



등록특허 10-2600785



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년11월10일

(11) 등록번호 10-2600785

(24) 등록일자 2023년11월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/192 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)

A61P 3/00 (2006.01) A61P 5/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2023.05)

A23L 33/10 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2021-0012176

(22) 출원일자 2021년01월28일

심사청구일자 2021년01월28일

(65) 공개번호 10-2022-0109007

(43) 공개일자 2022년08월04일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020140114801 A*

KR1020180081222 A*

KR1020200074985 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

김기우

서울특별시 서대문구 연세로 50-1, 연세대학교 치과대학 605호(신촌동)

도안 반 칸

서울특별시 서대문구 연세로 50-1, 연세대학교 치과대학 605호(신촌동)

양동주

서울특별시 서대문구 연세로 50-1, 연세대학교 치과대학 605호(신촌동)

(74) 대리인

파도특허법인유한회사, 특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 1 항

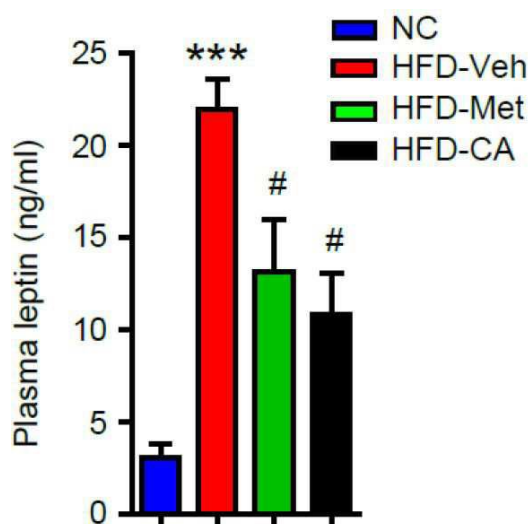
심사관 : 이에리

(54) 발명의 명칭 폐놀산 유도체를 유효성분으로 포함하는 식욕 억제용 조성물

(57) 요약

본 발명은 P-쿠마린산(para-coumaric acid) 또는 이의 유도체를 유효성분으로 포함하는 식욕 과다증(bulimia)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 식욕 억제용 기능성 식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 중추신경계에서의 AMPK 활성 억제를 통해 현저한 식욕 저하를 유도함으로써, 말초 조직에서의 지질대사 촉진과 달리 섭식 자체를 감소시키는 근원적인 대사질환 치료제로 이용될 수 있다. 본 발명은 또한 천연유래 화합물로서 장기 투여 시에도 부작용이 적어 만성적 대사질환의 효율적인 치료제 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3a



(52) CPC특허분류

A61P 3/00 (2018.01)

A61P 5/02 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711119481
과제번호	2020M3E5E2038221
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	신약분야원천기술개발(R&D)
연구과제명	대사질환 타겟 새로운 미토콘드리아 펩타이드 제제개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2020.07.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

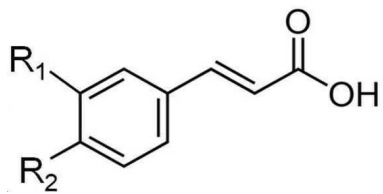
청구항 5

삭제

청구항 6

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 식욕 억제 용 기능성 식품 조성물:

화학식 1



상기 화학식 1에서, R₁은 수소이고 R₂는 하이드록시이다.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 천연 유래 시나믹 페놀산 유도체, 구체적으로는 P-쿠마린산(para-coumaric acid)을 유효성분으로 포함하는 식욕 억제제 또는 식욕 과다증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] AMP-활성화된 단백질 키나아제 (AMPK)는 전신의 에너지 균형을 조절하는 데에 중요한 역할을 하는 세포 에너지 센서이다[1]. AMPK의 활성화는 몇몇 기작에 의해 매개되며, 촉매성(catalytic) α -서브유닛의 Thr172 잔기 인산화가 필요하다[1]. 간, 근육 및 지방 조직과 같은 말초성 대사 조직에서의 AMPK 활성화가 세포 대사를 동화 과정에서 이화과정으로 전환시킴으로 글루코스 및 지질 대사와 인슐린 민감성을 개선함은 잘 알려져 있다[1, 2]. 그러나, 중추신경계에서 시상하부의 AMPK 활성화는 섭식과 체중 증가를 야기하는 반면 시상하부의 AMPK 활성 억제제는 식욕 부진, 체중 감소 및 글루코스 생성 감소로 이어진다[3-5]. 시상하부에서의 AMPK 활성 조절은 렵틴이 음식 섭취와 전신 에너지 대사에 미치는 영향을 매개한다[3, 6]. 대사 활성화에 대한 AMPK의 다각적인 작용으로 인해 이는 비만과 대사 질환 치료의 유망한 타겟이 되어 왔다[7-9].

[0004] AMPK 활성화는 메트포르민 및 몇몇 천연 식물 성분과 같은 임상적 치료제에 의해 조절될 수 있다[10]. 이들 천연 화합물은 구조가 다양함에도 불구하고 대부분 폴리페놀로 분류될 수 있으며, 식물에 풍부하게 존재하여 항산화, 항염증, 항박테리아, 항당뇨 및 항증식 활성화와 같은 다양한 생물학적 활성을 가진다[10, 11]. 천연 폴리페놀 중, 레스베라트롤 및 몇몇 플라보노이드에 대해 AMPK 경로 활성화 능력 및 대사개선 효과가 연구되었으나[12], 비-플라보노이드 폴리페놀인 페놀산의 AMPK 활성화 기작과 대사 작용에 대해서는 거의 연구된 바가 없다.

[0006] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 1. Seon-A Yoon et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 432:553-557 (2003)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명자들은 비만, 당뇨, 이상지방혈증, 지방간 등의 다양한 대사질환에 대한 우수한 치료 활성을 가지면서 장기 투여 시에도 부작용이 적어 만성 질환의 치료에 적합한 효율적인 천연유래 치료제를 개발하기 위해 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 하기 화학식 1로 표시되는 시나믹 페놀산(cinnamic phenolic acid) 유도체 화합물이 중추신경계에서 AMPK(AMP-activated protein kinase)의 활성을 억제함으로써 현저한 식욕 저하를 통한 섭식 감소를 유도한다는 사실을 발견함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0010] 따라서 본 발명의 목적은 식욕 과다증(bulimia)의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 식욕 억제용 기능성 식품 조성물을 제공하는 데 있다.

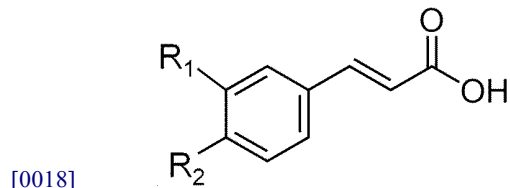
[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 시상하부의 AMPK(AMP-activated protein kinase) 활성 억제용 기능성 식품 조성물을 하는 데 있다.

[0014] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0016] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 식욕 과다증(bulimia)의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다:

[0017] 화학식 1



[0019] 상기 화학식 1에서, R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소, 하이드록시 및 C₁-C₂ 알콕시로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0020] 본 발명자들은 비만, 당뇨, 이상지방혈증, 지방간 등의 다양한 대사질환에 대한 우수한 치료 활성을 가지면서 장기 투여 시에도 부작용이 적어 만성 질환의 치료에 적합한 효율적인 천연유래 치료제를 개발하기 위해 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 상기 화학식 1로 표시되는 시나믹 페놀산(cinnamic phenolic acid) 유도체 화합물이 중추신경계에서 AMPK(AMP-activated protein kinase)의 활성을 억제함으로써 현저한 식욕 저하를 통한 섭식 감소를 유도한다는 사실을 발견하였다.

[0021] 본 명세서에서 용어 “식욕 과다증(bulimia)”은 섭식장애(eating disorder)의 하나로써 중추신경계 이상에 의해 섭식에 대한 통제력을 상실하고 과도한 음식 섭취가 장기간 지속되는 질환을 의미한다. 본 발명자들은 지금까지 말초기관에서 AMPK를 활성화한다고 알려진 P-쿠마린산이 시상하부에서는 오히려 AMPK의 활성을 억제함으로써 이미 섭취된 지질 및 당의 말초성 대사를 개선하는 종래 알려진 기능 외에도 식욕 저하를 통해 음식의 섭취 자체를 현저히 감소시킨다는 사실을 새로이 규명하였다. 따라서, 본 발명의 조성물은 정상적인 당대사 및 지질대사를 보이면서도 중추신경계 이상에 의해 통제되지 않은 과도한 섭식이 지속되는 신경성 식욕 과다(bulimia nervosa) 및 이로 인한 비만 등의 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

[0022] 이에, 본 명세서의 용어 “식욕 과다증의 예방 또는 치료용 조성물”은 “식욕 억제제(Anorexiant)”와 동일한 의미를 가진다.

[0023] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물로 예방 또는 치료될 수 있는 식욕 과다증은 다식증(polyphagia), 허기증(excessive hunger) 및 고렙틴혈증(hyperleptinemia)으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0025] 본 명세서에서 용어 “예방”은 질환 또는 질병을 보유하고 있다고 진단된 적은 없으나, 이러한 질환 또는 질병에 걸릴 가능성이 있는 대상체에서 질환 또는 질병의 발생을 억제하는 것을 의미한다.

[0026] 본 명세서에서 용어 “치료”는 (a) 질환, 질병 또는 증상의 발전의 억제; (b) 질환, 질병 또는 증상의 경감; 또는 (c) 질환, 질병 또는 증상을 제거하는 것을 의미한다. 본 발명의 조성물을 대상체에 투여하면 시상하부의 AMPK의 활성을 억제하고 렙틴 신호를 강화하면서, 식욕억제 신경 펩타이드인 Pomc의 발현을 증진시키고 식욕증진 신경 펩타이드인 AgRP의 발현을 억제함으로써, 이상 식욕을 직·간접적인 원인으로 하는 질환의 발전을 억제하거나, 이를 제거하거나 또는 경감시키는 역할을 한다. 따라서, 본 발명의 조성물은 그 자체로 식욕 과다증의 치료의 조성물이 될 수도 있고, 혹은 다른 약리성분과 함께 투여되어 식욕 과다증에 대한 치료 보조제로 적용될 수도 있다. 이에, 본 명세서에서 용어 “치료” 또는 “치료제”는 “치료 보조” 또는 “치료 보조제”의 의미를 포함한다.

[0027] 본 명세서에서 용어 “투여” 또는 “투여하다”는 본 발명의 조성물의 치료적 유효량을 대상체에 직접적으로 투여함으로써 대상체의 체내에서 동일한 양이 형성되도록 하는 것을 말한다.

[0028] 본 발명에서 용어 “치료적 유효량”은 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하고자 하는 개체에게 조성물 내의 약리성분이 치료적 또는 예방적 효과를 제공하기에 충분한 정도로 함유된 조성물의 함량을 의미하며, 이에 “예방적 유효량”을 포함하는 의미이다.

[0029] 본 명세서에서 용어 “대상체”는 제한없이 인간, 마우스, 래트, 기니아 피그, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 원숭이, 침팬지, 비비 또는 붉은털 원숭이를 포함한다. 구체적으로는, 본 발명의 대상체는 인간이다.

[0030] 본 명세서에서 용어 “약제학적으로 허용되는 염”은 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜

산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 트리플루로초산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있다.

[0031] 본 명세서에서 용어 “알킬”은 직쇄 또는 분쇄의 포화 탄화수소기를 의미하며, 예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 등을 포함한다. C_1-C_3 알킬은 탄소수 1 내지 3의 알킬 유닛을 가지는 알킬기를 의미하며, C_1-C_3 알킬이 치환된 경우 치환체의 탄소수는 포함되지 않은 것이다.

[0032] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 화학식 1의 R_1 및 R_2 는 각각 수소와 하이드록시이다. R_1 및 R_2 가 각각 수소 및 하이드록시인 화학식 1 화합물은 P-쿠마린산(para-coumaric acid, $C_9H_8O_3$, (E)-3-(4-하이드록시페닐-2-포르페노익 애시드)이다. P-쿠마린산은 다양한 식물에서 발견되는 천연 페놀산 화합물로서, 항산화, 항염증 및 항암 활성을 가지고 간과 골격근 등에서 AMPK를 활성화함으로써 지질 축적을 저해한다는 사실이 알려졌으나, 이러한 말초 기관에서와 달리 시상하부 등의 중추신경계에서는 오히려 AMPK의 활성을 억제한다는 사실이 본 발명자들에 의해 최초로 규명되었다.

[0034] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 시상하부의 AMPK(AMP-activated protein kinase)의 활성을 억제한다.

[0035] 본 명세서에서 용어 “활성의 억제”는 목적 단백질의 활성 또는 발현의 저하를 야기하는 것을 의미하며, 이에 의해 목적 단백질의 활성 또는 발현이 탐지 불가능해지거나 무의미한 수준으로 존재하게 되는 경우 뿐 아니라, 목적 단백질의 생물학적 기능(즉, AMPK의 인산화 효소로서의 기능)이 유의하게 저해될 수 있을 정도로 활성 또는 발현을 저하시키는 것을 의미한다.

[0036] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 시상하부의 렙틴 신호를 강화한다.

[0037] 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제조되는 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다.

[0038] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 *Remington's Pharmaceutical Sciences* (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

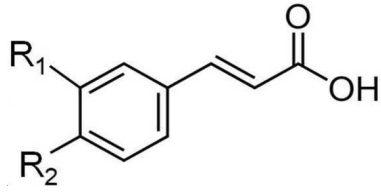
[0039] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 구체적으로는 경구, 정맥, 피하 또는 복강 투여될 수 있다.

[0040] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 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 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 성인 기준으로 0.001-100 mg/kg 범위 내이다.

[0041] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 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 추가적으로 포함할 수 있다.

[0042] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 식욕 억제용 기능성 식품 조성물을 제공한다:

[0043] 화학식 1



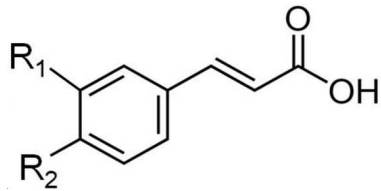
[0044]

[0045] 본 발명에서 이용되는 화학식 1 화합물 및 이의 식욕 억제 기능에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0046] 본 명세서에서 용어 "식품학적으로 허용되는 염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하는 염 중에서도 식품 조성물에 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 그 구체적인 예는 상술한 "약제학적으로 허용되는 염"의 예를 포함한다.

[0047] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 시상하부의 AMPK(AMP-activated protein kinase) 활성 억제용 기능성 식품 조성물을 제공한다:

[0048] 화학식 1



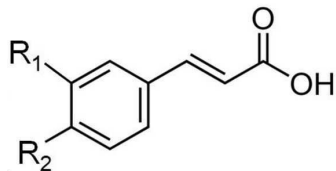
[0049]

[0050] 본 발명에서 이용되는 화학식 1 화합물 및 이의 시상하부에서의 AMPK 활성 억제 기능에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0051] 본 발명의 조성물이 식품 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로서 본 발명의 화합물 뿐 만 아니라, 식품 제조시에 통상적으로 첨가되는 탄수화물, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 탄수화물의 예는 포도당, 과당 등의 단당류; 말토스, 수크로스 등의 이당류 및 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 다당류 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 향미제로서 천연 향미제[타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 유효성분인 소나무 수피 추출물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액, 감초 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0052] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 식욕 억제제(Anorexiant)를 제공한다:

[0053] 화학식 1



[0054]

[0055] 상기 화학식 1에서, R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소, 하이드록시 및 C₁-C₂ 알콕시로 구성된 군으로부터 선택된다.

발명의 효과

[0057] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0058] (a) 본 발명은 P-쿠마린산(para-coumaric acid) 또는 이의 유도체를 유효성분으로 포함하는 식욕 과다증

(bulimia)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 식욕 억제용 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0059] (b) 본 발명의 조성물은 중추신경계에서의 AMPK 활성 억제를 통해 현저한 식욕 저하를 유도함으로써, 말초 조직에서의 지질대사 촉진과 달리 섭식 자체를 감소시키는 근원적인 대사질환 치료제로 이용될 수 있다.

[0060] (c) 본 발명은 또한 천연유래 화합물로서 장기 투여 시에도 부작용이 적어 만성적 대사질환의 효율적인 치료제 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0062] 도 1은 CA가 HepG2 간세포와 시상하부의 N1 세포에서 각각 AMPK 활성화에 미치는 상이한 효과를 보여주는 그림이다. 도 1a 및 1b는 CA 및 메트포민의 처리가 HepG2 간세포에서 AMPK 활성화에 미치는 영향을 보여주는 면역블롯팅 결과(도 1a)와 이의 정량적 그래프(도 1b)이다. 도 1c 및 1d는 CA 및 메트포민의 처리가 시상하부의 N1 세포에서 AMPK 활성화에 미치는 영향을 보여주는 면역블롯팅 결과(도 1c)와 이의 정량적 그래프(도 1d)이다. 각 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타냈다. 양측 스튜던트 t-검정. * $P < 0.05$.

도 2는 CA가 인 비모에서 AMPK 활성화에 미치는 상이한 효과를 보여주는 그림이다. 도 2a 및 2b는 CA 및 메트포민의 처리가 마우스 간에서 AMPK 활성화에 미치는 영향을 보여주는 면역블롯팅 결과(도 2a)와 이의 정량적 그래프(도 2b)이다. 도 2c 및 2d는 CA 및 메트포민의 처리가 시상하부에서 AMPK 활성화에 미치는 영향을 보여주는 면역블롯팅 결과(도 2c)와 이의 정량적 그래프(도 2d)이다. 도 2e 및 2f는 CA 및 메트포민의 처리가 시상하부에서 p70S6K 활성화에 미치는 영향을 보여주는 면역블롯팅 결과(도 2e)와 이의 정량적 그래프(도 2f)이다. 각 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타냈다. 일원분산분석과 투키 사후검정으로 다중 그룹을 비교하거나 또는 스튜던트 t-검정을 수행하였다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

도 3은 CA 처리에 의해 시상하부의 렙틴 민감성이 강화됨을 보여주는 그림이다. 도 3a는 비이클(veh), CA 또는 메트포민 처리가 HFD-유도 고렙틴혈증에 미치는 영향을 나타낸다. NC 그룹 대비 *** $P < 0.001$, HFD-Veh 그룹 대비 # $P < 0.05$. 도 3b 및 3c는 CA 및 메트포민의 처리가 시상하부에서 STAT3 다운스트림 신호에 미치는 영향을 보여주는 면역블롯팅 결과(도 3b)와 이의 정량적 그래프(도 3c)이다. 도 3d는 CA 처리 하에서 Pomc, AgRP 및 Npy의 시상하부 N1 세포에서의 전사를 측정된 결과이다. 도 3e는 비이클(veh) 또는 p-쿠마린산(CA) 처리한 HFD-식이 마우스의 일일 음식 섭취를 측정된 결과이다(3일 평균). 각 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타냈다. 일원분산분석과 투키 사후검정으로 다중 그룹을 비교하거나 또는 스튜던트 t-검정을 수행하였다. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

도 4는 CA 처리가 마우스의 전신 글루코스 항상성을 개선시킴을 보여주는 그림이다. 도 4a는 8주 동안 비이클(veh), 메트포민(met) 또는 p-쿠마린산(CA)을 투여한 NC-식이 및 HFD-식이 마우스의 체중을 측정된 결과이다. 도 4b는 8주 동안 비이클(veh), 메트포민(met) 또는 p-쿠마린산(CA)을 투여한 NC-식이 및 HFD-식이 마우스의 공복혈당 수준을 측정된 결과이다. 도 4c는 8주 동안 비이클(veh), 메트포민(met) 또는 p-쿠마린산(CA)을 투여한 NC-식이 및 HFD-식이 마우스의 혈장 인슐린 수준을 측정된 결과이다. 도 4d 및 4e는 8주 동안 비이클(veh), 메트포민(met) 또는 p-쿠마린산(CA)을 투여한 NC-식이 및 HFD-식이 마우스의 GTT(D) 및 GTT AUC(E)를 측정된 결과이다. 도 4f 및 4g는 8주 동안 비이클(veh), 메트포민(met) 또는 p-쿠마린산(CA)을 투여한 NC-식이 및 HFD-식이 마우스의 ITT(F) 및 ITT AUC(G)를 측정된 결과이다. 각 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타냈다. 일원분산분석과 투키 사후검정을 막대그래프로, 이원분산분석과 본페로니 사후검정을 선 그래프로 표시하였다. NC 그룹 대비 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. HFD-Veh 그룹 대비 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0064] 실시예

[0065] 실험방법

[0066] 실험재료

[0067] DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium), 우태아혈청(FBS) 및 페니실린-스트렙토마이신(P/S)은 Gibco(Life Technologies, NY, USA)에서 구입하였다. P-쿠마린산(Cat. No C9008)은 Sigma(St. Louis, MO,

USA)에서, 메트포민은 TOKU-E(Bellingham, WA, USA)에서 구입하였다. 항체 AMPK α , p-AMPK α (Thr172)에 대한 항체는 Cell Signaling Technology(Beverly, MA, USA)에서 구입하였다. 프로테아제 억제제 태블릿은 Thermo Fisher Scientific(Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA)에서, 포스파타아제 억제제 각테일은 Roche(F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland)에서 각각 구입하였다. 그 밖의 모든 시약은 다른 언급이 없는 한 Intron Biotechnology(Intron Biotechnology Co., Ltd., Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하였다. 메트포민의 저장 용액과 사용 용액은 물에 용해시켜 제조하였다. p-쿠마린산의 저장 용액은 DMSO(dimethylsulfoxide)에서 제조하였다. p-쿠마린산의 사용 용액은 저장 용액을 DMSO로 희석하여 세포 배양에 사용하거나, PBS(phosphate buffer saline)에 희석(1/20, v/v)하여 동물 실험의 경구 투여에 사용하였다.

[0069] 세포 배양 및 화합물의 처리

[0070] HepG2 간세포와 시상하부의 N1 세포를 10% FBS 및 1% P/S를 포함하는 DMEM 배지에서 유지하고 5% CO₂, 37℃의 가습 환경에서 배양하였다. 최종 농도 2 μ M로 물에 용해시킨 메트포민 또는 최종 농도 20 μ M로 DMSO에 용해시킨 p-쿠마린산을 세포에 처리하고, 세포를 수집한 뒤 용해시켜 실시간 qPCR 또는 웨스턴 블롯으로 mRNA와 단백질 수준을 측정하였다.

[0072] 실험동물

[0073] 모든 동물 실험은 Tan Tao 의과대학의 실험동물윤리위원회(IACUC)의 승인(43/HDKH.TTU.2019) 하에 수행되었다. 스위스 알비노 수컷 마우스(4주령)은 Pasteur(Ho Chi Minh city, Viet Nam)에서 구입하였다. 마우스는 12시간-명/암 사이클(06:00 a.m./p.m.에 점등/소등) 하에서 상온(22-25℃)으로 유지하였다. 마우스는 일반 사료(AniFood, Pasteur Institute-VN, 3.84 kcal/kg, 지방 열량 6-8% kcal, NC) 또는 고지방식이(Research Diets D12492, USA, 5.24 kcal/kg, 지방 열량 60% kcal, HFD)을 자유롭게 먹도록 하였다. 1주 간의 적응 뒤, 마우스를 NC, HFD-Veh, HFD-Met 및 HFD-CA의 4개 실험 그룹으로 분류하였다(그룹당 6 마리). NC 그룹은 정상 식이와 정제수를 공급하였다. HFD-CA 그룹은 HFD를 먹이면서 p-쿠마린산(200 mg/kg)을 매일 경구로 8주간 투여하였다. HFD-Veh는 동일한 부피의 DMSO/PBS 혼합 용액을 동일한 기간 동안 경구투여하여 비이클 대조군으로 사용하였다. HFD-Met은 HFD를 먹이면서 물에 용해된 메트포민(200 mg/kg)을 투여하여 기준 치료로 사용하였다.

[0074] 혈당 수준은 지시된 바 대로 측정하였으며, 글루코스와 인슐린 저항성 시험(GTT 및 ITT)은 투여 6주 후에 수행하였다. 실험 종료 후, 마우스를 희생시키고 기관을 수집하여 추가 분석시까지 -80℃에서 보관하였다.

[0076] 시상하부 조직의 절개 및 수집

[0077] 마우스를 정상식이 조건으로 사육 중 케타민(100 mg/kg 체중)으로 마취 후 희생시키고 두개골 제거 후 온전한 뇌를 수집하여 얼음 냉각한 1 x PBS(phosphate buffer saline)로 세척하였다. 저전력 해부현미경으로 시상하부 영역을 관찰하고 전체 뇌조직으로부터 절개하였다. 모든 시상하부 시료는 드라이 아이스에서 즉시 급속냉각하여 -80℃로 보관하였다.

[0079] 음식섭취 측정

[0080] 실험용 마우스를 개별적으로 수용하고, 8시부터 15시까지의 일간 음식 섭취를 3일간 기록하고 최초 체중에 대해 정규화하였다.

[0082] 인슐린 및 렙틴 측정

[0083] tail-nick 혈액 방울로부터 혈액 시료를 채취하여 ELISA 키트(Morinaga Institute of Biological Science, Yokohama, Japan)을 이용하여 제조자의 설명서에 따라 인슐린과 렙틴을 측정하였다.

[0085] GTT 및 ITT 실험

[0086] GTT를 종래에 보고된 방법으로 수행하였다[34]. 요약하면, 마우스를 18시간 동안 굶기고 식수는 자유롭게 음용할 수 있도록 하였다. 공복 혈당을 측정한 뒤, 글루코스(1.2g/kg 체중)를 복강 투여하고 15, 30, 60, 90, 및 120분 뒤에 꼬리에서 혈액을 채취하였다. ITT를 위해, 마우스를 2시간 동안 굶기고 식수는 자유롭게 음용할 수 있도록 하였다. 기저 혈당을 측정한 뒤, 속효성 인슐린(Eli Lilly and Company, IN, USA) 1U/kg 체중을 복강 투여하고 일정 시간 간격으로 혈당 수준을 모니터링하였다. 혈당 수준은 상용화된 혈당측정기(SAFE-ACCU, Shanghai International Holding Corp., Germany)를 이용하여 글루코스 산화효소 방법으로 측정하였다.

[0088] SDS-PAGE 및 웨스턴 블롯팅

- [0089] 세포를 1 x PBS로 세척하고 프로테아제 및 포스파타아제 억제제를 포함하는 RIPA 완충액(Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA, Cat. No. 89900)으로 용해시켰다. 인 비보 실험을 위해, Dounce 균질기로 조직을 균질화하여 프로테아제 및 포스파타아제 억제제를 포함하는 RIPA 완충액으로 용해시켰다. 용해된 시료 내 총 단백질 농도는 Pierce™ Coomassie (Bradford) Protein Assay 키트(Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA)으로 측정하였다. SDS-PAGE 후 웨스턴 블롯팅을 수행하고 Miracle Star™ Femto 웨스턴 블롯 검출 시스템(Intron Biotechnology Co., Ltd., Korea) 및 X-ray 필름(UltraCruz® Autoradiography Film, Santa Cruz Biotechnology Inc., TX, USA)을 이용하여 블롯을 시각화하였다. 블롯의 정량화는 NIH ImageJ 소프트웨어를 이용하여 수행하였다.
- [0090] AMPK α (Cat. No. 2532, 희석 1:5,000), phosphor AMPK α Thr172 (Cat. No. 2531, 희석 1:5,000), p70 S6 (Cat. No. 9202, 희석 1:5,000), phosphor-p70 S6 Thr389 (Cat. No. 9204, 희석 1:5,000), Stat3 (Cat#No. 9139, 1:5,000) 및 phosphor-Stat3 (Tyr705) (Cat#No. 9131, 1:5,000)에 대한 1차 항체는 Cell Signaling (Cell Signaling Technology Inc., MA, USA)에서 구입하였다. GAPDH에 대한 항체 (Cat. No. GTX100118, 희석 1:10,000)는 GeneTex (GeneTex Inc., CA, USA)에서 구입하였다. 1차 항체를 0.1% (v/v) Tween 20 (TBST)과 0.05% (m/v) 소듐아자이드를 포함하는 TBS (Tris buffered saline) 내 3% 소혈청알부민에서 준비하였다. HRP (horseradish peroxidase) 접합된 항-래빗 2차 항체는 Thermo Scientific (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA)에서 구입하여 TBST에 용해된 3% 무지방 건조우유에서 10,000배 희석하였다.
- [0092] RNA 분리 및 실시간 qPCR
- [0093] 시상하부의 N1 세포를 10 mM의 최종농도의 p-쿠마린산과 함께 24시간 동안 배양하였다. 이후 세포를 수집하고 용해시켜 Ambion® Trizol 시약 (Life Technologies, CA, USA)으로 총 RNA를 추출하였다. High-Capacity cDNA 역전사 키트 (Applied Biosystem, Warrington, UK)을 이용하여 제조자의 지시에 따라 1 μg의 총 RNA로 cDNA를 합성하였다. 실시간 PCR을 위해 cDNA와 프라이머를 Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystem, Warrington, UK)를 이용하여 설명서에 따라 제작하였다. 실시간 Q-PCR에 사용된 프라이머 서열은 다음과 같다: Pomc, 정방향, 5'-CAGGTCCTGGAGTCCGAC-3', 역방향, 5'-CATGAAGCCACCGTAACG-3'; Agrp, 정방향, 5'-CGGCCACGAACCTCTGTAG-3', 역방향, 5'-CTCATCCCTGCCTTTC-3'; Npy, 정방향, 5'-CTACTCCGCTCTGCGACACT-3', 역방향, 5'-AGTGTCTCAGGGCTGGATCTC-3'; 및 18S, 정방향, 5'-AACCCGTTGAACCCATT-3', 역방향, 5'-CCATCAATCGGTAGTAGCG-3'.
- [0094]
- [0095] 통계적 분석
- [0096] 모든 통계 분석은 Prism 5.0 소프트웨어를 이용하였다. 일원분산분석을 이용하여 각 시점별 체중 GTT 및 ITT를 분석하였다. 일원분산분석을 이용하여 상이한 처리를 한 그룹의 혈당 수준, 혈장 대사호르몬 수준 및 음식 섭취를 분석하였다. 다른 데이터에 대해서는 스튜던트 t-검정을 적용하였다. $P < 0.05$ 인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.
- [0098] 실험결과
- [0099] p-쿠마린산은 말초성 및 중추의 AMPK 활성화에 대해 각각 상이한 효과를 보인다
- [0100] p-쿠마린산(CA) 또는 CA를 포함하는 식물 추출물은 몇몇 대사성 세포에서의 AMPK 경로를 활성화하는 것으로 나타났다[16-18]. 표준 AMPK 활성화제인 메트포민을 사용하여, 간 유래 HepG2 세포에 CA를 처리 시 AMPK가 강하게 활성화되는 것을 일관되게 관찰하였다(도 1a 및 1b). 그러나, 놀랍게도 본 발명자들은 시상하부의 N1 세포에서 CA가 AMPK 활성화를 유의하게 억제함을 발견하였으며, 이는 종래 보고된 메트포민의 작용과 유사한 것이다(도 1c 및 1d)[19].
- [0101] 다음으로 인 비보에서 CA가 AMPK 활성화에 미치는 영향을 추가적으로 확인하기 위해 마우스에 CA 또는 메트포민을 200 mg/kg 체중 용량으로 경구 투여하고, 간과 시상하부를 포함하는 대사기관에서의 AMPK 활성화를 조사하였다. 세포주에서 관찰된 결과와 마찬가지로, CA 처리에 의해 마우스 간에서 AMPK가 현저히 활성화됨을 확인하였다(도 2a 및 2b). 반면, CA 처리에 의해 시상하부 시료에서의 AMPK 활성은 유의하게 억제되었다(도 2c 및 2d). 이를 종합하면, CA 처리가 인 비보와 인 비트로 모두에서 간의 AMPK를 활성화하면서 시상하부의 AMPK는 억제한다는 사실을 알 수 있다.
- [0102] 다음으로, CA가 중추에서의 AMPK 활성을 억제하는 분자적 메커니즘을 조사하고자 하였다. S6 키나아제는 AMPK

와 복합체를 형성하여 ser491 잔기의 인산화를 유도함으로써 AMPK 활성을 감소시킨다[6, 20]. 나아가, 메트포민은 S6 키나아제를 활성화하고 시상하부의 AMPK 활성을 억제한다고 보고되었다[21]. 이에, 본 발명자들은, CA 처리 역시 S6 키나아제 활성의 조절을 통해 시상하부의 AMPK 활성화를 조절할 수 있을 것이라 가정하였다. 실제, CA- 또는 메트포민 처리된 마우스 시상하부의 p70 S6 키나아제 인산화 형태가 유의하게 증가함으로써 CA 처리로 S6 키나아제가 활성화되었음을 알 수 있었다(도 2e 및 2f). 이를 통해 CA가 S6 키나아제 활성을 증진시킴으로써 시상하부의 AMPK 활성을 억제함을 알 수 있었다.

[0104] *p-쿠마린산 처리는 시상하부의 렙틴 신호를 강화한다*

[0105] 시상하부의 AMPK 및 S6 키나아제는 렙틴-멜라노코르틴 신호에 반응하여 음식 섭취를 조절하는 것으로 알려졌다[3]. 나아가, 메트포민 처리는 렙틴 저항성을 가지는 HFD-유도 비만 설치동물에서 시상하부의 렙틴 수용체 신호를 강화하고 렙틴 민감성을 회복시킨다[22, 23]. 이에 본 발명자들은 CA 처리가 기능적인 시상하부의 렙틴 신호에 영향을 주어 음식 섭취를 억제하였을 것이라 가정하였다. 이를 조사하기 위해 HFD-유도 비만 마우스 모델을 이용하여 렙틴 저항성을 유도한 뒤 CA가 시상하부의 렙틴 신호전달에 미치는 영향을 조사하였다. 도 3a에서 보는 바와 같이, HFD-식이 마우스의 혈장 렙틴 수준은 정상식이 마우스에 비해 현저히 증가하여 렙틴 저항성이 유도되었다. 종래의 발견과 일치하여, 메트포민 처리는 고렙틴혈증 상태를 개선하고 시상하부에서의 렙틴 신호의 하위 작용자로 잘 알려진 STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3)의 인산화 형태를 증가시킴으로써 시상하부의 렙틴 신호를 강화시켰다(도 3a-3c)[24, 25]. 특히, CA 처리는 HFD-유도 고렙틴혈증을 개선하고 시상하부의 p-STAT3 수준을 증가시켰다(도 3a-3c). 뿐만 아니라, CA 처리는 식욕 억제 신경펩타이드인 프로오피오멜라노코르틴(Pomc)의 발현을 증진하는 한편 식욕 증진성 아구티-관련 신경펩타이드(Agrp)의 발현을 억제하는데, 이는 시상하부의 렙틴-STAT3 신호의 잘 알려진 타겟 유전자이다[26]. 따라서, CA-처리된 마우스는 대조군인 비이클-처리 마우스에 비해 고지방 식이의 섭취가 감소하였다(도 3e). 이러한 결과는 CA 처리가 시상하부의 기능적 렙틴 신호를 강화시킴을 명확하게 보여준다.

[0107] *p-쿠마린산 처리는 전신 글루코스 항상성을 개선시킨다*

[0108] CA가 말초 및 중추의 AMPK 활성화, 시상하부의 렙틴 신호 및 음식 섭취에 미치는 영향에 기반하여 CA 처리가 체중과 글루코스 항상성을 조절할 것이라 가정하였다. 이를 확인하기 위해, HFD-유도 마우스 모델을 이용하여 CA 처리의 대사적 효과를 추가적으로 조사하였다. HFD-식이 마우스에 CA(200 mg/kg 체중) 또는 비이클을 8주간 경구투여하고 HFD-식이 마우스에 경구로 메트포민(200 mg/kg 체중)을 투여하여 표준 치료로 사용하였으며, NC-식이 마우스는 음성 대조군으로 사용하였다. 예상과 달리, 비이클 및 CA를 처리한 HFD-식이 마우스 간의 체중은 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, CA-처리 마우스에서 특히 HFD를 먹인 뒤 첫 2주 동안 다소간의 체중 감소 경향이 나타날 뿐이었다(도 4a). 그러나, CA 처리된 마우스는 공복혈당이 유의하게 감소하였고(도 4b) 혈장 인슐린도 저하되었다(도 4c). 이러한 결과를 통해 비이클 대조군보다 CA-처리 마우스에서 혈당이 잘 조절되고 있음을 알 수 있었다. 이에, 다음으로 CA 처리가 글루코스 저항성 및 인슐린 민감성에 미치는 영향을 추가로 조사하고자 글루코스 및 인슐린 저항성 시험(GTT 및 ITT)을 수행하였다. 도 4d 및 4e에서 보는 바와 같이, CA 처리 마우스는 GTT 시험에서 복강 투여된 글루코스가 잘 제거되어 더 높은 글루코스 저항성을 가짐을 알 수 있었다. 나아가, 이들 마우스는 ITT 동안 인슐린 주사에 따른 시간당 내재적 글루코스 제거 정도도 유의하게 증가하였다(도 4f 및 4g). 이를 종합하면 CA 처리가 마우스의 인슐린 민감성과 전신 글루코스 항상성을 유의하게 향상시킴을 알 수 있다.

[0110] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

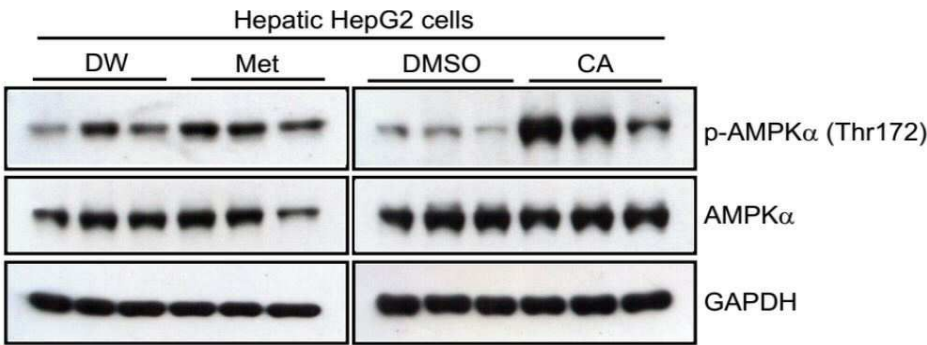
[0112] **참고문헌**

- [0113] 1. Garcia, D. et al., *Molecular cell* **2017**, 66, (6), 789-800.
- [0114] 2. O'Neill, H. M. et al., *Molecular and cellular endocrinology* **2013**, (2), 135-51.
- [0115] 3. Minokoshi, Y. et al., *Nature* **2004**, 428, (6982), 569-574.
- [0116] 4. Namkoong, C. et al., *Diabetes* **2005**, 54, (1), 63-68.
- [0117] 5. Yang, C. S. et al., *Diabetes* **2010**, 59, (10), 2435-2443.

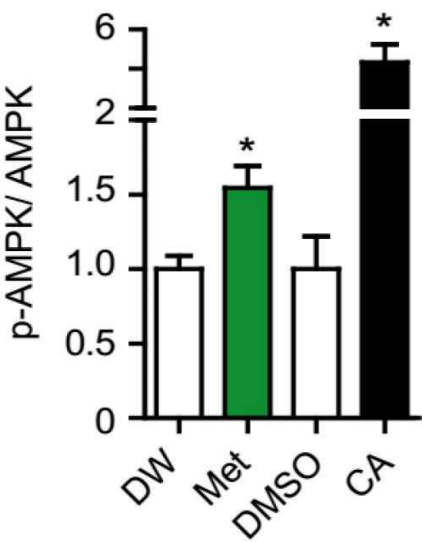
- [0118] 6. Dagon, Y. et al., *Cell metabolism* **2012**, 16, (1), 104-12.
- [0119] 7. Ruderman, N. B. et al., *The Journal of clinical investigation* **2013**, 123, (7), 2764-2772.
- [0120] 8. Lopez, M. et al., *Nature reviews. Endocrinology* **2016**, 12, (7), 421-32.
- [0121] 9. Steinberg, G. R. et al., *Nature reviews. Drug discovery* **2019**, 18, (7), 527-551.
- [0122] 10. Grahame Hardie, D., *Acta pharmaceutica Sinica. B* **2016**, 6, (1), 1-19.
- [0123] 11. Tungmunnithum, D. et al., *Medicines (Basel)* **2018**, 5, (3).
- [0124] 12. Wang, S. et al., *The Journal of nutritional biochemistry* **2014**, 25, (1), 1-18.
- [0125] 13. Pei, K. et al., *Journal of the science of food and agriculture* **2016**, 96, (9), 2952-62.
- [0126] 14. Abdel-Moneim, A. et al., *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* **2018**, 105, 1091-1097.
- [0127] 15. Shen, Y. et al., *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* **2019**, 111, 579-587.
- [0128] 16. Yoon, S. A. et al., *Biochemical and biophysical research communications* **2013**, 432, (4), 553-7.
- [0129] 17. Kang, S. W. et al., *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* **2013**, 59, 380-5.
- [0130] 18. Kim, J. H. et al., *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **2013**, 77, (7), 1595-8.
- [0131] 19. Chau-Van, C. et al., *Endocrinology* **2007**, 148, (2), 507-11.
- [0132] 20. Horman, S. et al., *The Journal of biological chemistry* **2006**, 281, (9), 5335-40.
- [0133] 21. Kim, H. J. et al., *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* **2013**, 305, (5), R499-505.
- [0134] 22. Kim, Y. W.; Kim, J. Y.; Park, Y. H.; Park, S. Y.; Won, K. C.; Choi, K. H.; Huh, J. Y.; Moon, K. H., *Diabetes* **2006**, 55, (3), 716-24.
- [0135] 23. Aubert, G. et al., *Metabolism: clinical and experimental* **2011**, 60, (3), 327-34.
- [0136] 24. Buettner, C. et al., *Cell metabolism* **2006**, 4, (1), 49-60.
- [0137] 25. Varela, L. et al., *EMBO reports* **2012**, 13, (12), 1079-86.
- [0138] 26. Munzberg, H. et al., *Endocrinology* **2003**, 144, (5), 2121-31.
- [0139] 27. Zhao, Y. et al., *Oxidative medicine and cellular longevity* **2017**, 1459497.
- [0140] 28. Carrasco-Pozo, C.; et al., *Journal of medicinal food* **2019**, 22, (8), 753-770.
- [0141] 29. Ford, R. J. et al., *The Biochemical journal* **2015**, 468(1), 125-32.
- [0142] 30. Konishi, Y. et al., *Journal of agricultural and food chemistry* **2004**, 52, (9), 2527-32.
- [0143] 31. Sakamula, R. et al., *Metabolic brain disease* **2018**, 33, (3), 765-773.
- [0144] 32. da Silva, A. A. et al., *Current diabetes reports* **2020**, 20(7), 29.
- [0145] 33. Han, X. et al., *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* **2020**, 34, (6), 7810-7824.
- [0146] 34. Nguyen, L. V. et al., *PloS one* **2019**, 14, (11), e0224674.

도면

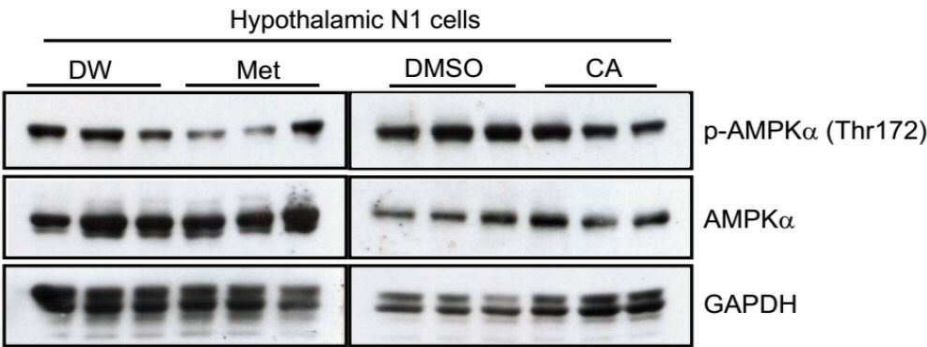
도면1a



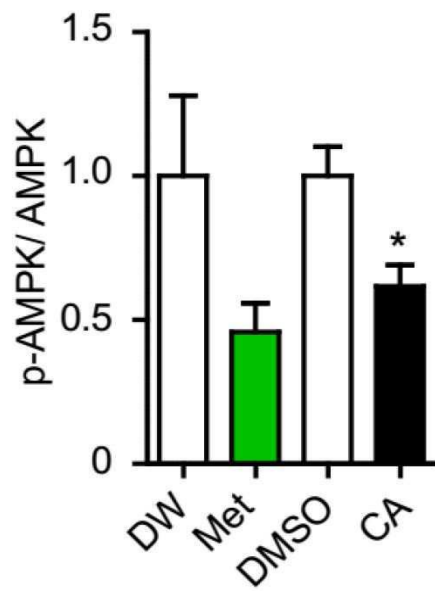
도면1b



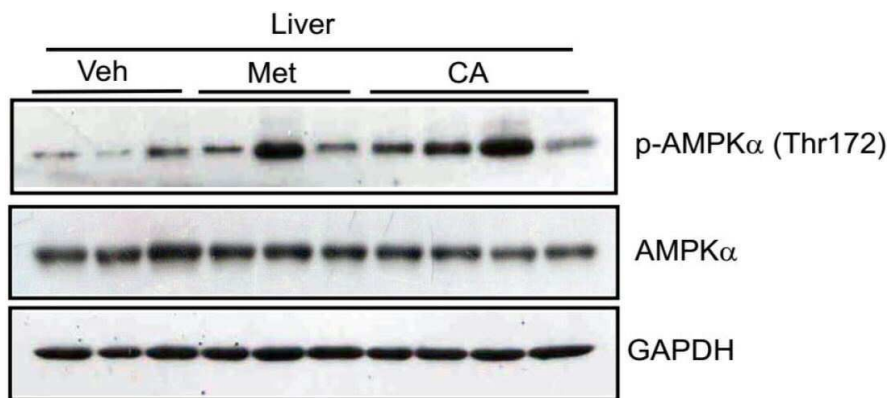
도면1c



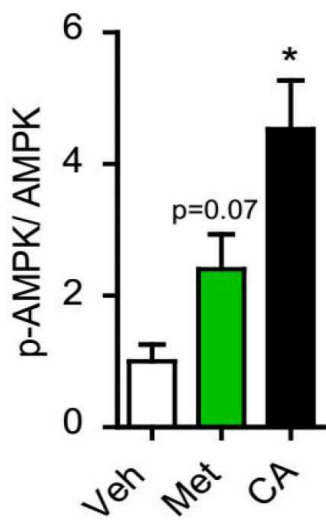
도면1d



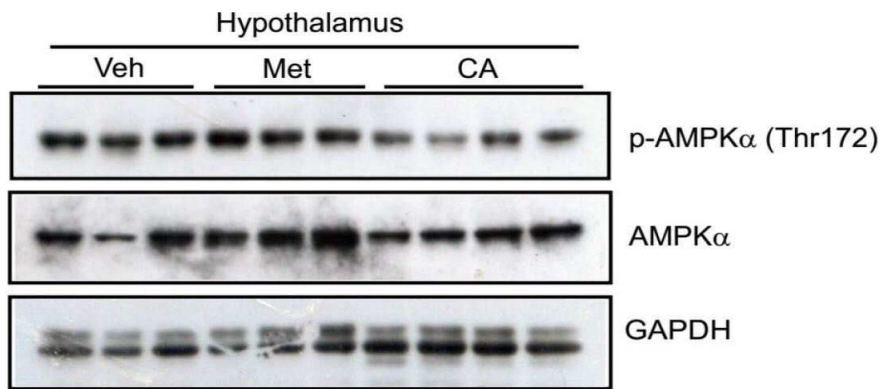
도면2a



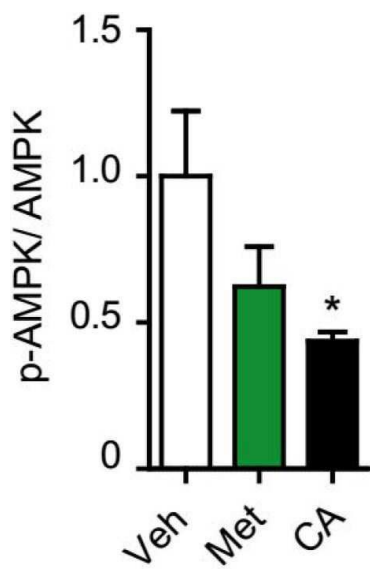
도면2b



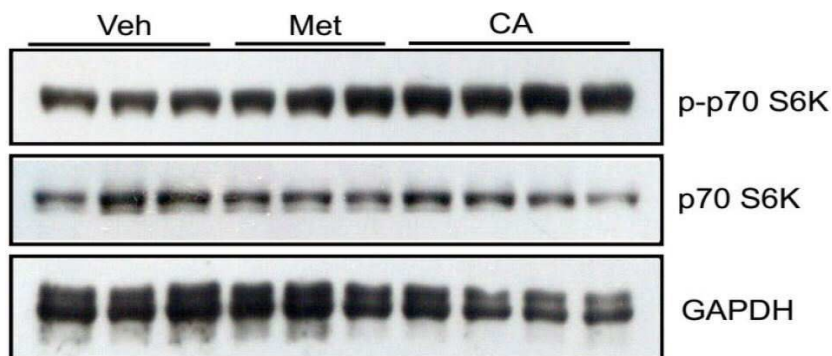
도면2c



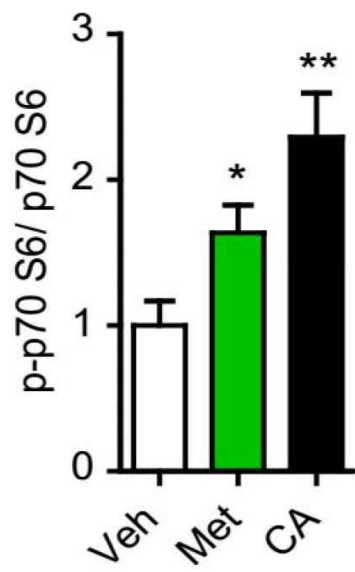
도면2d



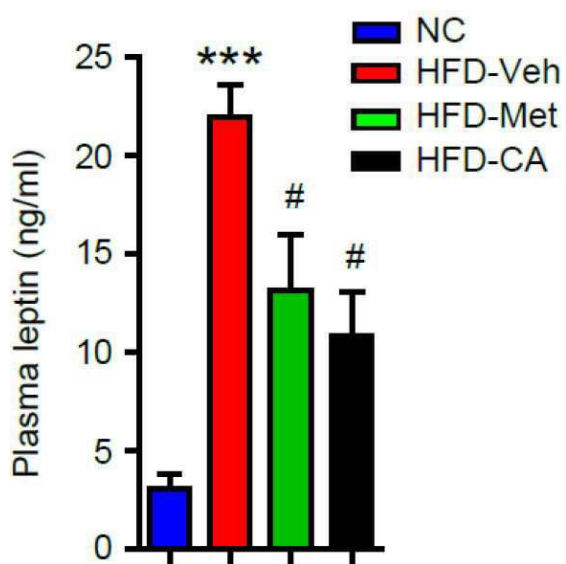
도면2e



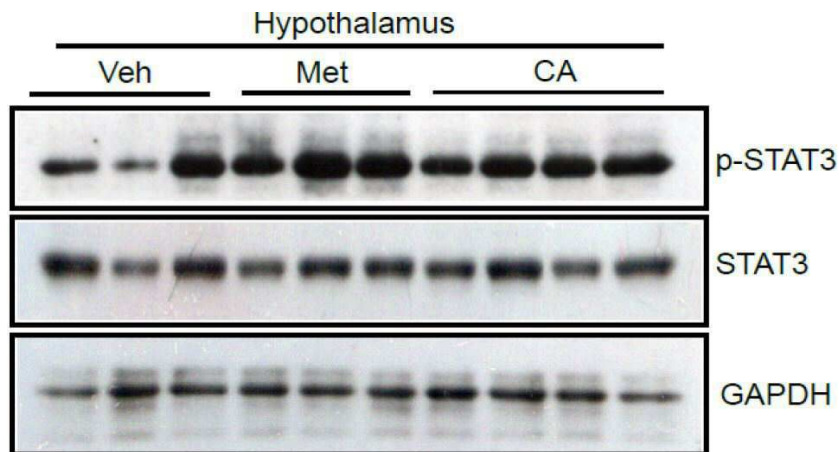
도면2f



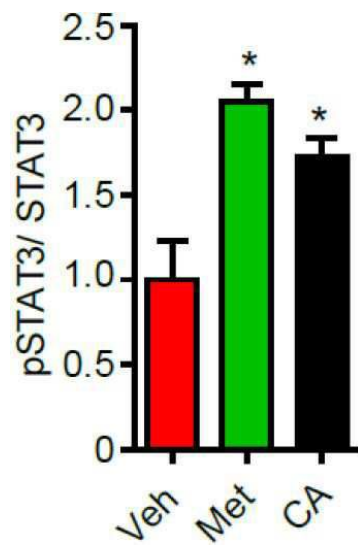
도면3a



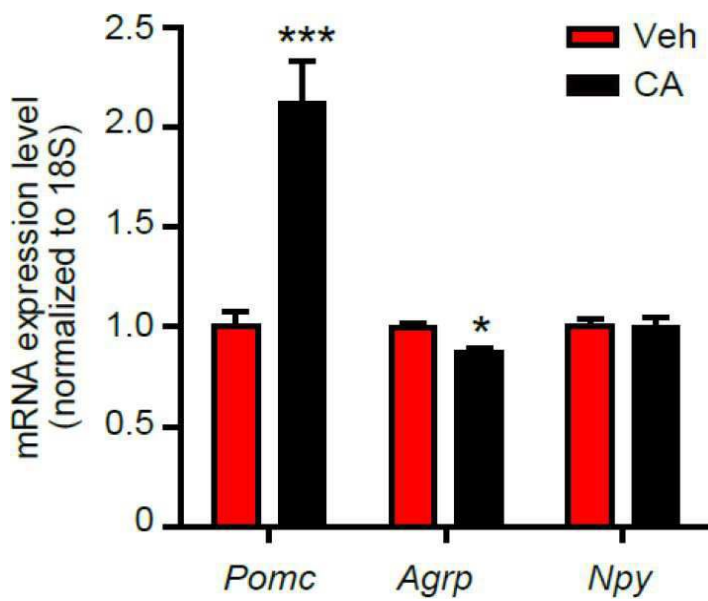
도면3b



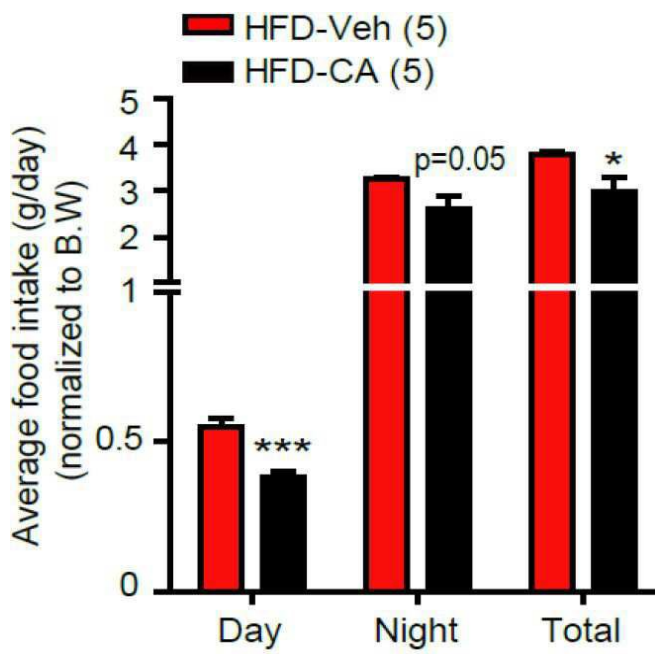
도면3c



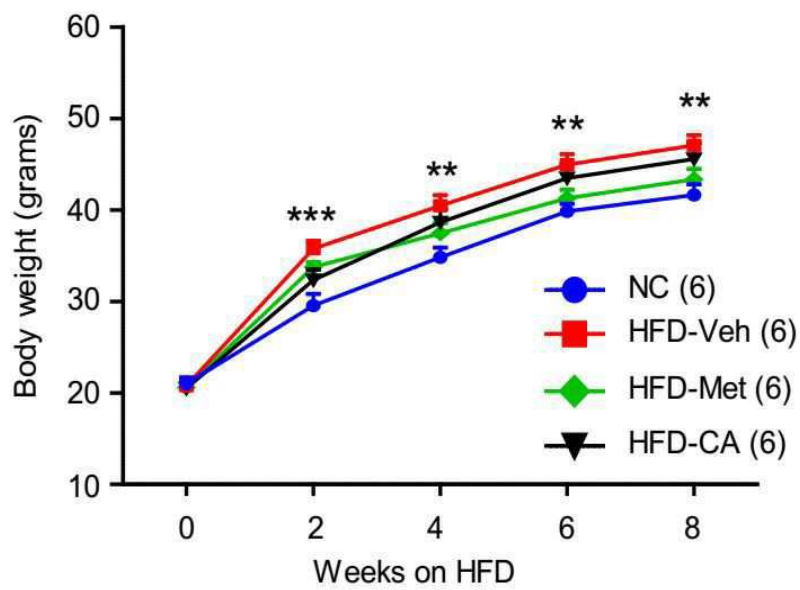
도면3d



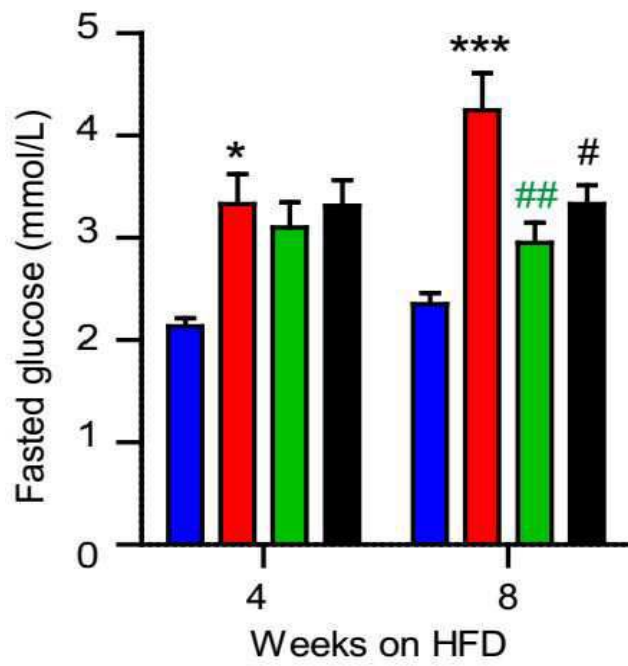
도면3e



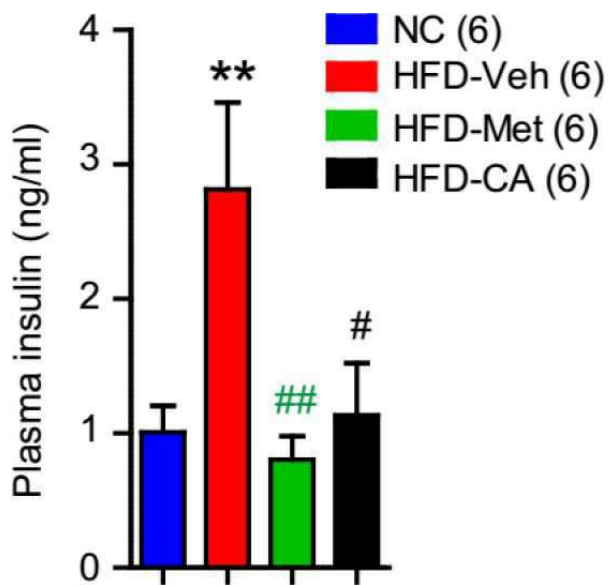
도면4a



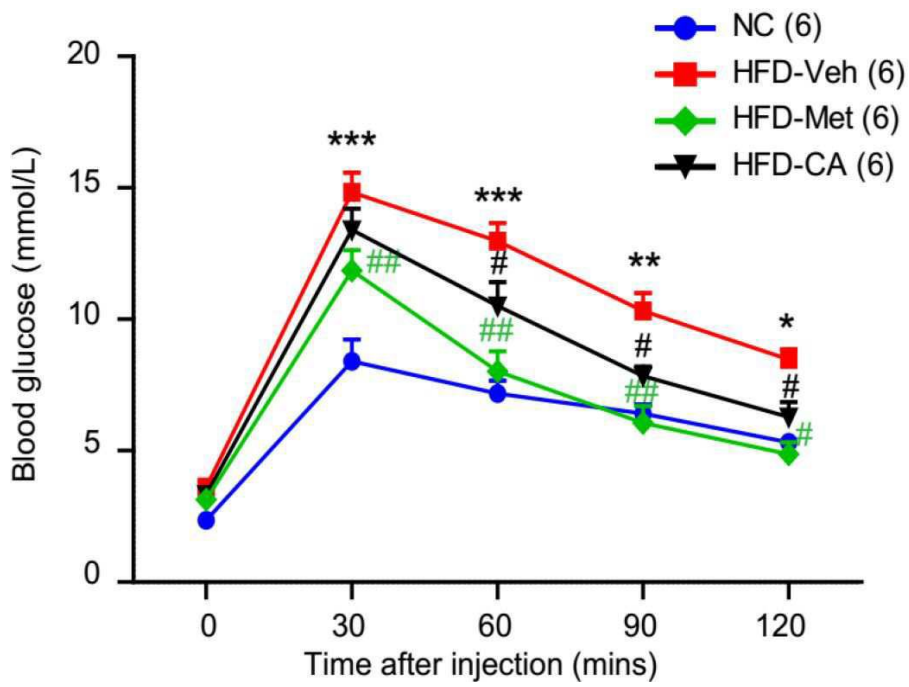
도면4b



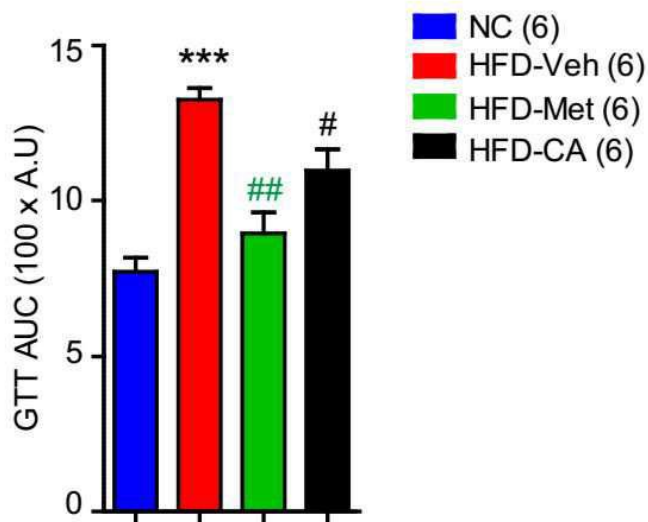
도면4c



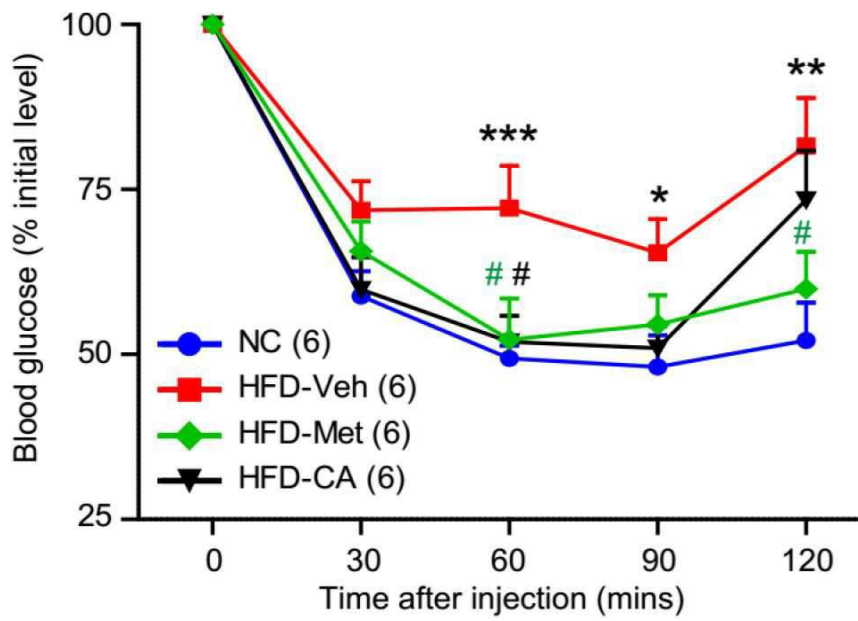
도면4d



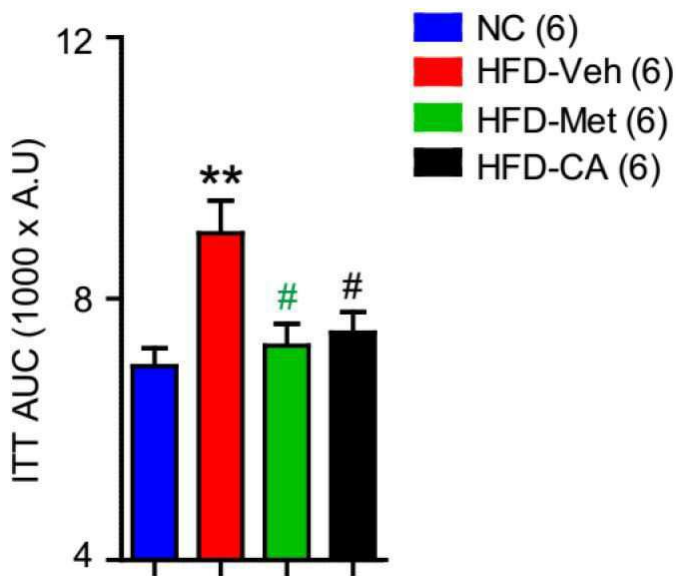
도면4e



도면4f



도면4g



서 열 목 록

- <110> Industry-academic cooperation foundation yonsei university
- <120> A Composition for Suppressing Appetite Comprising Phenolic Acid Derivatives as Active Ingredients
- <130> HPC-9792
- <160> 8
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 18

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Pomc F primer
 <400> 1
 caggtcctgg agtccgac 18
 <210> 2
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Pomc R primer
 <400> 2
 catgaagcca ccgtaacg 18
 <210> 3
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Agrp F primer
 <400> 3
 cggccacgaa cctctgtag 19
 <210> 4
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Agrp R primer
 <400> 4
 ctcattcccct gcctttgc 18
 <
 <210> 5
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Npy F primer
 <400> 5
 ctactccgct ctgcgacact 20

<210>	6	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Npy R primer	
<400>	6	
	agtgtctcag ggctggatct c	21
<210>	7	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	18S F primer	
<400>	7	
	aaccggttga accccatt	18
<210>	8	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	18S R primer	
<400>	8	
	ccatccaatc ggtagtagcg	20