

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0086005 (43) 공개일자 2014년07월08일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A23L 1/30 (2006.01) A23L 1/29 (2006.01) A61K 36/23 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01) (21) 출원번호 10-2012-0155979 (22) 출원일자 2012년12월28일 심사청구일자 없음		(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가) 영양군 경상북도 영양군 영양읍 군청길 37 (72) 발명자 조흥연 서울 성북구 정릉로 388, 103동 1002호 (돈암동, 동부센트레빌아파트) 황한준 서울 광진구 자양로28길 65, (구의동) (뒷면에 계속) (74) 대리인 특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 5 항

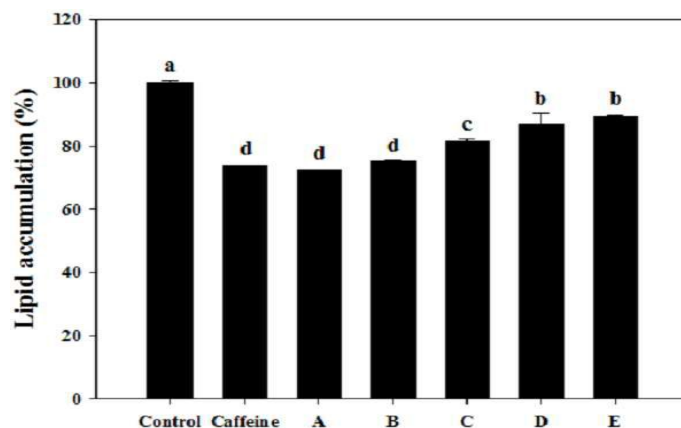
(54) 발명의 명칭 **곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 항비만 조성물**

(57) 요약

본 발명은 비만의 예방, 개선 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 우수한 3T3-L1 지방전구세포주의 세포분화 억제 활성과 지방세포 분화와 관련하여 상위 전사인자인 PPAR- γ , CEBP- α , aP2 유전자 발현의 높은 저해를 보이며, 지방 축적 억제에 우수한 효과를 나타내어 효과적으로 비만을 예방, 개선 및 치료할 뿐만 아니라 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

임원철

경기 평택시 원평로 24, 2층 (평택동)

이희섭

충남 보령시 웅천읍 방죽길 76, 303호 (목화아파트)

김중현

인천 계양구 효서로 287, (작전동)

권영택

경북 영양군 영양읍 군청길 5-8,

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R1102151

부처명 영양군청

연구사업명 연구용역

연구과제명 영양 산채막걸리 건강 기능성 개발 연구용역 착수계 제출

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2011.04.15 ~ 2012.04.08

특허청구의 범위

청구항 1

곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 곰취 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 용매로 추출한 것인 비만 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 비만은 지방축적형 비만인 비만 개선용 식품 조성물.

청구항 4

곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 곰취 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 용매로 추출한 것인 비만의 예방 및 치료용 의약 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 및 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 비만은 음식물의 섭취(food intake)와 에너지 사용(energy expenditure)의 불균형으로 초래되는 질병으로, 제2형 당뇨병 및 동맥경화증 등 심각한 질병을 동반할 수 있다. 최근에는 비만, 당뇨, 이상 지혈증, 고혈압 등을 묶어 대사증후군(metabolic syndrome)으로 부르게 되었으며, 그 어느 때보다도 높은 관심으로 세계 각국에서 연구가 진행되고 있다(Kopelman, P. G., Obesity as a medical problem, Nature 404, 635-643, 2000). 이런 성인병들은 사회적으로 가장 왕성하게 활동하는 사람들에게서 발병하기 때문에 경제적인 손실도 상당할 뿐만 아니라, 이의 예방과 치료를 위해 들이는 비용은 의학 및 건강 산업의 최고액에 다다를 정도이므로 이에 대한 의생명과학의 연구는 아무리 강조해도 지나침이 없다. 국민건강영양조사에 따르면 비만 유병률(만19세 이상, 표준화)은 남자의 경우 1998년 25.1%에서 2007년 36.2%로 증가하여 2010년까지 36% 정도를 유지하고 있으며, 여자의 경우 1998년부터 2010년까지 26% 수준으로 유지되고 있다(2010 국민건강통계, 52-53). 최근, 지방에너지 섭취 비중이 1998년도에는 17.9%에서 2010년도에는 19.7%로, 이는 현대인들의 서구화된 식생활에 따른 육류 등의

고칼로리 음식의 섭취량이 증가함에 따라, 비만인구가 점점 증가하고 있는 추세이다(2010 국민건강통계, 42-43).

[0003] 비만을 해소하기 위한 방법으로 식이요법, 운동요법, 행동수정요법, 그리고 약물 및 수술요법 등 다양한 방법들이 개발·시도되고 있다. 그 중 대표적인 약물요법으로 미국 FDA에서 승인을 받고 국내외에서 판매되고 있는 비만치료제 '제니칼' (한국로슈)과 '리덕틸'(일성신약)이 있으며, 그 외에도 프랑스에서 개발된 비처방 의약품으로 녹차 카테콜 성분을 주원료로 하는 '엑소리제' (구주제약) 등이 있다. 그러나 제니칼의 경우 지방변, 가스 생성, 지용성 비타민 흡수저하 등의 위장계 부작용을 일으키며, 리덕틸의 경우에는 교감신경계의 세로토닌과 노르아드레날린 농도를 증가시킴으로써 두통, 식욕부진, 불면증 또는 변비 등의 부작용을 일으킴이 보고되어, 부작용없는 비만 치료제로서는 한계가 존재하여 왔다. 그 외, 지방분해 효과가 알려진 아미노필린은 신경계, 순환기계, 소화기계에 걸친 폭넓은 부작용이 나타나는 것으로 알려져 있으며, 펜프루라민, 텍스펜플루라민, 토피라메이, 에페드린 및 이소프로테레놀 등도 비만치료 부적합 약물로 판정되어 식품의약품안전청에 의해 현재 판매가 금지된 상태이다.

[0004] 이와 같이 약물요법에 따른 부작용으로 인하여 식품소재를 이용한 항비만 천연물질에 대한 관심이 증가하는 추세이다. 예를 들어, 지방 및 당류의 흡수율을 낮추는 췌장, 췌장 리파아제 활성을 억제하는 발효 붉은 고추 그리고 지방 대사 및 지방 연소율을 증강시키는 식품 등이 다이어트 건강식품으로 출시되고 있다. 그 외에도 현미와 같은 곡류, 허브 및 다류 등의 식품들이 비만 억제 효능을 갖는 것으로 보고된 바 있다(Park JH, Lee MJ, Song MY, Bose S, Shin BC, Kim HJ, Efficacy and safety of mixed oriental herbal medicines for treating human obesity: a systematic review of randomized clinical trials, J. Med. Food. 15(7), 589-97, 2012).

[0005] 한편 우리나라에 자생하는 식물 3,200여 종 중에 480여 종이 식용으로 이용할 수 있다고 알려져 있다. 식용 가능한 식물은 넓은 의미에서 산채라고 하는데, 실제로 사람이 먹을 수 있는 식물 중 기호성이 좋고 식품적 가치가 높은 식물을 산채로 이용하고 있다. 산채는 예로부터 구황식물로서 우리 조상들이 식량부족으로 어려움을 겪을 때 주로 이용하여 왔으며, 비타민, 미네랄, 엽록소를 비롯한 영양소 및 식물 섬유소가 풍부하게 함유되어 있고 특히 산채 고유의 향과 맛으로 식용으로 가치가 높다. 현재 100여 종의 산채가 알려져 있고, 산채에는 각종 알칼로이드, 탄닌, 사포닌, 배당체, 플라보노이드류가 많이 함유되어 있기 때문에 특수한 생리학적 기능을 나타낼 가능성이 매우 높은 것으로 지적되고 있다. 국내에서도 자생하는 식용식물의 식품적 가치가 재인식되어 수요가 매년 증가하고 있으며, 식품, 한약 및 민간약 등으로부터 생리활성 물질을 탐구하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근에는 영양 불균형에서 오는 만성 퇴행성 질환 등을 예방하고, 항비만 효과, 중금속 해독효과, 항돌연변이능, 항암 및 항산화 효과, 항균 효과 및 유전독성 억제능이 높은 것으로 밝혀져 다양한 산채류의 생리적 기능에 관한 연구 및 개발의 필요성이 강조되고 있다(서종택, 한국 산채산업 현황 및 향후 전망, 식품저장과 가공산업 10(1), 3-8, 2011).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에, 본 발명은 비만에 약리·생리 활성을 띠고, 인체에도 부작용이 없는 천연식물 소재를 발굴하고, 이를 포함한 항비만 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은 곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공한다.

[0008] 본 발명은 비만에 약리·생리 활성을 띠고, 인체에도 부작용이 없는 천연식물 소재를 발굴하고자 연구를 거듭한 결과 곰취에 항비만 효과가 있음을 발견하였다.

[0009] 본 발명의 조성물에서 유효성분으로 사용하는 곰취(*Ligularia fischeri* Turez.)는 여러해살이 풀로써 국화과 다년생 초본이다. 곰취는 여러가지 영양성분을 갖고 있는 것으로 나타나고 있는데, 특히 비타민 A, B1, B2, C, E와 베타카로틴, 나이아신 등이 다른 산야초보다 비교적 높고 발암성 물질 억제 효과도 상당히 높은 것으로 알려져 있다. 최근에는 동물실험 및 분자생물학적 수준에서 곰취의 세포독성 효과(함승시 외 7명, 곰취 추출물의 세

포도성 효과, 한국식품영양과학회지 27(5), 987-992, 1998), 항염증 효과(김동희 외 5명, 곰취, 미역취, 삼나무 복합 추출물의 항염증 효과, 생명과학회지 21(5), 678-683, 2011), 항돌연변이성 및 유전독성 억제효과가 입증되었으며(함승시 외 7명, 곰취 추출물의 항돌연변이성 및 유전독성 억제효과, 한국식품영양과학회지 27(4), 745-750, 1998), 항산화 효과 및 ACE(angiotensin converting enzyme) 저해 활성 등도 입증된 바 있다. 그러나 현재까지 곰취의 항비만 효과에 대해서는 알려진 바 없다.

- [0010] 하기 실시예를 통해 본 발명자들은 곰취 추출물의 지방축적 억제효과를 확인하기 위하여 곰취 추출물을 농도별로 성숙한 지방세포에 처리한 결과, 곰취 추출물이 대조군으로 사용된 곰취 추출물을 넣지 않은 것과 양성 대조군으로 사용된 카페인과 유사한 지방축적 억제능을 가짐을 확인하였다(실시예 2 내지 실시예 3 및 도 2 내지 도 3). 또한, 곰취 추출물의 지방전구세포의 분화 억제 활성 효과를 확인하기 위하여, 지방전구세포의 분화 인자인 PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptors- γ), CEBP- α (CCAAT enhancer binding protein- α) 및 aP2(adipocyte protein 2)의 발현을 확인한 결과, 상기 유전자 모두의 발현이 감소됨을 확인하였으며, 이로부터 곰취 추출물이 지방전구세포의 분화 억제 활성을 가짐을 확인하였다(실시예 4 및 도 4, 5, 6).
- [0011] 본 발명에 따른 곰취 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있다.
- [0012] 곰취 추출물의 제조를 위해 사용되는 추출용매는 이에 제한되는 것은 아니나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 용매일 수 있다. 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤 등의 극성용매와 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산, 디클로로메탄 등의 비극성 용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 예를 들어, 상기 탄소수 1 내지 5의 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 이소프로판올 등으로부터 선택될 수 있다.
- [0013] 본 발명에 있어서, 곰취 추출물은 상기 추출용매를 이용하여 추출된 1차 추출물을 극성이 다른 추출용매를 이용하여 다시 분획한 분획물을 포함한다. 예를 들어, 곰취 추출물은 탄소수 1 내지 5의 알코올로 추출한 후, 에테르, 벤젠, 헥산 등의 극성이 다른 용매로 다시 분획한 분획물일 수 있다.
- [0014] 상기 분획 시 용매는 2종 이상 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하거나 혼합하여 사용하며, 각 용매 추출물을 제조할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [0015] 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물은 이후 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있으며, 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있으며, 상기 농축은 감압 농축기, 일 예로 회전 증발기를 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 상기 건조는 일 예로 동결건조법으로 수행할 수 있다.
- [0016] 본 발명에서의 용어 '비만'이란, 일반적으로 살이 쪼는 상태를 말하며, 체내 지방이 과다하게 축적된 상태를 의미하는 것으로, 특히, 과도한 에너지 흡수 결과 중성지방의 형태로 저장하는 역할을 하는 백색 지방조직 내 지방축적형 비만을 말한다.
- [0017] 비만의 종류는 원인, 지방세포의 수와 크기 및 부위에 따라 분류될 수 있다. 특히 지방세포의 수와 크기에 따라, 지방증식형 비만과 지방축적형 비만으로 나뉠 수 있는데, 지방증식형 비만은 선천성 요인에 의해 지방세포 수가 증가하는 비만으로 주로 소아비만에 많으며, 지방축적형 비만은 후천적 요인에 의해 지방세포 속에 지방이 꽉 차서 지방세포의 크기가 커지는 형태로 주로 성인비만에 많다.
- [0018] 상기 지방세포는 중성지방(triglyceride, TG)의 형태로 에너지의 합성, 저장 및 분해하는데 중심적인 역할을 한다. 즉, 과잉 열량 시 중성지방의 형태로 저장해 두었던 열량을 열량소모가 많을 때 이를 분해하여 에너지로 사용하도록 하는 것이다. 이렇게 지방세포가 에너지 밸런스를 유지하는 데는 지방 합성(lipogenesis) 및 지방 분해(lipolysis)에 관여하는 많은 다양한 효소 및 조절인자들이 필요하다. 즉, 비만은 상기와 같은 효소들에 의한 체내 밸런스 유지의 실패에 의해 일어나게 되며, 이는 지방조직의 과도한 체내 축적을 야기하게 된다.
- [0019] 상기 지방조직은 해부학적 위치, 형태학적 구조, 기능 및 조절에 따라 크게 백색지방(white adipose tissue, WAT)과 갈색지방(brown adipose tissue, BAT)으로 분류할 수 있다. 이들 두 지방조직은 주로 중성지방(triglycerides) 상태로 에너지를 저장하는 공통점이 있으나 백색지방의 경우에는, 필요에 따라 이 에너지를 배출하고, 갈색지방의 경우에는 이 에너지를 열로 전환시킨다. 갈색지방은 백색지방에 비해 많은 혈관이 분포되어 있고 사이토크롬 색소로 인하여 갈색을 띠게 되며, 특히 동면동물이 동면할 때나 새로 태어난 포유동물의 체온 조절에 중요한 역할을 담당한다. 이에 반해 백색지방은 체내 에너지 항상성 유지에 중추적 역할을 담당하는데, 구체적으로는 에너지 흡수량이 소비량에 비해 많은 경우 이를 중성지방의 형태로 저장하고, 에너지가 부족한 경우 에너지를 이용할 수 있도록 조절하는 역할을 담당한다. 이와 같이 상기 두 지방세포의 분포 및 기능

이 상이하며 특히, 통상적으로 지방세포라고 부르는 백색지방세포는 주로 피하와 장기 주위에 고루 퍼져 있으며 연료의 저장고와 같은 역할을 하므로 비만과 더 밀접한 연관성이 있다.

- [0020] 본 발명에서의 용어, '성숙 지방세포'란, 지방세포의 분화 과정에서 생성된 완전한 지방세포의 형태를 의미하며, 구체적으로는 줄기세포가 지방전구세포(pre-adipocytes)로 된 다음, 상기 지방전구세포가 완전한 지방세포(adipocytes)로 성숙하게 되는 과정을 거쳐 생성된다.
- [0021] 본 발명에서의 용어, '지방전구세포'란, 지방세포의 분화단계 중 줄기세포로부터 가장 먼저 생성되는 지방세포로의 분화능을 갖는 세포를 의미하며, 지방전구 세포는 성장이 진행되어 100% confluency가 되면 성장이 정지되고 지방세포로의 분화가 서서히 진행된다. 지방전구 세포가 지방세포로 분화되는 과정은 배양액에 첨가한 혈청 중의 분화유도인자들에 의해 일어나는 현상이다. 그러므로 배양액 중에 분화촉진인자들 (인슐린, 덱사메타손(dexamethasone), 3-isobutyl-1-methylxanthine)을 첨가함으로써 세포분화를 더욱 촉진시킬 수 있으며, 반대로 분화억제인자들 (actinomycin D, tumor necrosis factor α , bromo deoxyuridine 등)을 첨가함으로써 분화를 억제할 수도 있다. 최종적으로 분화된 지방전구 세포는 세포 내 지방이 축적되는 등의 성숙 지방세포로서의 형태를 나타내게 되며, 지방세포 특유의 유전자 발현 및 지방축적을 유도하는 효소의 활성화가 일어나게 된다. 지금까지 알려진 대표적인 지방세포 분화촉진인자들로는 인슐린과 인슐린-유사 성장인자-I(insulin-like growth factor-I, IGF-I)등이 있다(황혜정 등, 알긴산이 3T3-L1 세포의 분화에 미치는 영향, 한국수산학회지 33(6), 541-545, 2000).
- [0022] 본 발명에서의 용어, 'PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ)'란, PPARs(peroxisome proliferator activated receptors)인 핵수용체(nuclear hormone receptor) 슈퍼 패밀리(superfamily)에 속하는 것으로, PPAR- α , PPAR- γ 및 PPAR- δ 등이 상기 슈퍼패밀리에 포함되며 지방세포 분화 조절 기능을 하는 것으로 알려져 있다(Tontonoz, P., E. Hu, and B. M. Spiegelman, Regulation of adipocyte gene expression and differentiation by peroxisome proliferator activated receptor gamma, Curr. Opin. Genet. Dev. 5: 571-576, 1995).
- [0023] 본 발명에서의 용어 'aP2(adipocyte protein 2)'란, 지방세포 특이적인 지방산 결합 단백질(fatty acid binding protein 4)로서 지방세포에서 PPAR- γ 에 의해 발현이 유도되고, PPAR- γ 와 마찬가지로 지방세포 분화 유도 과정에서 기능하는 유전자로 알려져 있다.
- [0024] 본 발명에서의 용어 'CEBP(CCAAT enhancer binding protein)'란, basic-leucine zipper motif를 가진 전사인자 가운데 하나로, 이들은 지방세포에 한정되어 발현되지는 않으며, 과립구(granulocyte)나 간세포에서도 발현하여 상기 세포들의 최종분화에 중요한 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다(Brun, R. P., J. B. Kim, E. Hu, S. Altiook, and B. M. Spiegelman, Adipocyte differentiation: a transcriptional regulatory cascade, Curr. Opin. Cell Biol. 8: 826-832, 1996).
- [0025] 이와 같이 상기 전사인자들은 지방전구세포(preadipocyte)가 증식 및 분화되는 과정을 거쳐 성숙한 지방세포(adipocyte)로 되는 과정인 지방세포분화(adipogenesis)에 관여하는 일련의 유전자 발현을 조절하는 역할을 하는데, 특히, CEBP 패밀리와 PPAR- γ 는 호르몬에 의해 지방세포분화가 유도되는 과정에서 중요하게 작용하는 전사인자로, 지방세포분화를 총괄적으로 조절하는 역할을 하며, 지방세포로 분화된 상태를 유지하는데 필수적인 인자이다. 또한, CEBP- α 는 PPAR- γ 발현을 촉진시켜 지방전구세포의 초기 분화과정에서 중요한 역할을 하는 한편, PPAR- γ 와의 강한 상승작용을 통해 지방전구세포의 말기 분화과정을 촉진하는 역할을 한다.
- [0026] 본 발명의 한 구체예로서, 본 발명은 고품취 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0027] 본 발명에서 용어 '식품조성물'이란, 상기 고품취 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 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 부작용 등이 없는 장점이 있다.
- [0028] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.
- [0029] 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명에 따른 식품 조성물은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 항비

만 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.

- [0030] 상기 곰취 추출물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 곰취 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 다른 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 5 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 2 중량%의 범위이다. 또한, 과립, 정제 또는 캡슐형태의 식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량%, 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0031] 또한, 본 발명에 따른 식품 조성물은 추가로 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토오스, 슈크로오스와 같은 이당류; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 다당류; 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 외에 본 발명에 따른 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 식품 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0032] 본 발명에 따른 또 다른 구체예로, 본 발명은 곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 개선용 의약 조성물을 제공한다.
- [0033] 본 발명에 따른 곰취 추출물은 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태일 수 있다.
- [0034] 상기 염은 유기산 또는 무기산을 이용하여 형성된 산 부가염일 수 있으며, 상기 유기산은, 예를 들면 포름산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 부티르산, 이소부티르산, 트리플루오로아세트산, 말산, 말레산, 말론산, 푸마르산, 숙신산, 숙신산 모노아미드, 글루탐산, 타르타르산, 옥살산, 시트르산, 글리콜산, 글루쿠론산, 아스코르브산, 벤조산, 프탈산, 살리실산, 안트라닐산, 디클로로아세트산, 아미노옥시 아세트산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 및 메탄술폰산계 염을 포함하며 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 및 붕산계 염을 포함한다. 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있으며, 보다 바람직하게는 염산염 형태일 수 있다.
- [0035] 위와는 별도로 추가적으로 염이 가능한 형태는 가바염, 가바펜틴염, 프레가발린염, 니코틴산염, 아디페이트염, 헤미말론산염, 시스테인염, 아세틸시스테인염, 메티오닌염, 아르기닌염, 라이신염, 오르니틴염, 아스파르트산염 등이 있다.
- [0036] 또한, 본 발명에 따른 의약 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수 또는 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티딘, 염 및 폴리솔베이트 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.
- [0037] 상기 조성물 내의 상기 곰취 추출물의 함량은 질환의 증상, 증상의 진행 정도, 환자의 상태, 투여 방법 및 제제의 형태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.0001 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 50중량%인 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.
- [0038] 본 발명에 따른 의약 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 일반 의약품 제제의 형태, 예를 들어, 임상 투여 시 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0039] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 의약 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 슈크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.
- [0040] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러

가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0041] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 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), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0042] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0043] 본 발명에 따른 곰취 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 우수한 3T3-L1 지방전구세포주의 세포분화 억제 활성과 지방세포 분화와 관련하여 상위 전사인자인 PPAR- γ , CEBP- α , aP2 유전자 발현의 높은 저해를 보이며, 지방 축적 억제에 우수한 효과를 나타내어 효과적으로 비만을 예방, 개선 및 치료할 뿐만 아니라 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높다.

도면의 간단한 설명

[0044] 도 1은 곰취 용매별 추출물의 지방세포 내 지방축적 저해활성을 나타내는 도표이다.
 도 2는 곰취 메탄올 추출물의 농도별 지방세포 내 지방축적 저해활성을 나타내는 도표이다.
 도 3은 곰취 메탄올 추출물의 농도별 지방축적저해활성을 나타내는 현미경 사진이다.
 도 4는 곰취 메탄올 추출물의 PPAR- γ mRNA 발현 억제 활성을 나타내는 도표이다.
 도 5는 곰취 메탄올 추출물의 CEBP- α mRNA 발현 억제 활성을 나타내는 도표이다.
 도 6은 곰취 메탄올 추출물의 aP2 mRNA 발현 억제 활성을 나타내는 도표이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0046] [실시예 1]

[0047] 곰취로부터 용매별 추출한 추출물의 지방축적 저해능

[0048] 곰취를 대상으로 메탄올 100%, 메탄올 50%, 에탄올 100%, 메탄올 50%, 물을 사용하여 가열환류방법으로 추출한 추출물 5종에 대한 성숙지방세포 내에서의 지방축적 저해활성을 검토하였다. 이를 위해 지방전구세포주인 3T3-L1 (mouse embryo fibroblast cell line)을 2×10^5 cells/well의 농도로 6 well-plate에 배양, 100% confluency 도달 후 2일간 추가로 배양한 다음, 성숙지방세포로 분화시키기 위해 원배지를 제거하고, 0.5 mM 3-아이소부틸-1-메틸잔틴(3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX), 0.1 μ M 텍사메타손(dexamethasone, DEX), and 1 μ g/ml 인슐린(insulin, INS), 10% 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS)가 첨가된 DMEM에 상기 곰취 5종 추출물을 0.1 mg/ml의 농도로 첨가하여 37°C, CO₂ 인큐베이터에서 48시간 배양시켰다. 48시간째 다시 원배지를 제거한 후 1 μ g/ml INS, 10% FBS가 첨가된 DMEM에 추출물을 0.1 mg/ml의 농도로 첨가하여 37°C, CO₂ 인큐베이터에서 48시간 배양시켰다. 다시 배지를 제거한 후 10% FBS가 첨가된 DMEM을 37°C, CO₂ 인큐베이터에서 48시간 배양시킨 후 다

시 원배지를 제거하고 10% FBS가 첨가된 DMEM을 37℃, CO₂ 인큐베이터에서 48시간 배양시켰다. 대조군은 추출물을 첨가하지 않았으며, 양성 대조군으로 추출물 대신에 카페인 0.1 mg/ml을 처리하였다. 추출물 처리 후 8일째 배양된 세포를 Oil red O staining 방법을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 배양액을 완전히 제거한 후, PBS로 2회 세척하고 10% 포르말린 용액을 400 μ l/well로 첨가하여 세포를 고정시키기 위해 1시간 동안 방치시켰다. 이후 PBS로 세척하고 Oil red O 작업용액을 400 μ l/well당 첨가하여 2시간 동안 분화된 지방세포 내의 지방을 염색시켰다. 이 후 Oil red O 작업용액을 제거하고 2차 증류수를 사용하여 well의 기벽에 묻어있는 Oil red O 작업용액을 완전히 세척한 후, 건조기에 넣고 5분간 건조시키고, well에 이소프로필알코올 500 μ l을 첨가한 다음 마이크로 플레이트 리더(Model 680 microplate reader, Bio-Rad, USA)을 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지방축적능은 다음의 표 1의 식에 의해 구하였다.

표 1

[0049]

Lipid accumulation (%)	=	Sample O.D - Blank O.D	$\times 100$
		Control O.D - Blank O.D	

[0050]

도 1에 나타난 바와 같이, 추출물을 처리하지 않은 대조군(control)의 지방축적능을 100%로 하여 비교하였을 때, 양성대조군(positive control)인 카페인(0.1 mg/ml처리)의 지방축적능은 74%이었고, 곰취의 메탄올 100%, 메탄올 50%, 에탄올 100%, 에탄올 50%, 열수 추출물의 지방축적능은 각각 73%, 75%, 82%, 87%, 90%이었다. 이 결과들로부터 곰취 메탄올 100% 추출물이 대조군 대비 약 73%, 양성대조군인 카페인과 유사한 수준의 지방축적 저해효과를 보였음을 확인하였다.

[0051]

A: 곰취 메탄올 100% 추출물 0.1 mg/ml

[0052]

B: 곰취 메탄올 50% 추출물 0.1 mg/ml

[0053]

C: 곰취 에탄올 100% 추출물 0.1 mg/ml

[0054]

D: 곰취 에탄올 50% 추출물 0.1 mg/ml

[0055]

E: 곰취 열수 추출물 0.1 mg/ml

[0056]

[실시예 2]

[0057]

곰취 메탄올 추출물의 농도별 지방축적 저해능

[0058]

곰취 메탄올 100% 추출물에 대한 성숙지방세포 내에서의 지방축적 저해활성을 농도별로 검토하기 위해 추출물을 1.0, 0.5, 0.1, 0.01 mg/ml로 처리하고 실시예 1의 방법과 같이 동일하게 지방세포를 분화시켰다. 그 결과 도 2에서와 같이 양성대조군의 지방축적능은 78%, 곰취 메탄올 추출물의 지방축적능은 각각 55%, 65%, 77%, 94%를 보임으로써 농도의존적으로 지방축적을 저해함을 확인하였고, 양성대조군인 카페인과 유사한 지방축적 저해능을 확인하였다.

[0059]

[0060]

[실시예 3]

[0061]

곰취 메탄올 추출물의 농도별 지방축적 저해능을 나타낸 현미경 관찰

[0062]

곰취 메탄올 추출물의 농도별 지방축적 저해능을 현미경으로 관찰하기 위해 실시예 2의 방법과 같이 지방세포를 분화시켰다. 8일간 배양된 세포를 Oil red O staining 방법을 사용하여 염색한 후 지방세포를 관찰한 결과 붉은 색으로 염색된 지방의 면적이 곰취 메탄올 100% 추출물의 처리 농도에 따라 농도의존적으로 감소됨을 관찰할 수 있었다.

[0063]

A: 대조군

[0064]

B: 카페인 0.1 mg/ml

[0065]

C: 곰취 메탄올 100% 추출물 1.0 mg/ml

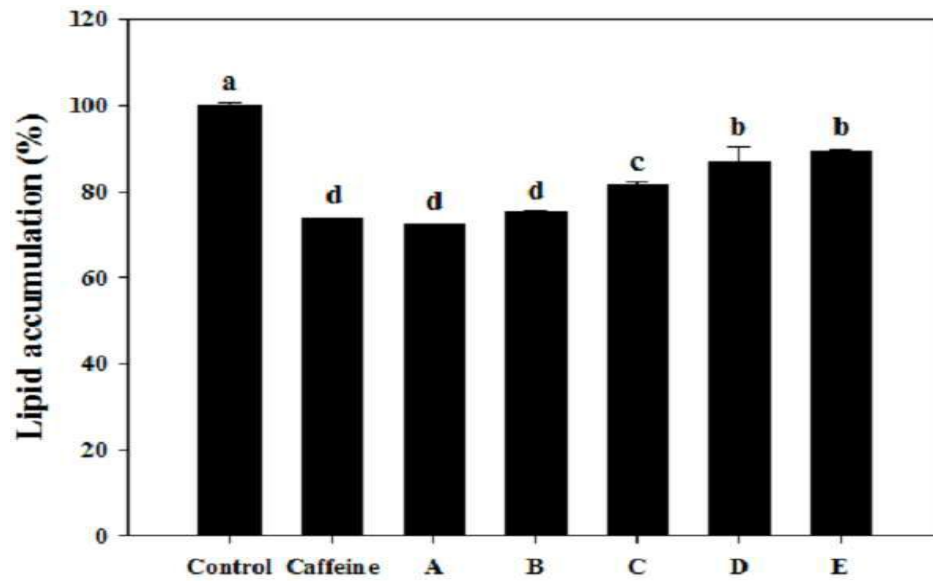
[0066]

D: 곰취 메탄올 100% 추출물 0.5 mg/ml

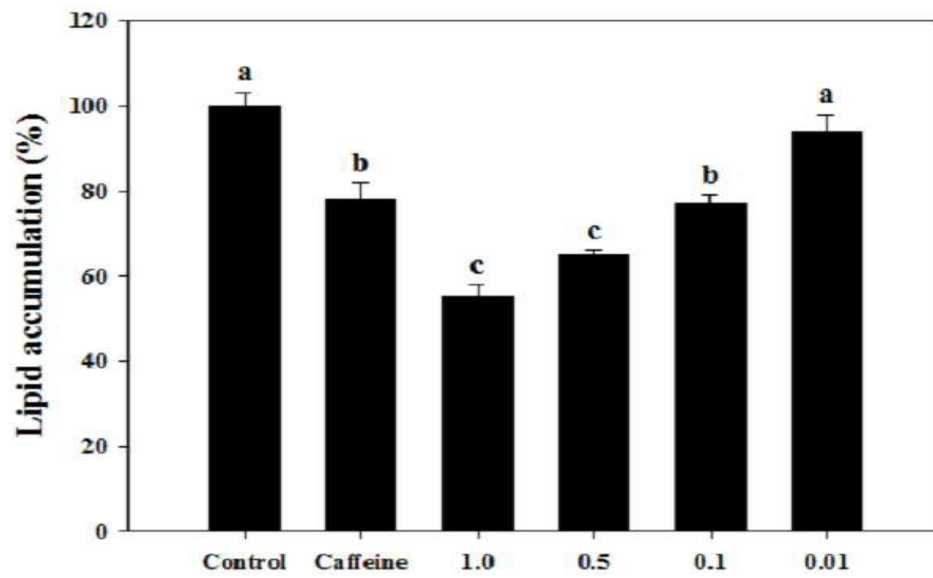
- [0067] E: 곰취 메탄올 100% 추출물 0.1 mg/ml
- [0068] F: 곰취 메탄올 100% 추출물 0.01 mg/ml
- [0069] [실시예 4]
- [0070] 곰취 메탄올 추출물의 지방세포 분화 관련 전사인자의 발현 억제
- [0071] 실시예 2에서와 같이 곰취 열수추출물을 농도별로 처리, 배양하여 얻은 세포로부터 RNA를 추출한 후 지방세포분화에 관여하는 상위 전사인자인 PPAR- γ , CEBP- α , aP2를 대상으로 역전사-PCR(reverse transcriptase-PCR, RT-PCR)을 아래와 같이 실시하고 아가로즈(agarose) 전기영동에 의해 발현 정도를 비교하였다.
- [0072] 즉, 분화된 세포의 RNA를 추출하기 위해 배양세포를 PBS로 두 번 세척한 후, TRIzol과 클로로포름을 가하여 혼합하고 원심분리하였다. 가장 위층인 RNA를 분리한 후 이소프로필알코올로 RNA를 침전시키고 원심분리한 다음 침전물을 75% 디에틸피로카르보산(diethylpyrocarbonate, DEPC) 에탄올로 용해시키고, 원심분리한 다음 침전 RNA를 0.1% DEPC 증류수로 용해시켜 RNA를 추출하였다. cDNA 합성하기 위해 동일량의 Oligo(dT)₁₅ primer와 random hexamers, 추출한 RNA, RNase-free 증류수를 혼합한 후 가열 냉각한 다음 5X first-strand 완충액, dNTP mix, 디티오프레이톨(dithiothreitol, DTT) 및 역전사효소(reverse transcriptase)를 첨가하고 42℃에서 90분, 70도에서 15분간 반응시켜 합성하였다. 합성한 first-strand cDNA (DNA templet), Taq DNA 중합효소, dNTP, 10XPCR 버퍼, forward primer, reverse primer을 PCR 튜브에 넣고 혼합하였다. 95℃에서 5분간 pre-denature시킨 후, 95℃에서 30초간 변성과 50~65℃에서 30초간 어닐링(annealing)을 40 cycles 실시한 다음 최종적으로 72℃에서 30분간 extension시켰다. PCR 산물은 0.002% 브롬화 에티듐(ethidium bromide)이 첨가된 2.5% 아가로스 겔에서 100 V로 일정시간 전기영동한 후 자외선광으로 발현 정도를 확인하고, 밴드의 강도를 젤 프로(Gelpro) 소프트웨어에 의해 분석 정량하였다. 이때 내부 표준물질로써 β -actin을 사용하였다.
- [0073] 도 4~6에서와 같이 추출물을 처리하지 않은 대조군을 100%로 기준하여 비교하였을 때, PPAR- γ (도 4)의 경우 카페인 81%, 곰취 메탄올 추출물은 1.0, 0.5, 0.1, 0.01 mg/ml의 농도 처리 시 각각 65%, 68%, 81%, 89%의 발현률을 나타내었다. 도 5의 CEBP- α 의 경우 카페인 78%, 곰취 메탄올 추출물은 1.0, 0.5, 0.1, 0.01 mg/ml의 농도 처리 시 각각 46%, 60%, 71%, 100%의 발현률을 나타내었고, 도 6의 aP2의 경우 카페인 79%, 곰취 메탄올 추출물은 1.0, 0.5, 0.1, 0.01 mg/ml의 농도 처리시 각각 52%, 59%, 76%, 95%의 발현률을 나타내었다. 이 결과들로부터 곰취 메탄올 추출물은 지방세포 분화에 관련된 전사인자들을 농도의존적으로 하향조절(down regulation) 시킴과 동시에 양성대조군인 카페인과 유사한 발현 억제능을 보임으로써 곰취 메탄올 추출물의 지방세포분화 및 지방축적 저해활성의 기전을 유전자 발현 수준에서 규명할 수 있었다.

도면

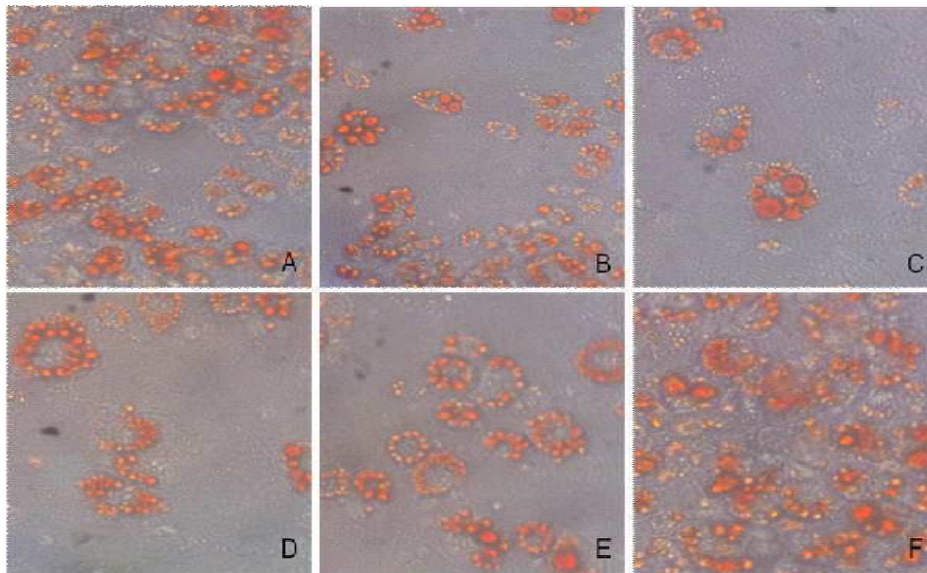
도면1



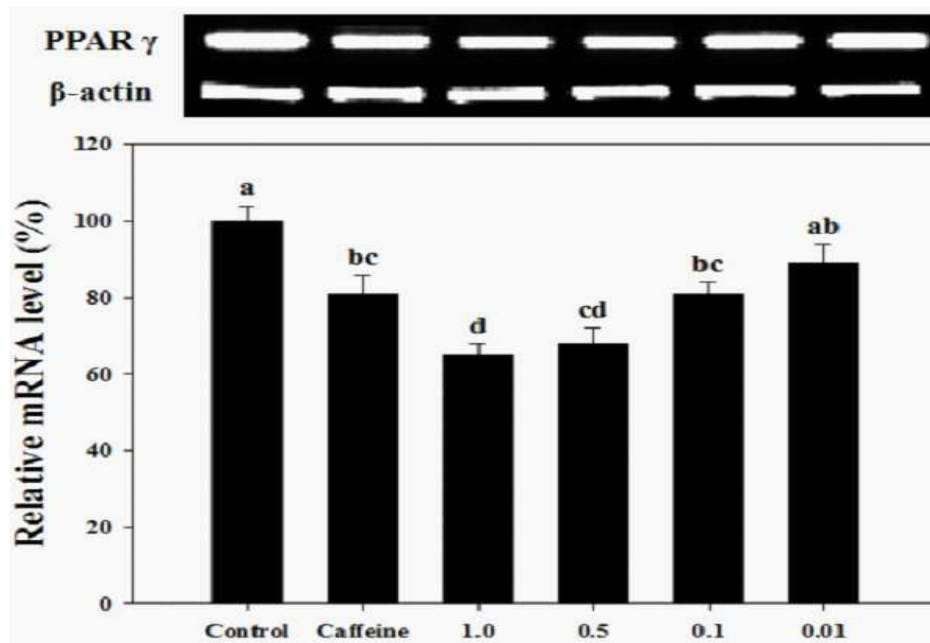
도면2



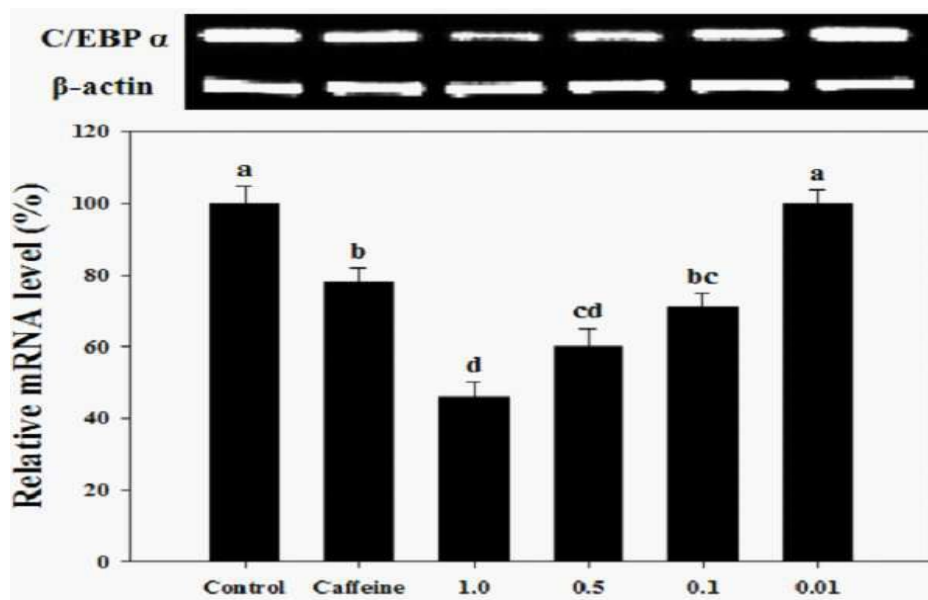
도면3



도면4



도면5



도면6

