



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년03월12일
(11) 등록번호 10-1837477
(24) 등록일자 2018년03월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7048 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) A61K 31/343 (2006.01)
A61K 31/7004 (2006.01) A61K 36/605 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/7048 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2016-0172521
(22) 출원일자 2016년12월16일
심사청구일자 2016년12월16일
- (56) 선행기술조사문헌
European Journal of Medicinal Chemistry, 90,
379-393, 2015.*
Journal of Natural Medicines, 62(12),
132-148, 2008.
CN102924421 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
- (72) 발명자
강종성
대전광역시 유성구 어은로 57, 118동 801호(어은
동, 한빛아파트)
김영호
대전광역시 유성구 봉명로 48, 801동 302호(원신
동, 신안인스빌리베라)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 공간

전체 청구항 수 : 총 5 항

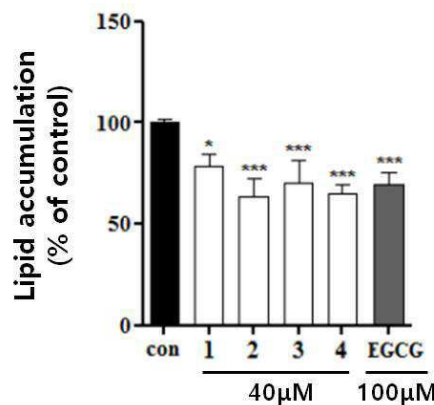
심사관 : 성선영

(54) 발명의 명칭 **뽕나무 잎으로부터 분리된 화합물을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 뽕나무 잎으로부터 분리된 화합물을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상기 뽕나무 잎 유래 화합물은 분화 유도된 지방세포에서 지방축적을 저해하는 효과가 우수하여 비만의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)
A61K 31/343 (2013.01)
A61K 31/7004 (2013.01)
A61K 36/605 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/332 (2013.01)
Y10S 514/909 (2013.01)

조정원

세종특별자치시 시청대로 236, 316동 1101호(소담
 동, 새샘마을3단지)

(72) 발명자

명창선

대전광역시 유성구 대학로 59, 1212호(봉명동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	315024-3
부처명	농림축산식품부
연구관리전문기관	농림수산물기술기획평가원
연구사업명	농생명산업기술개발사업
연구과제명	뽕나무 산물의 기능성 식·의약품 소재물질 개발
기 여 율	1/1
주관기관	충남대학교산학협력단
연구기간	2015.08.14 ~ 2016.12.16

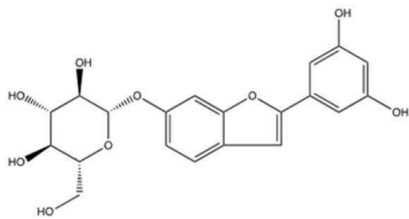
명세서

청구범위

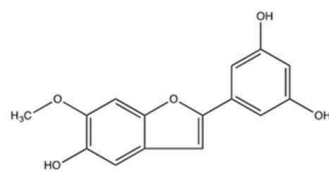
청구항 1

뽕나무 잎(*Morus alba* leaves)으로부터 분리된 하기 화학식 1의 모라신 M 6- β -D-글루코피라노시드(화합물 1), 모라신 J(화합물 2) 및 (6R,9R)-3-옥소- α -이오닐 9-O- β -글루코피라노시드(화합물 4)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

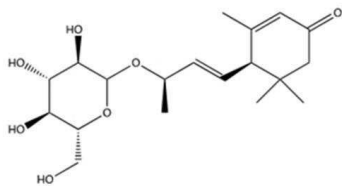
[화학식 1]



화합물 1



화합물 2



화합물 4

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화합물은 지방 축적을 억제하는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

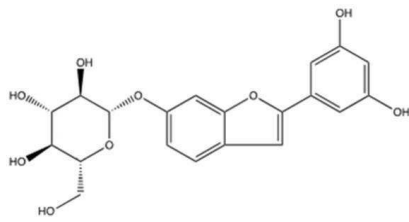
제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가하여 약제학적 투여형으로 제형화되는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

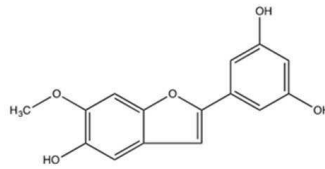
청구항 4

뽕나무 잎(*Morus alba* leaves)으로부터 분리된 하기 화학식 1의 모라신 M 6- β -D-글루코피라노시드(화합물 1), 모라신 J(화합물 2) 및 (6R,9R)-3-옥소- α -이오닐 9-O- β -글루코피라노시드(화합물 4)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

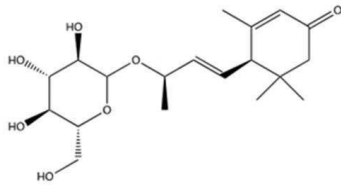
[화학식 1]



화합물 1



화합물 2



화합물 4

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 화합물은 지방 축적을 억제하는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 뽕나무 잎으로부터 분리된 화합물을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전 세계적으로 과체중 혹은 비만에 해당하는 사람들의 수가 증가하고 있는 추세이며, 최근 우리나라에서도 비만의 발생률이 크게 증가하고 있다(Kim, D. M. et al., Obes Rev., 6(2), 117-121, 2005.).

[0003] 일반적으로, 비만(obesity)은 섭취한 에너지중 소비하고 남은 것이 중성지방으로 전환되어 주로 복부와 피하지방조직의 지방세포(adipocyte)에 축적되는 일종의 질병으로서, 유전적, 영양학적, 환경적, 사회적 요인 등 다양한 원인들에 의해 나타나는 복잡한 증후군이다. 이러한 비만은 그 자체가 일상생활의 지장을 초래하는 질병이기도 하지만, 질병 자체의 의미보다는 비만으로 인해 여러 가지 합병증을 유발하게 된다는 것에 더욱 문제의 심각성이 있다.

[0004] 비만으로 인하여, 혈액 내의 콜레스테롤 또는 중성지방의 양이 증가되는 고지혈증을 유발하여 고혈압, 심혈관계 질환 및 뇌졸중 등의 치명적인 질병으로 발전할 수 있고, 말초조직(Kelley, D. E. et al., Diabetes, 49(5), 677-683, 2000)과 복부지방조직에서의 중성지방 축적(Kelley, D. E. et al., Am J Physiol Endocrinol Metab., 278(5), E941-948, 2000)의 증가로 인슐린 저항성이 유발되어 제 2형 당뇨병을 발생시킬 수도 있으므로, 장기적인 관리와 치료가 절대적으로 필요하다. 또한, 동양인의 경우, 서양인에 비해 체질량 지수는 적어도 복부 비만이 심하여 고혈압, 당뇨병, 고지혈증과 같은 동맥관련 질환으로 인한 합병증에 대한 감수성이 높기 때문에 비만 관리가 더욱 중요시된다.

[0005] 비만을 치료하기 위해 식이요법, 운동요법, 잘못된 식습관과 생활습관을 교정해 주는 행동수정요법, 외과에서 장이나 위의 용적을 줄이는 수술요법, 식욕 억제제, 이노제, 설사제 혹은 포만감을 주기 위한 섬유질 등을 사용하는 약물요법 등 다양한 방법이 제공되고 있다. 그러나 현재까지 제공된 방법은 그 효과가 뛰어나지 않거나 여러 부작용을 야기한다. 특히, 약물요법 중 식욕억제제의 일종인 시부트라민(sibutramine)은 두통, 구갈(심한 갈증), 불면증, 변비 등의 부작용이 발생할 수 있으며, 혈압과 맥박수가 다소 증가할 수 있기 때문에 주기적으로 혈압과 맥박수를 체크해야 한다. 또한, 지방분해효소 억제제의 일종인 오르리스타트(orlistat)는 대변이 자주 마렵거나 지방변 등이 나타날 수 있으며, 지방 흡수율의 감소로 인해 장에서 지용성비타민의 흡수율도 떨어질 수 있다는 단점이 있다(Morrison, R. F. et al., J. Nutr., 130(12), 3116-3121, 2000). 따라서, 부작용이 적고 효과가 확실한 새로운 비만치료제가 요구되고 있는 상황이다.

[0006] 뽕나무(*Morus alba* L.)는 쌍떡잎식물 켄기과목 뽕나무과 뽕나무속에 속한 낙엽 교목 또는 관목을 총칭하며, 원산지는 온대, 아열대 지방이다. 작은 가지는 회색빛을 띤 갈색 또는 회색빛을 띤 흰색이고 잔털이 있으나 점차 없어진다. 잎은 달걀 모양 원형 또는 긴 타원 모양 원형이며 3~5개로 갈라지고 길이 10cm로서, 가장자리에 둔한 톱니가 있으며 끝이 뾰족하다. 잎자루와 더불어 뒷면 맥 위에 잔털이 있다.

[0007] 뽕나무의 잎은 상엽(桑葉)이라 하여 발열, 감창, 두통, 해수, 안질, 수종(水腫), 각기, 구갈(口渴) 등의 증상에 치료제로 쓰였으며, 껍질은 상백피(桑白皮)라 하는데, 이것은 칼로 바깥쪽 껍질을 긁어낸 다음 속의 흰 껍질을 벗겨 말린 것이다. 상기 상백피에는 해열, 이뇨, 진해, 소종(消腫)의 효능이 있어 폐열해수(肺熱咳嗽), 기관지염, 소변불리, 수종, 각기 등에 치료제로 쓰여 왔다.

[0008] 한편, 뽕나무 잎 추출물 및 이로부터 분리된 화합물에 관련된 선행문헌으로서, 한국공개특허 제10-2009-0099974호에는 상엽 추출물을 유효성분으로 함유하는 고지혈증 또는 비만의 예방 및 치료용 조성물을 개시하였으며, 한국공개특허 제10-2015-0083622호에는 오갈피나무와 뽕나무를 이용한 항비만 조성물을 개시하였으나, 본 발명의 뽕나무 잎 유래 화합물이 비만에 대한 치료 효과가 있음을 확인한 이전 보고는 아직 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2009-0099974호, 상엽 추출물을 유효성분으로 함유하는 고지혈증 또는 비만의 예방 및 치료용 조성물, 2009년 09월 23일, 공개.

(특허문헌 0002) 한국공개특허 제10-2015-0083622호, 오갈피나무와 뽕나무를 이용한 항비만 조성물, 2015년 07월 20일, 공개.

비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) Kelley, D. E. et al., Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination, *Diabetes*, 49(5), 677-683, 2000.

(비특허문헌 0002) Kelley, D. E. et al., Subdivisions of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance, *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 278(5), E941-948, 2000.

(비특허문헌 0003) Kim, D. M. et al., Prevalence of obesity in Korea, *Obes Rev.*, 6(2), 117-121, 2005.

(비특허문헌 0004) Morrison, R. F. et al., Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation, *J. Nutr.*, 130(12), 3116-3121, 2000.

발명의 내용

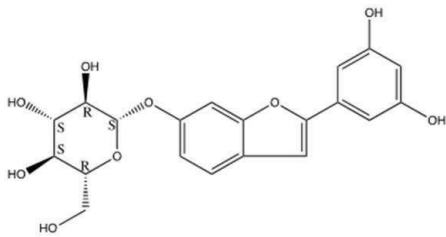
해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 목적은 뽕나무 잎으로부터 분리된 화합물을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

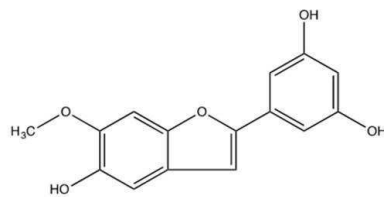
과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 뽕나무 잎(*Morus alba* leaves)으로부터 분리된 하기 화학식 1의 모라신 M 6-β-D-글루코피라노시드(화합물 1), 모라신 J(화합물 2), 2,5-안히드로-3-O-β-D-갈락토피라노실-D-만니톨(화합물 3) 및 (6R,9R)-3-옥소-α-이오닐 9-O-β-글루코피라노시드(화합물 4)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

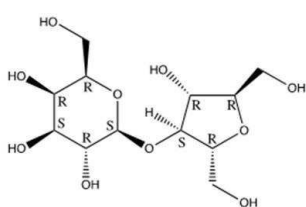
[0013] [화합식 1]



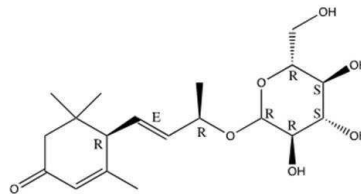
화합물 1



화합물 2



화합물 3



화합물 4

[0014]

[0015]

상기 뽕나무 잎으로부터 분리된 화합물은, 뽕나무 잎을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출한 추출물로부터 얻을 수 있으며, 상기 C1 내지 C4의 저급 알코올로는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 등을 이용할 수 있다. 또한, 상기 뽕나무 잎 추출물은 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있으며, 상기 유기용매로는 헥산, 에틸아세테이트, n-부탄올 등을 사용하여 추가적으로 분획하거나, 이들 용매들을 조합하여 순차적으로 분획한 다음, 상기 각 분획물을 크로마토그래피로 분획함으로써 얻을 수 있다.

[0016]

상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 플래쉬 컬럼 크로마토그래피(flash column chromatography), 세파덱스 LH-20 컬럼 크로마토그래피(sephadex LH-20 column chromatography), RP-18 컬럼 크로마토그래피(RP-18 column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC) 중에서 선택될 수 있다.

[0017]

한편, 본 발명의 화합물은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 따라 합성될 수 있으며, 약학적으로 허용 가능한 염으로 제조될 수도 있다.

[0018]

본 발명에 따른 약학 조성물은 일반적으로 사용되는 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 적합한 형태로 제형화될 수 있다. "약학적으로 허용 가능"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다.

[0019]

또한, 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로즈, 수크로스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아라비아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 파라옥시벤조산메틸, 파라옥시벤조산프로필, 탈크, 스테아르산마그네슘 및 광물유를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 안정화제, 결합제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로세라틴 등이 사용될 수 있다.

[0020] 본 발명에 개시된 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다. 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여시간, 투여경로, 약물의 흡수, 분포 및 배설률, 사용되는 다른 약물의 종류 및 처방자의 판단 등에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0021] 또한, 본 발명은 뽕나무 잎으로부터 분리된 상기 화학식 1의 화합물 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 화합물은 본 발명의 건강기능식품에 0.001~100 중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제 등이 있다.

발명의 효과

[0022] 본 발명은 뽕나무 잎으로부터 분리된 화합물을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상기 뽕나무 잎 유래 화합물은 분화 유도된 지방세포에서 지방축적을 저해하는 효과가 우수하여 비만의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 본 발명의 화합물 1 내지 4를 처리하는 경우, 지방세포에 대한 세포생존율을 나타내는 그래프이다.
도 2는 본 발명의 화합물 1 내지 4가 지방세포로 분화 유도된 3T3-L1 세포에서, 지방축적 억제 효과가 있음을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

<실시예 1. 뽕나무 유래 화합물의 분리>

[0026] 뽕나무 잎 2.9kg을 메탄올로 환류추출하여 380g의 뽕나무 추출물을 얻었으며, 상기 추출물을 헥산, 에틸아세테이트 및 부탄올로 분획하였다. 유효성분을 다량 함유한 에틸아세테이트 분획물(15.0g) 및 부탄올 분획물(68.0g)을 순상, 역상 컬럼크로마토그래피 및 preparative HPLC 방법을 이용하여 모라신 M 6-β-D-글루코피라노시드(화합물 1, 11.6mg), 모라신 J(화합물 2, 6.5mg), 2,5-안히드로-3-O-β-D-갈락토피라노실-D-만니톨(화합물 3, 90mg) 및 (6R,9R)-3-옥소-α-이오닐 9-O-β-글루코피라노시드(화합물 4, 22.0mg)를 획득하였다.

<실시예 2. 세포생존율 측정>

[0028] 본 발명의 실시예 1에서 제조한 뽕나무 유래 화합물의 세포생존율을 측정하기 위해, MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 어세이를 실시하였다.

[0029] 마이크로 플레이트에 3T3-L1 지방전구세포(pre adipocyte)와 40 μM의 각 화합물 1 내지 4를 처리한 다음, 37℃, 5% CO₂ 조건의 CO₂ 세포배양기(Heracell 150i, thermo)에서 72시간 동안 배양하였다. 이후, 각 웰에 5mg/ml 농도의 MTT 용액을 200 μl씩 넣어주고 60분간 반응시킨 다음, 상기 과정을 통해 생성된 포마잔(formazan) 결정을, DMSO에 녹이고 565nm에서의 흡광도를 측정하여, 도 1에 나타내었다.

[0030] 도 1을 참고하면, 본 발명의 화합물 1 내지 4는, 95% 이상의 세포생존율을 나타내어, 대조군인 디기토닌(digitonin)과는 다르게, 지방세포에 세포독성을 나타내지 않는 것임을 확인할 수 있었다.

<실시예 3. 지방 축적 억제 효능 평가>

[0032] 3T3-L1 지방세포는 10% BS(bovine serum, GIBCO)와 1% PS(penicillin/streptomycin)가 포함된 DMEM(with

4.5g/L D-Glucose, Dulbecco's modified Eagle's medium, GIBCO)배지를 사용하여, 37℃, 5% CO₂ 조건의 CO₂ 세포배양기(Heracell 150i, thermo)에서 배양하였으며, 2~3일 간격으로 계대 배양하여 폐쇄지 9~10까지의 세포를 사용하였다.

[0033] 3T3-L1 지방세포가 Cell Culture Dish의 약 80~90%로 채워지면 0.25% trypsin-EDTA(GIBCO)를 사용하여 세포를 분리한 다음, 원심분리기를 사용하여 세포를 가라앉히고 10% BS DMEM배지를 사용하여 1ml에 6만개의 세포가 되도록 희석하였다. 이를 96웰 플레이트에 200 μ l씩 넣고, 웰이 가득 찰 때까지 배양한 다음, 10% FBS 배지에 1 μ g/ml 인슐린, 0.5mM IBMX(3-Isobutyl-1-Methylxanthine), 1 μ M 덱사메타손(dexamethasone)이 포함된 분화유도 배지를, 본 발명의 화합물 1 내지 4를 40 μ M의 농도로 각각 혼합하고 세포 배지를 교체하였다. 3일 뒤, 10% FBS 배지에 10 μ g/ml 인슐린과 본 발명의 화합물 1 내지 4가 40 μ M의 농도로 각각 포함된 배지로 교체한 다음, 2일 동안 추가 배양하고, 10% FBS 배지에 본 발명의 화합물이 포함된 배지로 교체하고 2일 더 배양하였다.

[0034] 이후, 각 세포의 배양액을 제거하고 PBS로 세척한 뒤, 10% 포르말데히드 용액으로 세포를 1시간 이상 고정시킨 다음, 60% 이소프로판올로 세포를 세척하고, 100 μ l의 Oil Red O 용액을 더하여 10분 동안 염색하였다. 10분 후, 멸균수로 4회 세척하고, 100% 이소프로판올을 이용해 Oil Red O dye를 용해한 다음, 520nm의 흡광도에서 지방 축적물을 측정하여 하기 표 1 및 도 2에 나타내었다.

표 1

화합물		지방 축적률(%)
대조군		100 $\pm$ 1.7
화합물 1	40 μ M(16.2 μ g/ml)	78.8 $\pm$ 5.4 *
화합물 2	40 μ M(10.9 μ g/ml)	63.4 $\pm$ 8.9 ***
화합물 3	40 μ M(13.1 μ g/ml)	70.6 $\pm$ 10.6 ***
화합물 4	40 μ M(14.8 μ g/ml)	65.3 $\pm$ 4.0
EGCG	100 μ M(45.8 μ g/ml)	69.7 $\pm$ 5.4 ***
뽕나무 잎 에틸아세테이트 분획물	500 μ g/ml	79.5 $\pm$ 2.3 *
뽕나무 잎 부탄올 분획물	1000 μ g/ml	81.2 $\pm$ 1.5 *

[0036] 표 1 및 도 2를 참고하면, 본 발명의 화합물은 양성대조군인 EGCG(Epigallocatechin Gallate)에 비해 3배 이상의 지방 축적 억제 효과를 나타내었으며, 뽕나무 잎 분획물에 비해 30배 이상의 지방 축적 억제 효과를 나타내어 비만의 예방 또는 치료용 조성물로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0037] <실시예 4. 중성지방 축적 억제 효능 평가>

[0038] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, Oil Red O 용액 대신 Nile Red 용액을 넣고 10분간 방치한 다음, 형광(emission: 485nm, excitation: 540nm)을 측정하여 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

화합물		중성지방 축적률(%)
대조군		100.2 $\pm$ 0.95
화합물 2	40 μ M	81.5 $\pm$ 5.8
EGCG	100 μ M	57.3 $\pm$ 2.0

[0040] 표 2를 참고하면, 본 발명의 화합물 2의 경우 중성지방의 축적을 억제하는 효과를 나타내어, 비만의 예방 또는 치료용 조성물로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0041] <실시예 5. 독성실험>

[0042] 실시예 5-1. 급성독성

[0043] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 단기간에 과량을 섭취하였을 때 급성적(24시간 이내)으로 동물 체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스를 20마리를 준비하였고, 각 군별로 10마리씩 배정하였다. 대조군에는 30% PEG-400만을 투여하고, 실험군은 상기 화합물 1 또는 4를 1.0g/kg의 농도로 각각 경구 투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 상

기 화합물 1 또는 4를 투여한 실험군에서는 모두 생존하였다.

[0044] 실시예 5-2. 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험

[0045] 장기 독성 실험은 C57BL/6J 생쥐를 대상으로 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 발명의 화합물 1 또는 4를 1.0g/kg의 농도로 투여한 실험군과 용매만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(blood urea nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(vital scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 절취하여 통상적인 조직절편 제작과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으나 특이한 이상은 관찰되지 않았다.

[0046] <제제예 1. 약학적 제제>

[0047] 제제예 1-1. 산제의 제조

[0048] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 2g, 유당 1g을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0049] 제제예 1-2. 정제의 제조

[0050] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 100mg, 미결정셀룰로오스 100mg, 유당수화물 60mg, 저치환도히드록시프로필셀룰로오스 20mg 및 스테아르산마그네슘 2mg을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0051] 제제예 1-3. 캡슐제의 제조

[0052] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 100mg, 미결정셀룰로오스 100mg, 유당수화물 60mg, 저치환도히드록시프로필셀룰로오스 20mg 및 스테아르산마그네슘 2mg을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0053] 제제예 1-4. 주사제의 제조

[0054] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 10mg, 주사용 멸균 증류수 적량 및 pH 조절제 적량을 혼합한 후 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분 함량으로 제조하였다.

[0055] <제제예 2. 식품 제제>

[0056] 제제예 2-1. 조리용 양념의 제조

[0057] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 조리용 양념에 1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0058] 제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조

[0059] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 밀가루에 0.1 중량%로 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0060] 제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조

[0061] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 스프 및 육즙에 0.1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 스프 및 육즙을 제조하였다.

[0062] 제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조

[0063] 본 발명의 화합물 1 또는 4를 우유에 0.1 중량%로 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0064] 제제예 2-5. 야채주스 제조

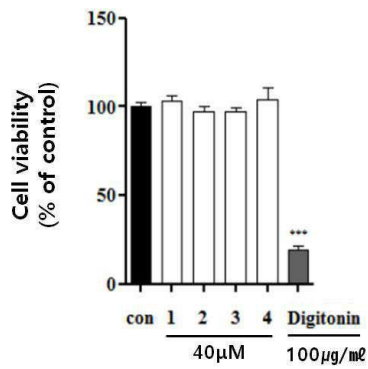
[0065] 0.5g의 본 발명의 화합물 1 또는 4를 토마토주스 또는 당근주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0066] 제제예 2-6. 과일주스 제조

[0067] 0.1g의 본 발명의 화합물 1 또는 4를 사과주스 또는 포도주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

도면1



도면2

