(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0058555
(43) 공개일자 2011년06월01일

(51) Int. Cl.
A61K 36/33 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) *A61P 39/06* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0115386
(22) 출원일자 2009년11월26일
심사청구일자 2009년11월26일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원 춘천시 한림대학길 39 한림대학교
(72) 발명자
강일준
강원도 춘천시 퇴계동 주공2차아파트 209동 403호
임순성
강원도 춘천시 퇴계동 916-3 그린타운아파트 102동 401호
(74) 대리인
유미특허법인

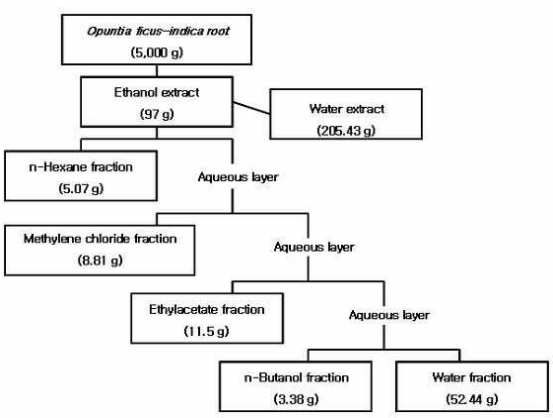
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 노팔 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 또는 당뇨합병증 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요 약

노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리의 추출물 또는 상기 추출물의 분획물을 유효성분으로 함유하는 당뇨 및/또는 당뇨합병증의 예방 및/또는 치료용 조성물이 제공된다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 없음
부처명 지식경제부
연구관리전문기관
연구사업명 지역혁신센터 (RIC) 사업
연구과제명 인삼 및 기능성 소재를 이용한 혈당조절 소재개발
기여율
주관기관 한림대학교
연구기간 2008.03.01~2010.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리를 물 및 C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 추출하여 얻어진 추출물; 및

상기 추출물을 물, C_5 내지 C_7의 알칸, C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올, 메틸렌클로라이드, 및 에틸아세테이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 분획하여 얻어진 분획물

로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 함유하는,

당뇨 또는 당뇨합병증의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리를 80 내지 100%(v/v) C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 추출하여 얻어진 알코올 추출물;

상기 알코올 추출물을 헥산으로 분획하여 얻어진 헥산 분획물;

상기 헥산 분획물을 분리하고 남은 수성층을 메틸렌클로라이드로 분획하여 얻어진 메틸렌클로라이드 분획물;

상기 메틸렌클로라이드 분획물을 분리하고 남은 수성층을 에틸아세테이트로 분획하여 얻어진 에틸아세테이트 분획물;

상기 에틸아세테이트 분획물을 분리하고 남은 수성층을 C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 분획하여 얻어진 알코올 분획물; 및

상기 알코올 분획물을 분리하고 남은 물 분획물

로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 함유하는,

당뇨 또는 당뇨합병증의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리를 물 또는 80 내지 100%(v/v) 에탄올로 추출하여 얻어진 추출물; 및

상기 추출물을 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 부탄올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 분획하여 얻어진 분획물

로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 함유하는,

당뇨 또는 당뇨합병증의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 당뇨합병증은 당뇨병성 혈관장애, 당뇨병성 신경장애 또는 당뇨병성 감염증인, 당뇨 또는 당뇨합병증의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 당뇨합병증은 당뇨성 망막증(diabetic retinopathy), 당뇨성 백내장(diabetic cataract), 당뇨성 신증(diabetic nephropathy), 당뇨성 신경병증(diabetic neuropathy), 당뇨성 혈관합병증인, 당뇨 또는 당뇨합병증

의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는 당뇨 또는 당뇨합병증의 예방 또는 개선용 식품.

청구항 7

노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리를 물 및 C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 추출하여 얻어진 추출물; 및

상기 추출물을 물, C_5 내지 C_7의 알칸, C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올, 메틸렌클로라이드, 및 에틸아세테이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 분획하여 얻어진 분획물

로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 함유하는,

항산화용 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리의 추출물 또는 상기 추출물의 분획물을 유효성분으로 함유하는 당뇨 및/또는 당뇨합병증의 예방 및/또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 현재 우리나라는 급격한 경제성장으로 인해 서구화된 식이습관과 영양분의 과잉으로 질병의 양상이 크게 변화하고 있으며 과거와는 달리 동맥경화, 고혈압, 암, 비만 및 당뇨병 등의 만성 퇴행성 질환이 주요 사망 원인으로 대두되고 있다.

[0003] 특히 당뇨병과 그로 인한 합병증의 발병율이 급격히 증가하고 있는 추세이다. 당뇨병 발병율은 1970년대 인구의 1% 미만이었던 것이 1990년대 이후에는 인구 10만 명당 17.2명이 당뇨병에 의해 사망하고 있으며, 앞으로도 당뇨병의 발병율은 계속 증가할 것으로 추정되고 있다. 당뇨병(Diabetes Mellitus, DM)은 고혈당과 그로 인한 대사 장애가 장기간 지속되어 발병하는 만성 대사 질환으로서, 췌장 Langerhan's island β세포의 기능 이상에 의한 인슐린의 절대적 결핍으로 나타나는 인슐린 의존성 당뇨병(Insulin Dependent Diabates Mellitus, IDDM)과 인슐린의 분비능력이 감소하거나 반응속도가 느려져 나타나는 인슐린 비의존성 당뇨병(Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM)으로 분류된다.

[0004] 당뇨병은 대표적인 만성질환으로 포도당을 비롯한 여러 대사 장애로 망막, 신장 및 신경등의 미세혈관 합병증과 중풍, 협심증, 심근경색증 및 말초 혈관 질환 등의 대혈관 합병증을 초래하는 만성적인 질병이다. 최근 당뇨병의 치료방법이 발달됨에 따라 당뇨병 환자의 평균 수명이 연장 되고 급성대사성 합병증으로 인한 사망률이 급격하게 감소되고는 있지만 당뇨병성 만성 합병증의 발생이 증가함으로 인해 당뇨병 합병증은 당뇨병 치료 그 자체보다 더 큰 문제점으로 지적되고 있다.

[0005] 당뇨의 치료법은 약물요법, 운동요법 및 식이요법이 있으며 환자의 증상에 따라 인슐린 약재와 각종 혈당제가 사용되고 있다. 그러나 당뇨병은 간에서의 당 생성 과다, 인슐린 저항성, 근육과 지방 세포 등에서 당 처리 능력 감소 등의 특징을 나타내는 복합적인 질병이므로 특정 치료법만으로는 여러 가지 부작용의 유발을 막을 수 없다. 이 중 약물요법은 인슐린 및 화학물질을 사용하고 있어 약물 복용에 따란 부작용과 환자의 내성에 끊임없는 문제가 되고 있기 때문에, 최근에는 당뇨병 치료에 있어 식이가 가능하며 부작용이 적은 천연물을 이용하여 당뇨병을 치료하고, 더 나아가 당뇨병합병증의 예방 및 치료하기 위한 연구가 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0006] 이에, 본 발명자들은 노팔(*Opuntia ficus-indica*)의 뿌리가 항산화 효과와 더불어 당뇨 및 당뇨합병증 치료에 우수한 효과가 있음을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

[0007] 따라서, 본 발명의 일례는 노팔 뿌리의 추출물 및 분획물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 함유하는 당뇨 및/또는 당뇨합병증 예방 및/또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0008] 또 다른 예는 노팔 뿌리의 추출물 및 분획물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 당뇨 및/또는 당뇨합병증 예방 및/또는 개선용 식품을 제공한다.

[0009] 또 다른 예는 노팔 뿌리의 추출물 및 분획물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물을 제공한다.

과제 해결수단

[0010] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0011] 노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리 추출물 및/또는 상기 추출물의 분획물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 및/또는 당뇨합병증 예방 및/또는 치료용 조성물이 제공된다.

[0012] 노팔(*Opuntia ficus-indica*)은 선인장과(cactaceae) 선인장속(opuntia)에 속하는 다년초로서, 열대나 아열대지방에서 주로 자라는 식물로 멕시코가 원산지로 알려져 있다. 멕시코에서는 열매(prickly pear)와 줄기(nopalitos)를 오래전부터 다양한 민간요법으로 사용되고 있으며 현재 변비치료, 이뇨효과, 장 운동의 활성화, 콜레스테롤의 수치를 낮추어 고혈압을 예방하는 효과 등이 보고 되고 있다. 노팔의 열매와 줄기의 생리활성에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으나, 노팔 뿌리에 대한 연구는 진행된 바 없다.

[0013] 본 발명의 조성물은 노팔(*Opuntia ficus-indica*)의 뿌리를 이용하여 얻어진 추출물 및/또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 한다. 노팔 뿌리는 그대로 사용되거나, 통상의 처리를 거쳐서, 예컨대, 건조 및/또는 분쇄되어 사용될 수 있다.

[0014] 상기 노팔 뿌리 추출물은 물 및 C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매를 이용하여 통상의 식물 추출방법으로 얻어진 것일 수 있다. 또한, 상기 분획물은 상기와 같은 노팔 뿌리 추출물을 물, C_5 내지 C_7의 알칸, C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올, 메틸렌클로라이드, 및 에틸아세테이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 이용하여 통상의 방법으로 분획하여 얻어진 것일 수 있다.

[0015] 본 발명의 한 구체예에 있어서, 보다 우수한 항당뇨 및/또는 항당뇨합병증 효과를 달성하기 위하여, 상기 추출물은 노팔 뿌리를 80 내지 100%(v/v) C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 추출하여 얻어진 알코올 추출물일 수 있으며, 상기 분획물은 상기 알코올 추출물을 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 부탄올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 비극성 순으로 적용하여 각 적용시마다 얻어지는 분획물들로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있다. 예컨대, 상기 알코올 추출물을 헥산으로 분획하여 얻어진 헥산 분획물; 상기 헥산 분획물을 분리하고 남은 수성층을 메틸렌클로라이드로 분획하여 얻어진 메틸렌클로라이드 분획물; 상기 메틸렌클로라이드 분획물을 분리하고 남은 수성층을 에틸아세테이트로 분획하여 얻어진 에틸아세테이트 분획물; 상기 에틸아세테이트 분획물을 분리하고 남은 수성층을 C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 분획하여 얻어진 알코올 분획물; 및 상기 알코올 분획물을 분리하고 남은 물 분획물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것일 수 있다.

[0016] 또 다른 구체예에 있어서, 상기 추출물은 노팔 뿌리를 물 또는 80 내지 100%(v/v) 에탄올로 추출하여 얻어진 추출물일 수 있고, 상기 분획물은 상기 추출물을 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 부탄올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 분획하여 얻어진 분획물일 수 있다.

[0017] 노팔 뿌리 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있으며, 바람직하게는 가압추출법, 환류추출법, 온침 추출법, 초음파 분쇄 추출법 등에 의할 수 있고, 바람직하게는 가압추출법에 의할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0018] 또한, 상기한 바와 같이 제조된 추출물은 이후 감압 여과과정을 수행하거나 추가로 농축 및/또는 동결건조를 수

행하여 농축하거나 용매를 제거할 수 있다. 따라서, 본 발명에서의 노팔 뿌리 추출물은 통상적 방법으로 건조된 건조물과 통상적 방법으로 농축된 농축물을 포함하는 의미로 사용된다.

[0019] 본 발명의 조성물의 당뇨 치료 활성은 α-글루코시데이즈(α-glucosidase) 활성 억제능을 통하여 시험하였다. α-글루코시데이즈(α-glucosidase)는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. α-글루코시데이즈에 대한 저해능은 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다. 본 발명의 노팔 뿌리 추출물 및 분획물은 a-글루코시데이즈에 대해서 기존의 혈당강하제로 사용되는 아카보오스(acarbose)보다 높은 억제 효과를 보임이 확인되었다 (실시예 6, 도 7, 및 표 3 참조).

[0020] 또한, 당뇨합병증은 당뇨병으로 인한 고혈당과 단백질의 반응이 비가역적으로 진행되어 최종당화산물이 생성되어 혈중이나 조직의 다른 단백질과 교차결합하여 유발시키는 여러 가지 합병증을 의미한다. 구체적으로, 본 발명에서 노팔 뿌리 추출물 및/또는 분획물이 치료 효과를 갖는 당뇨합병증은 당뇨병성 혈관장애, 당뇨병성 신경장애 또는 당뇨병성 감염증 등일 수 있으며, 바람직하게는 당뇨성 망막증(diabetic retinopathy), 당뇨성 백내장(diabetic cataract), 당뇨성 신증(diabetic nephropathy), 당뇨성 신경병증(diabetic neuropathy), 당뇨성 혈관합병증 등일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 당뇨성 망막증, 당뇨성 백내장 또는 당뇨성 신증일 수 있다.

[0021] 본 발명의 당뇨합병증 치료 활성은 최종당화산물(Advanced Glycation End-products, AGEs)의 형성 억제능 및 알도오스 환원효소(Aldose reductase) 억제능을 통하여 시험하였다.

[0022] 최근 최종당화산물의 형성이 당뇨병성 혈관 합병증 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 제2형 당뇨병 환자의 혈액 내 최종당화산물의 농도와 심혈관계질환의 유무 및 중증도와 연관이 뚜렷하고 여러 동물 모델 연구에서도 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다. 만성적인 고혈당과 생체 단백질과의 비효소적 당화 반응에 의해 생성되는 최종당화산물은 당뇨합병증의 주요 원인중 하나이다. 당뇨합병증은 혈당이 정상적으로 회복되었음에도 불구하고 발병하는 경우가 많다. 최종당화산물은 고혈당의 농도에 비례하여 조직에 축적되는 단백질 당화산물로 특이한 흡광도 및 형광을 나타내고, 특히 단백질의 아미노기가 서로 cross-link 반응을 일으키는 성질을 가지고 있다. 최종당화산물은 한번 생성되면 혈당이 정상적으로 조절되어도 분해되지 않고 조직에 축적되어 조직의 구조와 기능을 비정상적으로 변화시키며, atheroma성 동맥경화증, DNA의 돌연변이, 노화, 알츠하이머병, 당뇨합병증등에 관여한다고 알려져 있다. 기존에 최종 당화산물의 억제제로서 알려진 아미노구아니딘(aminoguanidine)의 독성이 증가하는 것으로 나타남에 따라, 이를 대체할 수 있는 독성이 없는 안전한 천연물의 개발이 필요한 실정이다.

[0023] 본 발명에 따른 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 최종당화산물에 대한 억제 활성을 시험한 결과, 최종당화산물 생성 억제 효과를 갖는 것으로 나타났으며, 특히 메틸렌클로라이드 분획물의 IC_{50}이 2.7 μg/mL로 나타남으로써, 기존의 최종당화산물 억제제인 아미노구아니딘보다 더 높은 억제 효과를 보이는 것으로 나타났다 (실시예 4, 도 5 및 표 2 참조).

[0024] 또한, 당뇨합병증의 유발기전 중 하나인 폴리올 경로(polyol pathway)의 증가는 세포손상을 일으키는 기전이다. 알도오스 환원효소(Aldose reductase)는 폴리올 경로에서 글루코오스를 소르비톨에서 프룩토오스로 전환하는 과정에 관여하는 효소이다. 고혈당 상태가 되면 세포내 포도당 대사의 변화가 일어나는데, 과잉의 포도당이 세포내로 들어오면 알도오스 환원효소에 의해 소르비톨로 전환되며, 소르비톨 탈수소효소(sorbitol dehydrogenase)에 의해 프룩토오스(fructose)로 전환된다. 정상혈당 상태에서는 포도당에 대한 알도오스 환원효소의 Km값(70 mM)이 높아 세포 내 소르비톨 농도는 매우 낮다. 그러나 고혈당에 의해 세포 내 포도당 농도가 올라가면 세포내 소르비톨 농도가 증가될 뿐만 아니라 소르비톨 탈수소효소의 반응속도가 느려 소르비톨이 세포내에 축적하게 된다. 결국 세포내에 축적된 소르비톨의 높은 삼투압으로 세포가 팽창하게 되고 세포가 손상을 입게 되며 결국 백내장, 당뇨성 신경증, 망막증 등의 합병증을 야기하게 된다.

[0025] 따라서 본 발명에서는 부작용이 없으며 효과적으로 당뇨합병증을 예방할 수 있는 새로운 천연물을 개발하기 위하여, 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 알도오스 환원효소 활성 억제능을 시험하였다. 그 결과 노팔 뿌리 추출물 및 분획물이 알도오스 환원효소 활성 억제능을 갖는 것으로 나타났으며, 특히 노팔 뿌리의 에틸아세테이트 분획물은 11 μg/mL의 농도에서 81%로 기존의 알도오스 환원효소 저해제로 알려진 퀘르세틴과 동등한 정도의 높은 저해 활성을 갖는 것으로 나타났다 (실시예 5 및 도 6 참조).

[0026] 또 다른 예에 있어서, 상기한 바와 같은 노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리를 물 및 C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 추출하여 얻어진 추출물; 및 상기 추출물을 물, C_5 내지 C_7

의 알칸, C_1 내지 C_4의 직쇄 또는 분지형 알코올, 메틸렌클로라이드, 및 에틸아세테이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 분획하여 얻어진 분획물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 함유하는, 항산화용 조성물이 제공된다.

[0027] 상기 조성물의 항산화 효과를 시험하기 위하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 소거효과를 시험하였다. DPPH는 화학적으로 안정한 자유 가디칼을 지니고 있는 화합물로 항산화 활성을 가진 물질을 만나면 환원되어 항산화 능력을 확인하는데 널리 사용되는 물질이다. 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 DPPH 소거능을 시험한 결과, 특히 메틸렌클로라이드 분획물, 에틸아세테이트 분획물 및 부탄올 분획물이 가장 뛰어난 항산화능을 갖는 것으로 나타났다 (실시예 2, 실시예 3, 도 3, 도 4, 및 표 1 참조).

[0028] 본 발명의 조성물은 유효성분인 노팔 뿌리 추출물 및/또는 분획물 외에, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 중진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다. 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다. 상기 추가성분의 함량은 바람직하게는 상기 노팔 뿌리 추출물 또는 분획물 100 중량부 당 0.1 내지 20 중량부 범위 또는 리코리시딘 100 중량부 당 100 내지 10,000,000 중량부 범위에서 추가할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 상기 조성물 내의 상기 노팔 뿌리 추출물 및/또는 분획물의 함량은 질환의 증상, 증상의 진행 정도, 환자의 상태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.0001 내지 99.9중량%, 바람직하게는 0.001 내지 50중량%인 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.

[0030] 상기 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있으며, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0031] 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 적어도 한 가지 이상의 부형제 및/또는 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다.

[0032] 상기 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 보다 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물의 투여량은 유효성분을 기준으로 1일 0.1 mg/kg 내지 20 mg/kg으로 하는 것이 좋으나 이에 제한되는 것은 아니다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 조성물은 동물, 바람직하게는 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육, 피하주사 등에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물의 약학적 투여 형태는 유효성분의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

[0033] 또 다른 예에서, 상기한 바와 같은 노팔 뿌리 추출물 및/또는 분획물을 포함하는 당뇨 및/또는 당뇨합병증의 예방 및/또는 개선용 식품이 제공된다. 본 발명에서 식품은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 각종 식품, 건강기능 식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의미로 사용된다. 상기 식품의 예로서 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영,유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스넥류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과실,채소류 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 건강기능식품, 음료, 식품첨가제 또는 음료첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0034] 상기 식품 조성물은 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통

상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0035] 또한, 상기 식품에 있어서, 상기 노팔 뿌리 추출물 및/또는 분획물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 상기 식품이 음료인 경우에는 식품 전체의 부피 100 ml 를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

효 과

[0036] 본 발명에 따른 노팔 뿌리 추출물 및/또는 분획물을 포함하는 조성물은 당뇨 및/또는 당뇨합병증 치료 효과가 우수하면서도 독성과 부작용이 없는 천연물 유래의 조성물이므로, 당뇨 및/또는 당뇨합병증의 치료에 보다 안전하게 적용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0037] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하도록 한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 대표적으로 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[0038] **재료준비**

[0039] 노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리는 멕시코산을 구입하였다. 하기 실시예에서 사용된 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), BSA(Albumin from bovin serum), 메틸글리옥살 용액(methylglyoxalsolution), 아미노구아니딘(aminoguanidine), DL-글리세르알데사이드(DL-glyceraldehyde), NADPH, 및 퀘르세틴(quercetin)은 Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였으며, 그 외 분석에 사용된 모든 시약은 특급을 사용하였다. 분석을 위한 기기로는 spectrophotometer(Thermo, USA)을 사용하였다.

[0040] **실시예 1. 노팔 뿌리 추출물 및 분획물 제조**

[0041] 노팔 뿌리 총 5kg에 99%(v/v) 에탄올을 첨가한 후, 2시간씩 reflux시켜 약 50 내지 80℃에서 온침 추출 (3회 반복)하고, 여과하였다. 얻어진 여과액을 rotary vacuum evaporator(Buchi Rotavapor R-220, Swiss)로 감압농축하여, 노팔 뿌리의 에탄올 추출물을 얻었다 (97g, 수득률 1.94%). 얻어진 추출물은 n-헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트, n-부탄올, 및 물을 순차적으로 사용하여, n-헥산층(5.07g, 수득률 5.23%), 메틸렌클로라이드층(8.81g, 수득률: 9.08%), 에틸아세테이트층(11.5g, 수득률: 13.81%), n-부탄올층(3.38g, 수득률: 3.48%), 및 물층(52.44g, 수득률: 54.06%) 순으로 각각 용매 분획하였다. 얻어진 각 층을 감압농축하고 건조시킨 후, 분말로 만들어 시료로 사용하였다. 한편, 에탄올 추출 후 남은 노팔 뿌리를 건조 시킨 후 증류수를 첨가하여 에탄올 추출물과 동일한 방법으로 추출을 수행하여 물 추출물 205.43 g을 얻었다. 상기 추출 및 분획 과정을 도 1에 모식적으로 나타내었다

[0042] TLC(Thin layer chromatography, silicagel 60(Merk Co. USA) F254 pre-coated 사용)에 시료를 전개시킨 후 전개면에 10%의 황산을 분사시켜 100℃로 가열하면 시료의 유기성분을 발색시켜 모든 유기성분을 볼 수 있는데, 이러한 방법을 이용하여 상기 얻어진 노팔 뿌리 추출물 및 분획물을 시험하여 얻어진 결과를 도 2에 나타내었다.

[0043] **실시예 2. DPPH 소거 효과 시험**

[0044] 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 DPPH 소거 효과를 TLC(Thin layer chromatography)법을 이용하여 시험하였다. TLC는 silicagel 60(Merk Co. USA) F254 pre-coated를 사용하였으며, 적당한 용매계를 찾아 물질을 완전히 전개시킨 후, DPPH를 메탄올에 녹인 0.2mM DPPH 용액을 분사하였다. 전개 용매로는 클로로포름:메탄올:물=65:35:3를 사용하였다.

[0045] 활성(라디칼 소거능)이 나타나는 물질은 농도 및 활성 정도에 따라 노란색 또는 흰색을 나타내는 반면, 비활성

(라디칼 소거능이 없는) 물질과 바탕은 DPPH 고유의 보라색을 나타내므로, 활성물질 유무, 위치, 농도 등의 정보를 손쉽게 파악할 수 있다.

[0046] 상기 얻어진 TLC 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3에서 확인되는 바와 같이, 노팔 뿌리 에탄올 추출물에서 활성이 띠는 물질이 나타나며, 노팔 뿌리 에탄올 추출물의 분획물들 중에서는 에틸아세테이트층, 메틸렌클로라이드층, 및 n-부탄올층 순으로 활성이 있음을 알 수 있다.

[0047]

[0048] **실시예 3. DPPH를 이용한 항산화 효과 시험**

[0049] DPPH는 화학적으로 안정한 자유 가디칼을 지니고 있는 화합물로 항산화 활성을 가진 물질을 만나면 환원되어 항산화 능력을 확인하는데 널리 사용되는 물질이다. 이에, 본 실시예에서는 DPPH를 이용하여 노팔 뿌리 에탄올 추출물과 분획물, 물추출물의 자유 라디칼 소거 효과를 평가하여 항산화 효과를 평가하였다.

[0050] 노팔 뿌리 에탄올 추출물과 각 분획물들을 DMSO(dimethyl sulfoxide)을 이용하여 희석하고, 물추출물은 증류수로 희석하여 준비하였다. 이와 같이 준비된 시료와 0.2mM DPPH 1 mL씩 균일하게 혼합한 다음, 실온에서 30분간 방치 한 후, 517㎚에서 흡광도를 측정하였다.

[0051] 각 분획의 억제능은 양성대조군에 비하여 감소된 흡광도로부터 라디칼 소거율을 계산하였다.

[0052] 계산식 1(라디칼 소거율(%))={1-(Control/Sample)}*100.

[0053] (control: 시료를 넣지 않은 상태로, DPPH와 용매만 있는 상태)

[0054] 이때 활성비교를 위하여 양성대조군으로는 항산화효과가 있다고 알려진 아스코르브산 (Showa Chemicals Inc., Japan) 를 사용하였고 이를 상기와 같은 방법으로 처리하여 DPPH소거능을 측정하여 결과를 기재하였다. 그리고 DPPH 자유 라디칼을 50% 억제하는데 요구되는 함량(IC_{50})과 비교하였고, 시료를 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

[0055] 상기 얻어진 결과를 도 4 및 표 1에 나타내었다.

[0056] 도 4는 각 추출물과 분획물의 노팔 뿌리의 에탄올 추출물, 물 추출물, 및 분획물들을 가지고 항산화 효과를 알아보기 위하여, 억제율을 측정한 결과이다. 도 4에 나타낸 바와 같이, 식품에 항산화제로 사용되고 있는 아스코르브산(ascorbic acid, Showa Chemicals Inc., Japan)는 20 μg/mL에서 92%의 억제율을 갖는 반면, 노팔 뿌리 분획물들은 1 mg/mL의 농도에서 에틸아세테이트층이 83%로 가장 효과가 높았다. 메틸렌클로라이드층은 73%로 두 번째로 효과가 좋았고, n-부탄올층은 39%의 억제율을 나타내었다.

[0057] 아래의 표 1은 각 분획물의 농보별 억제율 및 IC_{50}을 나타낸 것으로, 모든 분획물에서 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있으며, IC_{50}은 에틸아세테이트층이 83.9 μg/mL, 메틸렌클로라이드층이 104.4 μg/mL, n-부탄올층이 332 μg/mL로 각각 나타났다.

[0058] 표 1. 노팔 뿌리 추출물의 메틸렌클로라이드 분획물, 에틸아세테이트 분획물 및 부탄올 분획물의 DPPH 라디칼의 소거 효과

[0059]

	농도 (μg/mL)	억제율 (%)	IC_{50} (μg/mL)[1)]
메틸렌클로라이드 분획물	50 100 200	33.30 52.80 73.12	104.4
에틸렌아세테이트 분획물	50 100 200	37.78 58.05 83.19	83.9
n-부탄올 분획물	100 300 600	24.23 48.04 78.19	332
아스코르브산[2)]	2 10 20	7.34 51.71 92.21	10.6

[0060] [1)] IC_{50}값은 DPPH 라디칼의 50% 억제를 보이는 농도를 나타내는 것으로, %억제율 vs. 3 가지 농도의 로그곡선에서 최소제곱 회귀 방정식(least-square regression equation)으로 계산된 값이다.

[0061] [2)] 대조 물질(통상적인 DPPH 라디칼 소거제).

[0062] 표 1 및 도 4에서 확인되는 바와 같이, TLC법에 의한 DPPH 소거 효과 시험에서와 유사하게, DPPH를 이용한 항산화 효과 시험에서도 노팔 뿌리 분획물 중 에틸아세테이트층(EtOAc)과 메틸렌클로라이드층(MC)이 산화를 억제하는 능력이 우수한 것으로 확인되었다.

[0063] **실시예 4. 최종당화산물(AGEs)의 억제 효과 시험**

[0064] 본 실시예에서는 당뇨합병증의 치료 효과를 시험하기 위하여, 메틸글리옥살을 이용한 24시간 단기 검색법으로 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 최종당화산물(AGEs) 억제 효과를 Blank와 대조군을 기준으로 형광의 증가 정도를 측정하였다.

[0065] BSA(5mg/mL)와 메틸글리옥살(2mg/mL)에 DMSO(dimethyl sulfoxide)로 녹인 노팔 뿌리 추출물 및 분획물 시료(11 mg/mL)를 넣고 50 mM 포스페이트 버퍼(pH 7.4)를 사용하여 총 부피를 5 mL로 맞추었다. 여기에, 항 박테리아제로 0.02% 소듐 아지드(sodium azide, Sigma, USA)를 첨가한 뒤 37℃에서 24시간동안 반응 시켰다. spectrofluorometer(Fluoroskan Ascent FL, Thermo Scientific, USA)를 이용하여 반응 전후의 시료의 흡광도(Excitation: 355 nm, Emission: 460 nm)를 측정하였다. 형광의 억제율은 최종당화산물에 억제효과가 있다고 알려진 표준물질로 아미노구아니딘 (aminoguanidine, Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA))을 사용하여 위와 같은 방법으로 대조군의 흡광도 증가값을 기준으로 시료의 흡광도 증가값을 비교하여 계산하였다.

[0066] 흡광도의 억제율은 대조군의 발광도 증가값을 기준으로 시료의 발광도 증가값을 비교하여 계산하였다.

[0067] 계산식 2(억제율(%))={1-(S_1-S_0)/(C_1-C_0)}*100

[0068] (S_0: sample 0hr 발광도 반응값, S_1: sample 24hr 발광도 반응값, C_0: control 0hr 발광도 반응값, C_1: control 24hr 발광도 반응값)

[0069] (control: 약물을 넣지 않은 상태에서 BSA(5mg/mL)와 메틸글리옥살(2mg/mL)에 DMSO(dimethyl sulfoxide)만 넣은 상태)

[0070] 또한, 최종당화산물에 억제효과가 있다고 알려진 표준물질로 아미노구아니딘(aminoguanidine, Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA))을 사용하여 위와 같은 방법으로 형광억제율을 비교하였다.

[0071] 50% 흡광도의 감소를 나타내는 시료의 농도 (IC_{50})으로 표시하였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다.

[0072] 상기 얻어진 결과를 도 5 및 표 2에 나타내었다. 도 5는 노팔 뿌리 추출물 및 분획물 AGEs의 형성에 대한 저해 효과를 보여주는 것으로, 노팔 뿌리의 메틸렌클로라이드 분획물(MC)은 1 mg/mL의 농도에서 190%로 가장 형광 억제 효과를 나타냈으며, 이는 기존에 AGEs의 대표적인 억제물질인로 알려진 대조 물질 아미노구아니딘(AG)보다도 높은 효과이다. 이 외에도, 에틸아세테이트 분획물(EtOAc)은 61%의 우수한 억제율을 나타내었다. 또한, 표 2는 상기 도 5에서 효과가 우수하게 나타난 메틸렌클로라이드 분획물과 에틸아세테이트 분획물의 농도별 억제율과 IC_{50}값을 나타낸 것이다.

[0073] 표 2에서 알 수 있는 바와 같이, 두 분획물 모두 우수한 억제율과 IC_{50}값을 나타내며, 특히 메틸렌클로라이드 분획물은 2.7 μg/mL의 농도에서 50%의 억제율을 갖는 것으로 나타나(IC_{50}값: 2.7 μg/mL), 대조 물질인 아미노구아니딘의 IC_{50}값 3.6 μg/mL보다 더욱 효과가 높은 것으로 나타났다.

[0074] 표 2. 노팔 뿌리 분획물의 AGEs 형성에 대한 억제 효과

[0075]

	Concentration (μg/mL)	Inhibition (%)	IC_{50} (μg/mL)[1)]
메틸렌클로라이드 분획물	1 2 22	15.4 22.1 190.6	2.7
에틸아세테이트 분획물	11 22 32	43.9 63.6 74	6.8
아미노구아니딘[2)]	6 11 22	42 68.2 92.8	3.6

[0076] [1)]IC_{50}값은 AGEs 생성의 50% 억제를 보이는 농도를 나타내는 것으로, %억제율 vs. 3 가지 농도의 로그 곡선에서 최소제곱 회귀 방정식(least-square regression equation)으로 계산된 값이다.

[0077] [2)]대조 물질(통상적인 AGEs 생성 억제제).

[0078] **실시예 5. 알도오스 환원효소(Aldose reductase) 억제 효능 시험**

[0079] 본 실시예에서는 당뇨합병증 치료 효과를 입증하기 위하여, 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 알도오스 환원효소 활성 억제능을 시험하였다.

[0080] 무게가 200g이 넘는 래트(Sprague-Dawly(SD) rats; 수컷, 12주령, 250~280g)의 수정체(lens)를 적출하여 그 안의 수정체의 습중량에 따라 0.05M의 소듐 버퍼(pH 6.8)를 수정체 1개당 250 μL을 넣어 얼음 안에서 균질화시켰다. 이를 4℃, 7500rpm에서 30분간 원심분리(centrifuge UNION 55 R Hanil, Korea) 후, 그 상등액을 취하여 알도오스 환원효소 시험의 효소원으로 사용하였다.

[0081] 알도오스 환원효소(Aldose reductase) 활성 억제능은 Haymanh와 Kinoshita가 사용한 방법을 변형하여 실험을 수행하였다(Hayman S, Kinoshita JH. 1965. Isolation and properties of lens aldose reductase. J. Biol. Chem. 240(2): 877-882). 530 μL의 0.05M 포타슘 포스페이트 버퍼(pH 7.0)에 상기 준비한 효소원 160 μL와 1.6mM NADPH 100 μL, 시료 (실시예 1에서 얻어진 노팔 뿌리 추출물 또는 분획물, 1mg/mL) 10 μL를 넣어주고, 마지막으로 0.1M DL-글리세르알데하이드 100 μL를 넣어주었다. 큐벳 내부에서 4.4분동안 반응시켜 340nm에서 NADPH 흡광도의 감소율을 측정하였다. 반응은 큐벳내부에서 4.4분동안 반응시켜 0s와 280s의 흡광값으로 sample의 흡광도값을 계산하였다.

[0082] 계산식 3={0s에서의 흡광도 값-280s에서의 흡광도값)/반응시킨 시간}

[0083] 상기 계산식 3에서 얻어진 흡광도 값을 이용하여 아래의 계산식으로 억제율을 구하였다.

[0084] 계산식 4={(control-sample)/(control-blank)}*100

[0085] (control: 약물을 넣지 않은 상태에서 효소와 기질을 넣은 것,

[0086] blank: 기질을 뺀 나머지를 모두 넣은 상태)

[0087] 또한 알도오스 환원효소 억제효과가 있다고 알려진 대조 물질로 퀘르세틴 (Quercetin, Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA))을 사용하여 상기와 같은 방법으로 처리하여 흡광도의 감소율을 측정하여 분획물들과 비교하였다.

[0088] 50% 흡광도의 감소를 나타내는 시료의 농도 (IC_{50})으로 표시하였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다.

[0089] 상기 얻어진 결과를 도 6에 나타내었다. 도 6에 나타낸 바와 같이, 노팔 뿌리의 에틸아세테이트 분획물(EtOA

c)의 1 μg/mL에서의 억제율이 81%로, 노팔 부리 추출물 및 분획물 중에서 가장 높은 억제율을 나타냈으며, 메틸렌클로라이드 분획물(MC) 50%, 헥산 분획물(Hex) 43% 순이었다. 대조 물질인 퀘르세틴(Q) 은 96%의 억제율을 나타내어, 노팔 뿌리의 에틸아세테이트 분획물이 대조 물질과 유사한 수준의 억제활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0090] **실시예 6. α-글루코시데이즈 활성 억제능 시험**

[0091] 본 실시예에서는 당류가 단당류로 분해되는 경로의 억제능을 알아볼 수 있는 에세이로 Watanabe 등의 방법(Watanabe H, Kobavashi A, Yamamoto T, Suzuki S, Hayashi H, Yamazaki N. 1990. Alterations of human erythrocyte membrane fluidity by oxygen-derived free radicals and calcium. Free Radic Biol Med. 8(6): 507-514)에 따라 α-글루코시데이즈 활성 억제능을 측정하여, α-글루코시데이즈에 대한 활성 억제능을 시험하였다.

[0092] 본 실험에서 사용한 시료는 상기 실시예1에서 얻어진 노팔 뿌릴 추출물 및 분획물을 DMSO에 1 mg/mL 농도로 녹여서 사용하였다. PBS에 2 g/L BSA(bovine serum albumin), 0.2 g/L NaN_3를 용해시킨 다음, 2.1 Unit의 효모 α-글루코시데이즈(Sigma,USA) 0.024 g/L을 용해시켜 효소 용액을 만들고, 상기 효소용액 2 mL에 시료 400 μL를 첨가한 후, 1.2 mL를 취하여 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0093] 25℃에서 10분간 water bath incubation하고 4-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (Sigma, USA)를 PBS에 0.55mM 농도로 용해하여 만든 기질용액 1 mL를 첨가하고 25℃에서 10분간 water bath incubation한 후, 반응 종결을 위해 증류수에 0.1M 농도로 용해하여 만든 반응 정지시약 $NaCO_3$ 1.6 mL를 첨가하고 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성대조군으로 DMSO를 사용하였고 양성대조군으로 기존에 α-글루코시데이즈 억제제로 알려진 아카보오스(acarbose, Sigma, USA)를 상기와 같은 방법으로 사용하였다.

[0094] 50% 흡광도의 감소를 나타내는 시료의 농도 (IC_{50})으로 표시하였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다.

[0095] 상기 얻어진 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 α-글루코시데이즈 에 대한 저해 활성 결과를 노팔 줄기 추출물과 비교하여 도 7 에 나타내었다. 노팔 줄기 추출물은 노팔의 줄기를 이용하여 실시예 1과 동일한 방법으로 얻었다.

[0096] 도 7에 나타낸 바와 같이, 노팔 뿌리 추출물 및 분획물은 노팔 줄기의 추출물과 비교하여 우수한 α-글루코시데이즈 저해 활성을 나타내었다. 또한, 노팔 뿌리의 각 추출물 및 분획물의 1 mg/mL에서의 α-글루코시데이즈 저해 활성은 헥산 분획물(Hex) 76%, 메틸렌클로라이드 분획물(MC) 68%, 에틸아세테이트 분획물(EtOAc) 67% 순으로, 비교적 높은 저해 활성을 나타내었으며, 이는 대조 물질로 사용된 아카보오스보다도 높은 값이다.

[0097] 또한, 상기 도 7에서 효과가 우수한 것으로 나타난 헥산 분획물, 에틸아세테이트 분획물 및 메틸렌클로라이드 분획물의 IC_{50} 값을 측정하여 표 3에 나타내었다. 표 3에서 알 수 있는 바와 같이, IC_{50}에 있어서도 헥산 분획물(Hex), 에틸아세테이트 분획물(EtOAc), 및 메틸렌클로라이드 분획물(MC)이 각각 5.2, 6.3, 7.9 μg/mL순으로 나타났으며, 이는 양성 대조군으로 사용한 아카보오스 56.2 μg/mL보다 우수한 수치이다.

[0098] 표 3. 노팔 뿌리 분획물의 α-글루코시데이즈 활성 억제 효과

[0099]

	Concentration (μg/mL)	Inhibition (%)	IC_{50} (μg/mL) 1)
헥산 분획물	5.26 10.53 15.79	50.3 76.9 103.3	5.2
메틸렌클로라이드 분획물	5.26 10.53 15.79	30.1 64.4 82.6	7.9
에틸아세테이트 분획물	5.26 10.53 15.79	44.2 65.9 72.3	6.3

아카보오스[2)]	10.53 31.58 42.11	22.2 40.3 45.3	56.2

[0100] [1)] IC_{50}값은 α-글루코시데이즈 활성의 50% 억제를 보이는 농도를 나타내는 것으로, %억제율 vs. 3 가지 농도의 로그곡선에서 최소제곱 회귀 방정식(least-square regression equation)으로 계산된 값이다.

[0101] [2)] 대조 물질 (통상적인 α-글루코시데이즈 저해제).

[0102] 상기 도 7 및 표 3에 나타낸 바와 같이, 아카보오스가 효모 α-글루코시데이즈에 대한 억제효과가 미비한 것으로 나타난 반면에 노팔 뿌리 추출물 및 분획물은 강한 억제 효과가 나타남으로써, 노팔 뿌리 추출물 및 분획물은 아카보오스와 다른 기작으로 억제하는 것으로 사료되므로, 향후 억제효과가 높았던 분획층으로부터 물질분리를 하여 α-글루코이데이즈 저해활성이 높은 물질을 분리하여 사용하면, 현재 시판되는 α-글루코시데이즈 저해제의 지속적인 복용으로 인한 부작용을 예방할 수 있어 활용가치가 높을 것으로 기대된다.

[0103] **통계처리**

[0104] 모든 자료의 통계분석은 SAS 통계 프로그램(SAS institute, 1987)을 이용하여 분석하였으며, 분석결과는 실험군당 평균과 표준오차로 나타냈다. 처리군 간의 유의성은 Duncan's multiple range test로 $p<0.05$ 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

도면의 간단한 설명

[0105] 도 1은 실시예 1의 노팔(*Opuntia ficus-indica*) 뿌리 추출물 및 분획물 제조 공정을 예시적으로 보여주는 것이다.

[0106] 도 2는 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 TLC(Thin layer chromatography) 결과를 보여주는 것이다 (A: 에탄올 추출물; B: 물 추출물; C-G; 에탄올 추출물의 분획물(C: n-헥산 분획물; D: 메틸렌클로라이드 분획물; E: 에틸아세테이트 분획물; F: n-부탄올 분획물; G: 물 분획물)).

[0107] 도 3은 노팔 뿌리 추추물 및 분획물의 DPPH 라디칼 소거 효과를 보여주는 TLC 결과를 나타낸 것이다 (A: 에탄올 추출물; B: 물 추출물; C-G; 에탄올 추출물의 분획물(C: n-헥산 분획물; D: 메틸렌클로라이드 분획물; E: 에틸아세테이트 분획물; F: n-부탄올 분획물; G: 물 분획물).

[0108] 도 4는 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 DPPH 라디칼 억제율을 보여주는 그래프이다(Each bar represents the mean±SD (n=3); EtOH: 에탄올 추출물; n-Hex: n-헥산 분획물; MC: 메틸렌클로라이드 분획물; EtOAc: 에틸아세테이트 분획물; n-BuOH: n-부탄올 분획물; H_2O: 물 분획물).

[0109] 도 5는 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 최종당화산물(AGEs) 생성 억제 효과를 보여주는 그래프이다 (Each bar represents the mean±SD(n=3); Values with different letters are significantly different ($p<0.05$); AG: 아미노구아니딘; EtOH: 에탄올 추출물; n-Hex: n-헥산 분획물; MC: 메틸렌클로라이드 분획물; EtOAc: 에틸아세테이트 분획물; n-BuOH: n-부탄올 분획물; H_2O: 물 분획물).

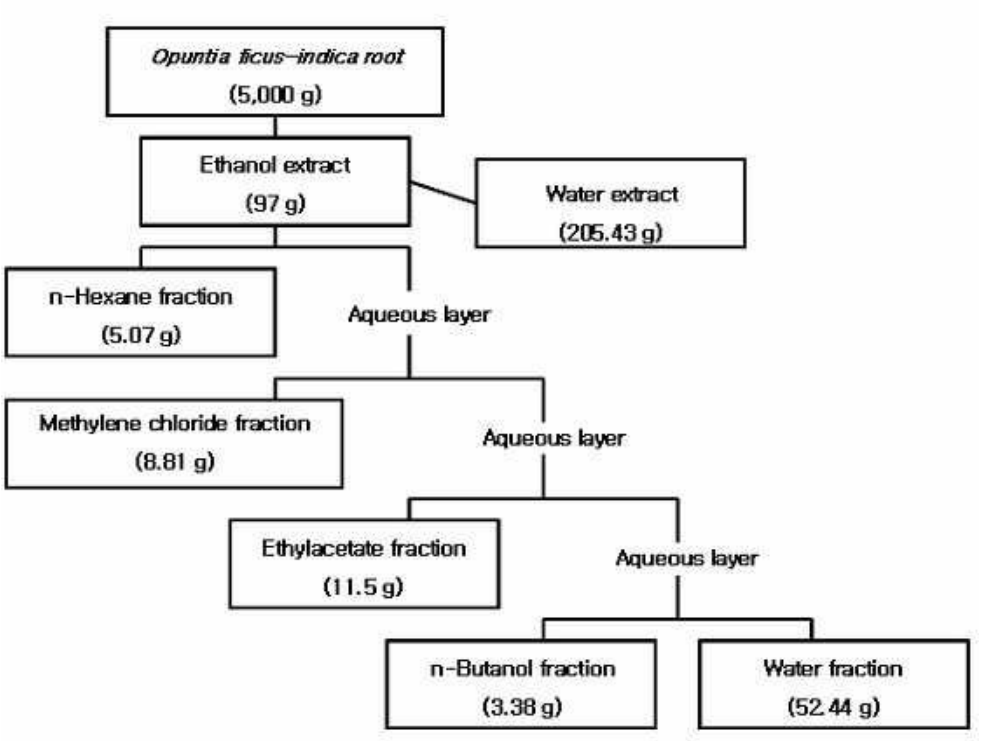
[0110] 도 6은 노팔 뿌리 추출물 및 분획물의 알도오스 환원효소 활성 저해 효과를 보여주는 그래프이다 (Each bar represents the mean±SD(n=3); Values with different letters are significantly different($p<0.05$); Q: 퀘르세틴; EtOH ex.: 에탄올 추출물; Water ex.: 물 추출물; n-Hex fr.: n-헥산 분획물; MC fr.: 메틸렌클로라이드 분획물; EtOAc fr.: 에틸아세테이트 분획물; n-BuOH fr.: n-부탄올 분획물; H_2O fr.: 물 분획물).

[0111] 도 7은 노팔 뿌리 추출물의 알파-글루코시데이즈 활성 억제 효과를 노팔 줄기 추출물과 비교하여 보여주는 그래프이다 (Each bar represents the mean±SD(n=3); Values with different letters are significantly different($p<0.05$); AC: 아카보오스; **노팔줄기** EtOH ex.: 에탄올 추출물; Water ex.: 물 추출물; **노팔뿌리** EtOH ex.: 에탄올 추출물; Water ex.: 물 추출물; n-Hex fr.: n-헥산 분획물; MC fr.: 메틸렌클로라이드 분획

물; EtOAc fr.: 에틸아세테이트 분획물; n-BuOH fr.: n-부탄올 분획물; H_2O fr.: 물 분획물).

도면

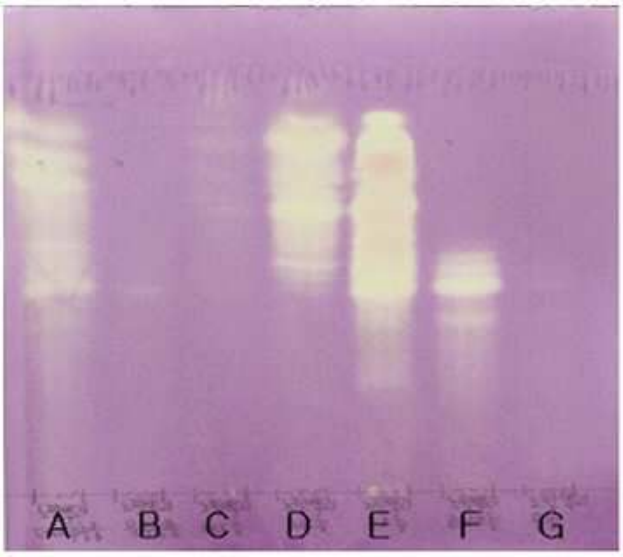
도면1



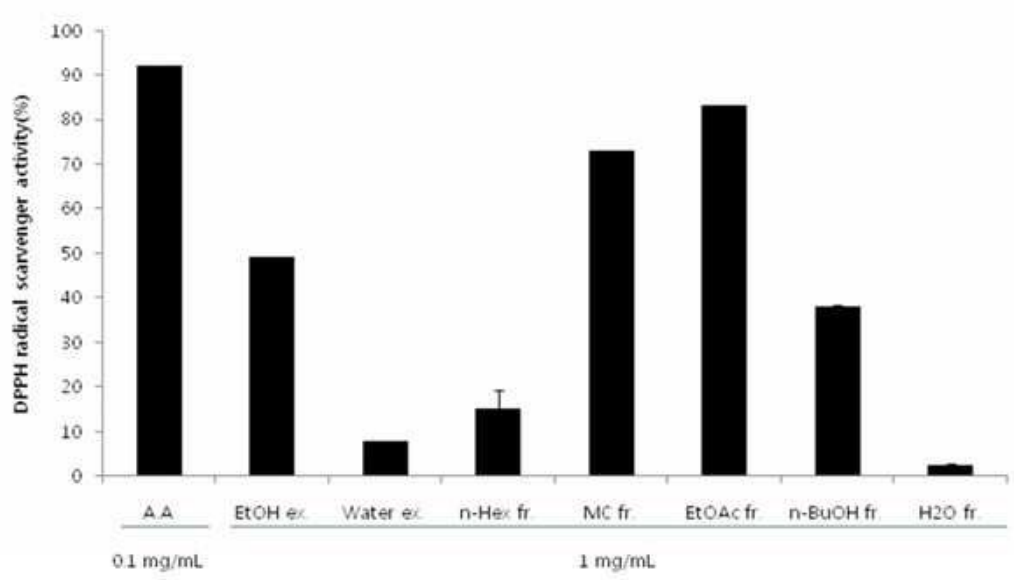
도면2



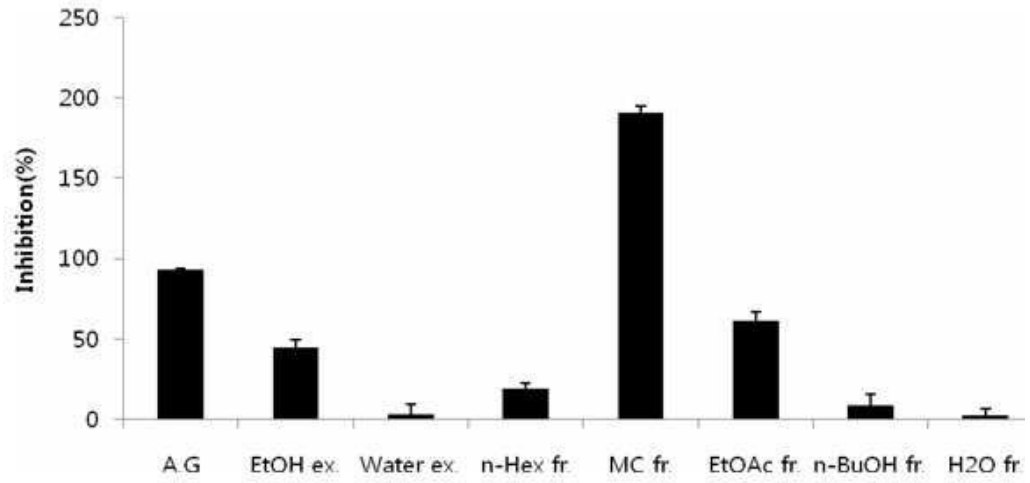
도면3


A
B
C
D
E
F
G

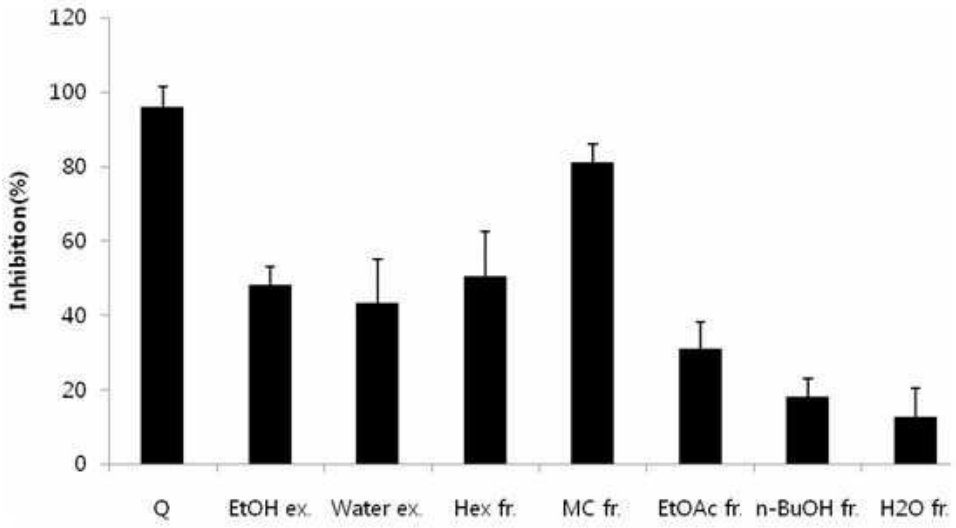
도면4


DPPH radical scarvenger activity(%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
AA
EtOH ex.
Water ex.
n-Hex fr.
MC fr.
EtOAc fr.
n-BuOH fr.
H2O fr.
0.1 mg/mL
1 mg/mL

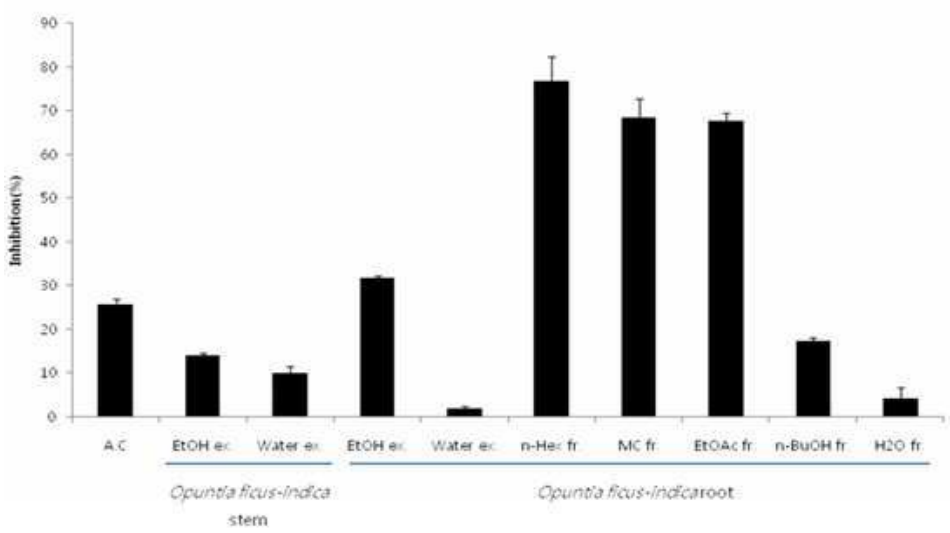
도면5


250
200
150
100
50
0
Inhibition(%)
A.G
EtOH ex.
Water ex.
n-Hex fr.
MC fr.
EtOAc fr.
n-BuOH fr.
H2O fr.

도면6


120
100
80
60
40
20
0
Inhibition(%)
Q
EtOH ex.
Water ex.
Hex fr.
MC fr.
EtOAc fr.
n-BuOH fr.
H2O fr.

도면7


Inhibition(%)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
A.C
EtOH ex
Water ex
EtOH ex
Water ex
n-Hex fr
MC fr
EtOAc fr
n-BuOH fr
H2O fr
Opuntia ficus-indica
stem
Opuntia ficus-indicaroot