



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년02월12일

(11) 등록번호 10-1360879

(24) 등록일자 2014년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/185 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0017050

(22) 출원일자 2013년02월18일

심사청구일자 2013년02월18일

(56) 선행기술조사문헌

Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 5, No. 19, pp.4771-4779(2011.09.23.)*

Journal of Food Biochemistry. Vol. 34, No. 3, pp.639-660(2010.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

김미리

대전광역시 유성구 가정로 65, 대림아파트 101동 201호 (신성동)

석대은

대전 유성구 가정로 65, 101동 20호 (신성동, 대림두레아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김원준

전체 청구항 수 : 총 5 항

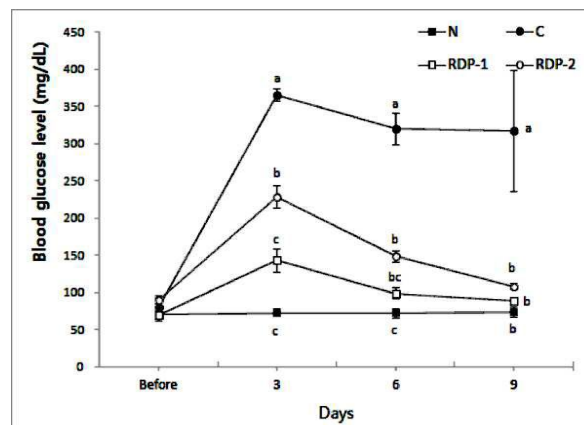
심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 가시까치밥나무 추출물을 함유하는 당뇨 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 당의 유입으로 인한 고혈당을 억제시키고 빠른 속도로 원래의 혈당으로 회복시키는 작용을 가지고 있으며, 식이이용효율을 개선하고, 당대사의 개선과 이로 인한 신장부담의 감소 효능이 있어 당뇨병의 치료와 예방에 효과적으로 이용될 수 있는 가시까치밥나무의 추출물을 함유하는 당뇨병 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김은선

대전광역시 유성구 대학로76번길 83 송원빌라 40
5호(궁동)

비야르마 비라수렌바

대전광역시 서구 계룡로251번길 25 목화빌라 501
호(월평동)

전혜련

전라북도 군산시 대학로 116 삼성아파트 1동 802
호(금광동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2011-0013606

부처명 교육과학기술부

연구사업명 이공분야기초연구사업 일반연구자지원사업 여성과학지지원사업

연구과제명 산화적 손상관련 염증반응에 대한 항염증성 기능성 식품소재개발

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교

연구기간 2012.05.01 ~ 2013.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

가시까치밥나무의 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 제1형 당뇨병 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 추출물은 C1-C3의 알콜 수용액으로 추출한 것을 특징으로 하는 제1형 당뇨병 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 추출물은 가시까치밥나무의 잎, 줄기 또는 열매의 추출물인 것을 특징으로 하는 제1형 당뇨병 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 가시까치밥나무는 채취한 그대로의 생물이거나 건조물인 것을 특징으로 하는 제1형 당뇨병 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 5

가시까치밥나무의 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 제1형 당뇨병 예방 및 개선용 식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 가시까치밥나무의 추출물을 함유하는 당뇨병 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0002]

배경기술

[0003]

최근 식생활 패턴의 서구화와 노인 인구의 증가에 따라 암을 비롯한 심장병, 고혈압, 심근경색증, 동맥경화증, 당뇨병 및 치매 등의 여러 생활습관병이 크게 증가하고 있다. 모든 생물체들은 생체 내에서 자유라디칼 반응에 의해 생성되는 유해한 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)을 생성한다. 체내에서 이러한 활성산소종과 유리라디칼은 세포막 손상, DNA 변성, 단백질 분해, 지질 산화 등을 초래하여 생체기능을 저하시킴으로써 노화를 유발하고 암, 동맥경화, 심장병, 당뇨병, 류마티스성 관절염 등과 같은 여러 질환의 원인이 되는 것으로 알려져 있다.

[0004]

당뇨병은 유병율이 매우 높은 대표적인 만성대사성 질환으로, 인슐린의 분비량이 부족하거나 인슐린 세포수용 능력의 저하 등으로 생체의 당 이용 능력의 감퇴를 야기하고 혈중 포도당의 농도가 높아지는 고혈당을 특징으로 한다. 혈중에 과잉 존재하게 되는 당은 심장순환계, 신경계 및 신장의 장애를 초래하고 더불어 각종 면역기능

의 이상과 합병증을 유발시킨다. 근본적으로 당뇨병을 치료할 수 있는 방법은 아직 개발되지 못하여 지속적인 혈당 관리가 최선의 치료방법이다. 하지만 현재 사용되고 있는 경구용 혈당 강하제는 저혈당, 체중 증가, 오심, 구토, 소화 불량, 젖산 축적의 위험성, 신부전증, 간 독성 등 여러 가지 형태의 부작용이 나타날 수 있으며 근본적인 치료에는 한계가 있다. 우리나라와 같이 탄수화물의 섭취가 높은 식생활에서는 당뇨병 유병율도 높게 나타나므로 최근에는 당뇨병 예방 및 혈당 개선에 적합한 기능성 건강식품을 소재로 한 당뇨병 예방 및 치료제로서의 가능성에 관한 연구들이 활발히 이루어지고 있다.

[0005] 가시까치밥나무(*Ribes diacanthum* Pall)는 Ribes속에 속하는 관상식물로 고원의 나무 밑에서 자라는데 가지에 가시가 있으며 잎은 어긋나고 달걀 모양 또는 달걀을 거꾸로 세운 모양이다. 또한 봄에 총상꽃차례에 황록색 꽃이 많이 피고 열매는 둥글거나 좀 길쭉한 것도 있으며 8-9월경에 붉게 익으며 관상용으로 공원, 유원지에서 재배할 수 있다. 성숙된 과육에는 18종의 아미노산과 10종의 미네랄 성분을 비롯하여 당, 단백질, 지방, 섬유소, Vitamin C, Vitamin B1, Vitamin B2, Vitamin PP, Vitamin A, Vitamin E, carotene이 풍부하다고 보고되었다. 이러한 가시까치밥나무의 열매는 생것으로 혹은 요리하여 먹기도 하며 단맛의 산성 향을 가지고, 디저트로 이용이 가능하다고 알려져 있다. 하지만 작물 전체에 대한 생리활성에 대한 연구와 추출물의 항당뇨 효과에 대한 연구는 전무한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 당뇨의 예방 및 치료에 유효한 새로운 약학 조성물을 제공하고자 하는 것을 목적으로 한다.

[0007] 본 발명은 또한 천연물 유래로서 당뇨의 예방 및 치료에 효과가 있으면서, 다양한 식품에의 적용이 가능한 식품 조성물을 제공하고자 하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 진술한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 가시까치밥나무를 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 당뇨병 예방 및 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0009] 본 발명의 추출물은 alloxan에 의해 유도된 당뇨병 모델에 대해 예방군과 치료군에서 당분 섭취로 인한 혈당의 상승을 크게 억제하였으며, 빠른 속도로 원래의 혈당 수치로 회복시켰다. 가시까치밥나무 추출물의 농도 간의 혈당 개선에 대한 차이는 크지 않았다. 혈액분석 결과 가시까치밥나무 추출물의 투여는 당뇨로 인한 콜레스테롤의 증가를 완화시키는 역할을 하였으며 당대사의 개선으로 인한 신장부담의 경감에 효능이 있었다. 또한 당뇨병 환자들에게서 관찰되는 다식증을 완화시키고, 식이이용효율을 개선하는데 효과적이었다.

[0010] 이러한 본 발명에서 상기 추출물은 C1~C3의 알콜 수용액으로 추출한 것이다. 하기 실시예에서는 80% 메탄올 수용액을 사용한 결과만을 기재하였으나, 사전실험에 의한 당부하검사에서 50~80%의 C1~C3 알콜 수용액을 사용한 추출물 모두에서 다소 투여량의 차이는 있었으나 모두 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 하기 실시예에서는 80% 메탄올 수용액의 에틸아세테이트 분획에 대해 세부적인 동물 모델 실험을 행하였으나, 에틸아세테이트 분획이 아닌 알콜 수용액 그 자체도 당부하검사에서 유사한 결과를 나타내었다.

[0011] 상기 추출물은 가시까치밥나무의 잎, 줄기 또는 열매의 추출물일 수 있다. 이때 가시까치밥나무는 채취한 그대로의 생물을 사용한 것일 수 있다. 그러나 이 경우 이들의 채취기간이 한정되고 보관, 유통 및 사용에 제한이 따르기 때문에 이들을 건조한 상태로 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[0012] 본 발명의 조성물은 치료용 약제로 이용하기 위해서 약제학적 분야에서 공지의 방법에 의하여 제조될 수 있으며, 그 자체 또는 약학적으로 허용되는 담체(carrier), 부형제(forming agent), 희석제 등과 혼합하여 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여용 제제로 제형화하여 당뇨의 치료 및 예방제로 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 유효성분의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 제제의 형태, 환자의 연령, 성별 및 상태, 탈모의 정도 등에 따라 적절히 선택될 수 있다.

[0013] 본 발명의 가시까치밥나무의 추출물은 약학 조성물로서만이 아니라 식품 제조 시 첨가하여 당뇨병 예방 및 치료 효능을 갖는 식품을 제조할 수도 있다. 예를들면, 빵, 과자, 음료, 요구르트, 두부 등 다양한 식품의 제조 시 첨가하여 가시까치밥나무 추출물을 함유하는 식품의 형태로 제조할 수 있다.

발명의 효과

[0014] 이상과 같이 본 발명의 가시까치밥나무 추출물에 의하면 예방군과 치료군 모두에서 당뇨 유발 시 당의 유입으로 인한 고혈당을 억제시키고 빠른 속도로 원래의 혈당으로 회복시키는 작용을 가지고 있으며, 식이이용효율을 개선하고, 당대사의 개선과 이로 인한 신장부담의 감소 효능이 있어 당뇨병의 치료와 예방에 효과적으로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 예방군에서 본 발명의 일실시예에 의한 가시까치밥나무 추출물의 혈당에 미치는 영향을 보여주는 그래프.

도 2는 치료군에서 본 발명의 일실시예에 의한 가시까치밥나무 추출물의 혈당에 미치는 영향을 보여주는 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하 실시예를 들어 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 그러나 이러한 실시예는 본 발명의 기술적 사상의 내용과 범위를 쉽게 설명하기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 한정되거나 변경되는 것은 아니다. 또한 이러한 예시에 기초하여 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 다양한 변형과 변경이 가능함은 당업자에게는 당연할 것이다.

[0017] 실시예 1 : 가시까치밥 나무 추출물의 제조

[0018] 가시까치밥나무(*Ribes diacanthum* pall)는 2010년 8월부터 10월 사이에 몽골 북쪽에 위치한 Khentii 산에서 채취하여 음건한 것을 울란바토르(Ulaanbaatar) 대학교 생물학과 Botany Herbarium 에서 기증을 받아 잎, 줄기, 열매 전체를 시료로 사용하였다.

[0019] 건조시료 3kg에 80% Methanol 9 L를 첨가하고 실온에서 30일간 추출한 후 그 상등액을 여과(No. 4, Whatman International Limited, Kent, England)하고, 40℃ 이하 수욕 상에서 감압 농축하였다(N11, Yamato Co., Tokyo, Japan). 농축된 잔사는 261.0 g으로 수율은 8.70% 이었다. 이 후 농축잔사를 물에 현탁하여 에틸 아세테이트로 추출하고, 유기층을 여과한 후 40℃ 이하 수욕 상에서 감압 농축하여 추출물 41.0mg을 얻었다(수율 15.71%). 추출물은 유리병에 넣고 밀봉하여 4℃이하에 보관하며 사용하였다.

[0020] 실시예 2 : 가시까치밥 나무 추출물의 당뇨에 대한 영향 측정

[0021] 1) 실험동물의 준비

[0022] 무균환경에서 사육된 30-32g의 7주령 수컷 ICR마우스를 (주)두얼바이오텍으로부터 공급받아 사료와 물을 무제한으로 급여하면서 1주일간의 실험실 순화과정을 거친 후 8주령을 실험에 사용하였다. 동물실의 사육환경은 온도 22±2℃, 상대습도 55±2%, 환기횟수 12 회/시간, 조명주기 12시간(07:00 - 19:00), 조도 150 - 300 lux로 조절하였으며, 실험동물용 pellet형 고형사료(Purina Rat Chow, 다물사이언스(주), 대전 유성)를 자유급여하였다.

[0023] 2) 경구당부하 검사(oral glucose tolerance test, OGTT)

[0024] 먼저, 가시까치밥나무(RDP) 추출물의 투여가 당뇨쥐의 내당능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 경구당부하 검사를 실시하였다.

[0025] 구체적으로, 1)에서 준비한 실험동물에 실시예 1에서 제조한 가시까치밥나무 추출물을 하기 표에 기재된 투여량에 따라 경구투여하고 7일 후 alloxan monohydrate(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA cat. A7413)를 $1 \times$ phosphate buffered saline($1 \times$ PBS)에 녹여 50 mg/kg B.W 농도로 꼬리 정맥에 주사하여 당뇨를 유도하였다. 12시간 절식시킨 후 포도당 용액(2 g/kg B.W)를 경구투여하고 이로부터 0, 30, 60, 90, 120분 후에 꼬리정맥으로부터 채혈하여 전혈로부터 혈당측정기(One touch ultra)를 사용하여 혈당을 측정하고 그 결과를 표 1에 기재하였다. 실험은 2회 반복하여 평균값을 나타내었다.

표 1

실험군	0 분	30 분	60 분	90 분	120 분
정상군	98.5±23.33 ^{b1)}	343±21.9 ^{cd}	231±158.4 ^b	100±46.66 ^b	58.5±36.06 ^b
대조군	118.5±3.53 ^b	500±4.24 ^{ab}	273±89.09 ^b	150.5±60.1 ^b	86.5±12.02 ^b
추출물(2mg/kg) + Alloxan	85.5±47.37 ^b	452±22.67 ^{bc}	295±72.12 ^b	208.5±139.3 ^b	66.5±16.26 ^b
추출물(5mg/kg) + Alloxan	123.5±0.7 ^b	247.0±2.82 ^d	148±93.33 ^b	89.5±27.57 ^b	74.0±11.31 ^b
추출물(10mg/kg) + Alloxan	122.0±2.82 ^b	430±130.8 ^{bc}	177±1.41 ^b	123±50.91 ^b	83.0±36.76 ^b

[0026]

[0027] 모든 실험군에서 포도당 부하 30분 후 최고 혈당치를 보였으며, 투여 60분 후 부터는 혈당이 감소하는 경향을 나타내었다. 특히 가시까치밥나무 추출물 5 mg/kg 투여군과 10 mg/kg 투여군은 포도당 투여 60분 후 정상군보다 낮은 혈당 수치를 나타내었으며, 가시까치밥나무 추출물 5 mg/kg 투여군은 최대 혈당치 역시 정상군보다 낮은 값을 보여주었다($p < 0.05$). 이러한 결과는 가시까치밥나무 추출물의 투여가 당의 유입으로 인한 고혈당을 억제시키고 빠른 속도로 원래의 혈당으로 회복시키는 작용을 가지고 있으며 이는 식후 고혈당의 조절에도 기여할 수 있을 것이라는 의미를 포함한다. 가시까치밥나무 추출물 2 mg/kg 투여군은 가장 낮은 혈당감소를 나타내어, 이로부터 가시까치밥나무 추출물의 항당뇨 실험의 농도를 1 mg/kg과 3 mg/kg으로 설정하여 진행하였다.

[0028] 3) 가시까치밥나무 추출물의 혈당에 대한 영향 측정

[0029] ICR 마우스는 예방군(Prevention group)과 치료군(Treatment group)으로 분류하고, 각각 정상군(N), Alloxan투여 대조군(C), Alloxan+가시까치밥나무 추출물(1 mg/kg B.W/day) 투여군(RDP-1), Alloxan+가시까치밥나무 추출물(3 mg/kg B.W/day) 투여군(RDP-2), 총 8개의 실험군으로 나누어 사육하였다.

[0030] 예방군은 14일 동안 가시까치밥나무 추출물을 각 실험군별 해당 농도로 경구 투여한 후 alloxan monohydrate(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA cat. A7413)을 $1 \times$ phosphate buffered saline($1 \times$ PBS)에 녹여 50 mg/kg B.W 농도로 꼬리 정맥에 주사하여 당뇨를 유도하였으며, 치료군은 Alloxan (50 mg/kg B.W) 주사 후 21일 동안 가시까치밥나무 추출물을 각 실험군별 해당 농도로 경구 투여하여 비교하였다. 정상군은 가시까치밥나무 추출물의 경구투여와 alloxan의 주사를 행하지 않았으며, 대조군은 가시까치밥나무 추출물은 투여하지 않고 alloxan 만을 주사하였다. 모든 시료는 마우스용 zondae를 사용하여 200 μ L씩 매일 일정한 시간에 경구 투여하였다.

[0031] 당뇨유발을 위한 Alloxan의 투여는 마우스를 13시간 절식시킨 후 실시하였으며, 당뇨유발 직전을 1일로 하여 예방군은 alloxan 투여 직전과 3, 6, 9일의 해당일에, 치료군은 alloxan 투여 직전과 3, 6, 9, 12, 15, 18 및 21일의 해당일에 13시간 공복시킨 상태에서 일정한 시간에 꼬리로부터 혈액을 채취한 후 전혈로부터 혈당측정기(One touch ultra)를 사용하여 측정하였다.

[0032] 도 1과 도 2는 각각 예방군 및 치료군의 혈당측정 결과이며 N은 정상군, C는 대조군을 나타낸다.

[0033] 도 1을 보면, 예방군에서 alloxan 주사에 의해 당뇨를 유도하기 전에는 각 그룹에서 혈당이 69.8~90.4 mg/dL였으나, alloxane 주사 3일에는 정상군에 비해 대조군과 실험군 모두 최대 혈당을 보여주었으나, RDP-1과 RDP-2의 최대 혈당은 대조군에 비해 모두 최저 혈당이 낮은 것을 관찰할 수 있었다. 또한 최고 혈당에 도달한 이후 혈

당의 감소 효과도 뚜렷하여 alloxan 투여 9일째에 대조군(317 ± 181.81 mg/dL)에 비하여 RDP-1과 RDP-2의 혈당은 각각 88.60 ± 8.79 mg/dL, $100 \pm 60 \pm 8.23$ mg/dL로 정상군(73.80 ± 14.65 mg/dL)과 함께 대조군에 대해 통계학적인 유의성을 나타내었다.

[0034] 도 2는 치료군의 혈당 측정 결과로, 실험기간 중 당뇨유발군의 혈당 수준은 예방군과 마찬가지로 alloxan 투여 직후에 가장 높은 수준을 나타내었으며, RDP-1, RDP-2의 최대 혈당치는 대조군에 비해 낮은 값을 나타내었다. 대조군에 비해 RDP-1과 RDP-2는 alloxan 투여일로부터 날자가 경과함에 따라 혈당 강하효과가 급격하게 나타났으며 21일 후에는 정상군과 유사한 수치를 나타내었다.

[0035] 상기 결과로부터 가시까치밥나무 추출물은 alloxan에 의한 당뇨유발 흰쥐에게 급격한 혈당증가를 억제하는 한편, 혈당 강하효과를 나타내어 당뇨병의 치료 및 예방에 유효함을 알 수 있었다.

[0036] 4) 가시까치밥나무 추출물의 체중, 음수량 및 식이섭취량에 대한 영향 측정

[0037] 3)의 혈당측정 실험을 하면서 동시에 체중, 음수량 및 식이섭취량을 측정하여 가시까치밥나무 추출물이 당뇨유발 동물에 미치는 영향을 추가적으로 파악하였다.

[0038] 체중은 동일 기간 일정한 시간에 동일한 순서로 동물용 체중계를 사용하여 측정하였으며, 예방군 및 치료군에 대한 결과를 도 3 및 도 4에 각각 도시하였다. 또한 3일 간격으로 1일 섭취한 식이의 양을 측정하여 1일 평균 식이섭취량을 구하여 표 2와 표 3에 나타내었다. 표 2 및 표 3에서 음수량은 측정 기간동안의 평균값이고, 체중증가량은 마지막 측정값-최초 측정값을 나타낸다. 식이이용효율(Food Efficiency Ratio, FER)은 식이섭취량(g)에 대한 체중 증가량(g)으로 계산하였다.

표 2

	음수량 (ml/day)	체중증가 (g)	식이량 (g/day)				FER (%)
			3일	6일	9일	평균	
정상군	5.1 ± 0.5^c	2.3 ± 1.1^{ab}	6.8	6	6.3	6.37 ± 0.40	44.2 ± 44.2^c
대조군	30.3 ± 2.7^a	-2.46 ± 0.7^a	9.3	12.6	11.7	11.20 ± 1.71	-28.4 ± 8.2^a
RDP-1	22.4 ± 6.0^b	1.5 ± 0.5^b	11.5	7.4	6.8	8.57 ± 2.56	18.6 ± 5.8^b
RDP-2	23.2 ± 6.4^b	1.8 ± 1.3^b	10.8	7.38	6.98	8.39 ± 2.10	21.2 ± 16.1^b

Values represent means SD (n = 5)

Values with different letters within the column are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

[0039]

표 3

	음수량 (ml/day)	체중증가 (g)	식이량 (g/day)								FER (%)
			3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	평균	
정상군	6.8 ± 0.7^c	2.5 ± 1.4^b	4.9	6.1	5.9	6.3	5.9	6.7	6.6	5.88 ± 0.69	46.8 ± 26.6^d
대조군	31.0 ± 2.5^a	-3.02 ± 0.5^a	7.9	8.1	8.3	8.65	9.4	9.7	10.6	8.75 ± 1.17	-34.9 ± 5.7^a
RDP-1	26.4 ± 2.0^b	-1.0 ± 0.4^c	7	7.9	8.1	7.95	7.9	7.7	7.5	7.70 ± 0.75	-11.8 ± 4.6^c
RDP-2	26.7 ± 1.3^b	-2.1 ± 0.6^{ab}	7.2	8.25	8.13	8.18	8.22	7.95	7.925	7.65 ± 0.96	-25.6 ± 10.4^b

Values represent means SD (n = 5)

Values with different letters within the column are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

[0040]

[0041] 도 3 및 도 4에서 확인할 수 있듯이, 예방군 및 치료군 모두에 대하여 정상군에 비해 대조군과 RDP-1, RDP-2군의 체중이 모두 감소하기는 하였으나 RDP-1 alc RDP-2군은 감소 정도가 대조군에 비해 훨씬 적었다. 특히 예방군에서 체중에 대한 가시까치밥나무 추출물의 효과가 더욱 현저하였다.

[0042] 표 2 및 표 3으로부터 예방군 및 치료군의 대조군에서 정상군에 비해 식이섭취량의 증가와 식이이용효율을 저하를 관측할 수 있었으며, RDP-1과 RDP-2에서 이러한 증상이 완화된 것을 확인할 수 있었다. 음수량 또한 식이섭취량과 비슷한 경향을 나타내었으며, 이는 가시까치밥나무 추출물의 섭취가 당뇨 유발 쥐의 다식(polyphasia)증상을 완화시킨 것으로 생각된다.

[0043] 4) 가시까치밥나무 추출물의 장기에 대한 영향 측정

[0044] (1) 혈중 지표의 측정

[0045] 3)의 혈당측정 실험 후 당뇨유발 9일 후의 예방군과 당뇨유발 21일 후의 치료군의 실험동물들을 24시간 절식시킨 다음, 에테르로 마취하여 희생시킨 후 혈액을 채취하였다. 혈액은 채취 직후 14,000 rpm에서 15분 냉장원심분리한 후 혈청을 취하여 -70 °C에서 저장하면서 분석에 사용하였다. 혈청 중 중성지질(TG), 총 콜레스테롤(TCHO), 고밀도 지단백질(high density lipoprotein, HDL), GOT/AST(aspartate aminotransferase), GPT/ALT(alanine aminotransferase), UA(uric acid), CPK(creatine phosphokinase), BUN(blood urea nitrogen)을 혈액분석기(DRI-CHEM 3000, Fuji Photo Film Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하고 그 결과를 표 4 및 5에 나타내었다.

표 4

	TCHO	HDL (mg/dL)	TG (mg/dL)	HTR ¹⁾	AI ²⁾	GOT/AST (U/L)	GPT/ALT (U/L)	UA (mg/dL)	BUN (mg/dL)
정상군	258.0±2.8 ^{NS}	91.0±26.9 ^{NS}	154.0±32.5 ^b	0.35±0.11	1.97±0.91	86.0±0.0 ^b	30.5±3.3 ^{NS}	3.6±0.1 ^a	27.1±0.2 ^b
대조군	425.0±35.4 ^a	110.0±0.0	335.5±43.1 ^a	0.26±0.02	2.86±0.32	128.5±20.5 ^a	72.5±0.7 ^a	2.1±0.2 ^b	41.2±4.7 ^a
RDP-1	335.8±38.1 ^b	97.0±15.1	208.3±64.5 ^{ab}	0.26±0.03	2.49±0.41	74.0±11.8 ^b	44.3±7.1 ^{bc}	1.1±0.6 ^b	32.5±3.5 ^b
RDP-2	322.8±39.9 ^{bc}	110.0±0.0	213.3±75.9 ^{ab}	0.26±0.04	1.93±0.360	78.0±14.9 ^b	61.3±15.2 ^{ab}	1.0±0.7 ^b	28.5±3.1 ^b

Values represent means SD (n = 5)

¹⁾ HTR = HDL-cholesterol/total cholesterol

²⁾ AI(Atherogenic Index) = (TC - HDL-C) / HDL-C

^{NS} : Not Significantly.

Values with different letters within the column are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

[0046]

표 5

	TCHO	HDL (mg/dL)	TG (mg/dL)	HTR ¹⁾	AI ²⁾	GOT/AST (U/L)	GPT/ALT (U/L)	UA (mg/dL)	BUN (mg/dL)
정상군	204.5±16.3 ^{NS}	86.0±33.9 ^{NS}	102.0±24.0 ^b	0.43±0.20	1.62±1.22	89.0±11.3 ^b	37.5±3.5 ^{NS}	3.6±0.3 ^a	26.4±1.5 ^b
대조군	298.5±30.4 ^a	110.0±0.0	394.5±54.4 ^a	0.37±0.04	1.71±0.28	139.5±9.2 ^a	70.5±0.7 ^a	2.1±1.0 ^b	44.7±8.3 ^a
RDP-1	205.5±39.3 ^b	101.5±9.9	201.8±72.4 ^b	0.51±0.13	1.06±0.55	71.5±14.2 ^b	34.8±4.9 ^b	0.8±0.2 ^c	29.0±2.6 ^b
RDP-2	237.5±24.0 ^{ab}	103.3±7.8	208.3±64.1 ^b	0.44±0.07	1.32±0.33	65.0±11.4 ^b	38.8±2.5 ^b	1.1±0.4 ^c	32.0±4.5 ^b

Values represent means SD (n = 5)

¹⁾ HTR = HDL-cholesterol/total cholesterol

²⁾ AI(Atherogenic Index) = (TC - HDL-C) / HDL-C

^{NS} : Not Significantly.

Values with different letters within the column are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

[0047]

[0048] 표 4로부터 예방군에서 중성지질 함량은 정상군 154.0 ± 32.5 mg/dL에 비해 대조군 335.5 ± 43 mg/dL이 다소 높아 유의적인 차이를 보였으며 RDP-1은 208.3 ± 64.5 mg/dL, RDP-2는 213.3 ± 75.9 mg/dL으로 대조군에 비해 낮은 값을 갖는 것으로 나타났다. 혈장 내 HDL-콜레스테롤은 control군이 110.0 ± 0.0 mg/dL로 가장 높게 나타났으나 그룹 간의 통계학적인 유의성을 보이지 않았다. 동맥경화지수(AI)는 RDP-2에서 1.93 ± 0.36 mg/dL로 가장 낮은 수치를 나타내었으며, 대조군(2.86 ± 0.3 2mg/dL)에서 가장 높은 수치를 나타내었으나 유의적인 차이를 보이지 않았다. 표 5의 치료군은 예방군과 유사한 경향을 나타내었으며 중성지질 함량은 정상군(102.0 ± 24.0 mg/dL), RDP-1(201.8 ± 72.4 mg/dL), RDP-2(208.3 ± 64.1 mg/dL)가 대조군(394.5 ± 54.4 mg/dL)과 유의적인 차이를 나타내었다. 모든 당뇨 유도 군에서 혈청 중 총콜레스테롤 함량이 유의하게 증가되었는데, 이는 탄수화물이 에너지원으로 이용되지 못하고 유리지방산이 에너지로 이용되면서 콜레스테롤을 합성하기 때문인 것으로 보인다. 본 실험에서는 예방군과 치료군 모두 가시까치밥나무 추출물의 투여로 혈청 중 중성지방, 총 콜레스테롤을 감소시켰다. 따라서 가시까치밥나무 추출물은 혈중 지질대사 개선 및 당뇨로 인한 동맥경화와 심장질환의 합병증 예방에 효과가 있을 것으로 사료된다.

[0049] 혈청 중 AST 및 ALT는 간세포 손상 시 세포외로 유출되어 혈중에 농도가 증가하므로 간 손상의 지표로 이용된다. 예방군에서 혈청 AST 활성도는 대조군(128.5 ± 20.5 U/L)에서 정상군에서 86.0 ± 0.0 U/L에 비해 크게 증가하였으나, RDP-1 74.0 ± 11.8 U/L, RDP-2 78.0 ± 14.9 U/L로 대조군에 비해 증가치가 유의하게 감소하였다. ALT 역시 정상군에 비해 대조군(72.5 ± 0.7 U/L)에서 가장 높은 활성도를 나타내었고 RDP-1, RDP-2에서는 활성도의 증가폭이 감소하였다. 치료군 역시 예방군과 유사한 경향을 나타내어 대조군에서 ALT와 AST 활성이 증가하였으며, RDP-1과 RDP-2에서는 증가폭이 감소하였다.

[0050] Purine에서 유래하는 Urin acid(UA)는 purine 대사의 유전적 결함, 요소의 과잉 생산이나 신장에서의 배출 저하로 인한 고 뇨산혈증에 의해 증가한다. 예방군 및 치료군 모두에서 정상군에 비해 대조군과 RDP-1, RDP-2의 UA는 감소하였으며 통계적으로 유의하였다.

[0051] 당뇨병성신증에 선행하여 신장의 기능 상태를 반영하는 지표로서 Blood urea nitroge (BUN)을 측정하였다. 예방군과 치료군 모두에서 정상군에 비해 대조군에서 BUN 수치가 증가하였으며, RDP-1, RDP-2에서는 대조군에 비해 통계적으로 유의한 낮은 BUN 값을 나타내었다. BUN의 증가는 인슐린 부족으로 인해 당이 에너지로 쓰이지 못하기 때문에 체내에 저장된 단백질이나 아미노산의 분해증가에 따른 간의 요소합성 및 배설증가와 당뇨로 인한 탈수상태에 의해 BUN의 농도가 높아진 것으로, 본 실험의 결과로 볼 때 가시까치밥나무 추출물의 투여는 당 대사 장애를 회복시켜 단백 이화작용을 감소시키고, 당뇨합병증인 acidosis를 완화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

[0052] (2) 장기 무게의 측정

[0053] (1)에서 채혈 후 신장, 췌장, 비장, 간을 적출하여 각각의 무게를 측정하고 체중 차이로 인한 차이를 최소화하기 위하여 체중 100 g당의 무게로 환산하여 예방군과 치료군에 대한 결과를 표 6 및 표 7에 각각 기재하였다.

표 6

	신장	간	췌장	비장
정상군	1.49 ± 0.16^b	4.44 ± 0.47^b	0.66 ± 0.16^{NS}	0.29 ± 0.02^{NS}
대조군	1.72 ± 0.15^a	5.01 ± 0.37^a	0.78 ± 0.20	0.33 ± 0.08
RDP-1	1.70 ± 0.17^{ab}	4.99 ± 0.58^a	0.75 ± 0.19	0.36 ± 0.04
RDP-2	1.62 ± 0.26^{ab}	4.79 ± 0.34^a	0.64 ± 0.12	0.35 ± 0.08

Values represent means SD (n = 5)

Values with different letters within the column are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

^{NS} : Not Significant

[0054]

표 7

	신장	간	췌장	비장
정상군	1.64±0.18 ^b	4.82±0.96 ^a	0.57±0.17 ^{NS}	0.32±0.10 ^{NS}
대조군	1.68±0.23 ^a	5.12±0.49 ^b	0.62±0.28	0.33±0.06
RDP-1	1.57±0.28 ^{ab}	5.10±1.25 ^a	0.60±0.13	0.32±0.07
RDP-2	1.54±0.24 ^{ab}	4.75±0.93 ^a	0.71±0.16	0.27±0.05

Values represent means SD (n = 5)

Values with different letters within the column are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

^{NS} : Not Significant

[0055]

[0056]

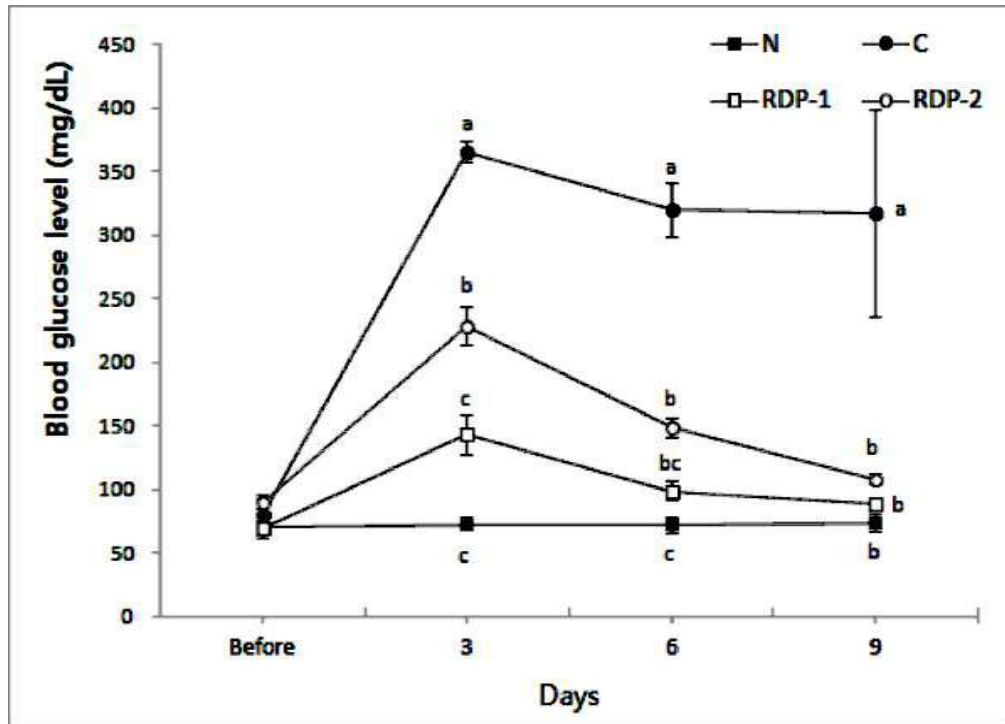
예방군과 치료군 모두에서 비장과 췌장 무게에는 특이한 변화가 관찰되지 않았다. 신장의 무게는 예방군과 치료군 모두에서 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 증가하였다. 당뇨병에서 포도당이 galactose 또는 glycogen으로 대사되어 사구체 내의 mesangial Cell에 축적되어 신장 비대를 초래한다고 보고된 바 있다. 따라서 상기와 같은 신장 무게의 증가는 당뇨로 인한 당대사의 이상과 이에 따른 신장 부담의 증가로 인해 나타난 결과로 보인다. 또한 control군이 normal군에 비하여 상대적인 체중감소로 100g당 장기무게가 증가한 것으로 생각된다. 예방군과 치료군 모두에서 가시까치밥나무 추출물의 투여는 RDP-1과 RDP-2 모두에서 신장무게의 증가를 경감시키는 경향을 나타내었으나, 통계적인 유의성은 없었다. 이와 같은 신장 무게의 변화는 가시까치밥나무 추출물의 투여에 따른 당대사의 개선과 이로 인한 신장부담의 감소에 의한 결과로 사료된다.

[0057]

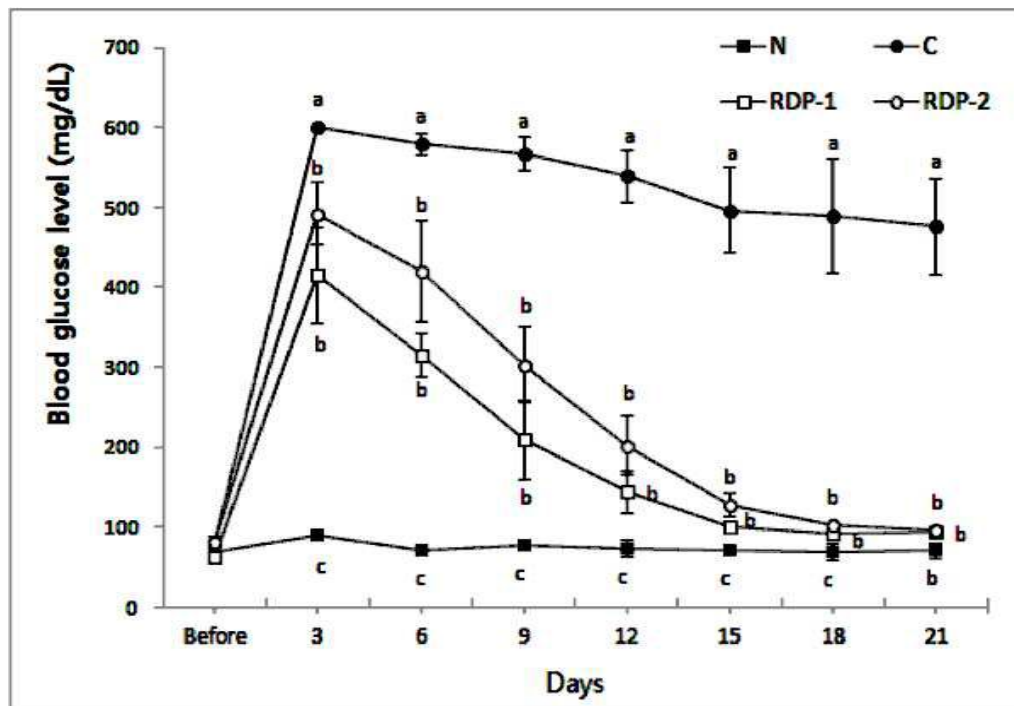
당뇨유발을 위해 alloxan을 투여한 대조군은 예방군과 치료군에서 간 무게가 각각 5.01±0.37 g, 5.12±0.49 g으로 정상군의 간 무게 4.44±0.47 g, 4.82±0.96 g에 비해 증가하였다. 당뇨병에서 간의 비대는 당뇨유도제로 인한 체내 인슐린 분비의 저하로 당 대사가 정상적으로 원활하게 일어나지 않게 되어, Acetyl-CoA에서의 지질 생합성 체계가 형성되어 간장 내에 지질 성분이 축적되기 때문이라고 보고되고 있다). 가시까치밥나무 추출물은 예방군과 치료군 모두에서 간 무게의 증가를 억제하는 효과를 나타내었으며, 특히 치료군에서는 대조군의 간 무게가 증가한 것에 비해 정상군과 통계적으로 유의한 수준의 간 무게를 나타내었다.

도면

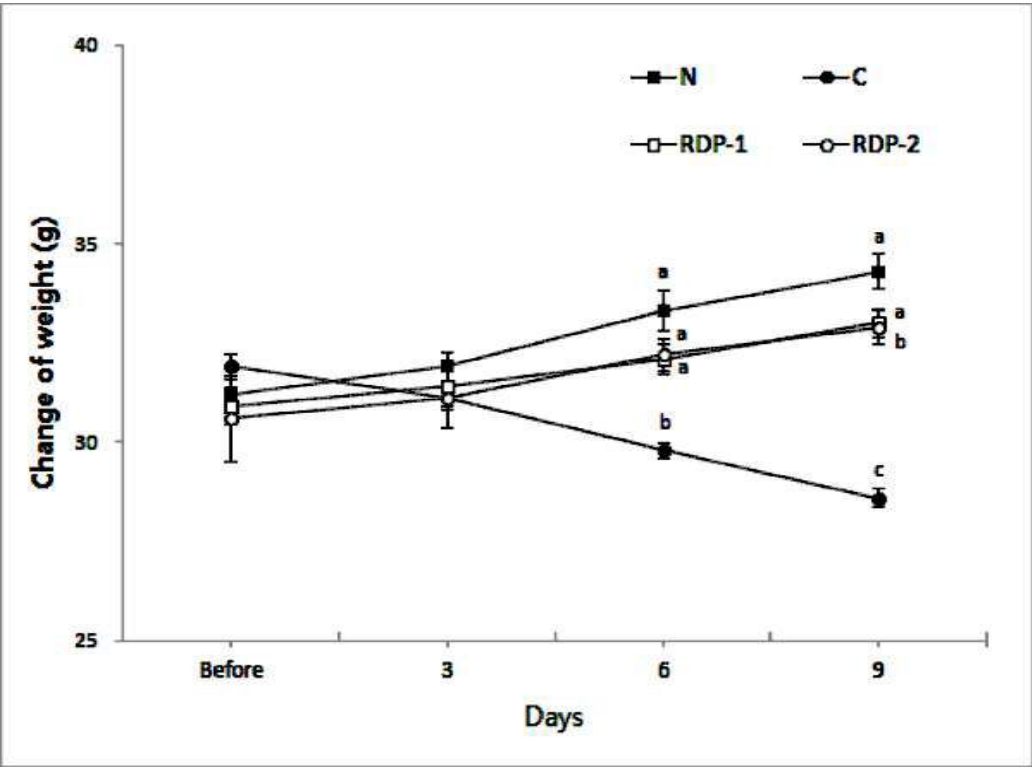
도면1



도면2



도면3



도면4

