



- (51) 국제특허분류:
A61K 36/29 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A23L 1/29 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/009618
- (22) 국제출원일: 2012년 11월 14일 (14.11.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (71) 출원인: 한국한의학연구원 (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) [KR/KR]; 305-811 대전시 유성구 유성대로 1672, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 김진숙 (KIM, Jin Sook); 151-050 서울시 관악구 봉천동 1615-17, 반석블레스빌 804 호, Seoul (KR). 김정현 (KIM, Jung Hyun); 150-863 서울시 영등포구 양평동 1가 238-18, Seoul (KR). 김찬식 (KIM, Chan Sik); 302-777 대전시 서구 둔산동 샘머리아파트 208동 403 호, Daejeon (KR). 김영숙 (KIM, Young Sook); 305-308 대전시 유성구 장대동 푸르지오아파트 109동 203 호, Daejeon (KR). 손은진 (SHON, Eun Jin); 305-759 대전시 유성구 하기동 송림마을아파트 510동 1205 호, Daejeon (KR). 정동호 (JUNG, Dong Ho); 300-090 대전시 동구 가양동 569-27, Daejeon (KR). 이윤미 (LEE, Yun Mi); 301-788 대전시 중구 오류동 삼성아파트 24동 1501 호, Daejeon (KR). 유송이 (YU, Song Yi);

142-812 서울시 강북구 미아동 783-19, Seoul (KR). 이익수 (LEE, Ik Soo); 306-751 대전시 대덕구 범동 주공아파트 129동 305 호, Daejeon (KR). 김운순 (KIM, Ohn Soon); 156-093 서울시 동작구 사당 3동 201, 141-40, Seoul (KR).

(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 135-855 서울특별시 강남구 양재천로 163 STX R&D 센터 6층 한얼국제특허사무소, Seoul (KR).

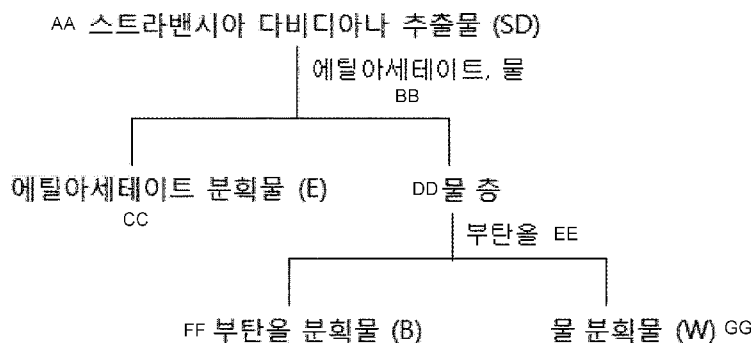
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU,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

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND FUNCTIONAL HEALTH FOOD CONTAINING STRANVAESIA DAVIDIANA EXTRACT FOR PREVENTING OR TREATING DIABETES COMPLICATIONS

(54) 발명의 명칭 : 스트라벤시아 다비디아나 추출물을 포함하는 당뇨병병증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품



AA ... Stravaesia davidiana extract (SD)
BB ... Ethyl acetate, water
CC ... Ethyl acetate fraction (E)
DD ... Water layer
EE ... Butanol
FF ... Butanol fraction (B)
GG ... Water fraction (W)

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for preventing or treating diabetes complications, in which a Stranvaesia davidiana extract or a fraction thereof can be useful in preventing or treating diabetic complications, such as diabetic retinopathy or diabetic nephropathy, by effectively inhibiting vasodilation or vascular hyperplasia in animal diabetes model tests.

(57) 요약서: 본 발명은 당뇨병병증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 스트라벤시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물은 당뇨모델 동물실험에서 혈관 확장 또는 비후를 효과적으로 억제함으로써, 당뇨병망막병증 또는 당뇨병신증과 같은 당뇨병병증 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.



MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, **공개:**

TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,

ML, MR, NE, SN, TD, TG). — 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 스트란베시아 다비디아나 추출물을 포함하는 당뇨합병증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품 기술분야

- [1] 본 발명은 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨합병증 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물 또는 건강기능식품에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 당뇨병은 전 세계적으로 중요한 성인병 중의 하나로서, 최근 우리나라에서도 급속한 경제 성장과 더불어 당뇨병 유병률이 10%에 달하며, 현재 전 세계적으로 2억 4천만명이 넘었으며, 2025년에는 전 세계적으로 3억 8천만명으로 증가하고, 이중 60%가 아시아 지역에서 발병할 것이라고 2009년 미국의사협회(JAMA)에서 발표하였다. 특히, 당뇨병 발병시기가 중장년으로 당겨졌으며, 또한 수명이 연장됨으로서 합병증으로 진전되는 것을 피할 수 없는 상황이 되었다.

[4]

- [5] 당뇨병의 이환 기간이 길어짐에 따라 전신의 다양한 합병증을 동반하게 되는데, 대표적으로 심혈관계 질환, 당뇨신증, 당뇨신경병증, 당뇨망막병증이 발생하게 된다. 당뇨망막병증(Diabetic Retinopathy, DR)은 당뇨 환자에게서 당뇨 진단 10년 내에 60% 이상에서, 20년 내에 90% 이상에서 나타난다. 모든 연령대에서 당뇨병보다는 당뇨합병증 환자 증가율이 높아졌다. 특히 40~50대의 경우 말초순환장애 당뇨합병증 환자 증가율이 당뇨환자보다 6.5배, 당뇨성 망막병증은 2.2배나 높았다. 말초순환장애 당뇨합병증의 진료비는 2006년 807억원에서 2010년 1530억원으로 당뇨병성 망막증은 327억원에서 505억원으로 54.4% 증가했다(중앙일보 2011년 8월 29일자). 이는 평균 수명율이 늘어나면서 당뇨병 병력이 오래된 환자가 늘고 있기 때문이다. 이는 당뇨병 환자가 당뇨합병증으로 발병되지 않도록 사전에 조치를 취하는 것이 얼마나 중요한가를 나타낸다.

[6]

- [7] 당뇨합병증의 종류 중 특히, 당뇨망막병증은 당뇨병의 미세혈관 합병증(microangiopathy)의 하나로 망막 혈관의 투과성 변화와 혈관 폐쇄, 허혈 변화(ischemia), 신생혈관 생성(neovascularization), 그리고 이에 따른 섬유혈관 증식(fibrovascular proliferation)을 특징으로 한다.

[8]

- [9] 당뇨망막병증은 성인의 최대의 후천적 실명 원인으로, 미국의 경우 매년

12,000명에서 24,000명이 당뇨로 인해 실명에 이르고 있다. 미국의 연구에서, 당뇨망막병증의 유병률은 당뇨 환자의 40% 정도로 추산되며 8% 정도는 실명에 이를 수 있는 심각한 상태인 것으로 보고되고 있다.

[10]

[11] 레이저 치료 혹은 유리체 수술적 치료에도 불구하고 병증이 계속 진행되어 실명에 이르는 환자가 아직도 많아, 당뇨망막의 조기발견과 진행 억제, 고위험군에 대한 조기 치료에 대한 필요성이 증가하고 있으나 당뇨망막병증의 병인은 아직 정확하게 밝혀지지 않는다고, 이와 같은 당뇨합병증에 효과적인 치료제도 한정적인 실정이다.

[12]

[13] 또한, 당뇨신경증은 당뇨병의 가장 일반적인 합병증으로 80% 이상의 당뇨환자에서 발생하는데, 대사 부산물의 축적과 신경세포의 마이엘린 부위의 손실과 미세혈관의 변화에 의해 신경증상이 발병한다. 신경증의 치료는 일반적으로 쉽게 이루어지지 않고 있으며, 혈당조절을 통한 예방이나, 통증과 같은 증상의 경감이 이루어지고 있다. 당뇨에 의한 말초혈관 질환은 약 20년의 유병기간 후 45%의 환자에서 발견되는 질환으로 혈관의 경화 등이 동반되며, 혈액순환 장애가 일반적인 증상이며, 완전한 치유는 어렵다고 알려져 있다.

[14]

[15] 한편, 스트란베시아 다비디아나(*Stranvaesia davidiana*)는 국내에 서식하는 상록관목 또는 소교목으로서, 스트란베시아 다비디아나 잎 추출물의 염증 억제효과가 있어, 피부 진정 및 여드름, 아토피 피부에 적용하여 피부 자극완화 화장품으로 사용될 수 있다고 보고되었다(한국공개특허 제10-2008-0028029호). 또한 참스트란베시아 다비디아나(*Paulownia tomentosa*) 추출물은 천연 항산화제 효능이 있고(한국 공개특허 제10-2005-0117974호), 벽스트란베시아 다비디아나(*Firmiana simplex*) 추출물은 활성산소 제거 효능(한국공개특허 제10-2003-0016706호)이 있다는 것이 보고되었다. 그러나 상기 문헌 어디에도 스트란베시아 다비디아나의 항당뇨 합병증에 효과에 대한 기재는 없었다.

[16]

[17] 이러한 배경 하에, 본 발명자는 당뇨합병증을 예방 또는 치료하기 위한 천연 약제를 연구하던 중, 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물이 혈관 비대 및 두께의 증가를 효과적으로 억제함으로서, 당뇨합병증의 예방 또는 치료 효능이 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[18]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[19]

본 발명은 당뇨합병증을 예방 또는 치료할 수 있는 스트란베시아 다비디아나 추출물, 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물 및

건강기능식품을 제공하기 위한 것이다.

[20]

과제 해결 수단

[21] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 스트란베시아 다비디아나(*Stranvaesia davidiana*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병병증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[22]

[23] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물"은, 스트란베시아 다비디아나로부터 액체의 용매를 사용하여 추출된 특정 성분을 의미한다. 상기 용매로는 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올, 에틸아세테이트 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다. 유효성분을 효율적으로 추출하기 위하여 메탄올, 에탄올 또는 이들과 물의 혼합물로 추출하는 것이 바람직하다. 메탄올과 에탄올의 농도는 10% 내지 90%가 바람직하나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 발명에 있어서 상기 추출물에는 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 이들 조정제물 또는 정제물 중 어느 하나를 포함한다.

[24]

[25] 본 발명의 스트란베시아 다비디아나 추출물은, 스트란베시아 다비디아나의 가지, 잎 또는 뿌리를 추출한 것을 사용할 수 있다. 추출방식으로는 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출, 초음파 추출 및 증기 추출로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나를 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[26]

[27] 또한, 본 발명에서 상기 스트란베시아 다비디아나 추출물에 추가로 물을 넣어 현탁시키고 n-헥산, 클로로포름 또는 에틸아세테이트와 같은 비극성 용매를 사용하여 분획함으로써 분획물을 제조할 수 있다. 바람직하게는 스트란베시아 다비디아나 에탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 에틸아세테이트로 분획하여 얻은 에틸아세테이트 분획물을 사용할 수 있다. 또는, 바람직하게 스트란베시아 다비디아나 에탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 에틸아세테이트로 분획하여 얻은 물 분획물을, 부탄올로 분획하여 얻은 부탄올 분획물 또는 물 분획물을 사용할 수 있다. 또는, 바람직하게 스트란베시아 다비디아나의 에탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 부탄올로 분획하여 얻은 부탄올 분획물 또는 물 분획물을 사용할 수 있다.

[28]

[29] 또한, 상기 분획물은 메탄올, 에탄올, 프로판올 또는 이소프로판올 등의 극성 용매 및 에틸아세테이트, n-헥산, 디클로로메탄 또는 클로로포름 등의 비극성 용매 중에서 선택된 2종 이상으로 이루어진 혼합용매로 추가 분리하여 사용하는 것도 가능하다.

[30]

[31] 본 발명에서 사용되는 용어 "당뇨합병증"은, 당뇨병이 장기간 지속되는 경우 유발되는 증상을 의미한다. 당뇨합병증은, 당뇨병의 발병 기준 및 판단 기준과 상이하며, 당뇨합병증 치료제는 당뇨병 치료제와는 별개로 사용되고 있다.

[32]

[33] 당뇨합병증 질환은 대표적으로 당뇨망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨신증, 당뇨신경병증, 당뇨에 의한 말초혈관질환 등이 있으며, 직접적으로 망막증, 백내장, 신증 및 신경병증 등을 억제하는 것으로 직접적인 질환 치료의 효과를 나타낸다.

[34]

[35] 본 발명에서는 스트란베시아 다비디아나 추출물, 또는 이의 분획물이 당뇨합병증 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[36]

[37] 구체적인 일실시에 따르면, 본 발명의 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물은 고혈당으로 인한 제브라피쉬의 유리체 망막혈관의 확장을 유의성 있게 억제하였고, 혈관 두께를 정상으로 회복시켰다. 이로서, 고혈당으로 인한 혈관 이상을 동반하는 당뇨망막병증 등의 당뇨합병증 질환에 효과적인 예방 및 치료 작용을 가짐을 확인하였다.

[38]

[39] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"은, 상기 스트란베시아 다비디아나 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물의 투여로 당뇨합병증 질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 또한, 본 발명에서 사용되는 용어 "치료"는, 상기 스트란베시아 다비디아나 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물의 투여로 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[40]

[41] 본 발명의 조성물은 투여를 위하여, 상기 스트란베시아 다비디아나의 추출물 또는 이의 분획물 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[42]

[43] 본 발명의 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는, 제형화할 경우 통상 사용하는 충전제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는

부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형제제는 상기 스트란베시아 다비디아나 추출물, 또는 이의 분획물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[44]

[45] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[46]

[47] 또한, 본 발명은 스트란베시아 다비디아나 추출물, 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨합병증 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 즉, 본 발명의 건강기능식품은 당뇨합병증 질환을 예방 또는 개선하기 위하여 당뇨합병증의 발병 단계 이전 또는 발병 후, 질환 치료를 위한 약제와 동시에 또는 별개로서 사용될 수 있다.

[48]

[49] 본 발명에서 사용되는 용어 '개선'이란 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[50]

[51] 상기 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(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. 그 밖에 천연 과일주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또한, 건강기능식품은 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 껌류, 아이스크림류, 스프, 음료수, 차, 기능수, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 중 어느 하나의 형태일 수 있다.

[52]

[53] 또한 상기 건강기능식품은 식품첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, "식품첨가물"로서의 적합여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전청에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[54]

[55] 상기 "식품첨가물공전"에 기재된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고랭색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합 제제류들을 들 수 있다.

[56]

[57] 이때, 건강기능식품을 제조하는 과정에서 음료를 포함한 식품에 첨가되는 본 발명에 따른 추출물은 필요에 따라 그 함량을 적절히 가감할 수 있다.

[58]

발명의 효과

[59] 본 발명에 따른 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 조성물은 고혈당으로 인한 혈관 확장 또는 비후를 효과적으로 억제함으로써, 당뇨병증의 예방 또는 치료 조성물로 약학적으로 이용가능할 뿐만 아니라, 건강기능식품으로서도 유용하게 이용될 수 있는 효과가 있다.

[60]

도면의 간단한 설명

[61] 도 1은, 본 발명의 일실시예에 따른 스트란베시아 다비디아나 추출물의 계통분획 단계를 나타낸 것이다.

[62] 도 2는, 본 발명의 일실시예에 따른 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물의 제브라피쉬에서의 혈관두께 변화를 나타낸 형광이미지 사진이다.

[63] 도 3은, 본 발명의 일실시예에 따른 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물의 제브라피쉬에서의 혈관두께의 변화를 그래프로 나타낸 것이다. HG는 고혈당 처리군을 의미하고, SD-1 및 SD-5는 각각 스트란베시아 다비디아나 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리군을 의미하고, SDE-1 및 SDE-5는 각각 스트란베시아 다비디아나 에틸아세테이트 분획물 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리군을 의미하고, SDB-1 및 SDB-5는 각각 스트란베시아 다비디아나 부탄올 분획물 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리군을 의미하고, SDW-1 및 SDW-5는 각각 스트란베시아 다비디아나 물 분획물 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리군을 의미한다.

[64]

발명의 실시를 위한 형태

[65] 이하, 하기 제조예 및 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 제조예 및 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의

범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[66]

[67] 실시예 1: 스트란베시아 다비디아나 추출물, 및 이의 분획물의 제조

[68] 1) 추출단계

[69] 음건·세절한 스트란베시아 다비디아나(*Stranvaesia davidiana*)의 전초를 분쇄한 후 80% 에탄올을 넣고, 추출용기에서 상온상태로 48시간 동안 3시간 반복 추출한 후, 40°C에서 감압농축시켜 에탄올 추출물을 얻었다.

[70]

[71] 2) 농축, 건조단계

[72] 상기 에탄올 추출액을 여과한 후 감압 상태에서 농축하였다. 이때, 구성성분의 분해 및 가수분해를 방지할 수 있도록 농축 시 온도를 40°C 내지 45°C 이하로 유지하였다.

[73] 3) 계통분획 단계

[74] 도 1에 도시된 바와 같이, 스트란베시아 다비디아나의 분획물을 제조하였다. 먼저, 스트란베시아 다비디아나 에탄올 추출물에 500 ml의 물과 에틸아세테이트 500 ml를 넣고, 분액깔때기를 이용하여 물층과 에틸아세테이드층으로 분획하고, 얻은 에틸아세테이드층 분획물을 감압증류기를 이용하여 감압농축시켜 에틸아세테이트 분획물을 수득하였다.

[75]

[76] 또한, 상기 물층에 다시 n-부탄올 500 ml를 넣고, 분액깔때기를 이용하여 물층과 부탄올층으로 분획하고, 얻은 부탄올 분획물층과 물 분획물층을 각각 감압증류기를 이용하여 감압농축시켜 n-부탄올 분획물과 물분획물을 수득하였다.

[77]

[78] 실시예 2: 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물의 in vivo 항당뇨 합병증 효능 시험

[79]

[80] 제브라피쉬(Zebrafish)는 척추동물 중의 하나이며 실험기간이 상대적으로 짧으며, 쥐나 마우스 등의 설치류에 비해 가격이 비교적 낮은 장점으로 최신에 동물 실험으로 각광을 받고 있는 in vivo 시스템 모델이다(Disease models & Mechanisms, 3, 236-245(2010); Journal of Molecular Endocrinology (2007) 38, 433-440). 또한, 제브라피쉬를 30일 동안 고혈당 상태에서 배양하였을 때, 사람의 당뇨병성 비증식성 망막증(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR)의 초기 단계에서 보여지는 여러 가지 병태 생리학적 특징들이 유사하게 나타나는 것으로 확인되었다(Disease Models & Mechanisms(2010) 3, 236-245).

[81]

[82] 이하에서, 제브라피쉬를 이용하여 스트란베시아 다비디아나 추출물의 in vivo 시스템에서 항당뇨 합병증 효능을 측정하였다.

[83]

[84] 1) 실험방법

[85] ①제브라피쉬 발생배 준비

[86] 혈관내피세포에 특이적으로 형광단백질(green fluorescence protein)이 발현하는 형질전환 제브라피쉬(Tg(kdr:EGFP)) 암수를 교배하여 발생배(embryo)를 획득하였다.

[87]

[88] ② 고혈당 유도 및 약물처리

[89] 수정 후 24시간이 지난 시점에서, 형광을 발현하는 발생배를 선별하여 24 well plate에 5 개체씩 분주한 후 30mM 글루코스를 이용하여 고혈당을 유도하였다. 이때, 확인하고자 하는 약물(스트란베시아 다비디아나 추출물과 이의 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 및 물분획물)을 글루코스 용액에 같이 희석하여 처리하였다. 약물 처리 후 3일째 새로운 용액으로 교체하였다.

[90]

[91] ③ 유리체 혈관 변화 분석

[92] 고혈당 조건에서 5일간 처리한 후 4% 파라포름알데히드(paraformaldehyde)를 이용하여 하루 동안 고정하였다. 고정된 개체에서 수정체를 분리하여 형광실체현미경 하에서 유리체혈관(hyaloid vasculature)의 변화를 형광이미지 사진과 혈관 두께로 분석하였고 그 결과를 각각 도 2 및 도 3에 나타내었다.

[93]

[94] 2) 실험 결과

[95] 도 2에서 나타나듯이, 30 mM 글루코스 용액에서 5일간 배양한 고혈당군(HG)의 유리체 혈관은 대조군(Control)에 비하여 유의적으로 확장된 것을 확인할 수 있었다. 반면, 스트란베시아 다비디아나 에탄올 추출물(80% EtOH(SD))을 각각 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 씩 처리한 실험군에서는 혈관 확장이 유의적으로 억제되었다. 또한, 에틸아세테이트 분획물(EtOAC), 부탄올 분획물(BuOH) 및 물 분획물(Water)에서도 유의적으로 혈관 확장을 억제함을 확인하였다.

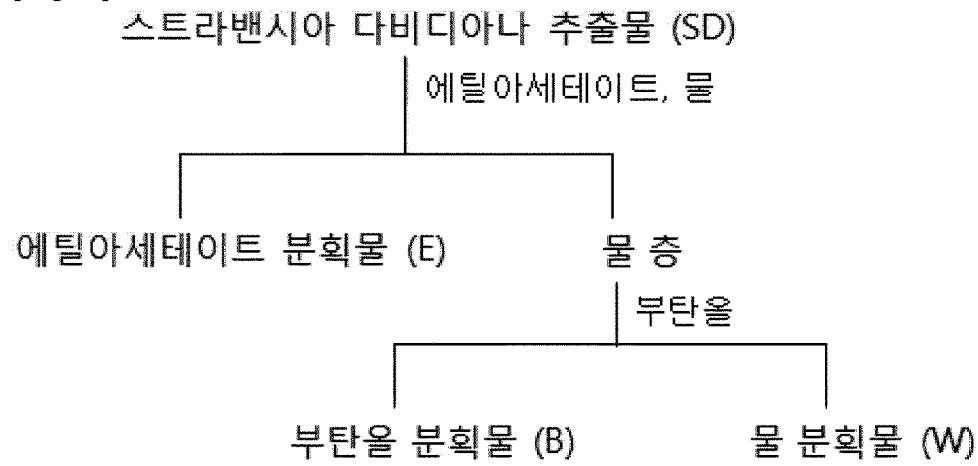
[96]

[97] 또한, 도 3에서 나타나듯이, 고혈당군(HG)의 혈관 두께는 대조군(Control)에 비하여 유의적으로 증가하였다. 반면, 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물을 처리한 경우, 고혈당으로 유도된 망막혈관의 확장을 유의성 있게 억제함을 입증하였다. 특히, 스트란베시아 다비디아나 추출물 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가한 경우(SD-5) 거의 정상 수준(Control)까지 혈관 두께가 회복되는 것을 확인할 수 있었다.

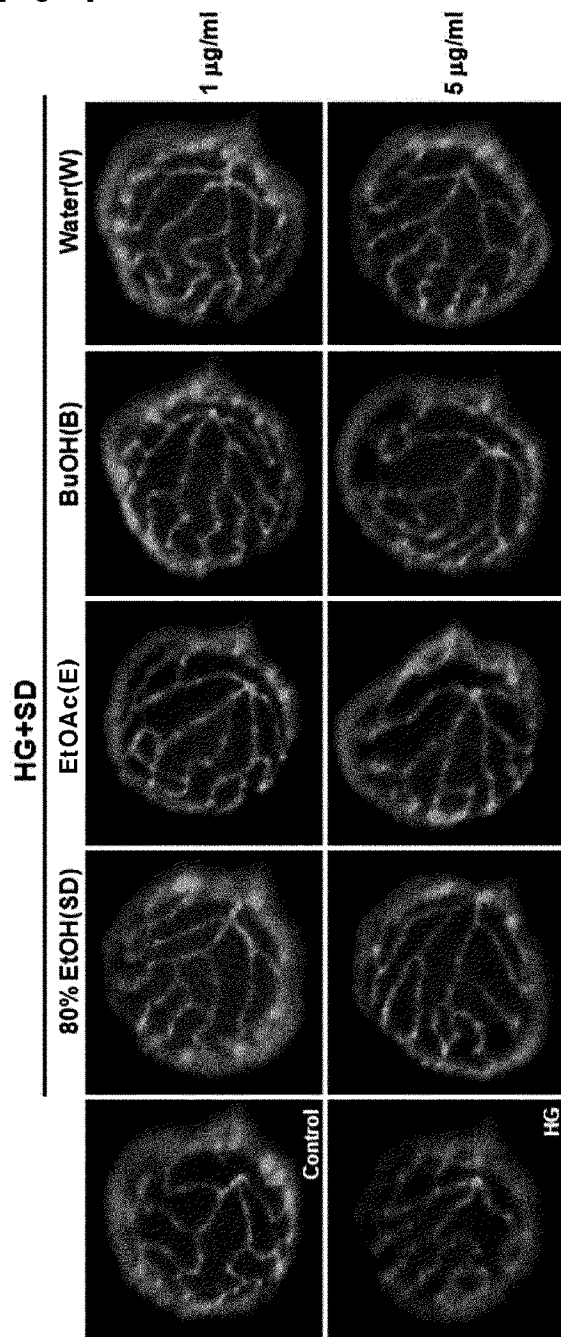
청구범위

- [청구항 1] 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병병증 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 스트란베시아 다비디아나 추출물은 가지, 잎 또는 뿌리를 추출한 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 스트란베시아 다비디아나 추출물은 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올, 에틸아세테이트 또는 이들의 혼합물로 추출한 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 추출은, 상온추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출, 초음파 추출 또는 증기 추출인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 분획물은 스트란베시아 다비디아나의 에탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 에틸아세테이트로 분획하여 얻은 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 분획물은 스트란베시아 다비디아나의 에탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 에틸아세테이트로 분획하여 얻은 물 분획물을, 부탄올로 분획하여 얻은 부탄올 분획물, 또는 물 분획물인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 분획물은 스트란베시아 다비디아나의 에탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 부탄올로 분획하여 얻은 부탄올 분획물 또는 물 분획물인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 8] 제 1항에 있어서, 상기 당뇨병병증은 당뇨병망막병증, 당뇨병신경증 또는 당뇨병에 의한 말초혈관질환인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 9] 스트란베시아 다비디아나 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병병증 예방 또는 개선용 건강기능식품.

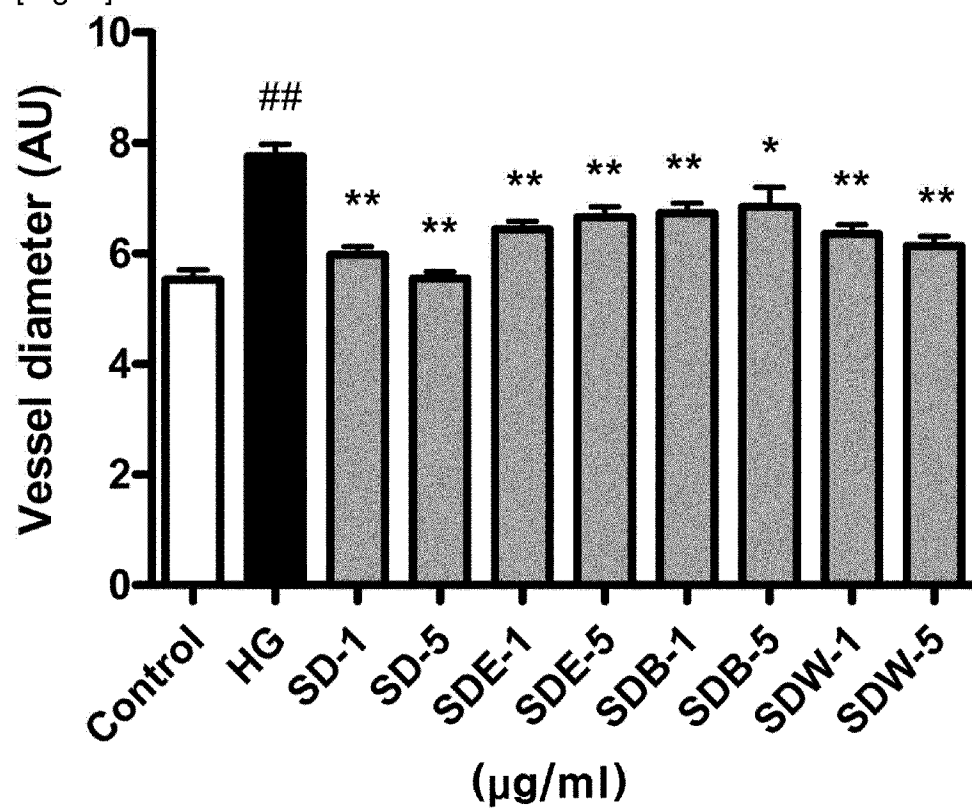
[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/009618**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****A61K 36/29(2006.01)i, A23L 1/29(2006.01)i, A61P 3/10(2006.01)i, A61P 3/00(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)

A61K 36/29; A61P 3/10; A61Q 19/00; A61K 31/7048; A61K 36/80; A61K 8/97; C09K 15/34

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) & Keywords: Stranvaesia davidiana(Stranvaesia davidiana), Paulownia tomentosa(Paulownia tomentosa), diabetic complications, diabetes mellitus

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KIM, H.-Y. et al.. "Screening of Korean forest plants for rat lens aldose reductase inhibition" Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1999, vol. 63, no. 1, pages 184-188. See abstract; table 184; table 1.	1-9
A	ALMEIDA, R. N. et al.. "Plants with central analgesic activity" Phytomedicine, 2001, vol. 8, no. 4, pages 310-322. See table 1.	1-9
A	KIM, J. Y. et al.. "protective effect of Ilex latifolia, a major component of "kudingcha", against transient focal ischemia-induced neuronal damage in rats " Journal of Ethnopharmacology, 2011, vol. 133, pages 558-564. See page 558.	1-9
A	KOKUBUN, T. et al., "Dibenzofuran phytoalexins from the sapwood tissue of Photinia, Pyracantha and Crataegus species", Phytochemistry, 1995, vol. 39, no. 5, pages 1033-1037 See abstract; pages 1033 and 1036	1-9



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

29 MAY 2013 (29.05.2013)

Date of mailing of the international search report

30 MAY 2013 (30.05.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2012/009618

Patent document
cited in search report

Publication
date

Patent family
member

Publication
date

NONE

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 36/29(2006.01)i, A23L 1/29(2006.01)i, A61P 3/10(2006.01)i, A61P 3/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류 기재)

A61K 36/29; A61P 3/10; A61Q 19/00; A61K 31/7048; A61K 36/80; A61K 8/97; C09K 15/34

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) & 키워드: 스트란베시아 다비디아나(Stranvaesia davidiana),
오동나무(Paulownia tomentosa), 당뇨병병증, diabetes mellitus

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KIM, H.-Y. 외 1명. `Screening of Korean forest plants for rat lens aldose reductase inhibition` Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1999년, 63권, 1호, 페이지 184-188. 요약; 페이지 184; 표 1 참조.	1-9
A	ALMEIDA, R. N. 외 2명. `Plants with central analgesic activity` Phytomedicine, 2001년, 8권, 4호, 페이지 310-322. 표 1 참조.	1-9
A	KIM, J. Y. 외 5명. `Protective effect of Ilex latifolia, a major component of "kudingcha", against transient focal ischemia-induced neuronal damage in rats` Journal of Ethnopharmacology, 2011년, 133권, 페이지 558-564. 페이지 558 참조.	1-9
A	KOKUBUN, T. 외 3명. `Dibenzofuran phytoalexins from the sapwood tissue of Photinia, Pyracantha and Crataegus species` Phytochemistry, 1995년, 39권, 5호, 페이지 1033-1037. 요약; 페이지 1033 및 1036 참조.	1-9



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

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2013년 05월 29일 (29.05.2013)

국제조사보고서 발송일

2013년 05월 30일 (30.05.2013)

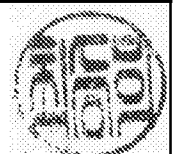
ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 82-42-472-7140

심사관

최승희

전화번호 82-42-481-8740



국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

없음