



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

A61K 36/9062 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0063760

(43) 공개일자 2007년06월20일

(21) 출원번호 10-2005-0123938

(22) 출원일자 2005년12월15일

심사청구일자 없음

(71) 출원인 학교법인 한림대학교
강원도 춘천시 옥천동 1

(72) 발명자 임순성
강원 춘천시 퇴계동 현진아파트 102동 805호
강일준
강원 춘천시 퇴계동 그린타운 107동 1004호
신현경
서울 성북구 안암동1가 361, 24-4 래미안 안암아파트 104동 602호

(74) 대리인 유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 양강 추출물을 포함하는 당뇨병 합병증의 억제용 조성물

(57) 요약

본 발명은 양강 추출물을 포함하는 당뇨병 합병증 억제용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 양강을 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 헥산, 아세톤, 클로로포름, 메틸렌 클로라이드 및 이들의 희석수로 이루어진 군으로부터 1종 이상 선택된 추출용매를 이용하여 추출한 양강 추출물을 포함하며, 비효소적 당화반응 및 지질과산화물과 단백질의 결합을 억제하고, 항산화 효능, 알도스 환원효소 억제 작용 등이 뛰어나 당뇨병 합병증의 억제용으로 사용할 수 있는 조성물을 제공한다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

양강 추출물을 포함하는 당뇨병 합병증 억제용 조성물.

청구항 2.

제 1항에 있어서,

상기 양강 추출물은 양강을 유기용매로 추출한 것인 당뇨병 합병증 억제용 조성물.

청구항 3.

제 2항에 있어서,

상기 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 헥산, 아세톤, 클로로포름, 메틸렌 클로라이드 및 이들의 희석수로 이루어진 군으로부터 1종 이상 선택된 것인 당뇨병 합병증 억제용 조성물.

청구항 4.

제 1항에 있어서,

상기 양강 추출물은 양강을 에탄올 희석수로 추출하여 얻어진 양강 에탄올 추출물; 상기 양강 에탄올 추출물을 헥산으로 분획추출한 양강 헥산 분획추출물; 상기 양강 헥산 분획추출물을 제거한 물 층을 메틸렌 클로라이드로 분획추출한 양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물; 상기 양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물을 제거한 물 층을 에틸아세테이트로 추출하여 얻어진 양강 에틸아세테이트 분획추출물; 상기 양강 에틸아세테이트 분획추출물을 제거한 물 층을 부탄올로 분획추출한 양강 부탄올 분획추출물; 및 상기 양강 부탄올 분획추출물을 제거한 양강 물 추출물로 이루어지는 군으로부터 선택된 1종 이상의 분획추출물인 당뇨병 합병증 억제용 조성물.

청구항 5.

제 1항에 있어서, 상기 양강 추출물은 양강을 에탄올 희석수로 추출하여 얻어진 양강 에탄올 추출물을 헥산으로 추출하여 분획물을 얻고, 상기 분획시 얻어진 물층에 메틸렌 클로라이드를 가하여 분획물을 얻고, 상기 메틸렌 클로라이드 분획시 얻어진 물층을 에틸아세테이트로 분획추출하여 얻어진 분획추출물인 당뇨병 합병증 억제용 조성물.

청구항 6.

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 당뇨병 합병증 억제용 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제.

청구항 7.

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 당뇨병 합병증 억제용 약제.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

[산업상 이용분야]

본 발명은 양강 추출물을 포함하는 조성물로 최종당화산물 억제활성 및 알도스 환원효소 억제 작용 등 당뇨병 합병증의 억제효과가 뛰어난 조성물에 관한 것이다.

[종래기술]

당뇨환자의 혈액에 고농도로 존재하는 포도당은 인체 내 단백 성분의 자유 아미노기와 비효소적 당화반응에 의해 결합하여 최종당화산물(AGE, advanced glycosylation end-product)을 형성한다. 최종당화산물은 당뇨병성 합병증을 일으키는 대표적인 물질이다.

양강(*Alpinia officinarum*)은 생강과에 속하는 다년생 초본으로 늦여름부터 초가을에 4-6년 생을 캐어 줄기, 잎, 수염뿌리, 인편을 제거하고 근경을 세절하여 햇볕에 말린 것으로 한방에서 약재로 사용하고 있다. 비위의 찬기운을 잘 소산시키고 온중지통(溫中止痛)의 효능이 있어 위완냉통(胃脘冷痛)을 잘 치료한다. 온위산한(溫胃散寒)하는 작용은 비교적 양호하여 위한기역(胃寒氣逆)으로 구토청수(嘔吐清水)의 증상에 효과가 있다고 알려져 있다. 온위, 거풍, 산한, 행기, 지통, 치비위중한, 완복냉통, 구토설사, 식체 등에 사용되어 왔다. 성분으로는 근경에 0.5~1.5%의 정유가 함유되어 있고 그 주요성분으로는 1,8-시네올, 신나민산(cinnamic acid)의 메틸 에스테르, 피넨(pinene), 카디넨(cadinene) 등이 있다.

이외에 가란골(galangol) 등의 신미성분, 가란진(galangin), 캄페리드(kaempferid), 알피닌(alpinin) 등의 후라보노이드가 분리 및 동정된 것이 보고되어 있다(정보섭 및 신민교, 향약대사전, 영림사, p251, 1998; Hoikusa, The encyclopedia of Wakan-Yaku(Traditional Sino-Japanese Medicine), 1, pp136-137, 1993).

양강의 활성 연구는 항염증(Matsuda H, Ando S, Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M. Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorg Med Chem*. 2006 Jan 1;14(1):138-42.) 항산화(Ly TN, 등 Antioxidative compounds isolated from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance). *Biofactors*. 2004;21(1-4):305-8.) pancreatic lipase 억제 (Shin JE 등, 5-Hydroxy-7-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-1-phenyl- 3-heptanone : a pancreatic lipase inhibitor isolated from *Alpinia officinarum*. *Biol Pharm Bull*. 2004 Jan;27(1):138-40.) 지방산 합성 억제 (Li BH, 등, Presence of fatty acid synthase inhibitors in the rhizome of *Alpinia officinarum* hance. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2003 Aug;18(4):349-56.) 5- α -reductase 억제 (Kim YU 등, Inhibition of 5 α -reductase activity by diarylheptanoids from *Alpinia officinarum*. *Planta Med*. 2003 Jan;69(1):72-4.) 등의 효능연구가 논문을 통하여 알려져 있으며, 특허로는 대한민국 특허공개 제 2003-0004726호에서 양강의 활성 성분의 분리방법 및 이를 주성분으로 하는 노화 방지제, 대한민국 특허등록 제 0129490호에 가란진을 포함한 후라보노이드화합물로 된 암화학예방요법제, 대한민국 특허출원 제2005-0097018호의 염증 및 통증에 효과가 있는 양강 추출물과 이를 함유하는 약학적 제제에 대해 개시하고 있으나, 양강의 비효소적 당화반응 억제를 통한 당뇨병성 합병증 억제나 비효소적 당화반응 관련 질환에 대한 것에서는 어떠한 개시나 교시된 바 없다.

당뇨병의 미세혈관 합병증의 병인

당뇨병성 혈관합병증의 병인은 아직 확실히 규명되어 있지 않은 상태이나, 당뇨병의 이병기간이 길어질수록, 혈당조절상태가 불량할수록 그 발생이 증가하는 것으로 알려져 있어, 당뇨병의 미세혈관합병증의 발생에 고혈당이 중요한 역할을 할 것으로 추정되어 왔다. 최근 미국에서 시행된 DCCT (Diabetes Control & Complication Trial) 연구결과는 철저한 혈당조절이 인슐린의존형 당뇨병(IDDM) 환자에서의 미세혈관합병증 발생을 뚜렷하게 감소시킬 수 있음을 보고하므로써 고혈당이 미세혈관합병증 발생에 중요한 역할을 함을 증명하였다.

한편 잘 조절되지 않은 당뇨병을 오랜기간 가지고 있던 환자에서도 미세혈관합병증이 전혀 발생하지 않는 경우도 있으며, DCCT 연구결과에서도 나타난 사실이지만 혈당조절을 철저히 하더라도 미세혈관합병증의 발생을 완전히 예방하지는 못한다는 점으로 보아 고혈당 이외에 당뇨병의 다른 대사장애가 미세혈관합병증의 원인이 될 가능성이 있으며 아직까지 밝혀지지 않은 어떤 유전적 요인이 합병증 발생의 감수성을 결정할 것으로 여겨지고 있어, 최근에는 이에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다(Giugliano D, Paolisso G, Ceriello A: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19:257-267, 1996).

가)학설(glucose hypothesis)에 의한 미세혈관 합병증 발생 기전

고혈당이 어떠한 기전에 의해서 혈관합병증을 유발하는지는 아직까지 완전히 규명되지 않은 상태로 (1) 만성적 고혈당이 체내 여러가지 단백질의 당화(glycation)를 향진시키므로써 이들 단백질의 기능을 저하시킬 가능성, (2) 폴리올 경로(polyol pathway)에 의해 세포내 소르비톨(sorbitol) 농도를 올리고 myoinositol의 감소를 초래하여 세포내 삼투압 상승 및 변성을 촉진시킬 가능성, (3) 세포내 redox status를 변화시킬 가능성 및 (4) 세포에 대한 산화손상(oxidative damage)을 촉진시킬 가능성 등의 기전들이 동시에 관여하거나 순차적으로 관여하는 등 서로 복합적으로 작용하고 있다고 생각된다.

고혈당에 의한 산화 손상의 증가는 고혈당이 유리 산소 라디칼의 생성을 증가 시키거나 항산화 기전을 감소시켜 발생하는 데 그 기전은 매우 다양하며, 포도당의 자가 산화(autooxidation)의 증가에 의한 유리 라디칼의 증가, 비효소적 당화 및 이에 의한 자가 산화의 증가, 폴리올 경로의 활성화에 따른 레독스 상태의 변화등이 관여할 것으로 여겨지고 있다.

(1) 포도당의 자가산화 및 유리 라디칼의 생성

포도당은 스스로 이몰화(enolize)되면서 산소분자를 환원시키고 산화물질들을 만들게 된다. 고혈당에 의해 포도당의 자가산화(autooxidation)가 증가하면 이때 형성되는 슈퍼옥사이드 이온($O_2^{\cdot-}$), 하이드록시 라디칼($\cdot OH$), 과산화수소(H_2O_2) 등이 형성되고 이들은 교차결합, 분절화 등에 의해 지질과산화 현상을 일으키거나 단백질에 손상을 입힌다. 또한 유리 라디칼은 AGE(advanced glycation endproduct)의 형성을 촉진시키고, 이렇게 형성된 AGE는 다시 자가산화를 촉진시키게 된다. (Baynes JW, Thorpe SR: The role of oxidative stress in diabetic complications. Current Opinions Endocrinol 3, 277-284, 1996)

(2) 비효소적 당화 (non-enzymatic glycosylation pathway)

고혈당에 의한 미세혈관장애는 일단 발생하기 시작한 이후에는 정상혈당 상태를 만들어도 지속되거나 진행되는 여러 가지 증거들이 보고되어, 고혈당이 체내 장기간 존재하는 물질에 비가역적이고 지속적인 변화를 초래하여 고혈당이 없어진 상태에서도 계속적인 병적기능을 유발시킬 가능성이 제시되었다. 이에 따라 고혈당에 의한 세포손상의 기전으로 제시된 것이 비가역적 단백질의 당화현상이다. 포도당의 알데히드나 케톤기는 단백질의 자유 아모니기와 반응하여 가역적인 당화물질인 슈프 베이스(Schiff base)를 형성한다. 형성된 슈프 베이스는 좀 더 안정되고 아직은 가역적인 케토아민(Amadori products)형태로 재배열되고, 더욱 오랫동안 이런 상태로 유지되면 탈수, 농축을 일으켜 비가역적 당화생성물(advanced glycation end-products, AGEs)이 형성된다. 당화생성물은 특이한 흡광도 및 형광을 나타내고, 특히 단백질의 아미노기가 서로 교차결합 반응을 일으키는 성질을 가지고 있다.

당화산물은 콜라겐과 같은 단백질의 갈변반응을 일으키고, 기저막의 비후 및 변화된 콜라겐에 의하여 지질단백이나 IgG의 침착을 유도한다. Brownlee는 포식세포에 당화물질을 인지하고 제거할 수 있는 수용체가 있으며, 인터루킨-1, 종양괴사인자 (TNF), 인슐린 유사 성장인자-1(IGF-1)등의 분비를 자극하여 섬유아세포, 평활근세포, 혈관사이세포 및 내피세포의 증식을 유발시키며, 당화된 기질은 프로테오글리칸을 고정시키는 능력이 감소되어 있어 미세혈관의 음전화를 감소시켜 당뇨병성 혈관 합병증의 발생에 기여할 것으로 보고하였다.

(3) 폴리올 경로 (polyol pathway)의 활성화

단백질의 당화와 함께 최근 가장 주목을 받고 있는 것은 폴리올경로의 증가가 세포손상을 일으키는 기전이다. 고혈당 상태가 되면 세포내 포도당 대사의 변화가 일어나는데, 과잉의 포도당이 세포내로 들어오면 알도스 환원효소에 의해 α -소르비톨로 전환되며, 소르비톨 탈수소효소에 의해 과당으로 전환이 된다. 정상혈당 상태에서는 포도당에 대한 알도스 환원효소의 K_m 값이 높아 (70mM) 세포내 α -소르비톨 농도는 매우 낮으나, 고혈당에 의해 세포내 포도당 농도가 올라가면 세포내 소르비톨의 농도가 증가되고 소르비톨 탈수소효소의 반응이 느리므로 소르비톨이 세포내에 축적이 되게 된다. 이렇게 세포내에 축적된 소르비톨의 높은 삼투압으로 세포가 팽창하게되고, 세포가 손상을 입게된다. 이러한 원리로 인해 대표적으로 생기는 합병증이 백내장이다.

고혈당에 의해 소르비톨이 세포내에 축적이 되는 정도는 조직마다 큰 차이를 보이는 것으로 되어 있고, 특히 신경조직이나 혈관조직에서는 소르비톨 농도의 증가가 심각한 삼투압성 변화를 보이기에 충분한 양기 때문에 직접적인 삼투압의 증가에 따른 기전 이외에 다른 손상기전에 대한 연구가 이루어지고 있다.

현재 거론되고 있는 가설로는 (1) 폴리올경로의 증가에 따라 세포내 마마이오이노시톨이 감소한다는 설, (2) 폴리올 경로의 증가가 세포내 레독스를 감소시킨다는 설 및 (3) 폴리올경로의 증가가 자유 라디칼에 의한 세포손상을 증가시킨다는 설이다.

폴리올 경로의 증가가 산화 손상을 증가 시키는 기전은 크게 두가지로 나눌 수 있다. 첫번째로는 폴리올경로의 증가가 세포내 산화환원 상태를 감소시키므로써 유리 라디칼의 생성을 증가시키고 산화 손상을 증가시킨다는 것이다. 저산소증시 나타나는 특징적인 혈관의 변화는 혈관의 확장 및 혈류량이 증가로서, 이것은 저산소상태에서 NADH의 NAD⁺로의 산화가 억제되어 NADH/NAD⁺ 비가 증가되는 것과 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다. 저산소증이 없는 상태에서도 고혈당 상태가 되면 저산소증에서와 마찬가지로 세포질내에 NADH/NAD⁺ 비가 증가된다("hyperglycemic pseudohypoxia"). 고혈당 상태에서 NADH/NAD⁺ 비가 증가되는 것은 폴리올경로의 증가 및 해당작용의 증가와 관련이 있다. 고혈당 상태가 되면 소르비톨 경로로의 포도당 대사가 증가하게 되는데 소르비톨은 다시 소르비톨 탈수소효소에 의해 과당으로 전환된다. 이때 NAD⁺가 NADH로 환원되며 세포내 NADH/NAD⁺ 비가 증가하게 된다.

NADH/NAD⁺ 비가 증가하게 되면 NADH가 NAD⁺로 산화될 때 부산물로 O₂가 나올 수 있다. 또한 NADH가 증가되면 NADH를 조효소로 이용하는 프로스타글란딘 하이드로과산화효소에 의해 프로스타글란딘 G₂로부터 프로스타글란딘 H₂ 형성을 촉진시키며, 이때 O₂가 발생하게 되어 세포 손상이 일어날 수 있다.

두번째로는 폴리올경로가 활성화되면 여러가지 산화손상에 대한 방어기전이 약해지고 이로 인해 세포막에 손상을 입게 된다는 것이다. 정상적인 상태에서는 자유 라디칼은 글루타티온, 비타민 E 및 비타민 C등의 세포 내의 항산화제에 의해 급격히 제거된다. 당뇨병 상태에서는 포도당의 자가산화(autooxidation) 및 비효소적 단백 당화(non-enzymatic protein glycosylation)등 고혈당에 의해 free radical생성이 증가되어 있고, 또한 항산화 역할을 하는 항산화제 등이 감소되어 있어 각종 자유 라디칼에 의한 산화 손상에 매우 취약한 것으로 되어 있다. 또한 당뇨병으로 인해 고혈당 상태가 오래 지속되면 폴리올경로가 활성화되고 알도스 환원효소에 의해 과당이 소르비톨로 전환될 때 NADPH를 소모하게 된다. 알도스 환원효소의 NADPH에 대한 Km 값은 0.02mM로 글루타티온 환원효소의 Km 값 0.23mM에 비해 낮아 α-아알도스 환원효소가 훨씬 NADPH에 대한 친화력이 강하다. 따라서 증가된 폴리올경로는 GSSG가 GSH로 환원되는 데 필요한 NADPH를 써버리게 되므로 세포내에서 충분한 양의 GSH를 유지할 수가 없어 당뇨병 환자의 경우 세포내 GSH의 농도는 감소하게 된다. 따라서 여러가지 산화손상에 대한 방어기전이 약해지고 이로 인해 세포막에 손상을 입게 된다. 또한, 자유 라디칼은 지질과산화물을 일으켜 단백질에 손상을 주며, 혈관내피세포나 혈소판에 장애를 일으킨다. 산화된 단백질은 당화 단백질과 마찬가지로 교차결합을 일으키며, 손상된 혈관내피세포에서는 헤파란황산염의 합성이 감소하게 되어 단백질의 유출을 가져오게 되며 프로스타사이클린 합성도 감소되어 혈관 확장의 장애와 혈소판의 응고가 항진된다. 혈소판에서도 포스포리파아제 A2가 활성화 되어 트롬복산 A2의 합성이 증가되어 결과적으로 혈관 수축과 혈소판의 응고가 항진되게 된다.

Jain등은 인슐린의존형 당뇨병 환자의 적혈구내 GSH농도가 대조군에 비하여 유의하게 감소되어 있고 GSH농도는 고혈당의 정도와 음의 상관관계가 있다고 하여 혈당조절이 잘되지 않은 당뇨병 환자의 세포 손상에 세포내 GSH농도의 감소가 중요한 역할을 할 것이라고 하였다. Mattia등은 인슐린비의존형 당뇨병 환자에서 대조군에 비해 적혈구내 GSH농도는 감소되어 있고, GSSG농도는 증가되어 있으며, GSH/GSSG비도 감소되어 있다고 하였다. 이들 환자에서 알도스 환원효소 억제제인 tolrestat를 1주일간 치료하였을 경우 GSH농도 및 GSH/GSSG비가 증가된다고 하여 당뇨병 환자에서 글루타티온 산화환원상태의 장애에 폴리올경로의 역할을 할 것이라고 하였다(Nadler J and Natarajan R: Oxidative stress, inflammation, and diabetic complications. In LeRoith D, Taylor, Olefsky JM: Diabetes Mellitus. A fundamental and clinical text. 2nd Eds. 1008-1016).

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 상기와 같이 세포내에 자유라디칼의 농도의 상승, 산화환원 상태의 변화, 단백질의 당화 등에 의하여 당뇨병 합병증이 발생하는 문제점을 해결하기 위한 것으로서, 본 발명의 양강 추출물을 포함하는 조성물은 당뇨병 합병증을 예방 또는 치료하기 위한 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

발명의 구성

본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 양강 추출물을 포함하는 당뇨병 합병증 억제용 조성물을 제공한다.

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명자들은 인체 안정성이 확보되는 한약재를 대상으로 당뇨병 합병증을 억제하는 활성을 갖는 성분을 검색하던 중, 양강 추출물이 비효소적 당화반응을 억제하고, 알도스 환원효소의 억제 작용을 나타냄을 확인하였으며, 당뇨병 발생시 폴리올 경로가 활성화됨에 따라 생성되는 다량의 자유 라디칼에 의하여 만들어지는 지질과산화물이 단백질과 결합하여 당뇨병성 혈관합병증을 일으키는 것을 억제하는 효과가 있음을 확인하여, 이를 토대로 본 발명을 완성하게 되었다.

본 발명은 당뇨병 합병증 억제 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 양강 추출물을 유효성분으로 포함한다. 양강 추출물은 물 또는 유기용매로 추출 및/또는 분획하여 제조할 수 있으며, 바람직하기로는 유기용매로 추출 및/또는 분획하여 제조한다. 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 저가 알코올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 아세톤, 메틸렌 클로라이드 및 이들의 희석수로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있으며, 상기 저가 알코올은 메탄올, 에탄올, 부탄올, 프로판올 및 이소프로판올일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 알코올희석수는 알코올을 50 내지 97 부피%로 물에 희석한 것일 수 있다.

본 발명의 양강 추출물은 바람직하기로는 에탄올 희석수로 추출한 양강 추출물(이하, 양강 에탄올 추출물); 상기 양강 에탄올 추출물을 헥산으로 분획추출한 추출물(이하, 양강 헥산 분획추출물); 상기 양강 헥산 분획추출물을 제거한 물 층을 메틸렌 클로라이드로 분획추출한 추출물(이하, 양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물); 상기 메틸렌 클로라이드 분획추출물을 제거한 물 층을 에틸아세테이트로 추출하여 얻어진 추출물(이하, 양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물); 상기 에틸아세테이트 분획추출물을 제거한 물 층을 부탄올로 분획추출한 추출물(이하, 양강 부탄올 분획추출물); 및 상기 부탄올 분획추출물을 제거한 물층(이하, 양강 물추출물)로 이루어지는 군으로부터 선택된 분획추출물일 수 있으며, 가장 바람직하기로는 상기 양강 에탄올 추출물을 헥산으로 추출한 양강 헥산 분획추출물을 제거하고, 다시 메틸렌 클로라이드로 추출한 양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물을 제거한 후, 에틸아세테이트로 추출하여 얻어진 양강 에틸아세테이트 분획추출물이다.

일례로, 양강 추출물은 양강 100 g당 에탄올 0.5 내지 2ℓ를 가한 후 추출하는 방법으로 실시된다. 추출 온도는 50 내지 80℃일 수 있으나, 이에 한정되진 않는다. 추출시간은 한정되진 않으나 30분 내지 1달일 수 있으며, 통상의 추출기거나 초음파분쇄 추출기를 이용할 수 있다. 제조된 추출액은 이후 감압 여과 및 동결건조하여 용매를 제거한다.

또한, 본 발명의 일례로는 양강 100 g당 에탄올 0.5 내지 2L를 가해 얻어진 양강 에탄올 추출물을 농축하여 얻은 농축물 10 내지 15 g을 물 100 내지 1000 ml에 현탁하고, 헥산 100 내지 1000 ml를 가한 후 추출하여 양강 헥산 분획추출물을 얻어낸다. 상기 양강 헥산 분획추출물을 제거한 후, 나머지 물층에 다시 메틸렌 클로라이드 100 내지 1000ml를 가한 후, 추출하여 양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물을 얻는다. 상기 메틸렌 클로라이드 분획추출물을 제거한 후, 나머지 물층에 다시 에틸아세테이트 100 내지 1000ml를 가한 후, 추출하여 양강 에틸아세테이트 분획추출물을 얻는 방법으로 실시된다. 또한, 상기 양강 에틸아세테이트 분획추출물을 제거한 후, 나머지 물층에 다시 부탄올 100 내지 1000ml를 가한 후, 추출하여 양강 부탄올 분획추출물을 얻을 수 있으며, 이 때 상기 부탄올 분획추출물을 제외한 물 층을 양강 물추출물로 얻을 수 있다. 상기 헥산, 메틸렌 클로라이드, 에틸아세테이트, 또는 부탄올로 추출할 경우 추출 온도는 20 내지 40℃일 수 있으나, 이에 한정되진 않으며, 추출시간도 한정되진 않으나 30분 내지 20 시간일 수 있으며, 통상의 추출기거나 초음파분쇄 추출기를 이용할 수 있다. 제조된 추출액은 이후 감압 여과 및 동결건조하여 용매를 제거한다.

본 발명에 따른 양강 추출물 또는 양강 분획추출물은 당뇨병 합병증의 발생시 증가되는 알도스 환원효소의 활성 및 최종당화산물의 형성을 억제하고, 프리 라디칼 소거능을 증가시켜 항산화 활성을 가지며, 지질과산화물과 단백질의 결합을 억제하는 효과를 가진다.

본 발명에 따른 양강 추출물은 갈라긴(Galangin) 및 캄페라이드(Kaempferide)를 포함하고 있다. 상기 갈라긴 및 캄페라이드 각각도 당뇨병 합병증 억제 효과를 가지나, 농도 대비시 양강 추출물에 비해서 낮은 것으로 확인되어, 양강 추출물의 당뇨병 합병증 억제 활성은 단순히 상기 갈라긴 및/또는 캄페라이드에 의한 것이 아니라, 양강 추출물에 포함된 그 외 다양한 종류의 성분들의 조합에 의한 것임을 알 수 있다.

본 발명의 당뇨병 합병증 억제용 약제조성물은, 상기 유효성분을 단독으로 포함할 수 있으며, 이외 제형, 사용방법 및 사용목적에 따라 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 더욱 포함할 수 있다. 혼합물로 제공되는 경우, 유효성분은 당뇨병 합병증 억제용 약제조성물에 0.001 내지 99.9 중량%로 포함될 수 있으나, 통상 0.1 내지 50 중량%의 함량으로 포함되는 것이 바람직하다. 당뇨병 합병증 억제용 약제조성물은 각종 당뇨병성 신질환, 당뇨병성 백내장, 당뇨병성 신경증, 당뇨병성 심장질환, 당뇨병성 혈관합병증 등의 예방 또는 치료의 목적으로 사용가능하며, 바람직하게는 당뇨병성 혈관합병증의 치료를 목적으로 사용가능하다.

상기 담체 또는 부형제로는 물, 덱스트린, 칼슘카보네이트, 락토스, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀, 생리식염수, 덱스트로스, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유가 있으며, 이들은 1종이상 사용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체 및 부형제는 모두 사용 가능하다. 또한 당뇨병 합병증 억제용 조성물을 약제화하는 경우, 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 붕해제, 계면활성제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 또는 방부제 등을 더욱 포함할 수 있으며, 경구 또는 비경구 모두 사용 할 수 있으나, 바람직하기로는 경구 투여용으로 할 수 있다.

당뇨병 합병증 억제용 조성물의 제형은 사용방법에 따라 바람직한 형태일 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화하는 것이 좋다. 구체적인 제형의 예로는 경고제, 과립제, 로션제, 리니멘트제, 리모나데제, 산제, 시럽제, 안연고제, 액제, 에어로솔제, 엑스제 (EXTRACTS), 엘릭실제, 연고제, 유동엑스제, 유제, 현탁제, 전제, 침제, 점안제, 정제, 좌제, 주사제, 주정제, 캡셀제, 크림제, 환제, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀 등이 있다.

본 발명에 따른 당뇨병 합병증 억제용 조성물의 투여량은, 투여방법, 복용자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등을 고려하여 결정하는 것이 좋다. 일례로, 본 발명의 당뇨병 합병증 억제용 조성물은 유효성분을 기준으로 하였을 때 1일 0.1 내지 100 mg/kg(체중)으로 1회 이상 투여가능하다. 그러나 상기한 투여량은 예시하기 위한 일 예에 불과하며 상기 범위에 한정되진 않는다.

또한 본 발명의 당뇨병 합병증 억제용 약제조성물은, 양강 추출물 이외에 공지의 당뇨병 합병증 억제활성을 갖는 화합물 또는 식물 추출물을 더욱 포함할 수 있으며, 양강 추출물 100 중량부에 대하여 각각 5 내지 20 중량부로 포함될 수 있다.

본 발명의 당뇨병 합병증 억제용 조성물은 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제 등으로 사용가능하다. 당뇨병 합병증 억제용 조성물은 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제로 사용되는 경우, 각종 식품류, 육류, 음료수, 초콜렛, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 알코올 음료, 비타민 복합제, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이때, 당뇨병 합병증 억제용 조성물은 최종 제조된 식품 또는 음료에 0.001 내지 50 중량%으로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 기재한다. 다만, 하기의 실시예는 본 발명의 바람직한 일 실시예일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

실시예 1: 양강 에탄올 추출물의 제조

양강을 실온으로 일주일 동안 건조시킨 후, 분쇄하였다. 양강 건조분쇄물 100g에 95 % 에탄올을 가하여, 3시간 동안 추출하고, 여과 후 감압농축기로 충분히 농축한 후, 동결건조하여 건조형태의 추출물(이하, '양강 에탄올 추출물'이라 함) 12.3g을 얻었다.

실시예 2: 양강 핵산 분획추출물의 제조

실시예 1에서 얻은 양강 에탄올 추출물 12.3g에 물 100ml을 넣고, 노르말핵산을 100ml씩 3번 첨가하여 22℃에서 분획추출물을 얻어, 이를 여과하고 감압농축하여, 건조형태의 분획추출물(이하, '양강 핵산 분획추출물'이라 함) 0.29g을 얻었다.

실시예 3: 양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물의 제조

실시예 2의 양강 핵산 분획물을 제거한 양강 추출물에 메틸렌 클로라이드 100ml를 3번 반복하여 첨가하여 22℃에서 분획추출물을 얻고, 이를 여과하고 감압농축하여 건조형태의 분획추출물(이하, '양강 메틸렌 클로라이드 분획추출물'이라 함) 1.05g을 얻었다.

실시예 4: 양강 에틸아세테이트 분획추출물의 제조

실시예 3의 양강 메틸렌 클로라이드 분획물을 제거한 나머지 양강 추출물을 에틸아세테이트 100ml로 22℃에서 3회 용매 분획 추출하여, 농축하여 건조물 형태(이하, '양강 에틸아세테이트 분획추출물'이라 함)로 1.05g을 얻었다.

실시예 5 및 6: 양강 부탄올 분획추출물 및 물 분획추출물의 제조

실시예 4의 양강 에틸아세테이트 분획물을 제거한 물층에 부탄올을 100ml씩 첨가하여 22℃에서 3회 용매 분획 추출하여, 농축시켜 건조물 형태(이하, '양강 에틸아세테이트 분획추출물', 실시예 5)를 0.17g 얻었으며, 이 때 부탄올층과 분리된 물층을 농축시켜 건조물 형태(이하, '양강 물 분획추출물', 실시예 6)을 6.42g 얻었다.

실시예 7: 갈란긴 및 캄페라이드 화합물의 동정

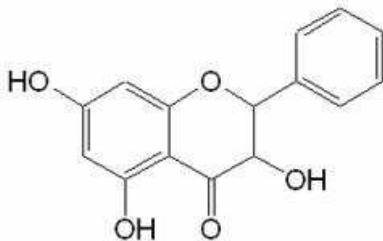
실시예 4의 양강 에틸아세테이트 분획추출물 1g을 노르말헥산:에틸아세테이트:에탄올:물을 3:7:5:5 비율로 하여 분획한 후, 아래층 분획물을 농축하여 NMR 및 HPLC로 확인한 결과 갈란긴과 캄페라이드가 5:3으로 혼합된 형태로 분리되는 것을 확인할 수 있었고, 상기 혼합물을 HPLC(JAI, RP-18)을 이용하여 에탄올 및 물을 이용한 역상칼럼으로 갈란긴(150mg) 및 캄페라이드(130mg)을 각각 분리하였다. 이들의 NMR 및 HPLC 결과는 다음과 같으며, 각각 화학식 1 및 2로 나타냈다.

갈란긴 (Galangin) 3,5,7-trihydroxyflavone

¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆), δ: 6.22(1H, d, J=2.2, H-6), 6.46(1H, d, J=2.1Hz, H-8), 7.48-7.59(3H, m, H-3',4',5'), 8.12-8.18(2H, m, H-2',6');

EI Mass m/z (rel. Int., %): 270[M]+ (100), 269[M-H]+ (40), 242[M-38]+ (15), 213[M-57]+ (15), 167[M-102 (hydroxyl phenol)]+ (10), 105[M-165(hydroxyl phenol)]+ (25), 77[benzene]+ (30)

(화학식 1)

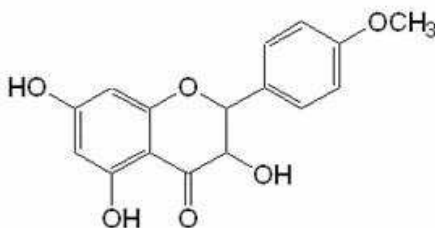


캄페라이드(Kaempferide) 3,5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavone

¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆), δ: 3.83(3H, s, OCH₃), 6.18(1H, d, J=2.1Hz, H-6), 6.44(1H, d, J=2.1Hz, H-8), 7.13(2H, d, J=9.3Hz, H-3',5'), 8.13(2H, d, J=9.3Hz, H-2',6');

EI Mass m/z (rel. Int., %): 300[M]+ (100), 285[M-CH₃]+ (18.4), 272[M-CO]+ (5), 257[M-CH-CO]+ (15), 229[M-CH₃-2CO]+ (20), 77[benzene]+ (40)

(화학식 2)



실시예 8: 양강 추출물을 포함하는 제형의 제조

8-1: 정제의 제조

하기 표 1의 성분으로 원료를 균질하게 혼합하여 약전 제제 총칙 중 정제 제조방법에 따라 1정이 200mg이 되도록 타정하였다.

[표 1]

성분	함량 (mg)
실시에 1	60
유당	81
미결정 셀룰로오스	50
경질 무수규산	1
크로스포비돈	6
스테아린산 마그네슘	2

8-2: 캡셀제의 제조

하기 표 2의 원료를 균질하게 혼합하여 약전 제제총칙중 캡셀제 제조방법에 따라서 1캡셀에 270mg이 함유되도록 충전하였다.

[표 2]

성분	함량 (mg)
실시에 1	60
유당	204
경질 무수규산	4.8
스테아린산 마그네슘	1.2

8-3: 연질캡셀제의 제조

하기 표 3 및 표 4의 원료를 균질하게 혼합하여 약전 제제총칙 중 연질캡셀제 제조방법에 따라 1 캡셀중 695mg이 함유되도록 충전하였다.

1) 충전조성물

[표 3]

성분	함량 (mg)
실시에 1	60
레시틴	20
콩기름	149.4
야자경화유	38
황납	12

2) 건조한 외피조성물

[표 4]

성분	함량 (mg)
젤라틴	247.2
농글리세린	78
디소르비톨액 70%	90.05
파라옥시안식향산메칠	0.28
파라옥시안식향산프로필	0.07
에칠바닐란	적량
청색 1호	적량
황색 203호	적량
산화티탄	적량
분획야자유	적량

8-4: 액제의 제조

하기 표 5의 원료를 약전 제제 총칙 중 액제 제조방법에 따라서 제조하고, 100ml 용량의 갈색병에 충전, 밀봉하여 저온살균 처리 하였다.

[표 5]

성분	함량 (mg)
실시에 1	100
구연산	4
별꿀	20
액상 과당	58
니코틴산아미드	20
안식향산나트륨	70
포비돈	적량
황색 203호, 청색 1호	적량
멘톨후라보노향	적량
정제수	적량

실험예 : 양강 추출물의 알도스환원효소 억제효능

1-1: 효소원의 제조

흰쥐의 수정체를 적출하고, 그의 습중량에 따라 일정량의 인산 완충액을 가하여 혼성화하였다. 이를 4℃에서 원심분리한 후, 그 상등액을 취하여 황산암모늄으로 40% 까지 포화시켜 원심분리한 상등액을 다시 취하고, 70%가 되도록 황산암모늄을 가하여 1시간 가량 저어준 다음, 원심분리하여 얻어진 펠렛을 최소량의 완충액에 현탁하여 투석을 하루정도 하여 이를 효소원으로 하였다.

1-2: 알도스환원효소의 억제효능 측정

상기 실험예 1-1에서 준비된 효소원 100 μ l 및 DL-글리세르알데하이드 10 μ l 에 실시예 2 내지 7의 양강 분획추출물 및 화합물을 하기 표 6과 같은 농도로 처리한 후, 340nm에서 NADPH 흡광도의 감소율을 측정하여 표 6에 결과를 기재하였다. 또한, 비교예 1로 알도스환원 효과가 있다고 알려진 퀘르세틴에 대하여도 상기와 같은 방법으로 처리하여 흡광도의 감소율을 측정하였다.

[표 6]

시료	추출용매	알도스 환원효소		
		농도 (μ g/ml)	억제율(%)	IC ₅₀ (μ g/ml)
실시예 1	에탄올추출물	280	60.5	209.2
		140	32.2	
		30	10.1	
실시예 2	헥산 분획추출물	280	24.2	-
		140	8.54	
		30	5	
실시예 3	메틸렌 클로라이드 분획추출물	140	45.2	-
		28	26.3	
		14	20.3	
실시예 4	에틸아세테이트 분획추출물	28	78.5	10.2
		14	52.4	
		3	38.9	
실시예 5	부탄올 분획추출물	28	62.5	18.7
		14	40.9	
		3	25.3	
실시예 6	물 분획추출물	70	59.8	39.1
		28	41.2	
		14	20.3	
실시예 7	갈란긴	70	82.5	34.6
		28	42.9	
		14	25.1	
	캄페라이드	70	60.1	43.4
		28	32.2	
		14	20.6	
비교예 1	퀘르세틴	28	80.5	9.7
		14	62.7	
		2.8	20.7	

표 6에 나타난 바와 같이 양강의 각분획 중에서 양강 에틸아세테이트 분획추출물인 실시예 4의 IC₅₀ (50%의 억제활성을 나타내는 농도) 값이 10.2 μ g/ml 가장 높은 활성을 나타내고 있으며 비교예 1의 퀘르세틴과 거의 유사한 활성을 나타내고 있다. 그러나 실시예 7의 갈란긴과 캄페라이드는 분획에서의 억제 수준에 못 미치고 있다. 따라서, 분획으로부터 분리 물질을 제거한 나머지 분획의 활성이 더 높은 것이며 아직 그 나머지 분획에 활성 물질이 남아 있음을 시사하고 있다.

실험예 2: 유리기 소거 활성 측정

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 소거 효과의 측정은 M.S. Blois 의 방법으로 실시하였다. 다양한 농도의 시료가 든 4 ml 의 methanol 용매에 1ml 의 1,1-Diphenyl- 2-picrylhydrazyl용액(1.5×10^{-4} M)을 넣었다. 실온에서 30분간 놓아둔 후 spectrophotometer를 사용하여 520nm에서 흡광도를 측정하여 남아있는 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl의량을 계산하여 DPPH 소거능을 하기 표 7에 기재하였다. 또한, 비교예 2로 항산화효과가 있다고 알려진 비타민 C(아스코르브산)을 상기와 같은 방법으로 처리하여 DPPH 소거능을 측정하여 결과를 기재하였다.

[표 7]

시료	추출용매	알도스 환원효소		
		농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	억제율(%)	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
실시예1	에탄올추출물	280	81.3	131.4
		140	52.1	
		30	20.4	
실시예2	헥산 분획추출물	280	82.67	206
		140	13.4	
		30	2.01	
실시예3	메틸렌 클로라이드 분획추출물	140	96.38	69
		28	30.4	
		14	16.11	
실시예4	에틸아세테이트 분획추출물	28	63.21	22
		14	34.19	
		3	4.99	
실시예 5	부탄올 분획추출물	28	84.36	17
		14	47.21	
		3	8.34	
실시예 6	물 분획추출물	70	61.08	55
		28	32.93	
		14	18.01	
실시예 7	갈란긴	140	84.14	65
		28	40.43	
		14	33.29	
	캄페라이드	140	70.01	83.44
		28	33.54	
		14	21.78	
비교예 2	아스코르베이트	28	90.53	16.6
		14	42.70	
		2.8	2.7	

표7에 나타난 바와 같이, 실시예 4의 양강 에틸아세테이트 분획추출물의 IC_{50} (50%의 억제활성을 나타내는 농도) 값이 22 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 나타냈고, 실시예 5의 양강 부탄올 분획추출물의 경우는 17 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 높은 활성을 나타내고 있으며, 이는 비교예의 비타민 C(Ascorbate)와 거의 유사한 활성을 나타내고 있다. 그러나 에틸아세테이트 분획에서 분리된 갈란긴과 캄페라이드는 분획에서의 억제 수준에 못 미치고 있다. 따라서, 분획으로부터 분리 물질을 제거한 나머지 분획의 활성이 더 높은 것이며 아직 그 나머지 분획에 활성 물질이 남아 있음을 시사하고 있다.

실험예 3: 최종당화산물(AGE')생성 억제 효과

단백질원으로 소혈청알부민(bovine serum albumin)을 50mM 인산 완충액(pH 7.4)에 가하여 제조하였다. 당원으로는 0.1 M 과당과 0.1 M 글루코스의 혼합액에 실시예 2 내지 7의 분획추출물 하기 표 8과 같은 농도로 첨가하고 37℃에서 30일간 배양하였다. 한편 효능의 우수함을 비교할 수 있는 지표로(비교예 3) 아미노구아니딘.HCl을 사용한다. 30일 후 배양액에서 생성된 최종당화산물의 함량을spectrofluorometer (Excitation: 350nm, Emission: 450nm)로 그 생성 억제 정도를 분석하여 하기 표 8에 나타냈다.

[표 8]

시료		비효소적 당화반응 억제 활성		
		농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	억제율 (%)	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
실시에 1		588	55.2	420.1
		294	30.1	
		58.8	2.9	
실시에 2		588	1.18	-
실시에 3		294	45.53	-
실시에 4		294	81.01	77.73
		58.8	56.14	
		5.88	31.76	
실시에 5		588	33.06	-
실시에 6		588	15.91	-
실시에 7	갈라긴	588	62.27	330.01
		294	39.2	
		58.8	46.38	
비교예 3	아미노구아니딘	638	52.03	613.84
		588	45.91	
		294	3.19	

상기 표8에 나타난 바와 같이, 실시에 4의 양강 에틸아세테이트 분획을 처리한 경우 IC_{50} (50%의 억제활성을 나타내는 농도) 값이 $77.73\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 높은 활성을 나타내고 있으며, 비교예 3의 아미노구아니딘(aminoguanidine)과 비교할 때 거의 8배의 활성을 나타내고 있다. 그러나 실시에 4의 에틸아세테이트 분획에서 분리된 실시에 7의 갈라긴은 분획에서의 억제 수준에 못 미치고 있다. 따라서, 분획으로부터 분리 물질을 제거한 나머지 분획의 활성이 더 높은 것이며 아직 그 나머지 분획에 활성 물질이 남아 있음을 시사하고 있다.

실험예 4: 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

4-1: Malondialdehyde 제조

Gomez-Sancheza (Gomez-Sancheza et al., 1990)의 방법에 따라, Dowex 50WX8-200 resin (supelco) 5 g이 들어 있는 수용액 40 ml에 1,1,3,3-tetramethoxy-propane 5 ml를 가하고 격렬히 혼돈 후 실온에서 15-20분 정도 방치하여 1,1,3,3-tetramethoxy-propane을 분산시켰다. 이 분산물을 여과하여 resin을 제거하고, NaOH로 pH 7.0이 되도록 중화한 후 중성의 1,1,3,3-tetramethoxy-propane 분산물을 동결건조하였다. 여기에 methanol을 넣어 포화용액을 만든 다음 ethyl ether 300 ml에 방울방울 가하여 연노란색의 MDA 침전물이 생기면 진공 evaporator를 이용하여 ether를 제거하여 MDA 분말을 얻었다.

체내에서 대표적인 지질과산화물인 malondialdehyde(MDA)는 두 개의 알데히드기를 갖고 있어 매우 불안정하여 주변의 단백질 내부의 아미노산 잔기들 사이에서 뿐만 아니라, 외부 단백질분자의 잔기 사이에서도 교차결합(cross-linking)을 일으킬 수 있다(Monnier, 1990) 체내에서 생성된 지질과산화물이 어떤 효소와 결합한다면 그 효소의 활성을 저하시키거나 변화시킴으로써 질병을 유도할 수 있으며, 만일 DNA 변이를 교정하는 작용과 같은 보호기능에 관여하는 효소에 손상을 준다면 암을 유발할 수도 있다고 알려져 있다(Hong et al., 1990).

4-2: 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

Park(Park,2000)의 방법에 따라 BSA와 MDA와의 결합을 억제하는 효과를 측정하였다. BSA($2\text{ mg}/\text{ml}$) $100\mu\text{l}$, MDA(20 mM) $100\mu\text{l}$ 에 0.1M PBS와 실시에 1의 에탄올추출시료를 혼합하여 최종농도가 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, $100\text{ mg}/\text{ml}$ 이 되게 한 후 37°C 에서 24시간 반응시켰다. 이때 BSA 단백질 정량은 Bradford 법(Bradford, 1976)으로 측정하였다. 반응시킨 시료 $500\mu\text{l}$ 를 centricon(Amicon, Centricon YM-10)에 넣고, 3500 rpm에서 2시간 동안 원심분리하여 MDA와 BSA의 결합물을 분리한 후, 여분의 염을 제거하기 위하여 증류수 $700\mu\text{l}$ 를 넣고 3500 rpm으로 2시간 동안 원심분리하였다. 증류

수로 3회 반복 세척한 후 반응물을 분리한 후 12% acrylamide gel에서 전기영동(SDS-PAGE)한 후 Coomassie 염색하여 MDA와 BSA의 결합물의 band와 이를 densitometer(Vilber Lourmat, BIO-1D Image Analysis)로 정량한 지질과산화물과 단백질의 결합억제율을 계산한 결과값을 도 1에 기재하였다.

도 1에서 BLK(Blank)는 단백질인 BSA만 처리된 경우를 말하며, Cont.는 MDA와 BSA만 처리된 경우, AO2는 MDA, BSA 및 실시예 1의 양강 에탄올 추출물 20mg/ml가 처리된 경우, AO1는 MDA, BSA 및 실시예 1의 양강 에탄올 추출물 10mg/ml가 처리된 경우, AG는 MDA와 BSA에 아미노구아니딘 2mg/ml가 처리된 경우를 나타낸다.

도 1에 나타나듯이, 양강 처리 농도가 높아질수록 MDA와 BSA의 결합으로 인해 생성된 band가 감소함을 볼 수 있어, 지질과산화물인 MDA가 단백질인 BSA와 결합하는 것을 억제시킴을 알 수 있었다. 특히 양강 추출물을 20mg/ml (AO2)로 처리한 것은 아미노구아니딘(AG)를 2mg/ml리한 것과 비슷한 경향을 나타내었다.

따라서, 양강 등 식품소재 가능한 기능성 소재의 지속적인 섭취는 세포내에 축적된 과산화지질이 단백질과 결합하는 것을 차단함으로써 일부 질병요인으로부터 신체를 보호할 수 있을 것으로 보인다.

발명의 효과

본 발명의 양강 추출물을 포함하는 조성물은 비효소적 당화반응 및 지질과산화물과 단백질의 결합을 억제하고, 항산화 효능, 알도스 환원효소 억제 작용 등이 뛰어나므로 당뇨병 합병증을 억제하는 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

도 1은 0.2 μ mole의 말론디알데히드(이하, MDA)와 0.2mg의 소혈청단백(이하, BSA)에 실시예 1의 양강 에탄올 추출물을 농도별로 첨가하여 MDA와 BSA의 결합에 미치는 영향을 전기영동으로 관찰한 것과 이를 대조군에 대한 저해율로 표시한 것이다. 이 경우, BLK(Blank)는 단백질인 BSA만 처리된 경우를 말하며, Cont.는 MDA와 BSA만 처리된 경우, AO2는 MDA, BSA 및 실시예 1의 양강 에탄올 추출물 20mg/ml가 처리된 경우, AO1는 MDA, BSA 및 실시예 1의 양강 에탄올 추출물 10mg/ml가 처리된 경우, AG는 MDA와 BSA에 아미노구아니딘 2mg/ml가 처리된 경우를 나타낸다.

도면

도면1

