(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0020995
(43) 공개일자 2017년02월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 36/72* (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 36/72* (2013.01)
*A23L 33/105* (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0115212
(22) 출원일자 2015년08월17일
심사청구일자 2015년08월17일

(71) 출원인
**경희대학교 산학협력단**
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
**엄재영**
서울특별시 동대문구 신이문로 9, 103동 301호(이문동, 금호어울림아파트)
**김혜린**
서울특별시 성북구 북악산로29길 12, 304호(종암동, 미학)
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**위병갑**

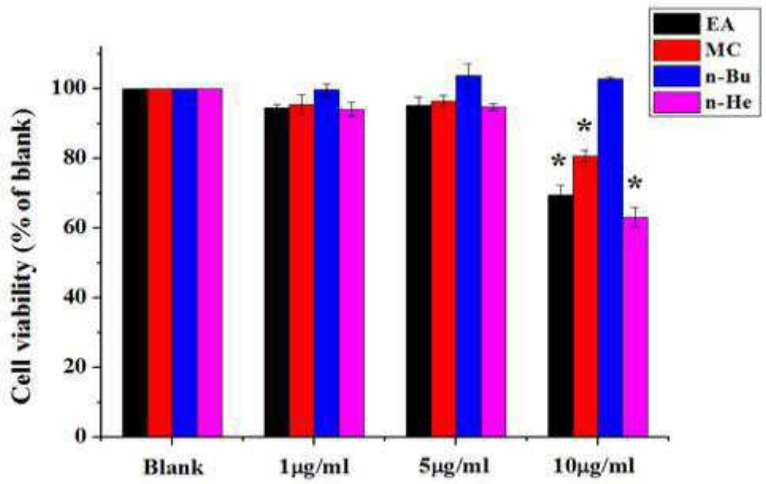
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **지구자 추출물을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물**

## (57) 요 약

본 발명은 지구자 추출물을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 약학적 조성물 또는 건강식품에 관한 것이다. 본 발명에 따른 지구자 메틸렌클로라이드 추출물은 섬유아세포로부터 유도되는 지방세포의 분화를 억제하고 지방세포 분화조절인자 유전자 또는 단백질의 발현을 억제하는 효과가 있으므로 비만 예방 및 억제용 기능성 식품, 또는 비만 및 이로 인한 성인병의 치료용 약학적 조성물로서 사용할 수 있는 효과가 있다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
*A23V 2200/332* (2013.01)
*A61K 2236/30* (2013.01)
*A61K 2236/39* (2013.01)
(72) 발명자
**박진봉**
서울특별시 도봉구 덕릉로 349, 406동 201호(창동, 창동주공4단지)
**심정은**
경기도 고양시 일산동구 무궁화로 20-38, 322호(장항동, 숨길을열다 한의원)

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

(a) 지구자(Hoveniae Semen cum Fructus)를 열수 추출 후 동결건조하는 단계;

(b) 상기 (a)단계에서 준비된 지구자 열수추출물에 메탄올을 현탁 시켜 지구자 메탄올 추출물을 수득하는 단계; 및

(c) 지구자 메탄올 추출물에 n-헥산 및 메틸렌클로라이드로 순차 분획하는 단계;를 포함하는, 지구자 메틸렌클로라이드 추출물 제조 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 (a)단계의 열수 추출은 90 ~ 100℃의 온도에서 7 ~ 9시간 가열을 두 번에 걸쳐 수행하는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

### 청구항 3

제1항의 방법으로 제조된 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

### 청구항 4

제3항에 있어서,

상기 지구자 메틸렌클로라이드 추출물은 0.1 ~ 10㎍/ml의 농도로 포함되어 있는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 5

제3항에 있어서,

상기 지구자 메틸렌클로라이드 추출물은 지방세포 분화조절인자 유전자인 PPARγ, C/EBPα, aP2, adiponectin 및 resistin의 억제능을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 6

제1항의 방법으로 제조된 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 기능성 건강식품.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 지구자 추출물을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 함유하는 항비만용 약학적 조성물 또는 건강식품에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 비만은 음식물의 섭취와 에너지의 사용의 불균형으로 초래되는 질병으로, 암, 제2형 당뇨병 및 동맥경화증 등 심각한 질병을 동반할 수 있다 (Kopelman, 2000). 최근에는 비만, 당뇨, 이상지혈증, 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. WTO는 "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. WTO는 비만의 중요 위험인자인

심혈관 질환으로 매년 1,700만 명이 목숨을 잃는다고 발표했으며, 2015년에는 지금보다 50%가 증가한 전세계 15억 명이 비만으로 심각한 고통을 받을 수 있다고 경고하고 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 liver X receptor α (LXRα), CCAAT enhancer-binding protein-α (C/EBPα), peroxisomeproliferators-activatedreceptor-γ (PPARγ), sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c)와 같은 다양한 전사인자들이 관여한다(Ntambi and and Kim, 2000; Rosen et al., 2000; Seo et al., 2004). 이러한 전사인자들은 지방조직에서 많이 발현되고 지방세포로의 분화시에 그들의 활성화는 fatty acid synthase (FAS), stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1), acetyl-CoA carboxylase-α (ACCα)와 같은 지방합성유전자들의 발현을 직접적으로 향상시켜 분화된 지방세포에 지방축적을 증가시킨다(Joseph et al., 2002; Schultz et al., 2000). 이러한 이유 때문에 항비만제를 개발하기 위하여 지방세포분화나 지방합성에 관여하는 전사인자나 유전자들의 활성을 억제시키는 천연물질을 찾기 위한 많은 연구가 진행되고 있다(Gonzalez-Espinosa de los Monteros et al., 2011; Niwano et al., 2009).

[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.

## *선행기술문헌*

### *특허문헌*

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제919,323호

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제1,326,271호

## *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

[0006] 본 발명의 목적은 (a) 지구자(Hoveniae Semen cum Fructus)를 열수 추출 후 동결건조하는 단계; (b) 상기 (a) 단계에서 준비된 지구자 열수추출물에 메탄올을 현탁 시켜 지구자 메탄올 추출물을 수득하는 단계; 및 (c) 지구자 메탄올 추출물에 n-헥산 및 메틸렌클로라이드로 순차 분획하는 단계;를 포함하는, 지구자 메틸렌클로라이드 추출물 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0007] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 방법으로 제조된 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 나아가 본 발명의 목적은 상기 방법으로 제조된 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 기능성 건강식품을 제공하는 것이다.

### *과제의 해결 수단*

[0009] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (a) 지구자(Hoveniae Semen cum Fructus)를 열수 추출 후 동결건조하는 단계; (b) 상기 (a)단계에서 준비된 지구자 열수추출물에 메탄올을 현탁 시켜 지구자 메탄올 추출물을 수득하는 단계; 및 (c) 지구자 메탄올 추출물에 n-헥산 및 메틸렌클로라이드로 순차 분획하는

단계;를 포함하는, 지구자 메틸렌클로라이드 추출물 제조 방법을 제공한다.

[0010] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 (a)단계의 열수 추출은 90 ~ 100℃의 온도에서 7 ~ 9시간 가열을 두 번에 걸쳐 수행할 수 있다.

[0011] 본 발명은 상기 방법으로 제조된 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 지구자 메틸렌클로라이드 추출물은 0.1 ~ 10㎍/ml의 농도로 포함될 수 있다.

[0013] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 지구자 메틸렌클로라이드 추출물은 지방세포 분화조절인자 유전자인 PPARγ, C/EBPα, aP2, adiponectin 및 resistin의 억제능을 가질 수 있다.

[0014] 본 발명은 상기 방법으로 제조된 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 기능성 건강식품을 제공한다.

## 발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 지구자 추출물, 또는 이로부터 분리한 분획물은 섬유아세포로부터 유도되는 지방세포의 분화를 억제하고 지방세포 분화조절인자 유전자 또는 단백질의 발현을 억제하는 효과가 있으므로 비만 예방 및 억제용 기능성 식품, 또는 비만 및 이로 인한 성인병의 치료용 약학적 조성물로서 사용할 수 있는 효과가 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 지구자 추출물에서 분리한 분획물들의 3T3-L1세포에 대한 세포독성을 나타낸 결과이다.

도 2는 지구자 추출물에서 분리한 분획물들을 3T3-L1세포에 처리한 후 세포에 축적된 지방함량을 나타낸 결과이다.

도 3은 지구자 추출물에서 분리한 분획물들 중 메틸렌클로라이드 분획 추출물과 n-헥산 분획 추출물의 다양한 농도에서 세포 내 지방축적 정도를 확인한 결과이다.

도 4는 3T3-L1 지방세포에 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 PPARγ 및 C/EBPα 의 유전자 발현 정도를 확인한 결과이다.

도 5는 비만에 관여하는 전사인자들의 발현량을 RT-PCR로 분석한 결과이다.

도 6은 3T3-L1 지방세포에 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 PPARγ 및 C/EBPα 의 단백질 발현 정도를 웨스턴 블롯 분석을 통해 측정한 결과이다.

도 7은 3T3-L1 지방세포에 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 aP2, adiponectin 및 resistin의 단백질 발현 정도를 웨스턴 블롯 분석을 통해 측정한 결과이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 발명은 지구자 추출물 또는 이로부터 분리한 분획물이 항비만 활성이 우수함을 규명한 지구자 추출물의 신규 용도에 관한 것이다.

[0018] 본 발명에서는 새로운 비만 치료제 또는 예방용 소재로서 지구자 추출물에 주목하였는데, 지구자는 흔히 헛개나무 열매(Hoveniae Semen cum Fructus)로 부르며, 한의학에서는 한약재로 많이 사용하고 있다.

[0019] 지구자는 맛이 달거나 시며, 성질은 평하고, 주로 심, 비, 폐경으로 들어가서 약효를 발휘하는데, 갈증을 그치게 하고 답답함을 없애며, 열을 맑게 하고, 술독을 풀어주며, 대변과 소변을 통하게 하는 효능을 지니고 있다. 지구자에 대한 최초의 문헌은 당대唐代에 『신수본초新修本草』로, “지구미감평무독주두풍소복물급枳味甘平無毒主頭風小腹物急”이라고 언급하고 있다. 또한, 당대唐代 『식료본초食療本草』에서는 “다식발회충多食發蛔蟲”이라고 기록 되어있는 지구자의 부작용副作用에 대한 설명도 하고 있다. 또한, 지구자는 성미性味가 감甘 혹은 감산평甘酸平하며, 귀경歸經은 주로 심비경心脾經, 폐경肺經으로 입入하며[26], 지갈제번止渴除煩, 청열淸熱, 해주독解酒毒, 리대소변利大小便하여 취주醉酒, 열병소갈熱病消渴, 번갈煩渴, 구토대소변불리嘔吐大小便不利를 치료治療한다.

[0020] 지구자에 대한 현대의 연구 결과로는 과음의 부작용으로 나타나는 황달, 지방간, 간 경화증, 위장병 및 대장염 등의 간 기능 보호에 효능이 뛰어나며, 알코올 분해 및 간 기능 회복에 효과가 있다는 보고가 있고, 항산화 및 항균작용을 나타낸다는 연구결과도 있다. 하지만 지구자에 항비만 효과가 있다는 내용에 대해서는 알려진 바가 없다.

[0021] 본 발명자들은 지구자 추출물에 항비만 활성이 있다는 것을 본 발명의 일실시예를 통해 확인하였는데, 일실시예에 의하면, 3T3-L1 지방세포에 각 분획을 처리하여 지방축적 억제 정도를 측정한 결과, 분획 중 methylene chloride와 n-hexane이 5 μg/ml에서 지방축적 억제 효과가 좋음을 알 수 있었다(도 2 참조). 상기의 결과를 기초로 하여, 지구자 분획 중 methylene chloride, n-hexane 분획의 다양한 농도에서 지방 축적 억제 효과를 Oil red O 염색법을 통해 확인한 결과, methylene chloride와 n-hexane 분획 모두 5 μg/ml의 농도에서 지방 축적 억제효과가 있는 것을 확인하였으며, 특히 지구자 methylene chloride 분획의 억제 효과가 탁월한 것을 확인하였다(도 3 참조). 이러한 항비만 효과 정도는 지구자 메틸렌 클로라이드 분획 추출물에서 모두 나타났지만, 특히 5 μg/ml의 농도에서 가장 높은 활성을 보인다.

[0022] 따라서 지구자 추출물, 특히 지구자 메틸렌 클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 비만을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0023] 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.

[0024] 본 발명에서 '예방'은 본 발명의 조성물의 투여로 비만을 억제시키거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0025] 본 발명에서 '개선'은 본 발명의 조성물의 투여로 비만의 증상이 호전 또는 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0026] 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.

[0027] 본 발명에서 사용되는 용어 '투여'는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0028] 본 발명에서 사용되는 용어 '개체'는 본 발명의 조성물을 투여하여 비만의 증상이 호전될 수 있는 질환을 가진 인간, 원숭이, 개, 염소, 돼지 또는 쥐 등의 모든 동물을 의미한다.

[0029] 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.

[0030] 본 발명에 따른 지구자 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 '추출물' 은 적절한 용매를 이용하여 지구자로부터 추출한 것이며, 예를 들어, 지구자 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 모두 포함할 수 있다.

[0031] 상기 지구자로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 이에 제한되지 않으나, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다. 그러나, 가장 바람직하게는 메틸렌클로라이드 용매를 사용할 수 있다.

[0032] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 지구자 추출물의 제조방법

에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.

[0033] 예를 들면, 본 발명의 조성물에 포함되는 지구자 추출물은 상기한 열수 추출 또는 용매 추출법으로 추출된 1차 추출물을, 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수 있다. 또한 상기 1차 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획을 얻을 수도 있다.

[0034] 따라서 본 발명에 있어서 지구자 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.

[0035] 본 발명에서 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물은 상기 기재된 바와 같이 공지되어 있는 어떠한 방법을 사용하여 제조하여도 무방하나, 가장 바람직하게는 (a) 지구자(Hoveniae Semen cum Fructus)를 열수 추출 후 동결건조하는 단계; (b) 상기 (a)단계에서 준비된 지구자 열수추출물에 메탄올을 현탁 시켜 지구자 메탄올 추출물을 수득하는 단계; 및 (c) 지구자 메탄올 추출물에 n-헥산 및 메틸렌클로라이드로 순차 분획하는 단계;를 포함하는 방법으로 제조된 것이다.

[0036] 상기 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 약제학적 조성물이나 식품 조성물로 사용될 수 있다.

[0037] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0038] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0039] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다. 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.

[0040] 본 발명의 일실시예에 있어서, 본 발명의 지구자 추출물은 조성물에 10 내지 100㎍/ml의 농도로 포함될 수 있으며, 또한 본 발명의 지구자 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.1 ~ 95중량%로 포함될 수 있다.

[0041] 본 발명의 약제학적 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.

[0042] 본 발명의 조성물은 또한 식품 조성물일 수 있는데, 특히 본 발명에 따른 지구자 추출물은 세포와 마우스에 독성을 유도하지 않음을 일실시예를 통해 확인할 수 있었다. 따라서 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 지구자 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0043] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스,

슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0044] 본 발명의 식품 조성물은 상기 약제학적 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.

[0045] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (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 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0046] 본 발명의 유효성분인 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물은 천연물질로서 화학약품과 같은 부작용은 거의 없으므로 비만 질환의 예방 또는 치료를 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다.

[0047] 본 발명은 또한 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 질환 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0048] 본 발명의 건강기능식품은 비만 질환 개선을 목적으로, 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.

[0049] 본 발명에서 “건강기능식품”이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0050] 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.

[0051] 상기 “식품 첨가물 공전”에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다.

[0052] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다.

[0053] 캅셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캅셀제는 통상의 경질 캅셀에 본 발명의 유효성분인 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질 캅셀제는 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0054] 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 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.

[0055] 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0056] 본 발명의 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 건강기능식품은 하기 실시예에서도 확인한 바와 같이 세포독성이 없으며, 지방세포 분화 및 지방 생성 억제효과를 가지기 때문에 비만 질환의 개선 및 치료에 효과적이다.

[0057] 상기 건강기능식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.

[0058] 또한 본 발명은 포유동물에게 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 투여하는 것을 포함하는 비만 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0059] 여기에서 사용된 용어 "포유동물"은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.

[0060] 여기에서 사용된 용어 "치료상 유효량"은 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 임상에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 치료방법에 있어서, 성인의 경우, 본 발명의 지구자 추출물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.01mg/kg~250mg/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.

[0061] 본 발명의 치료방법에서 본 발명의 지구자 추출물 또는 지구자 메틸렌클로라이드 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

[0062] 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 하기 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0063] **<실시예 1>**

[0064] **실험재료 준비**

[0065] 본 발명의 실험에 사용한 지구자 물 추출물은 (주) 새롬(전남 장흥군)에서 제공받아 사용하였다. 추출 조건은 다음과 같다. 지구자 100 kg에 1000 L 물을 넣고 95 ℃ 이상에서 8 시간 가열한 후, 물을 제거하고 남은 지구자에 다시 500 L 물을 넣고 95 ℃ 이상에서 8시간 가열 추출하고 두 추출 용액을 합쳐서 동결 건조하였다. 지구자 열수 추출물의 수득률은 6%였다. 분획을 위해서 물 추출물 30 g에 10% MeOH 300 mL로 현탁한 다음 n-hexane(400 mL × 3), methylene chloride(400 mL × 3), ethyl acetate(400 mL × 3)와 n-butanol(400 mL × 3)을 순차적으로 가하여 추출 분획물을 얻었다. 각각의 분획물은 감압 농축한 후 Centrifugal Evaporator (EYELA, Japan)를 이용하여 최종 분획물을 얻은 후, DMSO(dimethyl sulfoxide, $(CH_3)_2SO$)에 녹여서 실험에 사용하였다.

[0066] **<실시예 2>**

[0067] **실험방법**

[0068] **<2-1> 세포 독성 검사**

[0069] 세포 생존율의 측정을 위해 지방전구세포(preadipocyte)인 3T3-L1 세포를 96 well plate에 $2 \times 10^4$ cell/well로 분주하여 24 시간 배양한 후 농도 별로 희석한 네 개의 지구자 분획(ethyl acetate, methylene chloride, n-butanol, n-hexane)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 μl씩 첨가한 후 37 ℃, 5% $CO_2$배양기에서 4 시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 ELISA reader로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0070] **<2-2> 세포 배양 및 분화**

[0071] 지방전구세포인 3T3-L1세포를 세포 배양액 10% bovine serum (BS)과 페니실린/스트렙토마이신/글루타민(P/S/G) 항생제(antibiotics)가 포함된 Dulbecco's modified Eagle's media(DMEM)를 사용하여 37 ℃, 5% $CO_2$배양기에서 배양하였다. 2-3일 간격으로 배양세포에 1 × PBS로 씻어낸 다음, 0.25% 트립신(trypsin) 500 μl 를 처리하여 세포를 탈착시켜 계대 배양하였다.

[0072] 지방전구세포를 지방세포로 분화유도하기 위하여 10% fetal bovine serum (FBS) 이 포함된 DMEM 배지에 분화유도 물질인 인슐린(1 μg/ml), DEX(1 μM), IBMX (0.5 mM)가 함유된 분화유도 배양액으로 교환하여 2일간 배양하였다. 배양 2일 후 인슐린만 함유하는 배지로 교환하고 지구자에서 추출된 분획을 처리하여 2일간 배양하고, 다시 인슐린만 함유한 배지로 교환한 후 2일간 배양한 다음 배양액은 버리고 남아있는 세포를 회수하여 실험에 사용하였다.

[0073] **<2-3> Oil Red O 염색**

[0074] 지방세포로 분화된 세포내의 지방을 염색하여 분화 정도를 측정하였다. 세포를 10% 포름알데하이드(formaldehyde)로 1시간 동안 고정시킨 후 60% 이소프로파놀(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% 이소프로파놀로 용해한 뒤, 500 nm에서 흡광도를 측정하여 지방세포의 분화 정도를 측정하였다.

[0075] **<2-4> RNA 추출과 real-time RT-PCR**

[0076] 지방세포를 분화시켜 약물을 농도 별로 처리 한 후, QIAzol lysis reagent를 사용하여 RNA를 추출하였다. 각각의 실험군에서 얻어진 2 μg의 RNA를 template로 하여, power cDNA synthesis kit(iNtRON Biotechnology, Seongnam, Kyunggi, Korea)를 사용하여 single stranded cDNA를 제조하였다. DNA를 특이적으로 증폭하는 PPARγ, C/EBPα, aP2, adiponectin, resistin의 primers를 넣어 real-time RT-PCR(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 mRNA의 발현 정도를 분석하였다. 실험에 사용한 primer들은 표 1에 나타내었다.

[표 1] 본 발명에 사용한 프라이머 서열

| Genes | 5' to 3' Oligonucleotide Sequences |
|---|---|
| Mouse PPARγ | |
| Sense (Forward) | TTT TCA AGG GTG CCA GTT TC |
| Antisense (Reverse) | TTA TTC ATC AGG GAG GCC AG |
| Mouse C/EBPα | |
| Sense (Forward) | GCC GAG ATA AAG CCA AAC AA |
| Antisense (Reverse) | CCT TGA CCA AGG AGC TCT CA |
| Mouse aP2 | |
| Sense (Forward) | CGTAAATGGGGATTTGGTCA |
| Antisense (Reverse) | TCGACTTTCCATCCCACTTC |
| Mouse Adiponectin | |
| Sense (Forward) | AGACCTGGCCACTTTCTCCTCATT |
| Antisense (Reverse) | AGAGGAACAGGAGAGCTTGCAACA |
| Mouse Resistin | |
| Sense (Forward) | TTCCTTGTCCCTGAACTGCT |
| Antisense (Reverse) | AGCTCAAGACTGCTGTGCCT |
| Mouse GAPDH | |
| Sense (Forward) | AAC TTT GGC ATT GTG GAA GG |
| Antisense (Reverse) | GGA TGC AGG GAT GAT GTT CT |

[0077]

[0078] **<2-5> 단백질 추출과 웨스턴 블롯팅**

[0079] 지방세포를 분화시켜 약물을 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 phenylmethysulphonyl fluoride]로 용해시킨 다음, 단백질을 분리하였다. 분리된 단백질(15 μg)을 sample buffer(62.5 mM Tris-HCl pH 6.8, 2% SDS, 20% glycerol, 10% 2-mercaptoethanol)와 함께 섞고 95 ℃에서 5분간 반응시켰다. 그 후에 10-12% SDS-polyacrylamide(PAGE) gel에 전기영동 한 다음 polyvinyl difluoride(PVDF) membrane에 transfer 하였다. 5% 탈지유(skim milk)로 블락킹(blocking)한 후 여러 가지 1차 항체(PPARγ, C/EBPα, aP2, adiponectin, resistin)를 부착시켜 밤새 냉장실에서 반응 시킨 다음, 부착된 1차 항체와 맞는 2차 항체로 1시간이상 반응시키고 ECL용액(Amersham Bioscience, Piscataway, NJ, USA)을 사용하여 목적 단백질을 확인하였다.

[0080] **<2-6> 통계분석**

[0081] 실험 결과는 각 실험에 대한 평균값 ± S.E.M.으로 표기하였고, 각 그룹간의 차이를 결정하기 위한 통계 분석은 *t*-test를 이용하였다. $p<0.05$의 결과를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 모든 통계분석은 SPSS v 20 statistical analysis software를 이용하였다.

[0082] **<실시예 3>**

[0083] **세포독성 시험 결과**

[0084] 실험에 사용된 지구자로부터 추출된 ethyl acetate, methylene chloride, n-butanol, n-hexane 분획이 지방세포의 생존율에 미치는 영향을 관찰하기 위해 MTS assay를 진행하였다.

[0085] 그 결과 ethyl acetate, methylene chloride, n-butanol, n-hexane 추출분획은 5 μg/ml까지 세포독성이 없음을 확인하였고, n-butanol은 10 μg/ml까지 세포독성이 없음을 확인하였다. 한편, ethyl acetate, methylene chloride, n-hexane 추출분획은 10 μg/ml에서 세포독성을 나타냄을 확인하였다(도 1 참조).

[0086] **<실시예 4>**

[0087] **지방세포 분화 억제 효과**

[0088] 본 발명자들은 지구자에서 추출된 4가지 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), n-부탄올(n-butanol), n-헥산(n-hexane) 분획을 3T3-L1 지방세포에 처리 후 지방세포 분화억제 정도를 측정하였다. 분화 억제 정도는 Oil Red O 측정법을 통하여 확인하였고, 지방세포 분화인자 발현 정도는 real-time RT-PCR, Western blot을 통해 확인하였다.

[0089] **<4-1> 지구자 분획의 3T3-L1 지방전구세포 지방축적 억제 효과**

[0090] Oil Red O 염색법을 통하여 지구자 분획의 지방축적 억제 정도를 측정하였다. 3T3-L1 지방세포에 각 분획을 처리하여 지방축적 억제 정도를 측정한 결과, 분획 중 메틸렌 클로라이드(methylene chloride)와 n-헥산(n-hexane)이 5 μg/ml에서 지방축적 억제 효과가 보임을 확인하였다(도 2 참조).

[0091] 또한, 상기의 결과를 기초로 하여, 지구자 분획 중 methylene chloride, n-hexane 분획의 다양한 농도에서 지방축적 억제 효과를 Oil red O 염색법을 통해 확인한 결과, methylene chloride와 n-hexane 분획 모두 5 μg/ml의 농도에서 지방 축적 억제효과가 있는 것을 확인하였으며, 특히 지구자 methylene chloride 분획의 억제 효과가 탁월한 것을 확인하였다(도 3 참조). 따라서 이후의 지방조절인자 관련 실험은 지구자 메틸렌 클로라이드 분획(methylene chloride extract from the Hoveniae Semen cum Fructus, MHF)으로 시행하였다.

[0092] **<4-2> MHF의 지방세포 분화조절인자 유전자 발현 억제 효과**

[0093] 지방전구세포에서 지방세포로 분화되는 adipogenesis 과정은 많은 종류의 adipogenic transcription factor들의 단계적인 조절에 의하여 유발되는 것으로 알려져 있으며 이러한 분화과정에서 가장 핵심적인 역할을 하는 것이 PPARγ와 C/EBPα이다. 이러한 전사인자들은 호르몬과 같은 분화유도물질에 의해 촉진되어 지방전구세포를 성숙지방세포로 분화시킨다. PPARγ와 C/EBPα의 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.

[0094] Real-time RT-PCR 실험 결과, 3T3-L1 지방세포에 MHF를 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 PPARγ, C/EBPα의 유전자 발현 정도를 측정한 결과, MHF를 처리하였을 때 모든 농도에서 PPARγ와 C/EBPα의 유전자 발현 억제 효과가 나타났지만 특히 5 μg/ml의 농도에서 PPARγ와 C/EBPα의 유전자 발현이 가장 효과적으로 억제 가능함을 알 수 있었다(도 4 참조).

[0095] 또한 aP2, adiponectin, resistin 역시 5 μg/ml의 MHF에 의해 mRNA 발현이 가장 효과적으로 억제됨을 알 수 있었다(도 5 참조).

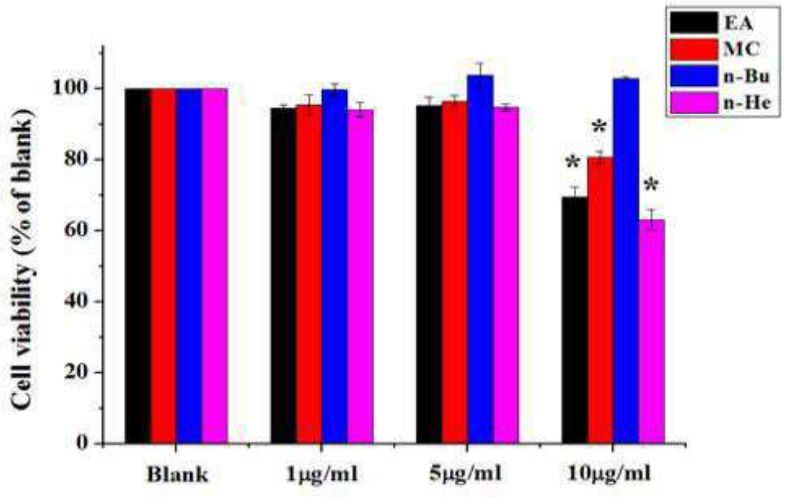
[0096] **<4-3> MHF의 지방세포 분화조절인자 단백질 발현 억제 효과**

[0097] 3T3-L1 지방세포에 MHF를 처리하여 지방세포 분화조절 인자인 PPARγ, C/EBPα, aP2, adiponectin, resistin의 단백질 발현 정도를 Western blot analysis를 통해 측정한 결과, 단백질 level에서도 역시 MHF에 의한 PPARγ, C/EBPα, aP2, adiponectin, resistin 발현억제 효과를 확인하였고, 모든 인자에서 MHF 5 μg/ml 에서 1 μg/ml 보다 유의성 있게 발현이 억제됨을 알 수 있었다(도 6 및 7 참조).

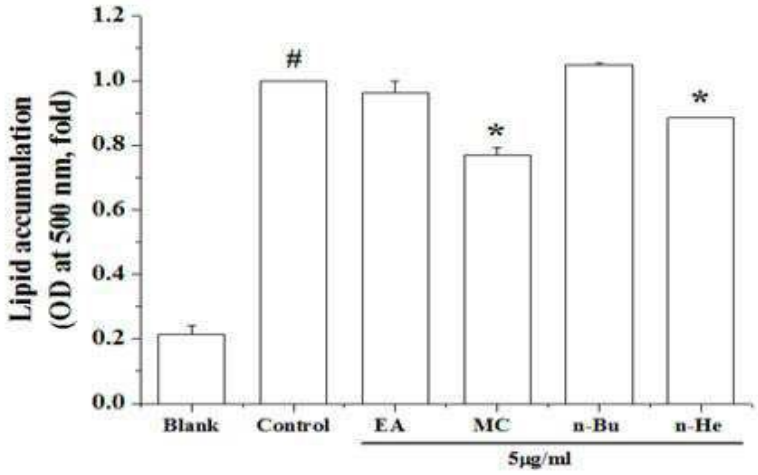
[0098] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

## 도면

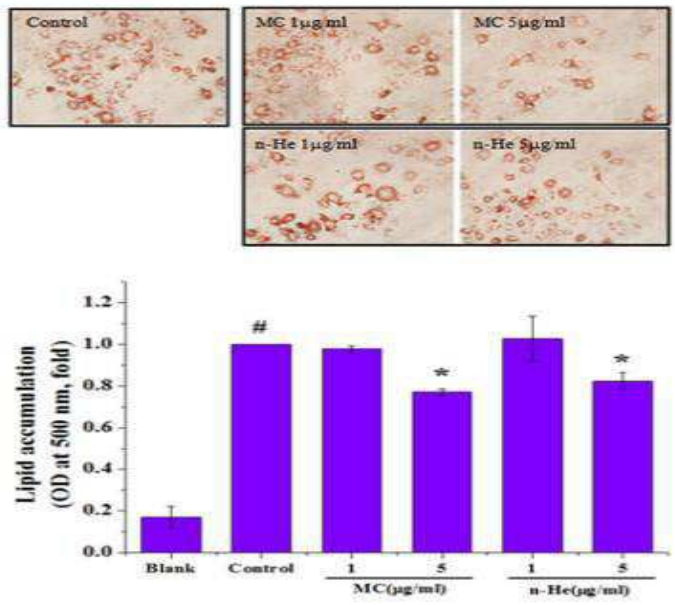
### 도면1



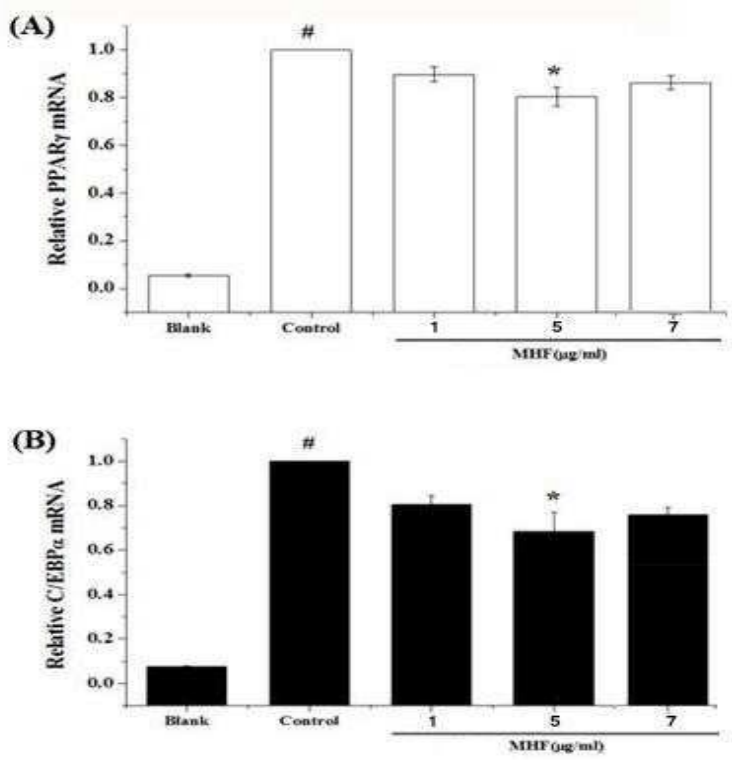
도면2


Lipid accumulation
(OD at 500 nm, fold)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
#
*
*
Blank
Control
EA
MC
n-Bu
n-He
5μg/ml

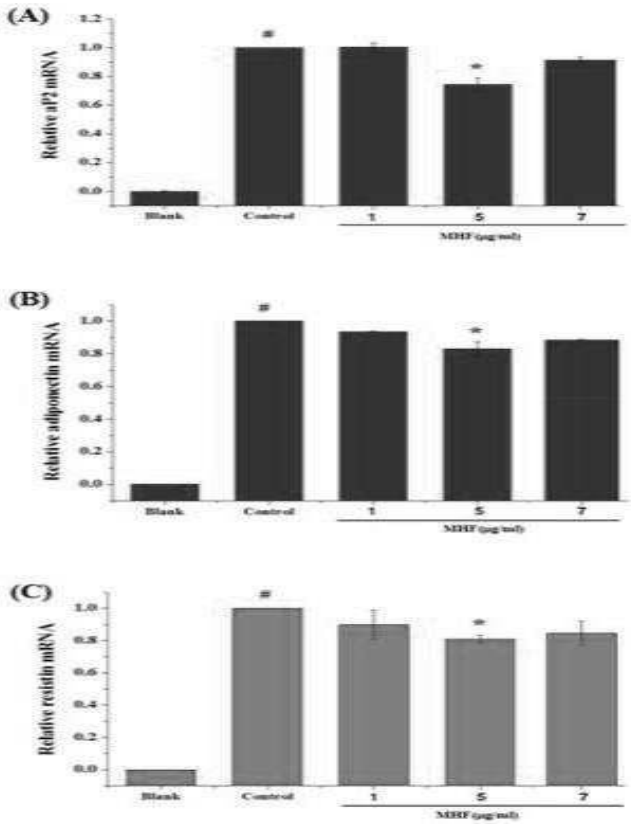
도면3


Control
MC 1μg/ml
MC 5μg/ml
n-He 1μg/ml
n-He 5μg/ml
Lipid accumulation
(OD at 500 nm, fold)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
#
*
*
Blank
Control
1
5
1
5
MC(μg/ml)
n-He(μg/ml)

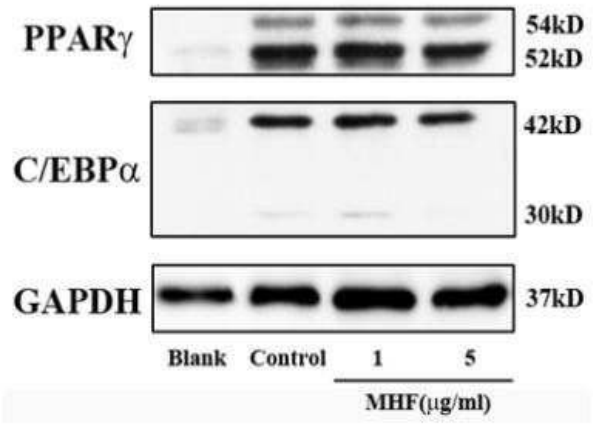
도면4


(A)
Relative PPARγ mRNA
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
#
*
Blank
Control
1
5
7
MHF(μg/ml)
(B)
Relative C/EBPα mRNA
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
#
*
Blank
Control
1
5
7
MHF(μg/ml)

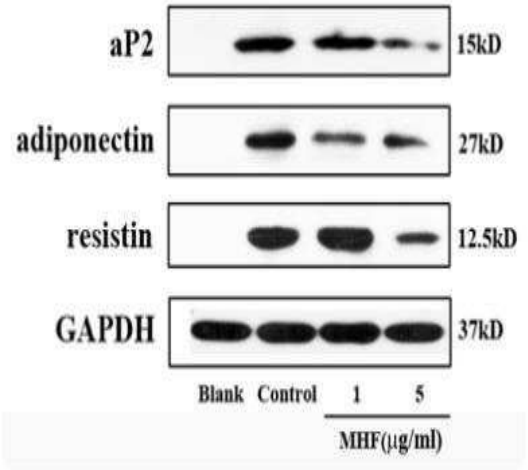
도면5


(A)
(B)
(C)

도면6


PPARγ
54kD
52kD
C/EBPα
42kD
30kD
GAPDH
37kD
Blank
Control
1
5
MHF(μg/ml)

도면7


aP2
15kD
adiponectin
27kD
resistin
12.5kD
GAPDH
37kD
Blank
Control
1
5
MHF(μg/ml)