

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0099659
(43) 공개일자 2024년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/48 (2006.01) A61K 36/17 (2006.01)
A61K 36/744 (2006.01) A61K 36/756 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/48 (2013.01)
A61K 36/17 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2022-0181393

(22) 출원일자 2022년12월22일

심사청구일자 2022년12월22일

(71) 출원인

원광대학교산학협력단
전라북도 익산시 익산대로 460 (신동)

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

임정태

경기도 성남시 분당구 양현로 220, 1008동 1303호
(이매동, 이매촌)

박진봉

서울특별시 금천구 시흥대로96길 8 (독산동)

(74) 대리인

오영진

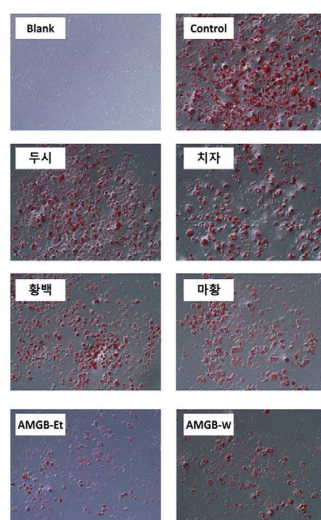
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법

(57) 요약

본 발명의 한 실시예에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법은, 두시, 치자, 황백 및 마황으로 이루어진 혼합 한약재를 준비하는 단계, 혼합 한약재에 70 % 에탄올 용액을 첨가하여, 그리고 실온에서 11 ~ 13 시간 동안 1회 이상 침지시키는 에탄올 추출 단계를 포함한다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 36/744 (2013.01)

A61K 36/756 (2013.01)

A61P 3/04 (2018.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465035474
과제번호	HF20C0017000022
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	한의학혁신기술개발
연구과제명	비만치료에서 마황 부작용을 감소시키는 공공자원(안면감비탕) 기반 신규 한약제제
개발을 위한 네트워크 약리, 전임상 및 관찰연구	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	원광대학교산학협력단
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

두시, 치자, 황백 및 마황으로 이루어진 혼합 한약재를 준비하는 단계, 그리고

상기 혼합 한약재에 70 % 에탄올 용액을 첨가하여, 실온에서 11 ~ 13 시간 동안 1회 이상 침지시키는 에탄올 추출 단계

를 포함하는

비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 에탄올 추출 단계에서 추출된 추출액을 멤브레인 필터(membrane filter)로 여과하는 단계를 포함하는

비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 혼합 한약재에서, 상기 두시는 3 ~ 5 중량부, 상기 치자는 1 ~ 3 중량부, 상기 황백은 5 ~ 7 중량부, 그리고 상기 마황은 5 ~ 7 중량부인 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해 제조된 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 약학 조성물은 주사제, 과립제, 정제, 환제, 캡슐제, 겔제, 시럽제, 현탁제, 유제, 또는 액제로 이루어진 군에서 선택된 제형 형태로 제제화된 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물.

청구항 6

제4항 또는 제5항 중 어느 한 항의 약학 조성물을 포함하는 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법이 제공된다.

배경 기술

- [0003] 최근 생활 방식의 변화, 식생활의 변화, 또는 스트레스 등에 기인하여 과체중 및 비만이 증가하고 있고, 사회적 문제가 되고 있다. 과체중은 체질량 지수 (BMI, Body Mass Index, 체중을 키의 제곱으로 나눈 비만 척도)가 25 이상 30 미만인 경우를 의미하고, 비만은 체질량 지수가 30 이상일 때를 의미한다.
- [0004] 비만 및 과체중은 하나의 원인으로 발생하는 것이 아니라 유전적, 환경적, 정신적 등 여러 가지 요인들이 복합적으로 작용하여 발생하기 때문에 어느 한 가지 방법으로 치료하기는 어려울 수 있다.
- [0005] 현재 비만을 치료하기 위한 방법으로는 식이 조절, 운동 등의 생활 습관의 교정, 약물 치료, 수술적 치료 등이 있다. 약물이나 수술적 치료에 앞서 생활 습관을 교정하기 위한 적극적인 노력이 선행되어야 하지만, 생활 습관을 교정하는 일이 쉽지 않을 수 있고, 수술적 치료의 경우 여러 가지 부작용이 나타날 수 있다.
- [0006] 따라서, 부작용이 없이 비만 및 과체중을 개선하는 효과를 확실하게 얻을 수 있고, 특단의 노력을 기울일 필요 없이 간편하게 적용할 수 있는 비만 및 과체중의 개선 또는 예방이 가능한 약학 조성물이 개발될 필요성이 있다.
- [0007] 한국등록특허 제10-2268670호에는, 두시, 치자, 황백 및 마황을 포함하는 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물이 개시되어 있다. 한국등록특허 제10-2268670호에 개시된 약학 조성물은, 마황으로 인해 발생할 수 있는 부작용을 최소화시킬 수 있고, 체중을 감소시킬 수 있으며, 식이량을 감소시킬 수 있고, 간 조직 및 지방 조직의 무게를 감소시킬 수 있으며, 간 조직 및 지방 조직에서의 지방 방울의 크기를 축소시킬 수 있고, 간 조직 및 지방 조직에서 지방의 분화를 억제시킬 수 있고, 간 조직 및 지방 조직에서의 지방 분해를 촉진시킬 수 있다.
- [0008] 다만, 한국등록특허 제10-2268670호의 약학 조성물의 제조방법이 열수 추출 방식으로 한정되어 있고, 이러한 열수 추출 방식의 경우, 지방 분화 억제 효과 또는 지방 축적 억제 효과가 충분치 않을 수 있어, 지방 축적 억제 효과를 향상시킬 수 있는 조성물의 제조방법에 대한 개발이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 한 실시예는 지방 분화 억제 효과 또는 지방 축적 억제 효과를 현저하게 향상시키는, 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법을 제공하기 위한 것이다.
- [0011] 상기 과제 이외에도 구체적으로 언급되지 않은 다른 과제를 달성하는 데 본 발명에 따른 실시예가 사용될 수 있다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명의 한 실시예에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법은, 두시, 치자, 황백 및 마황으로 이루어진 혼합 한약재를 준비하는 단계, 혼합 한약재에 70 % 에탄올 용액을 첨가하여, 그리고 실온에서 11 ~ 13 시간 동안 1회 이상 침지시키는 에탄올 추출 단계를 포함한다.
- [0014] 에탄올 추출 단계에서 추출된 추출액을 멤브레인 필터로 여과하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0015] 혼합 한약재에서, 두시는 3 ~ 5 중량부일 수 있고, 치자는 1 ~ 3 중량부일 수 있으며, 황백은 5 ~ 7 중량부일 수 있고, 그리고 마황은 5 ~ 7 중량부일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 한 실시예에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물은 상기 제조방법에 의해 제조된다.
- [0017] 약학 조성물은 주사제, 과립제, 정제, 환제, 캡슐제, 젤제, 시럽제, 현탁제, 유제, 또는 액제로 이루어진 군에

서 선택된 제형 형태로 제제화될 수 있다.

[0018] 본 발명의 한 실시예에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약제는 상기 약학 조성물을 포함한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명의 한 실시예에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법에 의해 제조된 약학 조성물은, 지방 분화 억제 효과 또는 지방 축적 억제 효과가 매우 우수할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 지방 세포의 분화 유도 과정을 나타내는 도면이다.

도 2는 실시예 1, 비교예 1 내지 5에 따른 약학 조성물들에 대한 지방 세포 분화 억제 효과 측정 실험 후 촬영된 사진들이다.

도 3은 실시예 1, 비교예 1 내지 5에 따른 약학 조성물들에 대한 지방 세포 분화 억제 효과 측정 실험의 결과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 첨부한 도면을 참고로 하여 본 발명의 실시예에 대해 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 동일 또는 유사한 구성요소에 대해서는 동일한 도면부호가 사용되었다. 또한 널리 알려져 있는 공지기술의 경우 그 구체적인 설명은 생략한다.

[0024] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0025] 명세서 전체에서, "조성물"은 2가지 이상의 성분이 균일하게 혼합되어 있는 상태의 물질을 의미하며, 완제품뿐만 아니라 완제품 제조를 위한 중간 소재를 포함하는 개념이다.

[0026] 명세서 전체에서, "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명에 따른 약학 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0028] 실시예들에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물은 두시, 치자, 황백 및 마황을 포함하는 혼합한약재의 추출물을 유효성분으로 함유한다.

[0029] 약학 조성물은 체중을 감소시킬 수 있고, 식이량을 감소시킬 수 있으며, 간 조직 및 지방 조직의 무게를 감소시킬 수 있고, 간 조직 및 지방 조직에서의 지방 방울의 크기를 축소시킬 수 있으며, 간 조직 및 지방 조직에서 지방의 분화를 억제시킬 수 있으며, 간 조직 및 지방 조직에서의 지방 분해를 촉진시킬 수 있어, 비만 및 과체중을 예방하거나 개선시키는데 탁월한 효능을 나타낼 수 있다.

[0030] 마황에는 교감신경 흥분제인 에페드린 알칼로이드(ephedrine alkaloids)가 함유되어 있어 불면, 심계항진, 부정맥, 고혈압, 속쓰림, 출혈 등의 부작용이 나타날 수 있기 때문에, 마황이 단독으로 사용되거나 마황의 부작용을 관리할 수 없는 약제들과 혼합되어 사용되는 경우에는 상기 부작용들이 나타날 수 있다.

[0031] 실시예들에 따른 약학 조성물은 마황과 함께 두시, 치자 및 황백을 포함하는 조성물로서, 불면, 심계항진, 부정맥, 고혈압, 속쓰림, 출혈 등의 증상이 최소화될 수 있다. 또한, 약학 조성물은 마황과 두시, 치자, 황백을 모두 포함함으로써 비만 및 과체중에 대한 예방 또는 개선 효과가 더욱 향상될 수 있다.

[0032] 또한, 실시예들에 따른 약학 조성물은 천연물을 기반으로 하여 인체에 무해하고 안전성이 우수하며, 독성을 나타내지 않는 복수의 재료를 포함함으로써 부작용이 최소화될 수 있고, 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용될 수 있다.

- [0033] 또한, 실시예들에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물은, 70 % 에탄올 용액을 활용한 에탄올 추출 방식에 의해 제조되어, 종래 기술에 비해 지방 분화 억제 효과가 크게 향상될 수 있고, 지방 축적 억제 효과가 크게 향상될 수 있다.
- [0034] 혼합 한약재에서, 두시는 약 3 ~ 5 중량부, 치자는 약 1 ~ 3 중량부, 황백은 약 5 ~ 7 중량부, 그리고 마황은 약 5 ~ 7 중량부일 수 있고, 이러한 함량 범위에서 비만 및 과체중에 대한 예방 또는 개선 효과가 극대화될 수 있고, 마황으로 인해 발생할 수 있는 부작용 완화 효과가 더욱 향상될 수 있다.
- [0035] 한편, 약학 조성물은 전술한 성분들 이외의 다른 약학적 활성 성분을 함께 포함하거나, 또는 다른 유효 성분을 포함하는 약학 조성물과 혼합되어 이용될 수 있다.
- [0036] 실시예에 따른 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약학 조성물의 제조방법은, 두시, 치자, 황백 및 마황을 포함하는 혼합 한약재를 준비하는 단계, 혼합 한약재에 70 %의 에탄올 용액을 혼합한 후 에탄올 추출하는 단계, 그리고 에탄올 추출된 추출액을 멤브레인 필터(membrane filter)로 여과하는 단계를 포함한다.
- [0037] 먼저, 두시, 치자, 황백 및 마황을 포함하는 혼합 한약재를 준비하는 단계가 수행된다.
- [0038] 혼합 한약재에서, 두시는 약 3 ~ 5 중량부, 치자는 약 1 ~ 3 중량부, 황백은 약 5 ~ 7 중량부, 그리고 마황은 약 5 ~ 7 중량부일 수 있다.
- [0039] 다음으로, 에탄올 추출 단계가 수행된다
- [0040] 본 발명의 발명자들과 동일한 발명자들에 의한 한국등록특허 제10-2268670호에는, 혼합 한약재에 물을 혼합한 후, 80 ~ 140 ℃에서 2 ~ 3시간 동안 열수 추출하는 단계가 포함되어 있고, 이러한 열수 추출에 의해 제조된 약학 조성물의 경우, 지방 분화 억제 효과 및 지방 축적 억제 효과가 충분하지 않을 수 있다.
- [0041] 이와 비교하여, 실시예에 따라, 에탄올 추출을 수행하는 경우, 열수 추출 방식에 비해 비만 및 과체중 예방 또는 개선 효과가 현저하게 향상될 수 있다.
- [0042] 예를 들어, 열수 추출 방식에 의해 제조된 약학 조성물의 지방 분화 억제(지방 축적 억제) 효과에 비해, 에탄올 추출 방식에 의해 제조된 약학 조성물의 지방 분화 억제 효과는 약 20 % 이상 개선될 수 있다.
- [0043] 또한, 에탄올 추출 방식에 의해 제조된 약학 조성물의 지방 분화 억제 효과는, 두시의 70 % 에탄올 추출물을 포함하는 약학 조성물, 황백의 70 % 에탄올 추출물을 포함하는 약학 조성물, 치자의 70 % 에탄올 추출물을 포함하는 약학 조성물, 그리고 마황의 70 % 에탄올 추출물을 포함하는 약학 조성물 각각의 지방 분화 억제 효과에 비해 현저하게 높을 수 있다.
- [0044] 에탄올 추출은, 예를 들어, 혼합 한약재에 70 % 에탄올 용액을 첨가하여, 실온에서 약 11 ~ 13 시간 동안 2 ~ 4 침지시키는 공정을 통해 수행될 수 있다. 전술한 에탄올 용액의 농도와 침지 조건에서, 추출물 구성 성분에 대한 파괴 또는 열화 없이 추출이 더욱 효과적으로 이루어질 수 있고, 지방 분화 억제 효과 또는 지방 축적 억제 효과가 더욱 향상될 수 있다.
- [0045] 다음으로, 에탄올 추출된 추출액을 멤브레인 필터로 여과하는 단계가 수행된다. 이때, 멤브레인 필터의 평균 기공(pore) 크기는 약 0.4 ~ 0.6 μm 일 수 있고, 이러한 범위 내에서 불순물을 효과적으로 제거할 수 있고, 추출물을 효과적으로 수득할 수 있다.
- [0046] 이후, 여과된 추출물은 동결 건조되어 분말 형태로 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않고 다양한 제형을 가질 수 있다.
- [0047] 실시예에 따른 약학 조성물은 비만 및 과체중 예방 또는 개선용 약제로 사용될 수 있고, 목적하는 방법에 따라 경구 또는 비경구(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용) 어느 수단으로라도 환자에 투여될 수 있고, 투여 제형에는 특별한 제한은 없지만, 환자의 연령, 성별 또는 질환의 경중에 따라 결정될 수 있다.
- [0048] 여기서, 경구투여를 위한 고형 제제는 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 연질캡셀제, 환제 등의 제형일 수 있다. 또한 경구를 위한 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 겔제, 에어로졸 등의 제형일 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 멸균된 수용액, 액제, 비수성용제, 현탁제, 에멀전, 시럽, 좌제, 에어로졸 등의 외용제일 수 있고, 또는 멸균 주사제제의 형태로 제형화되어 사용될 수 있다. 조성물의 바람직한 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 불활성화율 및 배설속도, 환자의 연령, 성별 및 상태, 치료할 질병의 중증 정도에 따라 다르지만, 통상의 기술자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0049] 실시예에 따른 약학 조성물은 통상적으로 사용되는 부형제, 붕해제, 감미제, 활택제, 향미제 등을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 부형제로는 락토즈(lactose), 덱스트로즈(dextrose), 수크로스(sucrose), 솔비톨(solbitol), 만니톨(mannitol), 자일리톨(xylitol), 에리스리톨(erythritol), 말티톨(maltitol), 전분, 아카시아 고무, 알지네이트(alginate), 젤라틴(gelatin), 칼슘 포스페이트(calcium phosphate), 칼슘 실리케이트(calcium silicate), 셀룰로오스(cellulose), 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈(polyvinyl pyrrolidone)등의 물질이 사용될 수 있다. 붕해제로는, 예를 들어, 전분 글리콜산 나트륨(Sodium starch glycolate), 크로스포비돈(crospovidone), 알긴산(alginic acid), 카르복시메틸 셀룰로오스 칼슘(carboxymethyl cellulose calcium), 카르복시메틸 셀룰로오스 나트륨(carboxymethyl cellulose sodium)), 키토산(chitosan), 구아검(guar gum), 저치환된 히드록시프로필 셀룰로오스(hydroxypropyl cellulose), 마그네슘 알루미늄 실리케이트(magnesium aluminum silicate) 등이 이용될 수 있다.

[0050] 약학 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있다. 이때 약제학적으로 허용가능한 첨가제는, 예를 들어, 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈(povidone), 콜로이달 이산화규소(colloidal silicon dioxide), 인산수소칼슘(calcium hydrogen phosphate), 락토스(lactose), 만니톨(mannitol), 아라비아검(Arabic gum), 히드록시프로필 셀룰로오스, 전분 글리콜 산나트륨, 카르나우바 납(carbauba wax), 스테아린산(stearic acid), 스테아린산 마그네슘(magnesium stearate), 스테아린산 알루미늄(aluminum stearate), 스테아린산 칼슘(calcium stearate), 백당, 엿, 덱스트로스(dextrose), 소르비톨(sorbitol), 탈크(talc) 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 약제학적으로 허용가능한 첨가제는 약학 조성물 전체를 기준으로 약 0.1 내지 약 90 중량부 포함될 수 있다.

[0051] 약학 조성물은 투여를 위해서 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조될 수 있다. 여기서, 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로오스 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상이 혼합되어 사용될 수 있다.

[0053] 이하에서는, 실시예 및 실험예를 들어 본 발명에 대해서 더욱 상세하게 설명할 것이나, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0055] 실시예 1

[0056] 두시 약 22.2 g, 치자 약 11.1 g, 황백 약 33.3 g, 마황 약 33.3 g을 정량 후 혼합하여 혼합 한약재 약 100 g을 제조한다. 혼합 한약재에 70 % 에탄올 용액 약 1000 mL를 첨가하여, 실온에서 약 12 시간 동안 3회 침지시켜 에탄올 추출을 수행한다. 이어서 에탄올 추출액을 약 0.45 μm 의 기공(pore) 크기를 갖는 멤브레인 필터(membrane filter)로 여과하고, 여과 후 얻은 여액을 동결 건조하여 건조 분말 형태의 시료를 수득한다.

[0058] 비교예 1

[0059] 두시 약 100 g을 정량하여 단독 한약재를 제조하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 시료를 제조한다.

[0061] 비교예 2

[0062] 치자 약 100 g을 정량하여 단독 한약재를 제조하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 시료를 제조한다.

[0064] 비교예 3

[0065] 황백 약 100 g을 정량하여 단독 한약재를 제조하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 시료를 제조한다.

[0067] **비교예 4**

[0068] 마황 약 100 g을 정량하여 단독 한약재를 제조하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 시료를 제조한다.

[0070] **비교예 5**

[0071] 두시 약 22.2 g, 치자 약 11.1 g, 황백 약 33.3 g, 마황 약 33.3 g을 정량 후 혼합하여 혼합 한약재 약 100 g을 제조한다. 혼합 한약재를 부직포에 담아 약 6800 cc의 물에 혼합한 후 탕전기(일광/가압식)로 약 110 °C에서 약 2시간 30분 동안 전탕하여 열수추출 한다. 이어서 열수 추출액을 약 0.45 μm의 기공(pore) 크기를 갖는 멤브레인 필터(membrane filter)로 여과하고, 여과 후 얻은 여액을 동결 건조하여 건조 분말 형태의 시료를 수득한다.

[0073] **실험예 1 - 지방 세포 분화 억제 효과 측정 실험**

[0074] 3T3-L1 지방 전구 세포가 지방 세포로 분화하는 과정에서 지방의 축적에 대한 약학 조성물의 영향을 측정하기 위해, 실시예 1, 그리고 비교예 1 내지 5에 따라 수득한 건조 분말 형태의 시료들을 PBS에 용해시켜 Oil Red O 실험을 시행하였다. Oil Red O 실험법은 세포 내 중성 지방을 특이적으로 염색하는 방식으로 이루어지고, 공지되어 있는 방식으로 이루어졌다.

[0075] 지방 세포의 분화 유도 과정은 도 1에 나타내었다.

[0076] 먼저, 3T3-L1 세포(6×10⁶ cells/well)를 6-well에서 DMEM containing 10% BS에서 2 일 동안 유지하여, 100% confluence를 유도하였다.

[0077] 다음으로, Media를 differentiation medium(DMEM containing 10% FBS, 0.5 mM IBMX, 0.4 μg/ml dexamethasone, and 5 μg/ml insulin)으로 교체하여 2일 간 지방 분화를 유도한 후, adipocyte growth medium(DMEM supplemented with 10% FBS and 5 μg/ml insulin)로 교체하고 실시예 1, 비교예 1 내지 5에 따른 약학 조성물을 처리하고 2 일 동안 배양하였다. 여기서, 실시예 1, 비교예 1 내지 5에 따른 약학 조성물의 농도는 모두 약 200 mg/ml 이다.

[0078] 이어서, differentiation medium을 adipocyte growth medium(DMEM supplemented with 10% FBS and 5 μg/ml insulin)으로 교체하여 2일 동안 배양하였다.

[0079] 지방세포 분화 이후, Oil Red O로 염색을 진행한 후 OD_{540nm}에서 측정하였고, 측정 결과를 도 2(촬영한 이미지) 및 도 3(그래프)에 나타내었다.

[0080] 도 2 및 도 3에서, 대조군(control)은 실시예 1, 비교예 1 내지 5에 따른 약학 조성물 처리를 하지 않은 것을 의미한다. 또한, 도 2에서, AMGB-Et 는 실시예 1에 따른 약학 조성물 처리를 진행한 것을 의미하며, AMGB-W 는 비교예 5에 따른 약학 조성물 처리를 진행한 것을 의미한다.

[0082] 도 2 및 도 3을 참조하면, 실시예 1에 따른 약학 조성물(AMGB-Et)은, 비교예 1 내지 비교예 5에 따른 약학 조성물에 비해, 현저하게 높은 지방 축적 억제 효과를 나타내었다.

[0083] 구체적으로, 비교예 5(AMGB-W)에 따른 약학 조성물의 지방 축적 억제 효과에 비해, 실시예 1(AMGB-Et)에 따른 약학 조성물의 지방 축적 효과가 약 20 % 이상 높은 것으로 나타났다(도 3의 점선 참조). 또한, 실시예 1(AMGB-Et)에 따른 약학 조성물만이 유일하게, 대조군 대비 50 % 미만의 지방 분화율을 나타내었다.

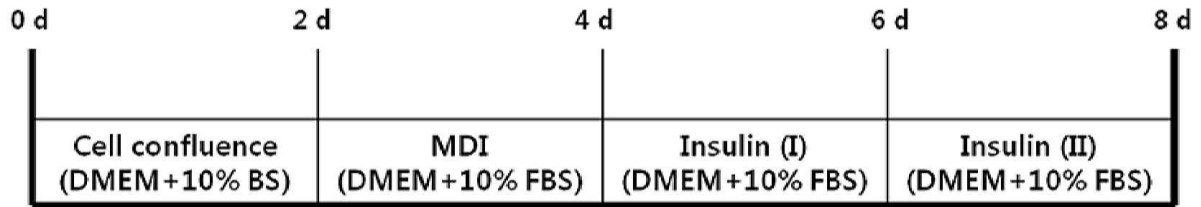
[0084] 이로부터, 혼합 한약재가 동일한 조성을 갖는다고 하더라도, 열수 추출 방식에 비해, 70 % 에탄올 추출 방식을 사용하는 경우, 지방 분화 억제 효과 또는 지방 축적 억제 효과가 현저하게 우수한 것을 파악할 수 있다.

[0086] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태

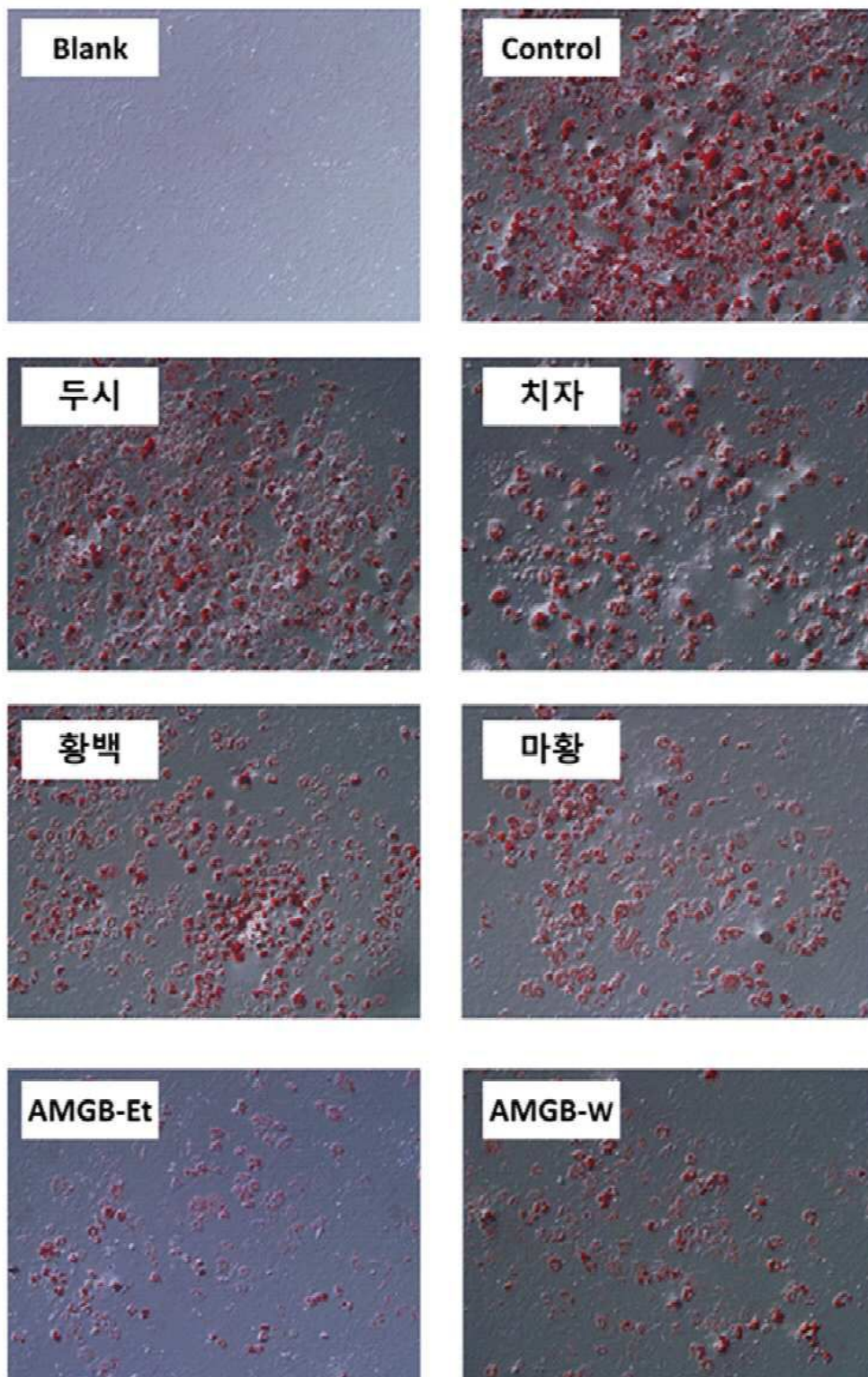
또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

