(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0096193
(43) 공개일자 2011년08월30일

(51) Int. Cl.
A61K 36/62 (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0015501
(22) 출원일자 2010년02월22일
심사청구일자 2010년02월22일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천 남구 용현동 253 인하대학교
(72) 발명자
장경자
인천광역시 남구 용현동 253 인하대학교 식품영양학과
두환
인천광역시 남구 용현동 253 인하대학교 식품영학과
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

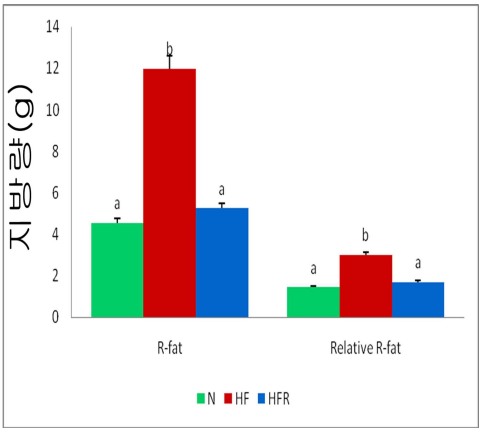
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 연근 추출물을 함유하는 대사성 질환 예방 및 치료용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 연근 추출물을 함유하는 복부비만 또는 지방간의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출된 연근 추출물을 복부비만 또는 지방간의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도2



(72) 발명자

유정순

인천광역시 남구 용현동 253 인하대학교 식품영학과

자오슈

인천광역시 남구 용현동 253 인하대학교 식품영학과

박지연

인천광역시 남구 용현동 253 인하대학교 식품영학과

특허청구의 범위

청구항 1

연근(*Nelumbo nucifera* root) 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 연근 추출물은 물, C_1 ~ C_4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것을 특징으로 하는 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올인 것을 특징으로 하는 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물.

청구항 4

연근 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간 예방 및 개선용 건강식품.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 연근(*Nelumbo nucifera* root) 추출물을 함유하는 대사성 질환인 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료제에 관한 것이다.

[0002]

배 경 기 술

[0003] 대사장애는 일반적으로 심혈관 질병을 결정짓는 위험 요소로, 비만, 당뇨병, 인슐린 저항증(insulin resistance), 지질 대사 이상, 고중성지방혈증 (hypertriglyceridemia), 유리지방산의 증가, 고밀도 콜레스테롤의 감소 및 고혈압 등의 병들이 대사성 질환에 포함된다. 대사장애는 유전적인 결함으로 인해서 신체의 대사과정에 문제가 생성되어 발생된다. 대부분 대사장애의 유전적 결함은 부모로부터 유전되며, 대사장애의 원인이 되는 유전자의 종류는 다양하다고 밝혀졌다. 대사과정은 신체에서 섭취한 음식물을 사용할 수 있는 에너지로 전환하는 일련의 과정을 일컫는다. 신체는 효소를 이용하여 음식물을 잘게 분해한 후 소화시킬 수 있는 간단한 형태로 만든다. 또한 세포 내의 또 다른 효소는 음식물로부터 섭취할 수 없는 형태의 물질을 에너지원으로 사용하기 위하여 생성하는 역할을 한다. 즉, 대사장애의 유전적인 결함은 대사에 필요한 효소가 정상적으로 활동할 수 없거나, 신체가 생성하는 효소의 양이 극도로 감소하거나, 없어지는 경우에 발생한다. 또한 유전적 결함으로 인해 섭취된 물질이 분해되지 않고, 신체 내에서 독성을 갖게 되는 경우도 발생하며, 신체에서 필요한 물질을 대사과정을 통해서 공급할 수 없는 결과가 초래되기도 한다.

[0004] 현대 사회에서 비만은 다양한 원인에 의해 체내의 지방 축적량이 증가하여 발생하고 있으며, 체내의 과도한 지방 축적의 위험에 대해서는 그리스 시대부터 알려졌다고 하나, 이로 유도되는 병에 대해서는 지난 세기 비만이 영양부족을 제치고 주요한 문제로 자리매김하면서 그 중요성이 평가되기 시작하였다. 또한, 비만은 고혈압, 당뇨병, 심장질환, 동맥경화, 고지혈증과 같은 대사성 질환으로 발전할 수 있기 때문에 그 치료와 예방이 중요하다. 또한 근래에는 비만, 당뇨병, 고지혈증 등의 증가로 비 알코올성 지방 간염이 증가하고 있으며, 일부는 간경변증으로 진행되는 것으로 알려져 있다. 더욱이 지방간이 단순한 간 질환이 아니라 대사 질환의 초기 증상으로 여겨지면서 비만으로 인한 지방간의 조기 진단과 치료의 중요성이 커지고 있다.

[0005] 비만을 예방하고 치료하기 위해서 지방의 흡수를 억제하거나, 식욕을 저하하는 목적으로 다양한 식이요법, 운동요법, 정신요법 등을 선택하며, 이런 방법이 충분하지 않은 경우에는 중추성 식욕억제제, 지방의 흡수를 막는 흡수 억제제, 콜레스테롤 혹은 중성 지방의 강하제, 항산화제 등의 약물 치료를 병행하게 된다. 그러나 현재까지 비만 치료제로 사용되는 이러한 약물들은 불면증, 발진, 메스꺼움, 두통, 발진 등 많은 부작용이 있다.

[0006] 연(*Nelumbo nucifera*)은 민간요법으로 널리 활용되어 왔다. 연의 잎, 뿌리, 줄기, 꽃, 열매, 어린 눈 및 어린 뿌리에 이르기까지 다양한 부위가 약재로서 이용되어 왔다. 잎은 갈아서 설사를 치료하는데 사용하고, 감초와 함께 달여서 일사병을 치료하는데 사용하였다. 꽃잎은 달여서 조루증을 치료하고, 꽃 턱받침은 달여서 복부의 경련이나 하혈을 치료하는데 사용하였다. 또한, 연꽃 줄기는 위궤양이나 생리 혹은 산후 출혈이 심한 경우에 지혈을 위해서 사용되었다. 꽃의 수술은 빈뇨, 조루, 체내에서 적혈구가 붕괴하여 헤모글로빈(hemoglobin)이 혈구(血球) 밖으로 용출되는 용혈증상 혹은 여성의 하혈에 사용되었다. 열매는 달여서 불안, 열, 심장 통증에, 씨앗에는 알칼로이드(alkaloids)와 플라보노이드(flavonoids)가 함유되어 있으므로, 혈압강하, 혈관 확장 및 진정제로 사용되었다. 연의 씨앗은 콜레스테롤 수치를 낮추며, 자궁의 평활근을 이완시키며 소화장애, 장염, 만성설사, 정액루(spermatorrhoea, 精液漏), 불면증, 심박수 이상 등에 사용되었다.

[0007] 이에, 본 발명자들은 연근 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 고지방식이군 Sprague-Dawley 수컷 쥐에게 경구 투여하여 연근 추출물의 기능성을 규명한 결과, 복부 및 간 조직에서 지방 함유량이 감소하고, 간 조직의 지질과산화물 함량의 수치가 감소하며, 간 조직에 있는 항산화 효소의 활성을 상승시키는 결과를 나타냄으로써, 연근 추출물을 대사성 질환인 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물로서 유용하게 사용될 수 있음을 발견함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 연근(*Nelumbo nucifera* root) 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간의 예방 및 치료용 조성물, 및 건강식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 연근(*Nelumbo nucifera* root) 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간의 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 아울러, 본 발명은 연근 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간의 예방 및 개선용 건강식품을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 연근 추출물을 고지방식이와 함께 쥐에게 먹였을 때, 체중의 감소, 복부 및 간조직에서 지방 감소의 효과를 보이며, 간의 지질과산화물 함량 감소효과와 더불어 간 조직에 있는 항산화 효소의 활성을 상승시키는 효과를 보이므로, 연근 추출물을 대사성 질환인 복부비만 또는 지방간의 예방 및 치료용 조성물, 및 건강식품으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 연근 추출물의 체중감소의 효과를 나타낸 그래프이다:

N: 정상식이군;

HF: 고지방식이군;

HFR: 고지방식이군에 연근 추출물 경구 투여한 군;및

*: p< 0.05

도 2는 연근 추출물의 복부 지방 축적 저해 효과를 나타낸 그래프이다:

N: 정상식이군;

HF: 고지방식이군;

HFR: 고지방식이군에 연근 추출물 경구 투여한 군;

R-fat: 후복막 지방(retroperitoneal fat pad)의 양;

Relative R-fat: 체중 100g 당 후복막 지방의 양; 및

a, b : 일원분산분석 후 Duncan's multiple range test로 사후 검증시 유의수준 p<0.05에서 차이가 있음.

도 3은 연근 추출물의 지방 축적 저해 효과를 지방 조직에서 확인한 그림이다:

N: 정상식이군;

HF: 고지방식이군; 및

HFR: 고지방식이군에 연근 추출물 경구 투여한 군.

도 4는 연근 추출물의 지방 축적 저해 효과를 간 조직에서 확인한 그림이다:

N: 정상식이군;

HF: 고지방식이군; 및

HFR: 고지방식이군에 연근 추출물 경구 투여한 군.

도 5는 연근 추출물의 간의 지질과산화물의 함량을 나타낸 그래프이다:

N: 정상식이군;

HF: 고지방식이군;

HFR: 고지방식이군에 연근 추출물 경구 투여한 군;

a, b: 일원분산분석 후 Duncan's multiple range test로 사후 검증시 유의수준 p<0.05에서 차이가 있음; 및

ab: a나 b라고 표시된 군과 유의적으로 차이가 없음.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0014] 본 발명은 연근(*Nelumbo nucifera* root) 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 유효성분인 연근 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다:

[0016] 1) 연근(*Nelumbo nucifera* root)을 채취한 후 세척하는 단계;

[0017] 2) 단계 1)의 세척한 연근을 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출하는 단계;

[0018] 3) 단계 2)의 추출물을 여과하는 단계;

[0019] 4) 단계 3)의 여과물을 감압 농축하는 단계; 및

[0020] 5) 단계 4)의 농축물을 동결 건조하는 단계.

[0021] 본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 1)의 연근은 재배한 것 또는 시판되는 것을 제한없이 사용할 수 있다.

[0022] 본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 2)의 알코올은 C_1 내지 C_4의 저급 알코올 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출시 용매를 연근의 1/10 내지 1/70배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 1/40배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 상기 용매를 가한 후 환류 냉각하여 추출하는 것이 바람직하다. 추출시 물중탕의 물의 온도는 80℃ ~ 120℃인 것이 바람직하며, 90℃인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한 추출시간은 30분 ~ 4시간이 바람직하며, 2시간이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 아울러 추출 횟수는 1 내지 3회인 것이 바람직하며, 2회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 방법에 의하여 연근을 추출, 여과, 감압 농축한 뒤, 수분을 제거시켜 동결 건조하여 연근 추출물을 수득하였다.

[0023] 본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 3)의 감압농축은 진공 감압 농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0024] 본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 4)의 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0025] 본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 5)의 동결건조는 당업자에게는 상용화된 동결건조기를 구입하여, 그 사용절차에 따라 통상의 식품제조에서 널리 알려진바 대로 수행하는 것에 의해 용이하게 실시할 수 있을 정도로 공지된 것으로 이해될 수 있다.

[0026] 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조된 연근 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명의 연근추출물의 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물로서의 효능을 확인하기 위하여, 연근의 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출물을 얻었으며(실시예 1 참조), 복부비만 또는 지방간 예방 및 치료용 조성물에 함유된다고 알려진 연잎, 연수, 및 연과육과의 효과를 비교하기 위하여 추출하였다(비교예 1, 2 및 3 참조).

[0028] 본 발명의 한가지 실시예에서는 <실시예 1>의 연근 추출물을 고지방식이를 공급한 쥐에 경구 투여하였을 때, 대사성 질환의 하나인 복부비만의 예방 및 치료에의 효과를 알아보기 위하여 체중 변화를 측정한 결과, 고지방식이군을 공급받은 후 <실시예 1>의 연근 추출물 또는 <비교예>의 연잎, 연수, 및 연과육 추출물을 공급하였을 때, <비교예>의 연잎, 연수, 및 연과육 추출물보다 체중이 가장 효과적으로 감소함을 확인할 수 있었다(도 1 및 표 4 참조).

[0029] 또한, 본 발명의 한가지 실시예에서는 고지방식이를 공급한 군에 연근 추출물을 투여한 후, 복부의 지방 축적량 변화를 확인한 결과, 연근 추출물을 투여받은 군이 고지방식이를 투여받은 군에 비해서 복부지방량이 유의하게 감소하는 결과를 확인할 수 있었다(도 2 및 표 5 참조).

[0030] 또한, 본 발명의 한가지 실시예에서는 지방 조직 및 간 조직을 관찰한 결과, 정상식이군과 비교했을 때 고지방식이군에서는 지방 및 간 세포의 모양이 불규칙하며, 크기가 커져 지방이 축적이 상승함을 확인할 수 있는 반면, 연근 추출물을 투여받은 군에서는 세포의 모양 및 크기가 정상식이군과 비슷한 결과를 관찰할 수 있었다(도 3 및 도 4 참조).

[0031] 또한, 본 발명의 한가지 실시예에서는 고지방식이와 연근 추출물을 함께 투여하였을 때 지질과산화물 함량의 변화를 측정한 결과, 간조직에서 연근 추출물을 투여하였을 때, 지질과산화물의 감소를 관찰할 수 있었다(도 5 참조).

[0032] 아울러, 본 발명의 한가지 실시예에서는 [표 6]에 나타난 바와 같이, <실시예 1>의 연근 추출물과 <비교예>의 연잎, 연수, 및 연과육 추출물을 경구투여하였을 때, <실시예 1>의 연근 추출물을 투여한 군에서 간의 항산화 효소인 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(super oxide dismutase, SOD), 글루타티온 과산화 효소(glutathione peroxidase, GSH-Px) 및 카탈레이즈(catalase)의 활성이 고지방식이에 비해서 모두 증가되는 것을 관찰할 수 있었으며, GSH-Px와 catalase의 경우에는 정상식이군보다 증가되는 결과를 확인할 수 있었다(표 6 참조).

[0033] 따라서, 복부 및 간조직에서 지방 함유량이 감소되고, 간조직의 지질과산화물 함량의 수치가 감소되며, 간조직에 있는 항산화 효소의 활성을 상승시키는 결과를 나타냄으로써, 연근 추출물은 대사성 질환인 복부비만 또는

지방간 예방 및 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0034] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여(예를 들어, 도포 또는 정맥 내, 피하, 복강 내 주사)할 수 있으나 경구 투여가 바람직하다.

[0035] 비경구 투여를 위한 제제로는 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 멸균된 수용액, 액제, 비수성용제, 현탁제, 에멀젼, 시럽, 좌제, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사제제의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제의 피부 외용 약학적 조성물을 제조하여 사용할 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다. 국소 투여의 조성물은 임상적 처방에 따라 무수형 또는 수성형일 수 있다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0036] 경구 투여를 위한 고형제제에는 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 연질캅셀제, 환 등이 포함된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 에어로졸 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0037] 상기 조성물은 투여를 위해서 연근 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 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 등으로 제제화할 수 있다.

[0038] 본 발명에 따른 약제학적으로 허용가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1~90 중량부 포함되는 것이 바람직하다.

[0039] 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 환자의 연령, 성별 및 비만의 정도에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 경구 투여제의 경우 일반적으로 성인에게 1일에 체중 1㎏당 본 발명의 조성물을 1일 0.0001 내지 100 ㎎/㎏으로, 바람직하게는 0.001 내지 100 ㎎/㎏으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0040] 본 발명의 복부비만 또는 지방간 치료용 조성물은 연근 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.

[0041] 아울러, 본 발명은 연근 추출물을 유효성분으로 함유하는 복부비만 또는 지방간을 예방 및 개선용 건강식품을 제공한다.

[0042] 본 발명의 연근 추출물을 고지방식이와 함께 쥐에게 먹였을 때, 체중의 감소, 복부와 간조직의 지방 감소 효과를 보이며, 간의 지질과산화물 함량 감소효과와 더불어 간 조직에 있는 항산화 효소의 활성을 상승시키는 효과를 보이므로, 연근 추출물을 대사성 질환인 복부비만 또는 지방간의 예방 및 개선용 건강식품으로 사용될 수 있다.

[0043] 본 발명의 연근 추출물은 식품학적으로 허용된 담체와 혼합하여 식품 조성물로서 제공될 수 있다.

[0044] 본 발명의 연근 추출물을 식품 또는 음료 첨가물로 사용할 경우, 상기 연근 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 상기 연근 추출물의 혼합양은 그의 사용목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0045] 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우, 상기 연근 추출물은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에, 장기간 복용이 가능하다.

[0046] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초

콜릿류, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있다.

[0047] 음료수로 제형화할 경우에 연근 추출물 이외에 첨가되는 액체 성분으로는 이제 한정되지는 않으나, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드(예, 포도당, 과당 등), 디사카라이드(예, 말토오스, 수크로오스 등) 및 폴리사카라이드(예, 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당), 및 자일리톨, 소르비톨, 에리스리톨 등의 당 알코올이다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖ 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제[타우마린, 스테비아 추출물(예, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(예, 사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.

[0048] 다른 양태로서, 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 또한 본 발명의 식품 조성물은 과일 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 단독으로 또는 조합으로 사용될 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 조성물 전체 중량당 0.001 내지 50 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0049] 이하, 본 발명을 실시예,실험예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.

[0050] 단, 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시예, 실험예 및 제조예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0051] **<실시예 1> 연근 추출물의 제조**

[0052] **<1-1> 열수 추출물**

[0053] 건조한 연근(인천 강화군 선원사에서 구입) 100g을 잘게 파쇄한 후, 2.5 g/100㎖의 비율로 90℃ 증류수 4ℓ에 2시간 동안 추출한 후 추출물을 감압여과시킨 후, 회전식 증발기(rotary vacuum evaporator)를 이용하여 수분을 제거한 후, 동결 건조 과정을 거쳐 30.3%의 수율로 총 30.3 g을 수득하였다. 하기 <실험예>에 사용할 때에는 건조한 시료를 400 ㎎/㎏ 체중으로 증류수에 섞어 경구투여한다.

[0054] **<1-2> 에탄올 추출물**

[0055] 연근을 잘게 파쇄한 후, 2.5 g/100 ㎖의 비율로 100% 에탄올 4ℓ에 2시간 동안 추출한 후 추출물을 상기와 같은 방법으로 27%의 수율로 총 27 g을 수득하였다.

[0056] **<비교예 1> 연잎 열수 추출물의 제조**

[0057] 건조한 연잎 100g을 잘게 파쇄한 후, 2.5 g/100 ㎖의 비율로 증류수 4ℓ에 2시간 동안 추출한 후 추출물을 감압여과시킨 후, 회전식 증발기를 이용하여 수분을 제거한 후, 동결 건조 과정을 거쳐 18.8%의 수율로 총 18.8 g을 수득하였다. 하기 <실험예>에 사용할 때에는 건조한 시료를 400 ㎎/㎏ 체중으로 증류수에 섞어 경구투여한다.

[0058] **<비교예 2> 연수 열수 추출물의 제조**

[0059] 연수를 잘게 파쇄한 후, 2.5 g/100 ㎖의 비율로 증류수 4ℓ에 2시간 동안 추출한 후 추출물을 감압여과시킨 후, 회전식 증발기를 이용하여 수분을 제거한 후, 동결 건조 과정을 거쳐 34%의 수율로 총 34 g을 수득하였다. 하기 <실험예>에 사용할 때에는 건조한 시료를 400 ㎎/㎏ 체중으로 증류수에 섞어 경구투여한다.

[0060] **<비교예 3> 연과육 열수 추출물의 제조**

[0061] 연과육을 잘게 파쇄한 후, 2.5 g/100 ㎖의 비율로 증류수 4ℓ에 2시간 동안 추출한 후 추출물을 감압여과시킨 후, 회전식 증발기를 이용하여 수분을 제거한 후, 동결 건조 과정을 거쳐 32% 의 수율로 총 32 g을 수득하였다. 하기 <실험예>에 사용할 때에는 건조한 시료를 400 ㎎/㎏ 체중으로 증류수에 섞어 경구투여한다.

[0062] **<실시예 2> 정상식이와 고지방 식이의 제조**

[0063] 지방식이는 정상식이에 비해서 라드(Lard)의 함량이 15배 높으며, 전분은 약 33% 감소되었으며, 당(Sucrose)은 약 20% 감소한 함량을 가지고 있다(표 1, 표 2 및 표 3).

[0064]

표 1

[0065] 정상식이와 고지방식이의 구성

구성성분	정상식이(g)	고지방식이(g)
카세인	20	20
옥수수 전분	15	10
당	50	40
대두유	5	5
라드	0	15
셀룰로스	5	5
비타민 혼합물	1	1
미네랄 혼합물	3.5	3.5
주석산수소콜린	0.2	0.2
총 칼로리(kcal/100g)	390	465

표 2

[0066] 정상식이와 고지방식이에 함유된 비타민 혼합물의 구성

비타민 혼합물(AIN-76A vitamin mix)	구성 성분 (g/kg)
티아민 염산염(thiamine HCl)	0.6
리보플라빈(riboflavin)	0.6
피리독신염산염(pyridoxine HC)	0.7
니코틴 산(nicotinic acid)	3
디-칼슘판토테네이트(D-calcium pantothenate)	1.6
엽산(folic acid)	0.2
디-비오틴(D-biotin)	0.02
0.1% 비타민 B_{12}	1
레티닐 팔미테니트 프리믹스 (retinyl palmitate pre-mix (250,000IU/g))	1.6
콜레칼시페롤(cholecalciferol (400,000IU/g))	0.25
비타민 E 아세테이트(vitamin E acetate(250IU/g))	20
메나퀴논(menaquinone)	0.005
분말 당(sucrose, finely powdered)	972.9

표 3

[0067] 정상식이와 고지방식이에 함유된 미네랄 혼합물의 구성

미네랄 혼합물 (AIN-76 mineral mix in g/kg)	구성 성분 (g/kg)
제2인산칼슘(calcium phosphate dibasic)	500
염화나트륨(sodium chloride)	74
구연산칼륨(potassium citrate · H_2O)	220
황산칼륨(potassium sulfate)	52
산화마그네슘(magnesium oxide)	24
탄화망간(manganous carbonate)	3.5
구연산 철(ferric citrate)	6
탄산아연(zinc carbonate)	1.6
탄화제2구리(cupric carbonate)	0.3
요오드산 칼륨(potassium iodate)	0.01
나트륨 아세렌산염(sodium selenite)	0.01
크로뮴 칼륨 황산염(chromium K sulfate · $12H_2O$)	0.55
분말 당(sucrose, finely powdered)	118

[0068] **<실험예 1> 연근 추출물의 체중감소 효과**

[0069] Sprague Dawley rat(현대바이오 구입, 4 주령)을 정상식이군(8 마리), 고지방식이군(8 마리), 고지방식이와 <실시예 1>의 연근 추출물(8 마리씩), 고지방식이와 <비교예 1>의 추출물의 실험군(8 마리씩)으로 분류하여, <실시예 1>의 추출물 400 / 체중으로 6주간 매일 오전에 경구 투여하였다. 정상식이와 고지방식이의 구성은 [표 1],[표 2] 및 [표 3]에 명시되었다. 실험동물의 체중은 1주일에 1회씩 측정하였다.

[0070] 그 결과, 시간이 경과함에 따라 고지방식이에서 체중 증가가 나타남으로써 실험이 정상적으로 실행되며, 고지방식이군은 정상식이군에 비해 유의적으로 체중이 증가하였으며, 고지방식이군과 연근 추출물을 함께 섭취하였을 때에는 고지방식이군에 비해 체중이 유의적으로 낮은 결과를 확인할 수 있었다(도 1 및 표 4).

표 4

[0071] 연 추출물의 체중감소 효과

시료	몸무게 (g)
정상식이	320 g
고지방식이	400 g
실시예<1-1> 추출물	350 g
실시예<1-2> 추출물	360 g
<비교예 1> 추출물	384 g
<비교예 2> 추출물	385 g
<비교예 3> 추출물	388 g

[0072] **<실험예 2> 연근 추출물의 복부의 지방축적 억제 효과**

[0073] **<2-1> 복부 지방세포의 변화 관찰**

[0074] 연근 추출물의 복부지방 축적 저해 효과를 알아보기 위하여, 6주간의 실험이 끝나고, 실험에 사용한 쥐를 희생시 일부 적출한 간과 지방조직을 파라핀(paraffin) 방법을 응용하여 광학현미경으로 관찰하였다.

[0075] 조직 관찰을 위해서 적출한 간과 지방조직은 4℃의 보우인 용액(Bouin's solution)으로 6시간 동안 고정하였다. 고정된 조직은 흐르는 물에서 고정 시간과 동일하게 세척하였다. 세척된 조직은 60% 알코올을 거쳐 70%, 80%, 90% 알코올에 각각 10~20분간 처리하였다. 그 후 100% 알코올에서 30분간 2회 처리하여 탈수하였다. 완전히 탈수된 조직은 자일렌(xylene)과 알코올의 혼합액에서 30분 처리한 후 자일렌으로 1시간 동안 2회 처리하였다. 그리고 포매(embedding)는 용융점이 57℃인 파라핀(paraffin)으로 하였고, 포매된 조직의 슬라이드 표본 제작을 위하여는 조직절편기(rotary Microtome)를 이용하여 약 8 ㎛로 절편 하였다. 각 박편은 메이어즈 알부민(Mayer's albumin)으로 슬라이드에 부착하였고 건조용 배란기 (40±3℃)에 넣어 24시간 건조하였다. 건조된 슬

라이드는 파라핀의 제거를 위하여 자일렌과 알코올을 1:1의 비율로 혼합한 용액에서 각 10분간 처리하였고 100%, 90%, 80%, 70%, 60% 알코올에서 각각 5분씩 처리하여 20분간 세척하였다. 그 후 헤마톡실린(hematoxylin)에서 약 1분, 에오신(eosin)에서 약 10분간 이중 염색하여 상기 탈수 방법의 역순으로 탈수하고 캐나다발삼(Canada balsam)으로 봉입하여 ZEISS (Axiolab)현미경으로 관찰 촬영하였다.

[0076] 그 결과, 고지방식이의 복부 지방세포는 간 세포는 정상식이군에 비해 크기도 비대해지고 모양이 불규칙하나, 연근을 함께 섭취한 쥐의 경우에는 지방세포의 크기도 작고 모양도 규칙적임을 확인할 수 있었다(도 3).

[0077] **<2-2> 복부 지방량의 변화 측정**

[0078] 연근 추출물의 복부지방 축적 저해 효과를 알아보기 위하여, 6주간의 실험이 끝나고, 실험에 사용한 쥐를 희생시 복부지방량의 변화를 측정하였다.

[0079] 그 결과, 정상식이군에 비해서 고지방식이군의 후복막 지방의 무게가 유의하게 증가되는 것을 확인할 수 있었으며, 고지방식이를 공급받은 군에서 연근 추출물을 공급받은 군은 고지방식이만을 공급받은 군에 비해서 무게가 유의하게 감소하며, 정상식이를 먹인 군과 많은 차이가 보이지 않음을 확인할 수 있었다. 또한, 체중 100g당 후복막 지방의 무게도 고지방식이에 연근 추출물을 먹인 군이 고지방식이만을 공급한 군에 비해서 무게가 감소함을 확인할 수 있었다(도 2 및 표 5).

표 5

[0080] 연 추출물의 복부 지방 감소 효과

시료	후복막지방량(g)
정상식이	4.5 g
고지방식이	12.0 g
실시예<1-1> 추출물	5.1 g
실시예<1-2> 추출물	7.0 g
<비교예 1> 추출물	10.2 g
<비교예 2> 추출물	11.5 g
<비교예 3> 추출물	9.8 g

[0081] **<실험예 3> 연근 추출물의 간의 지방축적 억제 효과**

[0082] **<3-1> 간 세포의 지방함량 관찰**

[0083] 연근 추출물의 지방축적 억제 효과를 알아보기 위하여, 6주간의 추출물의 경구투여가 끝나고, 쥐를 희생시 일부 적출한 간 조직을 상기 기재한 파라핀 방법을 응용하여 광학현미경으로 관찰하였다.

[0084] 그 결과, 고지방식이의 간 세포는 정상식이군에 비해 지방이 축적되었는데, 연근 추출물을 함께 섭취한 쥐의 간 세포에서는 지방의 축적이 매우 적음을 확인할 수 있었다(도 4).

[0085] **<3-2> 간 세포의 지방함량 측정**

[0086] 연근 추출물의 간 조직의 지방 축적 억제효과를 알아보기 위하여 간균질액 에서 티오바르티투르산(thiobartituric acid, TBA)법을 이용하여 생성된 TBARS(thiobarbituric acid reactive substances)양의 측정을 통해 고지방식이로 인한 지질과산화물의 함량을 측정하였다.

[0087] 간 균질액이 10% 농도가 되게 염화칼륨 용액(KCl buffer)으로 희석한 후, 희석액 0.5 ㎖에 1% 인산(phosphoric acid) 3 ㎖을 첨가했다. 여기에 TBA 용액 1 ㎖을 가하고 마개를 하여 45분간 95℃ 항온수조(water bath)에서 진탕 가온 후 얼음물에 담가 급격히 냉각하였다. 여기에 부탄올(n-butanol) 4 ㎖을 가하고 잘 혼합한 후 2000 rpm에서 15분간 원심분리해서 상층액인 부탄올층을 모아 자외 및 가시선 분광 분석기(UV-visible spectrophotometer)(HP8453, Hewlett packard, USA)로 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 단백질 1 ㎎당 TBARS의 nmole(nM)로 표현하였다.

[0088] 그 결과, 지질과산화물 함량은 고지방식이군이 정상식이군에 비해 유의적으로 높았으나, 연근 추출물을 함께 섭취한 군에서는 고지방식이군에 비해 낮은 경향을 보였다(도 5).

[0089] **<실험예 4> 연근 추출물의 간의 항산화효소 활성 효과**

[0090] 연근 추출물의 항산화 효소 활성의 효과를 알아보기 위해서, 간균질액에서 간 조직에 있는 항산화 효소인 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD), 글루타티온 과산화 효소(glutathione peroxidase, GSH-Px) 및 카탈레이즈(catalase)의 활성을 측정하였다.

[0091] 간 조직에 있는 SOD의 활성은 에피네프린(epinephrine)이 자기 산화하여 아드레노크롬(adrenochrome)이 분홍색이 될 때 SOD에 의해 저해되는 정도를 측정하였는데, 여기서 에피네프린은 슈퍼옥사이드 라디칼(superoxide radical)의 소스(source)이자 스캐빈저(scavenger)이다. 0.05M 탄산 나트륨 버퍼(sodium carbonate buffer)(pH 10.2)로 시료를 희석하고 희석액 2.9 ㎖에 0.01N 염화수소(HCl)에 녹인 0.01M DL-에피네프린(DL-epinephrine)을 100 ㎕를 가하여 자외 및 가시선 분광 분석기로 480 nm에서 3분간, 1분 간격으로 흡광도의 증가를 측정하였다. 사용하는 에피네프린의 양은 0.025/분의 흡광도 증가를 보이는 양을 기준으로 하였고 블랭크(blank)는 탄산 나트륨 버퍼로 하였다. SOD의 활성도는 1분간 에피네프린의 자동산화물 축적을 50% 저해하는데 필요한 SOD의 양으로 표시하였다.

[0092] 간 조직에 있는 GSH-Px 활성도는 기질로 큐멘하이드로퍼옥사이드(cummen-hydroperoxide) 첨가시 GSH-Px 작용에 의해 생성된 산화상태의 글루타티온(GSSG)이 과량의 글루타티온 환원 효소(glutathione reductase)와 일정량의 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산(Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phospate, NADPH) 존재하에 다시 환원되는 속도를 측정하였다. 시료 100 ㎕를 stock solution[50 mM 트리스(tris(hydroxymethyl)aminomethane, Tris), 0.1 mM 에틸렌디아민 사초산(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA), 0.25 mM 글루타티오닌(glutathione, GSH), 0.12 mM NADPH, 1 unit/㎖ glutathione reductase, pH 7.6)으로 희석하여 총 1.65 ㎖이 되도록 큐벳(cuvette)에 넣고 37℃에서 4분간 가온하였다. 여기에 50 ㎕ cummen-hydroperoxide(1/㎖)을 첨가하고 바로 자외 및 가시선 분광 분석기로 340 nm에서 1분간 흡광도 감소를 측정하였다. NADPH의 분자흡광계수로는 6.22 $mM^{-1}cm^{-1}$를 이용하였고 단위는 단백질 1 mg당 1분동안 산화된 NADPH의 nmoles로 표시하였다.

[0093] 간 조직의 catalase 활성도는 시료를 50 mM 인산퍼버(phosphate buffer)(pH 7.0)로 100배 가량 희석한 뒤 5-10분 이내에 희석한 시료 2 ㎖에 30mM H_2O_2 1ml를 첨가하고 재빨리 섞어 석영 큐벳(quartz cuvette)에 넣고 UV-visible spectrophotometer (HP 8453, Hewlett Packard, USA)로 240nm에서 30초간 흡광도 감소를 측정하였다. 15초간의 흡광도 변화가 0.02에서 0.1사이에 들어오도록 시료의 희석배수를 조절하였고 측정온도는 20를 유지하였다. 표준 효소용액은 catalase를 이용하였다. Catalase 활성도는 과산화수소의 분자흡광계수 $43.6M^{-1}cm^{-1}$를 이용하여 계산하였고 단위는 단백질 1mg당 1분동안 분해되는 과산화수소의 nmole(nM)로 표시하였다.

[0094] 그 결과, 고지방식이군에서 낮아진 항산화 효소들의 활성도는 연근 추출물 공급시 모두 높아진 것을 확인할 수 있다(표 6).

표 6

[0095] 간의 항산화 효소 활성도

실험군	SOD (IU/ protein)	GSH-Px (산화된 NADPH(nM)/분/단백질)	Catalase (산화된 NADPH(nM)/분/단백질)
정상식이	9.96 ± 0.23^{c}	0.100 ± 0.021^{a}	150.83 ± 17.61^{b}
고지방식이	2.26 ± 0.53^{a}	0.100 ± 0.015^{a}	82.94 ± 11.22^{a}
실시예<1-1>추출물	6.54 ± 1.18^{b}	0.432 ± 0.130^{b}	154.24 ± 16.72^{b}
실시예<1-2>추출물	6.08 ± 0.78^{b}	0.410 ± 0.011^{b}	150.87 ± 14.56^{b}

비교예<1-1>추출물	3.12 ± 0.37[a]	0.100 ± 0.032[a]	100.23 ± 16.29[a]
비교예<1-2>추출물	3.05 ± 0.34[a]	0.103 ± 0.044[a]	103.65 ± 15.09[a]
비교예<1-3>추출물	3.36 ± 0.52[a]	0.108 ± 0.019[a]	110.41 ± 16.80[a]

[0096] a, b, c : 일원분산분석 후 Duncan's multiple range test로 사후 검증시 유의수준 $p<0.05$ 에서 차이가 있음

[0097] 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제조예를 제시한다.

[0098] **<제조예 1> 약학적 제제의 제조**

[0099] **<1-1> 산제의 제조**

[0100] 본 발명의 실시예<1-1> 추출물 2 g

[0101] 유당 1 g

[0102] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

[0103] **<1-2> 정제의 제조**

[0104] 본 발명의 실시예<1-1> 추출물 100 mg

[0105] 옥수수전분 100 mg

[0106] 유 당 100 mg

[0107] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0108] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0109] **<1-3> 캡슐제의 제조**

[0110] 본 발명의 실시예<1-1> 추출물 100 mg

[0111] 옥수수전분 100 mg

[0112] 유 당 100 mg

[0113] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0114] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0115] **<1-4> 환의 제조**

[0116] 본 발명의 실시예<1-2> 추출물 1 g

[0117] 유당 1.5 g

[0118] 글리세린 1 g

[0119] 자일리톨 0.5 g

[0120] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1 환 당 4 g이 되도록 제조하였다.

[0121] **<1-5> 과립의 제조**

[0122] 본 발명의 실시예<1-2> 추출물 150 ㎎

[0123] 대두 추출물 50 ㎎

[0124] 포도당 200 ㎎

[0125] 전분 600 ㎎

[0126] 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 ㎎을 첨가하여 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충진하였다.

[0127] **<제조예 2> 식품의 제조**

[0128] **<2-1> 과자 및 분식의 제조**

[0129] 본 발명의 실시예<1-1> 추출물 0.5~5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0130] **<2-2> 유제품의 제조**

[0131] 본 발명의 실시예<1-1> 추출물 5~10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0132] **<2-3> 선식의 제조**

[0133] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

[0134] 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 쪄서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

[0135] 본 발명의 본 발명의 실시예<1-1> 추출물을 진공 농축기에서 감압 농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

[0136] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 본 발명의 실시예<1-1> 추출물의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0137] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부),

[0138] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),

[0139] 본 발명의 실시예<1-1> 추출물의 건조분말(3 중량부),

[0140] 영지(0.5 중량부), 및

[0141] 지황(0.5 중량부)

[0142] **<제조예 3> 음료의 제조**

[0143] 본 발명의 실시예<1-1> 추출물 1000 ㎎

[0144] 구연산 1000 ㎎

[0145] 올리고당 100 g

[0146] 매실농축액 2 g

[0147] 타우린 1 g

[0148] 정제수를 가하여 전체 900 ㎖

[0149] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 ℓ용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강식품 제조에 사용한다.

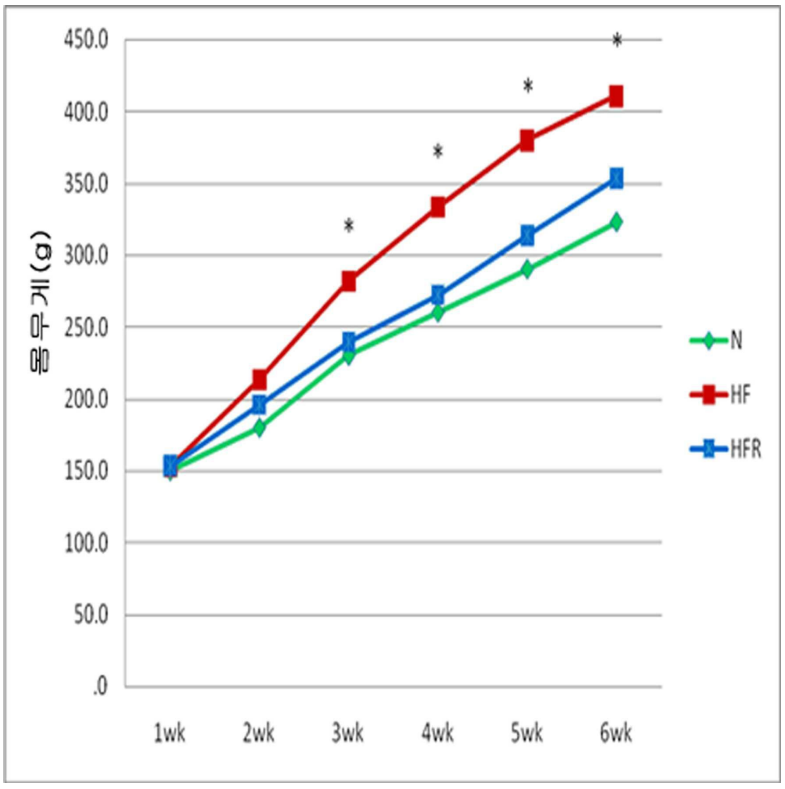
[0150] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

산업상 이용가능성

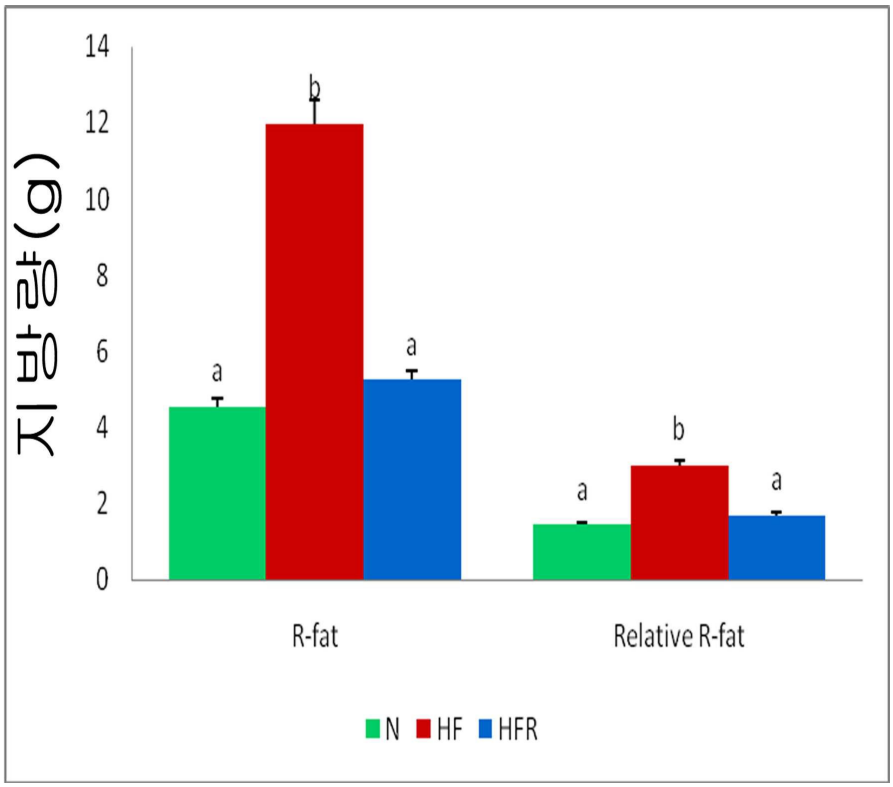
[0151] 상기에서 보는 바와 같이, 본 발명의 연근 추출물은 지방 및 복부의 지방 축적을 억제하며, 간의 항산화 효소를 활성시키는데 뛰어난 효과를 가지므로 대사성 질환인 복부비만 또는 지방간의 예방 및 치료용 조성물 및 건강식품으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면

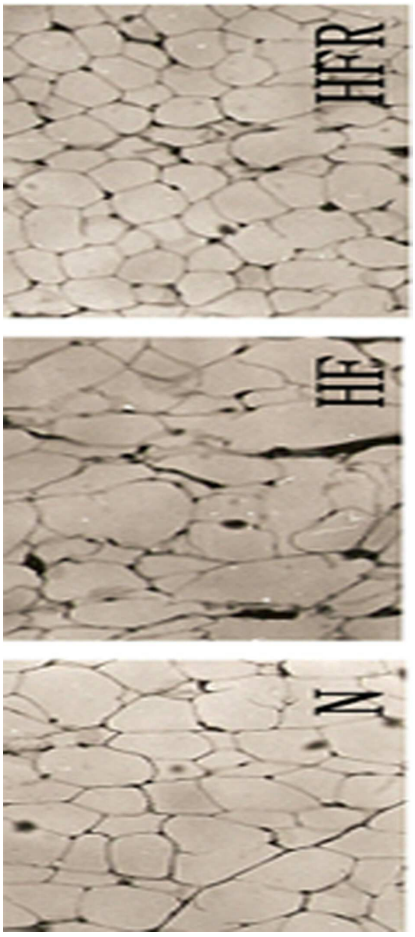
도면1



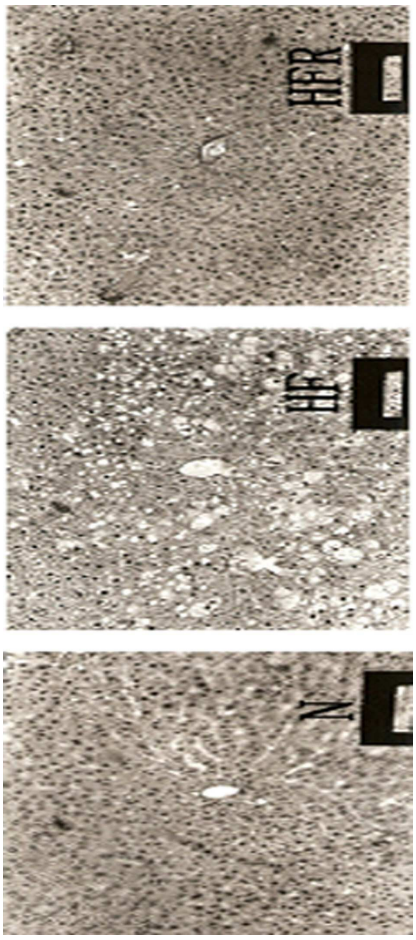
도면2



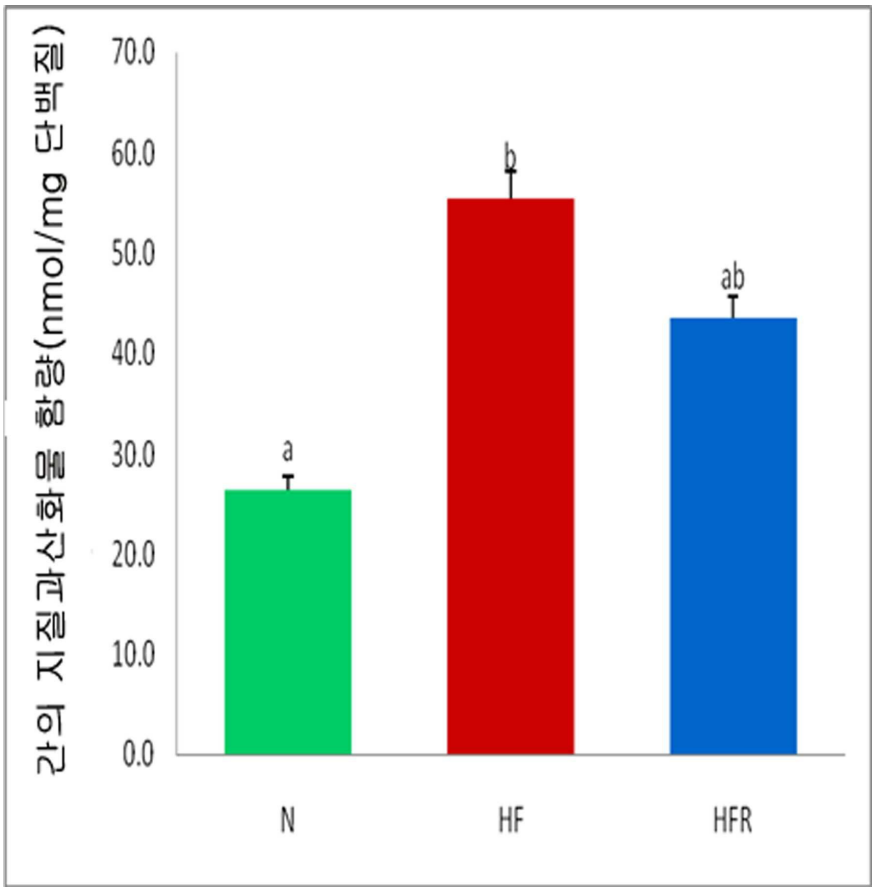
도면3



도면4



도면5


간의 지질과산화물 함량(nmol/mg 단백질)
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
a
b
ab
N
HF
HFR