



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0061158
(43) 공개일자 2019년06월05일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2016.01) A61K 35/57 (2014.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2016.08)
A61K 35/57 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-0159215</p> <p>(22) 출원일자 2017년11월27일
심사청구일자 2017년11월27일</p> | <p>(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)</p> <p>(72) 발명자
이궁주
세종특별자치시 조치원을 섬골길 56, 112동 1103호
김승형
대전광역시 서구 갈마로 262, 104동 1103호 (내동, 맑은아침아파트)</p> <p>(74) 대리인
최규환</p> |
|---|--|

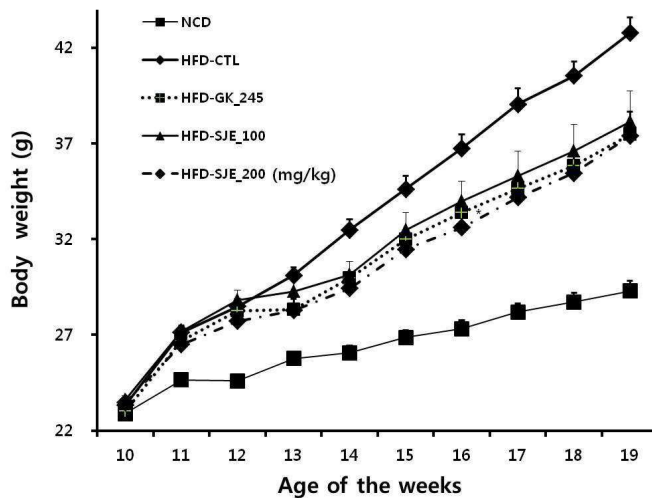
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 칠면초 추출물은 비만이 유도되는 동물모델의 체중, 피하지방조직 및 내장지방조직의 감소효과를 나타내고, 피하지방조직에서의 UCP-1 발현 증가 및 추위에 노출되었을 때 체온을 상승시켜 에너지 대사를 촉진하는 효과가 있으므로, 본 발명의 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물은 항비만용 건강기능식품 또는 비만치료제로 유용하게 사용가능하다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/332 (2013.01)

A23V 2250/204 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20160601-20170228

부처명 충남대학교산학협력단

연구관리전문기관 충남대학교산학협력단

연구사업명 충남대학교 학술연구진흥사업

연구과제명 국내 자생식물기반 유용물질 추출 및 활용기술

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교산학협력단

연구기간 2016.06.01 ~ 2017.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 칠면초 추출물의 용매는 물, C₁~C₄의 저급알코올 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 칠면초 추출물은 피하지방(subcutaneous fat)에서 UCP-1의 발현을 증가시켜 베이지색 지방세포(beige adipocyte)의 형성을 유도하는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 4

칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 약학 조성물은 캡슐제, 산제, 과립제, 정제 및 환제로 구성되는 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 비만은 체내에 지방조직이 과다하게 축적된 상태로, 비만인 경우 일반적으로 체중이 많이 나가지만, 비만이 아니더라도 근육이 많은 사람은 체중이 많이 나갈 수 있기 때문에 체내에 지방조직이 과다한 상태를 비만으로 정의한다. 오랜 기간에 걸쳐 에너지 소비량에 비해 영양소를 과다 섭취할 경우 에너지 불균형에 의해 비만이 유도되며, 이 외에도 호르몬의 변화, 유전, 정신 건강 문제 및 사회경제적 요인 등이 복합적으로 관련되어 있다. 전 세계적으로 비만 인구가 증가하는 추세로, 최근 성인병을 유발하는 중요한 요인으로 지목받으며 비만의 심각성이 중요한 문제로 대두되고 있다.

[0003] 비만을 예방 및 개선하고, 건강 체중을 유지하기 위해서는 균형잡힌 식사와 규칙적인 운동을 통하여 평생 동안 꾸준한 관리가 필요하다. 특히 지방세포는 한번 만들어지면 크기는 줄일 수 있으나, 자연적으로 제거하는 것은 불가능하여 영구적으로 인체에 남아있게 되므로 처음부터 비만이 되지 않도록 예방하는 것이 중요하다.

[0004] 비만의 예방, 개선 또는 치료를 위해서 섭취하는 칼로리를 줄이고, 활동 및 운동량을 증가시키는 방법 및 지방 흡수를 감소시키는 등의 약물을 복용하는 방법 등이 이용되고 있다.

[0005] 현재 비만을 치료하는 치료제로는 세로토닌 신경계를 저해하는 펜플루라민, 노르아드레날린 신경계를 통한 에페드린 및 카페인, 세로토닌 및 노르아드레날린 신경계에 동시에 작용하는 시부트라민 및 췌장에서 생성되는 리파아제를 저해하여 지방의 흡수를 줄여주는 오르리스타트 등의 약물이 있다. 그러나 기존에 사용되어온 약물 중 펜플루라민 등은 원발성 폐고혈압이나 심장 판막 병변과 같은 부작용을 일으켜 사용이 금지되었으며, 다른 약물들도 혈압감소나 유산혈증 등의 문제점이 발생하여 심부전, 신질환 등의 환자에는 사용하지 못하는 문제점이 있다. 따라서 부작용이 적은 비만의 예방, 개선 또는 치료 물질의 개발이 요구된다.

[0006] 한편, 최근 비만해소를 위한 방법론적 연구로 지방저장의 보고인 백색지방세포조직의 갈색 지방화(beige adipogenesis)가 화두가 되고 있다. 지방조직에는 잘 알려진 것처럼 백색 지방과 갈색 지방이 존재한다. 일반적으로 유해성 비만이나 대사증후군의 원인이 되는 복부 비만을 주로 구성하는 백색 지방은 과잉의 에너지를 지방의 형태로 저장하고 상황에 따라 필요시 다른 장기에 공급하는 지방저장의 기능을 하고, 비교적 소량으로 신체 일부 국소부위(양 견갑골 사이, 신장 주변, 목 뒷부분)에 존재하며, 지방 에너지를 이용해 발열을 유도해 체온유지에 기여하는 갈색 지방은 지방소모의 기능을 주로 담당하고 있다. 즉, 과잉의 지방에너지를 해소하는 갈색 지방조직의 활성화가 비만해결의 새로운 방법으로 떠올라, 최근 갈색 지방조직에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 갈색 지방세포는 미토콘드리아의 내막에 UCP-1(uncoupling protein, 짝폴립 단백질)을 특이적으로 발현시켜 이들이 관련된 짝폴립 반응을 거쳐 생체에너지 형태인 ATP 대신 열을 발생시켜 에너지원 소모에 기여한다. 이는 임상적으로 해석할 때 전신적으로 추위를 견디기 힘들어 하거나 냉감을 호소하는 사람들, 비정상적인 저체온증이 비만해소가 쉽지 않은 생리적 조건임을 암시하기도 한다. 즉 갈색 지방의 조직 형성 규모가 형편 없거나 활성화가 저조하여 발열을 통한 에너지원 소모의 효율이 낮은 것이다. 또한, 갈색 지방조직에는 교감신경이 다수 분포해 있어 보다 지방분해 및 지방산 산화력이 더욱 클 수 밖에 없다.

[0007] 최근, 건강에 유해한 백색 지방세포에서 운동이나 추위 등의 자극에 의해 백색 지방세포의 형질은 감소되나, 갈색지방세포의 특징을 갖게 되어 UCP-1의 발현이 증가하는 것을 확인하였으며, 이를 베이지색 지방세포라 한다. 이들 베이지색 지방세포는 쥐에게서 발견되는 갈색 지방세포와 유사하게 비만 및 대사 질환에 유익한 것으로 알려져 있다. 게다가, 인간에게서 발견되는 유익한 갈색지방세포는 대부분 베이지색 지방세포로 알려짐에 따라 건강에 해로운 백색 지방세포를 건강에 상대적으로 유익한 베이지 지방세포로의 전환 또는 분화 유도에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다.

[0008] 따라서, UCP-1 단백질 활성 조절과 베이지색 (혹은 갈색) 지방세포의 생성이 비만과 관련한 주요한 연구의 대상이 되고 있고, 이에 대한 연구가 이루어지고 있으나, 아직 미비한 실정이다.

[0009] 한편, 칠면초는 팥겉벌의 대표적인 염생식물로, 바닷물에 잠기며 토양 염농도가 높은 곳에 분포한다. 줄기는 높이 10~50cm 정도로 곧게 자라며 뒷부분에서 가지가 갈라져 많이 퍼지진 않는다. 어긋나게 달리는 잎은 육질로 짧은 곧봉이나 선형으로 끝이 뾰족하다. 줄기와 더불어 몸 전체가 곧잘 붉은색을 띠어 겉벌을 붉게 물들인다. 8~9월 줄기나 가지 윗부분에서 자잘한 잡성화의 꽃이 핀다. 꽃줄기는 없고 처음에는 녹색을 띠지만 차차 자주색으로 변한다. 꽃받침 잎은 5갈래로 깊게 갈라지고 수술 5개, 2개로 갈라진 암술대가 있다. 포과는 꽃받침으로 싸이고 종자가 1개씩 들어 있다.

[0010] 칠면초는 침수에 강해 갯벌에서는 주기적으로 침수되는 저조선부근, 기수지역에서는 강 하류지역에 주로 자란다. 초기 간척지에서는 개척자 식물 중의 하나이며, 습한 곳을 좋아해 주로 갯고랑 부근이나 토양수분이 많은 저지대에 자란다. 하지만, 간척 후 시간이 흐르며 토양이 건조해지면서 대부분 소멸된다.

[0011] 한편, 한국등록특허 제1261029호에는 칠면초를 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 조성물이 개시되어 있으나, 본 발명의 칠면초를 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물에 관해 개시된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로, 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물을 제공하고, 상기 조성물이 비만이 유도된 동물모델에서 체중 및 지방조직을 감소시키고, 혈중 렘틴의 농도를 감소시키며, 피하지방에서 UCP-1의 발현을 증가시키는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명은 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 칠면초 추출물은 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 사료 섭취량의 차이 없이 체중을 감소시키고, 지방조직 및 지방세포

의 면적을 감소시키고, 부고환 지방조직에서 FAS, 렙틴, PPAR- γ 및 AP2의 발현을 감소시키며, 피하지방조직에서 UCP-1의 발현을 현저히 증진시켰으며, 대사작용 촉진에 의해 체온이 상승하는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0016]

도 1은 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 체중감소효과를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아(*Garcinia cambogia*) 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다.

도 2는 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 식이섭취량 변화(a) 및 식이 효율(b)을 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다. +++은 일반 식이군에 비해 고지방 식이 섭취군의 식이 효율이 유의미하게 증가하였다는 것을 의미하고, *, **, ***은 고지방 식이 섭취군에 비해 추출물 투여군의 식이 효율이 유의미하게 감소하였다는 것을 의미하며, +++는 $p < 0.001$, *은 $p < 0.05$, **은 $p < 0.01$, ***은 $p < 0.001$ 이다.

도 3은 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한지방조직의 무게 변화를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다. +++은 일반 식이군에 비해 고지방 식이 섭취군의 지방조직의 무게가 유의미하게 증가하였다는 것을 의미하고, *, **은 고지방 식이 섭취군에 비해 추출물 투여군의 지방조직의 무게가 유의미하게 감소하였다는 것을 의미하며, +++는 $p < 0.001$, *은 $p < 0.05$, **은 $p < 0.01$ 이다.

도 4는 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 지방세포의 면적 변화를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다. +++은 일반 식이군에 비해 고지방 식이 섭취군의 지방세포 면적이 유의미하게 증가하였다는 것을 의미하고, ***은 고지방 식이 섭취군에 비해 추출물 투여군의 지방세포 면적이 유의미하게 감소하였다는 것을 의미하며, +++는 $p < 0.001$, ***은 $p < 0.001$ 이다.

도 5는 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 간, 콩팥 및 비장의 무게 변화를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다. +++은 일반 식이군에 비해 고지방 식이 섭취군의 장기 무게가 유의미하게 증가하였다는 것을 의미하고, *은 고지방 식이 섭취군에 비해 추출물 투여군의 간의 무게가 유의미하게 감소하였다는 것을 의미하며, +++는 $p < 0.001$, *은 $p < 0.05$ 이다.

도 6은 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 혈중 렙틴(a) 및 아디포넥틴(b)의 농도를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다.

도 7은 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 부고환 지방조직에서의 유전자 발현 변화를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다.

도 8은 고지방 식이로 비만이 유도되는 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 피하지방조직에서의 UCP-1 발현변화를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다.

도 9는 저온에 노출 시, 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 체온상승효과를 확인한 결과이다. NCD는 일반 식이군으로 정상군이고, HFD-CTL은 고지방 식이군으로 비만을 유도한 군이고, HFD-GK_245는 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아 245mg/kg/day를 경구투여한 양성 대조군이고, HFD-SJE_100은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 100mg/kg/day를 경구투여한 군이며, HFD-SJE_200은 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 200mg/kg/day를 경구투여한 군이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 본 발명은 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.
- [0018] 본 발명의 일 구현 예에서, 상기 칠면초 추출물은 물, C₁ 내지 C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 이용하여 추출한 것이며, 바람직하게는 에탄올을 용매로 이용하여 추출하는 것이지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0019] 상기 칠면초 추출물은 피하지방에서 UCP-1의 발현을 증가시켜, 백색 지방으로부터 베이지색 지방세포의 형성을 유도한다. '베이지색 지방세포'란 백색 지방조직 내에서 갈색 지방세포와 유사한 기능을 수행하는 세포로, 에너지를 소비하는 역할을 한다.
- [0020] 본 발명의 일 구현 예에 따른 건강기능식품 조성물에 있어서, 상기 건강기능식품 조성물은 체중의 증가 또는 지방의 축적을 억제할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 구현 예에 따른 건강기능식품 조성물에 있어서, 상기 건강기능식품 조성물은 부고환주변 백색 지방조직에서 지방산합성효소(fatty acid synthase, FAS), 렙틴(leptin), PPAR- γ (peroxisome proliferators-activated receptor- γ) 및 AP2(adipocyte protein 2)의 발현을 감소시키고, UCP-2(uncoupling protein-2)의 발현을 증가시킬 수 있으며, 대사작용 촉진에 의해 체온을 상승시킬 수 있다.
- [0022] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 건강기능식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 양은 그의 사용 목적(예방 또는 개선)에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 건강기능식품 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강을 목적으로 장기간 섭취하는 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로 사용될 수 있다.
- [0023] 상기 건강기능식품의 종류에 특별한 제한은 없다. 상기 건강기능식품 조성물을 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, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0024] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물은 식품, 특히 기능성 식품으로 제조될 수 있다. 본 발명의 기능성 식품은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 천연 탄수화물 또는 향미제를 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등), 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등), 올리고당, 폴리사카라이드(예컨대, 텍스트린, 시클로텍스트린 등) 또는 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등)인 것이 바람직하다. 상기 향미제는 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등)와 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다.
- [0025] 상기 건강기능식품 조성물 이외에 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 더 함유할 수 있다. 이러한 상기 첨가되는 성분의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강기능식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이

일반적이다.

- [0026] 또한, 본 발명은 칠면초 추출물을 유효성분으로 함유하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0027] 본 발명의 일 구현 예에서, 상기 약학 조성물은 캡슐제, 산제, 과립제, 정제 또는 환제로 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0028] 본 발명의 약학조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있으며, 이러한 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 레밍턴의 약학적 과학(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.
- [0029] 본 발명에 따른 약학조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다.
- [0030] 본 발명의 약학조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구 투여의 경우, 피부에 국소적으로 도포, 정맥 내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 약학조성물은 비만의 억제 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선치료, 호르몬치료, 화학치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.
- [0033] 본 발명의 약학조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 주사제, 크림, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조될 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0034] 이하, 제조예 및 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 제조예 및 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.
- [0035] **제조예 1. 칠면초 추출물의 제조**
- [0036] 건조 후 분쇄한 칠면초 1kg에 70%(v/v) 에탄올 수용액 15ℓ를 첨가하여 교반한 후, 환류추출기(heating Mantle, MS-DM609/20L)를 사용하여 85℃에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 그 후 왓즈만 여과지 No.5A로 여과하여 여액을 얻은 다음 회전 진공증발기(Rotavapor R-121, Buchi, Switzerland)로 감압농축하고, 농축물을 동결건조기(PF-10/ALPHA 1-2LD, 독일)에 넣고 챔버 온도 -45℃, 진공압력 10 Torr 이하에서 72시간 동안 건조하여 칠면초 추출물 분말 112g을 수득하였다. 수득된 칠면초 추출물 분말은 냉동보관하면서 실험을 위한 시료로 사용하였으며, 실험 시 마우스 투여를 위해 생리식염수에 현탁시켰다.
- [0037] **실시예 1. 실험동물모델 설계**
- [0038] 본 실험을 위하여 잭슨 실험실(Bar Harbor, ME, USA)로부터 8주령의 수컷 C57BL/6J 마우스를 분양받아 2주 동안 항온(21±2℃), 항습(50±5%) 및 12시간 간격의 광주기(light on 07:00~19:00)로 명암이 조절되는 환경에서 적응시킨 후 무작위로 일반 식이군, 고지방 식이군, 고지방 식이+가르시니아 캄보지아 추출물 처리군, 고지방 식이+칠면초 추출물 100mg/kg 처리군, 고지방 식이+칠면초 추출물 200mg/kg 처리군 각각 10마리씩 총 5개의 그룹으로 나누어 실험하였다.
- [0039] 비만을 유도하기 위한 고지방 사료(Rodent Diet D12492, Research Diet, New Brunswick, NL, USA)는 60% 지방,

20% 단백질 및 20% 탄수화물로 이루어져 있고, 일반 사료(AIN-76A, Research Diet, New Brunswick, NL, USA)는 11.5% 지방, 20.8% 단백질 및 67.7% 탄수화물로 이루어져 있다.

[0040] 고지방 식이 및 추출물의 투여는 10주령 마우스에 총 9주 동안 매일 같은 시간에 경구투여로 이루어졌으며, 가르시니아 캄보지아 추출물(GK)은 245mg/kg/day, 칠면초 추출물은 100mg/kg/day 및 200mg/kg/day를 투여하였고, 일반 식이군 및 고지방 식이군은 동량의 생리식염수를 경구투여하였다.

[0041] 체중 및 식이 섭취량은 매주 일정한 시간에 측정하여 기록하였으며, 사육이 끝난 실험동물은 15시간 동안 절식 시킨 후 희생하였다. 혈액은 심장천자법으로 채혈하였으며, 혈액생화학적 검사를 실시하기 위해 채혈 후 30분 이내에 3000rpm, 4℃에서 15분 동안 원심분리하여 혈장을 분리하였으며, 분리된 혈장은 영하 70℃에 보관하며 실험에 사용하였다. 장기 및 지방조직은 혈액채취 후 즉시 적출하여 칭량 후, RNA 실험용은 RNA 안정액에 보관하여 일주일 안에 RNA를 뽑고, 나머지 부분은 액체질소로 급냉시켜 영하 70℃에 보관하였다.

[0042] 실시예 2. 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 칠면초 추출물이 체중에 미치는 영향 확인

[0043] 실시예 1의 5개 그룹을 대상으로 체중, 식이 섭취량 및 식이 효율을 측정하였다.

[0044] 체중 및 식이 섭취량은 매주 같은 시간에 측정하였으며, 1일 평균 식이 섭취량은 측정한 섭취량을 7일로 나누어 계산하였다. 식이 효율(food efficiency ratio, FER)은 하기 식 1로 계산하였다.

[0045] [식 1]

[0046]
$$FER = [\text{총 체중 증가량} / \text{총 식이 섭취량}] \times 100$$

[0047] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 일반 식이 마우스에 비해 고지방 식이한마우스의 체중이 급격하게 증가하는 것을 확인할 수 있었고, 칠면초 추출물(SJE)을 경구투여한 군에서는 투여 2주 이후부터 체중의 증가효과가 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

[0048] 또한, 도 2에 나타난 바와 같이 각 그룹 간 식이 섭취량에는 큰 차이가 없으나, 식이 효율은 감소하는 것을 확인하였다.

[0049] 실시예 3. 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 칠면초 추출물이 지방조직에 미치는 영향 확인

[0050] 실시예 1에서 적출한 지방조직은 위치에 따라 복부 피하지방(abdominal subcutaneous fat), 부고환주위의 지방(epididymal adipose tissue), 콩팥주위의 지방(kidney adipose tissue) 및 창자주위의 지방(intestine adipose tissue)으로 나누어 각각의 무게를 측정하였다.

[0051] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 고지방 식이에 의해 지방조직의 무게는 증가하였으며, 칠면초 추출물(SJE) 투여시 고지방 식이군에 비해 내장 및 피하지방조직이 감소되어 있는 것을 확인하였으며, 특히 복부 피하지방조직의 감소효과가 가장 크게 나타났다.

[0052] 적출한 부고환주변 백색지방조직은 지방세포의 크기 측정을 위해 6μm 두께로 절단한 후, H&E 또는 Oil-red-O 염색을 실시하였고, 광학현미경(Olympus BX51, Olympus Optical Co., Japan)으로 염색된 부위의 지방세포 20개를 측정하여 이미지 분석장치(Image-Pro Plus 5.0, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여 평균 값을 구하였다.

[0053] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이 고지방 식이에 의해 증가된 지방세포의 면적이 칠면초 추출물을 투여함으로써 감소하였다.

[0054] 한편, 도 5에 나타난 바와 같이 실시예 1에서 적출한 각각의 장기의 무게를 측정한 결과, 칠면초 추출물 투여시 간의 무게가 소폭 감소하는 경향을 나타냈으나, 콩팥 및 비장의 무게는 차이가 나지 않았다.

[0055] 실시예 4. 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 혈중 아디포카인(adipokine)의 변화

[0056] 실시예 1에서 채혈된 혈액으로부터 혈중 렙틴 및 아디포넥틴의 함량을 ELISA 키트(R&D Systems, Minneapolis,

MN, USA)를 이용하여 분석하였다.

[0057] 그 결과, 고지방 식이에 의해 증가한 혈중 렙틴의 농도는 칠면초 추출물을 투여하였을 경우 감소하였으나(도 6(a)), 아디포넥틴의 농도는 고지방 식이에 의해 변화하지 않았으며, 고지방 식이를 하며 가르시니아 캄보지아(GK) 투여시 증가하였으나, 고지방 식이를 하며 칠면초 추출물 투여시, 칠면초 추출물에 의한 농도변화는 나타나지 않았다(도 6(b)).

[0058] **실시예 5. 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 부고환주변 지방조직에서의 유전자 발현 변화**

[0059] 실시예 1에서 적출한 부고환주변 지방조직을 이용하여 고지방 식이로 비만이 유도되는 마우스에서 칠면초 추출물이 유전자 발현에 미치는 영향을 분석하였다.

[0060] 부고환주변 지방조직은 균질화한 후, TRI 시약(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 이용하여 전체 RNA를 추출하고, DNase I (Life Technologies, Grand Island, NY, USA)을 처리하여 염색체의 DNA(chromosomal DNA)를 제거하였다.

[0061] 추출된 RNA는 Boden(Diabetes, 2005, 54:3458-3465)의 방법에 따라 SYBR Green one-step qRT-PCR kit(Invitrogen, Carlsbad, CA)와 Light Cycler(Roche, Indianapolis, IN)를 사용하여 유전자 발현량을 확인하였다.

[0062] 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이 AP2, FAS, 렙틴, SREBP1c 및 PPAR- γ 의 발현은 고지방 식이에 의해 증가되었으나, 칠면초 추출물 투여에 의해 감소하는 것을 확인할 수 있었다. UCP-2의 발현은 고지방 식이에 의해 감소하였다가 칠면초 추출물 투여시 소폭 증가하는 패턴을 나타냈다. UCP는 UCP-1, 2 및 3의 3가지 종류가 밝혀져 있고, 미토콘드리아 내막에 위치한 단백질로, 산화적 인산화의 과정에서 발생한 수소이온을 ATP로 합성하는 대신 열을 생산하는데 이용되도록 하여 에너지를 소비하게 하는 역할을 함으로써, 대사속도 및 지방제거 효과를 높이는 것으로 알려져 있다.

[0063] **실시예 6. 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 피하지방에서의 UCP-1 발현 변화**

[0064] 실시예 1에서 적출한 피하지방조직을 이용하여 고지방 식이로 비만이 유도된 마우스에서 칠면초 추출물이 UCP-1 유전자 발현에 미치는 영향을 분석하였다.

[0065] 실시예 5와 동일한 방법으로 RNA 추출 및 증합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)을 실시하였다.

[0066] 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이 피하지방조직에서의 UCP-1 발현은 고지방 식이에 의해 감소하였으나, 칠면초 추출물을 고지방 식이와 함께 투여한 군에서는 UCP-1의 발현이 일반 식이군에 비해서도 현저히 증진되어 있는 것을 확인하였다. UCP-1은 에너지 소비 역할을 하는 갈색 지방 특이적 마커로서, 백색 지방조직인 피하지방에서의 UCP-1의 발현증가는 백색 지방 내에 갈색 지방의 역할을 하는 베이지색 지방세포가 형성되었다는 것을 의미한다.

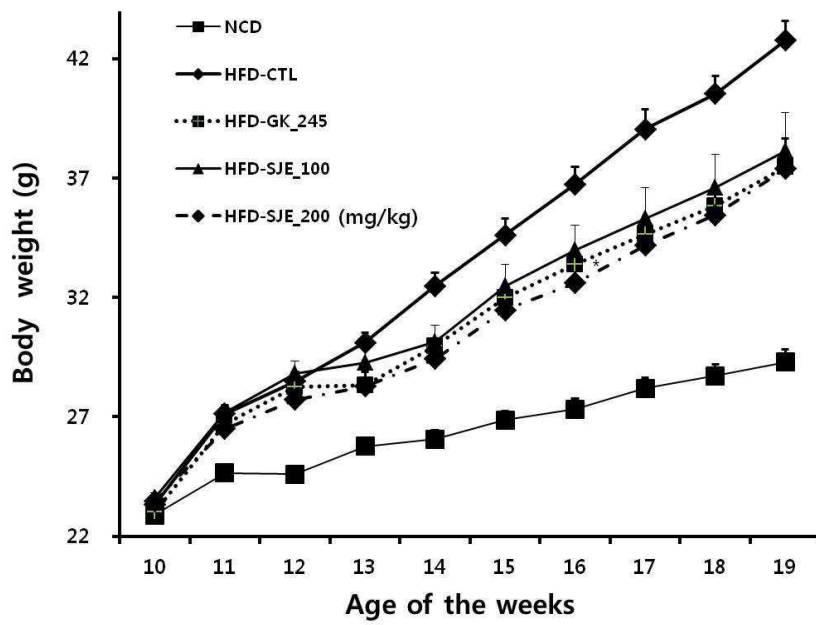
[0067] **실시예 7. 고지방 식이로 비만이 유도된 동물모델에서 칠면초 추출물에 의한 체온상승효과**

[0068] 실시예 1의 동물모델에서 고지방 식이 및 추출물 투여 8주 종료시점에 10℃ 온도가 유지되는 콜드 챔버(cold chamber)에서 추출물 투여시간(30, 60, 90, 120, 180분)에 따른 체온의 변화를 직장 온도 측정을 통해 확인하였다. 온도는 Thermalert 모델 TH-8 온도 모니터(Thermalert model TH-8 temperature monitor)를 이용하여 탐침을 2.5cm 깊이의 직장에 넣고, 마리 당 30초 이내의 시간으로 측정하였다.

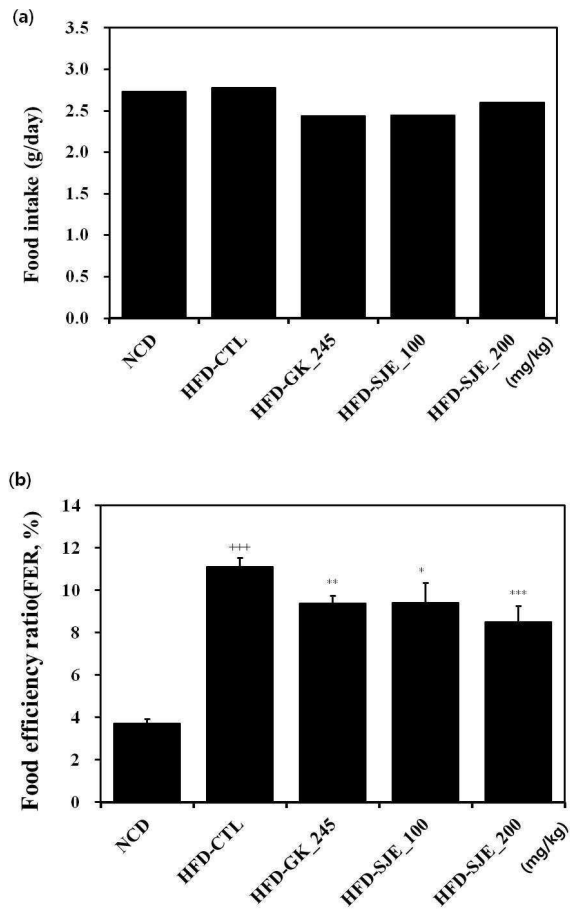
[0069] 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이 추출물 투여 30분 후에는 체온의 차이가 없었지만, 60분 이후부터 칠면초 추출물 투여군의 체온이 일반 식이군 및 고지방 식이군에 비해 높았으며, 칠면초 추출물 100mg/kg 투여군이 칠면초 추출물 200mg/kg 투여군에 비해 추위에 노출되었을 때 체온의 상승효과가 우수했다. 저온에 노출되었을 때 체온상승효과가 높아지는 것은 에너지 대사가 활발하게 일어난다는 것을 의미하며, 높아진 에너지 대사에 의해 항비만 효과가 나타나는 것으로 판단하였다.

도면

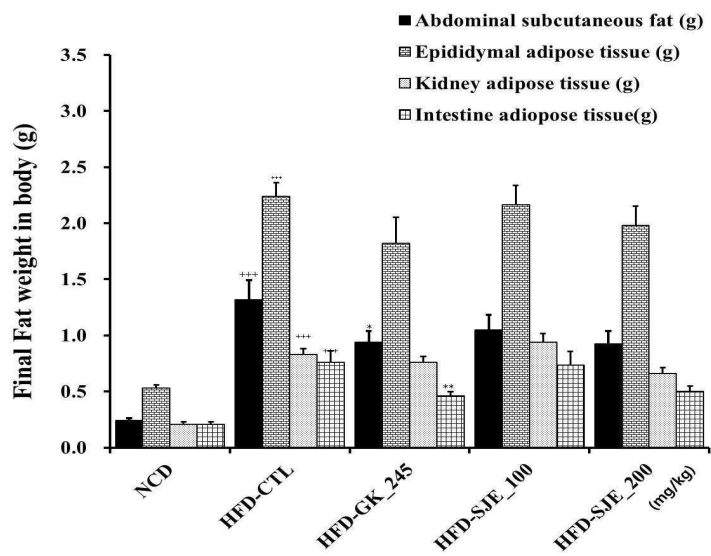
도면1



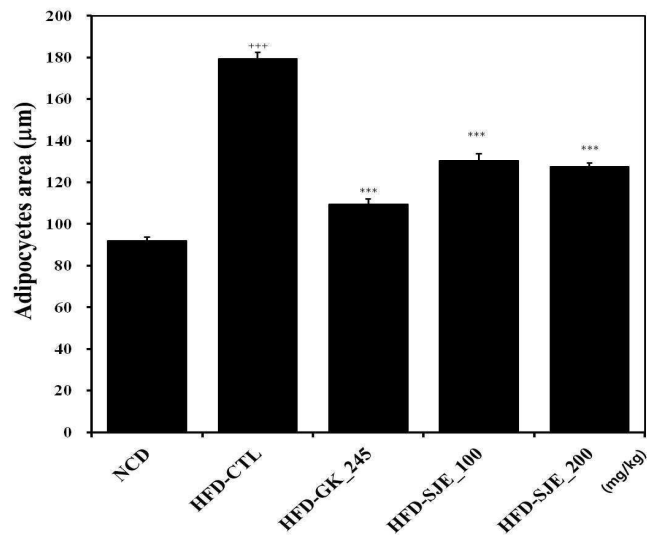
도면2



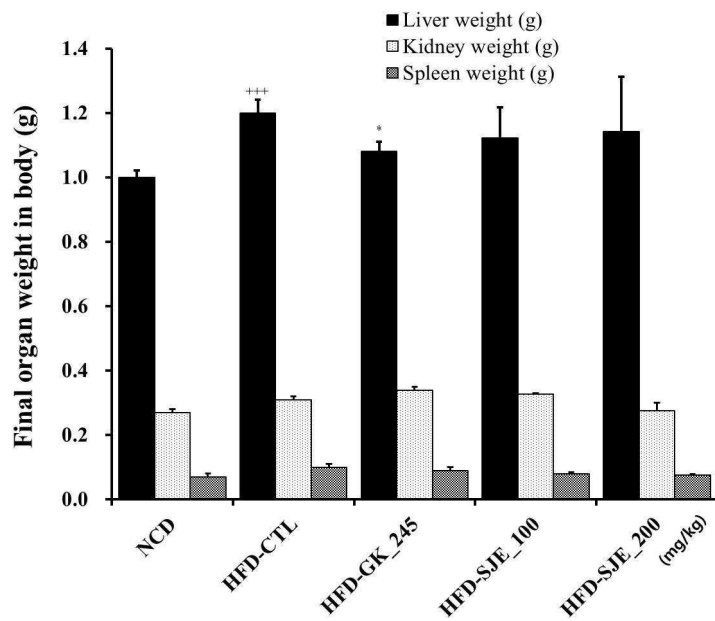
도면3



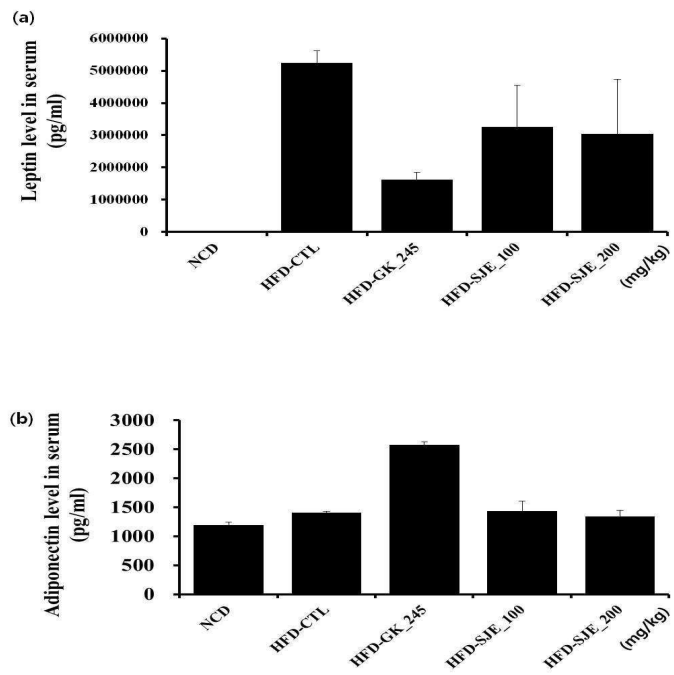
도면4



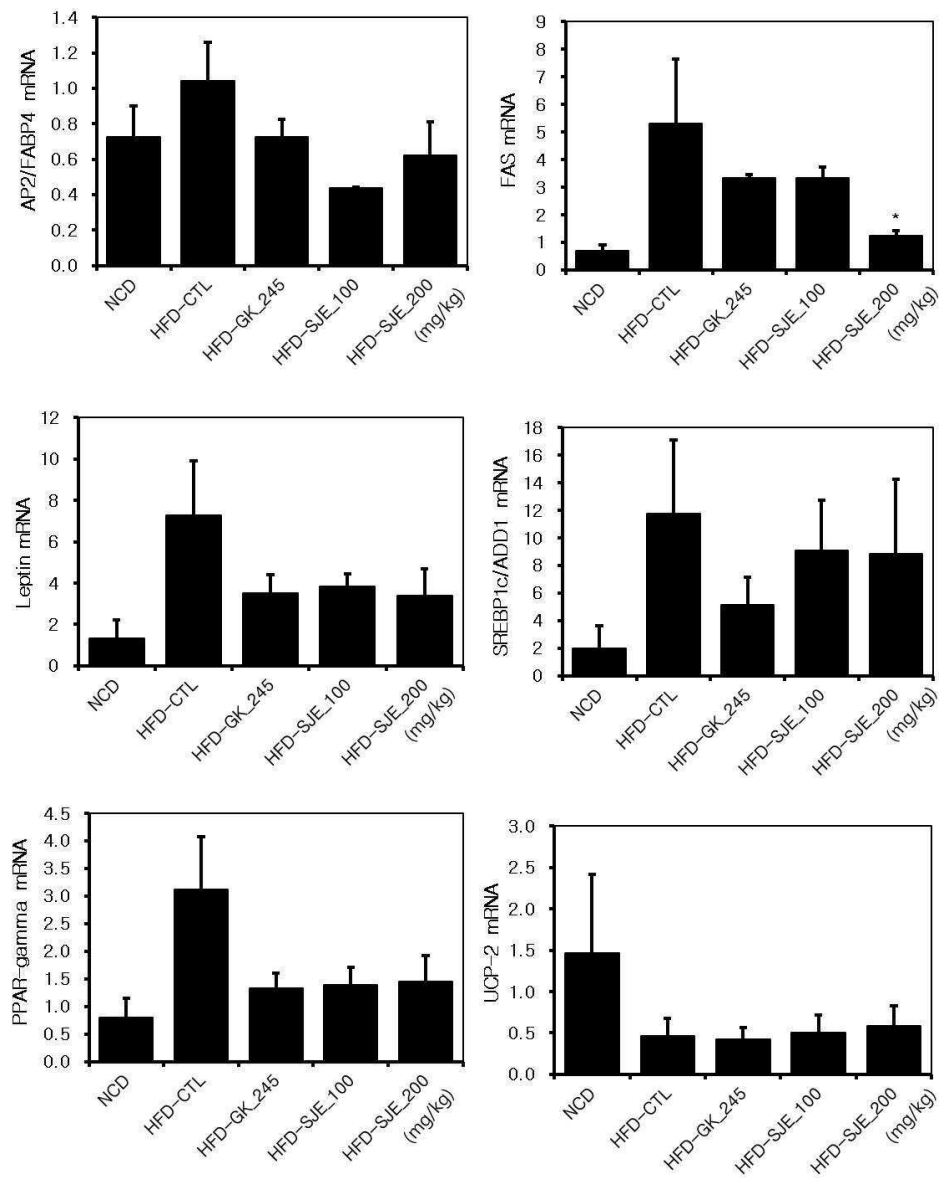
도면5



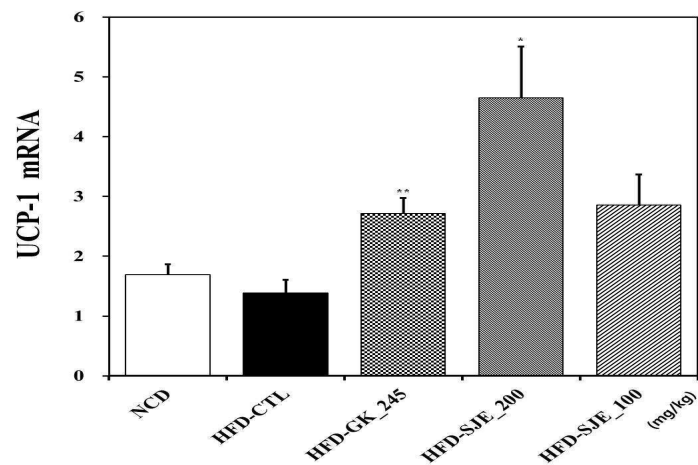
도면6



도면7



도면8



도면9

