수의 70% 정도에 근접하도록 에어로빅댄스를 실시하였다. 통제군은 위와 동일한 sample을 이용하여 국부 처치를 병행하였으며, 위약군은 에어로빅댄스(10명)와 해조류 crude extracts가 포함되지 않은 위약을 사용해서 복부와 허벅지에 바르게 하여 운동 전, 운동 1주 후, 운동 3주 후에 위와 동일한 방법으로 신체 구성 성분, 신체 들레 및 혈액 성분을 측정·분석하였다.

## (2). 연구 결과

해조류 crude extracts sample의 국부 처치와 운동을 병행하여 비만 해소 효과를 측정한 임상 실험 결과는 <표 10>, <표 11>, <표 12>, <표 13>과 같다.

<표 10> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts와 placebo를 각각 처치한 후 운동 전·후의 신체 구성 성분의 변화

위약군													
처치	체중 (Kg)	체지방율 (%)	체지방량 (Kg)	제지방 체중 (Kg)	전완 둘레 (cm)	상완 둘레 (cm)	상완 두께 (mm)	흉위 둘레 (cm)	복부 둘께 (mm)	요위 둘레 (cm)	둔위 둘레 (cm)	대퇴 둘레 (cm)	대퇴 두께 (mm)
1차	58.12 ±2.08	28.36 ±9.61	18.46 ±6.64	29.18 ±7.56	22.88 ±.39	29.34 ±1.02	25.10 ±2.63	89.32 ±1.90	25.40 ±2.21	81.06 ±4.91	89.10 ±1.90	55.10 ±1.38	26.10 ±3.80
2차	58.48 ±2.18	29.42 ±1.93	17.10 ±1.55	31.24 ±1.49	22.66 ±.35	29.06 ±1.04	24.54 ±2.40	89.10 ±1.77	24.90 ±2.16	80.90 ±4.93	88.32 ±1.84	54.26 ±1.47	25.50 ±3.74
3차	58.04* ±2.39	26.90 ±3.32	15.74 ±2.25	33.30* ±1.83	22.54* ±.36	28.80* ±1.10	24.36 ±2.35	88.58 ±2.55	25.12* ±2.20	78.50* ±3.73	91.20 ±2.07	53.48* ±1.11	25.12 ±3.53
통계군													
1차	61.89 ±2.51	32.99 ±2.59	20.81 ±1.97	23.47 ±.95	42.35 ±2.57	29.90 ±.70	29.27 ±1.72	89.48 ±1.40	25.33 ±1.52	81.10 ±2.02	92.99 ±1.94	56.99 ±1.32	26.87 ±1.41
2차	61.96 ±2.58	27.39 ±1.43	17.19 ±1.42	23.77 ±.43	44.51 ±1.37	29.31 ±.63	27.50 ±1.70	88.87 ±1.46	23.70 ±1.34	79.45 ±1.20	91.81 ±1.89	55.63 ±1.23	25.83 ±1.45
3차	61.05* ±2.36	26.05* ±1.52	20.78 ±4.45	23.42 ±.43	45.79 ±1.35	28.11 ±.64	22.93* ±1.39	83.25 ±5.53	20.33* ±1.56	76.68 ±1.64	90.97 ±1.98	54.58 ±1.26	21.97* ±1.17

평균±표준 오차 \*p<.05

1차 : control, 2차 : 국부 처치와 운동 병행 1주 후,

3차 : 국부 처치와 운동 병행 3주 후

<표 10>에서 보는 바와 같이 위약군에서 국부 처치 시 피험자들의 신체 구성 성분, 피부 두께 및 신체 둘레에 있어서 1, 2, 3차간의 체중, 전완 둘레, 상완 둘레, 복부 둘레, 대퇴 둘레, 복부 두께에서 통계적으로 유의한 감소를 보였으며( $p < .05$ ), 제지방 체중도 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p < .05$ ). 통제군에서는 국부 처치 1, 2, 3차간에 체중과 체지방율에 있어서 통계적으로 유의하게 감소하였으나( $p < .05$ ) 위약군에서는 체지방율에서 유의한 감소는 없었다. 또한 통제군에서 상완 두께, 복부 두께, 대퇴 두께도 통계적으로 유의하게 감소하였다( $p < .05$ ).

<표 11>에서 보는 바와 같이 혈액 세포에 있어서 국부 처치 1, 2, 3차간에 위약군에서는 HCT, HB, PLT, MCHC, WBC에서 큰 변화를 보이지 않은 반면 MCV, MCH에서는 다소 감소하는 경향을 보였다. 통제군의 경우 HCT, MCV, MCH, MCHC에서 다소 감소하는 경향을 보였으나 그 외의 혈액 세포에서는 변화를 보이지 않았다.

<표 12>에서 보는 바와 같이 위약군의 경우 국부 처치 1, 2, 3차간에 혈청 효소의 성분에 있어서 AG, BUN, LDH는 감소하는 경향을 보였으나, 다른 성분들은 다소 증가하는 경향을 보였다. 통제군의 경우에는 BUN, URCA는 감소하였으나, 다른 성분들은 처치 후 증가하는 경향을 보였다.

<표 11> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts와 placebo를 각각 처치한 후 운동 전·후의 혈액 세포의 변화

혈액 세포	위약군			통제군		
	1차	2차	3차	1차	2차	3차
HCT(%)	36.00 ±7.80	42.54 ±.93	41.04 ±.77	42.41 ±.59	39.79 ±.59	39.98 ±.84
HB(g/dL)	14.22 ±.34	13.54 ±.39	12.86 ±.29	13.64 ±.15	12.97 ±.21	12.50 ±.28
PLT(k/uL)	307.00 ±28.00	328.40 ±12.28	316.00 ±15.34	273.00 ±19.65	271.93 ±12.44	278.27 ±14.46
MCV(fL)	90.20 ±1.53	83.80 ±1.56	83.40 ±1.33	90.80 ±1.47	84.00 ±1.22	84.27 ±1.05
MCH(pg)	29.18 ±.62	26.66 ±.59	26.12 ±.55	29.25 ±.53	27.38 ±.49	26.34 ±.37
MCHC(g/dL)	25.92 ±6.26	31.82 ±.26	31.32 ±.21	32.21 ±.22	32.58 ±.22	31.27 ±.16
RBC(M/uL)	4.08 ±.8	5.08 ±6.9332E-02	4.92 ±7.060E-02	4.69 ±.11	4.75 ±.11	4.76 ±.11
WBC(K/uL)	6.02 ±.68	6.04 ±1.08	5.34 ±.62	5.62 ±.31	5.39 ±.30	5.26 ±.25

평균±표준 오차

<표 12> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts와 placebo를 각각 처치한 후 운동 전·후의 혈청 효소의 변화

혈청 효소	위약군			통제군		
	1차	2차	3차	1차	2차	3차
AG	1.92 ±0.77	1.12 ±4.899E-02	1.26 ±6.782E-02	1.2 3.651E-02	1.11 ±2.557E-02	1.2 ±3.381E-02
ALP(U/L)	80.80 ±10.23	69.80 ±7.38	79.80 ±8.71	84.53 ±2.58	80.07 ±3.97	82.07 ±2.89
ALT(U/L)	30.00 ±1.34	24.20 ±4.49	30.80 ±1.90	31.87 ±2.12	33.80 ±1.83	35.33 ±2.22
AST(U/L)	19.00 ±3.03	18.80 ±1.31	22.40 ±1.21	17.53 ±1.42	22.80 ±1.27	23.53 ±1.92
BUN(mg/dL)	14.20 ±1.59	10.60 ±2.46	11.60 ±.60	12.27 ±1.14	11.47 ±.98	10.47 ±.65
GGT(U/L)	18.40 ±.75	22.60 ±3.94	18.20 ±.58	20.53 ±1.89	20.87 ±1.86	21.40 ±1.99
LDH(mg/dL)	227.60 ±18.67	200.20 ±16.78	206.40 ±6.98	206.60 ±6.06	210.93 ±10.30	224.53 ±7.72
URCA(mg/dL)	3.66 ±.82	5.26 ±.36	5.16 ±.51	4.19 ±.15	4.20 ±.30	3.89 ±.44
CREA(mg/dL)	.64 ±2.449E-02	.60 ±3.162E-02	.72 ±2.000E-02	.64 ±2.726E-02	.61 ±3.065E-02	.69 ±1.533E-02
GLOB(g/dL)	3.80 ±.14	3.88 ±.16	3.54 ±.14	3.76 ±.11	3.84 ±.10	3.66 ±.11
GLU(mg/dL)	91.4 ±5.81	91.40 ±4.53	87.80 ±3.37	91.2 ±2.30	88.40 ±2.29	83.07 ±3.02

평균±표준 오차

<표 13> 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 gel type의 crude extracts와 placebo를 각각 처치한 후 운동 전·후의 혈청 지질의 변화

혈청 지질	위약군			통제군		
	1차	2차	3차	1차	2차	3차
CHOL(mg/dL)	195.20 ±12.83	176.20 ±8.11	189.20 ±14.09	190.07 ±6.68	175.13 ±7.53	185.66** ±6.68
HDL(mg/dL)	60.40 ±2.82	54.20 ±2.18	68.00 ±2.47	62.40 ±3.89	60.00 ±3.76	71.93** ±3.56
LDL(mg/dL)	121.48 ±9.69	108.44 ±6.27	105.80 ±11.90	117.53 ±6.30	104.39 ±5.30	102.20* ±5.30
RISK	2.62 ±.60	3.26 ±.20	2.78 ±.16	3.11 ±.20	3.02 ±.20	2.68 ±.15
TBIL(mg/dL)	.55 ±8.526E-02	.62 ±.11	.76 ±.15	.71 ±9.045E-02	.47 ±4.096E-02	.74* ±7.152E-02
TRIG(mg/dL)	66.60 ±16.13	67.80 ±15.15	77.00 ±11.95	58.53 ±9.93	63.13 ±7.56	70.20 ±8.95

평균±표준 오차 \*p<.05, \*\*p<.01

<표 13>에서 보는 바와 같이 해조류 crude extracts를 국부 처치했을 때 위약군의 경우 혈청 지질 성분에 있어서 cholesterol, LDL은 처치 후에 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었으며, HDL, RISK, TBIL, TRIG는 증가하는 경향을 보였다. 통제군의 경우 cholesterol, LDL은 처치 후 통계적으로 유의하게 감소하였고 (각각  $p < .01$ ,  $p < .05$ ) HDL, TBIL는 처치 후에 통계적으로 유의하게 증가하였다(각각  $p < .01$ ,  $p < .05$ ). 또한 RISK는 다소 감소하는 경향을 보였으며, TRIG는 처치 후에 오히려 증가하는 경향을 보였다.

해조류 crude extracts sample을 운동과 더불어 국부 처치하여 사용했을 때 신체 구성 성분 및 비만 해소 어떠한 영향을 주며, 어떠한 생리적 활성 효과를 나타내는지에 대한 연구 결과 아래와 같은 결론을 얻었다.

- ㉠. 위약군과 통제군에서 체중, 체지방율, 전완 둘레, 상완 둘레, 복부 두께, 허리 둘레, 대퇴 둘레 그리고 대퇴 두께에서 각각 처치 후 감소하였다.
- ㉡. 혈청 효소 성분에서는 위약군과 통제군 간에 차이는 없었다.
- ㉢. 통제군에 있어서 혈청 지질 성분 중 HDL, TBIL은 유의하게 증가하였고 LDL, cholesterol은 유의하게 감소하였다.
- ㉣. 그 외의 다른 혈액 성분들에서는 두 집단 모두 처치 전, 후에 유의한 변화는 없었다.
- ㉤. 1차 임상 실험 결과 4주간의 국부 처치 후 피험자들의 체지방율은 8% 정도 감소를 하였으며, 본 연구에서는 위약군에서 7.6%의 감소와 통제군에서는 21%의 감소를 보였는 바 gel type의 해조류 crude extracts sample의 국부 처치와 운동 병행이 비만 해소에 매우 긍정적인 영향을 미쳤다.

#### 4. 비만 해소 crude extracts의 피부 흡수 효과 측정

##### (1). 연구 방법

피하 지방층의 흡수 효과 검색을 위하여 hairless rat의 skin을 채취하여 실험실에서 제작한 Modified Ussing Chamber에 장착한 후 해조류 종류별, solvent 종류별로 추출한 crude extracts의 sample을 넣고 시간 경과에 따른 각각 sample 내 성분의 경피 흡수 효과를 측정하였으며 실험 방법을 요약하면 다음과 같다.

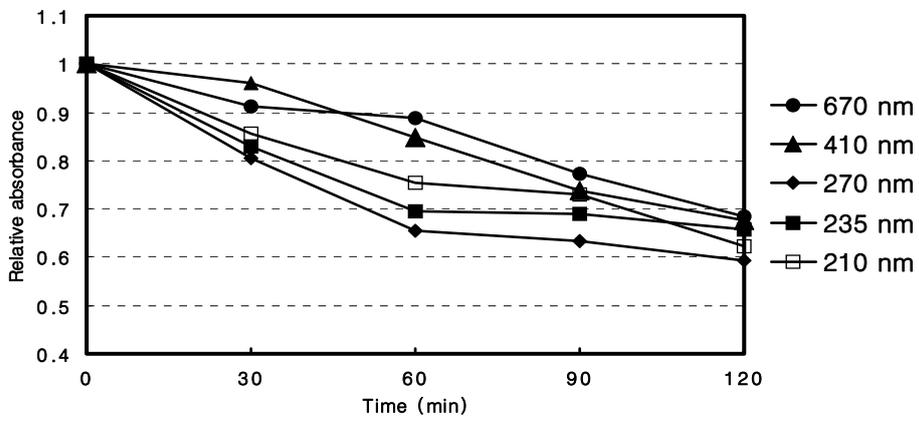
- ①. Hairless rat의 경피를 벗긴 후 sample holder에 장착하고 경피 표면 쪽[S]에는 방부제와 gel을 첨가하지 않은 각각의 liquid sample 20ml를 넣고, stratum corneum의 안쪽[C]에는 pH=7의 20ml phosphate buffer를 넣고 공기 방울을 붙여 넣어 양쪽의 용액을 순환시켰다. 이때, Modified Ussing Chamber의 온도는 37℃를 유지하였으며 실험에서 사용된 sample holder와 Modified Ussing Chamber는 실험실에서 고안, 제작하였다.
- ②. 경피 표면 쪽에서 stratum corneum의 안쪽으로 흡수되는 성분의 spectrum을 분석하기 위하여 200 $\mu$ l, 2ml의 sample을 각각 30분, 60분, 90분, 120분 간격으로 채집하였다.
- ③. 200 $\mu$ l씩 채집한 양쪽의 시료에 증류수 1.8ml를 넣어 희석시킨 후 UV wavelength에서, 2ml씩 채집한 양쪽의 시료는 visible wavelength에서 각각의 흡수 spectrum을 얻은 후 spectrum peak값에서의 absorbance값을 기록, 분석하였다.

##### (2). 연구 결과

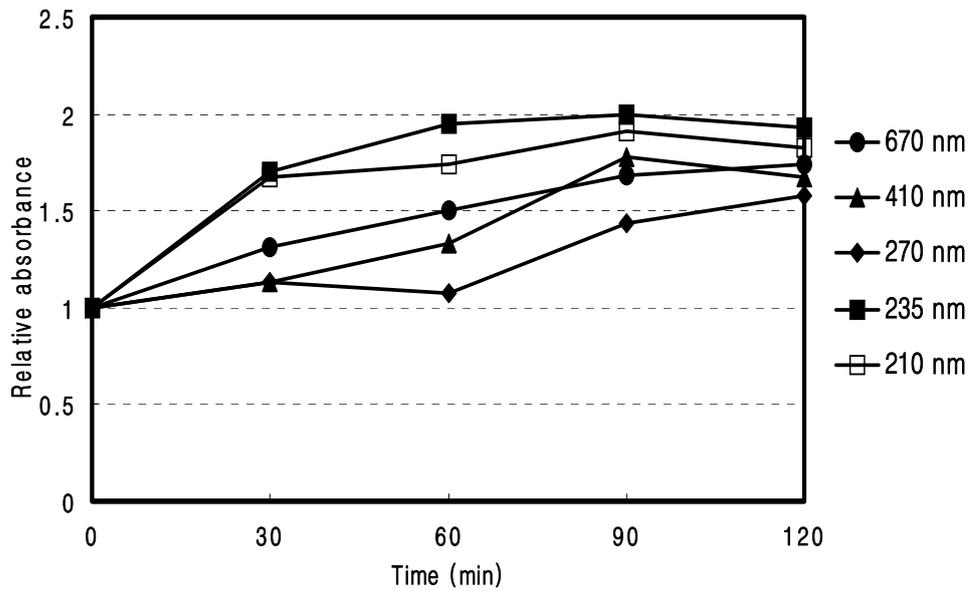
30% ethanol/sea water, methanol/sea water, propylene glycol/sea water, glycerine/sea water의 solvent를 이용하여 추

출한 각각의 미역+다시마 crude extracts sample의 피하 지방층의 흡수 효과를 시간 변화에 따라 경피 표면 쪽[S]와 stratum corneum의 안쪽[C]에서 흡수 spectrum을 측정된 결과, 경피 표면 쪽에서는 ethanol, glycerine, propylene glycol, methanol solvent의 crude extracts의 순서로 시간이 지남에 따라 큰 흡수 효과를 나타내었다. 경피 표면 쪽과, stratum corneum의 안쪽 모두 210, 235, 270, 410, 670nm에서  $\lambda_{max}$ 의 major peak가 관측되었으며, 시간이 지남에 따라 모든 경피 표면 쪽의 peak는 감소되고 stratum corneum 쪽은 시간이 지남에 따라 모든 peak가 증가되었다. 이 결과는 경피 표면 쪽에서 stratum corneum 쪽으로 미지의 organic compound들이 시간이 지남에 따라 흡수되어 지방 분해에 영향을 미치는 것으로 사료된다. <그림 1>, <그림 2>는 임상 실험에서 비만 해소 효과가 가장 좋은 미역+다시마를 30% ethanol/sea water를 사용하여 추출한 crude extracts 내의 organic compound가 경피 표면 쪽에서 stratum corneum 안쪽으로 흡수되는 효과를 나타내었고, <그림 3>, <그림 4>, <그림 5>는 glycerine, propylene glycol, methanol을 사용하여 추출한 crude extracts의 경우 경피 표면 쪽에서 peak값이 시간이 지남에 따라 감소하는 것을 보여준다.

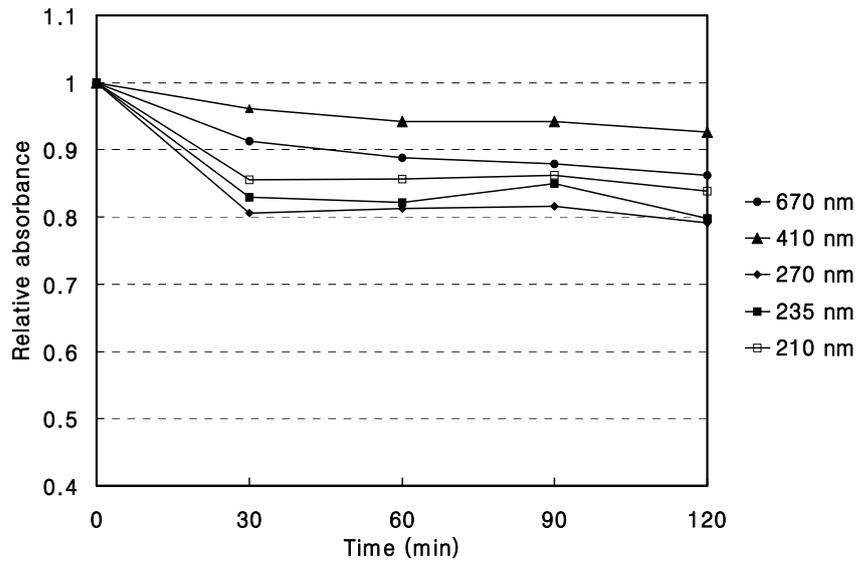
미역, 다시마, 갈래곰보, 툯을 30% ethanol/sea water로 추출한 crude extracts는 시간이 경과함에 따라 210, 235, 270, 410, 670nm에서 경피 표면 쪽에서 stratum corneum의 안쪽으로 흡수되는 경향을 보였으나 그 효과는 미약하였다.



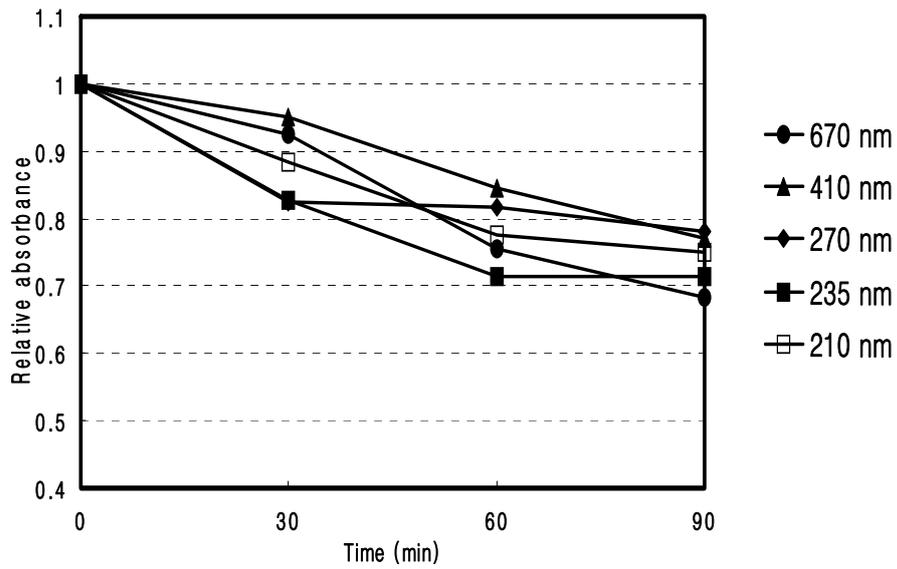
<그림 1> 30% ethanol/sea water를 사용하여 추출한 미역+다시마 crude extracts의 경피 표면에서의 흡수 spectrum 변화



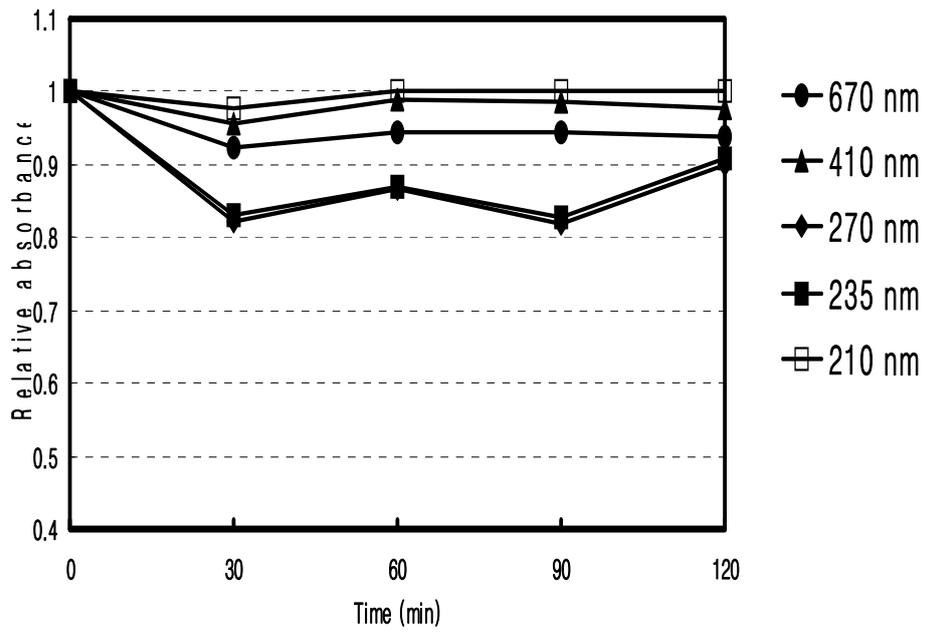
<그림 2> 30% ethanol/sea water를 사용하여 추출한 미역+다시마 crude extracts의 stratum corneum 안쪽에서의 흡수 spectrum 변화



<그림 3> 30% propylene glycol/sea water를 사용하여 추출한 미역+다시마 crude extracts의 경피 표면에서의 흡수 spectrum 변화



<그림 4> 30% glycerine/sea water를 사용하여 추출한 미역+다시  
 마 crude extracts의 경피 표면에서의 흡수 spectrum  
 변화



<그림 5> 30% methanol/sea water를 사용하여 추출한 미역+다시마 crude extracts의 경피 표면에서의 흡수 spectrum 변화

## 5. 해조류 crude extracts로부터 비만 해소 유효 성분의 분리 · 정제 및 비만 해소 효과 유효성 판정

### (1). 연구 방법

#### (가). 유효 성분 검출 반복 실험

먼저 해조류 crude extracts를 수용성과 organic phase로 나누 뒤 HPLC를 이용하여 분리한 성분들 중에서 비만 해소 효능이 있는 부분을 알기 위해서 쥐의 abdominal adipose tissue를 적취하여 각 fraction을 incubating medium에 넣어 배양한 후 glycerol의 농도를 측정하여 지방 분해 정도를 계산하였다. 지방조직 분해 효과에 따른 product인 glycerol을 측정하기 위해 glycerol을 lactate로 변환시키는 과정에서 NADH의 산화 반응을 이용하는 Kit을 사용하였다. 따라서 NADH의 양을 365nm에서 광학적 흡수도 측정을 시행하여 이와 stoichiometric하게 비례하는 glycerol양을 환산하였다.

#### (나). 유효 성분 대량 추출 실험

- ① 온도의 영향을 알아보기 위해 추출 시 상온(25℃)과 40℃에서 수행하여 주요 성분 fraction의 양을 측정 비교한다.
- ② 추출 용매를 ethanol, methanol, propylene glycol, sea water 등으로 다르게 하여 crude extracts의 변화를 UV-VIS spectrometer를 이용하여 검사하였다.
- ③ 주요 성분이 단일 성분이 아니고 수용액 성분도 유효성이 있으므로 추출 용액을 이원화하였다. 80% ethanol은 ethanol soluble 성분의 추출 증가를 위해, 30% ethanol은 water soluble 성분의 대량 추출을 위해 사용했다.
- ④ Centrifuge 후 상층액을 증발시킨 후 phase를 분리하였다.

(다). 쥐의 고환 지방조직에 대하여 해조류 crude extracts의 지방 분해도 평가

- ① 180-200g의 쥐 5마리에서 약 5g의 fat을 떼어 내어 m-KRB solution과 collagenase 용액을 넣어 cell suspension을 만들어 지방세포를 분리하였다.
- ② 추출 성분(alcohol soluble, ethanol soluble, alginates, control)을 지방 세포와 함께 넣어 5% CO<sub>2</sub>/95% O<sub>2</sub>, 37℃에서 1시간 30분 동안 배양 후 F-glycerol kit를 이용하여 glycerol 생성량을 측정하였다.

(라). 유효 성분 대량 분리 실험

각종 semi-prep scale의 HPLC를 이용하여 일정량의 시료 주입 시 water soluble fraction과 ethanol soluble fraction 부분의 분해능을 조사하였다. 본 연구실이 보유한 두 대의 HPLC system을 모두 이용한 바 각각의 경우 injecting loop의 용량이 다양하지 못하여 100 $\mu$ l, 1ml 두 종류의 flow cell을 따로 제작하였다. 사용된 HPLC column은 Keyston사의 hypersil, inersil, Waters사의 uBonda pack, Cosmosil등을 활용하였다. Ethanol soluble 성분의 경우 100% methanol을 isocratic하게 30분 eluting하였고 water soluble 성분의 경우 50mM phosphate buffer를 isocratic하게 0-30분 running하였다. Flow rate는 1ml/min을 기본으로 injection volume 과 분해능의 정도에 따라 0.5ml/min으로 조정하였다.

(마). 유효 성분의 분석 실험

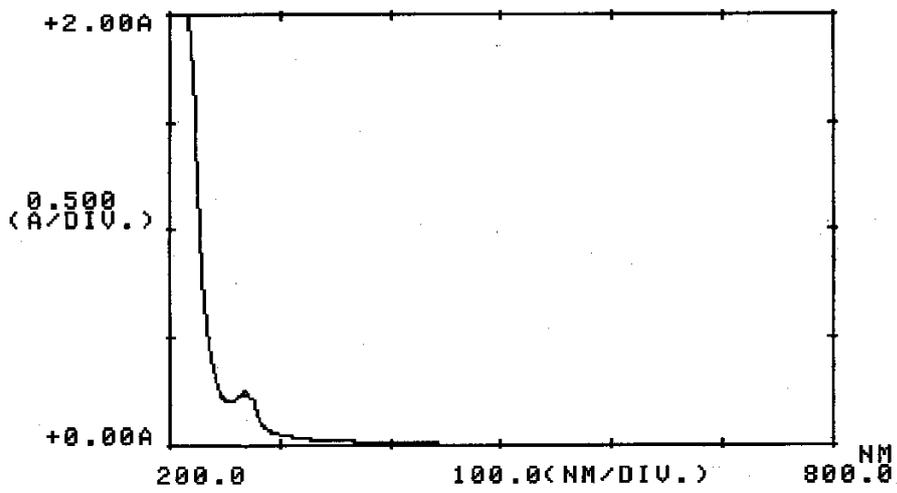
각 유효 성분을 단일 분자의 fraction으로 분리한 다음 1H NMR spectroscopy로 기초 검사를 하였다.

## (2). 연구 결과

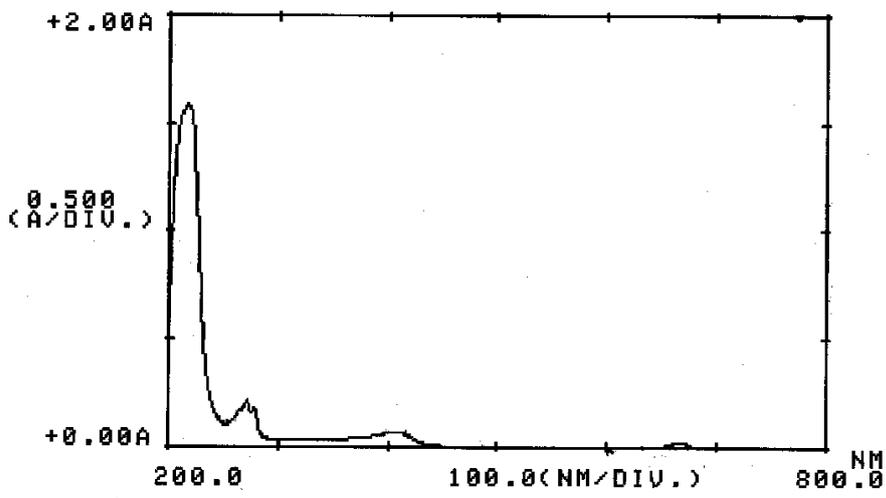
### (가). 유효 성분 추출, 분리 실험

용매의 종류에 따라 흡수 spectrometer의 data를 볼 때 100% sea water의 경우를 제외하고는 모두 추출물의 각 성분량의 차이는 있었으나 용매에 따라 새로운 성분이 추출되지는 않았다. 100% sea water만을 사용한 경우는 물론 유기 용매에 녹는 성분이 검출되지 않았다. 30% ethanol solvent의 경우 water soluble 성분과 ethanol soluble 성분으로 나누어 분리하였을 때(phase 분리법) 각각 흡수 peak가 달랐다. Ethanol soluble 성분<그림 6>은 210, 270, 410, 666nm에서 peak가 관찰된 반면 water soluble 성분<그림 7>은 단조 감소형 흡수 곡선에 270nm에서 shoulder 모양의 peak가 관측되었다. 410, 666nm 성분은 210, 270nm에서 흡수가 있어서 HPLC 분리 시 검출 파장으로 210, 270nm를 이용하여 성분 검출을 하였다.

주요 성분이 단일 성분이 아니고 수용액 성분도 유효성이 있으므로 추출 용액을 이원화하였다. 80% ethanol은 ethanol soluble 성분의 추출 증가를 위해, 30% ethanol은 water soluble 성분의 대량 추출을 위해 사용했다. 추출 후 추출물 색깔의 진함의 정도가 달랐다.



<그림 6> Water soluble fraction의 UV/VIS spectrum



<그림 7> Ethanol soluble fraction의 UV/VIS spectrum

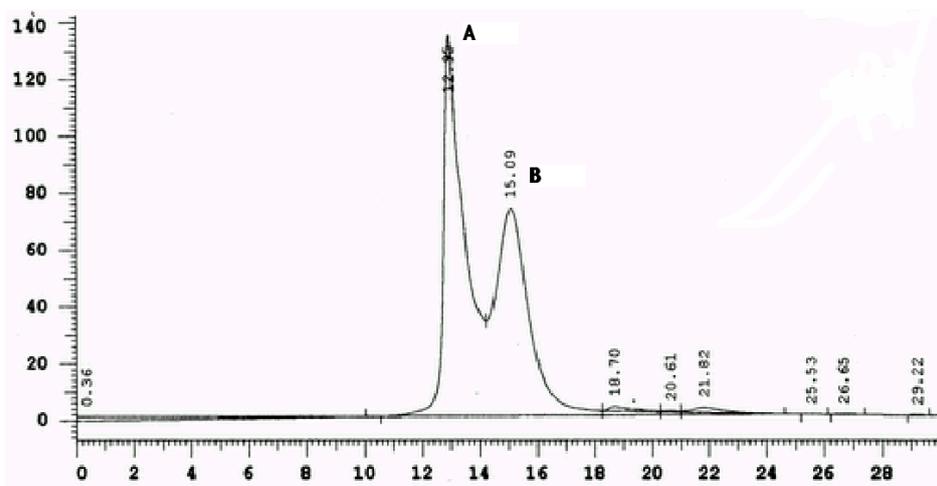
(나). Ethanol soluble 성분의 HPLC 분리

최초 extracting solvent는 30% ethanol을 이용하여 ethanol soluble 성분을 크게 하였다. 230nm에서 uBondapack column을 이용하여 sodium phosphate buffer(pH=7.0)로 1ml/min으로 eluting했을 때는 peak의 분해능이 좋지 않았으나 hypersil phenyl column을 사용할 때는 <그림 8>에서 보는 바와 같이 2개의 peak가 잘 분리되었다. 그러나 NMR spectrum에서 불순물의 trace가 있어서 major peak fraction을 mass spectrometer를 이용하여 분석한 결과 6개의 다른 물질이 섞여 있는 혼합물 형태였다. 따라서 water soluble 성분의 분리는 기존의 semi-prep scale column으로는 어렵다.

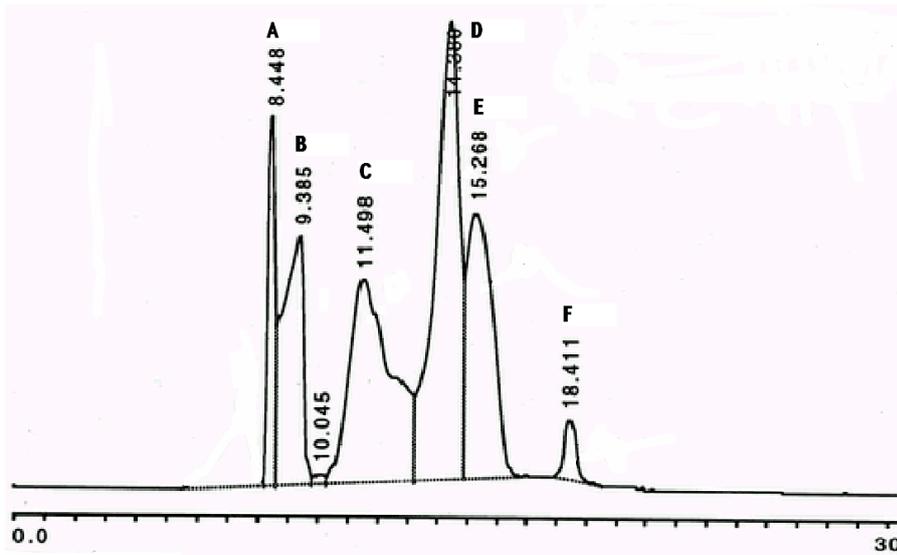
(다). Organic phase HPLC 분리

80% ethanol soluble 성분에서 얻은 시료를 uBondapack column을 통해 얻은 fraction은 모두 6개로(A, B, C, D, E, F) <그림 9>에서 보는 바와 같다. 30% ethanol보다 80% ethanol을 사용했을 때 눈에 띄게 추출물의 농도가 증가하였으며 상온(25°C)과 40°C에서 추출 시 ethanol fraction이 많을수록 온도에 관계없이 유효 성분인 AC, AF가 추출되었다. 그러나 fraction양에 관계없이 온도가 증가할수록 추출 속도는 증가하였다. 현재 보유 중인 HPLC는 analytical scale HPLC이어서 injecting flow cell을 prep scale로 바꾸고 column은 semi-prep scale로 증가시켜 투입량을 5배 이상 증가 시켰다. 그러나 투입량의 조건은 column상의 해상도가 보장되는 최대값이어야 하므로 무한정 늘릴 수는 없다. 현재 시스템으로는 1ml까지 투입이 가능하므로 concentrated sample을 만들어 투입량을 늘리고 있다. 투입량을 10 $\mu$ l base에서 1ml까지 증가시키면 분

해능이 떨어지므로 flow rate를 감소시켜야 된다. 각 phase별로 최초 추출에 대한 대량 생산 공정은 알코올의 성분량에 달려 있으나 정제 시에는 반드시 HPLC를 사용하므로 많은 양을 한꺼번에 투입할 수 있는 prep scale HPLC를 사용하여야 한다.



<그림 10> Water soluble 성분의 HPLC profile



<그림 9> Ethanol soluble의 성분의 HPLC profile

(마). 유효 성분 검출을 위한 지방 분해 실험

<표 14>와 <표 15>은 phase법으로 분리한 유효 성분과 alginate fragment가 adipose tissue에서 지방 분해 효과를 나타낸 실험으로, 각 실험군은 control, W(water soluble), Al(alginate), organic phase로 A0(control), AA, AB, AC, AD, AE, AF로 각각 나누는 다음, 특히 AC, AD, AF는 농도를 각각 1, 2, 3배로 다르게 하여 실험에 행하였다. Alginate의 경우 acid hydrolysis를 이용하여 G-homopolymer, M-homopolymer, heteropolymer로 나누어 분자량을 조절 fragment를 이용하였다. 표에서 보듯이 alginate는 분자량이 작아지더라도 control과 평균적으로 같은 값을 보였다. 예상과 달리 alginate fragments는 그 residue의 종류와 분자량에 관계없이 지방 분해에 아무런 영향을 미치지 못하였다. 즉 *in vitro*에서 지방 조직 분해에는 직접적인 관계는 없었다. 임상에서의 유효성은 지방산과 결합하여 체외로 배출함으로써 지방 흡수 대사에 영향을 미친다.

AC, AD, AF의 dose response 실험에서는 유의성이 보이지 않았다. 그러나 표에서 보듯이 ethanol soluble AC, AF fraction과 water soluble 혼합물이 지방 분해의 다소 유의성이 보였다. 30번의 실험 중 10번의 경우에 다음 표와 같은 경향을 보였으며 그 평균값을 나타내었다.

<표 14> 쥐의 adipose tissue에서 유효 성분의 지방 분해 효과

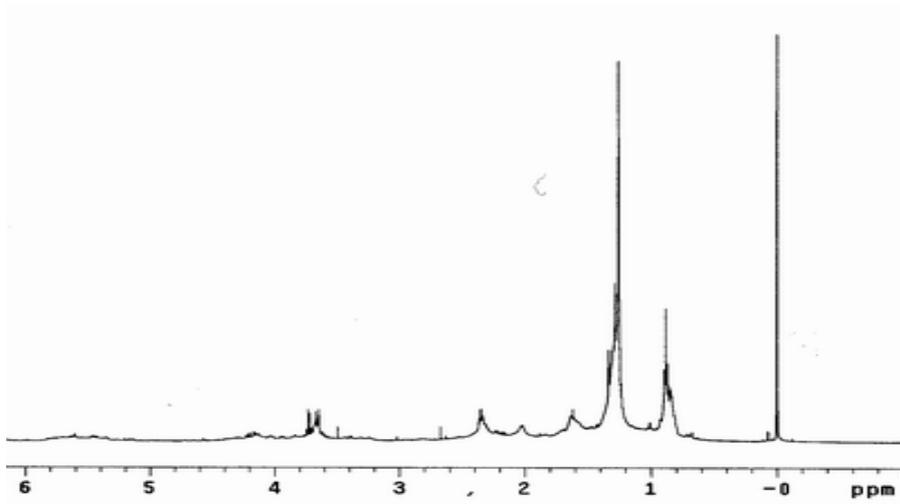
Fraction	Delta absorption	nmol/glycerol
Blank	0.005	
STD(control)	0.040	191.74
Alginate	0.040	191.74
Ethanol soluble A-fraction(AA)	0.041	196.54
AB	0.043	206.13
AC	0.055	279.36
AD	0.043	206.13
AE	0.043	206.13
AF	0.062	297.21
Water soluble A-fraction	0.051	244.06
Water soluble B-fraction	0.045	210.00

〈표 15〉 쥐의 adipose tissue에서 alginate fragment의 지방 분해 효과

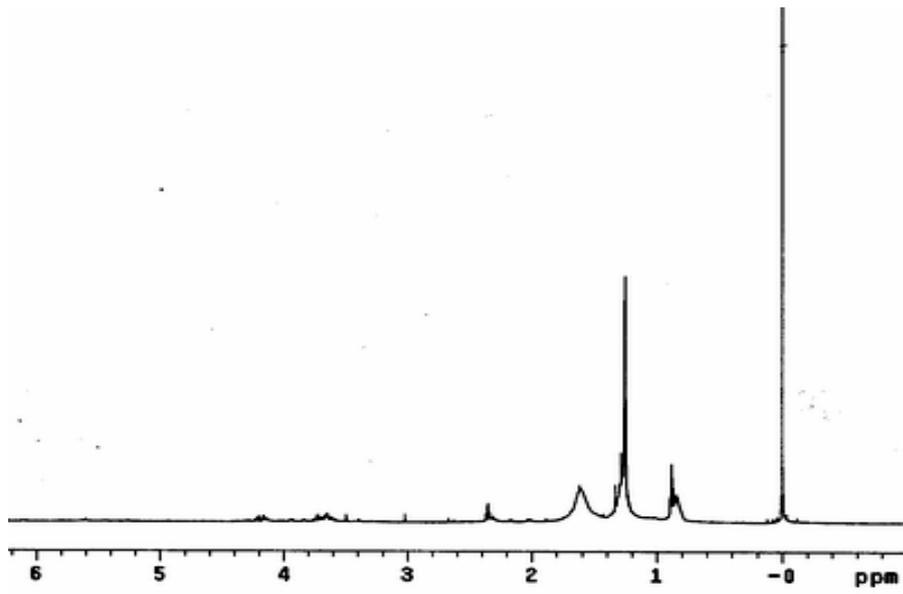
	Delta absorption	nmol/glycerol
Alginate fragment		
control	0.029	138.99
M-fraction	0.028	134.20
G-fraction	0.026	124.62
Hetero-fraction	0.020	95.86

(바). 유효 성분 분석 실험

<그림 10>과 <그림 11>은 ethanol soluble AC, AF fraction을 NMR로 분석한 결과이다. Ethanol soluble 성분 중 AC/AF는 NMR spectrum 결과에서 보듯이 구조적으로 매우 비슷한 종류의 분자라고 할 수 있다. Water soluble 성분 중 A-fraction은 질량 분석 결과 6개의 서로 다른 물질이 혼합되어 있어 더 이상 HPLC로 분리가 되지 않았다.



<그림 10> Ethanol soluble AC fraction의 NMR spectrum



<그림 11> Ethanol soluble AF fraction의 NMR spectrum

## 6. 비만 해소 유효 성분에 따른 비만 해소 효과 임상 실험

### (1). 미역+다시마를 30% ethanol/sea water로 추출한 fraction의 비만 해소 효과의 임상 실험

#### (가). 연구 방법

20-50세 사이의 성인 남녀를 대상으로 실험을 실시하였다. 미역+다시마를 30% ethanol/sea water를 solvent로 하여 추출한 crude extracts sample의 성분을 다시 분리한 ethanol soluble, polysaccharide, water soluble fraction과 alginate fragment sample의 비만 효과 비교를 위해 각각의 sample을 gel type화하여 비만 부위에 국부 처치 전, 처치 1주 후의 신체 구성 성분, 혈액 성분을 분석하였다.

#### (나). 연구 결과

신체 구성 성분의 변화는 <표 17>과 <표 18>에, 혈액 성분의 변화는 <표 19>와 <표 20>에 각각 나타내었다. <표 17>과 같이 처치 전과 비교하여 처치 1주 후 간에 유의한 차이를 보이지 않았다. <표 18>에서 보는 바와 같이 신체 구성 성분을 비교했을 때 처치 전과 비교하여 처치 1주 후간에 유의한 차이를 보이지 않았다. <표 19>와 같이 모든 혈액 성분에서 처치 전과 비교하여 처치 1주 후간에 유의한 차이를 보이지 않았다. <표 20>과 같이 모든 혈액 성분에서 처치 전과 비교하여 처치 1주 후간에 유의한 차이를 보이지 않았다.

<표 17> Ethanol soluble fraction, polysaccharide fraction에 의한 신체 구성 성분의 변화

측정 항목	Ethanol soluble fraction		Polysaccharide fraction	
	처치 전	처치 1주 후	처치 전	처치 1주 후
체중(Kg)	76.03±5.75	76.03±4.84	80.13±9.99	79.43±9.06
체지방율(%)	16.93±4.13	16.57±5.40	26.60±8.40	26.73±6.59
체지방량(Kg)	13.03±4.18	12.77±5.05	22.87±8.98	21.70±7.56
제지방량(Kg)	59.70±1.65	59.93±0.49	55.17± 1.05	54.70±2.19
BMI	24.20±1.90	24.17±1.68	26.70± 4.23	26.43±4.13
체수분량(L)	43.73±1.18	43.90±0.35	40.43±0.75	40.07±1.64

평균±표준 오차

<표 18> Water soluble fraction, alginate fragment fraction에 의한 신체 구성 성분의 변화

측정 항목	Water soluble fraction		Alginate fragment fraction	
	처치 전	처치 1주 후	처치 전	처치 1주 후
체중(Kg)	75.50±13.59	74.70±15.10	66.63±4.63	66.37±4.31
두께(mm)	15.53±2.52	14.07±2.52	15.58±6.66	15.58±6.66
체지방율(%)	17.03±2.56	15.40±1.35	18.73±5.51	18.17±4.86
체지방량(Kg)	12.93±3.33	11.60±3.38	12.50±3.65	12.07±3.14
제지방량(Kg)	59.27±10.32	59.73±11.30	51.17±4.84	51.37±4.57
BMI	22.97±1.99	22.73±2.42	22.17±1.10	22.10±1.13
체수분량(L)	43.47±7.61	43.80±8.26	37.50±3.57	37.70±3.36

평균±표준 오차

<표 19> Ethanol soluble fraction, polysaccharide fraction에 의한 혈액 성분의 변화

측정 항목	Ethanol soluble fraction		Polysaccharide fraction	
	처치 전	처치 1주 후	처치 전	처치 1주 후
TBIL(mg/dL)	.73±.40	.80±.14	.70±.70	.83±.27
TP(g/dL)	8.33±.61	8.20±.53	8.13±.15	8.10±.43
GLOB(g/dL)	3.43±.32	3.30±.26	3.47±.38	3.33±.58
ALB(g/dL)	4.90±.30	4.90±.26	4.67±.23	4.77±.15
AG	1.43±.02	1.47±.02	1.37±.23	1.43±.29
ALP(U/L)	100.33±24.11	104.00±33.60	107.33±9.50	105.33±13.65
AST(U/L)	19.33±3.78	19.33±1.53	25.67±7.50	21.00±4.58
ALT(U/L)	30.00±3.60	27.00±3.00	60.33±34.38	39.67±11.59
GGT(U/L)	28.67±10.02	27.33±11.01	37.33±13.20	33.33±9.60
GLU(mg/dL)	98.67±6.51	90.67±6.51	96.33±5.69	95.00±5.00
CHOL(mg/dL)	169.00±33.04	162.67±45.61	202.33±69.89	211.00±94.40
LDL(mg/dL)	100.90±28.14	73.53±41.88	145.80±88.81	134.87±86.74
TRIG(mg/dL)	160.00±19.29	167.33±60.04	138.00±47.15	145.67±70.32
HDL(mg/dL)	59.00±8.72	55.67±10.02	48.00±12.00	47.00±8.18
RISK	3.80±.05	2.90±.03	4.70±2.80	4.77±2.82
BUN(mg/dL)	13.33±6.66	8.00±1.00	12.00±2.64	11.00±3.60
CREA(mg/dL)	1.13±.02	1.10±.02	1.17±.21	1.17±.15
BNCR	11.90±.55	7.30±.82	10.73±3.91	9.70±3.73
URCA(mg/dL)	6.07±.55	6.43±1.86	7.20±.35	7.20±1.04
LDH(mg/dL)	166.00±26.00	159.67±33.83	187.00±32.05	122.47±110.2

평균±표준 오차

<표 20> Water soluble fraction, alginate fragment fraction에 의한 혈액 성분의 변화

측정 항목	Water soluble fraction		Alginate fragment fraction	
	처치 전	처치 1주 후	처치 전	처치 1주 후
TBIL(mg/dL)	.98±00	1.11±.29	1.11±.25	.99±.36
TP(g/dL)	8.30±.65	8.23±.11	8.03±.40	7.93±.55
GLOB(g/dL)	3.33±.42	3.17±.3	3.33±.25	3.20±.30
ALB(g/dL)	4.97±.25	5.07±.23	4.70±.17	4.73±.25
AG	1.53±.11	1.63±.11	1.43±.11	1.50±.10
ALP(U/L)	101.33±17.24	100.67±17.62	80.00±25.24	78.67±24.01
AST(U/L)	17.33±1.53	17.67±5.78	23.67±5.77	18.00±2.64
ALT(U/L)	36.00±3.60	32.67±3.05	42.00±8.00	34.00±6.56
GGT(U/L)	24.33±2.08	23.33±4.16	19.67±3.78	19.67±2.52
GLU(mg/dL)	95.00±6.08	92.00±7.21	93.00±6.08	93.00±2.64
CHOL(mg/dL)	149.33±25.17	155.67±20.50	171.67±4.72	179.67±9.24
LDL(mg/dL)	71.27±11.82	76.87±13.11	87.13±12.69	87.47±14.06
TRIG(mg/dL)	70.67±3.78	65.00±16.52	81.00±48.28	102.67±48.22
HDL(mg/dL)	65.00±16.52	64.67±11.15	68.33±18.34	71.67±13.32
RISK	2.33±.25	2.43±.29	2.63±.70	2.53±.55
BUN(mg/dL)	10.67±3.51	10.00±1.73	9.00±2.00	8.00±2.64
CREA(mg/dL)	1.03±.11	1.07±.02	.93±.11	.97±.15
BNCR	10.17±2.45	9.37±1.39	9.60±1.22	8.17±1.85
URCA(mg/dL)	4.83±.70	4.97±.57	5.47±.35	5.90±.62
LDH(mg/dL)	148.33±21.38	150.67±15.27	169.33±10.60	152.67±15.50

평균±표준 오차

#### (나). 연구 결과

미역+다시마를 30% ethanol/sea water를 solvent로 추출한 crude extracts sample의 성분을 다시 HPLC로 분리한 polysaccharide, ethanol soluble, water soluble, alginate fragment fraction sample의 비만 효과를 비교한 임상 실험에서, 모든 fraction에서 신체 구성 성분을 보면 통계적으로 유의성 있는 감소는 없었지만 체중, 체지방에서 감소하는 경향을 보였다. 그러나 앞에서 보는 바와 같이 미역+다시마를 30% ethanol/sea water를 solvent로 추출한 sample을 국부 처치 했을 경우에는 통계적으로 유의한 체지방의 감소를 보였다. 이 결과는 polysaccharide, ethanol soluble, water soluble, alginate fragment fraction 성분이 피부로 흡수된 후 복합적인 작용에 의해 지방 분해가 가속화되는 것으로 사료된다.

### 7. 다양한 피부 흡수 증강제를 추가한 해조류 crude extracts의 비만 해소 효과 판정

#### (1). 다양한 피부 흡수 증강제를 추가한 해조류 crude extracts의 비만 해소 효과의 임상 실험

##### (가). 연구 방법

선행 연구에 의하면, 비만 해소 주요 성분은 단일 성분이 아닌 ethanol soluble 성분과 water soluble 성분으로 것으로 밝혀졌다. 이러한 비만 해소 주요 성분을 최대한 추출하기 위해서 추출 방법을 이원화하였다. 즉, 80% ethanol/sea water 추출은 ethanol soluble 성분의 추출 증가를 위해, 30% ethanol/sea water 추출은 water soluble 성분의 대량 추출을 위해 사용되었으며, 각각의 solvent로 추출 한 후 혼합하여 sample을 제작하였다. 해조류의

crude extracts에 각각 여러 종류의 피부 흡수 증강제를 첨가한 gel type의 국부 처치용 비만 해소 sample을 사용하였다. 피험자는 신체 결함이 없고 건강한 비만 남녀 성인을 대상으로 비만 부위에 국부 처치하기 전, 처리 후 1주 간격으로 앞에서 수행한 것과 같은 방법으로 신장, 체중, 각 신체 부위 둘레, 체지방, 제지방 체중, 수분 함량을 측정하여 비만 해소 효과를 측정, 분석, 비교하였다. 피부 흡수 증강제를 첨가한 gel type의 국부 처치용 비만 해소제는 각각 아래와 같이 분류시켰다.

Group 1. 10% PG + 1% Oleic acid

Group 2. 10% Oleic acid

Group 3. 10% PG + 1% Oleyl alcohol

Group 4. 10% Olive oil

Group 5. 10% PG + 1% Olive oil

Group 6. 10% PG + 1% PSH(Tween 20)

Group 7. 10% PG + 1% (R)-(+)-Limonen

Group 8. 10% PG + 1% 1-Methyl-2-pyrrolidinone

Group 9. 10% PG + 1% Dimethyl sulfoxide

Group 10. 10 % PG + 1% Urea

Group 11. 10% Oleyl alcohol

#### (나) 연구 결과

11가지 sample group을 이용하여 임상 실험한 결과는 <표 21>, <표 22>, <표 23>과 같다. <표 21>과 같이 신체 구성 성분 중에서 체중과 체지방율은 9번 sample을 처치한 피험자들이 처치 전에 비해 유의한 감소를 보였고( $p < .05$ ), 11번 제품을 처치 한 피험자들은 체지방율과 지방량에 있어서 처치 전보다 처치 1주 후에 유의한 차

이를 보였다( $p < .05$ ). 처치 전과 비교하여 처치 1주 후 피하지방 두께를 측정된 부위 중에서 대퇴 두께에서만 11번 제품을 사용한 피험자들에게서 처치 전에 비해 처치 1주 후에 유의한 차이를 보였다 ( $p < .05$ ).

<표 21> 피부 흡수 증강제를 추가한 crude extracts의 국부 처치  
전·후 신체 구성 성분의 변화

	처치 전				처치 1주 후			
	체중 (Kg)	체지방 율 (%)	제지방 (Kg)	지방량 (cm)	체중 (Kg)	체지방 율 (%)	제지방 (Kg)	지방량 (cm)
1	48.5 ±1.4	24.77 ±6.52	36.20 ±2.34	12.27 ±3.55	48.9 ±1.3	23.73 ±5.25	37.03 ±2.29	12.83 ±2.78
2	54.0 ±5.0	25.60 ±4.93	39.87 ±3.82	14.10 ±3.35	54.2 ±5.9	26.13 ±5.33	39.70 ±3.84	14.47 ±3.89
3	49.3 ±2.7	25.60 ±2.10	34.53 ±5.66	12.73 ±1.07	49.1 ±3.1	24.33 ±1.26	37.00 ±1.73	12.23 ±1.33
4	58.6 ±8.1	29.47 ±6.41	40.87 ±3.07	17.73 ±6.08	58.2 ±8.5	26.60 ±4.80	40.63 ±3.49	17.60 ±5.33
5	56.1 ±2.3	27.67 ±1.25	40.43 ±1.06	15.67 ±1.29	56.4 ±1.9	27.60 ±0.87	44.97 ±3.94	15.77 ±0.81
6	48.8 ±1.9	24.67 ±1.86	36.63 ±1.40	12.13 ±1.16	48.9 ±2.5	24.30 ±2.29	36.90 ±1.06	11.97 ±1.6
7	51.1 ±3.4	22.93 ±1.21	39.37 ±2.96	11.77 ±0.81	50.9 ±2.5	23.13 ±0.25	39.00 ±2.04	11.90 ±0.50
8	50.5 ±2.5	23.10 ±3.46	38.63 ±0.15	11.87 ±2.40	50.8 ±2.7	21.40 ±4.10	40.07 ±0.80	10.73 ±2.27
9	53.0 ±3.8	23.90 ±5.80	40.20 ±0.14	12.55 ±3.61	52.5* ±3.9	23.05* ±5.02	40.35 ±0.50	12.10 ±3.39
10	54.7 ±2.7	26.93 ±1.65	40.37 ±2.38	14.30 ±0.36	53.0 ±4.3	22.37 ±3.30	41.00 ±3.29	12.00 ±2.17
11	76.4 ±0.9	38.35 ±3.61	46.90 ±2.26	29.45 ±3.18	75.7 ±0.0	26.90* ±6.36	55.15 ±4.88	20.55* ±4.88

평균±표준 오차 \*p<.05

〈표 22〉 피부 흡수 증강제를 추가한 crude extracts의 국부 처치  
전·후 피하지방 두께의 변화

	처치 전					

평균±표준 오차 \*p<.05

<표 23> 피부 흡수 증강제를 추가한 crude extracts의 국부 처치  
전·후 신체 둘레의 변화

Group	처치 전			처치 1주 후		
	상완 둘레 (cm)	복부 둘레 (cm)	대퇴 둘레 (cm)	상완 둘레 (cm)	복부 둘레 (cm)	대퇴 둘레 (cm)
1	26.43 ±2.00	70.70 ±5.98	50.73 ±1.42	26.17 ±1.80	70.33 ±3.62	51.27 ±1.25
2	27.33 ±1.06	75.67 ±2.31	52.33 ±1.15	27.27 ±1.10	75.53 ±2.57	53.87 ±1.63
3	26.10 ±0.96	73.13 ±0.99	52.50 ±2.17	25.70 ±1.18	75.07 ±3.76	54.00 ±0.40
4	29.40 ±2.95	83.13 ±7.77	56.90 ±3.44	29.07 ±2.68	83.87 ±6.22	57.23 ±3.61
5	28.83 ±1.44	79.83 ±3.18	56.33 ±0.58	29.90 ±1.35	78.33 ±2.45	56.47 ±0.57
6	22.67 ±5.77	34.40 ±2.82	52.27 ±0.25	25.73 ±0.40	71.63 ±1.64	52.93 ±0.60
7	26.67 ±1.72	71.83 ±1.39	54.27 ±2.19	26.57 ±1.60	72.90 ±1.85	53.79 ±2.61
8	26.80 ±2.62	74.80 ±8.06	53.53 ±5.08	27.33 ±1.99	75.57 ±7.46	53.73 ±6.12
9	26.85 ±2.62	75.85 ±7.28	53.05 ±2.90	26.70 ±2.83	78.10 ±7.64	53.70 ±3.82
10	27.37 ±0.40	75.97 ±4.43	53.40 ±2.16	27.37 ±0.84	76.57 ±2.68	53.53 ±1.76
11	34.35 ±0.50	70.75 ±7.00	68.50 ±0.14	33.55 ±7.0171E-02	91.85 ±3.32	67.65 ±0.50

평균±표준 오차

<표 23>에서 보는 바와 같이 신체 둘레의 모든 항목에서 처치 전과 처치 1주 후간에 아무런 차이가 나타나지 않았다.

이상의 연구 결과를 요약하면,

- ①. 제품 종류에 상관없이 1번에서 11번 제품을 모두 합쳐 실험 전·후 체지방을 분석해 보면 체지방이 6.03%, 지방량은 6.86% 통계적으로 유의한 감소를 하였다.
- ②. 제품 11번 group(10% Olely alcohol의 피부 흡수 증강제 추가)에서 체지방율은 30.22%, 대퇴 두께에서는 9.44%로 통계적으로 유의한 감소를 하여 가장 효과가 있었다.
- ③. 체지방 감소 경향을 보인 sample은 1(10% PG + 1% Oleic acid), 3(10% PG + 1% Olely alcohol), 9(10% PG + 1% Dimethyl sulfoxide), 10(10% PG + 1% Urea) group이었다.

특히 olely alcohol을 crude extracts에 추가한 sample의 경우 처치 1주 후 30.22%의 체지방을 감소로 의외의 결과를 보였는데 소수의 비만자를 대상으로 임상 실험을 시행한 결과이며 대상이 비교적 다른 group에 비해 체중 및 비만도가 높았다. 따라서 보다 많은 인원을 대상으로 장기간에 걸쳐 비만 해소 효과를 검증할 필요가 있다.

(2). 다양한 피부 흡수 증강제를 추가한 sample의 피부 흡수 효과측정

(가). 연구 방법

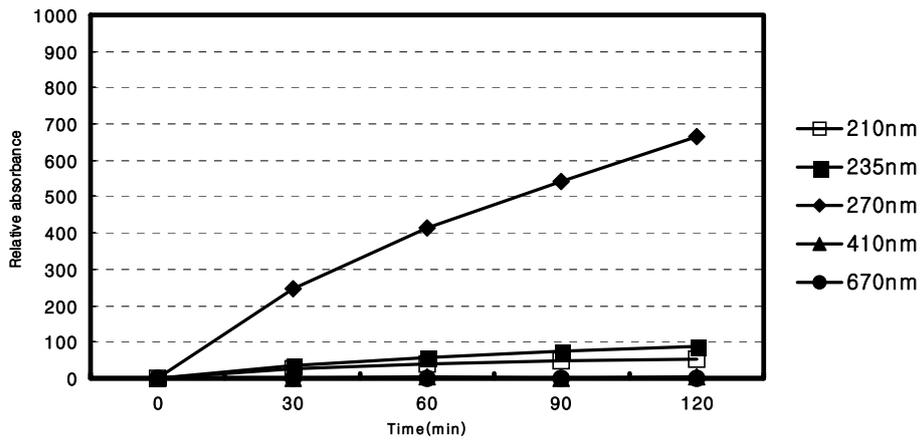
다양한 피부 흡수 증강제를 추가한 sample의 피부 흡수 효과측정은 앞에서 언급한 방법과 동일하다.

(나). 연구 결과

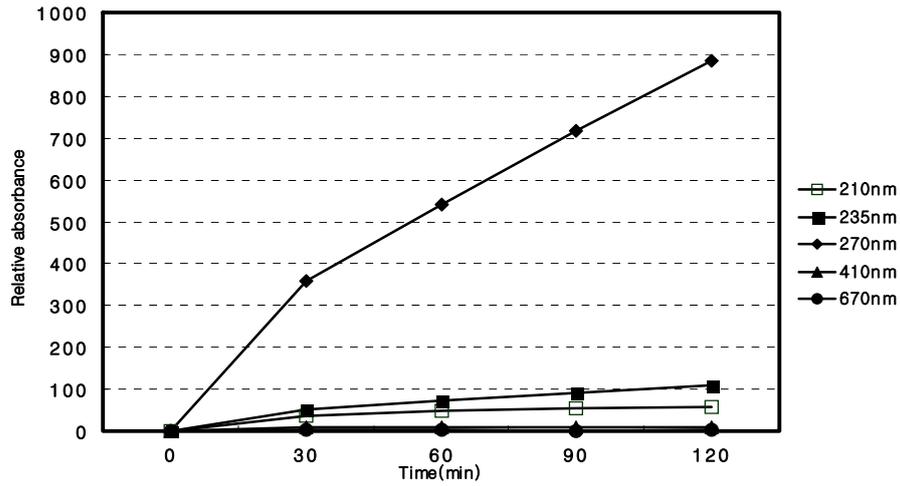
Skin penetration enhancer를 추가한 11가지 sample의 피하 지방층의 흡수 효과를 시간 변화에 따라 경피 표면 쪽[S]와 stratum

corneum의 안쪽[C]에서 흡수 spectrum을 측정한 결과, 각각의 sample에서 경피 표면 쪽과 stratum corneum의 안쪽 모두 210, 235, 270, 410, 670nm에서  $\lambda_{max}$ 의 major peak가 관측되었으며 경피 표면 쪽은 시간이 지남에 따라 모든 peak가 감소되었다. 한편 stratum corneum의 안쪽에서는 모든 peak값이 시간이 경과됨에 따라 증가되었는데, 이 결과는 경피 표면 쪽에서 stratum corneum 안쪽으로 아직은 밝혀지지 않은 미지의 organic compound가 시간이 지남에 따라 흡수율이 더 커짐을 시사하고 있다. 특히 임상에서 비만 해소 효과가 가장 좋은 11번 sample(10% oleyl alcohol을 추가)에서 경피 표면 쪽에서 모든 peak값이 시간이 지남에 따라 감소하고, stratum corneum 쪽에서 peak값의 증가폭이 가장 크게 나타났다. <그림 12>는 skin penetration enhancer를 추가하지 않은 sample의, <그림 13>은 10% oleyl alcohol을 추가한 sample의 stratum corneum 안쪽에서 시간이 경과함에 따른 성분의 흡수 spectrum의  $\lambda_{max}$ 값을 plot한 예를 보인 것이다. 210, 235, 270, 410, 670nm에서 시간이 경과함에 따라 증가되는 경향을 보였고 235nm에서는 큰 폭으로 증가됨을 알 수 있었는데 전반적으로 10% oleyl alcohol의 enhancer를 추가한 sample에서 증가의 폭이 컸으며 270nm에서는 120분 후 control에 비해 relative absorbance가 더욱 증가됨을 알 수 있었다.

다양한 해조류와 solvent를 사용하여 추출 시간, 온도 등의 조건에서 추출한 결과, 30% ethanol/sea water를 solvent로 하여 추출한 crude extract와 80% ethanol/sea water를 solvent로 하여 추출한 crude extracts를 혼합하여 제작한 것이 비만 해소 효과가 가장 좋으며 피부 흡수 증강제를 추가함으로써 이들의 효과가 증가됨을 알 수 있었다.



<그림 12> 미역·다시마를 30% ethanol/sea water + 80% ethanol /sea water로 추출한 crude extract가 stratum corneum 안쪽으로 시간에 따라 흡수되는 absorption spectrum의 relative absorbance 변화



<그림 13> 미역·다시마를 30% ethanol/sea water + 80% ethanol /sea water로 추출한 후 oleyl alcohol을 추가한 crude extracts가 stratum corneum 안쪽으로 시간에 따라 흡수되는 absorption spectrum의 relative absorbance 변화

## 8. 결론

해조류 추출물의 성분은 유기 용매의 종류에 따라 새로운 물질의 발현보다는 구성 물질간의 조성 변화를 가져왔다. 다양한 해조류와 solvent를 사용하여 crude extracts를 추출하고 gel type화한 후 비만인을 대상으로 비만부위에 한 달 동안 국부 처치한 결과, 미역·다시마를 30% ethanol/sea water를 solvent로 하여 추출한 crude extracts가 다른 solvent나 해조류로 추출한 crude extracts의 경우보다 높은 8%의 체지방을 감소 효과가 있었다. 또한 혈액 성분 중에서 TG, Insulin, HDL의 증가, LDL의 감소가 관찰되었으며 피하지방 두께도 유의한 감소를 보였다. 한달 동안 해조류 crude extracts를 국부 처치하면서 동시에 정기적인 운동을 병행했을 때의 임상 실험에서는 20%의 체지방을 감소와 피하지방 두께, 신체 둘레에서 유의한 감소를 보였다. 혈청 지질 성분에서는 cholesterol, LDL의 감소와 HDL등의 증가하였는데, 이러한 결과는 해조류 추출물을 국부 처치했을 때 비만 해소 효과의 유효성을 입증해주고 있다. 해조류 crude extracts 중 비만 해소 유효 성분을 알기 위해 미역·다시마의 crude extracts를 phase분리법으로 분리한 후 UV/Visible spectrophotometer로 분석한 결과 다당류를 제외한 water soluble 성분과 ethanol soluble 성분은 210, 270, 410, 666nm에서 흡수 특성을 보였고, semi-prep HPLC 분리실험에서는 각각 2개, 6개의 subfraction으로 분리되었다. Glycerol-kit을 이용해 분리된 성분의 지방세포 분해 실험에서는 ethanol soluble 성분에서 2개 fraction과 water soluble 성분에서 1개의 fraction이 각각 지방 분해 효소인 lipase의 활성화에 관계하는  $\beta_3$ -adrenergic receptor의 agonist로서의 activity를 보였다. 저분자량의 alginate

fragment는 *in vitro* 실험에서는 위와 같은 동일한 효과를 보이지 않았으나 각 지방 분해 유효 성분별로 국부 처치 한 임상 실험에서는 비만 해소 효과가 관찰된 것으로 보아 alginate fragment는 직접적인 지방 분해 효과는 없으나 피부로 흡수된 후 지방산, 물과 결합하여 체외로 배출함으로써 지방 대사에 영향을 주는 것으로 사료된다. 실제로 해조류 crude extracts의 피부 조직을 통한 흡수 효과 실험에서는 270nm 흡수 성분을 비롯한 비만 해소 유효 성분이 20-30분내에 피부로 흡수됨이 관찰되었다. 30% ethanol/sea water 와 80% ethanol/sea water를 solvent로 하여 각각 추출한 crude extracts를 혼합하고 다양한 피부 흡수 증강제를 첨가하여 만든 sample의 임상 실험과 유효 성분의 피부 흡수 효과를 측정한 결과, 비만 해소 효과가 더욱 증진됨을 알 수 있었다. Olely alcohol을 crude extracts에 추가한 sample의 경우 처치 1주 후 30.22%의 체 지방을 감소로 의외의 결과를 보였는데 소수의 비만자를 대상으로 임상 실험을 시행한 결과이므로 보다 많은 인원을 대상으로 검증할 필요가 있었다. 현재, 보다 폭넓은 연령층과 많은 인원수의 비만인을 대상으로 장기간에 걸쳐 임상 실험 중에 있으며 해조류를 이용한 국부 처치용 비만 해소 제품 개발을 위한 추출 방법, formulation과 기기 설비 및 생산을 위한 공장의 설계가 정착되었다.

## 제 4 장. 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

### 1. 연구 개발 목표의 달성도

- (1). 각종 유기 용매를 이용한 해조류 crude extracts의 비만 해소 효과 임상 실험
  - 30% ethanol/sea water 추출한 해조류 crude extracts를 국부 처치 시 임상적 비만 해소 효과의 유효성 확립.
- (2). 선정된 crude extracts에 대한 비만 해소 유효 성분의 분리·정제
  - 30% ethanol/sea water extracts 중 2 가지 water soluble 성분, 6가지의 ethanol soluble 성분의 semi-prep scale HPLC 분리법 확립.
- (3). 정제된 비만 해소 주효 성분의 생화학적 작용 기작
  - 2개의 ethanol soluble 성분과 1개의 water soluble 성분에서 지방 분해 효소의 활성화에 관계하는  $\beta_3$ -adrenergic receptor agonist activity를 확인하였고, 혈액 성분 중 지방 분해 산물인 TG의 증가와 LDL의 감소가 확인.
- (4). 피부 흡수 증강제를 추가시킨 비만 해소용 국부 처치 시제품의 제작과 임상 실험
  - 해조류 crude extracts와 비만 해소 주효 성분에 피부 흡수 증강제를 추가했을 때 *in vitro* 실험에서 이들의 피부 흡수의 상승 효과와 임상 실험을 통한 비만 해소

유효성을 확인하고 산업화를 위한 해조류를 이용한 비만  
해소제의 formulation 정착.

## 2. 관련 분야의 기술 발전에의 기여도

### 가. 기술적 측면

- (1). 용제에 따른 해조류 추출법의 개발.
- (2). 해조류 추출물에서 지방 분해 작용 기작의 원리 확립.
- (3). HPLC를 이용한 해조류 추출물의 분리법(semi-prep scale column 분리법) 확립.
- (4). 해조류 추출물의 다당류 분리법, 특히 알긴산의 고순도 분리와 산분해에 따른 저분자량화 기법 확립.
- (5). 피부 흡수를 증가시키는 제재 기술 확립.
- (6). 해조류 추출의 대량 생산법 확립.

### 나. 경제·산업적 측면

- (1). 해조류의 새로운 활용 분야 개척. (해조류 가공)
- (2). Alginate 관련 사업의 기반 기술 확립. (의료, 식품, 생물공학, 섬유 산업 진출)
- (3). 기능성 화장품 또는 의약품 사업의 새로운 영역 확보.
- (4). 해조류 양식과 이용의 활성화에 따른 어업인 소득 증가.

## 제 5 장 . 연구 개발 결과의 활용 계획

1. 특정 부위에 저장된 지방을 선택적으로 분해하는 해조류를 이용한 새로운 기능성 화장품 생산으로의 사업화 추진을 위하여 과제 종료와 동시에 연구 개발 기술을 이전할 예정이다.
2. 해조류를 이용한 기능성 건강 보조 식품의 개발 및 비만 해소 유효 성분을 이용한 경구 투여용 비만 해소제, 발모제를 개발하여 사업화 할 예정이다.
3. Alginate 정제 기술이 확립되므로 이를 활용한 조직 공학적 세포 배양 및 조직 재생 device 제작에 활용, dressing, drug-encapsulation 사업화를 위해 추가로 가공 기술을 연구하여 의약 분야로 사업화를 유도한다. 이 분야는 미국, 일본, 영국 등이 앞서 있으나 아직 개발 단계이므로 우리 나라에서도 이의 사업화가 시급하다.
4. 해조류에서 확립된 생리 활성 추출 및 분리법을 타 천연물 분리에 활용할 수 있을 것이다.

## 제 6 장. 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

### 1. 연구 사례의 조사

#### (1). 외국의 경우

주로 알긴산은 장내에서 지방산과의 결합에 의해 체외 배설됨으로써 체지방의 감소를 가져온다는 결과 보고가 있다. 그 밖에 타우린이 지방 대사에 영향을 미쳐 지방간도 감소하면서 지방 대사를 촉진시킨다는 보고가 있다.

#### (2). 국내의 경우

- ①. 알긴산을 쥐에게 사료로 dieting한 실험에서 체중의 감소를 유발한다는 보고가 있다.
- ②. 소수의 연구 단체에서 해조류로부터 항균, 항암, 노화 방지 물질을 분리, 개발하는 기술을 연구 중이며, 일반적인 추출 기술은 다시마 추출물의 이용에서 활발히 진전되었다.

#### (3). 조사 연구 개발 사례에 대한 평가

해조류 추출물을 slimming을 위해 국부 처치로 피부에 바르는 제품이 외국에서 개발 중이거나 비슷한 제품이 인터넷에 소개되고 있으나 지방 분해에 의한 체지방 감소에 대한 연구는 없는 실정이다. 즉 gross한 효능만을 전제로 하여 제품을 생산할 뿐 과학적인 작용 기작과 주요 성분의 실체에 대한 연구가 없다.

## 제 7 장. 참고 문헌

1. 김성수. 운동생리학 서울: 도서출판 대경 1995.
2. Greenway, F.L., Bray, G.A., Herber, D. *Obes Res* 1995, suppl 4, 561-568.
3. Kimura, Y. *et al.* Effects of soluble sodium alginate on cholesterol excretion and glucose tolerance in rats. *J Ethnopharmacol* 1996, Oct.
4. A.S. Sandberg, H. Andersson, I. Bosaeus, N.G. Carlsson, K. Hasselblad and M. Harrod. Alginate, small bowel sterol excretion, and absorption of nutrients in ileostomy subjects *Am J Clin Nutr* 1994, **60:5**, 751-757.
5. Zec, S. *Med Arh* 1991, **45**, 113-114.
6. 최진호 외 5인. 비만억제 작용에 미역 성분의 용량의존성 체중 사료 및 에너지 효율 대사 체중에 대한 영향. 제1권 제2호. 한국노화학회지, 1991.
7. 최진호. 한국수산 신보사, 수산양식 9월호, 1996.
8. Obinata, K., Maruyama, K., Hayashi, M. Effect of taurine on the fatty liver of children with simple obesity. *Adv Exp Med Biol* 1999, **403**, 607-613.
9. Arthur, J.R. *et al.* Selenium and iodine deficiencies and selenoprotein function. *Biomed Sci* 1997, Sep, **10**, 2-3.
10. Granneman, J.G. *et al.* Selective upregulation of alpha<sub>1</sub>-adrenergic receptor protein and mRNA in brown adipose tissue by neural and beta 3-adrenergic stimulation. *Mol*

*Pharmacol* 1997, Apr.

11. Furn, C.A. Prevention and control of iodine deficiency: a review of a study on the effectiveness of oral iodized oil in Malawi. *Eur J Clin Nutri* 1997, Nov.
12. Mitchell, J.H. *et al.* Selenium and iodine deficiencies: effects on brain and brown adipose tissue selenoenzyme activity and expression. *J Endocrinol* 1997, Nov.
13. Battistini, N., F. Virgili, S. Severi, P. Relative expansion of extracellular water in obese vs. normal children. *J Appl Physiol* 1995, Jul, **79:1**, 94-96.
14. Mazariegos, M., Waki, M. Body composition and surgical treatment of obesity. *Ann Surg* 1992, Jul, **216**, 69-73.
15. Waki, M., Kral, M. Relative expansion of extracellular fluid in obese vs. non-obese women. *Am J Physiol* 1991, **261**, E199-203.
16. Avershina, E.O. *et al.* Hormonal regulation of sodium excretion by the kidneys during hunger therapy of obese patients. *Probl Endokrinol* 1992, Mar, **38:2**, 22-24.
17. Heitmann, B.L. Prediction of body water and fat in adult Danes from measurement of electrical impedance. A validation study. *Int J Obes* 1990, Sep, **14:9**, 789-802.
18. Jensen, M.D. *et al.* Measurement of body potassium with a whole-body counter: relationship between lean body mass and resting energy expenditure. *Mayo Clin Proc* 1988, Sep, **63**, 864-868.

19. Kikuchi, K. *et al.* The pathophysiological role of water sodium balance and renal dopaminergic activity in overweight patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 1988, 1:1, 31-37.
20. 최진호. 한국수산 신보사, 수산양식 9월호, 1996.
21. Jeffrey Friedman and Jeffrey Halas, Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998, 395, 763-770.
22. Burns, T.W., Langley, P.E., *J Lab Clin Med* 1970, 75, 983-987.
23. Carey, G.B. *Adv Exp Med Biol* 1998, 441, 157-170.
24. Arch, J.R.S., Ainsworth, A.T., Cawthorne, M.A., Piercy, V., Sennit, M., Thody, V., Wilson, C., Wilson, S. *Nature* 1984, 309, 163-165.
25. Tsunekazu Umekawa, T. Yoshida and M. Kondo. *Endocrine J* 1997, 44, 181-185.

## 주 의

1. 이 보고서는 해양수산부에서 시행한 수산특정연구개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 해양수산부에서 시행한 수산특정연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.