

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2019년 1월 3일 (03.01.2019)



(10) 국제공개번호

WO 2019/004734 A2

(51) 국제특허분류:

A23L 33/10 (2016.01)

A23K 10/20 (2016.01)

A61K 35/64 (2015.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2018/007320

(22) 국제출원일:

2018년 6월 28일 (28.06.2018)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2017-0083131 2017년 6월 30일 (30.06.2017) KR

10-2017-0181811 2017년 12월 28일 (28.12.2017) KR

(71) 출원인: 한국 한의학 연구원 (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) [KR/KR]; 34054 대전시 유성구 유성대로 1672, Daejeon (KR).

(72) 발명자: 채성욱 (CHAE, Sung Uk); 35230 대전시 서구 대덕대로 175번길 60, 524호, Daejeon (KR). 임아랑 (IM, A-Rang); 03035 서울시 종로구 필운대로 10길 18-5, 501호, Seoul (KR). 김기모 (KIM, Ki Mo); 24321 강원도 춘천시 후석로 186번길 25, 106동 601호, Gangwon-do (KR).

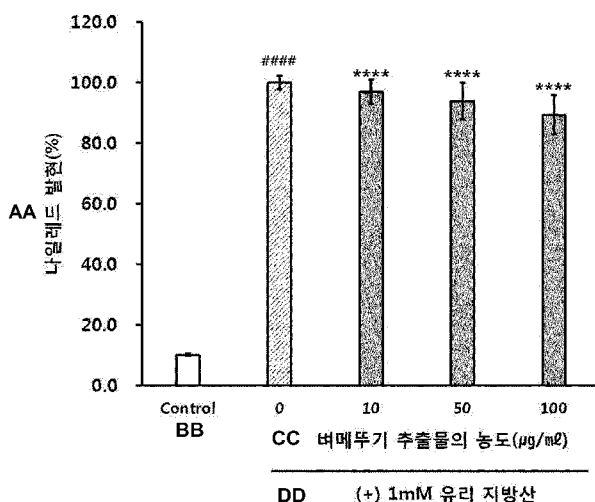
(74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 35209 대전시 서구 한밭대로 745, 12층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING, ALLEVIATING, OR TREATING FATTY LIVER DISEASE, COMPRISING OXYA CHINENSIS EXTRACT AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 버메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물



AA ... Nile red expression (%)

BB ... Control

CC ... Concentration of *Oxya chinensis* extract (µg/ml)

DD ... Free fatty acids

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing, alleviating, or treating fatty liver disease, comprising an *Oxya chinensis* extract as an active ingredient. The *Oxya chinensis* extract, as an active ingredient of the present invention, has been confirmed to effectively reduce the accumulation of triglycerides in a liver cancer cell line (HepG₂) and, when administered, notably exhibit changes in the body weight of animal models, changes in the weight of the liver, subcutaneous fat, renal adipose tissue, and small intestinal adipose tissue, and changes in the lipid biochemical indicators. Therefore, the composition according to the present invention can be usefully employed as a functional health food, medicine, or feed additive for preventing, alleviating, or treating fatty liver disease.

(57) 요약서: 본 발명은 버메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 유효성분인 버메뚜기 추출물이 간암 세포주(HepG₂)에서 중성지방의 축적을 효과적으로 감소시키는 효과가 있으며, 버메뚜기 추출물의 투여에 따른 동물 모델의 체중변화; 간, 피하지방, 신장지방 조직 및 소장 지방조직의 무게 변화; 지질생화학적 지표들의 변화가 유의하게 나타나는 것을 확인하였다. 따라서 본 발명의 조성물은 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 건강기능식품, 의약품 또는 사료첨가제로 유용하게 사용될 수 있다.

[다음 쪽 계속]



WO 2019/004734 A2

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

명세서

발명의 명칭: 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 국내 간질환 사망률은 인구 십만 명당 23.5명으로 매우 높으며, 40대 사망원인 1위(41.1명/10만 명), 50대 사망원인 2위(72.4명/10만 명), 30대 사망원인 3위(10명/10만 명)를 차지하는 등 간질환은 한국 중년층 인구의 주요 사망원인이다.
- [3] 상기 간질환 중에서 지방간은 정상세포 내에는 존재하지 않는 중성지방이 간 세포 내에 비정상적으로 침착되어 보이는 현상이 나타난 것을 말한다. 정상 간은 약 5%가 지방조직으로 구성되어 있으며 중성지방, 지방산, 인지질, 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스터가 지방의 주요 성분이나, 일단 지방간이 발생하면 대부분의 성분이 중성지방으로 대체되며 중성지방의 양이 간 중량의 5% 이상이면 지방간으로 진단된다. 지방간이 악화되어 간세포 속의 지방 덩어리가 커지면 핵을 포함한 세포의 중요한 구성성분이 한쪽으로 밀려 간세포의 기능이 저하되며, 세포 내에 축적된 지방으로 인하여 팽창된 간세포들이 간세포 사이에 있는 미세 혈관과 임파선을 압박하여 간 내의 혈액과 임파액의 순환에 장애가 생기게 된다. 이렇게 되면 간세포는 산소와 영양공급을 적절히 받을 수 없어 간기능이 저하되는 것이다.
- [4] 비알콜성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 알콜에 의한 간 손상이 아니라, 지방산이 중성지방의 형태로 간의 실질세포 내에 5% 이상 축적된 경우로 정의한다. 병리학적으로는 단순 지방간(simple steatosis)과 염증을 동반한 지방간염(steatohepatitis)으로 분류되는데, 장기간 방치 시, 간염, 간 섬유, 간경변 등의 심각한 간 질환으로 이행될 수 있다. 국내에서도 생활양식의 변화로 인해 비알콜성 간질환 발생빈도가 증가하는 추세이다.
- [5] 또한, 알콜성 지방간은 과다한 음주로 인해 발생하는데, 개인별로 유전적인 특징, 성별에 따라 차이가 있지만, 하루 80g 이상의 알콜의 섭취를 하는 경우 알콜성 지방간과 같은 간질환이 발생할 가능성이 크다. 여성의 경우 이보다 적은 양으로도 알콜성 간질환이 발생할 가능성이 커진다. 일반적으로 소주 1잔, 맥주 1잔, 양주 1잔, 막걸리 1홉에 약 10g의 알콜이 포함된 것으로 계산할 수 있다. 증상으로는 가장 경미한 형태인 알콜성 지방간 환자들의 경우 대부분 무증상이지만, 경미한 간비대(간이 정상보다 크게 된 상태)가 나타난 경우 오른쪽 상복부에 가벼운 압통을 호소할 수 있다.

- [6] 한편, 벼메뚜기는 몸길이 30~38mm로, 몸빛깔은 황록색이나 머리와 가슴은 황갈색이다. 겹눈은 달걀 모양이고 광택이 있는 회갈색이다. 앞가슴등판에 가느다란 3개의 가로 홈이 있고 양쪽에 갈색의 세로줄이 있다. 날개는 황갈색이고 배 끝보다 길지만 별로 날아다니지 않는다. 논이나 경작지 근처의 풀밭에 서식한다. 연 1회 발생하며, 땅 속에서 알무더기로 월동한다. 알무더기는 아교질의 얇은 막으로 싸여 있다. 다 자란 약충은 날개딱지가 제4배 마디에 이르며 몸길이는 약 30mm이다. 벼의 주요 해충으로 농약을 사용하면서 그 수가 줄어들었으나 차차 늘어나고 있다. 1930년 황해도에서 발생해 알 덩어리를 정부에서 사들인 일도 있다. 한국·일본·중국 등지에 분포한다.
- [7] 한국등록특허 제1648812호에 벼메뚜기 성분을 포함하는 다이어트 식품 조성물 제조 방법에 관하여 개시되어 있고, 한국공개특허 제2010-0002661호에 히알루론산을 포함하는 기능성 복합체 및 그 제조방법에 관하여 개시되어 있으나, 본 발명의 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대해서는 개시된 바 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하고, 본 발명의 벼메뚜기 추출물을 처리한 간세포에서 중성지방의 함량이 효과적으로 감소하는 것과 벼메뚜기 추출물의 투여에 따른 동물 모델의 체중변화; 간, 피하지방, 신장지방 조직 및 소장 지방조직의 무게 변화; 지질생화학적 지표들이 유의미하게 변화한다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [9] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [11] 또한, 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 인간을 제외한 동물의 지방간 질환의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.
- [12] 또한, 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 인간을 제외한 동물의 지방간 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제를 제공한다.
- [13] 또한, 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

발명의 효과

- [14] 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 유효성분인 벼메뚜기

추출물은 식용 가능한 것으로 알려진 벼메뚜기가 원료이므로, 부작용 및 독성이 없을 뿐만 아니라, 간암 세포주(HepG₂)에서 중성지방의 축적을 효과적으로 감소시키고, 벼메뚜기 추출물의 투여에 따른 동물 모델의 체중변화; 간, 피하지방, 신장지방 조직 및 소장 지방조직의 무게 변화; 지질생화학적 지표들의 변화가 유의하게 나타났으므로, 본 발명의 조성물은 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 건강기능식품, 의약품 또는 사료첨가제로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [15] 도 1은 간암 세포주(HepG₂)에 올레이트 및 팔미테이트가 2:1의 농도비로 혼합된 1.0mM의 유리지방산 및 벼메뚜기 추출물을 처리한 후, 중성지방의 함량을 나일레드(아디포레드) 염색하여 측정한 결과이다. #####은 1.0mM의 유리지방산을 처리하지 않은 음성대조군(Control)에 비해 1.0mM의 유리 지방산을 처리한 군에서 나일레드 발현(%)이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.0001$ 임을 의미하며, ****은 유리지방산 처리군에 비해 유리지방산과 벼메뚜기 추출물을 함께 처리한 군에서, 나일레드 발현이 통계적으로 의미 있게 감소하였다는 것을 의미하며, $p<0.0001$ 이다.
- [16] 도 2는 간암 세포주(HepG₂)에 올레이트 및 팔미테이트가 2:1의 농도비로 혼합된 1.0mM의 유리지방산 및 벼메뚜기 추출물을 처리한 후, 총 중성지방의 함량을 측정한 결과이다. #####은 1.0mM의 유리 지방산을 처리하지 않은 음성대조군(Control)에 비해 1.0mM의 유리 지방산을 처리한 군에서, 총 중성지방(mg/dl)이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.0001$ 임을 의미하며, ***, ****은 유리지방산 처리군에 비해 유리지방산과 벼메뚜기 추출물을 함께 처리한 군에서 총 중성지방(mg/dl)이 통계적으로 의미 있게 감소하였다는 것을 의미하며, ***은 $p<0.001$ 이고, ****은 $p<0.0001$ 이다.
- [17] 도 3은 간암 세포주(HepG₂)에 올레이트 및 팔미테이트가 2:1의 농도비로 혼합된 1.0mM의 유리지방산 및 벼메뚜기 추출물을 처리한 후, 지방 흡수율(lipid uptake)을 측정한 결과이다. #####은 1.0mM의 유리 지방산을 처리하지 않은 음성대조군(Control)에 비해 1.0mM의 유리 지방산을 처리한 군에서, 상대적 지방 흡수율이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.0001$ 임을 의미하며, ****은 유리지방산 처리군에 비해 유리지방산과 벼메뚜기 추출물을 함께 처리한 군에서 상대적 지방 흡수율이 통계적으로 의미 있게 감소하였다는 것을 의미하며, $p<0.0001$ 이다.
- [18] 도 4는 간암 세포주(HepG₂)에 에탄올 및 벼메뚜기 추출물을 처리한 후, 세포생존율(%)을 확인한 결과이다. #####은 1.0mM의 유리 지방산을 처리하지 않은 음성대조군(Control)에 비해 1.0mM의 유리 지방산을 처리한 군에서, 세포생존율(%)이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.0001$ 임을 의미하며, **, ****은 유리지방산 처리군에 비해 유리지방산과 벼메뚜기

추출물을 함께 처리한 군에서 세포생존율(%)이 통계적으로 의미 있게 증가하였다는 것을 의미하며, **은 $p<0.01$ 이고, ****은 $p<0.0001$ 이다.

- [19] 도 5는 간암 세포주(HepG₂)에 에탄올 및 베타메뚜기 추출물을 처리한 후, Caspase-3의 발현량을 확인한 결과이다. #####은 1.0mM의 유리 지방산을 처리하지 않은 음성대조군(Control)에 비해 1.0mM의 유리 지방산을 처리한 군에서, 상대적 Caspase-3의 발현량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.0001$ 임을 의미하며, ****은 유리지방산 처리군에 비해 유리지방산과 베타메뚜기 추출물을 함께 처리한 군에서 상대적 Caspase-3의 발현량이 통계적으로 의미 있게 감소하였다는 것을 의미하며, $p<0.0001$ 이다.
- [20] 도 6은 고지방 식이에 의해 증가한 체중이 베타메뚜기 추출물의 투여에 의해 감소하는 것을 확인한 결과이다.
- [21] 도 7은 고지방 식이에 의해 증가한 마우스의 간, 피하지방, 신장지방, 소장지방 중량이 베타메뚜기 추출물의 투여에 의해 감소하는 것을 확인한 결과이다. #####은 정상식이군(Nor)에 비해 고지방식이군(HFD)의 간, 피하지방, 신장지방조직 및 소장 지방조직의 중량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.0001$ 임을 의미하며, *, *** 및 ****은 고지방식이군에 비해 고지방방식이 및 베타메뚜기 추출물(MTG)을 모두 섭취한 군이 고지방식이군에 비해 통계적으로 유의미하게 간, 피하지방, 신장지방조직 및 소장지방조직의 중량이 감소하였다는 것으로, *는 $p<0.05$ 이고, ***는 $p<0.001$ 이며, ****은 $p<0.0001$ 임을 의미하고, M100은 양성대조군으로, 밀크씨슬이다.
- [22] 도 8은 고지방 식이에 의해 증가한 마우스의 혈액 내 ALT 및 AST 함량이 베타메뚜기 추출물의 투여에 의해 감소하는 것을 확인한 결과이다. ##, #####은 정상식이군(Nor)에 비해 고지방식이군(HFD)의 GPT(ALT) 및 GOT(AST)가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, ##은 $p<0.01$ 이고, #####은 $p<0.0001$ 임을 의미하며, *, *** 및 ****은 고지방식이군에 비해 고지방방식이 및 베타메뚜기 추출물(MTG)을 모두 섭취한 군이 고지방식이군에 비해 통계적으로 유의미하게 GPT(ALT) 및 GOT(AST)의 함량이 감소하였다는 것으로, *는 $p<0.05$ 이고, ***는 $p<0.001$ 이며, ****은 $p<0.0001$ 임을 의미하고, M100은 양성대조군으로, 밀크씨슬이다.
- [23] 도 9는 고지방 식이에 의해 증가한 마우스의 혈액 내 중성지방, 총콜레스테롤, 저밀도지단백, 유리지방산의 농도가 베타메뚜기 추출물의 투여에 의해 감소하는 것을 확인한 결과이다. #####은 정상식이군(Nor)에 비해 고지방식이군(HFD)의 중성지방, 총콜레스테롤, 저밀도지단백 및 유리지방산의 농도가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.0001$ 임을 의미하며, *, ** 및 ***는 고지방식이군에 비해 고지방방식이 및 베타메뚜기 추출물(MTG)을 모두 섭취한 군이 고지방식이군에 비해 통계적으로 유의미하게 중성지방, 총콜레스테롤, 저밀도지단백 및 유리지방산의 농도가 감소하였다는 것으로, *는 $p<0.05$ 이며, **는 $p<0.01$ 이고, ***는 $p<0.001$ 임을 의미하고, M100은 양성대조군으로,

밀크씨슬이다.

- [24] 도 10은 고지방 식이에 의해 증가한 마우스의 혈당 농도가 베타메뚜기 추출물의 투여에 의해 감소하는 것을 확인한 결과이다. #####은 정상식이군(Nor)에 비해 고지방식이군(HFD)의 혈청 내 혈당 농도가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p < 0.0001$ 임을 의미하며, * 및 ***는 고지방식이군에 비해 고지방식이 및 베타메뚜기 추출물(MTG)을 모두 섭취한 군이 고지방식이군에 비해 통계적으로 유의미하게 혈청 내 혈당 농도가 감소하였다는 것으로, *는 $p < 0.05$ 이고, ***는 $p < 0.001$ 임을 의미하고, M100은 양성대조군으로, 밀크씨슬이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [25] 본 발명은 베타메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.
- [26] 상기 베타메뚜기 추출물은 하기의 단계를 포함하는 방법에 의해 제조할 수 있으나, 이에 한정하지 않는다:
- [27] (1) 베타메뚜기에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;
- [28] (2) 단계 (1)의 추출물을 여과하는 단계; 및
- [29] (3) 단계 (2)의 여과한 추출물을 감압 농축하고 건조하여 추출물을 제조하는 단계.
- [30] 상기 단계 (1)에서 추출용매는 물, C₁~C₄의 저급 알콜 또는 이들의 혼합물 중에서 선택하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 C₁~C₄의 저급 알콜이고, 더욱더 바람직하게는 70%(v/v) 에탄올이지만 이에 한정하지 않는다.
- [31] 상기 제조방법에 있어서, 추출방법은 여과법, 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 당 업계에 공지된 모든 통상적인 방법을 이용할 수 있다. 상기 추출용매는 건조된 베타메뚜기 중량의 1~20배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 5~15배 첨가하는 것이다. 추출온도는 4~50°C인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 0.5~10시간인 것이 바람직하며, 0.5~5시간이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 방법에 있어서, 단계 (3)의 감압농축은 진공 감압 농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무 건조 또는 동결 건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [32] 상기 지방간 질환은 비알콜성 또는 알콜성 단순 지방간; 비알콜성 또는 알콜성 지방간염; 및 비알콜성 또는 알콜성 간경변 중에서 선택된 어느 하나인 것이 바람직하지만 이에 한정하는 것은 아니다.
- [33] 상기 베타메뚜기 추출물은 간 조직 내 중성지방의 함량을 감소시키는 것이 특징이며, 간 조직 내 총 중성지방의 함량을 감소시키며, 지방 흡수율(lipid uptake)을 감소시키는 것이 특징이다.

- [34] 상기 본 발명의 조성물을 지방간 질환의 예방 또는 개선을 목적으로 식품에 첨가하여 건강기능성 식품을 제조할 수 있는데, 상기 건강기능 식품은 특별히 이에 제한되지 않으며, 건강 기능성 식품, 영양 보조제, 영양제, 파머푸드(pharmafood), 건강 식품, 뉴트라슈티칼(nutraceutical), 디자이너 푸드, 식품 첨가제 등의 모든 형태의 식품이 될 수 있는데, 바람직하게는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 될 수 있다. 이때, 첨가하는 방법은 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용되고, 첨가량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [35] 상기 본 발명의 조성물은 유효성분 이외의 다양한 성분을 추가로 포함할 수도 있는데, 이들 다양한 성분은 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등이 될 수 있다. 또한, 기호성 및/또는 기능성을 부가하기 위하여 천연 과일 주스, 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있으며, 이들 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [36] 또한, 본 발명은 버메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [37] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 약학적으로 허용되는 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올, 락토스, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 시럽, 메틸 셀룰로오스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [38] 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 항산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 계면활성제, 결합제, 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 또는 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [39] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여 방식으로 적용된다. 본 발명의 약학적 조성물의 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. 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 바람직하게는 성인 기준으로 0.001-100 mg/kg이다.

- [40] 본 발명의 약학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가로 포함할 수 있다.
- [41] 또한, 본 발명은 버메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 인간을 제외한 동물의 지방간 질환의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물에 관한 것이다.
- [42] 본 발명의 버메뚜기 추출물을 포함하는 수의학적 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 본 발명의 버메뚜기 추출물을 포함하는 수의학적 조성물에 포함될 수 있는 부형제 및 희석제로는, 락토스, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 세탄올, 스테아릴알콜, 유동파라핀, 솔비탄모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 메칠파라벤, 프로필파라벤 및 광물유를 들 수 있다.
- [43] 본 발명에 따른 버메뚜기 추출물을 포함하는 수의학적 조성물은 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향신료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있는데, 본 발명에 의한 수의학적 조성물은 동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있고, 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡슐, 좌제, 멸균 주사용액, 멸균 외용제 등의 형태일 수 있다.
- [44] 본 발명에 의한 수의학적 조성물은 동물의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 0.1~100mg/kg의 양을 1일 1회 내지 수회 투여할 수 있고, 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [45] 또한, 본 발명은 버메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 인간을 제외한 동물의 지방간 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제에 관한 것이다.
- [46] 상기 사료 첨가제는 20~90중량%의 버메뚜기 추출물을 함유하는 고 농축액, 분말 또는 과립형태일 수 있다.
- [47] 본 발명의 사료 첨가제는 구연산, 후말산, 아디픽산, 젯산, 사과산 등의 유기산이나 인산나트륨, 인산칼륨, 산성피로인산염, 폴리인산염(중합인산염) 등의 인산염이나 폴리페놀, 카테킨(catechin), 알파-토코페롤, 로즈메리 추출물(rosemary extract), 비타민 C, 녹차 추출물, 감초 추출물, 키토산, 탄닌산, 피틴산 등의 천연 항산화제 중에서 선택된 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다.

- [48] 본 발명의 벼메뚜기 추출물을 함유하는 동물사료 첨가제 및 이를 포함하는 사료는 보조성분으로 아미노산, 무기염류, 비타민, 항생물질, 항균물질, 항산화, 항곰팡이 효소, 소화 및 흡수향상제, 성장촉진제, 질병예방제 등과 같은 물질과 함께 사용될 수 있다.
- [49] 상기 사료 첨가제는 동물에게 단독으로 식용 담체 중에서 다른 사료 첨가제와 조합되어 투여될 수 있다. 또한, 상기 사료첨가제는 탑 드레싱으로서 또는 이들을 동물 사료에 직접 혼합하거나 또는 사료와 별도로, 별도의 경구 제형으로, 주사 또는 경피로 또는 다른 성분과 조합하여 쉽게 투여할 수 있다. 통상적으로, 당 업계에 잘 알려진 바와 같이 단독 일일 투여량 또는 분할 일일 투여량을 사용할 수 있다. 상기 사료 첨가제를 동물 사료와 별도로 투여할 경우, 당 업계에 잘 알려진 바와 같이 추출물의 투여 형태는 이들을 비-독성 제약상 허용 가능한 식용 담체와 조합하여 즉석 방출 또는 서방성 제형으로 제조할 수 있다. 이러한 식용 담체는 고체 또는 액체, 예를 들어 옥수수 전분, 락토스, 수크로스, 콩 플레이크, 땅콩유, 올리브유, 참깨유 및 프로필렌 글리콜일 수 있다. 고체 담체가 사용될 경우, 추출물의 투여형은 정제, 캡슐제, 산제, 토로키제 또는 함당정제 또는 미분산성 형태의 탑 드레싱일 수 있다. 액체 담체가 사용될 경우, 연 젤라틴 캡슐제, 또는 시럽제 또는 액체 현탁액제, 에멀전제 또는 용액제의 투여 형태일 수 있다. 또한, 투여 형태는 보조제, 예를 들어 보존제, 안정화제, 습윤제 또는 유화제, 용액 촉진제 등을 함유할 수 있다. 또한, 벼메뚜기 추출물이 사료 첨가제로 포함되는 동물사료는 동물의 식이 요구를 충족시키는데 통상적으로 사용되는 임의의 단백질-함유 유기 곡분일 수 있다. 이러한 단백질-함유 곡분은 통상적으로 옥수수, 콩 곡분 또는 옥수수/콩 곡분 믹스로 주로 구성되어 있다. 상기의 사료 첨가제는 침지, 분무 또는 혼합하여 상기 동물사료에 첨가하여 이용될 수 있다. 본 발명의 수의학적 조성물 또는 사료첨가제는 반려동물의 식이에 적용할 수 있다.
- [50] 또한, 본 발명은 벼메뚜기 추출물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 치료방법에 관한 것이다.
- [51] 상기 개체는 지방간 질환을 앓는 환자를 포함하여 지방간 질환의 가능성이 있는 사람을 비롯한 동물 모두를 포함한다.
- [52]
- [53] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 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.
- [54]
- [55] 실시예 1. 간암 세포주(HepG₂)의 배양
- [56] 간암 세포주(HepG₂)는 ATCC(American Type Culture Collection)에서 구입하여 사용하였다. 간암 세포주(HepG₂)는 10% FBS, 1% 페니실린-스트렙토마이신이

- 포함된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium) 배지로 배양하였다. 상기 세포는 37°C에서, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였고, 배양된 세포는 24웰 플레이트에 일정한 수의 세포(3x 10⁴cells/ 500 μ l well)를 분주하여 실험을 하였다.
- [57] 24웰 플레이트에 세포를 분주한 후, 세포가 24웰이 완전히 붙어 세포의 모양을 갖춘 후 세포가 75%의 포화도(confluence)에 도달했을 때 사용하였다.
- [58]
- [59] 실시예 2. 유리 지방산(Free Fatty Acid; FFA) 제조
- [60] (1) 100mM 팔미테이트(시그마 P-0500) 및 100mM 올레이트(시그마 O-75010) 저장용액의 제조
- [61] 70°C에서 0.1M NaOH 용액을 용매로 이용하여 제조하고, 0.2 μ m의 필터를 이용하여 여과한 후, 멸균하였다.
- [62] (2) 유리 지방산이 포함되지 않은 5%(w/v)의 BSA(시그마 A-6003) 용액의 제조
- [63] 3차 증류수를 용매로 이용하여 제조한 후 멸균하고, 4°C 냉장보관하였다.
- [64] (3) 올레이트 및 팔미테이트의 농도가 2:1이 되도록 혼합한 5mM의 혼합지방산 저장용액 제조
- [65] 60°C에서, 상기 (2)에서 제조한 3차 증류수에 녹인 유리 지방산이 포함되지 않은 5%(w/v)의 BSA 용액을 용매로 이용하여 상기 (1)에서 제조한 각각의 지방산의 농도가 5mM이 되도록 지방산 저장용액 10ml을 제조하였다. 상기 1)에서 제조한 100mM 팔미테이트 및 100mM 올레이트 저장용액을 165 μ l(1.65mM)의 팔미테이트(Palmitate) 및 330 μ l(3.3mM)의 올레이트(oleate)를 취해 9,505 μ l의 5%(w/v)의 BSA 용액에 방울방울 떨어뜨리면서 흔들며 섞어주었다(vortexing). 이후에 상온으로 식힌 다음, 0.2 μ m 필터로 여과하였다(상기 제조한 혼합용액은 -20°C에서 3 내지 4주 동안 보관하여도 안정하다).
- [66]
- [67] 실시예 3. 베타메뚜기 추출물의 제조
- [68] 베타메뚜기를 70%(v/v) 에탄올로 추출하여 에탄올 추출액을 얻고, 에탄올 추출액을 감압 증류하여 에탄올 추출물을 획득하였다.
- [69]
- [70] 실시예 4. 나일레드(아디포레드) 염색(AdipoRed staining) 어세이를 이용한 중성지방의 함량 평가
- [71] 간암 세포주(HepG₂)에 1mM의 올레이트 및 팔미테이트 혼합(2:1) 유리 지방산을 처리하여 생성된 중성지방이 베타메뚜기 추출물에 의해 감소되는 정도를 나일레드(아디포레드) 염색 어세일로 확인하기 위하여, 간암 세포주(HepG₂)를 포함하는 배지에 1mM의 올레이트 및 팔미테이트 혼합(2:1) 유리 지방산(FFA) 처리 및 유리 지방산과 본 발명의 베타메뚜기 추출물을 병용 처리하고 24시간 동안 인큐베이션 한 후, 배지를 약하게 흡입(suction)하였다.
- [72] 이후, 37°C의 조건 하에서 아디포레드 용액(AdipoRed solution; 300 μ l의

AdipoRed를 10ml의 PBS에 녹여 제조함)을 $500\mu\text{l}/\text{well}$ 씩 분주 후, 암 조건 상온의 조건에서 15분 동안 약하게 shaking하여 반응하였다. 이 과정 동안 염료의 광퇴색(photobleaching)을 최소화하기 위하여 플레이트를 알루미늄 호일로 싸서 보관하였다. 반응이 종료된 후 이를 형광분도계(spectrophotometer)에 적용하여 여기파장(excitation)은 485nm, 방출파장(emission)은 572nm의 조건에서 측정하였다.

[73] 그 결과, 벼메뚜기 추출물 10, 50 및 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에 대하여 중성지방이 농도의존적으로 감소하는 효과를 확인할 수 있었다(도 1).

[74]

[75] 실시예 5. 벼메뚜기 추출물의 처리에 따른 총 중성지방의 함량 및 지방 흡수(lipid uptake) 정도의 변화 확인

[76] 간암 세포주(HepG₂)에 1mM의 올레이트 및 팔미테이트 혼합(2:1) 유리 지방산을 처리하여 증가한 총 중성지방의 함량 및 지방 흡수(lipid uptake)가 벼메뚜기 추출물의 처리에 의해 감소 되는지를 확인하였다.

[77] 그 결과 도 2 및 도 3에 개시한 바와 같이, 벼메뚜기 추출물의 농도 의존적으로 총 중성지방의 함량 및 지방 흡수(lipid uptake)가 감소한 것을 확인하였다.

[78]

[79] 실시예 6. 벼메뚜기 추출물의 처리에 따른 세포 생존율 및 Caspase-3의 발현량 변화 확인

[80] 간암 세포주(HepG₂)에 에탄올을 처리하여 감소한 세포 생존율 및 증진된Caspase-3 발현량이 벼메뚜기 추출물의 처리에 의해 변화가 일어나는지를 확인하였다.

[81] 그 결과 도 4 및 도 5에 개시한 바와 같이, 벼메뚜기 추출물의 농도 의존적으로 세포 생존율이 증진되었고, Caspase-3의 발현량이 현저하게 감소한 것을 확인하였다.

[82]

[83] 실시예 7. 벼메뚜기 추출물의 투여에 따른 동물모델의 체중변화; 간, 복부피하지방, 신장 지방조직 및 소장 지방조직의 무게; 지질생화학적 지표들의 분석

[84] (1) 실험동물

[85] 본 실시예 7에서는 10주령의 C57bl/6J 생쥐(마우스)를 사용하였는데, 수컷 7주령의 C57bl/6J 생쥐를 대한바이오링크사(Eumsung, Korea)로부터 공급받아 3주 동안 실험실 환경에 적응시킨 후, 건강상태가 양호한 마우스를 실험에 사용하였다.

[86] 실험동물은 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하였고, 온도 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 15\%$, 12시간 명-암 주기의 환경을 유지하며, 기본사료(AIN-76A diet)와 물을 자유롭게 공급하면서 실험실 환경에 적응시켰다. 이후, 건강상태가 양호한 10주령의 마우스를 동물 사육실의 환경은

온도 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 15\%$ 및 12시간 간격의 광주기(light on 07:00~19:00)로 명암으로 조절되는 SPF(Specific Pathogen Free) 환경에서 유지하면서 실험에 사용하였다.

- [87] 실험동물은 정상 식이 대조군(Nor), 고지방식이 대조군 (HFD, 60% fat), 고지방 식이를 하면서 베타메뚜기 추출물을 투여한 군(100, 200mg/kg) 및 양성대조군으로 고지방 식이를 하면서 밀크시슬 추출물(100mg/kg)을 투여한 군으로 분류하여 14주 동안 진행하였으며, 물과 각 실험군의 식이는 자유롭게 공급하였고, 베타메뚜기 추출물은 매일 14주 동안 경구투여 방식으로 공급하였다.

[88]

[89] **(2) 체중변화, 간 조직, 복부피하지방, 소장 및 신장의 지방조직 변화**

- [90] 실험동물의 체중은 매주 일정한 시간에 14주 동안 측정하여 기록하였으며, 14주 후 실험동물을 간 조직 중량, 피하지방(abdominal subcutaneous fat), 소장 지방 및 신장 후 복막 지방조직(retroperitoneal adipose tissue)으로 구분하여 적출 후 지방조직의 중량을 산출하였다.

- [91] 본 발명의 베타메뚜기 추출물(MTG)이 고지방식이에 의해 증가한 마우스 체중에 미치는 영향을 확인한 결과, 고지방 식이군(HFD)에 비하여 체중이 감소되는 추이를 보였다(도 6).

- [92] 본 발명의 베타메뚜기 추출물(MTG)이 고지방 식이에 의해 증가한 간 조직 중량을 감소시킬 수 있는지 확인한 결과, 고지방 식이군(HFD)에 대비하여 고지방 식이와 베타메뚜기 추출물(MTG)을 모두 섭취한 군의 간 조직 중량이 감소하였으며, 고지방식이에 의해 마우스의 복부 피하지방, 신장 지방조직 및 소장 지방조직의 중량도 고지방 식이군(HFD)에서 증가하였으나 고지방식이와 더불어 베타메뚜기 추출물(MTG)을 섭취한 군에서는 마우스의 복부 피하지방, 신장 지방조직 및 소장 지방조직의 중량이 감소하였다(도 7).

[93]

[94] **(3) 비알콜성 지방간(NAFLD) 유발 생쥐의 혈장 중 지질생화학적 지표분석**

- [95] 베타메뚜기 추출물과 밀크씨슬을 14주 동안 투여 후, 각 실험동물로부터 분리한 혈장 (plasma)에서 간 기능의 지표인 ALT 및 AST를, 혈장의 지질함량의 지표인 중성지방(triglyceride), 총콜레스테롤, 저밀도 지단백, 유리지방산, 혈당의 함량을 생화학자동 분석기 (Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 측정하였다.

[96] **①혈중 ALT, AST 변화**

- [97] 베타메뚜기 추출물(MTG)이 고지방 식이에 의한 혈중 ALT와 AST 증가를 감소시킬 수 있는지를 확인한 결과, 고지방 식이군에 비하여 고지방 식이와 함께 베타메뚜기 추출물(MTG)을 섭취한 군에서의 ALT 및 AST가 현저하게 감소하였다(도 8).

- [98] 이와 같은 결과로부터 베타메뚜기 추출물(MTG)의 식이는 혈중 ALT 및 AST 효소 활성을 감소시켜, 고지방식이에 의해 유도된 비알콜성 지방간을 개선하는 것으로 나타났다.

[99]

[100] ② C57bl/6J 비알콜성 지방간 (NAFLD) 유발 생쥐의 혈장 중 지질생화학적 분석
[101] 벼메뚜기 추출물(MTG)이 고지방 식이에 의해 증가된 혈액 내 중성지방, 총
콜레스테롤, 저밀도 지단백, 유리지방산 수치를 감소시킬 수 있는지 확인한
결과, 고지방 식이(HFD) 군에서 증가된 중성지방, 총콜레스테롤, 저밀도 지단백,
유리지방산 수치가 벼메뚜기 추출물(MTG) 투여군에서 통계적으로 유의미하게
감소하였다(도 9). 따라서 벼메뚜기 추출물(MTG) 식이는 혈액 내 지질 수준을
감소시켜 고지방식이에 의해 유도된 비알콜성 지방간을 개선하는 것으로
나타났다.

[102]

[103] ③ 혈청 내 혈당 농도 변화

[104] 고지방 식이(HFD)에 의해 혈청 내 혈당 농도는 증가하였으나, 고지방 식이와
벼메뚜기 추출물(MTG)을 모두 섭취한 군에서는 고지방식이 군에 비해
통계적으로 유의미하게 혈청 내 혈당 농도가 감소하였다(도 10).

[105]

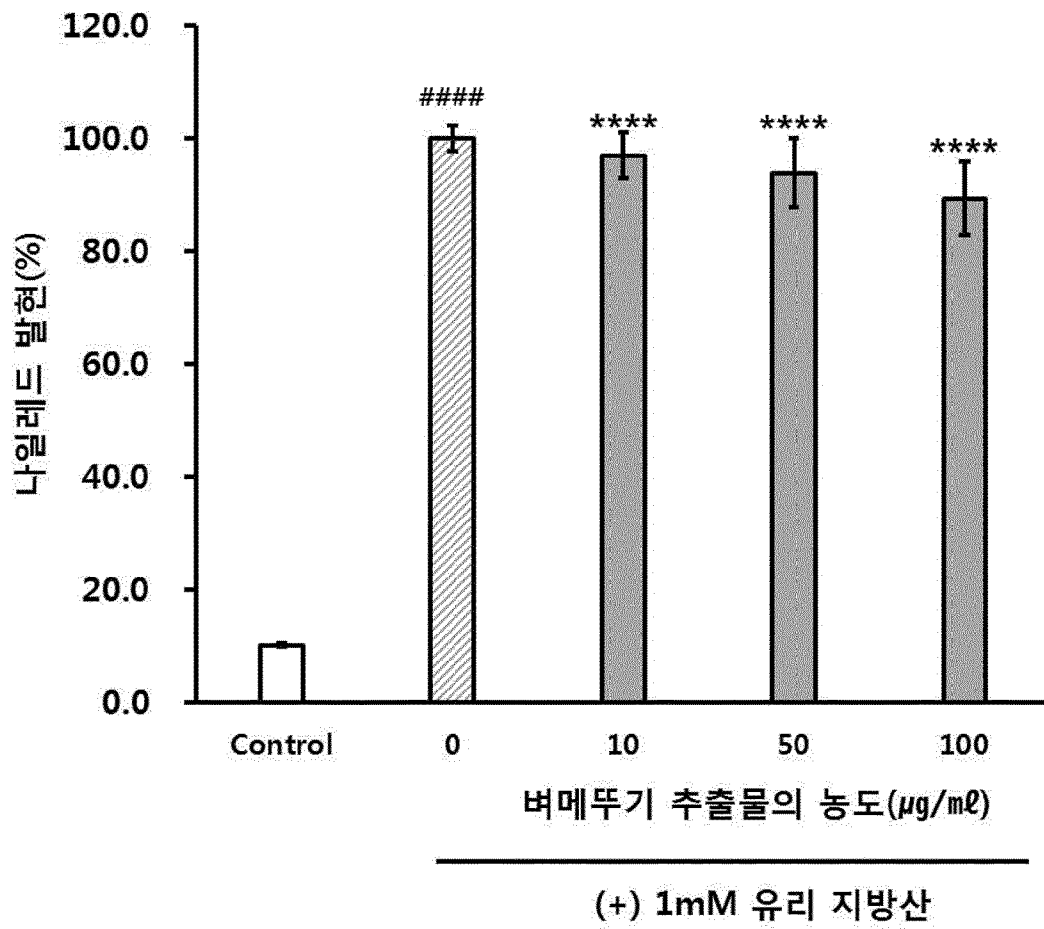
[106] [통계 처리]

[107] 상기 각 실험군의 결과는 unpaired student's T-test 통계프로그램을 사용하여
통계 처리하였으며, $p < 0.05$ 이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

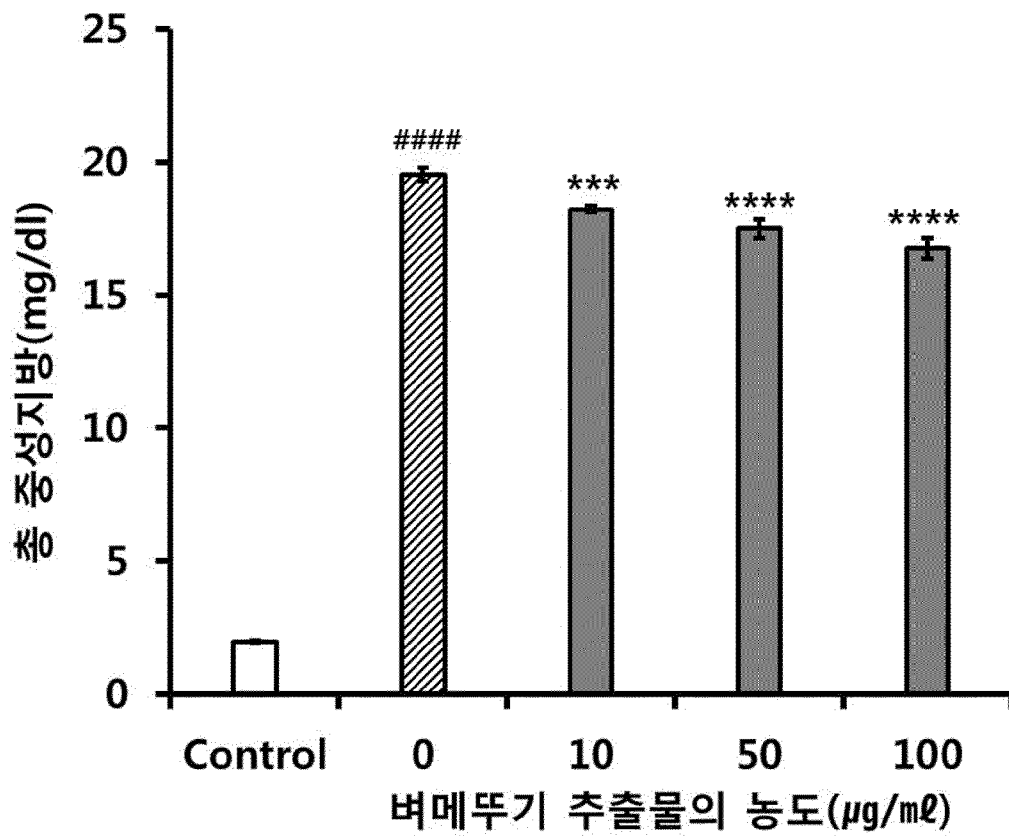
청구범위

- [청구항 1] 베타메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 베타메뚜기 추출물의 추출용매는 물, C₁~C₄의 저급 알콜 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 지방간 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 지방간 질환은 비알콜성 또는 알콜성 단순 지방간; 비알콜성 또는 알콜성 지방간염; 및 비알콜성 또는 알콜성 간경변 중에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 지방간 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 베타메뚜기 추출물은 간 조직 내 중성지방의 함량을 감소시키는 것을 특징으로 하는 지방간 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 5] 베타메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용가능한 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 중에서 선택된 1종 이상의 담체를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 7] 제5항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 향산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 계면활성제, 결합제, 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 및 보존제 중에서 선택된 1종 이상의 보조제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 8] 베타메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 인간을 제외한 동물의 지방간 질환의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물.
- [청구항 9] 베타메뚜기 추출물을 유효성분으로 포함하는 인간을 제외한 동물의 지방간 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제.
- [청구항 10] 베타메뚜기 추출물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 지방간 질환의 예방 또는 치료방법.

[도1]

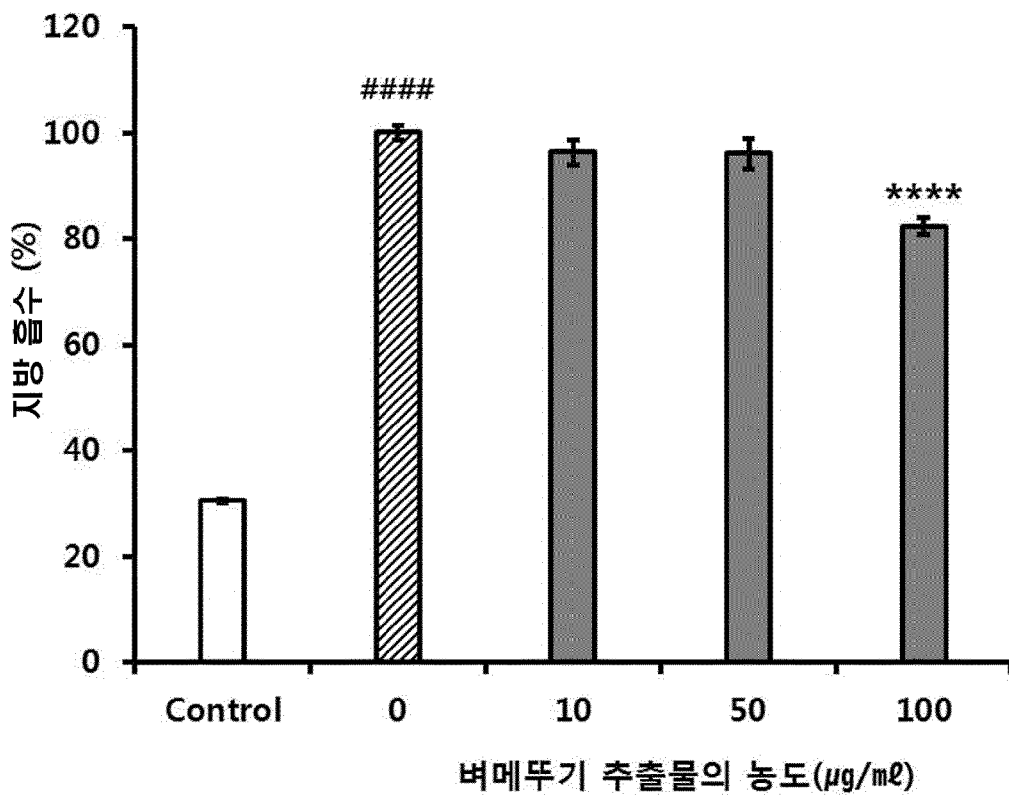


[도2]

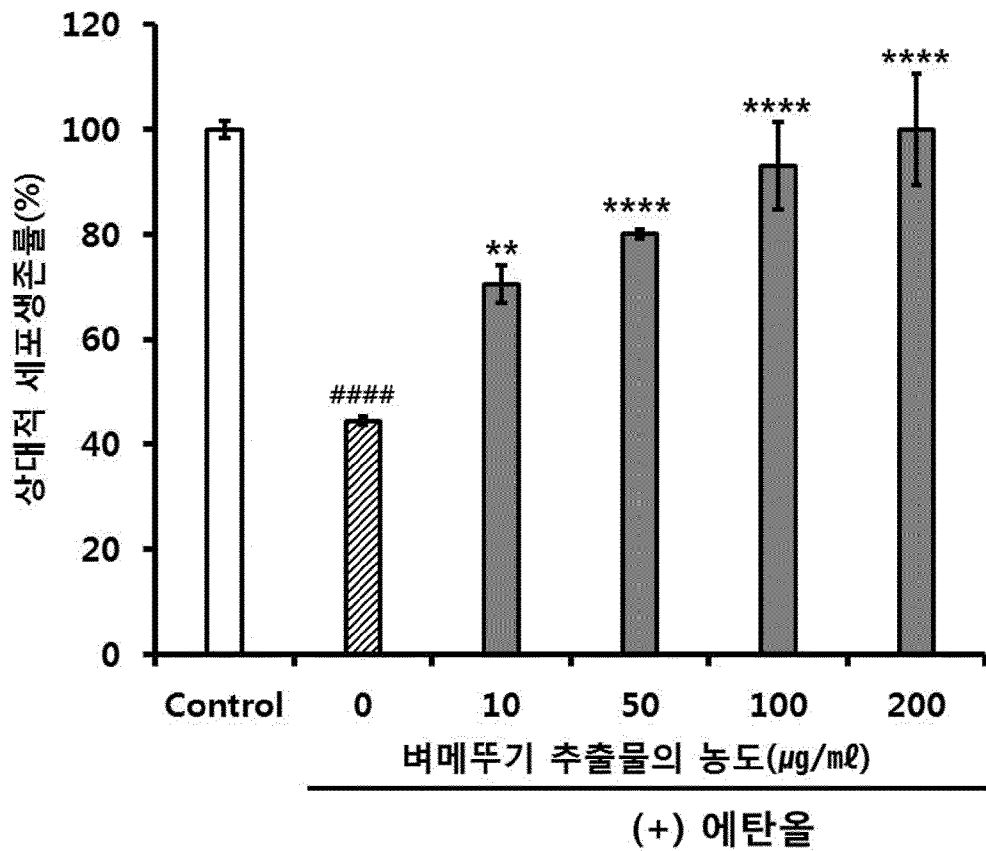


(+) 1mM 유리 지방산

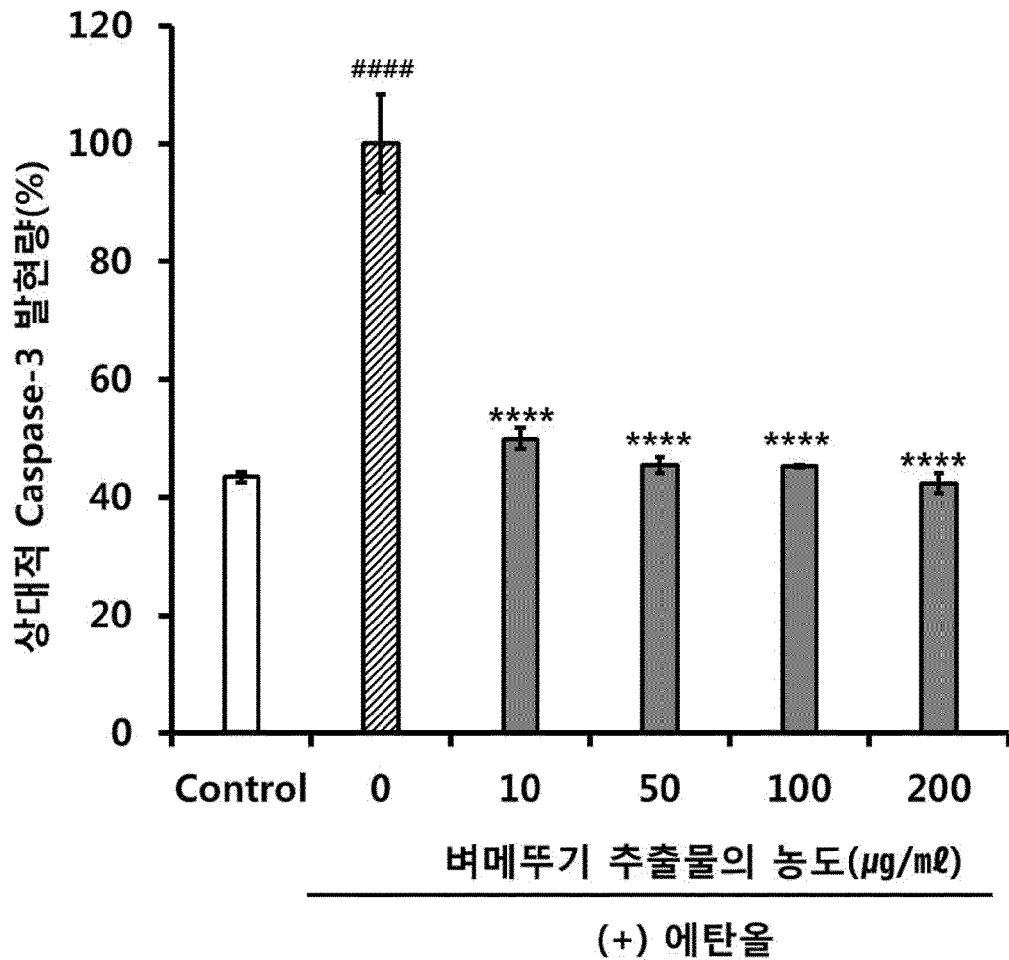
[도3]



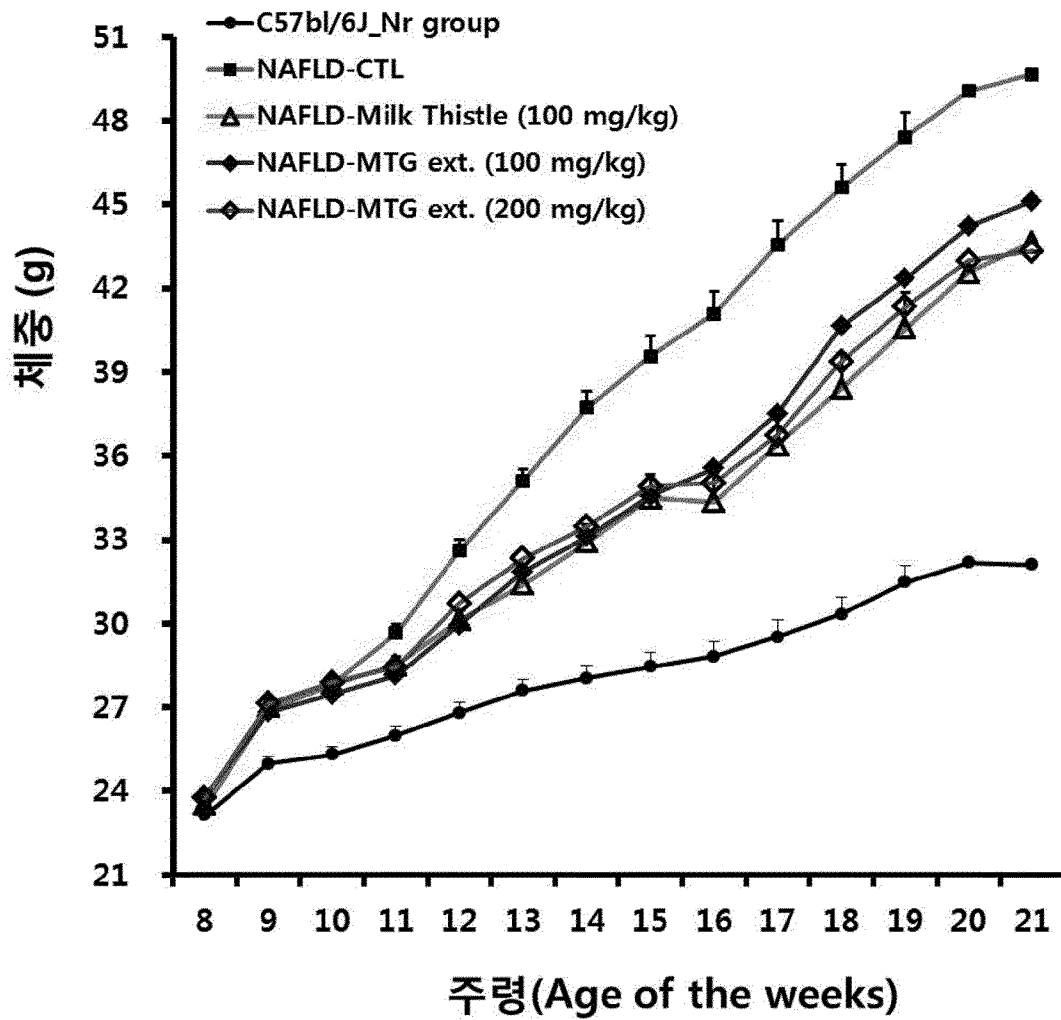
[도4]



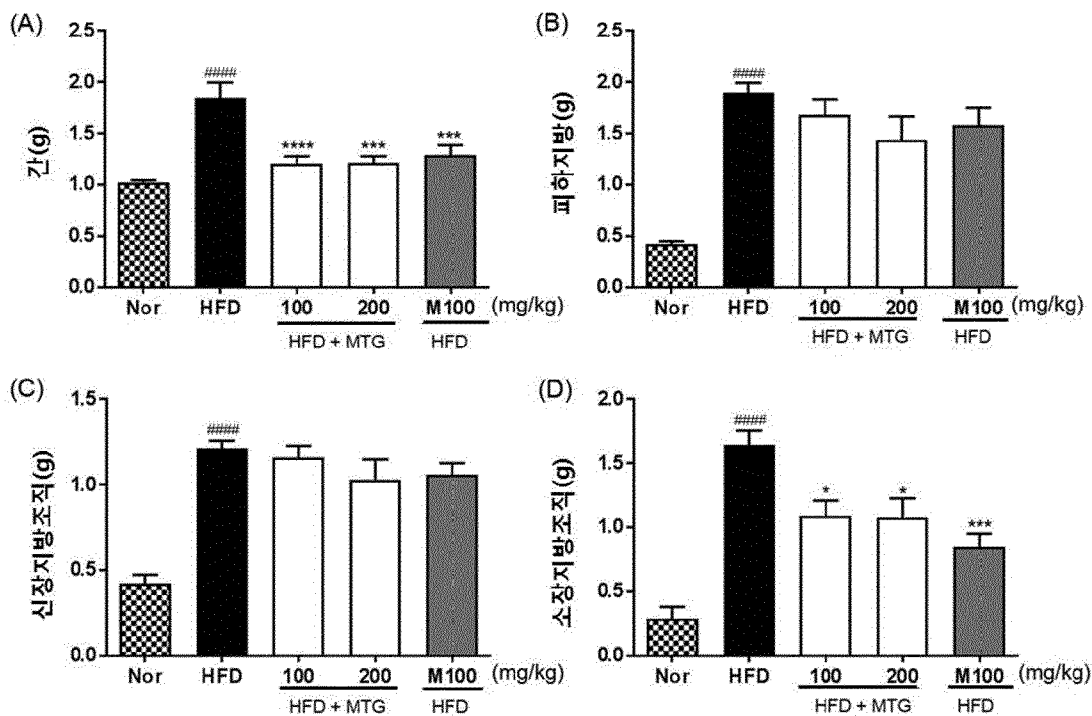
[도5]



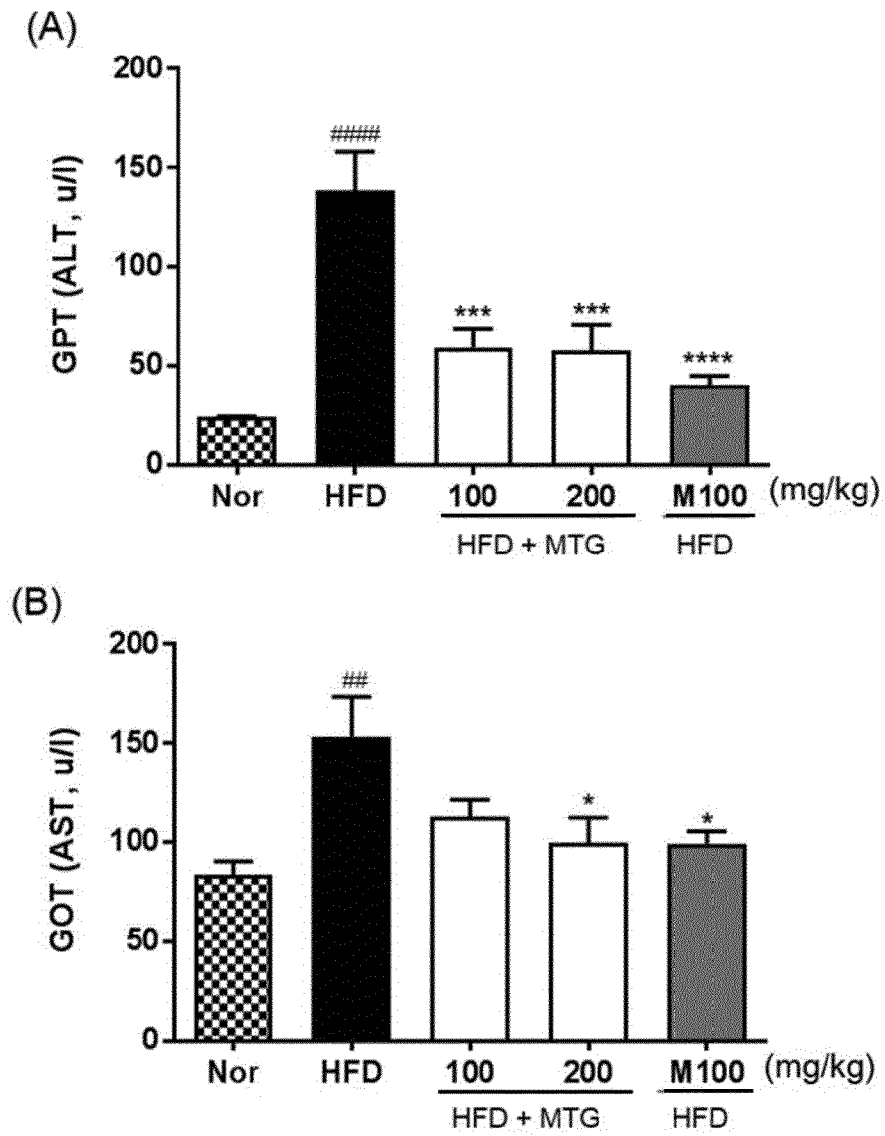
[도6]



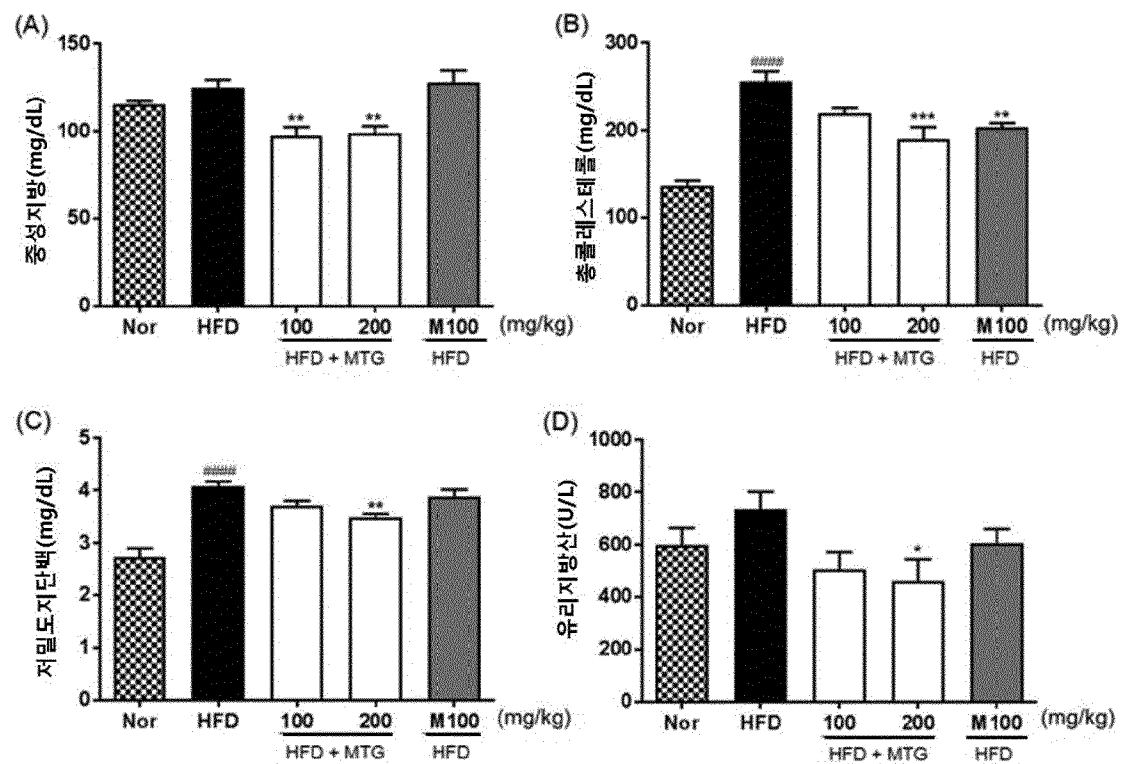
[도7]



[도8]



[도9]



[도10]

