(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년03월10일
(11) 등록번호 10-1501380
(24) 등록일자 2015년03월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/185 (2006.01) *A61K 36/18* (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01) *A61P 3/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0126235
(22) 출원일자 2013년10월22일
심사청구일자 2013년10월22일
(56) 선행기술조사문헌
JP2005068013 A
KR1020110078237 A
KR1020130003569 A
KR1020100125742 A

(73) 특허권자
동의대학교 산학협력단
부산광역시 부산진구 엄광로 176(가야동)
(72) 발명자
김병우
부산 해운대구 좌동순환로311번길 8, 105동 501호 (좌동, 해운대영남아파트)
권현주
부산시 사상구 덕상로 8-37 덕포 경동메르빌 201동 1804호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

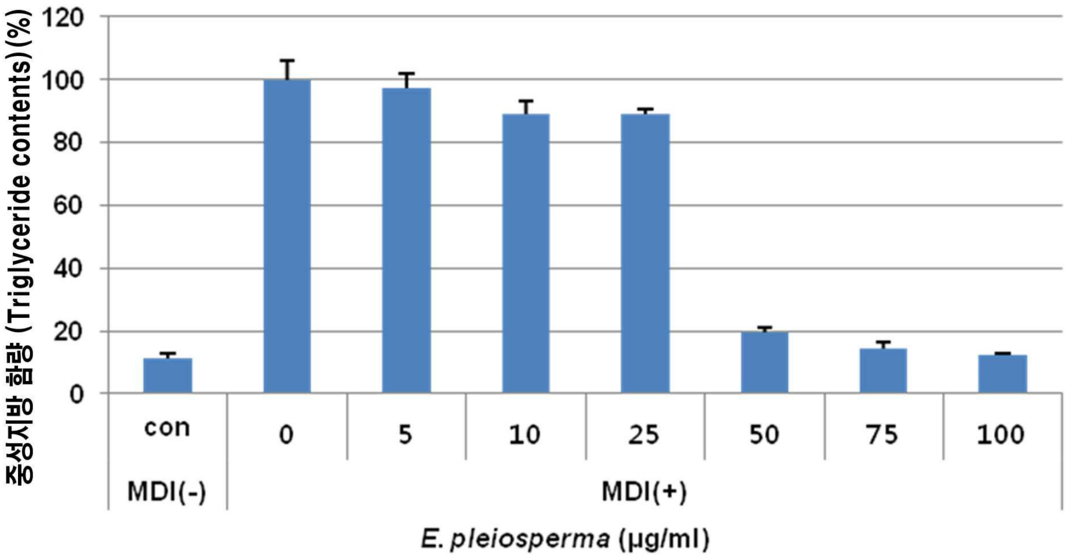
전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 **유프텔레아 플레이오스퍼마 추출물을 포함하는 항비만 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma*, EP) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 상기 EP 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 개선용 식품 첨가용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 EP 추출물을 포함하는 조성물은 지방전구세포의 지방세포로의 분화를 억제하고 췌장 리파아제 효소 활성을 억제시키는 능력을 가지므로 항비만 조성물로 유용하게 사용될 수 있으므로 지방간, 또는 지질관련 심혈관 질환과 같은 불필요한 지방의 축적으로 유발되는 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물 또는 비만 예방 또는 개선용 식품 첨가용 조성물로 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도4



(72) 발명자

박정애

경남 창원시 마산회원구 구암서1길 3, 2동 102호 (구암동, 코리아타코마사원아파트)

진경숙

부산 연제구 중앙대로 1164, 1413호 (연산동, 삼익아파트)

최우봉

부산 남구 황령대로 504, 102동 306호 (대연동, 대연삼익비치아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	B0010792
부처명	산업통상자원부
연구관리전문기관	한국산업기술진흥원
연구사업명	지역혁신센터사업
연구과제명	블루바이오소재개발 및 실용화 지원센터
기 여 율	1/1
주관기관	동의대학교 산학협력단
연구기간	2013.03.01 ~ 2014.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma*, EP) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 EP 추출물의 함량은 최종 조성물 총중량을 기준으로 0.0001 내지 50 중량%인 것인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 또는 이들의 혼합용매로 구성된 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 수득한 것인 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 추출물은 95% 메탄올을 용매로 사용하여 65 내지 85℃의 온도에서 추출하여 수득한 것인 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 추출물은 지방전구세포가 지방세포로 분화되는 것을 억제하는 것인 조성물.

청구항 6

유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 개선용 식품 첨가용 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 유프텔레아 플레이오스퍼마를 포함하는 항비만 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 본 발명은 유프텔레아 플레이오스퍼마(*Euptelea pleiosperma*, EP) 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 상기 EP 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 개선용 식품 첨가용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 비만 (obesity) 또는 비만증은 사람의 몸무게가 지나치게 많이 나가는 것을 통틀어 부르는 말로서 병리학적으로는 세계보건기구 (WHO)에서 정한 이른바 표준 몸무게 기준치 (body mass index; BMI)가 30 이상인 경우를 일컫지만 한국에서는 25 이상이면 비만으로 진단한다. 대부분의 경우 체중이 정상치보다 많이 나가는 것을 뜻하지만 체중이 그다지 많이 나가지 않더라도 몸의 구성성분 중 지방의 비율이 높은 경우 비만이라고 한다. 비만은 그 자체로서는 문제가 되지 않을 수도 있으나, 이로 인해 야기되는 사회적 장애 및 과다한 지방으로 유발되는 2차 합병증이 심각하다. 예를 들어 비만은 고지혈증, 고혈압, 동맥경화, 당뇨병, 지방간, 관절이상 등의 발생비율을 현저하게 증가시킬 수 있다.

[0003] 이와 같이 비만은 각종 성인병의 원인이 된다. 체중이 늘면 혈당처리 능력이 떨어져 당뇨병을 일으키기 쉬우며 고혈압도 발생할 수 있다. 체중이 정상체중보다 20% 증가되면 당뇨병 발병 가능성은 정상인의 10배로 증가한다. 또한 심장 및 폐기능이 약해져서 수명이 단축될 수도 있다. 고혈압, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 동맥경화증 등의 복합적인 요인들이 심장기능에 압박을 주어 심부전증에 빠지고 돌발사를 유발하기도 한다. 여성의 경우는 여기에 더해 자궁내막암의 발병률이 높아지며 담석증이 생길 가능성도 높아진다. 남성에게는 대장암과 전립선암의 발병확률이 높아진다. 뿐만 아니라, 체중이 증가하면 남들이 자신을 바라보는 시선을 의식하지 않을 수 없고 이에 대한 강박관념이 심해지면 사람들을 기피하고 혼자만 지내려는 증상이 생긴다. 또 신체에서 오는 열등감이 자신의 삶에 대한 자신감을 잃게 하여 자아에까지 영향을 미친다.

[0004] 이러한 비만을 예방하고 건강 체중을 유지하기 위해서는 균형 잡힌 식사와 규칙적인 운동으로 평생 동안 꾸준히 관리해야 한다. 특히 지방세포는 한번 만들어지면 크기는 줄일 수 있지만 자연적으로 제거하는 것은 불가능하여 영구적으로 인체에 남아있게 되므로 처음부터 비만이 되지 않도록 예방하는 것이 중요하다. 따라서 일차적으로는 섭취하는 칼로리의 양을 줄이고 활동 및 운동량을 증가시키는 방법으로 체중을 줄일 수 있다.

[0005] 그러나 상기한 바와 같이 일단 형성된 지방세포는 제거가 불가능하므로, 다이어트식이 섭취와 더불어 지방흡수를 감소시키는 등의 약물을 복용하는 경우가 있다. 그러나 이러한 다이어트 약은 고혈압 등의 심혈관계질환 및 뇌졸중과 같은 부작용을 유발할 수 있으며, 복용을 중단할 경우 다시 체중이 증가하는 경우가 빈번하다. 중증 비만의 경우 수술요법을 시행할 수 있으며, 이러한 수술요법으로는 지방을 제거하는 수술이나 몸이 소화할 수 있는 음식량을 제한하기 위한 위성형술 또는 위밴드삽입술 등이 시행되고 있다.

[0006] 이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 항비만 효과를 나타내면서 부작용이 적은 천연물을 찾고자 예의 연구 노력한 결과, 중국 유래 자생 식물 중 하나인 유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma*) 추출물이 지방세포로의 분화를 억제하여 중성지방 생성율을 감소시킬 뿐만 아니라, 췌장 리파아제 효소 활성을 억제시키는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 하나의 목적은 유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma*) 추출물을 포함하는 비만 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 상기 유프텔레아 플레이오스퍼마 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 개선용 식품 첨가용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명자들은 항비만 효과를 나타내면서 부작용이 적은 천연물을 찾고자 다양한 천연물을 대상으로 연구를 수행하던 중, 유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma*, EP)에 주목하게 되었다.

[0010] 상기 EP를 메탄올로 추출하여 EP 추출물을 제조하고, 상기 EP 추출물의 항비만 효과를 시험한 결과, 상기 EP 추출물은 지방전구세포에 대하여 세포독성을 나타내지 않으면서도, 췌장에서 분비되는 리파아제에 대하여 저해활성을 나타내고, 지방전구세포가 지방세포로 분화되는 것을 억제하고, 지방세포내에서 중성지방의 생성을 억제함

을 확인하였다.

[0011] 이처럼, 상기 EP 추출물은 리파아제에 대하여 저해활성을 나타내고, 지방세포의 분화를 억제할 뿐만 아니라 지방세포에서 중성지방의 생성을 억제하는 효과를 나타내므로, 비만의 예방, 치료 또는 개선에 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

[0012] 상기 목적을 달성하기 위한 일 실시양태로서, 본 발명은 EP 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 용어 "비만 (obesity)"은 체지방이 과도한 상태를 말하는 것으로, 임상적으로 체질량지수가 한국의 경우 25, 세계보건기구 (WHO)에 의하면 30 이상인 경우를 의미한다. 이때 체질량지수 (body mass index; BMI)는 신장의 제곱에 대한 체중 (kg/m^2)으로 계산된다. 일반적으로 체중이 정상치보다 높은 경우를 의미하지만 체중이 많이 나가지 않더라도 몸의 구성성분 중 체지방의 비율이 높은 경우 비만이라고 진단하며, 성인과 어린이 모두에서 발병하는 질환이다. 비만은 생명을 단축시키며, 고혈압, 당뇨, 심장질환 및 일부 암과 같은 질환에 걸릴 위험에 처하게 할 수 있다. 비만인 경우 건강에 문제가 생길 확률이 높으며 비만의 정도가 증가할수록 위험성 또한 높아진다. 비만이 생기는 이유는 매우 다양하며 여러 가지 원인이 복합적으로 작용하는 경우가 많다. 이 중 가장 빈번한 원인은 유전적 영향, 생리적 영향, 음식섭취 및 섭식장애, 생활방식, 체중력, 임신 또는 약물 등이다. 비만의 첫 번째 징후는 평균을 웃도는 체중 이상이며 증상은 하기와 같다: 수면문제, 수면무호흡, 호흡짧아짐, 정맥류, 피부문제, 담석 또는 체중부하로 인한 골관절염 등. 비만은 또한 고혈압을 비롯한 고혈당 (당뇨), 고콜레스테롤혈증, 고중성지방혈증 등의 질환과 관련이 있다. 한번 과체중이 되면 그 상태를 벗어나기가 쉽지 않으므로 비만은 대부분 평생 겪게 된다. 하지만 비만에 의해 생긴 질병이나 문제는 체중이 감소되면 호전될 수 있다.

[0014] 이하 본 발명에서는 "항비만 (anti-obesity)" 이라는 용어를 비만 예방, 치료 또는 개선을 모두 포함하는 의미로 사용한다. 이에 따라, 본 발명에서 사용되는 "항비만 조성물"이라는 용어는 상기 비만 예방 또는 치료용 약학 조성물을 의미한다.

[0015] 본 발명에서, 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 비만의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 비만의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0016] 본 발명의 용어 "유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma, EP*)"는 낙엽수로 유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma, EP*)가 속한 유프텔레아과 (Eupteleaceae family) 유프텔레아속은 인도 동쪽의 아삼 (Assam) 지방으로부터 중국에 걸쳐 분포하고, 일본에서도 일부 분포하며, 유프텔레아 플레이오스퍼마 (*Euptelea pleiosperma*)와 유프텔레아 폴리안드라 (*Euptelea polyandra*)가 이에 속한다. EP는 동아시아 지역, 주로 중국 및 히말라야 일대에 분포한다. 일반적인 높이는 2 내지 9 m이고, 개화시기는 5월이며, 8월에서 9월 사이에 씨를 맺는다. 잎은 식용 가능하며, 꽃과 가지의 껍질은 약용으로 알려져 있으나 아직까지 구체적인 효능에 대해서는 알려진 바가 없으며, 특히 항비만 효과에 대해서는 전혀 알려진 바가 없었다. 이에 본 발명자들은 상기 EP 추출물이 항비만 효과가 있음을 확인하고, 이를 식품 또는 의약품에 적용할 수 있음을 확인하였다.

[0017] 본 발명의 용어 "추출물"은 생약을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다.

[0018] 본 발명에 있어서, 상기 추출물은 추출용매로 추출하거나 추출용매로 추출하여 제조한 추출물에 분획용매를 가하여 분획함으로써 제조할 수 있다. 상기 추출용매는 이에 제한되지는 않으나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매 등을 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 알코올이나, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매, 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 또한, 바람직하게는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 상기 용

매로서 95% 메탄올을 이용한 추출물을 제조하였다.

[0019] 상기 EP 추출물은 당업계에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.

[0020] 본 발명의 용어 "유프텔레아 플레이오스퍼마 (EP) 추출물"은 EP의 다양한 부분, 즉 EP의 잎, 줄기 및 꽃 중 일부 또는 전부를 포함하는 시료로부터 추출하여 수득한 추출물을 의미한다.

[0021] 본 발명의 구체적인 일 실시예에 의하면 (실시예 1), 본 발명의 EP 추출물은 일정 중량의 EP를 분말로 파쇄하고 5 내지 10배의 용매를 가하여 추출하였다. 용매로는 유기용매를 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매일 수 있고, 바람직하게는 메탄올일 수 있다. 또한 상기 추출은 바람직하게 65 내지 85 ℃의 온도에서 수행될 수 있으며, 보다 바람직하게 75 ℃에서 수행될 수 있다. 상기 추출은 수회 반복하여 수행되었으며, 추출한 시료는 여과 후 감압농축기로 농축하고 동결 건조하였다.

[0022] 본 발명의 다른 일 실시예에 의하면 (실시예 2), EP 추출물의 농도별 처리를 통하여, 본 발명의 EP 추출물이 리파아제의 활성을 농도 의존적으로 유의적으로 억제시키는 것을 확인하였다(도 1). 리파아제의 활성이 억제되면 음식물을 통해 섭취된 지방의 체내 유입을 억제할 수 있으므로, 결과적으로는 비만을 예방 또는 치료하는 효과를 나타낼 수 있다.

[0023] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면 (실시예 3), 본 발명의 항비만 조성물은 생체에서 안전하게 사용할 수 있는 지 여부를 확인하였다. 구체적으로 EP 추출물의 세포 독성 분석을 실시하여 세포 생존율을 담체를 처리한 대조군에 대한 %로 나타낸 결과, EP 추출물은 100 ㎍/㎖의 농도 까지 세포 독성을 전혀 유발하지 않는 안전한 물질임을 확인하였다 (도 2).

[0024] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면 (실시예 5), 본 발명의 항비만 조성물이 지방생성관련 단백질에 어떠한 영향을 미치는지 분석하였다. 구체적으로, EP 추출물을 다양한 농도로 처리한 지방세포에서 지방생성에 관여하는 핵심 인자인 C/EBPα, C/EBPβ 및 PPARγ의 발현량을 웨스턴 블럿 분석을 통해 분석함으로써, EP 추출물의 처리농도에 따른 C/EBPα, C/EBPβ 및 PPARγ의 발현량 변화를 확인한 결과, EP 추출물을 처리하지 않은 대조군(Con)의 경우에는 상기 C/EBPα, C/EBPβ 및 PPARγ이 모두 다량으로 검출되었으나, EP 추출물의 처리농도가 증가할 수록 상기 각 단백질의 함량이 감소됨을 확인하였다(도 5). 이는 본 발명의 EP 추출물이 지방생성에 관여하는 핵심인자의 발현을 저해하여, 항비만 활성을 나타냄을 시사하였다.

[0025] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면 (실시예 6), 본 발명의 항비만 조성물이 이미 생성된 지방세포에 대하여 어떠한 영향을 나타내는 지를 분석하였다. 구체적으로, 지방전구세포로부터 분화된 지방세포에 EP 추출물을 처리하고, 지방세포내의 중성지방(TG)의 함량과 배지로 분비된 글리세롤의 분비량을 측정한 결과, EP 추출물의 처리농도가 증가할 수록 지방세포내 중성지방(TG)의 함량이 감소하고 배지로 분비된 글리세롤의 분비량이 증가함을 확인하였다(도 6a 내지 6c). 이는 본 발명의 EP 추출물이 이미 형성된 지방세포내의 TG를 분해하여 항비만 활성을 나타냄을 시사하였다.

[0026] 본 발명의 항비만 조성물은 체중감소, 체지방감소, 혈중 중성지방 함량 감소 및 혈중 콜레스테롤 함량 감소의 효과를 가진다. 본 발명의 구체적인 실시예에 의하면 (실시예 4), IBMX (3-isobutyl-1-methylxanthine), 덱사메타손 및 인슐린을 포함하는 지방세포 분화배지를 이용하여 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 유도한 경우, 상기 본 발명의 EP 추출물을 첨가하여 지방세포 생성을 억제함으로써 추출물의 농도에 따라 중성지방 함량이 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (도 3 및 도 4).

[0027] 추가적으로 상기 본 발명의 항비만 조성물은 지방생성을 억제함으로써, 비만뿐만 아니라 비만과 직간접적으로 관련된 지방간 또는 지질관련 심혈관 질환에 대한 예방 또는 치료의 효과를 나타낼 수 있다.

[0028] 본 발명의 용어 "지방간"은 지방질, 그 중에서도 특히 중성지방 (triglyceride)이 간세포에 축적되어 간 무게의 5% 이상을 차지하고 있는 질병이다. 음식물 등을 통하여 섭취한 지방질을 원활하게 처리하지 못하는 경우 발생하기도 하지만, 지방간을 일으키는 대표적인 원인은 술이다. 술은 간의 여러 가지 대사기능, 특히 지방산 산화 분해력을 감소시켜 간에 지방을 축적시킨다. 비만한 사람에게도 자주 지방간이 발생하며, 그 외, 당뇨병, 갑상선 기능 항진증 등의 내분비 질환, 스테로이드 호르몬의 과다 사용이나 심한 영양부족에 의해서도 발생할 수 있다. 특별한 증상이 없으므로 증상만으로 진단할 수 없으며, 간 질환의 일반적인 증상인 피로감, 식욕부진, 무기력 등이 나타날 수 있고, 오른쪽 갈비뼈 아래쪽에 불쾌감이나 둔통을 느끼기도 한다.

[0029] 본 발명의 용어 "지질관련 심혈관 질환"은 지방산이나 콜레스테롤 등이 과도한 섭취나 대사 장애로 인해 축적되어 발생하는 질병이다. 특히 혈액 중의 중성지방의 농도가 비정상적으로 높아지는 고중성지방혈증은 미국 심장협회에 의해 심혈관질환의 위험인자로 규정되어 있다. 혈장중성지방은 식후 급격히 증가하여 약 8시간 후에는 식전수준으로 돌아온다. 중성지방은 당뇨병, 비만, 음주자에서 증가하며 당분을 많이 섭취하는 사람에서도 증가한다. 그 외 갑상선 기능저하, 신증후군, 신부전증, 피임약 및 대량의 이뇨제와 베타차단제도 중성지방을 증가시킬 수 있다. 혈중중성지방이 증가할수록 LDL (low density lipoprotein) - 콜레스테롤이 증가하며, 상기 LDL은 죽상경화를 촉진시킨다. 상기 지질관련 심혈관 질환으로는 고지혈증, 심장병, 고혈압, 동맥경화증 등이 될 수 있다.

[0030] 상기 본 발명의 약학조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 용어 "약학적으로 허용 가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 담체는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 윤활제 등 당업계에 공지된 것이라면 제한없이 사용할 수 있다. 또한 본 발명의 약학조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 나아가, 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 젤의 형태의 피부 외용제의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 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 조제된다.

[0031] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 EP 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로즈 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 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.

[0032] 본 발명의 일 실시예에 따른 약학 조성물에 포함된 상기 EP 추출물의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 최종 조성물 총중량을 기준으로 0.0001 내지 50 중량%, 보다 바람직하게는 0.01 내지 10 중량%의 함량으로 포함할 수 있다.

[0033] 한편, 본 발명의 약학조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "투여"란, 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강 내 투여, 정맥 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비 내 투여, 폐 내 투여, 직장 내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0034] 상기 용어 "개체"란 비만이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 바람직하게는, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.

[0035] 상기 용어 "약학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 바람직하게 본 발명의 약학 조성물은 이에 포함된 EP 추출물을 기준으로 1일 0.0001 내지 100 ㎎/체중 kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 100 ㎎/체중 ㎏으로 투여할 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다.

[0036] 본 발명의 유프텔레아 플레이오스퍼마 추출물은 천연 한약재를 원료로 하므로 식품 조성물, 화장료 조성물, 또는 약학적 조성물로 사용할 경우에도 일반적인 합성 화합물에 비하여 부작용이 덜할 수 있으므로 안전하게 포함되어 유용하게 사용될 수 있다.

[0037] 상기 목적을 달성하기 위한 다른 실시양태로서, 본 발명은 EP 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 개선용 식품 첨가용 조성물을 제공한다.

[0038] 상기 본 발명의 EP 추출물은 항비만 효과를 나타낼 뿐만 아니라, 천연물로부터 유래되어 안전성이 입증되었으므로, 식품 첨가용 조성물로서 활용되어 비만 예방 또는 개선용 건강기능식품의 제조에 사용될 수 있다.

[0039] 이처럼 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 EP 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상의 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있으며, 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 EP 추출물은 천연물로부터 유래되어 안정성 면에서 문제가 없기 때문에 식품에 첨가되는 함량은 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는 식품 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 90 중량%, 보다 바람직하게는 1 내지 60 중량%로 포함된다. 식품이 음료인 경우에는 100㎖를 기준으로 1 내지 30g, 바람직하게는 3 내지 20g의 비율로 포함될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예들 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신 (niacin), 비오틴 (biotin), 폴레이트 (folate), 판토텐산 (panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연 (Zn), 철 (Fe), 칼슘 (Ca), 크롬 (Cr), 마그네슘 (Mg), 망간 (Mn), 구리 (Cu) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제 (소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제 (표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제 (부틸히드록시아니졸 (BHA), 부틸히드록시톨류엔 (BHT) 등), 착색제 (타르색소 등), 발색제 (아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제 (아황산나트륨), 조미료 (MSG, 글루타민산나트륨 등), 감미료 (둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료 (바닐린, 락톤류 등), 팽창제 (명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제 (호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물 (food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용된다.

[0040] 본 발명의 식품 첨가용 조성물은 통상적인 식품의 제조시에 첨가물로서 사용되어 비만의 예방 또는 개선효과를 갖는 식품의 제조에 사용될 수 있고, 상기 식품 첨가용 조성물이 첨가된 식품은 기능성 식품, 건강기능식품 등 당업계에 알려진 용어와 혼용 가능하다.

[0041] 본 발명의 용어 "기능성 식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소

를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0042] 또한, 본 발명의 용어 "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말하며, 상기 성분에 의해 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 방지와 회복 등 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수 있도록 설계되고 가공된 식품을 말하는 것으로서, 상기 건강식품용 조성물은 질병의 예방 및 질병의 회복 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다.

[0043] 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 유프텔레아 플레이오스퍼마 추출물을 활성성분으로 포함하는 조성물은 당업자의 선택에 따라 식품에 함유될 수 있는 적절한 기타 보조성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 추출물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.

[0044] 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품 (예: 조제유류, 영유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류 (예: 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품 (예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류 (예: 스낵류), 유가공품 (예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품 (각종 김치류, 장아찌 등), 음료 (예: 과실, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료 (예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.

[0045] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

발명의 효과

[0046] 본 발명의 플레이오스퍼마(*Euptelea pleiosperma*, EP) 추출물을 포함하는 조성물은 지방전구세포의 지방세포로의 분화를 억제하고 췌장 리파아제 효소 활성을 억제시키는 능력을 가지므로 항비만 조성물로 유용하게 사용될 수 있으므로 지방간, 또는 지질관련 심혈관 질환과 같은 불필요한 지방의 축적으로 유발되는 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물 또는 비만 예방 또는 개선용 식품 첨가용 조성물로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 본 발명의 EP 추출물의 췌장 리파아제 (pancreatic lipase) 효소 활성 저해능을 나타낸 그래프이다.

도 2는 본 발명의 EP 추출물의 세포 독성을 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 EP 추출물의 농도 의존적 지방생성 억제를 확인하기 위하여, EP 추출물을 각각 다양한 농도 (0, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ㎍/㎖)로 첨가하여 분화시킨 3T3-L1 세포를 오일 레드 오 염색 (Oil red O staining)하여 현미경으로 관찰한 결과를 나타낸 사진이다.

도 4는 상기 도 3에서 염색된 오일 레드 오 염색 부위의 흡광도를 측정하여 계산한 중성지방 트리글리세라이드의 함량을 나타내는 그래프이다.

도 5는 본 발명의 EP 추출물의 처리농도에 따른 C/EBPα, C/EBPβ 및 PPARγ의 발현량 변화를 나타내는 웨스턴 블럿 분석사진이다.

도 6a는 본 발명의 EP 추출물의 처리농도에 따른 배지내 글리세롤의 분비량을 나타내는 그래프이다.

도 6b는 본 발명의 EP 추출물의 처리농도에 따른 지방세포의 변화를 나타내는 사진이다.

도 6c는 본 발명의 EP 추출물의 처리농도에 따른 지방세포내 중성지방(TG)의 함량변화를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구성 및 효과를 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0049] **실시예 1: 유프텔레아 플레이오스퍼마 (EP) 추출물의 제조**

[0050] EP 10 g을 파쇄하고, 이에 시료부피의 5 내지 10배의 95% 메탄올을 가하여 75℃에서 추출한 다음, 여과하여 액상성분을 수득하는 과정을 3회 반복하여 추출액을 수득하였다. 상기 추출액을 감압농축기 (N-1000S-W, EYELA, Japan)에 적용하여 농축한 다음, 농축액을 동결건조 장치 (FDU2100, EYELA, Japan)에 적용하여 건조분말 형태의 EP 추출물을 수득하였다.

[0051] **실시예 2: EP 추출물의 췌장 리파아제 (pancreatic lipase) 효소 활성 억제능 분석**

[0052] EP 추출물의 리파아제 활성 억제능 보유 유무를 알아보기 위해 각 추출물의 농도별 처리에 따른 리파아제의 활성 변화를 분석하였다. 리파아제는 주로 췌장에서 분비되어 중성지방인 트리글리세라이드 (Triglyceride, TG)를 글리세롤 (glycerol)과 지방산 (fatty acid) 으로 가수분해하는 효소로서 지방소화효소인 췌장 리파아제의 활성 저해능은 시료가 보유한 항비만 활성을 예측하기에 매우 유용한 시험법이다. 본 실시예에서는 각 시료의 항비만 활성을 세포 실험계에서 분석하기에 앞서 시료가 보유한 리파아제 효소 활성 저해능을 다음과 같이 측정하였다.

[0053] 먼저 1.5 ㎖ 튜브에 0.25 M Tris 완충액 (pH 7.7), 250 mM $CaCl_2$ 및 5 mM 4-nitrophenyldodecanoate (PNPD)로

구성된 효소액과 기질을 넣고 잘 섞어준 후 37 ℃에서 5 분간 예열하고, 0.25 M Tris 완충액 (pH 7.7)에 녹인 리파아제와 다양한 농도의 EP 추출물을 넣어 37℃에서 10분간 반응시킨 후 20% sodium dodecyl sulfate (SDS)를 첨가하여 반응을 종료하였다. 반응액을 4 ℃, 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하여, 분리한 상층액을 96-웰 조직 배양 플레이트에 분주하고 멀티플레이트 리더 (multi-plate reader)를 이용하여 412 nm에서 흡광도를 측정한 후, 10분간 반응시킨 시료의 흡광도로부터 0분 반응 시료의 흡광도를 뺀 값을 시료 비처리 대조군 대비 백분율로 나타내었다. 측정값은 3회 반복 실험의 평균값으로 나타내었다 (도 1).

[0054] 그 결과, 도 1에서 보듯이, EP 추출물 처리 농도의 증가에 따라 (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.5, 1 ㎍/㎖) 시료 비처리 대조군 대비 리파아제 활성이 감소됨을 확인함으로써 EP 추출물이 리파아제 활성을 농도 의존적으로 유의적으로 억제시키는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 시료가 리파아제 저해제 (lipase inhibitor)로 작용하여 체내 지방 흡수율을 저하시켜 항비만 활성을 보유할 수 있다는 것을 의미한다.

[0055] **실시예 3: EP 추출물의 세포 독성 분석**

[0056] 본 발명의 EP 추출물을 생체에서 안전하게 사용할 수 있는 지 여부를 확인하기 위하여 EP 추출물의 세포 독성 분석을 실시하였다. 마우스 지방전구세포 (preadipocyte) 세포주인 3T3-L1을 American Type Culture Collection (ATCC, USA) 으로부터 구입하여 10% 송아지 혈청 (bovine calf serum (BCS)) 및 페니실린/스트렙토마이신 (penicillin/streptomycin)이 포함된 DMEM (Dulbecco's modified eagle medium) 배지에서 배양하였다. 24 웰 조직 배양 플레이트에 웰 당 10^5 개의 세포를 분주하여 24 시간 동안 부착시키고 다양한 농도 (0, 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ㎍/㎖)의 EP 추출물 용액으로 각각 처리하였다. 72시간 경과 후 EP 추출물을 포함하는 배지를 제거하고 WST (Water-soluble tetraolium salt) 시약을 포함하는 신선한 배지로 교체하여 37 ℃에서 30분간 인큐베이션 하고 멀티플레이트 리더 (multiplate reader, Paradigm, Beckman, USA)를 이용하여 480 nm에서의 흡광도를 측정하였다 (도 2). 이때, 세포 생존율은 담체 (vehicle, dimethylsulfoxide, DMSO)를 처리한 대조군에 대한 %로 나타내었다.

[0057] 그 결과, 도 2에서 보듯이, EP 추출물은 100 ㎍/㎖의 농도까지 세포독성을 전혀 유발하지 않는 안전한 물질임을 확인하였다.

[0058] **실시예 4: EP 추출물의 지방생성 억제능 분석**

[0059] EP 추출물의 지방생성 억제효과를 확인하기 위하여, 지방세포로의 분화를 유도하고 그에 따른 지방생성 및 그 억제효과를 확인하였다.

[0060] 먼저, 3T3-L1 지방전구세포 (preadipocyte)를 0.5 μM 3-이소부틸-1-메틸크산틴 (3-isobutyl-methylxanthine; IBMX), 1 μM 덱사메타손 (dexamethasone; DEX) 및 10 ㎍/㎖ 인슐린 (insulin)을 포함하는 지방형성 분화배지에 배양하여 지방세포로의 분화를 유도하였다. 12 웰 조직 배양 플레이트에 웰 당 10^5 개의 세포를 분주하고 2일 후 10% 소 태아혈청 (fetal bovine syndrome, FBS)을 포함하는 배지로 교체하였다. 2일 경과 후 IBMX, DEX 및 인슐린을 포함하는 배지로 교환하면서 EP 추출물을 농도별로 처리하고 2일 간격으로 총 4회 인슐린 및 상기 추출물을 처리하고 2일 후 지방생성 억제능을 측정하였다.

[0061] 이때, 상기 지방생성 억제능은 다음과 같이 측정하였다: 지방세포로의 분화 유도 및 시료 처리가 완료된 세포를 1X 인산완충용액 (phosphate buffered saline, PBS)으로 세척한 다음 10% 포르말린 (formalin)으로 고정하고 오일 레드 오 염색 용액으로 처리한 후 30분 간 인큐베이션하였다. 염색이 완료된 후 100% 이소프로판올 (isopropanol)을 이용하여 세포에 침착한 염료를 추출하고 520 nm 에서 상기 염료 추출액의 흡광도를 측정하였다 (도 3 및 도 4).

[0062] 그 결과, 도 3 및 도 4에 나타난 바와 같이 EP 추출물은 농도 의존적으로 중성지방 생성을 감소시키는 것을 확인하였다.

[0063] 상기 결과로부터, 본 발명의 EP 추출물이 지방 생성을 억제하는 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

[0064] **실시예 5: 지방생성관련 단백질 분석**

[0065] 실시예 4에서 지방세포로의 분화 유도 및 시료 처리가 완료된 세포를 파쇄하고, 이로부터 단백질을 분리한 다음, 지방생성에 관여하는 핵심 인자인 C/EBPα, C/EBPβ 및 PPARγ에 대한 각각의 항체를 이용한 웨스턴 블럿 분석에 적용하여, 본 발명의 추출물의 처리에 따른 상기 각 단백질의 발현량 변화를 분석하였다(도 5). 이때, 내부대조군으로는 액틴을 사용하였다.

[0066] 도 5에서 보듯이, 본 발명의 EP 추출물을 처리하지 않은 대조군(Con)의 경우에는 상기 C/EBPα, C/EBPβ 및 PPARγ이 모두 다량으로 검출되었으나, EP 추출물의 처리농도가 증가할 수록 상기 각 단백질의 함량이 감소됨을 확인하였다.

[0067] 따라서, 본 발명의 EP 추출물은 지방생성에 관여하는 핵심인자의 발현을 저해함으로서 항비만 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

[0068] **실시예 6: 지방분해능 분석**

[0069] 10^5개의 3T3-L1 지방전구세포 (preadipocyte)를 12웰 플레이트에 각각 분주하여 2일 동안 배양하고, 10% FBS가 포함된 배지로 교체하여 다시 2일 동안 배양한 다음, 0.5μM IBMX, 1μM DEX 및 10 ㎍/㎖ 인슐린을 포함하는 지방형성 분화배지로 교체하여 2일 동안 배양하고, 지방형성 분화배지로 교환하고 2일 동안 배양하는 단계를 2회 추가로 수행하였다. 이때, 마지막으로 지방형성 분화배지로 교환할 때, 0, 5, 10, 25 또는 50㎍/㎖의 EP 추출물을 각각 추가하여 처리하였다. 최종 배양이 종료된 후, 배양상층액을 수득하여 배양상층액으로 분비된 글리세롤의 함량을 정량하고(도 6a), 분화된 지방세포를 Oil Red O staining을 통해 염색하였으며(도 6b), 지방세포내에 축적된 중성지방(TG)의 함량을 정량하였다(도 6c).

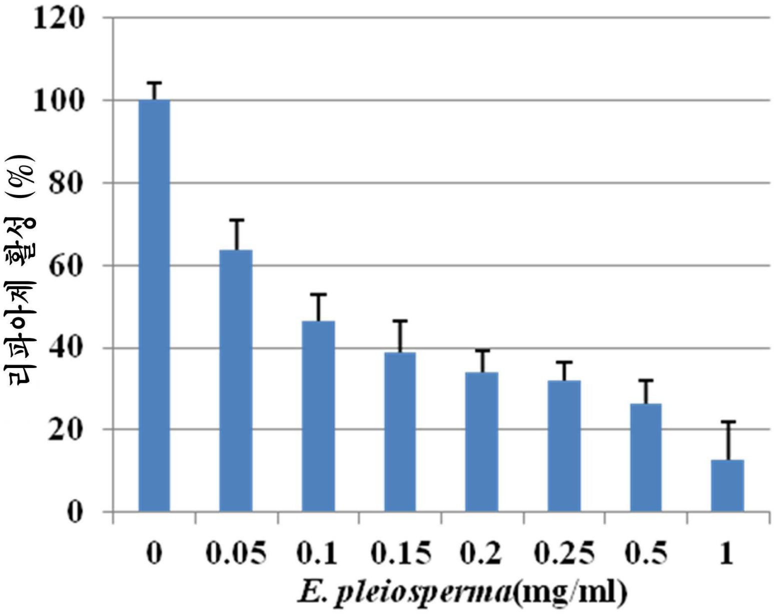
[0070] 도 6a에서 보듯이, EP 추출물의 처리농도에 비례하여 배지로 분비되는 글리세롤의 분비량이 증가함을 확인하였고, 도 6b에서 보듯이, EP 추출물의 처리농도에 비례하여 Oil Red O staining을 통한 지방세포염색량이 감소함을 확인하였으며, 도 6c에서 보듯이, EP 추출물의 처리농도에 비례하여 지방세포내 중성지방(TG)의 함량이 감소됨을 확인하였다.

[0071] 상기 도 6a 내지 6c의 결과는 본 발명의 EP 추출물의 처리를 통해 지방세포내 중성지방(TG)이 분해되어 분해산물인 글리세롤이 세포외부로 분비됨을 나타내었다.

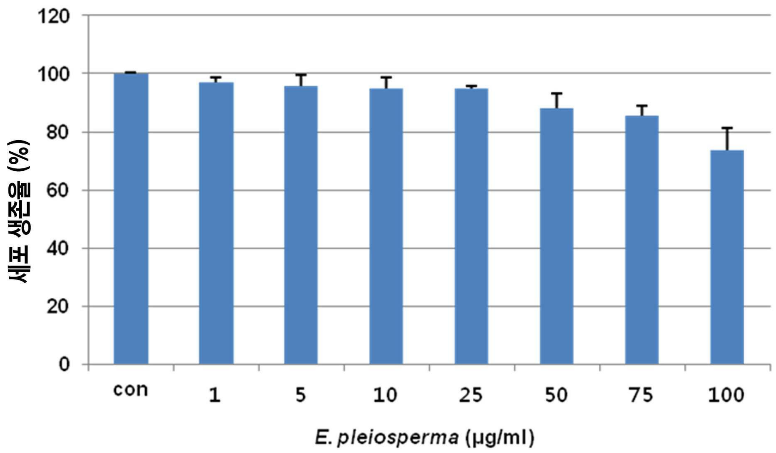
[0072] 따라서, 본 발명의 EP 추출물은 정상세포가 지방세포로 분화되는 것을 억제할 뿐만 아니라, 이미 분화된 지방세포내의 중성지방(TG)을 분해하여, 보다 효과적인 항비만 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

도면

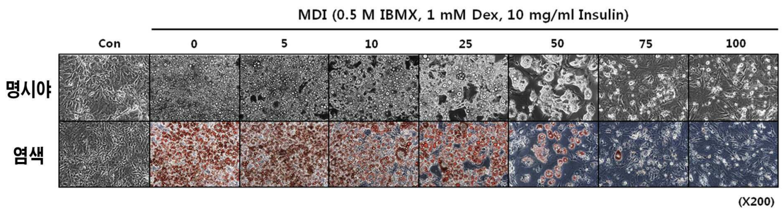
도면1



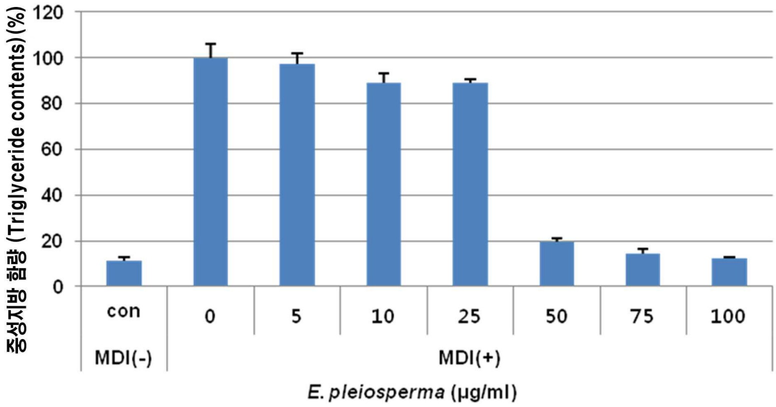
도면2



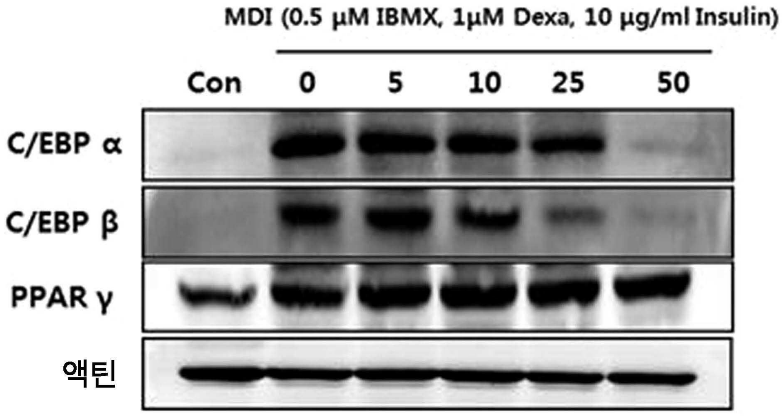
도면3



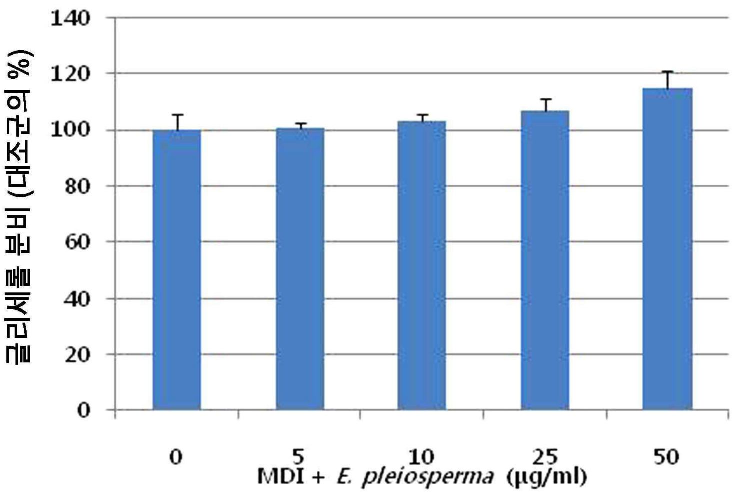
도면4


중성지방 함량 (Triglyceride contents)(%)
120
100
80
60
40
20
0
con
0
5
10
25
50
75
100
MDI(-)
MDI(+)
E. pleiosperma (μg/ml)

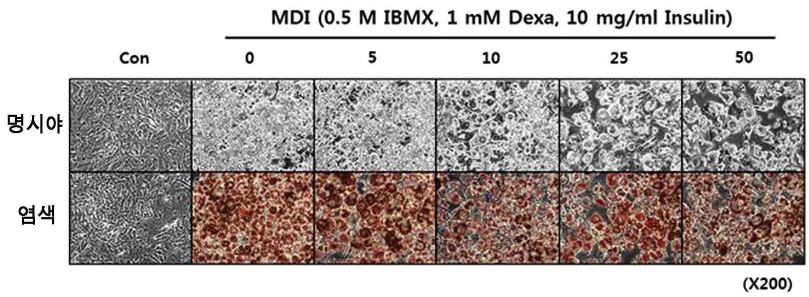
도면5


MDI (0.5 μM IBMX, 1μM Dexa, 10 μg/ml Insulin)
Con
0
5
10
25
50
C/EBP α
C/EBP β
PPAR γ
액틴

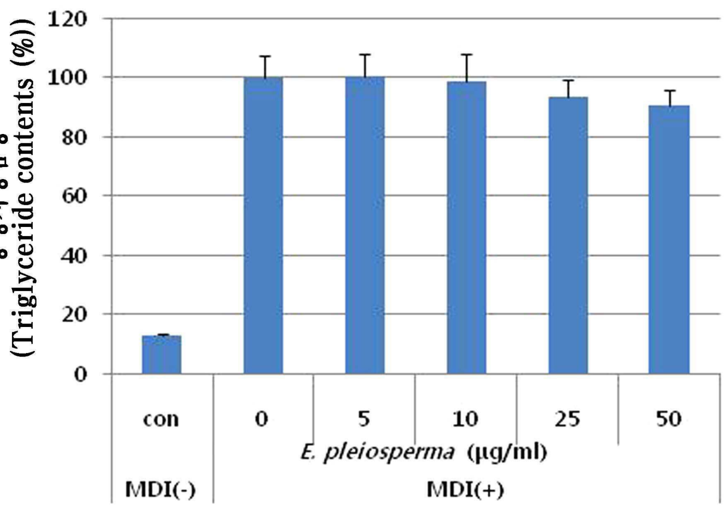
도면6a


글리세롤 분비 (대조군의 %)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
5
10
25
50
MDI + E. pleiosperma (μg/ml)

도면6b


MDI (0.5 M IBMX, 1 mM Dexa, 10 mg/ml Insulin)
Con
0
5
10
25
50
명시야
염색
(X200)

도면6c


중성지방함량
(Triglyceride contents (%))
120
100
80
60
40
20
0
con
0
5
10
25
50
E. pleiosperma (μg/ml)
MDI(-)
MDI(+)