



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0016165
(43) 공개일자 2015년02월11일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 31/045</i> (2006.01) <i>A61K 31/047</i> (2006.01)
 <i>G01N 33/68</i> (2006.01) <i>G01N 33/53</i> (2006.01)
 <i>G01N 33/48</i> (2006.01) <i>A61P 3/10</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2014-0099153
 (22) 출원일자 2014년08월01일
 심사청구일자 2014년08월01일
 (30) 우선권주장 1020130091596 2013년08월01일 대한민국(KR)</p> | <p>(71) 출원인
 경희대학교 산학협력단
 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)</p> <p>(72) 발명자
 장형진
 서울특별시 동대문구왕산로23길 89, 101동 104호 (제기동, 이수브라운스톤)</p> <p>(74) 대리인
 리엔목특허법인</p> |
|---|---|

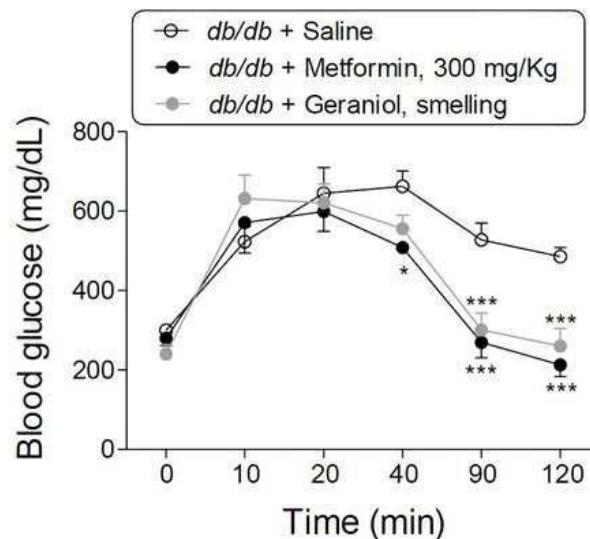
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 당뇨병 예방 또는 치료 방법, 및 당뇨병 치료제 스크리닝 방법**

(57) 요약

제라니올 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 및 제라니올 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계; 및 해당 조성물을 개체에 후각 자극을 발생시키는 방법을 포함하는, 개체의 당뇨병을 예방 또는 치료하는 방법, 및 당뇨병 치료제의 스크리닝 방법은 후각 수용체를 발현하는 세포에 시험 물질을 접촉시키는 단계; 상기 세포에서 분비되는 글루카곤 유사 펩티드-1(GLP-1)의 발현 정도를 측정하는 단계; 및 상기 시험 물질이 GLP-1의 발현을 촉진시키는 경우 당뇨병 치료제의 후보 물질로 결정하는 단계를 포함한, 당뇨병 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다. 또한, 제라니올을 포함하는 당뇨병의 예방 또는 개선용 의약품 조성물 및 화장료 조성물을 제공한다.

대표도 - 도9



특허청구의 범위

청구항 1

제라니올 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 흡입 투여용 제형인 것인 약학적 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 비강내 투여를 위한 제형인 것인 약학적 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 취기제인 것인 약학적 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 투여 단위당 0.1 ~ 1000 mg/체중kg의 화합물을 포함하는 것인 약학적 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 경구 투여용 제형인 것인 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 정제, 과립, 캡슐 또는 분말을 포함하는 제형인 것인 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 당뇨병은 제2형 당뇨병 또는 당뇨병 전증인 것인 약학적 조성물.

청구항 9

제라니올을 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 건강기능 식품.

청구항 10

후각 수용체를 발현하는 세포에 시험 물질을 접촉시키는 단계;

상기 세포에서 분비되는 글루카곤 유사 펩티드-1(GLP-1)의 발현 정도를 측정하는 단계; 및

상기 시험 물질이 상기 GLP-1의 발현을 촉진시키는 경우 당뇨병 치료제의 후보 물질로 결정하는 단계를 포함하는 당뇨병 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 후각 수용체는 인간 후각 수용체 OR1A1 또는 OR1G1을 포함하는 것인 스크리닝 방법.

청구항 12

청구항 10에 있어서, 상기 시험 물질은 취기제인 것인 스크리닝 방법.

청구항 13

청구항 10에 있어서, 상기 취기제는 모노테르페노이드를 포함하는 것인 스크리닝 방법.

청구항 14

청구항 10에 있어서, 상기 취기제는 제라니올을 포함하는 것인 스크리닝 방법.

청구항 15

청구항 10에 있어서, 상기 접촉은 상기 후각 수용체를 발현하는 세포에 상기 시험 물질을 10 ~ 2000 μ M의 농도로 인큐베이션하는 것인 스크리닝 방법.

청구항 16

청구항 10에 있어서, 상기 측정은 효소 면역 측정법, 멀티플렉스(Multiplex, GLP-1 multiplex assay), 방사면역정량법(radioimmunoassay), 형광면역정량법(형광항체법) 또는 라텍스(latex) 응집반응으로 상기 GLP-1의 양의 증가를 확인하는 것인 스크리닝 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 개시는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 당뇨병 예방 또는 치료 방법, 및 당뇨병 치료제 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 당뇨병(diabetes mellitus)은 혈액 내에 존재하는 포도당이 소변을 통해 배출되는 질환으로서, 근본적인 치유가 되지 않는 만성 퇴행성 질환 중의 하나이다. 현대에 들어와서 식생활의 변화와 운동 부족 등으로 인하여, 인체 고유의 에너지 대사과정에 커다란 변화가 발생하였으며, 이에 따라 당뇨병 등의 만성 퇴행성 질환은 증가하는 현상을 보이고 있다. 국내에서는 당뇨 유병율이 5-10%에 달하는 것으로 알려져 있으며 지속적인 증가를 보이고 있다. 미국의 경우, 지난 40년간, 당뇨병은 6배가 증가하였으며 이와 같은 수준의 증가에 의하여 2050년에 이르러서는 환자 수가 2600만 명에 이르게 될 것으로 전망되고 있다.

[0003] 당뇨병의 95% 이상을 차지하는 제 2형 (인슐린 비의존형) 당뇨병의 병인은 두 가지 원인, 즉 인슐린 분비장애 및 인슐린 저항성의 복합 장애로 알려져 있다. 즉 당뇨병은 이러한 복합적인 장애로 인해 만성 고혈당 증상을 보이는 질환이다.

[0004] 인슐린 분비장애란 혈당 농도에 따라 췌장의 베타세포에서 적절한 양의 인슐린이 분비되지 않는 상황을 말하며, 이는 인슐린을 분비하는 베타세포의 양적인 감소나 기능적인 분비 장애를 모두 포함한다. 인슐린 저항성이란 분비된 인슐린이 혈류를 타고 표적장기에 도달했으나 그 표적세포에서 인슐린 작용 및 민감성이 저하된 상황을 의미하는데, 일반적으로 세포막 수용체 결합 후의 신호전달장애로 생각되며, 그 원인으로 유전적인 소인, 비만, 육체적 활동저하 및 고혈당 또는 이상지질혈증 등이 있다. 인슐린 저항성이 있으면 저항성을 극복하기 위해 더 많은 양의 인슐린이 분비되어야 하고, 반대로 인슐린 분비가 충분하지 않아 생긴 고혈당 자체가 다시 인슐린 저항성을 악화시킬 수 있다.

[0005] 당뇨병전증(Prediabetes)이란 당뇨병의 전단계에 해당하는 혈당 조절 이상으로 당뇨병으로 갈 수 있는 고위험군을 의미한다. 당뇨병전증은 향후 당뇨병으로 갈 위험성이 정상인에 비해 3~5배 높다. 또한, 혈당이 당뇨병 정도까지 높지는 않지만, 정상인보다는 높기 때문에 혈관에 대한 스트레스가 증가하여 뇌졸중, 심근경색등의 심혈관 질환의 위험성이 정상인에 비해 3~5배 높다. 당뇨병전증의 종류로는 공복고혈당(impaired fasting lycemia, IFG), 내당능장애(Impaired glucose tolerance, IGT), 또는 대사증후군(metabolic syndrome) 등이 있다.

[0006] 한편, 척추동물에서 후각 수용체는 주로 후각신경세포의 섬모에 위치해 있으며, 곤충의 경우 더듬이와 화학적 감각 기관(chemosensory organ)에 위치해 있다. 특히, 인간과 몇몇 동물에서는 후각신경세포 외에도 인체의 다른 조직에서도 후각 수용체가 발현된다고 알려져 있으나, 다른 조직에서 발현되는 후각 수용체의 기능이 분명히 밝혀진 바가 없다.

[0007] 현재 당뇨병의 치료법으로는 식사요법, 운동요법, 설폰요소제, 비구아니드(biguanide)계 약물, α -글루코시다아제 억제제, 인슐린 등이 이용되고 있으며 새로운 약물의 개발에 대한 많은 연구를 통해 다양한 인슐린 등이 개발되어 임상에 적용되고 있다. 그러나 이들 치료제들은 약효가 낮거나 간 기능 장애, 저혈당, 유산혈증 등과 같은 많은 부작용을 일으키는 문제점이 있다.

[0008] 따라서, 기존 당뇨병 치료제의 부작용을 줄이고 대사이상 증세 등을 개선시켜 주며 장기복용 시에도 안전성이

우수한 당뇨병 치료제에 대한 요구가 있다.

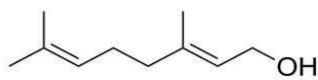
발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 일 양상은 제라니올 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0010] 일 양상은 제라니올 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 당뇨병을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0011] 일 양상은 제라니올 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 통해 후각을 자극시키는 단계를 포함하는, 개체의 당뇨병을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0012] 일 양상은 후각 수용체를 발현하는 세포에 시험 물질을 접촉시키는 단계; 상기 세포에서 분비되는 글루카곤 유사 펩티드-1(GLP-1)의 발현 정도를 측정하는 단계; 및 상기 시험 물질이 상기 GLP-1의 발현을 촉진시키는 경우 당뇨병 치료제의 후보 물질로 결정하는 단계를 포함하는 당뇨병 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0013] 일 양상은 제라니올을 포함하는 당뇨병의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품을 제공한다.
- [0014] 일 양상은 제라니올을 포함하는 당뇨병의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.
- [0015] 일 양상은 제라니올을 포함하는 당뇨병의 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0016] 소장 내 후각 수용체의 기능에 대한 연구를 수행한 결과, 후각 수용체를 자극하는 취기제(odorant)가 인간 장내 분비 세포 내의 후각 수용체를 자극하여 인크레틴 호르몬 분비를 촉진하고, 제2형 당뇨병 마우스 모델에서 혈당 강하 효과가 있다는 사실을 확인하였고, 본 개시에 이르게 되었다.
- [0017] 본 발명의 일 양상은 제라니올을 유효성분으로 포함하는, 당뇨병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0018] 용어 "유효성분"이란 상기 조성물이 개체에 투여되는 경우, 그렇지 않은 경우에 비하여 당뇨병의 예방 또는 치료하는 활성을 갖는 것을 포함한다. 상기 개체는 포유동물, 예를 들면, 사람, 마우스, 햄스터, 개, 고양이, 말, 소, 돼지 및 염소로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 용어 "예방"이란, 상기 조성물이 투여되지 않은 것에 비하여 혈중 포도당의 농도가 높아지는 것을 방지하는 것을 포함한다. 용어 "치료"란 상기 조성물이 투여되지 않은 것에 비하여, 혈중 포도당의 농도를 낮추는 것을 포함한다.
- [0019] 상기 제라니올은 하기와 같은 화학식을 갖는다:



- [0020]
- [0021] 상기 제라니올은 인크레틴 호르몬 분비를 촉진하는 것일 수 있다. 인크레틴이란 음식을 먹으면 소장에서 분비되는 호르몬으로, 췌장에서 인슐린이 분비되는 것을 도우며 최근 들어 당뇨병 치료의 새로운 대안으로서 각광받고 있다. 인크레틴 호르몬을 이용한 당뇨병 치료는 저혈당, 또는 체중증가 등의 부작용이 적고, 당뇨병으로 손상된 췌장의 베타세포를 재생시킬 수 있으며, 또한 고령인 환자에게 안전하게 사용할 수 있다. 인크레틴이 치료약제로 개발되기 전에는 당뇨병의 중요한 두 가지 병태생리가 상대적인 인슐린 분비부족과 인슐린 저항성이었으나, 최근에는 인크레틴 기능장애를 합쳐 세 가지를 제2형 당뇨병의 병태생리로 생각하고 있다. 인크레틴을 경구 섭취 시 포도당을 정맥으로 주사했을 때보다 더욱 강력한 인슐린 분비 촉진 작용을 보이는데 이를 인크레틴 효과라고 하며 대표적인 인크레틴은 GLP-1과 GIP가 있다. 상기 약학적 조성물은 GLP-1, GIP, 또는 그의 조합의 분비 촉진용 조성물일 수 있다. GLP-1은 소장, 회장 및/또는 대장의 세포에서 주로 만들어질 수 있다. GLP-1은 생리학적으로 지방과 탄수화물 등의 음식물과 연관되어 분비가 자극될 수 있다. 췌장의 베타 세포에 직접 작용하여 세포의 분화와 증식을 자극하고, 인슐린의 분비 및 합성을 증가시킬 수 있다. 또한, 장운동을 억제하며, 위액과 췌장액의 분비를 억제할 수 있다.

- [0022] 위와 근위소장에는 가스트린(gastrin), 그렐린(ghrelin), 글루코스 의존적 인슐린 분비 펩티드(glucose-dependent insulintropic peptide, GIP), 세크레틴(secretin), 및/또는 콜레시스토킨(cholecystokinin, CCK)을 분비하는 세포가 존재할 수 있다. 회장과 대장에서는 글루카곤 유사 펩티드-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1), 글루카곤 유사 펩티드-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2), 펩티드 YY(peptide YY), 및/또는 뉴로텐신(neurotensin)을 분비하는 세포가 존재할 수 있다. GLP-1은 소장, 회장 및/또는 대장의 세포에서 주로 만들어질 수 있다. GLP-1은 생리학적으로 지방과 탄수화물 등의 음식물과 연관되어 분비가 자극될 수 있다. 또한, GLP-1은 췌장의 베타 세포에 직접 작용하여 세포의 분화와 증식을 자극하고, 인슐린의 분비 및 합성을 증가시킬 수 있다. 또한, 상기 GLP-1은 장운동을 억제하며, 위액과 췌장액의 분비를 억제할 수 있다.
- [0023] 또한, 상기 약학적 조성물은 후각 수용체를 발현하는 세포, 또는 후각 수용체 자극용 조성물일 수 있다. 후각 수용체를 발현하는 세포는 후각 세포 또는 장내분비 세포(enteroendocrine cell)일 수 있다.
- [0024] 후각 세포는 후상피를 구성하는 세포 중 지지를 맡고 있는 지지세포와 기저세포를 제외한 감각세포를 포함할 수 있다. 장내분비 세포는 위장관(gastrointestinal tract) 또는 췌장(pancreas)의 특화된 내분비 세포일 수 있다. 후각 수용체는 인간 후각 수용체일 수 있다. 인간 후각 수용체는 인간 후각 수용체 OR1A1 또는 OR1G1을 포함할 수 있다. 상기 후각 수용체에 관해서는 후술할 바와 같다.
- [0025] 장내분비 세포는 다양한 자극에 반응하여 위장 호르몬 또는 펩티드를 생산하고, 전신 효과(systemic effect)를 위하여 혈관으로 위장 호르몬 또는 펩티드를 방출할 수 있다. 위와 근위소장에는 가스트린(gastrin), 그렐린(ghrelin), 글루코스 의존적 인슐린 분비 펩티드(glucose-dependent insulintropic peptide, GIP), 세크레틴(secretin), 및/또는 콜레시스토킨(cholecystokinin, CCK)을 분비하는 세포가 존재할 수 있다. 회장과 대장에서는 글루카곤 유사 펩티드-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1), 글루카곤 유사 펩티드-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2), 펩티드 YY(peptide YY), 및/또는 뉴로텐신(neurotensin)을 분비하는 세포가 존재할 수 있다.
- [0026] 상기 제라니올은 취기제(odorant)일 수 있다. 이들은 단독으로 혹은 조합으로 약학적 조성물에 포함될 수 있다.
- [0027] 본 개시의 약학적 조성물은 비경구 또는 경구 투여용 제형일 수 있다. 또한, 상기 약학적 조성물은 비경구 투여를 위한 제제는 흡입 투여용 제형일 수 있다. 상기 조성물은 비강 또는 경구를 통한 흡입에 의하여 투여되는 것일 수 있다. 상기 약학적 조성물은 후각 자극, 예를 들면 후각 세포를 자극하기 위한 형태로 투여될 수 있다. 상기 흡입은 비강의 후각 세포를 자극할 수 있는 것으로, 스멜링(smelling)일 수 있다. 상기 스멜링은 폐 경로를 거치기 전에, 또는 폐 경로를 이용하지 않고, 비강의 후각 세포만 자극할 수 있는 것을 포함할 수 있다. 상기 스멜링은 물질의 냄새를 맡는 것을 의미할 수 있다. 상기 스멜링은 비강의 후각 세포를 자극할 수 있는 정도로, 물질의 냄새 또는 향을 맡는 것을 의미할 수 있다.
- [0028] 흡입 투여용 제형은 분사제를 함유하거나 함유하지 않는 에어로졸 제형일 수 있다. 상기 제제는 분무의 형태로 투여될 수 있다. 상기 조성물은 분무의 형태로 비강으로 투여될 수 있다. 상기 약학적 조성물은 건조 분말 흡입기, 압축계량도스흡입기 또는 분무기에 의하여 투여되는 것일 수 있다.
- [0029] 상기 약학적 조성물은 건조 분말의 형태로 조제될 수 있다. 상기 건조 분말의 형태는 유당, 텍스트란, 마니톨, 또는 포도당을 포함할 수 있다 또한 상기 건조 분말의 형태는 희석제 또는 운반체를 더 포함할 수 있다.
- [0030] 상기 약학적 조성물은 비강내 투여용 조성물 또는 비강 전달용 조성물일 수 있다. 상기 조성물은 비강 전달에 적합한 임의의 형태일 수 있다. 적합한 형태들은 수성 용액들 또는 비수성 용액들 및 분말들을 포함할 수 있다.
- [0031] 상기 약학적 조성물은 취기제(odorant)일 수 있다. 상기 취기제는 특정 냄새를 갖는 물질일 수 있다. 또한, 상기 취기제는 알코올, 산, 피라진, 알데히드, 케톤, 에스테르, 황화합물, 및 락톤으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0032] 예를 들면, 상기 취기제는 1-헥산을, 2-에틸-1-헥산을, 1-헵탄올, 1-옥탄올, 2-옥탄올, 3- 옥탄올, 4- 옥탄올, 1-노난올, 2- 노난올, 1-데칸올, 1-도데칸올, 제라니올, 제라닐-제라니올, 페닐메탄올, 멘톨, 티몰, 구아이어아콜(guaiacol), 말톨(maltol), 네롤(nerol), 페놀, 이소유제놀(isoeugenol), 유제놀 및/또는 부저닐(bourgeonal)

과 같은 알코올을 포함할 수 있다. 또한 취기제는 프로피온산(propionic acid), 이소부티릭산(isobutyric acid), 부티릭산, 핵산산, 헵탄산(heptanoic acid), 옥탄산, 노난산, 데칸산, 도데칸산 및/또는 이소발레르산(isovaleric acid)과 같은 산을 포함할 수 있다. 또한 취기제는 2-메틸 피라진, 및/또는 2-이소부틸-3-메톡시피라진과 같은 피라진을 포함할 수 있다. 또한 취기제는 핵산알, 헵탄알, 옥탄알, 노난알, 데칸알, 운데칸알, 도데칸알, 벤즈알데히드, 리랄(lyral), (+/-) 시트로넬랄(citronellal), citral, 신남알데히드(cinnamaldehyde), 헬리오날(helional), 파라-아니스알데히드(para-anisaldehyde), 바닐린(vanillin) 및/또는 에틸-바닐린과 같은 알데히드를 포함할 수 있다. 또한 취기제는 2-헵타논, 2-옥타논, 3-옥타논, 2-노나논, 3-노나논, 2-데카논, 2-도데카논, 3-히드록시부탄-2-온, 6-메틸-5-헵텐-2-온, 피페로닐 아세톤, 멘톤(menthone), 베타-이오논(beta-ionone), 시클로헥산온, 아세토펜, 헤디온(hedione) 및/또는 캄퍼(camphor)와 같은 케톤을 포함할 수 있다. 또한 취기제는 이소아밀 아세테이트, 에틸 부티레이트, 에틸 이소부티레이트, 부틸 부티레이트, 에틸 핵사노에이트, 에틸 헵타노에이트, 에틸 옥타노에이트, 에틸 노나노에이트, 에틸 데카노에이트, 메틸 핵사노에이트, 메틸 헵타노에이트, 메틸 옥타노에이트, 메틸 노나노에이트, 메틸 데카노에이트, 메틸 살리실레이트 및/또는 제라닐 아세테이트와 같은 에스테르를 포함할 수 있다. 또한 취기제는 디메틸 디설파이드, S-메틸 티오부타노에이트(thiobutanoate), 티아졸(thiazol), 및/또는 벤조티아졸과 같은 황화합물을 포함할 수 있다. 또한 취기제는 쿠마린(curmarin) 및/또는 감마-데카락톤(gamma-decalactone)과 같은 락톤을 포함할 수 있다. 또한 취기제는 기타 피리딘, 퀴놀린, 인돌, 아니솔, 트랜스-아네톨(trans-anethol), 시네올(cineol), 에스트라골(estragol), 사프롤(safrol), 시트랄바(citralva) 및/또는 리모넨(limonene) 등을 포함할 수 있다.

[0033] 본 개시의 약학적 조성물은 희석제, 윤활제, 그래놀화제, 유동 개선제 또는 착색제를 포함하는 부형제를 더 포함할 수 있다.

[0034] 경구 투여용 제형은 정제, 과립, 캡슐, 또는 분말 제형일 수 있다. 경구 투여용으로 제제화할 경우에는 일반적으로 사용되는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0035] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등을 포함하고, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 경구 투여용 제형은 복용 단위당 약 0.1 ~ 1000 mg/체중kg, 0.1 ~ 800 mg/체중kg, 1 ~ 500 mg/체중kg 또는 100 ~ 300 mg/체중kg의 유효 성분을 포함할 수 있다. 이는 하루 1 내지 6회, 2 내지 5회, 3 내지 4회 투여될 수 있다.

[0036] 본 개시의 약학적 조성물은 당뇨병의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료, 아로마 테라피 및/또는 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0037] 본 개시의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 상기 약학적 조성물은 1일 0.0001 mg/kg 내지 10000 mg/kg의 양으로 투여할 수 있다. 상기 조성물의 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 또한 수 회 나누어 투여할 수도 있다.

[0038] 다른 일 양상은 제라니올과 같은 후술될 스크리닝된 화합물을 포함하는 당뇨병의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 용어 '건강기능식품'이란 질병의 예방 및 개선, 생체방어, 면역, 병후의 회복, 노화 억제 등 생체조절기능을 가지는 식품을 말하는 것으로, 장기적으로 복용하였을 때 인체에 무해한 것일 수 있다. 건강기능식품은 기능성 음료, 제과품, 스낵바, 캔디, 영양바, 가공 식품, 오일 제품, 유제품, 또는 냉동 식품 등을 포함할 수 있다.

[0039] 기능성 음료에는 다양한 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 더 포함할 수 있다. 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 개시에 따른 조성물 100 ml 당 약 0.01 내지 10 g, 또는 약 0.01 내지 0.1 g으로 포함될 수 있다.

[0040] 건강기능식품은 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등의 첨가제를 더 포함할 수 있다. 본 개시의 제라니올과 같은 후술될 스크리닝된 화합물 또는 그의 약학적으로

허용되는 염은 약 0.1~15중량%, 약 1~10 중량%, 또는 약 5~10중량%로 기능성 식품에 포함될 수 있다.

- [0041] 다른 일 양상은 본 개시에 따라 제라니올과 같은 후술될 스크리닝된 화합물 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 당뇨병 또는 당뇨병으로 인한 합병증을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0042] 상기 방법에 있어서, 용어 "개체"란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미한다. 상기 개체는 당뇨병 환자이거나 당뇨병을 진단받은 경험이 있는 개체일 수 있다. 상기 개체는 예를 들면, 포유동물, 예를 들면, 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐, 쥐, 개, 고양이, 말 및 소로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0043] 상기 당뇨병은 제2형 당뇨병, 제1형 당뇨병, 당뇨병전증 또는 그의 조합일 수 있다.
- [0044] 상기 당뇨병으로 인한 합병증은 심혈관질환, 신경병증, 피부감염, 세소혈관증 또는 치료약제에 의한 과민 반응에 의한 피부 증상, 수정체의 혼탁과 백내장, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신증 및 당뇨병성 신경병증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0045] 상기 투여는 개체의 후각 자극, 예를 들면 개체의 후각 세포를 자극하기 위한 투여일 수 있다. 상기 투여는 비경구 또는 경구 투여일 수 있다. 상기 투여는 비강 또는 경구를 통한 흡입에 의한 투여일 수 있다. 상기 흡입은 비강의 후각 세포를 자극 할 수 있는 것으로, 스멜링(smelling)일 수 있다. 스멜링은 폐 경로를 거치기 전에, 또는 폐 경로를 이용하지 않고, 비강의 후각 세포만 자극할 수 있는 것을 포함할 수 있다. 상기 스멜링은 물질의 냄새를 맡는 것을 의미할 수 있다. 상기 스멜링은 비강의 후각 세포를 자극할 수 있는 정도로, 물질의 냄새 또는 향을 맡는 것을 의미할 수 있다.
- [0046] 상기 치료 방법은 향기 요법일 수 있다. 상기 향기 요법은 아로마 테라피(aroma therapt)라고도 지칭될 수 있다. 상기 향기 요법은 후각 세포를 자극하는 것으로, 냄새를 맡음으로써 수행될 수 있다.
- [0047] 당뇨병의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 향기 요법, 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0048] 다른 양상은 후각 수용체를 발현하는 세포에 시험 물질을 접촉시키는 단계; 상기 세포에서 분비되는 GLP-1의 발현 정도를 측정하는 단계; 및 시험 물질이 상기 GLP-1의 발현을 촉진시키는 경우 당뇨병 치료제의 후보 물질로 결정하는 단계를 포함하는 당뇨병 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0049] 후각 수용체를 발현하는 세포에 시험 물질을 접촉시키는 단계에서, 후각 수용체(olfactory receptor)는 후각 신경세포의 세포막 바깥에서 발현되는 향(odour molecules)을 탐지해낼 수 있는 수용체이다. 향에 의해 특정 후각 수용체가 자극이 되면 후각신경세포(olfactory sensory neuron)내에 신호전달이 시작되며 이 자극은 뇌의 변연계(limbic area)로 전달된다. 후각 수용체는 GPCR(G protein-coupled receptor)이며 인간의 게놈(genome)에서 900종류 이상이 발현되고 이는 인간 유전자의 3%에 해당한다.
- [0050] 후각 수용체의 후각신경세포 내 기전은, 향이 후각 수용체에 결합 시 후각 수용체의 구조적인 변화가 일어나며 후각신경세포 내의 후각관련 G 단백질, 예를 들면 G protein alpha-subunit, olfactory type, 및/또는 Golf를 활성화시킴으로써 상기 기전이 시작될 수 있다. 이러한 후각 수용체의 구조적인 변화는 아데닐레이트 시클라제(adenylate cyclase, AC)를 활성화시켜 ATP를 시클릭 AMP(cAMP)로 변화시키며, 증가된 세포 내 cAMP는 CNG-Channel (cyclic nucleotide-gated ion channel)을 열게 되어 칼슘, 및 나트륨 이온의 세포 내 유입을 유도하여 결과적으로 후각신경세포의 탈분극(depolarization)을 일으켜 뇌로 활동전위를 전달하게 된다.
- [0051] 후각 수용체는 인간 후각 수용체일 수 있다. 인간 후각 수용체는 인간 후각 수용체 OR1A1 (ORL512; <http://senselab.med.yale.edu/odordb/eavData.aspx?db=5&c1=22&o=1912>) 또는 OR1G1 (ORL3747; http://senselab.med.yale.edu/_sitenet/eavObList.aspx?db=4&c1=22&at=36&vid=14668)을 포함할 수 있다. Senomyx에서 정리한 인간 수용체를 하기 표에 나열하였다.

표 1

[0052]

번호	후각 수용체	번호	후각 수용체	번호	후각 수용체	번호	후각 수용체
1	ORL3001	81	ORL3233	161	ORL3346	241	ORL3426
2	ORL3002	82	ORL3234	162	ORL3347	242	ORL3427
3	ORL3003	83	ORL3235	163	ORL3348	243	ORL3428
4	ORL3004	84	ORL3236	164	ORL3349	244	ORL3429
5	ORL3005	85	ORL3237	165	ORL3350	245	ORL3430
6	ORL3006	86	ORL3238	166	ORL3351	246	ORL3431
7	ORL3007	87	ORL3239	167	ORL3352	247	ORL3432
8	ORL3008	88	ORL3247	168	ORL3353	248	ORL3433
9	ORL3009	89	ORL3265	169	ORL3354	249	ORL3434
10	ORL3010	90	ORL3274	170	ORL3355	250	ORL3435
11	ORL3011	91	ORL3275	171	ORL3356	251	ORL3436
12	ORL3012	92	ORL3276	172	ORL3357	252	ORL3438
13	ORL3013	93	ORL3277	173	ORL3358	253	ORL3457
14	ORL3014	94	ORL3278	174	ORL3359	254	ORL3458
15	ORL3015	95	ORL3279	175	ORL3360	255	ORL3459
16	ORL3016	96	ORL3280	176	ORL3361	256	ORL3460
17	ORL3017	97	ORL3281	177	ORL3362	257	ORL3461
18	ORL3018	98	ORL3282	178	ORL3363	258	ORL3462
19	ORL3019	99	ORL3283	179	ORL3364	259	ORL3463
20	ORL3020	100	ORL3284	180	ORL3365	260	ORL3464
21	ORL3023	101	ORL3285	181	ORL3366	261	ORL3465
22	ORL3024	102	ORL3286	182	ORL3367	262	ORL3466
23	ORL3025	103	ORL3287	183	ORL3368	263	ORL3467
24	ORL3026	104	ORL3288	184	ORL3369	264	ORL3468
25	ORL3027	105	ORL3289	185	ORL3370	265	ORL3469
26	ORL3028	106	ORL3290	186	ORL3371	266	ORL3470
27	ORL3029	107	ORL3291	187	ORL3372	267	ORL3655
28	ORL3030	108	ORL3292	188	ORL3373	268	ORL3656
29	ORL3031	109	ORL3293	189	ORL3374	269	ORL3657
30	ORL3032	110	ORL3294	190	ORL3375	270	ORL3658
31	ORL3044	111	ORL3295	191	ORL3376	271	ORL3661
32	ORL3045	112	ORL3296	192	ORL3377	272	ORL3662
33	ORL3046	113	ORL3297	193	ORL3378	273	ORL3663
34	ORL3047	114	ORL3298	194	ORL3379	274	ORL3681
35	ORL3048	115	ORL3299	195	ORL3380	275	ORL3682
36	ORL3049	116	ORL3300	196	ORL3381	276	ORL3683
37	ORL3050	117	ORL3301	197	ORL3382	277	ORL3684
38	ORL3051	118	ORL3302	198	ORL3383	278	ORL3685
39	ORL3052	119	ORL3303	199	ORL3384	279	ORL3686
40	ORL3053	120	ORL3304	200	ORL3385	280	ORL3687
41	ORL3054	121	ORL3305	201	ORL3386	281	ORL3688
42	ORL3093	122	ORL3306	202	ORL3387	282	ORL3689
43	ORL3094	123	ORL3307	203	ORL3388	283	ORL3690
44	ORL3095	124	ORL3308	204	ORL3389	284	ORL3691
45	ORL3131	125	ORL3309	205	ORL3390	285	ORL3692
46	ORL3132	126	ORL3310	206	ORL3391	286	ORL3693
47	ORL3137	127	ORL3311	207	ORL3392	287	ORL3694
48	ORL3138	128	ORL3312	208	ORL3393	288	ORL3695
49	ORL3139	129	ORL3313	209	ORL3394	289	ORL3697
50	ORL3140	130	ORL3314	210	ORL3395	290	ORL3698
51	ORL3141	131	ORL3315	211	ORL3396	291	ORL3699
52	ORL3142	132	ORL3316	212	ORL3397	292	ORL3700
53	ORL3143	133	ORL3317	213	ORL3398	293	ORL3721
54	ORL3144	134	ORL3318	214	ORL3399	294	ORL3722
55	ORL3148	135	ORL3319	215	ORL3400	295	ORL3723

56	ORL3171	136	ORL3320	216	ORL3401	296	ORL3725
57	ORL3172	137	ORL3321	217	ORL3402	297	ORL3736
58	ORL3173	138	ORL3322	218	ORL3403	298	ORL3737
59	ORL3174	139	ORL3323	219	ORL3404	299	ORL3738
60	ORL3175	140	ORL3324	220	ORL3405	300	ORL3745
61	ORL3176	141	ORL3325	221	ORL3406	301	ORL3746
62	ORL3177	142	ORL3326	222	ORL3407	302	ORL3747
63	ORL3178	143	ORL3327	223	ORL3408	303	ORL3748
64	ORL3179	144	ORL3328	224	ORL3409	304	ORL3760
65	ORL3216	145	ORL3329	225	ORL3410	305	ORL3761
66	ORL3217	146	ORL3330	226	ORL3411	306	ORL3762
67	ORL3218	147	ORL3331	227	ORL3412	307	ORL3763
68	ORL3219	148	ORL3332	228	ORL3413	308	ORL3764
69	ORL3220	149	ORL3333	229	ORL3414	309	ORL3765
70	ORL3221	150	ORL3334	230	ORL3415	310	ORL3766
71	ORL3222	151	ORL3335	231	ORL3416	311	ORL3767
72	ORL3223	152	ORL3336	232	ORL3417	312	ORL3768
73	ORL3224	153	ORL3337	233	ORL3418	313	ORL3769
74	ORL3225	154	ORL3338	234	ORL3419	314	ORL3774
75	ORL3226	155	ORL3339	235	ORL3420	315	ORL3775
76	ORL3227	156	ORL3340	236	ORL3421	316	ORL3802
77	ORL3228	157	ORL3342	237	ORL3422	317	ORL3803
78	ORL3229	158	ORL3343	238	ORL3423	318	ORL4124
79	ORL3231	159	ORL3344	239	ORL3424	319	ORL4126
80	ORL3232	160	ORL3345	240	ORL3425	320	ORL4127

- [0053] 후각 수용체를 발현하는 세포는 후각 세포 또는 장내분비 세포(enteroendocrine cell)일 수 있다. 후각 세포 및 장내분비세포에 관해서는 상술한 바와 같다.
- [0054] 본 개시에서 시험 물질은 후각 수용체를 자극하여 GLP-1의 분비를 촉진하는지 여부를 검사하기 위하여 스크리닝에서 이용되는 미지의 물질일 수 있다. 상기 시험 물질은 제라니올과 같은 모노테르페노이드(monoterpenoid)일 수 있다. 상기 시험 물질은 제라니올(geraniol), 리나로올(linalool), 시트로넬라(citronella), 시트로넬롤(citronellol) 또는 시트랄(citral)을 포함할 수 있다. 상기 시험 물질은 취기제(odorant)일 수 있다.
- [0055] 상기 세포와 시험 물질 간의 접촉은 세포와 시험 물질을 액체 매질에서 인큐베이션시키거나 시험 물질이 고정된 고체 지지체에 세포를 접촉시키는 등 다양한 방법을 이용하여 이루어질 수 있다.
- [0056] 후각 수용체를 발현하는 세포에 시험 물질을 접촉시킨 후 약 1시간 이상, 약 1 ~ 48시간, 24 ~ 48 시간 또는 36 ~ 48 시간 동안 세포를 배양할 수 있다. 약 1 ~ 120분 후각 수용체를 발현하는 세포에 상기 시험 물질을 약 0.1 ~ 2000 μM , 약 10 ~ 2000 μM , 약 100 ~ 1500 μM , 또는 약 500 ~ 1000 μM 의 농도로 인큐베이션할 수 있다.
- [0057] 당뇨병 치료제의 스크리닝 방법은 세포에서 분비되는 GLP-1의 발현 정도를 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 세포에서 분비되는 GLP-1의 발현 정도를 측정하는 단계에서, 후각 수용체를 발현하는 세포에 시험 물질을 접촉시킨 후, GLP-1의 분비량을 효소 면역 측정법 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 멀티플렉스(Multiplex, GLP-1 multiplex assay), 방사면역정량법(radioimmunoassay), 형광면역정량법(형광항체법), 또는 라텍스(latex) 응집반응 방법으로 측정하여 GLP-1의 분비량의 증가를 확인할 수 있다. 또한, GLP-1의 mRNA의 양을 측정하는 방법 또는 기타 GLP-1의 발현 정도를 측정할 수 있는 다양한 방법을 이용하여 GLP-1의 발현 증가를 확인할 수 있다.
- [0058] 당뇨병 치료제의 스크리닝 방법은 시험 물질이 GLP-1의 발현을 촉진시키는 경우 당뇨병 치료제로 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 시험 물질이 GLP-1의 발현을 촉진시키는 경우 당뇨병 치료제로 결정하는 단계에서, GLP-1의 분비량이 시험 물질을 처리하지 않은 경우보다 증가한 경우, 상기 시험 물질은 GLP-1의 분비를 촉진시키는 것으로 결정할 수 있다.
- [0059] GLP-1의 분비를 촉진시키는 시험 물질은 당뇨병 치료 물질의 후보가 될 수 있다. 당뇨병은 제2형 당뇨병, 제1형 당뇨병, 및/또는 당뇨병 전증을 포함할 수 있다. 제2형 당뇨병은 인슐린 분비장애 및/또는 인슐린 저항성의 복

합 장애로 유발될 수 있다. 당뇨병전증은 공복고혈당(impaired fasting lycemia, IFG), 내당능장애 (Impaired glucose tolerance, IGT) 또는 대사증후군(metabolic syndrome)의 증상을 포함할 수 있다.

- [0060] 일 양상은 본 개시에 따라 스크리닝된 화합물 또는 그의 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공한다. 상기 스크리닝된 화합물은 모노테르페노이드(monoterpenoid)일 수 있다. 상기 화합물은 제라니올(geraniol), 리나로올(linalool), 시트로넬라(citronella), 시트로넬롤(citronellol) 또는 시트랄(citral)일 수 있다.
- [0061] 다른 양상은 제라니올 또는 상술한 스크리닝된 화합물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.
- [0062] 상기 제라니올 및 스크리닝된 화합물에 대해서는 상기에서 설명한 바와 같다. 보다 구체적으로, 본 발명의 조성물은 당뇨병의 예방 또는 개선을 목적으로 의약품 조성물에 첨가할 수 있다.
- [0063] 용어 "의약품"은 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것, 감염 예방을 위하여 살균, 살충 및 이와 유사한 용도로 사용되는 제제 중 하나에 해당하는 물품으로서, 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것 및 사람이나 동물의 구조와 기능에 약리학적 영향을 줄 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것을 제외한 물품을 의미하며, 피부 외용제 및 개인위생용품도 포함할 수 있다.
- [0064] 상기 제라니올을 당뇨병의 예방 또는 개선을 목적으로 의약품 조성물에 첨가할 경우, 상기 제라니올을 그대로 첨가하거나 다른 의약품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0065] 상기 의약품 조성물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 개인위생용품, 피부외용제, 소독정결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가슴기 충전제, 마스크, 연고제 또는 필터충진제를 포함한다. 상기 피부외용제는 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 젼의 형태로 제조되어 사용될 수 있다. 상기 개인위생용품은 비누, 물티슈, 휴지, 샴푸, 치약, 모발 손질 제품, 에어프레쉬너 젼 또는 세정 젼일 수 있다.
- [0066] 다른 양상은 제라니올 또는 상술한 스크리닝된 화합물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병의 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공한다. 상기 제라니올 및 당뇨병에서 대해서는 상술한 바와 같다.
- [0067] 상기 제라니올 또는 스크리닝된 화합물은 상기 화장품 조성물에 대하여 약학적 조성물과 마찬가지로 상기 제라니올을 조성물 총 중량에 대하여 0.1 중량% 내지 20 중량%의 비율, 예를 들면 0.1 중량% 내지 5 중량%, 0.4 내지 0.6 중량%, 또는 0.5 중량%의 비율로 포함할 수 있다.
- [0068] 상기 화장품 조성물은 제라니올 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예를 들어 물, 계면활성제, 보습제, 저급알코올, 킬레이트제, 살균제, 산화방지제, 방부제, 색소 및 향료로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0069] 또한, 상기 화장품 조성물은 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 용액, 유탁액, 현탁액, 페이스트, 크림, 로션, 젼, 파우더, 스프레이, 계면활성제-함유 클린징, 오일, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 파운데이션, 메이크업베이스, 에센스, 화장수, 폼, 팩, 유연수, 선스크린 크림 또는 선오일 등으로 제형화 될 수 있다.
- [0070] 상기 화장품 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리이미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0071] 상기 화장품 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예를 들면, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조

에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0072] 상기 화장료 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0073] 상기 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0074] 상기 화장료 조성물의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0075] 또한, 상기 화장료 조성물에 포함되는 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 포함될 수 있다.

발명의 효과

[0076] 일 양상에 따른 약학적 조성물은 인간 장내분비 세포 내에서 인크레틴 호르몬인 GLP-1의 분비를 촉진하고, 당뇨병 마우스 모델에서 혈당 강하 효과를 가져 당뇨병을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 또한, 흡입 투여용 제형인 약학적 조성물을 통해 경구 투여의 대안으로 사용할 수 있으며, 간에 부담을 최소화하여야 하는 개체에 투여할 수 있다. 또한, 혈중 글루코스 농도에 의존적으로 혈당 강하 효과를 가질 수 있다.

[0077] 일 양상에 따른 개체의 당뇨병을 예방 또는 치료하는 방법은 당뇨병을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0078] 일 양상에 따른 스크리닝 방법은 후각 수용체를 자극하고, GLP-1의 분비를 촉진하는 화합물을 효과적으로 스크리닝 할 수 있다.

[0079] 일 양상에 따른 건강 기능성 식품은 혈중 글루코스 농도에 의존적으로 혈당 강하 효과를 가져, 당뇨병을 효과적으로 예방 또는 개선할 수 있다.

[0080] 일 양상에 따른 의약품 조성물은 혈중 글루코스 농도에 의존적으로 혈당 강하 효과를 가져, 당뇨병을 효과적으로 예방 또는 개선할 수 있다.

[0081] 일 양상에 따른 화장료 조성물은 혈중 글루코스 농도에 의존적으로 혈당 강하 효과를 가져, 당뇨병을 효과적으로 예방 또는 개선할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0082] 도 1a는 제라니올의 인간 장내분비 세포인 NCI-H716 세포에서의 GLP-1의 분비 촉진 효과를 확인한 결과이다. 제라니올은 그 이성질체인 네롤과 비교하여, 인간 장내분비 세포에서 처리 양에 의존하여(dose-dependent) GLP-1의 분비를 촉진시킴을 확인할 수 있다.

도 1b는 제라니올이 후각 수용체인 OR1A1을 자극하여 GLP-1의 분비를 촉진함을 나타내는 그래프이다.

도 1c는 제라니올이 후각 수용체인 OR1G1을 자극하여 GLP-1의 분비를 촉진함을 나타내는 그래프이다.

도 2는 제라니올 처리 후의 인간 장내분비 세포 내 칼슘 농도의 변화를 나타낸 그래프이다. 실험 개시 1분 경과 후 100 μ M의 제라니올을 처리하였고, 처리 후 4분 경과 후 세포 내 칼슘 농도가 최대가 됨을 확인할 수 있다.

도 3은 제라니올 처리 후 시간 경과에 따른 세포 내 cAMP의 변화량을 측정한 그래프이다. 100 μ M의 제라니올 처리 30분 경과 후 세포 내 cAMP의 농도가 최대가 된 이후 계속하여 감소함을 나타낸다.

도 4는 cAMP 활성화제인 포르스콜린(Forskolin) 처리 후 시간 경과에 따른 세포 내 cAMP의 변화량을 측정한 그래프이다. 포르스콜린(Forskolin) 10 μ M 처리 후 cAMP의 변화량을 나타낸 그래프이다. 제라니올 처리 후와 유사

한 패턴을 나타냄을 확인할 수 있다.

도 5a는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 150 mg/체중Kg의 제라니올을 위관영양 후 경구당부하 검사시 혈당 강하 효과를 나타낸 그래프이다.

도 5b는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 500 mg/체중Kg의 제라니올을 위관영양 후 경구당부하 검사시 혈당 강하 효과를 나타낸 그래프이다.

도 5c는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 현재 당뇨병 치료제로 사용되고 있는 메트포르민 (metformin) 300 mg/체중Kg를 위관영양 후 경구당부하 검사시 혈당 강하 효과를 나타낸 그래프이며 제라니올의 효과와 비교할 수 있다.

도 6a는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 150 mg/체중Kg의 제라니올을 위관영양 후 경구당부하 검사시 혈장내 GLP-1 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 6b는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 150 mg/체중Kg의 제라니올을 위관영양 후 경구당부하 검사시 혈장내 인슐린 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 6c는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 300 mg/체중Kg의 제라니올을 위관영양 후 경구당부하 검사시 혈장내 GLP-1 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 6d는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 300 mg/체중Kg의 제라니올을 위관영양 후 경구당부하 검사시 혈장내 인슐린 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 7a 및 도 7b는 인간과 마우스 소장 내 후각 수용체가 존재함을 면역형광염색법(immunofluorescent staining)을 통해 확인한 사진이다. 도 7a의 A 내지 C는 면역형광염색법을 통해 인간의 회장 (Ileum) 조직에서 GLP-1과 OR1A1 (olfactory receptor family 1 subfamily A member 1) 또는 OR1G1의 공동발현이 확인된 결과이다. 도 7a의 D 내지 F는 인간 장 내분비세포인 NCI-H716 세포에서 GLP-1과 OR1A1, OR1G1 또는 Golf (G protein, olfactory type)의 발현이 확인 확인된 결과이다. 도 7b의 G 내지 I는 마우스 십이지장 소장 조직에서 GLP-1과 olfactory marker protein (OMP), OR1G1, 또는 OR1A1의 공동 발현이 확인된 결과이다.

도 8은 제라니올의 인간 장내분비 세포에서의 세포 독성을 MTT 실험을 통해 확인한 그래프이다. 결과는 세포 생존력(cell viability)을 PBS 처리한 비교군에 대한 % 값으로 나타내었으며, 과산화수소(H₂O₂)는 양성대조군으로 사용되었다. 실험결과 제라니올 10~1000 μ M은 인간 장내분비 세포인 NCI-H716에서 세포독성을 갖지 않음이 확인되었다.

도 9는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서 제라니올에 대한 후각 자극 (smelling)이 발생하였을 때 경구당부하 검사시 혈당 강하 효과를 나타낸 그래프이다. 제라니올 후각 자극에 의해 강하된 혈당 수치는 당뇨병 치료제인 메트포르민 (metformin) 300 mg/체중Kg를 경구투여 후 경구당부하 검사를 실시했을 때와 비교하여 시간순으로 나타내었다.

도 10은 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 제라니올에 대한 후각 자극 (smelling)이 발생하였을 때 경구당부하 검사 혈장 내 GLP-1의 양의 증가를 나타낸 그래프이다. 제라니올 후각 자극에 의해 증가된 GLP-1 수치는 당뇨병 치료제인 메트포르민 (metformin) 300 mg/체중Kg를 경구투여 후 경구당부하 검사를 실시했을 때와 비교하여 시간순으로 나타내었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0083]

이하 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0084]

실시예 1: 제라니올의 장내분비세포의 GLP-1 분비 촉진, 및 cAMP 변화

[0085]

(1) 장내분비 세포에서 제라니올의 GLP-1 분비 촉진 확인

[0086]

1-1. 세포 배양

[0087]

인간 장내분비 세포인 NCI-H716은 한국 세포주 은행을 통하여 입수하였다. 입수한 세포를 RPMI 1640 배지에서 적절한 숫자로 증가할 때까지 배양하였다. 그 다음에 마트리젤 코팅된 플레이트(Matrigel-coated plate)에 세포

를 옮겨 DMEM 배지에서 48시간동안 배양하여, endocrine differentiation 시켰다.

1-2. 시험 물질의 준비

제라니올 및 네롤은 Sigma-Aldrich, USA에서 구매하였다.

1-3. 세포에 시험 물질 처리

인간 장내분비 세포(Humon enteroendocrine cell)에 제라니올을 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 및 2000 μ M의 농도로 각각 처리하고 1 시간 동안 세포를 배양하였다. 비교군(음성 대조군)으로 제라니올의 이성질체인 네롤(Nerol)을 제라니올과 동일한 조건으로 인간 장내분비 세포에 처리하였다.

1-4. GLP-1의 분비량 분석

ELISA 법으로 제라니올로 처리한 세포와 네롤로 처리한 세포에서의 GLP-1 분비를 확인하였다. ELISA는 Millipore사의 GLP-1 ELISA 키트를 사용하여 사용자 매뉴얼에 따라 수행하였으며, 형광/발광 분석기(Fluoroskan ascent microplate reader; Thermo electron, Finland) 장비를 통해 양을 측정하였다.

도 1a는 제라니올의 인간 장내분비 세포인 NCI-H716 세포에서의 GLP-1의 분비 촉진 효과를 확인한 결과이다. 제라니올은 그 이성질체인 네롤과 비교하여, 인간 장내분비 세포에서 처리 양에 의존하여(dose-dependent) GLP-1의 분비를 촉진시킴을 확인할 수 있다. 도 1a에 나타난 바와 같이, 제라니올은 인간 장내분비 세포에서 제라니올의 처리 양에 비례하여 GLP-1의 분비를 촉진시킴을 확인할 수 있다. 그러나, 제라니올의 이성질체인 네롤을 처리한 경우에는 GLP-1 분비 촉진 효과가 없었다.

(2) 후각 수용체를 녹다운시킨 장내분비 세포에서 제라니올의 GLP-1 분비 분석

짧은 간섭 RNA(small-interference RNA; siRNA)로 후각 수용체를 녹다운(knock-down) 시킨 인간 장내분비 세포를 사용하여 제라니올의 장내분비 세포에서의 후각 수용체 신호전달 기작을 확인하였다.

siRNA로 후각 수용체 OR1A1 및 OR1G1를 각각 녹다운(knock-down) 시킨 인간 장내분비 세포를 배양하였다. siRNA는 Bioneer사(Bioneer, South Korea)에서 각각 OR1A1(서열번호 1 및 2, siRNA No. 1108058)과 OR1G1(서열번호 3 및 4, siRNA No. 1108121)를 주문하였다. 리포펙타민(Lipofectamine) 2000(Life technology, USA)을 이용하여 사용자 매뉴얼에 따라 세포내 형질감염(transfection) 시켰다.

후각 수용체를 녹다운(knock-down) 시킨 인간 장내분비세포와 정상 인간 장내분비세포에 각각 제라니올을 100 μ M의 농도로 처리하였다. 그 후 1시간 동안 세포를 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 농도에서 배양하였다. 그 후, ELISA 법으로 GLP-1 분비를 확인하였다. 도 1b는 제라니올이 후각 수용체인 OR1A1을 자극하여 GLP-1의 분비를 촉진함을 나타내는 그래프이다. 도 1c는 제라니올이 후각 수용체인 OR1G1을 자극하여 GLP-1의 분비를 촉진함을 나타내는 그래프이다. 도 1b 및 도 1c에 나타난 바와 같이 제라니올은 OR1A1 및/또는 OR1G1와 같은 후각 수용체를 자극하여, GLP-1의 분비를 촉진함을 확인할 수 있다. 따라서, 제라니올의 인간 장내분비세포에서의 인크레틴 호르몬 분비 기작은 후각 수용체의 자극을 통하여 일어나는 것임을 확인하였다.

(3) 제라니올 처리 후 인간 장내분비 세포 중 칼슘 농도의 변화량 확인

도 2는 제라니올 처리 후의 인간 장내분비 세포 내 칼슘 농도의 변화를 나타낸 그래프이다. 실험 개시 1분 경과 후 100 μ M의 제라니올을 처리하였고, 처리 후 4분 경과 후 세포 내 칼슘 농도가 최대가 됨을 확인할 수 있다.

(4) 제라니올 처리 후 cAMP의 변화량 확인

인간 장내분비 세포에서 제라니올 처리(100 μ M) 및 cAMP 활성화제인 포르스콜린(Forskolin) 처리(10 μ M) 결과를 비교하여, 제라니올의 후각수용체의 자극에 의한 GLP-1 분비 기전에 cAMP의 활성화를 경유하며, cAMP 활성화제인

포르스콜린과 유사한 경향을 가짐을 cAMP ELISA를 사용하여 사용자 매뉴얼에 따라 실험을 수행하여(Enzo Life Science, USA) 확인하였다.

[0104] 도 3은 제라니올 처리 후 시간 경과에 따른 세포 내 cAMP의 변화량을 측정한 그래프이다. 도 3에 나타난 바와 같이, 100 μ M의 제라니올 처리 30분 경과 후 세포 내 cAMP의 농도가 최대가 된 이후 계속하여 감소함을 나타낸다.

[0105] 또한, 도 4는 cAMP 활성화제인 포르스콜린(Forskolin) 처리 후 시간 경과에 따른 세포 내 cAMP의 변화량을 측정한 그래프이다. 포르스콜린(Forskolin) 10 μ M 처리 후 cAMP의 변화량을 나타낸 그래프이다. 제라니올 처리 후와 유사한 패턴을 나타냄을 확인할 수 있다.

[0106]

[0107] **(5) 인간 및 마우스 소장 중 후각 수용체의 존재 확인**

[0108] 인간 및 마우스 소장 중 후각 수용체의 존재를 확인하기 위하여, 면역형광염색법을 수행하고 그 결과를 도 7a 및 7b에 나타내었다.

[0109] 도 7a 및 도 7b는 인간과 마우스 소장 내 후각 수용체가 존재함을 면역형광염색법(immunofluorescent staining)을 통해 확인한 사진이다. 도 7a의 A 내지 C는 면역형광염색법을 통해 인간의 회장(Ileum) 조직에서 GLP-1과 OR1A1 (olfactory receptor family 1 subfamily A member 1) 또는 OR1G1의 공동발현이 확인된 결과이다. 도 7a의 D 내지 F는 인간 장 내분비세포인 NCI-H716 세포에서 GLP-1과 OR1A1, OR1G1 또는 Golf (G protein, olfactory type)의 발현이 확인 확인된 결과이다. 도 7b의 G 내지 I는 마우스 십이지장 소장 조직에서 GLP-1과 olfactory marker protein (OMP), OR1G1, 또는 OR1A1의 공동 발현이 확인된 결과이다.

[0110] **실시예 2: 제라니올의 경구 투여시 마우스 모델에서의 혈당 강하 효과, 및 GLP-1 및 인슐린 분비 효과 확인**

[0111] **(1) 마우스 모델에서의 혈당 강하 효과**

[0112] 제 2형 당뇨병모델인 db/db 마우스(Leptin receptor knock-out mice)(35g-39g)를 사용하여 당부하검사를 실시하였다. 수컷 6주령 db/db 마우스는 대한 바이오링크 (DBL, South Korea)에서 구매하였다.

[0113] 18 시간 절식시킨 공복상태의 db/db 마우스의 공복혈당을 측정하였다. 이어서, 각각의 실험 및 대조군에 제라니올, 메트포르민, 또는 생리식염수(saline)를 각각 위관 영양을 통해 경구 투여하였다. 제라니올을 150 또는 500 mg/체중Kg투여하고, 메트포르민은 300 mg/체중Kg 투여하였다. 그 다음, 각 군에 5g/체중Kg의 글루코스를 투여하였다. 10분, 20분, 40분, 90분 및 120분 경과 후 당 부하검사(oral glucose tolerance test; OGTT)를 실시하고 그 결과를 도 5a 내지 5c에 나타내었다.

[0114] 도 5는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 제라니올의 경구 투여시, 혈당 강하 효과를 나타낸 그래프이다. 도 5에 나타난 바와 같이, 제라니올의 경구 투여는 생리식염수를 투여한 군과 비교하여, 제2형 당뇨병 마우스 모델에서 혈당 강하 효과가 있으며, 이러한 혈당 강하 효과는 당뇨병 치료제로 사용되는 메트포르민과 비교할 수 있음을 확인하였다.

[0115] **(2) 마우스 모델에서의 GLP-1 및 인슐린 분비 효과**

[0116] 실시예 2의 (1)과 동일한 방법으로, 공복상태의 db/db 마우스에서 제라니올, 메트포르민, 또는 생리식염수를 각각 위관영양하고, 각 그룹에 2g/체중Kg의 글루코스를 투여하였다. 10분, 20분, 30분, 및 40분 경과 후 혈장 내 GLP-1과 인슐린 양을 multiplex assay (Bio-Rad, USA) 방법을 통해 사용자 매뉴얼에 의한 방법으로 실시 후 Bio-Plex MAGPIX multiplex reader (Bio-Rad, USA) 장비로 측정하여 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0117] 도 6은 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 제라니올의 경구 투여시, GLP-1 및 인슐린이 혈장 내에 증가되는 효과가 있음을 나타낸 그래프이다. 도 6에 나타난 바와 같이, 제라니올의 경구 투여는 PBS 투여군과 비교하여 제2형 당뇨병 마우스 모델에서 GLP-1 및 추가적인 인슐린 분비 유도에 따른 혈당강하 효과가 있으며, 그 효과는 당뇨병 치료제로 사용되는 메트포르민과 비교할 수 있음을 확인하였다.

[0118] **실시예 3: 당뇨 모델에서의 제라니올 smelling의 GLP-1 분비 촉진 효과 및 혈당 강하 효과 확인**

[0119] 수컷 6주령 db/db 마우스는 대한 바이오링크 (DBL, South Korea)에서 구매하였다. 18 시간 절식시킨 공복상태의 db/db 마우스의 공복 혈당을 측정하였다. 이어서, 실험군은 제라니올을 후각을 통해 자극 (smelling)하게 하였고, 대조군에 saline과 300 mg/체중Kg의 메트포민을 위관영양을 통해 경구 투여하였다. 그 다음, 실험군 및 대조군 각각에 2g/체중Kg의 글루코스를 투여하였다. 10분, 20분, 40분, 90분 및 120분 경과 후 혈장 중 GLP-1 양을 상술한 multiplex assay (Bio-Rad, USA)를 통해 확인하였다.

[0120] 도 9는 제라니올 처리 후 시간 경과에 따른 혈당 강하효과를 PBS 또는 메트포르민을 처리한 군과 비교하여 나타낸 도면이다.

[0121] 도 10은 제라니올 처리 후 시간 경과에 따른 GLP-1의 양을 PBS 또는 메트포르민을 처리한 군과 비교하여 나타낸 도면이다. 도 8에 나타난 바와 같이, 제라니올을 smelling한 실험군의 경우, 당 투여 후 10분 경과한 경우, GLP-1의 양이 메트포르민을 투여한 경우보다 더 증가하고, 최대로 증가하고, 그 후 그 양이 줄어드는 것을 확인하였다. 이로부터, 제라니올에 의한 후각 자극이 제2형 당뇨병 마우스에서 혈중 GLP-1의 수준을 증가시켜 혈당을 강하시킬 수 있다. 또한 제라니올에 의한 후각 자극은 현재 당뇨병 치료제로 사용되는 메트포르민의 경구 투여와 마찬가지로 유사한 혈당 강하 효과가 있음을 확인하였다.

[0122] 당뇨병에 대한 새로운 치료법의 개발분야에서의 기존의 치료제는 약효가 낮거나 간 기능 장애, 저혈당, 유산혈 증 등과 같은 부작용을 일으킨다는 한계가 있다. 본 개시는 인간 장내분비 세포에서 발현되는 후각 수용체를 자극 또는 직접적인 후각 자극을 통하여 GLP-1의 분비를 촉진한다는 메커니즘 발견에 기초하여, 당뇨병 치료 후보 물질을 스크리닝할 수 있는 신규한 방법을 제시한다. 본 개시에 따른 스크리닝 방법으로 스크리닝된 제라니올은 인간 장내분비 세포의 후각 수용체를 자극하여 GLP-1의 분비를 촉진하고, 제2형 당뇨병 마우스 모델에서 위관영양 및 직접적인 후각 자극을 통하여 GLP-1과 인슐린 분비에 따른 혈당 강하 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다.

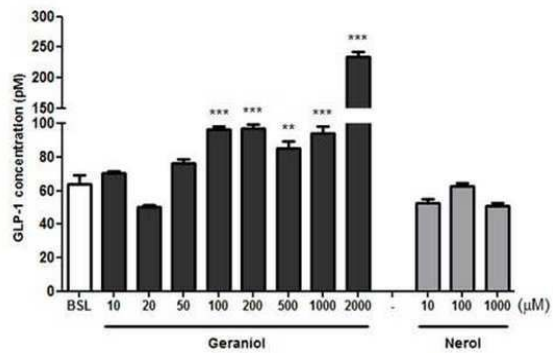
[0123] **실시예 4. 제라니올의 세포 생존능 시험 (cell viability assay)**

[0124] 제라니올의 인간 장내분비 세포에서의 세포 독성을 확인하기 위해 다음과 같이 MTT 실험을 수행하였다. 구체적으로, 세포 생존능 시험을 3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸륨) 브로미드 (MTT; Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 수행하였다. 내분비세포 NCI-H716 세포를 1시간 동안 상이한 농도의 제라니올 및 6 mM MTT를 처리하였다. DMSO를 세포에 첨가하고, Bio-Rad 모델 680 microplated reader (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

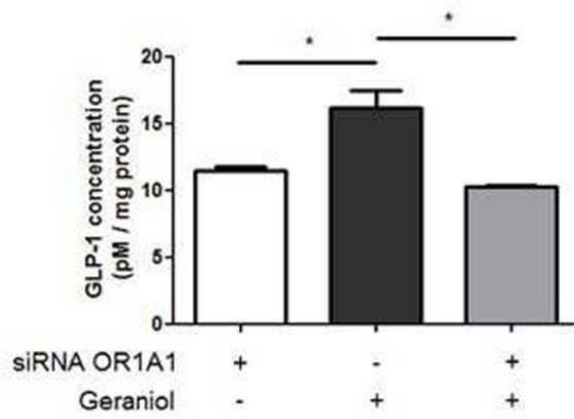
[0125] 도 8은 제라니올의 인간 장내분비 세포에서의 세포 독성을 MTT 실험을 통해 확인한 그래프이다. 결과는 세포 생존력(cell viability)을 PBS 처리한 비교군에 대한 % 값으로 나타내었으며, 과산화수소(H₂O₂)는 양성대조군으로 사용되었다. 도 8에 나타난 바와 같이, 10 내지 1000 μ M의 제라니올, 즉 10, 20, 50, 100, 200, 500, 및 1000 μ M의 제라니올은 인간 장내분비 세포인 NCI-H716에서 세포독성을 갖지 않음을 확인하였다.

도면

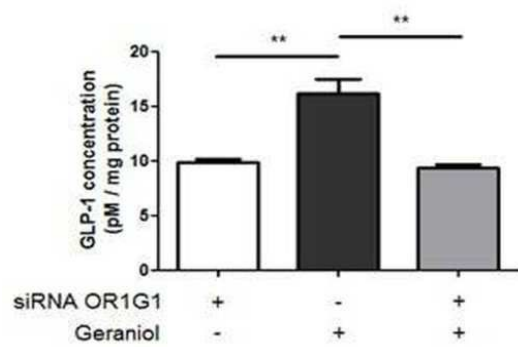
도면1a



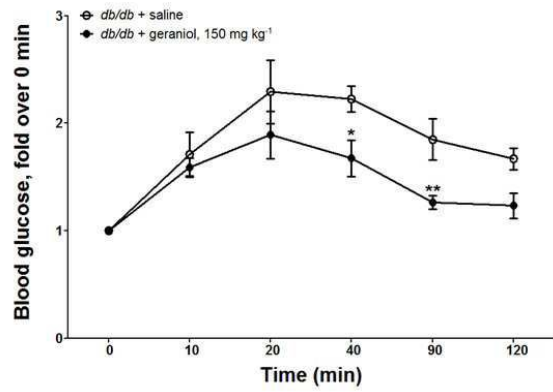
도면1b



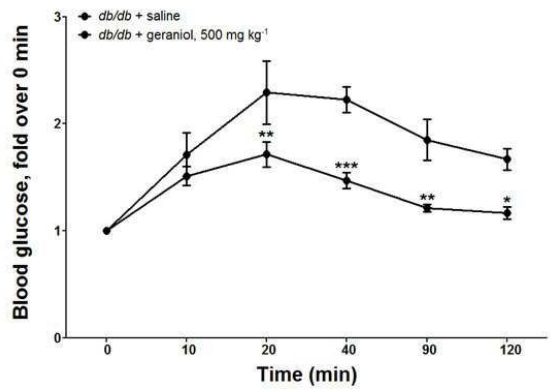
도면1c



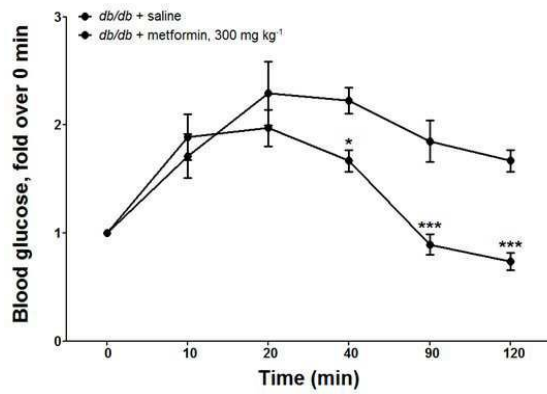
도면5a



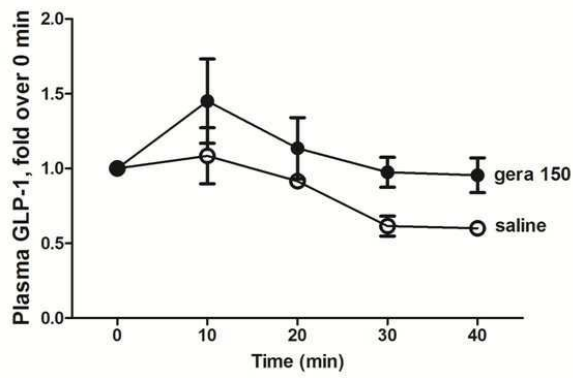
도면5b



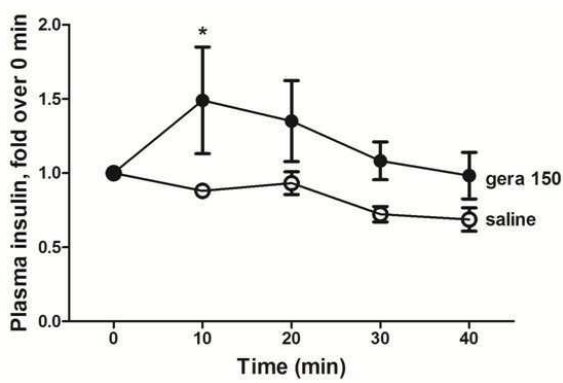
도면5c



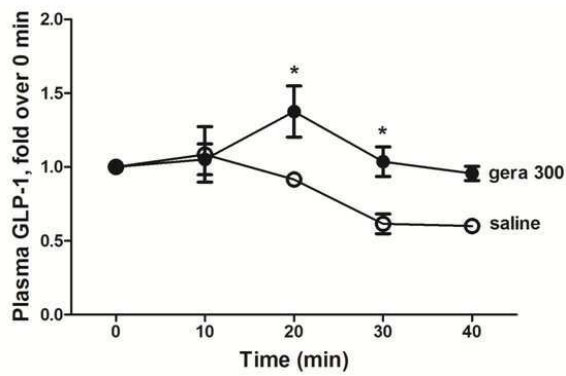
도면6a



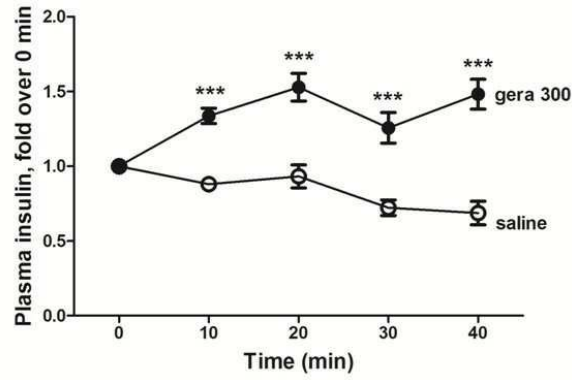
도면6b



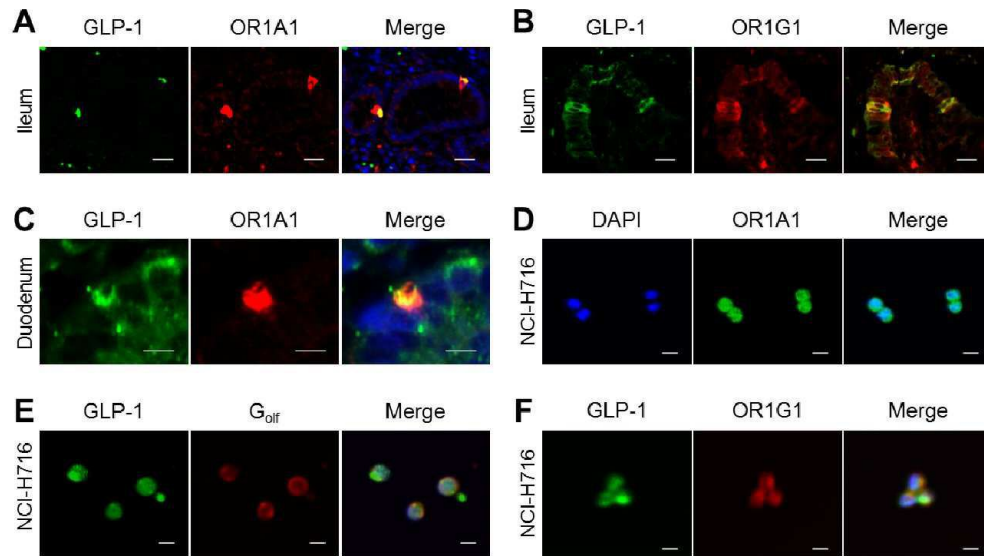
도면6c



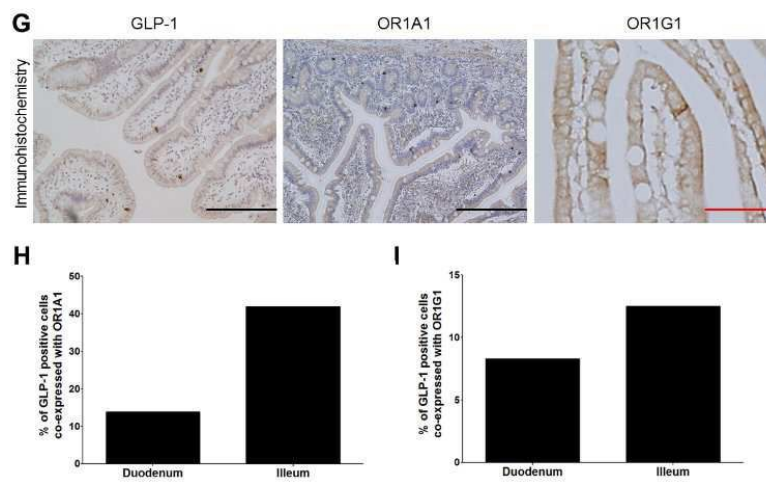
도면6d



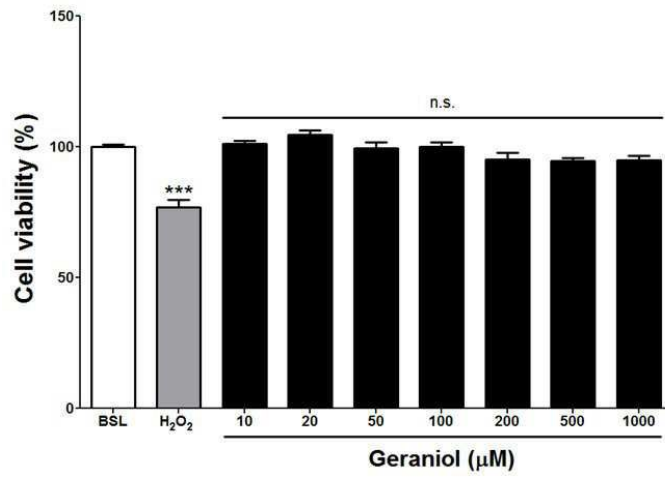
도면7a



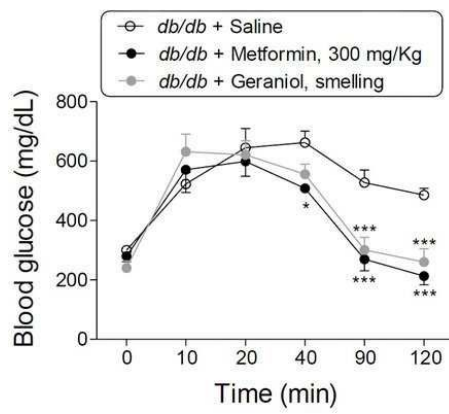
도면7b



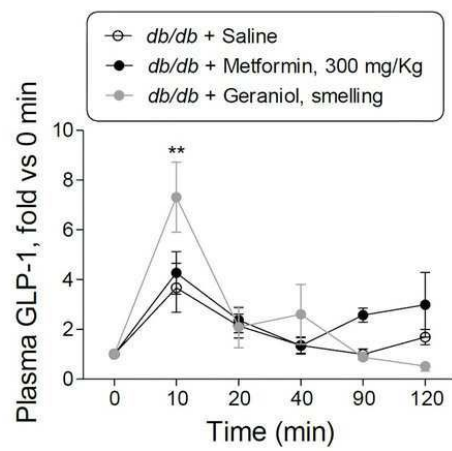
도면8



도면9



도면10



서열목록

<110> Industry Academic Cooperation Foundation Kyunghee University

<120> Composition for preventing or treating diabetes mellitus, method
for preventing or treating diabetes mellitus, and method for
screening antidiabetics

<130> PN106623KR

<150> KR 13/091596

<151> 2013-08-01

<160> 4

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sense sequences of OR1A1 siRNA

<400> 1

cugauguucg ccuucacaa

19

<210> 2

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antisense sequences of OR1A1 siRNA

<400> 2

uugugaaggc gaacaucag

19

<210> 3

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sense sequences of OR1G1 siRNA

<400> 3

cuccuacuca gggugucua

19

<210> 4

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antisense sequences of OR1G1 siRNA

<400> 4

uagacacccu gaguaggag

19