(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0087184
(43) 공개일자 2014년07월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/30 (2006.01) *A23L 1/29* (2006.01)
A61K 36/49 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0155978
(22) 출원일자 2012년12월28일
심사청구일자 2012년12월28일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
영양군
경상북도 영양군 영양읍 군청길 37
(72) 발명자
조홍연
서울 성북구 정릉로 388, 103동 1002호 (돈암동, 동부센트레빌아파트)
황한준
서울 광진구 자양로28길 65, (구의동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 5 항

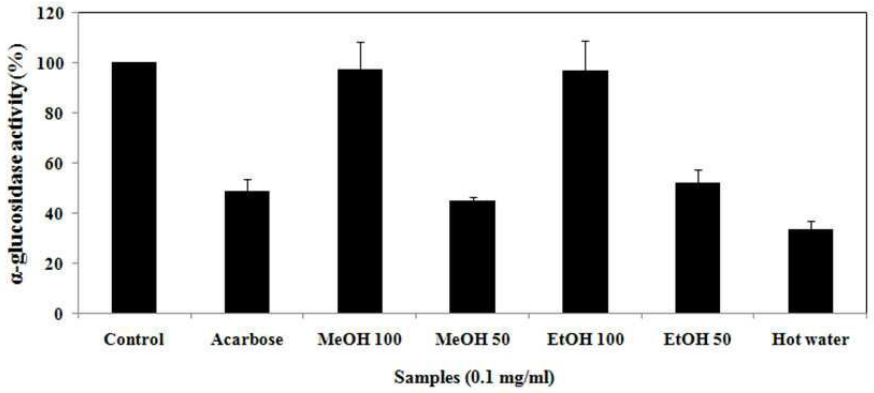
(54) 발명의 명칭 **참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 항당뇨 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 당뇨의 예방, 개선 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 우수한 알파-글루코시데이즈 저해활성과 소장에서의 포도당 흡수 저해 활성에서 각각 높은 저해활성을 나타내어 효과적으로 당뇨를 예방, 개선 및 치료할 뿐만 아니라 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

임원철

세종 조치원읍 돌마루1길 10-8, 301호 (형제빌딩)

박재현

서울 양천구 목동중앙북로8길 111, 102동 301호 (목동, 목동금호베스트빌)

김태완

부산광역시 중구 남포동6가 13번지 신천지아파트 816호

권영택

경북 영양군 영양읍 군청길 5-8,

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	R1102151
부처명	영양군청
연구사업명	연구용역
연구과제명	영양 산채막걸리 건강 기능성 개발 연구용역 착수계 제출
기 여 율	1/1
주관기관	고려대학교 산학협력단
연구기간	2011.04.15 ~ 2012.04.08

특허청구의 범위

청구항 1

참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 참나물 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 용매로 추출한 것인 당뇨 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 당뇨는 인슐린 비의존성 당뇨인 당뇨 개선용 식품 조성물.

청구항 4

참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 참나물 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 용매로 추출한 것인 당뇨의 예방 및 치료용 의약 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨의 예방 및 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 당뇨는 혈액 내에 존재하는 포도당이 소변을 통해 배출되는 질환으로, 근본적인 치유가 되지 않는 만성 성인병 중의 하나이다. 급속한 경제발전에 따른 식생활의 변화로 평균수명은 연장되는 현상에 반하여 당뇨병 등의 만성 질환은 증가하는 현상을 보이고 있다. 국내에서 당뇨의 유병율은 약 5~10%에 달하는 것으로 조사되어 있으며, 2007년 당뇨 환자는 400만명을 넘어서 인구 100명 중 8.3명이 당뇨 질환자지만 2025년에는 당뇨 환자가 약 680만명으로 늘어날 것으로 예측되고 있다. 당뇨는 다양한 합병증으로 인해 환자의 수명이 5~10년 정도 단축되며, 합병증을 포함하여 현재 우리나라의 경우 사망원인 중 5순위에 있다(2010년 사망원인통계결과, 통계청, 2011).

[0003] 당뇨 치료는 식이요법, 운동요법 및 약물요법으로 대별되며 환자의 병태에 따라 결정되고 있다. 당뇨는 질환 그 자체보다 합병증의 예방 및 치료가 매우 중요하므로 관리의 목적은 정상 혈당 유지와 합병증을 예방하는 데 있다고 할 수 있다. 한편 당뇨 치료제는 크게 ① 당의 소장 내 소화를 저해하는 당질분해효소 저해제 ② 소화된 당의 흡수를 저해하는 흡수저해제, ③ 인슐린의 작용을 도와주는 인슐린 저항 개선제, ④ 인슐린 분비 촉진제

등 4 그룹으로 구분하고 있다. 그동안 수많은 약제들이 개발되어 왔으나, 대부분은 부작용이나, 유효성 혹은 안전성이 문제되어 현재 임상에 사용되고 있는 약제는 소수에 불과하다.

[0004] 섭취된 식이 탄수화물은 아밀라아제(amylase)와 글루코시다아제(glucosidase)에 의해 소화되어 포도당으로 분해된 후 소장 상피세포에서 흡수, 수송된다. 이 흡수와 수송에 관여하는 운반체는 GLUT(sodium-independent glucose transporters) 계열과 SGLT(sodium-dependent glucose transporters) 계열로 대별되며, 포도당은 SGLT1의 작용에 의해 소장 내에서 흡수된다. SGLT1은 소장 내 가장 함량이 높은 포도당 운반체로서 상피세포의 BBMV(brush border membrane vesicle)에 존재하기 때문에 포도당 과다 흡수에 의한 당뇨의 예방용 소재개발에 있어 주목을 받아온 운반체 중의 하나이다. 따라서 SGLT1의 생합성 억제 또는 활성저해에 의한 당뇨의 예방 및 치료제 개발 전략은 기존의 당질분해효소 저해제에 의한 방법에 비해 음식물의 섭취량과 종류에 관계없이 포도당의 흡수를 직접적으로 제어할 수 있다는 관점에서 유효성이 높다. 이들 중 GLUT은 포도당(glucose)의 흡수 연구와 인슐린 액션(insulin action)에 연관되어 있고 특히 GLUT1과 3은 베이절(basal)에 존재하여 소장에서 혈액으로의 포도당 수송에 관여한다(Ferraris, R. P. Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. *Biochem.J.*, 360, 265-276, 2001). 이들 수송(transporter)을 저해하는 물질에 대한 연구가 플라보노이드(flavonoid)계 물질을 중심으로 진행되고 있으나 저해효과만을 확인하였을 뿐 저해 기작은 아직 밝혀지지 않은 상태이다.

[0005] 최근 플라보노이드류 쿼세틴(quercetin)이 소장에서 혈액으로 포도당 흡수를 저해한다는 연구보고가 밝혀지면서 식용·약용 생물자원에도 저해활성 성분이 함유되어 있을 것으로 예상되며, 이 성분들을 소재화하여 장에서 포도당 흡수를 낮출 수 있다면 당뇨를 예방할 수 있는 최선의 방안이라 하겠다(Hye Kyung Kim, Soon-Sun Baek and Hong-Yon Cho. Inhibitory effect of pomegranate on intestinal sodium dependent glucose uptake. *The American Journal of Chinese Medicine.*, Vol.39, No. 5, 1015-1027, 2011).

[0006] 현재 혈당강하제는 설폰요소제인 글리메피라이드(glimepiride)가 주로 사용되고 있으나, 저혈당증 유발 인슐린 분비기능 상실이 부작용으로 알려져 있다. 비구아니드계 약물인 글루코파지(glucophage)는 국내에서 많이 사용되는 약제로 주로 간에서 인슐린 작용을 도와 혈당을 낮추지만 부작용으로 위장장애, 설사, 젖산 증 등을 나타낸다. 알파-글루코시데이즈 저해제는 소장에서 탄수화물의 분해를 저해함으로써 포도당의 흡수를 감소시키며, 해당 약제로는 아카보즈(acarbose), 보글리보즈(voglibose), 미글리톨(miglitol) 등이 대표적이다. 아카보즈는 현재 국내에서도 사용되고 있고, 보글리보즈, 미글리톨 등도 최근에 국내에 소개되기 시작하였으나 부작용으로 설사와 배탈 등을 나타낸다(대사 및 면역계 의약품의 국내 시장 동향, IMS Plus, 2010).

[0007] 이와 같이 약물요법에 따른 부작용으로 인하여 식품소재를 이용한 항당뇨 천연물질에 대한 관심이 증가되고 있는 추세이다. 약초식물인 뽕잎, 달개비풀, 인삼, 연과육, 달맞이꽃, 결명자, 구기자 등이, 대두, 해조류, 우엉, 메밀 등의 식품들이 당뇨병에 효능을 갖는 것으로 보고, 또는 구전됨으로써 민간요법으로 이용되고 있다(Shimizu, M., Kobayashi, Y., Suzuki, M., Satsu, H. and Miyamoto, Y. Regulation of intestinal glucose transport by tea catechin.*BioFactors*., 13, 61-65, 2000).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에, 본 발명은 당뇨에 약리·생리 활성을 띠고, 인체에도 부작용이 없는 천연식물 소재를 발굴하고, 이를 포함한 항당뇨 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은 참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공한다.

[0010] 본 발명은 당뇨에 약리·생리 활성을 띠고, 인체에도 부작용이 없는 천연식물 소재를 발굴하고자 연구를 거듭한 결과 참나물에 항당뇨 효과가 있음을 발견하였다.

[0011] 본 발명의 조성물에서 유효성분으로 사용하는 참나물(Pimpinella brachycarpa Nakai)은 산형과(Umbelliferae)

에 속하고 응달진 산지에 자생하며(높이 50~80cm) 방향성을 지닌 다년생 초본으로, 반디나물, 머내지, 대엽근, 지주향 및 단화회근이라고도 한다. 우리나라 전국 각지에 널리 분포하며, 자연상태에서의 수확기는 4월경이나, 꽃이 피지 않으면 수시로 수확이 가능하다. 한방에서 참나물은 생약명이 야초규이고, 전초는 지혈, 양정, 대하, 해열, 경풍, 고혈압, 중풍, 폐렴, 량혈, 정혈, 윤폐, 신경통 등에 효과가 있으며, 또한 참나물은 산당귀라 하여 손발이 찬데, 어혈제거, 부스럼을 없애며, 이질, 어린이의 영양불량, 외상의 치료 등에 효과가 있다고 하였다. 참나물은 비타민 C가 풍부하고, 베타카로틴, 플라보노이드, 폴리페놀 등과 같은 다양한 항산화 생리활성 물질을 함유하고 있는 것으로 알려졌으나, 참나물의 혈당 조절 효능에 대해서는 알려진 바가 없다.

[0012] 하기 실시예를 통해, 본 발명자들은 참나물 추출물이 알파 글루코시데이즈 저해 활성에 있어, 양성 대조군으로 사용된 아카보즈와 유사한 활성을 나타내며(실시예 1 및 도 1), 소장 내에서 포도당 흡수를 저해 활성에 있어, 양성 대조군으로 사용된 플로리진 보다 높은 저해 활성을 나타냄을 확인하였다(실시예 2 및 도 2). 또한, 소장 흡수에 관여하는 핵심전사인자인 SGLT1, HNF-1α 및 HNF-1β의 발현 억제에 유의할만한 억제 활성을 나타냄을 확인하였다(실시예 3 및 도 3, 4, 5).

[0013] 본 발명에 따른 참나물 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있다.

[0014] 참나물 추출물의 제조를 위해 사용되는 추출용매는 이에 제한되는 것은 아니나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 용매일 수 있다. 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤 등의 극성용매와 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산, 디클로로메탄 등의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 예를 들어, 상기 탄소수 1 내지 5의 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 이소프로판올 등으로부터 선택될 수 있다.

[0015] 본 발명에 있어서, 참나물 추출물은 상기 추출용매를 이용하여 추출된 1차 추출물을 극성이 다른 추출용매를 이용하여 다시 분획한 분획물을 포함한다. 예를 들어, 참나물 추출물은 탄소수 1 내지 5의 알코올로 추출한 후, 에테르, 벤젠, 헥산 등의 극성이 다른 용매로 다시 분획한 분획물 일 수 있다.

[0016] 상기 분획 시 용매는 2종 이상 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하거나 혼합하여 사용하여, 각 용매 추출물을 제조할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

[0017] 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물은 이후 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있으며, 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있으며, 상기 농축은 감압 농축기, 일 예로 회전 증발기를 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 상기 건조는 일 예로 동결건조법으로 수행할 수 있다.

[0018] 본 발명에서의 용어 '당뇨'란, 인슐린 비의존성 당뇨를 의미하는 것으로, 본 발명에 따른 참나물 추출물은 알파-글루코시다아제의 저해 활성과 소장에서의 포도당 흡수 저해 활성을 가짐으로써, 혈액 중에 혈당수치를 낮추어 인슐린 비의존성 당뇨에 크게 효과적이다.

[0019] 당뇨는 인슐린 의존성 당뇨(제 1형 당뇨)와 인슐린 비의존성 당뇨(제 2형 당뇨)로 구분되며 선진국에서는 제 2형 당뇨가 크게 증가하고 있다. 제 2형 당뇨는 에너지의 과잉섭취와 운동부족 등의 외부 환경인자에 영향을 받고 있으며, 인슐린저항성의 증가와 베타세포 기능의 감소로 인하여 혈액에서 고혈당 증상을 나타내면서, 여러 합병증을 동반하게 된다.

[0020] 알파-글루코시다아제는 소장 내에서 탄수화물의 분해를 저해하여 포도당의 흡수를 지연시킴으로써 소장에서 혈액으로 포도당 흡수를 저해한다. 섭취된 식이 탄수화물은 아밀라아제(amylase)와 글루코시다아제(glucosidase)에 의해 소화되어 포도당으로 분해된 후 소장 상피세포에서 흡수, 수송된다. 이 수송에 관여하는 운반체는 GLUT(sodium-independent glucose transporters) 계열과 SGLT(sodium-dependent glucose transporters) 계열로 대별되며, 포도당은 SGLT1의 작용에 의해 소장 내에서 흡수된다.

[0021] 본 발명에서의 용어 "SGLT 1(sodium-dependent glucose transporters 1), HNF-1α(hepatocyte nuclear factor-1α), HNF-1β(hepatocyte nuclear factor-1β)"란 소장에서 혈액으로 포도당의 흡수에 관여하는 핵심전사인자이다.

[0022] 상기 "SGLT 1(sodium-dependent glucose transporter 1)"은 소장 내 가장 함량이 높은 포도당 운반체로서, 상피세포의 BBMV(brush border membrane vesicle)에 존재하기 때문에 포도당 과다 흡수에 의한 당뇨의 예방용 소재 개발에 있어, 주목을 받아온 운반체 중의 하나이다.

[0023] 또한 "HNF-1α(hepatocyte nuclear factor - 1α)"란 TCF1(transcription facter1)로 불리며, 이것은 호메오도

메인-함유 트랜스크립션 팩터(homeodomain-contatining transcription facter)로서 전사인자에 중요한 물질로 간, 신장, 췌장 그리고 소장에서 대사작용에 관여한다. 이것은 호메오박스 프로틴 2(homeobox protein 2, CDX2)와 GATA-바인딩 단백질 그룹과 상호작용을 하여 소장에서의 SGLT1 발현을 조절하는 것으로 보고되어 있다.

[0024] 또한 상기 "HNF-1β(hepatocyte nuclear factor-1β)"란 TCF2(transcription factor2)로 불리며 HNF-1α의 호메오도메인-함유(homeodomain-contatining)의 상위 역할을 한다. 또한 간, 신장, 췌장 그리고 소장에서 대사 작용을 돕는 역할을 하고, 이것은 HNF-1α와 상호작용을 하여 소장에서 SGLT1 발현을 조절하는 유전자로 보고되어 있다.

[0025] 이와 같이 상기 전사인자들은 소장에서 포도당 흡수의 수송 단백질인 SGLT1 발현을 조절하여 소장에서 포도당의 흡수에 관여하는 일련의 유전자 발현을 조절하는 역할을 하는데, 특히, HNF-1α와 HNF-1β의 발현에 의해서 SGLT1 발현을 조절하는 중요한 전사인자로, 소장에 포도당 흡수를 총괄적으로 조절하는 역할을 한다.

[0026] 본 발명의 한 구체예로서, 본 발명은 참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명에서 용어 '식품 조성물'이란, 상기 참나물 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다.

[0028] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0029] 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명에 따른 식품 조성물은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 항당뇨 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.

[0030] 상기 참나물 추출물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 참나물 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 다른 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 5 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 2 중량%의 범위이다. 또한, 과립, 정제 또는 캡슐형태의 식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0031] 또한, 본 발명에 따른 식품 조성물은 추가로 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토오스, 슈크로오스와 같은 이당류; 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 다당류; 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 외에 본 발명에 따른 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 식품 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0032] 본 발명에 따른 또 다른 구체예로, 본 발명은 참나물 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 개선용 의약 조성물을 제공한다.

[0033] 본 발명에 따른 참나물 추출물은 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태일 수 있다.

[0034] 상기 염은 유기산 또는 무기산을 이용하여 형성된 산 부가염일 수 있으며, 상기 유기산은, 예를 들면 포름산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 부티르산, 이소부티르산, 트리플루오로아세트산, 말산, 말레산, 말론산, 푸마르산, 숙신산, 숙신산 모노아미드, 글루탐산, 타르타르산, 옥살산, 시트르산, 글리콜산, 글루쿠론산, 아스코르브산, 벤조산, 프탈산, 살리실산, 안트라닐산, 디클로로아세트산, 아미노옥시 아세트산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 및 메탄술폰산계 염을 포함하며 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 및 붕산계 염

을 포함한다. 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있으며, 보다 바람직하게는 염산염 형태일 수 있다.

[0035] 위와는 별도로 추가적으로 염이 가능한 형태는 가바염, 가바펜틴염, 프레가발린염, 니코틴산염, 아디페이트염, 헤미말론산염, 시스테인염, 아세틸시스테인염, 메티오닌염, 아르기닌염, 라이신염, 오르니틴염, 아스파르트산염 등이 있다.

[0036] 또한, 본 발명에 따른 의약 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수 또는 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티딘, 염 및 폴리솔베이트 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.

[0037] 상기 조성물 내의 상기 참나물 추출물의 함량은 질환의 증상, 증상의 진행 정도, 환자의 상태, 투여 방법 및 제제의 형태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.0001 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 50중량%인 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.

[0038] 본 발명에 따른 의약 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 일반 의약품 제제의 형태, 예를 들어, 임상 투여 시 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0039] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 의약 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.

[0040] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0041] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0042] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0043] 본 발명에 따른 참나물 추출물은 우수한 알파-글루코시데이즈 저해 활성, 우수한 포도당 흡수 저해 활성, 그리고 포도당 흡수와 관련되는 SGLT1 및 SGLT1 발현에 관련되는 상위 전사인자인 HNF-1α, HNF-1β 유전자의 높은 발현 억제를 통해 효과적으로 당뇨의 예방, 개선 및 치료할 뿐만 아니라, 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높다.

도면의 간단한 설명

[0044] 도 1은 참나물 추출물로의 알파-글루코시데이즈 저해활성을 나타내는 도표이다.

도 2는 참나물 추출물의 포도당 흡수 저해활성을 나타내는 도표이다.

도 3은 참나물 메탄올 50% 추출물의 SGLT1 mRNA 발현 억제활성을 나타내는 도표이다.

도 4는 참나물 메탄올 50% 추출물의 HNF-1α mRNA 발현 억제활성을 나타내는 도표이다.

도 5는 참나물 메탄올 50% 추출물의 HNF-1β mRNA 발현 억제활성을 나타내는 도표이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0046] [실시예 1]

[0047] 알파-글루코시데이즈 저해 활성

[0048] 알파-글루코시데이즈 저해활성 측정용 실험방법은 기질인 400 mM PNP-글루코사이드(glycoside)와 1 유니트 알파-글루코시데이즈(α-glucosidase, *Sacchromyces cerevisiae* 기원)를 이용하여 수행하였다. 각 추출물에 대한 실험을 위해 증류수 750 ㎕, 1 M KPB (pH 7.5) 50 ㎕, 알파-글루코시데이즈 50 ㎕, 시료 (1 mg/mℓ) 100 ㎕로 구성된 반응액을 실온에서 1분간 반응시켰다. 이 반응액에 PNP-글루코사이드 50 ㎕를 첨가하여 5분 후의 흡광도를 분광광도계 (spectrophotometer, 405nm)로 측정하였다.

[0049] <환산식 1>

[0050] 저해능 (Inhibitory effect, %) = [(Cc - Cs) / Cc] × 100

[0051] Cs: 시료를 처리한 실험구의 흡광도

[0052] Cc: 시료를 처리하지 않은 실험구의 흡광도

[0053] 그 결과 도 1에서와 같이 시료를 처리하지 않고 물을 첨가한 대조군(Control)을 기준으로 알파-글루코시데이즈 활성을 비교하였을 때, 양성대조군인 아카보즈 (0.5 mg/mℓ) 51% 대비 참나물 메탄올 100% 추출물 2%, 참나물 메탄올 50% 추출물 55%, 참나물 에탄올 100% 추출물 2%, 참나물 에탄올 50% 추출물 47%, 참나물 열수 추출물 66%의 잔존활성을 나타내었다. 즉, 메탄올 50% 추출물, 에탄올 50% 추출물 그리고 열수 추출물에서 양성대조군인 아카보즈와 유사한 알파-글루코시데이즈 저해효과를 나타냄을 알 수 있다(도 1).

[0054] [실시예 2]

[0055] 소장에서 각 추출물의 포도당 흡수 저해 활성

[0056] 소장에서 혈액으로 포도당 흡수의 저해활성 측정용 실험방법은 Caco-2 세포와 2-NBDG (2-(N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino-2-deoxygluocose)를 이용하여 측정하였다. 즉, 각 분획물에 대한 포도당 흡수저해 실험을 위해 Caco-2를 6×10^4cells/well 농도로 24 well plate를 사용하여 37℃, CO_2 인큐베이터에서 13~14일 동안 배양한 후 PBS로 2회 세척한 다음 PBS 400 ㎕, 100 μM 2-NBDG 500 ㎕, 시료 (1 mg/mℓ) 100 ㎕를 첨가하고 37℃에서 2시간 반응시켰다. 이 반응액을 제거하고 세포를 아이스-콜드 PBS로 3회 세척한 후 2-NBDG의 형광세기를 형광분광광도계(spectrophotofluorometer, 여기: 485nm, 발광: 535nm)로 측정하였다. 포도당 흡수 저해활성 측정에 미치는 세포농도의 영향을 보정해 주기 위해 MTT assay를 다음과 같이 실시하였다. 형광세기 측정이 끝난 well plate에 MTT 용액 (5 mg/mℓ) 50 ㎕를 가하여 37℃에서 3시간 반응시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료에 의한 포도당 흡수 저해 활성은 아래 식에 따라 환산하였다(도 2).

[0057] <환산식 2>

[0058] 저해능 (Inhibitory effect, %) = [(Fc - Fs) / Fc] × 100

[0059] Fs: 시료를 처리한 실험구의 형광세기

[0060] Fc: 시료를 처리하지 않은 실험구의 형광세기

[0061] * 양성표준물질로는 프롤리진(phlorizin)을 사용하였음.

[0062] 그 결과 도 2에서와 같이 시료를 처리하지 않고 물을 첨가한 대조군(Control)을 기준으로 포도당 흡수 저해율을 비교하였을 때, 양성대조군인 프롤리진(phlorizin) (0.1 ㎎/㎖) 80% 대비 참나물 메탄올 100% 추출물 107%, 참나물 메탄올 50% 추출물 64%, 참나물 에탄올 100% 추출물 115%, 참나물 에탄올 50% 추출물 80% 그리고 참나물 열수 추출물 90%의 활성을 나타내었다. 즉, 메탄올 50% 추출물에서 양성대조군인 프롤리진(phlorizin)대비 높은 저해 효과를 나타냄을 알 수 있다(도 2).

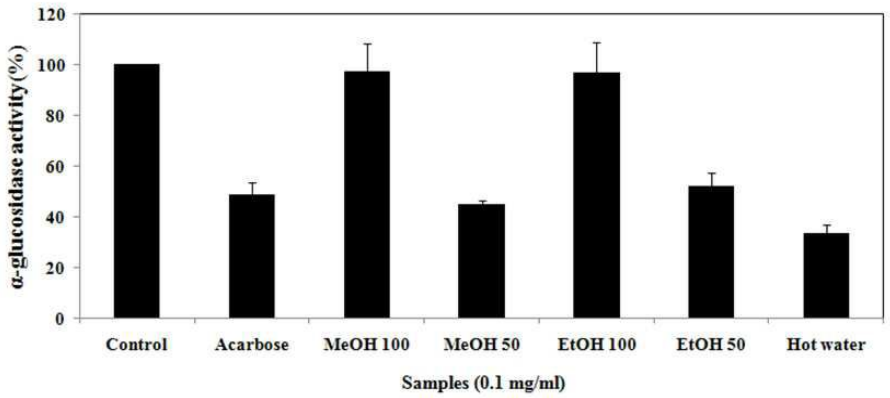
[0063] [실시예 3]

[0064] 참나물의 SGLT1, HNF-1α, HNF-1β 발현 억제

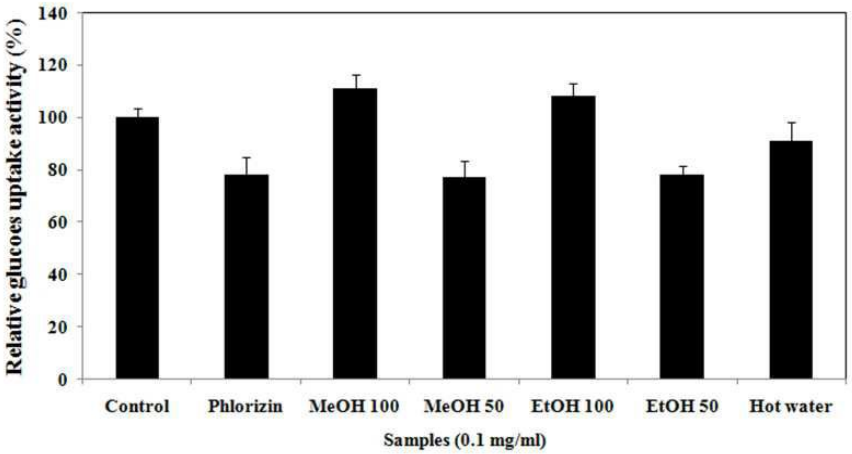
[0065] 본 발명에 언급된 참나물 추출물 중 실시예 2에서 효과가 가장 높았던 참나물 메탄올 50% 추출물을 Caco-2 세포주의 배양 7일째 배지에 첨가, 3시간 동안 처리하고, 배양을 종료하였다. 배양한 Caco-2 세포로부터 RNA을 추출하여 소장흡수에 관여하는 핵심전사인자인 SGLT1, HNF-1α, HNF-1β 등의 프라이머 (primer)를 이용하여 RT-PCR (reverse transcriptase-PCR)을 실시한 다음 아가로즈(agarose)에서 전기영동을 실시하여 그 발현의 정도를 비교하였다. 그 결과, SGLT1의 경우 도 3에서와 같이 시료를 처리하지 않고 물을 첨가한 대조군을 100%로 기준하여 비교하였을 때, 참나물 메탄올 50% 추출물은 프롤리진(phlorizin)과 유사한 발현억제율을 나타내었고 농도의존적인 값을 나타내었다(도 3). 한편 SGLT1의 상위유전자인 HNF-1α는 도 4에서와 같이 대조군을 100%로 기준하여 비교하였을 때 프롤리진(phlorizin) 71%의 발현억제율을 나타내었고 참나물 메탄올 50% 추출물은 0.1 ㎎/㎖ 이상의 농도에서 프롤리진(phlorizin)과 유사한 값을 나타내었다(도 4). HNF-1β의 경우에도 도 5에서와 같이 참나물 메탄올 50% 추출물은 농도의존적인 억제율을 보였고 0.1 ㎎/㎖ 이상의 농도에서 프롤리진(phlorizin)보다 높은 억제율을 나타내었다(도 5).

도면

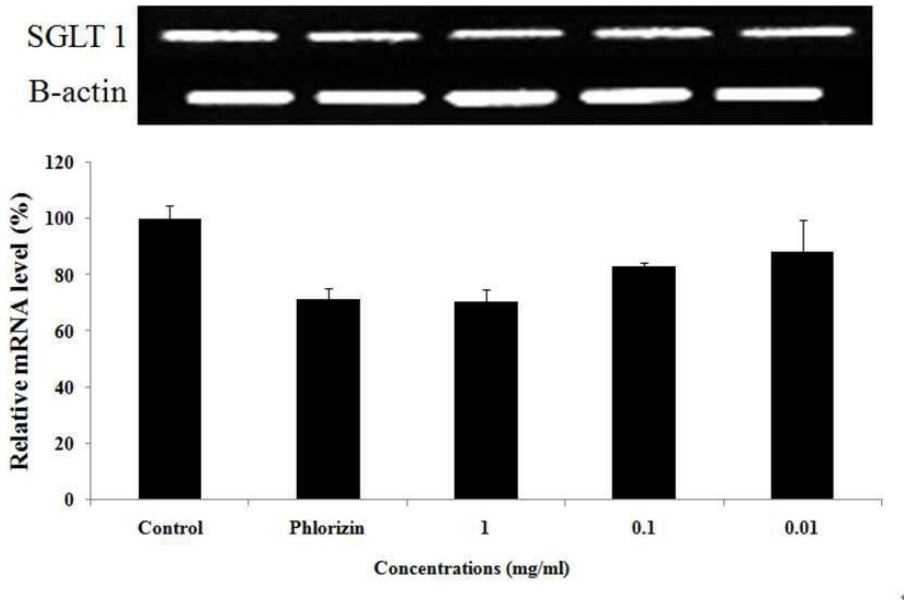
도면1



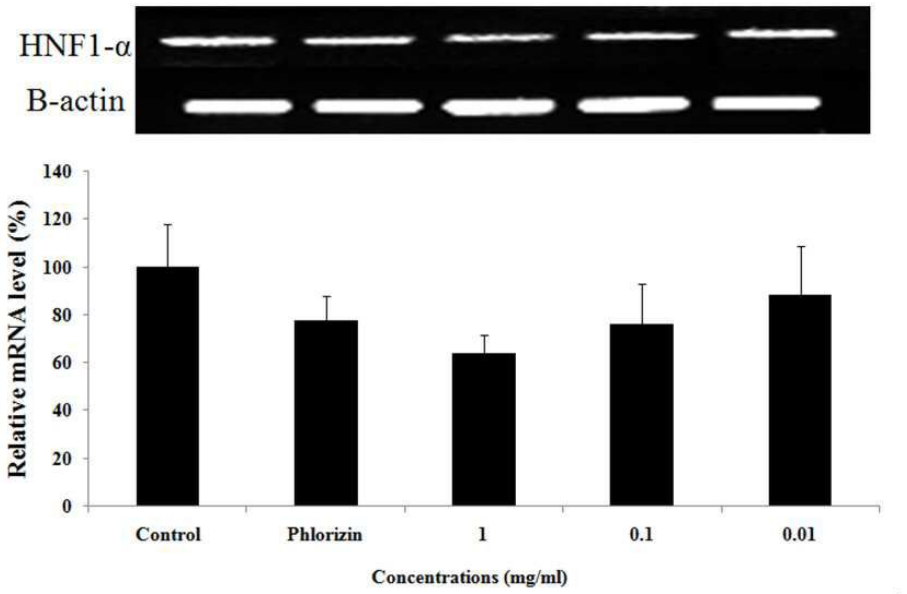
도면2


Relative glucoes uptake activity (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
Control
Phlorizin
MeOH 100
MeOH 50
EtOH 100
EtOH 50
Hot water
Samples (0.1 mg/ml)

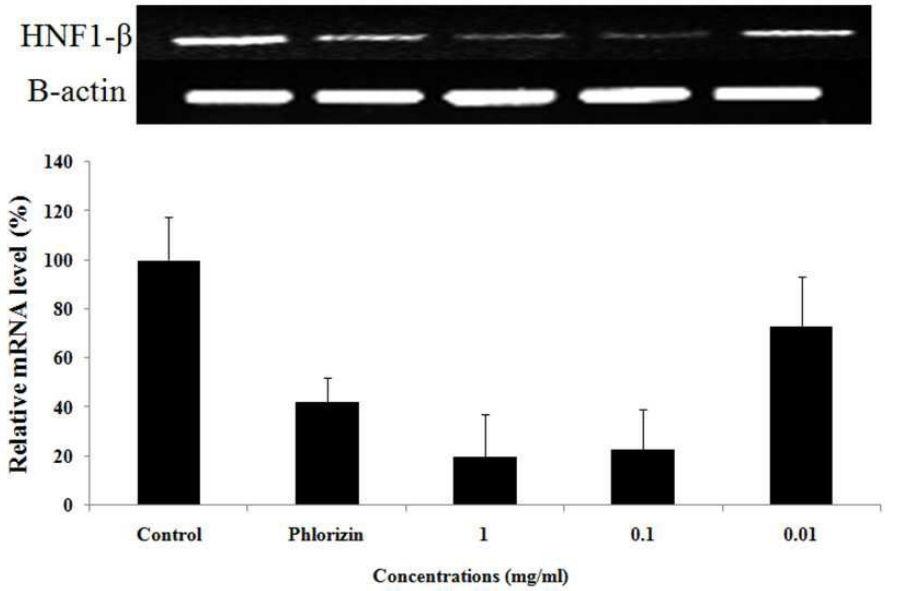
도면3


SGLT 1
B-actin
Relative mRNA level (%)
120
100
80
60
40
20
0
Control
Phlorizin
1
0.1
0.01
Concentrations (mg/ml)

도면4


HNF1-α
B-actin
Relative mRNA level (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
Control
Phlorizin
1
0.1
0.01
Concentrations (mg/ml)

도면5


HNF1-β
B-actin
Relative mRNA level (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
Control
Phlorizin
1
0.1
0.01
Concentrations (mg/ml)