

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2013-0128118 (43) 공개일자 2013년11월26일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 36/899 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01) (21) 출원번호 10-2012-0051924 (22) 출원일자 2012년05월16일 심사청구일자 2012년05월16일		(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울 성북구 안암동5가 1 (72) 발명자 조홍연 서울특별시 성북구 돈암1동 동부센트레빌아파트 103-1002 이진규 경상북도 포항시 북구 장성동 산호그린5차아파트 1413호 (뒷면에 계속) (74) 대리인 특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 10 항

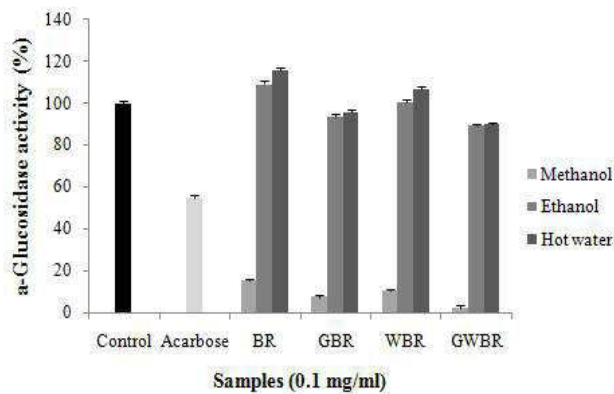
(54) 발명의 명칭 발아검정찰현미 추출물을 포함하는 항당뇨 조성물

(57) 요약

본 발명은 당뇨의 예방, 개선 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 발아검정찰현미 추출물은 알파-글루코시테이즈 저해활성과 소장에서의 포도당 흡수 저해 활성에서 각각 높은 저해활성을 나타내며, 또한 SGLT1, HNF-1 α , HNF-1 β 의 유전자의 발현 억제 활성을 나타내는바, 당뇨의 예방, 개선 및 치료를 위해 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

임원철

경기도 평택시 평택동 185-310 9/1 2층

박재현

서울특별시 금천구 독산동 중앙하이츠 101-1101

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20110026976

부처명 한국연구재단

연구사업명 (이공)일반연구자-기본(유형II)

연구과제명 [2차년도] 흑미의 nutrigenomic 및 proteomic analysis를 통한 항당뇨/항비만용 식품신소재의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2011.09.01 ~ 2012.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

발아검정찰현미 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

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

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 당뇨는 인슐린 비의존성 당뇨인 당뇨의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 발아검정찰현미 추출물은 알파-글루코시데이즈 저해 활성, 포도당 흡수 저해 활성 및 SGLT1, HNF-1 α , HNF-1 β 유전자의 발현 억제 활성을 특징으로 하는 당뇨의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 발아검정찰현미 추출물은 전체 의약 조성물 대비 0.0001내지 10 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는 당뇨의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 6

발아검정찰현미 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

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

청구항 8

제 6항에 있어서,

상기 당뇨는 인슐린 비의존성 당뇨인 당뇨 개선용 식품 조성물.

청구항 9

제 6항에 있어서,

상기 식품 조성물은 알파-글루코시데이즈 저해 활성, 포도당 흡수 저해 활성 및 SGLT1, HNF-1 α , HNF-1 β 유전자의 발현 억제 활성을 을 갖는 발아검정찰현미 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨 개선용 식품 조성물.

청구항 10

제 6항에 있어서,

상기 발아검정찰현미 추출물은 전체 의약 조성물 대비 0.0001내지 10 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는 당뇨 개선용 식품 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 알파-글루코시데이즈 저해 활성과 포도당 흡수 저해 활성을 특징으로 하는 발아검정찰현미 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨의 예방 및 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 인슐린 비의존성 당뇨의 예방 및 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 당뇨는 혈액 내에 존재하는 포도당이 소변을 통해 배출되는 질환으로, 근본적인 치유가 되지 않는 만성 성인병 중의 하나이다. 급속한 경제발전으로 인한 생활의 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 질환자이지만 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 ①당의 소장 내 소화를 저해하는 당질분해효소 저해제 ②소화된 당의 흡수를 저해하는 흡수저해제, ③인슐린의 작용을 도와주는 인슐린 저항 개선제, ④인슐린 분비 촉진제 등 4 그룹으로 구분하고 있다. 그 동안 수많은 약제들이 개발되어 왔으나, 대부분은 부작용이나, 유효성 혹은 안전성이 문제되어 현재 임상에 사용되고 있는 약제는 소수에 불과하다.

[0004] 섭취된 식이 탄수화물은 아밀라아제(α-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 GLUT는 포도당(glucose)의 흡수 연구와 인슐린 액션(insulin action)에 연관되어 있고 특히 GLUT1과 3은 베이스(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 퀘세틴(queracetin)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, 젖산증 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 쑥쑥, 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).

[0008] 김정현미(*Oryza sativa*)는 도정에 의한 영양분의 손실이 거의 없어 백미에 비해 비타민, 무기질 및 식이섬유가 풍부함에도 불구하고 소화성이 낮고 식감이 좋지 않아 선호도가 낮다. 최근에는 이를 개선하기 위한 발아김정현미, 김정찰현미, 발아김정찰현미 제품이 출시되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 발아김정찰현미의 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적 달성을 위하여, 본 발명자들은 천연물로부터 당뇨의 약리·생리 활성을 띠는 물질을 발굴하고자 연구를 거듭했다. 그 결과, 발아김정찰현미 추출물이 알파-글루코시데이즈 저해활성과 소장에서의 포도당 흡수 저해활성에서 각각 높은 저해활성을 나타내며, 또한 SGLT1, HNF-1 α , HNF-1 β 의 유전자의 발현 억제 활성을 나타내는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0011] 이에 본 발명은 발아김정찰현미 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공한다.

[0012] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

[0013] 본 발명의 조성물에서 유효성분으로 사용하는 발아김정찰현미는 적당한 온도와 수분, 산소 등을 공급해 김정찰현미의 싹을 1~5 mm까지 발아시킨 것으로 김정찰현미의 영양과 기능을 극대화시키면서 식미는 김정찰현미보다 훨씬 부드러운 유색미이다. 발아김정찰현미는 김정찰현미의 발아 과정에서 세포벽 분해효소의 작용에 의해 김정찰현미 외피가 분해되어 수분흡수가 용이하게 됨에 따라 취반성이 개선되는 것으로 알려져 있다. 발아김정찰현미에는 GABA, 비타민 E, 스쿠알렌(squalene), 시토스테롤(sitosterol), 캄페스테롤(campesterol) 및 스티그마

스테롤(stigmasterol) 등이 주요한 구성 성분으로 밝혀져 있고, 탄수화물의 인체 내 소화율 증가, 반영양적 요소의 감소나 제거 등 다양한 기능성 식품 소재로의 활용 연구가 활발히 이루어지고 있다. 한편 생리·약리활성으로는 고혈압 예방, 신경안정 등이 보고되고 있다. 그 이외 발아 중 저장 단백질의 질적 변화, 미량 영양소의 증가, 구성 탄수화물의 인체 내 소화율 증가 및 반영양적 요소의 감소나 제거 등 다양한 기능성 식품소재로의 활용 연구가 활발히 이루어지고 있다.

- [0014] 본 발명의 의약 조성물 또는 식품 조성물의 유효성분으로 사용되는 발아검정찰현미 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있다.
- [0015] 발아검정찰현미 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.
- [0016] 본 발명에 있어서, 발아검정찰현미 추출물은 상기 추출용매를 이용하여 추출된 1차 추출물을 극성이 다른 추출용매를 이용하여 다시 분획한 분획물을 포함한다. 예를 들어, 발아검정찰현미 추출물은 탄소수 1 내지 5의 알코올로 추출한 후, 에테르, 벤젠, 헥산 등의 극성이 다른 용매로 다시 분획한 분획물일 수 있다.
- [0017] 상기 분획 시 용매는 2종 이상 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하거나 혼합하여 사용하며, 각 용매 추출물을 제조할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [0018] 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.
- [0019] 본 발명의 한 구체예로서, 본 발명에 따른 당뇨의 예방, 개선 및 치료용 의약 조성물 및 식품 조성물은 인슐린 비의존성 당뇨병인 당뇨의 예방, 개선 및 치료에 사용할 수 있다.
- [0020] 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.
- [0021] 본 발명은 당뇨의 치료방법 중 소장에서 포도당의 흡수에 대하여 저해능을 가짐으로써, 혈액 중에 혈당 수치를 낮추어 주면서 인슐린 비의존성 당뇨에 크게 효과적임을 밝혀냈다.
- [0022] 또한 본 발명의 한 구체예로서, 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 발아검정찰현미 추출물은 알파-글루코시데이즈의 활성을 억제하여 당의 소화를 저해하고, 소장 내에서의 포도당 흡수를 저해할 수 있으며, 관련 유전자 (SGLT1, HNF-1 α , HNF-1B)들의 mRNA 수준에서도 억제 활성을 나타내며, 또한 천연 소재이기 때문에 부작용이 없고 안전성이 매우 높으므로 안전하면서도 효과적으로 당뇨를 예방, 개선 및 치료할 수 있다.
- [0023] 알파-글루코시다아제의 혈당강하 기전은 소장 내에서 탄수화물의 분해를 저해하여 포도당의 흡수를 지연시킴으로써 소장에서 혈액으로 포도당 흡수를 저해하는 것이다. 본 발명의 핵심인 소장에서 포도당의 흡수저해에 앞서 발아검정찰현미 추출물은 알파-글루코시다아제를 저해함으로써 혈당강하에 효과가 있음을 1차적으로 확인하였다(실험예 1 및 도 1 결과 참조).
- [0024] 섭취된 식이 탄수화물은 아밀라아제(amyase)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. SGLT1은 소장 내 가장 함량이 높은 포도당 운반체로서 상피세포의 BBMV(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 전분가수분해효소 저해제에 의한 방법에 비해 음식물의 섭취량과 종류에 관계없이 포도당의 흡수를 직접적으로 제어할 수 있다는 관점에서 유효성이 높다. 이들 중 GLUT은 글루코즈(glucose)의 흡수 연구와 인슐린 액션(insulin action)에

- [0025] 연관되어 있고 특히 GLUT1과 3은 베이스(basal)에 존재하여 소장에서 혈액으로 포도당 흡수에 관계한다. 이들 트랜스포터(transporter)를 저해하는 물질에 대한 연구가 플라보노이드(flavonoid)계 물질을 중심으로 진행되고 있으나 저해효과만을 확인하였을 뿐 저해 기작은 아직 밝혀지지 않은 상태이다. 최근 플라보노이드류 퀘세틴(quercetin)의 소장에서 혈액으로 포도당 흡수의 저해효과가 밝혀지면서 식용·약용 생물자원에도 저해활성 성분이 함유되어 있을 것으로 예상되며, 이 성분들을 소재화하여 장에서의 포도당 흡수를 낮출 수 있다면 당뇨를 예방할 수 있는 최선의 방안이라 하겠다.
- [0026] 본 발명에서는 발아검정찰현미 추출물이 소장에서 혈액으로 포도당의 흡수 저해효과를 확인하기 위하여 Caco-2 세포를 배양하여, 본 발명의 추출물을 농도별로 처리한 결과, 발아검정찰현미 추출물이 대조군으로 사용된 Phlorizin과 검정현미, 발아검정현미, 검정찰현미에 비하여 높은 혈당강하 효과를 가짐을 확인하였다(실험예 2 및 도 2, 3 결과 참조).
- [0027] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 발아검정찰현미 추출물을 유효성분으로 하는 SGLT1 저해용 조성물에 관한 것이다.
- [0028] 본 발명자들은 소장에서 혈액으로 포도당의 흡수 주요 인자인 SGLT1(sodium-dependent glucose transporters1), HNF-1 α (hepatocyte nuclear factor-1 α), HNF-1 β (hepatocyte nuclear factor-1 β)의 발현이 억제됨을 측정함으로써 본 발명의 발아검정찰현미 추출물, 구체적으로는 발아검정찰현미 추출물이 소장에서 혈액으로 포도당의 흡수 저해 활성을 가짐을 확인하였다(실험예 3 및 도 4, 5, 6 결과 참조).
- [0029] 본 발명에서의 용어 “HNF-1 α (hepatocyte nuclear factor-1 α)”란 TCF1(transcription factor1)로 불리며, 이것은 호메오도메인-함유 트랜스크립션 팩터(homeodomain-containing transcription factor)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. 또한 본 발명에서의 용어, “HNF-1 β (hepatocyte nuclear factor-1 β)”란, TCF2(transcription factor2)로 불리며 HNF-1 α 의 호메오도메인-함유(homeodomain-containing)의 상위 역할을 한다. 또한, 간, 신장, 췌장 그리고 소장에서 대사 작용을 돕는 역할을 하고, 이것은 HNF-1 α 와 상호작용을 하여 소장에서 SGLT1 발현을 조절하는 유전자로 보고되어 있다.
- [0030] 이와 같이 상기 전사인자들은 소장에서 포도당 흡수의 수송단백질인 SGLT1 발현을 조절하여 소장에서 포도당의 흡수에 관여하는 일련의 유전자 발현을 조절하는 역할을 하는데, 특히, HNF-1 α 와 HNF-1 β 의 발현에 의해서 SGLT1 발현을 조절하는 중요한 전사인자로, 소장에 포도당 흡수를 총괄적으로 조절하는 역할을 한다.
- [0031] 본 발명의 발아검정찰현미 추출물이 소장에서 포도당의 흡수저해를 하는지 여부를 확인하기 위하여, SGLT1 및 SGLT1 발현에 관련되는 전사인자인 HNF-1 α (hepatocyte nuclear factor-1 α), HNF-1 β (hepatocyte nuclear factor-1 β)의 발현을 확인한 결과, 상기 유전자 모두 발현이 억제됨을 확인하였으며, 이로부터 본 발명의 추출물이 소장에서 포도당의 흡수저해 활성을 가짐을 확인하였다(실험예 3 및 도 6, 7, 8 결과 참조).
- [0032] 본 발명의 또 다른 한 구체예에서, 본 발명은 발아검정찰현미 추출물을 전체 조성물 대비 0.0001 내지 10 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는 당뇨의 예방 및 치료용 의약 조성물 또는 당뇨 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0033] 한편, 본 발명에 따른 의약 조성물 및 식품 조성물의 함량은 조성물의 종류, 제형 및 질환의 중증도, 조성물에 함유된 다른 유효 성분 및 종류 및 함량 등 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 일률적으로 규정할 수 없지만, 상기 의약 조성물은 발아검정찰현미 추출물을 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 10 중량%, 보다 구체적으로 0.001 중량% 내지 1 중량%로 포함할 수 있다. 식품 조성물의 경우에는 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 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.

발명의 효과

[0034] 본 발명에 따른 발아검정찰현미 추출물은 우수한 알파-글루코시데이즈 저해 활성, 우수한 포도당 흡수 저해 활성, 그리고 포도당 흡수와 관련되는 SGLT1 및 SGLT1 발현에 관련되는 상위 전사인자인 HNF-1 α , HNF-1 β 유전자의 높은 발현 억제를 통해, 당뇨의 예방, 개선 및 치료를 위한 유효성분으로서 활용가치가 뛰어나다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 4종 발아검정찰현미 추출물의 알파-글루코시데이즈 저해활성을 보인 도표
 도 2는 발아검정찰현미 메탄을 추출물의 농도별 알파-글루코시데이즈 저해활성을 보인 도표
 도 3은 4종 검정현미 추출물의 포도당 흡수 저해활성을 보인 도표
 도 4는 발아검정찰현미 메탄을 추출물의 SGLT1 mRNA 발현 억제활성을 보인 도표
 도 5는 발아검정찰현미 메탄을 추출물의 HNF-1 α mRNA 발현 억제활성을 보인 도표
 도 6은 발아검정찰현미 메탄을 추출물의 HNF-1 β mRNA 발현 억제활성을 보인 도표

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 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.

[0037] 실시예 1 : 알파-글루코시데이즈 저해 활성

[0038] 알파-글루코시데이즈 저해활성 측정용 실험방법은 기질인 400 mM PNP-글루코사이드(glycoside)와 1 유닛 알파-글루코시데이즈(α -glucosidase, *Sacchomyces cerevisiae* 기원)를 이용하여 수행하였다. 각 추출물에 대한 실험을 위해 증류수 750ul, 1 M KPB (pH 7.5) 50 ul, 알파-글루코시데이즈 50 ul, 시료 (1 mg/ml) 100 ul로 구성된 반응액을 실온에서 1분간 반응시켰다. 이 반응액에 PNP- 글루코사이드 50 ul를 첨가하여 5분 후의 흡광도를 분광광도계 (spectrophotometer, 405nm)로 측정하였다.

[0039] <환산식 1>

[0040] 저해능 (Inhibitory effect, %) = [(Cc - Cs) / Cc] $\times$ 100

[0041] Cs : 시료를 처리한 실험구의 흡광도

[0042] Cc : 시료를 처리하지 않은 실험구의 흡광도

[0043] 그 결과 도 1에서와 같이 시료를 처리하지 않고 물을 첨가한 대조군(Control)을 기준으로 알파-글루코시데이즈 활성을 비교하였을 때, 시판 저해제인 아카보즈 (0.5 mg/ml) 57% 대비 검정현미(BR)메탄을추출물 15%, 발아검정현미(GBR)메탄을추출물 7%, 검정찰현미(WBR)메탄을추출물 10%, 발아검정찰현미(GWBR)메탄을추출물 2%의 잔존활성을 나타냄으로써 시판 아카보즈보다 매우 높은 알파-글루코시데이즈 저해효과를 나타내었다(도 1). 한편, 도 2에서와 같이 발아검정찰현미 메탄을 추출물을 농도별로 처리한 결과 추출물은농도 의존적으로 저해활성을 나타내었고, 0.01 mg/ml의 농도에서 58%의 활성으로 아카보즈와 유사한 활성을 나타냄으로써 아카보즈보다 약 50배 높은 저해활성을 확인하였다(도 2).

[0044] 실시예 2: 소장에서 각 추출물의 포도당 흡수 저해 활성

[0045] 소장에서 혈액으로 포도당 흡수의 저해활성 측정용 실험방법은 Caco-2 세포주와 2-NBDG (2-(*N*-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino-2-deoxyglucose)를 이용하여 측정하였다. 즉, 각 추출물에 대한 포도당 흡수저해 실험을 위해 Caco-2를 6×10^4 cells/well 농도로 24 well plate를 사용하여 37℃, CO₂ 인큐베이터에서 14일 동안 배양한 후 PBS로 2회 세척한 다음 PBS 400 μ l, 100 μ M 2-NBDG 500 μ l, 시료 (1 mg/ml) 100 μ l를 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 μ l를 가하여 37℃에서 3시간 반응시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료에 의한 포도당 흡수 저해 활성은 아래 식에 따라 환산하였다.

[0046] <환산식 2>

[0047] 저해능 (Inhibitory effect, %) = [(Fc - Fs) / Fc] $\times$ 100

[0048] Fs : 시료를 처리한 실험구의 형광세기

[0049] Fc : 시료를 처리하지 않은 실험구의 형광세기

[0050] * 양성표준물질로는 phlorizin을 사용하였음.

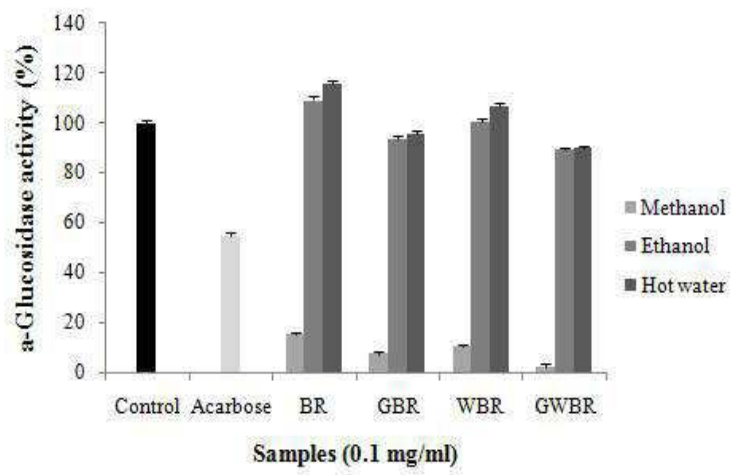
[0051] 그 결과 도 3에서와 같이 시료를 처리하지 않고 물을 첨가한 대조군(Control)을 기준으로 포도당 흡수 저해율을 비교하였을 때, 시판 포도당흡수 저해물질인 phlorizin (0.1 mg/ml) 82% 대비 검정현미(BR) 메탄올추출물 93%, 발아검정현미(GBR) 메탄올추출물 89%, 검정찰현미(WBR) 메탄올추출물 94%, 발아검정찰현미(GWBR) 메탄올추출물 87%의 활성을 나타냄으로써 시판 포도당흡수 저해물질인 phlorizin과 유사한 효과를 나타내었다(도 3).

[0052] 실시예 3 : 발아검정찰현미의 SGLT1, HNF-1 α , HNF-1 β 발현 억제

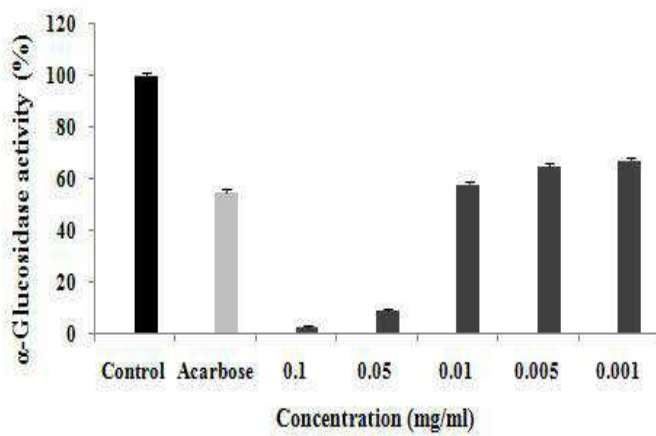
[0053] 본 발명에 언급된 검정현미 추출물 중 실시예 2에서 효과가 가장 높았던 발아검정찰현미 메탄올 추출물을 Caco-2 세포주의 배양 7일째 배지에 첨가, 3시간 동안 처리하고, 배양을 종료하였다. 배양한 Caco-2 세포로부터 RNA를 추출하여 소장흡수에 관여하는 핵심전사인자인 SGLT1, HNF-1 α , HNF-1 β 등의 프라이머 (primer)를 이용하여 RT-PCR (reverse transcriptase-PCR)을 실시한 다음 아가로스(agarose)에서 전기영동을 실시하여 그 발현의 정도를 비교하였다. 그 결과, SGLT1의 경우 도 4에서와 같이 시료를 처리하지 않고 물을 첨가한 대조군을 100%로 기준하여 비교하였을 때, 발아검정찰현미 메탄올 추출물은 phlorizin보다 낮은 발현억제율을 나타내었으나 농도의존적인 값을 보였다(도 4). 한편 SGLT1의 상위유전자인 HNF-1 α 는 도 5에서와 같이 대조군을 100%로 기준하여 비교하였을 때 phlorizin 74%의 발현억제율을 나타내었고 발아검정찰현미 메탄올 추출물은 0.5 mg/ml 이상의 농도에서 phlorizin과 유사한 값을 나타내었다(도 5). HNF-1 β 의 경우에도 도 6에서와 같이 발아검정찰현미 메탄올 추출물은 농도의존적인 억제율을 보였고 0.5 mg/ml 이상의 농도에서 phlorizin보다 높은 억제율을 나타내었다(도 6).

도면

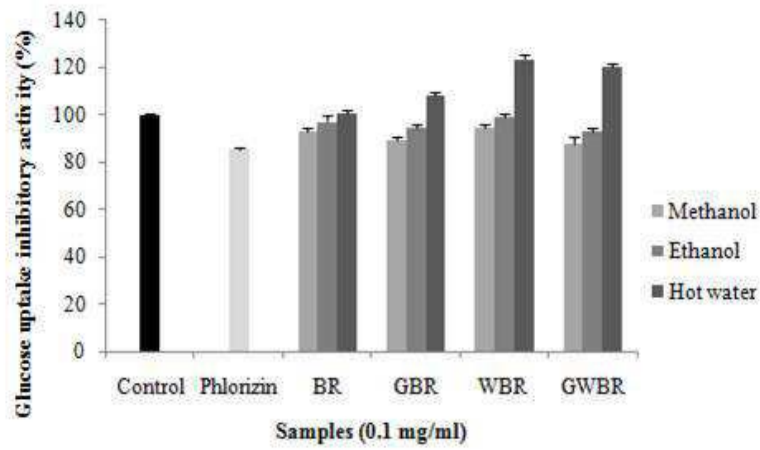
도면1



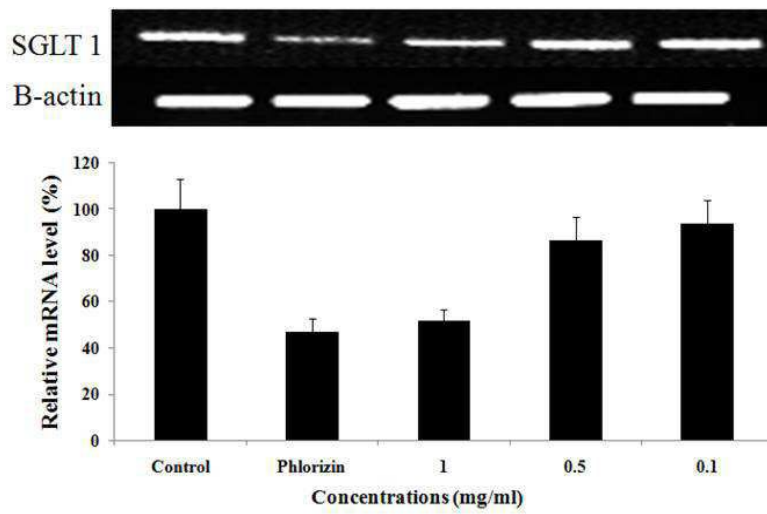
도면2



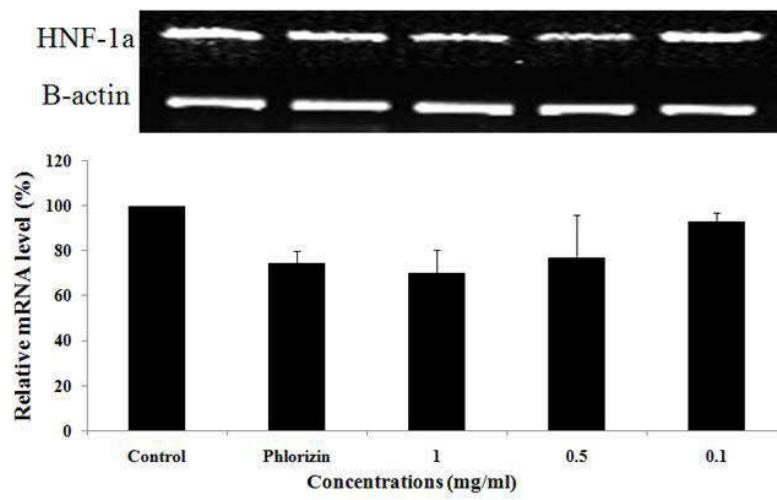
도면3



도면4



도면5



도면6

