

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2010년 9월 23일 (23.09.2010)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2010/107170 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/7048 (2006.01) A61K 36/899 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2009/007091

(22) 국제출원일: 2009년 11월 30일 (30.11.2009)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2009-0022925 2009년 3월 18일 (18.03.2009) KR

(71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한림대학교 산학협력단 (INDUSTRY ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION, HALLYM UNIVERSITY) [KR/KR]; 강원도 춘천시 한림대학길 39 한림대학교, 200-702 Gangwon-do (KR).

(72) 발명자: 김

(75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 이재용 (LEE, Jae-Yong) [KR/KR]; 강원도 춘천시 퇴계동 그린타운아파트 103-1303 호, 200-752 Gangwon-do (KR). 콜로드지 엑직 폴 (KOLODZIEJCZYK, Paul) [CA/CA]; 캐나다 브리티시 콜롬비아주 V0G1S0 뉴덴버 사서함 430, V0G1S0 British Columbia (CA). 바코우스카-바크작 안나 (M. BAKOWSKA-BARCZAK, Anna) [CA/PL]; 폴란드 로우클로우 노르위다 25 로우클로우 유니버시티 오브 인바이런멘탈 앤 사이언스 디파트먼트 오루 프루츠 베지터블즈 앤 그레인 테크놀로지, 50-375 Wroclaw (PL). 임순성 (LIM, Soon Sung) [KR/KR]; 강

원도 춘천시 퇴계동 그린아파트 102 동 401 호, 200-752 Gangwon-do (KR). 홍수희 (HONG, Su-Hee) [KR/KR]; 강원도 춘천시 후평 1 동 현대 1 차 아파트 103-805, 200-161 Gangwon-do (KR).

(74) 대리인: 특허법인 천지 (CHEONJEE INTERNATIONAL PATENT & LAW FIRM); 서울특별시 서초구 서초3동 1570-1 허브원빌딩 502 호, 137-874 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

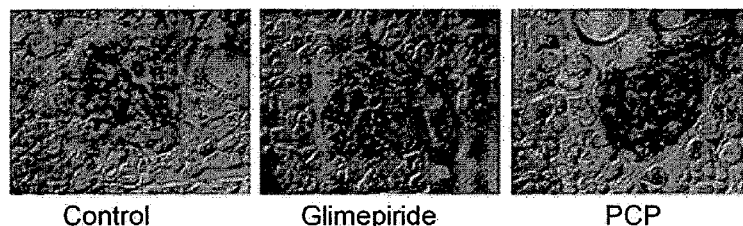
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR TREATING METABOLIC DISEASES

(54) 발명의 명칭: 대사성질환 치료용 조성물

[Fig. 8]



(57) Abstract: The present invention relates to a composition for treating metabolic diseases, and more particularly, to a composition for treating, preventing, or relieving metabolic diseases which comprises purple corn extract, purple corn anthocyanins, and compounds derived from the purple corn anthocyanins. The disclosed purple corn extract, purple corn anthocyanins, and compounds derived from the purple corn anthocyanins are excellent for reducing blood glucose levels, secreting insulin, and protecting pancreatic beta cells. Therefore, the present invention can be utilized widely in various industries including the medical field for the treatment or prevention of metabolic diseases including diabetes induced by glucose metabolism disorder, diabetes complications and obesity, and the health food field for preventing or improving the diseases.

(57) 요약서: 본 발명은 식물 유래 유효성분을 포함하는 대사성질환 치료용 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 흑옥수수 추출물, 흑옥수수 안토시아닌(purple corn anthocyanins) 및 상기 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물을 포함하는 대사성질환 치료, 예방 또는 개선용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 흑옥수수 추출물, 흑옥수수 안토시아닌, 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물은 혈당저하능이 우수하고, 인슐린 분비능이 뛰어날 뿐만 아니라, 췌장 베타세포의 보호능이 우수하여, 당대사의 이상으로 인한 당뇨병, 당뇨병 합병증 또는 비만을 포함한 대사성 질환의 치료 또는 예방을 위한 의약품 및 상기 질환의 예방 또는 개선을 위한 건강식품분야를 포함한 다양한 산업에 폭 넓게 이용될 수 있다.



WO 2010/107170 A1



공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

— 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

대사성질환 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 대사성질환 치료용 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 식물로부터 유래된 물질을 유효성분으로 포함하는 대사성질환 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 경제수준 향상에 의한 영양과잉, 환경오염, 운동부족, 스트레스 증가 등에 따른 각종 생활습관병 및 만성퇴행성질환의 만연이 우리 사회의 큰 문제로 대두되고 있다. 이 중, 최근에 가장 관심이 집중되고 있는 질병이 대사증후군 또는 대사성질환이다. 대사증후군이란 용어는 1950년대 말에 사용되기 시작하여 1970년대 말부터 통용되었다. 1988년에 Reaven은 대사증후군의 원인으로 인슐린 저항성을 제안하였고, 다양한 이상 증상(복부비만, 이상지질혈증, 고혈압, 공복시의 고혈당)을 증후군 X라 명하였다(Reaven, Diabetes 37:1595-1607(1988)). 대사증후군은 유전적, 환경적 요인에 의하여 결정되는데, 연령, 흡연여부, 음주, 다이어트, 신체활동 등의 요인에 의해서도 영향을 받는다.
- [3] 상기 대사증후군과 관련된 질환인 대사성 질환은 비만, 혈당 대사이상으로 인한 당뇨병, 당뇨합병증, 지질대사 이상으로 인한 중성지방 증가 또는 이상지질혈증, 고밀도 콜레스테롤 및 나트륨 성분 증가로 인한 고혈압, 요산 증가로 인한 통풍 등이며, 뇌졸중, 동맥경화, 심장병 등 각종 성인병도 이에 의한 것으로 보고되고 있다. 미국의 경우 성인의 약 1/4이 대사증후군을 보이는 것으로 추정되고 있다(Ford *et al.*, J.A.M.A. 287:356-359(2002)). 최근 조사 결과, 한국인의 경우, 30대의 15 내지 20% 및 40세 이상의 30 내지 40% 정도가 대사증후군을 보이며, 이러한 대사증후군 환자는 계속 빠른 추세로 증가하고 있다.
- [4] 상기 비만은 유전적 요인, 환경적 요인, 정신적 요인 또는 식사습관 및 운동부족 등의 생활습관 등에 의하여 인체 내 에너지 밸런스가 무너져 생기는 질환을 의미한다. 비만 환자 수는 지속적으로 증가하고 있는 추세이고, 최근 세계보건기구는 전 세계 성인 가운데 10억 명 이상이 과체중이고, 이들 가운데 최소한 3억 명이 비만에 속한다고 보고한 바 있다. 비만은 특히 다른 질병에 비해 유병률과 사망률이 높으며, 다양한 성인병의 합병증과 관련이 있는 것으로 밝혀지고 있다. 예를 들어, 비만환자는 정상체중인 사람에 비하여, 당뇨병 질환의 경우 4배 정도 사망률이 높으며, 간병경증의 질환의 경우 2배, 뇌혈관질환의 경우 1.6배 및 관상동맥질환의 경우 1.8배 정도 사망률이 높은 것으로 보고되어 있다. 현재, 식이요법, 운동요법 및 이노제, 설사제 등을 포함한 약물요법이 다양하게 시도되고 있으나, 영양불균형, 면역력 저하 및 우울증 등 부작용의

- 발생에 의해 일시적이고 한정적으로 사용이 제한되고 있는 실정이다.
- [5] 상기 당뇨병은 혈액 중의 포도당 농도가 정상인에 비하여 높아 소변으로 포도당이 배출되는 질환으로, 췌장내 랑게르한스 섬의 β -세포에서 비정상적인 인슐린 대사과정이나 인슐린의 이상 생리활성에 의하여 발병된다. 당뇨병은 인슐린의 분비와 작용여부에 따라 크게 1형 당뇨병(인슐린 의존성 당뇨병) 및 2형 당뇨병(인슐린 비의존성 당뇨병)으로 나뉘어진다. 1형 당뇨병은 췌장베타세포에서 생산되어 혈액 내의 당의 농도를 감소시키는 인슐린이 부족하여 발병되는 것으로, 외부에서 정기적으로 인슐린을 공급해주어야 한다. 한편, 2형 당뇨병은 췌장의 베타세포에서 인슐린을 분비해 내는 능력은 비교적 유지하고 있으나, 분비된 인슐린의 역할이 원활히 수행되지 않아 발병되는 것으로, 그 치료요법으로 치료제를 복용하면서 식이요법과 운동요법을 병행하는 것이다. 상기 2형 당뇨병의 치료제는 대부분이 경구투여용의 혈당강하제이다.
- [6] 상기 경구투여용으로 사용되는 혈당강하제의 예는 다음과 같다. 일 예로, Biguanide의 일종인 metformin, PPAR γ 를 활성화시키는 thiazolidinedione 계열의 pioglitazone과 rosiglitazone, 소장에서 탄수화물의 흡수를 지연시켜 식후 혈당치가 급격히 상승하는 것을 막아주는 α -glucosidase 저해제들, 그리고 췌장의 β -세포에서의 인슐린 분비를 촉진시키는 sulfonylureas와 non-sulfonylureas이다. 최근에는 인슐린의 분비를 촉진하고 혈당을 떨어뜨리는 역할을 하는 “인크레틴” 효소를 바로 분해하는 “DPP-IV” 효소를 선택적으로 저해하여 “인크레틴” 효소가 장시간 높은 농도로 유지되도록 하는 DPP-IV 저해제가 개발되어 시판되고 있다. 현재까지 2형 당뇨의 1차 치료제 시장에서 metformin과 sulfonylurea가 높은 점유율을 차지하는 가운데, 2차 및 3차 치료제 시장에서는 PPAR-감마 작용제를 중심으로 자누비아와 '바이에타(Byetta, exenatide)'가 경쟁하고 있으며, 자누비아는 주로 3차 치료 이후에 처방되고 있다.
- [7] 또한, 당뇨병은 체내 고혈당환경으로 높은 삼투압 스트레스를 유발하여 백내장 및 신장질환과 같은 합병증을 유발한다. 당뇨병에 의한 합병증은 그 종류 및 빈도에 있어 매우 다양하며, 그 중에서도 당뇨병성 혈관장애, 신경장애 및 감염증, 구체적으로는 망막증, 백내장, 당뇨병성 신증, 당뇨병성 신경증 등이 주로 나타난다.
- [8] 당뇨병 합병증은 고혈당이 주원인으로 보고 되어 있지만, 정확한 기전이 명확하게 밝혀져 있는 것은 아니고, 여러 가지 요인에 의하여 발병하는 것으로 알려져 있다. 구체적으로, 최종당화산물(AGE, advanced glycosylation end-product) 등이 그 원인인 것으로 밝혀져 있다. 또한, 당뇨병성 혈관 합병증의 경우에는 그 병인이 아직 명확하게 규명되어 있지는 않은 상태이다. 다만, 당뇨병의 이병기간이 길어지거나 혈당조절상태가 불량할수록 그 발병률이 증가하는 것으로 알려져 있어, 당뇨병성 혈관 합병증, 구체적으로 당뇨병 미세혈관합병증의 원인으로 고혈당이 주원인인 것으로 추정되어 왔다.

- [9] 최근 미국에서 시행된 DCCT(Diabetes Control & Complication Trial) 연구결과는 철저한 혈당 조절이 인슐린의존형 당뇨병 환자에서 미세혈관합병증 발생을 뚜렷하게 감소시킬 수 있음을 보고함으로써 고혈당이 미세혈관합병증 발생에 중요한 역할을 함을 증명하였다.
- [10] 상기와 같은 당뇨병 합병증을 치료 또는 예방하기 위한 약품이 개발되어 시판되고 있으나, 그 부작용 때문에 그 처방이 극히 제한된 실정이다. 따라서, 당뇨병 합병증을 예방, 치료할 수 있는 저독성의 천연물질 소재의 조성물의 개발이 요구되고 있는 실정이다.
- [11] 상기 이상지질혈증에는 고중성지방혈증과 저고밀도콜레스테롤혈증 등이 있다. 혈액 중의 콜레스테롤 수치가 정상치에 비하여 이상적으로 높은 경우 등을 의미하며, 네프로제증후군, 담도폐색, 갑상선 기능저하증 또는 동맥경화증 등과 관련이 있는 것으로 보고 되고 있으며, 특히, 저고밀도콜레스테롤혈증의 경우, 심혈관질환과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고 되고 있다.
- [12] 상기 고혈압은 정상 범위를 넘어서서 지속적으로 높은 혈압이 유지되는 것을 말하고, 대부분의 대사증후군 환자에게 나타나며 이는 심장질환이나 뇌혈관질환의 가장 중요한 위험인자 중의 하나이다.
- [13] 상기 대사증후군과 관련된 질환인 대사성질환 특히, 식생활습관의 변화에 따라 그 발병을 증가가 문제가 되고 있는 비만, 당뇨병 및 당뇨병 합병증에 대한 연구가 여러 나라에서 진행되고 있음에도 불구하고, 아직까지 강력한 효능, 부작용 및 안전성과 관련된 문제를 모두 만족시킬 수 있는 효과적이고 안전한 치료제는 발견이 되지 않고 있다.
- [14] 따라서, 상대적으로 안전성에 대한 문제가 발생할 가능성을 최소화할 수 있을 것으로 기대되는 천연물에서 상기 비만, 당뇨병 및 당뇨병 합병증을 치료, 예방 또는 개선할 수 있는 물질을 발굴할 수 있다면 이를 선도물질로 사용하여 개선된 효능을 보이는 물질을 개발할 수도 있을 것으로 기대된다.
- [15] 이러한 요구에 따라, 천연물로부터 비만, 당뇨병 및 당뇨병 합병증을 치료, 예방 또는 개선할 수 있는 물질을 찾으려는 노력이 진행 중에 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [16] 상기와 같은 종래기술의 문제점 즉, 당대사와 관련된 질환인 당뇨병, 당뇨병 합병증 또는 비만을 치료하기 위하여 개발된 약제들은 일시적인 혈당 강하 효과를 보여주는 인슐린 분비제이거나 혈당 강하제이며, 근원적으로 소실되거나 나빠진 췌장베타세포를 치료하는 근원치료제로 작용할 수 없는 단점이 있다.
- [17] 따라서, 당대사와 관련된 질환인 당뇨병, 당뇨병 합병증 또는 비만을 근원적으로 치료하기 위해서는 베타세포를 보호하고, 소실된 베타세포의 기능을 복원시켜줄 수 있는 치료제가 제공되어야 한다.

- [18] 또한, 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여, 천연물로부터 유래된 인슐린 분비 촉진제가 제공되어야 한다.

기술적 해결방법

- [19] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 흑옥수수 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.
- [20] 또한, 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.
- [21] 또한, 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.
- [22] 또한, 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌을 처리하여 베타세포를 보호하는 단계를 포함하는 대사성 질환 치료방법을 제공한다.
- [23] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [24] 본 발명자들은 흑옥수수 안토시아닌이 우수한 혈당저하능 및 인슐린 분비능 뿐만 아니라 현저하게 뛰어난 췌장 베타세포 보호능이 있는 것을 확인하였고, 상기 흑옥수수 안토시아닌 중 몇몇 화합물이 기존 혈당저하제 등의 용도로 사용되는 glimepiride 보다 우수한 인슐린 분비개선능이 있는 것을 확인하여, 본 발명을 완성하게 되었다.
- [25] 본 발명은 흑옥수수 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것이다.
- [26] 본 발명에서 흑옥수수(*purple corn, Zea mays variant*)는 중국과 페루에서 주로 재배되고 있는 옥수수의 변종으로, 생산지역에 따라 중국산, 페루산, 캐나다산 및 대한민국산의 흑옥수수에 포함된 안토시아닌의 성분이 각각 다르므로, 췌장베타세포 소실 억제 및 보호능과 혈당 강하능을 고려할 때, 상기 흑옥수수는 일 예로 대한민국산 흑옥수수일 수 있다.
- [27] 본 발명의 흑옥수수 추출물은 추출용매 또는 추출용매 및 분획용매를 이용하여 추출 또는 추출 및 분획하여 제조할 수 있다.
- [28] 상기 추출용매는 물 또는 메탄올, 에탄올 등의 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트 등의 극성용매와 헥산, 메틸렌 클로라이드, 클로로포름 또는 디클로로메탄의 비극성용매와 같은 유기용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있으며, 바람직하게는 물 및 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 더욱 바람직하게는 55 내지 75% 에탄올 희석수일 수 있다.
- [29] 상기 에탄올 함량이 55 내지 75%인 에탄올 희석수는 바람직하게는 초산을 포함하는 것일 수 있으며, 상기 초산의 농도(v/v)는 희석수 전체 부피를 기준으로 0.5% 내지 1%일 수 있다.
- [30] 상기 분획용매는 물 또는 메탄올, 에탄올 등의 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트 등의 극성용매와 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매와 같은

유기용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 일 예로, 상기 극성 용매 또는 비극성 용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 아세톤, 메틸렌 클로라이드, 이들의 희석수 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

- [31] 본 발명의 흑옥수수 추출물을 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 흑옥수수 추출물은 유수로 세척한 흑옥수수에 물을 첨가하고 마쇄기로 분쇄한 후, 에탄올을 가한 후에, 열수 추출법으로 제조할 수 있고, 상기 추출과정에 상기 초산을 추출용매에 더욱 포함할 수 있다. 상기 추출물은 수득된 추출액에 대해 여과과정을 수행하거나 농축 및/또는 동결건조를 수행하여 제조할 수 있다. 상기 여과과정을 수행하여 에탄올 추출액에 남아 있는 잔사 등을 제거할 수 있으며, 상기 농축 및/또는 동결건조를 수행하여 수분을 제거할 수 있다.
- [32] 상기 추출과정의 추출 온도는 70 °C 내지 90 °C일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 또한, 상기 추출과정의 추출시간은 한정되진 않으나 30분 내지 50 시간 일 수 있으며, 통상의 추출기거나 초음파분쇄 추출기를 이용할 수 있다. 또한, 상기한 바와 같이 제조된 추출액 또는 분획액은 이후 감압 여과 및 동결건조하여 용매를 제거할 수 있다.
- [33] 상기 본 발명의 흑옥수수 추출물은 상기 성분 외에 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다. 상기 흑옥수수 추출물에는 상기 성분들이 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다. 상기 추가성분의 함량은 바람직하게는 상기 흑옥수수 추출물 100 중량부 당 0.1 내지 20 중량부 범위에서 추가할 수 있다.
- [34] 본 발명에 따른 흑옥수수 추출물은 혈당 저하능을 가지고, 인슐린 분비 촉진 활성을 가지며, 췌장의 베타세포의 보호능을 가지므로, 대사성 질환의 예방 또는 치료 효과를 가진다.
- [35] 본 발명에서 대사증후군이란 대사기능이 제대로 작동되지 않거나 대사기능과 관련된 효소 등이 제대로 기능을 하지 못해 여러 종류의 성인병이 복합적으로 나타나는 병증을 의미한다.
- [36] 또한, 본 발명에서 대사성 질환이란 대사증후군 관련 질병을 의미하며, 상기 대사증후군에서 복합적으로 나타나는 개개의 질병을 말한다. 구체적으로, 당뇨병, 당뇨합병증, 비만, 내당능 장애, 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 및 이상지질혈증으로부터 이루어진 군에서 선택된 1이상일 수 있으며, 바람직하게는 당뇨병, 당뇨합병증 및 비만으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [37] 본 발명에 있어서 당뇨병 합병증이란, 당뇨병으로 인한 고혈당과 단백질의 반응이 비가역적으로 진행되어 최종당화산물이 생성되어 혈중이나 조직의 다른 단백질과 교차결합하여 유발시키는 여러 가지 합병증을 의미한다. 상기 당뇨병

- 합병증은 바람직하게는 당뇨병 망막증(diabetic retinopathy), 당뇨병 백내장(diabetic cataract), 당뇨병 신증(diabetic nephropathy), 당뇨병 신경병증(diabetic neuropathy), 당뇨병 혈관합병증일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 당뇨병 망막증, 당뇨병 백내장 또는 당뇨병 신증일 수 있다.
- [38] 본 발명의 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물은, 흑옥수수 추출물을 단독으로 포함할 수 있으며, 이외 제형, 사용방법 및 사용목적에 따라 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [39] 상기 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물에 유효성분인 상기 흑옥수수 추출물 외에 다른 성분이 첨가된 혼합물로 제공되는 경우, 상기 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 흑옥수수 추출물을 0.001 중량% 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.1 중량% 내지 99 중량 %, 더욱 바람직하게는 1 중량% 내지 50 중량% 포함할 수 있다.
- [40] 상기 담체, 부형제 또는 희석제는 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아키시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 덱스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀, 생리식염수로 이루어진 군에서 선택된 1이상 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용가능하다.
- [41] 또한 상기 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물을 약제화하는 경우, 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 붕해제, 계면활성제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 또는 방부제 등을 더욱 포함할 수 있으며, 경구 또는 비경구 모두 사용 할 수 있으나, 바람직하기로는 경구 투여용으로 할 수 있다. 구체적으로 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러가지 부형제 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [42] 본 발명의 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물의 제형은 사용방법에 따라 바람직한 형태일 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화할 수 있다. 구체적인 제형의 예로는 과립제, 산제, 시럽제, 액제, 유제, 현탁제, 정제, 주사제, 주정제, 캡셀제, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀 등이 있다.
- [43] 본 발명에 따른 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물의 투여량은, 투여방법,

복용자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등을 고려하여 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 일례로, 본 발명의 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물은 흑옥수수 추출물을 기준으로 할 때, 0.0001 mg/kg 내지 1000 mg/kg으로, 보다 효과적이기 위해서는 0.01 mg/kg 내지 100 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[44] 또한, 본 발명의 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물은, 흑옥수수 추출물 이외에 공지의 대사성 질환 관련 물질, 일 예로 혈당저하능이나 인슐린 분비개선 활성을 갖는 화합물 또는 식물 추출물을 더욱 포함할 수 있으며, 흑옥수수 추출물 100 중량부에 대하여 각각 5 중량부 내지 20 중량부로 포함될 수 있다.

[45] 본 발명은 또한 흑옥수수 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 식품 조성물의 예로는 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제를 들 수 있다.

[46] 상기 흑옥수수 추출물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은 그 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[47] 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함하는 의도이다.

[48] 본 발명의 흑옥수수 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품, 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류, 건강보조식품, 조미식품, 소스류, 과자류, 유가공품, 기타 가공식품, 김치, 절임식품, 음료, 천연조미료, 인공조미료, 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[49] 본 발명에서 기능성 식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[50] 본 발명에서 음료란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며 기능성 음료를 포함하는 의도이다. 상기 음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 흑옥수수 추출물을 유효성분으로 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기의 천연 탄수화물의 예는

모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 5 내지 12g이다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육을 추가로 함유할 수 있다.

[51] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기 첨가제는 본 발명의 흑옥수수 추출물 100 중량부 당 0 내지 20 중량부, 바람직하게는 0.00001 내지 15 중량부 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[52] 본 발명에서 기능성 음료란 음료에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 음료의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 음료 군이나 음료 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 음료를 의미한다.

[53] 상기 기능성음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명의 흑옥수수 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 중량부 내지 20 중량부, 바람직하게는 1 중량부 내지 18 중량부, 더욱 바람직하게는 5 중량부 내지 12 중량부 포함될 수 있다.

[54] 또한, 대사성 질환 예방 또는 개선의 효과를 목적으로 하는 식품 조성물에 있어서, 상기 흑옥수수 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 음료 조성물의 경우 식품 전체의 부피 100 ml 를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [55] 또한, 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.
- [56] 상기 흑옥수수 안토시아닌은 흑옥수수로부터 유래된 안토시아닌일 수 있다. 상기 흑옥수수 안토시아닌은 흑옥수수의 재배지에 따라 그 성분 및 함량이 상이할 수 있으므로, 상기 흑옥수수는 일 예로 대한민국산 흑옥수수일 수 있다.
- [57] 상기 흑옥수수 안토시아닌은 흑옥수수로부터 물을 이용하여 추출하거나 알콜 및 산을 첨가한 알콜류를 이용하여 추출할 수 있다. 일반적으로, 물로 추출하는 경우 불용성 물질을 여과한 후, 실리카겔 역상 컬럼 크로마토그래피법으로 고순도의 안토시아닌 성분을 분리 정제할 수 있으며, 산 가수분해를 통해 당 성분과 염산이 제거된 순수한 안토시아니딘을 분리할 수 있다. 또한, 알콜 및 산을 첨가한 알콜류를 이용할 경우 이온 컬럼 크로마토그래피법, 분취 박층 크로마토그래피법, 분취 고속 액체 크로마토그래피법, 액체 분배 추출법, 침전법 등을 이용하여 분리, 정제할 수 있다. 더불어, 안토시아닌을 안정화하기 위하여 시트르산(citric acid) 및 헤미셀룰로스(hemicelluloses)등이 추가로 첨가될 수 있다.
- [58] 또한, 본 발명은 상기 흑옥수수 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 개선 또는 예방용 식품 조성물일 수 있다.
- [59] 또한, 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.
- [60] 상기 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물은 cyaniding-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside, pelargonidin-3-(6-malonyl)glucoside, cyaniding-3,5-diglucoside, cyaniding-3-galactoside, cyaniding-3-arabinoside 및 cyanidin-3-(6-malonyl)galactoside로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 바람직하게는 cyaniding-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside 및 pelargonidin-3-(6-malonyl)glucoside로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 peonidin-3-glucoside일 수 있다.
- [61] 특히, peonidin-3-glucoside의 경우 안토시아닌에 포함된 다른 화합물에 비하여 현저하게 우수한 인슐린 분비 개선능을 가지고 있어, 인슐린 분비능 저하로 인해 발생하는 질병, 구체적으로 당뇨병, 당뇨합병증 및 비만으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상의 질병의 치료 또는 예방에 탁월한 효과를 가질 것으로 예상된다.
- [62] 따라서, 본 발명은 peonidin-3-glucoside의 치료용 용도, 구체적으로 대사성 질환에 대한 치료용 용도 특히, 인슐린 분비능 저하로 인해 발생하는 질병인 당뇨병, 당뇨합병증 및 비만에 대한 치료용 용도를 제공한다.
- [63] 따라서, 본 발명은 peonidin-3-glucoside를 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다. 상기 대사성 질환이란 당뇨병, 당뇨합병증

및 비만으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[64] 또한, 본 발명은 **peonidin-3-glucoside**를 유효성분으로 포함하는 인슐린 분비촉진용 조성물일 수 있다.

[65] 또한, 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 개선 또는 예방용 식품조성물을 제공한다.

[66] 또한, 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌을 처리하여 베타세포를 보호하는 단계를 포함하는 대사성 질환 치료방법을 제공한다.

[67] 본 발명의 흑옥수수 안토시아닌은 혈당저하능과 인슐린 분비 개선능이 있을 뿐만 아니라, 췌장세포의 보호능이 우수함으로써 단순히 단기적인 당대사능 관련 질환의 치료뿐만 아니라, 인슐린을 분비하는 췌장세포 자체를 보호함으로써 장기적이고 근원적인 당대사능 관련 질환의 치료가 가능하다는 점에서 기존 혈당강하제나 인슐린 분비제 또는 인슐린 감작제를 이용한 치료방법과 구분될 수 있다.

[68] 본 발명은 흑옥수수 안토시아닌을 환자에게 처리하여 췌장의 베타세포를 보호하는 단계를 포함하는 대사성 질환 치료방법에 관한 것이다.

[69] 상기 대사성 질환은 바람직하게는 당대사능의 이상과 관련된 질환으로, 일 예로 당뇨병, 당뇨병 합병증 또는 비만일 수 있다.

[70] 또한, 본 발명은 인슐린 분비 개선능이 현저하게 우수한 **peonidin-3-glucoside**를 이용하는 대사성 질환 치료방법을 제공한다.

[71] 본 발명은 **peonidin-3-glucoside**를 인슐린 분비능이 저하된 환자에게 처리하는 단계를 포함하는 대사성 질환 치료방법에 관한 것이다. 상기 **peonidin-3-glucoside**를 경구 또는 비경구로 인슐린 분비능이 저하된 환자에게 투여하는 경우, 인슐린 분비량이 증가되어 기존 인슐린 분비능 저하로 인해 발생하는 질환의 치료에 효과적일 수 있다. 따라서, 상기 **peonidin-3-glucoside**를 인슐린 분비능이 저하된 환자에게 처리하는 단계는 **peonidin-3-glucoside**를 인슐린 분비능이 저하된 환자에게 처리하여 인슐린 분비를 촉진시키는 단계일 수 있다.

[72] 상기 대사성 질환은 바람직하게는 당대사능의 이상과 관련된 질환, 구체적으로 인슐린 분비가 정상치보다 저하됨으로써 발생하는 질환으로, 일 예로 당뇨병, 당뇨병 합병증 또는 비만일 수 있다.

[73] 인슐린 분비능이 저하된 환자란 정상인의 췌장으로부터 분비되는 평균적인 인슐린 분비량에 비하여 인슐린 분비량이 저하된 환자를 의미하며, 인슐린 분비량이 저하란 것은 인슐린 분비량이 정상인의 평균적인 인슐린 분비량의 90%, 80%, 70%, 60% 또는 50% 이하인 것을 의미한다.

유리한 효과

[74] 본 발명은 종래 사용되는 물질과 달리 식물 유래 추출물 또는 식물 유래 추출물로부터 분리된 화합물이므로, 부작용 등의 문제를 포함한 안전성이

우수하고, 단순히 혈당조절능만 있는 것이 아니라, 췌장세포보호능도 매우 우수하여, 혈당조절을 통한 급성 당대사 관련 질환의 치료뿐만 아니라 췌장 베타세포 보호를 통하여 근본적이고 장기적인 당대사 관련 질환의 치료, 예방 및 개선이 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [75] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물에 포함된 성분을 확인하기 위하여, 흑옥수수 안토시아닌 추출물에 대하여 520nm에서 HPLC 크로마토그래피를 수행한 결과를 나타낸 그래프이다.
- [76] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 베타세포의 성장에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 햄스터 판크레아스의 베타세포주인 HIT-T15에 대해 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 여러 농도로 처리한 후, MTT 분석법으로 세포 생존 정도를 확인한 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, 각 수치는 흑옥수수 안토시아닌 추출물의 처리 농도를 의미한다.
- [77] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 베타세포의 인슐린 분비에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 햄스터 판크레아스의 베타세포주인 HIT-T15에 대해 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 여러 농도로 처리한 후, 인슐린 분비정도를 ELISA 분석법으로 확인한 결과를 나타낸 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, 각 수치는 흑옥수수 안토시아닌 추출물의 처리 농도를 의미한다.
- [78] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 2형 당뇨병 모델 쥐인 실험동물의 체중변화에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 실험동물의 체중을 매주 측정하여 나타낸 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, Glim은 양성대조군을 의미한다.
- [79] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 2형 당뇨병 모델 쥐인 실험동물의 혈당변화에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 실험동물의 공복시 혈당을 매주 측정하여 나타낸 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, Glim은 양성대조군을 의미한다.
- [80] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 2형 당뇨병 모델 쥐인 실험동물의 당화혈색소 변화에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 실험동물을 각 군별로 1주 및 7주째 당화혈색소의 함량을 측정하여 나타낸 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, Glim은 양성대조군을 의미한다.
- [81] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 2형 당뇨병 모델 쥐인 실험동물의 혈당 조절능력에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 실험동물의 공복시 혈당을 투여한 후, 시간 경과에 따른 혈당 변화를 측정하여 나타낸 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고,

Glim은 양성대조군을 의미한다.

- [82] 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 2형 당뇨병 모델 쥐인 실험동물의 베타 세포에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 실험동물의 췌장 섬의 인슐린 세포를 확인한 사진으로, 상기 사진의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, Glim은 양성대조군을 의미한다.

- [83] 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물의 세포독성을 확인하기 위하여, MTT 분석을 수행한 결과를 나타낸 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, Glim은 양성대조군을 의미하며, 상기 그래프의 1번은 cyaniding-3-glucoside, 상기 그래프의 2번은 peonidin-3-glucoside, 상기 그래프의 3번은 pelargonidin-3-glucoside, 상기 그래프의 4번은 cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside 및 상기 그래프의 5번은 pelargonidin-3-(6-malonyl)galactoside을 의미한다.

- [84] 도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른, 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물의 인슐린 분비 개선 활성을 확인하기 위하여, 인슐린 분비정도를 확인한 결과를 나타낸 그래프로, 상기 그래프의 CON는 아무런 처리를 하지 않은 대조군을 의미하고, Glim은 양성대조군을 의미하며, 상기 그래프의 1번은 cyaniding-3-glucoside, 상기 그래프의 2번은 peonidin-3-glucoside, 상기 그래프의 3번은 pelargonidin-3-glucoside, 상기 그래프의 4번은 cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside 및 상기 그래프의 5번은 pelargonidin-3-(6-malonyl)galactoside을 의미한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [85] 이하, 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기 위하여 제조에 및 실시예를 제시한다. 그러나, 하기 제조에 및 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위하여 예시한 것을 뿐, 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 예들에 한정되는 것은 아니다.

- [86] **실시예 1: 유효성분의 제조**

- [87] **1-1. 흑옥수수 추출물 및 흑옥수수 안토시아닌 제조**

- [88] 100g의 건조된 흑옥수수(대한민국 강원도)에 물 200 ml를 가하고 믹서(mixer)를 이용하여 잘게 부수어 흑옥수수 분쇄액을 제조하였다. 상기 흑옥수수 분쇄액을 80 °C에서 5분간 가열한 뒤, 300 ml의 에탄올 및 5ml의 초산(acetic acid)을 첨가하고 2시간 30분 동안 추출하여, 안토시아닌 추출물을 제조하였다. 상기 안토시아닌 추출물을 4 °C에서 30분간 원심분리하여 추출액만을 분리한 후, 잔여물에 1%(v/v) 초산(acetic acid)를 포함하는 60%(v/v) 에탄올을 가하여, 상기과 동일한 방법으로 추출하고 추출액을 모아서, 상기 분리해 놓은 추출액과 합쳤다.

- [89] 상기 수득한 추출액(supernatant)의 용매를 40°C에서 진공회전증발기(rotary evaporator)를 이용하여 제거하였다. 상기 용매를 제거한 농축물을 0.1% 초산(acetic acid)을 포함하는 물에 녹이고, 비이온성 합성흡착제(nonionic

polymeric absorbent column)(Amberlite, Diaion)에 넣어주고 0.1% 초산(acetic acid)를 포함하는 물로 세척하였다. 물로 다시 세척한 후, 0.1% 초산 (acetic acid)를 포함하는 에탄올을 이용하여 안토시아닌을 용출(elution)시켰다. 상기 용출된 안토시아닌 용출액(eluate)을 진공회전증발기를 이용하여 건조시켜 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 제조하였다. 상기 제조한 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 흑옥수수 안토시아닌의 활성 측정을 위한 시료로 사용하였고, 상기 건조물을 실험에 사용하는 경우에는, 상기 수득한 추출물을 물에 녹여 사용하였다.

[90] 인슐린분비능 측정을 위해서는 상기 건조된 흑옥수수 추출물을 물에 녹인 후, 이온교환수지(TRILITE DIAION) 컬럼에 부착시키고, 물로 세척하고 에탄올로 용출(elute)시킨 후, 진공주발기에서 농축하고 동결건조에 의해 부분 정제하여 사용하였다.

[91] 1-2. 흑옥수수 안토시아닌의 유효성분 확인

[92] 상기 수득한 흑옥수수 안토시아닌 추출물에 포함된 물질의 성분을 확인하기 위하여, 520 nm에서 HPLC 크로마토그래피(HPLC chromatogram)을 수행하였다. 보다 구체적으로, 역상 C18 컬럼을 사용하였고, 컬럼에 주입된 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 물과 메탄올을 농도 gradient로 만들어 용출(elution)하였으며, 상기 정제된 안토시아닌 추출물에 포함된 물질들은 표준물질과 비교하여 확인하였다.

[93] 상기 HPLC 크로마토그래피의 수행 결과를 도 1 및 하기 표 1에 나타내었다.

[94] [표 1]

	Name	Amount (mg/100g)
[95]	1 cyanidin-3,5-diglucoside	0.35
	2 cyanidin-3-galactoside	0.78
	3 cyanidin-3-glucoside	2.65
	4 cyanidin-3-arabinoside	2.22
	5 pelargonidin-3-glucoside	1.97
	6 peonidin-3-glucoside	0.67
	7 cyanidin-3-(6-malonyl)galactoside	0.66
	8 cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside	2.46
	9 pelargonidin-3-(6-malonyl)glucoside	1.74
	10 cyanidin-3-(6-dimalonyl)glucoside	1.95
	11 peonidin-3-(6-malonyl) glucoside	0.84
	others	4.17
	Total:	20.46

[96] 상기 도 1 및 표 1에 나타낸 바와 같이, 상기 흑옥수수 안토시아닌에 포함된 물질은 cyaniding-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside, pelargonidin-3-(6-malonyl)galactoside 및 cyaniding-3,5-diglucoside 등 인 것으로 확인되었다.

[97] 실시예 2: 베타세포를 이용한 당뇨개선 효능평가

[98] 2-1. 세포 생존력 측정

[99] 햄스터 판크레아스의 베타세포주인 HIT-T15를 10% FBS(fatal bovine serum), 2 mM L-glutamine, 100 IU of penicillin-G and 100 µg/ml of streptomycin를 포함하는 RPMI1640배지를 사용하여 5% CO₂, 37 °C에서 세포배양기를 사용하여 배양하였다. 24-well plate에 상기 세포를 1.0×10⁵ cells/ml의 밀도로 접종하고, 매 2일마다 배지를 갈아주며 배양하였다. 상기 HIT-T15의 생존력에 안토시아닌의 영향을 평가하기 위해 상기 24-well plate에서 1×10⁵의 HIT-T15세포에 여러 농도의 상기 실시예 1에서 제조된 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 첨가하고 세포 생존력을 MTT reduction assay를 통하여 분석하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[100] 상기 도 2에 나타난 바와 같이, 흑옥수수 안토시아닌 추출물은 100 µg/ml의 농도까지 베타세포주인 HIT-T15에 대한 세포독성이 전혀 없었으며, 오히려 세포성장을 촉진하는 것으로 확인되었다.

[101] 2-2. 세포 인슐린 분비능 측정

[102] 상기 실시예 2-1의 HIT-T15세포주를 rpmi164-FBS 10%에서 배양하였다. 상기 세포배양에 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 여러 농도로 첨가하고, 24시간 뒤에 37 °C의 조건으로 glucose가 없는 KRB buffer(Krebs-Ringer Bicarbonate Buffer, 115 mM NaCl, 4.7mM KCl, 2.56 mM CaCl₂, 1.2mM KH₂PO₄, 1.2mM MgSO₄, 20mM NaHCO₃, pH 7.4)에서 30분 동안 배양한 뒤에, 11.1 mM glucose를 포함하는 KRB buffer로 배지를 바꾸고 60분간 배양하였다.

[103] 상기 세포배양액을 3000 x g의 조건으로 5분간 원심분리한 후, 인슐린 분비능의 분석을 위해 상기 상층액을 -80 °C에서 보관하였다. 상기 세포배양액에 분비된 인슐린은 rat insulin을 표준물질로 ELISA insulin kit를 사용하여 측정하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[104] 상기 도 3에 나타난 바와 같이, 흑옥수수 안토시아닌을 10 µg/ml로 처리한 경우에는 흑옥수수 안토시아닌을 전혀 처리하지 않은 대조군과 별다른 차이를 나타내지 아니하였으나, 100 µg/ml에서는 약 10배 이상의 현저한 정도로 인슐린 분비를 촉진시키는 것으로 확인되었다. 상기 결과로부터 흑옥수수 안토시아닌은 인슐린 분비를 촉진시킬 수 있는 것으로 예상되었다.

[105] 실시예 3: 2형 당뇨병모델 마우스를 이용한 당뇨 개선효능 평가[106] 3-1. 실험동물 및 식이

[107] 실험동물을 이용한 당뇨 개선 효능 실험을 위하여, 2형 당뇨 동물모델인 Specific-pathogen-free male C57BL/KsJ-db/db mice(중앙실험동물(주), 대한민국, SLC Japan)를 구입하여 일정한 온도(25°C)와 습도(50±5%)를 유지하며, 1주간 적응시킨 후, 실험에 사용하였다. 상기 2형 당뇨병모델은 2형 당뇨 연구에 주로 사용되는 것으로, 일정 기간 경과 후부터 혈당이 증가되고, 베타세포가 점차 소실되는 특징을 가진 것으로, 상기 실험동물을 실험군(시료 처리군)과 대조군(시료 무처리군) 및 양성대조군(glimepiride 처리군)으로 나누어, 각 군마다

6마리를 사용하여 당뇨개선 효능을 평가하였다. 시료의 투여는 해당 그룹의 동물에 체중 kg당 10 mg/일을 7주간 경구(oral gavage)의 방법으로 수행하였다. 매주 체중의 변화를 측정하였고, 헤파린 처리된 모세관을 이용하여 안와정맥에서 채혈후, 수득된 혈액을 원심분리하여 혈장을 얻었다.

[108] 3-2. 체중변화 및 기초 안정성 평가

[109] 상기 실험동물(db/db mouse)은 체중계를 사용하여 매주 체중 변화를 측정하였으며, 그 결과를 도 4에 나타내었고, 7주간 투여 후 행동양상 및 장기의 상태는 육안으로 분석하였다.

[110] 상기 도 4에 나타난 바와 같이, 체중 변화는 각 군에 상관없이 거의 일정하게 유지되었다. 또한, 상기 실시예 3-1의 2형 당뇨모델 동물인 db/db mouse에 흑옥수수 안토시아닌을 10mg/kg/day의 양으로 경구 7주간 투여 후 행동양상 검사에서 무처리군과 전혀 차이를 주지 않았으며, 각 장기의 상태를 육안으로 분석한 결과 무처리군과 아무런 차이를 발견하지 못하였다. 결론적으로, 경구 투여의 방법으로 흑옥수수 안토시아닌을 투여한 경우에도 독성이 없음이 확인되었다.

[111] 3-3. 혈당 변화 측정

[112] 실시예 3-1의 실험동물에 대해, 매주 한번씩 대조군과 실험군의 공복 혈당을 portable glucose meter(OneTouch Ultra)를 사용하여 측정하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[113] 상기 도 5에 나타난 바와 같이, 흑옥수수 안토시아닌 추출물(purple corn, PCP) 투여군의 혈당은 대조군이나 양성대조군(glimepiride 투여군, Glim)에 비교하여 유의적인 감소를 보였다. 특히, 흑옥수수 안토시아닌 추출물이 인슐린분비제 처방약으로 사용되고 있는 glimepiride 보다 같은 투여량에서 더 우수한 혈당강하 효과를 보여주는 것으로 확인되어, 흑옥수수 안토시아닌 추출물의 혈당강하 효과가 매우 우수한 것으로 확인되었다.

[114] 3-4. 당화혈색소(HbA1c) 변화 측정

[115] 흑옥수수 안토시아닌 추출물의 장기간 동안의 평균 혈당의 상태를 확인하기 위하여, 실시예 3-1의 각 군별로 각각 1주 및 7주째 당화혈색소의 함량을 혈액자동분석기를 사용하여 측정하였고, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[116] 상기 도 6에 나타난 바와 같이 당화혈색소(Hb1AC)는 흑옥수수 안토시아닌 추출물을 처리한 실험군은 대조군 뿐만 아니라, 양성대조군인 Glimiperide를 처리한 실험군에 비해서도 낮은 수치를 나타내어, 가장 낮은 것으로 확인되었고, 이로부터 흑옥수수 안토시아닌 추출물은 장기적인 혈당조절 능력이 우수한 것으로 확인되었다.

[117] 3-5. 경부 당부하검사(Oral Glucose Tolerance Test)

[118] 흑옥수수 안토시아닌 추출물의 단기간 동안의 혈당조절 능력을 확인하기 위하여, 각 군별로 7주가 경과한 실험동물을 공복시켰다. 상기 공복시킨 실험동물에 당(glucose, 0.2g/kg)을 경구투여한 후 혈액샘플을 여러 시간

별로(0-120min) 안와정맥에서 채혈하여 혈당을 측정하였으며, 그 결과를 도 7에 나타내었다

- [119] 상기 도 7에 나타난 바와 같이, 흑옥수수 안토시아닌 추출물 처리군 (PCP)은 무처리군은 물론 기존 혈당조절을 위해 투여되는 양성대조군인 Glimepiride와 동일한 함량이 투여된 경우에 비해서도 현저하게 혈당을 감소시키는 것으로 확인되었다. 따라서, 상기 결과로부터 흑옥수수 안토시아닌 추출물의 단기적인 혈당조절 능력이 우수한 것으로 확인되어, 당뇨병 환자 등 당대사능이 결함된 환자를 위한 혈당조절제 등으로 사용될 수 있을 것으로 예상되었다.

[120] 3-6. 베타세포의 면역조직화학적 분석(Immunohistochemistry)

- [121] 베타세포의 보호능을 확인하기 위하여, 실시예 3-1의 실험동물을 phenobarbital sodium (10 mg/100 g body weight i.p.)으로 완전히 마취시키고, 0.9% saline and 4% paraformaldehyde in 0.1 mol/L PBS(pH 7.4)으로 심장을 통하여 관류하였다. 상기 마취된 실험동물의 체장을 잘라내고 4% paraformaldehyde에 6시간 동안 고정시킨 후, 파라핀에 함몰(paraffin-embedded)시킨 후, 5 μ m 두께로 잘랐다. 상기 절편을 1% bovine serum albumin(BSA)를 포함하는 PBS에 희석된 1차 antibody(guinea pig anti-insulin antibody) 용액에 4°C에서 14시간 동안 배양하였다. 그 후, 실온에서 30분간 2차 antibody(biotinylated goat anti-guinea pig IgG antibody 1:1000)로 배양하고, horseradish peroxidase-conjugated streptavidin으로 처리하여 발색한 후, 현미경을 이용하여 관찰하고 사진을 촬영하였으며, 그 결과를 도 8에 나타내었다.

- [122] 상기 도 8에 나타난 바와 같이, 2형 당뇨병 모델인 db/db mouse의 대조군(무처리군)에서는 체장 섬의 인슐린 분비 세포(islet cell, 베타세포)의 수가 섬 내에서 상당히 감소되었다. 그러나, 흑옥수수 안토시아닌 추출물 처리군의 경우 인슐린을 분비하는 베타세포가 현저하게 증가되었으며, 이러한 증가 정도는 양성대조군인 glimepiride 처리군에 비해서 우수한 것으로 확인되었다. 상기 결과로부터, 흑옥수수 안토시아닌 추출물은 인슐린을 분비하는 베타세포를 보호해준다는 사실이 확인되었다.

[123] 실시예 4: 유효성분의 확인

- [124] 상기 실시예 1-2에서 확인된 흑옥수수 안토시아닌에 포함된 물질에 대하여, 실시예 2-1 및 2-2의 방법으로 세포 독성 및 인슐린 분비능을 측정하였다. 보다 상세하게는, 실시예 1-2에서 확인된 화합물 중, 총 5종의 화합물인 cyaniding-3-glucoside(1번), peonidin-3-glucoside(2번), pelargonidin-3-glucoside(3번), cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside(4번) 및 pelargonidin-3-(6-malonyl)galactoside(5번)과 대조군(무처리군) 및 양성대조군(Glim)에 대하여 세포 독성 및 인슐린 분비능을 측정하였고, 그 결과를 도 9 및 도 10에 나타내었다.

- [125] 상기 도 9에 나타난 바와 같이, 당(glucose)을 11.1 mM의 농도로 처리한 경우 전체적으로 약간의 세포 생존능이 증가하는 것으로 확인되었다. 시료의 첨가에

따른 세포 생존능의 경우 흑옥수수 안토시아닌 추출물 유래 화합물의 경우 세포 생존능에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었고, 특히 50ug/ml를 처리한 경우에도 거의 대부분 세포 생존능에 영향을 미치지 아니하여, MTT 분석 결과 안전한 것으로 확인되었으나, 오히려 양성 대조군의 경우 50ug/ml를 처리한 경우에 약 50%의 세포 생존능이 나타내어 세포독성이 문제되는 것으로 확인되었다.

- [126] 또한, 인슐린 분비능을 상대적으로 비교한 상기도 10에 나타낸 바와 같이, 양성대조군의 경우에도 인슐린 분비를 개선시키지 못하는 것으로 확인되었으나, peonidin-3-glucoside의 경우에는 다른 실험군에 비하여 약 500%에 준하는 정도의 인슐린을 분비하는 것으로 확인되어, 인슐린 분비능이 현저히 우수한 것으로 확인되었다. 이 외에도, 흑옥수수 안토시아닌 추출물 유래 4종의 화합물 모두 양성대조군에 비하여 인슐린 분비 개선능이 우수한 것으로 확인되었다.

산업상 이용가능성

- [127] 본 발명은 종래 사용되는 물질과 달리 식물 유래 추출물 또는 식물 유래 추출물로부터 분리된 화합물이므로, 부작용 등의 문제를 포함한 안전성이 우수하고, 단순히 인슐린분비능 및 혈당조절능만 있는 것이 아니라, 췌장세포보호능도 매우 우수하여, 혈당조절을 통한 급성 당대사 관련 질환의 치료뿐만 아니라 췌장 베타세포 보호를 통하여 근본적이고 장기적인 당대사 관련 질환의 치료, 예방 및 개선이 가능하다. 따라서, 흑옥수수 추출물, 이로부터 유래한 흑옥수수 안토시아닌 및 peonidin-3-glucoside를 포함한 이의 유효성분은 당뇨병, 당뇨합병증 및 비만을 포함한 대사성질환의 치료 또는 예방을 위한 의약품 및 상기 질환의 예방 또는 개선을 위한 건강기능식품의 소재로 사용될 수 있다. 그러므로, 본 발명은 대사성 질환과 관련된 의약분야 및 식품분야를 포함한 다양한 산업분야에 응용될 수 있다.

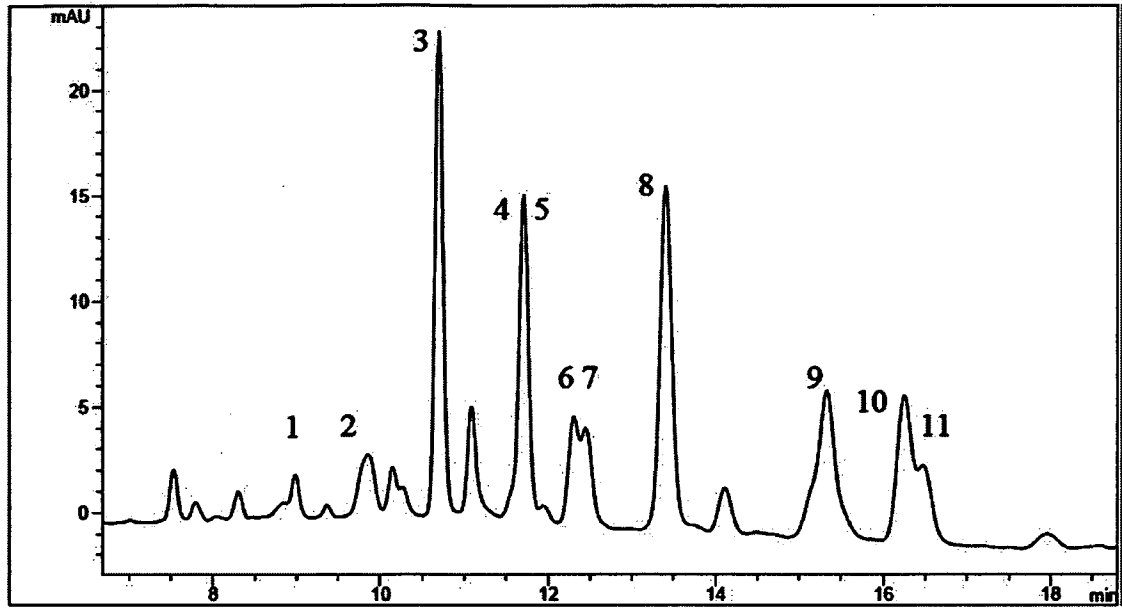
청구범위

- [1] 흑옥수수(Purple corn) 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [2] 제1항에 있어서,
상기 흑옥수수 추출물은 물 및 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상의 용매를 사용한 용매 추출물인 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [3] 제2항에 있어서,
상기 추출용매는 초산을 더욱 포함하는 것인 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [4] 제1항에 있어서,
상기 대사성 질환은 당뇨병, 당뇨합병증 및 비만으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종인 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [5] 흑옥수수(Purple corn) 추출물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 개선 또는 예방용 조성물.
- [6] 제5항에 있어서,
상기 식품 조성물은 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제인 대사성 질환 개선 또는 예방용 조성물.
- [7] 흑옥수수 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [8] 흑옥수수 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 개선 또는 예방용 조성물.
- [9] 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [10] 제9항에 있어서,
상기 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물은 cyaniding-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside 및 pelargonidin-3-(6-malonyl)glucoside로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상인 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [11] 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물을 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 개선 또는 예방용 조성물.
- [12] 제11항에 있어서,
상기 흑옥수수 안토시아닌 유래 화합물은 cyaniding-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-(6-malonyl)glucoside 및 pelargonidin-3-(6-malonyl)glucoside로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상인 대사성 질환 개선 또는 예방용

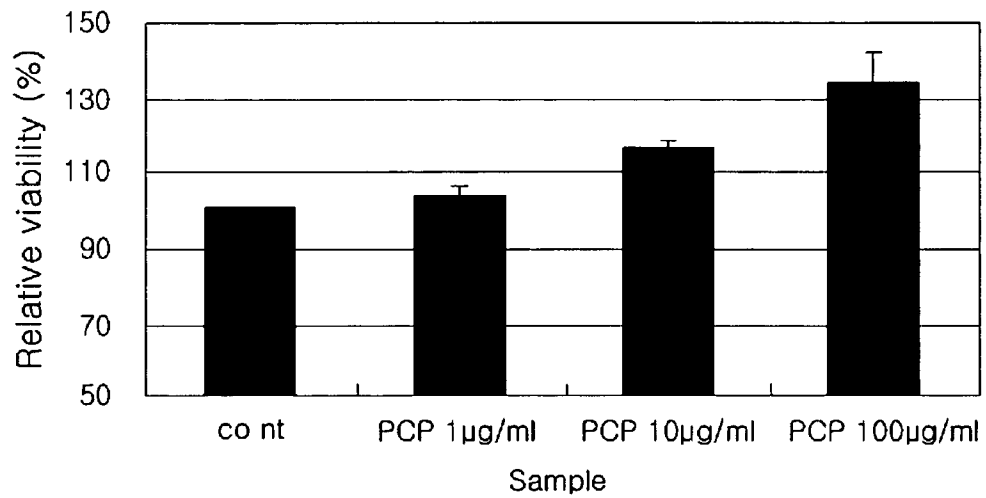
조성물.

- [13] peonidin-3-glucoside를 유효성분으로 포함하는 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [14] 제13항에 있어서,
상기 대사성 질환이란 당뇨병, 당뇨병병증 및 비만으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종인 대사성 질환 치료 또는 예방용 조성물.
- [15] peonidin-3-glucoside를 유효성분으로 포함하는 인슐린 분비촉진용 조성물.
- [16] 흑옥수수 안토시아닌을 환자에 처리하여 환자의 췌장 베타세포를 보호하는 단계를 포함하는 대사성 질환의 치료방법.
- [17] 제16항에 있어서,
상기 대사성 질환은 당뇨병, 당뇨병병증 및 비만으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종인 대사성 질환의 치료방법
- [18] peonidin-3-glucoside를 인슐린 분비능이 저하된 환자에게 처리하여 인슐린 분비를 촉진하는 단계를 포함하는 당뇨병 또는 당뇨병 합병증의 치료방법.
- [19] peonidin-3-glucoside의 당뇨병, 당뇨병병증 또는 비만의 치료용 용도.

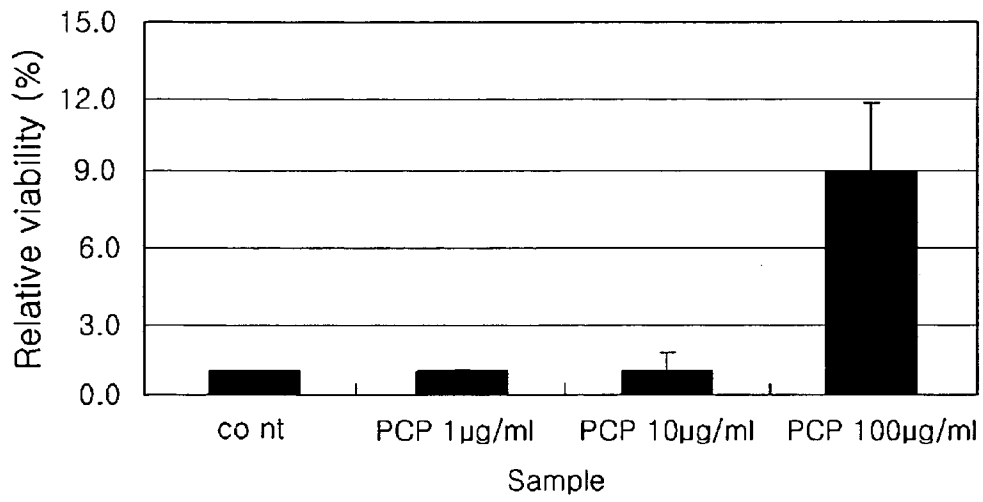
[Fig. 1]



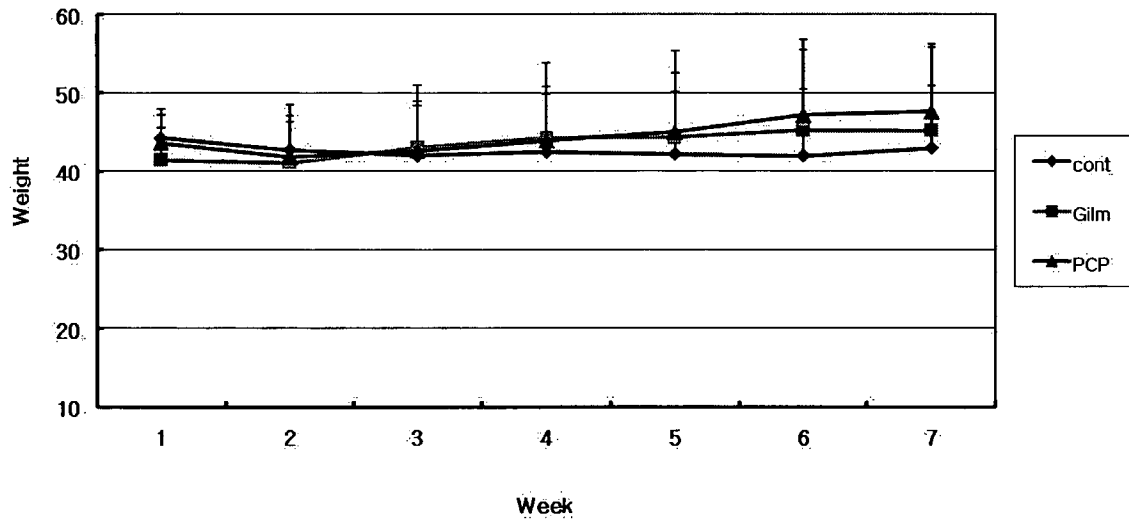
[Fig. 2]



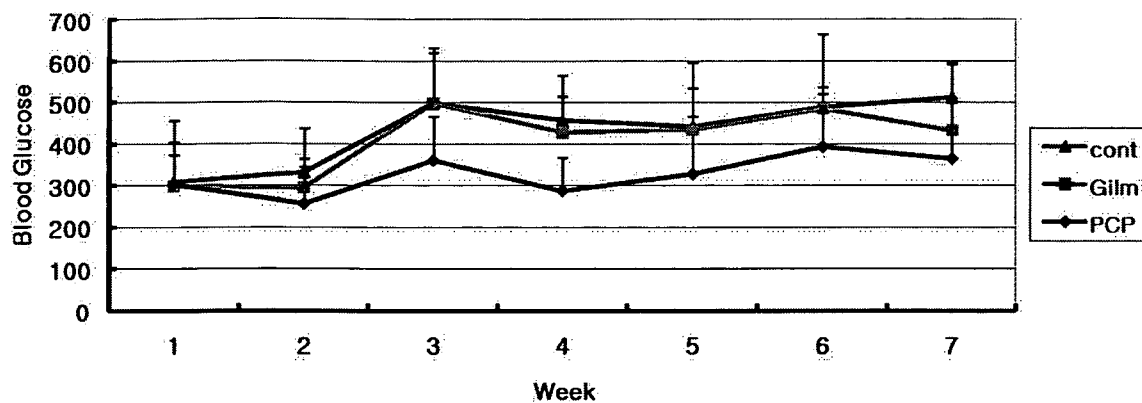
[Fig. 3]



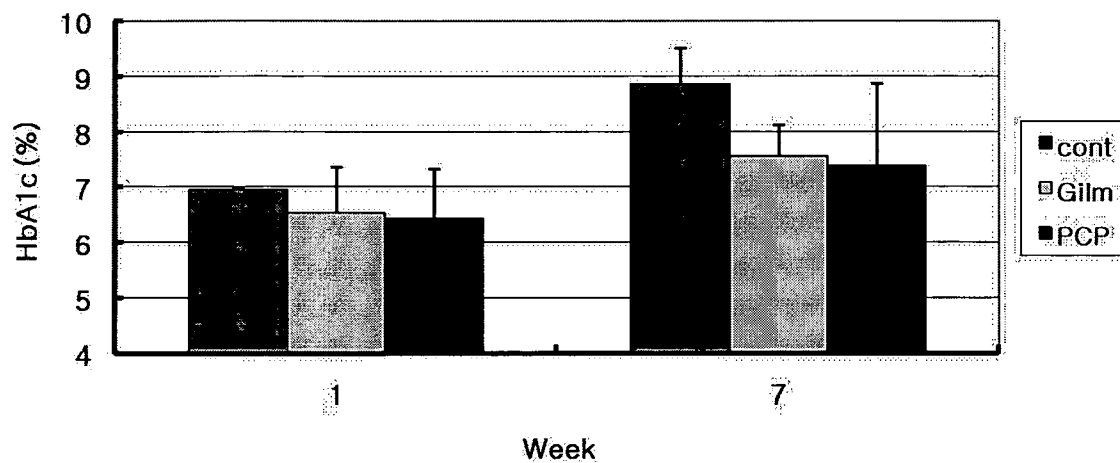
[Fig. 4]



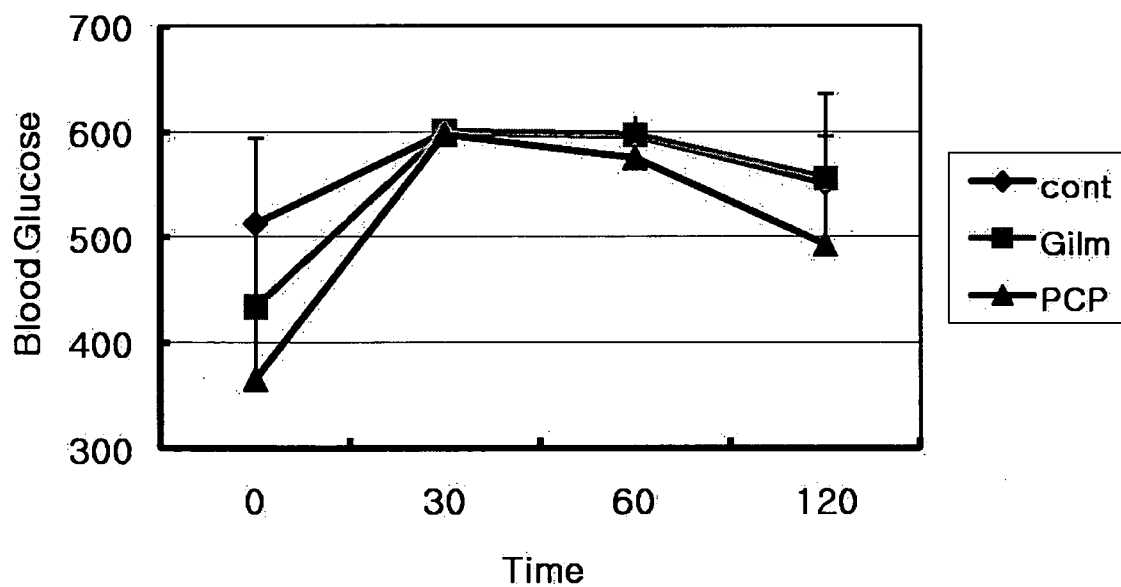
[Fig. 5]



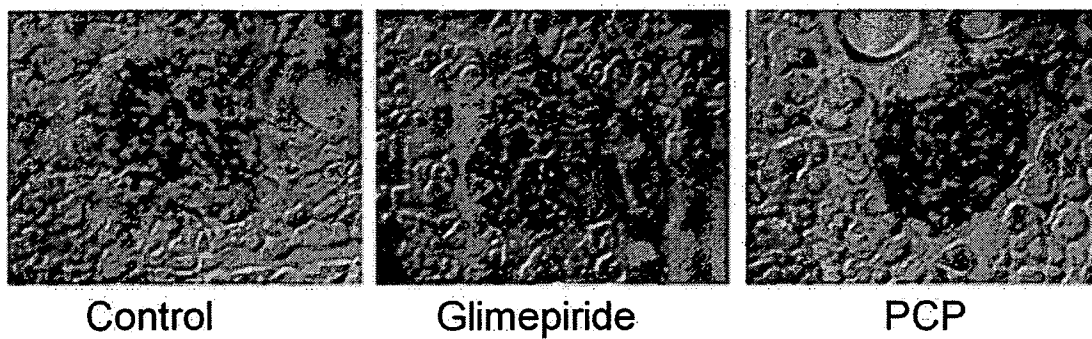
[Fig. 6]



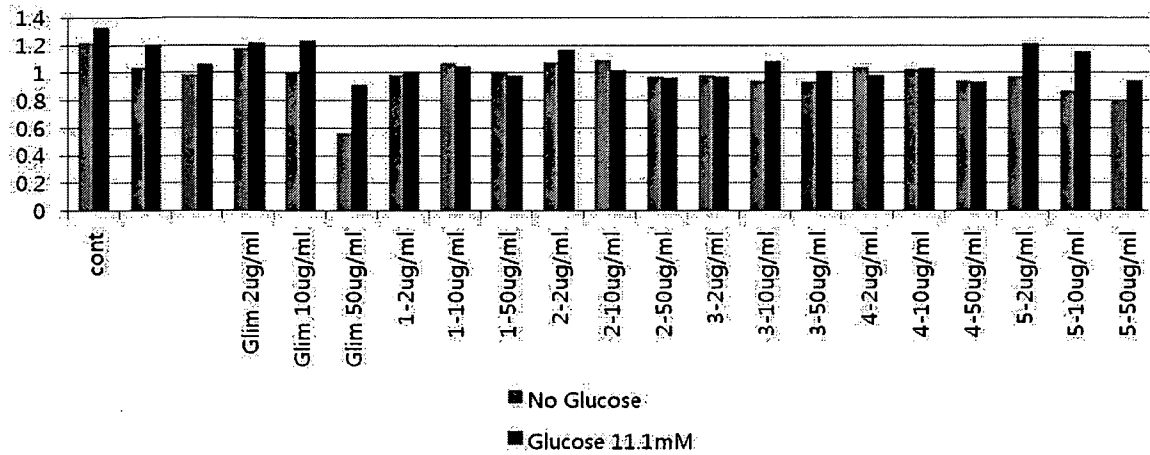
[Fig. 7]



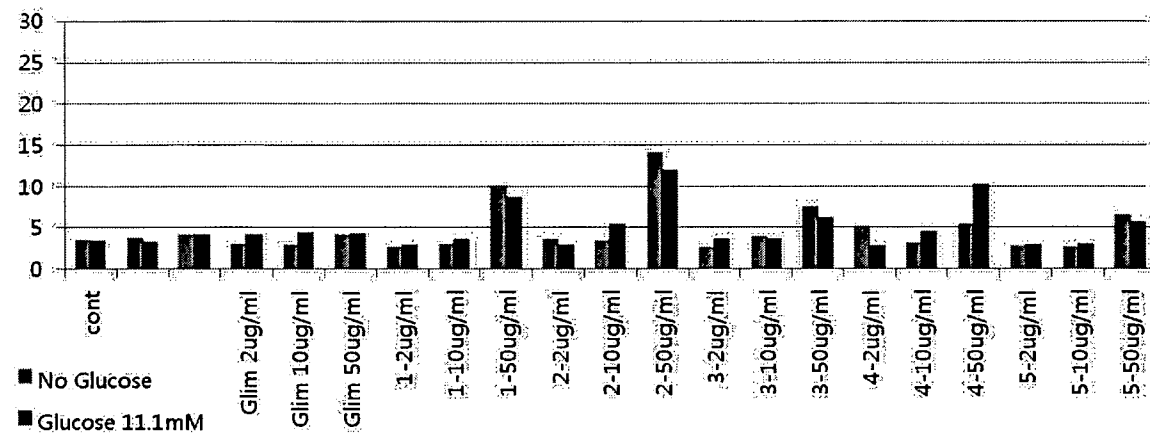
[Fig. 8]



[Fig. 9]



[Fig. 10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2009/007091**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****A61K 31/7048(2006.01)i, A61P 3/10(2006.01)i, A61K 36/899(2006.01)i, A23L 1/30(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:A61K; A61P; A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), Google, PubMed & Keywords: anthocyanin, diabetes, obesity, purple corn, etc.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TSUDA, T., et al. "Dietary Cyanidin 3-O-D-Glucoside-Rich Purple Corn Color Prevents Obesity and Ameliorates Hyperglycemia in Mice." In J. Nutr. Vol.133:2525-2130 (2003).	1-12
A	See the entire document, especially abstract; table 4; page 2129, left column; page 2130, left column.	13-15,19
X	JING, P. AND GIUSTI, M. M. "Effects of Extraction Conditions on Improving the Yield and Quality of an Anthocyanin-Rich Purple Corn (Zea mays L.) Color Extract." In J. Food Sci. Vol.72 (7):C363 - C368 (2007).	1-12
A	See the entire document, especially introduction on page C363, figure 1.	13-15,19
X	GHOSH, D. AND KONISHI, T. "Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function." In Asia Pac. J. Clin. Nutr. Vol.16 (2):200-208 (2007).	1-12
A	See the entire document, especially abstract; page 200, right column - page 201 right column, top part.	13-15,19



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

09 AUGUST 2010 (09.08.2010)

Date of mailing of the international search report

09 AUGUST 2010 (09.08.2010)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2009/007091

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TSUDA, T. "Regulation of Adipocyte Function by Anthocyanins; Possibility of Preventing the Metabolic Syndrome." In J. Agric. Food Chem. Vol.56:642-646 (2008).	1-12
A	See the entire document, especially abstract; page 643; figures 2-4.	13-15,19
X	US 2006-0025353 A1 (NAIR, M. G., et al.) 02 February 2006	1-12
A	See the entire document, especially abstract, the claims	13-15,19
X	US 2006-0025354 A1 (NAIR, M. G., et al.) 02 February 2006	1-12
A	See the entire document, especially abstract, the claims	13-15,19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2009/007091

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2009/007091

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2006-0025353 A1	02.02.2006	AU 2005-285463 A1	23.03.2006
		AU 2005-285463 B2	21.08.2008
		AU 2005-301315 A1	11.05.2006
		AU 2005-301315 A1	11.05.2006
		AU 2005-301315 B2	10.04.2008
		AU 2005-301315 B2	10.04.2008
		BR P10513723A	13.05.2008
		CA 2573510-A1	11.05.2006
		CA 2573539-A1	23.03.2006
		CN 1988912 A	27.06.2007
		CN 1988912 A	27.06.2007
		CN 1988912 C0	27.06.2007
		CN 1993135 A	04.07.2007
		CN 1993135 A	04.07.2007
		CN 1993135 C0	04.07.2007
		EP 1771188 A2	11.04.2007
		EP 1773356 A2	18.04.2007
		EP 1773356 A4	13.01.2010
		JP 2008-508277 A	21.03.2008
		JP 2008-508277 T	21.03.2008
		JP 2008-508284 A	21.03.2008
		MX 2007000932 A	16.04.2007
		NZ552550A	31.05.2009
		RU 2007101495 A	10.09.2008
		US 2006-0025354 A1	02.02.2006
		US 2006-025353 A1	02.02.2006
		US 7737121 B2	15.06.2010
		WO 2006-031293 A2	23.03.2006
		WO 2006-031293 A3	23.03.2006
		WO 2006-049657 A2	11.05.2006
		WO 2006-049657 A2	11.05.2006
		WO 2006-049657 A3	11.05.2006
		WO 2006-049657 A3	22.06.2006
		WO 2006-049657 A3	22.06.2006
US 2006-0025354 A1	02.02.2006	AU 2005-285463 A1	23.03.2006
		AU 2005-285463 A1	23.03.2006
		AU 2005-285463 B2	21.08.2008
		AU 2005-285463 B2	21.08.2008
		AU 2005-301315 A1	11.05.2006
		AU 2005-301315 B2	10.04.2008
		BR P10513840A	20.05.2008
		CA 2573510-A1	11.05.2006
		CA 2573539-A1	23.03.2006
		CN 1988912 A	27.06.2007
		CN 1988912 A	27.06.2007
		CN 1988912 C0	27.06.2007
		CN 1993135 A	04.07.2007
		CN 1993135 A	04.07.2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2009/007091

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		CN 1993135 C0	04.07.2007
		EP 1771188 A2	11.04.2007
		EP 1773356 A2	18.04.2007
		JP 2008-508277 A	21.03.2008
		JP 2008-508284 A	21.03.2008
		JP 2008-508284 T	21.03.2008
		MX 2007000679 A	30.03.2007
		NZ552395A	31.07.2009
		RU 2007101492 A	10.09.2008
		RU 2359689 C2	27.06.2009
		US 2006-0025353 A1	02.02.2006
		US 2006-025354 A1	02.02.2006
		US 7737121 B2	15.06.2010
		WO 2006-031293 A2	23.03.2006
		WO 2006-031293 A2	23.03.2006
		WO 2006-031293 A3	23.03.2006
		WO 2006-031293 A3	14.09.2006
		WO 2006-031293 A3	14.09.2006
		WO 2006-031293 A8	26.10.2006
		WO 2006-031293 A8	05.04.2007
		WO 2006-049657 A2	11.05.2006
		WO 2006-049657 A3	11.05.2006

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) <i>A61K 31/7048(2006.01)i, A61P 3/10(2006.01)i, A61K 36/899(2006.01)i, A23L 1/30(2006.01)i</i>		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) IPC:A61K; A61P; A23L 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), Google, PubMed & 키워드: anthocyanin, diabetes, obesity, purple corn, etc.		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	TSUDA, T., et al. "Dietary Cyanidin 3-O-D-Glucoside-Rich Purple Corn Color Prevents Obesity and Ameliorates Hyperglycemia in Mice." In J. Nutr. Vol.133:2525-2130 (2003).	1-12
A	전체문헌, 특히 초록; 표4; 2129쪽, 왼쪽 컬럼; 2130쪽, 왼쪽 컬럼 참조.	13-15, 19
X	JING, P. AND GIUSTI, M. M. "Effects of Extraction Conditions on Improving the Yield and Quality of an Anthocyanin-Rich Purple Corn (Zea mays L.) Color Extract." In J. Food Sci. Vol.72(7):C363-C368 (2007).	1-12
A	전체문헌, 특히 C363쪽 도입부, figure 1 참조.	13-15, 19
X	GHOSH, D. AND KONISHI, T. "Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function." In Asia Pac. J. Clin. Nutr. Vol.16(2):200-208 (2007).	1-12
A	전체문헌, 특히 초록; 200쪽, 오른쪽 컬럼-201쪽 오른쪽 컬럼, 상단 참조.	13-15, 19
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2010년 08월 09일 (09.08.2010)		국제조사보고서 발송일 2010년 08월 09일 (09.08.2010)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 선사로 139, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 안규정 전화번호 82-42-481-8158

C (계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	TSUDA, T. "Regulation of Adipocyte Function by Anthocyanins; Possibility of Preventing the Metabolic Syndrome." In J. Agric. Food Chem. Vol.56:642-646 (2008).	1-12
A	전체문헌, 특히 초록; 643쪽; figures 2-4 참조.	13-15, 19
X	US 2006-0025353 A1 (NAIR, M. G., et al.) 2006.02.02	1-12
A	전체문헌, 특히 초록, 청구항 참조	13-15, 19
X	US 2006-0025354 A1 (NAIR, M. G., et al.) 2006.02.02	1-12
A	전체문헌, 특히 초록, 청구항 참조	13-15, 19

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 16-18
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
제16항 내지 제18항은 사람의 치료방법에 관한 것으로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(IV)의 규정에 의해 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2006-0025353 A1	2006.02.02	AU 2005-285463 A1	2006.03.23
		AU 2005-285463 B2	2008.08.21
		AU 2005-301315 A1	2006.05.11
		AU 2005-301315 A1	2006.05.11
		AU 2005-301315 B2	2008.04.10
		AU 2005-301315 B2	2008.04.10
		BR P10513723A	2008.05.13
		CA 2573510-A1	2006.05.11
		CA 2573539-A1	2006.03.23
		CN 1988912 A	2007.06.27
		CN 1988912 A	2007.06.27
		CN 1988912 C0	2007.06.27
		CN 1993135 A	2007.07.04
		CN 1993135 A	2007.07.04
		CN 1993135 C0	2007.07.04
		EP 1771188 A2	2007.04.11
		EP 1773356 A2	2007.04.18
		EP 1773356 A4	2010.01.13
		JP 2008-508277 A	2008.03.21
		JP 2008-508277 T	2008.03.21
		JP 2008-508284 A	2008.03.21
		MX 2007000932 A	2007.04.16
		NZ552550A	2009.05.31
		RU 2007101495 A	2008.09.10
		US 2006-0025354 A1	2006.02.02
		US 2006-025353 A1	2006.02.02
		US 7737121 B2	2010.06.15
		WO 2006-031293 A2	2006.03.23
		WO 2006-031293 A3	2006.03.23
		WO 2006-049657 A2	2006.05.11
		WO 2006-049657 A2	2006.05.11
		WO 2006-049657 A3	2006.05.11
		WO 2006-049657 A3	2006.06.22
		WO 2006-049657 A3	2006.06.22
US 2006-0025354 A1	2006.02.02	AU 2005-285463 A1	2006.03.23
		AU 2005-285463 A1	2006.03.23
		AU 2005-285463 B2	2008.08.21
		AU 2005-285463 B2	2008.08.21
		AU 2005-301315 A1	2006.05.11
		AU 2005-301315 B2	2008.04.10
		BR P10513840A	2008.05.20
		CA 2573510-A1	2006.05.11
		CA 2573539-A1	2006.03.23
		CN 1988912 A	2007.06.27
		CN 1988912 A	2007.06.27
		CN 1988912 C0	2007.06.27
		CN 1993135 A	2007.07.04
		CN 1993135 A	2007.07.04

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

CN 1993135 C0	2007.07.04
EP 1771188 A2	2007.04.11
EP 1773356 A2	2007.04.18
JP 2008-508277 A	2008.03.21
JP 2008-508284 A	2008.03.21
JP 2008-508284 T	2008.03.21
MX 2007000679 A	2007.03.30
NZ552395A	2009.07.31
RU 2007101492 A	2008.09.10
RU 2359689 C2	2009.06.27
US 2006-0025353 A1	2006.02.02
US 2006-025354 A1	2006.02.02
US 7737121 B2	2010.06.15
WO 2006-031293 A2	2006.03.23
WO 2006-031293 A2	2006.03.23
WO 2006-031293 A3	2006.03.23
WO 2006-031293 A3	2006.09.14
WO 2006-031293 A3	2006.09.14
WO 2006-031293 A8	2006.10.26
WO 2006-031293 A8	2007.04.05
WO 2006-049657 A2	2006.05.11
WO 2006-049657 A3	2006.05.11