(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0083375
(43) 공개일자 2015년07월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/84 (2006.01) *A61P 3/00* (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0003026
(22) 출원일자 2014년01월09일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
임순성
강원 춘천시 후석로 325, 105동 301호 (후평동, 춘천더샵아파트)
백지훈
대구광역시 남구 효성중앙길 18-8 202호(봉덕동, 주우빌라)
이수경
강원 춘천시 서부대성로 327, 102동 601호 (후평동, 동아아파트)
(74) 대리인
특허법인 정안

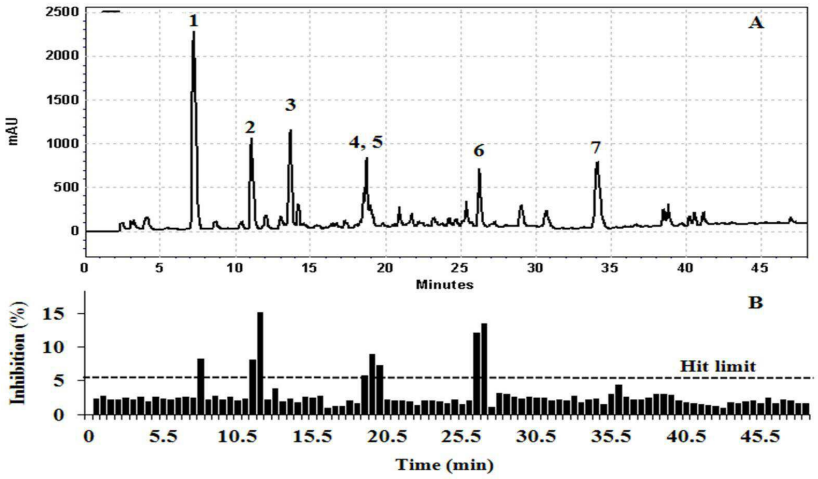
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **감송향 추출물 또는 분획물을 포함하는 당뇨 합병증의 개선, 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 감송향 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 합병증의 개선, 예방 또는 치료용 조성물, 및 이를 포함하는 기능성 식품에 관한 것으로, 감송향 추출물 또는 분획물은 알도스 환원효소 억제 활성을 지녀 당뇨 합병증의 개선, 예방 및 치료에 매우 유용하다.

대 표 도 - 도5



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2012R1A1A2008842
부처명 교육부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 일반연구자지원사업 기본연구
연구과제명 실시간 활성측정시스템 개발을 통한 당뇨 및 합병증 억제 건강기능성식품 소재 개발
기 여 율 1/1
주관기관 한림대학교 산학협력단
연구기간 2012.05.01 ~ 2015.04.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

감송향 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 약제 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 감송향 추출물 또는 분획물이 감송향 뿌리의 추출물 또는 분획물인 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 약제 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 추출물이 물, C_1~C_4 알코올, 또는 이들의 혼합용매로부터 추출한 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 약제 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서, 추출물이 에탄올 추출물인 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 약제 조성물.

청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 분획물이 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 약제 조성물.

청구항 6

감송향 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 합병증의 개선용 기능성 식품 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 감송향 추출물 또는 분획물이 감송향 뿌리의 추출물 또는 분획물인 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물.

청구항 8

제 6항에 있어서, 추출물이 물, C_1~C_4 알코올, 또는 이들의 혼합용매로부터 추출한 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서, 추출물이 에탄올 추출물인 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물.

청구항 10

제 6항에 있어서, 분획물이 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물.

청구항 11

제 6항에 있어서, 담체, 부형제, 붕해제, 감미제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 향미제, 항산화제, 완충액, 희석제, 분산제, 결합제 및 윤활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물.

청구항 12

제 6항에 있어서, 상기 기능성 식품 조성물이 정제, 환제, 과립제, 분말제, 액제, 경질캅셀제, 연질캅셀제, 죽, 빵, 음료, 바, 초콜릿, 또는 쿠키 형태인 것을 특징으로 하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물.

청구항 13

제 6항 내지 제 12항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 감송향 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 합병증의 개선, 예방 또는 치료용 조성물, 및 이를 포함하는 기능성 식품에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 본 발명은 알도스 환원효소(aldose reductase, AR) 억제 활성을 지녀 당뇨 합병증의 개선, 예방 및 치료에 매우 유용한 감송향 추출물 또는 감송향 분획물을 유효성분으로 포함하는 조성물, 및 이를 포함하는 기능성 식품에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 당뇨병은 인슐린의 분비량이 부족하거나 정상적인 기능이 이루어지지 않는 등의 대사질환의 일종으로, 혈중 포도당의 농도가 높아지는 고혈당을 특징으로 하며, 고혈당으로 인하여 여러 증상 및 징후를 일으키고 소변에서 포도당을 배출하게 된다. 약한 고혈당에서는 대부분의 환자들이 증상을 느끼지 못하거나 모호해서 당뇨병이라고 생각하기 어려우나, 혈당이 많이 올라가면 갈증으로 인해 물을 많이 마시게 되고, 이로 인해 소변량이 늘게 되어 화장실을 자주 가게 되며, 체중이 빠지게 된다.

[0003] 당뇨병은 일단 발병하면 현재로서는 완치시킬 수 있는 방법은 없으나, 다양한 방법을 통한 철저한 혈당 조절이 당뇨병 합병증 발생을 억제 혹은 지연시킬 수 있기에 적극적인 혈당 조절이 강조되고 있다. 따라서 당뇨병으로 진단된 경우에는 당뇨로 인한 합병증을 예방하거나, 이미 발병한 경우 이를 개선 또는 치료하는 요법이 필요하다.

[0004] 오랜 기간 고혈당 상태가 유지되면 신체에서 여러 합병증이 발생하는데, 대표적으로는 망막병증, 신기능장애, 신경병증 등이 있으며, 심혈관계 질환의 위험 또한 높아지게 된다. 그 중에서도 당뇨 합병증의 반수 이상은 당뇨병성 망막병증에 해당하는데, 이는 성인 실명의 가장 큰 발병 원인이며, 증세로는 시력장애, 녹내장, 시력상실 등이 있다.

[0005] 당뇨합병증을 유발하는 기전으로는 크게 단백질의 비효소적 당화반응(non-enzymatic glycation of protein)과 폴리올 대사계(polyol pathway)의 기작 변화에 의한 삼투압 스트레스 및 자유 라디칼에 의한 산화적 스트레스(oxidative stress)가 있다.

[0006] 알도스 환원효소는 다양한 알데히드 및 카르보닐의 환원을 촉매하는 NADPH-의존성 산화환원효소로서, 포도당 대사의 폴리올 대사계의 첫 단계인 포도당에서 소르비톨로의 환원을 촉매하는 것으로 알려져 있다. 이러한 알도스 환원효소는 망막, 공막, 렌즈, 신장, 적혈구, 뇌, 근육, 간 및 말초신경 등에 존재하는데, 특히 말초신경에서는 포도당 투과가 인슐린에 의하여 영향을 받지 않기 때문에 문제가 될 수 있다. 즉, 고혈당 시 슈만 세포에 소르비톨이 과다 축적되면 이로 인하여 삼투압이 증가하여 수초의 부종, 괴사 및 붕괴가 발생할 수 있고, 지속적으로 증가한 삼투압으로 인하여 수분이 인입되어 당뇨합병증으로 진행된다.

[0007] 폴리올은 알도스 또는 케토스로부터 알도스 환원효소에 의해 환원된 알코올을 의미하며, 일반적으로 포도당이 세포내로 들어오게 되면 헥소키나제에 의하여 6-인산포도당으로 전환된 다음 해당경로를 거쳐 분해된다. 포도당의 농도가 증가하는 경우 이에 결합하는 헥소키나제가 포화되어 여분의 포도당은 헥소키나제에 비하여 친화성이 낮은 알도스 환원효소에 결합하여 소르비톨로 대사됨으로써 세포내에는 소르비톨이 축적된다.

[0008] 구체적으로, 소르비톨의 합성과정에는 알도스 환원효소 및 소르비톨 탈수소효소(sorbitol dehydrogenase)의 두 효소가 관여하는 것으로 알려져 있는데, 이 효소들은 말초신경, 망막, 각막, 홍채, 수정체, 신장, 적혈구 등의 신체 각 조직에 존재한다. 알도스 환원효소는 소르비톨 합성과정의 첫 반응을 일으키는 효소로서 NADPH를 조효

소로 이용하여 포도당을 소르비톨로 전환시켜 주는 반응제어 효소의 역할을 하며, 일단 소르비톨이 생성되면 폴리올 디하이드로게네이즈에 의해 소르비톨은 과당(fructose)으로 전환된다. 생리학적 조건하에서는 이 두 효소에 의한 합성의 흐름은 대부분의 조직에서는 서로 평형을 이루고 있다. 대부분의 조직에서는 소르비톨의 축적량이 거의 무시할 정도이며, 포도당에 대한 알도스 환원효소의 친화력은 헥소키나제(hexokinase)보다 더 낮고 대부분의 세포 내 포도당은 인산화되기 때문에 소르비톨의 형성속도는 낮아지게 된다. 따라서, 당뇨병 환자의 경우에 있어서, 혈액 내의 포도당의 농도가 더 증가하게 되면 알도스 환원효소가 활성화되어 과도하게 포도당을 소르비톨로 환원시키고, 이 소르비톨이 소르비톨 탈수소효소에 의해 과당으로 전환되며 포도당에 비하여 단백질의 비효소적 당화반응의 속도가 약 10배 정도 빠르기 때문에, 고농도의 과당이 단백질과 결합하여 결국은 최종 당화산물의 형성을 가속화시킨다.

[0009] 폴리올 경로에 의해 생성된 폴리올은 세포막을 쉽게 투과하지 못하기 때문에 세포 내에 이 대사물질의 농도가 증가하게 되고, 그 결과 몰삼투압 농도의 증가를 야기 시킨다. 고혈당으로 인한 알도스 환원효소 활성화는 과다한 기질 공급으로 인해 소르비톨 축적이 일어나게 하여 삼투 조절 체계를 교란시킨다. 소르비톨 축적에 의한 삼투 스트레스(osmotic stress)를 완화시키기 위해 다른 대체 삼투물질(osmolyte)의 보상성 하향조절이 일어나게 되어 삼투물질 결핍이 발생한다. 또한, 알도스 환원효소 활성화는 산화 스트레스를 악화시켜 세포 내 미요이노시톨과 타우린의 결핍을 초래하기도 하다. 이는 산화스트레스가 Na^+-미요이노시톨 콘트랜스포터(Na^+-myoinositol contransporter)와 타우리엔 트랜스포터(taurien transporter)를 직접 하향 조절하거나, 소듐-포타슘 아데노신 트리포스파테이즈(sodium-potassium adenosine triphosphatase, ATPase)에 의한 소듐-경사의 방해를 통해 간접적으로 작용해서 미요이노시톨의 세포 내 결핍을 초래한다. 이는 수정체 및 말초신경 등 비교적 고농도의 소르비톨이 축적되는 조직의 합병증 유발 기전으로 유력하다. 이들 조직에서는 소르비톨의 농도가 높음에도 불구하고 지속적으로 알도스 환원효소를 발현하여 소르비톨의 축적을 더욱 진행시키게 된다. 따라서, 신경조직 내에서는 다양한 대사과정의 변이, 전기생리학적 변화, 신경조직에서의 에너지 소비의 감소, 신경조직에서의 변화 등이 일어나게 된다.

[0010] 또한 알도스 환원효소와 소르비톨 디하이드로게네이즈에 의해 소르비톨과 프룩토오스의 축적에 의해 야기된 삼투압 증가가 수정체 섬유(lens fiber) 내로 수분이 인입되어 팽윤되는 현상을 초래한다. 이는 렌즈 내 정상적으로 보유되어 있는 물질에 대한 투과성을 증가시켜 K^+, 아미노산, 글루타치온, 이노시톨, ATP의 농도가 감소되는 반면, Na^+, Cl^- 이온이 서서히 증가하게 된다. 이 과정이 진행됨에 따라 증가된 두 이온이 전해질 변화를 초래하게 되어 이차적 삼투변화를 야기시켜 결국 수정체 팽윤(lens swelling)을 일으킨다. 렌즈 막이 큰 단백질을 제외한 모든 물질에 대한 투과성을 증가시켜 결국 조밀 핵 백내장(dense nuclear cataract)을 가져오게 된다. 렌즈 내 정상적으로 높은 K^+/Na^+비율이 단백질 합성을 유도하게 되는데, 상기의 생화학적 변화에 의해 당백내장(sugar cataract)에서는 세포내 K^+ 농도가 감소하고 Na^+ 농도가 증가하여 단백질 합성을 저하시키게 된다. 또한 적혈구내에서도 당대사 관련 대사물질(sorbitol)과 매개체(AR, SDH)들은 간접적인 당뇨합병증들의 진행의 지표가 될 수 있다. 임상연구보고에 의하면 적혈구 소르비톨 농도 및 적혈구 소르비톨/혈장 포도당 비는 당뇨병군에서 정상 대조군과 비교하여 유의적으로 높게 나와 이들 지표를 당뇨병의 진단 방법으로 이용할 수 있을 것으로 보고되었다. 적혈구 소르비톨, 적혈구 소르비톨/혈장 글루코오스 비율 및 알도스 환원효소 등의 당대사 관련 인자들을 평가함으로써 당뇨병 환자의 향후 합병증 발생의 예측, 예후 추정에 활용할 수 있다. 또한 소르비톨의 세포 내 축적이 당뇨망막병증을 유발시키는 원인으로 알려져 있다. 인슐린 비의존성 당뇨 환자의 당뇨망막병증의 진행은 적혈구 내 소르비톨 수치보다는 지속기간이 더 중요하며 소르비톨 수치가 정상치보다 높은 시기에 알도스 환원효소 억제제를 조기 사용하는 것이 당뇨망막병증의 예방 및 치료에 효과적일 수 있다는 임상연구가 보고되었다.

[0011] 최종 당화산물이 사람의 미세혈관 내피세포에서 폴리올 경로의 주효소인 알도스 환원효소를 활성화시키는 것이 보고된 바 있다. 정상상태에서는 알도스 환원효소가 포도당에 대하여 친화력이 매우 낮지만, 고농도의 포도당에서는 알도스 환원효소가 활성화되어 과도하게 포도당을 소르비톨로 환원시키고, 이 소르비톨이 소르비톨 탈수소효소에 의해 과당으로 전환된다. 이 과당은 포도당에 비하여 단백질의 비효소적 당화반응의 속도가 약 10배 정도 빠르다. 따라서, 고농도의 과당이 단백질과 결합하여 결국은 최종 당화산물의 형성을 가속화시킨다. 단백질의 비효소적 당화 반응이란, 단백질의 리신 잔기 등의 아미노산 그룹과 환원당이 효소 작용 없이 축합반응 즉 밀리아드 반응에 의한 것으로, 이 반응의 결과로 최종 당화산물(advanced glycation endproducts, AGEs)이 생성된다. 단백질의 비효소적 당화 반응은 (1) 단백질의 리신 잔기 등의 아미노산 그룹과 환원당의 알데히드 또는 케톤이 효소 작용 없이 친핵성 첨가 반응을 하여 초기 단계 산물인 쉬프염기(schiff base)를 형성하고, 상

기 쉬프염기와 인접한 케토아민 어닥트(ketoamine adduct)가 서로 축합하여 가역적인 아마도리형의 조기당화산물이 생성되는 단계, 및 (2) 고혈당 상태가 지속되어 가역적인 아마도리형의 조기당화산물이 분해되지 않고 재배열되고 단백질과 교차결합하여 비가역적인 최종 당화산물이 생성되는 단계로 나눌 수 있다. 가역적인 아마도리형의 조기당화산물과 달리 최종 당화산물은 비가역적인 반응 산물이므로, 일단 생성되면 혈당이 정상으로 회복되어도 분해되지 않고 단백질 생존기간 동안 조직에 축적되어 조직의 구조와 기능을 비정상적으로 변화시킨다. 이처럼 비효소적 단백질 당화 반응에 의하여 기저막, 혈장 알부민, 수정체 단백질, 피브린, 콜라겐 등의 단백질에서 당화가 일어나며, 생성된 최종 당화산물이 조직의 구조와 기능을 비정상적으로 변화시켜 당뇨성 망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경병증 등의 만성 당뇨합병증을 유발시킨다.

[0012] 이와 같이 폴리올 경로, 비효소적 당화반응 및 산화적 스트레스 작용 기전들은 서로 연관되어 당뇨합병증을 유발시킨다. 따라서, 당뇨합병증의 발병을 지연하거나 예방 또는 치료하기 위해서는 알도스 환원효소 및 최종 당화산물의 형성을 억제하는 것이 매우 중요하다. 지금까지 알려진 대표적인 알도스 환원효소 저해제로는 소르비닐(sorbinil), 알레스타틴(alrestatin), 에팔레스타트(epalrestat), 포날레스타트(ponalestat), 톨레스타트(tolrestat) 등이 대표적이고, 단백질 당화 억제제로는 아미노구아니딘·HCl(aminoguanidine·HCl) 등이 있다.

[0013] 알도스 환원효소제는 알도스 환원효소에 결합하므로 포도당을 소르비톨로 전환시키는 것을 저해함으로서 미요이노시톨의 감소와 소듐-포타슘 ATPase의 손상을 막으며 포도당과 상호작용하는 위치와는 다른 위치에서 알도스 환원효소와 반응하여 알도스 환원효소에 대한 비경쟁적 저해반응을 일으킨다. 아미노구아니딘은 친핵성 히드라진으로 아마도리 산물과 결합하여 단백질과의 교차결합을 방지함으로써 최종 당화산물의 생성을 억제하여 합병증으로 진전되는 것을 지연 또는 방지한다.

[0014] 이 외에도 수많은 저해제들이 개발되어 합성되어 오고 있지만, 이러한 제제들은 장기간 투여시 독성이 유발되는 문제점이 있어, 보다 안전한 새로운 저해제에 대한 탐색 및 개발이 요망되고 있다.

[0015] 한편, 감송향(甘松香)(*Nardostachys chinensis BATAL* 또는 *Nardostachys chinensis*)은 외형이 활모양으로 구부러진 원주모양이며 바깥면은 흑갈색이며 자른면은 황색이 도는 갈색이다. 바깥면은 쭈글쭈글하고 원뿌리가 길고 두터우며 수염뿌리가 달려 있으며 질은 부드럽고 꺾이기 쉽다. 피층은 짙은 갈색으로 갈라져서 조각을 이루고 목부는 황백색이다. 바깥면은 황갈색 내지 갈색으로 광택이 있고 5~6개의 세로 주름과 그 사이에 불규칙한 주름이 있으며 단단하다. 감송향은 히말라야에서 유래해서 고대부터 진통제의 재료이며 유태인들의 결혼식에 사용하는 향유 중 하나인 나드향으로 알려져 있다.

[0016] 이러한 감송향은 배가 그득한 느낌, 복통, 기운을 아래로 내리는 효과가 있으며, 검버섯, 기미, 영양장애를 동반한 부스럼, 충치, 치질을 치료하며 원기를 돕고 기가 막힌 것을 소통시키는 것으로 한방에서 알려져 있으며, 각기병과 무릎 부종에 외용하기도 한다. 또한, 감송향의 추출물은 급성 췌장염의 예방 및 치료에 사용되는 것으로 알려진 바 있으며(한국공개 10-2010-0095838), 사이토카인에 의한 면역반응을 억제하여 췌장의 β-세포를 보호함으로써 제1형 당뇨병을 예방 및 치료하는 것으로 보고된 바도 있다(한국공개 10-2011-0098500).

[0017] 그러나, 알도스 환원효소를 억제함으로써 당뇨 합병증을 개선, 예방 및 치료할 수 있는 감송향 추출물 또는 분획물에 관해서는 보고된 바 없으며, 특허 역시 없는 실정이다.

[0018] 이에, 본 발명자들은 감송향 추출물과 감송향 분획물이 알도스 환원효소 억제 활성을 지녀, 당뇨 합병증의 개선, 예방 및 치료에 효과가 있음을 새롭게 확인하여 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0019] 본 발명의 목적은 당뇨 합병증의 예방 및 치료를 위한 약제 조성물 및 이를 이용한 당뇨 합병증의 치료방법을 제공하는 것이다.

[0020] 본 발명의 다른 목적은 당뇨 합병증의 예방 및 개선을 위한 기능성 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0021] 본 발명의 또 다른 목적은 알도스 환원효소 억제 활성을 지녀 당뇨 합병증의 예방 및 개선에 매우 유용한 기능성 식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0022] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 양태로서, 감송향 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는

당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 약제 조성물이 제공된다.

[0023] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 감송향 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물이 제공된다.

[0024] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 감송향 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물을 포함하는 당뇨 합병증 예방 또는 개선용 기능성 식품이 제공된다.

[0025] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0026] 본 발명은 감송향 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 약제 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명의 약제 조성물은 알도스 환원효소 억제 활성을 지님으로써 당뇨 합병증의 예방 및 치료에 효과를 지닌다.

[0028] 본 발명에서 감송향은 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 사용할 수 있다.

[0029] 본 발명에서 용어, "예방"이란 조성물의 투여에 의해 당뇨 합병증을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0030] 본 발명에서 용어, "치료"란 조성물의 투여에 의해 당뇨 합병증에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0031] 상기 당뇨 합병증은 백내장, 신경병증, 신장병증, 망막병증 등과 같은 당뇨에 의해 수반되는 모든 발병 병증을 포함하며, 이에 제한되지 않는다.

[0032] 본 발명에서 당뇨 합병증 예방 또는 치료 활성은 알도스 환원효소 억제능을 통해 시험하였다.

[0033] 본 발명에서 추출물(extract)은 천연물로부터 분리된 활성성분을 의미하며, 여기서는 감송향으로부터 분리된 물질을 의미한다. 상기에서 감송향 추출물은 바람직하게는 감송향의 뿌리로부터 분리된 추출물을 의미한다.

[0034] 상기에서 추출물을 제조하는 방법은 초음파 추출법, 여과법 및 환류 추출법 등 당업계의 통상적인 추출방법일 수 있다. 바람직하게는 세척 및 건조로 이물질이 제거된 들깨 또는 유채를 물, C_1~C_4의 알코올, 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물일 수 있으며, 보다 바람직하게는 C_1~C_4의 알코올, 또는 물과 C_1~C_4의 알코올(예컨대, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 등)의 혼합용매로 추출한 추출물일 수 있고, 가장 바람직하게는 에탄올 추출물일 수 있다. 이때, 추출 용매는 감송향 또는 감송향 뿌리의 건조중량의 2 내지 20 배로 하는 것이 바람직하다. 일 예로, 감송향 또는 감송향 뿌리의 건조물을 추출용기에 넣고 물을 넣어 일정 기간 동안 상온에서 침적시킨 다음 이를 여과시킴으로써 추출물을 얻을 수 있다. 이때, 추출은 약 5시간 동안 70%의 에탄올로 약 3 내지 5회 추출하고, 용매를 45℃ 이하의 온도에서 감압 하에 증발시키는 단계를 포함할 수 있다. 또한 농축 또는 동결건조 등의 방법을 추가적으로 거칠 수 있다.

[0035] 한편, 본 발명에서 감송향 분획물은 상기 감송향 추출물로부터 분획하여 얻을 수 있다. 상기 감송향 분획물을 수득하기 위한 분획 용매는 유기 용매이다. 보다 구체적으로, 상기 감송향 분획물은 감송향 추출물을 물(증류수)에 현탁시킨 후 n-헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 각각 분획함으로써, n-헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물, 에틸아세테이트 분획물, n-부탄올 분획물 및 물 분획물로 얻을 수 있다. 본 발명에서 사용될 수 있는 바람직한 감송향 분획물은 에틸아세테이트 분획물 또는 n-부탄올 분획물이며, 가장 바람직한 분획물은 에틸아세테이트 분획물이다. 상기에서, 분획은 분별깔때기를 이용할 수 있으며, HPLC를 이용한 분리 정제로 수득할 수 있다.

[0036] 본 발명은 또한, 1) 감송향 추출물을 수득하는 단계; 2) 상기 단계 1)에서 수득한 감송향 추출물에서 에틸아세테이트 층 및 n-부탄올 층을 분획하여 감송향 분획물을 수득하는 단계를 포함하는, 감송향으로부터 당뇨 합병증 예방 또는 치료용 화합물을 분리하는 방법을 제공할 수 있다.

[0037] 상기 본 발명의 약제 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투

여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0038] 상기 약제 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제 및 좌제으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[0039] 상기 본 발명의 약제 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여된다.

[0040] 본 발명에서 용어 "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 감염된 바이러스 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0041] 본 발명의 약제 조성물은 당뇨 합병증의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0042] 한편, 본 발명은 당뇨 합병증의 예방 또는 치료용 조성물을 약제학적으로 유효한 양으로 당뇨 합병증의 발병 또는 발병 가능성이 있는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 당뇨 합병증의 치료방법을 제공한다.

[0043] 본 발명에서 용어, "개체"란 당뇨 합병증에 이미 걸렸거나 걸릴 수 있는 인간을 포함한 모든 포유동물을 의미하고, 본 발명의 감송향 추출물 또는 분획물을 포함하는 조성물을 개체에게 투여함으로써, 상기 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약제 조성물로 당뇨 합병증에 걸린 인간을 치료할 수 있다. 또한, 본 발명의 약제 조성물은 기존의 당뇨 합병증 치료제와 병행하여 투여할 수 있다.

[0044] 상기 약제 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 본 발명의 약제 조성물은 목적하는 바에 따라 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한 상기 약제 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[0045] 또한, 본 발명은 감송향 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0046] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 알도스 환원효소 억제 활성을 지님으로써 당뇨 합병증의 예방 및 개선에 효과를 지닌다.

[0047] 본 발명에서 감송향은 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 사용할 수 있다.

[0048] 상기 당뇨 합병증은 백내장, 신경병증, 신장병증, 망막병증 등과 같은 당뇨에 의해 수반되는 모든 발병 병증을 포함하며, 이에 제한되지 않는다.

[0049] 본 발명에서 당뇨 합병증의 예방 또는 개선 효과는 알도스 환원효소 억제능을 통해 시험하였다.

[0050] 본 발명에서 감송향 추출물은 감송향으로부터 분리된 활성 성분을 의미한다. 상기에서 감송향 추출물은 바람직하게는 감송향의 뿌리로부터 분리된 추출물을 의미한다.

[0051] 상기에서 추출물을 제조하는 방법은 초음파 추출법, 여과법 및 환류 추출법 등 당업계의 통상적인 추출방법일 수 있다. 바람직하게는 세척 및 건조로 이물질이 제거된 들깨 또는 유채를 물, C_1~C_4의 알코올, 또는 이들의 혼

합용매로 추출한 추출물일 수 있으며, 보다 바람직하게는 C_1~C_4의 알코올, 또는 물과 C_1~C_4의 알코올(예컨대, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 등)의 혼합용매로 추출한 추출물일 수 있고, 가장 바람직하게는 에탄올 추출물일 수 있다. 일 예로, 감송향 또는 감송향 뿌리의 건조물을 추출용기에 넣고 물을 넣어 일정 기간 동안 상온에서 침적시킨 다음 이를 여과시킴으로써 추출물을 얻을 수 있다. 이때, 추출은 약 5시간 동안 70%의 에탄올로 약 3 내지 5회 추출하고, 용매를 45℃ 이하의 온도에서 감압 하에 증발시키는 단계를 포함할 수 있다. 또한 농축 또는 동결건조 등의 방법을 추가적으로 거칠 수 있다.

[0052] 한편, 본 발명에서 감송향 분획물은 상기 감송향 추출물로부터 분획하여 얻을 수 있다. 상기 감송향 분획물을 수득하기 위한 분획 용매는 유기 용매이다. 보다 구체적으로, 상기 감송향 분획물은 감송향 추출물을 물(증류수)에 현탁시킨 후 n-헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 각각 분획함으로써, n-헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물, 에틸아세테이트 분획물, n-부탄올 분획물 및 물 분획물로 얻을 수 있다. 본 발명에서 사용될 수 있는 바람직한 감송향 분획물은 에틸아세테이트 분획물 또는 n-부탄올 분획물이며, 가장 바람직한 분획물은 에틸아세테이트 분획물이다. 상기에서, 분획은 분별깔때기를 이용할 수 있으며, 분획물은 HPLC를 이용한 분리 정제로 수득할 수 있다.

[0053] 본 발명은 또한, 1) 감송향 추출물을 수득하는 단계; 2) 상기 단계 1)에서 수득한 감송향 추출물에서 에틸아세테이트 층 및 n-부탄올 층을 분획하여 감송향 분획물을 수득하는 단계를 포함하는, 감송향으로부터 당뇨 합병증 예방 또는 치료용 화합물을 분리하는 방법을 제공할 수 있다.

[0054] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 식품 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제, 붕해제, 감미제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 향미제, 항산화제, 완충액, 희석제, 분산제, 결합제 및 윤활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 유기산, 인산염, 항산화제, 유당 카제인, 덱스트린, 포도당, 설탕, 솔비톨, 영양제, 비타민, 광물(전해질), 천연 또는 합성 풍미제, 착색제, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산화제 등을 추가로 포함할 수 있다. 유기산은 이에 제한되는 것은 아니지만 구연산, 후말산, 아디픽산, 젖산 또는 사과산일 수 있으며, 인산염은 이에 제한되는 것은 아니지만 인산나트륨, 인산칼륨, 산성피로인산염 또는 폴리인산염(중합인산염)일 수 있으며, 항산화제는 이에 제한되는 것은 아니지만 폴리페놀, 카테킨, α-토코페롤, 로즈마리 추출물, 감초 추출물, 키토산, 탄닌산 또는 피틴산 등의 천연 항산화제일 수 있다.

[0055] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 정제, 환제, 과립제, 분말제, 액제, 경질캅셀제, 연질캅셀제 등과 같은 일반적인 제형으로 제조될 수도 있으며, 죽, 빵, 음료, 바, 초콜릿, 쿠키, 차, 드링크제, 비타민 복합제, 육류, 소시지, 캔디, 면, 젤리 등과 같은 임의의 형태로 제조될 수 있다. 본 발명의 기능성 식품 조성물을 음료 형태로 제조하는 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사 카라이드, 및 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이 해당된다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.

[0056] 상기와 같은 여러 제형 또는 형태를 제조하기 위해, 전술한 부형제들과 같은 식품학적으로 허용 가능한 담체 또는 첨가제를 사용할 수 있으며, 제조하고자 하는 제형 또는 형태의 제조에 당해 기술분야에서 사용 가능한 것으로 공지되어 있는 임의의 담체 또는 첨가제가 이용될 수 있다.

[0057] 또한, 본 발명은 전술한 본 발명의 기능성 식품 조성물을 포함하는 당뇨 합병증의 예방 또는 개선용 기능성 식품을 제공한다.

[0058] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

발명의 효과

[0059] 본 발명에 따른 감송향 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 당뇨 합병증의 개선, 예방 및 치료 효과가 우수하면서도 독성과 부작용이 없는 천연물 유래의 조성물이므로, 당뇨 합병증의 치료에 보다 안전하게 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0060] 도 1은 본 발명에서 감송향 분획물을 수득하기 위한 HPLC-마이크로-분획 및 생물학적 어세이를 위한 기기 시스템의 도식을 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명에서 감송향 분획물을 수득하기 위한 HPLC-ABTs 온라인 어세이를 위한 기기 시스템의 도식을 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명에서 감송향 분획에 사용되는 1-단계 EECCC 분리 방법으로서, 비율 2:8:3:7 (v/v)의 n-헥산-에틸아세테이트-메탄올-물 용매 시스템을 포함한다. (A)는 CPC의 내부 작동을 나타내고, (B)는 타입 J CPC의 설계 원리를 나타내며, (C)는 고속 역류 크로마토그래피 (HSCCC)의 도식을 나타낸다.

도 4는 감송향의 에틸아세테이트 분획물로부터 분리된 화합물들의 구조를 나타낸 것이다.

도 5는 96-웰 플레이트에서의 랫트 수정체 알도스 환원효소 억제 실험을 위한 감송향의 에틸아세테이트 분획물의 HPLC 크로마토그램 (A) 및 HPLC-마이크로 분획된 분획물의 활성 프로파일 (B)을 나타낸 것이다.

도 6은 감송향의 에틸아세테이트 분획물의 HPLC-UV 및 ABTs-HPLC-UV를 나타낸 것이다.

도 7은 감송향 뿌리의 에틸아세테이트 분획물의 EECCC 분리 (A) 및 HSCCC 분리 (B) 결과를 나타낸 것이다.

도 8은 EECCC에 의해 분리된 화합물 1 내지 7의 HPLC 분석 결과를 나타낸 것이다. 분석 조건은 다음과 같다:

컬럼: Agilent Eclipse XDB-C18 컬럼 (150×4.6mm, 5㎛, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA); 컬럼 온도: 30℃; 이동상, 0.1% TFA (용매 A) 및 아세토니트릴 (용매 B); 0분 (5%), 40분 (50%), 50분 (100%), 60분 (100%), 65분 (7.5%), 72분 (7.5%); 검출: 광다이오드 어레이 검출기(photodiode array detector); 주입 용량: 10㎕.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0061] 이하, 본 발명의 구체적인 구성 및 작용을 실시예 및 실험예에 의하여 내용을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 다만, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.

[0062] **제조예 1: 감송향 추출물의 제조**

[0063] 신선한 감송향의 뿌리를 세척 및 건조시킨 후, 건조된 부리 3㎏을 5시간 동안 70%의 에탄올로 4회 추출하였다. 용매를 45℃ 이하의 온도에서 감압 하에 증발시켜 에탄올 추출물을 수득하였다 (수율: 5.37%).

[0064] **제조예 2-A: 감송향 분획물의 제조**

[0065] 상기 제조예 1에서 수득한 감송향 추출액을 증류수에 현탁시킨 후 n-헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 각각 순차적으로 분획하여, n-헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물, 에틸아세테이트 분획물, n-부탄올 분획물 및 물 분획물을 수득하였다.

[0066] **제조예 2-B: 감송향 분획물의 제조**

[0067] 상기 제조예 1에서 수득한 감송향 추출액을 증류수에 현탁시킨 후 비율 2:8:3:7 (v/v)의 n-헥산-에틸아세테이트-메탄올-물 용매 시스템을 이용한 1-단계 EECCC 분리 방법에 의해 n-헥산 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 메탄올 분획물 및 물 분획물을 수득하였다.

[0068] **제조예 3: 감송향 분획물로부터 화합물의 분리**

[0069] 상기 제조예 2-A 또는 2-B에서 수득한 감송향 에틸아세테이트 분획물을 HPLC를 이용하여 분리 정제하여 하기 화합물 1 내지 7: 프로토카테큐산(1), 클로로겐산(2), 카페인산(3), 나르독시드(nardoxide)(4), 클로로겐산 메틸에스테르(5), 1,5-디-O-카페오일퀸산(6), 데빌론(debilone)(7)을 분리해냈다 (도 1, 3 및 4 참조).

[0070] **실험예 1: 알도스 환원효소 억제효과 측정**

[0071] 알도스 환원효소 활성 억제능은 Hayman 및 Konoshita 방법을 변형하여 수행하였으며 (Hayman S, Kinoshita JH. 1965. Isolation and properties of lens aldose reductase. J. Biol. Chem. 240(2): 877-882), 기질로서 DL-글리세르알데하이드를 사용하여, 4분에 걸쳐 340nm에서 NADPH의 흡광도 감소율을 측정함으로써 분광학적으로 분석하였다. 감송향 추출물 및 분획물 각각의 1.0ml의 큐벳은 동일한 양의 효소, 0.10M의 소듐 포스페이트 버퍼

(pH 6.2), 0.3mM NADPH, 선택적으로 10mM의 기질 및 억제제를 포함하였다.

[0072] 알도스 환원효소 50% 억제농도 (IC_{50})를 제공하는 억제제의 농도는, 잔여 활성에 대해 도시된 대수 농도의 최소제곱 회귀 직선으로부터 계산하였다. 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

[0073] 또한, 상기 실험을 화합물 1 내지 7(제조예 3)에 대해서도 동일한 방법으로 수행하여, 상기 화합물 1 내지 7에 대한 알도스 환원효소 억제효과 측정 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0074] **실험예 2: ABTs 자유라디칼 소거활성 효과 시험**

[0075] 2mM의 ABTs 원액 (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)-Diammonium salt, Fluka 구입)을 3.5mM의 포타슘 퍼설페이트(potassium persulfate)와 혼합하여 3차 증류수 10 ml에 용해시켰다. 상기에서 수득한 용액에 3차 증류수 290 ml을 첨가하여 30배 희석시킨 후, 하룻밤 동안 실온에서 보관하여 ABTS 라디칼 생성을 유도하여 ABTS 라디칼 용액을 제조하였다. 상기 제조예 1 및 2에서 제조된 감송향 추출물과 분획물 각 10㎕와 상기 제조된 ABTS 라디칼 용액 290㎕를 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후, 750nm에서 흡광도를 측정하였다. 감송향 추출물 및 분획물의 라디칼 소거활성은 ABTS 라디칼을 50% 소거시키는데 필요한 농도를 다음의 계산식 1로 계산하여 IC_{50}값으로 계산하였다. ABTS 라디칼 소거제로 알려진 Trolox(CALBIOCHEM 구입 Catalog No.-648471)를 양성 대조군으로 사용하였다. 상기 실험 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

[0076] 또한, 상기 실험을 화합물 1 내지 7(제조예 3)에 대해서도 동일한 방법으로 수행하여, 상기 화합물 1 내지 7에 대한 라디칼 소거 활성 측정 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0077] **[계산식 1]** ABTS 라디칼 소거율(%)={1-(대조군*/샘플)}*100

[0078] * 시료를 넣지 않은 상태로, ABTS와 용매(DMSO)만 있는 상태

[0079] **표 1: 감송향 추출물 및 분획물의 알도스 환원효소 및 ABTs 억제 효과**

[0080]

샘플	IC_{50} (㎍/mL)[a]	
	rAR	ABTs
70% 에탄올 추출물	7.64	18.31
n-헥산 분획물	-	-
디클로로메탄 분획물	-	-
에틸아세테이트 분획물	3.82	8.34
n-부탄올 분획물	7.8	12.84
물 분획물	-	-
Quercetin [b]	2.29	
Trolox [c]		3.07

[0081] [a] IC_{50} 값은 50% 억제 농도로 정의한다.

[0082] [b] Quercetin, 양성 대조군.

[0083] [c] Trolox, 양성 대조군.

[0084] **표 2: 랫트 수정체에 대한 감송향 분획물로부터 분리된 화합물들의 알도스 환원효소 및 ABTs 억제 효과**

Number	Compound	$IC_{50}(\mu M)$ [a]	
		rAR	ABTs
1	Protocatechuic acid	-	32.16
2	Chlorogenic acid	3.16	17.36
3	Caffeic acid	-	13.47
4	Nardoxide	-	29.68
5	Chlorogenic acid methyl ester	10.76	26.81
6	1,5-di-*O*-Caffeoylquinic acid	2.98	18.46
7	Debilone	-	-
	Quercetin [b]	5.56	
	Trolox [c]		12.26

[0085]

[0086] [a] IC_{50} 값은 50% 억제 농도로 정의한다.

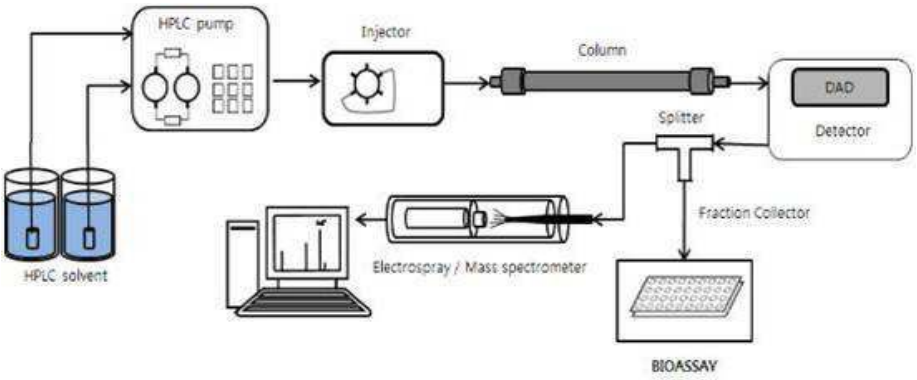
[0087] [b] Quercetin, 양성 대조군.

[0088] [c] Trolox, 양성 대조군.

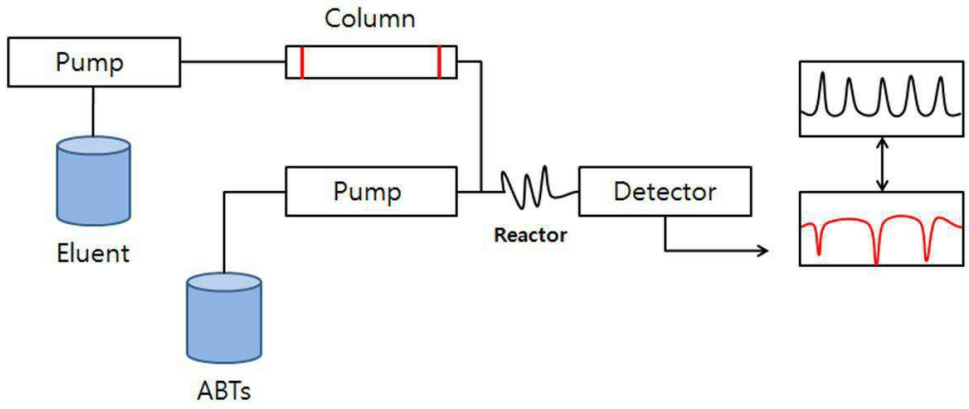
[0089] 상기 표 1 및 2의 결과로부터, 감송향 에탄올 추출물이 우수한 알도스 환원효소 억제 활성 및 라디칼 소거 활성을 나타내고, 감송향 에틸아세테이트 분획물이 상당한 알도스 환원효소 억제 활성(IC_{50} = 3.82㎍/㎖) 및 라디칼 소거 활성(IC_{50} = 8.34㎍/㎖) 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 또한, 감송향 분획물로부터 분리한 화합물 2 및 6에서 특히 우수한 알도스 환원효소 억제 및 라디칼 소거 활성이 있음을 확인할 수 있었다.

도면

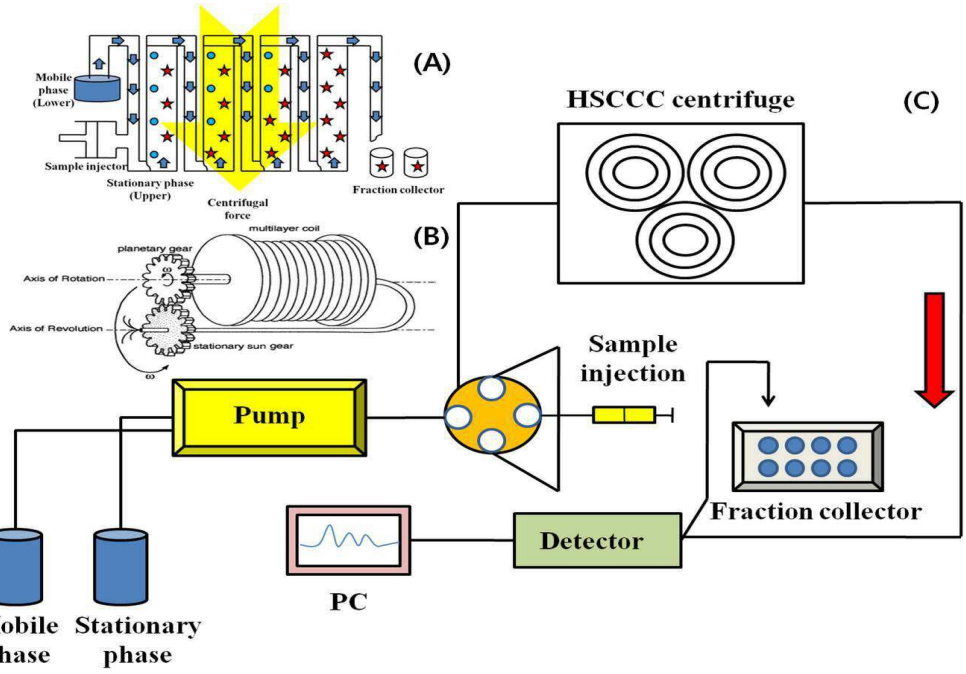
도면1



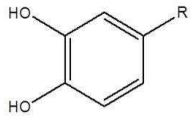
도면2


Column
Pump
Pump
Detector
Reactor
Eluent
ABTs

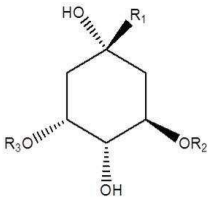
도면3


(A)
Mobile phase (Lower)
Sample injector
Stationary phase (Upper)
Centrifugal force
Fraction collector
(B)
multilayer coil
planetary gear
Axis of Rotation
Axis of Revolution
stationary sun gear
ω
HSCCC centrifuge
(C)
Sample injection
Pump
Fraction collector
Detector
PC
Mobile phase
Stationary phase

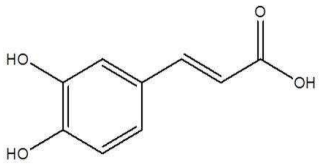
도면4



1. R= COOH
3. R= CH=CH.COOH

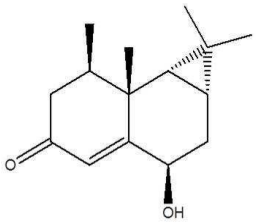


Quinic acid

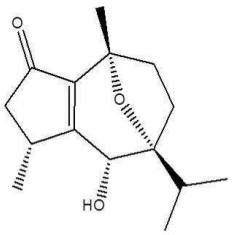


Caffeoyl group

2. R_1= COOH, R_2= caffeoyl, R_3= H
5. R_1= COOMe, R_2= caffeoyl, R_3= H
6. R_1= caffeoyl, R_2= H, R_3= caffeoyl

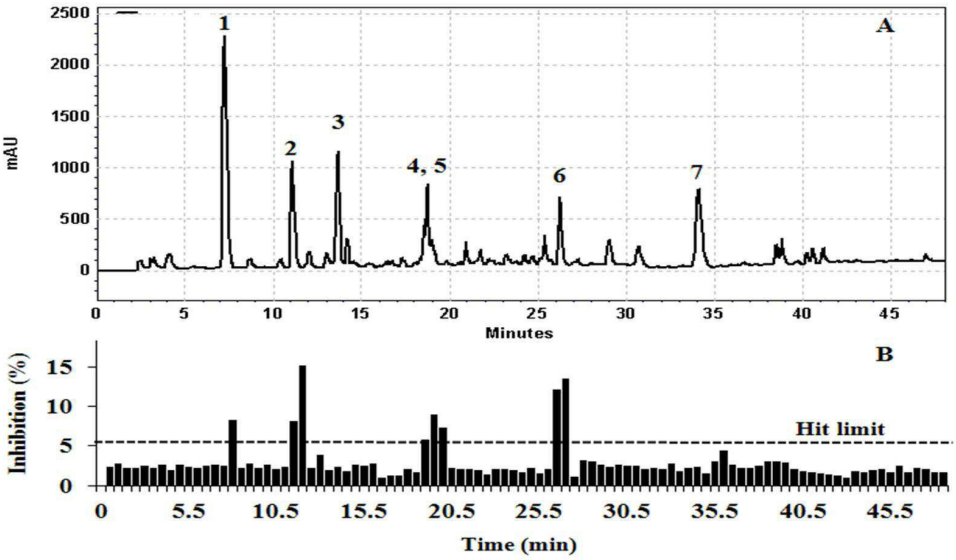


4

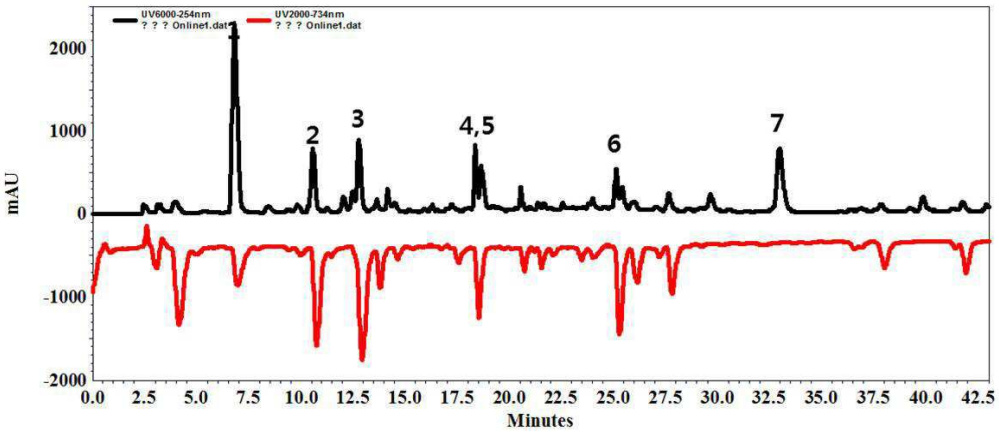


7

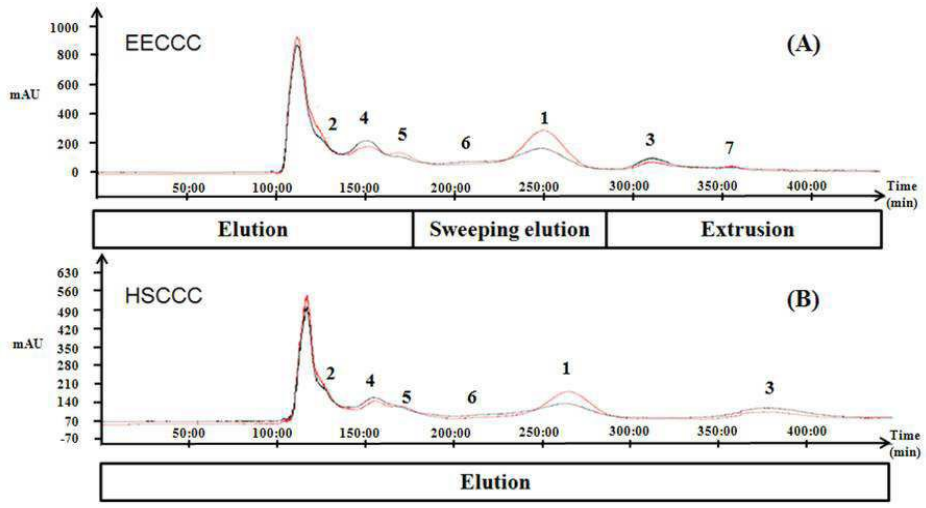
도면5



도면6


UV6000-254nm
? ? ? Online1.dat
UV2000-734nm
? ? ? Online1.dat
mAU
2000
1000
0
-1000
-2000
1
2
3
4,5
6
7
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
12.5
15.0
17.5
20.0
22.5
25.0
27.5
30.0
32.5
35.0
37.5
40.0
42.5
Minutes

도면7


EECCC
(A)
mAU
1000
800
600
400
200
0
2
4
5
6
1
3
7
50:00
100:00
150:00
200:00
250:00
300:00
350:00
400:00
Time
(min)
Elution
Sweeping elution
Extrusion
HSCCC
(B)
mAU
630
560
490
420
350
280
210
140
70
-70
2
4
5
6
1
3
50:00
100:00
150:00
200:00
250:00
300:00
350:00
400:00
Time
(min)
Elution

도면8

