



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0093613
(43) 공개일자 2014년07월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/7034 (2006.01) *A61K 31/7036*

(2006.01)

A61P 3/10 (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0002424

(22) 출원일자 2014년01월08일

심사청구일자 2014년01월08일

(30) 우선권주장

1020130004415 2013년01월15일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김현수

서울특별시 노원구 중계4동 131번지

(74) 대리인

이처영, 장제환

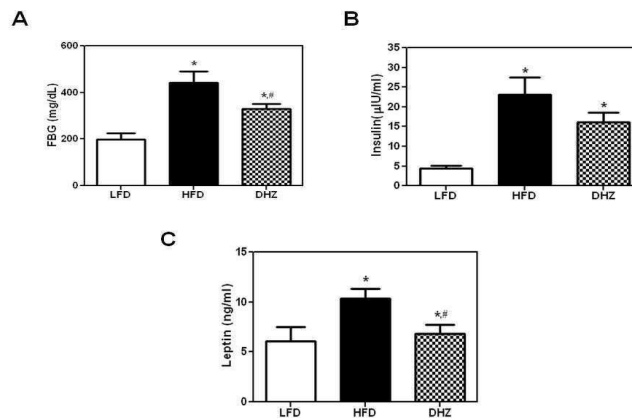
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 디하이드로진저론을 함유하는 혈당 강하용 조성물

(57) 요약

본 발명은 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 혈당 강하용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 디하이드로진저론을 함유하는 당뇨병 치료용 조성물, 당뇨병 개선용 건강기능식품 및 비만 억제용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업	
과제고유번호	20100011053
부처명	미래창조과학부
연구사업명	(이공)중견연구자지원_핵심연구
연구과제명	신규 발굴된 AMPK 활성화인자 및 결합단백질의 혈당 및 암 세포사멸 제어 인자로서의 활용가
능성 탐색	
기 여 율	1/1
주관기관	고려대학교 산학협력단
연구기간	2013.05.01 ~ 2016.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 당뇨병은 제2형 당뇨병인 것을 특징으로 하는 당뇨병 치료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 AMPK (AMP kinase)의 발현 또는 활성을 증가시켜 혈당 조절능을 가지는 것을 특징으로 하는 당뇨병 치료용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 인슐린 감작기능을 가지는 것을 특징으로 하는 당뇨병 치료용 조성물.

청구항 5

디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 개선용 건강기능식품.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 당뇨병은 제2형 당뇨병인 것을 특징으로 하는 당뇨병 개선용 건강기능식품.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 AMPK (AMP kinase)의 발현 또는 활성을 증가시켜 혈당 조절능을 가지는 것을 특징으로 하는 당뇨병 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 인슐린 감작기능을 가지는 것을 특징으로 하는 당뇨병 개선용 건강기능식품.

청구항 9

디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 비만 억제용 조성물.

청구항 10

디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 비만 개선용 건강기능식품.

청구항 11

디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 인슐린 감작제로 사용하는 방법.

청구항 12

인슐린 감작제로 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 함유하는 당뇨병 보조치료제.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 치료용 조성물, 당뇨병 개선용 건강기능식품 및 비만 억제용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 당뇨병은 인슐린 양의 부족으로 혈액 중 포도당(혈당)의 농도가 정상인보다 높아져 소변에 포도당을 배출하는 만성질환이다.

[0003] 당뇨병은 인슐린 생산 여부에 따라 두 가지 유형으로 구분되며, 인슐린 의존형인 제1형 당뇨병(insulin dependent diabetes, IDDM)은 혈액 내의 글루코스 조절 호르몬인 인슐린(Insulin)의 분비 결핍으로 야기되고, 주로 10 내지 20대의 젊은 연령층에서 발병되기 때문에 소아당뇨병(juvenile diabetes)이라 불리기도 한다. 제2형 당뇨병(non-insulin dependent diabetes, NIDDM)은 주로 40대 이후에 발병되며, 우리나라 당뇨병 환자의 대부분을 차지한다. 제1형과는 달리 성인형 당뇨병이라 불리며, 인슐린 저항성에 의해 인슐린이 불활성화되어 발병하는 것으로, 유전적인 요인과 환경적 요소가 함께 관여되어 발생하는 것으로 알려져있다. 제2형 당뇨병은 전체 당뇨 환자의 95%를 차지하고 있고, 21세기에는 세계 인구 1/4에 제2형 당뇨병의 발생 전단계로 판단되는 소위 대사증후군(X-증후군)이 발병할 것으로 예상되고 있다.

[0004] 제2형 당뇨병은 대사성 만성 질환으로써 세계적으로 발병 빈도가 지속적으로 증가하는 추세이고, 통계에 따르면 당뇨병 환자 수는 2020년에 약 3억 2천만 명에 이를 것으로 예상된다. 인슐린의 작용 및 반응성의 이상으로 인한 제2형 당뇨병이 전체 환자의 90% 이상을 차지하여 이에 대한 효과적인 치료 및 예방책이 요구된다.

[0005] 제2형 당뇨병의 발병 기전은 명확히 밝혀진 바 없으나, 간에서의 당 생성 과다, 인슐린 저항성, 근육과 지방 세포 등에서 당 처리 능력 감소 등의 특징을 나타내는 복합적인 질병이다. 특히 정상 체중보다 과체중인 경우 약 13%정도 발병률이 높고, 미국에서는 제2형 당뇨병 환자의 85%가 비만으로 나타나 비만이 당뇨병의 주요 원인 인 것으로 알려져 있다.

[0006] 제2형 당뇨병은 말초 인슐린 내성의 증가 및 비정상적인 인슐린 분비 둘 모두를 특징으로 한다. 또한, 제2형 당뇨병은 진행성 질병이며, 망막증(retinopathy), 백내장(cataract), 신장병(nephropathy), 신경장해(neuropathy) 및 동맥경화증(atherosclerosis) 등의 합병증을 야기한다. 이와 같은 합병증의 발생을 줄이기 위하여 제2형 당뇨병 환자에게는 혈당 수준을 정상 수치에 가깝게 유지하는 치료가 필요하며, 제2형 당뇨병 환자에게는 혈당 조절을 최적화하고 잠재적으로 정상화시키는 데 치료의 초점이 맞추어져 있다.

[0007] 혈당 조절을 목표로 하는 제2형 당뇨병의 치료제로써 바이구아니드 계열의 메트포민, PPAR γ 를 활성화시키는 티아졸리디논 계열의 피오글리타존 및 로지글리타존, 소장에서 탄수화물 흡수를 지연시켜주는 α -글루코시다제 억제제들, 그리고 췌장 β -세포에서 인슐린 분비를 조절하는 설폰닐우레아 및 비-설폰닐우레아등의 경구용 제제들이 사용되고 있다. 그러나 이러한 약물들은 소화장애, 간독성등의 부작용이 보고된 바 있어 안전성 측면에서 문제점을 야기시킬 수 있는 단점이 있다.

[0008] 따라서 안전성이 입증된 천연물로부터 당뇨병이나 당뇨병 합병증의 치료 또는 예방에 효과적인 조성물 또는 건

강기능식품의 개발이 필요하다.

[0009] 한편, 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 항염증 (Elias G et al., *Indian J Exp Biol*, 26(7):540-2, 1988), 항산화 (Rajakumar D.V. et al., *Molecular and Cellular Biochemistry*, 140:73-79, 1994) 및 항암제 (Noriko Motohashi et al., *Cancer Letters*, 134: 3742, 1998)로 이미 보고되어 있으나, 당뇨병과의 연관성은 보고된 바 없다.

[0010] 이에, 본 발명자들은 혈당강하를 통한 제2형 당뇨병 치료제를 개발하고자 예의 노력한 결과, 커큐민(curcumin)과 구조적으로 유사한 디하이드로진저론(dehydrozingerone)이 당 조절 주요단백질인 AMPK (AMP kinase)의 인산화를 조절함으로써, 혈당 강하를 통한 당뇨개선 기전에 대한 효능이 뛰어나다는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 목적은 제2형 당뇨병 치료용 조성물 및 비만 억제용 조성물을 제공하는데 있다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 제2형 당뇨병의 개선용 건강기능식품 및 비만 개선용 건강기능식품을 제공하는데 있다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 인슐린 감작제로 사용하는 방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 당뇨병 보조치료제를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 치료용 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명은 또한, 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 비만 억제용 조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명은 또한, 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0017] 본 발명은 또한, 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 비만 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0018] 본 발명은 또한, 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 인슐린 감작제로 사용하는 방법을 제공한다.

[0019] 본 발명은 또한, 인슐린 감작제로 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 함유하는 당뇨병 보조치료제를 제공한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명에 따르면, 본 발명의 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 AMPK (AMP kinase)의 발현 또는 활성을 증가시켜, 혈당 강하를 유도하며, 인슐린 민감성을 증진시켜 인슐린 조절을 증가시키고, 체중을 감소시키므로 제2형 당뇨병의 치료 및 개선을 위한 조성물과 비만 억제제 및 인슐린 감작제의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 고지방식이로 유도된 비만 모델에서 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 체중 및 지방조직의 증가 억제 효과를 나타낸 것이다. (A) 디하이드로진저론의 체중조절에 대한 효과 (* P<0.05 정상식이 마우스와 비교하여 유의한 차이를 나타냄, *,# P<0.05 고지방식이 마우스와 비교하여 유의한 차이를 나타냄). (B) 디하이드로진저론의

내장지방에 대한 효과 (C) 디하이드로진저론의 지방간에 대한 효과 (D) 디하이드로진저론의 신장 주위 지방에 대한 효과 (E) 디하이드로진저론의 간과 부고환 지방에 대한 효과 (LFD: 저지방식이, HFD: 고지방식이, DHZ: 100mg/kg/일 디하이드로진저론을 고지방식사와 함께 제공)

도 2는 고지방식으로 유도된 비만 모델에서 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 혈당증가 억제 효과를 나타낸 것이다. (A) 공복혈당(FBG) 수준에 대한 디하이드로진저론의 효과 (B) 인슐린 수준에 대한 디하이드로진저론의 효과 (C) 랩틴 수준에 대한 디하이드로진저론의 효과 (LFD: 저지방식이, HFD: 고지방식이, DHZ: 100mg/kg/일 디하이드로진저론을 고지방식사와 함께 제공/ * P<0.05 저지방식이 마우스와 비교하여 유의한 차이를 나타냄, *,# P<0.05 고지방식이 마우스와 비교하여 유의한 차이를 나타냄)

도 3은 C2C12 골격근세포에서 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 AMPK 인산화를 나타낸다. (A) 다양한 농도의 디하이드로진저론을 1시간 동안 처리한 세포에서의 AMPK와 ACC의 인산화 (B) 시간에 따른 30 μ M 디하이드로진저론을 처리한 세포에서의 AMPK와 ACC의 인산화

도 4는 L6 근육전구세포에서 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 포도당 흡수촉진 효능을 나타낸 것이다. (A) 디하이드로진저론에 의한 포도당(2-DG) 흡수 촉진 효과 (* p<0.05 대조군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄) (B) 2 μ M 화합물 C와 10 μ M 디하이드로진저론을 1시간 동안 처리한 세포에서의 포도당(2-DG) 흡수 촉진 효과 (* p<0.05 대조군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄, *,# P<0.05 DHZ 처리 세포군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄) (C) AMPK α 2 siRNA로 48시간 동안 형질전환된 세포에서의 AMPK α 발현 수준 (D) 10 μ M 디하이드로진저론을 처리한 100nM AMPK α 2 siRNA로 48시간 동안 형질전환된 세포에서의 포도당(2-DG) 흡수 촉진 효과 (* p<0.05 대조군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄, *,# P<0.05 DHZ 처리 세포군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄)

도 5는 C2C12 골격근세포에서 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 p38 MAPK 신호경로의 활성화를 나타낸다. (A) 30 μ M 디하이드로진저론에 의한 시간에 따른 p38 MAPK의 인산화 (B) 다양한 농도의 디하이드로진저론에 의한 p38 MAPK의 인산화 (C) 화합물 C와 30 μ M 디하이드로진저론을 1시간 동안 처리한 세포에서의 p38 MAPK의 인산화 (D) p38 MAPK 저해제인 SB 203580을 20분간 처리한 세포에서 디하이드로진저론에 의한 포도당(2-DG) 흡수 촉진 효과 (* p<0.05 대조군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄, *,# P<0.05 DHZ 처리 세포군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄)

도 6은 C2C12 골격근세포에서 GLUT4 발현에 대한 디하이드로진저론(DHZ)의 효과를 나타낸다. (A) GLUT4 프라이머를 이용한 RT-PCR (B) 디하이드로진저론에 의한 시간에 따른 GLUT4 발현

도 7은 인슐린에 의해 유도된 포도당 흡수촉진에 대한 디하이드로진저론(DHZ)의 효과를 나타낸다. (A) 인슐린과 디하이드로진저론을 1시간 동안 처리한 L6 근육분화세포에서 포도당(2-DG) 흡수 촉진 효과 (* p<0.05 대조군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄, *,# P<0.05 DHZ 처리 세포군과 비교하여 유의한 차이를 나타냄) (B) 고지방식으로 유도된 비만 모델의 당부하검사(GTT)에서 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 효과 (LFD: 저지방식이, HFD: 고지방식이, DHZ: 100mg/kg/일 디하이드로진저론을 고지방식사와 함께 제공/ * P<0.05 저지방식이 마우스와 비교하여 유의한 차이를 나타냄, *,# P<0.05 고지방식이 마우스와 비교하여 유의한 차이를 나타냄)

도 8는 커큐민(curcumin)과 디하이드로진저론(dehydrozingerone)의 인슐린 감작제(insulin sensitizer)로써의 기능을 나타낸 것이다.

도 9는 커큐민(curcumin)과 디하이드로진저론(dehydrozingerone)의 혈당조절능을 비교하여 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 본 발명에서는 디하이드로진저론(dehydrozingerone)의 당뇨개선 기전 및 혈당조절여부와 혈당강하를 통한 제2형 당뇨병 치료제로서의 개발 가능성을 확인하고자 하였다.

[0023] 본 발명에서는, 당 조절에 관여한다고 보고된 커큐민과 구조적으로 유사한 디하이드로진저론의 혈당 조절 효과를 알아보기 위하여, 고지방식이 실험동물의 공복혈당, 인슐린 및 랩틴을 측정하였으며, L6 근육전구세포에서 세포로 흡수된 포도당 유도체(2-DG) 수치를 측정하여, 디하이드로진저론의 포도당 흡수에 대한 영향을 비교 평가를 수행하였다. 그 결과, 디하이드로진저론에 의해 혈당 증가가 억제되는 것을 확인하였으며, 또한 포도당 흡수가 농도 의존적으로 증가되는 것을 확인하였다(도 2 및 도 4A).

[0024] 즉, 본 발명의 일 실시예에서는 디하이드로진저론이 포도당 흡수를 농도 의존적으로 증가시킨다는 것을 확인할 수 있었다.

- [0025] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, 디하이드로진저론(dehydrozingerone)을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0026] 본 발명에 있어서, 상기 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 제1형 또는 제2형 당뇨병의 치료용 조성물이나 바람직하게는 제2형 당뇨병의 치료용 조성물인 것을 특징으로 한다.
- [0027] 본 발명에 따른 조성물은 혈당 조절능을 가지는 것으로, 구체적으로 혈당 강하능을 가지는 것을 특징으로 한다.
- [0028] 상기 디하이드로진저론(dehydrozingerone)은 $C_{11}H_{12}O_3$ 의 화학식으로 표시되고, 커큐민(curcumin)의 생합성 중간 생성물로 항염증, 항산화 및 항암제로 알려져 있다.
- [0029] 본 발명에서는 디하이드로진저론의 AMPK (AMP kinase) 단백질 인산화 효과를 알아보기 위하여, AMPK 인산화 항체를 이용하여 웨스턴 블랏 분석(western blotting analysis)를 실시하여 상기 단백질의 발현 양상을 확인한 그 결과, 디하이드로진저론에 의해서 혈당조절 주요단백질인 AMPK의 인산화가 농도(A) 및 시간(B) 의존적으로 근육 세포에서 증가되는 것을 확인하였다 (도 3). 또한, L6 근육세포에서 AMPK를 넘 다운(knock-down) 시킨 후 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수를 측정된 결과, 포도당 흡수 촉진에 억제됨을 확인하였다 (도 4B, 4C 및 4D).
- [0030] 이러한 결과로부터 디하이드로진저론에 의한 당 섭취 능력은 AMPK 활성을 조절하여 나타나며, 당 조절에 AMPK가 중요하게 관여하고 있다는 것을 확인할 수 있었다.
- [0031] 결국, 본 발명에 따른 디하이드로진저론은 AMPK의 발현 또는 활성을 증가시켜 혈당 조절능을 가지게 된다.
- [0032] 본 발명에서는 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수와 관련된 신호전달경로 및 메커니즘을 분석하기 위해, 포도당 흡수에 중요한 p38 MAPK 및 GLUT4에 대한 디하이드로진저론의 효과를 조사하였다. 그 결과, 디하이드로진저론에 의해 p38 MAPK는 시간 및 농도 의존적으로 활성화 되었으며(도 5A, 5B), GLUT4 역시 발현이 유도되었다(도 6A, 6B).
- [0033] 본 발명에서는 당 조절 능력을 가지고 있다고 알려진 커큐민과 디하이드로진저론의 인슐린 감작기능(insulin sensitizer)을 비교해보기 위하여, 분화된 근육세포주를 이용해서 커큐민과 디하이드로진저론을 각각 인슐린과 병합 처리하여 인슐린에 의한 당 흡수 촉진을 비교 및 분석하였다. 그 결과, 인슐린 단독에 의한 당 섭취 능력이 커큐민 전처리에 의해서는 크게 증가하지 않은 반면, 디하이드로진저론을 전처리한 조건에서는 인슐린 단독에 의한 효과보다 현저하게 증가되었다 (도 7 및 도 8).
- [0034] 이 결과는 디하이드로진저론이 인슐린 감작기능조절 기능이 있음을 보여주는 것이며, 인슐린과 병합치료를 통해 당뇨병 치료를 위한 임상 처방에 응용될 수 있다는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 디하이드로진저론이 인슐린 감작기능을 가지는 것을 확인할 수 있었다.
- [0035] 본 발명은 다른 관점에서, 디하이드로진저론을 인슐린 감작제로 사용하는 방법 및 인슐린 감작제로 디하이드로진저론을 함유하는 당뇨병 보조치료제에 관한 것이다.
- [0036] 본 발명에서 커큐민과 디하이드로진저론의 혈당조절 능력을 직접 비교해보기 위하여, 분화된 근육세포주를 이용하여 커큐민과 디하이드로진저론을 처리하고 당 흡수 능력을 측정하여 혈당조절 능력의 세기(potency)를 비교하였다. 그 결과, 당 흡수 능력이 커큐민보다 디하이드로진저론이 높은 것을 확인할 수 있었고, 디하이드로진저론의 경우 잘 알려진 인슐린만큼 강력한 당 흡수 촉진 효과가 있음을 확인하였다 (도 9).
- [0037] 본 발명의 다른 실시예에서는 동물에서의 혈당조절 가능 여부를 알아보기 위하여, 고지방식이로 인위적으로 체중을 증가시키는 조건에서, 디하이드로진저론을 급여하여 체중증가 억제 효과를 3그룹(저지방식이, 고지방식이 및 고지방식이+디하이드로진저론)으로 나누어 13주간 몸무게 변화를 관찰한 결과, 고지방식이군에 비해 디하이드로진저론을 함께 급여한 그룹은 디하이드로진저론에 의해 고지방식이에 의해 증가하는 체중증가가 억제됨을 확인하였다 (도 1).
- [0038] 따라서, 본 발명은 또 다른 관점에서, 상기 디하이드로진저론을 유효성분으로 함유하는 비만 억제용 조성물에 관한 것이다.
- [0039] 본 발명의 조성물은 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하며, 이에 한정되는

것은 아니다.

- [0041] 본 발명의 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 혼합생약제에 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 단순희석제인물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0042] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로세라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 상기 조성물은 1일 0.0001 내지 1 g/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 200 mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명의 디하이드로진저론은 혈당 강하를 유도하는 혈당 조절능을 가지며, AMPK의 인산화를 통한 활성을 증가시키며, 체중증가를 감소시키며, 인슐린 기능조절을 증가시키므로, 당뇨병 개선용 건강기능식품의 유효성분으로 사용될 수 있다.
- [0045] 따라서, 본 발명은 또 다른 관점에서, 디하이드로진저론을 유효성분으로 함유하는 당뇨병 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.
- [0046] 본 발명은 또 다른 관점에서, 디하이드로진저론을 유효성분으로 함유하는 비만 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.
- [0047] 본 발명의 건강식품은 상기 디하이드로진저론을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0048] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 비스킷, 떡, 초코렛, 캔디류, 스킥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0049] 본 발명에 따른 디하이드로진저론은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 중의 상기 디하이드로진저론의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다. 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.
- [0050] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 디하이드로진저론을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르트

등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0051] 상기 외에 본 발명의 식품은 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

[0052] 그 밖에 본 발명의 디하이드로진저론은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 디하이드로진저론 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0053] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 증진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calciumcarbonate), 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 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propyleneglycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로 제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0054] 본 발명에서 용어, "치료"란 조성물의 투여로 당뇨병의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0055] 본 명세서에 용어, "개선"이란 증상의 예방, 개선, 치료 또는 이러한 증상의 발현 지연을 포함하는 의미이다.

[0056] 본 명세서에서 용어 "비만 개선"이란 조성물의 투여로 비만의 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0057] 본 명세서에서 용어 "기능성 식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0058] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0059] 실시예 1: 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 체중 및 지방조직의 증가 억제

[0060] 디하이드로진저론이 쥐의 신진대사에 미치는 영향을 분석하기 위해, 고지방식으로 비만을 유도하여 체중 및 지방조직의 양을 측정하였다. 마우스를 저지방식이(LFD), 고지방식이(HFD)와 고지방식이+디하이드로진저론(HFD+DHZ) 그룹으로 나누고, 13주간 몸무게 변화 및 지방조직의 양을 측정하였다.

[0061] 그 결과, 고지방식으로 유도된 체중 증가가 디하이드로진저론에 의해 억제(도 1A)되었으며, 고지방식이군에 비해 디하이드로진저론이 함께 공급된 군에서 내장지방도 현저히 감소한 것을 확인하였다(도 1B). 또한, 고지방식에 의해 유도된 지방간 및 신장주위 지방조직도 고지방식이군에 비해 디하이드로진저론이 함께 공급된 군에서 현저히 감소한 것을 확인하였다(도 1C, 1D). 이는 비만 대상의 체중조절에 디하이드로진저론이 효과적이라는 것을 나타낸다.

[0062] 실시예 2: 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 혈당 증가 억제

[0063] 디하이드로진저론이 혈당 증가에 미치는 영향을 분석하기 위해, 실험동물의 혈당 수치를 측정하였다. 마우스를

저지방식이(LFD), 고지방식이(HFD)와 고지방식이+디하이드로진저론(HFD+DHZ) 그룹으로 나누고, 공복혈당(FBG), 인슐린 및 렙틴을 측정하였다.

[0064] 그 결과, 고지방식이에 의해 증가한 공복혈당(FBG), 인슐린 및 렙틴이 디하이드로진저론에 의해 억제된 것을 확인하였다(도 2A, 2B 및 2C). 이는 고지방식이에 의해 유도되는 제2형 당뇨병이 디하이드로진저론에 의해 억제되는 것을 나타낸다.

[0065] 실시예 3: 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 AMPK(AMP kinase) 인산화

[0066] C2C12 골격근세포에서 디하이드로진저론에 의한 메커니즘을 확인하기 위해, 포도당 조절의 핵심인 AMPK의 활성을 측정하였다. 디하이드로진저론을 처리한 C2C12 골격근세포의 cell lysate와 AMPK 인산화 항체(Threonine 172 번, Millipore-Upstate)를 사용하여 western blotting analysis를 시행하였다.

[0067] 그 결과, 디하이드로진저론은 농도 및 시간 의존적으로 AMPK의 인산화를 증가시켰다(도 3A, 3B). 최대 AMPK 활성은 30 μ M 디하이드로진저론으로 10분간 처리했을 때 관찰되었으며, 디하이드로진저론 처리 후 AMPK 및 ACC의 인산화는 일관되게 증가하였다. 이는, 골격근세포에서 AMPK 인산화의 증가는 디하이드로진저론에 의한 것임을 의미한다.

[0068] 실시예 4: 디하이드로진저론(dehydrozingerone)에 의한 포도당 흡수 촉진

[0069] 골격근에서의 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수 촉진 효과를 분석하기 위해, C2C12 세포보다 포도당 흡수 연구 모델로 더 적합한 L6 근육전구세포를 사용하였다. L6 근육전구세포(ATCC, Americal Type Culture Collection)를 12 웰 플레이트(well plate)에 분주한 후 2% FBS가 들어 있는 DMEM 배지에서 근육세포로 분화시켰다. 근육세포에 디하이드로진저론(dehydrozingerone)(Sigma-Aldrich)을 처리한 후 37°C에서 1시간 동안 배양한 다음, 각 well에 포도당 유도제 2-DG(2-deoxy-[³H]-D-glucose)를 15분간 처리한 후 PBS buffer로 2회 세척 후 건조시켰다. Lysis buffer (0.5N NaOH + 0.5% SDS)를 well 당 500 μ l씩 넣어 세포를 용해시킨 후 450 μ l씩 LSC vial에 옮겨 1mL의 각테일(Ultimagold)과 혼합 후 β -counter로 측정하였다.

[0070] 그 결과, 디하이드로진저론 농도 3M부터 포도당(2-DG) 흡수가 촉진되었으며, 10 μ M에서 최대 포도당 흡수 촉진 효과를 나타내는 것을 확인하였다(도 4A). 인슐린 100nM을 양성 대조군으로 사용하였다.

[0071] 실시예 5: AMPK (AMP kinase)억제를 통한 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 포도당 흡수 촉진 저해

[0072] AMPK가 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수 촉진에 관여하는 것을 확인하기 위해, AMPK 저해제인 compound C(Calbiochem) 2 μ M를 처리하거나(도 4B) AMPK2 siRNA(NM-001013367, Dharmacon, USA)를 L6 근육전구세포에 트랜스펙션(transfection)하여 AMPK를 knock-down 시킨 후(도 4C), 디하이드로진저론을 L6 근육전구세포에 처리하여 세포로 흡수된 포도당(2-DG) 수치를 측정하였다(도 4D).

[0073] 그 결과, AMPK 저해제인 compound C에 의해 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수 촉진이 차단된 것을 확인하였으며(도 4B), AMPK2가 녹다운된 세포에서 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수 촉진이 저해되는 것을 확인하였다(도 4D). 이는 AMPK가 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수에서 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다.

[0074] 실시예 6: 디하이드로진저론(DHZ)에 의한 p38 MAPK 신호경로의 활성화

[0075] 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수에 관련된 신호전달경로를 분석하기 위해, 포도당 흡수에 중요한 p38 MAPK에 대한 디하이드로진저론의 효과를 조사하였다. C2C12 골격근세포에 30 μ M 디하이드로진저론을 처리한 후 및 AMPK 저해제인 compound C를 처리한 후에, 포도당 흡수에 중요 역할을 하는 AMPK를 통한 p38 MAPK의 활성화를 조사하였다. 다음으로, 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수에 p38 MAPK가 관련된 것을 확인하기 위해, MAPK 저해제인 SB203580를 처리하였다.

[0076] 그 결과, 디하이드로진저론에 의해 p38 MAPK가 시간 및 농도 의존적으로 활성화 되었으며(도 5A, 5B), 디하이드로진저론에 의한 p38 MAPK 인산화는 compound C에 의해 저해되었다(도 5C). 또한, 억제된 p38 MAPK는 디하이드

로진저론에 의한 포도당 흡수를 저해하였다(도 5D). 이는, 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수에서 p38 MAPK의 활성화는 AMPK를 통하여 나타난다는 것을 의미한다.

[0077] 실시예 7: GLUT4 발현에 대한 디하이드로진저론(DHZ)의 영향

[0078] 포도당 수송체 GLUT4는 포도당 흡수의 매개체로 포도당 항상성 조절에 중요한 역할을 한다. 디하이드로진저론에 의한 포도당 흡수가 촉진된 C2C12 세포에서 GLUT4 발현을 조사하였다

[0079] 그 결과, 디하이드로진저론은 GLUT4의 mRNA 및 단백질 수준을 모두 증가시켰으며(도 6A, 6B), 이는 디하이드로진저론이 GLUT4의 발현을 유도하여 포도당 흡수를 조절할 수 있음을 나타낸다.

[0080] 실시예 8: 인슐린에 의해 유도된 포도당 흡수촉진에 대한 디하이드로진저론(DHZ)의 효과

[0081] 인슐린에 의해 촉진되는 포도당 흡수에서 디하이드로진저론의 효과를 분석하기 위해, L6 근육분화세포에 인슐린과 디하이드로진저론을 동시에 처리하여 디하이드로진저론이 인슐린에 의한 포도당 흡수 촉진 효과를 증가시키는 것을 확인하였다(도 7A). 또한, 고지방식이에 의한 신진대사 변화에서 디하이드로진저론이 AMPK의 활성화를 통해 혈당 강화를 한다는 것을 확인하기 위해, 20% 수크로스 용액(2g/kg)을 사용하여 실험동물의 복강내 포도당 내성 검사를 실시하였다.

[0082] 그 결과, 30분 내지 60분 후 고지방식이 군보다 디하이드로진저론을 같이 급여한 군에서 혈당의 농도가 현저히 감소하였다(도 7B). 이는 디하이드로진저론에 의해 AMPK가 활성화되어 혈당강화가 촉진된 것을 나타내며, 인슐린에 의해 유도되는 포도당 흡수 촉진에서 디하이드로진저론이 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다.

[0083] 실시예 9: 커큐민(curcumin)과 디하이드로진저론(DHZ)의 인슐린 감작능(insulin sensitizer) 비교

[0084] 분화된 근육세포주를 이용해서 커큐민(curcumin)과 디하이드로진저론을 각각 인슐린과 병합 처리하여 인슐린에 의한 당 흡수 능력이 증가되는 패턴을 비교 분석하고, 인슐린 저항성을 극복할 수 있는 insulin sensitizer로서의 가능성을 탐색하였다. L6 근육전구세포를 12 well plate에 분주한 후 2% FBS가 들어 있는 DMEM 배지에서 근육세포로 분화시킨 후, 근육세포에 디하이드로진저론과 커큐민(curcumin)을 각각 1μl 씩 24시간 전 처리하고, 인슐린(10 ng/ml) 처리 후 15분후에 각 well에 포도당 유도체 2-DG(2-deoxy-[³H]-D-glucose)를 15분간 처리한 다음, PBS buffer로 2회 세척 후 건조시켰다. Lysis buffer (0.5N NaOH + 0.5% SDS)를 well 당 500μl씩 넣어 세포를 용해시킨 다음, 450μl씩 LSC vial에 옮겨 1mL의 cocktail(Ultimagold)과 혼합 하고, β-counter로 측정하였다.

[0085] 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, 인슐린 단독에 의한 당 섭취 능력이 커큐민(curcumin) 전처리에 의해서는 크게 증가하지 않은 반면, 디하이드로진저론으로 전 처리한 경우에는 인슐린 단독에 의한 효과보다 현저한 상승 효과를 나타내었다. 이 결과는 디하이드로진저론이 인슐린 감작제(insulin sensitizer)로써의 기능이 있음을 보여주는 것이며, 인슐린의 병합치료를 통해 당뇨병 치료효과를 증진시킬수 있다는 것을 의미한다.

[0086] 실시예 10: 커큐민(curcumin)과 디하이드로진저론(DHZ)의 혈당조절 능력 비교

[0087] 커큐민(curcumin)과 디하이드로진저론의 혈당조절 능력을 비교해보기 위하여, 인슐린을 양성대조군으로 사용하여 분화된 근육세포주에 커큐민과 디하이드로진저론을 처리하고, 당 흡수 능력을 측정하여 혈당조절 능력의 세기(potency)를 비교하였다. L6 근육전구세포를 12 well plate에 분주한 후 2% FBS가 들어 있는 DMEM 배지에서 근육세포로 분화시켰다. 근육세포에 디하이드로진저론과 커큐민을 각각 3μl씩 3시간 처리하고, 인슐린은 100 ng/ml을 15분 처리 후에 각 well에 포도당 유도체 2-DG(2-deoxy-[³H]-D-glucose)를 15분간 처리한 다음, PBS buffer로 2회 세척 후 건조시켰다. Lysis buffer (0.5N NaOH + 0.5% SDS)를 well 당 500μl씩 넣어 세포를 용해시킨 다음, 450μl씩 LSC vial에 옮겨 1mL의 cocktail(Ultimagold)과 혼합하고, β-counter로 측정하였다.

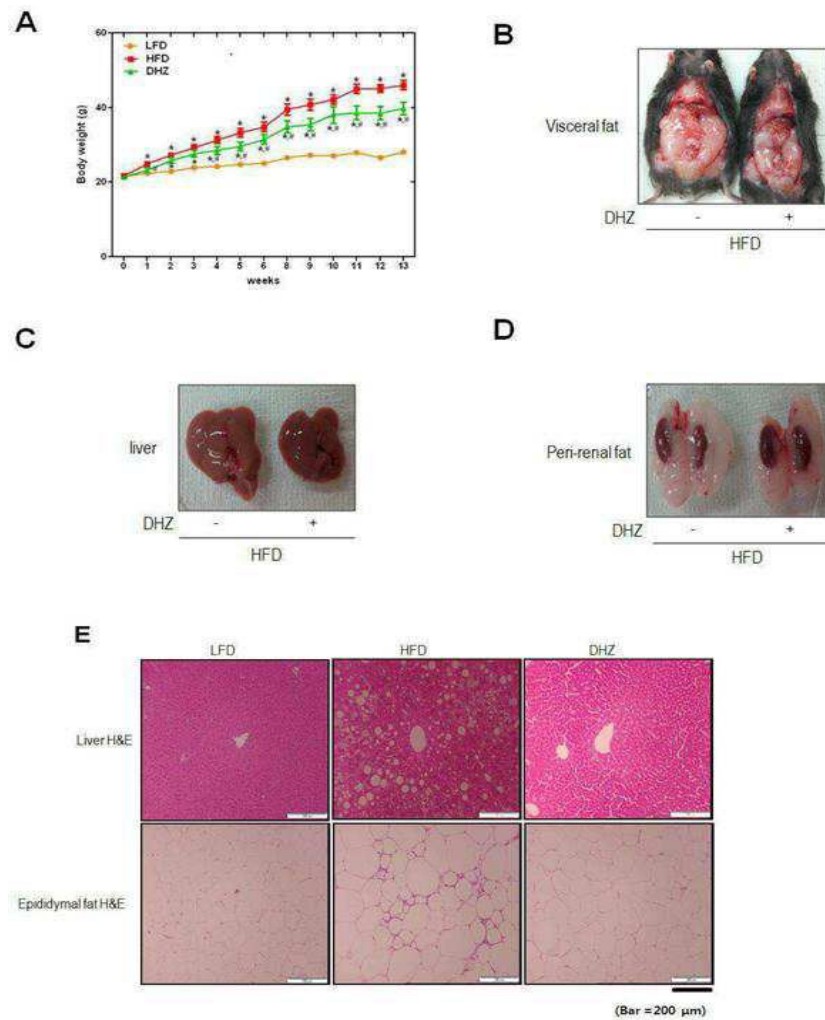
[0088] 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이, 포도당 흡수 능력이 커큐민보다 디하이드로진저론이 약간 높은 것을 확인할 수 있었고, 디하이드로진저론의 경우 잘 알려진 인슐린만큼 강력한 포도당 흡수 촉진 효과가 있음을

확인하였다.

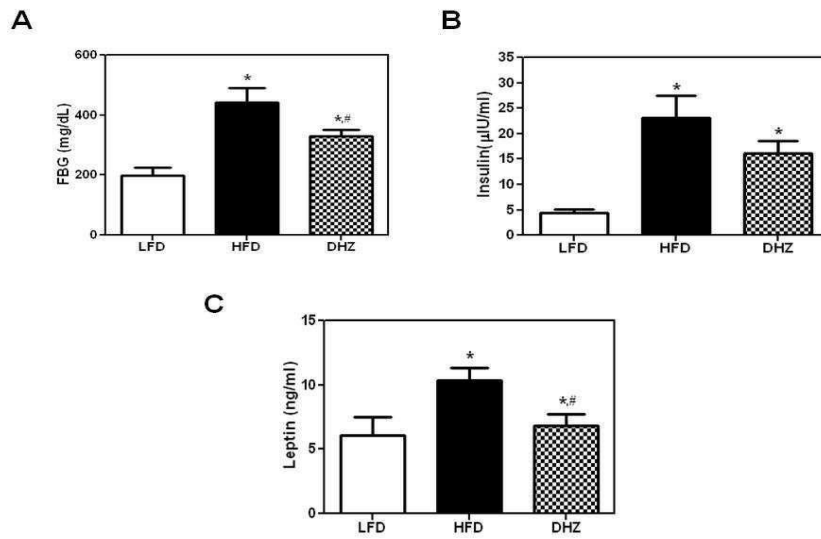
[0089] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

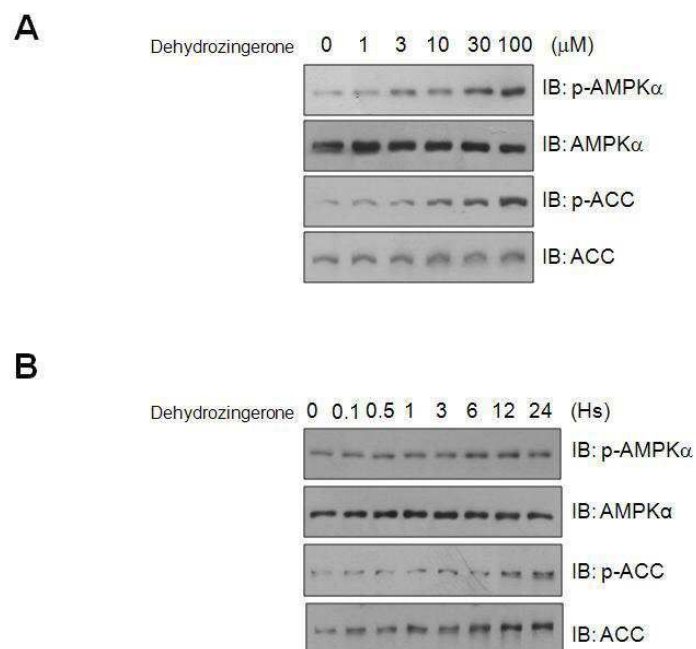
도면1



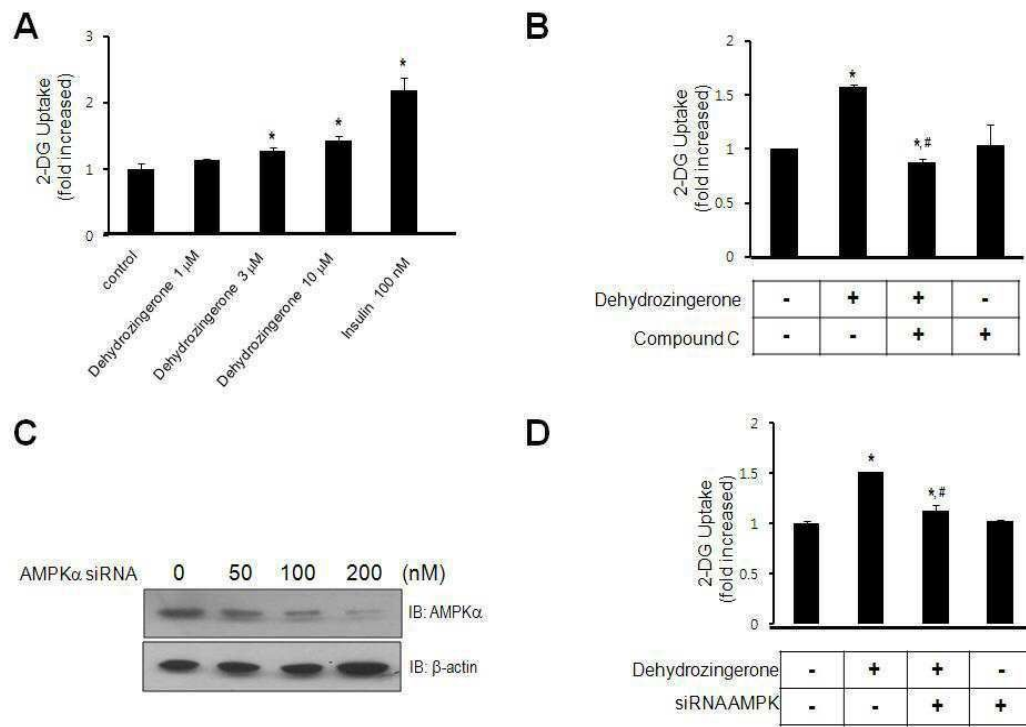
도면2



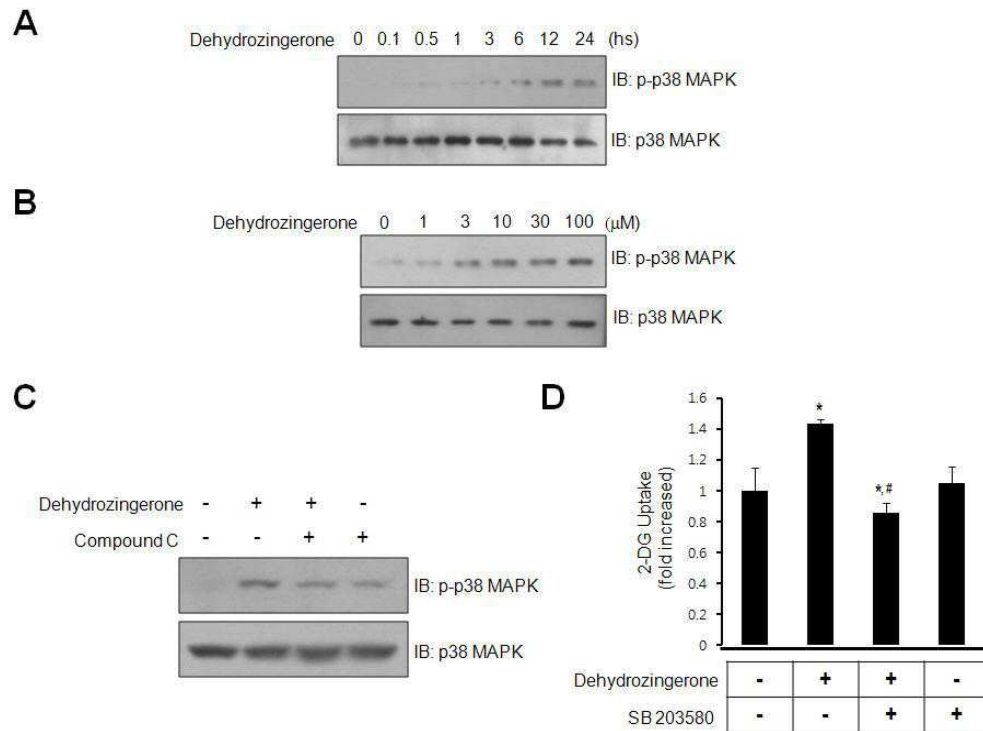
도면3



도면4

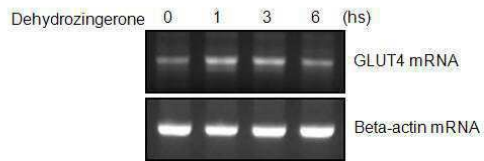


도면5

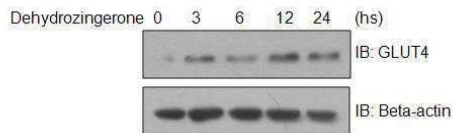


도면6

A

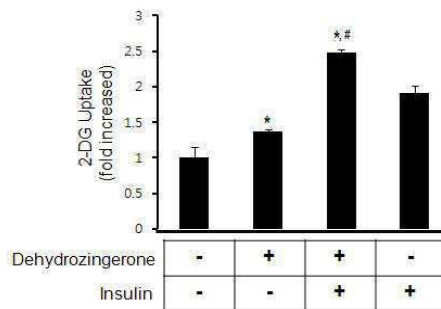


B

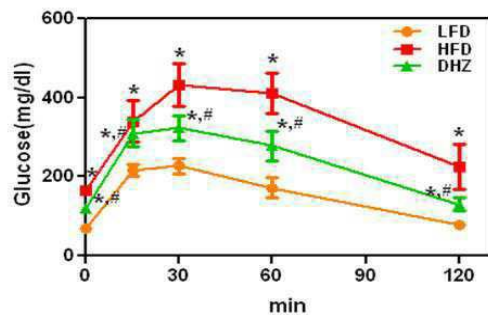


도면7

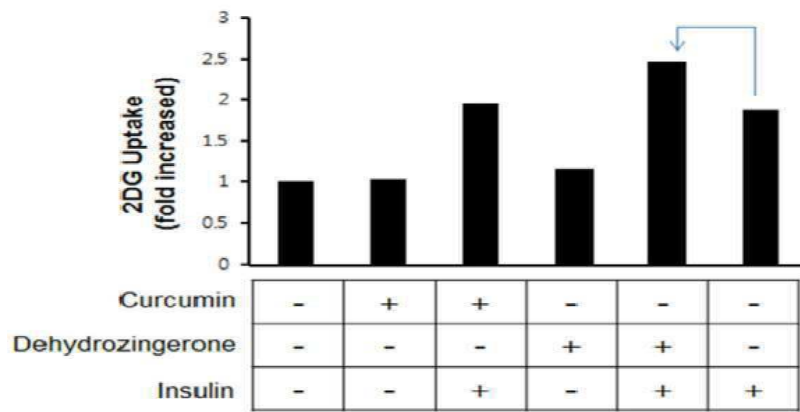
A



B



도면8



도면9

