(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0019136
(43) 공개일자 2022년02월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/03 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
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)
C12N 5/077 (2010.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/03 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0098532
(22) 출원일자 2020년08월06일
심사청구일자 2020년08월06일

(71) 출원인
경북대학교 산학협력단
대구광역시 북구 대학로 80 (산격동, 경북대학교)
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)
(72) 발명자
남주옥
대구광역시 수성구 범어천로 200, 205동 1902호(범어동, 범어월드메르디앙 웨스턴 카운티)
이슬기
경기도 의왕시 오전로 179, 104동 1106호(오전동, 백합아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이명진

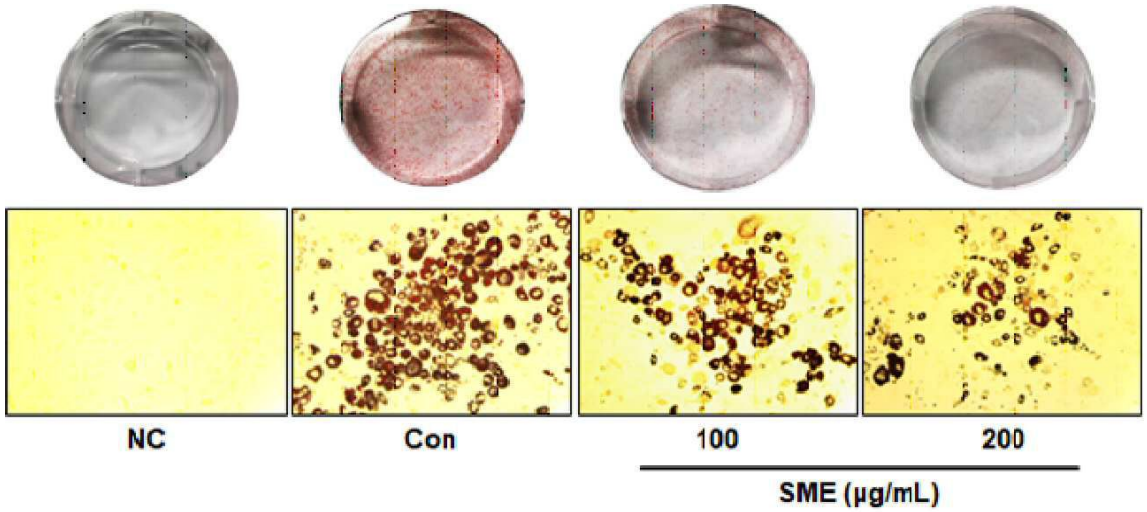
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 미아베모자반을 포함하는 비만 예방, 치료, 또는 개선용 조성물에 관한 것으로, 상기 미아베모자반 추출물은 지방 세포의 분화를 억제하고 세포 내 지질 축적을 감소시키는 효과가 있다. 또한, 지방세포 형성 및 분화에 관여하는 전사인자인 퍼옥시좀 증식제 활성화 수용체 감마(PPARγ) 및 CCAAT-인핸서 결합 단백질 알파(C/EBPα)와 아디포넥틴의 발현을 억제시켜 뛰어난 항비만 효과를 나타내었다. 따라서, 본 발명의 미아베모자반은 비만 예방, 치료, 또는 개선용 약학적 조성물 및 건강기능식품 등으로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도2a



(52) CPC특허분류
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)
C12N 5/0653 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2250/202 (2013.01)
(72) 발명자
김동세
경상남도 창원시 의창구 창원천로94번길 19, 자이 동 25층 104동 2505호(대원동)

조태오
광주광역시 광산구 왕버들로 132번길 35, 대방 6차 605동 1403호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525009971
과제번호	2017043113
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	해양수산생명공학기술개발(R&D)
연구과제명	해양갈조식물자원 기탁등록보존기관
기 여 율	50/100
과제수행기관명	조선대학교 산학협력단
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711106477
과제번호	2019R1F1A1060346
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	한국산 홍조 산호말류의 다양성과 계통연구
기 여 율	50/100
과제수행기관명	조선대학교
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

미아베모자반(*Sargassum miyabei*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6개의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane), 석유에테르(petroleum ether), 아임계 유체, 및 초임계 유체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용매에 의한 추출물인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 대사성 질환은 당뇨, 고지혈증, 지방간, 동맥경화, 고혈압, 심혈관 질환 또는 상기 질환들이 동시다발적으로 발생하는 대사증후군으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 미아베모자반 추출물은 지방세포 형성 및 분화에 관여하는 전사인자 또는 아디포넥틴의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 전사인자는 퍼옥시좀 증식제 활성화 수용체 감마(PPARγ) 또는 CCAAT-인핸서 결합 단백질 알파(C/EBPα)인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 미아베모자반 추출물은 지방세포의 분화를 억제하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 미아베모자반 추출물은 세포 내 지질 축적을 감소시키는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 8

미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 조성물은 건강기능성 식품 조성물인 것을 특징으로 하는, 식품 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6개의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane), 석유에테르(petroleum ether), 아임계 유체, 및 초임계 유체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용매에 의한 추출물인 것을 특징으로 하는, 식품 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 대사성 질환은 당뇨, 고지혈증, 지방간, 동맥경화, 고혈압, 심혈관 질환 또는 상기 질환들이 동시다발적으로 발생하는 대사증후군으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 식품 조성물.

청구항 12

미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 시험관 내(in vitro) 지방세포 분화 억제용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 미아베모자반(*Sargassum miyabei*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 비만은 일반적으로 체내에 지방조직이 과다한 상태인 것을 의미하며, 음식물로 섭취한 에너지가 신체활동 등으로 소비한 에너지와 균형을 이루지 못하여 잉여의 에너지가 체지방으로 축적되는 현상이다. 비만은 유전적인 요인, 불규칙한 식습관이나 운동부족 또는 서구화되는 식생활에 의한 환경적인 영향, 우울감, 지루감, 과다한 스트레스에 의한 심리적인 영향, 갑상선이나 부신피질 호르몬 변화에 의한 병적인 요인 등 매우 다양한 원인에 의해 유발되는 것으로 알려져 있다. 최근에는 경제성장과 생활방식의 변화에 따라 식습관에도 많은 변화가 생겨 바쁜 현대인들은 패스트푸드 등의 고열량 식이와 적은 운동량으로 인하여 과체중 및 비만이 증가하고 있는 추세이다.

[0004] 또한, 비만은 지방세포의 비대에 의해 유발되므로, 지방세포 분화의 억제는 비만 치료에 도움이 될 수 있다. 종

래에 지방세포 분화 및 지질 축적의 억제와 관련된 항비만 연구가 보고된 바 있으며, 이 때 3T3-L1 마우스 섬유아세포는 지방 전구세포의 분화를 위한 잘 특성화된 모델로 일반적으로 시험관 내 연구에 사용된다.

[0005] 비만은 그 자체의 위험성보다 비만으로 인해 유발될 수 있는 여러 합병증 때문에 그 심각성이 더욱 크게 인식되고 있는데, 오랜 시간에 걸쳐 에너지 불균형에 의해 체지방이 비정상적으로 많아지면 당뇨, 고지혈증, 심장병, 뇌졸중, 동맥경화증, 지방간 등의 각종 대사성 질환과 성인병이 유발된다. 더불어 비만은 신체적인 질환뿐만 아니라 사회적 고립감이나 소외, 자신감 결여, 우울감과 같은 정신적 질환을 유발할 수 있어, 이는 서구에서뿐만 아니라 우리나라에서도 심각한 사회문제로 대두되고 있으며 비만의 예방 및 치료에 대한 필요성이 매우 중요하게 인식되고 있다.

[0006] 비만은 식이요법, 규칙적인 운동과 더불어 행동요법과 같은 생활습관의 개선, 및 식욕 억제제와 지방 흡수 억제제와 같은 약물을 통해 치료할 수 있다. 비만은 만성 질환이기 때문에 약물치료를 시도하는 경우 장기간의 사용이 필요하며, 현재 국내에서 3개월 이상 장기간 사용이 허가된 제품으로는 식욕억제제인 시부트라민(sibutramine)과 지방분해효소 억제제인 올리스타트(orlistat)가 있다. 그러나 이러한 비만 치료 약물들은 대부분 중추신경계에 작용하여 식욕을 조절하는 향정신성의약품들이므로 두통 및 구토 등의 부작용을 동반하며 남용 우려 등의 문제점이 있다. 따라서 상기 시판중인 항비만제의 부작용을 해결할 수 있는 안정성이 높고 항비만 효과가 우수한 소재를 개발하기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

[0007] 한편, 미아베모자반이 비만의 치료에 효과적인지는 알려진 바 없다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0009] (비특허문헌 0001) Kang, H.S., Chung, H.Y., Kim, J.Y., Son, B.W., Jung, H.A., and Choi, J.S. (2004). Inhibitory phlorotannins from the edible brown algaecklonia stolonifera on total reactive oxygen species (ROS) generation. Archives of pharmacal research 27, 194-198.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 이에 본 발명자들은 종래 항비만제의 문제점을 해결할 수 있는 안정성이 높고 항비만 효과가 우수한 비만 예방 또는 치료용 조성물을 개발하고자 노력한 결과, 본 발명의 미아베모자반 추출물이 뛰어난 항비만 효과를 가지는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0011] 따라서, 본 발명의 목적은 미아베모자반(*Sargassum miyabei*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0016] 상기 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 미아베모자반(*Sargassum miyabei*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0017] 또한, 본 발명은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0018] 본 발명의 일실시예에서, 상기 식품 조성물은 건강기능성 식품 조성물일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0019] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6개의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane), 석유에테르(petroleum ether), 아임계 유체, 및 초임계 유체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 용매에 의한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 상기 대사성 질환은 당뇨, 고지혈증, 지방간, 동맥경화, 고혈압, 심혈관 질환 또는 상기 질환들이 동시다발적으로 발생하는 대사증후군으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 상기 미아베모자반 추출물은 지방세포 형성 및 분화에 관여하는 전사인자 또는 아디포넥틴의 발현을 억제하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 상기 전사인자는 퍼옥시좀 증식제 활성화 수용체 감마(PPARγ) 또는 CCAAT-인핸서 결합 단백질 알파(C/EBPα)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 상기 미아베모자반 추출물은 지방세포의 분화를 억제하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0024] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 상기 미아베모자반 추출물은 세포 내 지질 축적을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 또한, 본 발명은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 시험관 내(in vitro) 지방세포 분화 억제용 조성물을 제공한다.

[0026] 또한, 본 발명은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방, 개선 및/또는 치료방법을 제공한다.

[0027] 또한, 본 발명은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물의 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방, 개선 및/또는 치료 용도를 제공한다.

[0028] 또한, 본 발명은 미아베모자반 추출물의 비만 또는 지질 관련 대사성 질환에 이용되는 약제를 생산하기 위한 용도를 제공한다.

발명의 효과

[0030] 본 발명에 따른 미아베모자반 추출물은 지방세포의 분화를 억제하고 세포 내 지질 축적을 감소시키는 효과가 있으며, 지방세포 형성 및 분화에 관여하는 전사인자인 퍼옥시좀 증식제 활성화 수용체 감마(PPARγ) 및 CCAAT-인핸서 결합 단백질 알파(C/EBPα)와 아디포넥틴의 발현을 억제시켜 항비만 효과가 뛰어남을 확인하였는바, 본 발명의 미아베모자반 추출물은 비만 예방, 치료, 또는 개선용 약학적 조성물 및 건강기능식품 등 다양한 방면으로 이용될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 본 발명의 일구현예에 따른 미아베모자반 추출물을 처리한 3T3-L1 지방전구세포에서의 세포 생존능 측정 결과를 MTT 분석에 의해 나타낸 도면이다.

도 2a 내지 도 2c는 3T3-L1 세포 분화 동안 지질 축적 및 트리글리세라이드(TG) 함량에 대한 미아베모자반 추출물의 효과를 나타낸 것으로, 도 2a는 본 발명의 일구현예에 따른 미아베모자반 추출물을 처리한 3T3-L1 지방전구세포에서 Oil Red O 염색한 결과를 400X 배율 현미경으로 촬영한 사진을 나타낸 것이고, 도 2b는 본 발명의 일구현예에 따른 미아베모자반 추출물을 처리한 염색된 세포 내 지질 함량을 정량화하여 나타낸 것이고, 도 2c는 본 발명의 일구현예에 따른 미아베모자반 추출물을 처리한 염색된 세포 내 트리글리세라이드의 함량을 측정하여 나타낸 것이다. NC는 지방 전구 세포이며, Con은 완전히 분화된 지방 세포를 나타낸다. 각 실험은 3회 반

복수행 되었으며, 막대는 평균±SD를 나타낸다. **는 대조군과 비교하여 P <0.01이다.

도 3a 내지 도 3c는 3T3-L1 세포에서 지방 생성 관련 유전자에 대한 미아베모자반 추출물의 효과를 나타낸 것으로, 도 3a는 본 발명의 일구현예에 따른 3T3-L1 지방세포에서 미아베모자반 추출물의 처리에 의한 PPARγ, C/EBPα, 및 아디포넥틴의 mRNA 발현량을 나타낸 것이고, 도 3b는 본 발명의 일구현예에 따른 3T3-L1 지방세포에서 미아베모자반 추출물의 처리에 의한 PPARγ, C/EBPα, 및 아디포넥틴 단백질의 발현량을 나타낸 것이고, 도 3c는 PPARγ, C/EBPα, 및 아디포넥틴 단백질 발현 수준을 정량화한 결과를 나타낸 것이다. 각 실험은 3회 반복수행 되었으며, 막대는 평균±SD를 나타낸다. **는 대조군과 비교하여 P <0.01이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 본 발명은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0034] 또한, 본 발명은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 시험관 내(in vitro) 지방세포 분화 억제용 조성물을 제공한다.

[0036] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

[0038] 본 발명의 미아베모자반(*Sargassum miyabei*)는 *Sargassum miyabei* yendo로 명명될 수 있으며, 모자반(Sargassaceae)과 모자반(sargassum)속에 속하는 갈조류이다. 우리나라에서는 주로 남해안 및 제주도에 서식하고 있으나, 생리활성에 대해서는 다른 모자반속에 비해 많이 알려져 있지 않다.

[0039] 본 발명의 미아베모자반은 그 원형을 훼손하지 않고 그대로 사용하거나, 당업자가 의도하는 공정 속도 및 공정(제조) 효율을 고려하여 전처리 과정을 수행한 후 사용할 수 있으며, 상기 전처리 과정으로는 예를 들어 통상적인 선별, 수세, 절단, 분말화, 건조 등의 단계를 거칠 수 있다.

[0040] 본 발명의 미아베모자반 추출물은 모자반체 전체 또는 그 일부로부터 수득될 수 있으며, 예를 들어 줄기, 뿌리, 잎, 열매, 및 꽃으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 부위로부터 수득될 수 있다.

[0041] 본 발명의 미아베모자반 추출물은 공지의 천연물 추출방법에 의하여 추출될 수 있다. 예를 들어, 물, 탄소수 1 내지 6개의 유기용매 및 아임계 또는 초임계 유체로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매로 추출될 수 있다. 상기 탄소수 1 내지 6개의 유기용매는 탄소수 1 내지 6개의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane) 및 석유에테르(petroleum ether)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명의 미아베모자반 추출물은 바람직하게는 에탄올로 추출될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 추출방법은 상기 용매를 사용하여 냉침, 온침, 가열 등 통상의 추출방법이 사용 가능하다.

[0043] 상기 에탄올은 농도가 제한되지 않으나, 예를 들어, 30 내지 100%, 40 내지 100%, 50 내지 100%, 60 내지 100%, 70 내지 100%, 70 내지 90%, 75 내지 85%, 또는 약 80%의 에탄올 추출물일 수 있다.

[0044] 본 발명의 상기 미아베모자반 추출물은 지방세포 형성 및 분화에 관여하는 전사인자 또는 아디포넥틴의 발현을 억제하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0045] 본 발명의 상기 전사인자는 퍼옥시좀 증식제 활성화 수용체 감마(PPARγ) 또는 CCAAT-인핸서 결합 단백질 알파(C/EBPα)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0046] 본 발명의 상기 미아베모자반 추출물은 지방세포의 분화를 억제하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0047] 본 발명의 상기 미아베모자반 추출물은 세포 내 지질 축적을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] 본 발명의 일실시예에서는 미아베모자반 추출물의 항산화 활성을 ABTS 라디칼 양이온 및 DPPH 라디칼 소거 활성을 평가함으로서 확인한 결과, 미아베모자반 추출물이 강력한 항산화 활성을 나타내는 것을 확인하였다(실시예

1 및 표 2 참조).

[0049] 본 발명의 다른 일실시예에서는, 3T3-L1 지방세포의 분화기간 동안 미아베모자반 추출물 처리 후 현미경을 통해 관찰한 결과, 미아베모자반 추출물이 농도의존적으로 3T3-L1 지방세포의 분화를 강력하게 억제하는 것을 확인하였다(실시예 2 및 도 1 참조).

[0050] 본 발명의 또 다른 일실시예에서는, 3T3-L1 지방세포에서 Oil red O staining 실험기법을 이용하여 지질염색을 한 결과, 미아베모자반 추출물을 처리한 3T3-L1 지방세포에서 지질 축적이 농도의존적으로 감소하는 것을 확인하였으며, 미아베모자반 추출물을 처리한 3T3-L1 지방세포 내의 TG함량은 양성대조군에 비해 현저하게 감소하는 것을 확인하였다(실시예 3 및 도 2a 내지 2c 참조).

[0051] 본 발명의 또 다른 일실시예에서는, 미아베모자반 추출물을 처리한 3T3-L1 지방세포에서 분리한 RNA를 cDNA로 합성한 후 RT-PCR을 진행한 결과, 미아베모자반 추출물이 PPARγ, C/EBPα, 및 아디포넥틴의 mRNA 발현을 농도의존적으로 억제하는 것을 확인하였다(실시예 4 및 도 3a 참조).

[0052] 또한, 미아베모자반 추출물을 처리한 3T3-L1 지방세포에서 단백질 발현을 분석한 결과, 미아베모자반 추출물은 PPARγ, C/EBPα, 및 아디포넥틴 단백질 발현을 억제시키는 것을 확인하였다(실시예 4 및 도 3b 참조).

[0053] 본 발명의 용어 "비만(obesity)"은, 대사 장애로 인하여 체내에 지방세포가 증식 분화하고 이로 인하여 지방이 과잉으로 축적된 상태를 의미하며, 고혈압, 당뇨, 및 이상지질혈증 등을 동반하는 대사 증후군을 포함하는 관련 합병증을 유발할 수 있다. 에너지 흡수량이 소비량에 비해 상대적으로 증가하는 경우, 지방세포의 수와 부피가 증가되는 과정을 거쳐 결과적으로 지방조직의 질량이 증가된다.

[0054] 본 발명의 용어 “대사성 질환”은 지질 관련 대사성질환일 수 있으며, 예를 들어 당뇨, 고지혈증, 지방간, 동맥경화, 고혈압, 심혈관 질환 또는 상기 질환들이 동시다발적으로 발생하는 대사증후군으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0055] 본 발명의 조성물 내의 상기 미아베모자반 추출물의 함량은 질환의 증상, 증상의 진행 정도, 환자의 상태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.0001 내지 99.9중량%, 또는 0.001 내지 50중량%일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.

[0056] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 부형제는 예를 들어, 희석제, 결합제, 붕해제, 활택제, 흡착제, 보습제, 필름-코팅 물질, 및 제어방출첨가제로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0057] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 서방형 과립제, 장용과립제, 액제, 점안제, 엘실릭제, 유제, 현탁액제, 주정제, 트로키제, 방향수제, 리모나아데제, 정제, 서방형정제, 장용정제, 설하정, 경질캅셀제, 연질캅셀제, 서방캅셀제, 장용캅셀제, 환제, 틴크제, 연조엑스제, 건조엑스제, 유동엑스제, 주사제, 캡슐제, 관류액, 경고제, 로션제, 파스타제, 분무제, 흡입제, 패취제, 멸균주사용액, 또는 에어로졸 등의 외용제 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 외용제는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0058] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0059] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0060] 본 발명에 따른 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 트로키제의 첨가제로 옥수수전분, 감자전분, 밀전분, 유당, 백당, 포도당, 과당, 디-만니톨, 침강탄산칼슘, 합성규산알루미늄, 인산일수소칼슘, 황산칼슘, 염화나트륨, 탄산수소나트륨, 정제 라놀린, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 알긴산나트륨, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 카올린, 요소, 콜로이드성실리카겔, 히드록시프로필스타치, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 1928, 2208, 2906, 2910, 프로필렌글리콜, 카제인, 젖산칼슘, 프리모젤 등 부형제; 젤라틴, 아라비아고무, 에탄올, 한천가루, 초산프탈산셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 포도당, 정제수, 카제인나트륨, 글리세린, 스테아린산, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 히드록시셀룰로오스, 히드록시프로필스타치, 히드록시메칠셀룰로오스, 정제쉘락,

전분호, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈 등의 결합제가 사용될 수 있으며, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 옥수수전분, 한천가루, 메칠셀룰로오스, 벤토나이트, 히드록시프로필스타치, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 알긴산나트륨, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 구연산칼슘, 라우릴황산나트륨, 무수규산, 1-히드록시프로필셀룰로오스, 덱스트란, 이온교환수지, 초산폴리비닐, 포름알데히드처리 카제인 및 젤라틴, 알긴산, 아밀로오스, 구아르고무(Guar gum), 중조, 폴리비닐피롤리돈, 인산칼슘, 겔화전분, 아라비아고무, 아밀로펙틴, 펙틴, 폴리인산나트륨, 에칠셀룰로오스, 백당, 규산마그네슘알루미늄, 디-소르비톨액, 경질무수규산 등 붕해제; 스테아린산칼슘, 스테아린산마그네슘, 스테아린산, 수소화식물유(Hydrogenated vegetable oil), 탈크, 석송자, 카올린, 바셀린, 스테아린산나트륨, 카카오지, 살리실산나트륨, 살리실산마그네슘, 폴리에칠렌글리콜 4000, 6000, 유동파라핀, 수소첨가대두유(Lubri wax), 스테아린산알루미늄, 스테아린산아연, 라우릴황산나트륨, 산화마그네슘, 마크로골(Macrogol), 합성규산알루미늄, 무수규산, 고급지방산, 고급알코올, 실리콘유, 파라핀유, 폴리에칠렌글리콜지방산에테르, 전분, 염화나트륨, 초산나트륨, 올레인산나트륨, dl-로이신, 경질무수규산 등의 활택제;가 사용될 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 액제의 첨가제로는 물, 묽은 염산, 묽은 황산, 구연산나트륨, 모노스테아린산슈크로스류, 폴리옥시에칠렌소르비톨지방산에스텔류(트윈에스텔), 폴리옥시에칠렌모노알킬에텔류, 라놀린에텔류, 라놀린에스텔류, 초산, 염산, 암모니아수, 탄산암모늄, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 프롤아민, 폴리비닐피롤리돈, 에칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨 등이 사용될 수 있다.

[0062] 본 발명에 따른 시럽제에는 백당의 용액, 다른 당류 혹은 감미제 등이 사용될 수 있으며, 필요에 따라 방향제, 착색제, 보존제, 안정제, 현탁화제, 유화제, 점조제 등이 사용될 수 있다.

[0063] 본 발명에 따른 유제에는 정제수가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 유화제, 보존제, 안정제, 방향제 등이 사용될 수 있다.

[0064] 본 발명에 따른 현탁제에는 아카시아, 트라가칸타, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 미결정셀룰로오스, 알긴산나트륨, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 1828, 2906, 2910 등 현탁화제가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 계면활성제, 보존제, 안정제, 착색제, 방향제가 사용될 수 있다.

[0065] 본 발명에 따른 주사제에는 주사용 증류수, 0.9%염화나트륨주사액, 링겔주사액, 덱스트로스주사액, 덱스트로스+염화나트륨주사액, 피이지(PEG), 락테이티드 링겔주사액, 에탄올, 프로필렌글리콜, 비휘발성유-참기름, 면실유, 낙화생유, 콩기름, 옥수수기름, 올레인산에칠, 미리스트산 이소프로필, 안식향산벤젠과 같은 용제; 안식향산나트륨, 살리실산나트륨, 초산나트륨, 요소, 우레탄, 모노에칠아세트아마이드, 부타졸리딘, 프로필렌글리콜, 트윈류, 니정틴산아미드, 헥사민, 디메칠아세트아마이드와 같은 용해보조제; 약산 및 그 염(초산과 초산나트륨), 약염기 및 그 염(암모니아 및 초산암모니움), 유기화합물, 단백질, 알부민, 펩 톤, 검류와 같은 완충제; 염화나트륨과 같은 등장화제; 중아황산나트륨($NaHSO_3$)이산화탄소가스, 메타중아황산나트륨($Na_2S_2O_3$),아황산나트륨(Na_2SO_3),질소가스(N_2),에칠렌디아민테트라초산과 같은 안정제; 소디움비설파이드 0.1%, 소디움포름알데히드 설폭실레이트, 치오우레아, 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 아세톤소디움비설파이트와 같은 황산화제; 벤질알코올, 클로로부탄올, 염산프로카인, 포도당, 글루콘산칼슘과 같은 무통화제; 시엠시나트륨, 알긴산나트륨, 트윈 80, 모노스테아린산알루미늄과 같은 현탁화제를 포함할 수 있다.

[0066] 본 발명에 따른 좌제에는 카카오지, 라놀린, 위텝솔, 폴리에틸렌글리콜, 글리세로젤라틴, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 스테아린산과 올레인산의 혼합물, 수바날(Subanal), 면실유, 낙화생유, 야자유, 카카오버터+콜레스테롤, 레시틴, 라네트왁스, 모노스테아린산글리세롤, 트윈 또는 스판, 임하우젠(Imhausen), 모놀렌(모노스테아린산프로필렌글리콜), 글리세린, 아뎁스솔리두스(Adeps solidus), 부티룸 태고-G(Buytyrum Tego-G), 세베스파마 16 (Cebes Pharma 16), 헥사라이드베이스 95, 코토마(Cotomar), 히드록코테 SP, S-70-XXA, S-70-XX75(S-70-XX95), 히드록코테(Hydrokote) 25, 히드록코테 711, 이드로포스탈 (Idropostal), 마사에스트라리움(Massa estrarium, A, AS, B, C, D, E, I, T), 마사-MF, 마수폴, 마수폴-15, 네오수포스탈-엔, 파라마운드-B, 수포시로(OSI, OSIX, A, B, C, D, H, L), 좌제기제 IV 타입 (AB, B, A, BC, BBG, E, BGF, C, D, 299), 수포스탈 (N, Es), 웨코비 (W, R, S, M ,Fs), 테제스터 트리글리세라이드 기제 (TG-95, MA, 57)와 같은 기제가 사용될 수 있다.

[0067] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같

은 윤활제들도 사용된다.

[0068] 경구 투여를 위한 액상제제로는 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, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0069] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0070] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 본 발명이 속하는 기술분야에 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0071] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간(경막내) 주사, 설하 투여, 볼점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다.

[0072] 본 발명의 약학적 조성물은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.

[0073] 본 발명에서 “개체”란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0074] 본 발명에서 “투여”란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0075] 본 발명에서 “예방”이란 목적하는 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, “개선”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0077] 아울러, 본 발명은 미아베모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물을 제공한다.

[0078] 또한, 미아베모자반 추출물은 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 또는 개선을 목적으로 식품에 첨가될 수 있다.

[0079] 본 발명에 있어서 식품은 기능성 식품 및 건강기능성 식품을 포함한다.

[0080] 본 발명의 미아베모자반 추출물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 미아베모자반 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 미아베모자반 추출물은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 또는 10 중량% 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0081] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0082] 본 발명에 따른 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 덱스트린 및 시클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL당 일반적으로 약 0.01-0.20g, 또는 약 0.04-0.10g 이다.

[0083] 상기 외에 본 발명의 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 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01-0.20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0085] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0087] **실험예 1. 추출물의 준비**

[0088] 본 발명에서 사용된 미아베모자반(*Sargassum Miyabei*)은 조선대학교 해양갈조식물자원 은행에서 분양 받았다(자원고유번호:MBRB0038TC9306E1, 분양 제공자:조태오). 20%의 미아베모자반 추출물 분말을 80% 에탄올에 20mg/mL의 최종 농도로 용해시킨 다음, 0.2㎛ 사이즈 기공의 시린지 필터를 통해 용액을 여과하였다. 이어서, 제조된 SME(Sargassum Miyabei Extract)를 실험 전까지 -20 ℃에서 저장하였다.

[0090] **실험예 2. Chemicals**

[0091] 둘베코수정이글배지(DMEM), 태아 소 혈청(FBS) 및 신생아 송아지 혈청(BCS)은 Gibco Life Technologies(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. 인슐린, 인도메타신(Indomethacin), 덱사메타손(Dexamethasone), 3-이소부틸-1 메틸 크산틴 및 오일 레드 O 용액은 Sigma-Aldrich(St Louis, MO, USA)에서 구매하였다. 3-(4,5)-디메틸티아조-2-일-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드(MTT)는 Amresco (Solon, OH, USA)에서 구입하였다. 프라이머는 Macrogen(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 항-C/EBPα 항체 및 항-β-액틴 항체는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA) 및 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서 각각 구입하였다. 항-PPARγ 항체 및 항-아디포넥틴 항체는 Abcam(Cambridge, UK)에서 구입하였다.

[0093] **실험예 3. 항산화 분석**

[0094] **3-1. DPPH 어세이**

[0095] SME의 항산화 활성은 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거법으로 측정하였다. SME의 100㎕ 분취량(aliquot)을 에탄올에 용해된 900㎕ DPPH (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA)와 혼합하였다. 샘플을 어두운 곳에서 30분 동안 유지하고, 흡광도 517 nm에서 분광광도법으로 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 다음 공식을 사용하여 계산하였다.

[0096] DPPH (%) = (제어 흡광도 - 시료 흡광도 / 블랭크 흡광도) × 100

[0098] **3-2. ABTS 어세이**

[0099] ABTS 라디칼 용액은 실온(RT)에서 16시간 동안 증류수 10mL 중 7mM ABTS 및 2.45mM과 황산칼륨 수용액을 16시간 동안 반응시켜 제조하였다. 상이한 농도 (0.125, 0.25, 0.5 및 1mg/mL)의 50㎕ 분취량의 샘플을 950㎕의 ABTS 용액과 혼합하고 30분 동안 어두운 곳에서 반응시켰다. 흡광도 734 nm에서 분광광도법으로 측정하였다. ABTS 라

디칼 소거 활성은 다음 공식을 사용하여 계산하였다.

[0100] ABTS 소거능 (%) = (제어 흡광도 - 시료 흡광도 / 컨트롤 흡광도) × 100

[0102] **실험예 4. 세포 배양**

[0103] Murine 3T3-L1 지방 전구 세포는 한국 세포주 은행(KCLB)에서 구입하였다. 3T3-L1 지방 전구 세포는 10% BCS 및 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 DMEM에서 37℃의 5% CO_2 인큐베이터로 보관하였다.

[0105] **실험예 5. 지방 세포 분화 및 약물 처리**

[0106] 성숙한 지방세포로의 분화는 100% 컨플루언스(confluence)에 도달한 후 2일 동안 3T3-L1 지방 전구 세포를 배양함으로써 개시되었고, 배양 배지를 0.5mM 3-이소부틸-1-메틸크산틴(IBMX), 0.25μM 덱사메타손(DEX), 167nM 인슐린, 100μM 인도메타신 및 10% FBS이 보충된 DMEM으로 2일간 변경함으로써 유도되었다. 2일 후, 배지를 8일 동안 10% FBS 및 10㎍/mL 인슐린을 함유하는 DMEM으로 변경하고, 2일마다 변경해주었다. 이어서, SME를 0.2μM 기공 크기 시린지 필터를 통해 여과시켜 분화 배지에 용해시켰다. 분화 과정 동안 3T3-L1 세포를 SME 100 또는 200㎍/mL의 농도로 2일마다 처리하였다.

[0108] **실험예 6. 세포 생존율 분석**

[0109] 3T3-L1 지방 전구 세포를 웰당 5 x 10^4 세포 밀도로 96-웰 플레이트에 시딩 하였다. 24시간 동안 배양한 후, 세포를 48시간 동안 100 또는 200㎍/mL의 농도의 SME로 처리하였다. MTT(3-(4,5)-디메틸티아조-2-일-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드) 용액을 각 웰에 첨가하고 3시간 동안 인큐베이션 하였다. 반응 생성물을 이소프로필알코올(Duksan Pure Chemicals, Korea)에 1시간 동안 용해시켰다. 반응의 흡광도는 595 nm에서 측정되었다.

[0111] **실험예 7. 오일 레드 O 염색**

[0112] 3T3-L1 지방 전구 세포를 SME(100 또는 200㎍/mL)의 존재 또는 부재 하에 분화하도록 유도하였다. 3T3-L1 지방 전구 세포 및 분화된 지방 세포를 인산 완충 식염수(PBS)로 세척하고, 1시간 동안 4% 포름알데히드로 고정시킨 뒤 여과된 0.3% 오일 레드 O 용액(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)으로 15분간 상온에서 염색하였다. 이어서, 염색된 세포를 증류수로 3회 세척하고 400X 배율의 현미경을 사용하여 사진을 찍었다. 이소프로필알코올에 용해된 오일 레드 O로 세포를 염색하고 흡광도 450nm에서의 지질 축적량을 정량 하였다.

[0114] **실험예 8. 트리글리세라이드(TG) 분석**

[0115] 트리글리세라이드 함량은 비색/형광 분석 키트(Biovision, Milpitas, CA, USA)로 측정하였다. 3T3-L1 지방 전구 세포를 분화 배지 및 SME(100 및 200㎍/mL)를 갖는 6-웰 플레이트에 최대 8 일 동안 시딩하였다. 분화 후, 세포를 5% NP-40 용해 완충액에 용해시키고, 리파아제 효소를 사용하여 트리글리세라이드를 지방산 및 글리세롤로 전환시켰다. 방출된 글리세롤의 흡광도는 570 nm에서 측정되었다.

[0117] **실험예 9. 실시간 역전사 폴리머라제 연쇄 반응(RT-PCR)**

[0118] SME(100 또는 200㎍/mL)로 3T3-L1 세포를 분화한 후, 트리졸(Trizol) 시약을 사용하여 지방 세포로부터 총 RNA를 추출하였다. cDNA 라이브러리는 PrimeScript™ RT 시약 키트(TaKaRa Bio)로 합성하였다. mRNA 발현 수준은 SYBR Green(TOYOBO, Japan)을 사용하여 iCycler iQTM Real-Time PCR Detection System(Bio-Rad Laboratories, USA)에 의해 구현된 cDNA의 분석에 의해 정량화되었다.

[0119] PCR 반응의 조건은 다음과 같다 : 95℃에서 10분 동안 변성(denaturation), 이어서 95℃에서 15초 동안 어닐링(annealing) 및 60℃에서 10분 동안 연장(extension)을 수행하였다. mRNA 발현 수준을 β-액틴으로 표준화하고

상대 유전자 발현을 mRNA 발현 수준의 배수 변화로 표현하였다. 실험에 사용된 PCR 프라이머의 서열은 표 1에 기재된 바와 같다.

표 1

[0120]

Gene Name	Accession No.	Forward Primer	Reverse Primer
PPARγ	AB644275.1	GGAAGACCACTCGCATTCCTT	GTAATCAGCAACCATTGGGTCA
C/EBPα	NM_001287523.1	CAAGAACAGCAACGAGTACCG	GTCACTGGTCAACTCCAGCAC
Adiponectin	NM_009605.4	GATGGCACTCCTGGAGAGAA	CGTGCGTGACATCAAAGAGAA
β-actin	NM_007393.4	CGTGCGTGACATCAAAGAGAA	GCTCGTTGCCAATAGTGATGA

[0122] **실험예 10. 웨스턴 블롯 분석**

[0123] 3T3-L1 지방 전구 세포를 SME(100 및 200㎍/mL)의 부재 또는 존재 하에서 분화시킨 후, 세포를 포스파타제 억제제 및 프로테아제 억제제를 함유하는 방사선 면역 침전 분석(RIPA) 용해 완충액으로 용해시켰다. 총 단백질(30㎍) 함량을 전기 영동을 통해 10% SDS-폴리아크릴아미드 겔에서 분리하고 니트로셀룰로스 막으로 옮겼다. 막을 1시간 동안 PBS 중의 5% 탈지유로 차단하고, 관련 1차 항체와 함께 4℃에서 밤새 인큐베이션한 후, 막을 TBS-T 완충액으로 5회 세척하였다. 이어서 막을 HRP-접합된 이차 항체와 함께 1시간 동안 인큐베이션하고 다시 TBS-T 완충액으로 5 회 세척하였다. 단백질 밴드를 ECL을 사용하여 가시화하고 퓨전 솔로 검출기(Vilber Lourmat, Marne La Vallee, France)에서 검출하였다. 단백질의 총량은 Image-J 소프트웨어를 사용하여 단백질 밴드를 평가하고 β-액틴에 대하여 표준화함으로써 평가되었다.

[0125] **실험예 11. 통계 분석**

[0126] 통계 분석 데이터는 평균±SEM 및 SD로 표시되고 일원 분산 분석을 사용하여 분석되었다. 0.01 미만의 p-값은 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다.

[0128] **실시예 1. 항산화 활성**

[0129] ABTS 라디칼 양이온 및 DPPH 라디칼 소거 활성을 평가하여 SME의 항산화 특성을 평가하였다(표 2).

[0130] 그 결과, 표 2에 나타난 바와 같이, ABTS 및 DPPH 소거에 대한 SME의 IC_{50} 값은 각각 0.2868mg/mL 및 0.2941mg/mL였다. 이러한 결과는 SME가 ABTS 및 DPPH 소거 활성에서 강력한 항산화 활성을 나타냈다는 것을 시사한다.

표 2

[0131]

		IC_{50} (mg/ml)
ABTS assay	Ascorbic acid (standard)	0.0622 ± 0.002
	SME	0.2868 ± 0.011
DPPH assay	Ascorbic acid (standard)	0.0678 ± 0.003
	SME	0.2941 ± 0.014

[0133] **실시예 2. 3T3-L1 지방 전구 세포 생존율 확인**

[0134] 3T3-L1 세포에 대한 SME의 효과를 평가하기 전, 적절한 실험 농도를 결정하기 위해 SME가 3T3-L1 지방 전구 세포에 세포 독성을 나타내는지 여부를 조사했다.

[0135] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, SME가 200㎍/mL의 농도에서도 지방 전구 세포에 세포 독성이 나타나지 않음을 확인하였다.

[0137] **실시예 3. 3T3-L1 지방 세포에서 지질 축적 및 트리글리세라이드 조성에 대한 효과 확인**

[0138] 세포 내 지질 축적 및 트리글리세라이드 함량을 측정함으로써 지방 생성에 대한 SME의 효과를 조사 하였다. 성숙한 지방 세포는 지방 세포에서 발견되지 않는 지질 방울의 존재를 특징으로한다.

[0139] 그 결과, 도 2a 및 2b 에 나타난 바와 같이, SME는 용량 의존적으로 지방 세포 분화 및 세포 내 지질 축적을 유의하게 억제하였다.

[0140] 또한, 도 2c에 나타난 바와 같이, SME는 대조군 세포와 비교하여 세포 내 트리글리세라이드 함량을 유의하게 감소시켰다.

[0141] 즉, SME가 세포 내 지질 축적을 감소시키며, 강력한 지방생성 억제 효과를 발휘할 수 있음을 나타낸다.

[0143] **실시예 4. 3T3-L1 세포 분화 동안 지방 생성 관련 유전자 발현 확인**

[0144] 세가지 adipogenesis 관련 유전자인 PPARγ, C/EBPα 및 adiponectin의 발현 수준을 검사하여 지방 세포 분화에서 SME의 지방생성 억제 특성에 기초한 분자 메커니즘을 조사하였다.

[0145] 그 결과, 도 3a에 나타난 바와 같이, SME 처리시 PPARγ, C/EBPα 및 아디포넥틴의 mRNA 발현이 현저하게 감소하였다.

[0146] 또한, 도 3b에 나타난 바와 같이, PPARγ, C/EBPα 및 아디포넥틴의 단백질 발현 수준 또한 mRNA 발현 패턴과 마찬가지로 용량-의존적 방식으로 감소되었다.

[0147] 이러한 결과는 SME가 PPARγ 신호 전달 경로의 하향 조절을 통해 3T3-L1 세포에서 지방 생성을 억제함을 나타낸다.

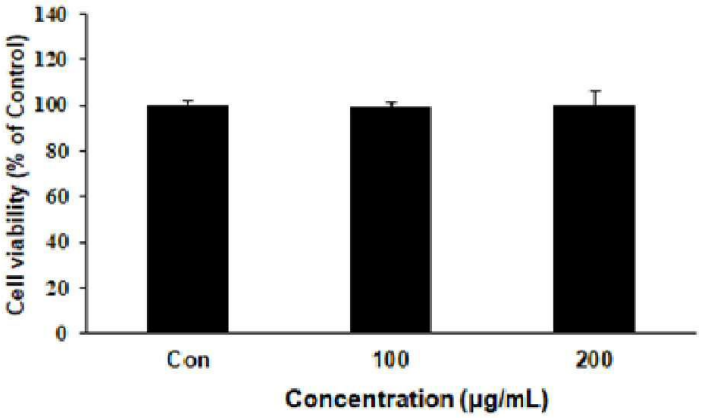
[0149] 이상의 실시예를 종합하여, 본 발명자들은 *Sargassum miyabei* 추출물이 세포 독성 없이 지방 전구 세포 분화를 효과적으로 억제하고, 지방세포 내 지질 축적을 감소시킬 뿐만 아니라, 지방 세포 형성 및 분화에 관여하는 전사인자 또는 아디포넥틴의 발현을 억제함을 확인하였고, 이러한 결과는 *Sargassum miyabei* 추출물을 비만의 예

방, 치료, 또는 개선을 위한 약제 및 건강기능식품과 이들의 개발을 위한 물질에 이용할 수 있음을 보여준다.

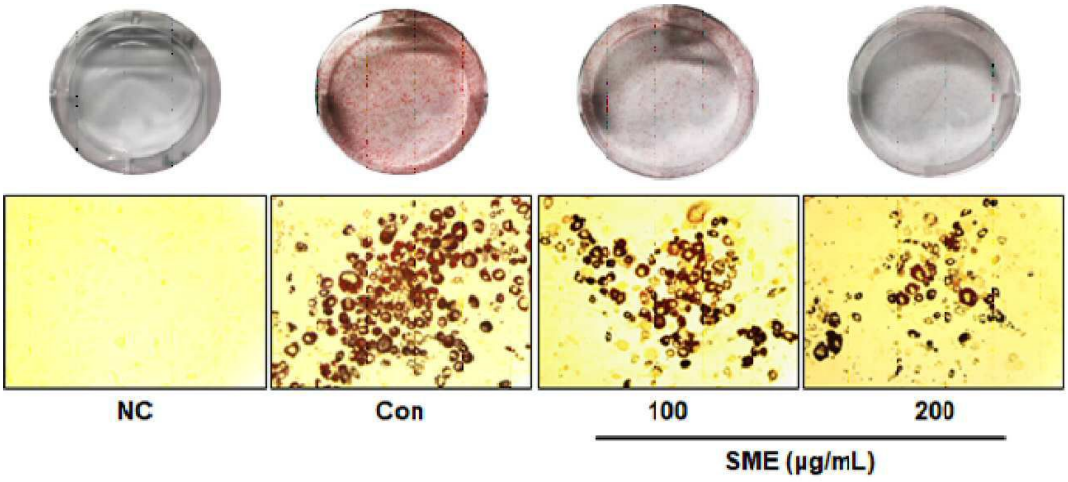
[0151] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

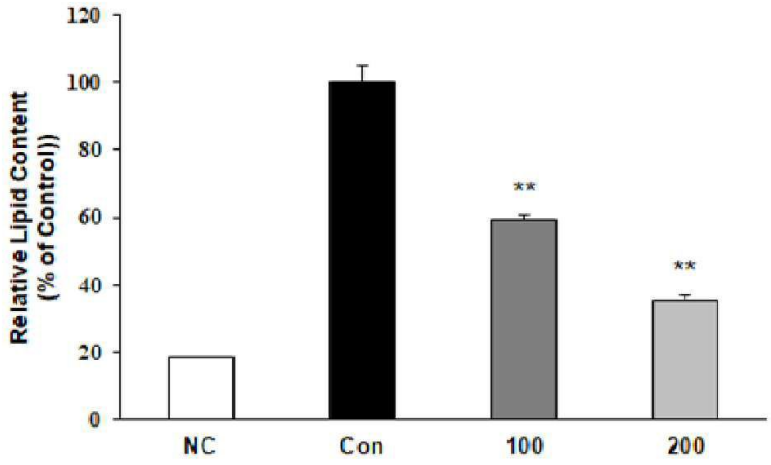
도면1



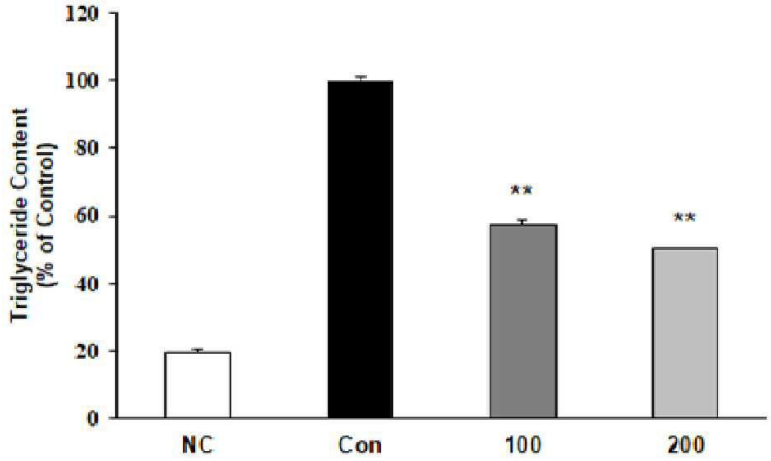
도면2a



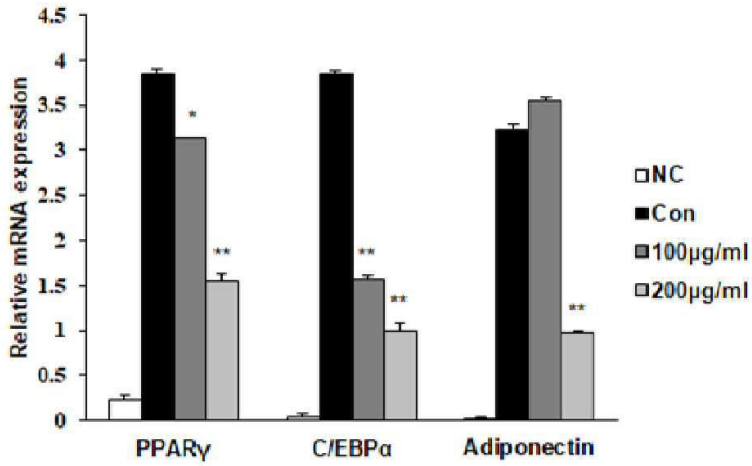
도면2b



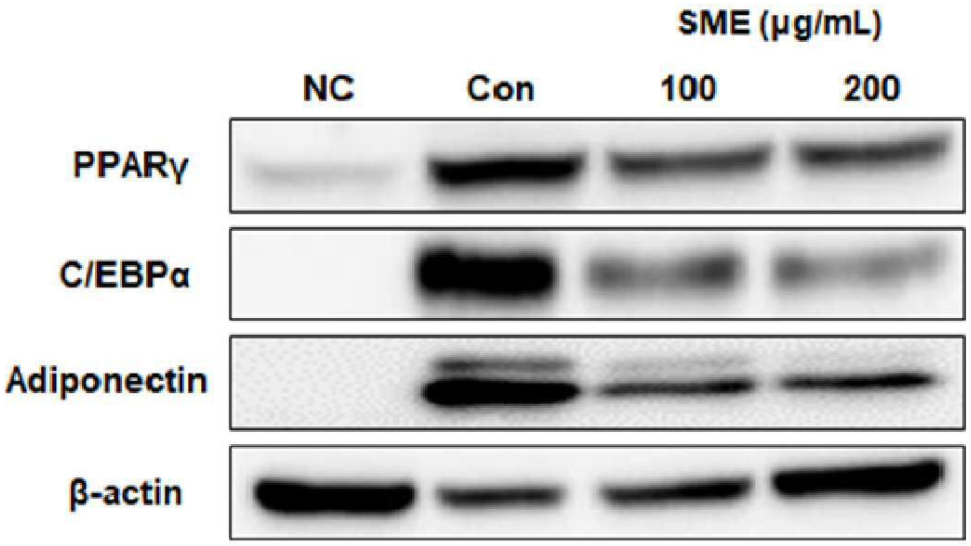
도면2c



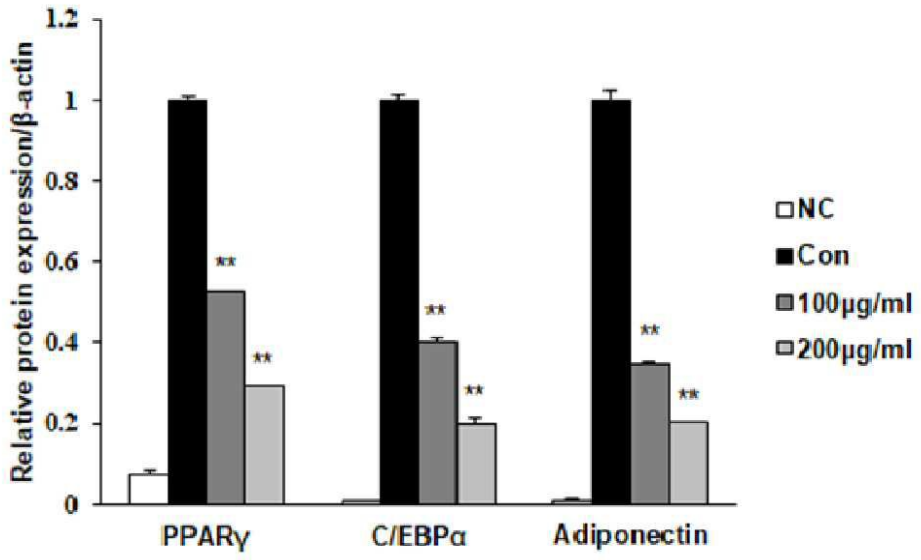
도면3a



도면3b



도면3c



서 열 목 록

<110> Kyungpook National University Industry-Academic Cooperation Foundation

Industry-Academic Cooperation Foundation, Chosun University

<120> Pharmaceutical Composition comprising Sargassum miyabei extract

as active ingredient for Preventing or Treating obesity

<130> MP20-079

<160> 8

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PPARgamma_F

<400> 1

ggaagaccac tcgcattcct t 21

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PPARgamma_R

<400> 2

gtaatcagca accattgggt ca 22

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> C/EBPalpha_F

<400> 3

caagaacagc aacgagtacc g 21

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> C/EBPalpha_R

<400> 4

gtcactggtc aactccagca c 21

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Adiponectin_F

<400> 5

gatggcactc ctggagagaa 20

<210> 6

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Adiponectin_R

<400> 6

cgtgcgtgac atcaaagaga a 21

<210> 7

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> beta-actin_F

<400> 7

cgtgcgtgac atcaaagaga a 21

<210> 8

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> beta-actin_R

<400> 8

gctcgttgcc aatagtgatg a 21