



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년07월04일
(11) 등록번호 10-1282371
(24) 등록일자 2013년06월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/39 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0134573
(22) 출원일자 2010년12월24일
심사청구일자 2010년12월24일
(65) 공개번호 10-2011-0081760
(43) 공개일자 2011년07월14일
(30) 우선권주장
1020100001957 2010년01월08일 대한민국(KR)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020050115874 A
KR1020090088318 A

(73) 특허권자
한아름영농조합법인
전라남도 무안군 운남면 내리 379-10
재단법인 전라남도생물산업진흥재단
전라남도 나주시 동수동 산15-12
(72) 발명자
정경희
대전광역시 유성구 유성대로811번길 12, 창원빌라 #301 (장대동)
위치함
광주광역시 서구 금호동 호반아파트 2차 203동 1704호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 김미화

(54) 발명의 명칭 자색고구마 추출물 발효액을 유효성분으로 함유하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물

(57) 요약

본 발명은 자색고구마 추출물을 효모로 발효시켜 얻은 발효액을 유효성분으로 함유하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 자색고구마 추출물 발효액은 아지방세포를 이용한 항비만 실험에서 지방 세포로의 전환과 지방축적을 강하게 억제하고, 지방 세포 분화에 관련된 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현을 감소시키고, 마우스 동물모델에서 고지방식이로 인한 체중 증가 및 피하지방의 증가를 억제하고, 간조직의 무게, 간조직내 트리글리세라이드 함량을 낮추며, 혈중 글루코오스 농도를 저하시키고, 간조직내 지방합성효소의 활성을 낮추고 AMPK 활성을 증대시켜, 지방 생성 및 축적 저해와 관련된 의약이나 건강기능식품의 제조에 활용될 수 있다.

대표도 - 도18



(72) 발명자

윤수경

광주광역시 남구 백운1동 대흥백운스카이 101-206

유은혜

광주광역시 서구 화정2동 주공아파트 62-101

성혜미

광주광역시 북구 운암동 동일아파트 807호

정혜광

대전광역시 유성구 궁동

황용필

대전광역시 유성구 봉명동 640-7번지 봉명시티빌
707호

이덕한

전라남도 무안군 운남면 내리

김기명

전라남도 나주시 송월동 송월부영아파트 203동 40
9호

정경욱

전라북도 순창군 동계면 338번지

특허청구의 범위

청구항 1

자색고구마 추출물을 이사첸키아 오리엔탈리스(*Issatchenkia orientalis*) 효모를 접종하여 발효시켜 얻은 발효액을 유효성분으로 함유하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 자색고구마 추출물은 열수추출물 또는 탄소수 2 ~ 4의 저급 알코올 수용액의 추출물인 것을 특징으로 하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 열수추출물은 80 ~ 105 °C에서 0.5 ~ 24 시간 추출한 것을 특징으로 하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 자색고구마 추출물에 효모를 접종한 후 25 ~ 40 °C에서 18 ~ 78 시간 발효시키는 것을 특징으로 하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 자색고구마를 80 ~ 105 °C에서 0.5 ~ 24 시간 열수추출하고, 상기 열수추출물에 이사첸키아 오리엔탈리스(*Issatchenkia orientalis*)를 접종한 후 25 ~ 40 °C에서 18 ~ 78 시간 발효시킨 발효액을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 자색고구마는 야마카와무라사끼, 연자미, 보라미 및 신자미 중에서 선택된 어느 하나 이상의 품종의 고구마인 것을 특징으로 하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 의약 조성물인 것을 특징으로 하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물.

청구항 9

자색고구마 추출물을 이사첸키아 오리엔탈리스(*Issatchenkia orientalis*) 효모를 접종하여 발효시켜 얻은 발효액을 유효성분으로 함유하는 비만의 개선 또는 예방용 건강기능식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 자색고구마 추출물 발효액을 이용하는 지방 생성 및 축적 저해용 조성물, 또는 이를 이용한 건강기능 식품 및 의약에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 최근 식생활의 서구화에 따라 영양과다 등의 원인으로 비만이 증가하고 있는데 비만은 동맥경화증의 위험인자의 하나이고, 또한 당뇨병이나 고혈압 등과도 관련이 있어, 심각한 문제가 되고 있다. 비만은 신체에 지방이 과잉되게 축적된 상태이며, 지방이 체내에 축적되는 원인은 당질의 과잉섭취 또는 지방을 과잉섭취 함으로써 음식물 중에 함유되는 당질이 소화되어 단당이 되고 소장을 통해 체내로 흡수되며, 혈당이 상승하여 그 자극으로 분비되는 인슐린이 지방세포에 작용해서 혈액 중의 단당을 지방세포에 받아들이게 해서 지방으로 바꾸는 것이다. 또한 식품성분 중에서 가장 고칼로리인 지방은 췌장 리파아제에 의해 분해되어 소장을 통해 흡수되는 것이며, 섭취 칼로리의 과잉은 저장 칼로리를 증가하도록 작용하여, 저장 칼로리가 증가되는 결과 과잉 지방섭취에 의해 비만에 달하게 된다.

[0003] 이러한 비만을 억제하기 위해서, 비만에 달하는 경로의 일부분을 저해함으로써, 항비만 작용을 발생시키려는 생각을 바탕으로 현재 각종 항비만제에 관한 연구가 진행되고 있다. 즉, 당질 과잉섭취로 비만에 달하는 경로를 저해하는, 당질분해 소화요소 저해작용, 혈당상승 억제작용, 또는 단당흡수 억제작용에 의해, 혹은 지방 과잉섭취에 의해 비만에 달하는 경로를 저해하는, 콜산 흡착 배설작용, 콜레스테롤 지하작용, 혈중 트리글리세리드 저하작용, 또는 리파아제 저해작용에 의해 비만을 예방, 개선할 수 있다고 생각되어, 이들 작용을 가지는 의약성분의 연구가 수 없이 행해지고 있다.

[0004] 포화지방산과 콜레스테롤의 섭취량이 많은 구미제국이면서도, 프랑스 사람은 다른 구미제국의 사람들보다 심장질환 발병률이 낮으며, 이 현상을 프렌치 파라독스로 알려져 있다. 프렌치 파라독스 요인의 하나는 프랑스 사람에게서 볼 수 있는 적와인의 높은 섭취량에 의한다는 것이 제기되어 그 성분의 탐색이 활발하게 행하여졌다. 동맥경화와 밀접하게 관련하는 LDL의 산화가 적와인에 함유된 폴리페놀에 의하여 억제된다는 것이 발견되어 백와인에 비하여 적와인의 높은 폴리페놀 함량이 LDL의 산화억제와 밀접하게 관련된 것이 발견되었다. 나아가서 폴리페놀로서의 안토시아닌 그중 마루빈, 텔피니딘, 사이니딘, 페라루고니딘 등이 LDL 산화를 억제한다는 것이 발견되어 지금까지 거의 상세한 연구가 행하여지지 않은 안토시아닌의 생체 내에서의 생리기능에 많은 관심이 모아지고 있다.

[0005] 한편, 자색고구마(자미고구마; Purple-Fleshed sweet potato)는 1993년 가공용 다수성 품종 건미를 모본으로 하고 자색 색소를 함유한 야마카와무라사키를 부분으로 인공 교배하여 생산력검정시험과 지역적응시험에서 다수성이 확인되어 품종교배를 통해 지난 1998년 자미, 2000년 보라미, 2001년에 신자미 등 3가지 신품종으로 육성되었다. 이들 신품종은 야생 고구마의 고유 성분은 모두 간직하고 있으면서 크기는 일반 고구마와 비슷한 반면 수확량은 야생보다 2배 이상 많고, 고구마 고유의 당질과 섬유소를 가지고 있다는 장점을 지니고 있다. 자색고구마는 색소추출물을 다량 함유하고 있어 표피층뿐만 아니라 육질 전체가 진한 자색을 띠고 있는데, 이 기능성 색소함량이 크린베리 보다는 10 ~ 60배, 포도보다는 5 ~ 7배 높아 천연 기능성 색소 원뿐만 아니라 기능성 식품소재로서 가치가 우수하다.

[0006] 이러한 자색고구마의 주요 활성성분은 플라보노이드계의 색소인 안토시아닌으로 항산화작용 (J Agric. Food Chem. 51, pp 628-633, 2003; J Nat. Prod. 62, p 802, 1999; J Med. Food. 4 pp 211-218, 2001), 항 당뇨(J Agric Food Chem. 49, pp 1948-1951, 2001), 항암작용(Cancer Lett. in press pp 1-12, 2005) 효과 등이 있는 것으로 보고되어 있다. 또한 최근 아세트아미노펜과 같은 간 손상을 유발하는 화학물질의 대사에 관여된 간의 약물대사 효소인 시토크롬 P450의 효소들 (P450 1A1, P450 2E1)의 활성을 억제하고, 간손상을 유발시키는 화학물질의 대사체의 포합반응을 통한 체외 방출을 촉진하는 해독효소를 증가시킴으로써, 간질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다는 보고도 있다(한국공개특허 제2007-0079637호).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 자색고구마의 추출물 발효액을 이용한 지방 생성 및 축적 저해용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물은 자색고구마 추출물을 효모로 발효시켜 얻은 발효액을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 한다.
- [0009] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 자색고구마 추출물은 열수추출물 또는 탄소수 2 ~ 4의 저급 알코올 수용액의 추출물인 것을 특징으로 한다.
- [0010] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 열수추출물은 80 ~ 105 °C에서 0.5 ~ 24 시간 추출한 것을 특징으로 한다.
- [0011] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 효모는 이사첸키아 오리엔탈리스(*Issatchenkia orientalis*)인 것을 특징으로 한다.
- [0012] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 자색고구마 추출물에 효모를 접종한 후 25 ~ 40 °C에서 18 ~ 78 시간 발효시키는 것을 특징으로 한다.
- [0013] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물은 자색고구마를 80 ~ 105 °C에서 0.5 ~ 24 시간 열수추출하고, 상기 열수추출물에 이사첸키아 오리엔탈리스(*Issatchenkia orientalis*)를 접종한 후 25 ~ 40 °C에서 18 ~ 78 시간 발효시킨 발효액을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0014] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 자색고구마는 야마까와무라사끼, 연자미, 보라미 및 신자미 중에서 선택된 어느 하나 이상의 품종의 고구마인 것을 특징으로 한다.
- [0015] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 지방 생성 및 축적 저해용 조성물은 총 중량을 기준으로 발효액이 0.01 ~ 50 중량%로 함유된 것을 특징으로 한다.
- [0016] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물은 의약인 것을 특징으로 한다.
- [0017] 본 발명의 건강기능식품은 자색고구마 추출물을 효모로 발효시켜 얻은 발효액을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0018] 본 발명의 자색고구마 추출물 발효액은 아지방세포를 이용한 항비만 실험에서 지방세포로의 전환과 지방 축적을 강하게 억제하고, 지방 세포 분화에 관련된 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현을 감소시키고, 마우스 동물모델에서 고지방식으로 인한 체중 증가 및 피하지방의 증가를 억제하고, 간조직의 무게, 간조직내 트리글리세라이드 함량을 낮추며, 혈중 글루코오스 농도를 저하시키고, 간조직내 지방합성효소의 활성을 낮추고 AMPK 활성을 증대시킨다.

도면의 간단한 설명

- [0019] 도 1은 본 발명에서 분리한 YPD Large균의 18s rDNA partial sequencing 계통 분석표이다.
- 도 2는 본 발명에서 분리한 YPD Small균의 18s rDNA partial sequencing 계통 분석표이다.
- 도 3은 제조예 2에서 발효시간에 따른 발효액의 pH 변화를 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 제조예 2에서 발효시간에 따른 530 nm에서의 흡광도 변화를 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 본 발명의 실험예 2의 지방축적 억제 효과 확인시험 과정의 개략도이다.
- 도 6은 본 발명의 실시예 1, 비교예 1 및 대조군을 첨가하여 아지방세포를 지방세포로 분화시킨 후 지방세포를 오일레드-0 염색하고, 탈색시켜 500 nm에서 상대 흡광도를 비교한 그래프이다.

도 7은 본 발명의 실시예 1 및 대조군과 함께 사카로미세스 세레비지에와 다른 이사켄키아 오리엔탈리스(KCTC 17696)으로 실시예1과 동일하게 발효시킨 발효액 분말을 첨가하여 아지방세포를 지방세포로 분화시킨 후 지방세포를 오일레드-0 염색하고, 탈색시켜 500 nm에서 상대 흡광도를 비교한 그래프이다.

도 8은 아지방세포의 지방세포 분화에 관여하는 전사인자의 흐름을 나타낸 개략도이다.

도 9는 본 발명의 실시예 1 및 비교예 1의 C/EBP α의 mRNA 발현량을 비교한 그래프이다.

도 10은 본 발명의 실시예 1 및 비교예 1의 PPAR γ의 mRNA 발현량을 비교한 그래프이다.

도 11은 고농도 포도당으로 유도된 인슐린 저항성 세포주의 세포내 지질을 나일레드로 염색한 사진(좌측)과, 대조군과 인슐린 저항성 세포주의 나일레드에 의한 580 nm/ 535 nm의 비를 나타낸 그래프(우측)이다.

도 12는 β-액틴과 지방합성효소의 발현량을 인슐린 저항성 세포주의 세포분해물의 웨스턴 블랏으로 확인한 사진이다.

도 13은 β-액틴에 대한 지방합성효소의 상대 발현 정도를 나타낸 그래프(우측)이다.

도 14는 본 발명의 실험예 5의 고지방식이 마우스에서의 항비만 효과를 확인하는 실험 과정의 개략도이다.

도 15는 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 체중을 나타낸 그래프이다.

도 16은 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 간조직의 무게를 나타낸 그래프이다.

도 17은 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 희생전의 사진과 희생 후 적출한 간조직을 보여주는 사진이다.

도 18은 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 피하지방의 모습을 나타낸 사진이다.

도 19는 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 간조직내 트리글리세라이 함량을 나타낸 그래프이다.

도 20은 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 간조직내 총 콜레스테롤 함량을 나타낸 그래프이다.

도 21은 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 혈중 글루코오스 농도를 나타낸 그래프이다.

도 22는 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 지방합성효소(Fatty acid synthase; FAS) 및 β-액틴 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 결과이다.

도 23은 본 발명의 실험예 5의 각 실험군의 4주 후 마우스의 p-AMPK 및 β-액틴 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물은 자색고구마 추출물을 효모로 발효시켜 얻은 발효액을 유효성분으로 함유한다.

[0021] 본 발명에서 자색고구마는 일반 고구마에 비해 안토시아닌 함량이 높은 것으로, 특별히 한정하지는 않으나 야마까와무라사끼, 연자미, 보라미 또는 신자미가 바람직하고, 더욱 바람직하게는 야마까와무라사끼 또는 신자미가 바람직하며, 가장 바람직하게는 신자미이다.

[0022] 본 발명의 자색고구마 추출물은 효모에 의해 이용되는 기질로서 당분과 함께 안토시아닌이 함량이 높은 추출물이 바람직하다.

[0023] 본 발명의 자색고구마 추출물은 열수추출물이 바람직하다. 예를 들어, 80 ~ 105 ℃, 바람직하게는 90 ~ 100 ℃의 물에서 0.5 ~ 24 시간, 바람직하게는 1 ~ 6 시간 추출할 수 있다. 상기 추출온도 하한치 미만에서는 안토시아닌의 추출효율이 저하되고 잡균에 대한 살균 효과를 충분히 달성할 수 없고, 이로 인하여 추출시간을 길게 하면 오히려 잡균이 증식할 수 있다는 문제가 있고, 상기 추출온도 상한치를 초과하면 잡균의 살균 효율은 증대되지만 안토시아닌이 파괴되어 추출물의 색이 탁해진다. 상기 추출시간의 하한치 미만에서는 충분한 안토시아닌의 추출이 어려워 원재료의 손실과 최종산물의 수율저하라는 문제가 발생하고, 상기 추출시간을 증대하는 경우에는 더 이상 추출효율은 증대되지 않으면서 안토시아닌의 파괴를 가져올 수 있다. 자색고구마의 안토시

아닌 추출효율을 증대시키기 위하여 산을 첨가하여 물의 pH를 2 ~ 6, 바람직하게는 pH 3 ~ 5 정도의 산성화시키는 것이 바람직하다. 물의 pH를 낮추기 위하여 특별히 한정하지는 않지만 구연산, 젖산, 호박산, 사과산, 말산, 초산 등의 유기산을 사용할 수 있다.

[0024] 본 발명의 자색고구마 추출물로 탄소수 2 ~ 4의 저급 알코올 수용액에 의한 추출물이 사용될 수 있다. 예를 들어, 에탄올, 메탄올, 이소프로판올 등의 알코올 수용액, 바람직하게는 20 ~ 80 중량%의 알코올 수용액, 더욱 바람직하게는 50 ~ 70 중량%의 알코올 수용액으로 추출한다. 상기 알코올 수용액의 안토시아닌 추출 효율을 증대시키기 위해 열수추출과 마찬가지로 알코올에 산을 첨가할 수 있다. 알코올 추출물을 사용하는 경우 효모를 접종하기 전 먼저 알코올 추출물의 알코올을 기화시켜 알코올 함량을 낮춘 농축액 또는 알코올 추출물을 농축 및 건조시킨 후 물에 용해한 후 사용한다. 또한 바람직하게는 잡균의 번식을 억제하기 위하여 알코올 추출물을 80 ~ 105 °C, 바람직하게는 90 ~ 100 °C에서 0.5 ~ 24 시간, 바람직하게는 1 ~ 6 시간 살균한 후 사용한다.

[0025] 본 발명의 자색고구마 추출물의 발효를 위해 접종되는 균주는 효모, 바람직하게는 이사켄키아 오리엔탈리스 (*Issatchenkia orientalis*) 효모이다. 효모의 접종량은 1×10^7 cell/ml 효모액을 기준으로 자색고구마 추출액 100 중량부에 대하여 0.001 ~ 10 중량부, 바람직하게는 0.01 ~ 5 중량부, 더욱 바람직하게는 0.1 ~ 3 중량부 사용한다.

[0026] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 자색고구마 추출물에 효모를 접종한 후 25 ~ 40 °C, 바람직하게는 30 ~ 35 °C에서 18 ~ 78 시간, 바람직하게는 48 ~ 72 시간 발효한다.

[0027] 본 발명의 지방 생성 및 축적 저해용 조성물에서 상기 자색고구마 추출물 발효액은 총 중량을 기준으로 발효액이 0.01 ~ 50 중량%(고형분 기준)로 함유된 것을 특징으로 한다.

[0028] 본 발명의 조성물은 지방 생성 및 축적 저해용 또는 비만억제용 건강기능식품으로 다양하게 이용될 수 있다. 본 발명의 자색고구마 추출물 발효액을 유효성분으로 포함하는 건강기능식품은 각종 식품류 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 분말, 과립, 정제, 캡슐 등의 형태로 사용할 수 있다.

[0029] 본 발명의 자색고구마 추출물 발효액이 건강기능식품에 포함될 때 그 양은 건조물 또는 고형인 경우 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 음료인 경우 100 ml를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

[0030] 본 발명의 건강기능식품이 음료 형태로 제조되는 경우 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 자색고구마 추출물 발효액을 함유하는 것 외에 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등)) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 음료 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0031] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품으로 사용되는 지방 생성 및 축적 저해용 또는 비만억제용 조성물은 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, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 건강기능식품으로 사용되는 비만억제용 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0032] 본 발명의 조성물은 식용으로 사용하는 자색고구마의 추출물을 발효시켜 제조된 것으로 독성 및 부작용이 거의 없이 예방 또는 치료 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있다.

[0033] 본 발명은 자색고구마 추출물 발효액을 유효성분으로 포함하는 지방 생성 및 축적 저해용 또는 비만억제용 의약을 제공한다.

[0034] 본 발명의 의약은, 의약 총 중량에 대하여 상기 자색고구마 추출물 발효액을 0.1 내지 50% 중량(고형분 기준)으로 포함한다. 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.

- [0035] 본 발명의 의약은 의약품 또는 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0036] 본 발명에 따른 의약은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 의약에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 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 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 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, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 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.
- [0037] 본 발명의 의약의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 자색고구마 추출물 발효액 고형분을 기준으로 1일 0.01 mg/kg 내지 10 g/kg으로, 바람직하게는 1 mg/kg 내지 1 g/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명의 의약은 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.
- [0039] 이하, 본 발명을 실시예, 비교예, 실험예 및 제제예를 통하여 보다 상세히 설명한다. 하기 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 예시적인 것일 뿐 이에 의해 본 발명의 기술적 사상의 범위가 한정되는 것은 아니다.
- [0040] **비교예 1: 자색고구마 물추출물의 제조**
- [0041] 수확 후 1개월 이내의 신자미 품종의 자색고구마를 1 cm 두께로 절단한 후, 자색고구마 중량 3배의 물로 90 ℃, 60분간 추출하고, 추출물을 25 ℃로 냉각시킨 후 여과하여 여액과 잔사를 분리하여 얻어진 추출 여액은 냉각흡입기가 장착된 진공농축기를 사용하여 35℃에서 감압 농축하여 농축물을 얻고, 농축물을 냉동진공건조기를 사용하여 자색고구마 물추출물 분말을 제조하였다.
- [0042] **제조예 1: 고구마 발효음료로부터 발효균주의 분리**
- [0043] 고구마 발효음료 생산 혼합종균으로부터 발효 주원인균을 분리하였다. YPD agar에서 25℃, 24시간 호기배양시킨 배지에서 두 종류의 콜로니(YPD Large 및 YPD Small)를 분리하였고, 한국미생물보존센터(KCCM)에 동정을 의뢰한 결과, 이들 YPD Large균과 Small균은 동일 균주(*Issatchenkia orientalis*)로 확인되었다(도 1 및 도 2).
- [0044] **제조예 2: 자색고구마 물추출물 발효액의 제조**
- [0045] 수확 후 1개월 이내의 신자미 품종의 자색고구마를 1 cm 두께로 절단한 후, 자색고구마 중량 3배의 물로 90 ℃,

60분간 추출하고, 추출물을 25 °C로 냉각시킨 후 1×10^7 cell/ml 효모(이사켄키아 오리엔탈리스)를 1 중량%로 접종한 후, 30 °C에서 24시간 내지 96시간 발효시켰다. 발효액은 여과하여 여액과 잔사를 분리하여 얻어진 발효 여액은 냉각흡입기가 장착된 진공농축기를 사용하여 35°C에서 감압 농축하여 농축물을 얻고, 농축물을 냉동 진공건조기를 사용하여 자색고구마 물추출물 발효액 분말을 제조하였다.

[0046] 발효시간에 따른 발효액의 pH 변화를 도 3에 나타내었고, 안소시아닌 색소를 검출하는 530 nm에서의 흡광도 변화를 도 4에 나타내었다.

[0047] 발효시간 0시간(비교예 1과 동일)에 비해 24시간 이상 발효시켰을 때 pH가 급격히 감소되고 흡광도가 증가됨을 확인할 수 있었고, 24시간 내지 72시간에서는 큰 변화가 없다가, 96시간 발효시 pH가 더욱 낮아지면서 흡광도가 더욱 증가하였다. 예비실험결과 24시간 내지 72시간 발효시킨 발효액의 지방축적 억제효과가 뛰어난 것으로 나타나 이후의 실험은 72시간 발효시킨 것을 실시예 1로 하여 비교예 1과 대비하였다.

[0048] **실험예 1: 일반성분 분석**

[0049] 비교예 1 및 실시예 1에서 농축 및 건조 전의 추출 여액과 발효 여액을 시료로 식품공전법에 따라 총질소, 조지방, 수분, 회분 함량을 측정하고 탄수화물 함량을 계산하여 표 1에 나타내었다.

표 1

구분	총질소 (중량%)	조지방 (중량%)	수분 (중량%)	회분 (중량%)	탄수화물 (중량%)
비교예1	0.03	0.09	95.1	0.23	4.39
실시예1	0.03	0.05	97.2	0.18	2.39

[0051] 실시예1의 발효 여액은 비교예 1의 추출 여액에 비해 회분, 지방, 그리고 탄수화물의 함량이 감소하는 것을 확인하였는데 이는 발효에 사용된 효모가 자색고구마 물추출물에 함유된 무기질, 지방, 당 등을 영양원으로 사용하여 이들 성분을 분해한 것으로 보인다.

[0052] **실험예 2: 지방축적 억제 효과**

[0053] 마우스 배아에서 유래된 3T3-L1 아지방 세포는 항비만 효과 확인을 위한 생체 외 실험에서 가장 많이 이용되고 있는 세포로서 4.5g/L, 10% 우태혈청, 페니실린 및 스트렙토마이신(100 μ g/ μ l penicillin and 100 μ g/ μ l streptomycin in 0.85% saline), 1% 100 μ M 소듐 파루베이트를 함유한 DMEM으로 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 3T3-L1 아지방 세포의 지방세포로의 유도는 100% 합류(confluent)시키고서, 이틀 후 100 μ M 3-이소부틸-1-메틸잔신, 250 μ M 텍사메타손, 170 μ M 인슐린을 함유한 MDI 배지로 유도하였으며, 3일 후에 MDI 배지는 10% 우태혈청과 170 nM 인슐린을 함유한 DMEM배지로 각 실험 날짜까지 이틀에 한번 교환하였다. 이상의 실험 과정의 개략도는 도 5에 나타내었다.

[0054] 비교예 1와 실시예 1의 시료 및 음성대조군으로 증류수를 각각 40 μ g/ml 씩 MDI 배지에 첨가하여(0일째), 3T3-L1 아지방 세포의 지방 세포로의 분화를 유도하였고 7일 째 되는 날 오일레드-O 용액으로 세포의 지방을 염색시키고 100% 이소프로판올로 탈색시켜 500 nm에서 흡광도를 측정한 결과를 음성대조군에 대한 상대흡광도로 도 6에 나타내었다.

[0055] 본원발명의 실시예 1은 음성대조군이나 비교예 1에 비하여 20% 정도의 지방축적을 저해하였다.

[0056] 한편, 본 발명에서 분리한 균주의 효과를 다른 효모와 비교하기 위하여 상업용 사카로미세스 세레비지에와 이사켄키아 오리엔탈리스(KCTC 17696)를 이용하여 제조예 1과 동일한 방식으로 자색고구마 물추출물 발효액 분말을 제조하여 지방축적 억제 효과를 비교하여 도 7에 나타내었다. 이사켄키아 오리엔탈리스를 사용하여 발효시킨 발효추출물의 지방축적 억제 효능이 가장 좋았으며, 같은 효모이지만 사카로마이세스 세레비지에를 사용하여 발효시킨 추출물은 지방축적 억제효과가 크지 않음을 확인하였다.

[0057] **실험예 3: C/EBP α 및 PPAR γ 발현 억제 효과**

[0058] 3T3-L1 아지방세포의 지방세포로의 분화에 있어서 많은 전사인자들이 필요하며 분화됨에 따라 지방세포로부터 여러 지방세포 특이 유전자들이 발현된다(도 8). 시료의 농도에 따른 C/EBP α의 mRNA 발현량을 리얼타임 RT-PCR을 통해 분석하여 그 결과를 표 2 및 도 9에 나타내었다.

표 2

[0059]

시료	C/EBP의 mRNA 발현양			
	20(μg/ml)	50(μg/ml)	100(μg/ml)	150(μg/ml)
대조군	100	100	100	100
비교예1	417	131	217	88
실시예1	8	12	5	14

[0060] C/EBP α는 PPAR γ와 결합하여 adipsin, aP2, SCD-1, GLUT4, PEPCK, Leptin, CD36, insulin receptor 등과 같은 지방세포 특이 유전자들을 활성화시키는 중요한 전사인자로서, 비교예 1의 물추출물은 C/EBP α의 mRNA 발현량을 오히려 증가시키고 특히 20 μg/ml에서는 4배이상 증가됨을 알 수 있었다. 그러나 본 발명의 발효액은 농도와 관계없이 모두 C/EBP α의 mRNA 발현량을 크게 감소시킴을 확인하였다.

[0061] 또한, 시료의 농도에 따른 PPAR γ의 mRNA 발현량을 리얼타임 RT-PCR을 통해 분석하여 그 결과를 표 3 및 도 10에 나타내었다.

표 3

[0062]

시료	PPAR의 mRNA 발현양			
	20(μg/ml)	50(μg/ml)	100(μg/ml)	150(μg/ml)
대조군	100	100	100	100
비교예1	93	62	59	19
실시예1	59	45	38	17

[0063] 기존의 보고에 의하면 3T3-L1이 지방세포로 분화가 유도되면 PPAR γ는 분화되기 전보다 mRNA 발현량이 10배 이상 증가한다고 한다. 도 10에서 보여주는 바와 같이 비교예 1과 실시예 1의 시료는 모두 농도 의존적으로 PPAR γ의 mRNA 발현량을 감소시켰고, 그 발현양은 실시예 1에서 현저히 억제됨을 확인할 수 있었고, 특히 낮은 농도에서 그 차이가 더욱 크게 나타났다.

[0064] **실험예 4: 지방합성효소 발현 억제 효과**

[0065] 인체 간세포인 HepG2 세포에 고농도의 포도당 30 mM을 24시간 이상 처리하여 인슐린 저항성 세포주를 만들어 사용하였으며, 세포주의 확립은 세포주에서 지질의 생성량을 나일레드 분석법을 이용하여 확인하였다. 도 11에서 세포내 지질은 나일레드로 염색되어 나타내어지고, 나일레드에 의한 580 nm/ 535 nm의 비는 지방의 축적을 나타낸 것으로 인슐린 저항성 세포주의 지방축적을 확인할 수 있었다.

[0066] 인슐린 저항성 세포주에서 지방합성효소(Fatty acid synthase; FAS) 발현에 대한 영향을 측정하기 위해서 세포 분해물(cell lysate) 내의 지방합성효소와 β-액틴 발현량을 웨스턴 블랏으로 확인하고(도 12), β-액틴에 대한 지방합성효소의 상대 발현정도를 표 4 및 도 13에 나타내었다.

표 4

[0067]

구분	FAS의 발현 정도농도		
	0(μg/ml)	50(μg/ml)	400(μg/ml)
대조군	0.95	0.95	0.95
비교예1	-	0.94	0.90
실시예1	-	0.80	0.65

- [0068] 비교예1에 비해 실시예1에서 지방합성효소의 상대 발현정도가 감소함을 확인하였다.
- [0069] **실험예 5: 고지방식이 마우스에서의 항비만 효과**
- [0070] 4 주령의 수컷 C57BL/6J mice에 고지방식을 4 주간 투여한 후, 몸무게를 측정하여 몸무게가 증가한 마우스를 선별하여, 선별된 마우스를 4 그룹, 즉 음성대조군: 일반식이(NA 또는 control), 양성 대조군: 고지방식이(HFD), 고지방식이에 실시예 1의 자색고구마 물추출물 발효액 50 mg/kg 첨가한 실험군(HFD+FPSP 50), 고지방식이에 실시예 1의 자색고구마 물추출물 발효액 200 mg/kg 첨가한 실험군(HFD+FPSP 200)으로 나누어 4주 동안 구강 투여하고, 각 실험군 당 5마리를 사용하였다. 도 14에 실험 과정의 개략도를 나타내었다.
- [0071] 마우스의 체중의 변화를 살펴본 결과, 고지방식이에 의해 체중이 현저히 증가되었으나, 자색고구마 물추출물 발효액을 50 mg/kg 첨가한 경우 체중이 감소하고, 200 mg/kg 첨가한 경우 더욱 현저히 감소함을 확인할 수 있었다(도 15).
- [0072] 마우스의 간조직의 무게의 변화 여부를 살펴본 결과, 자색고구마 물추출물 발효액을 50 mg/kg 첨가한 경우 간조직의 무게가 감소하고, 200 mg/kg 첨가한 경우 더욱 현저히 감소함을 확인할 수 있었다(도 16). 마우스의 희생전의 사진과 희생 후 적출한 간조직의 사진을 도 17에 나타내었다.
- [0073] 마우스의 피하지방의 축적 정도를 살펴본 결과, 고지방식이에 의해 피하지방이 현저히 증가하였음을 확인할 수 있고, 자색고구마 물추출물 발효액을 200 mg/kg 첨가한 경우 피하지방의 양이 현저히 감소했음을 확인할 수 있었다(도 18).
- [0074] 마우스의 간조직내 트리글리세라이드 함량을 살펴본 결과, 고지방식이에 의해 간조직내 트리글리세라이드 함량이 현저히 증가하였다가, 자색고구마 물추출물 발효액을 200 mg/kg 첨가한 경우 일반식이와 같은 수준으로 현저히 감소했음을 확인할 수 있었다(도 19).
- [0075] 마우스의 간조직내 총 콜레스테롤 함량을 살펴본 결과, 고지방식이에 의해 간조직내 총 콜레스테롤 함량이 현저히 증가하였다가, 자색고구마 물추출물 발효액을 200 mg/kg 첨가한 경우 현저히 감소했음을 확인할 수 있었다(도 20).
- [0076] 마우스의 혈중 글루코오스 농도를 살펴본 결과, 고지방식이에 의해 혈중 글루코오스 농도가 현저히 증가하였다가, 자색고구마 물추출물 발효액을 50 mg/kg 및 200 mg/kg 첨가한 경우 혈중 글루코오스 농도가 현저히 감소했음을 확인할 수 있었다(도 21).
- [0077] 고지방식이 마우스 동물모델에서 간조직의 지방합성효소(Fatty acid synthase; FAS) 활성 억제 여부 및 AMPK 단백질 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 결과, 자색고구마 물추출물 발효액을 200 mg/kg 첨가한 경우 β -액틴 발현량에 대한 FAS의 상대 발현량이 현저히 감소했음을 확인할 수 있었고(도 22), β -액틴 발현량에 대한 p-AMPK의 상대 발현량이 현저히 증가했음을 확인할 수 있었다(도 23).
- [0078] 하기에 본 발명의 자색고구마 추출물 발효액을 함유하는 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.
- [0079] **제제예 1. 산제의 제조**(단위: 중량%)
- | | | |
|--------|----------------------|------|
| [0080] | 실시예 1의 자색고구마 추출물 발효액 | 66.0 |
| [0081] | 유당 | 34.0 |
- [0082] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.
- [0083] **제제예 2. 정제의 제조**(단위: 중량%)
- | | | |
|--------|----------------------|------|
| [0084] | 실시예 1의 자색고구마 추출물 발효액 | 33.0 |
| [0085] | 유당 | 33.0 |
| [0086] | 옥수수전분 | 33.3 |

- [0087] 스테아린산 마그네슘 0.7
- [0088] 상기의 성분을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0089] **제제예 3. 선식의 제조**(단위: 중량%)

[0090] 현미 40%, 보리 30%, 율무 20%, 알파미분 10%를 배제한 후 분쇄기로 입도 110메쉬의 곡물류 분말을 만든다. 검정콩 40%, 검정깨 30%, 들깨 30%를 배제한 후 분쇄기로 입도 110메쉬의 종실류 분말을 만든다. 상기 곡물류 75%, 종실류 20% 및 실시예 1의 자색고구마 추출물 발효액 분말 5%를 배합후 과립화하여 선식을 제조한다.

[0091] **제제예 4. 츄잉검의 제조**(단위: 중량%)

[0092] 껌 베이스 20%, 설탕 76%, 향료 1.5% 및 물 2%와 실시예 1의 자색고구마 추출물 발효액 분말 0.5%를 배합하여 통상의 방법으로 츄잉검을 제조한다.

[0093] **제제예 5. 음료의 제조**(단위: 중량%)

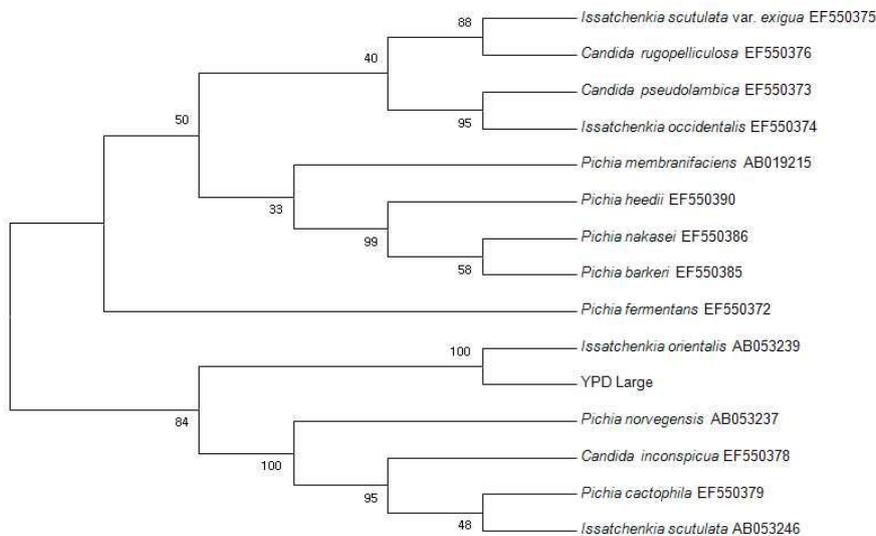
[0094] 꿀 5중량%, 과당 3%, 염산리보플라빈나트륨 0.0001%, 엽산피리독신 0.0001%, 및 물 91.9998%와 실시예 1의 자색고구마 추출물 발효액 1%를 배합하여 통상의 방법으로 건강 음료를 제조한다.

산업상 이용가능성

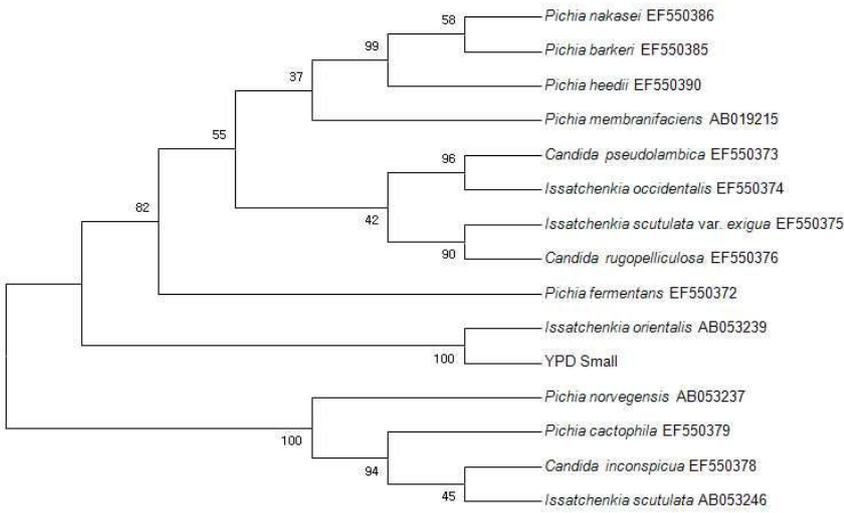
[0095] 본 발명의 자색고구마 추출물 발효액은 지방세포의 형성 및 지방 축적을 억제할 수 있는 활성성분을 포함하고 있으므로 향후 체중감소, 비만방지, 체지방감소, 혈중 지방감소 등에 효능이 있는 건강기능식품 또는 의약으로 사용이 가능할 것이다.

도면

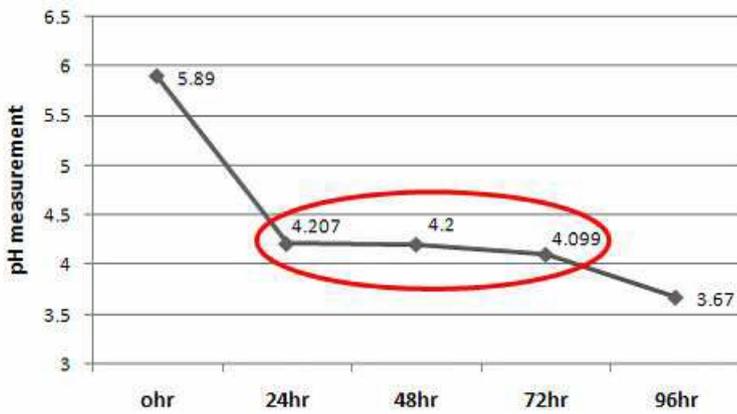
도면1



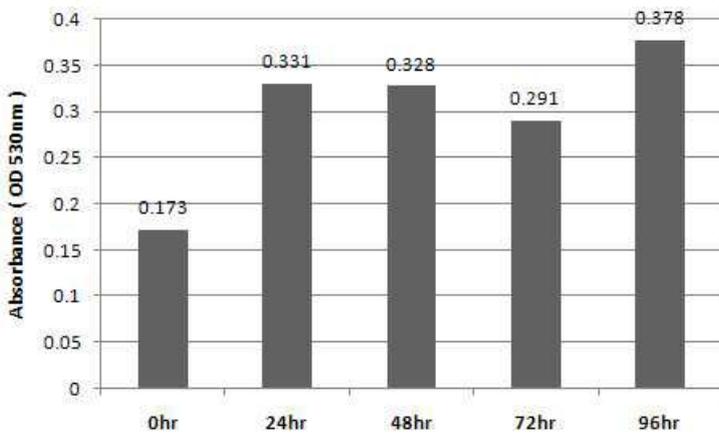
도면2



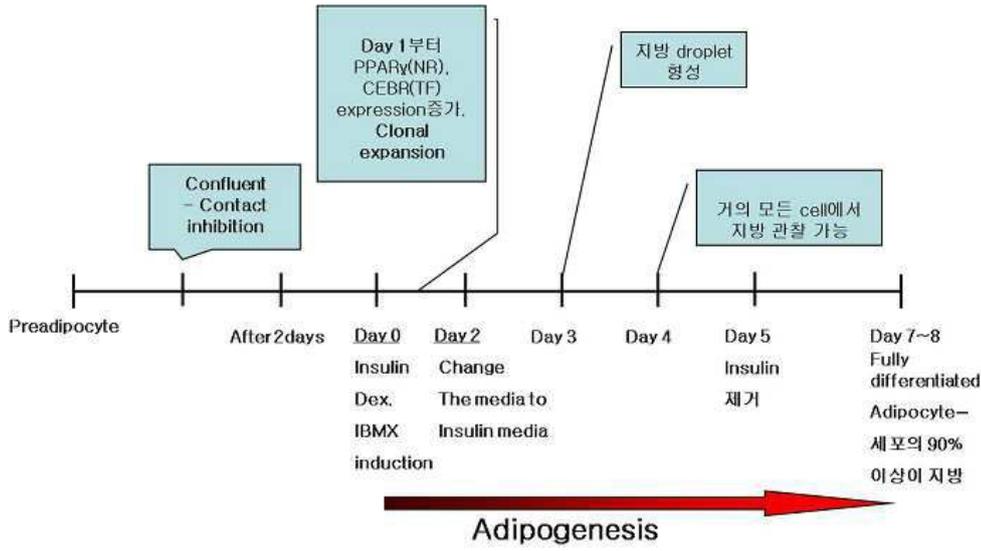
도면3



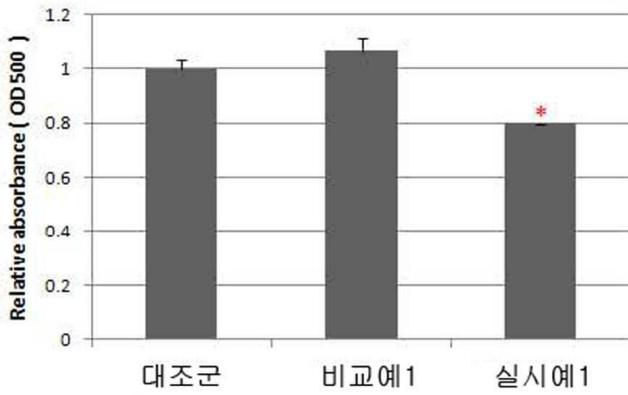
도면4



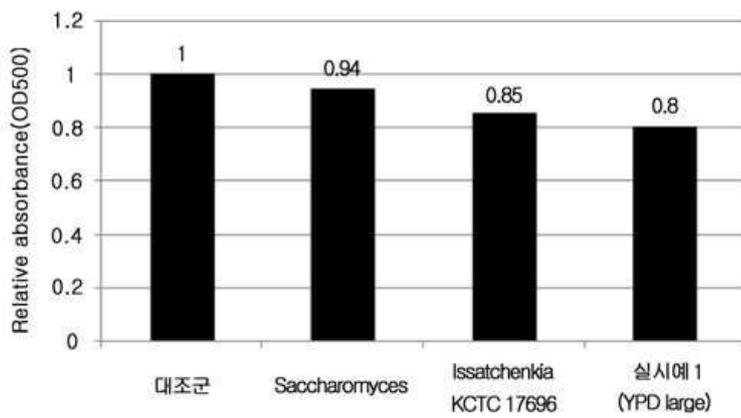
도면5



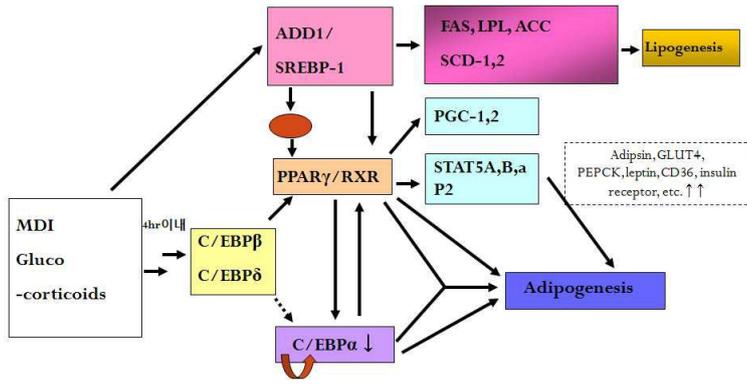
도면6



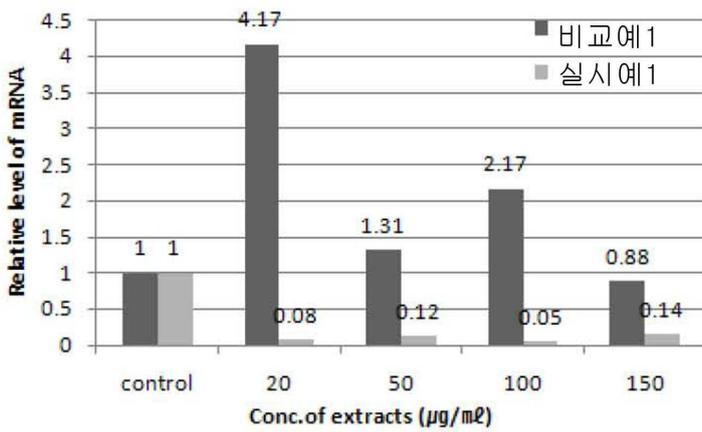
도면7



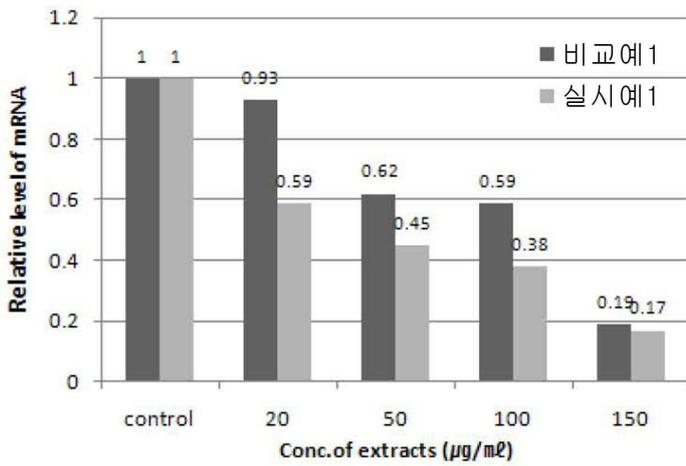
도면8



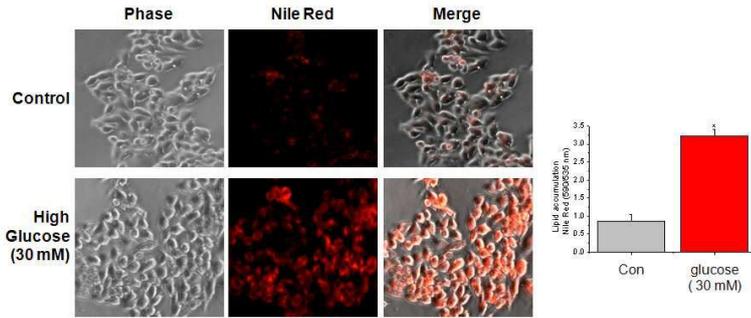
도면9



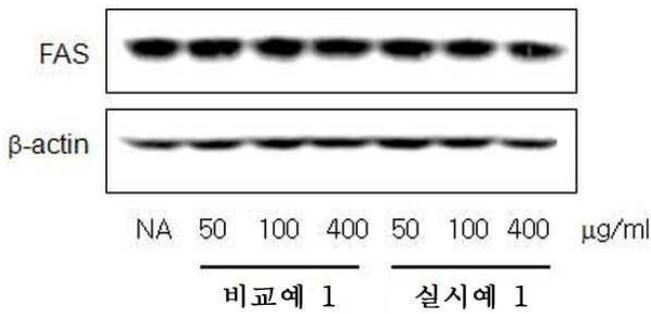
도면10



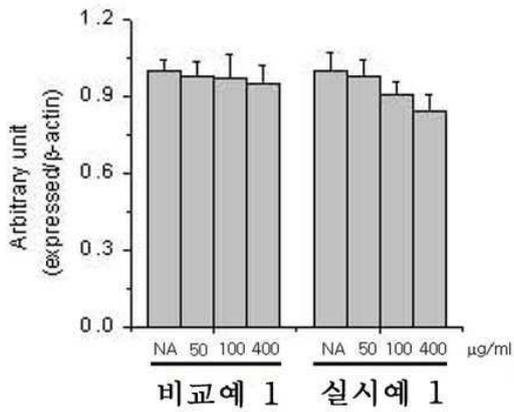
도면11



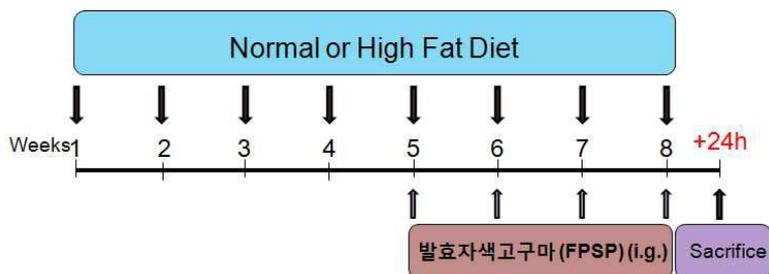
도면12



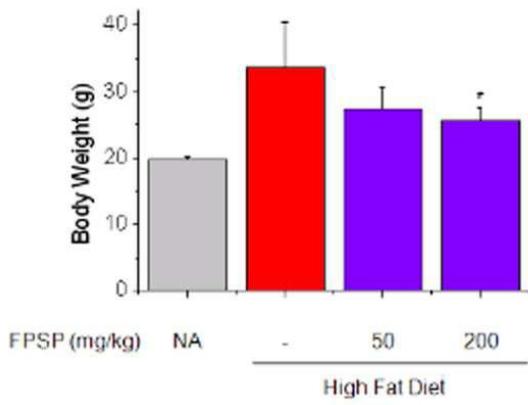
도면13



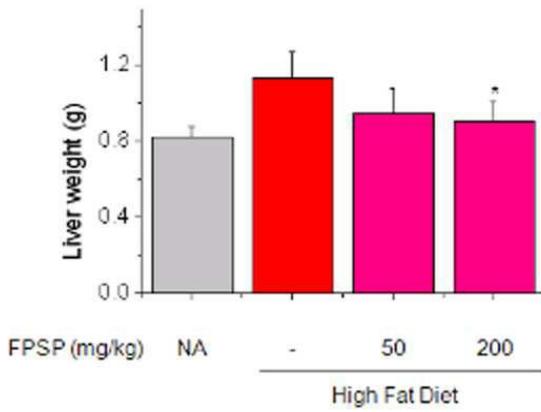
도면14



도면15



도면16



도면17



Control HFD HFD+FPSP 200

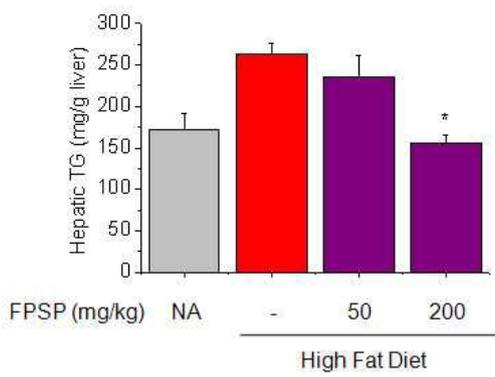


Control HFD HFD+FPSP 200

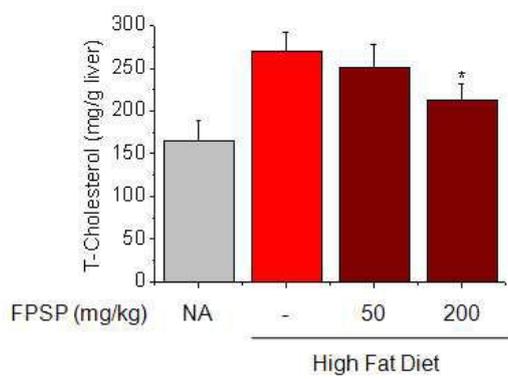
도면18



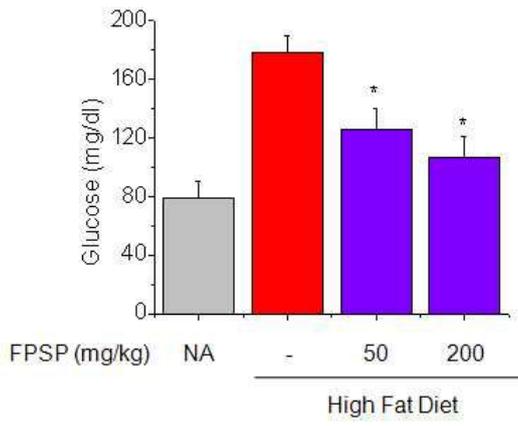
도면19



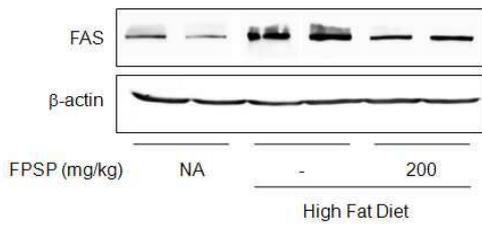
도면20



도면21



도면22



도면23

