



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2010-0067299

(43) 공개일자

2010년06월21일

(51) Int. Cl.

A61K 36/17 (2006.01) A61K 36/284 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

(21) 출원번호

10-2008-0125788

(22) 출원일자

2008년12월11일

심사청구일자

2008년12월11일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내

(72) 발명자

이재동

서울특별시 강남구 대치동 대치삼성아파트 103동 1101호

류봉하

경기도 용인시 수지구 죽전2동 838-1 벽산첼시빌 1002동 1101호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 비만억제용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 마황(麻黃), 석고(石膏) 및 창출(蒼朮)의 혼합 생약재 추출물 및 다엽(茶葉) 추출물의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는 비만억제용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출되는 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물은 고지방식으로 인한 체중 증가를 억제하고, 사료 및 식수 소비량을 감소시키고, 혈액 내 중성지방의 농도를 감소시킴으로써 비만억제용 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

(72) 발명자

김남재

서울특별시 도봉구 방학동 ESA아파트 105동 802호

최혁재

서울특별시 도봉구 방학동 701-15 거성학마을아파트 103동 1503호

최도영

경기도 광주시 오포읍 신현리 현대모닝 1차 아파트 204-1502

특허청구의 범위

청구항 1

마황(麻黃) 6 중량부, 석고(石膏) 8 중량부 및 창출(蒼朮) 4 중량부로 구성되는 혼합 생약재 추출물 10 중량부 및 다엽(茶葉) 추출물 8 중량부로 구성되는 혼합물을 유효성분으로 함유하는 비만억제용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 추출은 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출하는 것을 특징으로 하는 비만억제용 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 알코올은 C₁ 내지 C₄ 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 비만억제용 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 하는 비만억제용 조성물.

청구항 5

제 1항 내지 제 5항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 비만은 고지방식이에 기인하는 것을 특징으로 하는 비만억제용 조성물.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중의 어느 한 항에 있어, 유효성분으로서 에페드린을 전체 조성물 중 유효성분을 기준으로 0.1 내지 1.5중량%를 함유하는 것을 특징으로 하는 비만억제용 조성물.

청구항 7

제 1항 내지 제 5항 중의 어느 한 항에 있어, 유효성분으로서 카페인을 전체 조성물 중 유효성분을 기준으로 0.2 내지 3.0중량%를 함유하는 것을 특징으로 하는 비만억제용 조성물.

청구항 8

제 1항 내지 제 5항 중의 어느 한 항에 있어, 유효성분으로서 폴리페놀을 전체 조성물 중 유효성분을 기준으로 0.1 내지 0.5중량%를 함유하는 것을 특징으로 하는 비만억제용 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

본 발명은 비만억제용 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 일반적으로 비만은 체지방이 필요이상으로 축적되어 있는 상태를 말하며, 섭취한 열량 중 소모되고 남는 것이 지방으로 전환되어 체내의 여러 부분 특히 피하조직과 복강 내에 축적되기 때문이다. 비만은 성인이 되어 형성되기도 하나 대부분 식습관이 형성되는 소아기의 비만 또는 체중과다가 성인이 되어서도 지속된다. 최근 우리나라도 경제발전으로 생활양식이 편리해지고 식생활이 서구화되어 동물성 식품의 섭취가 늘어나고 지방의 섭취량이 증가함에 따라 체중과다 또는 비만이 점차 늘어나는 추세이다. 비만은 여러 퇴행성 질환인 당뇨병, 고지혈증, 고혈압 또는 동맥경화 등의 원인이 된다.
- [0003] 마황(麻黃)은 다년생 관목양 초본식물로서 초마황, 목적마황, 중마황 이라고 부르며, 학명은 *Ephedrae Herba*로서 채취시키는 추분 전후에 녹색의 가는 가지를 베어, 그늘에 말린 후 썰어서 사용하거나 쥘어서 사용한다.
- [0004] 석고(石膏)란 황산칼슘의 이수화물로 이루어진 석회질로서 흔히 무색이지만 불순물이 섞이어 회색, 황색, 붉은색을 띠기도 한다. 열을 가하여 소석고로 사용하며 하얀돌가루로서, 한방에서는 청열제, 소염제, 해열에 사용한다.
- [0005] 창출(蒼朮)은 한방에서 당삼주(*Atractylis chinensis*)의 뿌리를 이르는 말로써, 소화 불량, 설사, 수종 따위에 쓴다.
- [0006] 다엽(茶葉)은 생약으로 사용되는 녹차의 잎으로, 상기 녹차는 중국 및 일본 원산으로 우리 나라 남부지방의 각지에서 재배되는 상록관목이다. 성분으로 카페인, 탄닌, 비타민, 엽록소 등이 있으며, 약효로는 한방에서 강심, 이뇨, 흥분, 수렴약으로 사용한다. 특히 술 마신 다음날 머리가 무거울 때 마시면 숙취가 풀린다고 알려져 있다.
- [0007] 한편, 기존에 의학적으로 효능과 안정성이 입증된 적이 있는 일부 체중 조절용 약성분이 최근에는 치명적인 부작용을 유발하는 것으로 알려지면서, 그 사용에 대한 규제가 이루어지고 있다. 그 중에서 에페드린은 신경 및 심장 활동을 활성화시키는 자극물질로서 심장마비나 발작과 조울증, 망상, 불면증, 가슴 두근거림, 두통 등의 부작용을 유발할 수 있다는 보고가 나오고 있다. 그러나, 상기 부작용을 예방하기 위한 안전한 사용량 범위는 아직 알려진 바가 없었다. 특히, 어느 정도의 양을 사용해야만 상기 부작용 없이 안전하면서도 체중조절효과를 볼 수 있는지에 대해서는 구체적으로 알려진 바가 없었다.
- [0008] 이에, 본 발명자들은 혼합 생약재의 다양한 생리활성 연구를 수행하던 중, 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물이 고지방식이에 기인하는 비만의 치료에 현저한 효과를 나타내고 독성을 나타내지 않음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0009] 본 발명의 목적은 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 비만억제용 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- [0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 마황(麻黃) 6 중량부, 석고(石膏) 8 중량부 및 창출(蒼朮) 4 중량부로 구성되는 혼합 생약재 추출물 10 중량부 및 다엽(茶葉) 추출물 8 중량부로 구성되는 혼합물을 유효성분으로 함

유하는 비만억제용 조성물을 제공한다.

[0011] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0012] 본 발명의 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물은 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 1 내지 20 중량부 및 다엽 추출물이 1 내지 16 중량부로 구성되는 것이 바람직하며, 혼합 생약재 추출물 1 내지 10 중량부 및 다엽 추출물이 1 내지 8 중량부로 구성되는 것이 더욱 바람직하며, 혼합 생약재 추출물 10 중량부 및 다엽 추출물이 8 중량부로 구성되는 것이 가장 바람직하다.

[0013] 본 발명의 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물은

[0014] 1) 건조한 마황, 석고 및 창출을 분말로 만든 후 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0015] 2) 단계 1)의 추출물을 식힌 후 여과하는 단계; 및

[0016] 3) 단계 2)의 추출물을 감압농축한 후 동결건조하는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0017] 상기 제조방법에 있어서, 단계 1)의 마황, 석고, 창출 및 다엽은 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 마황, 석고 및 창출은 각각 마황 1 내지 12 중량부, 석고 1 내지 16 중량부, 및 창출 1 내지 8 중량부로 구성되는 것이 바람직하며, 마황 6 중량부, 석고 8 중량부, 및 창출 4 중량부로 구성되는 것이 더욱 바람직하다.

[0018] 또한 본 발명의 다엽 추출물은

[0019] 1) 건조한 다엽을 분말로 만든 후 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0020] 2) 단계 1)의 추출물을 식힌 후 여과하는 단계; 및

[0021] 3) 단계 2)의 추출물을 감압농축한 후 동결건조하는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0022] 상기 제조방법에 있어서, 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물인 것이 바람직하고, 상기 알코올로는 C₁ 내지 C₄ 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출용매를 건조된 마황, 석고 및 창출 또는 다엽의 총분량에 5 내지 15배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 10배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 추출온도는 80 ~ 120℃인 것이 바람직하며, 100℃인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 3 ~ 10시간이 바람직하며, 5시간이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 아울러, 추출 회수는 1 내지 4회인 것이 바람직하며, 3회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0023] 상기 제조방법에 있어서, 단계 3)의 감압농축은 감압농축기를 이용하는 것이 바람직하고 회전진공농축기를 이용하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 감압농축은 20 ~ 60℃에서 농축하는 것이 바람직하고 20 ~ 40℃에서 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 동결건조는 동결건조기를 이용하는 것이 바람직하고 진동동결건조기를 이용하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 동결건조는 -50 ~ -100℃에서 건조하는 것이 바람직하고 -70℃에서 건조하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0024] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물은 1:08의 비율로 혼합되었을 때 혼합 생약재 추출물만 투여된 군 뿐만 아니라, 1:02의 비율로 혼합된 군보다도 높은 체중 증가억제율을 나타내었다(표 4 참조). 또한, 상기 1:08의 비율로 혼합된 혼합물을 1.5 g/kg 씩 투여하였을 때, 혼합 생약재 추출물만 투여된 군 뿐만 아니라, 1.0 g/kg 씩 투여된 군보다 높은 고지방식이 섭취에 기인한 체중 증가의 억제율을 나타내었다(표 5 참조). 또한, 사료 및 식수소비량을 억제하였으며(표 6 및 표 7 참조), 식욕 억제효과도 약효발현(체중증가억제)에 작용하였음을 알 수 있었다. 또한, 지방간의 지표인 중성지방 농도를 유의하게 감소시켰다(표 8 참조). 아울러, 본 발명의 혼합물은 고지방식이로 기인한 체중증가를 효과적으로 억제하며, 독성을 나타내지 않으므로(표 9 참조), 비만억제용 조성물로 효율적으로 이용될 수 있다.

- [0025] 본 발명의 조성물은 상기 성분에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 본 발명의 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약제 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물을 0.0001 내지 10 중량%로, 바람직하게는 0.001 내지 1 중량%를 포함한다.
- [0026] 또한, 유효성분으로서 에페드린을 전체 조성물 중 유효성분을 기준으로 0.1 내지 1.5중량%를, 카페인을 전체 조성물 중 유효성분을 기준으로 0.2 내지 3.0중량%를, 폴리페놀을 전체 조성물 중 유효성분을 기준으로 0.1 내지 0.5중량%를 함유한다.
- [0027] 상기 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약제 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다.
- [0028] 즉, 본 발명의 혼합물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 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 본 발명의 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴, 덱스트린(Dextrin) 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 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, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0029] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 허용가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이드알실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엷, 아라비아고무, 전산화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 덱스트로스, 소르비톨, 탈크 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적으로 허용가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1~90 중량부 포함되는 것이 바람직하다.
- [0030] 또한, 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하다.
- [0031] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 혼합 생약제 추출물의 양을 기준으로 0.1 내지 100 mg/kg 이고, 바람직하게는 30 내지 86 mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 50 내지 60 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 조성물은 비만억제를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

효 과

- [0033] 본 발명의 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약제 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물은 고지방식으로 인한 체중 증가를 억제하고, 사료 및 식수 소비량을 감소시키고, 혈액 내 중성지방의 농도를 감소시킴으로써 비만억제용 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0034] 이하, 본 발명을 실시예, 비교예, 실험예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.
- [0035] 단, 하기 실시예, 비교예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시

예, 실험에 및 제제에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0036] <실시예 1> 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물의 제조

[0037] <1-1> 물 추출물의 제조

[0038] 경희한약(강원 원주시)에서 구입한 마황 6 g, 석고 8 g 및 창출 4 g을 둥근 플라스크에 넣고 물을 생약재의 4배수를 가하여 100℃에서 2시간 동안 환류추출하였다. 상기 추출액을 온시(溫時)에 감압 여과하였다. 상기 추출액을 80℃에서 감압 농축한 후, 50 ml의 증류수에 용해시킨 후 -70℃에서 동결건조시켜 분말(수율 15.3%)을 얻었다.

[0039] <1-2> 50% 에탄올 추출물의 제조

[0040] 추출용매로 물 대신 50% 에탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <1-1>의 추출방법과 동일하게 추출하여 분말(수율 20.0%)을 얻었다.

[0041] <1-3> 80% 에탄올 추출물의 제조

[0042] 추출용매로 물 대신 80% 에탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <1-1>의 추출방법과 동일하게 추출하여 분말(수율 16.7%)을 얻었다.

[0043] <1-4> 95% 에탄올 추출물의 제조

[0044] 추출용매로 물 대신 95% 에탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <1-1>의 추출방법과 동일하게 추출하여 분말(수율 9.6%)을 얻었다.

[0045] <1-5> 50% 메탄올 추출물의 제조

[0046] 추출용매로 물 대신 50% 메탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <1-1>의 추출방법과 동일하게 추출하여 분말(수율 18.0%)을 얻었다.

[0047] <1-6> 에페드린(ephedrine) 함량의 측정

[0048] 혼합추출물 1그램을 정밀하게 달아 메탄올 20 ml에 녹인 다음 30분간 초음파처리로 유효성분을 추출했다. 고속 액체크로마토그래피 기기(Waters, USA)를 이용하여 에페드린 함량을 측정하였으며, 이 때 칼럼은 Nucleosil® C18(MACHERY-NAGEL GmbH & Co. KG, 독일)을 사용하였다. 액체 이동상은 라우릴 황산 나트륨의 1→128 용액 : 아세트오니트릴 : 인산의 비율이 640 : 360 : 1인 것을 제조하여 사용하였다. 유량은 분당 1.5 ml가 되게 하였고, 칼럼의 온도는 45℃를 유지했다.

[0049] 상기 측정 결과를 표 1에서 기재하였다.

[0050] 또한, 물추출의 에페드린 총량(수율×에페드린양)을 1로 했을 때, 다른 추출방법에 의한 에페드린 총량비를 비교수치로 표시한 결과, 모든 추출방법의 수율이 비슷한 것으로 확인되었다.

표 1

[0051]

추출용매	수율(%)	에페드린(%)	비교수치
물	18.9	3.28	1.00
50% 에탄올	20.0	3.53	1.14
80% 에탄올	16.7	4.00	1.08
95% 에탄올	9.6	4.35	0.68
50% 메탄올	18.0	3.80	1.10

[0052] <실시예 2> 다엽 추출물의 제조

[0053] <2-1> 물 추출물의 제조

[0054] 이담약업사(서울 동대문구)에서 구입한 다엽 400 g을 둥근 플라스크에 넣고 물을 생약재의 5배수를 가하여 100

℃에서 2시간 동안 환류추출하였다. 상기 추출액을 온시에 감압 여과하였다. 상기 추출액을 80℃에서 감압 농축한 후, 200 ml의 증류수에 용해시킨 후 -70℃에서 동결건조시켜 분말(수율 31.5%)을 얻었다.

[0055] <2-2> 50% 에탄올 추출물의 제조

[0056] 추출용매로 물 대신 50% 에탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <2-1>의 추출방법과 동일하게 추출하여 분말(수율 35.5%)을 얻었다.

[0057] <2-3> 95% 에탄올 추출물의 제조

[0058] 추출용매로 물 대신 95% 에탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <2-1>의 추출방법과 동일하게 추출하여 분말(수율 26.4%)을 얻었다.

[0059] <2-4> 50% 메탄올 추출물의 제조

[0060] 추출용매로 물 대신 50% 메탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <2-1>의 추출방법과 동일하게 추출하여 분말(수율 33.1%)을 얻었다.

[0061] <2-5> 카페인(Caffeine) 및 폴리페놀(Polyphenol) 함량의 측정

[0062] 카페인의 양을 측정하기 위해서 다엽 추출물 20밀리그램을 정밀하게 달아 메탄올 20 ml에 녹인 다음, 20분간 초음파 처리하여 유효성분을 추출했다. 고속액체크로마토그래피 기기를 이용하여 카페인의 함량을 측정하였으며 이 때, 칼럼은 Nucleosil C18을 사용하였다. 액체 이동상은 A와 B의 두 가지를 사용하여 시간이 지남에 따라 농도차이를 갖게 하는 방법을 사용하였다. 상기 A의 조성은 물 : 아세토니트릴 : 인산의 비율이 94.95 : 5 : 0.05이었고, B의 조성은 물 : 아세토니트릴 : 인산의 비율이 49.95 : 50 : 0.05이었으며, 경시적 농도 변화는 아래 표 2와 같았다.

표 2

시간	%A	%B
0	90	10
5	90	10
10	70	30
20	20	80
25	90	10

[0064] 폴리페놀 함량을 측정하기 위해서 Folin-Ciocalteu 방법을 응용하였다. 녹차 추출물을 5, 2, 1 및 0.5 mg/ml의 네 가지 농도로 만든 다음 각 0.05 ml에 4.2 ml의 증류수를 가하였다. 다음으로 0.25 ml의 Folin-Ciocalteu 시약(Sigma, USA)을 넣고 볼텍싱하여 골고루 8분간 교반하였다. 그 다음 20% 탄산나트륨 용액 0.5 ml을 첨가한 다음, 다시 볼텍싱하여 섞어준 다음 실온에서 1시간 동안 방치하였다. 흡광광도계에서 725 nm의 파장하에 흡광도를 측정하였다. 갈릭산(gallic acid)으로 표준곡선을 그린 후, 측정된 흡광도 수치를 적용해 폴리페놀의 함량을 계산하였다.

[0065] 상기 측정 결과를 표 3에서 기재하였다.

[0066] 또한, 물추출의 카페인 또는 폴리페놀 총량(수율×카페인 또는 폴리페놀양)을 1로 했을 때, 다른 추출방법에 의한 카페인 또는 폴리페놀 총량비를 비교수치로 표시한 결과, 모든 추출방법의 수율이 비슷한 것으로 확인되었다.

표 3

추출방법	수율(%)	Caffeine	비교수치	Polyphenol	비교수치
DW	31.5	2.08	1.00	0.368	1.00
50% 에탄올	35.5	2.14	1.16	0.425	1.15
95% 에탄올	26.4	2.08	0.84	0.380	1.03
50% 메탄올	33.1	2.21	1.11	0.362	1.03

- [0068] <실시예 3> 마황, 석고, 창출 및 다엽의 혼합 추출물의 제조
- [0069] 마황, 석고, 창출의 혼합추출 동결건조물과 다엽을 추출하여 얻은 동결건조물을 1:0.8의 비율로 칭량하여 파우더 믹서에 가한 뒤, 충분히 혼합하여 실시예 1의 방법으로 혼합추출물을 제조하였다.
- [0070] <비교예> 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물 및 다엽 추출물의 혼합물의 제조
- [0071] <비교예 1> 혼합 생약재 추출물
- [0072] 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물을 이용하였다.
- [0073] <비교예 2> 1:0.2의 혼합물
- [0074] 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물과 다엽 추출물을 1:0.2의 비율로 혼합하였다.
- [0075] <비교예 3> 1:0.8의 혼합물
- [0076] 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물과 다엽 추출물을 1:0.8의 비율로 혼합하였다.
- [0077] <비교예 4> 마황, 석고, 창출 및 다엽의 혼합 추출물
- [0078] 마황, 석고, 창출 및 다엽의 혼합 추출물을 이용하였다.
- [0079] <비교예 5> 다엽의 추출물
- [0080] 다엽의 추출물을 이용하였다.
- [0081] <실험예 1> 실험동물의 사육
- [0082] 실험동물은 25 g 전후의 5주령 웅성 ICR계 마우스를 샘타코(경기도 오산시 서량동 77-1, 031)372-3636)에서 분양받아 1주간 본 연구실 동물실 환경에 적응시킨 후, 초기체중이 평균 25 g 정도 되면 본 실험에 사용하였다. 동물실 사육조건으로는 온도 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 10\%$, 환기횟수 10 ~ 20회/시간, 형광등 조명 12시간/하루(오전 8시 점등 ~ 오후 8시 소등), 조도 150 ~ 300 Lux 로 하였으며, 실험동물은 1군에 10마리씩 폴리카보네이트 사육상자(크기: 220 W × 360 L × 200 H mm)에 넣고 사육하였다.
- [0083] <실험예 2> 체중 억제 효과
- [0084] <2-1> 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물과 다엽 추출물의 비율 결정
- [0085] 하기 실험군 당 상기 실험예 1에서 준비한 마우스 10마리를 배정하였다. 일반식이는 중앙동물사(서울 성북구)에서 구입하였다. 실험동물 마리당 비교예 경구투여 용량은 1일 1회 1 g/kg으로 정하였다. 물 및 식이는 자유롭게 섭취하게 하였다. 4주간의 실험기간 동안 사료 섭취량 및 실험동물의 체중은 일주일에 3회씩 일정시간에 측정하였다.
- [0086] 1. 대조군: 일반식이를 섭취하면서 식수를 경구투여;
- [0087] 2. 실험군 1: 일반식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 1의 혼합물을 경구투여;
- [0088] 3. 실험군 2: 일반식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 2의 혼합물을 경구투여;
- [0089] 4. 실험군 3: 일반식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 3의 혼합물을 경구투여;
- [0090] 5. 실험군 4: 일반식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 4의 혼합 추출물을 경구투여; 및,
- [0091] 6. 실험군 5: 일반식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 5의 혼합 추출물을 경구투여.
- [0092] 그 결과, 표 4에서 나타난 바와 같이 실험군 3의 체중증가 억제 효과가 가장 좋았다. 이에, 이하 실험예는 비교예 4의 혼합물을 이용하여 수행하였다.

표 4

[0093]

대조군	실험군 1	실험군 2	실험군 3	실험군 4	실험군 5
27.6%	19.7%	20.6%	18.9%	22.5%	23.6

[0094]

<2-2> 마황, 석고 및 창출의 혼합 생약재 추출물과 다엽 추출물의 혼합물의 투여량 결정

[0095]

하기 실험군에 대해 실험예 2-1과 유사한 방법으로 6주간 수행하였다. 고지방 식이는 진코드(서울 송파구)에서 구입하였으며, 실험기간 동안 저온(4~5℃)에 보관하였다.

[0096]

1. 정상대조군: 일반식이를 섭취하면서 식염수를 경구투여;

[0097]

2. 비만대조군: 고지방식이를 섭취하면서 식염수를 경구투여;

[0098]

3. 실험군 1: 고지방식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 1의 혼합물을 1 g/kg 경구투여;

[0099]

4. 실험군 2: 고지방식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 1의 혼합물을 1.5 g/kg 경구투여;

[0100]

5. 실험군 3: 고지방식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 3의 혼합물을 1 g/kg 경구투여;

[0101]

6. 실험군 4: 고지방식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 3의 혼합물을 1.5 g/kg 경구투여; 및,

[0102]

7. 실험군 5: 고지방식이를 섭취하면서 식수 및 비교예 5의 혼합물을 1.5 g/kg 경구투여.

[0103]

그 결과, 표 5에서 나타난 바와 같이 정상대조군에 비해 비만대조군의 체중증가 비율이 약 20% 이상 높으며, 비교예 3의 혼합물을 1.5 g/kg의 용량으로 투여한 실험군 4의 경우가 비만대조군에 비해 40% 이상 체중증가가 억제된 것으로 나타났다.

표 5

[0104]

정상대조군	비만대조군	실험군 1	실험군 2	실험군 3	실험군 4	실험군 5
85.4%	109.4%	79.0%	87.2%	77.7%	63.3%	80.4

[0105]

<실험예 3> 사료 및 식수 소비량

[0106]

상기 실험예 2-2의 대조군 및 실험군의 실험기간 동안 매일, 사료와 식수소비량을 측정하여 평균소비량을 비교하였다.

[0107]

그 결과, 표 6 및 표 7에서 나타난 바와 같이 일반사료를 급식하는 정상대조군에 비하여 비만유발사료를 급식하는 비만대조군의 사료 및 식수소비량이 감소된 것을 알 수 있었고, 또한 비만유발 사료를 급식한 각 실험군의 소비량도 전체적으로 다소 감소하였으며, 특히 실험군 4에서 가장 소비량이 억제되는 효과를 나타났다. 즉, 비만유발사료가 더 적은 양에도 불구하고 충분한 비만과 지방간 등을 유발할 수 있음을 확인하였다.

[0108]

또한, 표 6 및 표 7에서 나타난 바와 같이 비만대조군에 비하여 체중증가 억제효과가 좋은 실험군일수록 사료섭취량과 식수소비량이 적었다. 즉, 식욕억제효과도 약효발현(체중증가억제)에 작용하였음을 알 수 있었다.

표 6

[0109]

사료소비량

정상대조군	비만대조군	실험군 1	실험군 2	실험군 3	실험군 4
24.0 g	16.2 g	14.5 g	15.2 g	13.7 g	13.1 g

표 7

[0110] 식수소비량

정상대조군	비만대조군	실험군 1	실험군 2	실험군 3	실험군 4
33.2 ml	22.9 ml	18.3 ml	24.0 ml	16.9 ml	16.9 ml

[0111] <실험예 4> 혈중 수치 측정

[0112] 상기 실험예 2-2의 실험 종료 시, 심장채혈하여 여러가지 혈중 수치를 측정하였다.

[0113] 그 결과, 표 8에서 나타난 바와 같이 실험군 4에서만 지방간의 지표인 중성지방 농도가 비만대조군에 비하여 $p<0.05$ 의 유의성있게 감소하여 위의 체중감소 결과와 일치하였다.

표 8

	정상대조군	비만대조군	실험군 1	실험군 2	실험군 3	실험군 4
TC	74 ± 10	68 ± 10	74 ± 17	63 ± 8	89 ± 11	82 ± 11
TG	204 ± 54	584 ± 211	537 ± 86	476 ± 125	567 ± 144	$367 \pm 157^*$
HDL	54 ± 7	54 ± 8	51 ± 6	45 ± 5	56 ± 8	50 ± 8
GOT	164 ± 22	120 ± 26	105 ± 26	$87 \pm 17^{**}$	114 ± 17	$98 \pm 16^*$
GPT	63 ± 8	42 ± 14	35 ± 7	$30 \pm 8^*$	31 ± 4	31 ± 6
BUN	15.2 ± 2.2	11.8 ± 1.4	14.4 ± 1.3	14.6 ± 3.0	13.1 ± 1.1	13.1 ± 2.2
크레아티닌	0.93 ± 0.21	0.73 ± 0.18	0.50 ± 0.08	0.45 ± 0.06	0.61 ± 0.12	$0.55 \pm 0.13^*$

[0115] ※ * = $p<0.05$ 의 유의성, ** = $p<0.01$ 의 유의성

[0116] 1. TC: 전체 콜레스테롤(Total Cholesterol);

[0117] 2. TG: 중성지방(Triglyceride);

[0118] 3. HDL: 고밀도 지단백질(high-density lipoprotein);

[0119] 4. GOT/GPT: 간수치(Glutamic Oxaloacetic Transaminase/glutamic-pyruvic transaminase);

[0120] 5. BUN: 혈중요소질소(Blood Urea Nitrogen); 및,

[0121] 6. 크레아티닌: 신장기능(creatinine).

[0122] <실험예 5> 장기무게 비교

[0123] 상기 실험예 2-2의 실험 종료 시, 쥐를 16시간 동안 절식시키고 물만 제공하였으며, 에틸 에테르로 마취한 후 해부하여서, 간, 비장, 신장 및 흉선을 적출하였다. 생리식염수로 장기의 겉부분의 혈액을 제거한 후 무게를 측정하였다.

[0124] 그 결과, 표 9에서 나타난 바와 같이 정상대조군에 비해 각 실험군에서 유의한 차이가 발견되지 않아 독성은 없는 것으로 관찰되었다.

표 9

	정상대조군	비만대조군	실험군 1	실험군 2	실험군 3	실험군 4
간장	13.12 ± 1.11	14.70 ± 1.09	14.01 ± 1.49	12.88 ± 1.59	14.40 ± 1.60	12.48 ± 1.93
비장	0.78 ± 0.05	0.83 ± 0.10	0.68 ± 0.12	0.71 ± 0.07	0.68 ± 0.13	0.71 ± 0.10
신장	2.62 ± 0.20	2.67 ± 0.25	2.42 ± 0.21	2.67 ± 0.28	2.61 ± 0.23	2.35 ± 0.31
흉선	0.47 ± 0.11	0.58 ± 0.06	0.49 ± 0.04	0.60 ± 0.13	0.64 ± 0.09	0.43 ± 0.13

[0126]	* 단위: g	
[0127]	<제조예 1> 약학적 제제의 제조	
[0128]	1. 산제의 제조	
[0129]	본 발명의 비교예 3의 혼합물	2 g
[0130]	유당	1 g
[0131]	상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.	
[0132]	2. 정제의 제조	
[0133]	본 발명의 비교예 3의 혼합물	100 mg
[0134]	옥수수전분	100 mg
[0135]	유 당	100 mg
[0136]	스테아린산 마그네슘	2 mg
[0137]	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.	
[0138]	3. 캡슐제의 제조	
[0139]	본 발명의 비교예 3의 혼합물	100 mg
[0140]	옥수수전분	100 mg
[0141]	유 당	100 mg
[0142]	스테아린산 마그네슘	2 mg
[0143]	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.	
[0144]	4. 환의 제조	
[0145]	본 발명의 비교예 3의 혼합물	1 g
[0146]	유당	1.5 g
[0147]	글리세린	1 g
[0148]	자일리톨	0.5 g
[0149]	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1 환 당 4 g이 되도록 제조하였다.	
[0150]	5. 과립의 제조	
[0151]	본 발명의 비교예 3의 혼합물	150 mg
[0152]	대두 추출물	50 mg
[0153]	포도당	200 mg
[0154]	전분	600 mg
[0155]	상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.	

- [0156] <제조예 2> 유제품의 제조
- [0157] 본 발명의 비교예 3의 혼합물 5~10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0158] <제조예 3> 음료의 제조
- | | | |
|--------|------------------|---------|
| [0159] | 본 발명의 비교예 3의 혼합물 | 1000 mg |
| [0160] | 구연산 | 1000 mg |
| [0161] | 올리고당 | 100 g |
| [0162] | 매실농축액 | 2 g |
| [0163] | 타우린 | 1 g |
| [0164] | 정제수를 가하여 전체 | 900 ml |
- [0165] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 l 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다. 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.