(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년12월27일
(11) 등록번호 10-2746822
(24) 등록일자 2024년12월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) *A23K 10/30* (2016.01)
A61P 3/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23K 10/30 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2022-0048997
(22) 출원일자 2022년04월20일
심사청구일자 2022년04월20일
(65) 공개번호 10-2023-0104494
(43) 공개일자 2023년07월10일
(30) 우선권주장
1020210193929 2021년12월31일 대한민국(KR)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020100073553 A*
KR1020130055331 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
한국 한의학 연구원
대전광역시 유성구 유성대로 1672 (전민동)
(72) 발명자
성윤영
대전광역시 유성구 배울2로 61, 1015동 1001호(관평동, 대덕테크노밸리10단지아파트)
김동선
대전광역시 유성구 엑스포로 448, 507동 701호(전민동, 엑스포아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

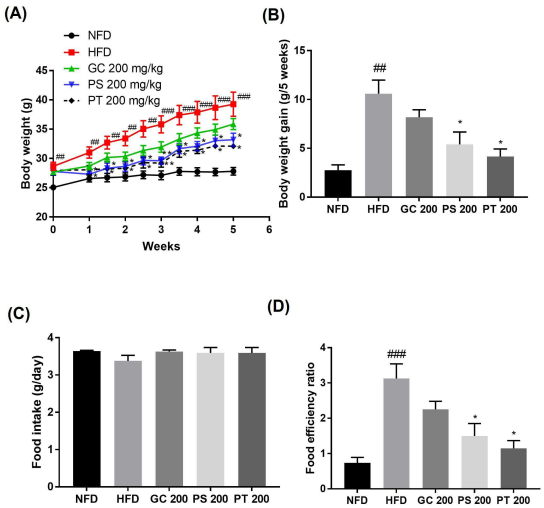
전체 청구항 수 : 총 7 항 심사관 : 박소영

(54) 발명의 명칭 **고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상기 고광나무 속 식물 추출물이 체중 감소, 체중 증가량 감소, 식이효율 감소, 체지방 및 지방세포 크기 감소, 간 무게 및 간 지방 축적 감소, 혈중 중성지방, 총 콜레스테롤 감소 및 LDL 콜레스테롤 감소뿐만 아니라, 렙틴 감소, 지방합성 관련 유전자의 발현량 감소, 에너지 대사 관련 UCP1 유전자의 발현량 증가, 3T3-L1 지방세포에서 지방세포 분화 및 지방축적 억제 효과가 있으므로, 비만, 고지혈증 또는 지방간을 포함하는 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 건강기능식품 또는 의약품으로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 36/185 (2024.05)
A61P 1/16 (2018.01)
A61P 3/04 (2018.01)
A61P 3/06 (2018.01)
A23V 2200/3262 (2013.01)
A23V 2200/3262 (2013.01)
A23V 2200/332 (2013.01)
A23V 2250/21 (2013.01)
A23V 2300/14 (2013.01)

(72) 발명자
손은정
세종특별자치시 나성북1로 51, 601동 904호(나성동, 나릿재마을 6단지)
육홍주
대전광역시 유성구 전민로30번길 7, 401호(전민동)
이윤미
대전광역시 중구 충무로107번길 100, 101동 701호(대흥동, 센트럴자이)
김영숙
대전광역시 유성구 대덕대로568번길 13(도룡동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711124182
과제번호	KSN2013330
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국한의학연구원
연구사업명	주요사업
연구과제명	산업수요 해결형 한약 응용기술 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	한국한의학연구원
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증 및 지방간 중에서 선택된 어느 하나의 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 고광나무 속 식물 추출물의 추출용매는 물, C_1~C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 비만, 고지혈증 및 지방간 중에서 선택된 어느 하나의 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 4

제1항 있어서, 상기 고광나무 속 식물 추출물은 고광나무(*Philadelphus schrenckii*) 또는 얇은잎고광나무(*Philadelphus tenuifolius*)의 잎 추출물인 것을 특징으로 하는 비만, 고지혈증 및 지방간 중에서 선택된 어느 하나의 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 비만, 고지혈증 및 지방간 중에서 선택된 어느 하나의 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 6

고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증 및 지방간 중에서 선택된 어느 하나의 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 고광나무 속 식물 추출물 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 비만, 고지혈증 및 지방간 중에서 선택된 어느 하나의 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증 및 지방간 중에서 선택된 어느 하나의 대사성 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 현대 사회에 이르러 삶의 질이 향상되고, 수명이 연장되고 있지만, 수명의 증가와 더불어 암을 비롯한 심혈관 질환, 대사성 질환의 발병도 증가하고 있는 추세이다. 최근 발표된 세계보건기구의 통계를 분석하면, 전 세계적으로 높은 사망률을 차지하는 질환이 각종 암을 비롯하여 심혈관계질환, 대사성 질환, 신경정신질환 등인 것으로 보고된 바 있다.

[0003] 상기 대사성 질환 중에서 비만은 과다한 체지방 축적으로 인해 건강에 위협을 주는 일종의 질병으로 정의될 수 있다. 국제비만전문위원회(International Obesity Task Force, IOTF)의 보고에 의하면 세계인구의 1/4을 차지하는 약 17억의 인구가 체중을 감량할 필요가 있다고 하여 선진국과 개발도상국 모두에게 심각한 사회문제로 대두되고 있다. 급증하는 생활습관병(성인병)의 30~60%가 비만에 기인하며 일본의 통계로는 5kg 체중을 감소시키는데 의료비가 2조 엔(한화 25조 원)이 필요하다는 분석이 나와 있으며, 과체중, 비만의 출현율은 4~5인당 1명인데 금후에도 증가가 계속될 예상이다. 이런 경향은 미국, 유럽에서는 더욱 심각한 국가적 문제이며, 한국에서도 식생활이 서구화되어 소아비만 출현율이 급격히 증가하고, 생활이 윤택하여 고지방, 고칼로리 식사를 하는 기회는 많아졌으나 운동 부족 등 섭취한 에너지보다 소모하는 에너지가 현저히 작으므로 인해 비만한 자가 급증하고 있다.

[0004] 또한, 생활수준의 향상으로 인하여 식생활 형태의 변화에 기인하여 비만과 더불어 고지혈증 또는 지방간 환자의 수가 급증하고 있는 것으로 보고되고 있으며, 특히 지방의 과다 섭취는 혈중 LDL 콜레스테롤을 상승시키고 체내 지방의 축적을 초래하며, 결국 동맥경화 등 심혈관계 질환을 유발한다. 따라서 고지혈증 또는 지방간의 예방, 개선 및 치료를 위하여, 다양한 건강기능식품 또는 의약품을 개발하고자 하는 시도가 있어 왔다. 특히 국내외 콜레스테롤을 저하시키는 다양한 건강기능식품들이 생산 및 판매되고 있으나, 여전히 고지혈증 또는 지방간의 예방 또는 치료를 위한 효과적인 건강기능식품 또는 의약품의 개발이 요구되고 있다.

[0005] 한편, 고광나무는 우리나라 각처의 골짜기에서 자라는 낙엽 관목이다. 생육환경은 토양의 물 빠짐이 좋고 주변 습도가 높으며 부엽질이 풍부한 곳에서 자란다. 키는 2~4m 가량이고, 잎은 어긋나며 길이 7~13㎝, 폭 4~7㎝로 표면은 녹색이고 털이 거의 없으며, 뒷면은 연녹색으로 잔털이 있고 달걀 모양을 하고 있다. 가지는 2개로 갈라지고 작은 가지는 갈색으로 털이 있으며 2년생 가지는 회색이고 껍질이 벗겨진다. 꽃은 정상부 혹은 잎이 붙은 곳에서 긴 꽃대에 여러 개의 꽃이 백색으로 달리고 향이 있다. 열매는 9월경에 길이 0.6~0.9㎝, 직경 0.4~0.5㎝로 타원형으로 달린다. 주로 관상용으로 쓰이며, 어린잎은 식용으로 쓰인다.

[0006] 고광나무 관련 기술로 한국등록특허 제1937151호에 고광나무 꽃의 향취를 재현한 향료 조성물에 대하여 개시하고 있으나, 아직까지는 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대하여 언급된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하고, 상기 고광나무 속 식물 추출물이 체중 감소, 체중 증가량 감소, 식이효율 감소, 지방세포 크기 감소, 간에서의 무게 및 지방 축적 감소, 혈액 내 중성지방, 총 콜레스테롤 감소 및 LDL 콜레스테롤 감소뿐만 아니라, 렙틴 감소, 지방합성 관련 유전자의 발현량 감소, 에너지 대사 관련 UCP1 유전자의 발현량 증가, 3T3-L1 지방세포에서 지방세포 분화 및 지방축적 억제 효과가 있다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제를 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상기 고광나무 속 식물 추출물이 체중 감소, 체중 증가량 감소, 식이효율 감소, 지방세포 크기 감소, 간에서의 무게 및 지방 축적 감소, 혈액 내 중성지방, 총 콜레스테롤 감소 및 LDL 콜레스테롤 감소뿐만 아니라, 렙틴 감소, 지방합성 관련 유전자의 발현량 감소, 에너지 대사 관련 UCP1 유전자의 발현량 증가, 3T3-L1 지방세포에서 지방세포 분화 및 지방축적 억제 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 고지방식이 및 본 발명의 200mg/kg의 고광나무 잎 추출물(PS 200) 및 200mg/kg의 얇은잎고광나무 잎 추출물(PT 200)을 투여한 동물모델의 체중 변화 및 사료 섭취량 변화를 확인한 결과이다. 기간별 체중(A), 체중 증가량(B), 식이섭취량(C), 식이효율(D)을 나타낸 것이다. ##, ###은 정상식이군(NFD)과 고지방식이군(HFD)의 체중, 체중 증가량 또는 식이효율의 차이가 통계적으로 유의미하다는 것으로, ##은 $p<0.01$이고, ###은 $p<0.001$이다. *은 고지방식이군(HFD)과 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군(PS 200, PT 200)의 체중, 체중 증가량 또는 식이효율의 차이가 통계적으로 유의미하다는 것으로, $p<0.05$이다. GC 200은 양성대조군으로 200mg/kg의 가르시니아 캄보지아를 투여한 것이다.

도 2는 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물(PS 200, PT 200)의 투여에 따른 간 무게(A) 및 백색지방 조직의 무게(B)를 확인한 결과이다. ##, ###은 정상식이군(NFD)과 고지방식이군(HFD)의 간 무게 또는 백색지방 조직의 무게가 통계적으로 유의미하게 차이가 있다는 것으로, ##은 $p<0.01$이고, ###은 $p<0.001$이다. *, **은 고지방식이군(HFD)와 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군의 간 무게 또는 백색지방 조직의 무게가 통계적으로 유의미하게 차이가 있다는 것으로, *은 $p<0.05$이고, **은 $p<0.01$이다. GC 200은 양성대조군으로 200mg/kg의 가르시니아 캄보지아를 투여한 것이다.

도 3은 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물(PS 200, PT 200)의 투여에 따른 혈액 내 중성지방(A), 총콜레스테롤(B), 저밀도 콜레스테롤(C) 및 글루코스(D)의 함량을 확인한 결과이다. #, ##, ###은 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 혈액 내 중성지방, 총콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤 및 글루코스의 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, #은 $p<0.05$이고, ##은 $p<0.01$이며, ###은 $p<0.001$이다. *, **은 고지방식이군(HFD) 대비 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물(PS 200, PT 200) 투여군의 혈액 내 중성지방, 총콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤 및 글루코스의 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, *은 $p<0.05$이고, **은 $p<0.01$이다. GC 200은 양성대조군으로 200mg/kg의 가르시니아 캄보지아를 투여한 것이다.

도 4는 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물의 투여에 따른 간조직에서 지방 분포의 변화를 확인한 오일-레드 오(oil-red O) 염색 결과이다.

도 5는 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물의 투여에 따른 지방조직에서 지방세포의 크기의 변화를 확인한 H&E 염색 결과이다.

도 6은 본 발명의 얇은잎고광나무 추출물(PT 200)의 투여에 따른 혈중 렙틴(leptin)의 감소를 확인한 결과이다. ##은 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 혈액 내 렙틴의 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.01$이다. *은 고지방식이군(HFD) 대비 본 발명의 얇은잎고광나무 추출물(PT 200) 투여군의 혈액 내 렙틴의 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.05$이다. GC 200은 양성대조군으로 200mg/kg의 가르시니아 캄보지아를 투여한 것이다.

도 7은 본 발명의 얇은잎고광나무 잎 추출물의 투여에 따른 지방합성 관련 유전자의 발현량 감소를 확인한 결과이다. #, ##은 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 혈액 내 지방합성 관련 유전자(PPARγ(A), c/EBPα(B), SREBP1c(C), aP2(D) 및 FAS(E))의 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, #은 $p<0.05$이고, ##은 $p<0.01$이다. *은 고지방식이군(HFD) 대비 본 발명의 얇은잎고광나무 추출물(PT 200) 투여군의 혈액 내 지방합성 관련 유전자의 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.05$이다. GC 200은 양성대조군으로 200mg/kg의 가르시니아 캄보지아를 투여한 것이다.

도 8은 얇은잎고광나무 잎 추출물의 투여에 따른 에너지 대사 관련 UCP1 유전자의 발현량 증가를 확인한 결과이다. ***은 고지방식이군(HFD) 대비 본 발명의 얇은잎고광나무 추출물(PT 200) 투여군의 에너지 대사 관련 UCP1 유전자 발현량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.001$이다. GC 200은 양성대조군으로 200mg/kg

의 가르시니아 캄보지아를 투여한 것이다.

도 9는 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물(PS, PT)의 처리에 따른 지방세포의 분화 활성 억제에 대한 결과이다. ###은 분화 전 지방세포(Preadipocyte) 대비 분화 후의 지방세포(Control)에서 지방 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.001$이고, *, ***은 분화 후의 지방세포 대조군(Control) 대비 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물(PS, PT) 처리군 또는 양성대조군(GC 200)의 지방 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, *은 $p<0.05$이고, ***은 $p<0.001$이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.

[0014] 상기 대사성 질환은 비만, 고지혈증 또는 지방간일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.

[0015] 상기 고광나무 속 식물 추출물은 하기의 단계를 포함하는 방법에 의해 제조할 수 있으나, 이에 한정하지 않는다:

[0016] (1) 건조 고광나무 속 식물에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0017] (2) 단계 (1)의 추출액을 여과하는 단계; 및

[0018] (3) 단계 (2)의 여과한 추출액을 건조하여 추출물을 제조하는 단계.

[0019] 상기 단계 (1)에서 추출용매는 물, C_1~C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물 중에서 선택하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 물 또는 에탄올이지만 이에 한정하지 않는다. 상기 제조방법에 있어서, 추출방법은 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 당 업계에 공지된 모든 통상적인 방법을 이용할 수 있다. 상기 추출용매는 고광나무 속 식물 중량의 1~20배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하다. 추출온도는 20~100℃인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 1~5시간인 것이 바람직하며, 2~4시간이 더욱 바람직하지만 이에 한정하지 않는다. 상기 단계 (3)에서, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 감압건조이나 이에 한정하지 않는다.

[0020] 상기 고광나무 속 식물 추출물은 바람직하게 고광나무(*Philadelphus schrenckii*) 또는 얇은잎고광나무(*Philadelphus tenuifolius*)의 잎 추출물이지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0021] 상기 건강기능식품 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것이 바람직하지만 이에 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 건강기능식품 조성물은 고광나무 속 식물 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 제조될 수 있다. 상기 고광나무 속 식물 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 캐러멜, 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 중에서 선택된 어느 하나의 형태일 수 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다. 즉, 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 및 천연 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 또한, 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 상기의 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있으며, 상기 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 단당류, 말토스, 슈크로스와 같은 이당류, 덱스트린, 사이클로 덱스트린과 같은 다당류, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올이다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 크게 중요하지 않지만, 본 발명의 조성물 100g에 대하여, 0.01~0.04g인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 0.02~0.03g을 포함하는 것이지만 이에 한정하지 않는다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.

[0023] 또한, 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0024] 본 발명에 따른 고광나무 속 식물 추출물을 포함하는 약학조성물은 캡슐제, 산제, 과립제, 정제, 현탁액, 에멀

젼, 시럽 및 에어로졸 중에서 선택된 어느 하나의 제형인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않는다. 상기 고광나무 속 식물 추출물 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있으며, 고광나무 속 식물 추출물을 포함하는 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 또는 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물을 포함하는 약학 조성물은 1일 0.0001~100 ㎎/㎏으로, 바람직하게는 0.001~10㎎/㎏으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0025] 또한, 본 발명은 고광나무 속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제에 관한 것이다.

[0026] 본 발명의 사료 첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당한다. 본 발명에서 용어 '사료'는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미할 수 있다. 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비 제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

[0027] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[0028] **실시예 1. 고광나무 속 식물 추출물의 제조**

[0029] 건조 얇은잎고광나무 잎과 고광나무 잎을 각각 70%(v/v) 에탄올로 2시간 동안 2회 환류 추출한 후 추출액을 여과하고 여과액을 감압농축, 건조하여 추출물을 각각 수득하였다.

[0030] **실시예 2. 고지방식이 유발 동물모델에서 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여에 따른 체중 변화 및 사료 섭취량 확인**

[0031] 고지방식이에 의해 비만이 유도된 비만 마우스모델(High fat diet-induced obese mouse model)을 대상으로 추출물의 항 비만 효과를 확인하였으며, 구체적으로 정상식이대조군(NFD), 고지방식이대조군(HFD) 및 양성대조군(GC, 가르시아 캄보지아 추출물 200㎎/㎏)군과 고광나무 속 식물 추출물(200㎎/㎏의 고광나무 잎 추출물(PS 200) 및 200㎎/㎏의 얇은잎고광나무 잎 추출물(PT 200)) 투여에 따른 효과를 비교하였다. 이를 위하여 고지방식이로 유도한 고지방식이 비만 마우스 모델을 다음과 같이 제작하였다.

[0032] 5주령의 수컷 C57bl/6 마우스(㈜디비엘)를 항온(25±2℃), 항습(50±5%) 및 12시간 간격의 광주기(light on 07:00~19:00)로 조절되는 SPF 환경에서 1주 동안 기본 사료(AIN-76A diet)와 물을 자유롭게 공급하면서 적응시킨 후, 2주 동안 고지방식이(# D12492 60kcal fat, Research Diets Inc., USA) 섭취로 비만을 유도한 후 고지방식이와 고광나무 속 식물 추출물의 투여를 5주 동안 병행하였다.

[0033] 다음으로, 실시예 1에서 제조한 고광나무 속 식물 추출물(고광나무 잎 70%(v/v) 에탄올 추출물(PS 200) 및 얇은잎고광나무 잎 70%(v/v) 에탄올 추출물(PT 200))은 200㎎/㎏/day 용량으로 1일 1회 투여하였다. 식이섭취량 및 체중은 매주 2회 일정한 시간에 측정하여 기록하였다.

[0034] 그 결과, 도 1에 개시한 바와 같이 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 체중이 통계적으로 유의미하게 증가하였으며, 고지방식이군 대비 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군의 체중이 통계적으로 감소한 것을 확인하였고, 체중 증가량도 체중과 마찬가지로, 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 체중 증가량이 통계적으로 유의미하게 증가하였으며, 고지방식이군 대비 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군의 체중 증가량이 통계적으로 낮은 것을 확인하였다.

[0035] 한편, 본 실시예 2에서 5주 동안의 사료 섭취량은 실험군 간에 차이가 없어, 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군의 사료 섭취 효율이 유의미하게 낮다는 것을 확인하였다.

[0036] **실시예 3. 고지방식이 유발 동물모델에서 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여에 따른 간무게 및 백색지방 무게 확인**

[0037] 사육이 끝난 시험동물은 희생시키고, 각 실험동물로부터 간 조직 무게와 함께 피하(sWAT), 부고환주위(eWAT), 복막후(rWAT) 및 장간막(iWAT)의 백색 지방조직(white adipose tissue)을 부위별로 적출하여 중량을 측정하였으며, 지방조직들의 중량(g)을 합하여 총 지방량(Total WAT)을 산출하였다.

[0038] 그 결과 도 2에 개시한 바와 같이, 간무게 또는 피하(sWAT), 부고환주위(eWAT), 복막후(rWAT) 및 장간막(iWAT)의 백색 지방조직(white adipose tissue) 무게가 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)에서 증가하였고, 고지방식이군(HFD)에 대비하여 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군에서는 간무게 및 백색지방조직의 무게가 유의미하게 감소하였다.

[0039] **실시예 4. 고지방식이 유발 동물모델에서 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여에 따른 혈액 내 중성지방, 콜레스테롤 및 글루코스 함량 확인**

[0040] 실험 종료 후 마우스에서 채취한 혈액을 실온에서 30분 동안 방치시킨 후 3000rpm에서 15분 동안 원심분리하여 혈청을 얻었다. 상기 획득한 혈청 내 중성지방, 총 콜레스테롤(total cholesterol), 저밀도 콜레스테롤(LDL-cholesterol) 및 글루코스(glucose)의 함량을 측정하였다.

[0041] 그 결과 도 3에 개시한 바와 같이, 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물(PS 200, PT200)을 투여한 군의 혈액 내 중성지방, 총콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤 및 글루코스 함량이 유의미하게 감소하였다.

[0042] **실시예 5. 고지방식이 유발 동물모델에서 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여에 따른 지방조직 및 간조직의 변화 확인**

[0043] 실험 종료 후 지방조직은 10% 중성 완충 포르말린 용액에 24시간 고정하였다. 고정한 간 조직은 동결 절편하여 오일-레드 오(oil-red O) 염색을 실시하였고, 지방조직은 파라핀 포매(paraffin embedding)하여 4㎛의 두께로 블록을 만들고, H&E(Hematoxylin-eosin)으로 염색하여 현미경으로 관찰하였다.

[0044] 그 결과, 도 4에 개시한 바와 같이 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 간조직에서는 지방축적이 현저하게 증가하였고, 이에 대비하여 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군(PS 200, PT 200)에서는 지방 축적이 감소하였다.

[0045] 또한, 도 5에 개시한 바와 같이 지방조직에서 확인한 H&E 염색결과도 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 지방세포의 크기가 현저하게 증가하였고, 이에 대비하여 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물 투여군(PS 200, PT 200)에서는 지방세포의 크기가 감소하였다.

[0046] **실시예 6. 혈액 내 렙틴(leptin) 분비량 변화 확인**

[0047] 혈액에서 얻은 혈청에서 ELISA 방법을 이용하여 렙틴 분비량을 측정하였다.

[0048] 그 결과. 도 6에 개시한 바와 같이, 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 렙틴 분비량이 통계적으로 유의미하게 증가하였고, 이에 대비하여 본 발명의 얇은잎고광나무 추출물 투여군(PT 200)에서는 렙틴 분비량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다.

[0049] **실시예 7. 지방합성 조절인자 PPARγ, C/EBPα, SREBP-1c, aP2 및 FAS의 유전자 발현량 변화 확인**

[0050] 실험종료 후 적출한 백색지방 조직은 조직 내 total RNA를 easyBLUE 용액(Intron)을 이용하여 추출하였다. 1㎍의 total RNA와 10μM의 유전자 특이적 프라이머(primer)를 가지고 원스텝-RT-PCR 키트(Qiagen)를 이용하여 RT-PCR을 실시하였다. Realtime-PCR을 수행하여 PPARγ, C/EBPα, SREBP-1c, aP2 및 FAS 유전자의 mRNA 발현량을 확인하였다. GAPDH를 대조군으로 사용하였다.

[0051] 그 결과 도 7에 개시한 바와 같이, 정상식이군(NFD) 대비 고지방식이군(HFD)의 지방 합성 관련 유전자의 발현량이 통계적으로 유의미하게 증가하였고, 이에 대비하여 본 발명의 얇은잎고광나무 추출물 투여군(PT 200)에서는 지방 합성 관련 유전자의 발현량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다.

[0052] **실시예 8. 열 발생 및 에너지 대사 조절인자 UCP1의 유전자 발현량 변화 확인**

[0053] 실험종료 후 적출한 갈색지방조직은 조직 내 total RNA를 easyBLUE 용액(Intron)을 이용하여 추출하였다. 1㎍의 total RNA와 10μM의 유전자 특이적 프라이머(primer)를 가지고 원스텝-RT-PCR 키트(Qiagen)를 이용하여 RT-PCR을 실시하였다. Realtime-PCR을 수행하여 UCP1 유전자의 mRNA 발현량을 확인하였다. GAPDH를 대조군으로 사용하였다.

[0054] 그 결과 도 8에 개시한 바와 같이, 본 발명의 얇은잎고광나무 추출물 투여군(PT 200)에서 UCP1 유전자의 발현량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다.

[0055]

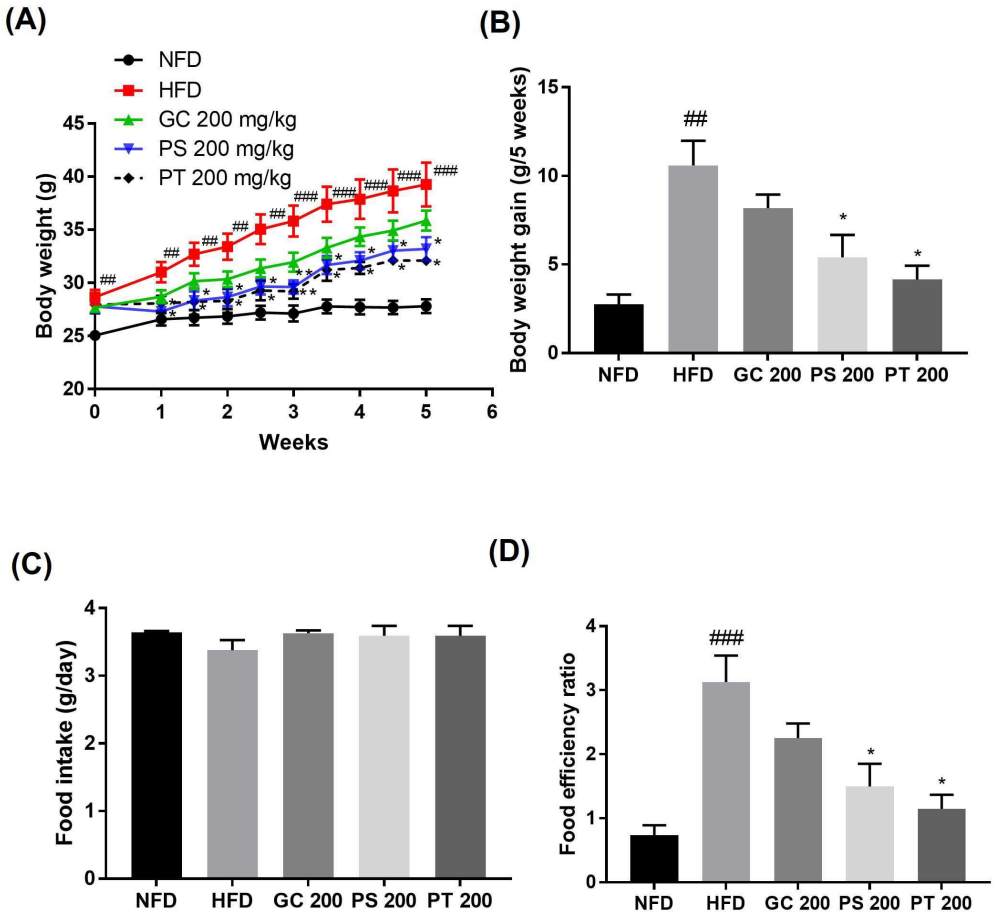
[0056] **실시예 9. 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물의 처리에 따른 지방세포의 분화 활성 억제 활성 확인**

[0057] 웰당 6×10^4개의 3T3-L1 세포를 분주하고, 200㎍/㎖의 고광나무 속 식물 추출물(PS, PT)을 처리하고, 분화를 유도하였다. 이후 7일째에 오일-레드 오(oil-red O) 염색하고, 축적된 지방량을 측정하기 위해 이소프로판올에 녹여 520nm에서 OD 값을 측정하였다. 가르시니아 캄보지아 추출물(GC, 200㎍/㎖)을 양성대조군으로 사용하였다.

[0058] 그 결과 도 9에 개시한 바와 같이, 아무것도 처리하지 않은 대조군(Control)은 분화 전의 전구지방조직의 함량에 비해 통계적으로 유의미하게 증가하였으나, 대조군 대비 본 발명의 고광나무 속 식물 추출물(PS, PT)을 처리한 세포 및 양성대조군에서는 분화된 지방세포의 지방 함량이 통계적으로 유의미하게 낮은 것을 확인하였다.

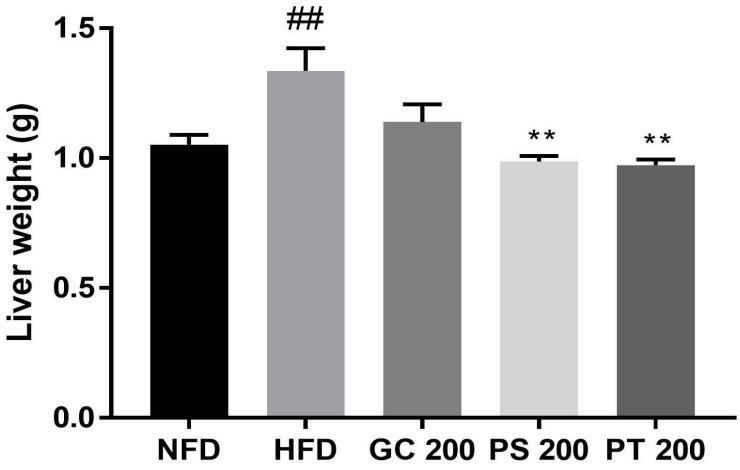
도면

도면1

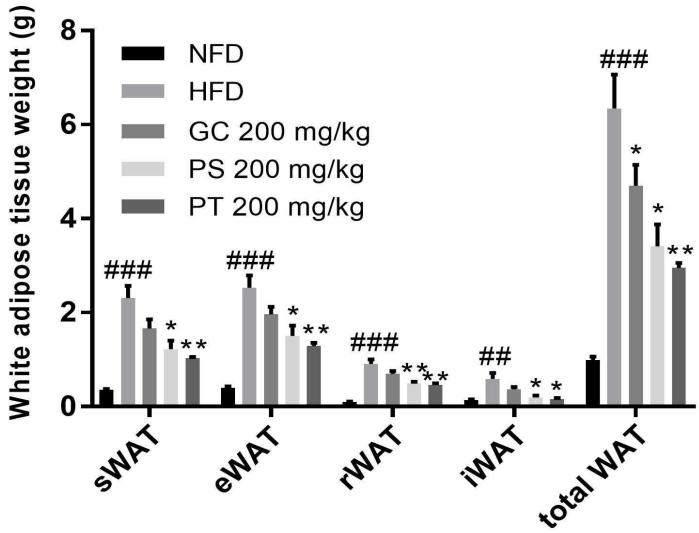


도면2

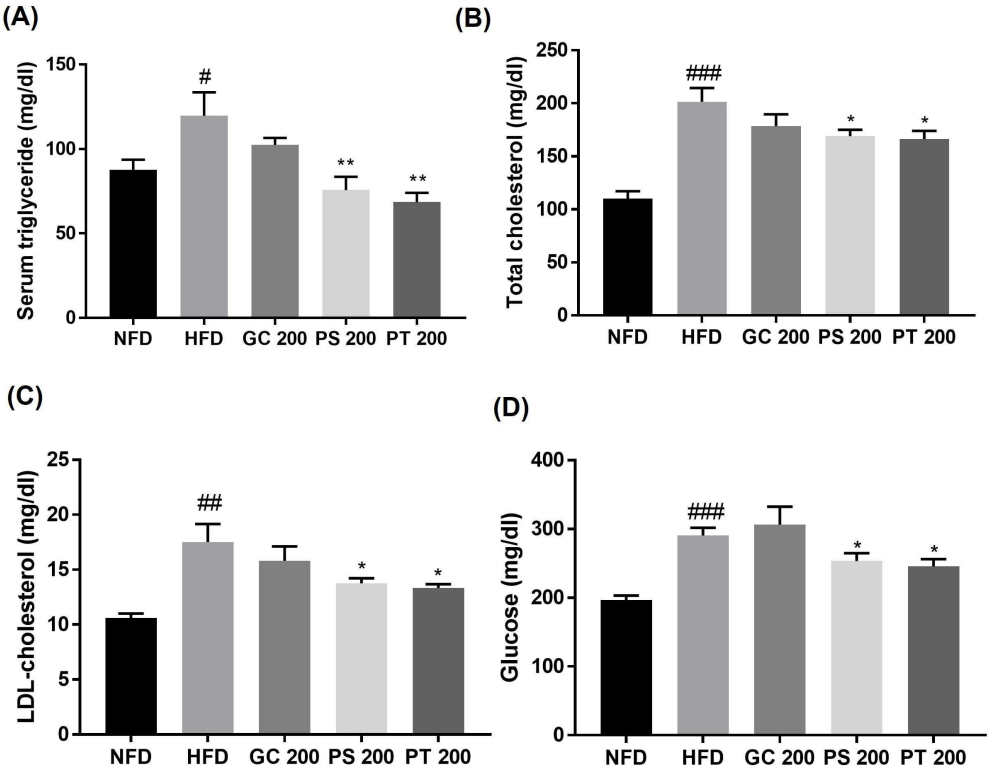
(A)


Liver weight (g)
1.5
1.0
0.5
0.0
##
**
**
NFD
HFD
GC 200
PS 200
PT 200

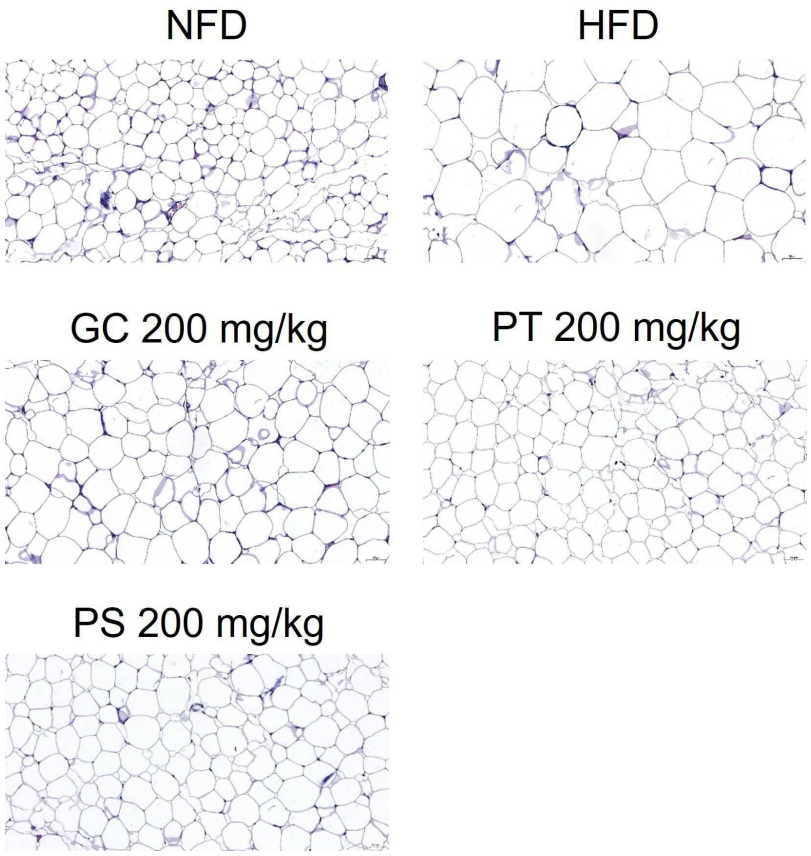
(B)


White adipose tissue weight (g)
8
6
4
2
0
NFD
HFD
GC 200 mg/kg
PS 200 mg/kg
PT 200 mg/kg
###
###
###
##
###
sWAT
eWAT
rWAT
iWAT
total WAT

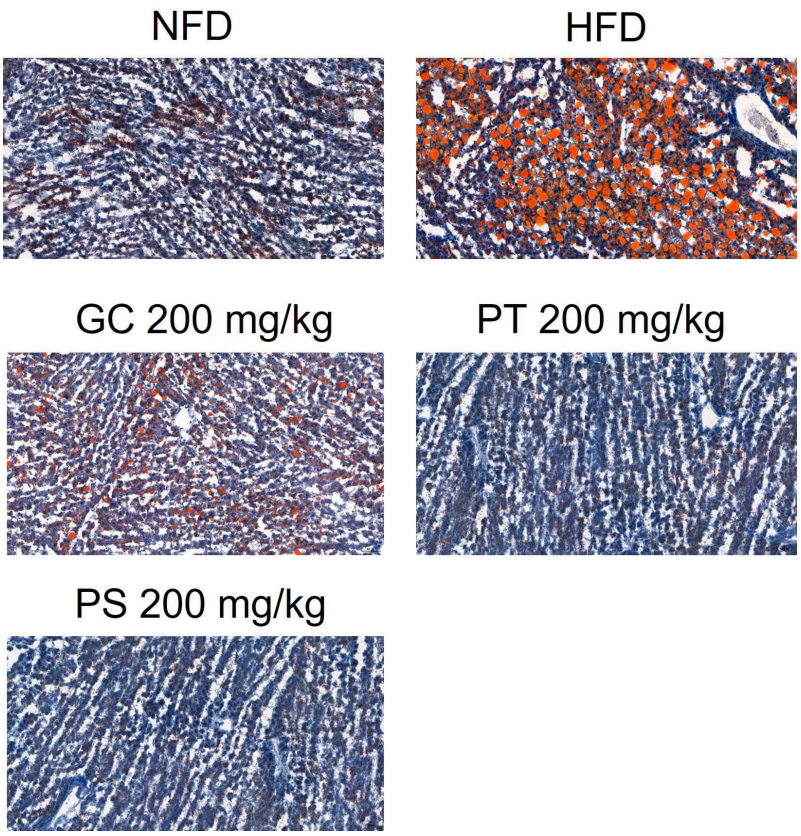
도면3


(A)
Serum triglyceride (mg/dl)
150
100
50
0
#
**
**
NFD
HFD
GC 200
PS 200
PT 200
(B)
Total cholesterol (mg/dl)
250
200
150
100
50
0
###
*
*
NFD
HFD
GC 200
PS 200
PT 200
(C)
LDL-cholesterol (mg/dl)
25
20
15
10
5
0
##
*
*
NFD
HFD
GC 200
PS 200
PT 200
(D)
Glucose (mg/dl)
400
300
200
100
0
###
*
*
NFD
HFD
GC 200
PS 200
PT 200

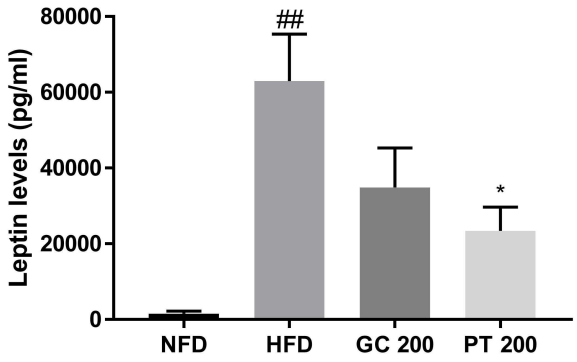
도면4


NFD
HFD
GC 200 mg/kg
PT 200 mg/kg
PS 200 mg/kg

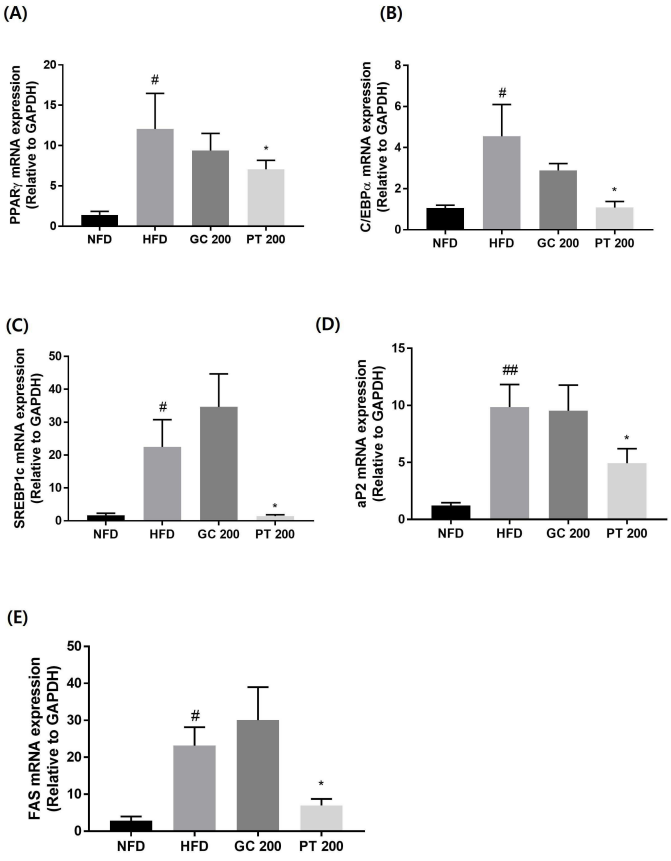
도면5


NFD
HFD
GC 200 mg/kg
PT 200 mg/kg
PS 200 mg/kg

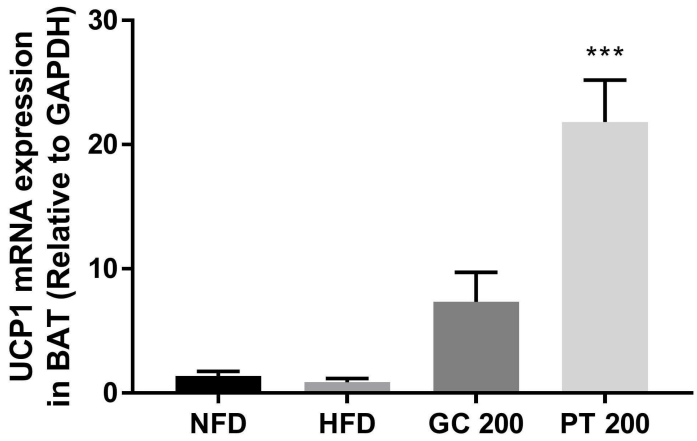
도면6


Leptin levels (pg/ml)
80000
60000
40000
20000
0
##
*
NFD
HFD
GC 200
PT 200

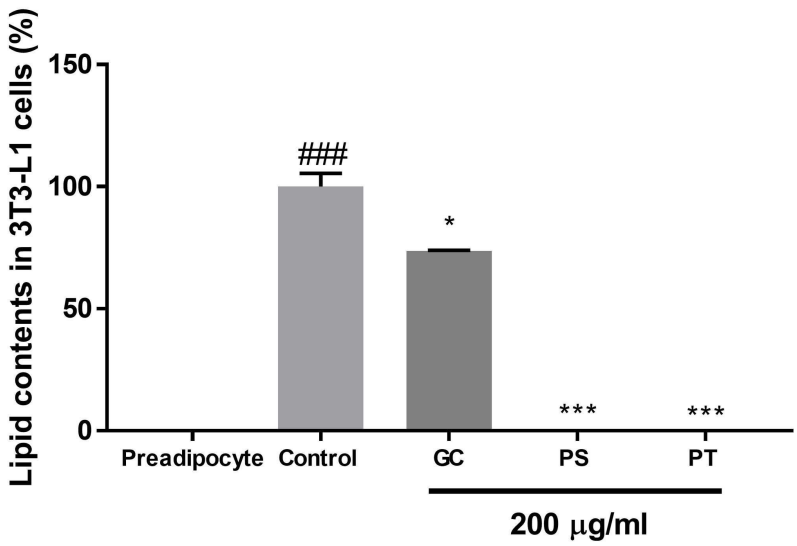
도면7


(A)
PPARγ mRNA expression (Relative to GAPDH)
(B)
C/EBPα mRNA expression (Relative to GAPDH)
(C)
SREBP1c mRNA expression (Relative to GAPDH)
(D)
aP2 mRNA expression (Relative to GAPDH)
(E)
FAS mRNA expression (Relative to GAPDH)
NFD
HFD
GC 200
PT 200

도면8


UCP1 mRNA expression in BAT (Relative to GAPDH)
***
NFD
HFD
GC 200
PT 200

도면9


Lipid contents in 3T3-L1 cells (%)
150
100
50
0
###
*
***
***
Preadipocyte
Control
GC
PS
PT
200 μg/ml