(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0002105
(43) 공개일자 2019년01월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/48 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 8/97 (2017.01) *A61Q 19/02* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/48 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0082541
(22) 출원일자 2017년06월29일
심사청구일자 2017년06월29일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
허호진
경상남도 진주시 금산면 중장로154번길 49, 107동 901호(두산위브아파트)
김성현
경상남도 진주시 문산읍 월아산로 991, 301(바이오21센터 성장벤처기업지원동)
박선경
경상남도 통영시 운하1길 25, 216호(미수동, 운하맨션)
(74) 대리인
위병갑

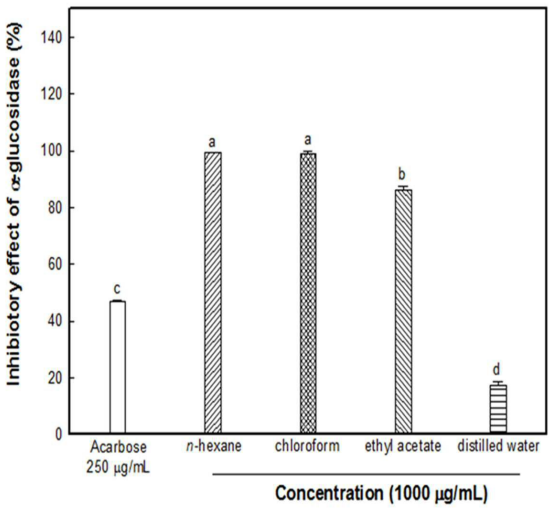
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물의 고지방 식이로 유발되는 비만 및 당뇨병에 대한 개선 효과에 대한 것으로, 구체적으로 땅콩 새싹 추출물과 이를 다양한 용매로 분획하여 얻은 분획물들이 항산화 효과 및 지방 축적 억제 효과를 나타내고, 고지방 식이에 의해 유발된 2형 당뇨병 모델 마우스에서의 당뇨병 및 이의 합병증 증상에 대한 개선 및 치료 효과를 나타냈으므로, 이를 대사성 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 이용할 수 있다.

대 표 도 - 도10



(52) CPC특허분류
A61K 8/97 (2013.01)
A61Q 19/02 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/328 (2013.01)
A23V 2200/332 (2013.01)
A61K 2236/35 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 C0395788
부처명 중소기업청
연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원
연구사업명 산학연협력기술개발
연구과제명 땅콩새싹을 이용한 혈당조절용 건강지향식품 개발
기 여 율 1/1
주관기관 경상대학교 산학협력단
연구기간 2016.05.01 ~ 2017.04.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 분획물은 땅콩 새싹 추출물을 n-헥산(hexane) 또는 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 분획하여 얻은 것인 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 혈당 강하, 지방 축적 감소, 당뇨병성 인지장애 개선 및 지질 대사 개선 활성이 있는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 항산화용 화장료 조성물.

청구항 5

땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 식품조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물의 대사성 질환의 개선 효과에 대한 것으로, 구체적으로, 고지방 식이로 유발되는 비만 및 당뇨병에 대한 개선 및 치료 효과에 대한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 비만은 과잉의 지방세포(Adipocyte)로 정의할 수 있으며, 비만 그 자체는 문제가 되지 않을 수도 있으나, 이로 인해 야기되는 사회적 장애 및 과다한 지방으로 유발되는 2차 합병증이 심각하다. 예를 들어, 비만은 2형 당뇨병, 고혈압, 심혈관질환, 고지혈증, 동맥경화, 지방간, 관절이상, 관절염, 성기능장애, 암 등의 질환을 유발한다. 비만을 예방하고 치료하는 방법으로는 식사요법, 운동요법, 행동요법, 약물요법, 수술요법 등의 방법들이 이용되고 있다. 최근에는 지방흡수를 감소시키는 약물 등을 복용함으로써 비만을 치료하는 경우가 있는데, 이러한 다이어트 약은 고혈압 등의 심혈관계질환 및 뇌졸중과 같은 부작용을 유발할 수 있으며, 복용을 중단할 경우 다시 체중이 증가하는 경우가 종종 발생한다. 중증 비만의 경우에는 지방을 제거하는 수술이나 몸이 소화할 수 있는 음식량을 제한하기 위한 위성형술 또는 위밴드삽입술 등의 수술요법이 시행되고 있지만, 수술의 부작용 또는 그로 인한 합병증이 발생하는 경우가 보고되고 있으며, 심지어 사망하는 경우도 보고되고 있다. 따라서, 독성 및 부작용이 적은 비만 치료제의 개발이 절실히 요구되고 있어, 한약재 및 식품 등의 천연물 유래 활성성분을 이용하여 지방 축적을 줄이기 위한 연구가 주목받고 있다. 그 예로, 한약재의 추출물을 포함하는 비만의 예방 및 치료용 조성물(한국공개특허 제2015-0105563호) 또는 마늘 및 여주 추출물을 포함하는 비만의 개선, 예방 또는 치료용 조성물(한국공개특허 제2015-0085543호) 등이 개발된 바 있다. 그러나,비만에 대하여 기존의 합성 약학적 조성물보다 치료 효과가 우수하며, 부작용이 적은 천연 약학적 조성물 또는 그 원료에 대한 개발은 아직까지 미비한 실정이다.

[0003] 당뇨병은 대표적인 만성 성인병의 하나로서 우리나라의 당뇨병 환자는 전체 인구의 약 5% 정도로 최소한 250만 명으로 추정되고 있다. 선진국의 경우에도 당뇨병의 환자 수는 매년 급증하고 있으며, 우리나라도 생활수준의 향상과 더불어 생활양식이 서구화되면서 점차로 환자의 수가 증가되고 있다. 이러한 당뇨병은 일반적으로 인슐

린의 부족으로 인해 발병하는데, 폴리펩티드성 호르몬인 인슐린은 췌장에 있는 랑게르한스섬의 β-세포에서 만들어지며, 체내 대부분의 세포에서 포도당을 사용하는데 필요로 한다. 그러나 당뇨병은 인슐린의 절대량이 부족한 것을 의미하는 것이 아니라, 인슐린 이외의 다른 호르몬이 많이 분비되어 상대적으로 부족한 것을 나타내는 것이기도 하며, 신체 세포들이 포도당을 정상적으로 사용할 수 있는 능력에 장애가 생겨 혈당치가 증가하거나 과량의 당분이 소변으로 배설되는 대사성 질환에 속한다. 또한, 당뇨병은 발병 원인에 따라 크게 2개의 부류로 나눌 수 있는데, 첫째는 인슐린 의존형 당뇨병(Type IInsulin dependent diabetes mellitus, IDDM)으로서, 당뇨병 환자의 약 10%를 차지하고 있고, 대개 20세 이하의 어린 연령층에서 발병하므로 유전성인 것으로 보이며, 일명 소아당뇨병(juvenile onset diavetes)이라고도 한다. 이는 특정한 인간 림프구 항원(HLA)과 바이러스 감염 등으로 랑게르한스섬의 β-세포가 파괴되어 인슐린의 분비가 정상적으로 진행되지 않아 발병하는 것이며 일반적으로 체중이 감소하고 케톤증(Ketonacidosis)이 되기 쉽다. 이러한 인슐린 의존형 당뇨병은 인슐린 투여로 치료가 가능하고 급성 형태가 많으며, 성인보다는 어린이, 특히 여아에게서 주로 나타난다. 둘째로는 인슐린 비의존형 당뇨병(Type II. Noninsulin dependent diabetes mellitus NIDDM)으로서, 이는 40세 이후에 발병하는 성인형 당뇨병(adult onset diabetes) 또는 2형 당뇨병이라고도 한다. 운동부족과 비만, 과식, 스트레스 등으로 인하여 근육이나 지방조직 등 말초조직에서 인슐린에 대한 감수성이 둔화되어 당대사의 장애가 4~5년의 이상 오랜 기간 지속되어 발병하는 것으로 알려져 있다. 인슐린 비의존형 당뇨병, 즉, 2형 당뇨병은 식사요법과 운동요법으로 체중을 줄이면 50~80%는 치유가 되며, 인슐린을 투여하지 않아도 생명에는 지장이 없을 정도이므로 인슐린 비의존형 당뇨병이라고 한다. 이 외에도 영양실조 관련 당뇨병(일명 '제3형 당뇨병' 이라고 함)이 있으며, 이는 열대지방에서 나타나는 젊은이 당뇨병으로 유아기에 영양실조의 병력을 가진 경우에 나타나는 당뇨병으로서, 앞서 두 형태의 당뇨병과 약간 다른 모습을 보이고 있어 세계보건기구는 이를 독립된 형으로 분리하였다.

[0004] 당뇨병은 그 자체보다는 합병증이 더 위험하기 때문에, 오늘날 당뇨병 치료에 있어서 가장 큰 목표는 당뇨성 합병증의 유발이나 진행을 억제하는데 있다. 특히 당뇨성 합병증은 당뇨병이 오래 지속되어 나타나는 현상으로 보통 10~15년을 경과한 후에 생기는 만성 합병증이 주를 이루고 있으며, 그 대표적인 예로, 당뇨성 망막증, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경증 등이 있다. 따라서 최근에는 당뇨병뿐만 아니라 당뇨병으로 인한 합병증을 치료하기 위한 치료제로서 인체 부작용이 적고 치료 효과가 높은 약제를 천연재료로부터 얻으려는 연구들이 지속되고 있는데, 이러한 연구 결과, 대한민국공개 특허 제2008-0078963호에는 인삼 추출물 및 화살나무 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병의 예방 또는 치료용 조성물에 대한 내용이 개시되어 있고, 대한민국공개특허 제2008-0085358호에는 측백 추출물, 분획물 또는 이로부터 분리한 화합물을 포함하는 당뇨병 합병증 예방 및 치료용 조성물에 대한 내용이 개시되어 있으며, 미국등록특허 제824,365호에는 오죽 추출물 또는 이로부터 분리한 화합물을 포함하는 당뇨병 합병증 예방 및 치료용 조성물에 대한 내용이 개시되어 있다. 이처럼, 많은 천연재료로부터 당뇨병 및 당뇨성 합병증을 치료하기 위한 새로운 약제들이 개발되고 있으나 종래 개발된 약제의 경우 치료 효과가 미비하거나 또는 인체 부작용들을 유발하는 문제점들이 있어 궁극적으로 당뇨병 및 당뇨성 합병증의 치료제로서는 부적합한 단점이 있다.

[0005] 한편, 싹이 돋아나는 시기의 식물은 앞으로의 성장을 위해 필요한 물질들을 왕성하게 만들어 내기 때문에, 새싹 채소인 새싹 땅콩에는 자연히 생명 유지에 필요한 온갖 영양소가 응축돼 있고, 씨앗에 없는 영양분들이 포함되어 있다. 이와 같은 새싹 채소의 다양한 생리활성 효능에 대한 연구가 아직 매우 부족한 실정이므로, 이들을 천연식품을 소재화하기 위한 연구가 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명에서는 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0007] 아울러, 본 발명에서는 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명자들은 땅콩 새싹 추출물과 이를 다양한 용매로 분획하여 얻은 분획물들을 제조하고, 이의 항산화 효과 및 지방축적 억제 효과를 확인하였으며, 2형 당뇨병 모델 마우스에서의 당뇨병 및 이의 합병증 증상에 대한 치료 효과를 확인하였다.

발명의 효과

[0009] 본 발명의 땅콩 새싹 추출물과 이의 분획물은 항산화 효과 및 지방축적 억제 효과를 가지며, 고지방 식이에 의해 유발된 2형 당뇨병과 이로 인한 합병증 증상에 대해 개선 및 치료 효과를 가지므로, 이를 대사성 질환의 예방 또는 치료용도로 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 페놀성 화합물 함량을 확인한 도이다.

도 2는 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 ABTS 라디칼 소거 활성을 확인한 도이다.

도 3은 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 지질 과산화 저해 활성을 확인한 도이다.

도 4는 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 세포독성을 확인한 도이다.

도 5는 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물에 의한 지방 축적 정도를 현미경으로 확인한 도이다.

도 6은 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물에 의한 지방 축적 억제를 확인한 도이다.

도 7은 땅콩 새싹의 에틸 아세테이트 분획물의 농도별 지방 축적 억제효과를 확인한 도이다.

도 8은 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 산화 스트레스에 대한 세포 보호 효과를 확인한 도이다.

도 9는 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 산화적 스트레스에 의해 유도된 세포 내 ROS에 대한 효과를 확인한 도이다.

도 10은 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 α-glucosidase 저해에 따른 식후 혈당 농도 조절 효과를 확인한 도이다.

도 11은 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 에틸 아세테이트 분획물 및 클로로포름 분획물의 농도별 α-glucosidase를 억제 활성을 확인한 도이다.

도 12는 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 당뇨로 유발된 인지기능 장애에 대한 효과를 확인한 도이다.

도 13은 본 발명에서 수립한 2형 당뇨병 모델 마우스의 내당능검사(IPGTT) 결과이다.

도 14는 땅콩 새싹의 *n*-헥산 분획물(HPS) 및 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)의 혈당 강하 효과를 내당능검사를 통해 확인한 도이다.

도 15는 땅콩 새싹의 *n*-헥산 분획물(HPS) 및 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)의 혈당 강하 효과를 복강 내 당부하 검사를 통해 확인한 도이다.

도 16은 땅콩 새싹의 *n*-헥산 분획물(HPS) 및 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)의 항산화 활성을 간 조직에서의 SOD 함량을 통해 확인한 도이다.

도 17은 땅콩 새싹의 *n*-헥산 분획물(HPS) 및 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)의 산화적 스트레스에 대한 세포 보호 효과를 확인한 도이다.

도 18은 땅콩 새싹의 *n*-헥산 분획물(HPS) 및 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)의 지질 과산화 억제 효과를 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 이하, 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않으며 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0013] 일 측면에서, 본 발명은 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0014] 일 구현예에서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 탄소수 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출될 수 있으며, 에탄올로 추출되는 것이 더욱 바람직하다.

[0015] 일 구현예에서, 상기 분획물은 땅콩 새싹 에탄올 추출물을 클로로포름(chloroform), 증류수, n-헥산(hexane) 또는 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 분획하여 얻은 분획물일 수 있으며, n-헥산(hexane) 또는 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 분획하여 얻은 분획물인 것이 바람직하다.

[0016] 일 구현예에서, 상기 분획물은 땅콩 새싹 에탄올 추출물을 *n*-헥산(hexane), 클로로포름(chloroform), 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 및 증류수(distilled water)의 순서로 순차적으로 연속 분리한 것일 수 있다.

[0017] 일 구현예에서, 상기 추출물 또는 분획물은 혈당 강하, 항산화 증가, 지방 축적 감소, 당뇨병성 인지장애 개선 및 지질 대사 개선 활성이 있다.

[0018] 일 구현예에서, 상기 대사성 질환은 비만 또는 당뇨일 수 있으며, 상기 당뇨는 2형 당뇨일 수 있다.

[0019] 일 구현예에서, 본 발명의 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물은 당뇨병 합병증의 증상을 예방 또는 치료하기 위한 약학적 조성물로 이용될 수 있다.

[0020] 본 발명에서 상기 “당뇨성 합병증”이란 당뇨병이 오래 지속되어 나타나는 증상들을 말하며, 당뇨성 합병증의 질환으로는 이에 제한되지는 않으나, 당뇨성 말초신경장해, 고혈압, 뇌혈관경색증, 뇌졸중, 심근경색, 협심증, 신장병, 망막증, 신증, 백내장, 각막증, 신경증 및 동맥경화 등이 포함될 수 있으며, 당뇨병성 인지장애 및 지질 대사 장애일 수 있다.

[0021] 본 발명에 있어서, 상기 추출물은 추출 용매로 추출하거나 추출 용매로 추출하여 제조한 추출물에 분획용매를 가하여 분획함으로써 제조할 수 있다. 상기 추출 용매는 이에 제한되지 않으나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매 등을 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 알코올이나, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매, 헥산 또는 디크로로메탄의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 또한, 바람직하게는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 에탄올을 사용할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 상기 용매로서 80% 에탄올을 이용하여 추출하여 땅콩 새싹 에탄올 추출물을 제조하였다.

[0022] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물(extract)"은 땅콩 새싹을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다. 상기 땅콩 새싹 추출물은 통상의 기술분야에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.

[0023] 본 발명에서, 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 당뇨의 발생 및 이로인한 합병증을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0024] 본 발명에서 사용된 용어 "치료"란 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 당뇨의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 대한의학협회 등에서 제시된 자료를 참조하여 본원의 조성물이 효과가 있는 질환의 정확한 기준을 알고, 개선, 향상 및 치료된 정도를 판단할 수 있을 것이다.

[0025] 본 발명의 약학조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 당뇨의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 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 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여, 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0026] 일 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸의 경구형 제형, 액상, 크림상, 로션상, 페이스트상 또는 고체상의 경피 국소 도포형 제형, 좌제, 멸균 주사용액 및 분무제를 포함하는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 제형일 수 있다.

[0027] 본 발명의 조성물의 치료적으로 유효한 양은 여러 요소, 예를 들면 투여방법, 목적부위, 환자의 상태 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 인체에 사용 시 투여량은 안전성 및 효율성을 함께 고려하여 적정량으로 결정되어야 한다. 동물실험을 통해 결정한 유효량으로부터 인간에 사용되는 양을 추정하는 것도 가능하다. 유효한 양의 결정시 고려할 이러한 사항은, 예를 들면 Hardman and Limbird, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed.(2001), Pergamon Press; 및 E.W. Martin ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed.(1990), Mack Publishing Co.에 기술되어있다.

[0028] 본 발명의 조성물은 또한 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 둘 이상의 이들의 조합을 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 조성물을 생체 내 전달에 적합한 것이면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들면, Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc. 에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로스 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 이용할 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 주이용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당 분야의 적정한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science(Mack Publishing Company, Easton PA, 18th, 1990)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0029] 본 발명의 조성물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.

[0030] 본 발명의 약학 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 덱스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 중량부 내지 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 비 경구 투여(예를 들어 정맥 내, 경피, 복강 내 또는 국소에 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설률 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다.

[0032] 본 발명의 조성물의 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 통상적으로 사용되는 단순 희석제인 물, 액체 파라핀 이외에 다양한 부형제, 예컨대 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 함께 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다.

[0033] 일 측면에서, 본 발명은 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 항산화용 화장료 조성물에 관한 것이다.

[0034] 일 구현예에서, 상기 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물은 항산화 효과를 가지므로, 이를 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물은 노화방지, 항산화, 미백활성 또는 주름 개선을 목적으로 유용하게 이용될 수 있다.

[0035] 본 발명의 화장료 조성물은 상술한 본 발명의 유효성분인 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물의 화장품학적 유효량(cosmetically effective amount) 및 화장품학적으로 허용되는 담체를 포함하여 제조할 수 있다.

[0036] 본 명세서에서 용어 “화장품학적 유효량”은 상술한 본 발명의 조성물의 여드름 유발균에 대한 항균 효능 또는 항염증 효능을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다.

[0037] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어,

용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 포옴, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0038] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0039] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0040] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산에스테르가 있다.

[0041] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0042] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0043] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 상기 유효 성분 및 담체 성분 이외에, 피부 외용제 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

[0044] 일 측면에서, 본 발명은 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

[0045] 일 구현예에서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 탄소수 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출될 수 있으며, 에탄올로 추출되는 것이 더욱 바람직하고, 80% 에탄올이 가장 바람직하다.

[0046] 일 구현예에서, 상기 분획물은 땅콩 새싹 에탄올 추출물을 클로로포름(chloroform), 증류수, n-헥산(hexane) 또는 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 분획하여 얻은 분획물일 수 있으며, n-헥산(hexane) 또는 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 분획하여 얻은 분획물인 것이 바람직하다.

[0047] 본 발명의 조성물을 식품 조성물로 사용하는 경우, 상기 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상의 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 상기 조성물은 유효성분 이외에 식품학적으로 허용가능한 식품보조첨가제를 포함할 수 있으며, 유효성분의 혼합량은 사용목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0048] 본 발명에서 사용되는 용어 "식품보조첨가제"란 식품에 보조적으로 첨가될 수 있는 구성요소를 의미하며, 각 제형의 건강기능식품을 제조하는데 첨가되는 것으로서 당업자가 적절히 선택하여 사용할 수 있다. 식품보조첨가제의 예로는 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등이 포함되지만, 상기 예들에 의해 본 발명의 식품보조첨가제의 종류가 제한되는 것은 아니다.

[0049] 본 발명의 식품 조성물에는 건강기능식품이 포함될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 용어 "건강기능식품"이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상 및 환 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 말한다. 여기서 '기능성'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 기술분야에서

통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 통상의 기술분야에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 건강기능식품의 제형 또한 건강기능식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 발명의 건강기능식품은 다른 당뇨병 치료제의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0050] 또한, 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 건강식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물을 활성성분으로 포함하는 조성물은 당업자의 선택에 따라 건강기능식품에 함유될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림 류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 추출물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.

[0051] 본 발명의 땅콩 새싹 추출물 또는 이의 분획물은 천연 식물을 원료로 하므로 약학적 조성물 또는 식품 조성물로 사용할 경우에도 일반적인 합성 화합물에 비하여 부작용이 덜할 수 있으므로, 안전하게 약학적 조성물 및 건강기능식품에 포함되어 유용하게 사용될 수 있다.

[0053] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0055] **실시예. 땅콩 새싹 추출물 및 분획물 제조**

[0056] 건조하여 분쇄한 땅콩(*Arachis hypogaea* L.) 새싹 60 g에 80% 에탄올 3 L를 첨가하여 40℃에서 2시간 동안 환류냉각기로 추출하였다. 추출한 땅콩 새싹 에탄올 추출물은 Whatman No. 2 filter paper (Whatman International Limited, Kent, UK)를 이용해서 여과를 한 후, 진공 농축기 (N-N series, EYELA Co., Tokyo, Japan)로 농축한 뒤, 증류수를 이용하여 1L가 되도록 정용하였다. 그 후, *n*-헥산(hexane), 클로로포름(chloroform), 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 및 증류수(distilled water)를 이용하여 분별 깔때기에서 연속 분리하였다.

[0058] **실험예 1. 땅콩 새싹 분획물의 페놀성 화합물 함량 확인**

[0059] 상기 실시예에서 제조한 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 페놀성 화합물 함량을 확인하였다. 구체적으로, 분획물 시료 용액 1 mL에 3차 증류수 9 mL를 첨가한 후 Folin & Ciocalteau's phenol reagent 1 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응 용액에 7% Na_2CO_3 용액 10 mL를 넣어 다시 혼합한 다음 3차 증류수로 25 mL가 되도록 정용하였다. 이 혼합 용액을 23℃에서 2시간 동안 정치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 갈산(gallic acid)를 이용하여 작성된 검량선으로 총 페놀성 화합물 함량을 계산 하였다.

표 1

[0060]

분획물	페놀성 화합물 함량
n-hexane	12.94 mg GAE/g
chloroform	26.00 mg GAE/g
ethyl acetate	121.25 mg GAE/g
distilled water	23.83 mg GAE/g

[0061] 그 결과, 상기 표 1 및 도 1과 같이 나타나, 땅콩 새싹 에탄올 추출물의 에틸 아세테이트 분획물의 페놀성 화합물 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

[0063] **실험예 2. 땅콩 새싹 분획물의 항산화 활성**

[0064] 2-1. ABTS 라디칼 소거활성

[0065] 상기 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물을 이용하여 각각의 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하였으며, 양성 대조군으로서 비타민 C를 이용하였다. 구체적으로, 1.0 mM AAPH(2,2'-azobis-(2-amidinopropane)dihydro- chloride) 및 2.5 mM ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzhiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)를 150 mM NaCl이 더해진 100 mM 인산 완충액(phosphate buffer) (pH 7.4)과 함께 혼합하여 68℃ 워터배스(water bath)에서 30분 동안 열을 가하고 실온에서 10분 동안 식혔다. ABTS 용액은 734 nm에서 흡광도 값이 0.65이 나오도록 버퍼로 희석시켜 사용하였다. 시료용액 20 ㎕에 흡광도 값을 맞춘 ABTS 용액 980 ㎕를 혼합하여 37℃에서 10분간 반응시키고, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0066] 그 결과, 땅콩 새싹의 분획물들 중 에틸 아세테이트 분획물이 가장 높은 ABTS 라디칼 소거 활성을 나타냈으며, 비타민 C와 비교해서도 유의적으로 매우 우수한 항산화 활성을 나타내는 것으로 확인되었다 (도 2).

[0068] 2-2. 지질 과산화 억제활성

[0069] 상기 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 지질 과산화 억제 활성을 확인하기 위하여, 지질 과산화 중간생성물인 MDA(malondialdehyde) 생성을 억제하는 정도를 뇌조직을 이용하여 측정하였다. 구체적으로, 4주령의 ICR 수컷 마우스를 실험동물 공급업체(Samtako, Osan, Korea)로부터 구입하여 7일간의 환경 적응 기간을 유지했다. 모든 실험동물은 2마리씩 한 개의 사육 케이스에 넣어 항온(22℃), 항습(50-55%)을 일정하게 유지하였고, 12시간 간격으로 낮과 밤을 교대시키는 동일한 환경에서 충분한 양의 식수와 사료를 공급하며 사육하였다 (경상대학교 동물실험 인가번호 GNU-120831-M0037). 상기 환경에서 4주간 사육한 ICR 마우스의 뇌을 적출하여 실험에 사용하였다. 뇌 조직에 10 배(부피)의 ice cold Tris-HCl buffer (20 mM, pH 7.4)에 균질화시켜 원심분리 하였다. 상등액 0.1 mL에 10 μM $FeSO_4$ 0.1 mL, 0.1 mM 아스코르브산(ascorbic acid) 0.1 mL 및 분획물 시료 0.2 mL를 혼합하여 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 그 후 30% 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid) 0.1 mL 및 1% TBA(thiobarbituric acid) 0.3 mL를 첨가하여 80℃에서 30분간 가열한 후, 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0070] 그 결과, 모든 땅콩 새싹 분획물들은 그의 농도가 증가함에 따라 지질 과산화를 억제하는 정도가 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, *n*-헥산, 클로로포름 및 에틸 아세테이트 분획물은 100 μg/mL 농도에서 각각 50.26%, 62.15% 및 65.65%의 지질 과산화 저해활성을 나타냈다 (도 3).

[0072] **실험예 3. 땅콩 새싹 분획물의 지방 축적 억제 효과**

[0073] 3-1. 세포 독성 확인

[0074] 상기 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 3T3-L1에 대한 세포 독성을 확인하였다. 구체적으로, 3T3-L1 지방전구세포(preadipocyte) (ATCC CL-173, American Type Culure Collection, Manassas, USA)은 10% 우아혈청(bovine calf serum_이 함유된 DMEM을 이용하여 배양하였으며, 분화 유도 및 성숙 배지로는 10% 소태아혈청(fetal bovine serum)이 함유된 DMEM을 이용하였고, 37℃, 5% CO_2 조건의 배양기에서 배양하였다. 세포 배양용 96-웰 플레이트에 합류(confluent) 상태까지 배양한 후, 본 발명의 분획물들을 각각 100 μg/mL 농도로 처리하고 48시간 후에, MTT(tetrazolium bromide salt)를 처리하여 2시간 동안 배양시켰다. 배양 후, 모든 배양액을 제거하고 DMSO 100 ㎕를 분주하여 생성된 포르마진(formazin)을 녹인 뒤 마이크로플레이트 리더기(microplate reader)로 570 nm (determination wave) 및 690 nm (reference wave)에서의 흡광도를 측정하였다.

[0075] 그 결과, 땅콩 새싹의 분획물 모두 100 μg/mL의 농도에서 세포독성을 나타내지 않는 것으로 나타났다 (도 4).

[0077] 3-2. 지방 축적 억제

[0078] 지방전구세포인 3T3-L1의 지방세포(adipocyte)로의 분화와, 인슐린에 의한 상기 지방세포 내의 지방 축적에 대한 땅콩 새싹의 분획물들의 활성을 확인하기 위하여, MDI(3-isobutyl-1-methylxanthine, dexamethasone 및

isulin)를 처리한 뒤, 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물을 처리하였다. 구체적으로 3T3-L1 지방전구세포를 세포 배양용 24 웰 플레이트에서 합류 상태까지 배양한 후, 10 μg/ml 인슐린, 0.1 μM 덱사메타손 및 0.5 μM IBMX가 포함된 분화배지 (MDI 배지)로 교환하여 2일간 배양하였다. 그 후 매 2일마다 10 μg/mL 인슐린이 포함된 배지로 교환하여 지방축적을 유도하였고, 동시에 본 발명의 분획물을 각각 100μg/mL씩 처리하여 이에 의한 지방축적억제 효과를 확인하였다. 8일간 분화를 유도한 3T3-L1 세포는 지방함량을 확인하고 측정하기 위하여, 10 % 포름알데하이드를 300 ㎕씩 각 웰에 넣고 1시간 동안 고정하였다. 포름알데하이드를 제거하고 증류수로 씻어낸 후, 각 웰에 oil Red O working solution을 300 ㎕씩 넣고 실온에서 30분 동안 염색한 뒤, 증류수로 3회 반복하여 세척하였다. 염색이 된 세포는 현미경으로 관찰하고 100% 이소프로판올을 가하여 세포내에 축적된 지질(lipid)을 용출한 뒤 96-웰 플레이트에 옮겨 490nm에서 흡광도를 측정함으로써 지방 축적(lipid accumulation) 정도를 평가하였다.

[0079] 지방세포로의 분화를 현미경으로 확인한 결과, 특히, 에틸 아세테이트 분획물을 처리한 군에서 MDI에 의해 축적된 지방이 현저히 감소한 것을 알 수 있었다 (도 5). 또한, 지방에 염색된 oil red O를 녹여 흡광도로 측정한 지방 축적을 수치적으로 확인한 결과, 대조구 대비 MDI 처리 군 (158.93%)에서는 지방세포로 분화된 후 약 58.93% 지방축적이 증가하였고, 이를 땅콩 새싹의 분획물들 중 에틸 아세테이트 분획물 (141.07%)만이 약 10% 정도 지방 축적을 억제하는 것을 알 수 있었다 (도 6).

[0080] 이러한 결과를 바탕으로 땅콩 새싹의 에틸 아세테이트 분획물의 농도별 (2, 5, 10, 20, 50, 100 및 200μg/mL) 지방 축적 억제효과를 추가로 확인한 결과, 2-20μg/mL 농도에서는 농도가 증가할수록 지방 축적 억제 효과가 증가하였고, 20-200μg/mL에서는 오히려 농도가 증가할수록 지방 축적 억제 효과가 감소하여, 농도가 20μg/mL에서 가장 큰 지방 축적 억제 효과를 나타내었다 (도 7).

[0081] 따라서, 땅콩 새싹 에틸 아세테이트 분획물의 지방 축적 억제효과는 20μg/mL (132.01%)에서 가장 높게 나타남을 알 수 있었다.

[0083] 3-3. 산화적 스트레스에 대한 세포 생존율

[0084] 상기 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 산화 스트레스에 대한 3T3-L1 세포 (preadipocyte) 보호 효과를 확인하였다. 구체적으로, 비타민 C (200μM) (양성대조군), 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물 100μg/mL를 각각 3T3-L1 세포 (10^4 cells/well on 96-well plate)에 처리하여 24시간 동안 반응시켰다. 그 후, 200 μM H_2O_2를 대조군을 제외한 처리군에 3시간 동안 처리한 후, MTT stock 용액 10 ㎕를 처리하여 37℃에서 3시간 동안 배양하였다. 배양 후, DMSO 100 ㎕를 첨가하여 반응을 종결시켰고, 흡광도는 마이크로플레이트 리더기로 570 nm (determination wave) 및 690 nm (reference wave)에서 측정하였다.

[0085] 그 결과, H_2O_2 처리구 (75.90%)는 세포 생존율이 대조군 대비 약 25% 감소하였고, H_2O_2와 비타민 C를 동시에 처리한 양성대조군의 세포 생존율은 95.25%로 약 20% 정도 증가한 신경세포 생존율을 나타내었다. 땅콩 새싹 분획물은 에틸 아세테이트를 처리한 경우, 대조군보다 높은 세포 생존율을 나타내었다 (도 8).

[0087] 3-4. 산화적 스트레스에 대한 세포 내 ROS 함량

[0088] 산화적 스트레스에 의해 유도된 세포 내 ROS에 대한 상기 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 에틸 아세테이트 분획물의 효과를 확인하기 위하여, H_2O_2에 의해 유도된 산화적 스트레스에 의한 3T3-L1 세포 내 ROS 함량을 측정하였다. 구체적으로, 양성대조군인 비타민 C (200μM)와 땅콩 새싹의 에틸 아세테이트 분획물 50, 100 및 200μg/mL을 각각 세포에 전처리하여 48시간 동안 인큐베이션한 뒤, H_2O_2 200μM를 대조군을 제외한 처리군에 3시간 동안 처리하고, 50 μM DCF-DA를 넣어 50분간 추가 배양하여 형광 마이크로플레이트 리더기(fluorescence microplate reader)를 사용하여 485 nm (determination wave) 및 535 nm (reference wave)에서 형광 강도를 측정함으로써 세포 내 산화적 스트레스 생성량을 DCF-DA 측정방법으로 확인하였다.

[0089] 그 결과, H_2O_2 처리구 (136.58%)는 세포 내 ROS가 대조군 대비 약 37% 증가되었고, H_2O_2와 비타민 C를 동시에 처리한 양성 대조군은 세포 내 ROS가 59.60%로 나타나 약 77% 감소되었다. 땅콩 새싹 에틸 아세테이트 분획물의

경우, 농도 100㎍/mL 이상의 농도에서 대조군보다도 낮은 세포 내 ROS 함량을 나타내었고, 농도 200㎍/mL에서는 양성 대조군으로 사용된 비타민 C보다도 유의적으로 낮은 ROS 함량을 나타내었다 (도 9).

[0090] 따라서, 상기 결과들을 종합하면, 본 발명의 땅콩 새싹 에틸 아세테이트 분획물은 산화 스트레스에 대해 뛰어난 세포보호효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

[0092] **실험예 4. 땅콩 새싹 분획물의 혈당 조절 효과**

[0093] 4-1. α-glucosidase 활성 억제

[0094] 당질 가수분해와 흡수 저해에 따른 식후 혈당 농도 조절 효과를 확인하기 위하여, 상기 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 증류수 분획물의 단당류인 포도당으로 전환시키는 효소인 α-glucosidase의 활성에 미치는 영향을 현재 2형 당뇨 치료제로 사용되고 있는 acarbose 250 ㎍/mL를 양성 대조군으로하여 확인하였다. 구체적으로, 땅콩새싹 분획물들과 0.1 M 인산나트륨 버퍼(sodium phosphate buffer) (pH 6.9) 및 0.5 unit/mL의 α-glucosidase 효소 용액을 혼합하여 37℃에서 10분간 배양하였다. 배양 후, 200 ㎕ 5 mM 4-nitrophenyl-α-D-gluco-pyranoside를 가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 뒤 405 nm에서 마이크로플레이트 리더기 (680, Bio-rad,Tokyo, Japan)로 흡광도를 측정하였다.

[0095] 그 결과, 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름 및 에틸 아세테이트 분획물은 농도 1,000㎍/mL에서 α-glucosidase를 각각 99.20, 98.75 및 86.09% 저해하는 것으로 나타났으며, IC_{50}값은 9.69, 12.99 및 167.53㎍/mL로 나타나 양성대조군인 acarbose의 약 47% 저해율에 비해 현저한 것으로 나타났다 (도 10).

[0096] 또한, 상기 결과에서 α-glucosidase를 억제하는 것으로 나타난 땅콩 새싹의 *n*-헥산 및 클로로포름 분획물의 5, 10, 20, 50 및 100㎍/mL 농도에서의 α-glucosidase를 억제 활성과, 에틸 아세테이트 분획물의 50, 100, 200, 500 및 1000㎍/mL 농도에서의 α-glucosidase를 억제 활성을 확인한 결과, 양성대조군인 acarbose에 비해 더 낮은 농도에서 현저하게 glucosidase를 억제하는 것을 알 수 있었다 (도 11). 따라서, 이를 통해, 본 발명의 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름 및 에틸 아세테이트 분획물의 혈당 조절 소재로의 우수한 역할을 확인할 수 있었다.

[0098] 4-2. AChE(Acetylcholinesterase) 활성 억제

[0099] 뇌가 장기간 고혈당에 노출될 경우, 기억력 상실 및 학습력 저하 등을 유발 할 수 있으므로, 당뇨로 유발된 인지기능 장애에 대한 땅콩 새싹 분획물들의 효과를 AChE 활성을 통해 확인하였으며, 양성대조군으로 타크린(Tacrine)을 1㎛M을 이용하였다. 구체적으로, PC12 세포배양액을 2,000 rpm에서 6분간 원심 분리하여 상등액을 제거하고, 균질화를 위한 buffer (1 M NaCl, 50 mM $MgCl_2$, 1% Triton X-100 혼합액에 10 mM Tris-HCl로 pH 7.2로 조정) 2 mL를 첨가하여 Glass-Col homogenizer로 균질화한 후 균질화 된 세포배양액을 12,000 rpm에서 30분 동안 원심분리 하였으며, 그 상등액을 효소실험을 위하여 사용하였다. 모든 추출공정은 4℃에서 수행하였으며, 추출한 효소액의 단백질 함량을 측정하기 위하여 Quant-iTTM Protein Assay kit (Invitrogen Co., Carlsbad, Ca., USA)를 이용하여 측정하였다. 또한, 기질로 Acetylcholine iodide을 사용하였다. 상기 추출한 효소 10 ㎕에 본 발명의 분획물들을 각각 10 ㎕씩 넣어 37℃에서 15분간 pre-인큐베이션시킨 후 50 mM 인산나트륨 버퍼에 용해시킨 Ellman's reaction mixture [0.5 mM acetylthiocholine, 1 mM 5,5' dithiobis (2-nitro benzoic acid)] 70 ㎕를 첨가한 후 405 nm에서 10분 동안 2분 간격으로 흡광도를 측정하였다.

[0100] 그 결과, 증류수 분획물을 제외한 *n*-헥산, 클로로포름 및 에틸 아세테이트 분획물이 1000㎍/mL의 농도에서 양성대조군보다도 AChE 활성을 억제하는 것으로 나타났으며 (각각 82.74, 74.66, 70.18%), IC_{50}값은 각각 95.96, 74.31, 207.66㎍/mL로 나타났다 (도 12). 또한, 상기 *n*-헥산, 클로로포름 및 에틸 아세테이트 분획물은 10, 20, 50, 100 및 200㎍/mL 농도에서 농도 의존적으로 AChE 활성을 억제하는 것으로 나타났다.

[0101] 이러한 결과들을 종합해 볼 때, 땅콩 새싹의 *n*-헥산, 클로로포름 및 에틸 아세테이트 분획물은 혈당 조절 효과뿐만 아니라 당뇨로 인해 발생할 수 있는 인지기능 개선에도 도움을 줄 수 있는 것을 알 수 있었다.

[0103] **실험예 5. 땅콩 새싹 분획물의 항당뇨 효과 (*in vivo*)**

[0104] 5-1. 고지방 식이 유도 2형 당뇨 모델 마우스 수립

[0105] 4주령 C57BL/6 수컷 마우스를 실험동물 공급업체(Samtako, Osan, Korea)로부터 구입하여 7일 동안 적응시켰다. 모든 실험동물은 온도(24℃)와 습도(55%)를 일정하게 유지하여 사육하였고, 12시간 채광, 12시간 차광 조건에서 충분한 양의 식수와 사료를 공급하였다. 각 군당 8마리씩 5개의 군으로 나누어 일주일간 일반식이로 적응시킨 후 정상식이군(normal diet)을 제외한 모든 실험군은 지방함량이 60%인 고지방식이(high fat diet)로 15주간 비만을 유도한 뒤, 16주에서 20주까지 본 발명의 분획물의 항비만 효과를 살펴보기 위하여 고지방식이와 저농도(20 mg/kg/day), 고농도(50 mg/kg/day)로 경구 투여하면서 사육하였다.

[0106] 당뇨로 인한 내당능장애가 발생하였을 경우 인슐린이 제 기능을 하지 못하고, 고혈당을 나타내므로, 2형 당뇨병 모델이 정상적으로 유도되었는지 확인하기 위하여, 내당능검사(IPGTT)를 수행하였다. 복강 내 당부하검사(interaperotoneal glucose tolerance test, IPGTT)는 8시간 동안 금식시킨 마우스의 복강에 포도당(2 g/kg of body weight)을 투여한 후, 0, 15, 30, 60 및 120분 단위로 쥐의 꼬리 정맥으로부터 혈액을 획득하여 glucose meter기 (ACCU-CHEK, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)로 혈당을 측정하였다.

[0107] 그 결과, 8시간 공복 후, 고지방(high fat) 섭취 마우스 군의 공복 혈당은 154.95mg/dL로, 대조군의 공복 혈당 92.28mg/dL에 비해 높은 수준으로 나타나, 공복 혈당 장애가 유발되었음을 알 수 있었다. 글루코오스 주사 15분 후, 대조군 및 고지방군 모두 혈당이 증가하는 경향이 나타났으나, 30분 경과 후에는 대조군은 혈당이 일정하게 유지 및 감소하는 경향이 나타난 반면, 고지방군은 혈당이 계속 증가하는 경향을 나타냈다. 최종적으로 120분 뒤 대조군의 혈당은 120mg/dL였고, 고지방군은 305mg/dL의 혈당을 나타내, 공복혈당 장애와 내당능장애 모두가 발생한 것을 알 수 있었다 (도 13). 즉, 2형 당뇨 모델 마우스가 정상적으로 정립되었다.

[0108] 이와 같이 수립한 2형 당뇨 모델 마우스를 대상으로 상기 실험예 4까지의 *in vitro* 상에서의 연구들을 통해 효과가 현저한 것으로 나타난 땅콩 새싹 *n*-헥산 분획물(HPS) 및 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)의 *in vivo* 상에서의 항당뇨 활성을 확인하였다.

[0110] 5-2. 땅콩 새싹 분획물의 혈당 조절능 확인

[0111] 실시예에서 제조한 땅콩 새싹의 *n*-헥산 분획물(HPS) 및 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)의 혈당 강하 효과를 확인하기 위하여, 상기 5-1에서 수립한 2형 당뇨 모델 마우스를 일반 식이한 군 및 고지방 식이한 군(HFD, high fat diet)으로 나눠 16주 동안 식이한 뒤, 고지방 식이군 마우스에 20mg/kg of body weight 및 50mg/kg of body weight, *n*-헥산 분획물(HPS)을 50mg/kg of body weight로 각각 투여하면서 4주 동안 식이한 뒤, 상기 5-1에서와 같이 내당능검사와 복강 내 당부하 검사를 통해 마우스들의 혈당 강하 효과를 확인하였다.

[0112] 그 결과, 땅콩 새싹 분획물을 투여하기 전의 대조군 마우스들의 공복혈당은 평균 81.63mg/dL로 나타났고, 16주 동안 고지방식이를 수행한 마우스군의 공복혈당은 평균 155.19mg/dL로 나타나 대조군에 비해 현저히 증가되어 있는 것을 알 수 있었다. 4주 후 대조군의 공복혈당은 92.60 mg/dL였고, 고지방 식이군의 공복혈당은 172.4 mg/dL로 나타났으나, 땅콩 새싹의 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)을 20mg/kg of body weight로 투여한 군의 공복혈당은 147.25 mg/dL, 50mg/kg of body weight로 투여한 군의 공복혈당은 137.63 mg/dL로 나타났고, *n*-헥산 분획물(HPS)을 50mg/kg of body weight로 투여한 군의 공복혈당은 141.63 mg/dL로 나타나, 고지방 식이군(HFD)과 비교하여 유의적으로 혈당이 감소한 것으로 나타났으며, 특히 EFPS 50군은 약 20.17% 감소하여, 가장 낮은 공복혈당 값을 나타내, 가장 높은 혈당 강하 효과를 가지는 것으로 나타났다 (도 14).

[0113] 아울러, 복강 내 당부하 검사를 측정한 결과, 대조군에서는 15분에서 가장 높은 혈당 수치를 나타냈지만, 고지방 식이군은 30분에서 가장 높은 혈당 수치를 나타냈다. 반면, 땅콩 새싹 분획물을 처리한 군에서는 15분 이후 혈당량이 감소하는 경향을 나타냈다. 최종적으로 120분에서 혈당 수치를 비교하였을 때, 대조군은 123.25mg/dL, 고지방 식이군은 196.75mg/dL, EFPS 20, 50 및 HPS 50 처리군은 각각 157.75, 161.38 및 153.63mg/dL으로 나타났다 (도 15). 또한, 도 15의 혈당 곡선하면적 (area under the curve, AUC) 계산 결과는 고지방 식이군은 42840.00로 나타나 대조군 20393.44에 비해 약 2배 정도 높게 나타났고, EFPS 20, 50 및 HPS 50 처리군은 33092.81, 29785.31 및 30303.75으로 나타나 모두 감소하는 경향을 나타냈다. 특히, EFPS 50과 HPS 50군은 약 30% 감소하여, 고지방 식이로 유도된 2형 당뇨모델에서 EFPS 및 HPS 투여로 인해 뛰어난 혈당 강하가 나타났다.

[0115] 5-3. 기관 내 지방 축적 억제 효과

[0116] 2형 당뇨 모델 마우스를 일반 식이한 군 및 고지방 식이한 군(HFD, high fat diet)으로 나눠 16주 동안 식이한 뒤, 고지방 식이군 마우스에 땅콩 새싹 에틸 아세테이트 분획물 (EFPS)을 20mg/kg of body weight 및 50mg/kg of body weight, *n*-헥산 분획물(HPS)을 50mg/kg of body weight로 각각 투여하면서 4주 동안 식이한 뒤, 마우스의 무게를 재고 희생시켰다. 희생한 군별 마우스의 간, 비장, 신장, 고환 및 부고환을 적출하여 무게를 측정하였다.

표 2

[0117]

	Body weight (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney (g)	Testis (g)	Epididymal fat(g)
대조군	31.88 ± 1.89^{c}	1.16 ± 0.06^{a}	0.07 ± 0.01^{c}	0.32 ± 0.01^{c}	0.19 ± 0.01^{bc}	0.92 ± 0.21^{c}
고지방 식이군	49.00 ± 1.69^{a}	2.73 ± 0.11^{e}	0.12 ± 0.01^{a}	0.44 ± 0.01^{a}	0.23 ± 0.00^{a}	1.58 ± 0.06^{a}
EFPS 20	47.13 ± 1.89^{ab}	2.05 ± 0.28^{d}	0.08 ± 0.01^{bc}	0.38 ± 0.01^{b}	0.20 ± 0.01^{b}	1.32 ± 0.14^{b}
EFPS50	46.00 ± 3.16^{b}	1.39 ± 0.17^{b}	0.08 ± 0.01^{b}	0.36 ± 0.01^{b}	0.19 ± 0.02^{c}	1.34 ± 0.13^{b}
HPS 50	46.57 ± 2.57^{ab}	1.69 ± 0.11^{c}	0.09 ± 0.01^{b}	0.37 ± 0.03^{b}	0.19 ± 0.01^{bc}	1.22 ± 0.20^{b}

[0118] 그 결과, 기관 내 지방 축적이 고지방 식이군에 비해 땅콩 새싹의 분획물 처리군 대부분에서 유의 적으로 감소하였다 (표 2). 대표적으로 부고환 지방은 고지방 식이군에서 1.58g으로 대조군의 0.92g에 비해 약 1.7배 증가하였으나, EFPS 20, 50 및 HPS 50 투여군들에서는 각각 1.32, 1.34 및 1.22g으로 모두 고지방 식이군대비 유의적으로 감소하였다. 또한, 간 조직에서 지방이 대조군 (1.16g) 대비 약 2.3배 증가한 고지방 식이군 (2.73 g)에 비해, EFPS 50 (1.39 g) 투여군 및 HPS 50 투여군 (1.69 g)에서 각각 약 50% 및 38% 감소하였다.

[0120] 5-4. 생화학적 지표 분석

[0121] 땅콩 새싹 분획물의 투여에 의해 2형 당뇨병 모델 마우스에서의 간 손상 지표, 세포 독성, 혈중 지질 지표를 확인함으로써 간 및 지질 대사에 미치는 영향을 확인하였다. 구체적으로, 5-2에서와 같이 대조군, 고지방 식이군 및 땅콩 새싹 분획물을 투여한 뒤, 마우스의 혈청 내 GOT(glutamic oxalacetic transaminase), GPT(glutamic pyruvate transaminase), TG(tiglyceride) 및 HDL(high density lipoprotein cholesterol)를 생화학 분석기(clinical chemistry analyzer) (Fuji dri-chem 4000; Fujifilm Co., Tokyo, Japan)로 분석하였으며, LDL(Low density lipoprotein cholesterol)값은 하기의 수학식 1(Friedwald 공식)을 이용하여 계산하였다.

수학식 1

[0122] $$LDL(mg/dL) = \text{총콜레스테롤} - (HDL + \frac{TG}{5})$$

[0123] 그 결과, 간 손상 지표인 GOT 및 GPT 값이 EFPS 20, 50 및 HPS 50 투여군 (GOT: 111.00, 90.40 및 76.40 U/L, GPT: 151.20, 98.40 및 82.50 U/L)에서 고지방 식이군에 비해 현저히 감소하였다 (표 3).

[0124] 또한, 세포독성을 평가에 사용되는 LDH 값에서는 EFPS 20, 50 및 HPS 50 투여군에서 각각 427.60, 429.20 및 509.60mg/dL로 나타나 고지방 식이군 722.14mg/dL에 비해 현저히 감소한 것으로 나타났다 (표 3).

[0125] 아울러, 혈중 지질지표로 혈청 내 TCHO(total cholesterol), TG(triglyceride), LDL(low density lipoprotein cholesterol), 및 HTR(high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio)의 값을 확인한 결과, 고지방 식이군은 TCHO 236.89mg/dL, TG 154.58mg/dL, LDLC 39.44mg/dL로 나타나 대조군 TCHO 110.20mg/dL; TG 109.60mg/dL, LDLC 16.28mg/dL에 비해 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. 반면, 땅콩 새싹 분획물 투여군인 EFPS 50군 (TCHO 198.75mg/dL, TG 126.00mg/dL 및 LDLC 22.84mg/dL)은 전반적으로 모든 지표에서 유의적으로 높은 지질 개선효과를 나타내었다. HTR은 대조군 (63.05%)과 고지방 식이군 (66.49%) 간에 다소 낮은 유의적 차이를 나타내었으나, EFPS 20 (70.36%), 50 (75.03%) 및 HPS 50 (73.13%) 군들에서는 모두 유의적으로 높은 HTR 값을 나타내었다 (표 4). 이러한 결과들을 종합하여 볼 때, 땅콩 새싹 분획물은 간 및 다양

한 지질 대사에서 개선효과를 나타낼 것으로 유추할 수 있다.

표 3

[0126]

	GOT (U/L)	GPT (U/L)	LDH (U/L)
Control	50.40 ± 1.52^{d}	33.60 ± 3.05^{d}	265.80 ± 67.86^{c}
High fat	169.20 ± 19.40^{a}	243.40 ± 36.18^{a}	722.14 ± 72.66^{a}
EFPS 20	111.00 ± 7.78^{b}	151.20 ± 33.39^{b}	427.60 ± 62.28^{b}
EFPS 50	90.40 ± 6.11^{c}	98.40 ± 12.42^{c}	429.20 ± 67.75^{b}
HPS 50	76.40 ± 10.55^{c}	82.50 ± 16.68^{c}	509.60 ± 85.76^{b}

표 4

[0127]

	TCHO (mg/dL)	TG (mg/dL)	LDL (mg/dL)	HTR (%)
Control	110.20 ± 7.73^{c}	109.60 ± 11.24^{c}	16.28 ± 6.11^{d}	63.05 ± 2.74^{c}
High fat	236.89 ± 33.39^{a}	154.58 ± 17.72^{a}	39.44 ± 2.61^{a}	66.49 ± 9.27^{bc}
EFPS 20	198.00 ± 47.63^{b}	137.50 ± 18.64^{ab}	29.96 ± 6.57^{b}	70.36 ± 6.67^{ab}
EFPS 50	198.75 ± 17.33^{b}	126.00 ± 28.19^{bc}	22.84 ± 2.96^{c}	75.03 ± 5.56^{a}
HPS 50	213.25 ± 35.57^{b}	148.00 ± 22.28^{a}	22.20±4.67c	73.13 ± 5.13^{a}

[0129] 5-5. 항산화 활성 확인

[0130] 5-5-1. Superoxide dismutase (SOD) 활성

[0131] 5-2에서와 같이 대조군, 고지방 식이군 및 땅콩 새싹 분획물을 투여한 뒤, 마우스에서 간조직을 적출하였다. 적출한 간조직에 10배 (volume)의 파쇄 버퍼(lysis buffer)를 넣고 Glass-Col 균질기(homogenizer)로 균질화한 후, 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 펠릿을 취하였다. 상기 펠릿에 1X Cell Extraction Buffer (10X SOD Buffer 1 mL, 20% triton X-100 0.2 mL, 증류수 8.8 mL 및 200 mM PMSF 10 ㎕)을 넣고 30분 동안 5분 단위로 볼텍싱하고 1,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상등액을 실험에 이용하였다. 모든 공정은 4℃를 유지하였으며 추출한 상등액의 단백질함량을 측정하기 위하여 Quant-iT™ protein assay kit(Invitrogen Co)를 이용하였다. SOD 활성을 측정하기 위하여 SOD determination kit (Sigma-Aldrich Chemical Co.)를 사용하였으며 측정된 흡광도 값을 계산하여 SOD(U/mg protein)로 나타내었다.

[0132] 그 결과, 간 조직에서의 SOD 함량이 대조군에서 83.33U/mg of protein로 나타났으나, 고지방 식이군에서는 57.49U/mg of protein로 나타났다. 또한, EFPS 20, 50 및 HPS 50 투여군에서는 86.92, 80.12 및 70.52U/mg protein으로 나타나, HPS 투여군보다 EFPS 투여군에서 다소 높은 SOD 함량을 나타냈다 (도 16).

[0134] 5-6.산화 GSH(glutathione)/총 GSH 비율 확인

[0135] 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하는 능력을 나타내는 효소인 글루타티온 산화효소(glutathione peroxidase)의 기질로 사용되고, 과산화수소를 인체에 무독한 물로 분해하는 GSH를 확인하기 위하여, 산화된(oxidized) GSH/총 GSH를 측정하였다. 구체적으로 일정량의 마우스 간조직에 10배 (volume)의 차가운 5%의 메타인산(metaphosphoric acid)을 넣어 균질화한 후, 15 분간 원심분리 (14,000 g) 하여 상등액을 실험에 사용하였으며, 여기에 2 M 4-바이닐피리딘(vinylpyridine) 10 ㎕를 더하여 산화된 글루타티온 측정에 사용하였다. 모든 공정은 4℃를 유지하였으며, 추출한 상등액의 단백질함량을 측정하기 위하여 Quant-iT ™ protein assay kit (Invitrogen Co)을 이용하였다. GSH의 함량을 측정하기 위하여 glutathione(GSSG/GSH) detection

kit (Enzo Diagnostics, Farmingdale, NY, USA)를 이용하였으며, 측정된 총 글루타티온 및 산화된 글루타티온의 흡광도 값을 각 표준 곡선(standard curve)에 대입하여 GSSG/total GSH로 나타내었다.

[0136] 그 결과, 고지방 식이군 (21.41%)은 대조군 (17.33%)에 비해 산화된 GSH이 증가된 것으로 나타났으며, 이에 반해 EAPS 20, 50 및 HPS 50 투여군은 각각 20.99 18.16 및 19.87%로 나타나 고지방 식이군에 비해 산화된 GSH/총 GSH 비율이 감소한 것으로 나타났다 (도 17).

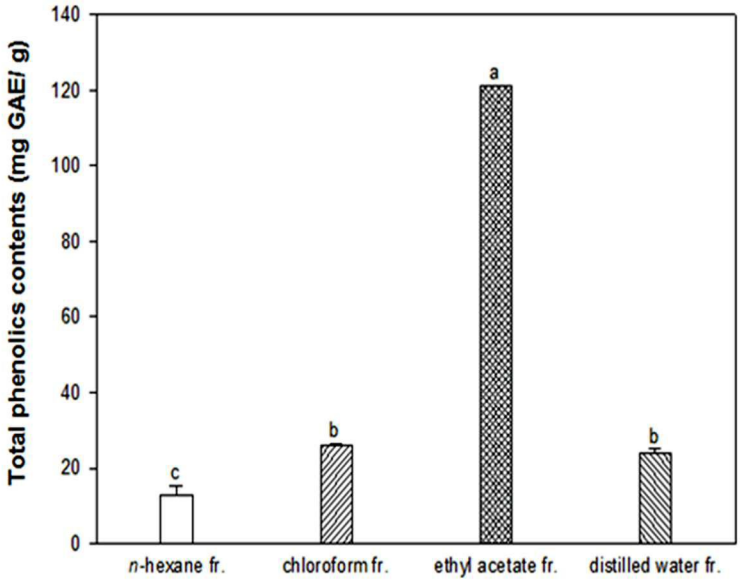
[0138] 5-7. 지질 과산화 억제 효과 확인

[0139] 지질 과산화 억제 효과를 확인하기 위하여 마우스의 간 조직에 존재하는 MDA(malondialdehyde) 함량을 측정하였다. 추출한 마우스 간조직을 PBS 에 균질화한 간조직 균질액 160 ㎕에 1% 인산(phosphoric acid) 960 ㎕을 혼합한 후 0.67% TBA(thiobarbituric acid) 320 ㎕을 넣고 95℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액은 5,000 rpm에서 10분간 원심 분리하고, 532 nm에서 상등액의 흡광도를 측정하였다. MDA 함량은 mg 단백질 당 μmole의 농도로 표시하였다.

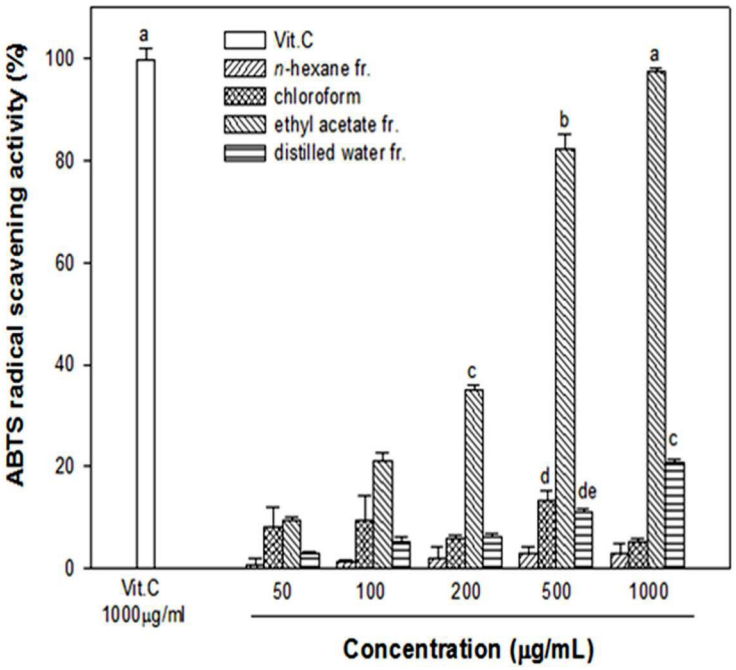
[0140] 그 결과, 고지방 식이군의 MDA 함량은 6.82nmole/mg of protein로 나타나 대조군의 3.45nmole/mg of protein에 비해 현저히 증가되어 있었으나, 땅콩 새싹 분획물 투여군인 EFPS 20, 50 및 HPS 50은 각각 6.48, 5.72 및 5.80nmole/mg of protein으로 나타나 EFPS 50 및 HPS 50 투여군에서 MDA 함량이 유의적으로 감소한 것으로 나타났다 (도 18).

도면

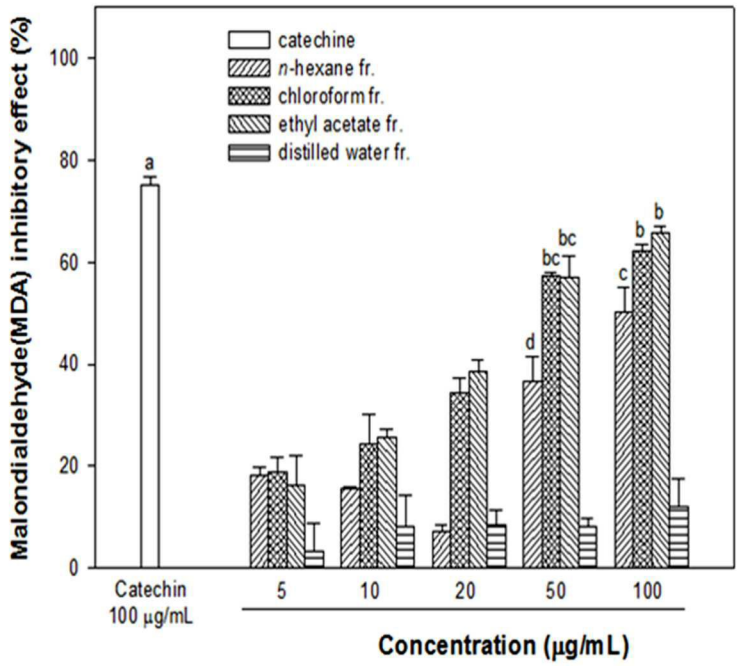
도면1



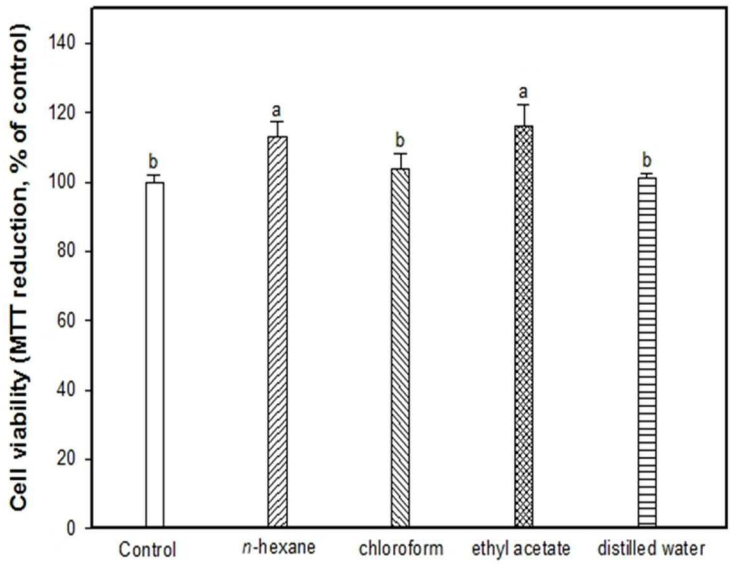
도면2


ABTS radical scavening activity (%)
Vit.C
n-hexane fr.
chloroform
ethyl acetate fr.
distilled water fr.
Vit.C
1000μg/ml
50
100
200
500
1000
Concentration (μg/mL)

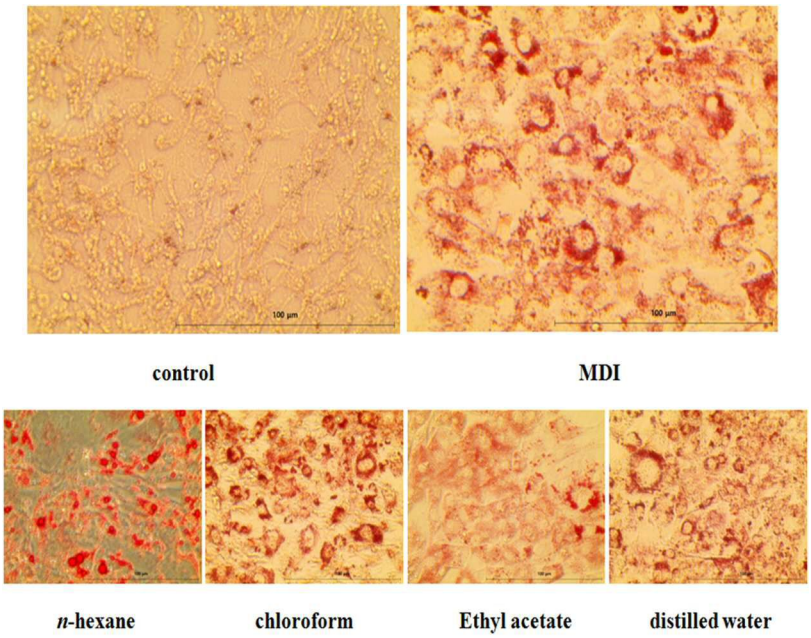
도면3


Malondialdehyde(MDA) inhibitory effect (%)
catechine
n-hexane fr.
chloroform fr.
ethyl acetate fr.
distilled water fr.
Catechin
100 μg/mL
5
10
20
50
100
Concentration (μg/mL)

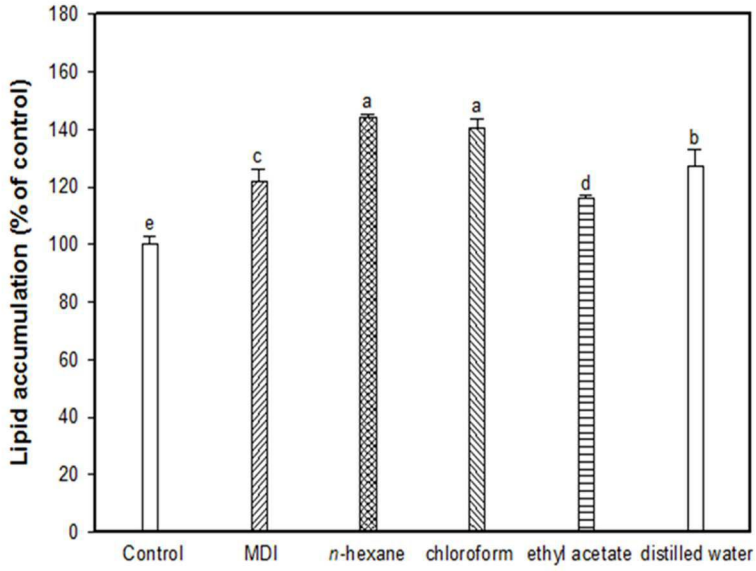
도면4


Cell viability (MTT reduction, % of control)
140
120
100
80
60
40
20
0
b
a
b
a
b
Control
n-hexane
chloroform
ethyl acetate
distilled water

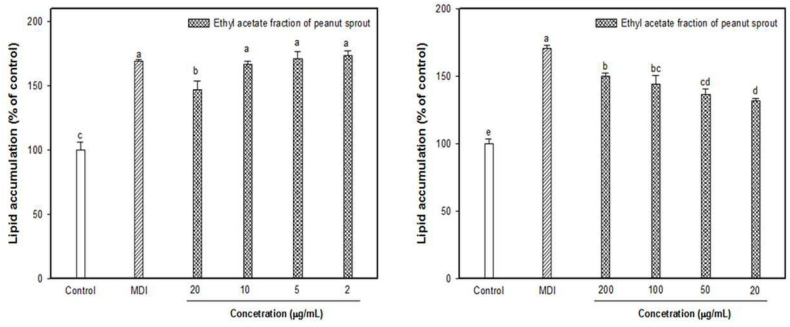
도면5


control
MDI
n-hexane
chloroform
Ethyl acetate
distilled water

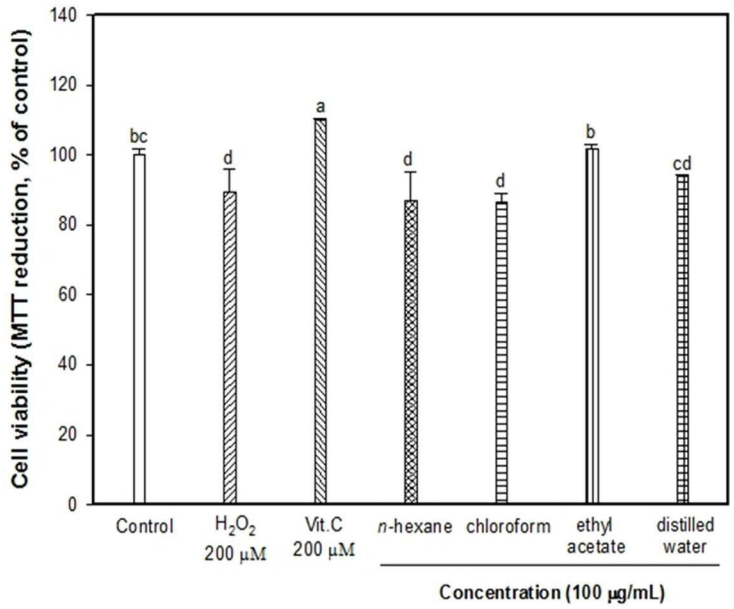
도면6


Lipid accumulation (% of control)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
a
a
c
e
d
b
Control
MDI
n-hexane
chloroform
ethyl acetate
distilled water

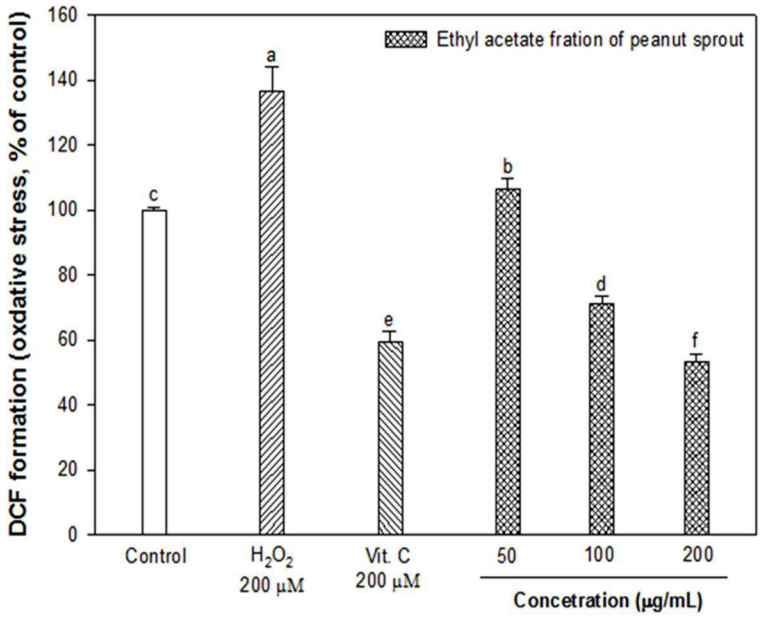
도면7


Ethyl acetate fraction of peanut sprout
Lipid accumulation (% of control)
200
150
100
50
0
c
a
b
a
a
a
Control
MDI
20
10
5
2
Concetration (μg/mL)
Ethyl acetate fraction of peanut sprout
Lipid accumulation (% of control)
e
a
b
bc
cd
d
Control
MDI
200
100
50
20
Concetration (μg/mL)

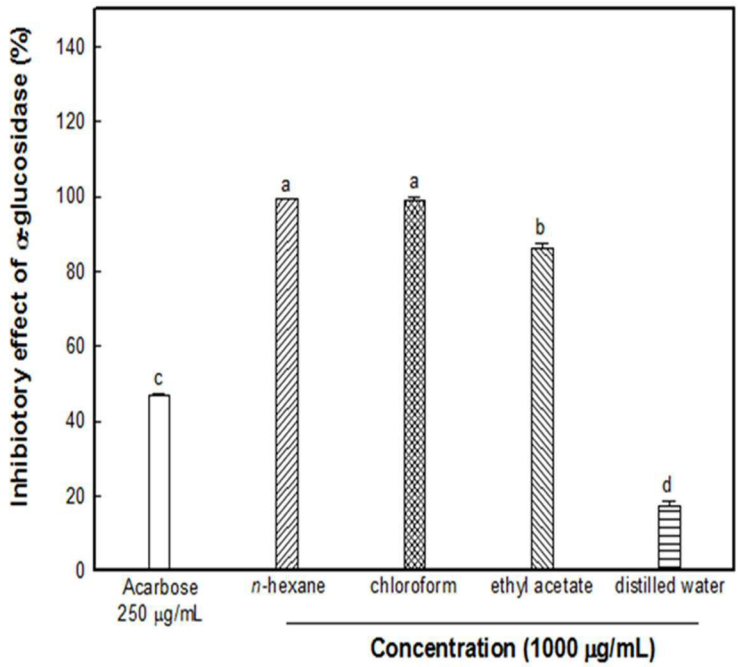
도면8


Cell viability (MTT reduction, % of control)
140
120
100
80
60
40
20
0
bc
d
a
d
d
b
cd
Control
H2O2 200 μM
Vit.C 200 μM
n-hexane
chloroform
ethyl acetate
distilled water
Concentration (100 μg/mL)

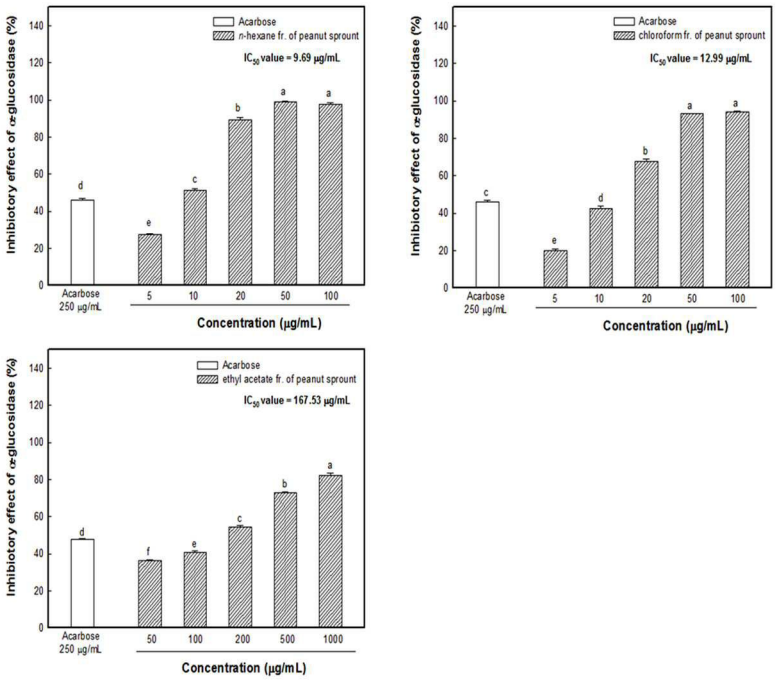
도면9


DCF formation (oxdative stress, % of control)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
Ethyl acetate fration of peanut sprout
c
a
e
b
d
f
Control
H2O2 200 μM
Vit. C 200 μM
50
100
200
Concetration (μg/mL)

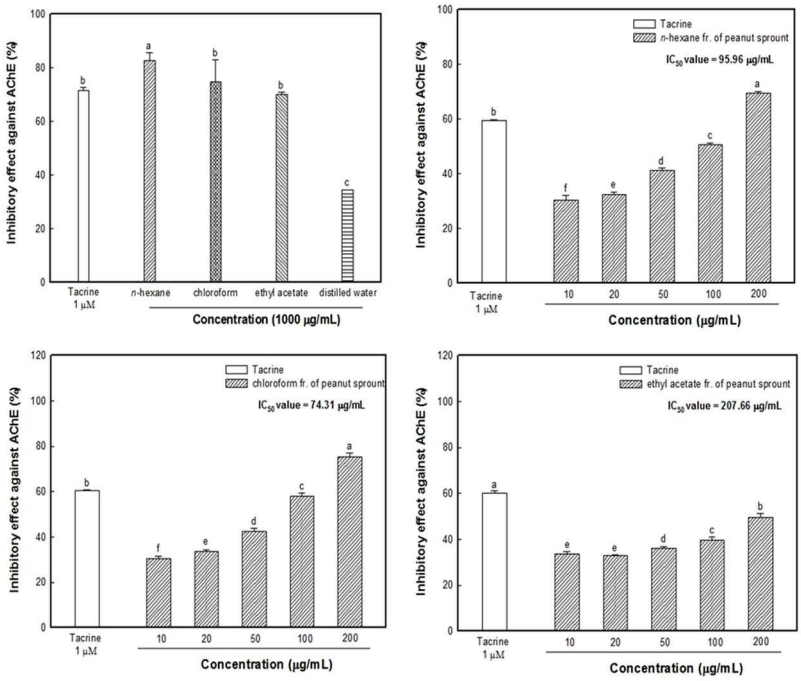
도면10


Inhibiotory effect of α-glucosidase (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
a
a
b
c
d
Acarbose 250 μg/mL
n-hexane
chloroform
ethyl acetate
distilled water
Concentration (1000 μg/mL)

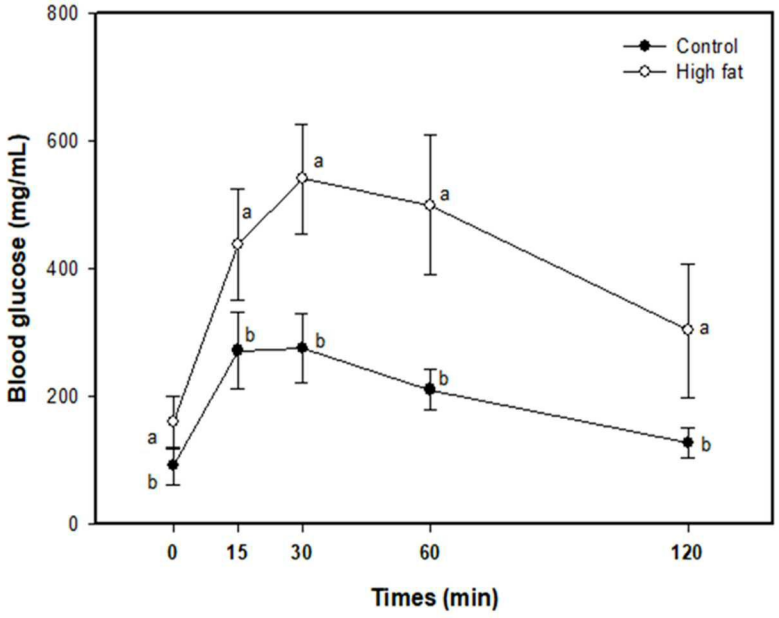
도면11


Acarbose
n-hexane fr. of peanut sprout
IC50 value = 9.69 μg/mL
Inhibiotory effect of α-glucosidase (%)
Acarbose 250 μg/mL
5
10
20
50
100
Concentration (μg/mL)
Acarbose
chloroform fr. of peanut sprout
IC50 value = 12.99 μg/mL
Inhibiotory effect of α-glucosidase (%)
Acarbose 250 μg/mL
5
10
20
50
100
Concentration (μg/mL)
Acarbose
ethyl acetate fr. of peanut sprout
IC50 value = 167.53 μg/mL
Inhibiotory effect of α-glucosidase (%)
Acarbose 250 μg/mL
50
100
200
500
1000
Concentration (μg/mL)

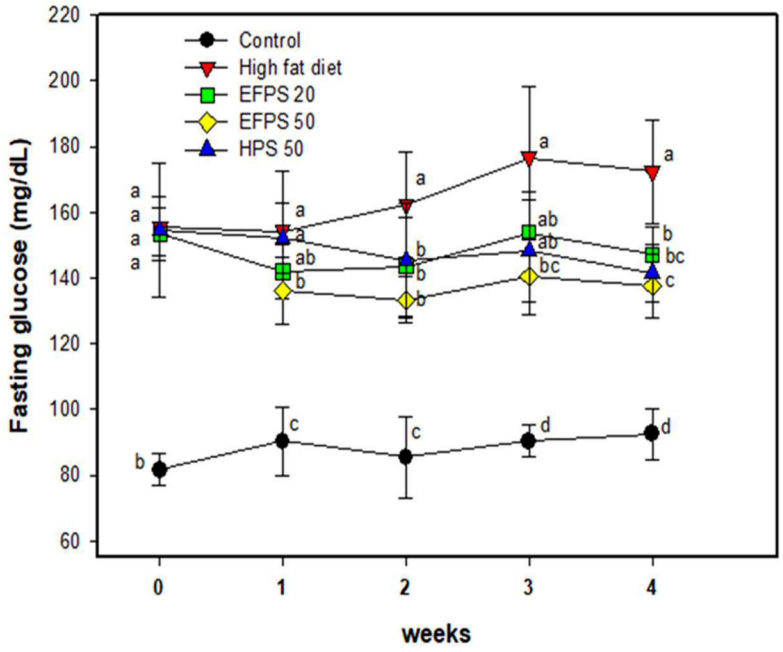
도면12


Inhibitory effect against AChE (%)
Tacrine 1 μM
n-hexane
chloroform
ethyl acetate
distilled water
Concentration (1000 μg/mL)
Tacrine
n-hexane fr. of peanut sprout
IC50 value = 95.96 μg/mL
Concentration (μg/mL)
chloroform fr. of peanut sprout
IC50 value = 74.31 μg/mL
ethyl acetate fr. of peanut sprout
IC50 value = 207.66 μg/mL

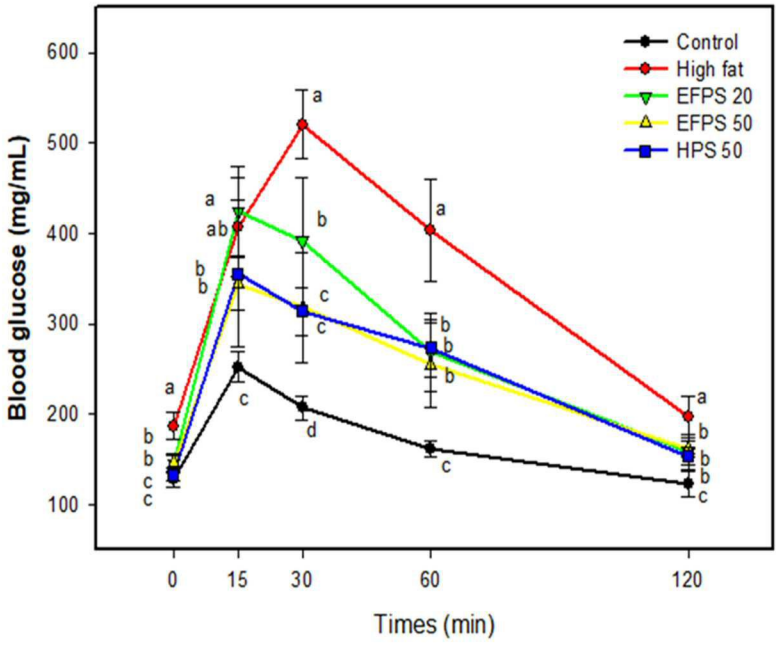
도면13


Control
High fat
Blood glucose (mg/mL)
Times (min)

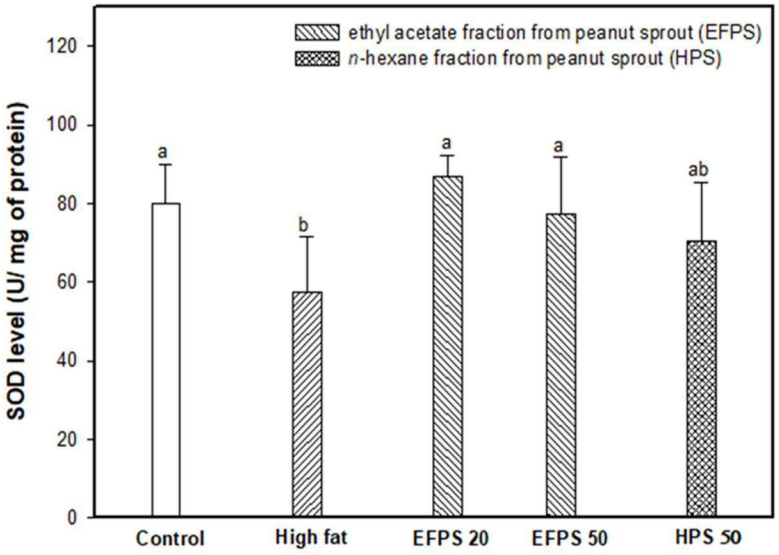
도면14


Control
High fat diet
EFPS 20
EFPS 50
HPS 50
Fasting glucose (mg/dL)
weeks

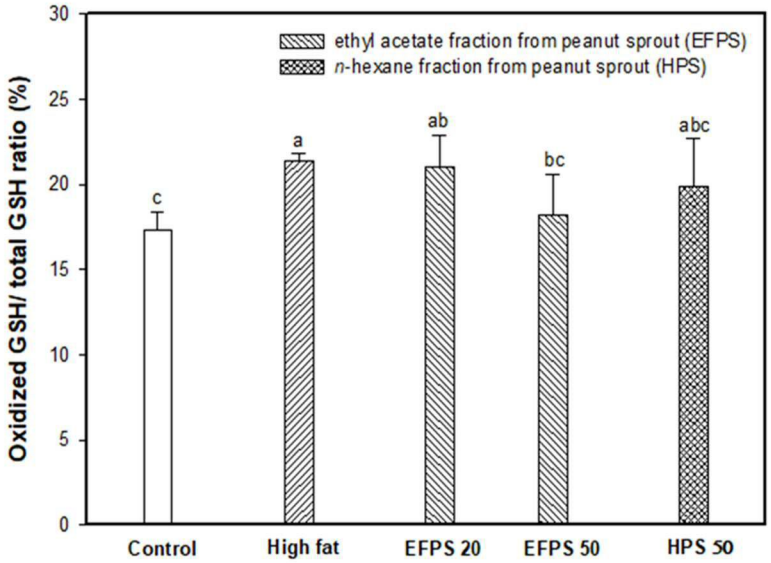
도면15


Control
High fat
EFPS 20
EFPS 50
HPS 50
Blood glucose (mg/mL)
Times (min)

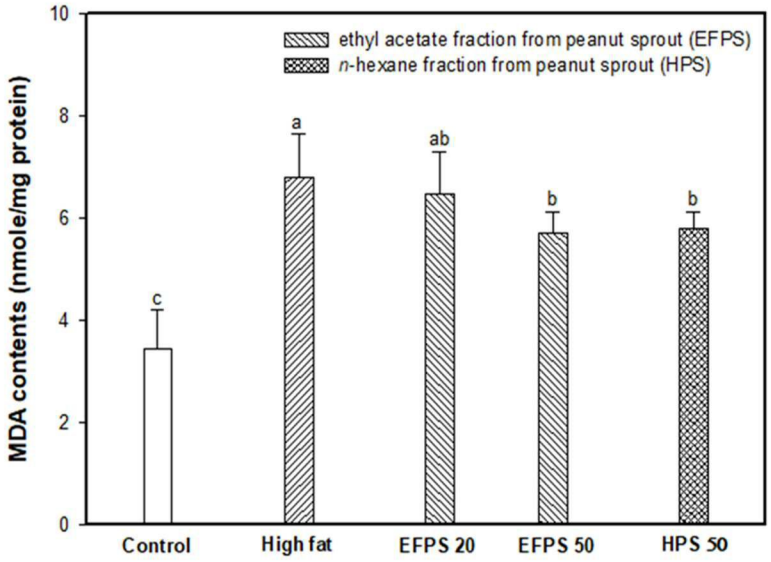
도면16


ethyl acetate fraction from peanut sprout (EFPS)
n-hexane fraction from peanut sprout (HPS)
SOD level (U/ mg of protein)
120
100
80
60
40
20
0
a
b
a
a
ab
Control
High fat
EFPS 20
EFPS 50
HPS 50

도면17


ethyl acetate fraction from peanut sprout (EFPS)
n-hexane fraction from peanut sprout (HPS)
Oxidized GSH/ total GSH ratio (%)
30
25
20
15
10
5
0
c
a
ab
bc
abc
Control
High fat
EFPS 20
EFPS 50
HPS 50

도면18


ethyl acetate fraction from peanut sprout (EFPS)
n-hexane fraction from peanut sprout (HPS)
MDA contents (nmole/mg protein)
10
8
6
4
2
0
a
ab
b
b
c
Control
High fat
EFPS 20
EFPS 50
HPS 50