(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0092121
(43) 공개일자 2018년08월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0017494
(22) 출원일자 2017년02월08일
심사청구일자 2017년02월08일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
임순성
강원도 춘천시 후석로 325, 105동 301호 (후평동, 춘천더샵아파트)
황승환
경기도 남양주시 경춘로885번길 10-7, 40동 301호 (금곡동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이정훈, 특허법인 정안, 진현정

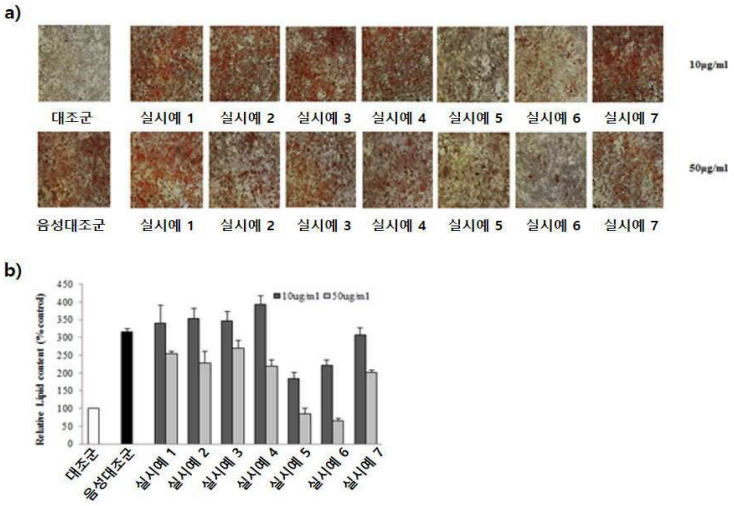
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 **미역취 추출물을 함유하는 항비만 식품 조성물 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 미역취 추출물을 함유하는 항비만 식품 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 항비만 효능이 우수한 에탄올을 이용하여 추출한 미역취 추출물을 함유하는 식품 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A23V 2200/332 (2013.01)
A23V 2250/21 (2013.01)
(72) 발명자
이재용
강원도 춘천시 춘주로 174, 103동 1303호 (퇴계동, 그린타운아파트)
이수경
강원도 춘천시 우석로85번길 1 (석사동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 114066-3
부처명 농림축산식품부
연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원
연구사업명 2014 농생명산업기술개발사업
연구과제명 미역취로부터 체지방감소 건강기능식품 개별인정 원료개발
기 여 율 1/1
주관기관 한림대학교 산학협력단
연구기간 2014.09.25 ~ 2017.09.24

명 세 서

청구범위

청구항 1

미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 에탄올의 농도는 5 내지 100% 인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 에탄올의 농도는 10% 인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 미역취는 대한민국 내의 울산, 고성, 대관령, 거제, 한라산, 울릉도 및 외도로부터 선택된 어느 하나 이상의 지역에서 수확한 것인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 미역취는 대한민국 내의 한라산 또는 울릉도에서 수확한 것인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 미역취는 솔리다고 비르가우레아 아종 기간테아 키탐(Solidago virgaurea subsp. gigantea Kitam)인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 미역취는 4월 내지 8월에 수확한 것인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 미역취는 4월 내지 5월에 수확한 것인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 9

제 1항에 있어서,

상기 항비만용 기능성 식품 조성물은 향미제, 풍미제, 착색제, 충진제, 안정화제, 천연 탄수화물, 영양제, 비타민제, 증점제, pH 조절제, 방부제 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 첨가제를 추가로 포함하는 것인 항비만용 기능성 식품 조성물.

청구항 10

제 1항 내지 제 9항 중 어느 한 항의 기능성 식품 조성물을 포함하는 항비만용 기능성 식품.

청구항 11

1) 미역취를 상온에서 24시간 내지 48시간동안 건조시키는 단계;

2) 건조된 미역취를 분쇄하는 단계;

3) 상기 분쇄물을 에탄올에 침지시키는 단계;

4) 상기 시료를 55 내지 85℃로 가온하는 단계;

5) 상기 추출물을 여과하는 단계; 및

6) 상기 추출물을 감압 농축시켜 농축물을 수득하는 단계를 포함하는 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 에탄올은 5 내지 100% 에탄올인, 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 에탄올은 10% 에탄올인, 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 14

제 11항에 있어서,

상기 4) 단계의 가온 온도가 70℃인, 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 15

제11항에 있어서,

상기 3) 단계의 에탄올은 분쇄물의 중량 기준으로 1 내지 15배인 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 3) 단계의 에탄올은 분쇄물의 중량 기준으로 10배인 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 17

제 11항에 있어서,

상기 3) 단계의 침지시키는 시간은 1 내지 10시간인 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 18

제 17항에 있어서,

상기 3) 단계의 침지시키는 시간은 7시간인 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성

식품 조성물의 제조 방법.

청구항 19

제 11항에 있어서,

상기 3) 단계의 추출은 초음파 추출법, 여과법, 침지법 및 환류 추출법로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 추출법에 의한 것인 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

청구항 20

제 11항에 있어서,

상기 2) 단계는 전초 및 꽃을 포함하는 미역취를 분쇄하는 단계인 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 미역취 추출물을 함유하는 항비만 식품 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 항비만 효능이 우수한 각 지역별 미역취 추출물 또는 각 시기별 미역취 추출물을 함유하는 식품 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 경제 발전과 함께 과학기술의 고도성장을 통하여 선진국형 고령화로 접어드는 동시에 성인병이 급격히 증가하고 있다. 이의 원인으로서 현대인들의 스트레스 가중과 식생활 습관이 서구화되고 과도한 영양섭취, 신체활동량의 감소를 들 수 있으며, 실제 비만을 동반한 합병증인 심장 및 뇌혈관성 질환 사망률이 1, 2위를 기록하고 있으며, 비만은 각종 성인병의 원인으로 제시되고 있다.

[0003] 이와 같이 비만과 함께 수반되는 대사증후군이 관심사로 집중되면서 지방조직은 지방 저장소로써의 역할 뿐아니라, 대사조절을 하는 내분비기관으로써 연구 대상이 되고 있다. 지방조직에서 생성, 분비되는 아디포넥틴, 렙틴, 레지스틴(resistin), 아딥신, 비스파틴(visfatin)과 같은 아디포사이토카인(adipokines)들이 속속 밝혀짐에 따라 이에 관한 많은 연구들이 이루어지고 있다.

[0004] 현재 국내 비만치료제 시장은 약 800억원 이상으로 추정되고 있는데 매년 10% 정도 성장하고 있다. 항비만 기능성 식품 시장에서 기능성에 대하여 과학적인 인정을 받은 물질로는 피루부산과 CLA(Conjugated Linolic Acid)가 있으며, CLA는 지방세포의 자살 기전 유도로 지방세포 수, 크기를 감소시킨다. CLA의 특허 권한이 외국에 있어 시중에 판매되고 제품들은 외국에 로얄티를 지불하여 생산, 판매하고 있다.

[0005] 한때, 제니칼(Xenical), 리덕틸(Reductil)등의 비만 치료제가 등장하면서 500억대 시장을 형성하기도 하였지만, 심혈관질환, 대장점막의 손상과 착색들 부작용이 발견되면서 판매가 금지되었다.

[0006] 판크레틱 리파아제(Pancreatic lipase)는 트리글리세라이드를 2-모노아실글리세롤과 지방산으로 분해하는 중요 효소(key enzyme)로서 작용한다. 대표적인 판크레틱 리파아제 억제제는 Streptomyces toxitricini로부터 유래된 립스타틴(lipstatin)의 유도체인 테트라하이드로립스타틴으로서 섭취된 지방의 약 30%를 저해할 정도로 효능이 우수하며, 현재 의약품으로 시판 중에 있지만, 위장장애, 과민증, 담즙분비장애 등의 부작용이 있다.

[0007] 따라서, 장기 복용하여도 안전하고 부작용이 없는 천연물이면서도 비만 예방 또는 체지방 감소 효능이 있는 항비만 의약 또는 식품 조성물의 개발 요구가 증대되고 있다.

[0008] 한편, 미역취(*Solidago virgaurea*)는 일지황화, 광과일지황화, 두메미역취, 돼지나물이라 불리기도 하는 국화과로 원산지는 한국과 일본이며, 전국의 산야에서 흔히 자생한다. 어린잎은 나물로 식용하고 민간에서 건위제, 이뇨제 따위로 쓴다.

[0009] 국내의 미역취 주요재배지로는 울릉도와 전남고흥이 국내 유통되는 대부분을 생산하는 생산지이며 그 중에서도 울릉도가 70ha면적에서 연평균 200M/T정도로 전남고흥에 비하여 월등하게 많이 재배되는 것으로 알려져 있다(출처: 울릉군농업기술센터, 고흥군농업기술센터). 전남고흥의 경우 취나물작목반에서 참취, 곰취등과 함께 재배하

여 유통된다.

[0010] 현재 미역취의 대부분은 건조물 형태로 유통되고 일부는 간장절임등의 식품의 형태로만 유통되고 있으며, 멜라닌 생성 억제 효과, 항염증효과, 조골세포의 활성화 등에 관한 연구가 보고되어 있으나, 항비만 관련 효과에 대해서는 보고된 바가 없다.

[0011] 본 연구자들은 미역취(*Solidago virgaurea*) 추출물로부터 비만 예방 또는 체지방 감소 효능을 확인하였으며, 수확한 지역별 및 시기별에 따른 미역취 추출물의 비만 예방 또는 체지방 감소 효능을 확인하고 최적의 지역 및 시기를 확립하고자 연구하여 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 일 목적은 미역취 추출물을 함유하는 항비만 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은, 우수한 비만 예방 또는 체지방 감소 효능을 갖는 미역취 추출물을 함유하는 식품 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 구현예에서, 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물이 제공된다.

[0015] 본 발명의 일 구현예에서, 1) 미역취를 상온에서 24시간 내지 48시간동안 건조시키는 단계; 2) 건조된 미역취를 분쇄하는 단계; 3) 상기 분쇄물을 에탄올에 침지시키는 단계; 4) 상기 시료를 55 내지 85℃로 가온하는 단계; 5) 상기 추출물을 여과하는 단계; 및 6) 상기 추출물을 감압 농축시켜 농축물을 수득하는 단계를 포함하는 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법이 제공된다.

[0016] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 기능성 식품 조성물을 포함하는 항비만용 기능성 식품을 제공된다.

[0017] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명은 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명에서 용어, "추출물"은 천연물로부터 분리된 활성 성분을 의미하며, 여기서는 미역취로부터 분리된 물질을 의미한다.

[0020] 본 발명의 조성물의 항 비만 효과는 지방 축적 억제 기능 검증을 위한 3T3-L1세포의 분화억제 시험함으로써 확인할 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 에탄올의 농도는 5 내지 100% 일수 있으며 바람직하게는 10%인 것이나, 지방세포 생성 억제율이 뛰어난 효과를 나타낼 수 있는 범위라면 특별히 제한하지 않는다.

[0022] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 미역취는 대한민국 내의 울산, 고성, 대관령, 거제, 한라산, 울릉도 및 외도로부터 선택된 어느 하나 이상의 지역에서 수확한 것일 수 있다.

[0023] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 미역취는 대한민국 내의 한라산 또는 울릉도에서 수확한 것일 수 있다.

[0024] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 미역취는 솔리다고 비르가우레아 아종 기간테아 키탐(Solidago virgaurea subsp. gigantea Kitam)인 것 일 수 있다.

[0025] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 미역취는 4월 내지 8월에 수확한 것일 수 있다. 바람직하게는 4월 내지 5월인 것이나, 이에 제한하지 않는다.

[0026] 본 발명의 일 구현예에서, 1) 미역취를 상온에서 24시간 내지 48시간동안 건조시키는 단계; 2) 건조된 미역취를 분쇄하는 단계; 3) 상기 분쇄물을 에탄올에 침지시키는 단계; 4) 상기 시료를 55 내지 85℃로 가온하는 단계; 5) 상기 추출물을 여과하는 단계; 및 6) 상기 추출물을 감압 농축시켜 농축물을 수득하는 단계를 포함하는 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0027] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 에탄올은 5 내지 100% 에탄올인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 10% 에탄올인 것이나, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 4) 단계의 가온 온도가 70℃일 수 있다.

[0029] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 3) 단계의 에탄올은 분쇄물의 중량 기준으로 1 내지 15배를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 1 내지 10배이며, 더욱 바람직하게는 10배이다.

[0030] 본 발명의 일 구현예에서, 시료는 추출 용매에서 침출을 위해 상기 3) 단계의 침지시키는 시간은 1 내지 72 시간일 수 있으며, 바람직하게는 1 내지 10 시간 동안 방치할 수 있으며 더욱 바람직하게는 7시간 동안 방치할 수 있다.

[0031] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 2) 단계는 전초 및 꽃을 포함하는 미역취를 분쇄하는 단계일 수 있다.

[0032] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 3) 단계의 추출은 초음파 추출법, 여과법, 침지법 및 환류 추출법로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 추출법에 의한 것일 수 있다.

[0033] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 미역취의 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 기능성 식품 조성물의 제조 방법은 추출물을 얻은 후에는 농축 또는 동결건조 등의 방법을 추가적으로 사용할 수 있다.

[0034] 발명의 일 구현예에서, 상기 항비만용 기능성 식품 조성물은 향미제, 풍미제, 착색제, 충진제, 안정화제, 천연탄수화물, 영양제, 비타민제, 증점제, pH 조절제, 방부제 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.

[0035] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명의 기능성 식품 조성물은 정제, 환제, 과립제, 분말제, 액제, 경질캅셀제, 연질캅셀제 등과 같은 일반적인 제형으로 제조될 수 있으며, 죽, 빵, 음료, 바, 초콜릿, 쿠키, 차, 드링크제, 비타민 복합제, 육류, 소시지, 캔디, 면, 젤리 등과 같은 임의의 형태로 제조될 수 있다.

[0036] 상기와 같은 여러 제형 또는 형태를 제조하기 위해, 전술한 부형제들과 같은 식품학적으로 허용 가능한 담체 또는 첨가제를 사용할 수 있으며, 제조하고자 하는 제형 또는 형태의 제조에 당해 기술 분야에서 사용 가능한 것으로 공지되어 있는 임의의 담체 또는 첨가제가 이용될 수 있다.

발명의 효과

[0037] 본 발명에 의하면 우수한 비만 예방 또는 체지방 감소 효능을 갖는 미역취 추출물을 함유하는 식품 조성물 및 이의 제조방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0038] 도 1은 5월 울릉도 미역취의 에탄올 추출물에 대한 HPLC 결과를 나타낸 것이다.

도 2의 a)는 3T3-L1 세포에서 지방세포 분화유도 배지로 교환 후, 각 지역별 미역취 추출물을 처리하고 나서 오일 레드 O(oil red O)로 염색한 결과이고, b)는 각 지역별 미역취 추출물에 대한 3T3-L1 세포의 분화억제 평가 결과를 도시한 그래프이다.

도 3의 a)는 3T3-L1 세포에서 지방세포 분화유도 배지로 교환 후, 각 시기별 울릉도 미역취 추출물을 처리하고 나서 오일 레드 O(oil red O)로 염색한 결과이고, b)는 각 시기별 미역취 추출물에 대한 3T3-L1 세포의 분화억제 평가 결과를 도시한 그래프이다.

도 4의 a)는 3T3-L1 세포에서 지방세포 분화유도 배지로 교환 후, 5월 울릉도 미역취를 에탄올의 농도별로 추출하여 각 추출물을 오일 레드 O(oil red O)로 염색한 결과이고, b)는 이의 각 미역취 추출물에 대한 3T3-L1 세포의 분화억제 평가 결과를 도시한 그래프이다.

도 5의 a)는 각 지역별 미역취 추출물의 세포 독성 평가를, b)는 각 시기별 울릉도 미역취 추출물의 세포 독성 평가를, c) 5월 울릉도 미역취를 에탄올 농도별로 추출한 각 추추출물의 세포 독성 평가를 도시한 그래프이다.

도 6의 a)은 C57BL/6 마우스 그룹에 고지방사료를 투여하고, 동시에 미역취 추출물을 10주간 투여한 것에 따른 체중 변화를, b)는 음식 섭취량의 변화를 나타낸 그래프이다.

도 7은 C57BL/6 마우스 그룹에 고지방사료를 투여하고, 동시에 미역취 추출물을 10주간 투여한 이후, 마우스 그룹에 대한 부고환 지방의 지방세포 크기를 나타낸 그래프 및 부고환 지방의 일부 절편을 도시한 도면이다.

도 8는 3T3-L1 세포에서 분화기전으로 알려진 PPAR-r, C/EBP-α, FAS, aP2 및 SCD-1의 발현 여부에 대한 결과를 나타낸 것이다.

도 9은 3T3-L1 세포에서 분화기전으로 알려진 SREBP1, SCD-1, FAS 및 CD36의 발현 여부에 대한 결과를 나타낸 것이다.

도 10은 ^{1}H-NMR 분광법을 이용하여 C57BL/6 마우스 그룹에 고지방사료를 투여하고, 동시에 미역취 추출물을 10주간 투여한 이후, 마우스 그룹에 대한 간 조직의 성분을 분석한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039] 이하, 본 발명의 바람직한 실시 형태들을 설명한다. 그러나, 본 발명의 실시형태는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 이하 설명하는 실시 형태로 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 실시형태는 당해 기술분야에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것이다.

[0040] 본 발명은 미역취 추출물을 함유하는 항비만 식품 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 항비만 효능이 우수한 각 지역별 미역취 추출물 또는 각 시기별 미역취 추출물을 함유하는 식품 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[0042] **실시예**

[0043] 이하, 구체적인 실시예를 통해 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 예시에 불과하며, 본 발명의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.

[0044] **[제조예1] 추출 방법**

[0045] 대한민국 내의 울산, 고성, 대관령, 거제, 한라산, 울릉도 및 외도에서 각각 미역취를 수확하였다. 또한 이들 중 울릉도 미역취(솔리다고 비르가우레아 아종 기간테아 키탐, Solidago virgaurea subsp. gigantea Kitam)는 4월, 5월, 6월, 7월 및 8월에 대한 시기별로 각각 미역취를 채집하였다.

[0046] 상기와 같이 서로 다른 지역 및 시기에 수확한 각 미역취를 건조한 후, 1.5kg의 건조 미역취를 분쇄한 뒤 10% 에탄올(15L)을 이용하여 7시간 동안 70℃에서 침출시켰다. 침출한 각각의 시료를 감압농축기를 이용하여 농축하였고, 그 다음 동결건조기(Ilshinbiobase Co., Ltd., 양주, 대한민국)를 이용하여 동결 건조하였다.

[0047] 단, 여기서 5월에 수확한 울릉도 미역취는 각 농도별 에탄올(10 내지 100%)을 이용하여 상기와 같이 추출하였다.

[0048] **[실시예]**

[0049] 상기 제조예 1과 같이, 추출하여 얻은 미역취 추출물을 하기 표 1에 나타냈다.

표 1

[0050]

구분	지역	시기	추출용매
실시예 1	울산	5월	10% 에탄올
실시예 2	고성	5월	10% 에탄올
실시예 3	대관령	5월	10% 에탄올
실시예 4	거제	5월	10% 에탄올
실시예 5	한라산	5월	10% 에탄올
실시예 6	울릉도	5월	10% 에탄올
실시예 7	외도	5월	10% 에탄올
실시예 8	울릉도	4월	10% 에탄올
실시예 9	울릉도	6월	10% 에탄올
실시예 10	울릉도	7월	10% 에탄올
실시예 11	울릉도	8월	10% 에탄올
실시예 12	울릉도	5월	0% 에탄올
실시예 13	울릉도	5월	30% 에탄올
실시예 14	울릉도	5월	50% 에탄올
실시예 15	울릉도	5월	70% 에탄올
실시예 16	울릉도	5월	100% 에탄올

[0052] **[실험예 1] 울릉도 미역취 추출물 내의 성분 확인**

[0053] 실시예 6 및 실시예 12 내지 16의 미역취 추출물은 Eclipse XDB-C18 컬럼을 가진 Agilent 1200 HPLC을 사용하여 분석되었다. 이때, 이동상은 A(0.1% 트리플루오로아세트산이 포함된 증류수) 및 B (메탄올)로 구성되며, 하기 표 2와 같이 이동상의 농도구배를 두었으며 유속은 0.7ml/min으로 흘려주었다. 또한 UV 검출기는 254nm로 설정하였고, 각 샘플의 주입량은 30℃의 칼럼 온도에서 10㎕로 하였다.

표 2

[0055]

전개 시간 (Retention time)	B의 농도 (%)
0-15 min	5-40 %
15-30 min	40-60 %
30-40 min	60-100 %

[0056] 이로부터 얻어진 울릉도 미역취의 에탄올 추출물의 HPLC 크로마토그래피 분리 결과는 도 1 및 하기 표 3에 나타낸 바와 같다.

표 3

[0065]

화합물	전개 시간 (min)	HPLC 크로마토그래피의 상대적인 면적 (%)					
		실시예 12	실시예 6	실시예 13	실시예 14	실시예 15	실시예 16
프로토카테퀵 산 (protocatechuic acid)	8.15	18.97	18.59	17.39	17.34	16.69	23.28
클로로제닉 산 (chlorogenic acid)	12.93	13.15	10.65	12.69	11.67	12.22	-
3,5-디-O-카페오일퀴닉 산(3,5-di-O-caffeoylquinic acid)	17.83	-	-	1.52	1.83	1.95	2.05
루틴(rutin)	19.13	-	0.92	2.56	2.57	2.88	0.77
시나믹 산 유도체 (cinnamic acid derivative)	19.46	8.36	10.59	12.69	10.66	10.28	4.20
1,3,5-트리-O-카페오일퀴닉 산(1,3,5-tri-O-caffeoylquinic acid)	20.45	1.73	1.23	2.719	2.41	3.18	1.11

캠프페롤-3-O-루티노시드(kaempferol-3-O-rutinoside)	21.88	15.39	21.10	20.87	22.56	22.00	6.99

[0067] 상기 도 1 및 상기 표 3에 나타낸 바와 같이, 5월 울릉도 미역취의 에탄올 추출물은 에탄올의 농도에 따라 추출되는 성분은 동일하나 각 성분의 양은 다른 것을 확인하였다.

[0068] 상기 실시예 12의 미역취 추출물은 클로로제닉 산(chlorogenic acid)의 함량이 가장 높았으며, 실시예 14의 미역취 추출물은 캠프페롤-3-O-루티노시드(kaempferol-3-O-rutinoside)의 함량이 가장 높았으며, 실시예 15의 미역취 추출물은 루틴(rutin) 및 1,3,5-트리-O-카페오일퀴닉 산(1,3,5-tri-O-caffeoylquinic acid)의 함량이 가장 높았다. 또한, 실시예 16의 미역취 추출물은 프로토카테퀵 산(protocatechuic acid)와 3,5-디-O-카페오일퀴닉 산(3,5-di-O-caffeoylquinic acid)의 함량이 가장 높았다.

[0070] **[실험예2] 지방 축적 억제 기능 검증을 위한 3T3-L1세포의 분화억제**

[0071] 3T3-L1 지방선구 세포(pre-adipocyte cell)은 ATCC(American Type Culture Collection)에서 구입하여 사용하였다. 세포배양은 10% 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS), 페니실린(penicillin) (100U/ml), 스트렙토마이신(streptomycin) (100U/ml)을 포함한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium) 배지(Gibco, 미국)를 사용하였고 CO_2배양기에 37℃, 5% CO_2조건에서 배양하였다. 3T3-L1 세포의 밀도가 최상에 도달한 이틀 후, 10% 소태아혈청, 10㎍/ml 인슐린(insulin), 0.5 mM 3-이소부틸-1-메티잔틴(3-isobutyl-1-methyxanthine, IBMX) 및 1μM 덱사메타손(dexamethasone)을 포함한 다른 배지로 바꿔주었다. 이에 대한 시기는 최초 배양시기(day 0)로 보았다. 이로부터 이틀 후(day 2), 10% 소태아혈청 및 10㎍/ml 인슐린이 포함하여 지방세포의 분화유도를 일으키는 DM 배지로 갈아주었다. 그 다음 이틀 뒤(day 4), 10% 소태아혈청이 포함된 DMEM 배지로 갈아주었으며, 상기 제조예 1로부터 추출한 각 미역취를 농도별(10, 50μg/ml)로 3T3-L1 세포에 처리하였다. 이후로 이틀에 한번씩 10% 소태아혈청이 포함된 DMEM 배지로 배양하였다.

[0072] 상기 실시예 1 내지 16의 미역취 추출물에 대한 지방생성(adipogenesis) 및 지방 축적의 억제를 확인하기 위하여, 각 미역취 추출물 및 지방 분화 배지를 처리하여 8일 후 분화된 3T3-L1 세포의 배지(media)를 버리고 인산완충액(PBS)을 사용하여 워싱(washing)한 후, 10% 포르말린시약을 이용하여 세포를 고정시켰다. 이후 0.5ug/ml 오일 레드 O(Oil Red O)시약을 사용하여 세포를 염색하였다. 염색된 세포를 위상차 현미경으로 100X배율로 촬영하였으며, 지질 방울은 이소프로판올에 용해시키고 마이크로플레이트 리더기를 사용하여 540 nm에서 O.D값(흡광도)을 측정하였다. 상대적인 지질의 양 및 지방생성 억제율은 하기 식을 이용하여 산출하여 도 2 내지 도 4에 나타냈다.

[0073] 상대적인 지질의 양(%) = (시료의 O.D값/대조군의 O.D값) × 100%

[0074] 지방생성 억제율(%) = {1- (시료의 O.D값 - 대조군의 O.D값) / (음성대조군의 O.D - 대조군의 O.D값)} × 100%

[0075] 여기서, 상기 음성대조군은 분화유도제만 처리한 DM 배지에서 배양된 3T3-L1 세포이다.

[0076] 항비만 효능 평가 결과, 도 2에서 볼 수 있듯이, 각 지역별 미역취 추출물을 10, 50μg/ml의 농도로 처리한 지방세포는 분화유도제를 처리하지 않은 대조군을 기준으로, 분화유도제만 처리한 DM보다 지방 축적이 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인하였다.

[0077] 특히, 한라산 및 울릉도 미역취 추출물을 처리한 지방세포는 분화유도제만 처리한 음성대조군보다 지방축적에 대하여 뛰어난 감소효과를 나타났고, 한라산 미역취 추출물을 처리한 지방세포의 지방생성 억제율은 43.37%이며 울릉도 미역취 추출물을 처리한 지방세포의 지방생성 억제율은 106.89%를 나타냈다.

[0078] 또한, 도 3에서 볼 수 있듯이, 각 시기별 울릉도 미역취 추출물을 10, 50μg/ml의 농도로 처리한 지방세포는 분화유도제를 처리하지 않은 대조군을 기준으로, 분화유도제만 처리한 음성대조군보다 지방 축적이 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인하였다.

[0079] 각 시기중 4월 내지 5월에 채집한 울릉도 미역취 추출물을 처리한 지방세포는 분화유도제만 처리한 음성대조군보다 지방축적에 대하여 가장 탁월한 감소효과를 나타냈으며, 상기 실시예 8의 미역취 추출물을 처리한 지방세

포의 지방생성 억제율은 10㎍/ml에서 87.14%, 50㎍/ml에서 110.70%를 나타냈다.

[0080] 또한, 도 4에서 볼 수 있듯이, 추출용매인 에탄올의 농도별 울릉도 미역취 추출물을 처리한 지방세포는 분화유도제만 처리한 음성대조군보다 지방축적에 대하여 우수한 억제효과를 나타냈으며, 특히 상기 실시예 6의 미역취 추출물은 상기 실시예 12 내지 16에 비해 가장 뛰어난 지방축적 억제효과를 나타냈으며, 지방생성 억제율은 10㎍/ml에서 57.69%로 나타냈다.

[0081] **[실험예3] 3T3-L1세포의 독성 평가(MTS assay)**

[0082] 세포독성 평가를 위해 96웰 플레이트 (96well plate)에 각 웰당 5 × 10^3의 3T3-L1세포를 분주하고, 각 지역별 및 시기별 미역취 추출물을 농도별로(10, 50㎍/ml) 처리한 후 24시간 배양하고, 이후에 각 웰당 20ul의 MTS(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt)(Promega, Madison, WI, USA)를 첨가하고 37℃에서 20분동안 반응시켜 마이크로플레이트 리더기(Sensident scan)를 사용하여 490nm에서 OD값을 측정하였다. 여기서, 이의 측정 결과를 도 5에 나타냈다.

[0083] 세포 독성 평가 결과, 도 5의 a)에서 볼 수 있듯이, 각 지역별 미역취 추출물 10, 50㎍/ml의 농도로 처리한 지방세포는 아무런 처리도 하지 않은 대조군을 기준으로, 모두 독성이 없었다.

[0084] 또한, 도 5의 b)에서 볼 수 있듯이, 각 시기별 미역취 추출물 10, 50㎍/ml의 농도로 처리한 지방세포는 아무런 처리도 하지 않은 대조군을 기준으로, 모두 독성이 없었다.

[0085] 또한, 도 5의 c)에서 볼 수 있듯이, 각 농도별 에탄올로 추출한 미역취 추출물 10㎍/ml의 농도로 처리한 지방세포는 아무런 처리도 하지 않은 대조군을 기준으로, 모두 독성이 없었다.

[0087] **[실험예4] 3T3-L1세포의 독성 평가(MTS assay)**

[0088] 동물 실험을 통한 항비만 효능 평가(체중 변화, 음식 섭취량의 변화, 혈액지표, 주요 장기 무게 변화, 부고환 지방 조직의 지방세포 비교 및 조직별 유전자 발현량 분석)

[0089] 1. 실험동물 준비

[0090] 5주령의 C57BL/6 마우스 30마리를 센트럴 실험 동물(SLC, 일본)에서 구입하였다. 먼저, 마우스를 1주간 동물실험실에서 순화시켰다. 6주령의 마우스를 무작위로 5그룹(그룹 당 6마리씩)으로 하기 표 4와 같이 나누어 서로 다른 식이를 10주간 2일 간격으로 같은 시간에 주었다.

표 4

[0093]

구분	식이
그룹 1: 정상 대조군	정상 식이
그룹 2: 음성 대조군	고지방 식이
그룹 3: 실험군 1	고지방 식이(0.5% 실시예 6의 미역취 추출물 포함)
그룹 4: 실험군 2	고지방 식이(2% 실시예 6의 미역취 추출물 포함)
그룹 5: 양성 대조군	고지방 식이(1% 가르시니아 캄보지니아 추출물 포함)

[0095] 여기서, 고지방 식이는 310g/kg의 라드(lard) 및 30g/kg의 대두유(soybean oil)가 포함한 60% 지방 식이를 포함하였다.

[0096]

[0097] 2. 실험동물의 체중 및 음식 섭취량의 변화

[0098] 상기 그룹 1 내지 5의 실험동물의 체중은 7일 간격으로 동일한 시간에 측정하여 10 주간의 체중 변화를 도 6에 나타내었다.

[0099] 실험동물의 체중 및 음식 섭취량 변화에 대한 평가 결과인 상기 도 6에 따르면, 각 그룹 간의 음식 섭취량은 10 주간의 급여 기간 동안 유의하지 않았다. 체중의 경우 (도 6 a), 초기에는 유의한 차이가 없었으나, 10 주간의 실험식이 섭취 후 음성 대조군 마우스의 체중이 정상 대조군 마우스 체중의 1.52 배로 증가했다. 그러나 실험군 1 및 실험군 2 마우스의 체중은 10 주 동안 음성대조군 마우스에 비해 유의하게 감소했다. 하기 표 5에 나타낸 바와 같이, 체중 증가 및 음식 효율 비[FER = 체중 증가량 (g / day) / 음식 섭취량 (g / day)]는 미역취 추출물에 의해 억제되었으며 음식 섭취량 역시 다소 영향을 미쳤다.

표 5

[0100]

구분	정상 대조군	음성 대조군	양성 대조군	실험군 1	실험군 2
체중 증가량(g/10 week)	8.29 ± 0.74	24.05 ± 1.28	19.27 ± 1.28	20.28 ± 1.35	21.54 ± 1.68
음식 섭취량(g/ day)	3.74 ± 0.13	3.41 ± 0.13	3.51 ± 0.13	3.33 ± 0.13	3.40 ± 0.13
음식 효율 비	2.22 ± 0.20	7.06 ± 5.49	5.49 ± 0.36	6.09 ± 0.41	6.34 ± 0.50
부고환 백색 지방조직의 중량(g)	1.00 ± 0.16	2.31 ± 0.16	2.18 ± 0.16	2.53 ± 0.28	2.36 ± 0.08
간 중량(g)	1.27 ± 0.19	1.65 ± 0.38	1.19 ± 0.07	1.34 ± 0.09	1.18 ± 0.04

[0102] 3. 실험동물의 혈액지표 분석

[0103] 상기 상술한 바와 같이, 상기 그룹 1내지 4의 실험동물에 10주간 각 서로 다른 식이를 섭취시킨 후, 실험동물을 충분히 마취시킨 다음 심장 채혈하여 얻은 혈청으로 혈액지표를 측정하였다.

[0104] 이때, 혈액지표 분석은 실험동물의 심장 채혈한 후 4℃에서 3000rpm으로 15분간 원심 분리한 실험동물의 혈청을 사용하였다. 중성지방 (TG, triacylglycerol), HDL 콜레스테롤 (high-density lipoprotein cholesterol), 총 콜레스테롤 (total cholesterol)과 간독성을 확인하기 위한 알라닌 아미노기 전달효소 (ALT, serum alanine aminotransferase), 아스파르트산염 아미노기 전달 효소(AST, aspartate aminotransferase) 및 신장독성을 확인하기 위한 혈액요소질소 (BUN, blood urea nitrogen), 크레아티닌(CREA, creatinine)는 시판 키트 (Thermo Electron Corporation, Finland)를 구입하여 생화학 분석기기(SeoKwang LABOTECH, Korea)로 측정하였다. 이에 따라 혈액지표 분석 결과는 표 6에 나타내었다.

표 6

[0106]

구분	그룹 1	그룹 2	그룹 5	그룹 3	그룹 4
Serum TG (mg/dl)	115.50 ± 11.60	120.90 ± 13.70	120.30 ± 8.40	114.20 ± 8.70	79.90 ± 8.00
Serum tota l cholesterol (mg/dl)	53.52 ± 4.23	118.10 ± 5.67	127.12 ± 8.30	133.51 ± 6.47	64.02 ± 3.33
Serum HDL-cholesterol (mg/dl)	43.17 ± 2.79	78.81 ± 3.16	79.45 ± 2.38	83.44 ± 3.37	42.51 ± 1.65
HTR	0.81 ± 0.02	0.70 ± 0.01	0.66 ± 0.02	0.67 ± 0.01	0.66 ± 0.01
AST (U/l)	66.54 ± 15.29	79.61 ± 15.78	113.69 ± 15.75	135.98 ± 16.67	43.63 ± 5.15
ALT (U/l)	31.85 ± 7.75	89.52 ± 22.90	70.43 ± 11.76	132.72 ± 22.03	21.86 ± 1.75
BUN (mg/dl)	22.55 ± 0.78	17.49 ± 0.32	17.73 ± 0.47	19.30 ± 0.86	6.76 ± 0.72
CREA (mg/dl)	0.41 ± 0.02	0.45 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.41 ± 0.01	0.21 ± 0.00

[0108] 실험동물의 혈액지표에 대한 평가 결과인 상기 표 6에 따르면, 혈청을 분리하여 중성지방(TG), 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤의 수치를 분석 한 결과, 중성지방(TG) 와 총 콜레스테롤(TC)의 수치는 음성 대조군에서 정상 대

조군과 비교하여 증가 하였고, 음성 대조군에 비해 실험군 2는 중성지방은 33.91%, 총 콜레스테롤은 45.79%의 수치로 유의하게 감소하였다.

[0109] 또한, 미역취 추출물에 대한 투여의 독성은 혈청 AST, ALT, BUN 및 CREA의 수치를 측정하여 결정하였다. 음성 대조군에서 AST, ALT 및 CREA의 수치가 증가한 반면, 고농도의 미역취 추출물을 먹인 실험군에서는 AST, ALT 및 CREA의 수치가 감소하였다. 한편 실험군 2에서 CREA의 수치는 음성 대조군에서 BUN의 수치에 비해 53%로 감소하였다.

[0111] 4. 부고환 지방 조직의 지방세포 비교

[0112] 부고환 지방의 일부를 10% 포르말린에 고정한 다음 파라핀 포매를 실시하고, 5 μm의 연속절편을 제작하였다. 이후 헤마톡실린-에오신(H&E) 염색을 실시하고 광학 현미경하에서 관찰하였다. 이의 결과를 도 7에 나타내었다.

[0113] 실험동물의 부고환 지방 조직 내 지방세포의 크기 및 수량에 대한 평가 결과인 상기 도 7에 따르면, 음성 대조군의 부고환 백색 지방 조직의 무게는 정상 대조군에 비해 유의하게 증가하였고, 정상 대조군 지방 세포 크기는 음성 대조군(주요 지방 세포 직경이 10,000 ㎛ 이상)에 비해 직경 3500μm 이하로 더 작게 나타났다. 실험군 2는 백색 지방 조직의 중량은 감소시키지 않았지만 지방 세포의 크기는 명확하게 감소시켰다.

[0115] 5. 실험동물의 조직별 유전자 발현량 분석

[0116] 상기 상술한 바와 같이, 상기 그룹 1내지 5의 실험동물에 10주간 각 서로 다른 식이를 섭취시킨 후, 간과 부고환 지방조직으로부터 RNA를 분리하여 지방세포분화(lipogenesis)와 지질생성(adipogenesis)을 담당하는 유전자 발현을 분석하였다. 여기서, 조직에서 총 RNA는 구아니딘-티오시아네이트-수포화페놀/ 클로로포름 분리 방법을 이용하였다. 물층에 있는 RNA는 이소프로판올을 이용하여 침전시켜 분리하여 260nm 및 280nm 파장에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 총 RNA 1 μg을 몰로니 설치류 백혈병 바이러스 전사효소(Moleney murine leukemia virus transcriptase)와 Oligo (dT) 15 primers (Promega, Medison, WI, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성한 cDNA는 QuantiTect SYBR Green PCR kit (Qiagen)를 구입하여 실시간 중합 효소 연쇄반응 기기 (Corbett Research, Sydney, Australia)로 측정하여 도 8 및 도 9에 나타내었다.

[0117] 실험동물의 부고환 백색 지방조직에서 mRNA를 추출하여 그룹별 유전자 발현량을 분석한 결과인 상기 도 8에 따르면, 미역취 추출물을 농도를 높일 수록 PPAR-γ, C/ EBP-α 및 지방산 결합 단백질-4(aP2)과 같은 지방 생성 mRNA의 발현이 상당히 감소되었다. 지질생성 mRNAs, FAS 및 stearoyl-CoA desaturase-1(SCD-1)의 발현 역시 미역취 추출물에 의해 감소하는 것을 확인하였다.

[0118] 또한, 상기 도 9에서 볼 수 있듯이, 실험동물의 간 조직에서 mRNA를 추출하여 그룹별 유전자 발현량을 분석한 결과, 실험군 2는 발현량이 상당히 감소되었다. 이를 통해, 미역취의 에탄올 추출물은 SREBP-1c, FAS, SCD-1 및 지방산 트랜스 코라 아제 (CD36)와 같은 지방 형성 관련 mRNA의 발현을 억제하는 것을 확인하였다.

[0120] 6. 실험동물의 간 대사 물질량 분석

[0121] 비만은 종종 지방간의 발달을 동반하기 때문에, 고지방 식이를 먹인 마우스에서 미역취의 에탄올 추출물이 간 중량 변화와 간 지질 대사 물질에 미치는 영향을 조사하였다.

[0122] 간 조직 준비, 맥박 획득 및 대사 물질 확인 및 데이터 처리를 포함하여 핵 자기 공명(NMR) 기반의 간 대사 물질량 분석은 본 발명에 맞도록 약간의 수정과 함께 통상적인 방법으로 수행되었다.

[0123] 간 대부분의 지질 구성 성분을 함유한 소수성 추출물은 ^{1}H-NMR 분광법을 이용하였다. 간 조직(100mg)을 1ml 클로로포름 / 메탄올 ($CHCl_3$ / MeOH, 3 : 1, v / v)에서 먼저 균질화 하였다. 그 후, 4 ℃에서 10000 rpm으로 10분간 원심 분리한 후, 상층액을 모아 질소 기류 하에서 건조시켰다. 지질 추출물은 테트라메틸실란을 함유하는 중수소화 클로로포름 / 메탄올 ($CDCl_3$ / CD_3OD, 3 : 1, v / v) 665㎕로 재구성하였다. 지질 추출물의 ^{1}HNMR 스펙트럼은 Bruker AV 400 장치를 이용하여 얻었다. 이에 대한 결과는 도 10 및 표 7에 나타냈다.

표 7

[0130]

	δ^1H (ppm)	Type	Metabolites	그룹 1	그룹 2	그룹 5	그룹 3	그룹 4
(A)	5.32	Fatty acids	MUFA/PUFA	7.78 ± 0.80	29.8 ± 4.38	9.63 ± 1.76	7.07 ± 0.17	5.32 ± 0.65
(B)	3.16	Phospholipids	$N+(CH_3)_3$	0.18 ± 0.00	2.11 ± 0.34	0.33 ± 0.00	0.28 ± 0.03	0.19 ± 0.01
(C)	2.78	Lipid moieties	$-CH=CH(-CH_2CH=CH-)$	3.56 ± 0.29	18.2 ± 4.98	3.96 ± 0.14	3.51 ± 0.05	2.70 ± 0.41
(D)	2.72		$-CH=CH-CH_2CH=CH-$					
(E)	2.27		αRCH_2CH_2CO	7.40 ± 1.02	31.67 ± 9.92	10.61 ± 2.46	7.99 ± 0.96	4.80 ± 0.49
(F)	2		$-CH_2CH=CH-$	6.92 ± 0.43	39.22 ± 11.61	12.91 ± 3.26	10.16 ± 1.10	6.54 ± 0.59
(G)	1.55		βRCH_2CH_2CO	6.49 ± 0.20	23.61 ± 2.53	10.17 ± 2.48	7.71 ± 0.79	4.38 ± 0.68
(H)	1.24		$-(CH_2)n-$	54.65 ± 3.47	201.94 ± 32.30	78.24 ± 21.31	60.92 ± 8.48	36.05 ± 5.40
(I)	0.83		RCH_3	4.60 ± 0.55	33.57 ± 7.76	10.63 ± 2.27	8.42 ± 0.89	5.50 ± 0.85
(J)	0.64	Cholesterol	Chol-C18	0.05 ± 0.03	0.51 ± 0.35	0.20 ± 0.73	0.18 ± 0.03	0.04 ± 0.03

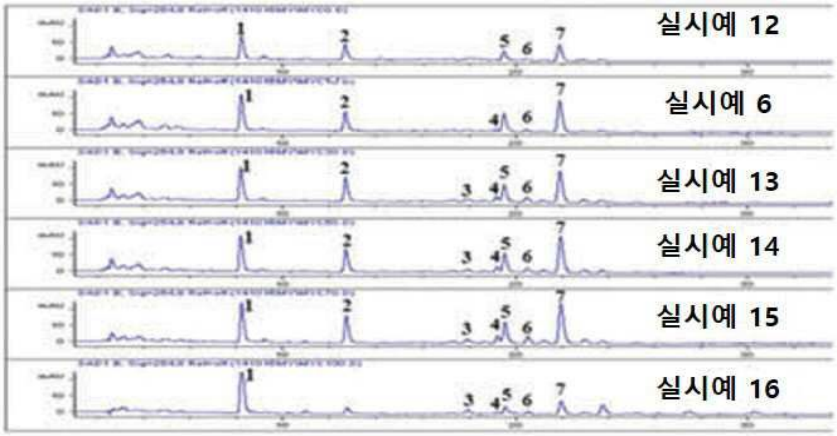
[0132] 상기 도 10 및 표 7에 따르면, 음성 대조군의 간 중량은 정상 대조군보다 높았고, 실험군 1 및 2의 간 중량은 유의하게 감소하였다. 간 지질 대사 물질인 지방산, 인지질, 지질 성분 및 콜레스테롤의 4 가지 유형을 분석하였고, 음성 대조군에서 이들의 수준이 유의하게 증가하였다.

[0133] 고농도 미역취의 에탄올 추출물을 보충하면 간 지질 대사체의 수준이 유의하게 감소했다. 이러한 결과를 통해 미역취의 에탄올 추출물이 간에서 지질 축적을 효과적으로 감소시켰음을 확인하였다.

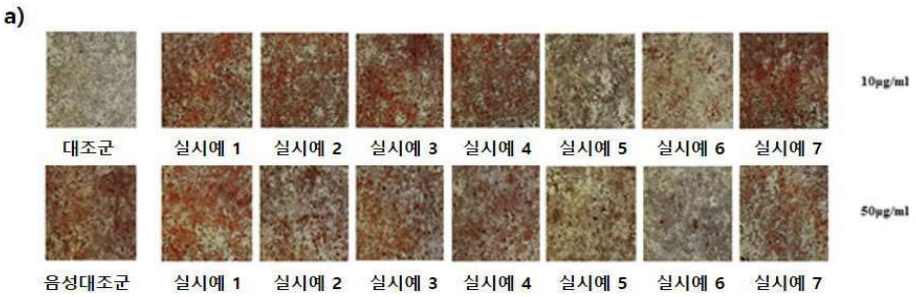
[0134] 이상에서 본 발명의 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고, 청구범위에 기재된 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능하다는 것은 당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게는 자명할 것이다

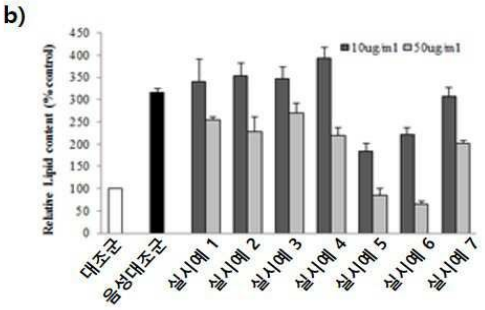
도면

도면1

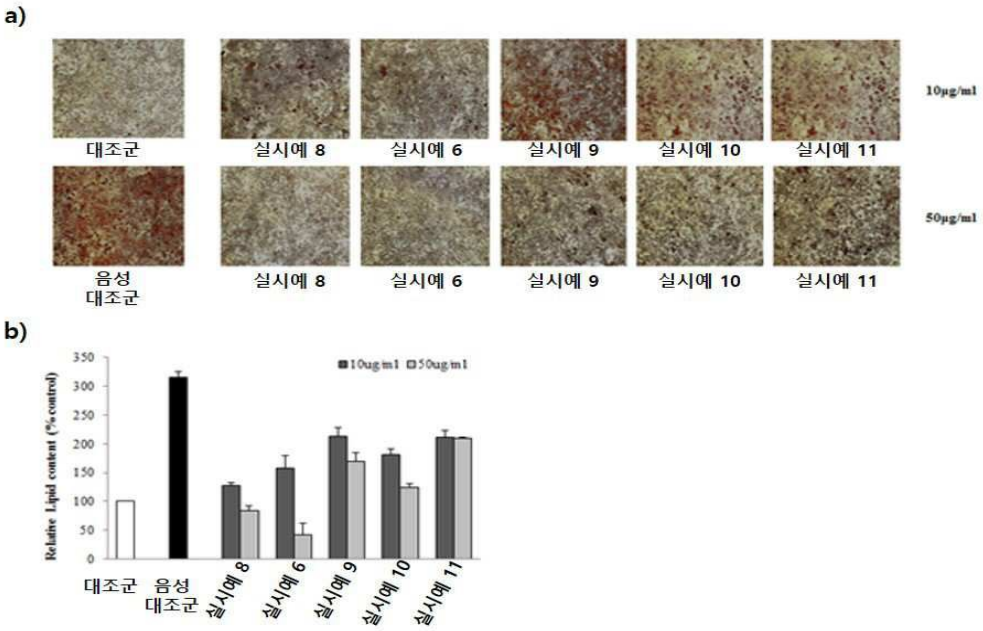

실시예 12
실시예 6
실시예 13
실시예 14
실시예 15
실시예 16

도면2

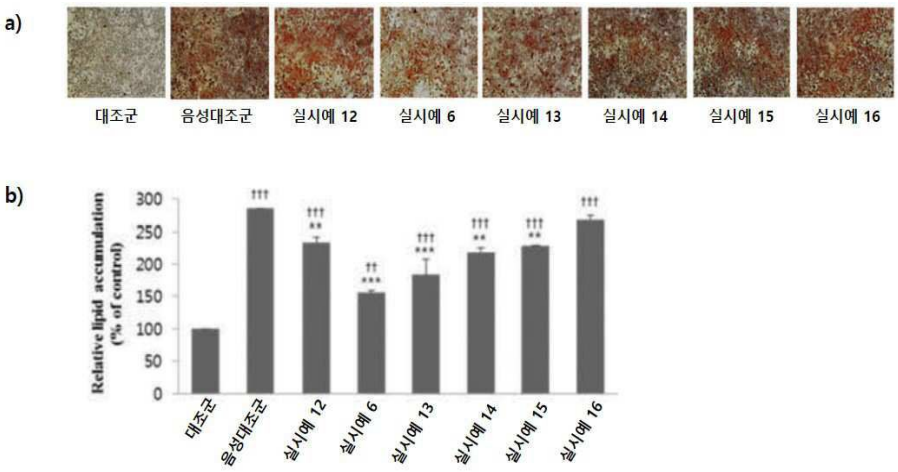

a)
10μg/ml
대조군
실시예 1
실시예 2
실시예 3
실시예 4
실시예 5
실시예 6
실시예 7
50μg/ml
음성대조군
실시예 1
실시예 2
실시예 3
실시예 4
실시예 5
실시예 6
실시예 7


b)
Relative Lipid content (% control)
10ug/ml
50ug/ml
대조군
음성대조군
실시예 1
실시예 2
실시예 3
실시예 4
실시예 5
실시예 6
실시예 7

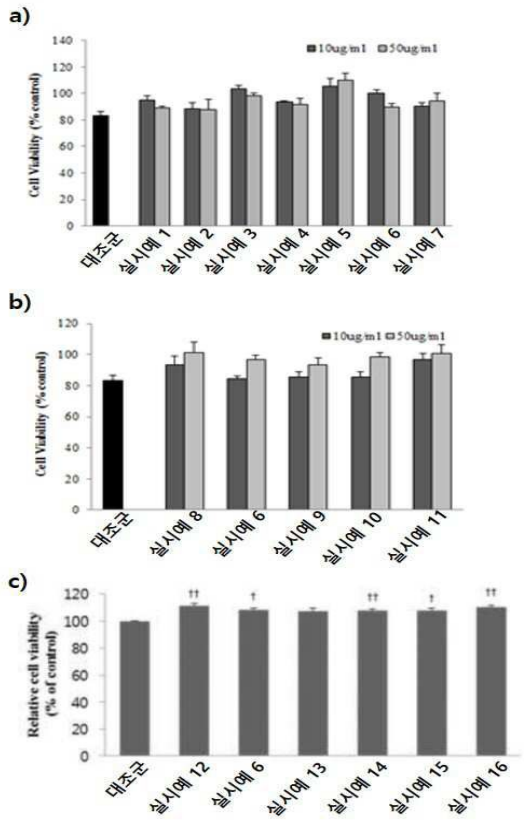
도면3


a)
10μg/ml
50μg/ml
대조군
실시예 8
실시예 6
실시예 9
실시예 10
실시예 11
음성 대조군
b)
10ug/ml
50ug/ml
Relative Lipid content (% control)
350
300
250
200
150
100
50
0
대조군
음성 대조군
실시예 8
실시예 6
실시예 9
실시예 10
실시예 11

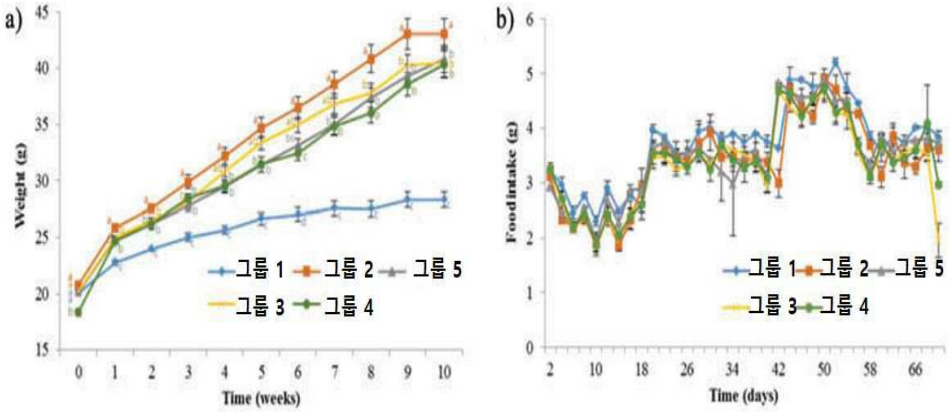
도면4


a)
대조군
음성대조군
실시예 12
실시예 6
실시예 13
실시예 14
실시예 15
실시예 16
b)
Relative lipid accumulation (% of control)
300
250
200
150
100
50
0
대조군
음성대조군
실시예 12
실시예 6
실시예 13
실시예 14
실시예 15
실시예 16

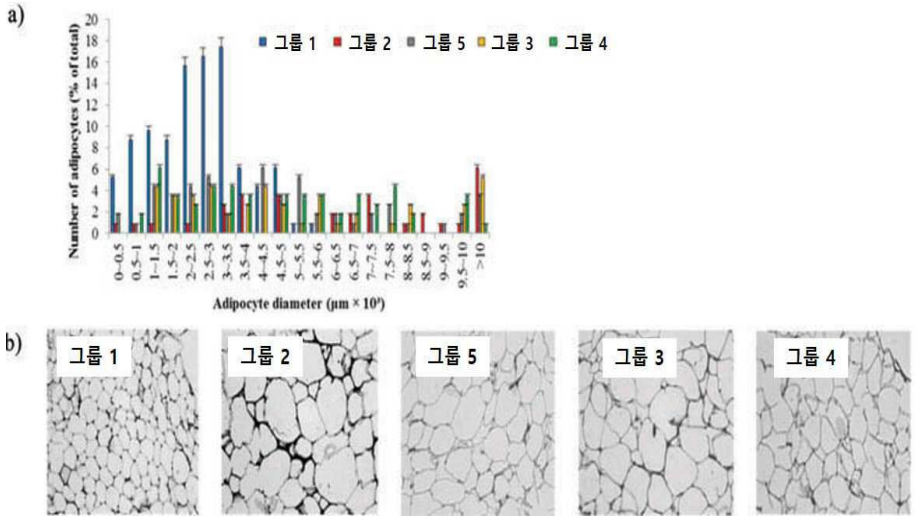
도면5


a)
10ug/ml
50ug/ml
Cell Viability (% control)
대조군
실시예 1
실시예 2
실시예 3
실시예 4
실시예 5
실시예 6
실시예 7
b)
10ug/ml
50ug/ml
Cell Viability (% control)
대조군
실시예 8
실시예 6
실시예 9
실시예 10
실시예 11
c)
Relative cell viability (% of control)
대조군
실시예 12
실시예 6
실시예 13
실시예 14
실시예 15
실시예 16

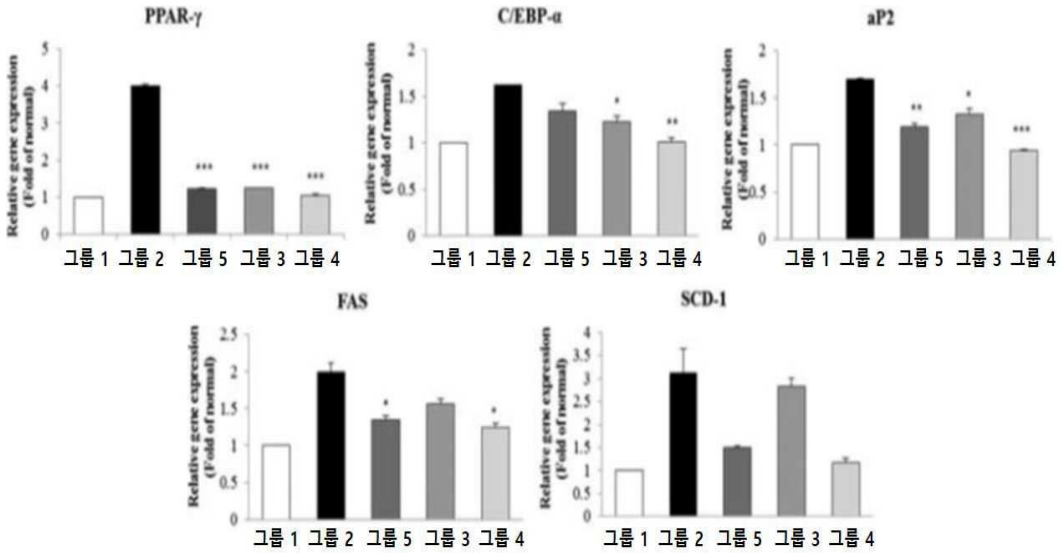
도면6


a)
Weight (g)
Time (weeks)
그룹 1
그룹 2
그룹 5
그룹 3
그룹 4
b)
Food intake (g)
Time (days)
그룹 1
그룹 2
그룹 5
그룹 3
그룹 4

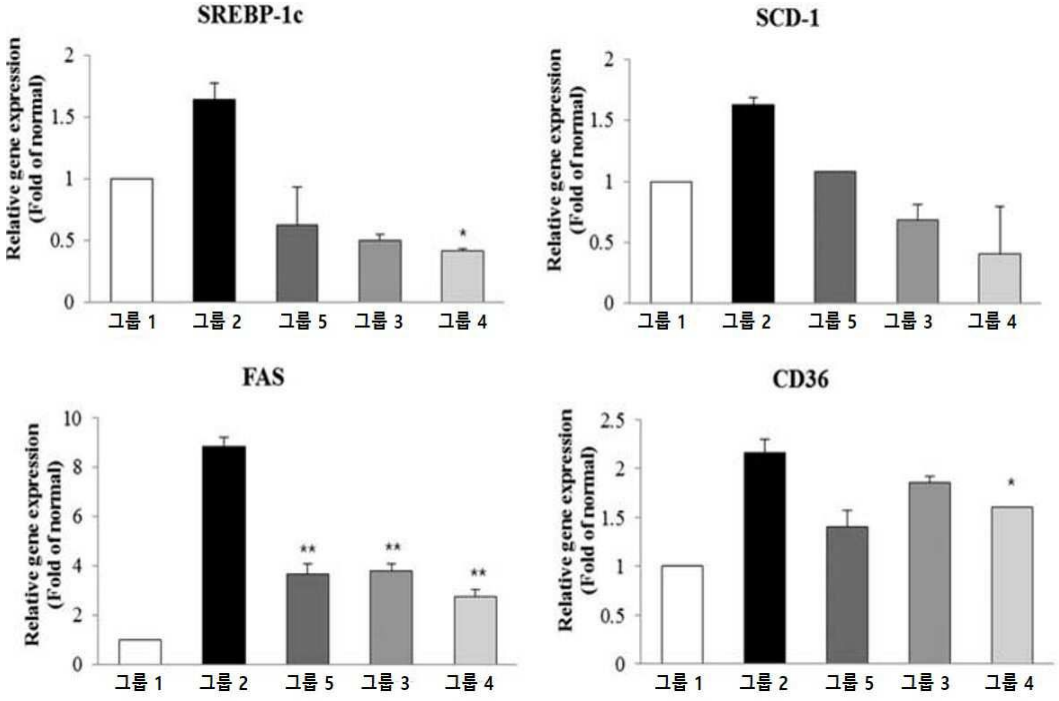
도면7


a)
그룹 1
그룹 2
그룹 5
그룹 3
그룹 4
Number of adipocytes (% of total)
Adipocyte diameter (μm × 10³)
b)
그룹 1
그룹 2
그룹 5
그룹 3
그룹 4

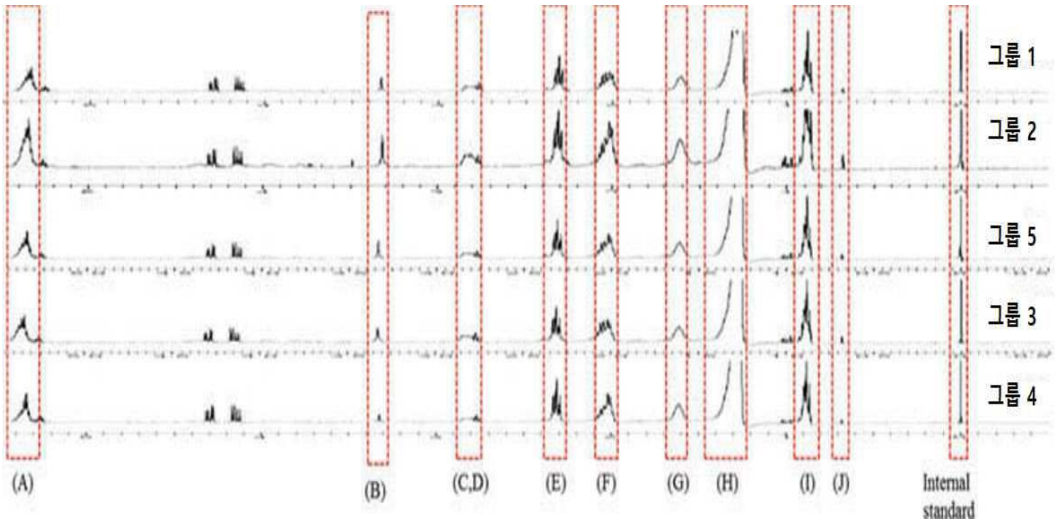
도면8


PPAR-γ
C/EBP-α
aP2
FAS
SCD-1
Relative gene expression (Fold of normal)
그룹 1 그룹 2 그룹 5 그룹 3 그룹 4

도면9


SREBP-1c
SCD-1
FAS
CD36
Relative gene expression (Fold of normal)
그룹 1
그룹 2
그룹 5
그룹 3
그룹 4

도면10


그룹 1
그룹 2
그룹 5
그룹 3
그룹 4
(A)
(B)
(C,D)
(E)
(F)
(G)
(H)
(I)
(J)
Internal standard