(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0012572
(43) 공개일자 2018년02월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/00 (2016.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A23L 27/30 (2016.01) *A61K 31/352* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/00 (2016.08)
A23L 27/33 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0095576
(22) 출원일자 2016년07월27일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
김유리
서울특별시 종로구 통일로18길 9, 107동 403호 (무악동, 인왕산I-PARK아파트)
김은주
제주특별자치도 제주시 애월읍 애월해안로 854
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 10 항

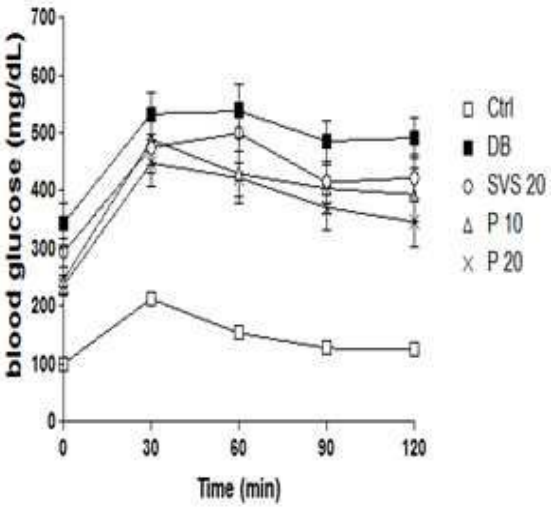
(54) 발명의 명칭 **필로둘신 또는 이의 염을 포함하는 당뇨병 예방, 개선 및 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공한다.

본 발명에 따른 조성물은 다식 및 다갈을 감소시키며,공복혈당지수와 당화혈색소수치를 줄이며, 경구 내당능을 개선시키며, 간에서의 당신생합성 기전을 저해하는 효과를 통해 당뇨병의 예방, 개선 및 치료에 현저한 효과를 보인다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2016.08)
A61K 31/352 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/132 (2013.01)
A23V 2200/328 (2013.01)
A23V 2250/60 (2013.01)
Y10S 514/866 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 313024033HD040
부처명 농림축산식품부
연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원
연구사업명 고부가가치식품기술개발사업
연구과제명 xylobiose 및 phyllodulcin의 항당뇨 기능성과 항비만 및 항바이러스 효능 규명
기 여 율 1/1
주관기관 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2014.11.20 ~ 2015.11.19

명 세 서

청구범위

청구항 1

필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 식품 조성물은 감미 조성물인 당뇨병 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 식품 조성물은 정제, 환제, 과립제, 분말제, 액제, 경질캅셀제, 연질캅셀제, 죽, 빵, 음료, 바, 초콜릿, 쿠키, 차, 드링크제, 비타민 복합제, 캔디 및 면으로부터 선택되는 어느 하나의 형태인 당뇨병 예방 및 개선용 식품 조성물.

청구항 4

필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 5

필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 다식 및 다갈을 감소시키는 것인 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 공복 혈당 지수와 당화 혈색소 수치를 감소시키는 것인 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 간에서의 당신생합성 기전을 저해하는 것인 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 9

제5항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 경구 내당능을 개선하는 것인 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 10

제5항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체, 충진제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 분산제, 계면활성제 및 희석제로부터 선택되는 어느 하나 이상을 더 포함하는 것인 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병의 예방, 개선 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 당뇨병은 지속적인 고혈당 증상을 특징으로 하는 포도당 대사 이상에 의한 질병이다. 당뇨병성 고혈당은 인슐린의 절대적 결핍(제1형 당뇨병) 또는 상대적인 인슐린 결핍(제2형 당뇨병)에 의해 유발되는 것으로 알려져 있다. 인슐린은 췌장 내 랑겔한스섬의 β-세포에 의해 분비되는 호르몬으로 포도당 대사를 조절하고, 포도당이 혈액으로부터 골격근, 간, 지방조직 및 기타 조직으로 운반되는 것을 촉진시켜 에너지원으로서 이용되거나 글리코겐 또는 지방으로 생합성되어 저장될 수 있도록 한다. 반면, 글루카곤은 췌장 내의 랑겔한스섬의 α-세포에 의해 분비되는 호르몬이며 인슐린에 길항하는 작용을 한다.

[0003] 일반적으로 당뇨병은 제1형 당뇨병과 제2형 당뇨병으로 분류한다.

[0004] 제1형 당뇨병은 췌장 베타세포의 손상 또는 기능 이상으로 인슐린 생성이 감소되어 극도의 고혈당증으로 진전되며 흔히 케톤증 또는 케토산증을 나타낸다. 제2형 당뇨병은 인슐린 분비장애, 간에서의 내인성 포도당 생성의 증가, 말초의 인슐린 감수성 조직에서의 당이용도 저하로 나타나는 인슐린 저항성에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다. 어느 경우에서나 상대적인 인슐린 결핍이 발생한다.

[0005] 당뇨병이 철저하게 관리되지 않은채 장기간 지속되면 다양한 퇴행성 합병증이 유발될 수 있다. 예를 들면, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신경증, 신장병, 아테롬성 동맥경화증, 심근 장해, 피부 장해, 당뇨병성 발 증후군 및 말초 혈관의 질병 등이다.

[0006] 한국에서는 인구의 약 5%가 당뇨병 환자로 보고되어 있으며, 이들 당뇨병 환자의 90% 이상이 제2형 당뇨병 환자이다. 미국에서는 약 천6백만 명의 당뇨병 환자가 있으며 이 중 95% 정도가 제2형 당뇨병이고 45세 이후 비만형의 사람들에게서 많이 나타나고 있다. 당뇨병의 유병율은 빠르게 증가되고 있고, 당뇨병은 현재도 세계 10대 사망원인 중의 하나이다.

[0007] 제2형 당뇨병 환자에서는 초기 인슐린 반응의 소실이 특징적이며 후기 인슐린 분비반응으로 늦게 인슐린 분비가 최고에 도달하여 내당성을 감소시키며 β-세포의 기능을 서서히 악화시켜 초기와 후기 모두 인슐린 분비반응의 소실을 가져온다. 정상적인 내당성 유지를 위해서는 초기 인슐린 분비가 중요하다. 또한 공복 시 혈당보다 식후 혈당이 적절한 혈당조절의 지표로 사용되는 HbA1c(hemoglobin A1c) 조절과 상관관계가 높으며 식후 고혈당이 심혈관계 질환위험도 증가와 관계가 있다는 연구들에 의해 공복 시 혈당조절만이 아니라 식후 혈당조절도 강조되고 있다. 한편, 정상적인 인슐린 분비양상을 나타내도록 할 수 있다면 식후 늦은 시간에 저혈당의 위험을 감소시킬 수 있으며 체중증가, 인슐린 저항성, 지질대사이상, 고혈압 등과 관련되어 있는 것으로 보이는 만성적인 고인슐린혈증을 피할 수 있다. 그래서 식후 혈당을 포함한 엄격한 혈당조절과 이를 위한 정상적인 인슐린 분비양상을 나타낼 수 있도록 하기 위한 연구와 노력이 이루어지고 있다.

[0008] 한편, 위와 같은 당뇨병에 원인이 되는 것 중 하나는 설탕의 과다 섭취이다. 설탕은 단맛을 내는 감미료로서 협의로는 수크로오스(sucrose)를 일컫지만, 광의로는 설탕류로서 포도당·맥아당과 같은 단맛을 가지는 다른 당류까지 총칭하기도 한다.

[0009] 협의의 설탕을 의미하는 수크로오스는 포도당과 과당으로 이루어진 이당체로서, 체내에서 매우 쉽게 흡수되고 빠르게 가수분해되는 성질을 갖는다. 이러한 성질로 인하여 체력이 소진되어 있는 경우 빠르게 에너지를 보충할 수 있으므로, 당뇨병 환자의 저혈당 쇼크나 피로회복에 유용하게 이용된다. 그러나 설탕을 과잉으로 섭취할 경우 혈당 농도가 증가되며, 과잉의 열량이 지방으로 변환·축적되므로 비만, 당뇨병 등의 원인이 되기도 한다. 근래에는 설탕의 이용범위가 매우 넓어져 제과용을 비롯하여 양조, 식품가공, 식품보존 및 음료 등에 널리 사용되어 설탕의 과잉섭취에 따른 부작용에 대한 심각성이 더욱 대두되고 있다.

[0010] 이러한 문제점을 해결하기 위하여 최근에는 흡수가 어렵거나 열량이 낮아 혈당 상승이나 비만에 영향을 미치지 않는 대체 감미료에 관한 연구가 많이 진행되고 있다. 가장 대표적인 대체 감미료로 자일리톨, 올리고당, 아스파탐을 들 수 있다. 자일리톨은 소장에서 천천히 흡수되어 혈당에 거의 영향을 미치지 않으므로 설탕과 같은 용도로 사용할 수 있지만, 과량을 복용하는 경우 설사를 유발하는 단점이 있다. 올리고당은 다른 감미료들이 소장에서 흡수되는 것에 반해 대장까지 분해되지 않고 이동될 만큼 흡수율이 낮으나 감미도가 설탕에 비해 현저히 낮고 유통·보관이 불편하기 때문에 선호도가 높지 못하다. 아스파탐은 설탕의 약 200배의 단맛을 갖는 인공 감미료로서, 소량을 사용하여도 단맛을 낼 수 있으므로 당뇨병 환자들에게 큰 호응을 받아왔다. 그러나 최근 두통이나 중독성, 백혈병, 유방암과 같은 발암성이 문제로 제기되고 있다.

[0011] 이러한 배경 하에, 고감미 기능성 감미료 상품을 개발하여 기존의 감미료들이 가지는 단점들을 개선하면서도 당

뇨병에 대한 예방, 개선 및 치료 효과를 가지는 물질들에 관한 연구 개발이 절실히 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0012] (특허문헌 0001) KR 10-2008-0110343

(특허문헌 0002) KR 10-2015-0020635

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

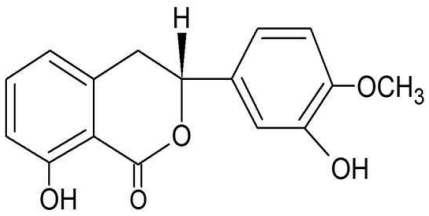
과제의 해결 수단

[0015] 본 발명자들은 기존의 알려진 감미료를 대체하면서 당뇨병에 대한 예방, 개선 및 치료 효과를 가지는 화합물들에 대해 연구를 하던 중, 설탕과 대비하여 높은 감미 효과를 가지는 필로둘신(Phyllodulcin)이 다식 및 다갈을 감소시키며, 공복 혈당 지수와 당화 혈색소 수치를 줄이며, 경구 내당능을 개선시키며, 간에서의 당신생합성 기전을 저해하는 효과가 있음을 확인함으로써, 고감미 기능성 식품 내지 약제학적 조성물로 이용가능성을 확인하였다.

[0016] 본 발명은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 및 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0017] 본 발명에 있어서 필로둘신은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물이다.

[0018] [화학식 1]

[0019] 

[0020] 상기 화학식 1로 표시되는 필로둘신은 통상의 당업자에게 알려진 방법에 따라 합성되거나, 필로둘신을 포함하는 것으로 알려진 수국(*Hydrangea macrophylla*)과 같은 식물로부터 추출되어 분리됨으로써 제조될 수도 있다. 따라서 본 발명에 따른 필로둘신은 시중에 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 필로둘신을 포함하는 것으로 알려진 식물로부터 분리하거나 또는 합성하여 사용할 수도 있다.

[0021] 본 발명에 따른 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 다식 및 다갈을 감소시키며, 공복 혈당 지수와 당화 혈색소 수치를 줄이며, 경구 내당능을 개선시키며, 간에서의 당신생합성 기전을 저해하는 효과를 통해 당뇨병의 예방 및 개선을 위한 식품 조성물로 현저한 효과를 보인다.

[0022] 본 발명에 있어서, 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 의약업계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미하며, 예를 들어, 칼슘염, 칼륨염, 나트륨염 및 마그네슘염 등의 무기이온염, 염산염, 질산염, 인산염, 브롬산염, 요오드산염, 과염소산염, 질산염, 및 황산염 등의 무기산염, 아세테이트, 트리플루오로아세트테이트, 시트레이트, 말레인산염, 숙신네이트, 옥살산염, 벤조네이트, 타르타르산염, 푸마르산, 만데르산염, 프로피오네이트, 락테이트, 글리콜산염, 글루콘산염, 갈락투론산염, 글루탐산염, 글루타르산염, 글루쿠론산염, 아스파르트산,염 아스코르브산염, 카본산염, 바닐릭산염, 하이드로 아이오딕산염, 만델산염, 뮤크산염, 파모산염, 판토텐산염, 숙신산

염, 티오시아네이트 등의 유기산염, 메탄설폰산염, 에탄설폰산염, 벤젠설폰산염, p-톨루엔설폰산염, 캄포르설폰산염, 또는 나프탈렌설폰산염 등의 설폰산염, 글리신염, 아르기닌염, 라이신염 등의 아미노산염 및 트리메틸아민염, 트리에틸아민염, 암모늄염, 피리딘염, 피콜린염 등의 아민염 등이 있으나, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다.

[0023] 본 발명에 있어서 식품은 식품 조성물은 정제, 환제, 과립제, 분말제, 액제, 경질캅셀제, 연질캅셀제 등과 같은 일반적인 제형으로 제조될 수도 있으며, 죽, 빵, 음료, 바, 초콜릿, 쿠키, 차, 드링크제, 비타민 복합제, 육류, 소시지, 캔디, 면, 젤리 등과 같은 임의의 형태로 제조될 수 있다.

[0024] 본 발명에 따른 필로둘신은 바람직하게 시럽, 분말 형태, 정제 형태, 과립 또는 용액으로서 제형화되어 식품 조성물에서 감미 조성물로 작용하며, 항당뇨의 기능을 나타낼 수 있다.

[0025] 본 발명에 따른 식품 조성물은 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제, 붕해제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 항산화제, 완충액, 희석제, 분산제, 결합제 및 윤활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함할 수 있다. 상기와 같은 여러 제형 또는 형태를 제조하기 위해, 전술한 부형제들과 같은 식품학적으로 허용 가능한 담체 또는 첨가제를 사용할 수 있으며, 제조하고자 하는 제형 또는 형태의 제조에 당해 기술분야에서 사용 가능한 것으로 공지되어 있는 임의의 담체 또는 첨가제가 이용될 수 있다.

[0026] 또한 본 발명은 전술한 식품 조성물을 포함하는 건강 기능식품을 제공한다. "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말하며, 상기 성분에 의해 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 방지와 회복 등 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수 있도록 설계되고 가공된 식품을 말하는 것으로서, 상기 건강 기능 식품은 질병의 예방 및 질병의 회복 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다.

[0027] 본 발명에 따른 식품 조성물에 있어서 상기 필로둘신(Phyllodulcin) 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 전체 조성물에 대하여 약 0.01 내지 약 15중량%, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 10중량%로 포함할 수 있으며, 건강 음료 조성물의 경우 100mL를 기준으로 0.1 내지 30g, 바람직하게는 0.2 내지 5g의 비율로 첨가될 수 있다.

[0028] 본 발명은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 및 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0029] 본 발명에 따른 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 다식 및 다갈을 감소시키며, 공복 혈당 지수와 당화 혈색소수치를 줄이며, 경구 내당능을 개선시키며, 간에서의 당신생합성 기전을 저해하는 효과를 통해 당뇨병의 예방 및 치료를 위한 약제학적 조성물로 현저한 효과를 보인다.

[0030] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 전체 조성물에 대하여 약 0.1 내지 약 99.5 중량%, 바람직하게는 약 0.4 내지 약 95중량%로 포함할 수 있다.

[0031] 상기 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 앞서 살핀바와 같다.

[0032] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 외에 추가적으로 동일 또는 다른 약리학적 활성을 가지는 추가 유효 성분을 더 포함할 수 있다. 일 예로, 본 발명의 약제학적 조성물은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 외에 당뇨병에 대해 치료 효과를 가지는 다른 약물을 더 포함할 수 있다.

[0033] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 유효성분 외에 약제학적으로 허용가능한 담체, 충진제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 분산제, 계면활성제 또는 희석제 등의 부형제 및 첨가제를 더 포함할 수 있다. 이들의 함량은 특별히 한정되는 것을 아니며, 통상의 제형화에 사용되는 함량 범위 내에서 적절하게 조절될 수 있다.

[0034] 본 발명의 약제학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용) 할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 투여기간 또는 간격, 배설율, 체질 특이성, 제제의 성질, 성질질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 상기 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 일일 투여량은 약 0.1 내지 10 ㎎/㎏이고, 바람직하게는 약 0.5 내지 2 ㎎/㎏이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여될 수 있다.

[0035] 본 발명의 약제학적 조성물은 투여를 위하여 여러 가지 제제로 제형화될 수 있다. 상기 약제학적 조성물은 담체, 부형제 등을 첨가하여 다양한 형태로 제형화될 수 있다. 본 발명의 상기 약제학적 조성물은 정제, 피복정제, 캡슐제, 환제, 과립제, 좌약, 액제, 현택액제 및 에멀전제, 페이스트제(pastes), 연고제, 겔제, 크림제,

로션제, 산제 또는 분무제로 제형화될 수 있다.

[0036] 본 발명은 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 대상체에 투여하여 당뇨병을 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0037] 본 발명에 따른 필로둘신 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 다식 및 다갈을 감소시키며, 공복 혈당 지수와 당화 혈색소 수치를 줄이며, 경구 내당능을 개선시키며, 간에서의 당신생합성 기전을 저해하는 효과를 통해 당뇨병의 예방, 개선 및 치료에 현저한 효과를 보인다.

도면의 간단한 설명

[0038] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 당뇨병 마우스 모델에서 필로둘신 투여에 의한 시간에 따른 혈당 감소 효과를 확인한 결과이다.

도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 당뇨병 마우스 모델에서 필로둘신 투여에 따른 glucose tolerance test AUG의 감소 효과를 확인한 결과이다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 당뇨병 마우스 모델에서 필로둘신 투여에 따른 혈당 감소 효과를 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 당뇨병 마우스 모델에서 필로둘신 투여에 따른 HbA1c 감소를 확인한 결과이다.

도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 당뇨병 마우스 모델에서 필로둘신 투여에 따른 혈장에서 인슐린 변화 없음을 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 당뇨병 마우스 모델에서 필로둘신 투여에 따른 인슐린 저항성 변화 없음을 확인한 결과이다.

도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 당뇨병 마우스 모델에서 필로둘신 투여에 따른 간 조직 내 당신생합성 기전 저해를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 단, 이들 실시예 등은 본 발명의 예시일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0040] 필로둘신은 세종대학교 식품공학과 유상호 교수 연구실에서 추출한 물질을 공급 받아 사용하였다. 또한, 이하에서 언급된 시약 및 용매는 특별한 언급이 없는 한 아산제약으로부터 구입한 것이다.

[0041] **실시예 1. 필로둘신의 항-당뇨 효과를 확인하기 위한 마우스 실험 모델의 제조**

[0042] 제2형 당뇨병이 유도된 유전자 변형 모델인 db/db 마우스를 이용하여 항당뇨 실험을 수행하였다. 실험군으로는 당뇨가 유도되지 않은 군(Ctrl), 당뇨가 유도된 군으로 크게 나눈 뒤, 당뇨가 유도된 군에서는 아무것도 경구투여 하지 않은 군(DB), 스테비오사이드 (SVS20, 20mg/kg b.w.) 투여군, 필로둘신 (P10, 10mg/kg b.w.)투여군, 및 필로둘신 (P20, 20mg/kg b.w.)투여군의 총 5개 군으로 나누어 실험을 수행하였다. 스테비오사이드 및 필로둘신은 1주일에 5회 경구투여하였고, 대조군들은 용매인 옥수수오일만을 경구투여하였다. 실험은 4주간 진행되었고, 4주차에 마우스는 희생되었다.

[0043] 위 실험모델을 이용하여 하기 실시예 2의 실험들을 수행하였다.

[0044] **실시예 2. 필로둘신의 항-당뇨 효과 확인**

[0045] **(1) 몸무게, 식이 및 물 섭취량, 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, GOT 및 GPT 측정**

[0046] 위 실시예 1의 실험 모델에 있어서, 몸무게, 식이 및 물 섭취량은 1주일에 2회씩 마우스 희생 전인 4주차까지 측정하였다. 또한, 혈장 내 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, GOT 및 GPT는 혈액 생화학 측정 키트를 이용하여 채혈된 혈장 시료로부터 측정하였다.

[0047] 그 결과를 표 1에 나타내었다.

[0048] [표 1]

	대조군	AIN93G 투여군 (DB)	스테비오사이드 투여군 (SVS 20)	필로둘신10 mg/kg b.w. 투여군(P 10)	필로둘신20 mg/kg b.w. 투여군(P 10)
최종 몸무게(g)	24.27 ± 0.51^{a}	42.03 ± 0.65^{b}	42.60 ± 0.52^{b}	43.78 ± 1.00^{b}	43.81 ± 1.05^{b}
음식 섭취 (g/d)	2.54 ± 0.08^{a}	5.52 ± 0.14^{b}	5.06 ± 0.21^{c}	5.05 ± 0.08^{c}	4.35 ± 0.10^{d}
물 섭취 (ml/d)	4.45 ± 0.39^{a}	22.54 ± 0.92^{b}	19.14 ± 1.48^{c}	16.79 ± 1.22^{c}	13.63 ± 1.08^{d}
트리글리세라이드 (mg/dl)	127.80 ± 5.19^{a}	154.84 ± 4.29^{b}	131.46 ± 4.59^{a}	134.06 ± 5.81^{a}	135.35 ± 3.10^{a}
총 콜레스테롤(mg/dl)	113.25 ± 5.98^{a}	188.43 ± 7.18^{b}	178.55 ± 8.50^{b}	196.27 ± 10.96^{b}	183.86 ± 7.61^{b}
HDL-콜레스테롤 (mg/dl)	37.42 ± 2.24^{a}	80.53 ± 5.15^{b}	71.48 ± 3.86^{b}	75.41 ± 3.87^{b}	69.90 ± 3.98^{b}
GOT (karmen/ml)	60.90 ± 15.32^{a}	167.08 ± 11.30^{b}	195.94 ± 18.05^{b}	181.32 ± 15.45^{b}	210.04 ± 23.94^{b}
GPT (karmen/ml)	5.41 ± 1.05^{a}	80.24 ± 8.36^{b}	82.97 ± 11.40^{b}	89.83 ± 6.71^{b}	103.30 ± 14.20^{b}

[0049]

[0050] (값은 Mean±SEM으로 기재되며, 데이터는 Newman-Keuls' post hoc test로 one-way ANOVA를 사용하여 분석되었음 ($p < 0.05$, n = 그룹당 10 마우스), 글자들(letters)은 서로로부터 상당히 다른 값을 나타내는데 사용됨)

[0051] 표 1에서 확인되는 바와 같이, 필로둘신 투여에 따라 몸무게가 유의적으로 변화하지 않았고, 음식 섭취량 및 물 섭취량이 유의적으로 감소되었음이 확인되었다. 또한, 당뇨가 유도된 실험군과 대비하여 필로둘신 투여군에서 혈장 내 트리글리세라이드가 유의적으로 감소하였고, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤가 감소하는 경향이 관찰되고, GOT 및 GPT가 변화없음이 확인되었다. GOT, GPT가 변화가 없다는 것은 간독성을 나타내지 않음으로 설명될 수 있다. 이러한 작용 효과는 양성 대조군으로 사용된 스테비오사이드와 대비하여도 우수한 작용효과인 것으로 확인되었다.

[0052] **(2) 필로둘신 투여에 의한 시간에 따른 혈당 감소 확인**

[0053] 필로둘신은 경구투여한지 3주 경과 후, 글루코즈 1g/kg b.w. 용액을 경구투여하여 시간에 따른 혈당변화를 확인하였다. 혈당 변화의 측정은 글루코즈 용액 투여 후 0, 30, 60, 90, 120분에 따라 꼬리정맥에서 혈당을 측정함으로써 확인되었고, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0054] 도 1에서 확인되는 바와 같이, 당뇨가 유발된 실험군에서 혈당이 크게 증가하였으나, 필로둘신의 투여에 따라 혈당이 크게 감소한 것이 확인되었으며, 이는 양성 대조군으로 사용된 스테비오사이드와 대비하여도 우수한 작용효과인 것으로 확인되었다.

[0055] **(3) 필로둘신 투여에 따른 Glucose tolerance test AUG의 감소 확인**

[0056] 위 (2)의 혈당 측정 결과로부터 그래프를 그린 후 그래프의 면적을 구함으로써, glucose tolerance test AUG(OGTT AUG)를 확인하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0057] 도 2에서 확인되는 바와 같이, 당뇨가 유발된 실험군과 대비하여 필로둘신 투여군에서 glucose tolerance test AUG가 감소되는 것이 확인되었다.

[0058] **(4) 필로둘신 투여에 따른 혈당 감소 확인**

[0059] 필로둘신 투여 4주차인 희생 직전에 꼬리 정맥을 통해서 최종 공복 혈당을 측정하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0060] 도 3에서 확인되는 바와 같이, 당뇨가 유발된 실험군에서 혈당이 크게 증가하였으나, 필로둘신의 투여에 따라 혈당이 크게 감소한 것이 확인되었다.

[0061] **(5) 필로둘신 투여에 따른 헤모글로빈 A1c(HbA1c) 감소 확인**

[0062] 실험 4주차에 마우스를 희생하였고, 이로부터 채혈한 혈액으로 마우스 헤모글로빈 A1c을 효소결합 면역흡착 분석법 (ELISA, 회사: Crystal chem)을 이용해서 측정하여, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0063] 도 4에서 확인되는 바와 같이, 당뇨가 유발된 실험군에서 헤모글로빈 A1c이 크게 증가하였으나, 필로둘신의 투여에 따라 헤모글로빈 A1c이 크게 감소한 것으로 확인되었다.

[0064] **(6) 필로둘신 투여에 따른 인슐린 분비 변화 없음 확인**

[0065] 실험 4주차에 마우스를 희생하였고, 이로부터 채혈하여 분리한 혈장에서 마우스 인슐린을 효소결합 면역흡착 분석법 (ELISA, 회사: Crystal chem)을 이용해서 측정하여, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0066] 도 5에서 확인되는 바와 같이, 필로둘신 투여에 의해 혈당이 감소하는 것에 맞추어 인슐린 분비에 유의적인 변화가 없는 것이 확인되었다.

[0067] **(7) 필로둘신 투여에 따른 인슐린 저항성 변화 없음 확인**

[0068] 실험 4주차에 마우스를 희생하면서 측정된 혈당 및 인슐린 수치를 하기 식에 대입하여 인슐린 저항성 (HOMA-IR)을 측정하여, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0069] HOMA-IR =[인슐린 수치 (μg/L) × 혈당 수치 (mg/dL)] / 22.5

[0070] 도 6에서 확인되는 바와 같이, 필로둘신 투여에 따라 인슐린 저항성에 변화가 없음이 확인되었다.

[0071] **(8) 필로둘신 투여에 따른 간 조직 내 당신생합성 기전 저해 확인**

[0072] 실험 4주차에 마우스를 희생하였고, 희생된 마우스의 간조직으로부터 RNA를 분리한 후, 전사 RNA를 이에 상보적인 DNA로 변환하였다. 이를 이용하여 역전사 PCR을 수행하였으며, 그 발현 변화를 확인하였다. 사용된 프라이머 서열은 하기 표 2와 같으며, 실험 결과는 도 7에 나타내었다.

[0073] **[표 2]**

[0074]

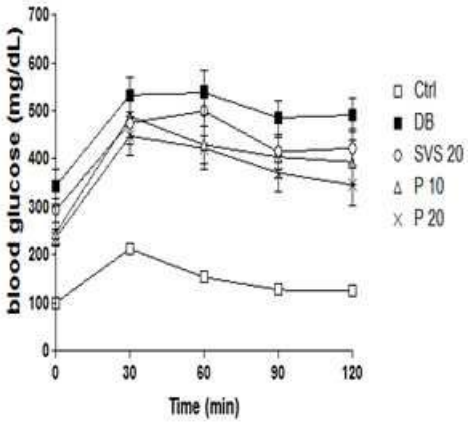
	Forward primer (5' to 3')	Reverse primer (5' to 3')
G6Pase	AGGAAGGATGGAGGAAGGAA (서열번호 1)	TGGAACCAGATGGGAAAGAG (서열번호 2)
PEPCK	AGAGCAGAGAGACACAGTGC (서열번호 3)	AGGGCGAGTCTGTCAGTTCA (서열번호 4)
GK	CTTTCCAGGCCACAAACATT (서열번호 5)	TGAGTGTTGAAGCTGCCATC (서열번호 6)
GAPDH	GCCTTCCGTGTTCCTACCC (서열번호 7)	TGCCTGCTTCACCACCTT (서열번호 8)

[0075] 도 7에서 확인되는 바와 같이, 당뇨가 유발된 실험군과 대비하여 필로둘신 투여군에서 G6Pase 및 PEPCK가 감소하고, GK가 증가되는 것이 확인되어, 필로둘신 투여에 따라 당신생합성 기전이 저해되는 것을 확인하였다.

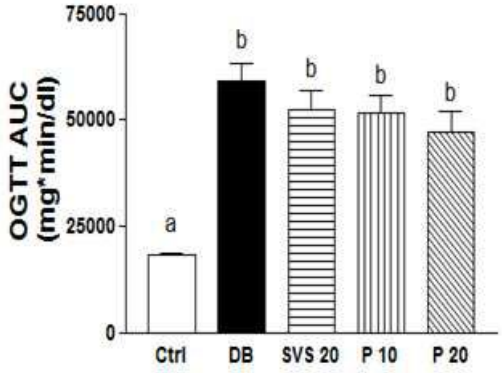
[0076] 상기 결과들로부터 본원 발명에 따른 필로둘신이 당뇨병의 예방, 치료 및 개선에 효과가 있음이 확인되었다.

도면

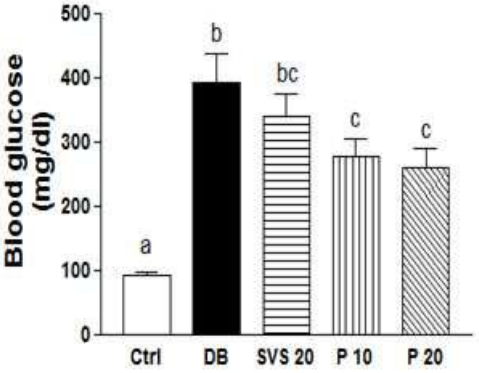
도면1



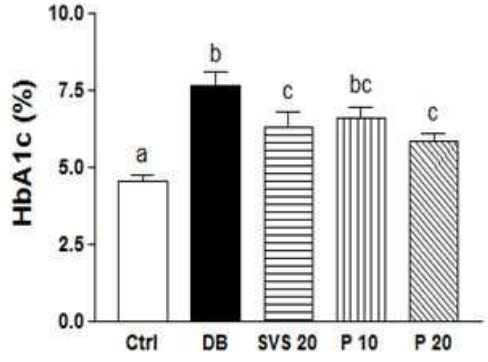
도면2


OGTT AUC
(mg*min/dl)
75000
50000
25000
0
a
b
b
b
b
Ctrl
DB
SVS 20
P 10
P 20

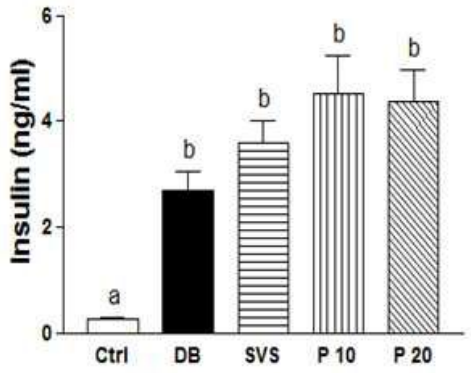
도면3


Blood glucose
(mg/dl)
500
400
300
200
100
0
a
b
bc
c
c
Ctrl
DB
SVS 20
P 10
P 20

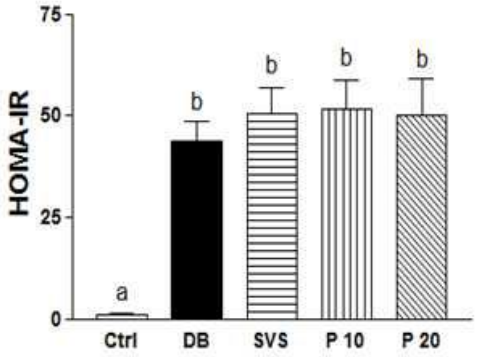
도면4


HbA1c (%)
10.0
7.5
5.0
2.5
0.0
a
b
c
bc
c
Ctrl
DB
SVS 20
P 10
P 20

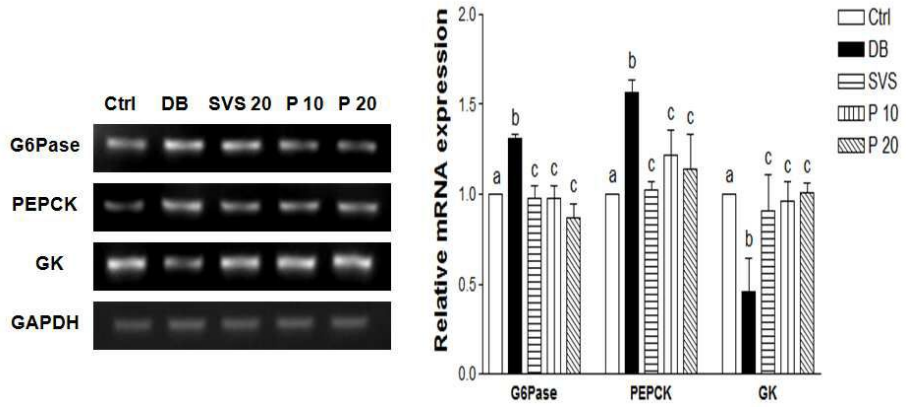
도면5



도면6



도면7



서 열 목 록

<110> Ewha University - Industry Collaboration Foundation

<120> COMPOSITION COMPRISING PHYLLODULCIN OF SALTS THEREOF FOR PREVENTION, IMPROVEMENT AND TREATMENT OF DIABETES

<130> P16-067-EWHA

<160> 8

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> G6Pase Forward primer

<400> 1

aggaaggatg gaggaaggaa 20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> G6Pase Reverse primer

<400> 2

tggaaccaga tgggaaagag 20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PEPCK Forward primer

<400> 3

agagcagaga gacacagtgc 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PEPCK Reverse primer

<400> 4

agggcgagtc tgtcagttca 20

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GK Forward primer

<400> 5

ctttccaggc cacaaacatt 20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GK Reverse primer

<400> 6

tgagtgttga agctgccatc 20

<210> 7

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GAPDH Forward primer

<400>

7

gccttccgtg ttcctaccc 19

<210> 8

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GAPDH Reverse primer

<400> 8

tgcctgcttc accacctt 18