

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

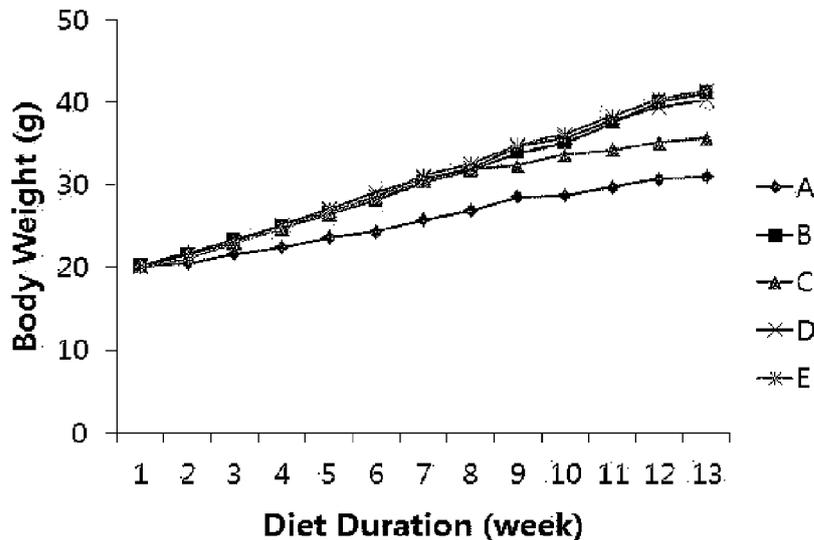
(43) 국제공개일
2018년 5월 24일 (24.05.2018) WIPO | PCT

WO 2018/093238 A2

- (51) 국제특허분류: 미분류
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2017/013297
- (22) 국제출원일: 2017년 11월 21일 (21.11.2017)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2016-0154978 2016년 11월 21일 (21.11.2016) KR
- (71) 출원인: 한국식품연구원 (KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE) [KR/KR]; 55365 전라북도 완주군 이서면 농생명로 245, Jeollabuk-do (KR).
- (72) 발명자: 이명기 (LEE, Myung Ki); 16937 경기도 용인시 수지구 상현로 67-12, 131동 801호 (상현동, 상현마을 금호베스트빌 4단지), Gyeonggi-do (KR). 임상동 (LIM, Sang Dong); 18105 경기도 오산시 양산로 422, 106동 604호 (양산동, 오산세마 효성백년가약), Gyeonggi-do (KR). 이성훈 (YI, Sung Hun); 34076 대전시 유성구 지족로 362, 305동 302호 (지족동, 반석마을아파트3단지), Daejeon (KR). 조용선 (CHO, Yong Sun); 03335 서울시 은평구 연서로17길 31, 2-2 (갈현동), Seoul (KR). 남영도 (NAM, Young Do); 13462 경기도 성남시 분당구 산운로 98, 504동 1802호 (운중동, 산운마을8단지아파트), Gyeonggi-do (KR). 배진주 (BAE, Jin Ju); 34195 대전시 유성구 동서대로 725, 1205동 2203호 (원신흥동, 어울림하트), Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 남앤드남 (NAM & NAM WORLD PATENT & LAW FIRM); 04515 서울시 중구 서소문로 117, 3층 (서소문동, 대한항공빌딩), 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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: COMPOSITION COMPRISING AS ACTIVE INGREDIENT STRAIN HAVING EXCELLENT ABILITY TO PRODUCE FORMIC ACID FOR PREVENTING OR TREATING OBESITY OR METABOLIC SYNDROMES CAUSED BY OBESITY

(54) 발명의 명칭: 포름산 생성능이 우수한 균주를 유효성분으로 포함하는 비만 또는 비만으로 야기된 대사증후군의 예방 또는 치료용 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a composition comprising as an active ingredient a strain having excellent ability to produce formic acid for preventing or treating obesity or metabolic syndromes caused by obesity; and to a food composition and a health functional food each comprising the active ingredient. The strain having excellent ability to produce formic acid according to the present invention not only has effects of reducing body weight and inhibiting fat accumulation in organs, but also has activity to effectively lower blood triglyceride and cholesterol levels, and therefore, the composition comprising the strain as an active ingredient can be favorably used as a composition capable of preventing/alleviating or treating obesity or metabolic syndromes caused by obesity. Therefore, the strain having excellent ability to produce formic acid according to the present invention can be favorably used as a material for a medical product or health food.



WO 2018/093238 A2

SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도로 공개함 (규칙 48.2(g))
- 명세서와 별도로 규칙 13의2에 의하여 제출한 기탁된 생물학적 물질에 관한 표시와 함께 (규칙 13의2.4(d)(i) 및 48.2(a)(viii))

(57) 요약서: 본 발명은 포름산 생성능이 우수한 균주를 유효성분으로 포함하는 비만 또는 비만으로 야기된 대사증후군의 예방 또는 치료용 조성물; 상기 유효성분을 포함하는 식품 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명에 따른 포름산 생성능이 우수한 균주는 체중 감소 및 장기의 지방 축적 억제 효과를 가질 뿐 아니라, 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 수치를 효과적으로 낮추는 활성을 갖는바, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 비만 또는 비만으로부터 야기되는 대사증후군을 예방/개선하거나 치료할 수 있는 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다. 따라서 본 발명에 따른 포름산 생성능이 우수한 균주는 의약품 또는 건강식품 소재로서 유용하게 사용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 포름산 생성능이 우수한 균주를 유효성분으로 포함하는 비만 또는 비만으로 야기된 대사증후군의 예방 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 포름산 생성능이 우수한 균주를 유효성분으로 포함하는 비만 또는 비만으로 야기된 대사증후군의 예방 또는 치료용 조성물; 상기 유효성분을 포함하는 식품 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 최근 경제발전에 따른 생활수준의 향상으로 인하여 위생환경이 개선되고 잦은 인스턴트 음식물 섭취와 육식위주의 식생활 변화 등은 과다한 열량의 섭취를 유발한다. 그러나 이러한 현대인의 식생활의 변화는 턱없이 부족한 운동부족 등으로 인하여 소모열량이 적기 때문에 빠른 비만인구의 증가경향을 보이고 있다. 비만은 단순히 외형상의 문제뿐만 아니라 비만이 지속됨으로써 여러 가지 질환, 즉, 고혈압, 당뇨, 고지혈증, 관상동맥질환 등과 같은 성인성 질병을 비롯하여 유방암, 자궁암 및 대장암 등을 야기하는 것으로 보고되면서 이제는 치명적인 질병 중 하나로 취급되고 있다[J. Biol. Chem., 273, 32487 ~ 32490 (1998); Nature, 404, 652 ~ 660 (2000)].
- [3] 비만은 1980년 이후 전 세계적으로 약 75%가 증가하였으며, 미국의 경우 인구의 33% 및 26%가 각각 과체중 및 비만으로 보고되고 있다(Ahn IS, Park KY, Do MS. 2007. Weight control mechanisms and antiobesity functional agents. J Korean Soc Food Sci Nutr 36: 503-513.). 우리나라에서도 비만인구가 꾸준히 증가하고 있으며, 2007년 국민건강영양조사 결과 비만 인구가 1998년 26.3%에서 2005년 31.7%로 급증하고 있다.
- [4] 이러한 비만은 에너지의 섭취와 소비가 불균형을 이루어 초래되는 것으로, 여분의 에너지는 지방세포의 형태로 전환되어 체내에 저장되어진다. 축적된 지방세포에서 분비되는 유리지방산과 사이토카인 등은 인슐린 저항성을 유발하고, 염증반응을 증가시켜 대사증후군, 당뇨병, 심장혈관질환 그리고 암 등의 만성질환 발병의 직접적인 원인이 되고 있다. 이러한 비만을 치료하기 위해서는 운동, 식이요법을 통한 식생활습관의 개선, 약물요법, 수술을 통한 치료법이 소개되고 있으며, 이중 비만을 억제하는 항비만 약품의 개발은 미국에서 100여종 이상의 치료약이 판매되고 있거나 개발 중에 있으며, 시장 규모가 점점 커질 것으로 전망되고 있다.
- [5] 현재 비만을 치료하는 치료제로는 크게 중추 신경계에 작용하여 식욕에 영향을 주는 약제와 위장관에 작용하여 흡수를 저해하는 약물로 나누어 볼 수 있다. 중추 신경계에 작용하는 약물로는 각각의 기전에 따라 세로토닌 (5HT) 신경계를

저해하는 펜플루라민, 텍스펜플루라민 등의 약물, 노르아드레날린 신경계를 통한 에페드린 및 카페인 등의 약물 및 최근에는 세로토닌 및 노르아드레날린 신경계에 동시 작용하여 비만을 저해하는 시부트라민(Sibutramine) 등의 약물들이 시판되고 있다. 이외에도, 위장관에 작용하여 비만을 저해하는 약물로는 대표적으로 췌장에서 생성되는 리파제를 저해하여 지방의 흡수를 줄여줌으로써 최근 비만 치료제로 허가된 오를리스타트 등이 있다.

- [6] 그러나 기존에 사용되어온 약물 중 펜플루라민 등은 원발성 폐고혈압이나 심장 판막병변과 같은 부작용을 일으켜 최근에 사용이 금지되었으며, 시부트라민은 혈압을 높이는 부작용이 있으며, 오를리스타트(Orlistat)는 소화기장애, 지방변, 배변 실금, 지용성 비타민 흡수 방해 등의 부작용이 보고되고 있다. 또한, 다른 화학합성 약물들도 혈압감소나 유산산혈증 등의 문제점이 발생하여 심부전, 신질환 등의 환자에는 사용하지 못하는 문제점이 있다.
- [7] 따라서 부작용이 작으며 보다 나은 비만 치료 및 예방법을 찾기 위하여 최근에는 천연 유래의 화합물 등 체지방의 축적을 억제하는 작용을 하는 천연소재의 비만치료제 또는 항비만 건강기능식품에 대한 관심이 증가하고 있는 실정이다.
- [8] 한편, 대사증후군(Metabolic Syndrome)은 고중성지방혈증, 고혈압, 당대사 이상, 혈액응고 이상 및 비만과 같은 위험인자가 함께 나타나는 증후군을 지칭한다. 그 증상 자체는 치명적이진 않지만 당뇨병이나 허혈성 심혈관계 질환과 같은 심각한 질병으로 발전할 소인이 있기 때문에 현대인을 가장 크게 위협하는 질환이 되고 있다.
- [9] 대사 증후군 원인 및 치료와 관련되어 알려진 인자들을 보면 운동, 식이습관, 체중, 혈당, 중성지방, 콜레스테롤, 인슐린저항성, 아디포넥틴(adiponectin), 렙틴(leptin), AMPK 활성화, 에스트로겐과 같은 성호르몬, 유전적 인자, malonyl-CoA 생체내 농도 등이 직간접적으로 관여한다.
- [10] 이러한 대사성 증후군의 증상 개선을 위한 최선의 방법은 운동, 식이제한 그리고 체중 감량인 것으로 알려지고 있다. 이러한 방법이 대사성증후군에 효과를 발휘하는 공통분모는 에너지 대사를 촉진시켜 체내에 있는 잉여의 에너지를 최대한 소비하여 축적되지 않도록 하는 것이다. 가공식품 및 패스트 푸드와 같은 고열량의 에너지 섭취에 비하여 운동부족으로 인해 잉여에너지가 지방으로 축적되면서 대사성질환을 비롯한 다양한 질병의 원인이 된다. 이러한 잉여의 에너지를 효과적으로 제거하는 방법이 대사성질환치료의 방법이 될 것으로 판단된다. 잉여의 에너지를 효과적으로 제거하기 위해서는 대사의 활성을 높이는 것이 필수적인 것으로 판단되며, 이를 위해서는 지방합성억제, 당신생억제, 당소비촉진, 지방산화촉진, 에너지 대사의 핵심인 미토콘드리아의 생성 촉진 및 활성화에 관여하는 인자들을 활성화 시키는 것이 필수적일 것으로 판단된다.
- [11] 이에 본 발명자들은 생체에 부작용이 없으면서 항비만 활성이 우수한 물질을

찾고자 모색하던 중, 한국인 50대를 대상으로 정상군과 비만군의 분변에서 차이를 보이는 다양한 유기산을 분석하였으며, 그 결과 비만군 대비 정상군에서 포름산이 다른 유기산 대비 두드러지게 높은 것을 확인하였다. 또한, 본 발명자들은 유기산을 생산하는 다양한 균주를 대상으로 하여 우수한 포름산 생산능을 보이는 균주를 선별하였고, 최종 선별된 3종의 균주를 비만 동물모델에 경구 투여한 실험군에서 체중 감소 및 장기의 지방 축적 억제 효과를 가질 뿐 아니라, 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 수치를 효과적으로 낮추는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [12] 따라서 본 발명의 목적은 체내 지방 축적을 억제하고, 혈중 지방 및 콜레스테롤 수치를 효과적으로 낮출 수 있는 대사증후군의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.
- [13] 본 발명의 다른 목적은, 체내 지방 축적을 억제하고, 혈중 지방 및 콜레스테롤 수치를 효과적으로 낮출 수 있는 대사증후군의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [14] 본 발명의 또 다른 목적은, 체내 지방 축적을 억제하고, 혈중 지방 및 콜레스테롤 수치를 효과적으로 낮출 수 있는 대사증후군의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [15] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서,
- [16] 본 발명은 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [17] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 엔테로코커스 패시움 KR127(기탁번호: KCTC 13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(기탁번호: KCTC 13137BP) 및 엔테로코커스 패칼리스 TN3(기탁번호: KCTC 13136BP)로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [18] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 대사증후군은 비만, 당뇨, 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 간질환, 뇌졸중, 심근경색, 허혈성 질환 및 심혈관 질환으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [19] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 조성물 총 중량에 대하여 $10^7 \sim 10^{12}$ cfu/g의 함량으로 포함될 수 있다.
- [20] 또한, 본 발명은 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [21] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 엔테로코커스 패시움

KR127(기탁번호: KCTC 13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(기탁번호: KCTC 13137BP) 및 엔테로코커스 패칼리스 TN3(기탁번호: KCTC 13136BP)로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.

- [22] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 대사증후군은 비만, 당뇨, 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 간질환, 뇌졸중, 심근경색, 허혈성 질환 및 심혈관 질환으로 이루어진 균에서 선택될 수 있다.
- [23] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 조성물 총 중량에 대하여 $10^7 \sim 10^{12}$ cfu/g의 함량으로 포함될 수 있다.
- [24] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 체중 지방을 감소시키고, 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 수치를 감소시킬 수 있다.
- [25] 또한, 본 발명은 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

- [26] 본 발명에 따른 포름산 생성능이 우수한 균주는 체중 감소 및 장기의 지방 축적 억제 효과를 가질 뿐 아니라, 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 수치를 효과적으로 낮추는 활성을 갖는바, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 비만 또는 비만으로 부터 야기되는 대사증후군을 예방/개선하거나 치료할 수 있는 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다. 따라서 본 발명에 따른 포름산 생성능이 우수한 균주는 의약품 또는 건강식품 소재로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [27] 도 1은 고지방식이로 비만이 유도된 실험동물에 다양한 균주 급여에 따른 사육기간별 체중변화를 측정하여 그래프로 나타낸 것이다 (A: 일반식이군, B: 고지방식이군, C: 고지방식이+엔테로코커스 패시움 KR127 급여군, D: 고지방식이+페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654 급여군, E: 고지방식이+엔테로코커스 패칼리스 TN3 급여군).
- [28] 도 2는 고지방식이로 비만이 유도된 실험동물에 다양한 균주 급여에 따른 부고환 지방조직 세포의 크기를 측정한 사진이다 (A: 일반식이군, B: 고지방식이군, C: 고지방식이+엔테로코커스 패시움 KR127 급여군, D: 고지방식이+페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654 급여군, E: 고지방식이+엔테로코커스 패칼리스 TN3 급여군).

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [29] 이하, 본 발명에서 사용한 용어를 설명한다.
- [30] 본 발명에서 사용되는 용어 "배양물"이란 미생물을 공지의 액체 배지 또는 고체 배지에서 배양시켜 수득한 산물을 의미하여, 미생물이 포함되는 개념이다.
- [31] 본 발명에서 "약제학적으로 허용가능한"이란 생물체를 상당히 자극하지 않고 투여활성 물질의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 것을 의미한다.

- [32] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 특정 질환(예를 들어, 비만 또는 대사증후군)의 증상을 억제시키거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [33] 본 발명에서 사용되는 용어 "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 특정 질환(예를 들어, 비만 또는 대사증후군)의 증상을 호전 또는 이롭게 변경시키는 모든 행위를 의미한다.
- [34] 본 발명에서 사용되는 용어 "개선"은 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [35] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다. 이때, 개체는 본 발명의 조성물을 투여하여 특정 질환의 증상이 호전될 수 있는 질환을 가진 인간, 원숭이, 개, 염소, 돼지 또는 쥐 등 모든 동물을 의미한다.
- [36] 본 발명에서 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜 또는 위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 이는 개체의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [37] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [38] 본 발명은 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공함에 그 특징이 있다.
- [39] 본 명세서에서 언급하는 "포름산(formic acid)"은 개미산, 의산, hydrogen carboxylic acid라고도 한다. 화학식 HCOOH . 분자량은 46.0으로 카르복시산류 중에서 가장 작으며, 끓는점 100.5°C , 녹는점 8.4°C . 비중 1.220이다. 이러한 포름산은 천연에서도 존재하고 합성으로도 얻어지는 유동성의 무색 액체로서 공기에 노출되면 약간 발연되며 자극취와 부식성이 있다. 염색·탄닌·라텍스의 응고·방부제로서 의약품 또는 유기합성에 사용된다.
- [40] 본 발명에 따른 상기 포름산(formic acid)은 염, 바람직하게는 약제학적으로 허용 가능한 염(formate)의 형태일 수 있다.
- [41] 본 발명의 하기 실시예에서는 비만 유도 동물모델에 포름산 생성능이 우수한 균주의 경구투여에 따른 체중감소 효과, 장기조직에 지방 축적 억제 효과, 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 농도를 낮추는 효과를 확인하였으며, 이와 더불어 포름산 생성능이 우수한 균주를 경구투여한 군에서 부고환 지방세포의 크기가 작게 나타나는 것을 최초로 확인하였다.
- [42] 따라서 본 발명은 포름산 생성능을 갖는 균주를 유효성분으로 포함하는 비만 또는 대사증후군의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [43] 본 발명에서 상기 "대사증후군"은 비만으로부터 야기되는 대사성 질환이나 기타 다른 원인에 의해 야기되는 대사성 질환일 수 있으며, 대사증후군의

예시로는 비만, 당뇨, 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 간질환, 뇌졸중, 심근경색, 허혈성 질환 및 심혈관 질환으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [44] 본 발명에서 상기 "비만"은 단순 비만, 증후성 비만, 소아비만, 성인비만, 세포 증식형 비만, 세포 비대형 비만, 상체 비만, 하체 비만, 내장지방형 비만 및 피하지방형 비만을 포함하나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [45] 본 발명의 일실시예에 있어서, 본 발명의 포름산 생성능을 갖는 균주는 엔테로코커스 패시움 KR127(기탁번호: KCTC 13135BP), 페디오코커스 펜토사세우스 NKR654(기탁번호: KCTC 13137BP) 및 엔테로코커스 페칼리스 TN3(기탁번호: KCTC 13136BP)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 균주일 수 있다.
- [46] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 율활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [47] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [48] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 율활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다. 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 율활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라

바람직하게 제제화 할 수 있다.

[49] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명의 포름산 생성능을 갖는 균주는 조성물 총 중량에 대하여 $10^7 \sim 10^{12}$ cfu/g의 함량으로 포함될 수 있다.

[50]

[51] 또한, 본 발명은 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[52] 본 발명에서 상기 '대사증후군'은 비만으로부터 야기되는 대사성 질환이나 기타 다른 원인에 의해 야기되는 대사성 질환일 수 있으며, 대사증후군의 예시로는 비만, 당뇨, 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 간질환, 뇌졸중, 심근경색, 허혈성 질환 및 심혈관 질환으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[53] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 포름산 생성능을 갖는 균주는 엔테로코커스 패시움 KR127(기탁번호: KCTC 13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(기탁번호: KCTC 13137BP) 및 엔테로코커스 패칼리스 TN3(기탁번호: KCTC 13136BP)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 균주일 수 있다.

[54] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 상기 포름산 생성능을 갖는 균주는 프로바이오틱 유산균으로 사용되거나, 다양한 유제품 및 기타 발효 제품에 사용 가능하고, 동물사료 첨가제로서도 사용 가능하다.

[55] 상기 식품 조성물은 식품, 건강기능식품(nutraceutical), 보충제(supplement), 생균제 또는 공생제(symbiotic)이다.

[56] 본 발명에서 "식품 조성물"이라는 용어는, 그를 섭취하는 대상체에 제공되는 영양소에 관계없이, 그 생물의 하나 이상의 기능에 유리하게 작용하여 보다 나은 건강 상태를 제공하는 식품을 의미한다. 결과적으로, 상기 식품 조성물은 질병 또는 질병-유발 인자의 예방, 개선 또는 치료를 위해 사용될 수 있다.

[57] 따라서 본 발명의 "식품 조성물"이라는 용어는 기능성 식품 또는 특정 영양 목적을 위한 식품 또는 의약 식품의 동의어로서 사용될 수 있다. 본 명세서에서 '생균제'라는 용어는 적합한 양으로 공급되는 경우, 숙주 생물의 건강에 유익한 살아있는 미생물을 의미한다. 본 명세서에서, '공생제'라는 용어는 프리바이오틱(prebiotic) 및 생균제의 혼합물을 함유하는 식품들을 의미한다.

[58] 본 발명의 식품 조성물은 본 발명의 포름산 생성능을 갖는 균주 이외에 락토바실루스 살리바리우스(*Lactobacillus salivarius*), 락토바실루스 브레비스(*Lactobacillus brevis*), 락토바실루스 헬베티쿠스(*Lactobacillus helveticus*), 락토바실루스 퍼멘툼(*Lactobacillus fermentum*), 락토바실루스 파라카세이(*Lactobacillus paracasei*), 락토바실루스 카세이(*Lactobacillus casei*), 락토바실루스 델브루에키(*Lactobacillus delbrueckii*), 락토바실루스 레우테리(*Lactobacillus reuteri*), 락토바실루스 부츠네리(*Lactobacillus buchneri*), 락토바실루스 가세리(*Lactobacillus gasei*)

Lactobacillus gasseri), 락토바실루스 존스니(*Lactobacillus johansonii*), 락토바실루스 케피르(*Lactobacillus kefir*), 락토코쿠스 락티스(*Lactococcus lactis*), 비피도박테리움 비피둠(*Bifidobacterium bifidum*), 비피도박테리움 인판티스(*Bifidobacterium infantis*), 비피도박테리움 수도롱굼(*Bifidobacterium pseudolongum*), 비피도박테리움 써모필룸(*Bifidobacterium thermophilum*), 비피도박테리움 아돌센티스(*Bifidobacterium adolescentis*)로 구성되는 군에서 선택되는 1종 이상의 프로바이오틱 유산균을 추가로 포함할 수 있다.

- [59] 본 발명의 포름산 생성능을 갖는 균주는 유산균의 배양에 통상 이용되는 배지를 사용하여 통상 사용되는 조건 하에서 배양함으로써 증식하여 회수할 수 있다. 배양 후 얻어지는 배양물을 그대로 사용해도 되고 나아가 필요에 따라 원심분리 등에 의한 조(粗)정제 및/또는 여과 등에 의한 고액분리나 멸균조작을 행해도 된다. 바람직하게는 원심분리를 행하여 유산균의 균체만을 회수한다. 아울러 본 발명에서 사용하는 유산균은 습윤 균체여도 되고 또는 건조 균체여도 된다. 예컨대, 동결건조에 의해 생균제 형태로 제조하여 이용될 수 있다.
- [60] 본 발명의 조성물은 유효성분(포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물) 이외에 통상적인 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 추가로 포함할 수 있으며, 이 외에도 바인더, 분해제, 코팅제, 윤활제 등과 같은 제약학적으로 통상적으로 사용되는 다양한 첨가제와 제형화되어 조제될 수 있다.
- [61] 본 발명의 일실시예에 있어서, 본 발명의 포름산 생성능을 갖는 균주는 식품 조성물 총 중량에 대하여 $10^7 \sim 10^{12}$ cfu/g의 함량으로 포함될 수 있다.
- [62] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [63] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제(타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [64] 또한, 본 발명의 식품 조성물은 상기 기재한 유효성분(포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물) 이외에 추가로 식품학적으로 허용 가능하거나 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 식품 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [65] 상기 식품 조성물의 제제 형태는 정제, 캡슐제, 분말, 과립, 액상, 환, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 또는 점적제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한,

원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다. 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

- [66] 상기와 같은 방식으로 제제화된 본 발명의 식품 조성물은 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가될 수 있다.
- [67] 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초콜렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.
- [68] 또한, 상기 식품 조성물은 유효성분(포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물) 이외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [69] 본 발명의 유효성분인 포름산 생성능을 갖는 균주는 식품유래균이지만 장내에서 흔히 발견되는 종으로서 체중감소 효과, 장기조직에 지방 축적 억제 효과, 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 농도를 낮추는 효과가 우수하며, 화학약품과 같은 부작용이 거의 없이 항비만 또는 대사증후군 개선 등과 같은 기능성 부여를 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다.
- [70]
- [71] 본 발명은 또한, 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [72] 본 발명의 일실시예에 있어서, 본 발명의 포름산 생성능을 갖는 균주는 엔테로코커스 패시움 KR127(기탁번호: KCTC 13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(기탁번호: KCTC 13137BP) 및 엔테로코커스 페칼리스

TN3(기탁번호: KCTC 13136BP)로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상의 균주일 수 있다.

- [73] 본 발명의 건강기능식품은 대사증후군의 예방 또는 개선용을 목적으로, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.
- [74] 본 발명에서 ‘건강기능식품’이라 함은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [75] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [76] 상기 ‘식품 첨가물 공전’에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다.
- [77] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분(포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물)을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다.
- [78] 캡슐 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분(포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물)을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 상기 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [79] 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분(포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물)과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.
- [80] 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분(포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물)과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [81] 상기 건강기능식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타

면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.

[82]

[83] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

발명의 실시를 위한 형태

[84] <실시예>

[85] 통계처리

[86] 비만군과 정상대조군의 분변 유기산의 통계분석은 SPSS system(statistical Package For Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package (version 12.0)을 이용하여 $p < 0.05$ 수준으로 T-test로 시료간의 유의차를 검정하였다. 체중, 장기무게, 혈액의 통계 분석은 SPSS system(statistical Package For Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package (version 12.0)을 이용하여 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 시료간의 유의차를 검정하였다.

[87]

[88] <실시예 1>

[89] 정상대조군과 비만군의 분변수집 및 유기산 분석

[90] 본 연구에서 사용된 50대 남성 정상대조군($n=33$)과 비만군($n=44$)의 분변은 IRB 심의(서울 성모병원 IRB 획득: KC14TISI0325)를 거쳐 가톨릭대학교 서울성모병원(Seocho, Korea)에서 획득한 시료이다. 분변의 유기산 분석은 서울대학교 농생명과학 공동기기원(NICEM, Korea)에 의뢰하여 진행하였다. 유기산분석을 위하여 시료는 3차 증류수에 10배 희석하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 0.22 μm membrane filter를 이용하여 여과하여 HPLC(Ultimate3000, Dionex, USA) 분석의 시료로 사용하였다. 이때 사용한 HPLC의 컬럼은 Aminex 87H column(300 X 7.8 mm)를 사용하였으며 온도는 40°C로 유지하고 이동상은 0.01 N H_2SO_4 를 이용하여 0.5 ml/min로 흘려보내고 시료의 1회 주입량은 10 μl 이었으며 detector는 RI (Shodex RI-101, Japan), UV(210 nm)를 사용하여 30분간 분석하였다.

[91]

그 결과 하기 표 1에서 나타낸 바와 같이, 정상인과 비만인에게서 공통적으로 검출된 유기산은 포름산(Formic acid), 아세트산(Acetic acid), 부티르산(Butyric acid)으로 나타났다. 포름산(Formic acid)의 경우 비만군에 비해서 정상 대조군이 0.22 mMol로 2.4배 높았으며 유의적으로 차이가 있는 것으로 나타났다. 아세트산(Acetic acid)과 부티르산(Butyric acid)의 경우 정상대조군이 비만군에 비해 각각 0.9배, 0.8배인 것으로 나타났다.

[92]

한편, 이러한 함량 차이는 비만과 연관성이 많은 당뇨, 고혈압, 고지혈증 질환자를 포함하여 분석한 결과이므로 이들 질환자를 제외하여 다시

분석하였다.

- [93] 그 결과, 하기 표 2에서 나타낸 바와 같이, 포름산(Formic acid)의 경우 정상군이 비만군에 비해 약 6.8배 높아 0.27mMol로 나타났으며 유의적으로 차이가 있는 것으로 나타났다. 이에 반해, 아세트산(Acetic acid)과 부티르산(Butyric acid)의 경우 정상대조군이 비만군에 비해 각각 0.82배, 0.66배인 것으로 나타났지만 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 프로피온산(Propionic acid)은 각각 검출되지 않았다.

[94]

[95] [표 1]

[96] 비만군과 정상대조군의 분변유기산 평균값 비교

[97]

샘플	유기산의 함량(mMol)			
	포름산 (Formic acid)	프로피온산 (Lactic acid)	아세트산 (Acetic acid)	부티르산 (Butyric acid)
정상대조군 [N=33]	0.22±2.29 ^{1)A,B)}	ND ³⁾	8.72±3.76 ^{A)}	2.17±1.49 ^{A)}
비만군 [N=44]	0.09±0.14 ^{B)}	ND	9.98±2.69 ^{A)}	2.88±1.89 ^{A)}

¹⁾Each value represents the mean±S.D. for groups.
²⁾Means followed by the same letter in the column are not significantly different (p<0.05)
³⁾ND: not detected

[98]

[99] [표 2]

[100] 질환자(당뇨, 고혈압, 고지혈증의 셋 중 하나)를 제외시킨 비만군과 정상대조군의 분변 유기산 평균값 비교

[101]

샘플	유기산의 함량(mMol)			
	포름산 (Formic acid)	프로피온산 (Lactic acid)	아세트산 (Acetic acid)	부티르산 (Butyric acid)
정상대조군 [N=23]	0.27±0.31 ^{1)A,B)}	ND ³⁾	8.72±3.73 ^{A)}	2.30±1.59 ^{A)}
비만군 [N=21]	0.04±0.09 ^{B)}	ND	10.60±2.58 ^{A)}	3.46±2.42 ^{A)}

¹⁾Each value represents the mean±S.D. for groups.
²⁾Means followed by the same letter in the column are not significantly different (p<0.05)
³⁾ND: not detected

[102]

[103] 상기와 같은 결과를 통해, 분변에서 검출된 유기산 중 포름산(Formic acid)만이 정상대조군이 비만군보다 유의적으로 높은 것을 확인하였으며, 포름산(Formic acid)이 장내 환경에서 항비만효과가 있는 것으로 사료되었다.

[104] 참고로, 상기와 같은 본 발명의 결과는 한국인 50대 남성의 분변을 이용하여 도출된 결과라는 점에서 의미가 있다. 왜냐하면, 종래 진행된 비만 관련 연구들은 한국인 맞춤형이 아닌 다른 인종이나 민족을 대상으로 연구가

수행되었으며, 비만 대상을 연구하는 나이에 있어서도 성인을 대상으로 하지 않은 경우(비만의 대상을 유아나 청소년기를 대상으로 한 경우) 성인 비만에 최적화된 결과를 도출할 수 없기 때문이다. 인체 생리도 사춘기와 갱년기에 많은 차이를 갖지만 분변의 균총도 아이와 성인의 균총이 차이가 많다는 것은 잘 알려져 있고, 거기에 따른 분변의 대사물도 차이가 있는 것은 자명한 사실에 해당한다.

[105] 따라서 한국인 성인 비만에 최적화된 연구 수행을 위해, 본 발명자는 한국인 성인 50대 남자를 대상으로 하여 분변수집 및 유기산 분석을 통한 정상 성인과의 차이점을 확인함으로써 한국인 성인 비만과 직접적인 연관성을 갖는 인자를 최초로 발굴하였다는 점에서 의미 있는 결과를 갖는다.

[106]

[107] 본 발명자는 실제 포름산이 항비만 효과를 가지는지를 확인하기 위하여 포름산염(formate)을 고지방식이로 비만이 유도된 동물모델에 경구 투여하였으며, 그 결과 고지방식이 대조군 대비 포름산염을 경구 투여한 실험군에서 체중증가가 억제되며; 신장 지방 무게 수치가 낮아지고; 혈중 중성지방 및 콜레스테롤의 함량이 유의적으로 감소하며; 지방세포 크기가 작아지는 것을 객관적인 실험을 통해 확인하였으며, 이러한 내용에 대해서는 본 발명과는 별도로 특허출원을 진행한 상태이다.

[108]

[109] 또한, 본 발명자는 상기와 같은 결과에 기반하여, 실제 포름산을 많이 생성하는 균주를 생균제로 하여 섭취시킨 경우 항비만 효과를 나타내는지 확인하기 위하여, 하기 실험에서는 포름산을 다량 생산하는 신규한 균주를 총 3종을 선발하였으며, 이들을 생균제로서 이용하여 비만 동물모델에 급여에 따른 항비만 효과를 확인하고자 동물실험을 진행하였다.

[110]

[111] <실시예 2>

[112] 실험 균주의 준비 및 선발

[113] 포름산염(Formate) 생성 우수균을 선별하기 위하여 본 실험실에 보관중인 장내미생물 및 식품 유래균 30종이 배양된 broth를 흡광광도계를 이용하여 660nm에서 absorbance값을 측정하였다. 측정값 약 1.4에서 배양액 1mL을 원심분리기를 이용하여 원심분리 (7000rpm, 1분) 한 후에 상등액을 취하여 nylon syringe filter 0.22 μ m로 여과하여 유기산 분석을 수행하였다.

[114] 하기 표 3에서는 균주 30종이 각각 생산하는 유기산(Lactic acid, Propionic acid, Acetic acid, Formic acid)의 생성량을 비교하였다.

[115]

[116] [표 3]

[117] 균주 30종의 유기산 생성량 비교 (mMol)

[118]

균주명	부티르산	프로피온산	아세트산	포름산
<i>Enterococcus faecalis</i> TN3	ND ¹⁾	ND	10.73	2.16
<i>Pediococcus pentosaceus</i> NKR654	ND	1.02	13.3	2.41
<i>Enterococcus faecium</i> KR127	ND	3.11	17.28	6.72
<i>Bifidobacterium Bifidum</i> KFRI743	ND	ND	18.12	ND
<i>Bacteroides fragilis</i> KCTC3688	ND	ND	18.96	ND
<i>Weissella halotolerans</i> KCTC3595	ND	ND	15.48	ND
<i>Lactobacillus bifermantans</i> KFRI1030	ND	2.3	14.25	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> U12	ND	6.29	18.03	ND
<i>Bacillus thuringiensis</i> KFRI550	ND	4.47	8.64	ND
<i>Weissella parameseenteroides</i> KCTC3531	ND	ND	10.23	ND
<i>Bacillus coagulans</i> M46	ND	1.6	7.12	0.96
<i>Leuconostoc kimchi</i> KCCM41287	ND	2.89	6.03	ND
<i>Lactobacillus paracasei</i> KFRI818	ND	2.68	8.7	ND
<i>Weissella hellenica</i> KCTC3668	ND	1.61	7.22	ND
<i>Bacteroides uniformis</i> KCTC5204	ND	0.74	13.62	ND
<i>Leuconostoc paramesenteroides</i> KLA	ND	ND	8.79	ND
<i>Lactobacillus fermentum</i> KFRI657	ND	ND	8.18	ND
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC3652	ND	ND	8.43	ND
<i>Weissella kimchi</i> KCCM41287	ND	0.71	8.8	ND
<i>Pediococcus dextranicum</i> WP3	ND	2.61	16.04	ND
<i>Weissella koreensis</i> D2-332	ND	2.44	11.57	ND
<i>Lactobacillus acidophilus</i> KFRI340	ND	0.39	5.23	ND
<i>Leuconostoc fallax</i> GS2-1	ND	ND	7.62	ND
<i>Staphylococcus warneri</i> IO2-10	ND	6.45	18.63	ND
<i>Escherichia coli</i> SKD4008	ND	ND	17.03	ND
<i>Enterococcus solitarius</i> KCTC3553	ND	1.96	11.02	0.93
<i>Weissella viridescens</i> KFRI184	ND	ND	14.01	ND
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> AT7	ND	1.88	6.11	ND
<i>Eubacterium multiforme</i> KCTC15004	ND	ND	16.48	0.76
<i>Bacillus aerophilus</i> IM1-17	ND	6.25	16.33	ND

¹⁾ND: not detected

[119]

[120]

그 결과 상기에서 나타낸 바와 같이, 엔테로코커스 패칼리스 TN3(*Enterococcus faecalis* TN3)는 포름산을 2.16mmol 생산하고, 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(*Pediococcus pentosaceus* NKR654)는 포름산을 2.41 mmol 생산하며, 엔테로코커스 패시움 KR127(*Enterococcus faecium* KR127)은 포름산을 6.72mmol 생산하는 것으로 조사되었다. 한편, 이를 제외한 27종의 균주들의 경우 포름산이 검출되지 않거나 극히 소량 검출되었다.

[121]

참고로, 상기 포름산염(Formate)의 생성이 우세한 3종의 균주들은 본 발명자가 전통 식자재(누룩, 김치, 건락)에서 순수분리한 다음 마크로젠(Macrogen Inc.)에 의뢰하여 16S rDNA region Sequencing Analysis를 통해 동정한 신규한 균주로서, 본 발명에서는 상기와 같이 각각 '엔테로코커스 패칼리스 TN3', '페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654', '엔테로코커스 패시움 KR127'로 명명하였다.

[122]

마크로젠에서 사용한 16S rDNA 영역 서열 분석 방법은 간략하게는 다음과

같다. 즉, 균주 게놈 DNA 시료를 InstaGenetm Matrix(BIO-RAD.)를 이용하여 추출한 후, 프라이머로 27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3' 및 1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'를 사용하여 PCR을 진행하였다. PCR 반응은 주형 가닥으로 genomic DNA 20ng을 EF-Taq(SolGent, Korea) 30 μ l 반응 혼합물에서 수행하였다(반응 조건: activation of Taq polymerase at 95°C for 2minutes, 35 cycles of 95°C for 1minutes, 55°C, and 72°C for 1minutes each were performed, finishing with a 10-minute step at 72°C). 증폭된 산물은 멀티스크린 필터 플레이트(Millipore Corp., Bedford, MA, USA)를 이용하여 정제하였다. 시퀀싱 반응은 PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit를 이용하여 수행하였다. 연장 산물(extension products)을 포함하는 DNA 시료에 Hi-Diformamide (Applied Biosystems, Foster City, CA)를 첨가하였다. 상기 혼합물은 95°C에서 5분 동안 반응시키고, 5분간 얼음 상태에서 반응시킨 다음, ABI Prism 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 분석하였다.

[123] 또한, 상기 선별된 포름산염(Formate)의 생성이 우세한 3종의 균주들은 2016년 10월 18일자로 KCTC(생물자원센터)에 기탁하여, 기탁번호를 각각 KCTC 13135BP, KCTC 13136BP, KCTC 13137BP를 부여받았다.

[124] 상기 포름산염(Formate) 생성이 우세한 균주 3종을 하기 동물실험에 사용하였다.

[125]

[126] <실시예 3>

[127] 비만 동물모델 준비

[128]

[129] <3-1> 실험동물 및 식이

[130] 본 실험에서는 5주령의 C57BL/6J 마우스를 (주)새론바이오 (Uiwang, Korea)으로부터 구입하여 1주간 적응시킨 뒤 실험에 사용하였다. 실험 기간 중에 사육실 온도는 20 \pm 2°C, 습도는 55 \pm 10%, 명암은 12시간 주기로 조절하였다. 실험 동물은 1주간의 정상 식이 후에 난피법에 의거하여 5개의 군으로 분리하였다. 실험군은 A군 (정상식이군; n=10), B군 (고지방 식이 대조군; n=10), C군 (고지방 식이+ *Enterococcus faecium* (10⁹ CFU/g/day); n=8), D군 (고지방 식이+ *Pediococcus pentosaceus* (10⁹ CFU/g/day); n=8), E군 (고지방 식이+ *Enterococcus faecalis* (10⁹ CFU/g/day); n=9)으로 구분하였다.

[131]

[132] <3-2> 실험동물의 처치

[133] 물과 사료는 자유로이 섭취시켰으며, A군과 B군에는 생리식염수를, 나머지 군은 각각의 균 희석액을 하루에 한번씩 경구투여 하였다 (2 μ g/g bodyweight). 시험군은 고지방식이로 13주간 비만을 유도하였고, 실험에 사용된 고지방식은 미국 Research diet社로부터 구입한 high fat diet (D12492; 60% of the

calories)을 사용하였다. 본 연구에서의 모든 동물실험은 한국식품연구원 실험동물운영위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)의 승인(KFRI-M-16043(263)) 하에 수행하였다.

[134]

[135] <실시예 4>

[136] 실험동물의 체중과 장기 무게 측정 및 혈액 분석

[137] 실험기간 동안 실험동물의 체중은 주 1회 일정한 시간에 측정하였다. 실험동물을 희생 전 12시간 동안 절식시키고 ether로 마취시킨 동물의 안구에서 혈액을 채취하였다. 채혈한 다음 응고되는 것을 방지하기 위하여 응고방지 tube에 담아 ice bath에 20분 방치 하였다. 채혈시료는 3000rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고 실험에 사용하기 전까지 냉장보관 한 후, 영동제약(yong-in, Korea) 에서 효소법에 의한 키트를 구매하여 혈중지질(Triglyceride, Cholesterol, HDL- Cholesterol, LDL- Cholesterol)을 측정하였다. 장기는 적출하여 생리식염수로 세척한 후 여과지로 수분을 제거하고 칭량하였다.

[138]

[139] <4-1> 체중변화

[140] 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(KCTC13137BP), 엔테로코커스 패칼리스 TN3(KCTC13136BP)의 균체를 생리식염수에 희석하여 고지방식이로 비만이 유도된 실험동물(C57BL/6J mice)에게 13주간 경구투여 하였다. 사육기간 중 쥐의 체중은 주 1회 측정하였으며, 그에 따른 체중변화를 측정하였다.

[141] 그 결과 도 1에서 나타낸 바와 같이, 사육 13주 후 일반식이 대조군인 A군의 평균 무게는 31.00g, 고지방식이 대조군인 B군의 평균 무게는 41.09g, 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP)(10^9 CFU/g/day) 균주를 경구 투여한 C군은 35.67g, 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(KCTC13137BP)(10^9 CFU/g/day) 균주를 경구 투여한 D군은 40.33g, 엔테로코커스 패칼리스 TN3(KCTC13136BP)(10^9 CFU/g/day) 균주를 경구 투여한 E군은 41.38g으로 측정되었다. 결과적으로, C군은 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 13.19% 낮은 값을 나타내었다. D군과 E군은 고지방식이 대조군과 비슷한 값을 나타내었으며 유의적인 차이가 없었다.

[142] 본 실험을 통해 포름산염(Formate)을 많이 생성하는 균주 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP)가 체중 증가 억제 및 항비만 효과가 가장 효과적인 것으로 사료되었다.

[143]

[144] <4-2> 장기 무게에 미치는 영향

[145] 고지방식이 급여는 흰쥐의 간과 부고환지방의 무게를 현저히 증가시킨다 (Handjieva-Daelenska T, Boyajieva N. 2009). 장기간의 고지방식이 섭취는 지방을

혈액으로 유입시켜 간에 지방의 축적을 유도하고, 고지방식은 당대사에 불균형을 초래하고 이로 인해 포도당의 유입이 증가하여 간에 이상이 생기게 된다 (Buettner R et al. 2006, Gregoire FM. 2002). 부고환 지방은 체내 잉여 에너지를 지방으로 저장된 백색지방이며, 쥐에서 내장비만의 주요한 지표로서 혈중 지질 함량 등 대사적 변화를 초래한다 (Avram AS et al 2005, Handgieva-Daelenska T et al. 2007). 각 대조군과 실험군의 신장 지방, 부고환 지방, 피하 지방, 갈색 지방, 전립선, 간, 비장은 채혈 후 즉시 적출하여 생리식염수에 행군 후 표면의 수분을 제거하여 중량을 측정하였고, 그 결과는 하기 표 4에 나타내었다.

- [146] 신장 지방 무게의 경우 고지방식이 대조군($0.84 \pm 0.12g$)이 일반식이 대조군($0.43 \pm 0.14g$)보다 유의적으로 높았으며, C군, E군, F군이 각각 $0.69g$, $0.74g$, $0.82g$ 으로 고지방식이 대조군에 비해 C군만 유의적으로($p < 0.05$) 낮게 나타났으며, D군과 E군은 유의적인 차이는 없었지만 낮은 값을 나타내었다. 이는 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP) 균주 급여가 신장지방 축적을 억제해 주었을 것으로 사료되었다.
- [147] 부고환지방 무게의 경우 다른 지방보다 식이에 따른 영향이 큰 것으로 나타났다. 또한 균주 처리군 (C,D,E군) 모두 고지방식이 대조군(B군)에 비해 낮은 값을 나타내었으며, C군은 18.4%, D군은 15.2%, E군은 4% 낮은 값을 나타내었으며 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP)은 유의적으로 낮은 값을 나타내었다.
- [148] 피하지방 무게 역시 식이에 따른 영향이 큰 것으로 나타났고, C군은 $1.32g$, D군은 $1.58g$, E군은 $1.74g$ 으로 고지방식이 대조군에 비해 C군은 16.46% 낮은 값을 나타내었으며 유의적 차이는 없었으며, D군과 E군 역시 유의적인 차이는 없었다. 신장지방과 부고환지방에서 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP) 균주의 급여가 지방 축적을 억제해 주었을 것으로 사료되었다.
- [149] 갈색지방의 경우 균주 처리군 (C,D,E군) 모두 고지방식이 대조군(B군)에 비해 22.22% 높은 값을 나타내었지만 유의적 차이는 없었으며, 식이에 따른 영향이 적은 장기로 여겨졌다.
- [150] 전립선의 경우 일반식이 대조군과 고지방식이 대조군이 약 1.9배 차이가 났으며 식이에 영향을 많이 받는 조직으로 나타났다. 전립선의 무게에서 C군이 고지방식이 대조군에 비해 높은 무게를 나타냈지만 유의적인 차이는 없었다.
- [151] 간 무게와 비장 무게 역시 군별로 유의적인 차이가 없었다. 쥐에서 내장비만의 주요한 지표로 여겨지는 부고환 지방의 무게 결과에서 포름산염(Formate)을 많이 생성하는 균주 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP)의 투여가 체중 감소 및 항비만에 효과가 있는 것으로 사료되었다.

[152]

[153] [표 4]

[154] 각 그룹별 마우스의 장기무게 (Unit:g)

[155]

그룹	신장지 방	부고환 지방	피하지 방	갈색지 방	전립선	간	비장	폐
A ¹⁾ (n=10)	0.43±0.142 ^C	1.12±0.24 ^C	0.65±0.16 ^B	0.09±0.03 ^A	0.10±0.04 ^B	0.93±0.12 ^A	0.06±0.01 ^A	15.45±0.41 ^A
B (n=10)	0.84±0.12 ^A	2.50±0.48 ^A	1.58±0.39 ^A	0.09±0.03 ^A	0.19±0.07 ^A	0.96±0.12 ^A	0.07±0.01 ^A	15.21±0.35 ^A
C (n=9)	0.69±0.06 ^B	2.04±0.41 ^B	1.32±0.21 ^A	0.11±0.02 ^A	0.23±0.04 ^A	0.92±0.10 ^A	0.07±0.01 ^A	15.35±0.36 ^A
D (n=9)	0.74±0.16 ^{AB}	2.12±0.52 ^{AB}	1.58±0.65 ^A	0.11±0.03 ^A	0.21±0.06 ^A	1.02±0.32 ^A	0.06±0.01 ^A	15.31±0.27 ^A
E (n=8)	0.82±0.11 ^A	2.40±0.43 ^{AB}	1.74±0.47 ^A	0.11±0.04 ^A	0.21±0.04 ^A	0.96±0.23 ^A	0.06±0.01 ^A	15.22±0.26 ^A

¹⁾A: normal diet group. B: high fat diet group. C: high fat diet group with *Enterococcus faecium* KR127. D: high fat diet group with *Pediococcus pentosaceus* NKR654 E: high fat diet group with *Enterococcus faecalis* TN3

²⁾Each value represents the mean±S.D. for groups.

³⁾Means followed by the same letter in the column are not significantly different (p<0.05)

[156]

[157] <4-3> 혈액 분석

[158] 비만에서는 지방대사와 당대사의 이상으로 인하여 이상지혈증이 흔히 동반된다. Lee 등과 Jang과 Choi는 고지방식이에 의해 비만이 유도된 흰 쥐에서 혈중 중성지방과 콜레스테롤은 증가하고 HDL-콜레스테롤이 감소하였다고 보고하였다.

[159] 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(KCTC13137BP) 및 엔테로코커스 패칼리스 TN3(KCTC13136BP) 균주 각각의 투여가 혈청 지질 농도에 미치는 영향은 하기 표 5에서 나타내었다.

[160] 혈청의 중성지방(TG)의 농도는 정상식이군(A)의 경우 86.64±4.21 mg/dL 이었고, 이에 비해 고지방식이 대조군(B)은 130.10±7.69 mg/dL으로 정상식이군에 비해 높게 나타났다. 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP) 투여군(C)은 98.89±7.14mg/dL 으로 고지방식이 대조군에 비해 23.99% 낮은 값을 나타내었고, 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(KCTC13137BP) 투여군(D)은 148.33±8.35 mg/dL, 엔테로코커스 패칼리스 TN3(KCTC13136BP) 투여군(E)은 145.45±4.96 mg/dL 의 값을 나타내었다. 이와 같은 결과는 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP)의 투여가 혈중 중성지방의 농도 감소에 영향을 미친 것으로 사료되었다.

[161] 콜레스테롤의 함량은 정상식이군(A)에 비해 고지방식이 급여 대조군에서 61.2% 증가하였으며, 균주 투여 시 고지방식이 급여 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 고지방식이 대조군에 비해 엔테로코커스 패시움

KR127(KCTC13135BP) 투여군인 C군은 36.8%, D군은 29.67%, E군 37.64% 낮은 값을 나타내었다.

[162] HDL-cholesterol은 항동맥경화의 지표로서 콜레스테롤을 말초혈관에서 간으로 수송하여 동맥경화를 진행시키지 않는 방향으로 콜레스테롤을 운반하여 관상성 심장질환에 대한 방어 작용을 지니고 있다. 본 실험에서의 HDL-cholesterol의 농도는 고지방식이(B) 군에 비해 군주 투여 군이 유의적으로 낮은 값을 나타내었다.

[163] LDL-cholesterol은 혈중 콜레스테롤의 주된 운반형이며 동맥 혈관벽에 콜레스테롤을 축적시켜 동맥경화를 촉진시키므로 혈장 LDL-cholesterol 농도와 심장 순환기계 질환의 발생과는 밀접한 상관관계가 있다. LDL-cholesterol 함량은 정상식이군(A)에 비해 고지방식이 대조군(B)이 23.62% 높게 나타났고, 군주 투여 군 중 D군이 고지방식이 대조군보다 낮은 값을 나타내었다.

[164]

[165] [표 5]

[166] 각 그룹별 마우스의 혈청 지질 농도 (Unit: mg/dL)

[167]

그룹	콜레스테롤	중성지방	HDL	LDL
A ¹⁾	77.29±9.69 ^c	86.64±4.21 ^d	52.73±1.19 ^b	22.27±0.39 ^c
B	124.59±9.45 ^a	130.10±7.69 ^a	61.09±1.36 ^a	27.53±1.69 ^b
C	78.80±2.94 ^c	98.89±7.12 ^c	44.11±3.53 ^c	31.32±1.04 ^a
D	87.62±3.24 ^b	148.33±8.35 ^b	41.03±0.89 ^d	23.73±1.25 ^c
E	77.69±3.25 ^c	145.45±4.96 ^b	41.29±0.72 ^d	29.83±1.03 ^a

¹⁾A: normal diet group, B: high fat diet group, C: high fat diet group with *Enterococcus faecium* KR127, D: high fat diet group with *Pediococcus pentosaceus* NKR654 E: high fat diet group with *Enterococcus faecalis* TN3

²⁾Each value represents the mean±S.D. for groups.

³⁾Means followed by the same letter in the column are not significantly different (p<0.05)

[168]

[169] 이상의 결과에서 지질 중 특히 성인병의 원인물질로 작용하는 중성지방과 총 콜레스테롤의 함량은 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP) 투여에 의해 감소한 것으로 보아 항비만 및 지방식이 섭취로 인한 심혈관 질환의 예방에 유효할 것으로 사료되었다.

[170]

[171] <실시예 5>

[172] 부고환 지방조직 세포의 크기 측정

[173] 부고환 지방세포의 크기를 측정하기 위해 Hirsch 와 Gallian (Hirsch, J. and Gallian, E. 1968. Methods for the determination of adipose cell size in man and animals. J. Lipid Res. 9:110-119.)의 방법에 따라 적출된 부고환 지방조직을 10% 포르말린으로 고정한 뒤 250 μ m의 나일론 필터에 통과시켜 섬유 조직과 작은 조직들을 제거한 후 PBS로 세척하여 완전히 제거하였다. 고정된 조직은

동결절편기를 이용하여 18 μm 으로 절편 하였으며, H&E (hematoxylin and eosin) 지방 염색방법으로 지방세포를 염색하였다. 염색 후 60% 아이소프로판올을 이용하여 탈색한 뒤 현미경 하에서 디지털 카메라를 이용하여 이미지를 측정하였다. 지방세포의 크기 분석을 위해 Image J Software (National Institute of Health, Maryland, USA)을 이용하여 지방세포의 면적을 측정하였다.

- [174] 참고로, 지방세포 크기의 측정은 항비만 효능을 입증할 수 있는 효과적인 방법으로 알려져 있으며, 고지방식이를 섭취하였을 경우 지방세포의 중성지방 축적을 증가시켜 지방세포의 크기가 증가하게 된다 (Park, S.H., Ko, S. K. and Chung, S. H. 2005. *Euonymus alatus* prevents the hyperglycemia and hyperlipidemia induced by high-fat diet in ICR mice. *J. Ethnopharmacol.* 102:326-335).
- [175] 본 실험을 통해 부고환 지방세포의 크기를 측정한 결과는 도 2에서 나타내었다. 지방세포 평균 면적의 분포를 본 결과 B군이 4600.18 μm^2 로 가장 높게 나타났으며 A군에 비해 55.9% 높게 나타났다. 군주 경구투여 군 중 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(KCTC13137BP)이 지방세포 크기가 가장 작았으며, 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP), 엔테로코커스 패칼리스 TN3(KCTC13136BP) 순으로 크게 나타났다. 군주 투여 군 모두 고지방식이 대조군에 비해 지방세포 크기가 작게 나타난 것으로 보아 군주의 급여가 고지방 식이로 인한 지방세포 축적을 억제해 주었을 것으로 사료되었다. H&E 염색액으로 염색된 지방세포를 현미경으로 관찰해 보았을 때 역시 육안으로도 지방세포의 크기가 차이 나는 것을 알 수 있었다.
- [176] 향후 더 많은 연구가 필요하나 조사한 바와 같이 군주 처리군 중 포름산염(Formate)을 많이 생성하는 군주 엔테로코커스 패시움 KR127(KCTC13135BP)이 항비만 효과 및 고지혈증 개선제로 개발할 수 있는 가능성을 제시한다.

[177]

- [178] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

산업상 이용가능성

- [179] 본 발명에 따른 포름산 생성능이 우수한 군주는 의약품 또는 건강식품 소재로서 유용하게 사용될 수 있다.
- [180]

- [181] [수탁번호]
- [182] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원
- [183] 수탁번호 : KCTC13135BP
- [184] 수탁일자 : 20161018
- [185]
- [186] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원
- [187] 수탁번호 : KCTC13136BP
- [188] 수탁일자 : 20161018
- [189]
- [190] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원
- [191] 수탁번호 : KCTC13137BP
- [192] 수탁일자 : 20161018
- [193]

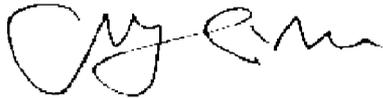
[194]

<p>특히 절차상의 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약</p> <p>국제적인 양식</p> <p>기탁증 원본에 관한 수령증</p> <p>7.1 규칙에 따라 발행함</p>	
<p>받는사람: 이명기 한국식품연구원 대한민국 (13539) 경기도 분당구 안양판교로 1201번길 62</p>	
I. 미생물의 확인	
<p>기탁자에 의한 식별표시: 엔테로코커스 패시움 KR127</p>	<p>국제기탁기관이 부여한 수탁번호 : KCTC 13135BP</p>
II. 과학적 설명 및 /또는 분류학적 표시	
<p>상기 제 I 난의 미생물에는 다음 사항을 기재한 문서가 첨부된다 :</p> <p><input type="checkbox"/> 과학적 설명 <input type="checkbox"/> 제시된 분류학적 표시 (해당하는 곳에 엑스 표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
<p>본 국제 기탁 당국은 상기 제 I 난의 확인된 미생물을 2016년 10월 18일(원기탁일)에 수령하였다.</p>	
IV. 변환 요청 수령	
<p>상기 I 난에서 확인된 미생물은 본 국제 기탁 당국에 수령되었고, 기탁증 원본은 부다페스트 조약상의 기탁증으로 변환하기 위한 요청은 상기 기관에 의해 수령되었다.</p>	
V. 국제공인기탁기관	
<p>명칭 : 생물자원센터</p> <p>주소 : 대한민국 (56212) 전라북도 정읍시 입신길 181, 한국생명공학연구원</p>	<p>국제기탁기관을 대표하는 권한을 가진 사람 또는 담당 사무관의 서명 :</p>  <p>김 차 영 센터장 2016년 10월 19일</p>

[195]

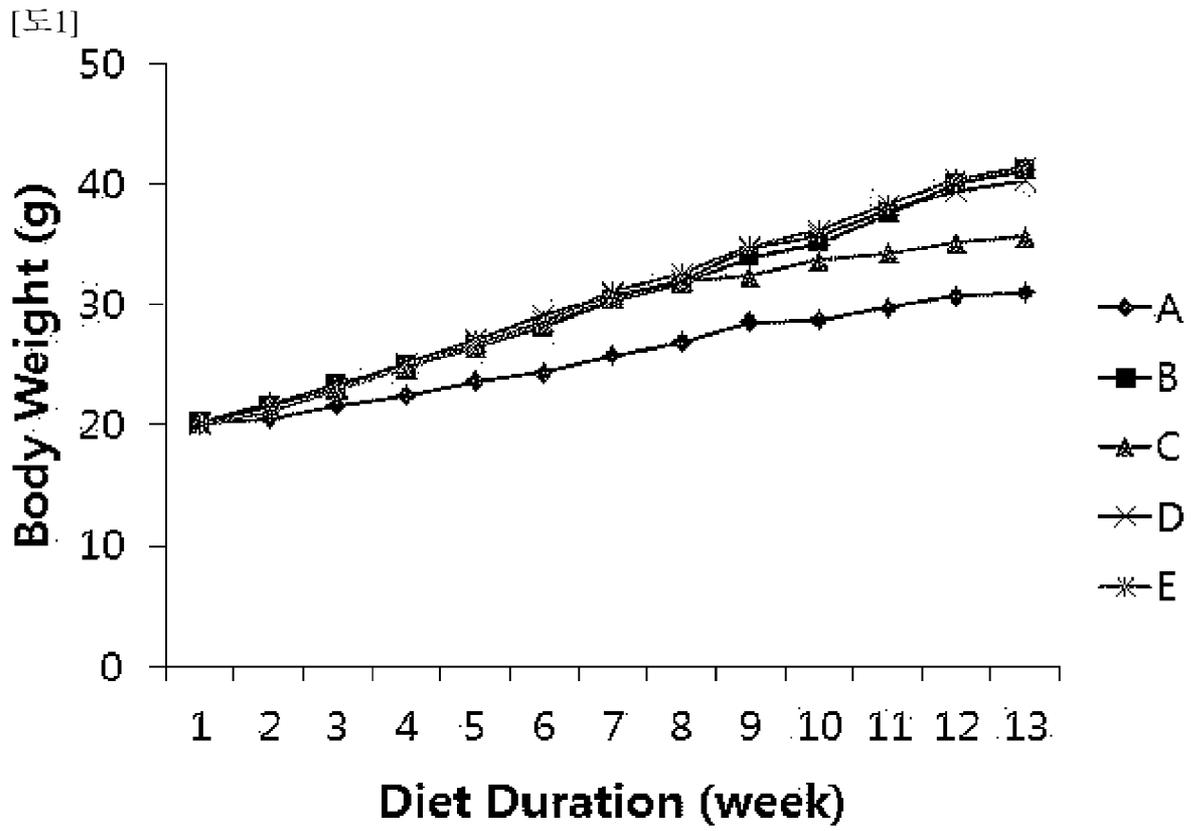
<p>특히 절차상의 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약</p> <p>국제적인 양식</p> <p>기탁증 원본에 관한 수령증</p> <p>7.1 규칙에 따라 발행함</p> <p>받는사람: 이명기 한국식품연구원 대한민국 (13539) 경기도 분당구 안양판교로 1201번길 62</p>	
I. 미생물의 확인	
<p>기탁자에 의한 식별표시:</p> <p>엔테로코커스 패칼리스 TN3</p>	<p>국제기탁기관이 부여한 수탁번호 :</p> <p>KCTC 13136BP</p>
II. 과학적 설명 및 /또는 분류학적 표시	
<p>상기 제 I 난의 미생물에는 다음 사항을 기재한 문서가 첨부된다 :</p> <p><input type="checkbox"/> 과학적 설명</p> <p><input type="checkbox"/> 제시된 분류학적 표시</p> <p>(해당하는 곳에 엑스 표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
<p>본 국제 기탁 당국은 상기 제 I 난의 확인된 미생물을 2016년 10월 18일(원기탁일)에 수령하였다.</p>	
IV. 변환 요청 수령	
<p>상기 I 난에서 확인된 미생물은 본 국제 기탁 당국에 수령되었고, 기탁증 원본은 부다페스트 조약에 의거하여 변환 요청이 상기 기관에 의해 수령되었다.</p>	
V. 국제공인기탁기관	
<p>명칭 : 생물자원센터</p> <p>주소 : 대한민국 (56212) 전라북도 정읍시 입신길 181, 한국생명공학연구원</p>	<p>국제기탁기관을 대표하는 권한을 가진 사람 또는 담당 사무관의 서명 :</p> <p></p> <p>김 차 영 센터장 2016년 10월 19일</p>

[196]

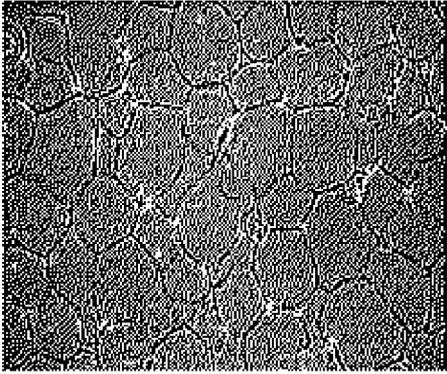
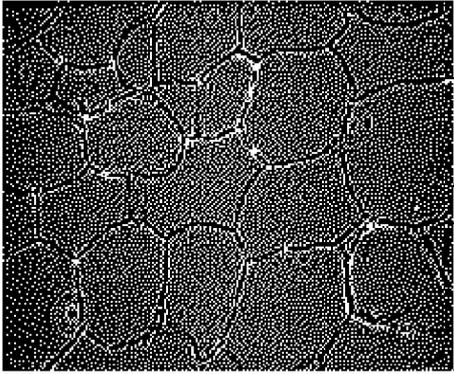
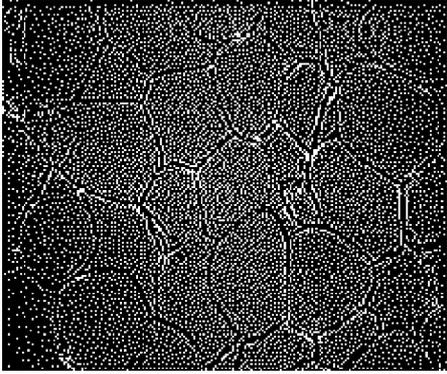
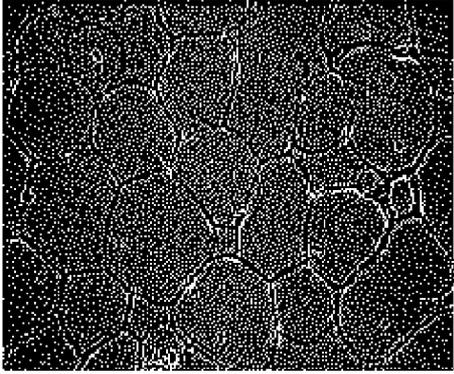
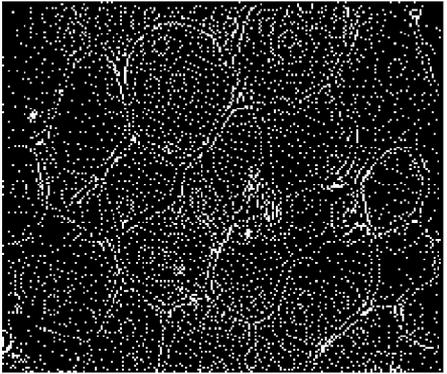
<p>특허 절차상의 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약</p> <p>국제적인 양식</p> <p>기탁증 원본에 관한 수령증</p> <p>7.1 규칙에 따라 발행함</p> <p>받는사람: 이명기 한국식품연구원 대한민국 (13539) 경기도 분당구 안양판교로 1201번길 62</p>	
I. 미생물의 확인	
<p>기탁자에 의한 식별표시:</p> <p>페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654</p>	<p>국제기탁기관이 부여한 수탁번호 :</p> <p>KCTC 13137BP</p>
II. 과학적 설명 및 /또는 분류학적 표시	
<p>상기 제 I 난의 미생물에는 다음 사항을 기재한 문서가 첨부된다 :</p> <p><input type="checkbox"/> 과학적 설명</p> <p><input type="checkbox"/> 제시된 분류학적 표시</p> <p>(해당하는 곳에 엑스 표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
<p>본 국제 기탁 당국은 상기 제 I 난의 확인된 미생물을 2016년 10월 18일(원기탁일)에 수령하였다.</p>	
IV. 변환 요청 수령	
<p>상기 I 난에서 확인된 미생물은 본 국제 기탁 당국에 수령되었고, 기탁증 원본은 부다페스트 조약상의 기탁증으로 변환하기 위한 요청은 상기 기관에 의해 수령되었다.</p>	
V. 국제공인기탁기관	
<p>명칭 : 생물자원센터</p> <p>주소 : 대한민국 (56212) 전라북도 정읍시 입신길 181, 한국생명공학연구원</p>	<p>국제기탁기관을 대표하는 권한을 가진 사람 또는 담당 사무관의 서명 :</p> <p></p> <p>김 차 영 센터장 2016년 10월 19일</p>

청구범위

- [청구항 1] 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 균주는 엔테로코커스 패시움 KR127(기탁번호: KCTC 13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(기탁번호: KCTC 13137BP) 및 엔테로코커스 패칼리스 TN3(기탁번호: KCTC 13136BP)로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 대사증후군은 비만, 당뇨, 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 간질환, 뇌졸중, 심근경색, 허혈성 질환 및 심혈관 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 균주는 조성물 총 중량에 대하여 $10^7 \sim 10^{12}$ cfu/g의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.
- [청구항 5] 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 균주는 엔테로코커스 패시움 KR127(기탁번호: KCTC 13135BP), 페디오코쿠스 펜토사세우스 NKR654(기탁번호: KCTC 13137BP) 및 엔테로코커스 패칼리스 TN3(기탁번호: KCTC 13136BP)로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 식품 조성물.
- [청구항 7] 제5항에 있어서,
상기 대사증후군은 비만, 당뇨, 동맥경화, 고혈압, 고지혈증, 간질환, 뇌졸중, 심근경색, 허혈성 질환 및 심혈관 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.
- [청구항 8] 제5항에 있어서,
상기 균주는 조성물 총 중량에 대하여 $10^7 \sim 10^{12}$ cfu/g의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.
- [청구항 9] 제5항에 있어서,
상기 균주는 체중 지방을 감소시키고, 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 수치를 감소시키는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.
- [청구항 10] 포름산 생성능을 갖는 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사증후군의 예방 또는 개선용 건강기능식품.



[도2]

A		B		
A size	$2026.75 \pm 257.16 \mu\text{m}^2$		B size	$4600.18 \pm 558.57 \mu\text{m}^2$
C		D		
C size	$3546.49 \pm 264.77 \mu\text{m}^2$		D size	$3490.73 \pm 527.97 \mu\text{m}^2$
E				
E size	$4265.01 \pm 238.07 \mu\text{m}^2$			