

 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0083493 (43) 공개일자 2014년07월04일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 36/03 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01) (21) 출원번호 10-2012-0153326 (22) 출원일자 2012년12월26일 심사청구일자 2012년12월26일	(71) 출원인 대한민국(관리부서:국립수산물연구원) 부산광역시 기장군 기장읍 기장해안로 216 부경대학교 산학협력단 부산광역시 남구 신선로 365 (용당동, 부경대학교) (72) 발명자 김형탁 부산광역시 남구 황령대로 319번길 26 경동메르빌 104동 2102호 이민섭 부산광역시 해운대구 해운대로 469번 가길 38 B동 203호 (뒷면에 계속) (74) 대리인 특허법인이상

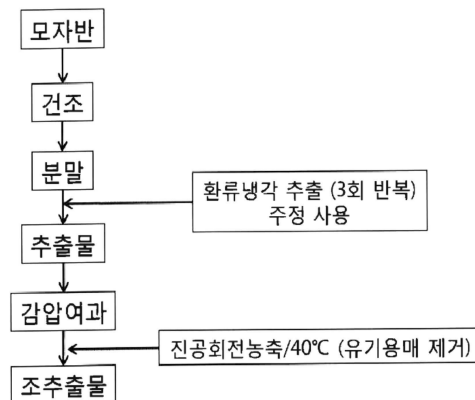
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **참모자반 추출물 또는 팽생이모자반 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 모자반류 유래 항비만용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 참모자반(*Sargassum fulvellum*) 또는 팽생이모자반(*Sargassum horneri*)의 추출물, 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 약학적 조성물 또는 건강기능식품을 제공한다. 본 발명의 모자반류 추출물 또는 이로부터 분리한 분획물은 지방세포 분화, 지방 생성 및 지방축적을 저해시키는 효과가 우수하며 세포독성이 없는 안전한 물질이므로, 체지방 감소 및 비만 치료를 위한 약학적 조성물 또는 건강기능식품의 유효성분으로서 유용하게 이용할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

최희전

부산 사하구 제석로 127, 101동 609호 (당리동, 혜성아파트)

박정민

경북 청도군 청도읍 고수구길 199, 203 (동보빌라)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 RP-2012-FS-015

부처명 국립수산물과학원 (농림수산식품부)

연구사업명 용역연구

연구과제명 모자반류를 이용한 건강기능성 식품소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 부경대학교

연구기간 2012.03.07 ~ 2012.12.21

특허청구의 범위

청구항 1

참모자반(*Sargassum fulvellum*) 추출물 및 팽생이모자반(*Sargassum horneri*) 추출물 중 어느 하나 이상을 유효 성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 참모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물은 각각 참모자반 및 팽생이모자반을 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로 추출한 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 유기용매는 C_1 내지 C_4 의 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 저급 알코올은 메탄올 또는 에탄올인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 에탄올은 주정인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

참모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물을 각각 유기용매로 분획하여 제조한 참모자반 분획물 및 팽생이모자반 분획물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 참모자반 분획물 및 팽생이모자반 분획물은 각각 참모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물을 n-헥산(n-hexane), 디클로로메탄(dichloromethane), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 및 n-부탄올(n-butanol) 순으로 분획하여 얻은 n-헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물, 에틸아세테이트 분획물 및 n-부탄올 분획물 중 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 분획물은 n-헥산 분획물 및 디클로로메탄 분획물 중 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

참모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 10

참모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물을 각각 유기용매로 분획하여 제조한 참모자반 분획물, 외톨개모자반 분획물 및 팽생이모자반 분획물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 모자반류 유래 항비만용 조성물에 관한 것으로서, 참모자반(*Sargassum fulvellum*) 또는 팽생이모자반(*Sargassum horneri*) 추출물, 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 약학적 조성물 또는 건강기능식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 비만은 음식물의 섭취와 에너지의 사용의 불균형으로 초래되는 질병으로, 제2형 당뇨병 및 동맥경화증 등 심각한 질병을 동반할 수 있다. 최근에는 비만, 당뇨, 이상지혈증, 고혈압 등을 대사증후군으로 부르고 있으며, 이에 대한 관심이 증가하여 세계 각국에서 연구가 진행되고 있다. 비만의 원인을 이해하고 이에 대응하고자 하는 전세계적인 노력에도 불구하고, 비만은 가속적으로 증가하고 있다. WTO는 "비만은 장기적인 투명이 필요한 질병이다"라고 경고하고 있는 가운데, 비만은 단순히 미관상의 문제로 그칠 문제가 아니라 각종 질병을 유발하여 생명을 위협하는 심각한 질환이라는 인식이 확대되고 있다. WTO는 비만의 중요 위험인자인 심혈관 질환으로 매년 1,700만 명이 목숨을 잃는다고 발표했으며, 2015년에는 지금보다 50%가 증가한 전세계 15억 명이 비만으로 심각한 고통을 받을 수 있다고 경고하고 있다.

[0003] 비만의 발생은 유전적, 사회적 및 경제적 요인 등의 복잡한 요인과 함께 운동량의 사회적 감소와 고열량 음식의 섭취량 증가로 인한 에너지 항상성 조절 실패가 원인으로 보고되고 있다. 최근에는 고칼로리 음식의 섭취와 육체 활동 저하에 의해 발병하는 것으로 알려진 2형 당뇨병을 포함하는 대사증후군과 연관된 비만의 발병이 세계적으로 증가하고 있다. 또한, 2025년에는 이러한 대사증후군을 가진 인구가 2배로 늘어나 약 3억 명에 이를 것으로 예측되고 있다.

[0004] 비만 진행 여부의 판단은 대표적으로 과체중 여부로 판단할 수 있으며, 구체적으로 특정 부위에서의 체지방 증가(예를 들어, 복부 비만 등)로 판단할 수 있다. 비만으로 분류된 경우, 비만자는 다른 질병에 비해 유병률과 사망률이 높고 정상체중을 가진 사람과 비교하여 당뇨병 질환으로 인한 사망률은 4배, 간병경증 질환으로 인한 사망률은 2배, 뇌혈관질환으로 인한 사망률은 1.6배 및 관상동맥질환으로 인한 사망률은 1.8배 정도 높은 것으로 보고되고 있다.

[0005] 현재 비만을 치료하기 위한 다양한 방법이 시도되고 있다. 일반적으로 비만증의 치료법은 식이요법, 운동요법, 식욕 억제제, 이노제, 설사제 또는 포만감을 주기 위한 섬유질 등을 사용하는 약물요법, 잘못된 식습관과 생활습관을 교정해 주는 행동수정요법, 외과에서 장이나 위의 용적을 줄이는 수술요법, 성형외과 등에서 초음파를 이용하여 지방세포를 분해, 제거하는 방법 등의 지방제거수술 등이 있다. 또한, 비만 치료와 관련된 암페타민, 리덕틸, 티아졸리디네온, 메트로르민 등은 다양한 부작용이 나타나고 있으며, 이러한 이유로 최근에는 비만 치료와 관련하여 약물 식물의 사용을 포함한 대체 접근법에 대한 관심이 증대되고 있다.

[0006] 이와 관련하여 지방세포를 사용한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 섭취한 영양소는 중성지방의 형태로 지방조직에 축적되며, 비만은 지방세포의 비대와 과형성으로 인해 초래된다. 지방세포 연구는 지방 축적을 감소시키고 지방세포의 수를 줄이는 방안을 찾아내는 것이 핵심이다. 이러한 연구에서 사용될 수 있는 모델로 제시된 것이 3T3-L1 세포이다. 상기 3T3-L1 세포는 지방세포로 분화될 수 있는 위임 줄기세포(committed stem cell)로 배지에 우태아혈청과 함께 IBMX(3-isobutyl-1-methylxanthine), 인슐린 및 덱사메타손(dexamethasone)(DMI)을 첨가하여 배양하면 지방세포로 분화되어 세포내 지방이 축적을 관찰할 수 있다.

[0007] 한편, 모자반은 여러해살이이며, 국내의 연안에서 해중립을 이루며 분포하는 대표적인 갈조류이다. 지충이, 팽생이모자반, 알뽕이모자반, 파배기모자반, 큰잎모자반, 짝잎모자반, 쌍발이모자반 등 약 20종이 채집되며, 일본이나 동남아시아 일대에는 50 여종이 생육하고 있다. 모자반속의 많은 종류가 식용되기도 하며, 알긴산 등 해조 공업의 원료로 이용되거나 비료로 사용되고 있다. 모자반종을 이용한 항비만 소재 개발에 관하여 연구가 진행되고는 있으나, 아직까지 모자반류 중 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반에 대한 항비만 효과에 대해서는 밝혀진 바가 없는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 약학적 조성물 또는 건강기능식품을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 측면은 참모자반(*Sargassum fulvellum*) 추출물, 외톨개모자반(*Myagropsis myagroides*) 추출물 및 팽생이모자반(*Sargassum horneri*) 추출물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0010] 또한, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 다른 측면은 상기 추출물로부터 분리한 참모자반 분획물, 외톨개모자반 분획물 및 팽생이모자반 분획물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0011] 아울러, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 또 다른 측면은 상기 참모자반 추출물, 외톨개모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물, 또는 이들의 분획물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명에 따른 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 추출물, 또는 이로부터 분리한 분획물은 섬유아세포로부터 유도되는 지방세포의 분화를 억제하고 세포내 지방합성 억제 및 지방분해 촉진으로 지방축적을 억제하는 효과가 있으므로 비만 예방 및 억제용 기능성 식품, 또는 비만 및 이로 인한 성인병의 치료용 약학적 조성물로써 사용할 수 있는 우수한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 모자반류로부터 추출물을 제조하는 과정을 나타낸 순서도이다.
- 도 2는 모자반 추출물로부터 유기용매 분획물을 제조하는 과정을 나타낸 순서도이다.
- 도 3은 참모자반 주정 추출물(SFE)(a), 이의 n-헥산 가용추출물(SFH) 또는 디클로로메탄 가용추출물(SFD)(b)을 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 세포 생존률에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 4는 참모자반 주정 추출물(SFE)과 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 5는 참모자반 n-헥산 가용분획물(SFH)와 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 6은 참모자반 디클로로메탄 가용추출물(SFD)과 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 7은 참모자반 주정 추출물(SFE)과 인슐린을 지방세포로 분화시킨 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 세포내 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 8은 참모자반 n-헥산 가용추출물(SFH)과 인슐린을 지방세포로 분화시킨 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 세포내 지방축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 9는 참모자반 디클로로메탄 가용추출물(SFD)과 인슐린을 지방세포로 분화시킨 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 세포내 지방축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 10은 외톨개모자반 주정 추출물(MME), n-헥산 가용추출물(MMH) 또는 디클로로메탄 가용추출물(MMD)을 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 세포 생존률에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 11은 외톨개모자반 주정 추출물(MME)과 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 12는 외톨개모자반 n-헥산 가용분획물(MMH)와 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 13은 외톨개모자반 디클로로메탄 가용추출물(MMD)과 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.
- 도 14는 팽생이모자반 주정 추출물(SHE), n-헥산 가용추출물(SHH) 또는 디클로로메탄 가용추출물(SHD)을 3T3-L1

섬유아세포에 처리하여 세포 생존률에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 15는 팽생이모자반 주정 추출물(SHE)과 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 16은 팽생이모자반 n-헥산 가용분획물(SHH)와 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 17은 팽생이모자반 디클로로메탄 가용추출물(SHD)과 MDI를 3T3-L1 섬유아세포에 처리하여 지방세포 분화와 지방 축적에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 18 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반의 주정 추출물(SHE)을 투여한 C57BL/6 마우스의 몸무게 변화량을 나타낸 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 먼저, 본 발명의 명세서에서 이용된 용어를 설명한다.
- [0015] 본 발명에서 사용되는 용어 '비만'이란 체내의 지방 조직량이 과잉으로 증가된 상태를 의미한다. 비만은 지방 세포내 지방의 합성과 분해의 불균형으로 나타나는데 필요 이상의 지방 축적으로 발생하는 비만은, 만성적 퇴행성 질환 발생의 위험성을 증가시키며, 관상동맥 질환, 고혈압, 뇌졸중, 고지혈증 및 당뇨병의 위험성을 증가시킬 수 있다.
- [0016] 본 발명에서 사용되는 용어 '예방'은 본 발명의 조성물의 투여로 비만을 억제시키거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0017] 본 발명에서 사용되는 용어 '개선' 및 '치료'는 본 발명의 조성물의 투여로 비만의 증상이 호전 또는 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0018] 본 발명에서 사용되는 용어 '투여'는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [0019] 본 발명에서 사용되는 용어 '개체'는 본 발명의 조성물을 투여하여 비만의 증상이 호전될 수 있는 질환을 가진 인간, 원숭이, 개, 염소, 돼지 또는 쥐 등의 모든 동물을 의미한다.
- [0020] 본 발명에서 사용되는 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 배출 비율, 치료 기간, 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0021] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0022] **1. 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**
- [0023] 본 발명의 일 측면은 참모자반(*Sargassum fulvellum*) 추출물, 외톨개모자반(*Myagropsis myagroides*) 추출물 및 팽생이모자반(*Sargassum horneri*) 추출물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한, 본 발명의 다른 측면은 상기 참모자반 추출물, 외톨개모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물을 각각 유기용매로 분획하여 제조한 참모자반 분획물, 외톨개모자반 분획물 및 팽생이모자반 분획물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0025] 상기 참모자반 추출물, 외톨개모자반 추출물 또는 팽생이모자반 추출물은 당업계에 공지된 다양한 추출방법에 의해 수득될 수 있다. 바람직하게는, 상기 추출물은 이에 한정되지는 아니하나, 1) 모자반류에 추출용매를 가하고 추출하여 추출액을 수득하는 단계; 2) 상기 단계 1)에서 수득된 추출액을 여과하여 여과액을 수득하는 단계; 및 3) 상기 단계 2)에서 수득된 여과액을 감압농축 및 건조하여 추출물을 수득하는 단계를 포함하는 제조방

법에 의하여 제조될 수 있다(도 1 참조).

- [0026] 상기 단계 1)의 모자반류는 자연재배된 것 또는 양식된 것이 모두 이용될 수 있고, 부위에 상관없이 음지에서 자연건조시켜 이용하는 것이 바람직하다. 특히, 상기 모자반류를 건조시켜 이용하는 경우, 상기 건조물은 상기 추출용매와 반응하는 표면적이 넓도록 절단 또는 분쇄하여 분말화한 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.
- [0027] 상기 단계 1)의 추출용매는 당업계에서 통상적으로 이용되는 모든 종류의 용매가 이용될 수 있으나, 상기 단계 1)의 추출용매는 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물이 이용되는 것이 바람직하다. 단계 1)의 추출용매는 C₁ 내지 C₄의 저급 알코올인 것이 바람직하고, 메탄올 또는 에탄올인 것이 더욱 바람직하며, 주정인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 아니한다. 또한, 상기 단계 1)의 추출용매는 상기 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 총 중량의 2배 내지 20배를 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4배 내지 15배를 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하며, 5배 내지 7배를 첨가하여 추출하는 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 아니한다.
- [0028] 상기 단계 1)의 추출은 열수 추출법, 증탕 추출법, 초음파 추출법, 환류냉각 추출법, Soxhlet 추출법, Bligh/Dyer 추출법, Stass Otto 추출법 및 Folch 추출법 등 당업계의 통상적으로 이용되는 추출방법이 모두 이용될 수 있다. 또한, 상기 단계 1)의 추출은 부패, 변색 및 변취를 방지하기 위하여 50℃ 내지 250℃, 바람직하게는 70℃ 내지 150℃의 온도에서 1시간 내지 12시간, 바람직하게는 3시간 내지 10시간 동안 3회 내지 5회 반복하여 수행될 수 있다.
- [0029] 상기 단계 2)의 여과는 당업계에서 통상적으로 이용되는 여과방법이 모두 이용될 수 있고, 여과지를 이용하여 여과될 수 있으나 이에 한정되지 아니한다.
- [0030] 상기 단계 3)의 감압농축은 회전진공농축기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다. 또한, 상기 단계 3)의 건조는 열풍건조, 진공건조 또는 동결건조를 모두 이용할 수 있으나 이에 한정되지 아니한다.
- [0031] 상기와 같이 수득된 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 추출물, 바람직하게는 상기 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 주정 추출물을 유기용매를 이용하여 추가적으로 계통 분획함으로써 상기 추출물들의 분획물을 수득할 수 있다. 상기 분획물은 당업계에 공지된 다양한 분획 방법에 의해 수득될 수 있다. 바람직하게, 상기 분획물은 이에 한정되지는 아니하나, 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반의 추출물을 물, 바람직하게는 물과 주정의 혼합용액에 현탁시킨 후, 극성을 달리하는 분획용매로 순차 분획함으로써 수득될 수 있다. 상기 분획용매는 n-헥산(n-hexane), 디클로로메탄(dichloromethane), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 및 n-부탄올(n-butanol)일 수 있다. 즉, 상기 n-헥산 분획물은 상기 추출물에 n-헥산을 가하여 분획함으로써 수득된 분획물이고, 상기 디클로로메탄 분획물은 상기 n-헥산에 의해 분획되고 남은 물층(수용성 분획물)에 추가로 디클로로메탄을 가하여 분획함으로써 수득된 분획물이고, 상기 에틸아세테이트 분획물은 상기 디클로로메탄에 의해 분획되고 남은 물층(수용성 분획물)에 추가로 에틸아세테이트를 가하여 분획함으로써 수득된 분획물이며, 상기 n-부탄올 분획물은 상기 에틸아세테이트에 의해 분획되고 남은 물층(수용성 분획물)에 추가로 n-부탄올을 가하여 분획함으로써 수득된 분획물이다(도 2 참조).
- [0032] 상기 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반의 추출물 또는 상기 추출물에서 분획된 분획물은 지방세포 분화 과정을 억제하고 세포내 지방축적 억제 활성을 갖는 비만 억제 용도로서 제공될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 3T3-L1 섬유아세포를 대상으로 상기와 같이 수득된 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반의 추출물 또는 상기 추출물에서 분획된 분획물의 항비만 효과를 확인한 결과, 상기 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반 추출물과 상기 추출물의 분획물들이 3T3-L1 섬유아세포의 지방세포 분화 과정, 또는 분화된 지방세포에서 세포내 지방축적을 저해하는 효과가 우수함을 확인하였다(도 4 내지 도 9, 도 11 내지 도 13, 및 도 15 내지 도 17 참조). 상기와 같은 결과로부터, 상기 모자반류의 추출물 또는 이로부터 분획된 분획물은 비만의 치료 또는 예방에 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 또한, 상기 추출물 또는 이의 분획물은 충분히 높은 농도에서도 세포 독성 및 부작용을 나타내지 않았으므로(도 3, 도 10 및 도 14 참조), 장기간 사용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 안전한 물질임을 확인하였다. 특히, 비만 유발 모델 동물에 대하여, 대조군에 비해 상기 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 추출물을 처리한 실험군에서 비만 억제 및 체중 증가 저해 효능이 탁월함을 확인함으로써(도 18 참조), 본 발명의 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 추출물 또는 이의 분획물이 생체내에서도 상기와 같은 비만 치료 및 예방 효과를 나타냄을 확인하였다.
- [0034] 상기 약학적 조성물은 상기 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반 추출물, 또는 상기 추출물에서 분획된 분획물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있고, 약학적 조성물의 제조

에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈(lactose), 덱스트로즈(dextrose), 수크로즈(sucrose), 솔비톨(sorbitol), 만니톨(mannitol), 자일리톨(xylitol), 에리스리톨(erythritol), 말티톨(maltitol), 전분(starch), 아라비아 고무(gum Arabic), 알지네이트(alginate), 젤라틴(gelatin), 칼슘 포스페이트(calcium phosphate), 칼슘 실리케이트(calcium silicate), 셀룰로즈(cellulose), 메틸 셀룰로즈(methyl cellulose), 미정질 셀룰로스(microcrystalline cellulose), 폴리비닐 피롤리돈(polyvinyl pyrrolidone), 물(water), 메틸히드록시벤조에이트(methylhydroxybenzoate), 프로필히드록시벤조에이트(propylhydroxybenzoate), 탈크(talc), 마그네슘 스테아레이트(magnesium stearate) 및 광물유(mineral oil) 등일 수 있으나, 이에 한정되지 아니한다. 상기 약학적 조성물이 제제화되는 경우, 일반적으로 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제가 사용될 수 있으나, 이에 한정되지 아니한다.

[0035] 상기 약학적 조성물은 경구, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 등 다양한 경로로 투여될 수 있고, 바람직하게는 경구투여될 수 있다. 상기 약학적 조성물은 실제 임상 투여 시, 투여 경로에 따라, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁제 등과 같은 경구투여용 제형, 또는 연고제와 같은 외용제, 좌제 및 멸균 주사 용액과 같은 비경구투여용 제형으로 제형화되어 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제는 상기 분획물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로즈(sucrose), 락토즈(lactose) 또는 젤라틴(gelatin) 등을 섞어 제조될 수 있고, 상기와 같은 단순한 부형제 외에도 마그네슘 스테아레이트(magnesium stearate), 탈크(talc)와 같은 윤활제들도 이용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제는 상기 분획물에 적어도 하나 이상의 희석제 또는 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 섞어 제조될 수 있다. 비경구투여용 제제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 등을 섞어 제조될 수 있고, 비수성용제 또는 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol), 올리브 오일(olive oil)과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 특히, 좌제로 제형화되는 경우, 그 기재로서 위템솔(witepsol), 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol), 트윈61(tween 61), 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴(glycerogelatin) 등이 이용될 수 있다.

[0036] 상기 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 나이, 상태, 체중, 질병의 정도, 약물의 형태, 투여경로 및 시간에 따라 차이가 있으나, 일반적으로 바람직한 효과를 위한 유효성분의 투여 용량은 0.001 내지 1 mg/kg, 바람직하게는 0.001 내지 0.1 mg/kg의 양이 투여되도록 하며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 수회, 바람직하게는 1회 내지 6회 분할 투여할 수 있다.

[0037] 2. 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품

[0038] 본 발명의 또 다른 측면은 참모자반 추출물, 외톨개모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0039] 아울러, 본 발명의 또 다른 측면은 상기 참모자반 추출물, 외톨개모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물을 각각 유기용매로 분획하여 제조한 참모자반 분획물, 외톨개모자반 분획물 및 팽생이모자반 분획물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0040] 상기 참모자반 추출물, 외톨개모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물, 또는 상기 추출물에서 분획된 분획물에 관해서는 상기 "1. 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물" 항목에서 설명한 바와 동일하다. 따라서 이에 관해서는 상기 "1. 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물" 항목의 설명을 원용하여 상세한 설명은 생략하도록 하고, 이하에서는 상기 건강기능식품에 특이적인 구성에 대해서만 설명한다.

[0041] 본 발명의 참모자반 추출물, 외톨개모자반 추출물 및 팽생이모자반 추출물 또는 상기 추출물들의 분획물을 식품 첨가물로 사용하는 경우, 상기 추출물 또는 분획물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0042] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음

료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0043] 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르트마과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 0.01 g 내지 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 g 내지 0.03 g이다.

[0044] 상기 외에 본 발명의 추출물 또는 이의 분획물은 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 추출물 또는 분획물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만, 본 발명의 추출물 또는 분획물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0045] 이하, 본 발명을 실시예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.

[0046] 단, 하기 실시예 및 제조예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것일 뿐, 본 발명이 하기의 실시예 및 제조예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

실시예 1

[0047] 모자반류 추출물의 제조

[0048] 도 1과 같은 방법으로, 부산광역시 기장군, 전라남도 완도군 및 경상남도 통영시에서 채집한 참모자반(*Sargassum fulvellum*), 외톨개모자반(*Myagropsis myagroides*) 또는 팽생이모자반(*Sargassum horneri*)으로부터 각각의 추출물을 수득하였다. 보다 상세하게는 하기와 같다.

[0049] <1-1> 참모자반 주정 추출물의 제조

[0050] 채집한 참모자반을 양지에서 자연건조한 후, 마쇄하여 분말화하였다. 상기 참모자반의 건조 분말 2 kg을 각각 에탄올 농도 105%인 발효 주정(우리주정 주식회사, 한국) 10 l에 침지하여 잘 교반한 다음, 70 °C에서 1시간 내지 5시간 동안 3회 환류냉각 추출한 후, 여과지(와트만사, 미국)로 감압여과하였다. 상기 감압여과된 여과물을 40 °C에서 진공회전농축기로 감압농축하여 용매를 제거한 후, 남은 잔사를 참모자반 추출물로서 수득하였다. 그 결과, 참모자반의 주정 추출물 287.5 g을 수득할 수 있었다.

[0051] <1-2> 외톨개모자반 주정 추출물의 제조

[0052] 상기 실시예 <1-1>과 동일한 방법으로 추출물을 제조하되, 참모자반이 아닌 외톨개모자반을 이용하여 추출하였다. 그 결과, 외톨개모자반의 주정 추출물 317.6 g을 수득할 수 있었다.

[0053] <1-3> 팽생이모자반 주정 추출물의 제조

[0054] 상기 실시예 <1-1>과 동일한 방법으로 추출물을 제조하되, 참모자반이 아닌 팽생이모자반을 이용하여 추출하였다. 그 결과, 팽생이모자반의 주정 추출물 320.3 g을 수득할 수 있었다.

실시예 2

[0055] 모자반류 추출물로부터 분획물의 제조

[0056] 도 2와 같은 방법으로, 상기 실시예 1에서 수득한 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 추출물로부터 각각의 유기용매 분획물을 수득하였다. 보다 상세하게는 하기와 같다.

[0057] <2-1> n-헥산 분획물의 제조

[0058] 상기 실시예 1에서 제조한 각각의 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 주정 추출물 100 g에 n-헥산(n-hexane), 주정, 물이 10 : 9 : 1의 비율로 혼합된 혼합용매 4 ℓ를 가하고, 물층과 n-헥산층이 분리되도록 정치하였다. 충분한 시간이 경과한 후, 상기 혼합물은 2 ℓ의 물층과 2 ℓ의 n-헥산층으로 분리되었다. 상기와 같이 분리된 2 ℓ의 물층에 다시 2 ℓ의 n-헥산을 가하고 정치하여, 2 ℓ의 n-헥산층을 분리해 내는 과정을 3회 반복하였다. 그 결과, 최종적으로 총 8 ℓ의 n-헥산층과 2 ℓ의 물층을 수득하였다. 상기와 같이 분리 수득한 8 ℓ의 n-헥산층을 40 ℃에서 진공회전농축기로 감압농축하여 용매를 제거한 후, 남은 잔사 17.9 g, 15.1 g 및 15.5 g을 각각 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반의 n-헥산 분획물로서 수득하였다.

[0059] <2-2> 디클로로메탄 분획물의 제조

[0060] 상기 실시예 <2-1>에서 최종적으로 수득한 2 ℓ의 물층에 2 ℓ의 디클로로메탄(dichloromethane)을 가하고 정치하여, 2 ℓ의 디클로로메탄층을 분리해내는 과정을 3회 반복하였다. 그 결과, 최종적으로 총 6 ℓ의 디클로로메탄층과 2 ℓ의 물층을 수득하였다.

[0061] 상기와 같이 분리 수득한 6 ℓ의 디클로로메탄층을 40 ℃에서 진공회전농축기로 감압농축하여 용매를 제거한 후, 남은 잔사 0.9 g, 0.8 g 및 1.0 g을 각각 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반의 디클로로메탄 분획물로서 수득하였다.

[0062] <2-3> 에틸아세테이트 분획물의 제조

[0063] 상기 실시예 <2-2>에서 최종적으로 수득한 2 ℓ의 물층에 2 ℓ의 디에틸아세테이트(ethyl acetate)을 가하고 정치하여, 2 ℓ의 에틸아세테이트층을 분리해내는 과정을 3회 반복하였다. 그 결과, 최종적으로 총 6 ℓ의 에틸아세테이트층과 2 ℓ의 물층을 수득하였다.

[0064] 상기와 같이 분리 수득한 6 ℓ의 에틸아세테이트층을 40 ℃에서 진공회전농축기로 감압농축하여 용매를 제거한 후, 남은 잔사 1.6 g, 0.8 g 및 0.3 g을 각각 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반의 에틸아세테이트 분획물로서 수득하였다.

[0065] <2-4> n-부탄올 분획물의 제조

[0066] 상기 실시예 <2-3>에서 최종적으로 수득한 2 ℓ의 물층에 2 ℓ의 n-부탄올(n-butanol)을 가하고 정치하여, 2 ℓ의 n-부탄올층을 분리해내는 과정을 3회 반복하였다. 그 결과, 최종적으로 총 6 ℓ의 n-부탄올층과 2 ℓ의 물층을 수득하였다.

[0067] 상기와 같이 분리수득한 6 ℓ의 n-부탄올층을 40 ℃에서 진공회전농축기로 감압농축하여 용매를 제거한 후, 남은 잔사 0.5 g, 0.4 g 및 0.4 g을 각각 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반의 n-부탄올 분획물로서 수득하였다.

실시예 3

[0068] 참모자반 추출물 또는 분획물의 인 비트로(in vitro) 항비만 효과 확인

[0069] <3-1> 참모자반 추출물/분획물의 처리

[0070] 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 입수한 마우스 유래 섬유아세포 3T3-L1을 10% 우혈청(BS), 100 units/ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토마이신을 첨가한 DMEM 배지로 37 ℃, 5% CO₂ 환경에서 배양하였다. 상기와 같이 배양된 3T3-L1 세포를 96 웰 플레이트에 1.5×10^3 개/웰의 농도로 분주한 후, 서로 다른 농도(0, 10, 25, 50, 100, 200, 400 µg/ml)의 시료들(상기 실시예 <1-1>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 참모자반의 주정 추출물, n-헥산 분획물 및 디클로로메탄 분획물)이 각각 함유된 DMEM 배지로 24시간 동안 배양하였다.

[0071] <3-2> 참모자반 추출물/분획물의 세포독성 효과

[0072] 상기 실시예 <3-1>과 같이 참모자반 추출물 또는 분획물이 처리된 3T3-L1 세포 배양물에서 100 µl의 배지를 취하여 5 µl의 MTS 용액과 함께 96 웰 플레이트에 각각 분주하여 1시간 동안 반응시킨 다음, 마이크로플레이트 리

더(microplate reader)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정치는 3회 반복 실험의 평균값으로 결정하였고, 상기와 같이 결정된 측정치를 대조군과 비교를 통해 상대적인 세포 생존률(% of control)을 계산하였다.

[0073] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 참모자반 주정 추출물은 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물은 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도까지 세포 독성이 나타나지 않았다(도 3).

[0074] **<3-3> 지방세포 분화 및 지방 생성 억제 효과 확인을 위한 참모자반 추출물/분획물의 처리**

[0075] 상기 실시예 <3-1>에서와 같이 배양된 3T3-L1 세포를 24 웰 플레이트에 2.5×10^4 개/웰의 농도로 분주한 후, 포화(confluent) 상태가 되면 다시 2일 정도 더 배양하였다. DMEM 배지에 우태아혈청(FBS), MDI, 및 서로 다른 농도(0, 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 시료들(상기 실시예 <1-1>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 참모자반의 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물)을 각각 첨가하여 세포를 6일간 더 배양하여 총 9일간 배양하였다.

[0076] **<3-4> 참모자반 추출물/분획물의 지방세포 분화 및 지방 생성 억제 효과**

[0077] 상기 실시예 <1-1>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 참모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물의 지방세포 분화 지방생성 억제 효과를 확인하고자 Park 등(Journal of Life Science 2011 Vol.21. No.5. 720-728)의 문헌에 기재된 구체적인 세포내 지방구 염색 및 측정 방법에 따라 실험을 수행하였다.

[0078] 상기 실시예 <3-3>에서와 같이 참모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물이 처리되어 9일간 배양된 3T3-L1 세포에서 배지를 제거하고 PBS로 2회 세척한 다음, 10% 포르말린으로 1시간 동안 고정시켰다. 상기와 같이 고정된 세포를 다시 증류수로 3번 세척하고 150 mg/ml의 Oil Red O(Sigma Aldrich, 60% 이소프로판올) 염색약으로 실온에서 2시간 동안 염색시켰다. 남은 염색약은 증류수로 세척한 후 90% 글리세롤로 마운팅하여 현미경으로 관찰하였다. 관찰 후, 100% 이소프로판올로 염색된 시약을 용해하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0079] 그 결과, 도 4 내지 도 6에 나타난 바와 같이, 참모자반 주정 추출물은 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도범위 내에서(도 4), 참모자반 n-헥산 분획물(도 5) 또는 디클로로메탄 분획물(도 6)은 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도범위 내에서 3T3-L1의 지방세포 분화 및 지방생성을 농도 의존적으로 저해시키는 것으로 나타났다.

[0080] 상기와 같은 결과로부터, 참모자반 주정 추출물, 이의 n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물은 세포에 독성을 나타내지 않는 범위내에서 지방세포로의 분화와 지방생성 및 축적을 억제시킬 수 있음을 알 수 있다.

[0081] **<3-5> 지방세포 내 지방 생성/축적 억제 효과 확인을 위한 참모자반 추출물/분획물의 처리**

[0082] 상기 실시예 <3-1>에서와 같이 배양된 3T3-L1 세포를 24 웰 플레이트에 2.5×10^4 개/웰의 농도로 분주한 후, 포화 상태가 되면 다시 2일 정도 더 배양하였다. DMEM 배지에 FBS 및 MDI를 첨가하여 세포를 3일간 배양한 후 다시 FBS, 인슐린 및 서로 다른 농도(0, 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 시료들(상기 실시예 <1-1>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 참모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물)을 2일 간격으로 교체하며 6일간 더 배양하여 총 11일간 배양하였다.

[0083] **<3-6> 참모자반 추출물/분획물의 지방세포 내 지방 생성/축적 억제 효과**

[0084] 상기 실시예 <1-1>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 참모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물이 분화된 지방세포 내에서 지방 생성 및 축적을 억제하는 효과가 있는지 확인하기 위하여, Min 등(Kor. J. Pharmacogn. 2010 41(4): 270-274)의 문헌에 기재된 구체적인 세포내 지방구 염색 및 측정 방법에 따라 실험을 수행하였다.

[0085] 상기 실시예 <3-5>에서와 같이 참모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물이 처리되어 11일간 배양된 3T3-L1 세포를 상기 실시예 <3-4>의 Oil Red O 염색법으로 염색하여 지방세포를 현미경으로 관찰하였다. 관찰 후, 100% 아이소프로판올로 염색된 시약을 용해하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다.

[0086] 그 결과, 도 7 내지 도 9에 나타난 바와 같이, 참모자반 주정 추출물은 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도범위 내에서(도 7), 참모자반 n-헥산 분획물(도 8) 또는 디클로로메탄 분획물(도 9)은 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도범위 내에서 분화된 지방세포의 지방 생성 및 축적을 농도 의존적으로 저해시키는 것으로 나타났다.

[0087] 상기와 같은 결과로부터, 참모자반 주정 추출물, 이의 n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물은 세포에 독성

을 나타내지 않는 범위내에서 분화된 지방세포의 지방생성 및 축적을 억제시킬 수 있음을 알 수 있다.

실시예 4

[0088] 외톨개모자반 추출물 또는 분획물의 인 비트로(in vitro) 항비만 효과 확인

[0089] <4-1> 외톨개모자반 추출물/분획물의 세포독성 효과

[0090] 외톨개모자반 추출물의 세포독성 효과를 확인하기 위하여, 서로 다른 농도(0, 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/ml}$)의 시료들(상기 실시예 <1-2>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 외톨개모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 및 디클로로메탄 분획물)이 각각 함유된 DMEM 배지에서 24시간 동안 배양된 3T3-L1 세포를 대상으로, 상기 실시예 <3-2>과 같은 방법을 통해 세포 생존률을 확인하였다.

[0091] 그 결과, 도 10에 나타난 바와 같이, 외톨개모자반 주정 추출물은 400 $\mu\text{g/ml}$, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물은 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도까지 세포 독성이 나타나지 않는 무독성 물질임을 확인하였다(도 10).

[0092] <4-2> 외톨개모자반 추출물/분획물의 지방세포 분화 및 지방 생성 억제 효과

[0093] 외톨개모자반 추출물의 지방세포 분화 및 지방 생성 억제 효과를 확인하기 위하여, 상기 실시예 <1-2>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 외톨개모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 및 디클로로메탄 분획물을 이용하여 상기 실시예 <3-3>과 같은 방법으로 배양한 3T3-L1 세포를 대상으로, 상기 실시예 <3-4>와 같은 방법으로 실험을 수행하였다.

[0094] 그 결과, 도 11 내지 도 13에 나타난 바와 같이, 외톨개모자반 주정 추출물(도 11), n-헥산 분획물(도 12) 및 디클로로메탄 분획물(도 13)은 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도범위 내에서 3T3-L1의 지방세포 분화 및 지방 생성을 농도 의존적으로 저해시키는 것으로 나타났다.

[0095] 상기와 같은 결과를 통해서, 외톨개모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물은 세포에 독성을 나타내지 않는 범위내에서 지방세포로의 분화와 지방생성 및 축적을 억제시킬 수 있음을 알 수 있다.

실시예 5

[0096] 팽생이모자반 추출물 또는 분획물의 인 비트로(in vitro) 항비만 효과 확인

[0097] <5-1> 팽생이모자반 추출물/분획물의 세포독성 효과

[0098] 팽생이모자반 추출물의 세포독성 효과를 확인하기 위하여, 서로 다른 농도(0, 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/ml}$)의 시료들(상기 실시예 <1-3>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 팽생이모자반 주정 추출물, n-헥산 분획물 및 디클로로메탄 분획물)이 각각 함유된 DMEM 배지에서 24시간 동안 배양된 3T3-L1 세포를 대상으로, 상기 실시예 <3-2>과 같은 방법을 통해 세포 생존률을 확인하였다.

[0099] 그 결과, 도 14에 나타난 바와 같이, 팽생이모자반의 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물은 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도까지 세포 독성이 나타나지 않는 무독성 물질임을 확인하였다(도 14).

[0100] <5-2> 팽생이모자반 추출물/분획물의 지방세포 분화 및 지방 생성 억제 효과

[0101] 팽생이모자반 추출물의 지방세포 분화 및 지방 생성 억제 효과를 확인하기 위하여, 상기 실시예 <1-3>, <2-1> 및 <2-2>에서 각각 수득한 팽생이모자반의 주정 추출물, n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물을 이용하여 상기 실시예 <3-3>과 같은 방법으로 배양한 3T3-L1 세포를 대상으로, 상기 실시예 <3-4>와 같은 방법으로 실험을 수행하였다.

[0102] 그 결과, 도 15 내지 도 17에 나타난 바와 같이, 팽생이모자반 주정 추출물(도 15), n-헥산 분획물(도 16) 및 디클로로메탄 분획물(도 17)은 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도범위 내에서 3T3-L1의 지방세포 분화 및 지방 생성을 농도 의존적으로 저해시키는 것으로 나타났다.

[0103] 상기와 같은 결과를 통해서, 팽생이모자반 주정 추출물, 이의 n-헥산 분획물 또는 디클로로메탄 분획물은 세포에 독성을 나타내지 않는 범위내에서 지방세포로의 분화와 지방생성 및 축적을 억제시킬 수 있음을 알 수 있다.

실시예 6

[0104] 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반 추출물의 인 비보(in vivo) 항비만 효과 확인

[0105] 상기 실시예 1에서 각각 수득한 모자반류 주정 추출물의 생체 내 체중 증가 저해 효과를 확인하고자 Seo 등(J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2010 39(11), 1604-1610)의 문헌에 기재된 구체적인 방법에 따라 인 비보 실험을 수행하였다.

[0106] 7 주령의 C57BL/6 수컷 마우스((주)샘타코, 한국) 45마리를 온도 22±2 ℃, 습도 55±5 %, 명암 12시간 주기인 환경의 사육실에서 일주일 동안 적응시킨 후, 상기 45마리의 마우스를 각각 9마리씩, 정상식이(normal diet, ND)를 섭취시킨 음성대조군, 고지방식이만을 섭취시킨 양성대조군(high fat diet, HFD), 고지방식이와 2%의 참모자반 주정 추출물을 투여한 제1 실험군(SFF 2%), 고지방식이와 2%의 외톨개모자반 주정 추출물을 투여한 제2 실험군(MME 2%) 및 고지방식이와 2%의 팽생이모자반 주정 추출물을 투여한 제3 실험군(SHE 2%)으로 각각 구분하였다. 상기 마우스들의 체중은 모자반류 주정 추출물 투여 개시 직전 및 투여 개시 후 주 1회 측정하였다. 실험에 사용된 식이는 Rodent Diet with 60% kcal fat (Research Diets, Inc.) 고형식이를 변형하여 조제하였다.

[0107] 그 결과, 도 18에 나타난 바와 같이, 제1 내지 제3 실험군 모두에서 양성대조군(HFD)에 비하여 체중 증가량이 유의적으로 감소하였다. 특히, 12 주가 경과한 후, 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 주정 추출물을 첨가한 제1 내지 제3 실험군에서는 체중 증가량이 각각 약 50%, 42%, 37% 감소하였음을 확인할 수 있었다(도 18).

[0108] 상기와 같은 결과로부터, 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 주정 추출물은 인 비보에서 고지방식이에 의한 체중 증가를 저해하는 효능이 있음을 알 수 있다.

[0109] 이하, 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

[0110] <제제예 1> 약학적 제제의 제조

[0111] 본 발명의 참모자반, 외톨개모자반 및 팽생이모자반 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 약학적 제제는 다음과 같이 제조한다.

[0112] <1-1> 산제의 제조

[0113] <실시예 1>의 추출물 또는 <실시예 2>의 분획물 2g

[0114] 유당 1g

[0115] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0116] <2-2> 정제의 제조

[0117] <실시예 1>의 추출물 또는 <실시예 2>의 분획물 100mg

[0118] 옥수수전분 100mg

[0119] 유당 100mg

[0120] 스테아린산 마그네슘 2mg

[0121] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0122] <1-3> 캡슐제의 제조

[0123] <실시예 1>의 추출물 또는 <실시예 2>의 분획물 100mg

[0124] 옥수수전분 100mg

[0125] 유당 100mg

- [0126] 스테아린산 마그네슘 2mg
- [0127] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- [0128] <1-4> 환의 제조
- [0129] <실시에 1>의 추출물 또는 <실시에 2>의 분획물 1 g
- [0130] 유 당 1.5 g
- [0131] 글리세린 1 g
- [0132] 자일리톨 0.5 g
- [0133] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1 환 당 4 g이 되도록 제조한다.
- [0134] <1-5> 과립의 제조
- [0135] <실시에 1>의 추출물 또는 <실시에 2>의 분획물 150 mg
- [0136] 대두 추출물 50 mg
- [0137] 포도당 200 mg
- [0138] 전분 600 mg
- [0139] 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 60 ℃에서 건조하여 과립을 형성한 후, 포에 충전한다.
- [0140] <제제예 2> 식품의 제조
- [0141] 본 발명의 참모자반, 외톨개모자반 또는 팽생이모자반 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조한다.
- [0142] <2-1> 밀가루 식품의 제조
- [0143] 본 발명의 <실시에 1>의 추출물 또는 <실시에 2>의 분획물 0.5 ~ 5.0 중량을 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조한다.
- [0144] <2-2> 유제품(dairy products)의 제조
- [0145] 본 발명의 <실시에 1>의 추출물 또는 <실시에 2>의 분획물 5 ~ 10 중량%를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조한다.
- [0146] <1-3> 전식의 제조
- [0147] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 70메쉬의 분말로 제조한다. 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 70메쉬의 분말로 제조한다. 본 발명의 <실시에 1>의 추출물 또는 <실시에 2>의 분획물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 70메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻는다. 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 <실시에 1>의 추출물 또는 <실시에 2>의 분획물의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조한다.
- [0148] 곡물류(현미 30중량%, 율무 15중량%, 보리 20중량%),
- [0149] 종실류(들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%),
- [0150] <실시에 1>의 추출물 또는 <실시에 2>의 분획물의 건조분말(3 중량%),
- [0151] 영지(0.5중량%), 및
- [0152] 지황(0.5중량%).

[0153] <제제예 3> 음료의 제조

[0154] <3-1> 건강음료의 제조

[0155] <실시예 1>의 추출물 또는 <실시예 2>의 분획물 1000 mg

[0156] 구연산 1000 mg

[0157] 올리고당 100 g

[0158] 매실농축액 2 g

[0159] 타우린 2 g

[0160] 정제수를 가하여 전체 900 ml

[0161] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 l 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

[0162] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성한 것이지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0163] <3-2> 야채주스의 제조

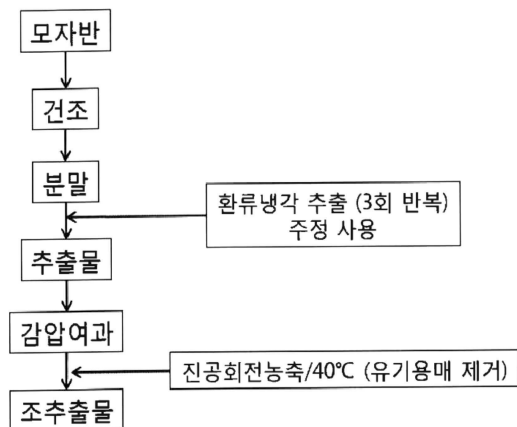
[0164] 본 발명의 <실시예 1>의 추출물 또는 <실시예 2>의 분획물 5g을 토마토 또는 당근 주스 1,000 ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조한다.

[0165] <3-3> 과일주스의 제조

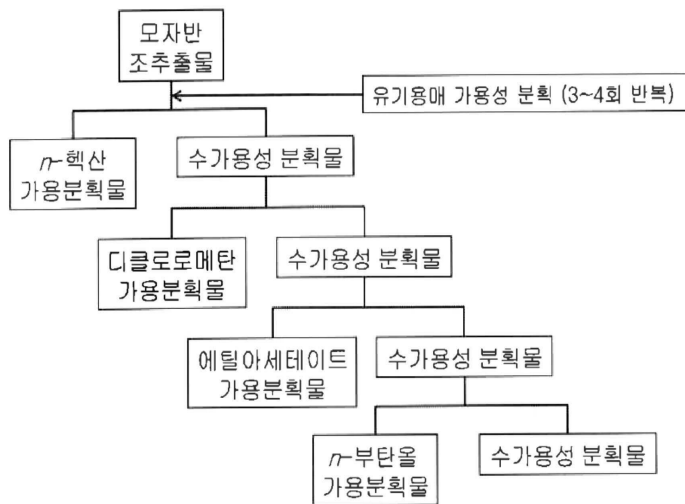
[0166] 본 발명의 <실시예 1>의 추출물 또는 <실시예 2>의 분획물 1 g을 사과 또는 포도 주스 1,000 ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조한다.

도면

도면1

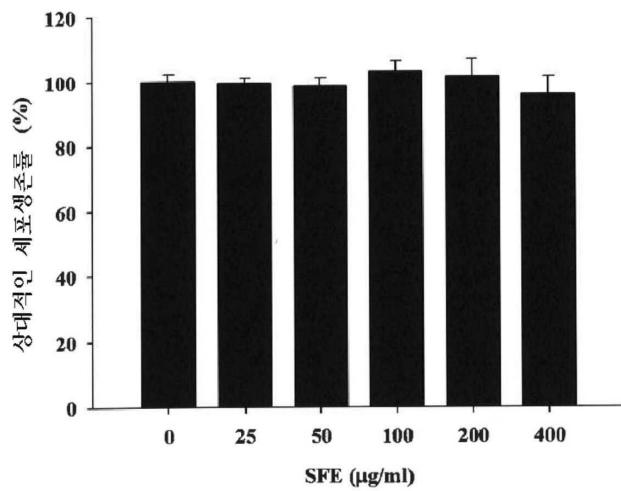


도면2

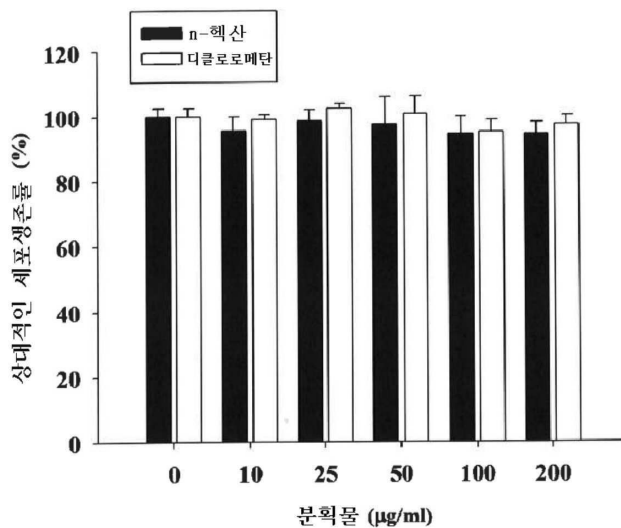


도면3

(a)

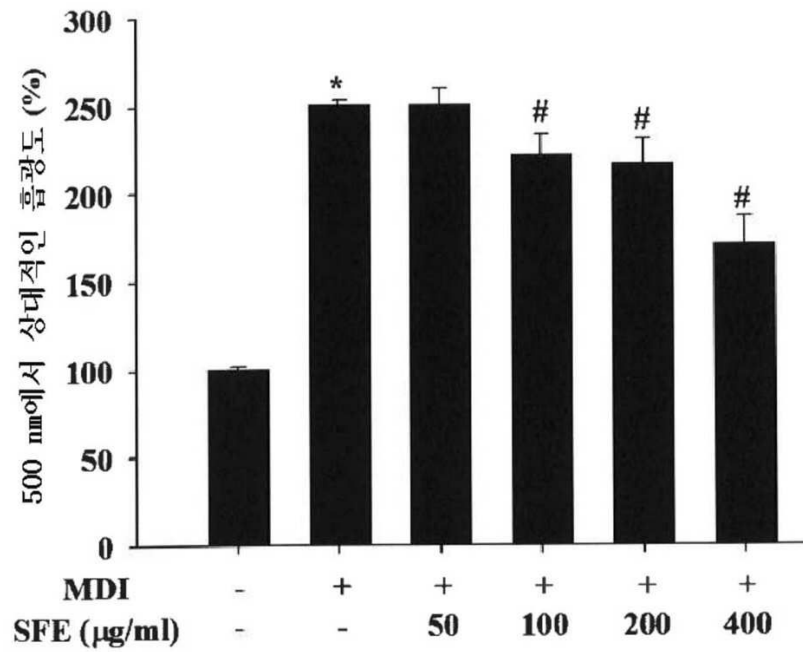


(b)

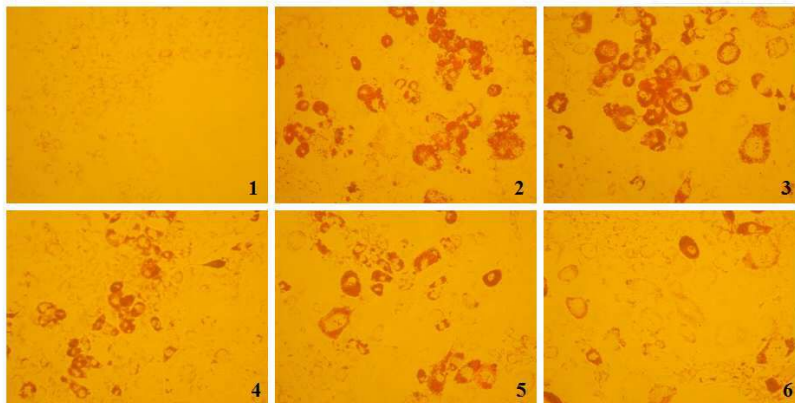


도면4

(a)



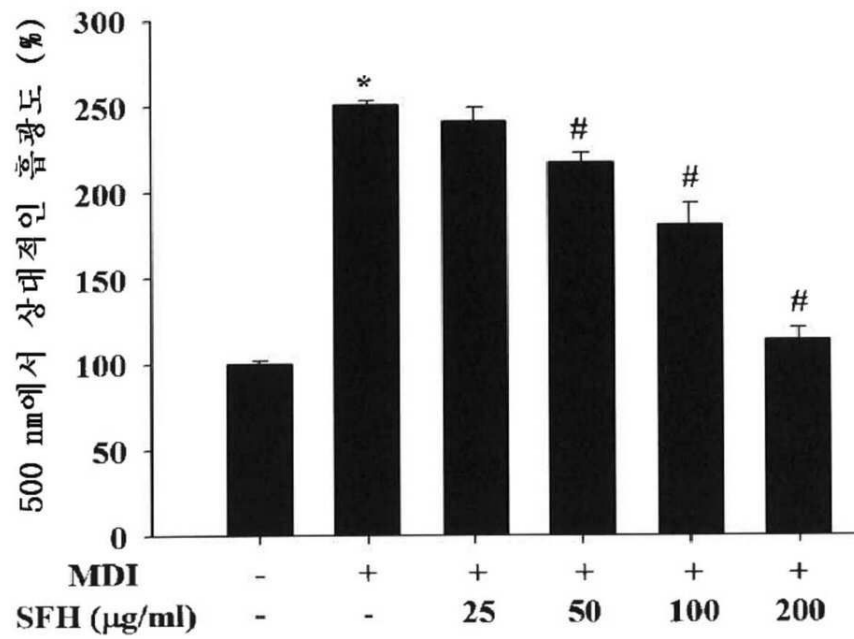
(b)



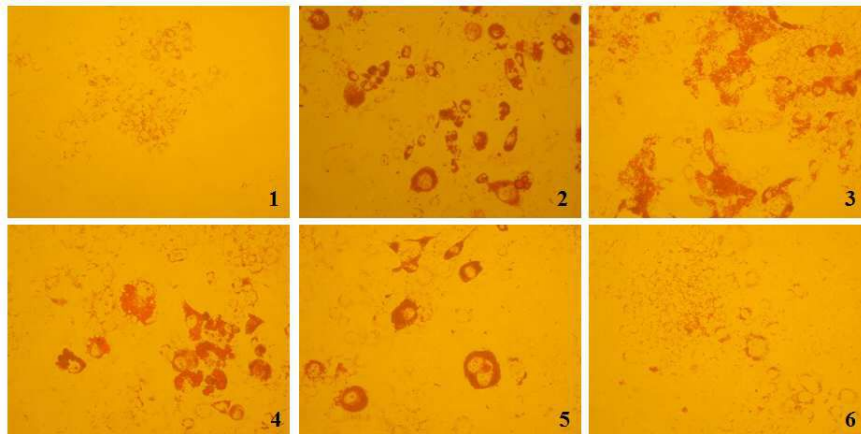
1, 대조군; 2, MDI (IBMX, 덱사메타손, 인슐린);
3, MDI + SFE 50 µg/ml; 4, MDI + SFE 100 µg/ml;
5, MDI + SFE 200 µg/ml; 6, MDI + SFE 400 µg/ml

도면5

(a)



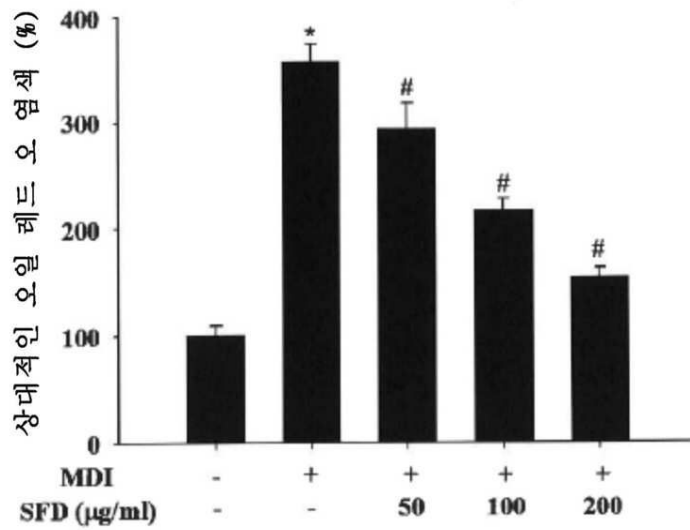
(b)



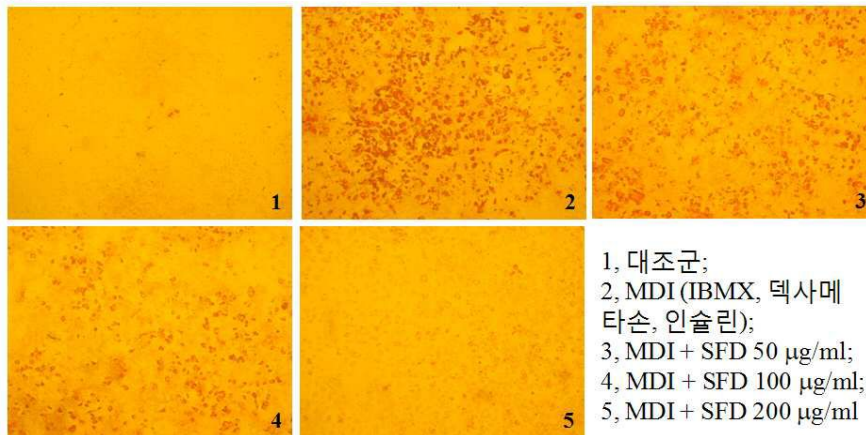
1, 대조군; 2, MDI (IBMX, 덱사메타손, 인슐린);
3, MDI + SFH 25 μg/ml; 4, MDI + SFH 50 μg/ml;
5, MDI + SFH 100 μg/ml; 6, MDI + SFH 200 μg/ml

도면6

(a)

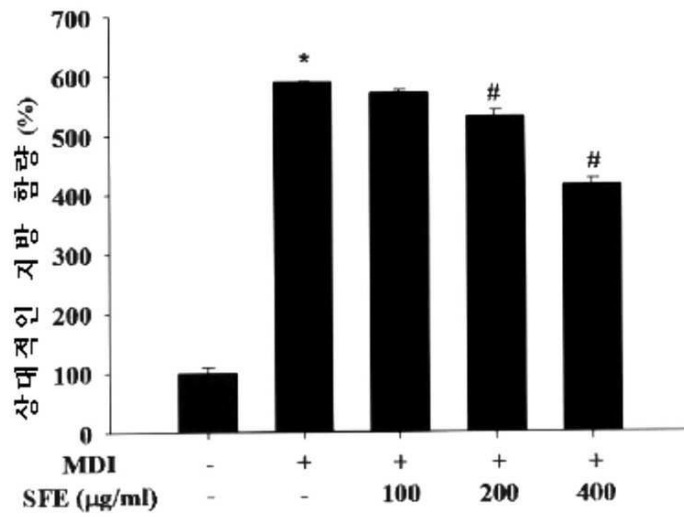


(b)

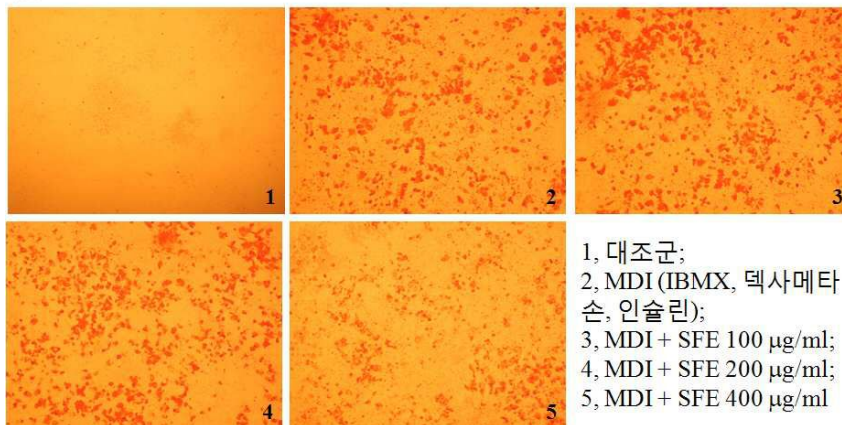


도면7

(a)

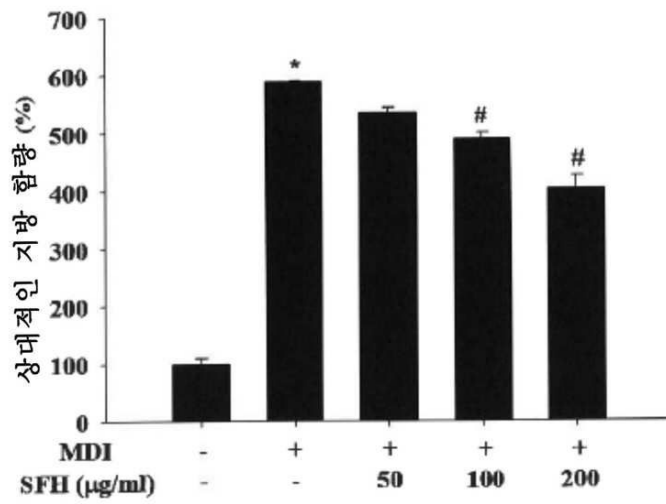


(b)

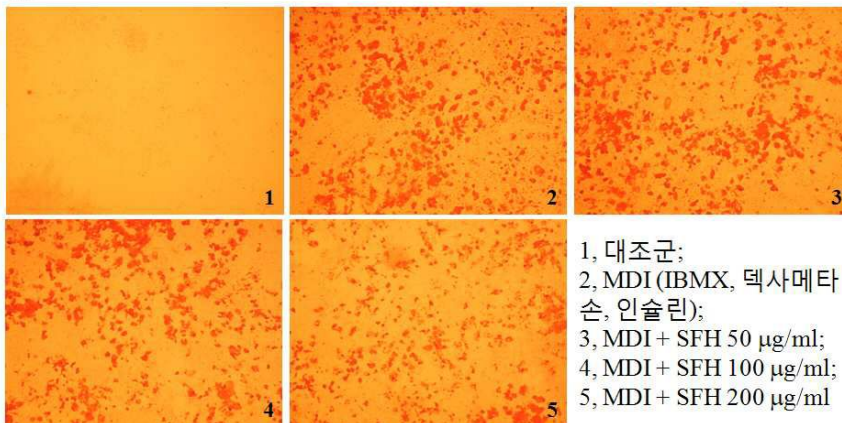


도면8

(a)

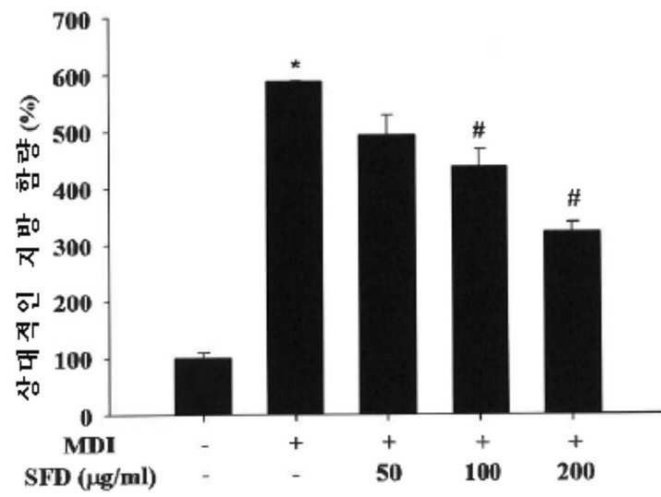


(b)

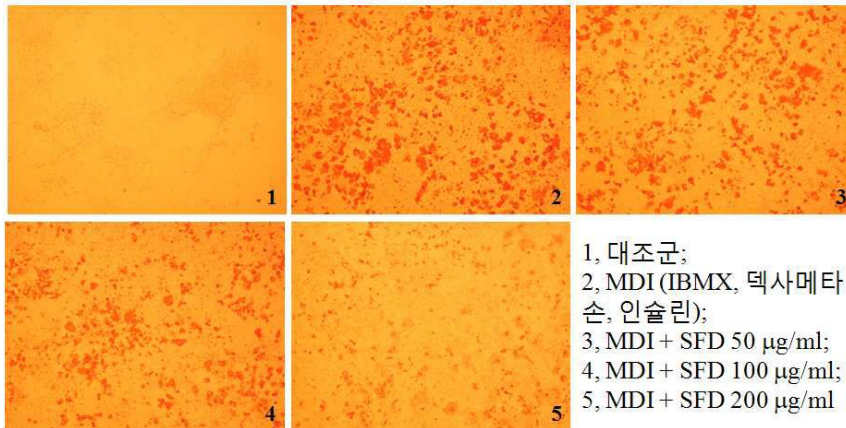


도면9

(a)

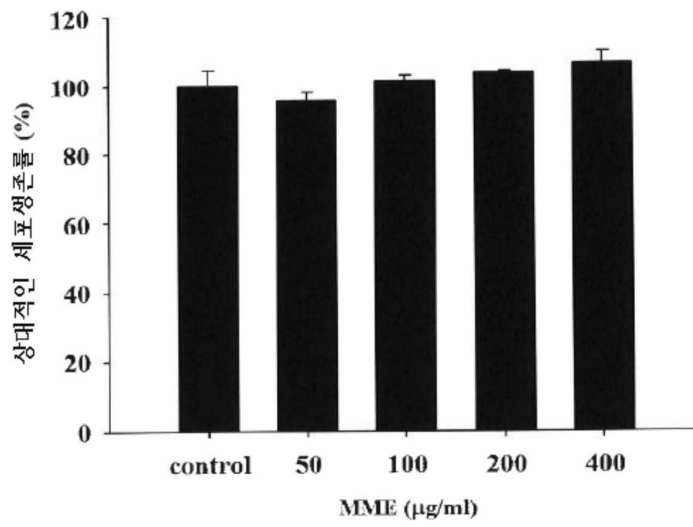


(b)

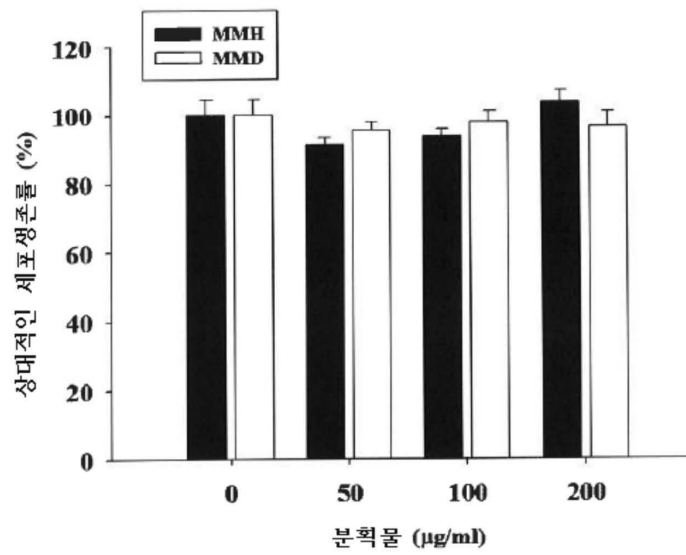


도면10

(a)

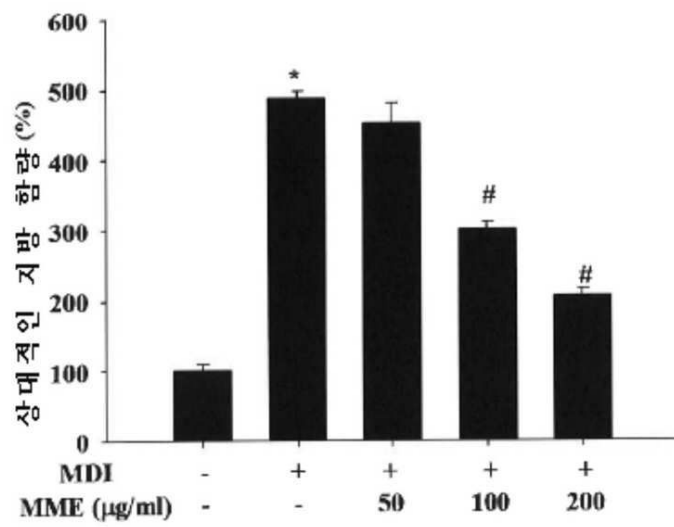


(b)

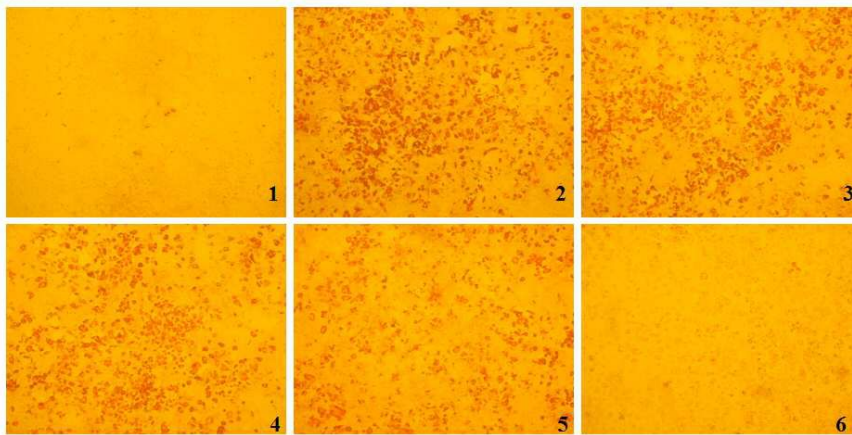


도면11

(a)



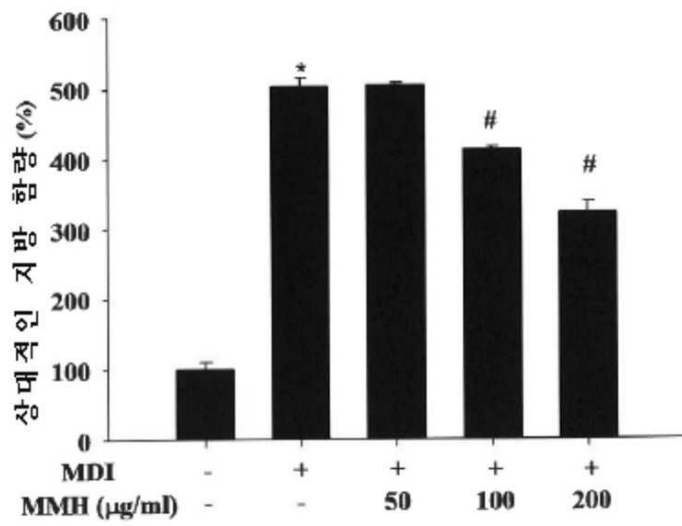
(b)



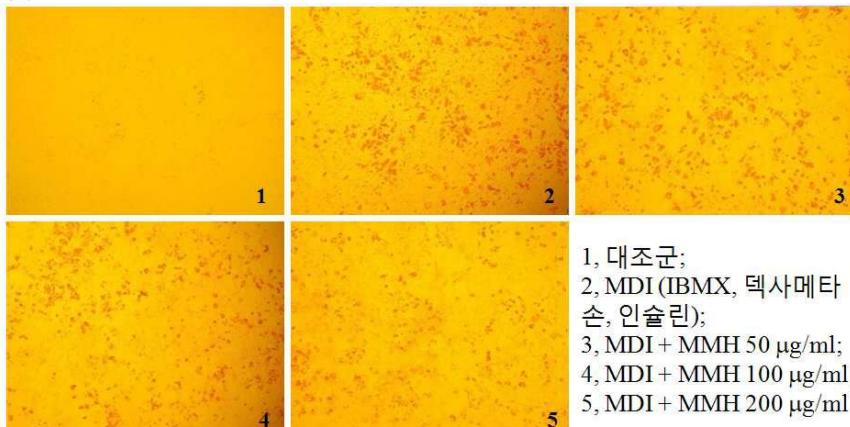
1, 대조군; 2, MDI (IBMX, 덱사메타손, 인슐린);
3, MDI + MME 25μg/ml; 4, MDI + MME 50μg/ml;
5, MDI + MME 100 μg/ml; 6, MDI + MME 200 μg/ml

도면12

(a)

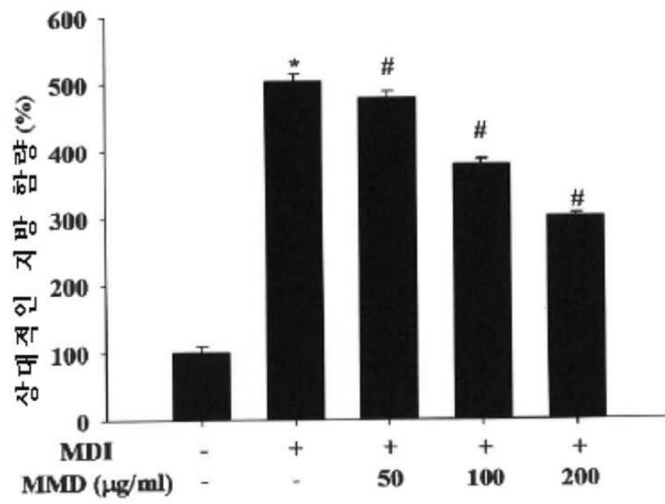


(b)

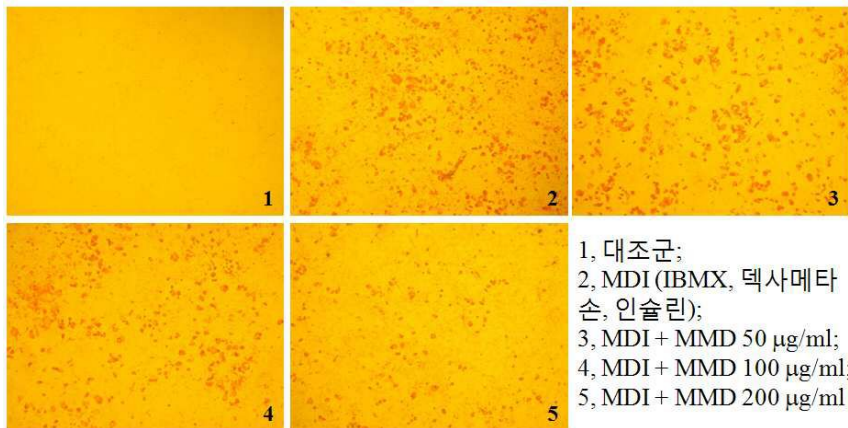


도면13

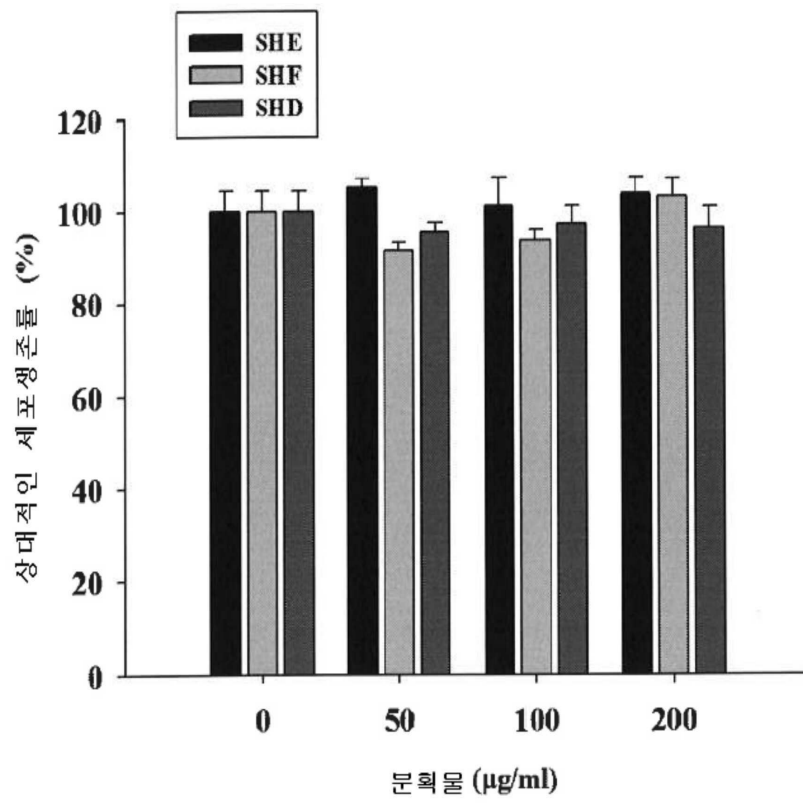
(a)



(b)

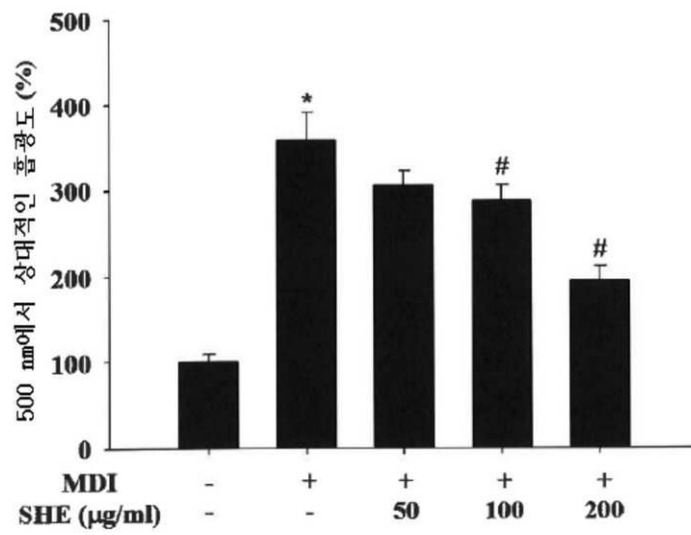


도면14

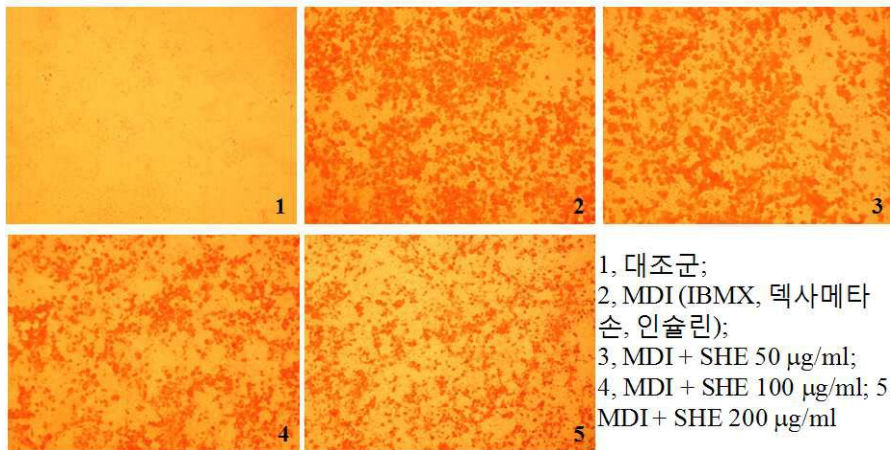


도면15

(a)

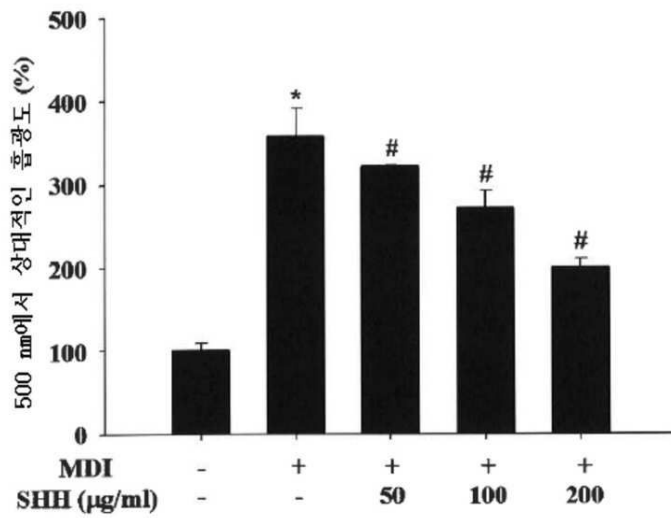


(b)

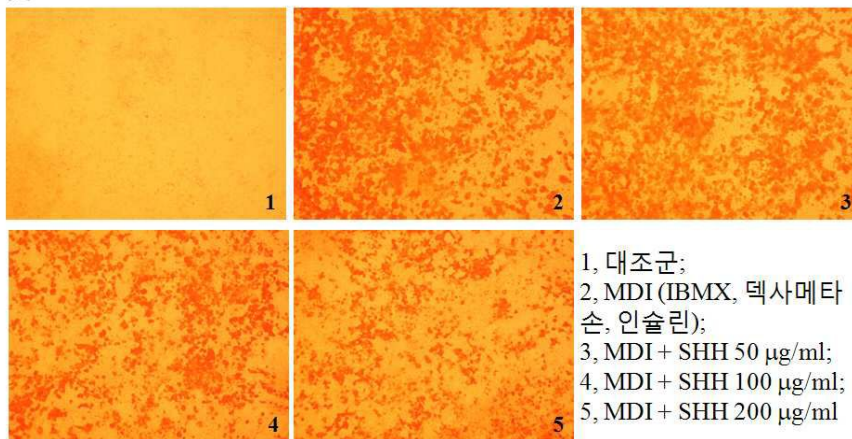


도면16

(a)

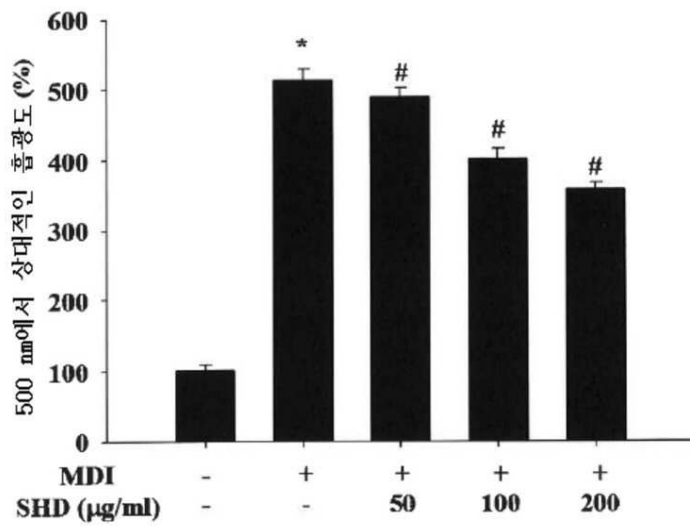


(b)

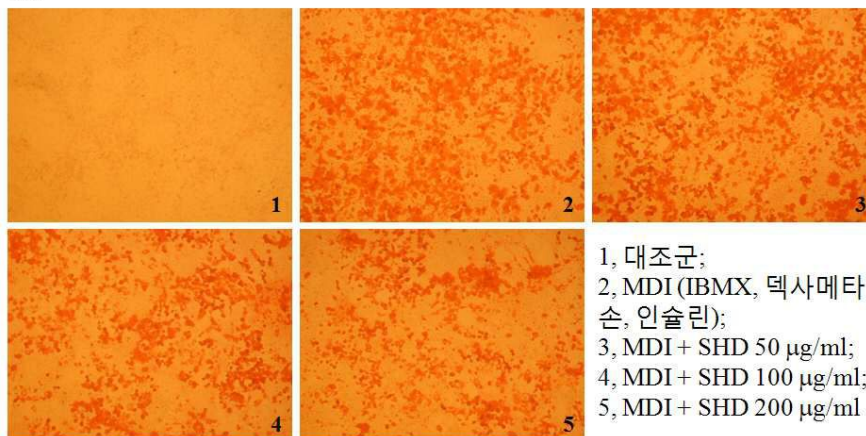


도면17

(a)



(b)



도면18

