(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0139645
(43) 공개일자 2024년09월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/704 (2006.01) *A23K 20/163* (2016.01)
A23L 33/125 (2016.01) *A61K 31/7034* (2006.01)
A61K 8/60 (2006.01) *A61P 1/16* (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01) *A61P 3/06* (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/704 (2013.01)
A23K 20/163 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2023-0033474
(22) 출원일자 2023년03월14일
심사청구일자 2023년03월14일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
(72) 발명자
김유리
서울특별시 양천구 목동동로12길 60, 103동 1405호 (신정동, 목동현대아파트)
김예리
서울특별시 서대문구 가재울미래로 2, 218동 701호 (남가좌동, DMC파크뷰자이)
김양
서울특별시 관악구 관악로 1, 203동 409호 (신림동)
(74) 대리인
리앤목특허법인

전체 청구항 수 : 총 17 항

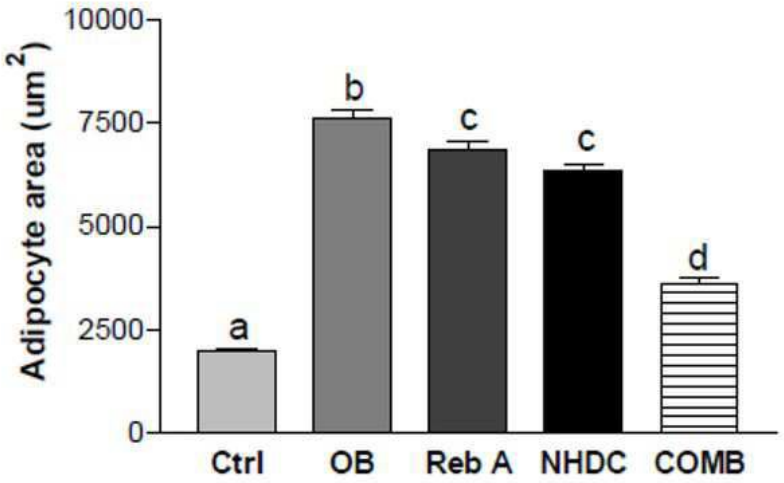
(54) 발명의 명칭 **레바우디오사이드 A 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘을 유효 성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는 조성물은 지질 합성/축적 및 지방 합성 등의 억제를 유도하며, 이에 따라 지방 수준을 감소시킬뿐만 아니라 체중 및 체중 증가량을 억제할 수 있음을 확인하였는 바, 상기 조성물을 이용하여 비만 및 지질 관련 대사성 질환 등에 대한 효과를 증진시킬 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A23L 33/125 (2020.05)
A61K 31/7034 (2013.01)
A61K 8/602 (2013.01)
A61P 1/16 (2018.01)
A61P 3/04 (2018.01)
A61P 3/06 (2018.01)
A61P 3/10 (2018.01)
A61P 9/10 (2018.01)
A61P 9/12 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1545024750
과제번호 119020033HD040
부처명 농림축산식품부
과제관리(전문)기관명 농림식품기술기획평가원
연구사업명 맞춤형혁신식품및천연안심소재기술개발(R&D)
연구과제명 신규감미물질의 단맛수용체의 활성분석을 통한관능검사와의 상관관계 분석 및 항당뇨, 항염증효능 규명
기 여 율 7/10
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2021.05.01 ~ 2022.04.30
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1545024754
과제번호 119020033SB050
부처명 농림축산식품부
과제관리(전문)기관명 농림식품기술기획평가원
연구사업명 맞춤형혁신식품및천연안심소재기술개발(R&D)
연구과제명 국내산 감귤류 및 바이오전환기술을 이용한 신규 고감미료 NHDC당전이체 생합성 및 정제기술
기 여 율 2/10
과제수행기관명 서울대학교
연구기간 2021.05.01 ~ 2022.04.30
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711089124
과제번호 2017R1A2B4011593
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 다양한 dihydrochalcone 유도체의 구조를 활용한 단맛 수용체의 감지기작 및 상대당도와의 상관성 규명
기 여 율 1/10
과제수행기관명 서울대학교
연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 레바우디오사이드 A 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘은 병용 투여 되는 것인, 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 레바우디오사이드 A와 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘은 하나의 제형으로 동시에 투여되거나, 또는 각각 별개의 제형으로 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것인, 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 체중(Body weight), 체중 증가량(Body weight gain), 식이효율 (food efficiency ratio, FER), 지방 조직 (adipose tissue), 지질 축적 (Lipid accumulation), 지질 생성 (Lipogenesis) 및 지방 생성 (Adipogenesis)으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상을 감소시키는 것인, 약학 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 지방 생성 또는 지질 생성과 관련된 인자의 발현 또는 활성을 억제하는 것인, 약학 조성물.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 지방 생성 또는 지질 생성 관련 인자는 *Srebf1* (Sterol Regulatory Element Binding Transcription Factor 1), *Pparg* (Peroxisome proliferator-activated ɣ), *Cd36*(cluster of differentiation 36), *Lpl*(Lipoprotein lipase), Fasn (Fatty Acid Synthase) 및 Acaca (Acetyl-CoA Carboxylase Alpha)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는 것인, 약학 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 지질 축적 또는 지방산 산화 관련 인자의 발현 또는 활성을 증진시키는 것인, 약학 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 지질 축적 또는 지방산 산화 관련 인자는 Ppara (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha) 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는 것인, 약학 조성물.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 염증성 또는 전염증성 사이토카인의 발현 또는 활성을 억제하는 것인, 약학 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 염증성 또는 전염증성 사이토카인은 Il-1b (Interleukin 1 beta) 및 Mcpt1 (Mast

cell protease-1)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는 것인, 약학 조성물.

청구항 11

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 장내 미생물군내에서 블라우티아(Blautia) 속 균주 및 파라박테로이데스(Parabacteroides) 속 균주로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 비율을 증진시키는 것인, 약학 조성물.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 장내 미생물군내에서 페칼리바쿨럼 (Feacalibaculum) 속 균주의 비율을 감소시키는 것인, 약학 조성물.

청구항 13

청구항 1에 있어서, 상기 지질 관련 대사성 질환은 당뇨, 이상지질혈증, 지방간, 인슐린 저항성 증후군, 동맥경화, 고혈압, 심혈관 질환, 또는 상기 질환들이 동시다발적으로 발생하는 대사증후군으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상인 것인, 약학 조성물.

청구항 14

레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 15

레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물.

청구항 16

레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 셀룰라이트의 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

청구항 17

개체의 피부에 상기 청구항 16의 셀룰라이트의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 적용하는 단계를 포함하는, 셀룰라이트 예방 또는 개선을 통한 피부 개선 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 성인병에 의한 사망률이 증가하면서 비만에 대한 관심이 집중되고 있고, 이에 따라 국내뿐만 아니라 세계 제약 산업에서도 항비만 효능을 지닌 다양한 건강보조식품들이 잇따라 출시되고 있다. 더불어 경제성장으로 인하여 섭취상태는 양호해지고 이에 비해 운동 부족 등이 심각해짐에 따라 비만자가 급증하고, 이에 따른 성인병의 증가가 사회문제로 대두되고 있는 추세이다. 또한, 우리나라 국민들의 식생활이 서구화되면서 향후 성인성 질환 등의 만성 생활습관병이 늘어나고 고령화 사회에 진입함에 따라 노령 계층을 겨냥한 실버식품 등의 수요도 증가할 것으로 예상되고 있다.

[0003] 비만이란 대사 장애로 인하여 지방이 체내에 과잉 축적된 상태로서, 칼로리 섭취가 성장과 신체활동에 필요한 에너지보다 초과되어 일어나는 열량 불균형 현상으로 야기되며, 대개 체내의 지방이 남자는 체중의 25%, 여자는 30% 이상인 경우를 말한다. 특히 비만은 당뇨, 고지혈증, 심혈관계 질환 및 동맥경화증 등, 각종 대사성 질환의 원인이 될 뿐만 아니라, 비치명적인 요통, 관절염, 불임 등의 신체적 질병과 정신·사회적 기능의 저하 등 정신적 질병의 위험성도 증가시킨다. 한편, 비만으로 인한 사망률의 증가는 대사성 질환, 담낭질환, 호르몬 감수성 암과 위장관 암 등에서 명확하게 나타난다.

[0004] 비만 및 관련 장애의 치료를 위한 전략은 식이 제한, 신체 활동 증가, 약리학적 접근법 및 심지어 수술을 포함하며, 이는 적어도 부분적으로 개인이 달성하기 위해 시도하는 체중 감량 정도뿐만 아니라 대상체가 나타낸 비만의 중증도에 따라 선택된다. 예를 들어, 오직 경증의 과체중인 개체에게는 종종 저칼로리, 저지방 식이 및/또는 규칙적인 운동과 같은 치료법이 적절하다. 그러나, 식이 및 행동 수정을 통한 장기간 체중 감량의 유지에 대한 어려움으로 인해 다른 치료 수단, 특히 약물요법에 대한 흥미가 증가되었다.

[0005] 상기 비만 및 관련 질환을 치료하기 위해 다양한 치료제 또는 식욕 억제제가 출시되었으나, 지각이상(Paresthesia), 탈모(Alopecia), 이상후각 (Parosmia), 무월경(Amenorrhea), 실어증(Aphasia) 등의 부작용이 발생할 수 있다는 문제점이 있다.

[0006] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 종래의 비만 예방 및 치료 조성물로 알려진 것들의 부작용을 없애거나 감소시키고 이를 대체할 수 있는 화합물을 발견하였으며, 이의 우수한 비만 치료 또는 예방 효능을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 특허등록공보 제10-2461437호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 일 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0009] 다른 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0010] 또 다른 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.

[0011] 또 다른 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 셀룰라이트의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0012] 또 다른 양상은 개체의 피부에 상기 셀룰라이트의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 적용하는 단계를 포함하는, 셀룰라이트 예방 또는 개선을 통한 피부 개선 방법.

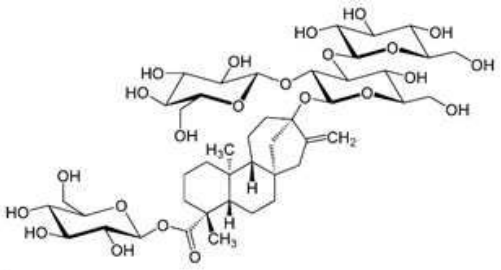
과제의 해결 수단

[0013] 일 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 명세서에서의 용어 "레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A)"는 스테비아 레바우디아나(Stevia rebaudiana) 잎에서 유래된 스테비올 배당체로서 설탕보다 240배 더 단것으로 알려져 있으며, 하기 화학식

1(IUPAC name: β-D-Glucopyranose 1-(13-{β-D-glucopyranosyl-(1→2)-[β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-β-D-glucopyranosyloxy}-5β,8α,9β,10α,13α-kaur-16-en-18-oate))(CAS Number: 58543-16-1)로 표시되며, $C_{44}H_{70}O_{23}$의 화학식으로 표현된다.

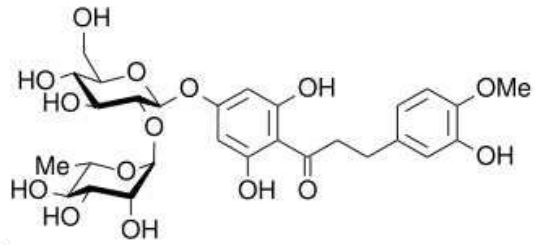
[0015] [화학식 1]



[0016]

[0017] 본 명세서에서의 용어 "네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)"은 감귤류에서 추출한 인공 감미료로서, 하기 화학식 2(IUPAC name: $(1^2S,1^3R,1^4R,1^5R,1^6S,3^2S,3^3R,3^4S,3^5S,3^6R)$-$1^3,1^4,1^5,3^4,3^5,5^3,5^5,9^3$-Octahydroxy-$3^6$-(hydroxymethyl)-$9^4$-methoxy-$1^6$-methyl-2,4-dioxa-1(2),3(3,2)-bis(oxana)-5(1,4),9(1)-dibenzenanonaphan-6-one) (CAS Number: 20702-77-6)로 표시되며, $C_{28}H_{36}O_{15}$의 화학식으로 표현된다:

[0018] [화학식 2]



[0019]

[0020] 상기 조성물은 1) 레바우디오사이드 A, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및/또는 이의 용매화물; 및 2) 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및/또는 이의 용매화물을 포함하는 것일 수 있다.

[0021] 본 명세서에서의 용어 “약학적으로 허용가능한 염"은, 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약제학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하는데, 통상적으로 금속염, 유기 염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기 염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될 수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다. 특히 바람직한 염으로는, 화합물이 그 내에 산성관능기를 가지는 경우, 알칼리 금속염 (예컨대, 나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염 (예컨대, 칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등) 등과 같은 무기염, 및 암모늄염과 같은 유기 염이 있으며, 화합물이 그 내에 염기성 관능기를 가지는 경우, 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과 같은 무기산과의 염, 아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등과 같은 유기산과의 염이 있다.

[0022] 상기 조성물에서 상기 레바우디오사이드 A 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘은 병용 투여 되는 것일 수 있으며, 구체적으로, 상기 레바우디오사이드 A 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘은 하나의 제형으로 동시에 투여되거나, 또는 각각 별개의 제형으로 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것일 수 있다.

[0023] 본 명세서에서의 용어 "병용투여"는, 치료요법의 개별성분들을 동시, 순차적으로, 또는 개별적으로 투여하는 방식으로 이룰 수 있다. 2 이상의 약물(유효 성분)을 동시에 또는 순차적으로 투여하거나, 또는 일정한 또는 정해지지 않은 간격으로 교대로 투여하는 등의 방법으로 병용 치료 효과를 얻는 것으로, 병용치료법은 이에 한정되지 아니하지만, 예를 들어 반응정도, 반응 속도, 질병 진행까지의 기간 또는 생존 기간을 통해 측정된 효능이 병용 치료법의 성분 중 하나 또는 나머지를 통상적인 용량으로 투약하여 얻을 수 있는 효능보다 치료학적으로 우수하면서 상승효과를 제공할 수 있는 것으로 정의될 수 있다.

[0024] 상기 조성물은 상기 레바우디오사이드 A 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘을 9:1 내지 1:9의 농도 비율로 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 레바우디오사이드 A 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘의 농도 비율(레바우디오사이드 A: 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘)은 9:1 내지 1:9, 9:1 내지 1:7, 9:1 내지 1:5, 9:1 내지 1:4, 9:1 내지 1:3, 9:1 내지 1:2, 9:1 내지 1:1, 7:1 내지 1:9, 7:1 내지 1:7, 7:1 내지 1:5, 7:1 내지 1:4, 7:1 내지 1:3, 7:1 내지 1:2, 7:1 내지 1:1, 5:1 내지 1:9, 5:1 내지 1:7, 5:1 내지 1:5, 5:1 내지 1:4, 5:1 내지 1:3, 5:1 내지 1:2, 5:1 내지 1:1, 4:1 내지 1:9, 4:1 내지 1:7, 4:1 내지 1:5, 4:1 내지 1:4, 4:1 내지 1:3, 4:1 내지 1:2, 4:1 내지 1:1, 3:1 내지 1:9, 3:1 내지 1:7, 3:1 내지 1:5, 3:1 내지 1:4, 3:1 내지 1:3, 3:1 내지 1:2, 3:1 내지 1:1, 2:1 내지 1:9, 2:1 내지 1:7, 2:1 내지 1:5, 2:1 내지 1:4, 2:1 내지 1:3, 2:1 내지 1:2, 2:1 내지 1:1, 1:1 내지 1:9, 1:1 내지 1:7, 1:1 내지 1:5, 1:1 내지 1:4, 1:1 내지 1:3, 또는 1:1 내지 1:2일 수 있다.

[0025] 상기 조성물은 체중(Body weight), 체중 증가량(Body weight gain), 식이효율 (food efficiency ratio, FER), 지방 조직 (adipose tissue)의 부피 및/또는 질량, 지질 축적 (Lipid accumulation), 지질 생성 (Lipogenesis) 및 지방 생성 (Adipogenesis)으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상을 감소시키는 것일 수 있다.

[0026] 상기 조성물은 지방 조직의 부피 및/또는 질량을 감소시키는 것으로서, 구체적으로, 총 지방 조직, 피하 지방 조직, 내장 지방 조직, 신장 주위 지방 조직 및 부고환 지방 조직으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 부피 및/또는 질량을 감소시키는 것일 수 있다.

[0027] 상기 조성물은 지방 생성 또는 지질 생성과 관련된 인자의 발현 또는 활성을 억제하는 것일 수 있다. 상기 지방 생성 또는 지질 생성 관련 인자는 *Srebf1* (Sterol Regulatory Element Binding Transcription Factor 1), *Pparg* (Peroxisome proliferator-activated γ), *Cd36*(cluster of differentiation 36), *Lpl*(Lipoprotein lipase), Fasn (Fatty Acid Synthase) 및 Acaca (Acetyl-CoA Carboxylase Alpha)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단백질, 이를 암호화하는 유전자, DNA 및/또는 mRNA를 포함하는 것일 수 있다.

[0028] 상기 조성물은 지질 축적 또는 지방산 산화 관련 인자의 발현 또는 활성을 증진시키는 것일 수 있다. 상기 지질 축적 또는 지방산 산화 관련 인자는 Ppara (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha) 단백질, 이를 암호화하는 유전자, DNA 및/또는 mRNA를 포함하는 것일 수 있다.

[0029] 상기 조성물은 염증성 또는 전염증성 사이토카인의 발현 또는 활성을 억제하는 것일 수 있다. 상기 염증성 또는 전염증성 사이토카인은 Il-1b (Interleukin 1 beta) 및 Mcpt1 (Mast cell protease-1)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단백질, 이를 암호화하는 유전자, DNA 및/또는 mRNA를 포함하는 것일 수 있다.

[0030] 상기 조성물은 장내 미생물군(장내 미생물총)내의 균주의 구성/비율 등의 조성을 조절할 수 있다.

[0031] 구체적으로, 상기 조성물은 장내 미생물군내에서 블라우티아(Blautia) 속 균주 및 파라박테로이데스(Parabacteroides) 속 균주로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 비율을 증진시키는 것일 수 있으며, 및/또는 장내 미생물군내에서 페칼리바쿨럼 (Feacalibaculum) 속 균주의 비율을 감소시키는 것일 수 있다.

[0032] 본 명세서에서의 용어 "치료"는, 본 발명의 조성물의 투여에 의해 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0033] 본 명세서에서의 용어 "예방"은, 본 발명의 조성물의 투여에 의해 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 발병 가능성이 억제되거나 지연되는 모든 행위를 의미한다.

[0034] 본 명세서에서의 용어 "비만 (obesity)"은 지방조직이 비정상적으로 증가된 상태를 의미하며, 체질량지수(BMI)의 구분에 따를 때는 고도 비만(BMI이 30.0 이상인 경우)과 비만(BMI 25~30인 경우) 그리고 과체중(BMI이 23~25인 경우)을 포함하는 의미이다. 상기 비만은 유전적 요인에 의한 비만 또는 환경적 요인에 의한 비만을 모두 포함하는 것일 수 있다.

[0035] 본 명세서에서의 용어 "지질 관련 대사성 질환"은 대사이상으로 인해 조직과 세포외액중의 지질농도에서 이상을

초래하여 발병될 수 있는 질환을 의미한다.

[0036] 상기 지질 관련 대사성 질환은 당뇨, 이상지질혈증, 지방간, 인슐린 저항성 증후군, 동맥경화, 고혈압, 심혈관 질환, 또는 상기 질환들이 동시다발적으로 발생하는 대사증후군으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상인 것일 수 있다.

[0037] 본 명세서에서 용어"이상지방혈증(dyslipidemia)"은 혈액 내의 지방농도 수치가 정상범위 밖에 있는 병적 상태(pathologic condition)를 의미하며, 구체적으로 상기 이상지질혈증은 고지혈증 (hyperlipidemia), 고콜레스테롤혈증 (hypercholesteronemia), 고중성지방혈증 (hypertriglyceridemia), 저-HDL-콜레스테롤혈증 및 고-LDL-콜레스테롤혈증으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것일 수 있으며, 이외에도 지단백의 대사이상을 원인으로 하는 비정상적 지질상태를 모두 포함하는 것일 수 있다.

[0038] 본 명세서에서의 용어 "인슐린 저항성"은 인슐린 작용에 대한 조직의 반응이 감소되는 것을 의미하는 것으로 이로 인하여 나타나는 현상을 인슐린 저항성 증후군이라고 말한다. 인슐린 저항성 증후군은 인슐린 저항성으로 인하여 당대사 이상, 이상지혈증 등 한 사람에게서 함께 잘 나타나는 현상의 지칭하며, 이러한 사람에게서 잘 동반되는 비만을 포함하여 위험인자들이 한 개인에게 군집되어 나타나는 경우를 지칭한다. 이러한 인슐린 저항성의 원인으로 유리 지방산의 증가에 의하여 유발되는 인슐린 작용의 손상과 포도당 대사의 경쟁적 억제가 될 수 있다고 알려져 있다.

[0039] 상기 지방간은 비알콜성 지방간일 수 있다.

[0040] 본 명세서에서의 용어"비알콜성 지방간(Non-alcoholic fatty liver, NAFL)"은 알콜의 흡수와 무관하게 간세포에 과도한 양의 지방이 축적되는 질환을 의미하고, 여기에는 단순지방간(steatosis)과 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)이 포함된다. 단순 지방간은 임상적으로 예후가 양호한 편이나, 염증 혹은 섬유화를 동반하는 NASH는 진행성 간질환으로 간경변 또는 간암을 유발하는 전구질환으로 인지되고 있다. 비만과 인슐린저항성은 대표적인 비알콜성 지방간질환의 위험인자이다. 간섬유증 진행의 위험인자로는 가령, 비만(BMI>30), 혈중 간기능지표 비율(AST/ALT >1) 및 당뇨를 들 수 있고, 특히 C형 간염 보균자가 비알콜지방간일 경우 간암까지 진행될 수 있다. 비알콜성 지방간 환자의 69-100%는 비만환자이고, 비만환자의 20-40%는 비알콜성 지방간을 동반하며, 특히 유럽, 미국, 아시아의 비만아동의 10~77%가 비알콜성 지방간 병변을 보이는데, 이는 비알콜성 간질환의 가장 중요한 위험인자가 비만이기 때문이다.

[0041] 상기 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 상기 "약학적으로 허용 가능한 담체"란 생물체를 자극하지 않으면서, 주입되는 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 의미할 수 있다. 여기서 "약학적으로 허용되는"의 의미는 유효성분의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적응 가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다. 상기 약학적 조성물에 사용 가능한 상기 담체의 종류는 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되고 약학적으로 허용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 상기 담체의 비제한적인 예로는, 락토스, 덱스트로스, 말토 덱스트린, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 글리세롤, 에탄올, 전분, 아카시아 고무, 알기네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사 용액, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 또는 광물유 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다. 상기 약학적 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함하여 당업계에 공지된 통상의 방법으로 투여 경로에 따라 경구용 제형 또는 비경구용 제형으로 제조될 수 있다. 상기 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제제화하여 사용될 수 있다.

[0042] 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제제화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물을 제제화할 경우, 일반적으로 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 또는 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 추가하여 조제될 수 있다.

[0043] 상기 약학 조성물이 경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 현탁액, 웨이퍼 등의 제형으로 제조될 수 있다. 이때 약학적으로 허용되는 적합한 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 덱스트로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨 등의 당류, 옥수수 전분, 감자 전분, 밀 전분 등의 전분류, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스,

나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 마그네슘 스테아레이트, 광물유, 맥아, 젤라틴, 탈크, 폴리올, 식물성유 등을 들 수 있다. 제제화할 경우 필요에 따라 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 및/또는 부형제를 포함하여 제제화할 수 있다.

[0044] 상기 약학 조성물이 비경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 주사제, 경피 투여제, 비강 흡입제 및 좌제의 형태로 제제화될 수 있다. 주사제로 제제화할 경우 적합한 담체로서는 멸균수, 에탄올, 글리세롤이나 프로필렌 글리콜 등의 폴리올 또는 이들의 혼합물을 들 수 있으며, 바람직하게는 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline)나 주사용 멸균수, 5% 덱스트로스 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 경피 투여제로 제제화할 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니멘트제, 에어롤제 등의 형태로 제제화될 수 있다. 비강 흡입제의 경우 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 등의 적합한 추진제를 사용하여 에어로졸 스프레이 형태로 제제화될 수 있으며, 좌제로 제제화할 경우 그 기제로는 위텝솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 폴리에틸렌 글리콜류, 카카오지, 라우린지, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르류, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트류, 소르비탄 지방산 에스테르류 등이 사용될 수 있다.

[0045] 상기 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있는데, 상기 용어 "약학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료 또는 예방에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 예방하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 질환의 중증도, 약물의 활성, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 사용된 본 발명 조성물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율 치료기간, 사용된 본 발명 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 상기 약학 조성물은 단독으로 투여하거나 공지된 비만 또는 지질 관련 대사성 질환에 대한 치료 효과를 나타내는 것으로 알려진 성분과 병용하여 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하다.

[0046] 상기 약학 조성물의 투여량은 사용목적, 질환의 중독도, 환자의 연령, 체중, 성별, 기왕력, 또는 유효성분으로서 사용되는 물질의 종류 등을 고려하여 당업자가 결정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약학 조성물은 성인 1인당 약 0.1 ng 내지 약 1,000 mg/kg, 바람직하게는 1 ng 내지 약 100 mg/kg로 투여할 수 있고, 본 발명의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다. 상기 투여량 또는 투여횟수는 어떠한 면으로든 본원의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0048] 다른 양상은 상기 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 치료 또는 예방 방법을 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 방법에도 공히 적용된다.

[0049] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개체"는 비만 및 지질 관련 대사성 질환이 발병되거나 발병할 위험이 있는 쥐, 가축, 인간 등을 포함하는 포유동물, 조류, 파충류, 양식어류 등을 제한 없이 포함할 수 있으며, 상기 개체는 인간을 제외하는 것일 수 있다.

[0050] 상기 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 이때, 조성물은 액제, 산제, 에어로졸, 주사제, 수액제(링겔), 캡슐제, 환제, 정제, 좌제 또는 패치의 형태로 제형화되어 투여할 수 있다. 상기 비만 및 지질 관련 대사성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여도 투여될 수 있다.

[0051] 상기 약학 조성물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 목적하는 바에 따라 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경피패치투여, 경구 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여 등의 경로를 통해 투여 될 수 있다. 다만, 경구 투여 시에는 제형화되지 않은 형태로도 투여할 수 있고, 위산에 의하여 상기 약학 조성물의 유효성분이 변성 또는 분해될 수 있기 때문에 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화된 형태 또는 경구용 패치형태로 구강내에 투여할 수도 있다. 또한, 상기 조성물은 활성 물질이 표적세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[0053] 또 다른 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘(Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또

는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 조성물에도 공히 적용된다.

[0054] 본 명세서에서의 용어 "개선"은, 본 발명의 조성물의 투여에 의해 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0055] 본 명세서에서의 용어 "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강기능 식품 및 건강 식품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0056] 상기 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 상기 식품 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고 휴대성이 뛰어나므로, 본 발명의 식품 조성물은 비만 또는 지질 관련 대사성 질환 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0057] 상기 식품 조성물은 건강기능식품 조성물일 수 있다.

[0058] 본 명세서에서의 용어 "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, '기능성'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다.

[0059] 상기 건강 식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강 보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강식품, 건강 보조 식품의 용어는 혼용될 수 있다. 구체적으로, 상기 건강 기능 식품은 조성물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.

[0060] 상기 식품 조성물은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 개선에 대하여 높은 효과를 기대할 수 있으므로, 매우 유용하게 사용될 수 있다.

[0061] 상기 식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 구체적으로, 상기 식품 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예들 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신 (niacin), 비오틴 (biotin), 폴레이트 (folate), 판토텐산 (panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크륨(Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0062] 또한, 상기 식품 조성물은 방부제 (소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제 (표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제 (부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨류엔(BHT) 등), 착색제 (타르색소 등), 발색제 (아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제 (아황산나트륨), 조미료 (MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료 (둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료 (바닐린, 락톤류 등), 팽창제 (명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물 (food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0063] 상기 식품 조성물은 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 식품 조성물은 식품 또는 음료에 대하여 50 중량부 이하, 구체적으로 20 중량부 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0064] 상기 식품 조성물의 일 예로 건강음료 조성물로 사용될 수 있으며, 이 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미

제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드; 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강음료 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 구체적으로 약 0.02 ~ 0.03 g이 될 수 있다.

[0065] 상기 외에 건강음료 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강음료 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0066] 상기 식품 조성물은 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 개선 또는 예방 효과를 나타낼 수 있다면 본 발명의 화합물을 다양한 중량%로 포함할 수 있으며, 구체적으로 상기 화합물을 식품 조성물의 총 중량 대비 0.00001 내지 100 중량% 또는 0.01 내지 80 중량%로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0068] 또 다른 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘(Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 조성물에도 공히 적용된다.

[0069] 본 명세서에서의 용어 "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미할 수 있다.

[0070] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

[0071] 상기 사료 조성물은 제제에 따라 비만 및 지질 관련 대사성 질환 개선 또는 예방을 위해 첨가 가능한 공지의 첨가물을 더 포함할 수 있다. 상기 사료 조성물은 고농축액, 분말 또는 과립 형태일 수 있다. 상기 사료 조성물은 동물의 식이 요구를 충족시키는데 통상적으로 사용되는 임의의 단백질-함유 유기 곡분을 더 포함할 수 있다. 상기 사료 조성물은 동물 사료에 침지, 분무, 또는 혼합으로 첨가하여 사용될 수 있다.

[0072] 상기 사료 조성물은 영양소 보충 및 체중감소 예방, 사료 내 섬유소의 소화 이용성 증진, 유질 개선, 번식장애 예방 및 수태율 향상, 하절기 고온 스트레스 예방 등 다양한 효과를 나타내는 물질을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어 탄산수소나트륨, 벤토나이트(bentonite), 산화마그네슘, 복합광물질 등의 광물질제제, 아연, 구리, 코발트, 셀레늄 등의 미량 광물질인 미네랄제제, 케로틴, 비타민 E, 비타민 A, D, E, 니코틴산, 비타민 B 복합체 등의 비타민제, 메티오닌, 리이산 등의 보호아미노산제, 지방산 칼슘염 등의 보호지방산제, 생균제(유산균제), 효모배양물, 곰팡이 발효물 등의 생균, 효모제 등이 추가로 포함될 수 있다.

[0073] 상기 사료 조성물은 포유류, 가금류를 포함하는 다수의 동물 식이 즉, 사료 및 음용수에 적용할 수 있다.

[0074] 상기 사료 조성물은 사료에 첨가되는 물질 (즉, 사료 첨가제), 사료 원료 또는 개체에 급여되는 사료 자체를 모두 포함하는 것일 수 있다.

[0076] 또 다른 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘(Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 셀룰라이트의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 조성물에도 공히 적용된다.

[0077] 본 명세서에서의 용어 "셀룰라이트(cellulite)"는 과도한 지방과 노폐물의 축적에 의한 순환장애로 피부가 거친 오렌지 껍질 같이 울퉁불퉁하게 되는 현상으로, 콜라겐과 엘라스틴이 존재하는 피부의 진피층 내에서 생성되며 여성에서 특히 빈번하게 발생한다. 셀룰라이트 비만은 피하 지방조직의 이상 누적 외에도 임파체계의 이상으로

임파액이 인체 조직 간극에 정체됨으로써 그 부위에 일종의 부종현상이 나타나 마치 살이 찐 것처럼 보이는 것으로, 체형 변화의 큰 요인이 된다. 조직 간극에 임파액이 정체되면 비만증과 같은 미용상의 문제뿐만 아니라 체내에 독성물질이 누적되어 피부세포에 악영향을 끼치고 세포의 영양섭취를 위한 이온화 활동을 저해하여 피부의 노화는 물론 세포의 괴사현상까지 유발하게 된다.

[0078] 상기 화장료 조성물의 제형은 통상적인 화장료의 제형이라면 제한되지 않지만, 예컨대 유연화장수, 수렴화장수 또는 영양화장수 등의 스킨, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이 크림, 아이 에센스, 클렌징크림, 클렌징 폼, 클렌징워터, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일 또는 바디에센스일 수 있다.

[0079] 상기 화장료 조성물은 화장료의 제형 또는 사용 목적에 맞게 임의로 선정한 물질을 첨가할 수 있으며, 예를 들어 보존제, 안정화제, 계면활성제, 용해제, 보습제, 에몰리언트제, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, pH 조정제, 유기 및 무기 안료, 향료, 냉감제 또는 제한제 등을 더 포함할 수 있다. 상기 추가 성분의 배합량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 용이하게 선정 가능하다.

[0080] 상기 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우, 담체 성분으로서 예를 들어 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등을 포함할 수 있다.

[0081] 상기 화장료 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우, 담체 성분으로서 예를 들어 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더를 포함할 수 있고, 특히, 스프레이인 경우, 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0082] 상기 화장료 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우, 담체 성분으로서 예를 들어 용매, 용해화제 또는 유탁화제를 포함할 수 있고, 예를 들어, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르를 포함할 수 있다.

[0083] 상기 화장료 조성물의 제형이 현탁액인 경우, 담체 성분으로서 예를 들어 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등을 포함할 수 있다.

[0084] 상기 화장료 조성물의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우, 담체 성분으로서 예를 들어 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸 타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등을 포함할 수 있다.

[0086] 또 다른 양상은 개체의 피부에 상기 셀룰라이트의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 적용하는 단계를 포함하는, 셀룰라이트 예방 또는 개선을 통한 피부 개선 방법을 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 방법에도 공히 적용된다.

[0087] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개체"는 셀룰라이트가 발생하거나 발생할 가능성이 있는 쥐, 가축, 인간 등을 포함하는 포유동물, 조류, 파충류, 양식어류 등을 제한 없이 포함할 수 있다.

[0088] 상기 방법은 피부 개선을 통한 미용 방법일 수 있다.

[0089] 본 명세서에서의 용어 "적용"은 손가락, 브러쉬, 솜뭉치, 패드, 스프레이, 스폰지, 면봉, 롤-온(roll-on) 등에 의한 적용과 같이, 개체의 피부에 투여 또는 도포하는 방법을 포함한다. 해당 분야의 통상의 기술자는 적용하는 적절한 방법을 용이하게 결정할 수 있다.

[0090] 상기 방법에 있어서, 상기 적용하는 단계는 상기 조성물을 1분 내지 90분의 간격으로 적용하는 것일 수 있고, 구체적으로 1분 내지 90분, 5분 내지 90분, 1분 내지 60분, 5분 내지 60분, 1분 내지 30분, 5분 내지 30분, 10분 내지 30분, 10분 내지 90분, 10분 내지 60분의 간격으로 이루어지는 것일 수 있다.

[0091] 상기 방법에 있어서, 상기 적용하는 단계는 상기 조성물을 1회 내지 30회로 적용하는 것일 수 있고, 구체적으로 1회 내지 30회, 1회 내지 25회, 5회 내지 30회, 5회 내지 25회, 1회 내지 20회, 5회 내지 20회, 10회 내지 20

회, 10회 내지 30회, 10회 내지 25회로 적용되는 것일 수 있다.

[0093] 또 다른 양상은 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는, 장내 미생물군을 조절하기 위한 조성물을 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 조성물에도 공히 적용된다.

[0094] 상기 조성물은 약학 조성물, 식품 조성물, 화장료 조성물 또는 사료 조성물일 수 있다.

[0095] 상기 조성물은 장내 미생물군(장내 미생물총)내의 균주의 구성/비율 등의 조성을 조절할 수 있다.

[0096] 상기 조성물은 비만 관련 장내 미생물군을 조절하기 위한 것일 수 있으며, 구체적으로, 상기 조성물은 장내 미생물군내에서 블라우티아(Blautia) 속 균주 및 파라박테로이데스 (Parabacteroides) 속 균주로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 비율을 증진시키는 것일 수 있으며, 및/또는 장내 미생물군내에서 페칼리바쿨럼 (Feacalibaculum) 속 균주의 비율을 감소시키는 것일 수 있다.

[0097] 상기 조성물은 장내 미생물군을 조절하여 비만 및/또는 지질 관련 대사성 질환을 치료, 예방 또는 개선시키는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0098] 본 발명의 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A) 및 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)을 유효성분으로 포함하는 조성물은 지질 합성/축적 및 지방 합성 등의 억제를 유도하며, 이에 따라 지방 수준을 감소시킬뿐만 아니라 체중 및 체중 증가량을 억제할 수 있음을 확인하였는바, 상기 조성물을 이용하여 비만 및 지질 관련 대사성 질환 등에 대한 효과를 증진시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0099] 도 1은 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 신장주위 지방 세포의 크기를 관찰한 결과를 나타낸 도면이다.

도 2는 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 신장주위 지방 세포의 크기를 그래프화하여 나타낸 도면이다.

도 3은 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 Srebf1, Pparg, Cd36 및 Lpl의 발현 수준을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 4는 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 간 조직에서의 GOT 및 GPT 수준을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 5는 Reb A 및/또는 NHDC 처리 후 간 조직을 H&E 염색하여 관찰한 결과를 나타낸 도면이다.

도 6은 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 간 중성시방 수준을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 7은 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 Pparg, Fasn 및 Acaca의 발현 수준을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 8은 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 Ppara의 발현 수준을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 9는 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 Il-1b 및 Mcpt1의 발현 수준을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 10은 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 장내 미생물군의 구성을 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 11은 Reb A 및/또는 NHDC 처리에 따른 장내 미생물군의 미생물 풍부도를 분석하나 결과를 나타낸 도면이다.

한편, 상기 도면에 기재된 각 알파벳 문자는 서로의 유의미한 차이를 나타낸다($p < 0.05$).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0100] 이하 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0102] **실시예 1: 동물 실험 과정 및 결과 분석 방법**

[0104] 1.1: 실험 동물 준비 및 처리 과정

[0105] 본 발명에서의 동물 실험은 하기와 같은 과정으로 수행하였다.

[0106] 먼저, 5주령 C57BL/6J(19-21g) 및 C57BL/6J-ob/ob(23-29g) 수컷 마우스를 중앙실험동물㈜(Central Lab Animal, Inc.)에서 구입하였다. 각 동물은 표준 조건(22±2 ℃, 50±5% 습도, 12시간 명/암주기)에서 단일 우리에 보관되었다. 마우스는 American Institute of Nutrition(AIN-93G) 식이(Raonbio, Yongin, Korea) 및 여과수에 자유롭게 접근하도록 허용하였다. 9일 동안 적응시킨 후, 마우스를 체중(body weight, b.w.) 및 공복 혈당(fasting blood glucose, FBG)에 따라 무작위로 하기와 같이 5개의 그룹(n=7-10/그룹)으로 나누었다:

[0107] (a) Ctrl: 비히클이 투여된 C57BL/6J 마우스의 정상 대조군;

[0108] (b) OB: 비히클이 투여된 C57BL/6J-ob/ob 마우스의 비만 대조군;

[0109] (c) Reb A: 50 mg/kg b.w.의 레바우디오사이드 A (Rebaudioside A, Reb A)가 투여된 OB 마우스 그룹;

[0110] (d) NHDC: 100 mg/kg b.w.의 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘 (Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC)가 투여된 OB 마우스의 그룹;

[0111] (e) COMB: 50 mg/kg b.w. Reb A 및 100 mg/kg b.w. NHDC이 투여된 OB 마우스 그룹.

[0112] 비히클 및 Reb A/NHDC는 4주 동안 주당 5일을 경구 섭식법(oral gavage)으로 투여하였다. 체중(b.w.) 및 음식/물 섭취량은 4주의 실험 기간 동안 주 2회 모니터링하였다. 식이효율 (food efficiency ratio, FER)은 다음과 같은 공식으로 계산되었다:

[0113] 체중 증가(b.w. gain)(g) / 음식 섭취량(food intake)(g) x 100.

[0114] 실험 프로토콜은 이화여자대학교 동물실험위원회(IACUC No: EWHA IACUC 21-007-4)의 승인을 받았으며 국립보건원(NIH)의 동물연구자문위원회 지침을 따랐다.

[0116] 1.2: 혈액 및 조직 샘플 준비

[0117] 상기 실시예 1.1에 기재한 4주간의 실험이 완료된 후, 모든 마우스를 밤새 금식시킨 후 이소플루란(Piramal Critical Care, Bethlehem, PA, USA)으로 마취시켰다. 전혈은 복정맥에서 채혈한 후 13,000 x g, 4 ℃에서 15분 동안 원심분리하여 전혈에서 혈청을 분리하였다. 해부된 장기와 지방 조직은 -80 ℃의 냉동실에 보관하였다. 간 절편과 신장주위 지방 조직 샘플의 일부는 10% 포르말린과 RNAlater(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)에 보관했다. GOT(glutamic oxaloacetic transaminase) 및 GPT(glutamic pyruvic transaminase)의 혈청 농도는 관련 키트(아산제약, 서울, 한국)를 사용하여 분석하였다.

[0119] 1.3: 조직병리학적(Histopathological) 분석

[0120] 상기 실시예 1.1에 기재한 4주간의 실험이 완료된 후, 마우스를 희생시킨 후, 신장주위 지방 및 간 조직을 즉시 10% 인산염 완충 포르말린 용액에 고정시키고 파라핀에 포매하였다. 상기 조직들 샘플의 절편(4~5㎛)은 H&E (hematoxylin and eosin)으로 염색되었다. 염색된 절편은 슬라이드를 이용하여 현미경으로 관찰하고 사진을 찍었다(Nikon, Tokyo, Japan).

[0122] 1.4: 간 중성지방(hepatic triglyceride) 함량 분석

[0123] 간의 중성지방 함량을 분석하기 위해, 먼저 간 조직(100mg)을 350㎕ 에탄올 KOH 용액(2:1 = 100% 에탄올:30% KOH)과 혼합했다. 상기 혼합물을 55 ℃에서 밤새 배양한 후, 50% 에탄올을 첨가하였으며, 샘플을 8,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 새 튜브에 모았다. 샘플에 $MgCl_2$(1M)를 첨가한 다음, 샘플을 얼음 위에서 10분 동안 인큐베이션하였고, 다시 8,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 상등액을 모았다.

[0124] 간 중성지방은 트리글리세라이드 시약, 유리 글리세롤 시약 및 글리세롤 표준 용액(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하여 측정하였다. 마이크로플레이트 판독기(Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 540nm에서의 흡광도를 측정하였다.

[0126] 1.5: RNA 분리 및 RT-PCR(reverse transcriptase-polymerase chain reaction) 분석

[0127] 냉동시킨 간 및 신장주위 지방 조직에서 총 RNA를 추출하기 위해, TRIzol 시약(Invitrogen)을 사용하여 실온에서 균질화하였다. 이후 RevertAid Reverse Transcriptase(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하여 RNA를 역전사하고 cDNA로 합성했다. PCR은 제조사의 프로토콜에 따라 진행하였으며, initiation step 94 ℃ (5 min), denaturation 94 ℃ (30 s), annealing 56 ℃ (45 s), extension 72 ℃ (2 min)의 조건으로 수행하였다. PCR 샘플은 1.5-2.0% 아가로스 젤에서 전기영동하였고, gel documentation system을 사용하여 시각화되었다. 각 결과는 내부 대조군인 글리세르알데하이드-3 인산 탈수소효소(GAPDH)로 정규화되었다.

[0128] 본 발명에서 사용한 프라이머의 정보 및 서열은 하기 표 1에 기재하였다.

표 1

[0129]

유전자 이름	GenBank ID	염기서열 (5` to 3`)		서열 번호
Acaca	107476	F	AGGATTTGCTGTTTCTCAGAGCTT	1
		R	CAGGATCTACCCAGGCCACAT	2
Cd36	12491	F	GTGCTCTCCCTTGATTCTGC	3
		R	TGAGAATGCCTCCAAACACA	4
Fasn	14104	F	TGTGAGTGGTTCAGAGGCAT	5
		R	TTCTGTAGTGCCAGCAAGCT	6
Il1b	16176	F	ATGGCAACTGTTCCTGAACTCAACT	7
		R	CAGGACAGGTATAGATTCTTTCCTTT	8
Mcpt1	17224	F	CCCACTCACCTGCTGCTACT	9
		R	TCTGGACCCATTCCTTCTTG	10
Ppara	19013	F	CCAACATGGTGGACACAGAG	11
		R	GCAAAACCAAAGCTTCCAGA	12
Pparg	19016	F	GAGCACTTCACAAGAAATTACC	13
		R	GAACTCCATAGTGGAAGCCT	14
Srebf1	20787	F	TAGAGCATATCCCCCAGGTG	15
		R	GGTACGGGCCACAAGAAGTA	16
Lpl	16956	F	TCCCGTTACCGTCCATCC	17
		R	GAGTTTGACCGCCTTCCG	18
Gapdh	14433	F	AACTTTGGCATTGTGGAAGG	19
		R	TGTGAGGGAGATGCTCAGTG	20

[0131] 1.6: 장내 미생물군(gut microbiota) 분석

[0132] 장내 미생물군을 분석하기 위해, 마우스 대변 샘플은 희생 전날에 수집하였고, 즉시 액체 질소에서 동결시켰다. 대변 DNA 추출은 제조업체의 지침에 따라 Fast DNA Spin Kit for Soil(MP Biomedicals, Santa Ana, CA, USA)을 사용하여 수행되었다. 16S rRNA 유전자의 V4 영역을 F515/R806 프라이머 세트를 이용하여 증폭하였고, 16S rRNA 유전자 기반 시퀀싱은 Earth Microbiome Project (EMP) 프로토콜(Nature 551:457-463. 2017)에 기반한 Illumina MiSeq 플랫폼(2x300 cycles, paired-end)을 사용하여 수행되었다. 모든 amplicon 시퀀스 데이터 및 메타데이터는 EMP 데이터 포털(qiita.microbio.me/emp)을 통해 공개되었다.

[0133] 원시 시퀀스 세트는 QIIME 2 버전 2021.11 (Nat Biotechnol 37:852-857. 2019) 및 관련 플러그인을 사용하여 분석되었다. Qualified reads는 DADA2로 트리밍되고 노이즈가 제거되었으며(Nat Methods 13:581-3. 2016), MAFFT(Nucleic Acids Res 30:3059-66. 2002) 및 FastTree 2(PLoS One 5:e9490. 2010)를 사용하여 ASV (amplicon sequence variant)를 계산했다. SILVA 16S rRNA 유전자 데이터베이스(Nucleic Acids Res 42:D643-8. 2014)는 각 ASV의 분류학적 분류에 사용되었다. 선형 차별 분석(Linear discrimination analysis, LDA) 효과 크기(LEfSe) (Genome Biol 12:R60. 2011)를 사용하여 그룹 간 박테리아 분류군의 상대적 존재비의 유의한 차이를 감지했다(LDA 점수 > 3.0).

[0135] 1.7: 통계적 분석

[0136] 데이터는 평균±표준편차(SEM)로 표시하였다. 그룹 간 비교는 일원 분산 분석(one-way analysis of variance, ANOVA)에 이어 Newman-Keuls 사후 테스트(Newman-Keuls post hoc test)로 평가하였다. GraphPad Prism 소프트웨어(GraphPad Software, San Diego, CA, USA)를 사용하여 결과를 분석했으며 0.05 미만의 p-값을 유의한 것으로 간주했다.

[0138] **실시예 2: Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 체중, 음식/물 섭취량 및 FER 평가**

[0139] ob/ob 마우스는 렙틴 유전자에 동형접합 돌연변이를 갖는 단일유전자 비만 동물 모델로서, 상기 모델은 비만 및 제2형 당뇨병, 이상지질혈증, 또는 비알코올 지방간질환(NAFLD)과 같은 비만 관련 대사질환 연구에 널리 사용된다.

[0140] 상기 실시예에서는 ob/ob 마우스에 Reb A 및 NHDC을 병용 투여할 경우, 마우스의 체중 변화, 음식/물 섭취량 및 FER에 대해 평가하였다.

[0141] 그 결과, 하기 표 2에 나타난 바와 같이, 대조군(Ctrl) 그룹에 비해 OB 그룹에서 체중 및 사료/식수 섭취량이 크게 증가했으며 ($p < 0.001$, 표 2), Reb A 및 NHDC 병용 투여 그룹(COMB)의 최종 체중은 OB 그룹에 비해 약 23% 유의하게 감소한 반면($p < 0.01$), Reb A 또는 NHDC를 단독 투여한 군은 체중 감소에 대해 통계적 유의성이 나타나지 않았음을 확인하였다.

표 2

[0142]

	Ctrl	OB	Reb A	NHDC	COMB
최종 체중(Final body weight)(g)	24.41 ±0.22^{a}	38.39 ±0.53^{b}	35.39 ±0.92^{bc}	34.37 ±1.23^{bc}	32.89 ±1.36^{c}
체중증가량(Body weight gain)(g)	3.55 ±0.22^{a}	7.12 ±0.50^{b}	4.96 ±0.60^{ab}	3.79 ±0.74^{a}	2.83 ±0.97^{a}
사료 섭취량(Food intake)(g/day)	3.49 ±0.06^{a}	5.86 ±0.34^{b}	5.84 ±0.17^{b}	6.33 ±0.27^{b}	6.46 ±0.25^{b}
식수 섭취량 (ml/day)	6.29 ± 0.65^{a}	25.82 ± 6.08^{b}	17.79 ± 1.50^{b}	20 ± 2.52^{b}	20.29 ± 1.65^{b}
FER(%)	3.77±0.23^{a}	4.55 ±0.34^{a}	3.20 ±0.41^{ab}	2.34 ±0.51^{ab}	1.77 ±0.59^{b}

상기 데이터는 평균±표준편차로 표시되었고, Newman-Keuls 사후 테스트 테스트를 사용한 일원 ANOVA으로 분석되었다. 각 알파벳 문자는 서로의 유의미한 차이를 나타낸다($p < 0.05$).

[0144] 또한, 사료 이용률을 나타내는 FER 및 체중 증가량 (b.w. gain, BWG)은 COMB 그룹이 Reb A 또는 NHDC를 투여한 그룹에 비해 현저하게 감소하는 것을 확인하였다.

[0145] 한편, 사료/식수섭취량은 Reb A 및/또는 NHDC 투여에 의해 영향을 받지 않았다. 상기 결과는 식욕을 조절하고 음식 섭취를 억제하는 호르몬인 렙틴이 유전적으로 결핍된 ob/ob 마우스를 이용하여 실험을 수행하였기 때문인 것으로 파악된다.

[0146] 상기 결과를 토대로, Reb A 및 NHDC를 병용 투여하는 경우, 체중 증가를 효과적으로 억제하는 것을 알 수 있다.

[0148] **실시예 3: Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 지방 조직 무게 변화 분석**

[0149] 백색 복부 지방 조직(white abdominal adipose tissue)은 크게 피하 지방 조직(subcutaneous adipose tissue,

SCAT)과 내장 지방 조직(visceral adipose tissue, VAT)으로 분류되며, 상기 VAT는 신장주위(perirenal) 지방 조직, 장간막(mesenteric) 지방 조직 및 부고환(epididymal) 지방 조직을 포함하는 세 가지 유형으로 하위 분류될 수 있다.

[0150] 상기 실시예에서는 ob/ob 마우스에 Reb A 및 NHDC을 병용 투여할 경우, 마우스의 지방 조직 변화 정도에 대해 평가하였다.

[0151] 그 결과, 하기 표 3에 나타난 바와 같이, 상기 실시예에서는, 총 지방 조직의 중량은 대조군에 비해 OB 그룹에서 유의하게 증가($p<0.001$)한 반면, Reb A 그룹($p < 0.01$)에서는 21.87%, NHDC 그룹에서는 21.39%($p < 0.01$) 및 COMB 그룹에서는 30.27%($p < 0.001$)가 감소되었다 (표 3). 또한, 피하 지방 조직의 중량은 OB 그룹에 비해 COMB 그룹에서 유의하게 감소하였고($p<0.01$), 전체 내장 지방 조직 및 신장주위 지방 조직의 중량 또한 OB 그룹에 비해 COMB 그룹에서 유의하게 감소하였으며($p<0.01$), COMB 그룹은 Reb A 그룹 또는 NHDC 그룹 보다도 현저하게 감소하였다. 상기 결과를 토대로 Reb A 및 NHDC의 병용 투여는 지방 조직의 중량을 감소시킴으로서 BWG를 감소시켰음을 알 수 있다.

표 3

[0152]

	Ctrl	OB	Reb A	NHDC	COMB
총 지방 조직(Total adipose tissues)(g)	0.61 ±0.66^{a}	6.31 ±0.20^{b}	4.93 ±0.28^{c}	4.96 ±0.31^{c}	4.65 ±0.38^{c}
피하 지방 조직(Subcutaneous adipose tissues)(g)	0.14 ±0.02^{a}	2.11 ±0.12^{b}	1.62 ±0.12^{bc}	1.58 ±0.16^{bc}	1.43 ±0.14^{c}
내장 지방 조직 (Visceral adipose tissues) (g)	0.47± 0.05^{a}	4.20± 0.20^{b}	3.30± 0.28^{c}	3.38± 0.19^{bc}	3.04± 0.23^{c}
신장주위 지방 조직 (Perirenal adipose tissues)(g)	0.04±0.01^{a}	1.19 ±0.09^{b}	0.83 ±0.06^{c}	0.89 ±0.12^{bc}	0.75 ±0.05^{c}
장간막 지방조직(mesenteric adipose tissues)(g)	0.16±0.01^{a}	0.88 ±0.08^{b}	0.70 ±0.08^{b}	0.69 ±0.08^{b}	0.73 ±0.05^{b}
부고환 지방 조직(Epididymal adipose tissues)(g)	0.27±0.02^{a}	2.13 ±0.08^{b}	1.97 ±0.10^{b}	1.80 ±0.14^{b}	1.74 ±0.13^{b}
상기 데이터는 평균±표준편차로 표시되었고, Newman-Keuls 사후 테스트를 사용한 일원 ANOVA으로 분석되었다. 각 알파벳 문자는 서로의 유의미한 차이를 나타낸다($p < 0.05$).					

[0154] **실시예 4: Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 신장주위 지방 조직의 지질 대사 분석**

[0155] 비만은 지방세포 수의 증가 및 지방세포 크기의 확장에 의한 지방 조직의 과도한 축적과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 이에, ob/ob 마우스에서의 Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 신장주위 지방 조직의 변화 및 지질 대사 패턴을 분석하였다.

[0156] 먼저, Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 신장주위 지방 세포의 크기 변화를 관찰하기 위해, 조직학적 분석을 수행하였다. 그 결과, 지방 세포의 크기는 OB 그룹과 비교하여 Reb A 그룹에서 8.9%($p < 0.01$), NHDC 그룹에서 28.8%($p < 0.001$)정도 감소하였으며, Reb A 및 NHDC를 병용 투여한 COMB 그룹에서 51.8%($p < 0.001$)로 현저한 수준을 감소한 것을 확인하였다 (도 1 및 도 2).

[0157] 다음으로, 상기와 같이 Reb A 및/또는 NHDC에 의한 신장주위 지방 조직의 감소에 대한 작용기전을 분석하기 위해, 지방 생성(adipogenesis) 및 지질 생성(lipogenesis)과 관련된 유전자의 발현을 분석했다. 그 결과, COMB 그룹에서 지질 생성 조절자인 *Srebf1* (Sterol Regulatory Element Binding Transcription Factor 1)의 발현 수준은 OB 그룹에 비해 현저히 억제되는 것을 확인하였다($p < 0.05$). 또한, 지방 세포와 간에서 높게 발현되며, *Cd36*(cluster of differentiation 36) 및 *Lpl*(Lipoprotein lipase)을 조절하여 FFA 흡수 및 저장을 조절할 수 있는 것으로 알려진 지방 생성 관련 유전자인 *Pparg* (Peroxisome proliferator-activated γ)의 mRNA 수준은 Ctrl 그룹과 비교하여 OB 그룹에서 상당히 상향 조절되었으며($p < 0.01$), COMB 그룹에서는 Reb A 그룹 또는 NHDC 그룹에 비해 현저히 하향 조절되었다($p < 0.01$). 또한, *Cd36* 및 *Lpl* 와 같은 지방산 흡수 마커는 Ctrl 그

룹과 비교하여 OB 그룹에서 유의하게 상향 조절되었으며($p < 0.01$), COMB 그룹에서는 Reb A 그룹 또는 NHDC 그룹에 비해 *Cd36* 및 *Lpl*의 발현 수준을 유의하게 억제했다($p < 0.01$) (도 3).

[0158] 상기의 분자생물학적 메커니즘을 토대로, Reb A 및 NHDC의 병용투여는 Reb A 또는 NHDC를 각각 투여하는 것보다 현저히 우수한 지질 축적 억제 효능을 나타내는 것을 알 수 있으며, 이와 관련된 유전자의 발현 조절은 지방세포 크기, 지방 부피 및 궁극적으로 BWG의 감소에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

[0160] **실시예 5: Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 간 기능 평가 및 간 지질 축적 분석**

[0161] 고지혈증, 지방증 및 간경변과 같은 간 기능 장애의 경우 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase) 및 GPT (glutamlc pyruvic transamlnase)와 같은 효소를 혈류로 방출하여 GOT 및 GPT 수준을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 따라서, GOT 및 GPT는 간 기능을 확인할 수 있는 유용한 바이오마커이다.

[0162] 이에, ob/ob 마우스에서의 Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 GOT 및 GPT의 혈청 내 농도를 분석하였다. 그 결과, GOT 및 GPT의 발현 수준은 대조군에 비해 OB 그룹에서 각각 2.7배($p < 0.001$), 1.9배($p < 0.001$) 정도 유의하게 증가했다(도 4). 또한, GOT 및 GPT의 발현 수준은 OB 그룹에 비해 COMB 그룹에서 유의미하게 하향조절되었음을 확인하였다.

[0163] 한편, 래트에서 Reb A의 NOAEL(no observed-adverse-effect level)은 4.1g/kg/일보다 높은 것으로 알려져있으며(Food Chem Toxicol 46 Suppl 7:S11-20. 2008), NHDC의 NOAEL은 0.75g/kg/일로 알려져있다(Food and Chemical Toxicology 28:507-513. 1990). 따라서, 상기 실시예에서 사용된 Reb A 및 NHDC의 용량은 각각의 NOAEL보다 훨씬 낮았으며, GOT 및 GPT의 감소된 수준을 토대로 상기의 병용 투여는 간 독성을 유발하지 않으며, 오히려 간 기능 장애의 진행을 억제하는 것을 알 수 있다.

[0164] 다음으로, 간 지방증(Hepatic steatosis) 또는 지방간은 간에서 중성 지방(트리글리세라이드)이 과도하게 축적되는 것에 의해 발생하며 VAT는 지방간 병리와 밀접한 관련이 있는 것을 알려져있다. 따라서, 상기 실시예에서는 Reb A 및 NHDC의 병용 투여가 간 지질 축적에 미치는 영향을 분석하고 VAT와의 상관 관계를 확인하기 위해, 간에서의 지질 대사를 분석했다. 구체적으로, ob/ob 마우스에서 간 지질 축적 수준을 확인하기 위해, 간 조직의 조직학적 특징과 중성지방 수준을 분석했다. 그 결과, 지방구(lipid droplet)의 크기와 수는 대조군에 비해 OB 그룹에서 증가하였고, COMB 그룹에서는 유의하게 감소하였다(도 5). 또한, 간의 중성지방 수치는 대조군보다 OB 그룹에서 유의하게 높았으며($p < 0.001$), COMB 그룹에서는 유의하게 억제되었다($p < 0.05$) (도 6). 한편, Reb A 또는 NHDC 그룹에서는 간 중성지방 수치가 감소하는 경향이 있었지만 유의미하지는 않았다. 상기 결과를 토대로, Reb A 및 NHDC의 병용 투여가 ob/ob 마우스에서 상승된 간 중성 지방 수준을 감소시킴으로서 지방간 진행을 억제하는 등의 유익한 효과가 있음을 알 수 있다.

[0166] **실시예 6: Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 간 지질 대사 분석**

[0167] 간세포에서는 Pparg가 Fasn (Fatty Acid Synthase) 및 Acaca (Acetyl-CoA Carboxylase Alpha)와 같은 지방산 합성 효소 및 지방 생성 관련 유전자의 발현을 유도하여 간 중성지방의 축적을 유도하는 것으로 알려져 있다. 이에, ob/ob 마우스에서의 Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 간 지질 대사 패턴을 분석하였다.

[0168] 먼저, 지방 생성(adipogenesis) 관련 유전자인 Pparg와 지질 생성 (lipogenesis) 관련 유전자인 Fasn 및 Acaca의 발현 수준의 경우, OB 그룹에서는 상향 조절되었지만, COMB 그룹에서는 유의하게 하향 조절된 것을 확인하였다 (Pparg의 경우 $p<0.01$; Fasn 및 Acaca의 경우 $p<0.05$). 한편, 상기 유전자들의 발현 수준은 Reb A 또는 NHDC 단독으로 처리된 그룹에서도 하향조절되는 경향이 있었지만, 그 변화 수준은 유의하지 않았다(도 7). 상기 결과를 토대로, Reb A 및 NHDC을 병용 투여하는 경우 de novo 지질 합성을 하향 조절함으로써 간의 지방 축적을 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있다.

[0169] 다음으로, β-산화와 관련된 유전자로서 간 지질 축적을 방지하고 간에서 FFA 산화를 조절하는 것으로 알려진 Ppara (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha)의 발현 수준을 간 샘플에서 PCR을 이용하여 분석했다. 그 결과, Ppara의 발현 수준은 OB 그룹에 비해 COMB 그룹에서 현저히 향상된 것으로 확인하였다 ($p<0.05$). 또한, Reb A 또는 NHDC를 단독 투여한 경우, Ppara 발현을 상향조절하는 경향이 나타나긴 했으나 유의성은 없었다(도 8). 상기 결과를 토대로, Reb A 및 NHDC을 병용 투여하는 경우 간에서 β-산화를 조절함으로

써 에너지 연소를 활성화시키고, 지방 저장을 감소시킨다는 것을 알 수 있다.

[0170] 다음으로, 지방 조직에서 고도로 발현되며, 인슐린 불감성의 핵심 조절인자로서 지방간 질환의 병인에서 중심적인 역할을 하는 것으로 알려져 있는 전염증성 사이토카인인 Il-1b (Interleukin 1 beta) 및 Mcpt1 (Mast cell protease-1)의 발현 수준을 평가하였다. 그 결과, Il-1b의 발현 수준은 COMB 그룹에서 현저히 억제되는 것을 확인하였으며($p < 0.01$), Mcpt1의 발현 수준 또한 COMB 그룹에서 현저히 억제되는 것을 확인하였다 ($p < 0.01$) (도 9). 상기 결과를 토대로, Reb A 및 NHDC을 병용 투여하는 경우 전염증성 사이토카인의 발현을 조절하여 간 염증을 억제할 수 있고, 간 질환의 진행을 억제할 수 있음을 알 수 있다.

[0172] **실시예 7: Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 장내 미생물군 패턴 변화 분석**

[0173] 일반적으로, 장내 미생물군의 조성 및 기능은 주로 무-칼로리 인공 감미료와 같은 식이 성분에 의해 영향을 받으며, 비만, 당뇨병 및 NAFLD와 같은 질병과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 이에, ob/ob 마우스에서 Reb A 및 NHDC 병용 투여에 따른 장내 미생물 다양성 패턴을 분석하기 위해, 대변 샘플을 이용하여 속(genus) 수준에서 16S rDNA 유전자 기반 분석을 수행하였다.

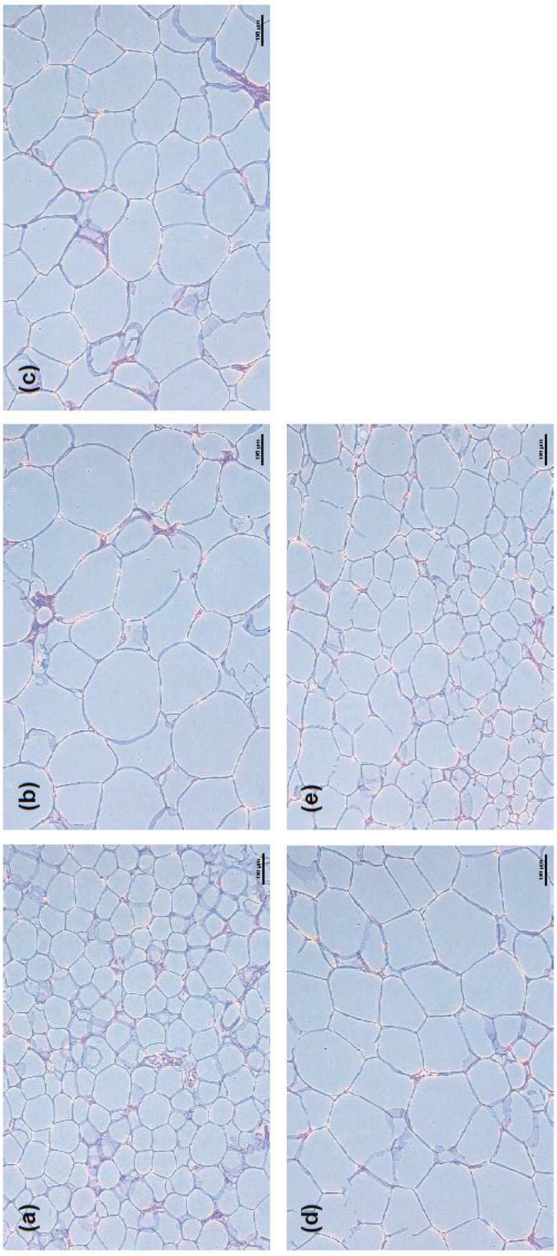
[0174] LDA(Linear Discrimination Analysis)를 사용하여, 그룹 간에 과발견된 장내 미생물군 분류를 분석한 결과, Reb A 및 NHDC 병용 투여한 그룹에서는 OB 그룹과 비교하여 장내 미생물군의 구성이 현저히 변화한 것으로 확인하였다. 구체적으로 블라우티아(Blautia) 속 균주 및 파라박테로이데스 (Parabacteroides) 속 균주의 비율이 크게 증가하고 페칼리바큘럼 (Feacalibaculum) 속 균주의 비율이 크게 감소하였다 (도 10 및 도 11).

[0175] 상기 결과를 토대로, Reb A 및 NHDC의 병용 투여는 체중 증가에 기여하고, 비만 및 NAFLD 모두에 대해 양의 상관관계가 있는 것으로 알려진 페칼리바큘럼 속 균주의 비율을 감소시키는 것을 알 수 있는 바, Reb A 및 NHDC의 병용 투여는 장내 미생물군 프로파일을 조절함으로써 항비만 효과에 기여할 수 있음을 알 수 있다.

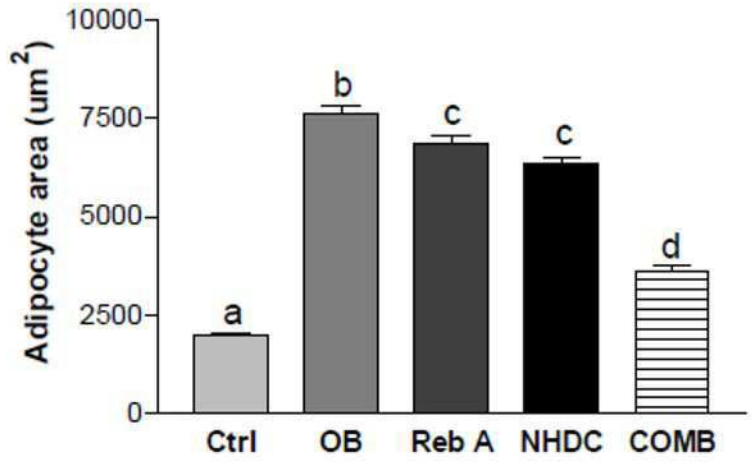
[0177] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

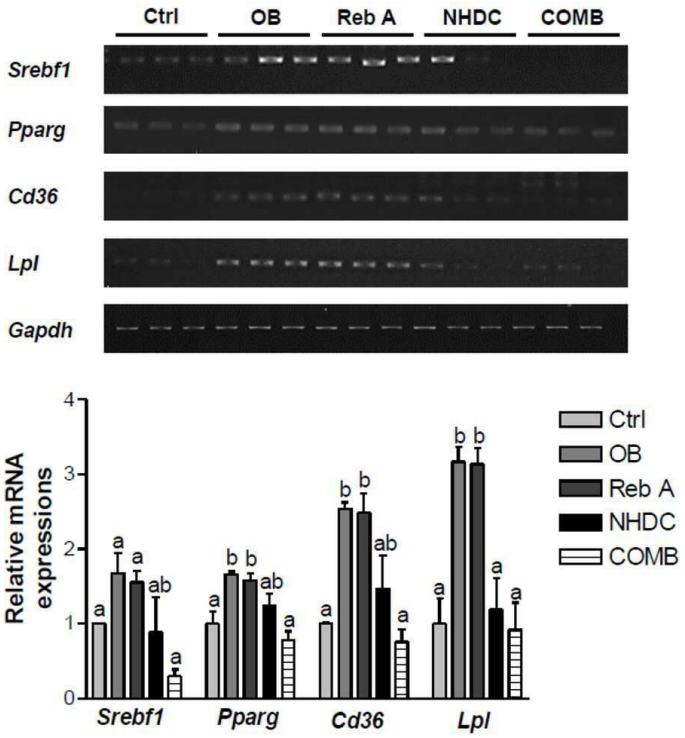
도면1



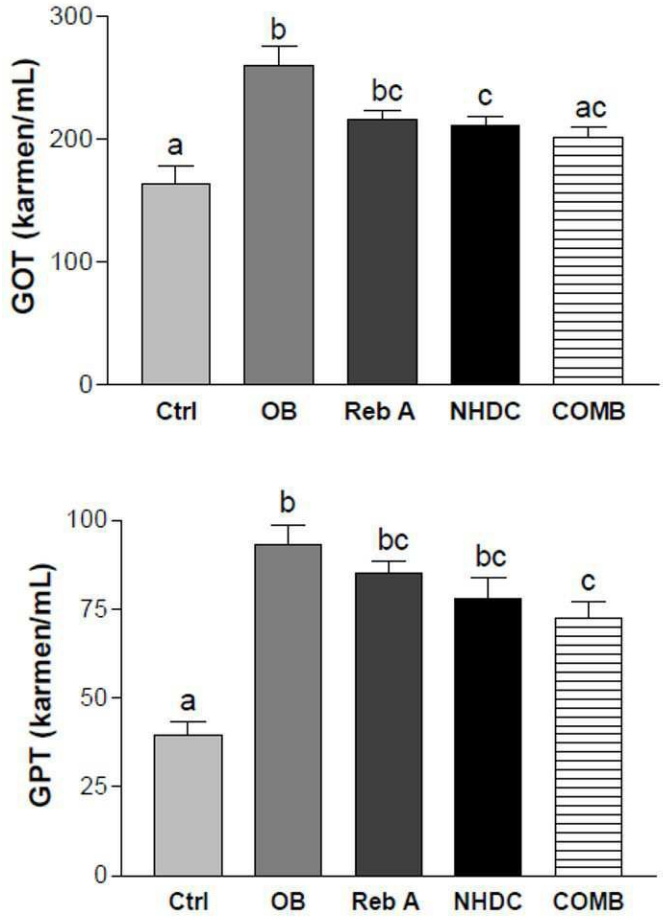
도면2


Adipocyte area (um2)
10000
7500
5000
2500
0
a
b
c
c
d
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB

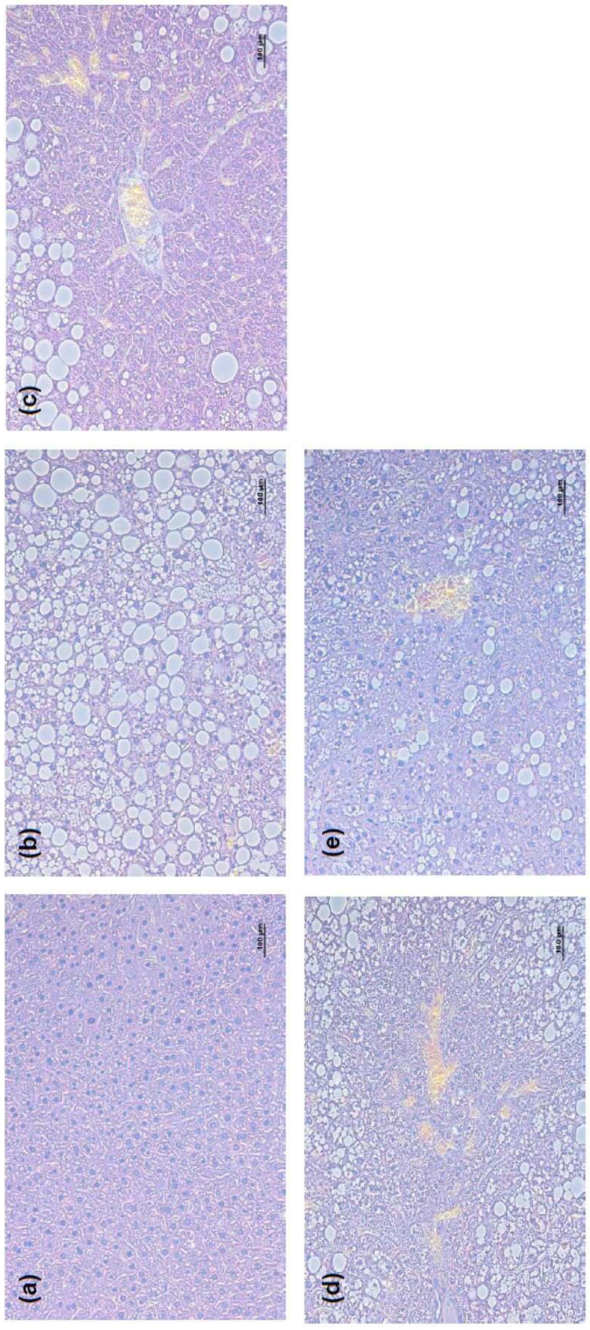
도면3


Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB
Srebf1
Pparg
Cd36
Lpl
Gapdh
Relative mRNA expressions
Srebf1
Pparg
Cd36
Lpl
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB

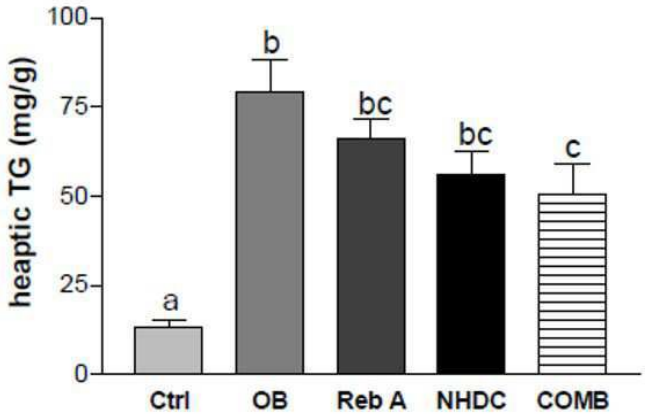
도면4


GOT (karmen/mL)
300
200
100
0
a
b
bc
c
ac
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB
GPT (karmen/mL)
100
75
50
25
0
a
b
bc
bc
c
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB

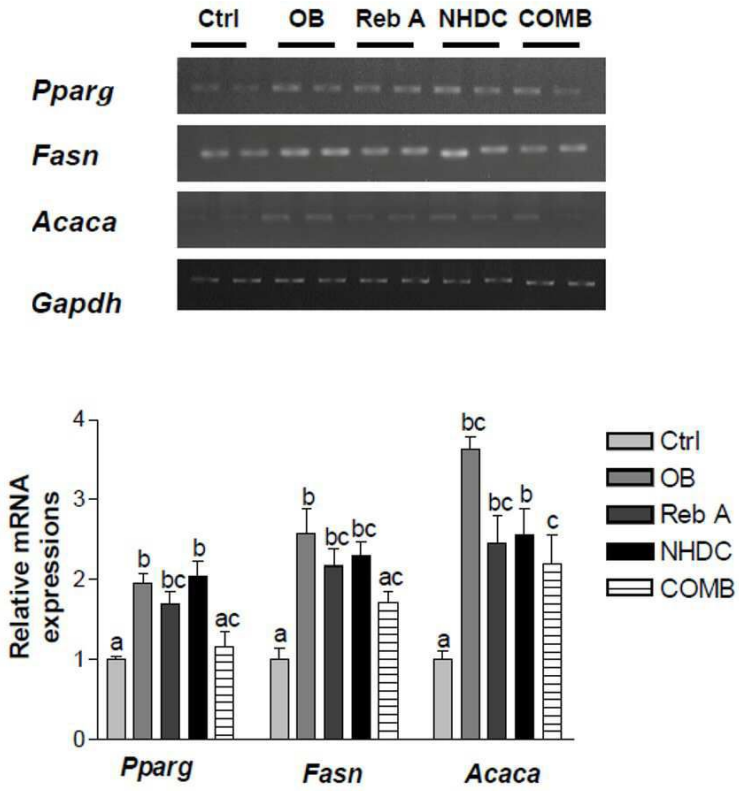
도면5



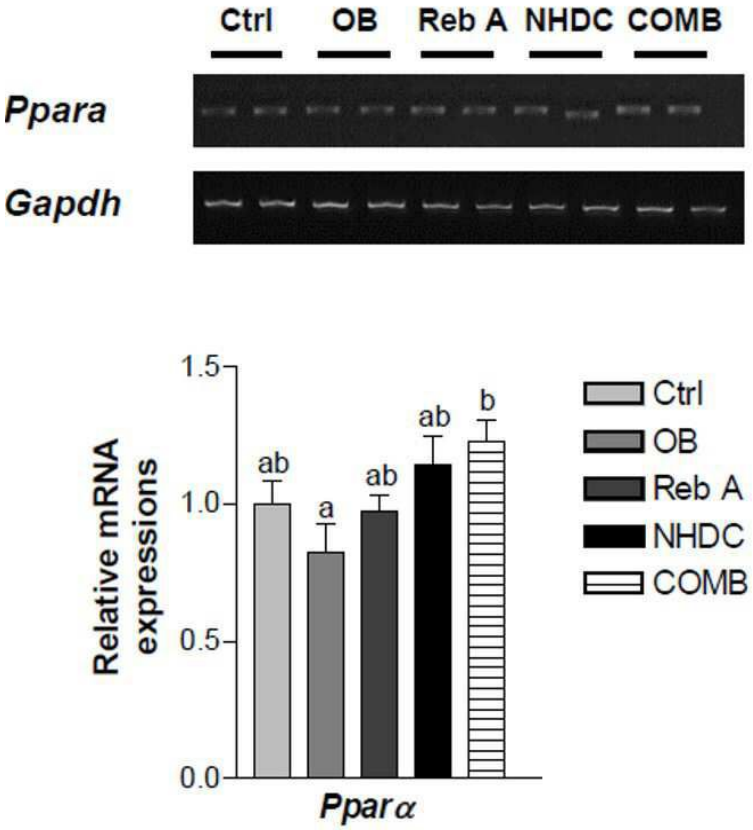
도면6


heaptic TG (mg/g)
100
75
50
25
0
a
b
bc
bc
c
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB

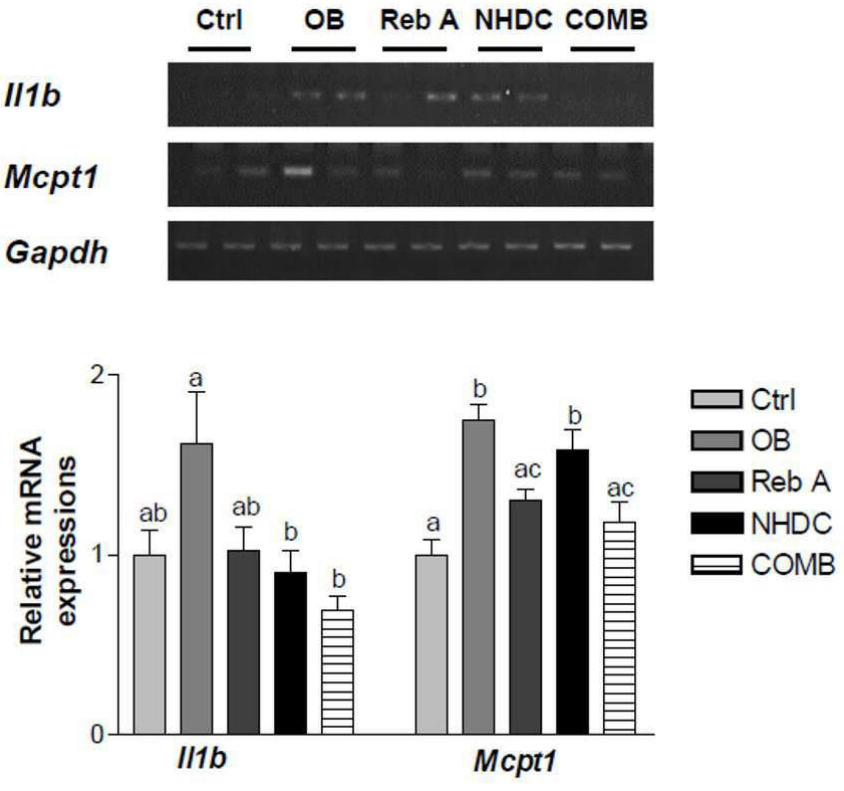
도면7


Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB
Pparg
Fasn
Acaca
Gapdh
Relative mRNA expressions
4
3
2
1
0
a
b
bc
b
ac
a
b
bc
bc
ac
a
bc
bc
b
c
Pparg
Fasn
Acaca
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB

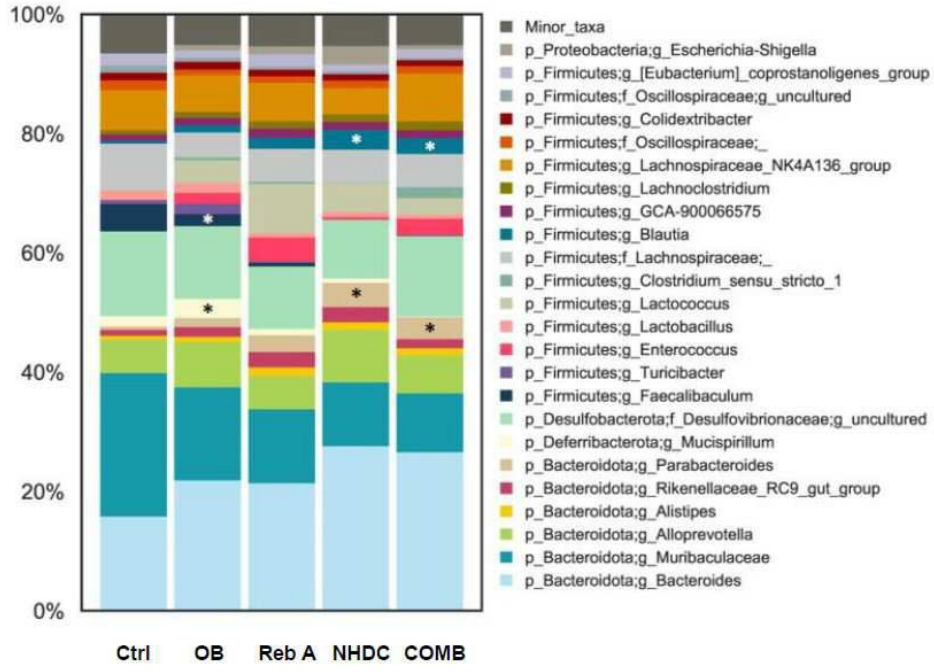
도면8


Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB
Ppara
Gapdh
Relative mRNA expressions
1.5
1.0
0.5
0.0
ab
a
ab
ab
b
Pparα
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB

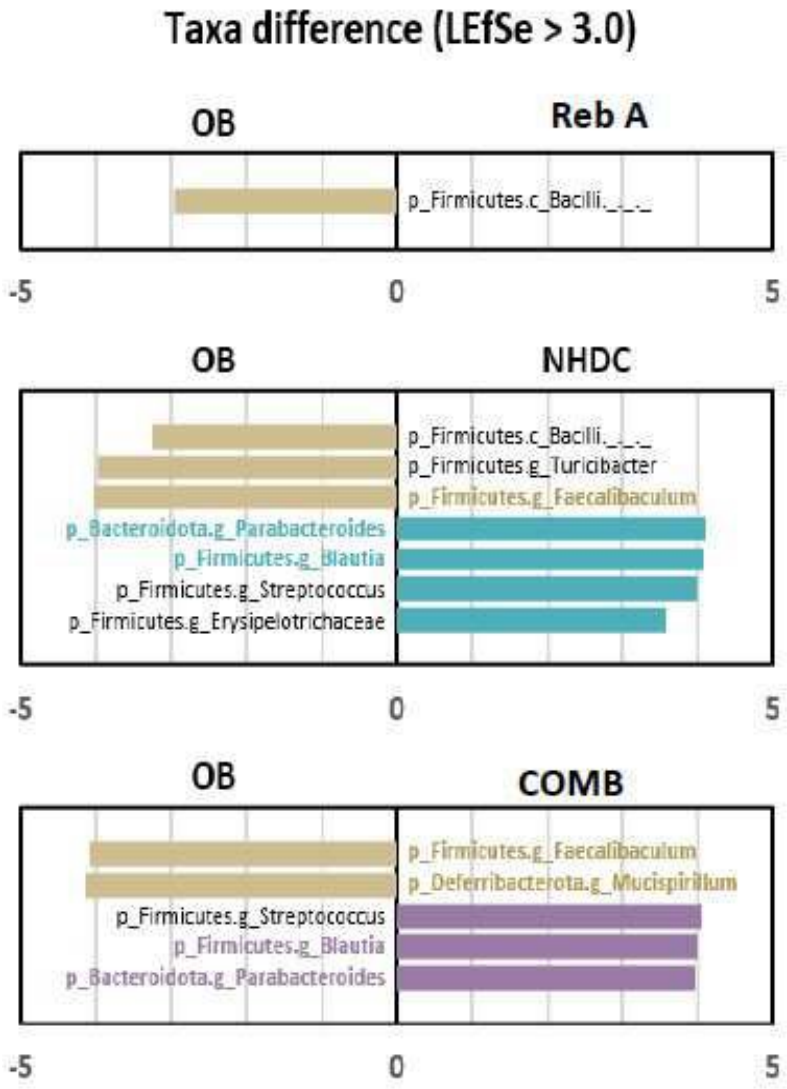
도면9


Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB
Il1b
Mcpt1
Gapdh
Relative mRNA expressions
2
1
0
ab
a
ab
b
b
a
b
ac
b
ac
Il1b
Mcpt1
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB

도면10


100%
80%
60%
40%
20%
0%
Ctrl
OB
Reb A
NHDC
COMB
Minor_taxa
p_Proteobacteria;g_Escherichia-Shigella
p_Firmicutes;g_[Eubacterium]_coprostanoligenes_group
p_Firmicutes;f_Oscillospiraceae;g_uncultured
p_Firmicutes;g_Colidextribacter
p_Firmicutes;f_Oscillospiraceae;_
p_Firmicutes;g_Lachnospiraceae_NK4A136_group
p_Firmicutes;g_Lachnoclostridium
p_Firmicutes;g_GCA-900066575
p_Firmicutes;g_Blautia
p_Firmicutes;f_Lachnospiraceae;_
p_Firmicutes;g_Clostridium_sensu_stricto_1
p_Firmicutes;g_Lactococcus
p_Firmicutes;g_Lactobacillus
p_Firmicutes;g_Enterococcus
p_Firmicutes;g_Turicibacter
p_Firmicutes;g_Faecalibaculum
p_Desulfobacterota;f_Desulfovibrionaceae;g_uncultured
p_Deferribacterota;g_Mucispirillum
p_Bacteroidota;g_Parabacteroides
p_Bacteroidota;g_Rikenellaceae_RC9_gut_group
p_Bacteroidota;g_Alistipes
p_Bacteroidota;g_Alloprevotella
p_Bacteroidota;g_Muribaculaceae
p_Bacteroidota;g_Bacteroides

도면11


Taxa difference (LEfSe > 3.0)
OB
Reb A
p_Firmicutes.c_Bacilli._._._
-5
0
5
OB
NHDC
p_Firmicutes.c_Bacilli._._._
p_Firmicutes.g_Turicibacter
p_Firmicutes.g_Faecalibaculum
p_Bacteroidota.g_Parabacteroides
p_Firmicutes.g_Blautia
p_Firmicutes.g_Streptococcus
p_Firmicutes.g_Erysipelotrichaceae
-5
0
5
OB
COMB
p_Firmicutes.g_Faecalibaculum
p_Deferribacterota.g_Mucispirillum
p_Firmicutes.g_Streptococcus
p_Firmicutes.g_Blautia
p_Bacteroidota.g_Parabacteroides
-5
0
5

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.