

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

WO 2010/087565 A2

(43) 국제공개일
2010년 8월 5일 (05.08.2010)

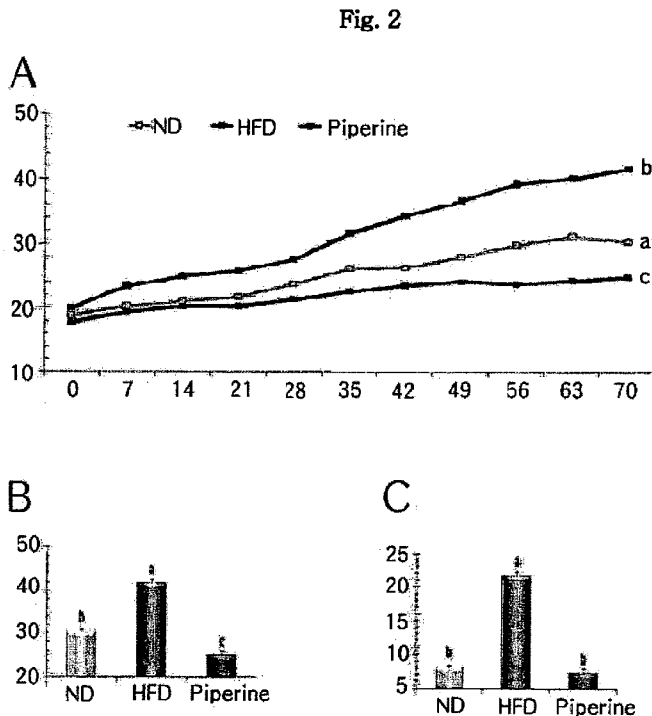
PCT

- (51) 국제특허분류: A61K 31/4525 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2009/006207
- (22) 국제출원일: 2009년 10월 27일 (27.10.2009)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2009-0008026 2009년 2월 2일 (02.02.2009) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 연세대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) [KR/KR]; 서울시 서대문구 신촌동 134 연세대학교, 120-749 Seoul (KR).
- (72) 발명자; 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 박태선 (PARK, Tae Sun) [KR/KR]; 서울시 서대문구 연희동 740 번지 성원아파트 104 동 1903 호, 120-734 Seoul (KR).
- (74) 대리인: 이희숙 (LEE, Hee Sook) 등; 서울시 강남구 역삼동 837-11 번지 유니온센타 1404 호 시공국제특허법률사무소, 135-754 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, NA, 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, 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,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: NOVEL USE OF PIPERINE

(54) 발명의 명칭 : 피페린의 신규한 용도



(57) Abstract: The present invention relates to a novel use of piperine, more specifically, to a pharmaceutical or food composition containing the piperine or a pharmaceutically acceptable salt thereof as an active ingredient for preventing and treating obesity. The present invention provides a composition for preventing and treating obesity containing piperine or pharmaceutically acceptable salt as an active ingredient. The composition containing the piperine can be effectively used for preventing and treating obesity by weight loss and suppression of intra-abdominal fat accumulation.

(57) 요약서: 본 발명은 피페린의 신규한 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 또는 식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 피페린의 신규한 용도로서, 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명의 피페린을 포함하는 조성물은 내장지방의 축적 저해, 체중 감소 효과가 있으므로 비만의 예방 및 치료를 위하여 효과적으로 사용될 수 있다.

WO 2010/087565 A2

BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, **공개:**
SN, TD, TG).

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

명세서

발명의 명칭: 피페린의 신규한 용도

기술분야

- [1] 본 출원은 2009년 2월 2일에 출원된 대한민국 특허출원 제 10-2009-0008026호를 우선권으로 주장하고, 상기 명세서 전체는 본 출원의 참고문헌이다.
- [2] 본 발명은 피페린의 신규한 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 피페린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 또는 식품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [3] 비만은 체내에 지방조직이 과다한 상태를 말하는 것으로 일반적으로 신체비만지수(체질량지수, Body mass index: 체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값)가 우리나라의 경우 25 이상이면, 서양의 경우 30 이상이면 비만으로 진단한다. 비만은 오랜 기간에 걸쳐 에너지 소비량에 비해 영양소를 과다 섭취할 경우 에너지 불균형에 의해 유발되며, 비만의 치료를 위해서 생활 습관을 개선하여 식사량을 줄이고 운동량을 증가시키는 것과 더불어 행동요법이 필요하다.
- [4] 식이 요법은 칼로리 섭취를 줄이는 것이 가장 중요한데, 평소에 섭취하던 열량보다 500~1000kcal 정도를 덜 섭취하도록 권장하고 있으며, 최근에는 식사 중의 영양소 구성에 따라 체중 감소 효과에 차이가 있다고 알려지고 있다. 운동은 체중이 줄어든 후 다시 증가하지 않도록 하기 위한 것이므로 매우 중요하다. 치료 효과가 나타나기 위해서는 적어도 매일 30분 정도의 운동이 필요하다.
- [5] 이러한 생활 습관 개선 이외에도 약물을 통해 비만을 치료하기도 한다. 비만 치료에 사용되는 약물의 종류는 크게 식욕억제제와 지방의 흡수를 저해하는 약으로 나눌 수 있고, 장기간 사용이 허가된 약물은 식욕억제제인 시부트라민(sibutramine)과 지방분해효소의 억제제인 오르리스타트(orlistat) 두 가지가 있으나, 시부트라민의 경우 두통, 구갈(심한 갈증), 불면증 및 변비 등의 부작용이 발생할 수 있고, 혈압과 맥박수가 다소 증가할 수 있기 때문에 주기적으로 혈압과 맥박수를 체크해야 하며, 오르리스타트의 경우 대변이 자주 마렵거나 지방변, 지용성비타민의 흡수율이 떨어지는 등의 부작용이 나타날 수 있다.
- [6] 한편, 현대사회에 있어서는 영양개선으로 비만 환자의 수는 점차 증가하고 있으며, 비만으로 인해 당뇨병, 고지혈증, 성기능 장애, 관절염, 심혈관계 질환의 발병 위험이 커지기 때문에 비만의 예방 및 치료를 위한 새로운 제제의 개발이 지속적으로 요구되고 있다.

[7]

[8] 피페린은 장후추, 후추, 백후추, 쿠베브 또는 딜에서 발견되는 화합물이며, 구조식은 $C_{17}H_{19}NO_3$ 이다. 현재까지 알려진 피페린의 생리활성으로는 항산화, 항돌연변이, 항암작용이 보고되어 있으며, 레스베라트롤(resveratrol) 등의 약물의 생체이용률을 강화시키는 역할을 한다. 내피세포(endothelial cell)을 대상으로 피페린을 처리한 결과, 호중구 및 백혈구의 부착을 증진시키고, NK-kB 서브유닛인 p65 분자가 세포질에서 핵으로 이동하는 것을 억제하는 등 면역반응에 효과적인 기능을 나타내었다. 스위스 알비노 마우스를 대상으로 폐암을 유발시키는 발암물질인 벤조[α]피렌을 50 mg/kg 체중으로 일주일에 두 번씩 16주간 투여한 그룹과 벤조[α]피렌을 투여하기에 앞서 피페린을 100 mg/kg 체중으로 하루에 한 번씩 4주간 투여한 그룹을 비교한 결과, 피페린을 전처리한 그룹에서 조직의 SOD(Superoxide dismutase), CAT(catalase), GPX(Glutathione peroxidase), GSH(Reduced glutathione), 비타민 E, 비타민 C 등의 항산화 지표 수치가 유의적으로 높게 나타나 피페린이 항산화 효과가 있음이 증명되었다.

[9]

[10] 이에 상업적으로 피페린은 다른 식물추출물 및 식물화합물(phytochemical)과 복합물의 형태로 다양한 식이보충물(dietary supplements) 제품에 이용되고 있으며, 항산화기능을 포함하여 일반적인 건강기능 향상의 목적으로 판매되고 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[11] 이에 본 발명자들은 피페린의 새로운 생리적 활성에 대해서 연구하던 중 피페린이 내장지방 축적을 저해하고, 고지방 식이를 섭취한 마우스 모델에서 체중을 감소시켜 비만의 예방 및 치료에 효과가 있음을 알아내어 피페린 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 조성물을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

[12] 따라서, 본 발명의 목적은 피페린의 신규한 용도를 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

[13] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[14] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 피페린 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[15] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 비만 예방 및 치료제 제조를 위한 용도를 제공한다.

[16] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 피페린 또는 이의

약학적으로 허용 가능한 염을 이를 필요로 하는 개체에 유효량으로 투여하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료방법을 제공한다.

[17]

[18] 이하 본 발명의 내용을 보다 상세히 설명하기로 한다.

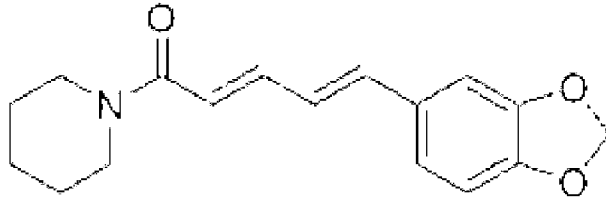
[19]

[20] 본 발명의 조성물은 하기 화학식 1로 표시되는 피페린(piperine) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염(또는 이의 염)을 유효성분으로 포함하며, 비만의 예방 및 치료의 목적으로 사용될 수 있다.

[21]

[22] [화학식 1]

[23]



[24]

[25] 피페린은 천연으로부터 분리 정제하거나, 상업적으로 구입하여 사용하거나 또는 당 업계에 공지된 화학적 합성법으로 제조할 수 있다. 천연으로부터의 분리 정제는 장후추(Long Pepper, *Piper longum*), 후추(Black Pepper, *Piper nigrum*), 쿠베브(Cubeb, *Piper cubeba*) 또는 딜(Dill, *Anethum graveolens*)로부터 당업계에 공지된 용매 추출법 및 크로마토그래피를 이용한 분리방법에 의해 분리, 정제될 수 있다. 예를 들어, 장후추, 후추, 쿠베브 또는 딜로부터의 피페린의 추출은 물, 에탄올, 메탄올, 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol)과 같은 탄소수 1 내지 6개의 알코올, 아세톤, 에테르, 클로로포름, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드, 헥산, 시클로헥산, 석유에테르(petroleum ether), 디에틸에테르, 벤젠과 같은 유기용매 중에서 선택된 어느 하나 또는 이들의 혼합용매를 이용하여 추출할 수 있다. 아울러, 추출물에서 당업계에 공지된 크로마토그래피를 이용한 분리방법, 예를 들면, 실리카겔 컬럼 크로마토그래피법을 이용하여 극성에 따른 분획물을 얻고 분리된 특정 분획물을 다시 역상 컬럼 크로마토그래피법 및 고속액체크로마토그래피(HPLC)법을 통하여 분리할 수 있다.

[26]

[27] 본 발명의 일실시예에서는 피페린이 지방세포의 분화 및 성장에 미치는 영향을 확인하기 위하여 마우스 지방세포주(3T3-L1)를 대상으로 분화를 유도하는 가운데 농도별로 피페린을 처리하고 지방세포의 분화정도 및 세포내 지방량을 측정하였다. 그 결과, 피페린을 3T3L1 세포에 처리한 결과, 10 μ M 이상의 농도에서 농도 의존적으로 지방전구세포의 분화를 유의하게 감소시켰으며, 세포내 지방량도 농도 의존적으로 감소시켰음을 알 수 있었다(실시예 1 참조).

[28]

[29] 본 발명의 다른 실시예에서는 마우스를 대상으로 피페린이 고지방식으로 유도된 내장지방 축적, 비만에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과, 실험식이를 10주간 섭취시킨 후 최종체중이 40%, 그리고 누적체중증가량이 68% 유의하게 감소하였으며(도 2 참조), 일일식이섭취량이 감소하고(도 3 참조), 사료효율도 감소함을 알 수 있었다. 아울러, 대조군(HFD)에 비해 피페린 섭취군에서 단위 체중당 부고환지방무게가 63%, 신장주변지방무게가 85%, 장간막지방무게가 68%, 후복강지방무게가 63%, 그리고 이들 네가지 부위를 합한 총내장지방무게가 66% 유의하게 감소하여 피페린은 매우 탁월한 내장지방량 감소효과가 있음을 알 수 있었다. 따라서 피페린은 고지방식이 마우스 모델에서 내장지방을 감소시키고, 식욕을 억제하고 체중을 감소시켜 현저히 비만을 치료 또는 개선하는 효과가 있음을 알 수 있다(실시예 2 참조).

[30]

[31] 따라서, 본 발명의 피페린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 조성물은 비만의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물의 형태로 제공될 수 있다. 본 발명의 조성물은 피페린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 0.001 내지 99.999중량% 및 잔량의 담체를 포함하는 조성을 가질 수 있다.

[32]

[33] 본 발명에 따른 피페린은 그 자체 또는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용될 수 있다. 상기에서 '약학적으로 허용되는'이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 것을 말하며, 상기 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의하여 형성된 산 부가염이 바람직하다. 상기 유리산은 유기산과 무기산을 사용할 수 있다. 상기 유기산은 이에 제한되는 것은 아니나, 구연산, 초산, 젖산, 주석산, 말레인산, 푸마르산, 포름산, 프로피온산, 옥살산, 트리플로오로아세트산, 벤조산, 글루콘산, 메타술폰산, 글리콜산, 숙신산, 4-톨루엔술폰산, 글루탄산 및 아스파르트산을 포함한다. 또한, 상기 무기산은 이에 제한되는 것은 아니나 염산, 브롬산, 황산 및 인산을 포함한다.

[34]

[35] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양의 피페린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 단독으로 포함하거나 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다. 상기에서 "약학적으로 유효한 양"이란 음성 대조군에 비해 그 이상의 반응을 나타내는 양을 말하며 바람직하게는 비만을 치료 또는 예방하기에 충분한 양을 말한다. 본 발명에 따른 피페린의 약학적으로 유효한 양으로는 0.01 내지 100mg/day/kg 체중이다. 그러나 상기 약학적으로 유효한 양은 질환 및 이의 중증정도, 환자의 연령, 체중, 건강상태, 성별, 투여 경로 및 치료기간 등과 같은 여러 인자에 따라 적절히 변화될 수 있다.

[36]

[37] 상기에서 "약학적으로 허용되는" 이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 활성성분의 작용을 저해하지 않으며 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 비독성의 조성물을 말한다. 본 발명의 조성물은 상기 약학적으로 허용되는 담체와 함께 당업계에 공지된 방법으로 투여경로에 따라 다양하게 제형화될 수 있다. 투여 경로로는 이에 한정되지는 않으나 경구적 또는 비경구적으로 투여될 수 있다. 비경구적 투여 경로로는 예를 들면, 경피, 비강, 복강, 근육, 피하 또는 정맥 등의 여러 경로가 포함된다.

[38]

[39] 본 발명의 약학적 조성물을 경구 투여하는 경우 본 발명의 약학적 조성물은 적합한 경구 투여용 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 현탁액, 웨이퍼 등의 형태로 제형화될 수 있다. 적합한 담체의 예로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스 등을 포함하는 셀룰로오스류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 붕해제로 첨가할 수 있다. 나아가, 상기 약학적 조성물은 향응집제, 윤햄제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[40]

[41] 또한, 비경구적으로 투여하는 경우 본 발명의 약학적 조성물은 적합한 비경구용 담체와 함께 주사제, 경피 투여제 및 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법에 따라 제형화될 수 있다. 상기 주사제의 경우에는 반드시 멸균되어야 하며 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염으로부터 보호되어야 한다. 주사제의 경우 적합한 담체의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 혼합물 및/또는 식물유를 포함하는 용매 또는 분산매질일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적합한 담체로는 헵크스 용액, 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline) 또는 주사용 멸균수, 10% 에탄올, 40% 프로필렌 글리콜 및 5% 덱스트로스와 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 상기 주사제를 미생물 오염으로부터 보호하기 위해서는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 주사제는 대부분의 경우 당 또는 나트륨 클로라이드와 같은 등장화제를 추가로 포함할 수 있다. 경피 투여제의 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태가 포함된다. 상기에서 "경피 투여"는 약학적 조성물을 국소적으로 피부에 투여하여 약학적

조성물에 함유된 유효한 양의 활성성분이 피부 내로 전달되는 것을 의미한다.

[42]

[43] 이들 제형은 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(*Remington's Pharmaceutical Science*, 15th Edition, 1975, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania)에 기술되어 있다.

[44]

[45] 흡입 투여제의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 화합물은 적합한 추진제, 예를 들면, 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여, 가압 팩 또는 연무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달할 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 예를 들면, 흡입기 또는 취입기에 사용되는 젤라틴 캡슐 및 카트리지는 화합물, 및 락토즈 또는 전분과 같은 적합한 분말 기체의 분말 혼합물을 함유하도록 제형화할 수 있다.

[46]

[47] 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).

[48]

[49] 나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 비만을 예방 및 치료하는 효과를 가지는 공지의 화합물과 병행하여 투여할 수 있다.

[50]

[51] 본 발명은 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 비만 예방 및 치료제 제조를 위한 용도를 제공한다.

[52]

또한 본 발명은 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 이를 필요로 하는 개체에 유효량으로 투여하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료방법을 제공한다.

[53]

[54] 본 발명의 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 유효량으로 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 상기에서 '유효량'이란 환자에게 투여하였을 때, 체중 감소를 포함한 비만 치료 효과를 나타내는 양을 말하며, 상기 '개체(subject)'란 동물, 바람직하게는 포유동물, 특히 인간을 포함하는 동물일 수 있으며, 동물에서 유래한 세포, 조직, 기관 등일 수도 있다. 상기 개체는 치료가 필요한 환자(patient)일 수 있다.

[55]

상기 본 발명의 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 그 자체를 그대로 투여하거나 상술한 바와 같은 여러 제형으로 제조되어 투여될 수 있으며, 바람직하게는 원하는 효과 즉, 체중 감소를 포함한 비만 치료 효과가 도출될 때까지 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염은

당업계에 공지된 방법에 따라 다양한 경로로 투여될 수 있다. 즉, 경구 또는 비경구, 예컨대 구강, 근육내, 정맥내, 피내, 동맥내, 골수내, 경막내, 복강내, 비강내, 질내, 직장내, 설하 또는 피하 투여되거나, 위장관, 점막 또는 호흡기로 투여될 수 있다.

[56]

[57] 아울러, 본 발명에 따른 피페린 또는 이의 염은 비만을 개선하기 위한 목적으로 식품 조성물의 형태로 제공될 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 기능성 식품(functional food), 영양 보조제(nutritional supplement), 건강식품(health food) 및 식품 첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형의 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.

[58]

[59] 예를 들면, 건강식품으로는 본 발명의 피페린 또는 이의 염 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용하도록 하거나, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 본 발명의 피페린과 비만의 개선효과가 있다고 알려진 공지의 물질 또는 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.

[60]

[61] 또한, 기능성 식품으로는 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마아말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게티, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용식물유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 피페린을 첨가하여 제조할 수 있다.

[62]

본 발명의 식품 조성물 중 상기 피페린 또는 이의 염의 바람직한 함유량으로는 이에 한정되지 않지만 바람직하게는 최종적으로 제조된 식품 중 0.01 내지 50 중량%이다.

[63]

또한, 본 발명의 피페린을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다.

[64]

[65] 참고로, 상기에서 언급한 뉴클레오티드 및 단백질 작업에는 다음의 문헌을 참조할 수 있다(Maniatis et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.(1982); Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989); Deutscher, M., *Guide to Protein Purification Methods Enzymology*, vol. 182. Academic Press. Inc., San Diego, CA(1990)).

발명의 효과

[66]

이상 살펴본 바와 같이, 본 발명은 피페린의 신규한 용도로서, 피페린 또는 이의

염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명의 피페린 또는 이의 염을 포함하는 조성물은 내장지방의 축적 저해, 체중 감소 효과가 있으므로 비만의 예방 및 치료를 위하여 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [67] 도 1은 3T3L1 세포에서 피페린의 지방세포분화 억제효과(A) 및 지방축적 억제효과(B)를 나타낸 것이다. 막대그래프 위에 *, ** 또는 ***로 표시한 것은 Student's t-test에 의해 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ 또는 $**P < 0.001$ 에서 유의함을 나타낸다.
- [68] 도 2는 실험식이를 섭취한 마우스의 체중(A, B) 및 체중증가량(C)을 나타낸 것이다 [세로축 단위: (A, B)의 경우 g, 그리고 (C)의 경우 g/10 주][(A)의 가로축 단위: 일(day)]. 막대그래프 위에 다른 문자로 표시한 것은 one-way ANOVA 및 Duncan's multiple range test를 통해 $P < 0.05$ 에서 유의함을 나타낸다.
- [69] 도 3은 실험식이를 섭취한 마우스의 식이섭취량(A) 및 식이효율(B)을 나타낸 것이다. 막대그래프 위에 다른 문자로 표시한 것은 one-way ANOVA 및 Duncan's multiple range test를 통해 $P < 0.05$ 에서 유의함을 나타낸다. FER은 식이효율(food efficiency ratio)를 의미하며, 총 실험사육 기간 동안의 체중증가량(g)을 실험사육 기간 동안의 식이섭취량(g)으로 나눈 값이다.
- [70] 도 4는 실험식이를 섭취한 마우스의 단위체중 당 부위별 내장지방 무게를 나타낸 것이다(epididymal : 부고환지방, perirenal : 신장주변지방, mesenteric : 장간막지방, retroperitoneal : 후복강지방). 같은 부위의 내장지방조직에서 막대그래프 위에 다른 문자로 표시한 것은 one-way ANOVA 및 Duncan's multiple range test를 통해 $P < 0.05$ 에서 유의함을 나타낸다.
- [71] 도 5는 실험식이를 섭취한 마우스의 부위별 내장지방 사진을 나타낸 것이다.

[72]

발명의 실시를 위한 형태

- [73] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- [74] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[75]

[76] <실시예 1>

[77] 피페린의 지방세포분화 억제효능 확인

[78]

[79] <1-1> 세포배양 및 Oil-red O 염색

- [80] 피페린(piperine)이 지방세포의 분화 및 성장에 미치는 영향을 평가하기 위해 마우스지방세포주(3T3-L1)를 사용하였다. 지방전구세포인 3T3L1 세포를 12-웰 플레이트에 분주하고 1% 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin), 1% 비필수아미노산(non-essential amino acid), 10% 우태아혈청(FBS, fetal bovine

serum)이 첨가된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 컨플루언트(confluent)한 상태로 자랄 때까지 배양시켰다. 배양된 3T3L1 세포를 DMI [0.5 mM 이소부틸-메틸잔틴(isobutyl-methylxanthine), 1 μM 텍사메타손(dexamethason, MDI) 및 1 μg/ml 인슐린(insulin)]이 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 지방세포(fully differentiated adipocyte)를 형성시켰다.

[81]

[82] 3T3-L1 세포에 DMI를 첨가하여 분화시키는 첫 날부터 이틀 간격으로 피페린을 0.1, 1, 10, 50, 100 μM 농도로 배양액에 처리하였다. 피페린은 Sigma에서 구입하였고, DMSO에 녹여서 사용하였으며, DMSO 만 첨가한 음성대조군(negative control)을 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% buffered neutral formalin으로 세포를 1시간 고정하고 다시 PBS로 1회 세척한 후, 지방을 특이적으로 붉게 염색시키는 Oil-red-O 염색제 1 ml를 12-웰 플레이트에 가하여 1시간 동안 지방구를 염색하고 증류수로 2회 세척하였다.

[83]

[84] 분화된 3T3L1 세포에 함유된 중성지방농도를 측정하기 위해 염색된 지방구를 1 ml의 이소부탄올(isobutanol)에 녹인 후, 600 nm에서 O.D 값을 측정하였다.

[85]

[86] 그 결과, 도 1에서 보듯이, 피페린을 3T3L1 세포에 처리한 결과, 10 μM 이상의 농도에서 농도 의존적으로 지방전구세포의 분화를 유의하게 감소시켰다(도 1A). Oil-red-O 로 염색된 세포내 지방의 양을 정량한 결과, 역시 농도 의존적으로 O.D 값이 감소하였다(도 1B).

[87]

[88] <실시예 2>

[89] 피페린의 체중 및 지방 축적 감소효과 확인

[90]

[91] <2-1> 실험식이 제조 및 실험동물의 사육

[92] 본 실험에서 사용한 비만유도식은 고지방식이 (high fat diet, HFD: 40% fat calorie, 17 g lard + 3% corn oil/ 100 g diet)이며, 피페린이 포함된 식이는 HFD와 조성이 동일하되 피페린이 0.05% 수준으로 포함되었으며, 정상식이(ND)는 AIN-76 rodent diet 조성에 준하여 조제하였다(표 1 참조).

[93]

[94] 표 1

피페린 실험식이 조성표

성분	정상식이(g/kg diet)	고지방대조식이(g/kg diet)	피페린 식이(g/kg diet)
카제인	200	200	200
DL-메티오닌	3	3	3
옥수수 전분	150	111	110.5
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 비타르트레이트	2	2	2
콜레스테롤	-	10	10
tert-부티하이드로퀴논	0.01	0.04	0.04
피페린	-	-	0.50
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

[95]

[96] 5주령의 수컷 C57BL/6J 마우스를 고형사료로 1주일 간 실험실환경에 적응시킨 후, 난괴법에 따라 ND군, HFD군, 그리고 피페린군으로 임의 배치하여, 총 10주간 사육하였다. 식이는 매일 오전 10~11시 사이에 물과 함께 공급하였으며, 식이 섭취량은 매일, 그리고 체중은 3일에 한 번씩 측정하였다. 사료섭취에 따른 갑작스런 체중변화를 막기 위해 사료통을 제거하고 2시간 후에 체중을 측정하였다.

[97]

[98] <2-2> 체중, 사료효율 및 내장지방 무게 측정

[99] 실험식이를 10주간 섭취시킨 후 최종체중 및 10주간의 체중증가량을 측정된 결과, 도 2에서 보듯이, 고지방식이대조군 (HFD)에 비해 실험물질인 피페린을 섭취시킨 군에서 최종체중이 40%, 그리고 누적체중증가량이 68% 유의하게 감소함을 알 수 있었다.

[100] 도 3에서 보듯이, 실험기간동안 측정된 일일식이섭취량은 피페린군에서

HFD군에 비해 유의하게 더 낮아 피페린은 식욕억제효과가 있음을 알 수 있었다. 또한, 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 실험식이 공급일로부터 희생일까지를 총 실험기간으로 하여, 실험기간 동안의 누적체중증가량을 총 식이섭취량으로 나누어 산출하였으며, 그 결과, 피페린군에서 HFD군에 비해 식이효율이 64% 감소하여 피페린의 체중감소 효과는 식욕 저하 뿐 아니라 또 다른 기전을 통해서도 이루어짐을 알 수 있었다.

[101]

[102] 아울러, 내장지방축적량에 대해서는 실험동물을 12시간 이상 금식시킨 후, 디에틸에테르(diethyl ether)로 마취한 상태에서 혈액, 간 및 내장지방조직(부고환지방, 신장주변지방, 장간막지방 및 후복강지방)을 채취하여 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4)으로 세척한 후, 무게를 측정하였다.

[103]

[104] 그 결과, 도 4 및 도 5에서 보듯이, 실험식이를 10주간 섭취시킨 후 부고환지방, 신장주변지방, 장간막지방 및 후복강지방 무게를 측정된 결과, 대조군(HFD)에 비해 피페린 섭취군에서 부고환지방무게가 63%, 신장주변지방무게가 85%, 장간막지방무게가 68%, 후복강지방무게가 63%, 그리고 이들 네가지 부위를 합한 총내장지방무게가 66% 유의하게 감소함을 알 수 있었다($P < 0.001$). 따라서 피페린은 매우 탁월한 체중감소 및 내장지방량 감소효과가 있음이 확인되었다.

[105]

[106] <제조예 1> 산제

[107] 하기 성분을 혼합한 후 통상의 산제 제조방법에 따라서 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다:

[108] 피페린 50 mg

[109] 결정셀룰로오즈 2 g

[110]

[111] <제조예 2> 정제 I

[112] 하기 성분을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다:

[113] 피페린 50 mg

[114] 결정셀룰로오즈 400 mg

[115] 스테아린산 마그네슘 5 mg

[116]

[117] <제조예 3> 정제 II

[118] 하기 성분을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다:

[119] 피페린 400 mg

[120] 결정셀룰로오즈 100 mg

[121] 스테아린산 마그네슘 5 mg

[122]

[123] <제조예 4> 정제 III

[124] 스피루리나 55 중량%, 구아검효소 분해물 10 중량%, 비타민 B₁염산염 0.01중량%, 비타민 B6 염산염 0.01 중량%, DL-메티오닌 0.23 중량%, 스테아린산 마그네슘 0.7 중량%, 유당 22.2 중량% 및 옥수수전분 1.85 중량%와 피페린 10 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 타정하여 정제를 제조하였다.

[125]

[126] <제조예 5> 캡슐제 I

[127] 하기 성분을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다:

[128] 피페린 30 mg

[129] 유청단백질 100 mg

[130] 결정셀룰로오즈 400 mg

[131] 스테아린산 마그네슘 6 mg

[132]

[133] <제조예 6> 캡슐제 II

[134] 하기 성분을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다:

[135] 피페린 300 mg

[136] 옥수수 전분 100 mg

[137] 결정셀룰로오즈 100 mg

[138] 스테아린산 마그네슘 5 mg

[139]

[140] <제조예 7> 주사제

[141] 통상의 주사제 제조방법에 따라 활성성분을 주사용 증류수에 용해하고 pH를 약 7.5로 조절한 다음 하기 나머지 성분 전체를 주사용 증류수로 2 ml 용량의 앰플에 충전하고 멸균시켜서 주사제를 제조하였다:

[142] 피페린 100 mg

[143] 주사용 증류수 적량

[144] pH 조절제 적량

[145]

[146] <제조예 8> 선식

[147] 현미, 보리, 찹쌀, 울무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 만들었다. 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 만들었다. 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 <실시에 1>의 푸코잔틴 추출물을 다음의 비율로 배합하였다.

[148] 곡물류 : 현미 30 중량%, 울무 15 중량%, 보리 20 중량%, 찹쌀 9 중량%,

[149] 종실류 : 들깨 7 중량%, 검정콩 8 중량%, 검정깨 7 중량%,
 [150] 피페린 3 중량%, 영지 0.5 중량%, 지황 0.5 중량%

[151]

[152] <제조예 9> 추잉껌

[153] 껌 베이스 20 중량%, 설탕 76.9 중량%, 향료 1 중량% 및 물 2 중량%와 피페린 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 추잉껌을 제조하였다.

[154]

[155] <제조예 10> 캔디

[156] 설탕 60 중량%, 물엿 39.8 중량% 및 향료 0.1 중량%와 피페린 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 캔디를 제조하였다.

[157]

[158] <제조예 11> 비스킷

[159] 박력 1급 25.59 중량%, 중력 1급 22.22 중량%, 정백당 4.80 중량%, 식염 0.73 중량%, 포도당 0.78 중량%, 팜쇼트닝 11.78 중량%, 암모늄 1.54 중량%, 중조 0.17 중량%, 중아황산나트륨 0.16 중량%, 쌀가루 1.45 중량%, 비타민 B₁0.0001 중량%, 비타민 B₂0.0001 중량%, 밀크향 0.04 중량%, 물 20.6998 중량%, 전지분유 1.16 중량%, 대용분유 0.29 중량%, 제1인산칼슘 0.03 중량%, 살포염 0.29 중량% 및 분무유 7.27 중량%와 피페린 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 비스킷을 제조하였다.

[160]

[161] <제조예 12> 음료

[162] 꿀 0.26 중량%, 치옥토산아미드 0.0002 중량%, 니코틴산아미드 0.0004 중량%, 염산리보플라빈나트륨 0.0001 중량%, 염산피리독신 0.0001 중량%, 이노시톨 0.001 중량%, 오르트산 0.002 중량% 및 물 98.7362 중량%와 피페린 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 건강 음료를 제조하였다.

[163]

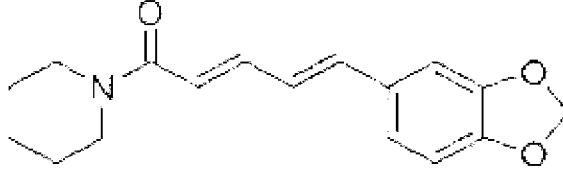
산업상 이용가능성

[164] 상기 피페린 또는 이의 염을 포함하는 조성물은 내장지방의 축적 저해, 체중 감소 효과가 있으므로 비만의 예방 및 치료를 위하여 유용하게 사용될 수 있다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 약학적 조성물.

<화학식 1>



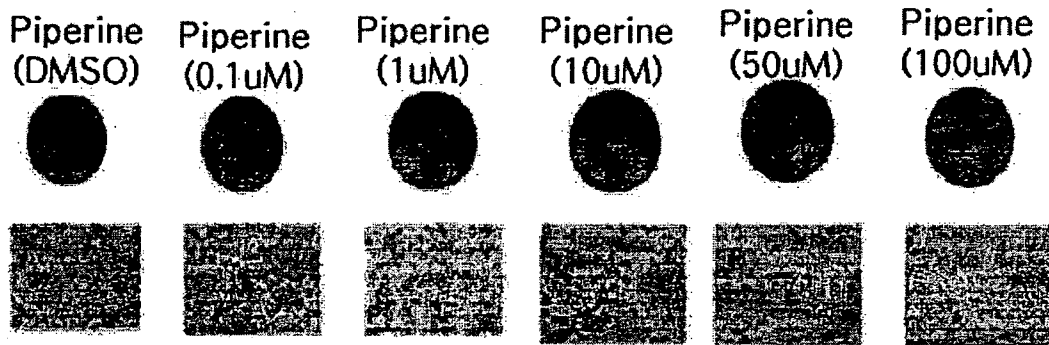
[청구항 2] 화학식 1로 표시되는 피페린 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 개선용 식품 조성물.

[청구항 3] 화학식 1로 표시되는 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 비만 예방 및 치료제 제조를 위한 용도.

[청구항 4] 화학식 1로 표시되는 피페린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 이를 필요로 하는 개체에 유효량으로 투여하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료방법.

Fig. 1

A



B

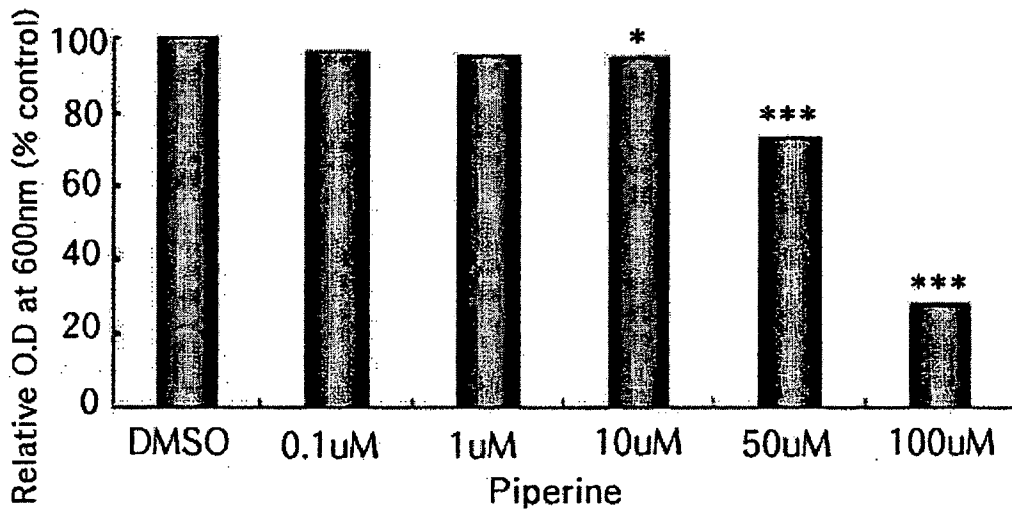


Fig. 2

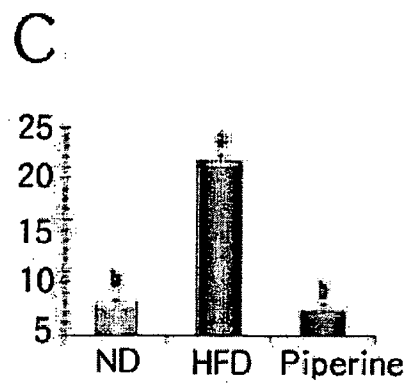
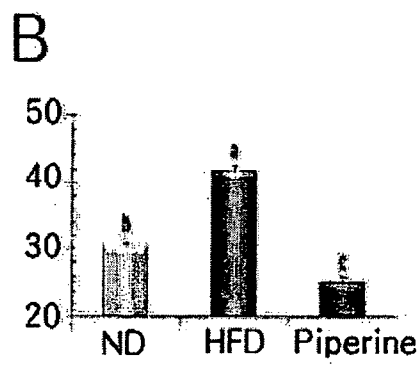
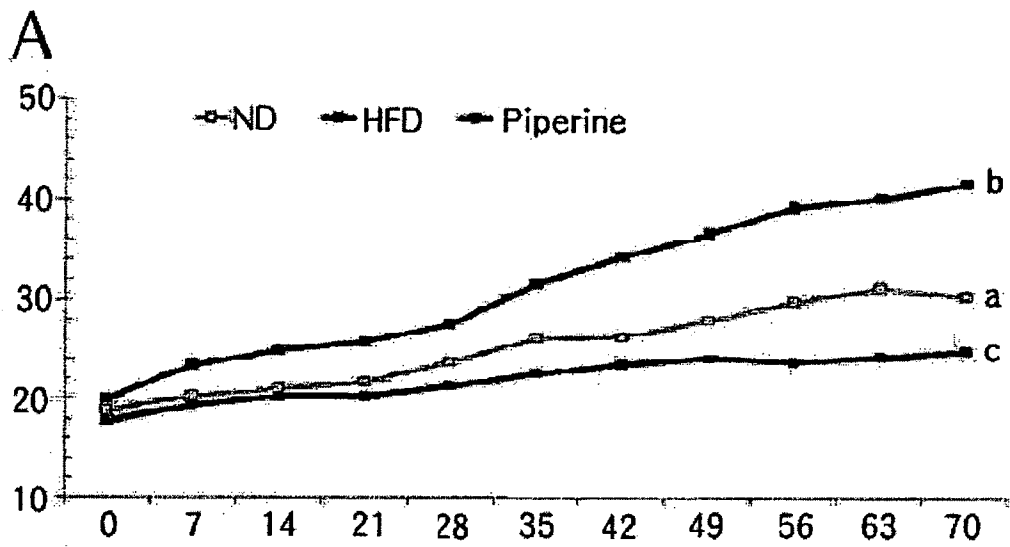


Fig. 3

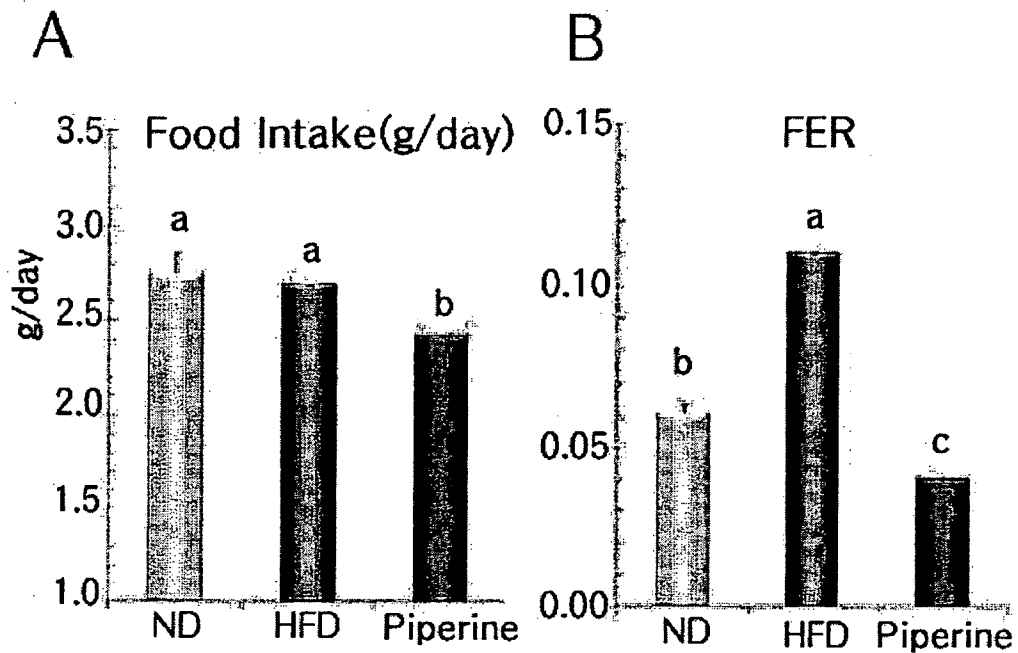


Fig. 4

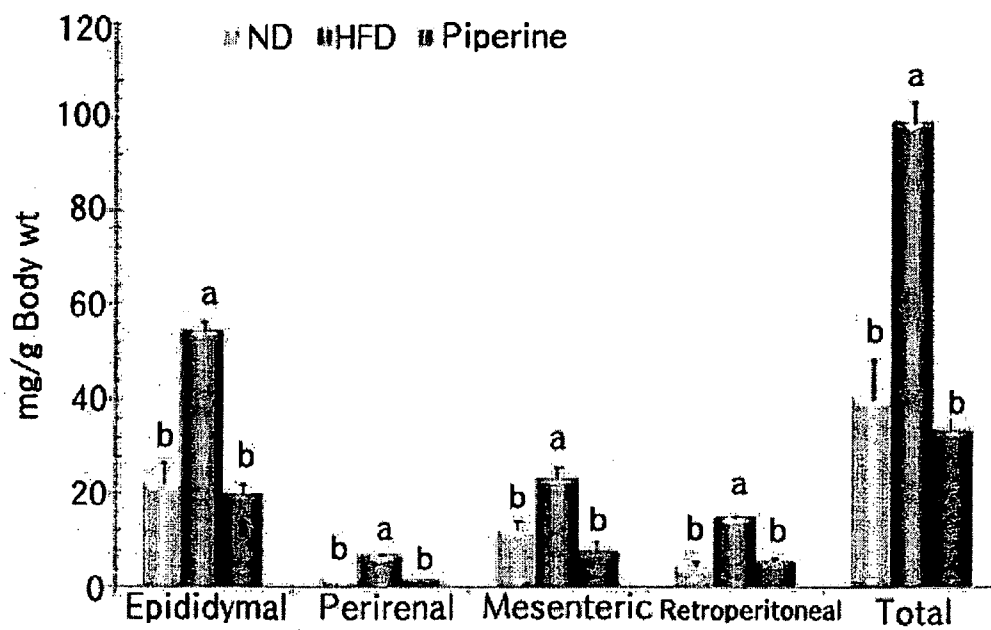
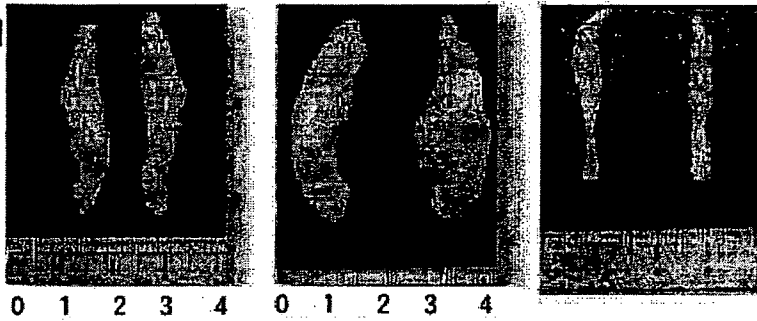
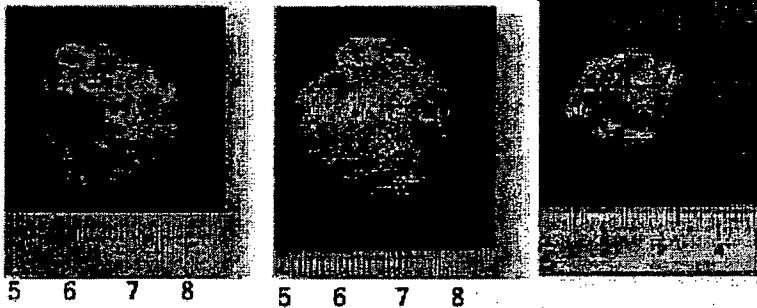


Fig. 5

Epididymal fat-pad



Mesenteric fat-pad

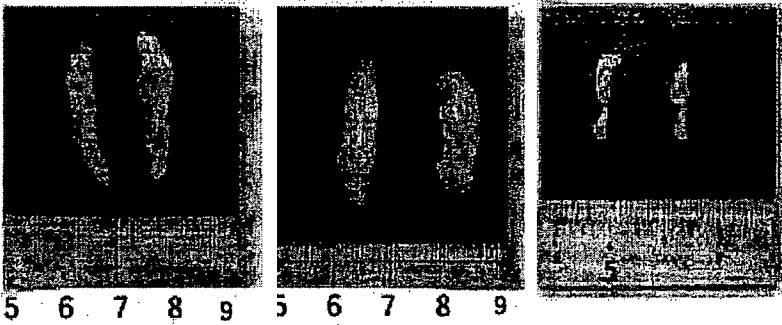


ND

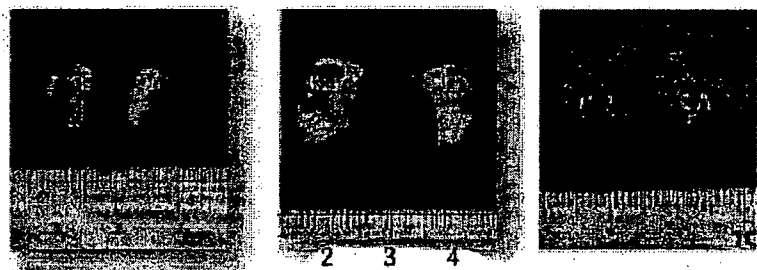
HFD

Piperine

Retroperitoneal fat-pad



Perirenal fat-pad



ND

HFD

Piperine