

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2010년 9월 23일 (23.09.2010)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2010/107177 A2

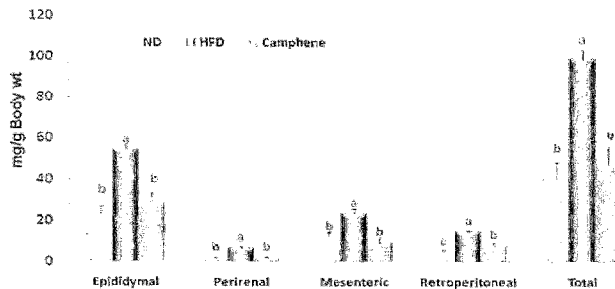
- (51) 국제특허분류:
A61K 31/015 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2009/007905
- (22) 국제출원일: 2009년 12월 29일 (29.12.2009)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2009-0022937 2009년 3월 18일 (18.03.2009) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 연세대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) [KR/KR]; 서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세대학교, 120-749 Seoul (KR).
- (72) 발명자: 곽
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 박태선 (PARK, Tae-sun) [KR/KR]; 서울특별시 서대문구 연희동 740 번지 성원아파트 104 동 1903 호, 120-110 Seoul (KR).
- (74) 대리인: 양부현 (YANG, Boo-Hyun); 서울특별시 관악구 인현동 1659-2 청동빌딩 301 호, 151-832 Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTION OR TREATMENT OF OBESITY, DYSLIPIDEMIA, FATTY LIVER OR INSULIN RESISTANCE SYNDROME COMPRISING CAMPHENE AS ACTIVE INGREDIENTS

(54) 발명의 명칭: 캄펜을 유효성분으로 포함하는 비만, 이상지방혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 또는 치료용 조성물

도 3



Different letters above the bar exhibit significant difference at $P < 0.001$ by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for prevention or treatment of obesity, dyslipidemia, fatty liver or insulin resistance syndrome comprising camphene as active ingredients. The composition comprising camphene as active ingredients according to the present invention suppresses adipocyte differentiation and reduces the body fat mass, amount of visceral fat, total cholesterol concentration and triglycerides in plasma and liver tissues, which ultimately leads to the prevention or treatment activity in obesity, hyperlipidemia or fatty liver. In addition, the composition of the present invention induces a significant reduction in fasting blood sugar and serum insulin levels to thus improve Type 2 diabetes or insulin resistance as well as metabolic diseases associated therewith. Moreover, the composition of the present invention significantly reduces the expression of nuclear transcription factors (C/EBP α and PPAR γ 2) and a target gene (ap2) thereof, which play pivotal roles in generation of adipose tissues in visceral adipose tissues, thereby exerting suppression effects on the amount of visceral fat, and the expression of cytokine (TNF- α or IL-6) that activates inflammation, thereby improving chronic inflammatory

[다음 쪽 계속]



WO 2010/107177 A2

**공개:**

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

activation induced by obesity in visceral adipose tissues. Further, the composition of the present invention increases the expression of UCP (UCP1 or UCP3) genes that regulate heat generation in vivo, thereby improving the phenomenon of inhibition on heat generation induced by obesity in visceral adipose tissues.

(57) 요약서: 본 발명은 캄펜을 유효성분으로 포함하는 비만, 이상지방혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 캄펜을 유효성분으로 포함하는 조성물은 지방세포 분화의 억제, 체지방량의 감소, 내장 지방량의 감소, 총콜레스테롤 농도의 감소, 혈장 중성지방 및 간조직 중성지방의 감소를 초래하여, 궁극적으로 비만, 고지혈증 또는 지방간의 예방 또는 치료 활성을 나타낸다. 또한, 본 발명의 조성물은 공복시 혈당 및 혈중 인슐린 농도의 유의한 감소를 초래하여 제 2형 당뇨병 또는 인슐린 저항성을 개선하는 효과 및 이와 밀접하게 관련된 대사질환을 개선하는 효능도 발휘한다. 또한, 본 발명의 조성물은 내장지방 조직에서 지방조직의 생성에 중추적 역할을 하는 핵전사 인자(C/EBP α 와 PPAR γ 2) 및 이의 타겟 유전자(aP2)의 발현을 유의적으로 감소시켜 내장 지방량 억제 효과를 가지고, 염증을 활성화시키는 사이토카인(TNF- α 또는 IL-6)의 발현을 유의적으로 감소시켜 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 만성적 염증활성화의 개선 효과를 나타내며, 생체내 열발생을 조절하는 UCPs(UCP1 또는 UCP3) 유전자 발현을 증가시킴으로써, 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 열 발생 저해현상의 개선 효과를 나타낸다.

【명세서】

【발명의 명칭】

캠펜을 유효성분으로 포함하는 비만, 이상지방혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 또는 치료용 조성물

5 【기술 분야】

본 발명은 캠펜을 유효성분으로 포함하는 비만, 고지혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

【배경 기술】

10 생활환경의 변화에 의해 현대인들의 내장지방형 비만이 증가하면서 당뇨병, 고혈압, 지질대사이상, 인슐린저항성 등을 수반하는 대사질환(metabolic disease)의 발병이 급증하고 있다. 이들 질환은 상호간의 발생위험을 증가시키며, 노화, 스트레스 및 면역기능저하 등의 다원적인 생체대사변화와 관련이 있는 공통 질환이다.

15 2005년 국민건강·영양조사결과에 의하면 20세 이상 한국성인의 32%가 비만으로 나타났다(성인남자의 35.2%, 여자의 28.3%). 한국인의 소아비만 발병률도 최근 급증하고 있으며, 2005년에는 초등학교생의 11.3%, 중학생 10.7%, 고등학생 16%가 비만으로 분류되었으며($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$), 과체중($BMI \geq 23 \text{ kg/m}^2$) 또는 비만청소년의 17%가 대사질환을 나타냈다.

20 이와 같은 과체중 및 비만인구의 증가는 만성질환 유병률 증가로 이어지는데, 그 예로 2005년 30세 이상 한국인의 고혈압(남자 30.2%, 여자 25.6%), 당뇨병(남자 9.0%, 여자 7.2%), 그리고 고콜레스테롤혈증 유병률(남자 7.5%, 여자 8.8%)이 모두 다른 나라에 비해 매우 높게 나타나고 있다. 2005년, 당뇨병으로 인한 사망률은 한국인의 경우 인구
25 100,000명당 35.5명으로, 일본 (5.9명), 영국 (7.5명), 또는 독일 (16.6명)에 비해 3-7배 이상 높은 것으로 조사되었다. 한국인의 당뇨병 환자수의 증가추이를 살펴보면, 3,000,000명이고, 2030년에는 5,450,000명으로 증가할 것으로 예측되는데, 이는 곧 한국인의 10%가 당뇨병환자가 된다는 것을 의미한다.

30 보건사회연구원의 통계에 따르면, 2006년 비만 및 비만합병증으로 인한 사회경제적 손실은 진료비와 치료에 따른 소득손실 등 간접비용까지

합해 총 2조 1천억원으로 추정된다. 이에 따라 정부는 성인비만율을 20% 이하, 그리고 청소년 비만율을 15% 이하로 낮추는 것을 2010년 국민건강증진의 주요 목표로 설정하고, 목표달성을 위한 시행전략으로 비만과 대사질환에 대한 정확한 정의와 측정방법을 모색키로 한 바 있다.

5 주요 비만치료제로서 효능을 가진 제품들이 수입되어 국내에서 다량으로 판매되고 있는데, 그 중에서도 제니칼, 리덕틸, 엑소리제 같은 항비만제품들이 널리 알려져 있다. 올리스타트(orlistat)를 주원료로 하는 제니칼은 세계최초의 비만치료제로서 리파아제의 작용을 억제하여 지방흡수를 억제시키고, 총콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤 농도를
10 감소시키는 효과가 있으며, 혈당 개선효과 및 혈압 저하효과를 보인다. 시부트라민(sibutramine)을 주원료로 하는 리덕틸은 1997년 FDA의 승인을 받아 세계 30여개 국가에서 판매 중인 제품으로 교감신경계의 세로토닌과 노르아드레날린을 고농도로 유지하여 교감신경흥분, 식욕저하 및 포만감을 유도하는 효능이 있다. 마지막으로 엑소리제는 프랑스에서 수입되는
15 비치방 반제품이며, 열발생을 증가시켜 신체의 기초대사량을 높여주고, 리파제활성을 억제시켜 장내 지방흡수를 30% 정도 감소시키며, 노르아드레날린 생성을 증가시킴으로써 에너지 소모량을 증가시키는 작용이 있다.

비만은 식사요법, 운동요법과 행동수정요법을 병행해야 최상의
20 치료효과를 거둘 수 있지만, 이러한 방법은 시간과 노력이 많이 소요되고 실행이 어렵기 때문에 비만치료제 또는 다이어트제품이 많이 이용되고 있다. 그러나 현재 비만 치료제로서 이용되고 있는 올리스타트는 지방변, 장내가스발생, 복부팽만감 등의 부작용이 있고, 시부트라민은 두통, 구갈, 식욕부진, 불면, 변비 등의 부작용이 알려져 있다. 또한 올리스타트는
25 비타민 E와 비타민 D의 흡수를 억제하고, 펜터민(phentermine)과 시부트라민은 심박수 증가, 심계항진 또는 현기증을 초래하는 부작용이 있다.

당뇨병은 인슐린 작용부족으로 고혈당을 비롯한 대사이상이 지속되어 혈관합병증 발병가능성이 높은 질환으로 노령화와 생활습관의 변화로
30 환자수가 꾸준히 증가하는 추세이다. 1985년 전 세계 당뇨병환자의 수는 3,000만 명이었으나 2010년경이면 약 2억 2천만 명으로 늘어날 것으로

예상되며, 특히, 향후 산업화된 국가의 경우 당뇨병환자의 수가 인구의 10%에 이를 것으로 추정하고 있다. 한국과학기술기획평가원의 자료에 따르면, 2005년 당뇨치료제의 세계 시장은 약 118억 달러로 전년대비 12% 증가 하였으며, 미국의 혈당측정, 인슐린 시장은 2004년 26억 달러, 2005년 5 30억 달러로 전년대비 15%이상 증가하였다. IDF 보고서에 따르면 세계 당뇨병치료제 시장은 2025년까지 약 25% 증가할 것으로 예상되었으며, ADA 보고서에 따르면 2002년 미국의 제2형 당뇨병에 의한 간접, 직접의료비는 1,320억 달러 이상으로 추측되고 있다.

현행 제2형 당뇨병의 경우 약물치료법을 살펴보면, 재평가된 10 메트포르민(metformin)과 티아졸리딘디온(thiazolidinedione, TZD)계열의 약물이 상당한 유용성을 보이고 있으나, 인슐린저항성 발생 등 당뇨병의 근본적 원인 치료에는 이르지 못하고 있으며, 여러 부작용 또한 보고되고 있어 인슐린저항성을 근본적으로 해결할 수 있는 보다 효능이 우수하고 안전한 약물의 개발이 필요하다. 현재 당뇨병 치료의 궁극적인 15 치료목표는 지속적으로 혈당의 정상화를 유지하는 것이다. 이는 대부분의 당뇨합병증이 지속적인 고혈당에 의한 대사부전에 기인되며, 동물 및 임상에서 엄격한 혈당조절에 의해 합병증이 예방, 지연될 수 있다는 여러 실험예로부터 알 수 있다. 임상에서 사용되는 당뇨치료제는 크게 1) 인슐린분비를 촉진시키는 약물, 2) 인슐린수용체의 감수성을 증강시키는 20 약물, 3) 당분해를 억제하여 흡수를 억제하는 약물로 대별된다. 인슐린제제는 생체내의 인슐린과 동일한 생리작용을 나타내나 주사로 투여해야 하는 불편함이 있고 인슐린 내성이 문제가 되며, 설폰닐우레아(Sulfonylurea)계 약물(글리벤클라미드(glibenclamide), 글리피지드 (glipizide), 글리퀴돈(gliquidone) 등)은 경구용이고 약가가 25 저렴하나 저혈당증 유발, 인슐린 분비능 상실 등의 문제가 있고, 비구아니드(Biguanide)계 약물(메트포르민(metformin), 펜포르민(phenformin) 등)은 위장장애 및 신장독성 등을 문제 삼고 있으며, 글리타존(Glitazone)계 약물(트로글리타존(troglitazone), 피오글리타존(pioglitazone), 로시글리타존(rosiglitazone) 등)은 심부전, 빈혈 등의 30 부작용을 호소하거나 간부전으로 판매 금지되는 등 안전성과 약효가 동시에 확보될 수 있는 의약품의 개발이 절실한 상황이다.

이와 같이 합성의약품의 부작용과 만성질환의 극복에 서양의학이 한계를 보임에 따라 천연물 신약에 대한 가치가 새롭게 부각되고 있다. 이에 본 발명자들은 자생식물로부터 비만을 억제하는 활성물질을 탐색하는 과정에서 다양한 식물에 함유되어 있는 모노테르펜류 화합물인 캠펜에 주목하게 되었다.

캠펜(Camphene)은 로즈마리, 녹나무, 육두구, 강황, 박하, 생강, 소나무, 후박나무, 사상자 등에 포함된 모노테르펜(monoterpene)류의 식물성 정유성분이며, 구조식은 $C_{10}H_{16}$ 이고, 분자량은 136.2이다. 캠펜의 주요 용도는 예로부터 음식의 착향료로 사용되어 왔다. 캠펜의 생리활성을 밝힌 최근 연구논문에 의하면 캠펜의 항산화, 항염증 및 항균기능이 보고되었다(Antioxidative properties of the essential oil from *Pinus mugo*, *J Agric Food Chem*, 51(26): 7576-7582, 2003). 마우스 대식세포(RAW 264.7 macrophage cells)에서 캠펜은 염증유발인자인 NF- κ B 활성을 억제함으로써 항염증효능이 있음이 증명되었다(Anti-inflammation activity of fruit essential oil from *Cinnamomum insularimontanum* Hayata, *Bioresource Technology* 99: 8783-8787, 2008). 또한, 캠펜은 그람 양성 박테리아, 그람 음성 박테리아 및 균류(fungi)의 성장을 저해함으로써 항균작용을 나타냄이 밝혀졌다(Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from cones of *Pinus koraiensis*, *J Microbiol Biotechnol*, 18(3): 497-502, 2008). 캠펜은 현재 KFDA 식품첨가물 데이터베이스에 착향료의 용도로 등재되어 있어 식품 첨가물로 사용이 가능하다.

미국 특허 제7071195호는 뉴로펩타이드 Y Y5의 리간드 작용을 하는 아민 및 아미드 유도체를 이용하여 비만을 치료하는 방법이 개시되어 있다. 미국 특허 제7022722호는 당뇨, 고지혈 또는 비만을 치료하기 위한 티아졸리딘디온 유사체를 개시하고 있다.

미국 특허 제6987131호는 페닐아세틸글루타민, 페닐아세틸이소글루타민 또는 페닐아세트산을 포함하는 고지혈 치료용 조성물을 개시하고 있다. 미국 특허 제6942967호는 동맥경화증, 고지혈증, 비만 및 당뇨병 치료 타겟으로서의 apobec-1 단백질을 개시하고 있다.

본 명세서 전체에 걸 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

5

【발명의 상세한 설명】

본 발명자들은, 비만, 이상지방혈증 및/또는 지방간 등을 포함하는 대사질환에 예방 또는 치료 활성을 갖는 천연물질을 개발하고자 노력하였다. 그 결과 다양한 식물에 포함된 캠펜이 상기의 활성을 갖는다는 사실을 10 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

따라서 본 발명의 목적은 캠펜을 유효성분으로 포함하는 비만, 이상지방혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

본 발명의 다른 목적은 비만, 이상지방혈증(dyslipidemia), 지방간 15 및 인슐린 저항성 증후군(insulin resistance syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disease)의 예방 또는 치료 방법을 제공하는데 있다.

본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 20 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

본 발명의 일 양태에 따르면, 캠펜(camphene)을 유효성분으로 포함하는 비만, 이상지방혈증(dyslipidemia), 지방간 및 인슐린 저항성 증후군(insulin resistance syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 25 대사질환(metabolic disease)의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 유효성분으로서 캠펜(camphene)을 포함하는 조성물을 대상(subject)에 투여하는 단계를 포함하는 비만, 이상지방혈증(dyslipidemia), 지방간 및 인슐린 저항성 30 증후군(insulin resistance syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disease)의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

본 발명자들은, 비만, 이상지방혈증 및/또는 지방간 등을 포함하는 대사질환에 예방 또는 치료 활성을 갖는 천연물질을 개발하고자 노력하였다. 그 결과 다양한 식물에 포함된 캠펜이 상기의 활성을 갖는다는 사실을 발견하였다.

하기 실시예에서 입증된 바와 같이, 캠펜은 지방세포 분화 억제, 체지방량의 감소, 내장 지방량의 감소, 총 콜레스테롤 농도의 감소, 혈장 중성지방 및 간조직 중성지방의 감소를 초래하여 고지방 식이로 유도된 비만 현상을 현저히 완화하는 효능을 발휘한다. 또한, 캠펜은 공복시 혈당 및 혈중 인슐린 농도의 유의한 감소를 초래하여 제2형 당뇨 또는 인슐린 저항성을 개선하는 효과 및 이와 밀접하게 관련된 대사성 염증반응을 개선하는 효능도 발휘한다.

본 명세서에서 사용되는 용어 “이상지방혈증”은 고지혈증을 포함하는 개념으로, 혈액내의 지방수치 증가로 나타나는 고콜레스테롤혈증, 고중성지방혈증, 낮은 HDL-콜레스테롤혈증 외에도 지단백의 대사이상 등의 문제로 나타나는 비정상적 지질상태를 의미한다.

본 명세서에서 사용되는 용어 “고지혈증”은 중성 지방과 콜레스테롤 등의 지방대사가 제대로 이루어지지 않아 혈액 중에 지방량이 많아 유발되는 질환을 말한다. 보다 구체적으로 고지혈증이란 혈액내의 중성지방, LDL 콜레스테롤, 인지질 및 유리 지방산 등의 지질 성분이 증가된 상태로 발생빈도가 높은 고콜레스테롤혈증 또는 고중성지방혈증을 포함한다.

본 명세서에서 사용되는 용어 “지방간”은 간의 지방대사 장애로 지방이 간세포에 과도한 양으로 축적된 상태를 말하며, 이는 협심증, 심근경색, 뇌졸중, 동맥경화, 지방간 및 췌장염 등과 같은 다양한 질병의 원인이 된다.

본 명세서에서 사용되는 용어 “당뇨병”은 포도당-비관용(intolerance)을 초래하는 인슐린의 상대적 또는 절대적 부족으로 특징되는 만성질환을 의미한다. 용어 당뇨병은 모든 종류의 당뇨병을 포함하며, 예를 들어, 제1형 당뇨, 제2형 당뇨 및 유전성 당뇨를 포함한다.

제1형 당뇨병은 인슐린 의존성 당뇨병으로서, β -세포의 파괴에 의해 주로 초래된다. 제2형 당뇨병은 인슐린 비의존성 당뇨병으로서, 식사 후 불충분한 인슐린 분비에 의해 초래되거나 또는 인슐린 저항성에 의해 초래된다.

5 본 명세서에서 사용되는 용어 “인슐린 저항성”은 혈당을 낮추는 인슐린의 기능이 떨어져 세포가 포도당을 효과적으로 연소하지 못하는 것을 말한다. 인슐린 저항성이 높을 경우, 인체는 너무 많은 인슐린을 만들어 내고 이로 인해 고혈압이나 이상지방혈증은 물론 심장병, 당뇨병 등까지 초래할 수 있다. 특히 제2형 당뇨병에서는 근육과 지방조직에서 인슐린의
10 증가를 알아채지 못하여, 인슐린의 작용이 일어나지 않는다.

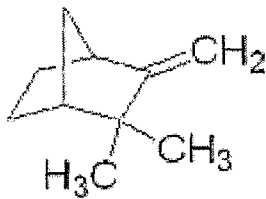
 본 명세서에서 사용되는 용어 “인슐린 저항성 증후군”은 상기 인슐린 저항성에 의하여 유발된 질환을 총칭하는 개념으로 인슐린 작용에 대한 세포의 저항성, 고인슐린혈증, 초저밀도지단백(very low density lipoprotein, VLDL)과 중성지방의 증가, 고밀도지단백(high density lipoprotein, HDL)의 감소 및 고혈압 등을 특징으로 하는 질환을 의미하며,
15 심혈관질환과 제 2형 당뇨병의 위험인자로 인식되고 있는 개념이다(Reaven GM., Role of insulin resistance in human disease, *Diabetes*, 37:1595-607(1988)). 또한 인슐린 저항성은 고혈압, 당뇨, 흡연 등의 위험인자들과 함께 세포 내 산화스트레스를 증가시키고 신호전달체계를
20 변화시켜 염증반응을 유발하여 죽상경화증을 진행시킨다고 알려져 있다(Freeman BA et al., *Biology of disease: free radicals and tissue injury, Lab. Invest.* 47:412-26(1982), Kawamura M et al., Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent
25 pathway, *J. Clin. Invest.* 94:771-8(1994)).

 본 명세서에서 사용되는 용어 “대사질환”은 각종 심혈관 질환과 제 2형 당뇨병의 위험 요인들이 서로 균집을 이루는 현상을 한 가지 질환군으로 개념화시킨 것으로 인슐린 저항성 및 이와 관련된 복잡하고 다양한 여러 대사 이상과 임상 양상을 모두 포괄하여 의미하는 개념이다.
30 1988년 Reaven은 이러한 증상들의 공통적인 원인이 체내의 인슐린 작용이 잘 되지 않는 인슐린 저항성임을 주장하고 인슐린 저항성 증후군이라고

명명했으나 1998년 세계보건기구(WHO)는 인슐린 저항성이 이 증상들의 모든 요소를 다 설명할 수 없기에 대사증후군 또는 대사질환이라는 용어를 도입하였다.

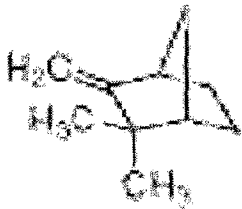
본 발명의 유효성분인 캬펜은 로즈마리, 녹나무, 옥두구, 강황, 박하, 5 생강, 소나무, 후박나무, 사상자 등에 포함된 모노테르펜(monoterpene)류의 식물성 정유성분이며, 구조식은 C₁₀H₁₆이고, 분자량은 136.2이다. 캬펜은 하기 화학식 1로 표시되는 (+)-캬펜 또는 화학식 2로 표시되는 (-)-캬펜의 구조를 갖는다:

화학식 1



10

화학식 2



15

본 발명의 캬펜을 유효성분으로 포함하는 조성물은 대사질환의 다양한 질환, 예를 들어, 비만, 이상지방혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군을 개선하는 활성을 갖는다. 본 발명의 조성물은 다양한 활성에 의하여 대사질환을 예방 또는 치료할 수 있다. 대표적인 다섯 가지 바람직한 구현예를 설명하면 다음과 같다:

20

첫 번째 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 지방세포 분화를 유의하게 감소시켜 상기 예방 또는 치료 활성을 나타낸다. 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 농도 의존적으로 지방전구세포의 분화를 유의하게 감소시켜 대사질환의 예방 또는 치료 활성을 나타내었다(참고: 도 1).

두 번째 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 혈장 또는 간의

지방수치, 보다 바람직하게는 혈장 또는 간의 중성지방, 콜레스테롤 또는 유리지방산 수치를 유의하게 감소시켜 상기 예방 또는 치료 활성을 나타낸다. 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 혈장내 중성지방농도, 총콜레스테롤농도, LDL+VDL 콜레스테롤농도, 동맥경화지표 및 유리지방산농도와 간의 중성지방농도, 콜레스테롤농도 및 유리지방산농도를 유의하게 감소시켜 대사질환의 예방 또는 치료 활성을 나타내었다(참고: 표 2 및 3).

세 번째 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 내장 지방 수치, 보다 바람직하게는 부고환지방, 신장주변지방, 장간막지방 또는 후복강지방 수치를 유의하게 감소시켜 상기 예방 또는 치료 활성을 나타낸다. 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 총내장지방 무게, 부고환지방 무게, 신장주변지방 무게, 장간막지방무게 및 후복강지방 무게를 유의하게 감소시켜 대사질환의 예방 또는 치료 활성을 나타내었다(참고: 도 3).

네 번째 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 혈장의 포도당 수치 또는 인슐린 수치를 유의하게 감소시켜 상기 예방 또는 치료 활성을 나타낸다. 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 공복시 혈당 수치를 저하시키고 혈중 인슐린 농도를 유의하게 감소시켜 대사질환의 예방 또는 치료 활성을 나타내었다(참고: 표 2).

다섯 번째 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 (i) 내장지방 조직에서 지방조직의 생성에 중추적 역할을 하는 핵전사 인자 및 이의 타겟 유전자의 발현을 유의적으로 감소시키고, (ii) 내장지방조직에서 염증을 활성화시키는 사이토카인의 발현을 유의적으로 감소시키며, (iii) 내장지방조직에서 생체내 열발생을 조절하는 UCPs(uncoupling proteins) 유전자 발현을 증가시켜, 상기 예방 또는 치료 활성을 나타낸다. 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 마우스 내장지방조직에서 (i) C/EBP α , PPAR γ 2 또는/및 이의 타겟 유전자 aP2 의 발현을 감소시키고(참고: 도 5a 및 5b), (ii) TNF- α (tumor necrosis factor- α) 또는/및 IL-6(interleukin-6)의 발현을 감소시키며(참고: 도 6a 및 6b), (iii) UCP1(uncoupling protein 1) 또는/및 UCP3(uncoupling protein 3)의 발현을 증가시켜(참고: 도 7) 대사질환의 예방 또는 치료 활성을 나타내었다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 이상지방혈증, 보다 바람직하게는 고지혈증의 예방 또는 치료용에 적용된다.

본 명세서의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물을 투여시 고지방식이군과 비교하여 혈장내 중성지방농도가 69%, 총콜레스테롤농도가 60%, LDL+VLDL 콜레스테롤농도가 79%, 유리지방산농도가 86% 감소하여 대사질환으로 유발된 이상지질혈증, 특히 고지혈증에 탁월한 효과를 나타내었다(참고: 표 2).

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 인슐린 저항성 증후군, 보다 바람직하게는 인슐린 저항성에 의한 비만, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증, 고인슐린혈증, 비알코올성 지방간 또는 제2형 당뇨병의 예방 또는 치료에 적용된다.

본 명세서의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물을 투여시 고지방식이군과 비교하여 공복시 혈당을 10% 이상 감소시키고, 혈중 인슐린 농도 또한 32% 유의미한 감소를 나타냈으며, 인슐린 저항성 지표(insulin resistance, IRI) 역시 40% 감소되는 효과를 나타내어 인슐린 저항성 증후군 및 이와 밀접하게 연관된 대사질환을 개선하는 효과를 나타내었다(참고: 표 2).

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 C/EBP α (CCAAT/enhancer binding protein alpha), PPAR γ 2(peroxisome proliferator activated receptor gamma 2) 또는/및 aP2(adipocyte protein2)의 발현을 감소시킨다.

본 명세서의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물을 투여시 고지방식이 섭취에 의해 내장지방조직에서 증가하였던 핵 전사 인자(C/EBP α 와 PPAR γ 2) 또는/및 이의 타겟 유전자 (aP2) 발현을 모두 유의적으로 감소시킴으로써, 내장 지방량 억제 효과를 나타내었다(참고: 도 5a 및 5b).

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 TNF- α (tumor necrosis factor-alpha) 또는/및 IL-6(Interleukin-6)의 발현을 감소시킨다.

본 명세서의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물 투여시 고지방식이 섭취에 의해 증가하였던 TNF α 또는/및 IL-6 유전자발현을 모두

ND 군과 유사한 수준으로 다시 감소시킴으로써, 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 만성적 염증활성화를 현저히 개선하는 효과를 나타내었다(참고: 도 6a 및 6b).

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 UCP1(uncoupling protein 1)의 발현을 증가시킨다.

본 명세서의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물 투여시 고지방식이 섭취에 의해 감소하였던 UCP1 또는 UCP3 유전자발현을 다시 증가시킴으로써, 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 열 발생 저해현상을 현저히 개선하는 효과가 있음을 나타내었다(참고: 도 7).

10

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 캄펜은 식물의 추출물 또는 분획물에 포함된 것이다.

본 발명에서 이용되는 식물은 캄펜을 포함하는 한 특별하게 제한되지 않으며, 바람직하게는 캄펜은 로즈마리, 녹나무, 육두구, 강황, 박하, 생강, 소나무, 후박나무, 사상자, 아비에스 알바(*Abies alba*, Christmastree), 아비에스 발삼(*Abies balsamea*, Balm of Gilead), 아비에스 시비리카(*Abies sibirica*, Siberian fir), 아킬레아 밀레폴리움(*Achillea millefolium*, Carpenter's Weed), 아코루스 칼라무스(*Acorus calamus*, Calamus Phizome), 아에스쿨투스 히포카스타눔(*Aesculus hippocastanum*, Horse Chestnut), 아가스타치 포에니컬럼(*Agastache foeniculum*, Anise hyssop), 아가토스마 베틀리나(*Agathosma betulina*, Bookoo), 아게라툼 코니조이데스(*Ageratum conyzoides*, Appa grass), 알로이지아 시트로도라(*Aloysia citrodora*, Lemon Verbena), 알피니아 갈랑가(*Alpinia galanga*, Chinese Ginger), 알피니아 오피시나룸(*Alpinia officinarum*, Chinese Ginger), 아나테룸 무리카툼(*Anatherum muricatum*, Cus-Cus), 안드로포곤 나르더스(*Andropogon nardus*, Ceylon Citronella), 아네툼 그라베오렌스(*Anethum graveolens*, Dill), 안젤리카 아르칸젤리카(*Angelica archangelica*, Angelica), 아니바 독케이(*Aniba duckei*, Bois-De-Rose), 아피움 그라베오렌스(*Apium graveolens*, Celery), 아칼리아 코르다타(*Aralia cordata*, Japanese spikenard), 아르테미시아 아브신티움(*Artemisia absinthium*, Absinth), 아르테미시아 안누아(*Artemisia annua*, Annual mugwort), 아르테미시아

25

30

- 카필라리스(*Artemisia capillaris*, Capillaris), 아르테미시아
 드라쿤쿨루스(*Artemisia dracunculus*, French Tarragon), 아르테미시아
 불가리스(*Artemisia vulgaris*, Chinese moxa), 시트러스
 아우란티움(*Aurantium var. Citrus*, Bigarade Orange), 볼데아
 5 프라그란스(*Boldea fragrans*, Boldo), 보스웰리아 카르테리(*Boswellia carteri*, Frankincence), 보스웰리아 글라브라(*Boswellia glabra*, Boswellia), 칼리카르파 아메리카나(*Callicarpa americana*, American Beauty Berry), 칸나비스 사티바(*Cannabis sativa*, Hemp), 캡시쿰 안누움(*Capsicum annuum*, African Pepper), 카룸 카르비(*Carum carvi*, Caraway),
 10 셴텔라 아시아티카(*Centella asiatica*, Asiatic pennywort), 카마이멜룸 노빌레(*Chamaemelum nobile*, Camomile), 크리산테뮴 발사미타(*Chrysanthemum balsamita*, Alecost), 크리산테뮴 파르테니움(*Chrysanthemum parthenium*, Bachelor's buttons), 신나모뮴 아로마티쿰(*Cinnamomum aromaticum*, Bastard Cinnamon), 신나모뮴 캄포라(*Cinnamomum camphora*, Camphor), 신나모뮴 베룸(*Cinnamomum verum*, Ceylon Cinnamon), 시스투스 크레티쿠스(*Cistus creticus*, Ambreine), 시트루스 아우란티이폴리아(*Citrus aurantiifolia*, Egyptian lime), 시트루스 리몬(*Citrus limon*, Canton lemon), 시트루스 레티쿠라타(*Citrus reticulata*, culate mandarin), 시트루스 시넨시스(*Citrus sinensis*, blood orange), 시트루스 파라디시(*Citrus x paradisi*, Grapefruit Pericarp), 코레우스 바르바투스(*Coleus barbatus*), 코리안드룸 사티븀(*Coriandrum sativum*, Chinese Parsley), 크로톤 엘레우테리아(*Croton eleuteria*, Cascarilla), 쿠미눔 시미눔(*Cuminum cyminum*, Cumin), 커쿠마 롱가(*Curcuma longa*, Common turmeric), 심보포곤 시트라투스(*Cymbopogon citratus*, Citronella), 시페루스 로툰두스(*Cyperus rotundus*, Coco grass),
 25 다우쿠스 카로타(*Daucus carota*, Carrot), 디탐누스 알부스(*Dictamnus albus*, Akgiritotu), 엘레타리아 세르다모뮴(*Elettaria cardamomum*, Cardamom), 엘숄트지아 실리아타(*Elsholtzia ciliata*, Elsholtzia), 유칼립투스 카말둘렌시스(*Eucalyptus camaldulensis*, Murray red gum), 유칼립투스 시트리오도라(*Eucalyptus citriodora*, Citron-Scented Gum),
 30 유칼립투스 글로블루스(*Eucalyptus globulus* (Australian Fever-tree),

페룰라 굼모사(*Ferula gummosa*, Galbanum), 포에니쿨룸 불가레(*Foeniculum
vulgare*, Bitter fennel), 글레코마 헤데라세아(*Glechoma hederacea*, Ale-
 hoof), 고시피움 종(*Gossypium* sp., Cotton), 헬리안투스
 5 안누스(*Helianthus annuus*, Annual Sunflower), 호우튜이니아
 코르다타(*Houttuynia cordata*, Dokudami), 하이페리쿰 퍼포라툼(*Hypericum
perforatum*, Amber), 하이팁스 수아베올렌스(*Hyptis suaveolens*, Wild
 Hops), 히소푸스 오피시날리스(*Hyssopus officinalis*, Azob), 이시뉘
 그라티시뉘(*Isicium gratissimum*, Hoary basil), 일리시움 베룸(*Illicium
verum*, Ba Jiao Hui Xian), 주니페루스 콤무니스(*Juniperus communis*,
 10 Common Juniper), 주니페루스 사비나(*Juniperus sabina*, Sabine), 란타나
 카마라(*Lantana camara*, Bahama tea), 라레아 트리덴타타(*Larrea
tridentata*, chaparral), 라우루스 노빌리스(*Laurus nobilis*, Bay),
 라반둘라 만구스티폴리아(*Lavandula angustifolia*, Common Lavender),
 라반둘라 라티폴리아(*Lavandula latifolia*, Aspic), 라반둘라
 15 인터메디아(*Lavandula x intermedia*, Bastard lavender), 레비스티쿰
 오피시날레(*Levisticum officinale*, Lovage), 린데라 벤조인(*Lindera
benzoin*, Benjamin Bush), 리코푸스 유로파에우스(*Lycopus europaeus*,
 Bugle), 마그놀리아 데누다타(*Magnolia denudata*, Hsin-I), 마그놀리아
 오피시날리스(*Magnolia officinalis*, Hou Po), 마루비움 불가레(*Marrubium
vulgare*, Common hoarhound), 멜라레우카 알테르니폴리아(*Melaleuca
alternifolia*, Narrow-leaved paperback tea-tree), 멜라우레카
 카주푸티(*Melaleuca Cajuputi*, broadleaf paperbark), 멘타
 아쿠아티카(*Mentha aquatica*, Horse Mint), 멘타 아르벤시스
 피페라센스(*Mentha arvensis piperascens*, American corn mint), 멘타
 25 롱기폴리아(*Mentha longifolia*, Biblical mint), 멘타 풀레기움(*Mentha
pulegium*, European pennyroyal), 멘타 스피카타(*Mentha spicata*, Fish
 mint), 미크로메리아 줄리아나(*Micromeria juliana*, Micromeria), 모나르다
 시트리오도라(*Monarda citriodora*, Lemon bergamot), 모나르다
 클리노포디아(*Monarda clinopodia*, Clinopod Bergamot), 모나르다
 30 디다이마(*Monarda didyma*, Bee Balm), 모나르다 푼크타타(*Monarda punctata*,
 Horse mint), 미리스티카 프라그란스(*Myristica fragrans*, Mace), 미르투스

콤무니스(*Myrtus communis*, Common myrtle), 오시뭉 바실리쿰(*Ocimum basilicum*, Basil), 오시뭉 그라티시뭉(*Ocimum gratissimum*, African basil), 오에난테 아쿠아티카(*Oenanthe aquatica*, Fine-leaved Water-dropwort), 오에난테 자바니카(*Oenanthe javanica*, Chinese-celery),
 5 오리가눔 오니테스(*Origanum onites*, Oregano), 오리가눔 시리아쿰(*Origanum syriacum*, Bible hyssop), 오리가눔 불가레(*Origanum vulgare*, Common marjoram), 오리가눔 불가레 히르툼(*Origanum vulgare hirtum*, Greek oregano), 파스티나카 사비타(*Pastinaca sativa*, Parsnip), 페릴라 프루테스센스(*Perilla frutescens*, Beefsteak), 페트로셀리눔
 10 크리스푼(*Petroselinum crispum*, Common Parsley), 뽀뽀넬라 안니쑤(*Pimpinella anisum*, Anise), 피누스 아우스트랄리스(*Pinus australis*, Longleaf Pine), 피누스 몬타나(*Pinus montana*, Dwarf Mountain Pine), 피누스 록스부르기(*Pinus roxburghii*, Chir pine), 피누스 실베스트리스(*Pinus silvestris*, Pine), 피페르 니그룸(*Piper nigrum*,
 15 Black Pepper), 포고스테몬 카블린(*Pogostemon cablin*, Indian patchouli), 페시디움 구아자바(*Psidium guajava*, Common guava), 프티코페탈룸 올라코이테스(*Ptychopetalum olacoides*, Muira puama), 피크난툼 무티쿰(*Pycnanthemum muticum*, blunt mountain-mint), 피크난툼 비르지니아눔(*Pycnanthemum virginianum*, Virginia mountain mint), 리베스
 20 니그룸(*Ribes nigrum*, Black Currant), 로사 다마스크나(*Rosa x damascena*, Damask rose), 로즈마리누스 오피시날리스(*Rosmarinus officinalis*, Compass Plant), 살비아 프루티코사(*Salvia fruticosa*, Greek oregano), 살비아 오피시날리스(*Salvia officinalis*, Broadleaf sage), 살비아 스크라레아(*Salvia sclarea*, Clary), 사사프라스 알비둠(*Sassafras albidum*,
 25 Ague tree), 사투레자 몬타나(*Satureja montana*, Savory), 사투레자 톱브라(*Satureja thymbra*, Goat Oregano), 스킨누스 몰레(*Schinus molle*, California peppertree), 타게테스 필리폴리아(*Tagetes filifolia*, Irish lace), 타게테스 미누타(*Tagetes minuta*, Aztec marigold), 테우크리움 스크로도니아(*Teucrium scorodonia*, Germander), 투자 오시덴탈리스(*Thuja occidentalis*, American arbor-vitae), 티무스 카피타투스(*Thymus capitatus*, Headed savory), 티무스 마스티키나(*Thymus mastichina*, Mastic

thyme), 티무스 세르필룸(*Thymus serpyllum*, Breckland Thyme), 티무스
 불가리스(*Thymus vulgaris*, Common Thyme), 티무스 시트리오도루스(*Thymus*
x citriodorus, Funk's thyme), 티무스 지기스(*Thymus zygis*, Spanish
 thyme), 트라키스페르뎀 암미(*Trachyspermum ammi*, ajwain), 발레리아나
 5 오피시날리스(*Valeriana officinalis*, Common Valerian), 비텍스 마그너스
 카스투스(*Vitex agnus castus*, Agnus castus) 또는 진기베르
 오피시날레(*Zingiber officinale*, Ginger) 등의 식물을 이용하여 추출 또는
 분획할 수 있다.

캠펜을 포함하는 식물 추출물은 상기 식물에 통상적인 추출용매를
 10 이용하여 얻을 수 있으며, 바람직하게는 (a) 탄소수 1-4의 무수 또는 함유
 저급 알코올(예: 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-
 프로판올 및 노말-부탄올 등), (b) 상기 저급 알코올과 물과의 혼합용매,
 (c) 아세톤, (d) 에틸 아세테이트, (e) 클로로포름, (f) 1,3-부틸렌글리콜,
 (g) 헥산, (h) 디에틸에테르, (i) 부틸아세테이트 또는 (j) 물을
 15 추출용매로 하여 얻을 수 있다.

캠펜을 포함하는 식물 분획물은 상기 식물 추출물을 추가적으로
 분리/정제하여 얻은 보다 단리/정제된 형태(form)를 의미한다. 예컨대,
 상기 식물 추출물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을
 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는
 20 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된
 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 캠펜을 포함하는 식물 분획물에
 포함되는 것이다.

또한, 상기의 캠펜은 화학적으로 합성할 수 있다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 캠펜은 상기 식물에서 분리한
 25 것 이외에 합성하여 제조된 캠펜을 포함한다.

본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 캠펜을 포함하는 비만,
 이상지방혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군을 포함하는 대사질환의
 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 또는 식품 조성물을 제공한다.

30

본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제조되는 경우, 본 발명의

약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 5 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 10 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 *Remington's Pharmaceutical Sciences* (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여 방식으로 적용된다.

본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 15 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 성인 기준으로 0.001-100 mg/kg 범위 내이다.

본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 20 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡셀제 25 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

본 발명의 조성물이 식품 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로서 캄펜뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 30 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은

통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.

5 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 유효성분인 캄펜 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액, 감초 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

10 【도면의 간단한 설명】

도 1a-1b는 3T3-L1 세포에서 캄펜의 지방분화 억제 효능을 나타낸 도면이다.

도 2는 실험식이를 섭취한 마우스의 체중 및 체중 증가량을 나타낸 도면이다. 선 또는 막대그래프에서 회색은 정상식이군(ND), 검은색은
15 고지방식이 대조군(HFD), 주황색은 캄펜 투여군을 나타내며, a 내지 c로 표시된 문자는 분산 분석(analysis of variance, ANOVA) 및 던칸의 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)에 의해 $P < 0.001$ 수준에서 실험군 간에 통계적으로 서로 유의한 차이가 있음을 나타내는 것이다.

도 3은 실험식이를 섭취한 마우스의 체중 대 부고환지방,
20 신장주변지방, 장간막지방, 후복강지방 및 총내장지방량 무게를 나타낸 도면이다. 막대그래프에서 회색은 정상식이군(ND), 검은색은 고지방식이 대조군(HFD), 주황색은 캄펜 투여군을 나타내며, a 내지 c로 표시된 문자는 분산 분석(ANOVA) 및 던칸의 다중범위 검정에 의해 $P < 0.001$ 수준에서 실험군 간에 통계적으로 서로 유의한 차이가 있음을 나타내는 것이다.

25 도 4는 실험식이를 섭취한 마우스의 부위별 내장 지방량 사진이다. 도면에서 Epididymal fat은 부고환 지방을, Mesenteric fat은 장간막 지방을, Retroperitoneal fat은 후복강지방을, 그리고 Perirenal fat은 신장주변지방을 나타낸다.

도 5a-5b는 마우스 내장지방조직의 지방조직생성(adipogenesis) 관련
30 유전자 발현변화를 보여주는 도면이다. 도 5a는 C/EBP α , PPAR γ 2 및 aP2의 RT-PCR 분석 결과를 보여주는 겔 사진이고, 도 5b는 상기

유전자들의 상대적 발현 정도를 보여주는 그래프이다. 데이터는 GAPDH mRNA 수준에 정규화하였고 표시된 모든 발현 정도는 ND 마우스 군에 대한 값의 상대 값으로 나타내었다. 결과값은 8 마리의 마우스로부터 수집한 RNA 시료를 이용하여 세 개의 독립 실험의 평균±SEM 으로 나타내었다. a 내지 c 로 표시된 문자는 분산 분석(ANOVA) 및 던칸의 다중범위 검정에 의해 $P < 0.05$ 수준에서 실험군 간에 통계적으로 서로 유의한 차이가 있음을 나타내는 것이다.

도 6a-6b 는 마우스 내장지방조직의 염증 관련 유전자 발현변화를 보여주는 도면이다. 도 6a 는 TNF α 및 IL-6 의 RT-PCR 분석 결과를 보여주는 겔 사진이고, 도 6b 는 상기 유전자들의 상대적 발현 정도를 보여주는 그래프이다. 데이터는 GAPDH mRNA 수준에 정규화하였고 표시된 모든 발현 정도는 ND 마우스 군에 대한 값의 상대 값으로 나타내었다. 결과값은 8 마리의 마우스로부터 수집한 RNA 시료를 이용하여 세 개의 독립 실험의 평균±SEM 으로 나타내었다. a 및 b 로 표시된 문자는 분산 분석(ANOVA) 및 던칸의 다중범위 검정에 의해 $P < 0.05$ 수준에서 실험군 간에 통계적으로 서로 유의한 차이가 있음을 나타내는 것이다.

도 7 은 마우스 내장지방조직의 UCPs 유전자 발현변화를 보여주는 겔 사진이다.

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

【실시예】

실시예 1: 마우스 지방세포주(3T3-L1)를 이용한 캠펜의 지방세포분화 억제효능

세포배양 및 오일 레드 O 염색법(Oil-red O Staining)

캠펜이 지방세포의 분화 및 성장에 미치는 영향을 평가하기 위해 마우스지방세포주(3T3-L1)를 사용하였다. 지방전구세포인 3T3-L1 세포를

12-웰 플레이트에 분주하고 1% 페니실린-스트렙토마이신, 1% 비 필수 아미노산, 10% 우태아 혈청(FBS, fetal bovine serum)이 첨가된 DMEM(Dulbecco-modified Eagle medium) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 컨플루언트(confluent)한 상태로 자랄 때까지 배양시켰다.

- 5 컨플루언트한 상태로 자란 3T3-L1 세포를 MDI(0.5 mM 이소부틸-메틸산틴(isobutyl-methylxanthine), 1 μM 덱사메타손(dexamethason) 및 1 μg/ml 인슐린)가 첨가된 배양액에서 이틀간 배양하여 분화된 지방세포(differentiation adipocyte)로 만든 후, 1 μg/ml 인슐린을 포함하는 DMEM 배양액에서 이틀간 더 배양시키면서 성숙한 지방세포(mature adipocyte)로 분화시켰다. 그 후에는 이틀 간격으로 DMEM 배양액을 교체하면서 10일간 더 배양하여 완전히 분화된 지방세포를 형성시켰다.

- 3T3-L1세포에 MDI를 첨가하여 분화시키는 첫 날부터 이틀 간격으로 캄펜을 0.1, 1, 10, 50 및 100 μM 농도로 배양액에 처리하였다. (±)-캄펜은 Aldrich(씨그마-알드리치)에서 구입하였으며, DMSO에 녹여서 15 사용하였고, DMSO만 첨가한 음성대조군을 실험에 포함시켰다. 총 14일간 배양하여 분화가 완성된 시점에 배양액을 제거하고 분화된 지방세포에 함유된 지방구를 염색하였다. 이를 위해 PBS(phosphate buffered saline)로 세포를 2회 세척한 후 10% BNF(buffered neutral formalin)로 세포를 1시간 고정하고 다시 PBS로 1회 세척한 후, 지방을 특이적으로 붉게 20 염색시키는 오일 레드 O 염색약 1 ml를 12-웰플레이트에 가하여 1시간 동안 지방구를 염색하고 증류수로 2회 세척하였다.

분화된 3T3-L1 세포에 함유된 중성지방농도를 측정하기 위해 염색된 지방구를 1 ml의 이소부탄올에 녹인 후, 600 nm에서 O.D 값을 측정하였다.

25 캄펜의 지방세포분화 억제능

도 1a에서 제시된 바와 같이 캄펜을 3T3-L1 세포에 처리한 결과, 농도 의존적으로 지방전구세포의 분화를 유의하게 감소시켰다. 오일 레드 O로 염색된 세포 내 지방의 양을 분광광도법(spectrophotometry)에 의해 정량한 결과, 역시 농도 의존적으로 O.D 값이 감소하였다(도 1b).

30

실시에 2: 마우스를 이용한 캄펜의 체중 및 내장지방 감소효능

실험식이 제조 및 실험동물의 사육

본 실험에서 사용한 비만유도식은 고지방식이(hgh-fat diet, HFD: 40% 지방칼로리, 17 g 라아드 + 3% 옥수수 오일/ 100 g 다이어트)이며, 캠펬이 포함된 식이는 HFD와 조성이 동일하되 캠펬이 0.2% 수준으로 포함되었다. 정상식이(ND)는 AIN-76 rodent 다이어트(American Institute of Nutrition, Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. J. Nutr. 107: 1340-1348, 1977) 조성에 준하여 조제하였다(표 1). (±)-캠펬은 Aldrich(씨그마-알드리치)에서 구입하였다.

10 【표 1】

실험식이 조성표

성분	정상식이(ND) (g/kg diet)	대조식이(HFD) (g/kg diet)	캠펬식이(Camphene) (g/kg diet)
카제인	200	200	200
DL-메티오닌	3	3	3
옥수수 전분	150	111	110
수크로오스	500	370	370
셀룰로오스	50	50	50
옥수수유	50	30	30
라아드	-	170	170
비타민 복합물	10	12	12
미네랄 복합물	35	42	42
콜린 비타르테이트	2	2	2
콜레스테롤	-	10	10
tert-부티하이드로퀴논	0.01	0.04	0.04
캠펬	-	-	2.00
총합(g)	1,000	1,000	1,000
지방(% 칼로리)	11.5	39.0	39.0
총 열량, kJ/kg diet	16,439	19,315	19,315

5주령의 수컷 C57BL/6J 마우스(오리엔트, 한국)를 고휘사료로 1주일 간 실험실환경에 적응시킨 후, 난피법에 따라 고지방식이대조군과 실험군으로 임의 배치하여, 총 10주간 사육하였다. 식이는 매일 오전 10-11시 사이에 물과 함께 공급하였으며, 식이 섭취량은 매일, 그리고 체중은 5 3일에 한 번씩 측정하였다. 사료섭취에 따른 갑작스런 체중변화를 막기 위해 사료통을 제거하고 2시간 후에 체중을 측정하였으며, 식이효율은 실험식이 공급일로부터 희생일까지를 총 실험기간으로 하여, 실험기간 동안의 누적체중증가량을 총 식이섭취량으로 나누어 산출하였다. 실험동물을 12시간 이상 금식시킨 후, 디에틸에테르로 마취한 상태에서 10 혈액, 간 및 내장지방조직(부고환지방, 신장주변지방, 장간막지방 및 후복강지방)을 채취하여 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4)으로 세척한 후, 무게를 측정하였다. 복부대동맥으로부터 채혈한 혈액은 1000 x g에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다.

15 체중 및 내장지방 무게

실험식이를 10주간 섭취시킨 후 최종체중 및 10주간의 체중증가량을 살펴보면, 고지방식이대조군(HFD)에 비해 실험물질인 캬펜을 섭취시킨 군에서 최종체중이 33%, 그리고 누적체중증가량이 58% 유의하게 감소하였다(도 2).

20 실험식이를 10주간 섭취시킨 후 체중 대 부고환지방, 신장주변지방, 장간막지방 및 후복강지방 무게를 측정한 결과, 대조군(HFD)에 비해 캬펜 섭취군에서 단위 체중 당 부고환지방무게가 46%, 신장주변지방무게가 76%, 장간막지방무게가 61%, 후복강지방무게가 48%, 그리고 총내장지방무게가 52% 유의하게 감소하였다($P < 0.001$)(도 3 및 4). 따라서 캬펜은 매우 25 탁월한 체중감소 및 내장지방량 감소효과가 있음이 확인되었다.

실시예 3: 캬펜의 비만성 고지혈증, 지방간과 2형 당뇨의 예방 및 치료 효능

30 혈장 총콜레스테롤, 중성지방 및 포도당농도는 상업용 측정키트(Bio Clinical system)를 이용하여 각각 2회 반복 측정하였고, 인슐린농도는 마우스 인슐린 키트(Shibayaki, Japan)를 이용하여 ELISA로 측정하였다.

간조직의 지질성분을 Folch 등의 방법에 준하여 추출하였다. 0.25 g의 간조직에 1 mL의 증류수를 가한 후 polytron 균질기(IKA-WERKE GmbH & Co., Ultra-Turrax, Staufen, Germany)를 사용하여 균질화시켰다. 균질액에 클로로포름:메탄올 용액(2:1, v/v) 5 mL을 가하여 잘 혼합한 후, 1000 x g에서 10분간 원심분리하여 하층액을 분리하였고, 상층액에 다시 클로로포름:메탄올 용액(2:1, v/v) 2 mL을 첨가한 후, 동일 과정을 반복하여 간의 지질성분을 완전히 분리하였다. 이렇게 얻은 하층액에 클로로포름:메탄올:0.05% CaCl₂(3:48:47, v/v/v) 용액 3 mL을 가하여 1분간 혼합한 후 1000 x g에서 10분간 원심분리하였고, 최종 하층액을 취하여 질소가스로 완전히 건조시킨 후, 건조된 지질을 1 mL의 메탄올에 용해하여 지질성분 분석에 사용하였다. 간조직 지질추출액의 중성지방 농도는 혈장의 분석을 위해 사용된 것과 동일한 상업용 지질분석 키트(Bio Clinical system)를 사용하여 측정하였다.

표 1에 제시된 실험식이를 10주간 섭취시킨 마우스의 혈장 지질농도를 살펴보면, 캠펜 섭취군에서 고지방식이대조군(HFD)에 비해 중성지방농도가 69%, 총콜레스테롤농도가 60%, LDL+VLDL 콜레스테롤농도가 79%, 동맥경화지표가 59%, 그리고 유리지방산농도가 86% 유의하게 감소하였다(표 2). 또한 캠펜을 섭취시킨 결과, 고지방식이대조군에 비해 공복시 혈당이 10% 저하되었을 뿐 아니라 혈중 인슐린농도 또한 32% 유의하게 감소되었고, 인슐린저항성지표(insulin resistance index, IRI) 또한 40% 현저히 감소하였다(표 2). 따라서 캠펜은 제2형 당뇨 또는 인슐린저항성을 개선하는 효과가 있으며, 이와 밀접하게 연관된 대사성 염증반응을 개선하는 효과 또한 기대된다.

【표 2】

25 캠펜을 섭취시킨 마우스 혈액의 비만 관련 생화학지표

-	정상식이군 (ND)	고지방식이대조군 (HFD)	캠펜식이군 (Camphene)
중성지방(mmol/L)	0.60 ± 0.09 ^b	1.41 ± 0.12 ^a	0.44 ± 0.05 ^b
총콜레스테롤(mmol/L)	1.96 ± 0.03 ^b	3.83 ± 0.32 ^a	1.55 ± 0.11 ^b
HDL 콜레스테롤(mmol/L)	1.42 ± 0.03 ^b	1.78 ± 0.07 ^a	1.02 ± 0.04 ^c

LDL+VLDL 콜레스테롤 (mmol/L)	0.54 ± 0.02 ^b	2.05 ± 0.25 ^a	0.44 ± 0.05 ^b
동맥경화지수 ¹⁾	0.38 ± 0.02 ^b	1.02 ± 0.18 ^a	0.42 ± 0.03 ^b
유리지방산(uEq/L)	573 ± 40 ^b	1417 ± 128 ^a	197 ± 6.7 ^c
포도당(mmol/L)	6.17 ± 0.95 ^b	8.49 ± 0.53 ^a	7.6 ± 0.51 ^{ab}
인슐린(ng/mL)	0.72 ± 0.06 ^b	1.26 ± 0.02 ^a	0.85 ± 0.23 ^b
IRI ²⁾	0.79 ± 0.31 ^b	1.84 ± 0.24 ^a	1.11 ± 0.21 ^b

Different letters within the same row exhibit significant difference at $P < 0.05$ by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

¹⁾동맥경화지수 = (총콜레스테롤 - HDL 콜레스테롤) / HDL 콜레스테롤

5 ²⁾IRI(Insulin resistance index) = 10^{-3} pmol 인슐린 X mmol 포도당 X L⁻²

10 실험식이를 10주간 섭취시킨 마우스의 체중대 간무게를 살펴보면 캠펜 섭취군에서 고지방식이 대조군에 비해 22% 유의하게 감소하였다. 간조직의 지질농도를 살펴보면, 캠펜 섭취군에서 고지방식이 대조군에 비해 중성지방농도가 58%, 콜레스테롤농도가 86%, 그리고 유리지방산농도가 73% 유의하게 감소하였다(표 3). 따라서 캠펜은 고지방식으로 유도된 비만에서 나타나는 지방간 현상을 현저히 완화시키고, 간조직에서 진행되는 비만성 염증 및 인슐린저항성을 현저히 개선하는 효과가 있음을 알 수 있다.

【표 3】

15 캠펜을 섭취시킨 마우스 간조직의 비만 관련 생화학지표

-	정상식이군 (ND)	고지방식이대조군 (HFD)	캠펜식이군 (Camphene)
간무게(g/100 g body wt)	3.6 ± 0.14 ^b	5.5 ± 0.32 ^a	4.3 ± 0.32 ^b
중성지방(μmol/g)	20.3 ± 1.21 ^b	35.0 ± 1.22 ^a	14.7 ± 2.3 ^c
콜레스테롤(μmol/g)	21.6 ± 0.58 ^b	74.8 ± 0.68 ^a	10.3 ± 2.6 ^c
유리지방산(uEq/g)	8.6 ± 1.13 ^b	24.3 ± 0.86 ^a	6.5 ± 0.91 ^b

Different letters within the same row exhibit significant difference at $P < 0.05$ by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

실시에 4: 캠페에 의한 마우스 내장지방조직의 비만 관련 유전자발현 억제 효능

Trizol 법을 이용한 RNA 분리 및 확인

5 부고환지방조직 0.1 g 당 Trizol 용액 1 ml 을 첨가하여 조직을 분쇄한 후, 4℃, 12,000×g 에서 10 분간 원심분리하였다. 상층액을 새 튜브로 옮긴 후 클로로포름 200 μl 을 첨가하고, 볼텍싱 하였다. 이 과정을 두 번 반복한 다음, 상층액을 새 튜브로 옮긴 후 이소프로판올과 상층액을 1:1 비율로 첨가하였다. 10 회 세게 흔든 다음 실온에서 10 분 동안 방치한 후, 12,000×g, 4℃에서 10 분간 원심분리시킨 후 상층액을 제거하고, 남은 침전물에 70% 에탄올 1 ml 을 가한 다음, 7,500×g, 4℃에서 5 분 동안 원심분리 하였다. 에탄올을 제거한 후 RNA 침전물이 담긴 튜브를 실온에서 5 분 동안 건조시키고, 뉴클레아제 제거 수(nuclease free water)를 사용하여 RNA 펠릿을 용해시켰다. UV/VIS 스펙트로포토미터 (Beckman coulter, DU730)를 이용하여 260 nm 및 280 nm 파장에서 추출된 RNA 시료의 농도를 측정하고, 아가로스 겔 일렉트로포레시스를 실시하여 RNA 시료의 integrity 를 확인하였다.

RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) 방법

20 부고환지방조직에서 추출된 RNA 시료를 대상으로 올리고 dT 프라이머와 superscript 역전사 효소(GIBCO BRL, Gaithersburg, MD, USA)을 이용하여 역전사(reverse transcription)를 수행함으로써 cDNA 을 합성하였다. 역전사를 통해 얻은 cDNA 를 주형으로 하고 증폭하고자 하는 유전자 cDNA 의 5' 과 3' 플랭킹 서열(flanking sequence)를 프라이머로 사용하여 PCR 을 수행하였으며, 이때 사용된 프라이머 서열은 하기 표 1 에 정리하였다. 증폭된 PCR 산물 1 μl 를 1% 아가로스 겔에 전기영동하여 DNA 밴드를 확인하였다.

【표 4】

RT-PCR에 이용된 프라이머 서열

유전자	프라이머	서열 (5' →3')	어닐링 온도	PCR 산물

			(°C)	(bp)
PPAR γ 2(peroxisome proliferator activated receptor gamma 2)	F	TTCGGAATCAGCTCTGTGGA	55	148
	R	CCATTGGGTCAGCTCTTGTG		
aP2(adipocyte protein2)	F	AGCATCATAACCCTAGATGG	55	128
	R	GAAGTCACGCCTTTCATAAC		
C/EBP α (CCAAT/enhancer binding protein alpha)	F	TCGGTGCCTAAGATGAGG	55	187
	R	TCAAGGCACATTTTGTCTCC		
TNF α (TNF-alpha)	F	TGTCTCAGCCTCTCTCATT	55	156
	R	AGATGATCTGAGTGTGAGGG		
IL-6(Interleukin 6)	F	ATGAAGTTCCTCTGCAAGAGACT	55	638
	R	CACTAGGTTGCCGAGTAGATCTC		
UCP1(uncoupling protein 1)	F	GGGACCTACAATGCTTACAG	55	103
	R	GGTCATATGTCACCAGCTCT		
UCP3(uncoupling protein 3)	F	ACGGATGTGGTGAAGGTCCG	55	464
	R	TACAAACATCATCACGTTCC		
GAPDH(Glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase)	F	AGAACATCATCCCTGCATCC	55	321
	R	TCCACCACCCTGTTGCTGTA		

부고환지방조직의 RT-PCR 결과

지방조직생성(adipogenesis)은 지방선구세포(preadipocyte)가 증식 및 분화과정을 거쳐 성숙한 지방세포(adipocyte)로 변화되는 과정이며, 세포의 형태학적 변화 및 유전자 발현양상의 변화 등이 수반된다. 즉, 이 과정에서 지질이 축적되고 지방산 결합 단백질(aP2), 리포프로테인 리파제(LPL), 그리고 아딕신(adipsin)과 같은 지방조직에 특이적인 유전자들이 발현되는데, 이러한 유전자들의 발현조절에는 PPAR γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma), C/EBPs (CCAAT enhancer-binding proteins), 그리고 SREBP-1c(sterol regulatory binding protein-1c)라고

불리는 세 가지 전사인자(transcription factor)들이 중추적인 역할을 담당하고 있다.

RT-PCR 을 이용하여 부고환지방조직의 mRNA 발현 정도를 평가한 결과, 고지방대조식이(HFD)군의 경우 정상식이(ND)군에 비해 지방세포분화(adipogenesis)에 중요한 역할을 담당하는 핵 전사 인자(nuclear transcription factor)인 C/EBP α 와 PPAR γ 2, 그리고 이들 전사 인자의 타겟 유전자인 aP2 발현이 모두 유의하게 증가하였다. 한편 캬펜을 보충 섭취시킨 캬펜 군의 경우 고지방식이 섭취에 의해 내장지방조직에서 증가하였던 핵 전사 인자(C/EBP α 와 PPAR γ 2) 및 이의 타겟 유전자 (aP2) 발현이 모두 유의적으로 감소하였다(도 5a 및 5b). 따라서 캬펜 보충섭취는 내장지방조직에서 지방세포분화에 중추적 역할을 하는 핵 전사 인자 및 이의 타겟 유전자발현을 감소시킴으로써 내장 지방량 억제에 기여하였음을 알 수 있다.

영양소 또는 대사물질 공급과잉에 의해 발생하는 염증반응에 대하여 최근 ‘metaflammation’ 이라는 용어가 등장하고, 비만을 ‘만성 또는 저수준 염증(chronic and low-level inflammation)’ 으로 해석하는 등, 비만과 면역체계와의 상관관계에 대한 연구가 활발히 진행 중에 있다. 그 예로, 선천성 면역반응에 관여하는 TLR4(toll-like receptor4)의 경우 식이성지방(특히, 포화지방산)을 리간드로 사용하여 염증반응 및 인슐린저항성 경로에서 중요한 요소로 작용한다. 고지방식에 의해 비만이 유도되면 체액에 유리지방산(특히, 포화지방산)이 증가하게 되고, TLR4 에 유리지방산이 리간드로 결합하면 IKK 를 활성화시켜 NF- κ B 를 활성화시키고, 전염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)인 TNF- α 또는 IL-6 등의 분비를 촉진하여 염증반응을 일으키는 것으로 알려져 있다. 그 외에도 TNF- α 및 IL-6 는 SOCS3(cytokine signalling 3)과 JNK 를 활성화시킴으로써 IRS(insulin receptor substrate)의 세린 잔기를 인산화하여 당수송을 저해하고, 간 또는 근육 등의 말초조직에서 인슐린저항성을 유도하는 것으로 알려져 있다.

RT-PCR 을 이용하여 내장지방조직에서 염증을 활성화시키는 사이토카인의 mRNA 발현 정도를 평가한 결과, HFD 군의 경우 ND 군에 비해

TNF α 및 IL-6 유전자발현이 모두 유의하게 증가하였다. 한편 캠펠을 보충 섭취시킨 결과, 고지방식이 섭취에 의해 증가하였던 TNF α 및 IL-6 유전자발현이 모두 ND 군과 유사한 수준으로 다시 감소하였다(도 6a 및 6b). 따라서 캠펠은 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 만성적

5 염증활성화를 현저히 개선하는 효과가 있음을 알 수 있다.

미토콘드리아의 기능장애는 노화, 심장병, 위장장애, 내분비장애 또는 신경장애와 관련이 있으며, 미토콘드리아 산화과정 장애는 간조직의 글루코오스 생산을 증가시키고 고혈당(hyperglycemia)을 유발시켜 지방간을

10 초래하는 것으로 알려져 있다. 미토콘드리아는 전자전달계를 이용하여 미토콘드리아 내막과 외막 사이의 양성자 농도구배를 형성하게 되며, 이를 구동력으로 FOF1-ATPase 를 통해 ATP 를 형성하게 된다. 그러나 FOF1-ATPase 가 정상적으로 작동하지 않을 경우 UCPs(uncoupling proteins)을 통해 양성자 농도구배를 해소하며 이 과정에서 열이 발생하게 된다. 최근

15 이러한 energy-dissipatory mechanism 을 통하여 지방조직에서 UCP 들이 산화환원 평형(redox balance)를 유지하며 열 발생을 촉진함이 보고되면서, AMPK 와 함께 UCP 가 비만치료의 새로운 타겟으로 관심을 받고 있다.

실험식이를 섭취시킨 흰쥐의 내장지방조직에서 mRNA 을 추출한 후 생체 내 열 발생을 조절하는 UCP1 과 UCP3 의 발현량을 RT-PCR 분석에 의해

20 측정된 결과, HFD 군의 경우 ND 군에 비해 UCP1 과 UCP3 유전자발현이 모두 유의하게 감소하였다. 한편 캠펠을 보충 섭취시킨 결과, 고지방식이 섭취에 의해 감소하였던 UCP1 과 UCP3 유전자발현이 다시 증가하였다(도 7). 따라서 캠펠 섭취는 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 열 발생 저해현상을 현저히 개선하는 효과가 있음을 알 수 있다.

25

본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다.

(i) 본 발명은 캠펠을 유효성분으로 포함하는 비만, 이상지방혈증, 지방간 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

(ii) 본 발명의 조성물은 다양한 식물을 이용하여 분리할 수 있으며,

30 화학적 방법을 통하여도 합성 가능하다.

(iii) 캠페인을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 지방세포 분화의 억제, 체지방량의 감소, 내장 지방량의 감소, 총콜레스테롤 농도의 감소, 혈장 중성지방 및 간조직 중성지방의 감소를 초래하여, 궁극적으로 비만, 고지혈증 또는 지방간의 예방 또는 치료 활성을 나타낸다. 또한, 본 발명의 조성물은 공복시 혈당 및 혈중 인슐린 농도의 유의한 감소를 초래하여 제 2 형 당뇨병 또는 인슐린 저항성을 개선하는 효과 및 이와 밀접하게 관련된 대사질환을 개선하는 효능도 발휘한다.

(iv) 또한, 본 발명의 조성물은 내장지방 조직에서 지방조직의 생성에 중추적 역할을 하는 핵전사 인자(C/EBP α 와 PPAR γ 2) 또는 이의 타겟 유전자(aP2)의 발현을 유의적으로 감소시켜 내장 지방량 억제 효과를 가지고, 염증을 활성화시키는 사이토카인(TNF- α 또는 IL-6)의 발현을 유의적으로 감소시켜 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 만성적 염증활성화의 개선 효과를 나타내며, 생체내 열발생을 조절하는 UCPs(UCP1 또는 UCP3) 유전자 발현을 증가시킴으로써, 내장지방조직에서 비만으로 인해 유도된 열 발생 저해현상의 개선 효과를 나타낸다.

이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

캠펜(Camphene)을 유효성분으로 포함하는 비만, 이상지방혈증(dyslipidemia), 지방간 및 인슐린 저항성 증후군(Insulin resistance syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disease)의 예방 또는 치료용 조성물.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 상기 이상지방혈증은 고지혈증인 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 3】

제 1 항에 있어서, 상기 인슐린 저항성 증후군은 인슐린 저항성에 의한 비만, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증, 고인슐린혈증, 비알코올성 지방간 및 제2형 당뇨병으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 또는 그 이상의 질환을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 4】

제 1 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 지방세포 분화를 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 5】

제 1 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 혈장, 간 또는 내장 지방 수치를 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 6】

제 5 항에 있어서, 상기 지방은 중성지방, 콜레스테롤 또는 유리지방산을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 7】

제 5 항에 있어서, 상기 내장 지방은 부고환지방, 신장주변지방,

장간막지방 및 후복강지방으로부터 선택되는 하나 또는 그 이상의 지방을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 8】

5 제 1 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 혈장의 포도당 수치를 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 9】

10 제 1 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 혈장의 인슐린 수치를 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 10】

15 제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 11】

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

20 **【청구항 12】**

제 1 항에 있어서, 상기 캠펴은 캠펴을 함유하는 식물로부터 유래된 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 13】

25 제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 C/EBP α (CCAAT/enhancer binding protein alpha), PPAR γ 2 (peroxisome proliferator activated receptor gamma 2) 또는 aP2 (adipocyte protein 2)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

30 **【청구항 14】**

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 TNF- α (tumor necrosis factor-alpha) 또는 IL-6(Interleukin-6)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

5 **【청구항 15】**

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 UCP1(uncoupling protein 1) 또는 UCP3(uncoupling protein 3)의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

10 **【청구항 16】**

유효성분으로서 캄펜(Camphene)을 포함하는 조성물을 대상(subject)에 투여하는 단계를 포함하는 비만, 이상지방혈증(dyslipidemia), 지방간 및 인슐린 저항성 증후군(Insulin resistance syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disease)의 예방 또는 치료 방법.

15 **【청구항 17】**

제 16 항에 있어서, 상기 이상지방혈증은 고지혈증인 것을 특징으로 하는 방법.

20

【청구항 18】

제 16 항에 있어서, 상기 인슐린 저항성 증후군은 인슐린 저항성에 의한 비만, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증, 고인슐린혈증, 비알코올성 지방간 및 제2형 당뇨병으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 또는 그 이상의 질환을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

25

【청구항 19】

제 16 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 지방세포 분화를 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

30

【청구항 20】

제 16 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 혈장, 간 또는 내장 지방 수치를 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 21】

5 제 20 항에 있어서, 상기 지방은 중성지방, 콜레스테롤 또는 유리지방산을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 22】

10 제 20 항에 있어서, 상기 내장 지방은 부고환지방, 신장주변지방, 장간막지방 및 후복강지방으로부터 선택되는 하나 또는 그 이상의 지방을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 23】

15 제 16 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 혈장의 포도당 수치를 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 24】

20 제 16 항에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 혈장의 인슐린 수치를 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 25】

제 16 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물 또는 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 방법.

25 **【청구항 26】**

제 16 항에 있어서, 상기 캄펜은 캄펜을 함유하는 식물로부터 유래된 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 27】

30 제 16 항에 있어서, 상기 조성물은 C/EBP α (CCAAT/enhancer binding protein alpha), PPAR γ 2 (peroxisome proliferator activated receptor

gamma 2) 또는 aP2(adipocyte protein2)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 28】

- 5 제 16 항에 있어서, 상기 조성물은 TNF- α (tumor necrosis factor-alpha) 또는 IL-6(Interleukin-6)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 29】

- 10 제 16 항에 있어서, 상기 조성물은 UCP1(uncoupling protein 1) 또는 UCP3(uncoupling protein 3)의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 방법.

1/7

Figure 1a

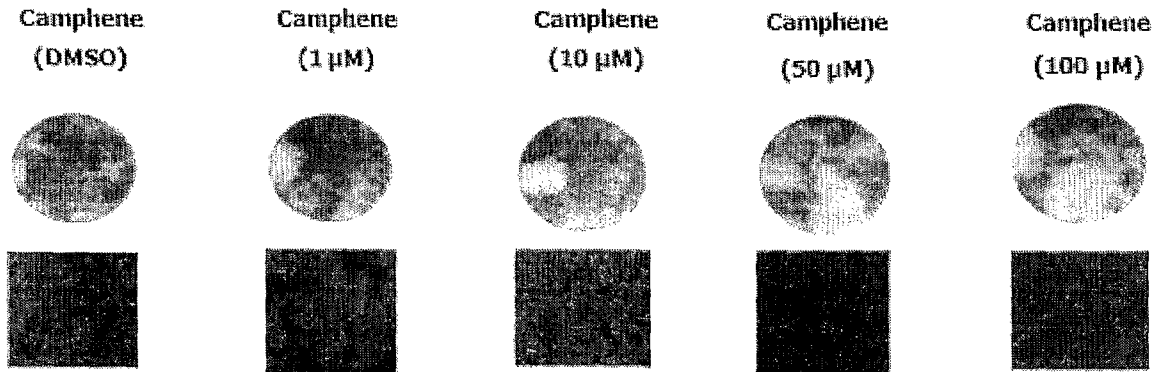
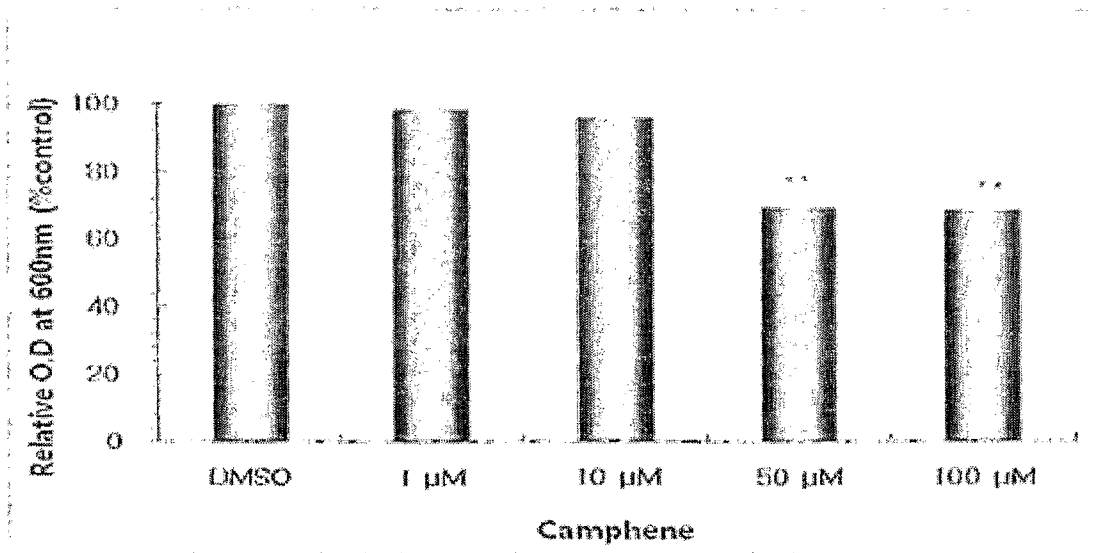


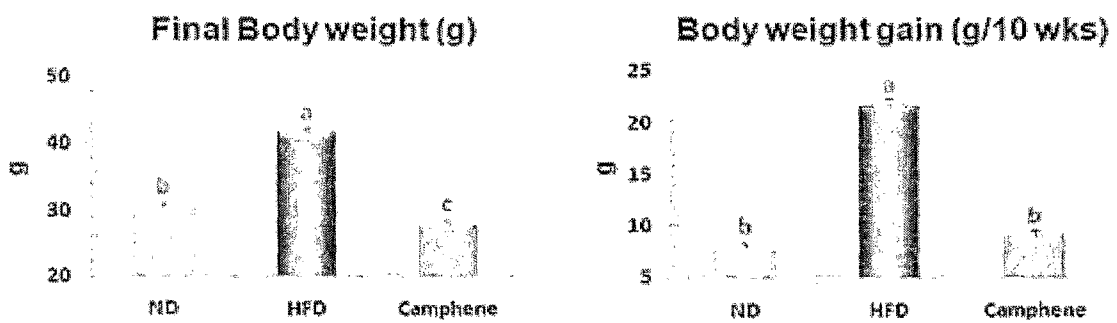
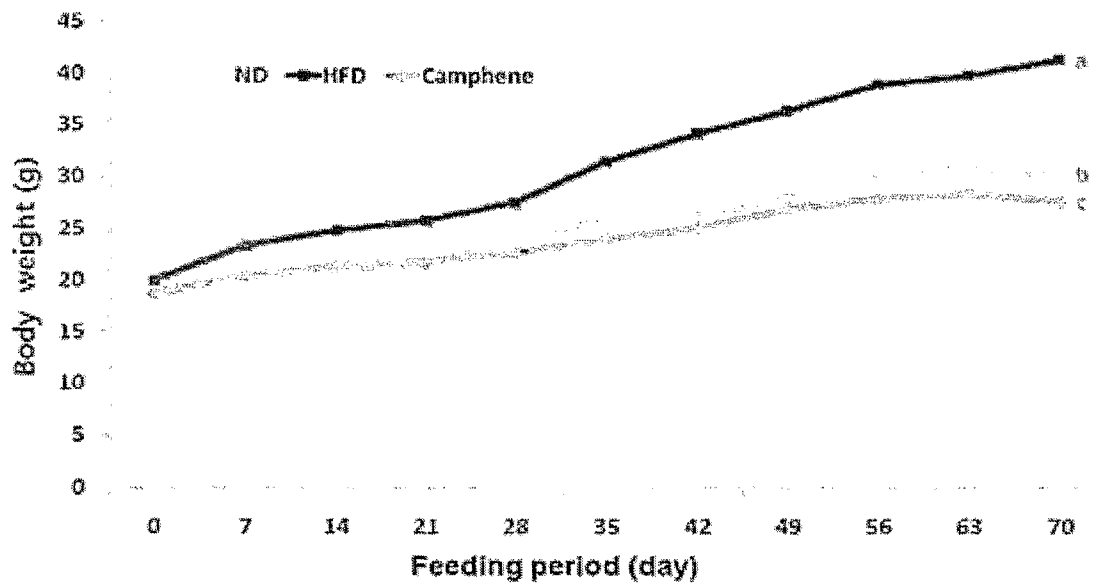
Figure 1b



Significantly different from the value for DMSO-treated control cells at $P < 0.01$ by Student's *t*-test.

2/7

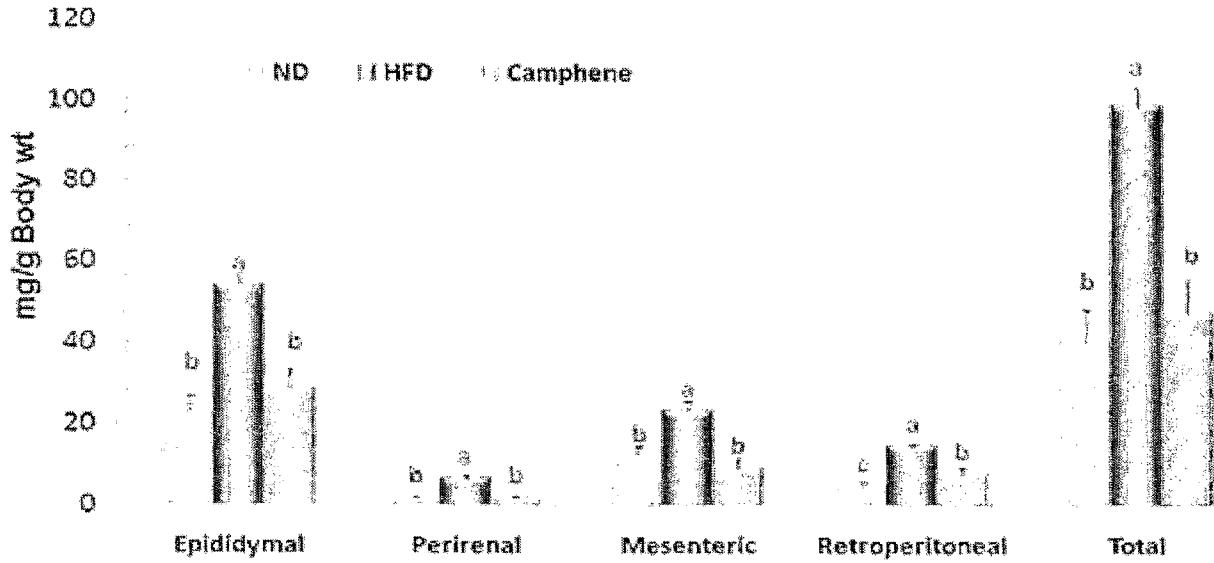
Figure 2



Different letters above the bar exhibit significant difference at $P < 0.001$ by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

3/7

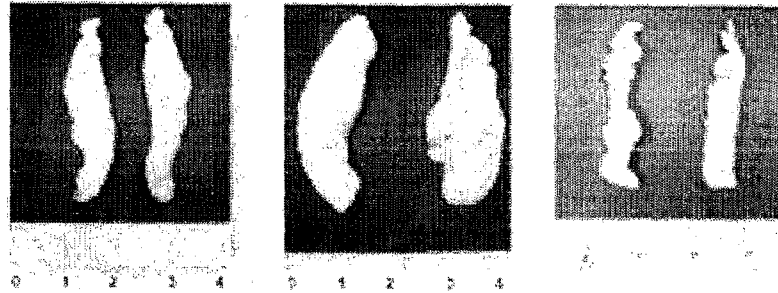
Figure 3



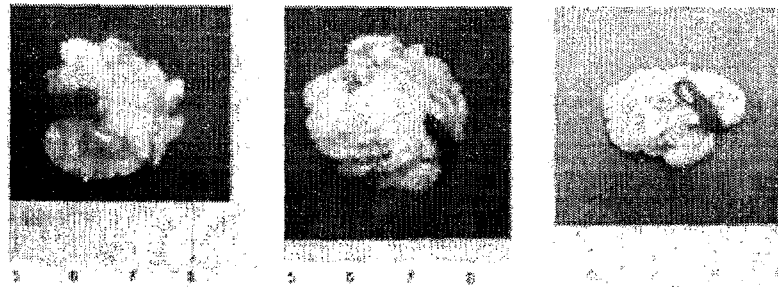
Different letters above the bar exhibit significant difference at $P < 0.001$ by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

도 4

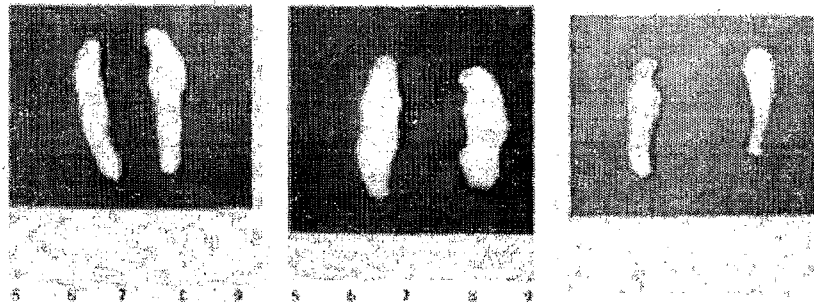
Epididymal fat-pad



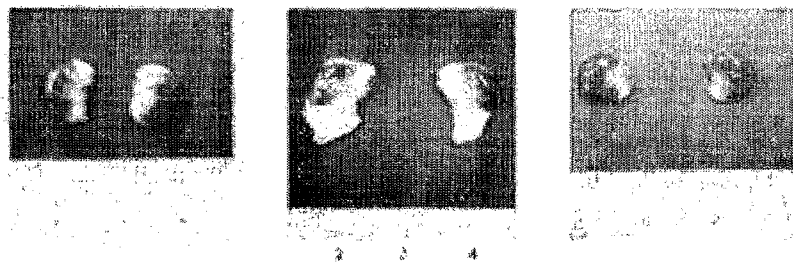
Mesenteric fat-pad



Retroperitoneal fat-pad



Perirenal fat-pad



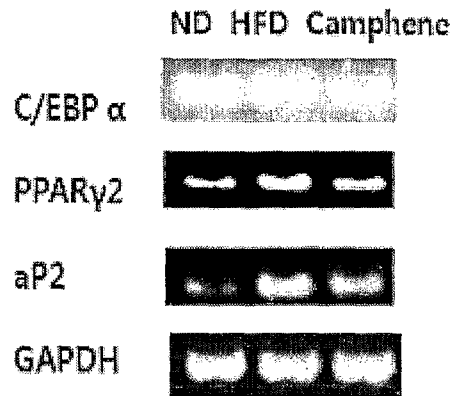
ND

HFD

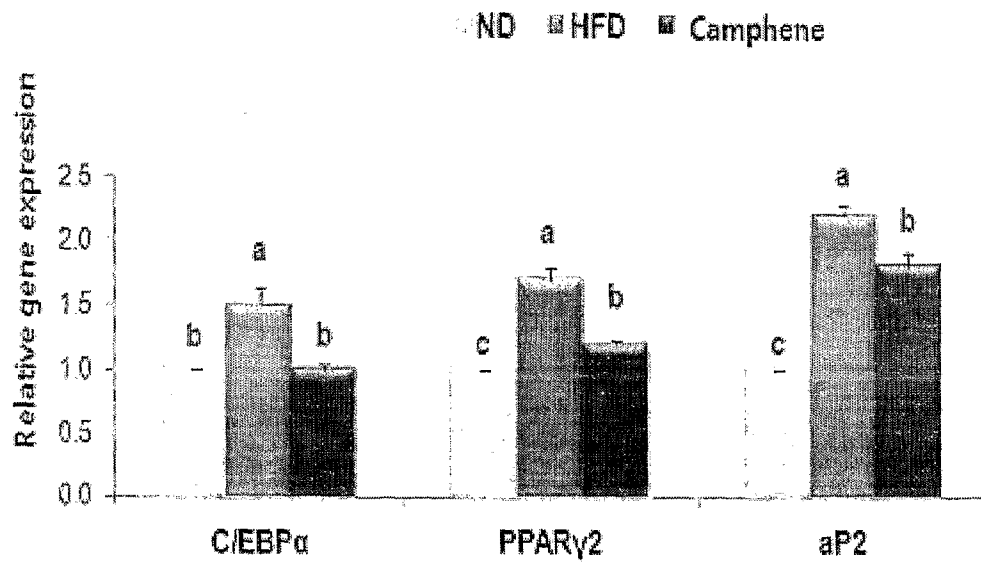
Camphene

5/7

☐ 5a

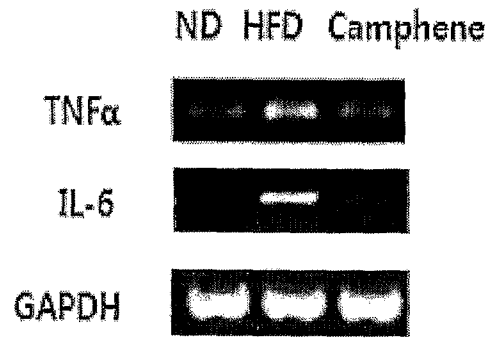


☐ 5b

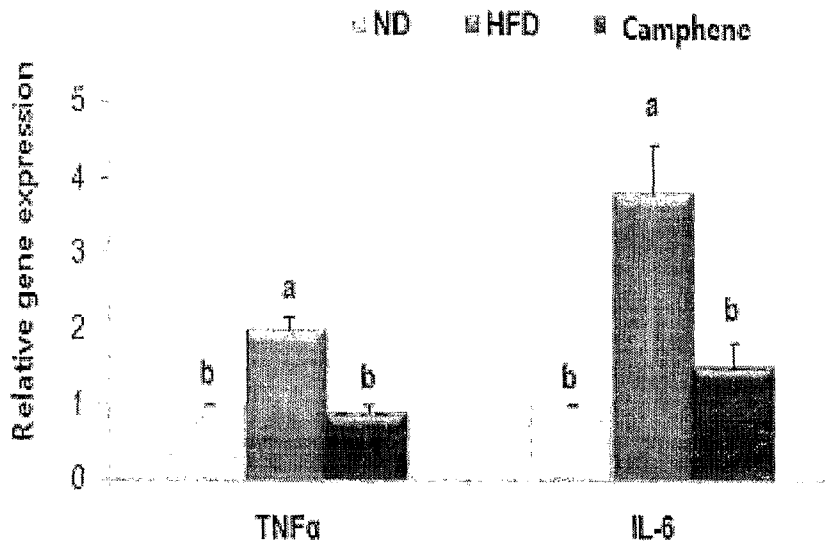


6/7

도 6a



도 6b



7/7

도 7

