



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0051914
(43) 공개일자 2016년05월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/00 (2016.01) A23L 2/38 (2006.01)
A61K 36/899 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0142606
(22) 출원일자 2014년10월21일
심사청구일자 2014년10월21일
기술이전 희망 : 기술양도, 실시권허여, 기술지도

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
박종선
대전광역시 서구 둔산로 201, 204동 301호 (둔산동, 국화아파트)
박지수
대전시 서구 둔산로 201, 204동 301호 (둔산동, 국화아파트)
이상진
서울특별시 성동구 고산자로 160, 108동 1001호 (응봉동, 대림강변타운)
(74) 대리인
특허법인충정

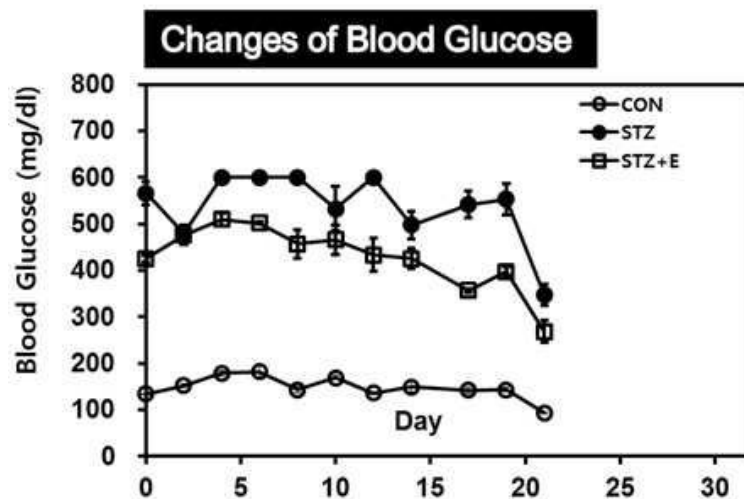
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈당 강하용 조성물

(57) 요약

본 발명은 이화주 추출물을 포함하는 혈당 강하용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 알코올 성분을 제거한 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈당 강하용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따르면, 이화주 추출물은 당 대사능의 향상, 인슐린 저항성의 개선, 및 췌장의 손상된 베타세포의 회복을 통해 혈당강하 및 항당뇨 효과를 나타낼 수 있으므로, 당뇨병의 예방 및 치료에도 효과적으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012M3A9B6055302

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 바이오·의료기술개발사업

연구과제명 폐암에서 멀티모달 오믹스 기법을 이용한 미토콘드리아 혹은 골지체 특이적 자가포식에 대한 핵심단백질 발굴 및 기반 연구

기여율 1/2

주관기관 충남대학교

연구기간 2012.12.01 ~ 2015.11.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2007-0054932

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 선도연구센터지원사업

연구과제명 감염-염증에 의한 만성질환발생 기전 규명 및 그 극복 기술개발

기여율 1/2

주관기관 충남대학교

연구기간 2012.03.01 ~ 2016.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

알코올 성분을 제거한 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈당 강하용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 이화주 추출물은 이화주로부터 알코올 성분을 제거한 후 에탄올 추출 및 에틸아세테이트 분획을 통해 제조되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 이화주 추출물은 손상된 랑게르한스섬의 베타세포를 재생시켜 췌장의 기능을 회복시킴으로써 혈당 강하 효과를 나타내는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 혈당 강하용 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

알코올 성분을 제거한 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 이화주 추출물을 포함하는 혈당 강하용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 알코올 성분을 제거한 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈당 강하용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전 세계적으로 증가하고 있는 비만인구의 증가와 함께 당뇨병 및 대사증후군(metabolic syndrome)과 같은 만성 질환 발생이 꾸준히 증가되고 있다. 세계보건기구(WHO)에서 조사한 바에 따르면, 당뇨병에 의한 사망이 110만 명을 넘고, 우리나라도 꾸준히 증가하여 2020년에는 전 국민의 10%, 2030년에는 15% 가량의 당뇨병환자가 될 수 있는 내재적 위험을 가지고 있다고 보고되었다. 대사증후군은 인슐린 저항성, 고지혈증, 고혈압 증상 등을 칭하는 것으로, 비만은 인슐린의 분비 결함 및 작용저하를 가져오고, 특히 복부 비만은 당뇨병과 인슐린 저항성을 촉진하는 매개물질인 유리지방산의 혈중 농도가 높아지고, 지방조직에서 전신 혈액순환으로 유리되는 유리지방산이 증가하면 말초조직, 특히 근육에서 포도당 이용의 감소와 함께 인슐린 저항성이 증가되는 과정이 더욱 촉진되어 당뇨병 발생을 더욱 증가시킨다.

[0003] 한편, 이화주는 쌀누룩을 이용하여 만든 탁주(濁酒)로서, 배꽃이 한창 피었을 때 담그는 술이라 하여 ‘이화주’라고 부른다. 빗갈이 회고 된 죽과 같아 물을 타서 마신다. 고려시대부터 있었던 술로 『동국이상국집』·『한림별곡』·『규곤시의방(閔是議方)』·『요록(要錄)』·『주방문(酒方文)』·『역주방문(曆酒方文)』·『산림경제』·『고사십이집(攷事十二集)』·『임원경제지』·『양주방』 등에 기록되어 있다 (한국민속문화대백과사전, <http://encykorea.aks.ac.kr/>). 이화주는 여느 술과는 달리 특별히 멍쌀로 누룩을 만드는데도 멍쌀가루로

구멍떡이나 설기떡을 만들어 술을 빚는데, 알코올 도수는 낮지만 유기산이 풍부하고 감칠맛이 뛰어나 고급탁주로 분류된다.

[0004] 이러한 이화주의 특성을 이용한 다양한 연구가 진행되고 있으나, 대부분 식품으로서의 이용 또는 막걸리의 개량에 대한 것이 대부분이어서, 건강증진, 치료 예방을 위한 기능성 원료로서의 연구는 미진한 실정이다. 예컨대 한국 등록특허 제10-1429937호에는 한방 이화주 추출물의 미백, 항산화 효능에 관한 화장료 조성물이 개시되어 있다. 그러나 혈당강하, 항당뇨 효과와 관련하여 연구된 바는 없다.

[0005] 이에 본 발명자들은 이화주의 새로운 기능성 개발과 관련하여 연구하던 중, 알코올을 제거한 이화주 추출물이 혈당강화, 항당뇨 효과가 있음을 발견하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 따라서 본 발명의 목적은, 손상된 랑게르한스섬의 베타세포를 재생시켜 췌장의 기능을 회복시키는 효과를 갖는, 알코올 성분을 제거한 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈당 강하용 조성물을 제공하는데 있다.

[0007] 또한 본 발명의 다른 목적은, 상기 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 알코올 성분을 제거한 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈당 강하용 조성물을 제공한다.

[0009] 본 발명에서, 상기 ‘이화주’는 쌀로 빚은 전통 누룩인 이화곡을 이용하여 제조한 탁주의 일종이다. 이러한 이화곡 및 이화주의 제조 과정은 본 발명이 속하는 기술분야에 잘 알려져 있다.

[0010] 이화곡의 제조 과정은 다음과 같다.

[0011] 이화곡은 물에 불린 쌀을 분쇄하여 특정 모양으로 빚은 후 이를 배양하여 제조한 쌀 누룩으로, 그 모양은 지름이 약 8~10cm 정도 크기인 구형이다. 이화곡의 제조는 원료 준비, 빗기(성형), 배양, 법제 및 제품화의 과정으로 이루어진다.

[0012] 송엽 (술잎-잘 건조된 절단 술잎)은 이화곡을 성형하고 상자에 넣은 뒤 이화곡 표면에 뿌려주어 이화곡 배양시, 통풍이 잘되게 하는 등의 역할을 담당하며, 이화곡 생산에 사용한 쌀의 약 5~10 중량%로 사용된다.

[0013] 이화곡의 성형은 하기의 과정으로 이루어진다. 먼저, 쌀을 5~10회 세미하고, 최소 3시간 이상 10℃ 이하의 냉수에서, 세척한 쌀의 1.5배 이상의 물을 이용하여 쌀을 침지한다. 그리고 3시간~4시간 동안, 30분 간격으로 쌀을 뒤적이면서 쌀의 물을 뺀다. 그리고 20 메쉬 체(sieve)를 통과할 수 있는 정도로 미세하게 쌀을 분쇄하고, 쌀 분말을 선별한다. 선별된 쌀 분말을 이용하여 이화곡을 성형하는데, 이 때, 약 8~10cm 크기로 이화곡을 둥글게 뭉쳐 빚는다. 이화곡의 개 당 무게는 200~250g이 바람직하다. 종이상자에 잘 말린 술잎 40~50g을 흩어 뿌리고 그 위에 이화곡을 넣는다. 그 위에 술잎을 다시 흩어 뿌리고 배양기로 옮겨 배양을 시작한다. 이화곡의 배양은 온도 25~35℃, 습도 40~60%로 유지하는 항온 항습기에서 수행하며, 총 배양일은 7~10일이 소요된다.

[0014] 배양이 완료된 후, 이화곡 표면의 균사와 포자 등을 깨끗이 털어내고 이화곡을 12등분으로 쪼개어 내부의 오염 여부를 검사함으로써 이화곡의 법제를 수행한다. 그리고, 바람이 약하게 불고 습하지 않고 햇볕이 잘 드는 곳에서 약 1주일 동안 이화곡의 건조와 숙성을 진행한다.

[0015] 이화곡의 제품화 과정은 하기와 같다. 잘 건조된 이화곡을 건식분쇄기로 미세하게 분쇄하고, 분쇄된 이화곡을 선별 취하여 glucoamylase 역가, 미생물 분석, 수분함량 등을 분석하고 포장하여 이화주 생산을 위하여 준비한다.

[0016] 또한 이화주의 제조과정은 다음과 같다.

- [0017] 이화주는 1단 담금 및 2단 담금을 거쳐 제조되며, 이 과정에서 별도의 입국 또는 효모를 첨가하지 않는다.
- [0018] 1단 담금은 쌀 100중량부를 90~120 중량부의 이화곡(쌀 누룩) 및 80~120 중량부의 물과 혼합한 후 20~25℃에서 7~10일간 발효하여 수행한다. 1단 담금 시 이화곡 이외의 효모나 타 누룩은 첨가되지 않는다.
- [0019] 2단 담금은 1단 발효와 동일하게 쌀을 이화곡(쌀 누룩), 물 및 상기 1단 담금물과 혼합한 후 20~25℃에서 20~30일간 발효를 진행한다. 이 때 이 때 2단 담금의 쌀은 1단 담금 시 사용한 쌀 원료의 80~150 중량부, 바람직하게는 100 중량부이며, 2단 담금 시 사용하는 쌀 원료, 이화곡 및 물의 중량비는 1단 담금 시 사용한 쌀 원료, 이화곡 및 물의 중량비와 동일하다.
- [0020] 상기 2단 담금 후 체별 과정을 통해 술지게미를 분리하여 이화주를 완성한다. 체별 과정은 발효가 끝난 술덧을 체별기를 이용하여 술지게미(덩어리 상태의 전분질원료)를 분리시키는 과정이다.
- [0021] 본 발명에 있어서, 상기 이화주 추출물은 이화주를 농축하거나 동결건조하거나 물 또는 유기 용매로 추출, 분획한 것을 의미한다. 상기 유기 용매는 탄소수 6 이하의 알코올, 에틸 아세테이트, 클로로포름 등이 될 수 있으며, 바람직하게는 에탄올 또는 에틸 아세테이트이다. 바람직하게는 상기 제조된 이화주로부터 알코올 성분을 제거한 후 에탄올 추출 및 에틸아세테이트 분획을 통해 제조될 수 있다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 이화주 추출물은 손상된 랑게르한스섬의 베타세포를 재생시켜 췌장의 기능을 회복시킴으로써 혈당 강하 효과를 나타내는 것을 특징으로 한다.
- [0023] 본 발명의 실시예에 따르면, 당뇨모델 마우스에 이화주 추출물을 투여한 후 혈당을 측정된 결과, 이화주 추출물을 투여한 군에서는 이화주 추출물을 투여하지 않은 비교군과 비교하여 혈중 혈당이 낮아지는 경향을 보였으며, 투여 후 10일부터 현저하게 낮아지는 것을 확인할 수 있었다 (도 3 참조).
- [0024] 따라서 본 발명의 조성물은 혈당강화 효과를 갖는 기능성 식품으로서 제공될 수 있다.
- [0025] 본 발명의 식품 조성물은 이화주 추출물을 유효성분으로 포함하는데, 그 외에 다른 식품 또는 식품 첨가제와 함께 사용될 수 있다. 유효 성분과 기타 첨가제의 혼합량은 사용 목적(예방 또는 치료)에 따라 통상적인 범위 내에서 적절하게 결정될 수 있다.
- [0026] 이화주 추출물은 전체 식품 조성물의 0.01 ~ 100 중량% 포함될 수 있다. 그러나 혈당강화를 목적으로 장기간 섭취하는 경우의 함량은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 및 부작용 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수도 있다.
- [0027] 본 발명의 조성물이 적용되는 식품의 종류에 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0028] 음료 조성물인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물에는 포도당, 과당 등의 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 등의 디사카라이드, 텍스트린, 사이클로덱스트린 등의 폴리사카라이드 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이 포함된다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물 등의 천연 감미제, 또는 사카린, 아스파르트암 등의 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 0.02 ~ 0.03 g이다.
- [0029] 본 발명의 조성물은 상기 성분 이외에 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부에 대하여 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0030]
- [0031] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 알코올 성분을 제거한 이화주 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

- [0032] 본 발명의 실시예에 따르면, 당뇨 모델 마우스에 이화주 추출물을 투여한 후 당내능 검사(IPGTT) 및 인슐린 저항성 테스트(ITT)를 수행한 결과, 이화주 추출물을 투여한 군에서는 이화주 추출물을 투여하지 않은 비교군과 비교하여 당내능력이 향상되었으며 (도 4의 A 참조), 인슐린에 의한 혈당 흡수(민감도)가 증가되어 인슐린 저항성이 개선됨을 확인하였다 (도 4의 B 참조). 또한 당뇨 모델 마우스에 이화주 추출물을 투여한 후 췌장의 랑게르한스섬 변화를 관찰한 결과, 스트렙토조토신만 투여한 비교군에서 형태학적 모양이 망가지고, 개수 및 크기도 작아진 것에 비해, 이화주 추출물을 함께 투여한 군의 랑게르한스섬의 베타세포가 정상군과 유사한 모양으로 회복되는 변화를 관찰하였다 (도 6 참조).
- [0033] 따라서 본 발명의 이화주 추출물은 당대사능의 향상 및 인슐린 저항성의 개선과 함께 췌장의 손상된 베타세포를 회복시킴으로써 항당뇨 효과를 나타낼 수 있으므로, 당뇨병의 예방 및 치료에 효과적으로 사용될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 약학 조성물은 이화주 추출물을 유효성분으로 포함하고 그 외에 약학적으로 허용되는 담체를 1 종 이상 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체로는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 한 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.
- [0035] 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 제제화 방법은 특정한 방법에 한정되지 않으며 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가지는 자가 질환 또는 성분에 따라 바람직한 방법을 선택할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 비경구 투여(예컨대, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 다를 수 있다.
- [0037] 이화주 추출물의 일일 투여량은 0.1 ~ 100 mg/kg이 좋고 바람직하게는 0.4 ~ 50 mg/kg이며 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 더욱 바람직하다.

발명의 효과

- [0038] 상술한 바와 같이, 본 발명의 이화주 추출물을 포함하는 조성물은 식품 또는 의약으로 제조되어 당대사능의 향상, 인슐린 저항성의 개선, 및 췌장의 손상된 베타세포의 회복을 통해 혈당강하 및 항당뇨 효과를 나타낼 수 있으므로, 당뇨병의 예방 및 치료에도 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0039] 도 1은 실험에 사용된 각 실험군 마우스의 혈당 변화를 나타낸다.
- 도 2는 3주간 이화주 추출물의 투여에 의한 몸무게 변화를 나타낸 것이다.
- 도 3은 이화주 추출물 투여 후 혈당 변화를 측정한 결과이다.
- 도 4는 혈당 테스트(IPGTT)와 인슐린 저항성 테스트(ITT)를 수행한 결과이다.
- 도 5는 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 조직 무게 변화 측정한 결과이다.
- 도 6은 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 췌장의 랑게르한스섬 변화를 관찰한 결과이다.
- 도 7은 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 간의 형태학적 변화를 관찰한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0041] **실시예 1. 이화곡의 제조**

[0042] 시중에서 구입한 멥쌀(경기미) 60 kg 및 잘 건조된 절단 송엽 술잎 0.5 kg을 준비하였다. 쌀을 8회 세미한 후 7~8℃의 90 kg 냉수에서 4시간 동안 침지한 후, 30분 간격으로 쌀을 뒤적이며 3시간 동안 물을 뺀 후, 20 메쉬 체를 통과할 수 있을 정도로 쌀을 분쇄하고 쌀 분말을 8~10 cm의 크기, 개당 200~250g 무게로 둥글게 뭉쳐 빗어 이화곡을 성형하였다. 종이 상자에 송엽 40~50 g을 흩어 뿌린 후 상기 이화곡들을 넣고, 그 위에 다시 송엽을 흩어 뿌리고 25~35℃, 습도 40~60%로 유지하는 항온 항습기(배양기)에서 9일간 배양하였다. 그 후, 이화곡 표면의 균사와 포자 등을 깨끗이 털어내고 이화곡을 12등분으로 쪼개어 내부의 오염 여부를 검사함으로써 법적 공정을 거친 후, 통풍과 햇빛이 잘 드는 습하지 않은 곳에서 약 1주일 동안 건조와 숙성을 시킨 다음, 잘 건조된 이화곡을 건식분쇄기로 미세하게 분쇄하고, 분쇄된 이화곡을 글루코아밀라아제(glucoamylase) 역가, 미생물 분석, 수분 함량 측정 등을 통하여 선별하였다.

[0043] **실시예 2. 이화주의 제조**

[0044] 쌀 30 kg을 세미한 후 1~2시간 침지한 다음, 분쇄기를 이용하여 분쇄하고, 분쇄된 생쌀 30 kg과 이화곡(쌀 누룩) 32 kg을 물 33 kg과 혼합한 후 20~25℃에서 8일간 발효시켜 1단 담금을 수행하였다. 이 때, 이화곡 이외 효모 또는 타 누룩은 첨가하지 않았다.

[0045] 쌀 30 kg을 세미하고, 1~2시간 침지한 후 분쇄기를 이용하여 분쇄하였다. 상기 분쇄된 생쌀 30 kg, 이화곡 32 kg, 물 33 kg, 및 상기 1단 발효물과 혼합한 후 20~25℃에서 25일간 발효하여 2단 담금을 수행하였다. 2단 담금이 완료된 후, 체별기를 이용하여 술덧으로부터 술지게미를 분리하여 이화주를 완성하였다.

[0046] **실시예 3. 이화주 추출물의 제조**

[0047] 감압농축기를 이용하여 상기 이화주로부터 알코올 성분을 제거한 후 동결 건조하여, 이화주 동결 건조물을 제조하였다.

[0048] 95% 에탄올을 상기 이화주 동결 건조물에 첨가하여 이화주 내 에탄올 농도가 70 ~ 80%가 되도록 한 후, 24시간 동안 저온(10℃)에서 교반하였다. 그 후 80% 에탄올을 수거하고, 남은 이화주 고형분에는 80% 에탄올을 재 첨가하여 24시간 동안 저온에서 다시 교반하여 2차 추출을 수행하였다. 이로써, 2차에 걸쳐 이화주의 80% 에탄올 추출물을 수득하고, 이를 감압 농축하여 에탄올을 제거한 후, 동결 건조하여, 이화주 에탄올 추출물의 동결건조물을 제조하였다. 상기 이화주 에탄올 추출물의 동결건조물 중 일부를 에틸아세테이트로 분획한 후 동결 건조하였다. 상기 에틸아세테이트 분획은 다음과 같이 수행하였다. 에탄올 추출물을 감압농축과 동결건조를 통하여 얻은 동결건조물(분말)에 증류수에 현탁을 하였다. 에틸아세테이트를 가하고 충분히 섞어준 후 24시간을 상온에 방치하여 물층과 에틸아세테이트 층으로 분획을 나눈 후 에틸아세테이트 층만 분리하여 감압농축하여 에틸아세테이트 분획물을 확보하였다.

[0049] **실시예 4. 당뇨 유발 모델 마우스**

[0050] 베타세포를 파괴하는 물질인 스트렙토조토신(streptozotocin, STZ) 100 µg/20g (물에 녹인 STZ를 마우스 20g 당 STZ 100 µg 주사)을 매일 4주령 C57BL/6J 수컷 마우스(Jackson Laboratories; Sacramento, CA, USA)에 복강 주사하여 당뇨 유발 모델을 만든 후, 매일 혈당테스트로 확인 후 250 mg/dL 이상인 마우스를 선별하여 이화주 추출 분말을 PBS에 희석하여 1 mg/g 이화주 추출을, 비교군 마우스에는 PBS를 매일 3주 동안 경구투여 하였다.

[0051] **실시예 5. 혈당 테스트(IPGTT)와 인슐린 저항성 테스트(ITT)**

[0052] 당뇨 유발 모델 마우스를 5시간 공복한 상태에 체중의 2g D-glucose/Kg 복강 주사한 후, 각 0, 15, 30, 60, 90 분에 혈당측정기(Bayer breeze)로 혈당 측정을 3주간 관찰하였다. 마지막 혈당 테스트 측정 1주 후, 6시간 공복한 상태에서 체중의 0.75U insulin/kg (Bovine Insulin-Sigma #10516)을 복강 주사한 후, 혈당측정기(Bayer breeze)로 1, 20, 40, 80, 100분의 혈당을 측정하였다.

[0053] 혈당 측정하는 4주간 몸무게 변화도 함께 관찰하였고, 인슐린 저항성 테스트 1주 후 마우스의 간, 췌장, 뇌 조

직을 분리한 후 무게를 측정하였다.

[0054] **실시에 6. 마우스 조직 채취 및 췌장 헤마톡실린 염색**

[0055] 당뇨 유발 모델 마우스를 3주간 식이한 뒤 일주일 후, 각 조직의 무게를 재고, 췌장의 베타 세포를 보기 위해, 블록을 만들어서 헤마톡실린(Hematoxylin) 염색하였다.

[0056] **통계분석**

[0057] 각 실험의 통계는 $\pm$ S.D 사용하였고, $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**)로 기록하였다.

[0058] **실험결과 1. 당뇨병 유발 마우스 모델의 확립**

[0059] 이화주 추출물의 혈당 강화 작용을 실험하기 위해, 췌장의 랑게한스섬의 베타세포 특이적 독소(toxin)인 스트렙토토신(streptozotocin)을 이용하여 혈당의 수치가 250 mg/dL 이상 유지되는 고혈당 마우스를 당뇨 유발 모델로 선별하였다.

[0060] 도 1은 실험에 사용된 각 실험군 마우스의 혈당 변화를 나타낸다. 4주령 C57BL/6J 수컷 마우스를 3그룹(Con, STZ, STZ+E)으로 나누어 5일 동안 매일 스트렙토토신(STZ; 100 μ g/20 g)을 복강투여 하였다. 혈당의 변화를 혈당측정기로 확인하였으며 표시된 결과는 군당 3마리의 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었다. STZ를 주사하여 혈당이 동일하게 올라간 상태로 당뇨병 모델이 잘 확립되었음을 확인하였다.

[0061] **실험결과 2. 이화주 추출물 투여에 의한 체중 변화**

[0062] 이화주 추출물에 의한 부작용을 확인하기 위하여 몸무게 변화를 측정하였다. 이화주 추출 분말(1 mg/g)을 PBS에 희석하여 3주 동안 매일 경구 투여하고, 비교군 마우스에는 PBS를 3주 동안 매일 경구투여 하였다. 몸무게는 매일 측정하여 결과를 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었다.

[0063] 도 2는 3주간 이화주 추출물의 투여에 의한 몸무게 변화를 나타낸 것이다. 도 2에 나타난 것처럼, Control군, STZ군과 STZ+E군의 평균을 측정하여 비교하였을 때, 비교군에 비해 이화주 추출 투여군이 약간의 체중이 덜 무거운 것으로 관찰되었으나, 통계학적으로 유의하지는 않았다. 이러한 결과는 이화주 추출물에 의한 부작용은 없는 것으로 판단된다.

[0064] **실험결과 3. 당뇨병 유발 마우스에 이화주 추출물 투여에 의한 영향**

[0065] 이화주 추출물 투여에 의한 영향을 확인하기 위하여 마우스의 혈당을 측정하였다. 이화주 추출 분말(1 mg/g)을 PBS에 희석하여 3주 동안 매일 경구 투여하고, 비교군 마우스에는 PBS를 3주 동안 매일 경구투여 하였다. Control군, STZ군, STZ+E군의 마우스 혈당을 혈당 측정기로 매2일 측정하여 결과를 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었다.

[0066] 도 3은 이화주 추출물 투여 후 혈당 변화를 측정한 결과이다. 도 3에서 나타난 것처럼, 비교군에 비해 이화주 추출 투여군의 혈중 혈당이 낮아지는 경향을 보였으며, 투여 후 10일부터 현저하게 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

[0067] **실험결과 4. 이화주 추출물 투여에 의한 당대사능력 변화검증**

[0068] 이화주 추출물 투여에 의한 당대사능력 변화검증 이화주 추출물의 당대사능력 변화를 측정하기 위해 당뇨병 유발 마우스에 이화주 추출물을 21일간 투여한 후 당내능 검사(IPGTT)와 인슐린 내능 검사(ITT)를 하였다. 혈당 테스트(IPGTT)와 인슐린 저항성 테스트(ITT)는 각각 다음과 같이 수행하였다. (A) 당뇨 유발 모델 마우스를 5시간 공복한 상태에 체중의 2g D-glucose/Kg 복강 주사한 후, 각 0, 15, 30, 60, 90분에 혈당측정기(Bayer breeze)로 혈당 측정을 3주간 관찰하였다. (B) 마지막 혈당 테스트 측정 1주 후, 6시간 공복 한 상태에서 체중

의 0.75U insulin/kg (Bovine Insulin-Sigma #10516)을 복강 주사한 후 혈당측정기(Bayer breeze)로 1, 20, 40, 80, 100분의 혈당을 측정하였다.

[0069] 도 4는 혈당 테스트(IPGTT)와 인슐린 저항성 테스트(ITT)를 수행한 결과이다. 도 4에서 나타난 것처럼, 당내능 검사 결과 이화주 추출물 투여군이 정상군 만큼은 아니지만 STZ 군에 비해서 당내능력이 향상 되었음을 확인할 수 있었다 (도 4의 A, STZ+E). 또한 인슐린 내능검사 에서는 인슐린에 의한 혈당 흡수(민감도)가 증가되는 현상이 보였다 (도 4의 B, STZ+E).

[0070] 실험결과 5. 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 조직 무게 변화

[0071] 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 조직 무게 변화 인슐린 저항성 테스트 1주후 마우스의 간, 췌장, 뇌의 무게를 측정하였다. 정상군(CON), 스트렙토조토신(STZ)군, 이화주 추출물을 경구 투여한 군(STZ+E) 마우스의 체중(A), 췌장(B), 뇌(C), 간(D)의 무게를 측정하였다.

[0072] 도 5는 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 조직 무게 변화 측정한 결과이다. 도 5에서 나타난 것처럼, CON군, STZ군에 비해 이화주 추출물을 경구 투여한 군(STZ+E)에서 췌장과 간의 무게가 증가되었으나 (B, D), 통계학적으로는 큰 차이가 없었다.

[0073] 실험결과 6. 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 췌장의 랑게르한스섬 변화

[0074] 인슐린 저항성 테스트 1주후 마우스의 각 조직을 분리한 다음, 췌장을 헤마톡실린(Hematoxylin) 염색하여 인슐린 분비를 하는 췌장의 베타세포 모양을 관찰하였다.

[0075] 도 6은 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 췌장의 랑게르한스섬 변화를 관찰한 결과이다. 도 6과 같이, STZ에 의해 형태학적 모양이 망가지고, 개수 및 크기도 작아진 것에 비해, 이화주 추출 경구 투여한 군(STZ+E)의 랑게르한스섬의 베타세포가 정상군(CON)과 유사한 모양으로 회복되는 변화를 관찰하였다.

[0076] 실험결과 7. 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 간의 형태학적 변화 관찰

[0077] 인슐린 저항성 테스트 1주후 마우스의 각 조직을 분리하고, 간 조직을 해부하여 이화주추출물에 의한 간독성을 육안으로 관찰하였다.

[0078] 도 7은 당뇨 유발 모델 마우스에 이화주 추출물 3주간 투여 후 간의 형태학적 변화를 관찰한 결과이다. 도 7에서 보는 바와 같이, CON군, STZ 주사군, STZ 주사 후 3주간 이화주 추출물을 투여한 군(STZ+E)의 간 조직의 형태학적 변화는 없음을 확인할 수 있었다.

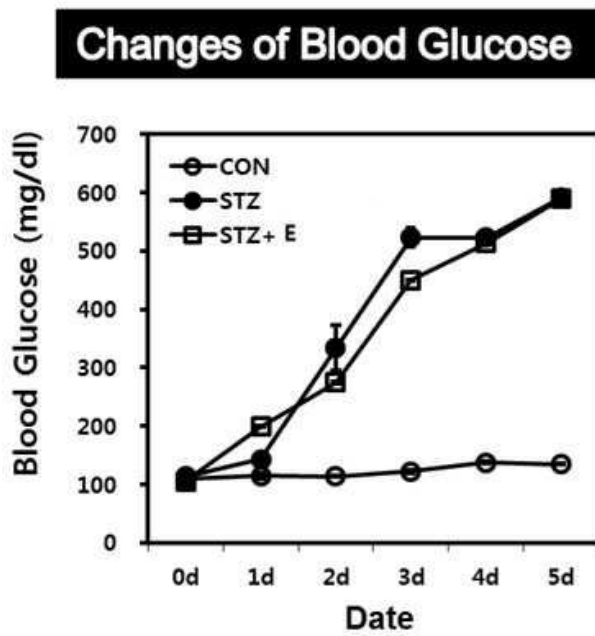
[0079] 결과해석

[0080] 본 발명에 따른 이화주 추출물은 혈중 포도당의 균형 유지 및 혈당 조절 기능을 하는 것으로 보여지는데, 이는 파괴된 췌장의 베타세포를 재생시켜 인슐린 분비 기능을 회복하는 것으로 예측할 수 있으며, 이러한 결과들로부터 이화주 추출물은 췌장의 기능 회복 및 항당뇨 개선 효과로 질병보조제의 원료나 기능성 식품으로서의 역할을 할 것으로 제안할 수 있다.

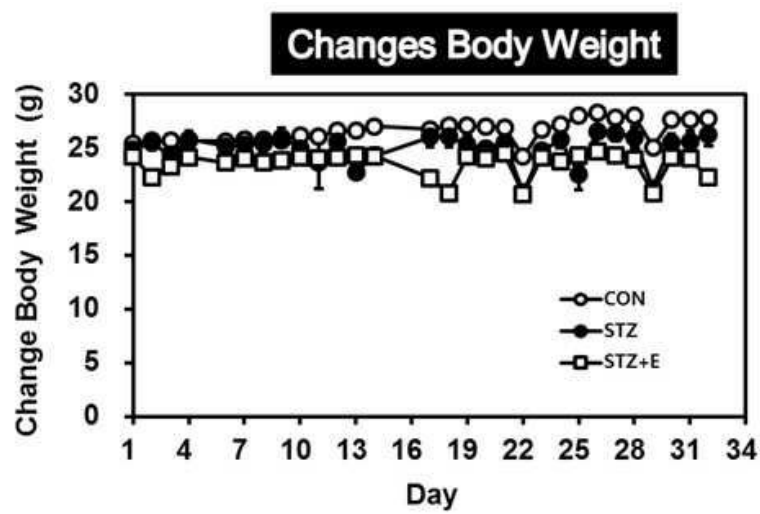
[0081] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

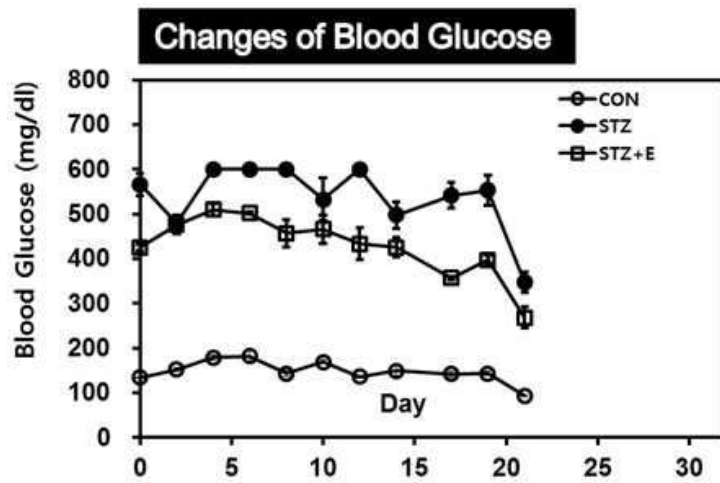
도면1



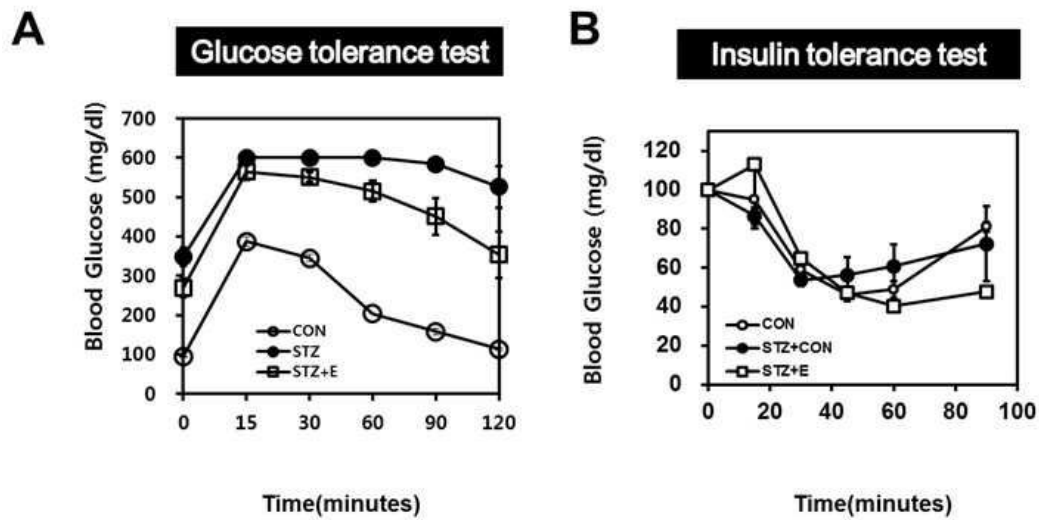
도면2



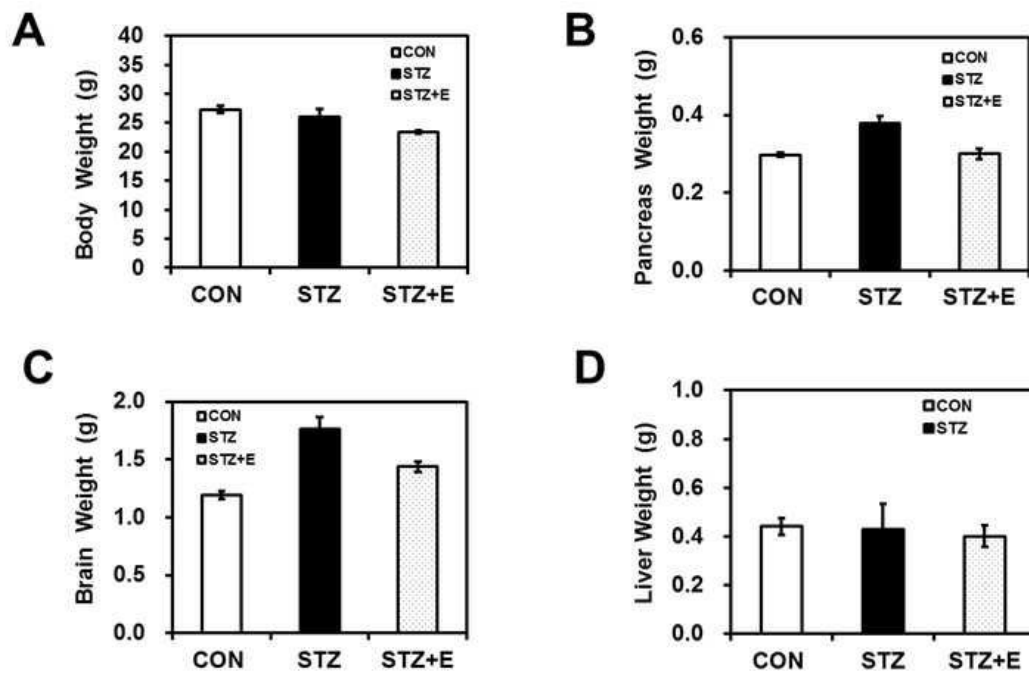
도면3



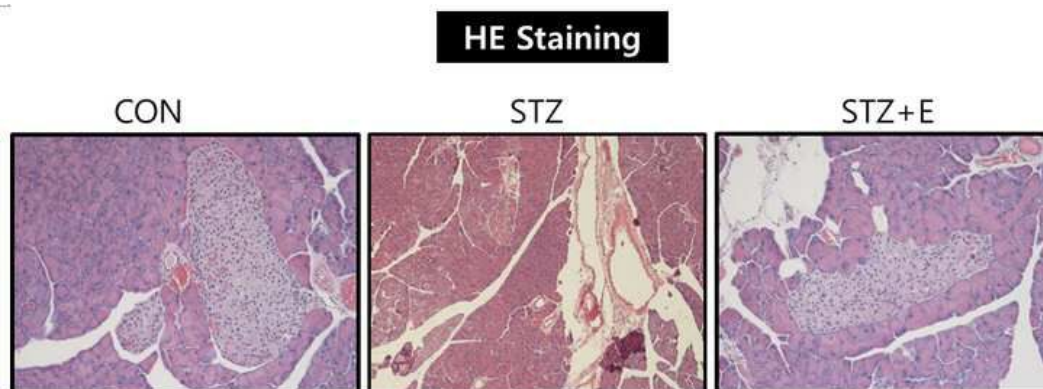
도면4



도면5



도면6



도면7

