



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0063028
(43) 공개일자 2022년05월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/9066 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

A61K 36/61 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/9066 (2013.01)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0148876

(22) 출원일자 2020년11월09일

심사청구일자 2020년11월09일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

엄재영

서울특별시 성북구 한천로 713, 505동 1902호(장위동)

(74) 대리인

위병갑

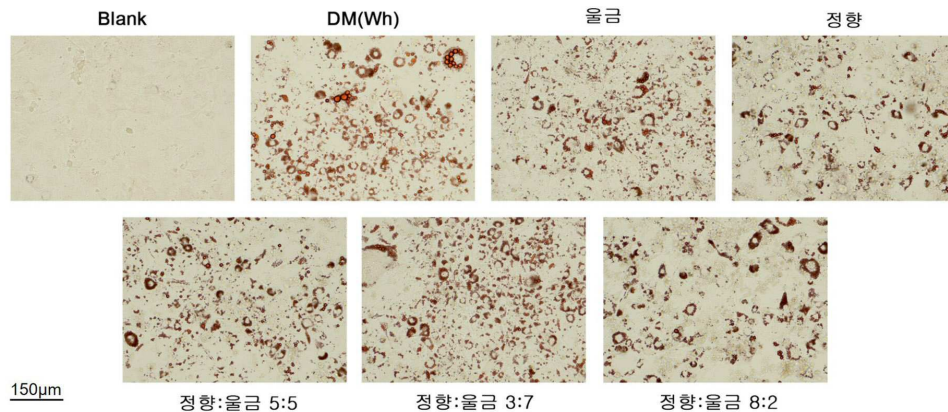
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **울금 및 정향의 혼합 추출물을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 울금 및 정향의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 상기 혼합 추출물은 상반 관계의 약제를 사용하여도, 지방 축적 및 지방세포의 분화를 효과적으로 억제하고, 지방세포 분화조절인자인 PPAR γ 및 C/EBP α 의 발현을 효과적으로 억제하여, 각 단독 추출물 대비 시너지 효과를 일으킴을 확인함으로써 비만의 예방 또는 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 36/61 (2013.01)

A61P 3/04 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/332 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

울금(Curcumae Radix) 및 정향(Syzygii Flos)의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 혼합 추출물은 울금 및 정향을 0.1~10:0.1~10의 중량비로 혼합한 후 추출한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 혼합 추출물은 지방 축적을 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 혼합 추출물은 지방세포 분화조절인자인 퍼옥시좀 증식체 활성화 수용체-감마(peroxisome proliferators-activated receptor- γ , (PPAR γ) 및 CCAT 증폭자 결합 단백질-알파(CCAAT enhancer-binding protein- α (C/EBP α))의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 혼합 추출물은 지방세포의 분화를 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

울금(Curcumae Radix) 및 정향(Syzygii Flos)의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 혼합 추출물은 울금 및 정향을 0.1~10:0.1~10의 중량비로 혼합한 후 추출한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제1항의 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 인간을 제외한 환자에게 투여하는 것을 포함하는 비만 질환 예방 또는 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 울금(Curcumae Radix) 및 정향(Syzygii Flos)의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 비만은 음식물의 섭취와 에너지의 사용의 불균형으로 초래되는 질병으로, 암, 제2형 당뇨병 및 동맥경화증 등

심각한 질병을 동반할 수 있다. 최근에는 비만, 당뇨, 동맥경화, 고지혈증, 고혈압 등을 대사증후군으로 부르고 있으며, 이에 대한 관심이 증가하여 세계 각국에서 연구가 진행되고 있다. 비만의 원인을 이해하고 이에 대응하고자 하는 전세계적인 노력에도 불구하고, 비만은 가속적으로 증가하고 있다. WHO는 "비만은 장기적인 투명이 필요한 질병이다"라고 경고하고 있는 가운데, 비만은 단순히 미관상의 문제로 그칠 문제가 아니라 각종 질병을 유발하여 생명을 위협하는 심각한 질환이라는 인식이 확대되고 있다.

[0003] 비만의 발생은 유전적, 사회적 및 경제적 요인 등의 복잡한 요인과 함께 운동량의 사회적 감소와 고열량 음식의 섭취량 증가로 인한 에너지 항상성 조절 실패가 원인으로 보고되고 있다. 최근에는 고칼로리 음식의 섭취와 육체 활동 저하에 의해 발병하는 것으로 알려진 2형 당뇨병을 포함하는 대사증후군과 연관된 비만의 발병이 세계적으로 증가하고 있다. 또한, 2025년에는 이러한 대사증후군을 가진 인구가 2배로 늘어나 약 3억 명에 이를 것으로 예측되고 있다. 비만은 인체의 에너지 섭취와 소모의 불균형의 결과로써, 지방축적에 의하여 지방세포의 크기가 증가하고 섬유아세포가 지방세포로 분화함으로써 지방세포의 수가 증가한 결과이다. 섬유아세포가 분화하여 지방세포로 생성되는 과정(adipogenesis)에는 CCAAT enhancer-binding protein- α (C/EBP α), peroxisome proliferators-activated receptor- γ (PPAR γ), liver X receptor α (LXR α), sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c)와 같은 다양한 전사인자들이 관여한다. 이러한 전사인자들은 지방조직에서 많이 발현되고 지방세포로의 분화시에 그들의 활성화는 fatty acid synthase (FAS), stearyl-CoA desaturase-1 (SCD-1), acetyl-CoA carboxylase- α (ACC α)와 같은 지방합성유전자들의 발현을 직접적으로 향상시켜 분화된 지방세포에 지방축적을 증가시킨다. 이러한 이유 때문에 항비만제를 개발하기 위하여 지방세포분화나 지방합성에 관여하는 전사인자나 유전자들의 활성을 억제시키는 천연물질을 찾기 위한 많은 연구가 진행되고 있다.

[0004] 현재 비만을 치료하기 위한 다양한 방법이 시도되고 있다. 일반적으로 비만증의 치료법은 식이요법, 운동요법, 식욕 억제제, 이뇨제, 설사제 또는 포만감을 주기 위한 섬유질 등을 사용하는 약물요법, 잘못된 식습관과 생활습관을 교정해 주는 행동수정요법, 외과에서 장이나 위의 용적을 줄이는 수술요법, 성형외과 등에서 초음파를 이용하여 지방세포를 분해, 제거하는 방법 등의 지방제거수술 등이 있다. 또한, 비만 치료와 관련된 암페타민, 리덕틸, 티아졸리디네온, 메트포르민 등은 다양한 부작용이 나타나고 있으며, 이러한 이유로 최근에는 비만 치료와 관련하여 약용 식물의 사용을 포함한 대체 접근법에 대한 관심이 증대되고 있으며, 체내에 대해 안정성이 인정된 천연물로부터 새로운 비만 예방 및 개선 치료제의 개발이 필요한 실정이다.

[0005] 이에 본 발명자들은 천연물을 이용한 비만 예방 및 개선 치료를 위한 기술을 연구하던 중, 울금 및 정향 혼합 추출물이 지방세포의 분화 및 지방 축적을 억제하고, 지방세포의 분화조절인자의 발현을 억제하여, 부작용 없이 비만 예방 및 치료효과를 나타낼 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국등록특허 제10-1790409호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 비만의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 비만 질환 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 울금(Curcumae Radix) 및 정향(Syzygii Flos)의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 혼합 추출물은 울금(Curcumae Radix) 및 정향(Syzygii Flos)을

0.1~10:0.1~10의 중량비로 혼합한 후 추출한 것일 수 있고, 바람직하게는 1~8:2~9의 중량비인 것일 수 있다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 혼합 추출물은 지방 축적을 억제하는 것일 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 혼합 추출물은 지방세포 분화조절인자인 퍼옥시좀 증식체 활성화 수용체-감마(peroxisome proliferators-activated receptor- γ (PPAR γ) 및 CCAT 증폭자 결합 단백질-알파(CCAAT enhancer-binding protein- α (C/EBP α))의 발현을 억제하는 것일 수 있다.

[0015] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 혼합 추출물은 지방세포의 분화를 억제하는 것일 수 있다.

[0016] 또한, 본 발명은 울금(*Curcumae Radix*) 및 정향(*Syzygii Flos*)의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0017] 나아가, 본 발명은 상기 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 인간을 제외한 환자에게 투여하는 것을 포함하는 비만 질환 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 따른 울금 및 정향의 혼합 추출물은 상반 관계의 약제를 사용하여도, 지방 축적 및 지방세포의 분화를 효과적으로 억제하고, 지방세포 분화조절인자인 PPAR γ 및 C/EBP α 의 발현을 효과적으로 억제하여, 각 단독 추출물 대비 시너지 효과를 일으킴을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 울금 및 정향 혼합 추출물은 비만 치료제로서의 효과적인 치료 효과를 나타내는 바, 관련 산업에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 본 발명에서 사용한 울금의 기원 식물 및 약용부위의 차이를 나타낸 도이다.

도 2는 본 발명의 울금 및 정향의 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 3T3-L1세포에 처리한 후 세포 생존율을 측정한 결과이다.

도 3은 본 발명의 울금 및 정향의 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 3T3-L1세포에 처리한 후 세포 내 지방 축적 정도를 Oil red O로 염색한 결과이다.

도 4는 본 발명의 울금 및 정향의 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 3T3-L1세포에 처리한 후 세포에 축적된 지방 함량을 정량화한 결과이다.

도 5는 3T3-L1 지방세포에 울금 및 정향의 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 PPAR γ 및 C/EBP α 의 단백질 발현 정도를 웨스턴 블롯 분석을 통해 측정한 결과이다.

도 6은 3T3-L1 지방세포에 울금 및 정향의 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 PPAR γ 및 C/EBP α 의 단백질 발현 정도를 정량화한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0024] 본 발명은 울금 및 정향의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명에서, 상기 울금(*Curcumae Radix*)은 온울금(*Curcuma Wenyujin*), 강황(*Curcuma Longa* Linne), 광서아출(*Curcuma kwangsiensis*) 및 봉아출(*Curcuma phaeocaulis* Val.)의 덩이뿌리로서 그대로 또는 주피를 제거하고 찌서 말린 것이다(도 1).

[0026] 본 발명에서, 상기 정향(*Syzygii Flos*)은 울금과 상반하는 약재로서, 정향나무과(Myrtaceae)에 속하는 정향(*Syzygium aromaticum* Merrill et Perry)의 꽃봉오리를 말려 사용하는 약재이다.

[0027] 본 발명에서 사용되는 용어 “상반”은 약효를 약화시키거나 부작용을 일으킬 수 있는 서로 다른 두 가지의 약

재로서, 동의보감의 제약방법의 조문에 기재된 바로는, “상오, 상반 약은 함부로 같이 쓸 수 없다” 라고 기재되어 있으며, 함께 쓰는 것에 주의가 요구되는 약재를 뜻한다.

- [0029] 본 발명에서, 상기 울금 및 정향의 혼합 추출물은 울금 및 정향을 혼합한 다음 혼합물을 추출한 것일 수 있고, 울금 및 정향 각각을 추출한 단독 추출물들을 혼합한 것일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0030] 본 발명에서, 상기 울금 및 정향은 0.1~10:0.1~10의 중량비로 혼합될 수 있고, 바람직하게는 1~8:2~9의 중량비로 혼합될 수 있고, 보다 바람직하게는 1~3:7~9의 중량비로 혼합될 수 있고, 보다 더 바람직하게는 1.5~2.5:7.5~8.5의 중량비로 혼합되어 사용할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 상기 울금 및 정향의 혼합 추출물은 지방 축적을 억제하는 것일 수 있다. 또한, 지방세포 분화조절인자인 퍼옥시좀 증식체 활성화 수용체-감마(peroxisome proliferators-activated receptor- γ (PPAR γ 및 CCAT 증폭자 결합 단백질-알파(CCAAT enhancer-binding protein- α (C/EBP α))의 발현을 억제하는 것일 수 있고, 지방세포의 분화를 억제하는 것일 수 있다.
- [0032] 본 발명의 일실시예에 따르면, 울금 및 정향의 혼합 중량비를 달리하여 지방 축적 억제 효과 및 지방세포 분화조절인자 발현 억제 효과를 확인한 결과, 울금 및 정향을 2:8의 중량비로 혼합한 혼합 추출물(정향:울금=8:2)이 다른 비율로 혼합한 혼합추출물 및 단독 추출물보다 현저하게 우수한 효과를 나타냄을 확인하였다(실험예 1 내지 3 참조).
- [0033] 또한, 본 발명자들의 선행 연구에서는, 상반 관계인 울금 및 정향의 혼합에 따른 잠재적 부작용 및 완화 효과를 확인한 결과, 간 독소 인자인 알라닌아미노전달효소(alanine transaminase, AST) 및 신 독소 인자인 크레아티닌(Creatinine)의 발현을 억제하여 부작용은 나타나지 않음을 확인하였다.
- [0034] 따라서 본 발명의 울금 및 정향의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 부작용 없이 비만을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0036] 본 발명에서 '비만'이란 체내의 지방 조직량이 과잉으로 증가된 상태를 의미한다. 비만은 지방세포내 지방의 합성과 분해의 불균형으로 나타나는데 필요 이상의 지방 축적으로 발생하는 비만은, 만성적 퇴행성 질환 발생의 위험성을 증가시키며, 관상동맥 질환, 고혈압, 뇌졸중, 고지혈증 및 당뇨병의 위험성을 증가시킬 수 있다.
- [0037] 본 발명의 약학 조성물이 치료효과를 나타낼 수 있는 비만 질환으로는, 비만, 당뇨, 고지질혈증, 지방간, 동맥경화, 고혈압, 심혈관질환, 고인슐린혈증, 고요산혈증, 고콜레스테롤혈증, 고중성지방혈증, 대사증후군, 내피기능장애, 응집전 상태, 이상 지질혈증 및 아테롬성 경화증성 질환들이 동시다발적으로 발생하는 대사증후군 등을 들 수 있되, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명에서 '예방'은 본 발명의 조성물의 투여로 비만을 억제시키거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0039] 본 발명에서 '개선'은 본 발명의 조성물의 투여로 비만의 증상이 호전 또는 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0040] 본 발명에서 '치료'는 달리 언급되지 않는 한, 상기 용어가 적용되는 질환 또는 질병, 또는 상기 질환 또는 질병의 하나 이상의 증상을 역전시키거나, 완화시키거나, 그 진행을 억제하거나, 또는 예방하는 것을 의미하며, 본원에서 사용된 상기 치료란 용어는 '치료하는'이 상기와 같이 정의될 때 치료하는 행위를 말한다.
- [0041] 본 발명에서 사용되는 용어 '투여'는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 약학적으로 유효한 양으로 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [0042] 본 발명에서 사용되는 용어 '약학적으로 유효한 양'은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜 또는 위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 이는 개체의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0043] 본 발명에서, 상기 '추출물(extract)'은 추출 대상을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는

농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다.

- [0044] 본 발명에서, 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다. 상기 알코올에는 C1 내지 C2 저급 알코올을 이용할 수 있고, 저급 알코올로는 30 % 에탄올, 50 % 에탄올, 70 % 에탄올 또는 메탄올을 이용할 수 있다. 추출방법으로는 감압고온추출, 열탕추출, 환류추출, 열수추출, 냉침 추출, 상온추출, 초음파 추출 또는 증기추출을 이용하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출용매를 울금 및 정향 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것일 수 있다. 추출온도는 30 내지 100℃인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 추출시간은 2 내지 48시간인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 본 발명에서, 추출물에 대한 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것일 수 있고, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것일 수 있다.
- [0046] 본 발명의 약학 조성물은 투여를 위해서 유효 성분 이외에 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 하나 이상 포함하여 약학 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다. 액상 용액 형태로 제제화될 경우, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 또는 이들의 혼합물을 담체로 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또는 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.
- [0047] 이 밖에도 본 발명의 약학 조성물의 제형 및 약학적으로 허용 가능한 담체는 특별히 제한되지 않으며, 당업계의 공지된 기술에 따라 적절히 선택할 수 있다. 또한, 비만 및 각종 비만 관련 질환의 치료 또는 예방을 위한 유효량은 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시에 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 일일 투여량은 본 발명의 혼합 추출물의 양을 기준으로 0.0001 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 0.01 내지 100 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다. 다만, 각 활성 성분의 복용량 또는 투여량이 각 활성 성분의 함량을 지나치게 높게 포함하여 부작용을 초래하지 않을 정도이어야 함은 당업자에게 자명하다.
- [0048] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 (intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0050] 또한, 본 발명은 울금(Curcuma Radix) 및 정향(Syzygii Flos)의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0051] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0052] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.
- [0053] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 기능성 식품 조성물은, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본 발명에서 '건강기능성 식품 조성물'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제672호에 따른 인체에 유용한 기능성

을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다. 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 봉해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분과 부형제, 결합제, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다. 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분의 부형제, 결합제, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0056] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 비만 질환 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0057] 본 발명의 치료 방법은 상기 약학 조성물을 치료적 유효량으로 개체에 투여하는 것을 포함한다. 특정 개체에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 개체의 연령, 체중, 일반건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다. 따라서 본 발명의 목적에 적합한 조성물의 유효량은 전술한 사항을 고려하여 결정하는 것이 바람직하다.

[0058] 상기 환자는 임의의 포유동물에 적용가능하며, 상기 포유동물은 인간 및 영장류뿐만 아니라, 소, 돼지, 양, 말, 개 및 고양이 등의 가축을 포함한다.

[0060] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0062] 실시예 1. 울금 및 정향 혼합 추출물의 제조

[0063] 울금(Curcuma Radix) 및 정향(Syzygii Flos)을 포함하는 한약재 복합물은 울금 및 정향을 3:7, 5:5 및 8:2의 중량비로 혼합하여 각각 전탕하였다. 구체적으로, 정향과 울금을 상기 중량비로 혼합하여 총 500 g이 되도록 합한 약재를 손질하여 세척한 후, 증류수 1L에 넣고 100℃에서 2시간 동안 전탕하여 500 ml이 되도록 하였다. 전탕액은 동결 건조하여 혼합 추출물(이하, "정향:울금=3:7", "정향:울금=5:5", "정향:울금=8:2"로 기재함) 분말을 취득하였으며, 각 건조 분말은 3차 증류수에 녹인 후, 22 μm의 필터로 여과하여 실험에 사용하였다.

[0065] 비교예 1. 울금 및 정향 단독 추출물의 제조

[0066] 울금 500 g 또는 정향 500 g을 상기 실시예 1과 동일한 방법으로, 추출하여 울금 단독 추출물 및 정향 단독 추출물을 제조하였다.

[0068] 실험예 1. 혼합 추출물의 지방전구세포에 대한 세포 독성

[0069] 실시예 1 및 비교예 1의 울금 및 정향 혼합 추출물과 단독 추출물이 지방세포의 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위해 MTS assay를 진행하였다.

[0070] 세포 생존율의 측정을 위해 지방전구세포(preadipocyte)인 3T3-L1 세포를 96 well plate에 2×10^4 cell/well로 분주하여 24 시간 배양한 후 농도 별로 희석한 울금 및 정향 혼합추출물(정향:울금=3:7, 정향:울금=5:5, 정향:울금=8:2) 또는 울금 및 정향 각각의 단독 추출물(울금, 정향)을 48시간 처리하였다. 각 well당 MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphe-nyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt)용액을 10 μ l씩 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 4 시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 ELISA reader로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0071] 그 결과, 혼합 추출물 및 단일 추출물 모두 100 μ g/ml까지 세포독성이 없음을 확인하였고, 울금 단일 추출물은 1000 μ g/ml까지 세포독성이 없음을 확인하였다. 또한, 혼합 추출물의 경우, 정향 단독 추출물보다도 세포독성이 적음을 확인하였다(도 2).

[0073] 실험예 2. 지방전구세포의 배양 및 지방세포로의 분화 유도

[0074] 지방전구세포인 3T3-L1세포를 세포 배양액 10% fetal bovine serum (FBS)과 페니실린/스트렙토마이신/글루타민(P/S/G) 항생제(antibiotics)가 포함된 Dulbecco's modified Eagle's media(DMEM)를 사용하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂배양기에서 배양하였다. 2-3일 간격으로 배양세포에 $1 \times$ PBS로 씻어낸 다음, 0.25% 트립신(trypsin) 500 μ l를 처리하여 세포를 탈착시켜 계대 배양하였다.

[0075] 지방전구세포를 지방세포로 분화유도하기 위하여 10% fetal bovine serum (FBS) 이 포함된 DMEM 배지에 분화유도 물질인 인슐린(1 μ g/ml), DEX(1 μ M), IBMX (0.5 mM)가 함유된 분화유도 배양액으로 교환하여 2일간 배양하였다. 배양 2일 후 인슐린만 함유하는 배지로 교환하고 울금 및 정향 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 처리하여 2일간 배양하고, 다시 인슐린만 함유한 배지로 교환한 후 2일간 배양한 다음 배양액은 버리고 남아있는 세포(지방세포로 분화된 지방전구세포)를 회수하여 실험에 사용하였다. 이 때, 사용된 분화 유도 배지를 DM(Wh)(Differentiation medium(white adipocyte))로 기재하였다.

[0077] 실험예 3. 혼합 추출물의 지방축적 억제 효과

[0078] 실시예 1 및 비교예 1의 울금 및 정향 혼합 추출물과 단독 추출물이 지방세포 분화에 미치는 영향을 확인하기 위해 Oil Red O 염색법을 통하여 지방축적 억제 정도를 측정하였다.

[0079] 구체적으로, 실험예 2와 동일한 방법으로 지방세포로 분화된 세포내의 지방을 염색하여 분화 정도를 측정하였다. 세포를 10% 포르말데하이드(formaldehyde)로 1시간 동안 고정시킨 후 60% 이소프로판올(isopropanol)로 세척하고 완전히 말린 다음, 60% Oil Red O 로 30분간 염색하였다. 30분 뒤, 3차 증류수로 3-4번 씻어낸 다음 완전히 말린 후에, 염색세포질 내 붉은색 과립이 있는 세포를 분화된 지방세포로 간주하고, 염색된 Oil Red O를 100% 이소프로판올로 용해한 뒤, 500 nm에서 흡광도를 측정하여 지방세포의 분화 정도를 측정하였다. Oil red O로 염색된 지방세포를 촬영한 이미지 및 지방세포 분화 정도를 정량화한 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

[0080] 그 결과, 정향:울금=3:7 혼합 추출물(정향 30 μ g/ml, 울금 70 μ g/ml 처리군) 또는 정향:울금=8:2 혼합 추출물(정향 80 μ g/ml, 울금 20 μ g/ml 처리군)의 처지방 축적 억제 효과가 있는 것을 확인하였으며, 특히, 정향:울금=8:2 혼합 추출물의 억제 효과가 탁월한 것을 확인하였다.

[0082] 실험예 4. 혼합 추출물의 지방세포 분화조절인자 발현 억제 효과

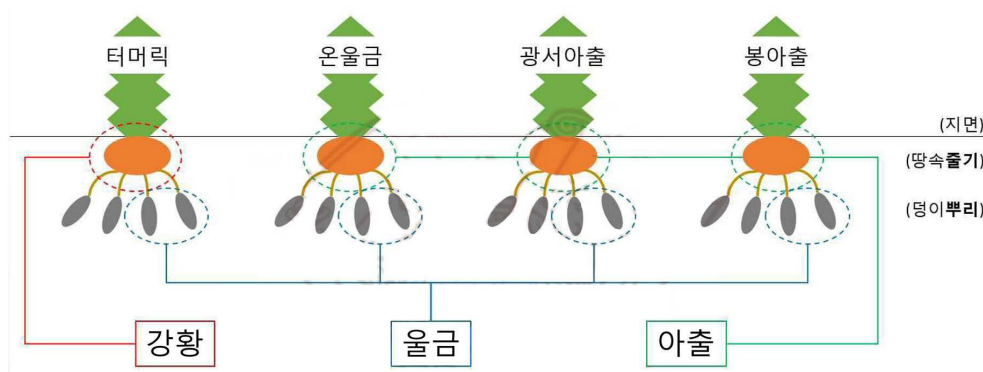
[0083] 지방전구세포에서 지방세포로 분화되는 adipogenesis 과정은 많은 종류의 adipogenic transcription factor들의 단계적인 조절에 의하여 유발되는 것으로 알려져 있으며 이러한 분화과정에서 가장 핵심적인 역할을 하는 것이 PPAR γ 와 C/EBP α 이다. 이러한 전사인자들은 호르몬과 같은 분화유도물질에 의해 촉진되어 지방전구세포를 성숙지방세포로 분화시킨다. PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현은 상호작용을 통하여 세포 내 lipid droplet 생성 및 세포의 크기 증가 등과 같은 형태적 특징과 더불어 adiponectin과 aP2 및 FAS 등과 같은 adipocytokine과

adipogenic protein 발현에 중요한 역할을 한다.

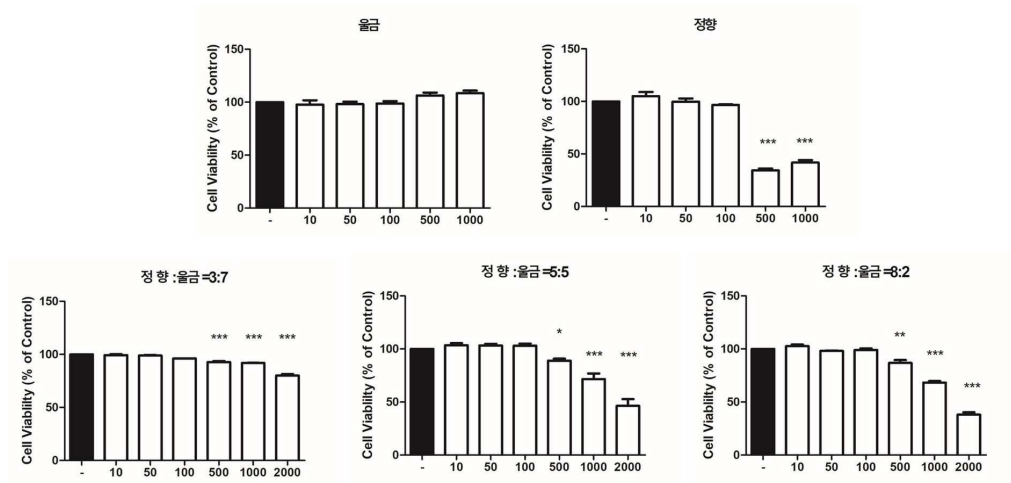
- [0084] 실시예 1 및 비교예 1의 울금 및 정향 혼합 추출물과 단독 추출물이 지방세포 분화조절인자의 단백질 발현에 미치는 효과를 확인하기 위하여, 3T3-L1 지방세포에 상기 각 추출물을 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 PPAR γ , C/EBP α 의 단백질 발현 정도를 웨스턴 블랏(Western blot) analysis를 통해 측정하였다.
- [0085] 구체적으로, 실험예 2와 동일한 방법으로 지방세포를 분화시켜 울금 및 정향 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 처리한 후, 3T3-L1 세포를 radioimmunoprecipitation assay(RIPA) buffer [50 mM Tris-HCl(pH7.5), 0.1% sodium dodecyl sulphate(SDS), 0.1% Triton X-100, 1% Nonidet P-40, 0.5% sodium deoxycholate, 150 mM NaCl, 1 mM phenylmethsulphonyl fluoride]로 용해시킨 다음, 단백질을 분리하였다. 분리된 단백질(15 μ g)을 sample buffer(62.5 mM Tris-HCl pH 6.8, 2% SDS, 20% glycerol, 10% 2-mercaptoethanol)와 함께 섞고 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켰다. 그 후에 10-12% SDS-polyacrylamide(PAGE) gel에 전기영동 한 다음 polyvinylidene difluoride(PVDF) membrane에 transfer 하였다. 5% 탈지유(skim milk)로 블락킹(blocking)한 후 여러 가지 1차 항체(PPAR γ , C/EBP α , β -actin)를 부착시켜 밤새 냉장실에서 반응시킨 다음, 1차 항체와 맞는 horseradish peroxidase (Jackson Lab.)가 부착된 2차 항체로 1시간이상 반응시키고 ECL용액(Amersham Bioscience, Piscataway, NJ, USA)을 사용하여 목적 단백질을 확인하였다. 목적 단백질 발현 측정 결과 및 발현량을 대조군(울금 또는 정향 무처리군) 대비 상대적 값으로 정량화한 결과를 도 5 및 도 6에 나타내었다.
- [0086] 그 결과, 울금 및 정향 혼합 추출물 또는 단독 추출물을 처리하였을 때 울금 단독추출물을 제외한 대부분의 추출물 처리군에서 PPAR γ 와 C/EBP α 의 단백질 발현 억제 효과가 나타났지만, 특히, 정향:울금=8:2 혼합 추출물 처리군에서 PPAR γ 와 C/EBP α 의 유전자 발현이 가장 효과적으로 억제 가능함을 확인하였다.
- [0088] 따라서, 본 발명에 따른 울금 및 정향의 혼합 추출물은 상반 관계의 약제를 사용하여도, 지방 축적 및 지방세포의 분화를 효과적으로 억제하고, 지방세포 분화조절인자인 PPAR γ 및 C/EBP α 의 발현을 효과적으로 억제하여, 시너지 효과를 일으킴을 확인하였다. 또한, 선행 연구에서 상반 관계인 울금 및 정향의 혼합에 따른 잠재적 부작용 및 완화 효과를 확인한 결과, 간 독소 인자인 알라닌아미노전달효소(alanine transaminase, AST) 및 신 독소 인자인 크레아티닌(Creatinine)의 발현을 억제하여 부작용은 나타나지 않음을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 울금 및 정향 혼합 추출물은 효과적인 비만 치료제로 이용 가능함을 확인하였다.
- [0090] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

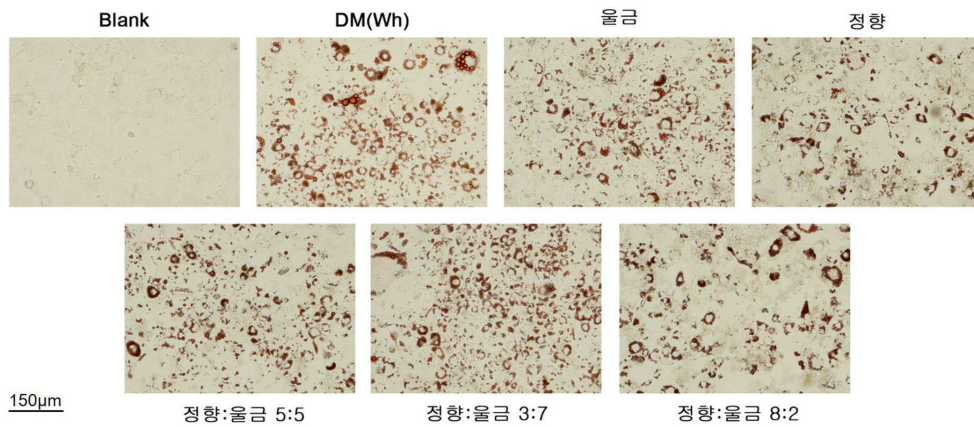
도면1



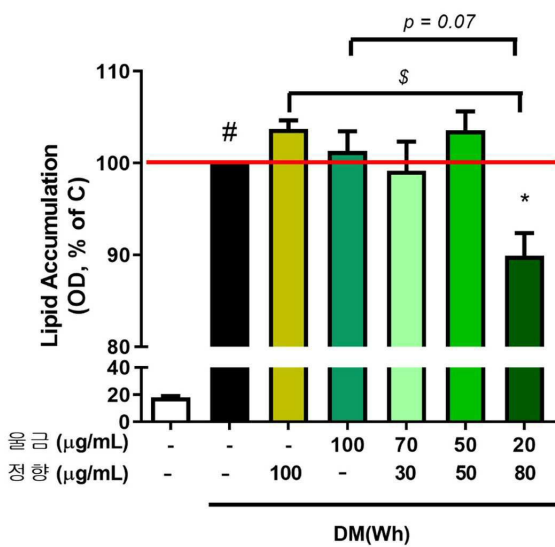
도면2



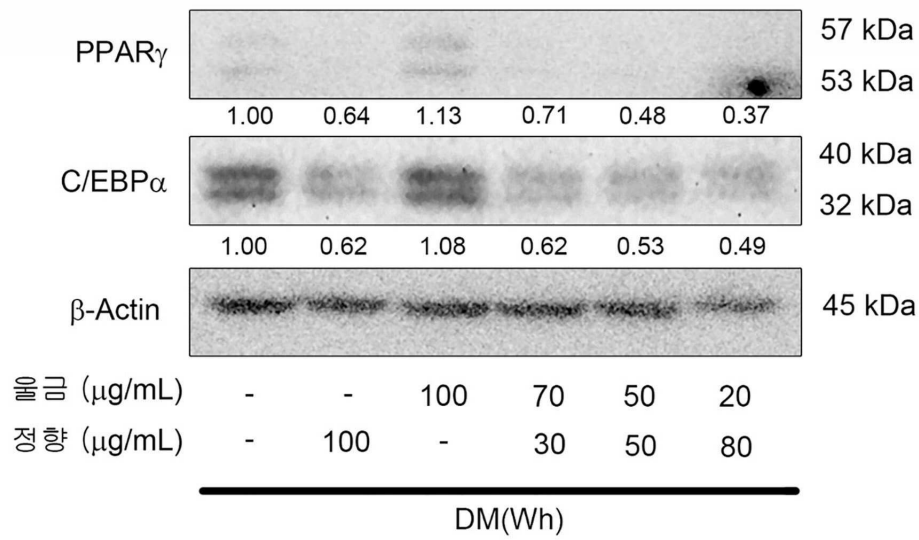
도면3



도면4



도면5



도면6

