



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0062715
(43) 공개일자 2018년06월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/185 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/185 (2013.01)

A61K 2236/30 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0162701

(22) 출원일자 2016년12월01일

심사청구일자 2016년12월01일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

임순성

강원도 춘천시 후석로 325, 105동 301호 (후평동, 춘천더샵 아파트)

황승환

경기도 남양주시 경춘로885번길 10-7, 40동 301호 (금곡동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이정훈, 특허법인 정안, 진현정

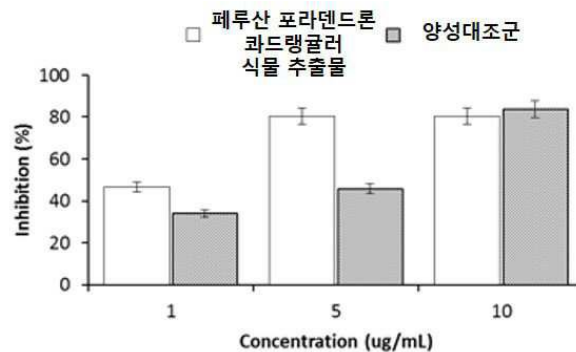
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 함유하는 당뇨병병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 우수한 알도스 환원 효소 억제 효능을 가져 당뇨병병증을 예방하거나 치료할 수 있는 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병병증 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 2236/37 (2013.01)

Y10S 514/866 (2013.01)

(72) 발명자

이수경

강원도 춘천시 우석로85번길 1 (석사동)

왕지강

강원도 춘천시 한림대학길 1, 8510호 (옥천동)

길리안 퀴스페 야니미 니메시아

강원도 춘천시 한림대학길 1, 8510호 (옥천동)

한복남

강원도 춘천시 명주길 3-2 (효자동)

오정식

강원도 춘천시 전원길 45 (효자동)

우승혜

경기도 구리시 검배로 142, 203동 1602호 (토평동, 에스케이.신일아파트)

정현모

경기도 남양주시 경춘로885번길 17, 2동 501호 (금곡동, 신우아파트)

신유정

강원도 원주시 단구로 406 (단구동, 단관 청솔3차아파트)

원지아

경기도 남양주시 진접읍 부평로14번길 53, 2동 301호 (백림빌라)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016-D-0046-010100

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업

연구과제명 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업

기 여 율 1/1

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2016.03.01 ~ 2017.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물(Peruvian Phoradendron quadrangulare) 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 추출물이 건조된 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 잎으로부터의 추출물임을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 추출물은 용매 추출법, 초음파 추출법, 초임계 추출법, 발효법 및 포제법에 의한 추출법으로부터 선택된 어느 하나 이상의 방법으로 수득하는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 용매 추출법은 물, C₁ 내지 C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매를 이용한 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 조성물은 알도스 환원 효소(aldose reductase)를 억제시키는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 조성물은 NO(nitric oxide)저해활성을 갖는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 추출물은 전체 조성물에 대해 0.1 내지 1,000 µg/ml 로 함유되어 있는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 8

제 1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 당뇨병증은 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 당뇨병성 심근경색증, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 백내장, 당뇨병성 혈관합병증 및 당뇨병궤양으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 9

페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물(Peruvian Phoradendron quadrangulare) 추출물을 유효성분으로 포함하는

항산화 조성물.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 추출물이 건조된 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 잎으로부터의 추출물임을 특징으로 하는, 항산화 조성물.

청구항 11

제 9항에 있어서,

상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 용매 추출법, 초음파 추출법, 초임계 추출법, 발효법 및 포제법에 의한 추출법으로부터 선택된 어느 하나 이상의 방법으로 수득하는 것을 특징으로 하는, 항산화 조성물.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 용매 추출법은 물, C₁ 내지 C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매를 이용한 것을 특징으로 하는, 항산화 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 우수한 알도스 환원 효소 억제 효능을 가져 당뇨병병증을 예방하거나 치료할 수 있는 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병병증 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 당뇨병(diabetes mellitus, DM)은 인슐린 결핍 및 인슐린 저항성 또는 둘 모두를 특징으로 하는 흔히 비만과 관련된 진행성 질환(progressive disease)이다. 공복 및 식후 혈당이 증가하면, 실명, 신부전, 심장 질환, 졸중(stroke) 및 절단(amputation)을 야기하는 급성 및 만성 합병증(미세혈관 및 대혈관(micro- and macro-vascular))에 환자가 노출된다. 혈당 조절의 개선이 이러한 당뇨병병증의 위험성을 낮추는 것으로 입증되었다.

[0003] 이러한 질환의 진행적 속성 때문에, 혈당 조절을 유지하기 위해서는 진화하는 치료 전략이 필요하다. 2가지 형태의 당뇨병: 제1형 당뇨병, 또는 소아 당뇨병 또는 인슐린 의존성 당뇨병(IDDM), 및 제2형 당뇨병, 또는 성인형 당뇨병 또는 비 인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)이 있다. 제1형 당뇨병 환자는 인슐린을 합성 및 분비하는 췌장 β 세포의 면역학적 파괴로 인하여 절대적으로 인슐린이 부족하다. 제2형 당뇨병은 병인이 더 복잡적이며 상대적으로 인슐린 결핍, 인슐린 작용 감소, 및 인슐린 저항성을 특징으로 한다. 조기 발생 NIDDM 또는 소아발생 성인형 당뇨병(maturity-onset diabetes of the young; MODY)은, 중년에 발병하는 가장 일반적인 형태의 NIDDM의 많은 특성을 공유한다(Rotter 외, 1990). 명확한 방식의 유전(상염색체 우성)이 MODY에 대해 관찰되었다. 적어도, 3가지의 전혀 다른 돌연변이가 MODY 가족에서 확인되었다 (Bell 외, 1996).

[0004] 한편, 당뇨병병증은 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 당뇨병성 심근경색증, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 백내장, 당뇨병성 혈관합병증 또는 당뇨병발광을 포함하며, 이의 주요 원인은 폴리올 경로의 알도스 환원 효소(aldehyde reductase) 활성으로 비롯한 과다 소비를 축적으로 알려져 있다. 따라서, 알도스 환원 효소의 억제가 당뇨병병증 치료 및 예방에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 지금까지 개발된 알도스 환원 효소 억제제들인 zopolrestat, ponalrestat, sorbinil, tolrestat, fidarestat, ranireatat와 epalrestat 등이 여러 동물실험에서 당뇨 합병증을 예방, 지연시킨다는 보고가 있다.

[0005] 그러나 임상에서 zopolrestat와 ponalrestat은 효능이 낮았고, sorbinil의 과민반응과 tolrestat의 간기능 장애와 같은 부작용으로 개발 과정에서 중단되었다. 현재 일본과 미국에서는 ranireatat와 fidarestat의 임상실험이 진행되고 있다. Epalrestat는 미국식품의약국 (FDA)에는 승인되지 않았지만, 일본에서만 1992년에 승인되어

시판 중이다.

- [0006] 또한, 솔비톨 축적은 솔비톨 탈수소효소에 의해 과당으로 전환되어, 고농도의 과당이 단백질과 결합하여 결국은 최종당화산물(advanced glycation end products, AGE)의 형성을 가속화시킨다. 여기서, 최종당화산물은 생체 조직과 세포를 공격하여 노화를 촉진할 뿐만 아니라, 당뇨, 심장질환, 암 등을 포함해 다양한 질환을 유발하는데 관여한다고 알려져 있다. 또한, 최종당화산물이 형성되면 혈관 벽이나 림프구 등의 세포막에 최종당화산물과 결합할 수 있는 수용체(RAGE: Receptor of AGEs)가 만들어지는데, 최종당화산물이 수용체에 결합하면 염증과 관련된 각종 면역 인자가 활성화되어 만성질환을 유발하거나 악화시키게 된다.
- [0007] 한편, 페루에는 약 5000종의 식물이 있으며, 이는 영양제, 의약품 등으로 사용되고 있다. 특히 찻잎을 우려낸 물은 페루인들이 고대부터 건강보호 및 질병치료를 위해 가장 보편적으로 사용한 건강보조식품이다. 찻잎 중 어느 일부는 기능성 식품으로 개발될 수 있는 좋은 원료일 수 있다. 이미 질환을 치료 또는 예방용으로 사용할 수 있는 찻잎은 운카리아 토멘토사(Uncaria tomentosa), 필란투스 니루리(Phyllanthus niruri) 또는 마카로 널리 알려져 있다. 그러나, 일부 아시아 국가들에 비해 페루산 식물에 대하여 거의 연구가 이루어지지 않았으며, 페루산 식물을 이용하여 알도스 환원 효소를 억제시킬 수 있음에 대해서도 보고되지 않았다.
- [0008] 또한, 포라덴드론 콰드랭글러 (Phoradendron quadrangulare (Kunth) Griseb)는 Suelda con suelda 또는 Pishco isma로 페루에서 불려진다. 또한 라틴 아메리카 내 지역에서도 찾을 수 있다. 이의 잎은 페루 내에서 일반적으로 찻잎으로 이용된다. 다른 형태로 이의 잎을 으깨어 이를 다친 부위에 직접 바른 후, 부목을 땀으로써 염증, 골절, 탈구, 상처, 내출혈 및 자상을 치료하였다.
- [0009] 이에 따라, 포라덴드론종 식물 추출물을 이용한 종래기술로는 일본 공개특허공보 제2005-176770호에는 상업의 추출물과 약초로서 알려져 있는 올리브잎 및 야콘잎의 추출물을 조합함으로써, 우수한 혈당수치 억제 효과 및 당뇨병 발증 억제 효과를 가지는 건강식품이 공지되어 있으며, 대한민국 공개특허공보 제 2014-0034620호에는 겨우살이, 꾸찌뽕, 조릿대, 두충나무, 가시오갈피 및 감초의 혼합물의 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료, 개선 또는 예방용 조성물이 공지되어 있고, 대한민국 등록특허공보 제 503230호에는 시남알테하이드 및 상기 화합물을 포함하는 식물 추출물로 이루어진 군으로부터 1종이상 선택된 것을 포함하는 혈당강하용 조성물이 공지되어 있다.
- [0010] 그러나, 앞서 상술한 종래기술에서는 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 추출물을 이용한 당뇨병증의 예방 또는 치료에 사용한 것에 대한 기재는 보고된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 이에 본 발명에서는 항산화 효과가 있고, 당뇨병증의 예방 또는 치료에 대한 효과를 가지는 활성물질에 대한 연구를 진행하였다. 그 결과 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 잎에 유기용매를 가하여 추출물을 수득한 경우 항산화 효과를 가질 뿐만 아니라, 알도스 환원 효소 형성에 대하여 억제 효과가 있는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명은 알도스 환원 효소를 억제 시킴으로써 당뇨병증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있는 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 추출물을 함유하는 당뇨병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 대해 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명은 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로 본 발명은 우수한 알도스 환원 효소 억제 효능을 가짐으로써 당뇨병증을 예방하거나 치료할 수 있는 페루산 포라덴드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0013] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나 특정의 구체예는 이들 특이적 상세사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에

걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.

- [0014] 명세서에서 특별한 정의가 없으면 본 명세서에 사용된 모든 과학적 및 기술적인 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 기술자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.
- [0015] 본 발명의 일 구체 예에 따르면, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 잎으로부터의 추출물임을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0016] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 추출물은 용매 추출법, 초음파 추출법, 초임계 추출법, 발효법 및 포제법에 의한 추출법으로부터 선택된 어느 하나 이상의 방법으로 수득할 수 있다.
- [0017] 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있으며, 일 예로 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 잎의 분쇄물에 추출용매를 가함으로써 제조하거나 추출용매로 추출하여 제조한 추출물에 분획용매를 더 가하여 분획하여 제조될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 용매 추출법은 물 및 유기 용매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 상기 유기 용매는 C₁ 내지 C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매일 수 있으며, 바람직하게는 70% 메탄올을 사용하여 추출하는 것이나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 추출 과정을 통하여 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 잎내 포함된 유효성분을 더 많이 수득할 수 있다는 장점이 있다.
- [0019] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 추출 후 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 회전증발기를 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 상기 건조는 일 예로 동결건조법으로 수행할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 당뇨병증의 예방 또는 치료용 조성물은 당뇨병증 발생에 중요한 역할을 한다고 알려져 있는 글루코오스 대사경로인 폴리올 경로의 촉매 효소인 알도스 환원 효소를 억제시키는 것을 특징으로 한다.
- [0021] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 조성물은 NO(nitric oxide)저해활성을 갖는 것을 특징으로 한다.
- [0022] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물 또는 분획물은 전체 조성물에 대해 대해 0.1 내지 1,000 µg/ml 로 함유되어 있는 것을 특징으로 한다. 여기서 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물이 전체 조성물에 대해 0.1 µg/ml 미만이면 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 유효성분이 매우 적어 상기 상술한 효과를 나타낼 수 없으며, 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물이 전체 조성물에 대해 1,000 µg/ml 초과하면 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물 내 포함된 유효성분 외의 물질에 의해 알도스 환원 효소 억제 및 항산화에 관한 효과가 떨어질 수 있다. 여기서, 바람직한 예로는, 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물이 전체 조성물에 대해 1내지 250 µg/ml 이다.
- [0023] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 당뇨병증은 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 당뇨병성 심근경색증, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 백내장, 당뇨병성 혈관합병증 및 당뇨병성 발가락으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0024] 본 발명의 일 구체 예에 따르면, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 조성물을 제공한다.
- [0025] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 항산화 조성물은 DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼을 소거 가능함을 확인함으로써, 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 항산화조성물은 항산화 활성을 갖는 것을 특징으로 한다.
- [0026] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 추출물이 건조된 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 잎으로부터의 추출물임이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0027] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 용매 추출법, 초음파 추출법, 초임계 추출법, 발효법 및 포제법에 의한 추출법으로부터 선택된 어느 하나 이상의 방법으로 수득할 수 있다.
- [0028] 본 발명의 일 구체 예에서, 상기 용매 추출법은 물, C₁ 내지 C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매를 이용한

수 있다.

- [0029] 본 명세서에서 사용되는 용어 '예방'이란 본 발명의 약학 조성물의 투여에 의해 당뇨병증을 억제하거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0030] 본 명세서에서 사용되는 용어 '치료'란 본 발명의 약학 조성물의 투여에 의해 당뇨병증에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [0031] 본 발명에 있어서, 상기 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 약학 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 약제적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형할 수 있다.
- [0033] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투하가 바람직하다.
- [0035] 본 발명에서, '비경구'는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 발명의 약학적 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약학 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여시간, 투여경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 50mg/kg 또는 0.001 내지 50mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 의약 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형될 수 있다.

발명의 효과

- [0037] 본 발명의 일 효과는 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 알도스 환원 효소를 억제시키는 당뇨병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0038] 본 발명의 다른 효과는 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 조성물을 제공한다.
- [0039] 본 발명의 다른 효과는 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 유효성분으로 포함하여 NO 저해활성을 갖는 당뇨병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0040] 도 1은 본 발명의 일 실시예로 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 알도스 환원 효소 억제율에 대한

결과이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예로 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 DPPH 라디칼 소거율에 대한 결과이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예로 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 ABTS라디칼 소거율에 대한 결과이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예로 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 세포 생존력 평가에 대한 결과이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예로 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 NO저해활성 평가에 대한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0041] 이하, 본 발명의 바람직한 실시 형태들을 설명한다. 그러나, 본 발명의 실시형태는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 이하 설명하는 실시 형태로 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 실시형태는 당해 기술분야에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것이다.

[0042] [제조예1] 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 제조방법

[0043] 건조된 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물을 일반 상점(페루, 라리베르타드 주)에서 구매하였다. 100g의 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물은 70% 메탄올에 담은 상태로, 72시간동안 상온에서 추출하여 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 얻었다. 상기 추출물을 모아 37℃에서 회전증발기를 이용하여 감압 농축하여 건조시켰다.

[0044] [제조예 2]알도스 환원 효소 제조방법

[0045] 저급 랫트 렌즈 알도스 환원효소는 하기 방법에 따라 제조되었다. 250 내지 280g의 Sprague Dawley 랫트로부터 수정체(lens)를 제거하였으며, 사용하기 전 -70℃에 냉동시켰다. 백내장이 아닌 투명한 수정체를 적출하고, 균질액은 0.1M phosphate buffer saline (pH 6.2)에서 제조되었다. 상기 균질액은 10,000rpm에서 30분동안 냉장형 원심분리기를 이용하여 원심분리한 후, 그 상등액을 취하여 랫트 렌즈 알도스 환원 효소 시험의 효소원으로 사용하였다. 모든 절차는 4℃에서 이루어졌다.

[0047] [실험예1]페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 알도스 환원 효소 억제율 평가

[0048] 기질로 DL-glyceraldehyde를 사용하여 3분동안 340nm에서 NADPH 흡광도의 감소율을 분광광도계로 측정함으로써 알도스 환원 효소의 활성도를 평가하였다. 각 1.0ml 큐벳에 상기 제조예 2으로부터 준비된 90 μl의 알도스 환원 효소(6.5 U/mg), 531 μl의 potassium buffer (0.1M, pH 7.0), 90 μl의 NADPH 용액(1.6mM, in potassium buffer), 90 μl의 ammonium sulfate 용액(4 M, in potassium buffer), 90 μl의 DL-glyceraldehyde 용액(25 mM, in potassium buffer) 및 9 μl의 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물 또는 퀘르세틴(quercetin)을 담아 각 실험군 및 양성대조군을 준비하였다. 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 알도스 환원 효소 억제율에 대해 평가를 위해 알도스 환원효소 억제효과가 있다고 알려진 양성대조군으로 퀘르세틴을 사용하였으며, 상기과 같은 방법으로 각 실험군 및 대조군을 제조하여 3분동안 340nm에서 NADPH 흡광도의 감소율을 측정한 후 하기의 계산식 1로 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 알도스 환원 효소 억제율을 구하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0049] 계산식1: 알도스 환원 효소 억제율=((cotrol-sample)/(control-blank))*100

[0050] control: 효소와 기질을 포함한 용액에 대한 NADPH 흡광도

[0051] blank: 기질을 제외한 나머지를 모두 포함한 용액에 대한 NADPH 흡광도

[0052] sample: 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물 또는 퀘르세틴, 효소 및 기질을 모두 포함한 용액에 대한 NADPH 흡광도

[0053] 한편, 상기 제조예 1로부터 얻은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물에 대한 알도스 환원 효소의 활성이 50% 억제되는 시점에 대한 각 실험군 및 양성대조군의 농도(IC₅₀)는 잔존 활성에 대해 표시된 로그 농도의 최소

제곱 회기선으로부터 산출하였다. 이 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0054]

구분	IC ₅₀ (μ g/mL)
페루산 포라텐드론 콰드랭글러 추출물	1.09
양성대조군(퀘르세틴)	1.30

[0055]

상기 도 1과 같이, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 농도 $1\mu\text{g/ml}$ 에서는 46.71%, $5\mu\text{g/ml}$ 에서는 80.39%, $10\mu\text{g/ml}$ 에서는 87.55%의 알도스 환원 효소 억제율을 나타냈으며, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 농도가 높아질수록 알도스 환원 효소 억제율이 증가됨을 확인하였다. 또한, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 양성대조군에 비해 저농도에서 탁월한 알도스 환원 효소 억제율을 나타내었다.

[0056]

상기 표 1과 같이, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 $1.09\mu\text{g/mL}$ 의 IC₅₀을 가짐으로써, 양성대조군 보다 알도스 환원 효소 억제 효과가 더 뛰어남을 확인 하였다.

[0058]

[실험예 2] 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 항산화 활성을 확인하기 위한 DPPH 라디칼 소거율 평가

[0059]

안전한 자유 라디칼인 DPPH 라디칼은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 자유 라디칼 소거율을 확인 하기 위해 사용하였다. 먼저, 상기 제조예 1로부터 얻은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 메탄올에 녹여 농도별 각 실험군을 준비하였다. 각 $30\mu\text{l}$ 의 실험군에 $180\mu\text{l}$ 의 DPPH 용액(0.32mM)을 가하였다. 여기서, DPPH 용액은 메탄올에 녹여 준비하였으며, 각 용액을 암조건하에서 15분동안 배양한 후, 마이크로플레이트 리더를 이용하여 570nm 에서 흡광도를 측정하였다.

[0060]

페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 라디칼 소거율은 하기 계산식 2와 같이 계산하였으며 이의 결과를 하기 도 2에 나타내었다.

[0061]

계산식2: DPPH 라디칼 소거율 = $\{1 - (\text{실험군의 흡광도} / \text{대조군의 흡광도})\} \times 100$

[0062]

여기서, 대조군은 실험군을 넣지 않은 상태로, DPPH라디칼과 용매(DMSO)만 있는 상태를 말한다. 또한, DPPH 라디칼 소거제로 잘 알려진 L-ascorbic acid를 양성대조군으로 사용하였다.

[0063]

한편, 상기 제조예 1로부터 얻은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물 및 양성대조군에 대한 DPPH 라디칼 이 50% 소거되는 시점에 대한 각 실험군 및 양성대조군의 농도(IC₅₀)를 산출하였다. 여기서 각 실험군 및 양성대조군의 농도(IC₅₀)는 잔존 DPPH 라디칼에 대한 로그 농도의 최소 제곱 회기선으로부터 산출하였다. 이 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0064]

구분	IC ₅₀ (μ g/mL)
페루산 포라텐드론 콰드랭글러 추출물	58.36
양성대조군(L-ascorbic acid)	19.95

[0065]

상기 도 2와 같이, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 항산화 활성에 대해 평가하기 위해 DPPH 라디칼 소거율을 측정하였다. 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 농도 $14\mu\text{g/ml}$ 에서는 7.56%, $72\mu\text{g/ml}$ 에서는 36.90%, $143\mu\text{g/ml}$ 에서는 94.86%의 DPPH 라디칼 소거율을 나타냈다. 이에 따라 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 우수한 DPPH 라디칼 소거율을 가짐으로써 항산화 활성을 가지는 것을 확인하였다.

[0066]

상기 표 3과 같이, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 $58.36\mu\text{g/mL}$ IC₅₀을 나타냄으로써, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 DPPH 라디칼 소거에 대한 활성 정도를 확인하였다.

[0068] [실험예 3] 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 항산화 활성을 확인하기 위한 ABTS 라디칼 소거율 평가

[0069] ABTS법은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS+이 시료 내 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 청록색이 탈색되는 것을 이용하여 항산화력을 측정하는 방법으로, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 항산화력을 측정하기 위해 ABTS법을 사용하였다. 또한 양성대조군으로 Trolox를 사용하였다.

[0070] 먼저, ABTS를 2.0mM 농도로 증류수에 용해한 다음 3.5mM의 potassium persulfate를 가하여 ABTS+ 라디칼을 생성시켜 상온의 암조건에서 24시간 동안 방치 후 사용하였다. 소거율은 ABTS 용액 290 μ l와 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 추출물 또는 Trolox 10 μ l를 혼합하여 10분간 반응시킨 후 750nm에서 흡광도를 측정하였으며, 식 $ABTS \text{ 라디칼 소거율}(\%) = 100 - [(OD_{\text{sample}}/OD_{\text{control}}) \times 100]$ 에 의하여 산출하였다. 이의 결과를 도 3에 나타내었다.

[0071] 한편, ABTS 라디칼 소거율의 결과는 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC₅₀)로 나타내었으며, 이의 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

구분	IC ₅₀ (μ g/mL)
페루산 포라텐드론 콰드랭글러 추출물	9.91
양성대조군(Trolox)	3.91

[0073] 상기 도 3과 같이, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 항산화 활성에 대해 평가하기 위해 ABTS 라디칼 소거율을 측정하였다. 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 농도 3 μ g/ml 에서는 12.60%, 7 μ g/ml 에서는 64.63%, 33 μ g/ml 에서는 95.59%의 ABTS 라디칼 소거율을 나타냈다. 이에 따라 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 양성대조군에 비해 더 우수한 ABTS 라디칼 소거율을 가짐으로써 항산화 활성이 탁월함을 확인하였다.

[0074] 상기 표 3과 같이, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 9.91 μ g/mL IC₅₀을 나타냄으로써, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 ABTS라디칼 소거에 대한 효과를 확인하였다.

[0076] [실험예 4] 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 세포 생존력 평가

[0077] 세포 생존력 평가에 이용한 Raw 264.7 세포의 배양은 10% FBS와 1% 페니실린/스트렙토마이신(100U/mL)을 첨가한 DMEM 배지를 사용하였으며, 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에 적응시켜 계대 배양하였다.

[0078] 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물이 Raw 264.7 세포주에 미치는 영향을 테스트 하기 위하여 96웰 접시에 각 웰당 5 x 10³ 수의 세포를 분주하고, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물을 각 농도별로 처리하여 2일동안 배양하였다. 배양 후, 각 웰당 MTS용액 20 μ l을 첨가하여 90분동안 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에 배양한 후, 마이크로플레이트 리더기를 이용해 490nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이의 결과를 도 4에 나타내었다. 아무것도 처리하지 않은 군을 세포 생존력 100%로 간주하였다.

[0079] 상기 도 4과 같이, 5 내지 250 μ g/ml의 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 세포 생존력을 가지는 것을 확인하였으며, 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물이 세포 독성이 없는 것을 확인하였다.

[0081] [실험예 5] 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물의 NO저해활성 평가

[0082] 상기 제조예 1로부터 얻은 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물에 대한 NO저해활성 평가를 수행하였다.

[0083] 먼저, 상기 실험예 4와 같이 Raw 264.7 세포를 배양하였다. 다음, 12 웰 접시에 각 웰당 4x10⁵수의 Raw 264.7 세포를 분주하고, LPS(lipopolysacchride) 1 μ g/ml 및 실험군 또는 양성대조군을 농도별로 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. NO 생성량은 상층액을 모아 그리스 시약으로 10분간 반응시킨 후에 570nm에서 흡광도로 측정하였으며 하기 계산식 3을 통해 각 실험군 및 양성대조군에 대한 NO저해율을 산출하였다. 이의 결과를 도 5에 나타내었다. 여기서, 양성대조군으로 우수한 NO저해제로 알려진 L-NAME(N-nitro l-arginine methyl ester)을 사

용하였다.

[0084] 계산식 3: NO저해율 = $[1 - (C_{\text{sample}} - C_{\text{blank}} / C_{\text{control}} - C_{\text{blank}})] \times 100\%$

[0085] Csample : LPS 및 각 실험군이 처리된 세포로부터의 NO 생성 농도

[0086] Cblank : 아무것도 처리하지 않은 세포로부터의 NO 생성 농도

[0087] Ccontrol : LPS가 처리된 세포로부터의 NO 생성 농도

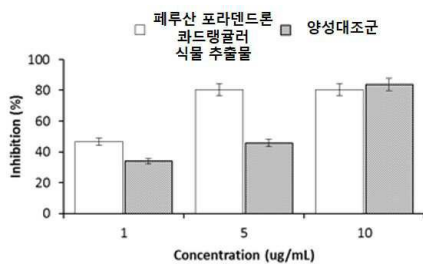
[0089] 여기서, LPS는 그람-음성 박테리아의 세포외막에 존재하며, 대식세포 (macrophage) 또는 단핵세포 (monocyte)에서 산화질소 (nitric oxide), 염증성 사이토카인 (inflammatory cytokines), 프로스타글란딘 E2와 같은 다양한 전구염증성 인자들을 증가시키는 것으로 알려져 있다.

[0090] 상기 도 5와 같이, 50 내지 250 $\mu\text{g/ml}$ 의 페루산 포라텐드론 콰드랭글러 식물 추출물은 NO저해활성을 가지는 것을 확인하였다.

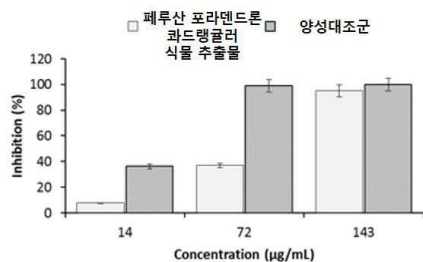
[0091] 이상에서 본 발명의 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고, 청구범위에 기재된 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능하다는 것은 당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게는 자명할 것이다.

도면

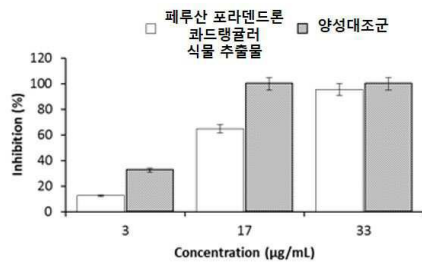
도면1



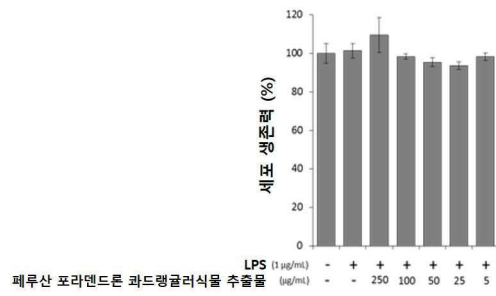
도면2



도면3



도면4



도면5

