



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0149052
(43) 공개일자 2016년12월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/899 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/899 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0086046
(22) 출원일자 2015년06월17일
심사청구일자 2016년07월25일

(71) 출원인
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 완산구 농생명로 300 (중동)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
(72) 발명자
이성현
전라북도 완주군 이서면 반교로 21 남양사이버
107동 903호
이성준
서울특별시 강남구 도산대로96길 39, 104동 402
호(청담동, 청담공원아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

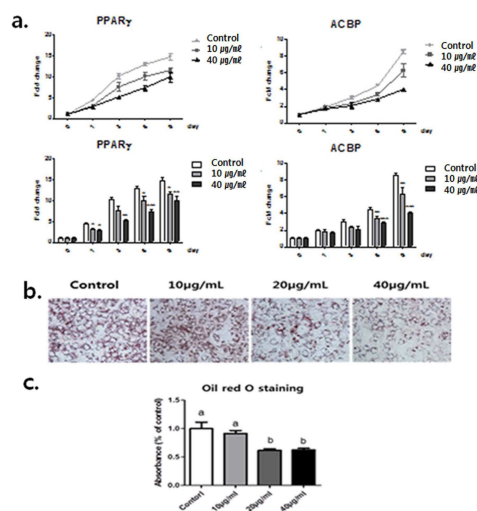
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 흑미 호분층의 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 흑미(black rice) 호분층(aleurone layer)의 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 흑미 호분층 추출물을 제조하여 마우스 중간엽줄기세포에 처리하였을 때, 지방세포 분화 및 지질 축적이 효과적으로 억제되며, 농도 의존적으로 세포내 지질 축적이 감소되고, 지방산 합성을 억제됨을 확인함으로써, 흑미 호분층 추출물이 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2200/332 (2013.01)

A61K 2236/33 (2013.01)

A61K 2236/331 (2013.01)

(72) 발명자

안영재

전라북도 김제시 요촌서길 30

김연지

서울특별시 동대문구 약령사로 25 안암벽산아파트
106동 1201호

이영민

서울특별시 서대문구 통일로 39가길 57 홍제현대아
파트 108동 103호

김정봉

대전광역시 유성구 봉명로 94 금성백조예미지 708
동 1602호

김행란

서울특별시 강남구 남부순환로 3032 미도아파트
110동 504호

장환희

전라북도 전주시 완산구 소태정로 1 휴먼시아아이
린 407동 402호

남송이

인천광역시 남동구 논고개로 10. 한화에코메트로
1212동 804호

김남석

전라북도 전주시 덕진구 가리내로 550 한양아파트
110동 708호

최봉겸

전라북도 전주시 완산구 물레방아 3길 25-18

이선혜

전라북도 전주시 덕진구 태진로 101 우성아파트
108동 1201호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ01009001

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 농축산물부가가치향상 기술개발

연구과제명 뼈 건강과 비만을 동시에 조절하는 건강기능성 원료 등록 연구(흑미의 in vivo 뼈 건강
과 비만 동시조절 개선 기전 연구)

기 여 율 1/1

주관기관 농촌진흥청

연구기간 2014.02.01 ~ 2015.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

흑미(black rice) 호분층(aleurone layer) 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 흑미 호분층 추출물은 물, C₁ 내지 C₂의 저급 알코올, 주정 또는 이들의 혼합 용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 추출한 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 주정은 40 내지 80% 주정인 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 지방세포 분화 및 지질 축적을 억제하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

흑미 호분층 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만 예방 및 개선용 건강기능 식품.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 흑미 호분층 추출물은 물, C₁ 내지 C₂의 저급 알코올, 주정 및 이들의 혼합 용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 추출한 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 주정은 40 내지 80% 주정인 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제 5항에 있어서, 상기 추출물은 지방세포 분화 및 지질 축적을 억제하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 흑미(black rice) 호분층(aleurone layer)의 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용

[0001]

약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 전 세계적으로 비만 인구가 꾸준히 증가하고 있으며, WHO 보고에 의하면 향후 10년 동안 비만 인구가 지금보다 50% 증가할 것으로 예측하고 있다.
- [0004] 비만은 음식물로 섭취한 에너지와 신체활동으로 소비한 에너지 간의 불균형에 의하여 과잉의 에너지가 체지방으로 축적되는 현상이다. 일반적으로 비만은 체내에 지방 조직이 과다한 상태를 의미하며, 이러한 비만 상태가 오랜 시간에 걸쳐 지속되면 당뇨병, 고지혈증, 심장병, 뇌졸중, 동맥경화증, 지방간 등의 각종 대사성질환과 성인병이 유발된다. 최근 과다한 열량 섭취와 운동 부족으로 인하여 서구 선진국뿐만 아니라 우리나라에서도 비만 인구가 급증하고 있으며 이는 심각한 사회문제로 대두 되고 있다.
- [0005] 비만은 과잉의 에너지 공급이 지방세포 크기와 수의 증가를 유발하여, 체내 지방으로 축적되는 것이 주된 발생 원인으로 알려져있으며, 이 외에도 유전적 요인, 서구화된 식생활에 의한 환경적 요인, 심리적 요인, 에너지 대사 이상 등 다양한 원인이 작용한다고 알려져있다.
- [0006] 전 세계적으로 비만 치료제의 개발을 위한 다각적인 측면의 연구가 진행되고 있다. 비만치료용 약물은 크게 지방흡수 억제, 지방 분해 및 열 발생 촉진, 식욕 및 포만감의 조절, 단백질 대사 저해 그리고 음식물의 섭취와 관련된 정서 조절 기전으로 나눌 수 있다. 대표적인 비만 치료제로는 오르리스타트(Orlistat)를 원료로 하여, 지방흡수를 억제하는 제니칼™(Xenical™)과 시부트라민(sibutramine)을 주원료로 교감신경계를 자극하여 식욕을 억제 시키는 리덕틸™(Reductil™)이 있다. 그러나 제니칼™의 경우 지방변, 복부 통증, 구토, 가려움증, 간 손상 등의 부작용이 보고되어 있으며, 리덕틸™의 경우는 두통, 식욕부진, 불면, 변비 등의 부작용뿐만 아니라 심각한 심혈관계 부작용을 일으킨다는 이유로 최근 사용 기준이 강화되는 등의 논란이 일고 있다. 이러한 비만치료제를 통한 약물요법 이외에도 비만을 예방하고 치료하기 위한 방법으로 음식물의 섭취를 제한하는 식이요법, 에너지 소비를 증가시키는 운동요법이 있으며, 정신요법, 행동요법, 외과요법 등도 실시되고 있다.
- [0007] 바람직한 비만의 치료 방법으로는 운동을 통한 에너지 소비 촉진과 부작용이 적은 비만치료용 약제를 병행하는 것이 가장 안전하고 효과적인 방법으로 제시되고 있다. 그러나 비만치료용 약제의 경우, 상기의 제니칼™과 리덕틸™의 예처럼 심각한 부작용들이 보고되고 있으며, 안전성에 대한 명확한 신뢰가 뒷받침되지 않고 있는 실정이다.
- [0009] 쌀은 에너지원으로서 한국인의 필수식품이며, 단백질 및 소량의 지방과 불포화지방산이 존재하며 기타 무기질, 비타민도 소량씩 함유하고 있다. 현미는 가을철에 수확된 벼에서 껍질을 제거한 것을 의미하며, 표피로부터 속으로 과피, 종피, 호분층과 배, 배유로 구성되어 있다. 과피는 벼 암꽃의 자방 표피가 발달하여 형성된 현미의 표피로써, 세포벽이 두꺼워 거부감과 짙은 맛의 원천이다. 종피는 자방내의 주피가 발달한 얇은 조직으로 그 안쪽에는 외 배유가 있는데 종피와 밀착되어 구별하기 어렵다. 배는 벼알 기부의 외영층에 있으며 배유 조직속에 내려가 있는 형태이며, 호분층은 종피와 배유간에 있는데 현미 측부에는 1층, 복부에는 1-2층, 배부에는 여러층으로 되어 있으며 호분세포는 호분립과 지방립이 축적되어 있으며, 배유는 전분저장 유조직으로 속으로 들어갈수록 세포가 크고 전분립으로 충만하며 소량의 단백질립과 지방과립이 존재한다.
- [0010] 현미의 과피에서 호분층까지와 배를 제거한 것이 백미(쌀)이며 제거된 부분은 미강이다. 과학적 균형 영양의 필수인 비타민, 광물질 등 미량원소, 아미노산과 식이섬유의 75 내지 80%(중량)는 미강에 포함되어 있고, 주식으로 되는 백미(배유)에는 20%(중량) 미만만 차지하며 쌀을 깊이 도정할수록 전분의 비례는 높고 기능물질은 적다. 더 들어가서 보면 배를 포함한 현미 미강에는 풍부한 당류, 단백질, 불포화 지방류가 있는 외 철, 칼슘, 세레늄 등 광물질이 있고, 비타민 B1, B2, B6, B12, VE, VA와 이노시톨, 올리자놀, 초산 등 아미노산과 조지방, 조섬유와 식이섬유가 현미 기능 영양의 80%(중량)을 차지한다. 일용 주식으로 현미, 배아미를 장기 식용하면 혈청 콜레스테롤을 낮추고, 혈관을 연화시키며, 신진대사를 개선시켜 당뇨병, 무좀, 비만억제 등 질병 완화에 유익하며 사람들의 면역력을 강화하고 골다공증, 고혈압, 뇌 피로회복, 노화방지, 칼슘부족증 등 면에서 좋은 효과를 나타낸다고 알려져있다.

[0012] 이에 본 발명자들은 경제적이며, 부작용이 적은 비만 예방 및 치료용 조성물을 개발하기 위해 노력하던 중, 흑미(black rice) 호분층(aleurone layer) 추출물을 마우스의 중간엽줄기세포(C3H10T1/2)에 처리하였을 때, 지방세포의 분화 및 지질 축적이 억제되고, 농도 의존적으로 세포 내 지질 축적이 감소되며, 지방산의 합성이 억제되는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명의 목적은 흑미(black rice) 호분층(aleurone layer)의 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0016] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 흑미(black rice) 호분층(aleurone layer) 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0017] 또한, 흑미 호분층 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0019] 본 발명은 흑미(black rice) 호분층(aleurone layer)의 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 흑미 호분층 추출물을 제조하여 마우스 중간엽줄기세포에 처리하였을 때, 지방세포 분화 및 지질 축적이 효과적으로 억제되며, 농도 의존적으로 세포내 지질 축적이 감소되고, 지방산 합성을 억제됨을 확인함으로써, 본 발명의 흑미 호분층 추출물은 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 흑미 호분층 추출물의 세포 내 지질축적 감소 및 지방세포 분화 억제 효과를 나타낸 도이다.

도 2는 흑미 호분층 추출물의 지방 축적 억제 효과를 나타낸 도이다.

도 3은 흑미 호분층 추출물의 농도 의존적 지방 축적 억제 효과를 나타낸 도이다.

도 4는 흑미 호분층 추출물의 지방산 합성 억제 효과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0024] 본 발명은 흑미(black rice) 호분층(aleurone layer) 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0025] 상기 흑미 호분층 추출물은 하기의 단계를 포함하는 제조방법으로 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다:

[0026] 1) 흑미 호분층에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0027] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

[0028] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압농축한 후 건조하여 흑미 호분층 추출물을 제조하는 단계.

- [0029] 상기 추출에 있어서, 흑미는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 흑미는 이의 동속근연계 식물의 덩굴줄기, 가지, 뿌리, 줄기, 잎, 꽃잎 및 꽃봉오리 중 어느 것을 이용가능하고 이에 한정하지 않으나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면 흑미 호분층 또는 이의 동속근연계 식물의 호분층을 이용하는 것이 가장 바람직하다.
- [0030] 상기 추출에 있어서, 흑미 호분층 추출물의 추출용매는 물, 알코올, 주정 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올은 C_1 내지 C_2 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올 또는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 추출용매를 흑미 호분층 추출물 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4 내지 6배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20 내지 100℃인 것이 바람직하고, 20 내지 40℃인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48시간인 것이 바람직하며, 15 내지 30시간 인 것이 더욱 바람직하고, 24시간인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러 추출 횟수는 1 내지 5회 인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다.
- [0031] 또한, 상기 방법에 있어서, 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0032] 또한, 본 발명의 흑미 호분층 주정 추출물은 흑미 호분층 40 내지 80% 주정 추출물인 것이 바람직하고, 45 내지 55% 주정 추출물인 것이 보다 바람직하며, 50% 주정 추출물인 것이 가장 바람직하다. 상기 40% 미만 주정 추출물의 경우에는 추출 효율이 낮아져 목적으로 하는 현저한 비만 효과를 나타내지 못하고, 80%를 초과하는 주정 추출물의 경우, 흑미 호분층 주정 추출물의 생산 단가를 높이게 되며, 또한, 흑미 호분층 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 흑미 50% 주정 추출물을 이용하여 항비만 효과를 측정한 결과, 흑미 호분층 50% 주정 추출물이 40%, 60%, 70%, 80% 흑미 호분층 주정 추출물 및 흑미 50% 주정 추출물과 비교하여 현저한 항비만 효과를 나타냄을 확인함으로써, 본 발명의 흑미 호분층 45 내지 55% 주정 추출물인 것이 바람직하다.
- [0033] 또한, 상기 추출물은 지방세포 분화 및 지질 축적을 억제함으로써 항비만 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.
- [0035] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 흑미를 세척 후, 50 및 70% 주정으로 추출하여 흑미 호분층 추출물을 수득하였다. 수득된 흑미 호분층 추출물을 마우스 중간엽줄기세포에 처리하여 농도 의존적으로 지방세포 분화가 억제되고(도 1 참조), 흑미 및 현미 혼합 추출물에 비해 지질 축적이 효과적으로 억제되며(도 2 참조), 농도 의존적으로 세포 내 지질 축적이 감소되고(도 3 참조), 지방산 합성을 억제되는 것을 확인하였다(도 4 참조). 따라서, 본 발명의 흑미 호분층 추출물은 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 발명의 용어 "약학적으로 허용 가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 생리식염수, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜 및 리퀴드 파라핀으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용 가능하다. 상기 성분들은 상기 유효성분인 흑미 호분층 추출물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.
- [0038] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되

는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로글, 트윈(tween)61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0039] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[0040] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 그 투여 용량에 특별한 제약은 없고, 체내 흡수도, 체중, 환자의 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 유효량 범위를 고려하여 제조하도록 하며, 이렇게 제형화된 단위 투여형 제제는 필요에 따라 약제의 투여를 감시하거나 관찰하는 전문가의 판단과 개인의 요구에 따라 전문화된 투약법을 사용하거나 일정 시간 간격으로 수회 투여할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 약학 조성물은 흑미 호분층 추출물의 양을 기준으로 1일 0.5 내지 5000 mg/kg으로, 바람직하게는 50 내지 500 mg/kg으로, 더욱 바람직하게는 50 mg/kg으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다.

[0042] 본 발명은 흑미 호분층 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0043] 상기 흑미 호분층 추출물은 하기의 단계를 포함하는 제조방법으로 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다:

[0044] 1) 흑미 호분층에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0045] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

[0046] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압농축한 후 건조하여 흑미 호분층 추출물을 제조하는 단계.

[0047] 상기 추출에 있어서, 흑미는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 흑미는 이의 동속근연계 식물의 덩굴줄기, 가지, 뿌리, 줄기, 잎, 꽃잎 및 꽃봉오리 중 어느 것을 이용가능하고 이에 한정하지 않으나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면 흑미 호분층 또는 이의 동속근연계 식물의 호분층을 이용하는 것이 가장 바람직하다.

[0048] 상기 추출에 있어서, 흑미 호분층 추출물의 추출용매는 물, 알코올, 주정 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올은 C₁ 내지 C₂ 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올 또는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 추출용매를 흑미 호분층 추출물 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4 내지 6배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20 내지 100℃인 것이 바람직하고, 20 내지 40℃인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48시간인 것이 바람직하며, 15 내지 30시간 인 것이 더욱 바람직하고, 24시간인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0049] 또한, 상기 방법에 있어서, 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0050] 또한, 본 발명의 흑미 호분층 주정 추출물은 흑미 호분층 40 내지 80% 주정 추출물인 것이 바람직하고, 45 내지 55% 주정 추출물인 것이 보다 바람직하며, 50% 주정 추출물인 것이 가장 바람직하다. 상기 40% 미만 주정 추출물의 경우에는 추출 효율이 낮아져 목적으로 하는 현저한 비만 효과를 나타내지 못하고, 80%를 초과하는 주정 추출물의 경우, 흑미 호분층 주정 추출물의 생산 단가를 높이게 되며, 또한, 흑미 호분층 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 흑미 50% 주정 추출물을 이용하여 항비만 효과를 측정한 결과, 흑미 호분층 50% 주정 추출물이 40%, 60%,

70%, 80% 흑미 호분층 주정 추출물 및 흑미 50% 주정 추출물과 비교하여 현저한 항비만 효과를 나타냄을 확인함으로써, 본 발명의 흑미 호분층 45 내지 55% 주정 추출물인 것이 바람직하다.

[0051] 또한, 상기 추출물은 지방세포 분화 및 지질 축적을 억제함으로써 항비만 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0053] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 흑미를 세척 후, 50 및 70% 주정으로 추출하여 흑미 호분층 추출물을 수득하였다. 수득된 흑미 호분층 추출물을 마우스 중간엽줄기세포에 처리하여 농도 의존적으로 지방세포 분화가 억제되고(도 1 참조), 흑미 및 현미 혼합 추출물에 비해 지질 축적이 효과적으로 억제되며(도 2 참조), 농도 의존적으로 세포 내 지질 축적이 감소되고(도 3 참조), 지방산 합성을 억제되는 것을 확인하였다(도 4 참조). 따라서, 본 발명의 흑미 호분층 추출물은 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0055] 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능식품 100 중량부당 0.01 내지 0.04 중량부, 구체적으로는 약 0.02 내지 0.03 중량부 범위에서 선택할 수 있다.

[0056] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강식품 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0058] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0059] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해서 한정되는 것은 아니다.

[0061] <실시예 1> 흑미 호분층 추출물 제조

[0062] 흑미는 진도에 소재한 흑미 정미소에서 구입하였고, 도정기를 이용하여 쌀겨 제거방법과 같은 방법으로 흑미 현미를 10도미까지 절삭해서 흑미의 약 8% 되는 흑미 호분층을 분리하였다. 준비된 흑미 호분층을 50%와 70%의 주정 수용액에 40℃ 조건에서 48시간 추출하였고, 50℃, 0.1 내지 0.5 기압 조건에서 최초 추출액의 10%로 감소될 때까지 감압 농축하였다.

[0064] <비교예 1> 흑미 및 현미 혼합 추출물 제조

[0065] 대조군으로 사용된 흑미 현미는 흑미 호분층을 분리하기 전의 것으로, <실시예 1>의 흑미 호분층과 같은 방법으로 50%와 70%의 주정 수용액에 40℃ 조건에서 48시간 추출하였고, 50℃, 0.1 내지 0.5 기압 조건에서 추출액의 10%로 감소될 때 까지 감압 농축하였다.

[0067] <실험예 1> 흑미 호분층 추출물의 지방세포 분화 억제 효과 확인

[0068] 흑미 호분층 추출물에 의한 지방세포 분화 억제 효과를 확인하기 위하여 하기와 같이 실험하였다.

[0070] <1-1> 세포 배양 및 추출물 처리

[0071] 마우스 중간엽줄기세포인 C3H10T1/2 세포주는 한국세포주은행(Korea Cell Line Bank, KCLB)에서 분양받아 진행하였으며, 세포 배양을 위하여 RPMI 배지에 10% 비활성화 우태아 혈청, 1% 페니실린-스트렙토마이신 용액을 첨가하여 37℃, 5% 이산화탄소 조건에서 배양하였다. 세포 유지를 위해서 이틀마다 배지를 교체해 주었고, 세포 밀도 60% 이전에 계대배양을 실시하여 분화 능력을 유지하도록 하였다.

[0072] 마우스 중간엽줄기세포인 C3H10T1/2 세포를 지방세포로 분화시키기 위하여 세포를 24-웰 플레이트(24-well plate)에 웰(well)당 2×10^5 농도로 분주하여 24시간 배양한 후, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인슐린, 1 μM 덱사메타손(Dexamethasone) 및 1 μM 트로글리타존(troglitazone)이 첨가된 분화 배지에 흑미 호분층 추출물을 농도별(10, 20, 40 및 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 처리하여 분화를 유도하였으며 2일마다 배양액을 갈아주며 9일 동안 분화시켰다.

[0074] <1-2> 지방세포 분화 관련 유전자 발현 확인

[0075] 지방세포 분화의 핵심 활성인자인 PPAR γ 와 PPAR γ 의 하위유전자인 Acyl-CoA-binding protein(ACBP)의 시간별 유전자 발현을 평가하기 위하여 qRT-PCR을 실시하였다. 구체적으로, 대조군 및 50% 주정 흑미(호분세포층) 추출물을 각각 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 처리한 뒤, 분화 1, 3, 6 및 9일 차에 각 웰(well)당 1 ml의 RNAiso Plus 시약을 첨가하여 추출된 RNA 2 μg 과 상업적으로 판매하는 키트(TOYOBO)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 이후 합성된 cDNA 1 μl , SYBR Green PCR Master Mix 10 μl , 농도가 10 pmol인 순방향 프라이머(forward primer)와 역방향 프라이머(reverse primer) 각각 1 μl , 멸균된 증류수 8 μl 를 섞고 qRT-PCR을 실시하였다. PCR을 위한 마우스의 유전자 특정 프라이머는 생명정보센터(NCBI)의 nucleotide BLAST tool에 의해 디자인 되었으며 각 유전자의 발현은 GAPDH(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)를 기준 유전자(reference gene)로 표준화하였고 iQ5 시스템 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0077] <1-3> 흑미 호분층 추출물의 세포 내 지질 축적 저해 효능 평가

[0078] C3H10T1/2 세포의 지방세포 분화에 따른 세포 내 지방축적을 육안으로 확인하기 위하여 Oil Red O 용액을 이용하여 세포 내 지질을 염색하였다. 구체적으로, <실험예 1-1>의 흑미 호분층 추출물 처리 세포의 배양액을 제거한 후, 10% 포르말린 용액 500 μl 를 첨가하여 5분간 실온에서 방치한 후, 동량의 포르말린으로 1시간 동안 실온에서 고정시켰다. 이후, 포르말린을 완전히 제거하고 60% isopropanol 용액 500 μl 로 세척한 후, Oil red O 용액(sigma)을 넣고 실온에서 1시간 동안 염색하였다. 이때, Oil-Red-O 용액은 Oil-Red-O 분말이 이소프로판올에 0.5% 비율로 녹아있는 시약을 구매한 후, 증류수에 6 : 4의 비율로 희석하여 마이크로필터(200)로 여과하여 사용하였다. 염색 후, Oil-Red-O 작동 용액을 완전히 제거한 다음 증류수로 4회 세척한 뒤 현미경으로 세포의 염색 상태를 확인하였다. 세포 내 축적된 지질을 정량하기 위하여 100% 이소프로판올을 첨가하여 세포 내 염색된 Oil-Red-O 용액을 모두 용출시킨 후 Model 680 Microplate reader(Bio-rad, USA)를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0079] 그 결과, 도 1에서 나타난 바와 같이 50% 주정으로 추출된 흑미 호분층 추출물에서 농도 의존적으로 세포 내 지질축적이 감소하여, 지방세포로 분화가 억제됨을 확인하였다(도 1b 및 1c).

[0081] <실험예 2> 흑미 호분층 추출물의 지질 축적 억제 확인

[0082] 흑미 호분층 추출물에 의한 지질 축적 억제 효과를 확인하였다.

[0083] 구체적으로, 상기 <실험예 1>의 방법으로 마우스 중간엽줄기세포를 지방세포 분화로 유도하였으며, 각각 50% 주정 흑미 호분층 추출물(10, 20, 40 및 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 및 50% 주정 흑미 현미 추출물을 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 처리한 후, Oil-red-O 염색법을 이용하여 세포내 지질 축적을 육안으로 확인하였다.

[0084] 그 결과, 도 2 및 도 3에 나타난 바와 같이, 50% 주정으로 추출된 흑미 호분층 추출물을 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였을 때, 무처리군과 비교하여 지질 축적을 억제하고, 흑미 현미 추출물과 비교하여서도 지질 축적 억제에 있어서 더욱 유의적인 효과를 나타내었으며(도 2), 농도 의존적으로 세포 내 지질 축적을 감소시킴을 확인하였다(도 3).

[0086] <실험예 3> 흑미 호분층 추출물의 지방산 합성 억제 확인

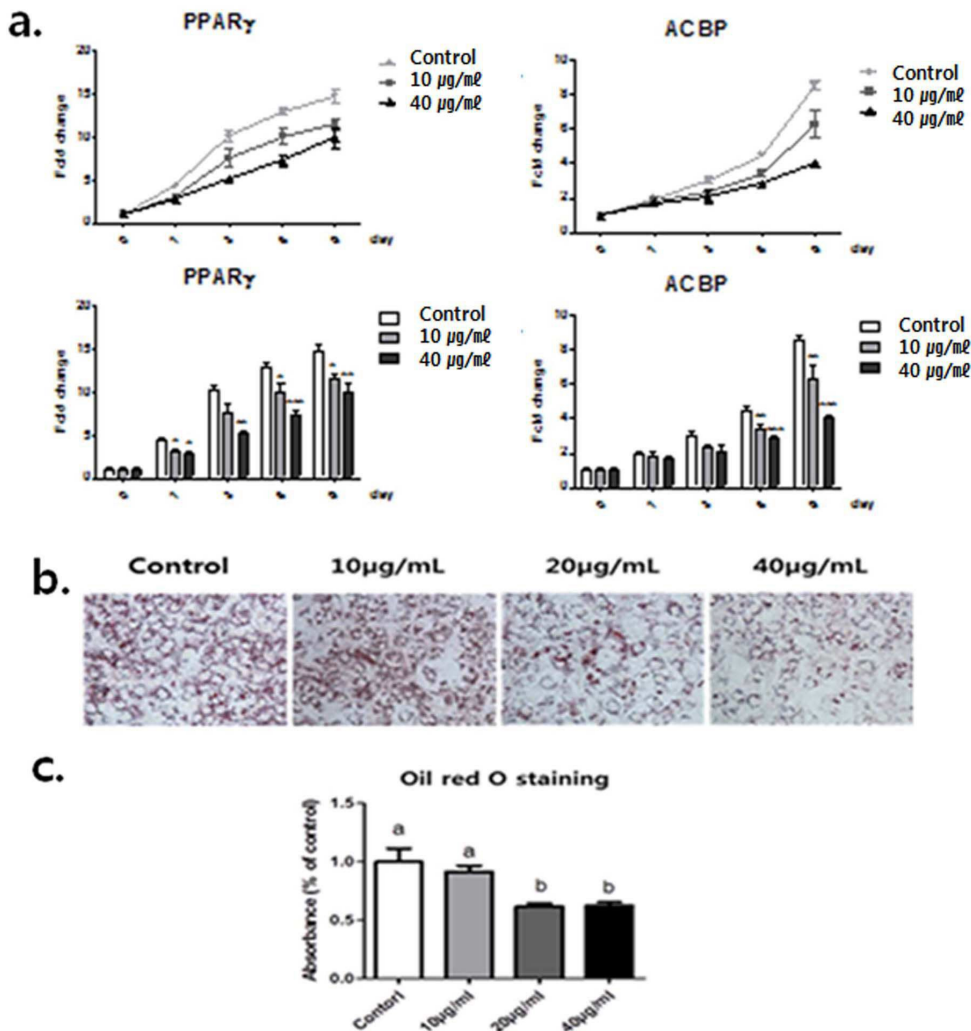
[0087] 흑미 호분층 추출물의 지방산 합성 억제 효과를 확인하였다.

[0088] 구체적으로, 흑미 호분층 추출물의 지방산 합성 억제효과를 확인하기 위해 C3H10T1/2 세포를 상기 <실시예 1>의 방법으로 지방 분화 배지와 함께 흑미 호분층 추출물을 10, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리한 뒤 지방세포 분화를 유도시키고 분화 9일차에 $[1-^{14}\text{C}]$ 아세트산을 첨가하여 한시간 동안 배양한 뒤 0.14M KCl과 0.5M NaOH를 이용하여 세포를 추출하였다. 이후 세포 추출물에 1 mL의 에탄올과 500 μL 증류수를 첨가하여 90°C에서 90분간 지방산을 추출하고 액체섬광계수기를 이용하여 14C를 측정하였다.

[0089] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 흑미 호분층 추출물이 대조군과 비교하였을 때, 지방산 합성이 억제됨을 확인하였다(도 4).

도면

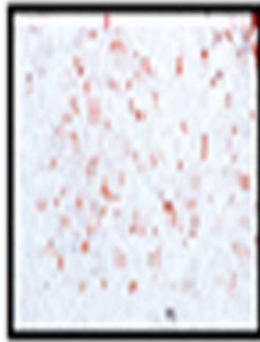
도면1



도면2



무처리

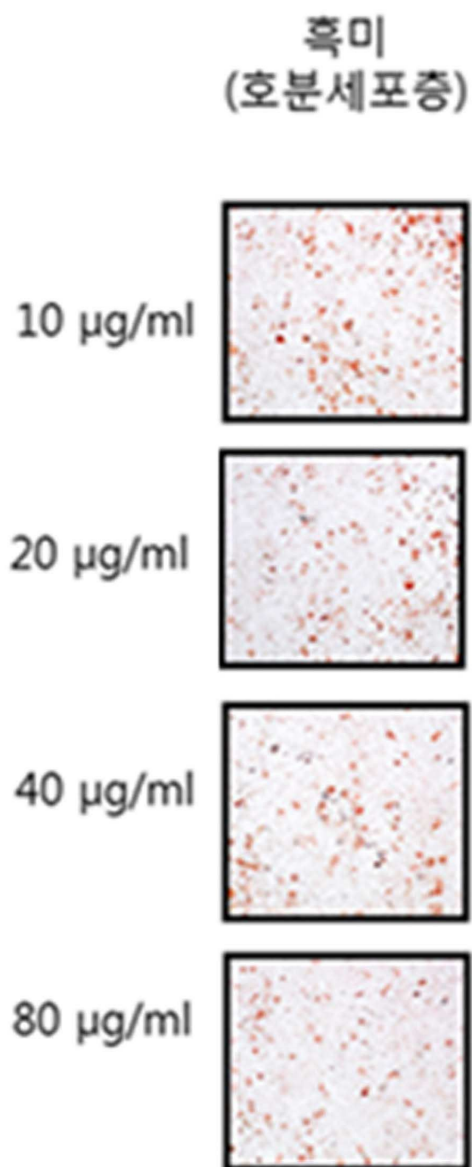


흑미 현미



흑미 호분증

도면3



도면4

