



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0013040
(43) 공개일자 2010년02월09일

(51) Int. Cl.

A61K 36/36 (2006.01) A61K 36/258 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0074538

(22) 출원일자 2008년07월30일

심사청구일자 2008년12월04일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

한일인삼산업 주식회사

강원도 춘천시 퇴계동 856-3번지 퇴계농공단지내

(72) 발명자

김복용

서울특별시 강남구 삼성동 7-3 래미안 2차 아파트
107동 803호

김기용

강원도 춘천시 석사동 866 주공 5차 아파트 509동
706호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

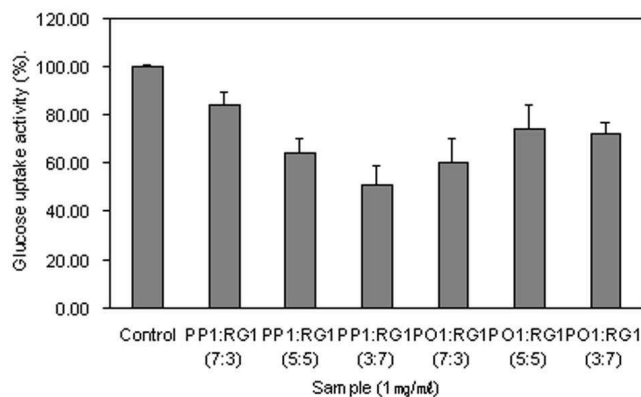
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 식류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는비만의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 식류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 장관 내에서 글루코스의 흡수와 α -글루코시다제 활성을 효과적으로 저해함으로써 글루코스의 과다 흡수로 인한 당뇨병 또는 비만을 예방 또는 치료한다. 따라서 본 발명의 조성물은 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료를 위한 기능성 식품 또는 의약 조성물로 활용될 수 있다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

박명한

서울특별시 양천구 신정동 888-46

윤정애

강원도 춘천시 퇴계동 중앙하이츠빌1단지 101동
301호

류왕균

강원도 춘천시 남면 가정리 873번지

조홍연

서울특별시 성북구 돈암1동 동부센트레빌아파트
103동 1002호

특허청구의 범위

청구항 1

석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 석류 추출물은 상기 석류 추출물은 석류의 꽃, 내피, 외피, 과육, 씨, 전체 과실 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상을 추출한 것인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 석류 추출물은 물을 추출용매로 이용하여 추출된 것인 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 홍삼 추출물은 물을 추출용매로 이용하여 추출된 것인 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 석류 추출물은 석류의 전체 과실 또는 외피의 물 추출물이고, 홍삼 추출물은 홍삼의 물 추출물인 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 석류 추출물은 홍삼 추출물에 대해 7:3 내지 3:7의 비율로 포함되는 것인 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 석류 추출물은 홍삼 추출물에 대해 5:5의 비율로 포함되는 것인 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 조성물은 상엽 추출물, 산죽 추출물, 아미노산, 비타민, 미네랄, 감미제 및 식이섬유로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 성분을 추가로 포함하는 것인 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 조성물은 식품 조성물인 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 식품 조성물은 드링크인 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 드링크는 1% 초과 2% 미만의 농도를 갖는 홍삼 추출액 및 석류 추출물을 포함하는 것인 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 드링크는 1% 초과 2% 미만의 농도를 갖는 상엽 추출액 및 산죽 추출물을 포함하는 것인 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 드링크는 15% 내지 25%의 농도를 갖는 감미제를 포함하는 것인 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 현대에 있어서 경제적 발전으로 인한 식생활의 서구화 및 생활의 편의에 따른 활동량의 감소와 체중의 증가 그리고 사회의 복잡성 등으로 질병의 양상이 크게 변화하고 있다. 과거와는 달리 동맥경화, 고혈압, 암 비만 및 당뇨병 등의 만성 퇴행성 질환이 주요 사망원인으로 나타났다. 이들 만성퇴행성 질환 중에 특히 당뇨병은 비만과 함께 그 환자수가 빠른 속도로 증가할 뿐만 아니라 그 유병 연령이 점차 낮아지고 있어 더욱더 그 심각성이 대두되고 있다. 당뇨병은 암 및 순환기계 질환과 더불어 3대 질병의 하나로 지목되고 있다. 우리나라에서 1970년에 약 1% 미만으로 추정되었으나 현재 당뇨병 유병률은 10%이상이며, 또 다른 10%의 인구가 당뇨병에 걸릴 위험군인 것으로 보고되었다. 또한 국내 10대 사망원인에 대한 보고서에 따르면 93년도에 10만 명당 16.3명이었던 당뇨병에 의한 사망률이 2003년에는 25명으로 전체 사망원인 중에 4위로 나타났다. 따라서 당뇨병에 관련된 문제는 더 이상 개인의 문제일 뿐만 아니라 사회·경제적으로 미치는 영향이 크므로, 그 예방과 관리에 대해 세심한 배려가 필요하다. 당뇨병을 잘 관리하지 않을 경우 환자에 있어서 지속적인 고혈당으로 혈관장애 및 대사 부전 등으로 말초혈관 질환, 관상동맥 질환, 동맥경화 등의 합병증을 동반한다. 따라서 당뇨병 치료의 궁극적인 목표는 식사요법, 운동요법과 함께 약물요법을 통한 정상 혈당유지와 정상적인 생활의 영위 그리고 심각하고 고질적인 합병증을 예방하는 것이다.

[0003] 당뇨병은 인슐린의존성당뇨(IDDM, 인슐린-dependent diabetes mellitus)와 인슐린비의존성당뇨(NIDDM, non-인슐린-dependent diabetes mellitus)로 구분되며 선진국에서는 NIDDM이 크게 증가하고 있다. 이 NIDDM은 에너지의 과잉섭취와 운동부족 등의 외부환경인자에 영향을 받고 있으며 실제로 이들 외부인자는 비만과도 관련되어 NIDDM 환자 중 여성의 70%와 남성의 50%가 비만으로 나타나 있다. 비만은 인슐린 저항성을 유도하기 때문에 비만치료를 사용되고 있는 식사제한, 과열당개선, 적절한 에너지 유지 및 흡수저해, 발열촉진 등이 NIDDM의 치료에 효과적인 것으로 보고되고 있으나 실제 당뇨환자들에 있어 칼로리섭취와 식사량을 제한하는 일은 쉬운 일이 아니다. 식이 탄수화물의 소장내 흡수는 아밀라제와 글루코시다제에 의해 소화되어 포도당으로 분해된 후 소장 상피세포에서 흡수, 수송된다. 이 수송에 관여하는 운반체는 GLUT(sodium-independent 글루코스 transporters) 계열과 SGLT(sodium-dependent 글루코스 transporters) 계열로 대별되며, 포도당은 SGLT1의 작용에 의해 소장 내에서 흡수된다. SGLT1은 소장내 가장 함량이 높은 포도당운반체로서 상피세포의 BBMV(brush border membrane vesicle)에 존재하기 때문에 포도당 과다 흡수에 의한 비만과 당뇨의 예방용 소재개발에 있어 주목을 받아온 운반체 중의 하나이다.

[0004] 따라서 SGLT1의 생합성 억제 또는 활성저해에 의한 비만, 당뇨의 예방 및 치료제 개발 전략은 기존의 전분가수 분해효소 저해제에 의한 방법에 비해 음식물의 섭취량과 종류에 관계없이 포도당의 흡수를 직접적으로 제어할 수 있다는 관점에서 유효성이 높다. 이들 중 GLUT는 글루코스의 흡수 연구와 인슐린 작용에 연관되어 있고 특히 GLUT1과 3은 기저막에 존재하여 글루코스의 흡수에 관계한다. 이들 운반자를 저해하는 물질에 대한 연구가 플라보노이드계 물질을 중심으로 진행되고 있으나 저해효과만을 확인하였을 뿐 저해 기작은 아직 밝혀지지 않은 상태이다. 최근 플라보노이드류 퀘세틴(quercetin)의 글루코스 흡수 저해효과가 밝혀지면서 식·약용 생물자원에 도 저해활성 성분이 함유되어 있을 것으로 예상되며, 이 성분들을 소재화하여 장에서의 글루코스 흡수를 낮출 수 있다면 비만에 의해 촉매되는 당뇨 등 성인병에 있어 다이어트의 스트레스를 덜어 줄 수 있는 최선의 방안이라 하겠다.

[0005] 글루코스 흡수에 관한 연구는 주로 GLUT, SGLT 등의 글루코스 운반자 중심으로 이루어져 왔고, 비만, 당뇨 관련 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. Ellwood 등은 Caco-2 세포를 통한 단당류의 흡수와 이용을 연구했고(Ellwood K. C. et al. 1993), Bissonnette 등은 세가지 단당류의 흡수와 글루코스 운반자의 관계를 역시 Caco-2 세포에서 관찰하였다. Caco-2 세포주는 인간의 대장암 세포로부터 분리, 개발시킨 세포주로 연속된 분화 상태와 형태가 소장의 소화·흡수 시스템을 잘 나타내고 있어 미네랄을 비롯한 영양물질의 흡수나 운반의 기전을 표현할 수 있는 모델로 널리 사용되어 왔다. 최근에는 플라보노이드의 글루코스 흡수의 저해효과를 U937 세포에서 밝힌 바 있으며, 천연물 소재와 글루코스 관련 연구로는 ginseng radix에 의한 글루코스의 흡수 저해가 있다. 그 밖에 Stumpel 등에 의해 장에서의 글루코스 흡수와 간 관련 연구도 보고되어 있으나 주로 기전적인 연구들로 실용적인 측면에서의 연구개발이 요구되고 있다. Caco-2 세포주는 주로 금속과 지질의 흡수 연구에 이용

되어 왔고 최근에 이르러 SGLT1이 밝혀짐에 따라 BBMV(brush border membrane vesicles)와 함께 포도당 흡수기작의 규명에 사용되었다. 그러나 Caco-2를 이용한 소장내 포도당 흡수저해물질에 관한 연구는 녹차 추출물인 T-1095 물질의 스트렙토조토신(streptozotocin) 유도 당뇨병의 과혈당 개선효과, 녹차 카테킨에 의한 소장 포도당의 수송조절, 녹차 폴리페놀의 경쟁적 Na 의존성 포도당 수송저해 등이 보고되어 있을 뿐 소장에서 포도당 흡수저해제의 개발에 관한 연구는 미미하다.

[0006] 석류(*Punica granatum*)는 지중해 연안과 서남아시아 지방에서 일찍이 재배하기 시작한 과수로 우리나라에는 중국을 거쳐 3세기말 이후에 들어왔으며 현재는 주로 중국 (서안), 미국 (캘리포니아), 인도 등에서 대량으로 50종 이상이 재배되고 있다. 석류열매의 성분은 주로 탄닌(10.4~21.3%), 갈산(4.0%), 만니톨(8.0%), 수크로즈(2.7%), 펙틴(0.6%)과 소량의 말산 등으로 구성되어 있다.

[0007] 석류 추출물이 장관 내에서 글루코스의 흡수와 α -글루코시다제 저해활성을 갖는다는 것에 대해서는 대한민국 공개특허공보 10-2004-0095067호에서 개시한 바 있다.

[0008] 본 발명자들은 이러한 석류 추출물의 활성을 증강시켜 줄 방법에 대해 연구한 결과, 석류 추출물을 홍삼 추출물과 혼합하여 사용할 경우 당뇨병 및 비만의 예방 또는 치료에 있어 상승, 상호보완 효과를 가진다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0009] 본 발명은 장관 내에서 글루코스의 흡수와 α -글루코시다제 활성을 저해함으로써 당뇨병 또는 비만을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 조성물을 제공하고자 한다.

과제 해결수단

[0010] 본 발명은 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

효 과

[0011] 본 발명의 조성물은 장관 내에서 글루코스의 흡수와 α -글루코시다제 활성을 효과적으로 저해함으로써 글루코스의 과다 흡수로 인한 당뇨병 또는 비만을 예방 또는 치료한다. 따라서 본 발명의 조성물은 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료를 위한 기능성 식품 또는 의약 조성물로 활용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0012] 본 발명은 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명에 있어서, 상기 석류 추출물은 석류의 꽃, 내피, 외피, 과육, 씨, 전체 과실 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상을 추출한 것일 수 있다. 본 발명에 따르면 특히, 석류의 전체 과실 또는 외피의 추출물이 글루코스의 흡수와 α -글루코시다제 활성을 효과적으로 저해할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서 상기 석류 추출물은 바람직하게는 석류의 전체 과실, 외피 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 것의 추출물일 수 있다.

[0014] 상기 석류 추출물은 석류를 물 또는 알코올과 같은 유기용매를 추출 용매로 이용하여 추출할 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 석류 추출물은 물을 추출용매로 이용하여 추출된 것일 수 있다.

[0015] 본 발명에 있어서, 홍삼 추출물은 수삼을 이용하여 직접 제조한 홍삼 또는 시판되고 있는 홍삼을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 홍삼 추출물은 물 또는 알코올과 같은 유기용매를 추출 용매로 이용하여 추출할 수 있다.

[0016] 석류 추출물 또는 홍삼 추출물은 각각을 따로 제조하거나 석류 및 홍삼을 동일한 추출용매를 이용하여 석류 및 홍삼 혼합물의 추출물로서 제조할 수 있다.

[0017] 이에 제한되는 것은 아니나, 본 발명에서 추출은 석류 또는 홍삼의 5배 내지 20배의 중량의 추출용매를 넣고 70℃ 내지 120℃의 온도로 2시간 내지 6시간 동안 가열함으로써 수행할 수 있으며, 이러한 추출을 1회 내지 수회 반복하여 수행할 수 있다. 추출된 시료는 원심분리 후 상당액을 여과지로 여과하여 사용할 수 있다.

[0018] 바람직한 구체예에서, 본 발명의 조성물은 석류의 전체 과실 또는 외피의 물추출물 및 홍삼의 물 추출물을 포함

한다. 이 때, 상기 석류 추출물은 홍삼 추출물에 대해 7:3 내지 3:7의 비율로 포함되는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는 상기 석류 추출물은 홍삼 추출물에 대해 5:5의 비율로 포함될 수 있다. 이러한 비율로 혼합될 때 글루코스의 흡수와 α -글루코시다제를 저해하는 효과가 상승, 보완된다.

- [0019] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 본 발명의 조성물은 글루코스의 흡수와 α -글루코시다제 활성을 효과적으로 저해한다.
- [0020] 또한 상기 조성물은 상업 추출물 및 산죽 추출물로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 성분을 추가로 포함할 수 있다.
- [0021] 상업 추출물 또는 산죽 추출물은 당뇨병 또는 비만을 예방 또는 치료할 수 있는 것으로 알려져 있는 성분이다. 따라서 이들 성분을 추가로 포함하는 경우 본 조성물의 효과를 더욱 증진시킬 수 있게 된다.
- [0022] 상기 조성물은 본 발명의 석류 추출물 및 홍삼 추출물뿐만 아니라 기존에 공지된 당뇨병 치료제 또는 비만 치료제와 함께 사용될 수 있다.
- [0023] 본 발명에 있어서, 상기 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료를 위한 조성물은 약제학적 조성물 또는 식품 조성물일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 유효 성분으로 함유하는 약제학적 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [0025] 본 발명의 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 유효 성분으로 함유하는 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 유효 성분으로 함유하는 조성물의 약제 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다.
- [0027] 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.
- [0028] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 향산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.
- [0029] 또한, 본 발명은 상기 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료를 위한 식품 조성물을 제공한다.
- [0030] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약제학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 드링크와 같은 음료수, 티 타입의 과립, 스틱 타입의 다이어트 바, 츄어블 정제 타입의 비타민제, 캔디, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.
- [0031] 본 발명의 조성물이 식품 조성물로 이용될 때, 본 발명의 조성물은 아미노산, 비타민, 미네랄, 감미제 및 식이 섬유로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 이들 성분은 상기 식품 조성물의 맛과 영양을 향상시킬 수 있다.

- [0032] 본 발명의 한 구체예에서는 상기 식품 조성물이 드링크일 수 있다. 본 발명의 조성물이 드링크로서 적용되는 경우, 상기 드링크는 1% 초과 2% 미만의 농도를 갖는 홍삼 추출액 및 석류 추출물을 포함할 수 있다. 추출물의 농도가 1% 이하인 경우에는 석류 또는 홍삼의 맛과 향미를 느낄 수 없고, 추출물의 농도가 2% 이상인 경우에는 석류의 짙은 맛과 신맛, 또는 홍삼의 쓴 맛이 강하게 느껴져 음료로 만들기에 부적합하다. 상기 드링크는 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료 효과를 증강시키기 위해 1% 초과 2% 미만의 농도를 갖는 상업 추출액 및 산죽 추출물을 추가로 포함할 수 있다. 또한, 단 맛을 내기 위해 15% 내지 25%의 농도를 갖는 감미제를 포함할 수 있다. 본 발명에 있어서, 감미제는 혈당을 높이지 않는 것을 사용하는 것이 바람직하다. 본 발명의 실시예에서는 저열량의 감미제인 말티톨과 고기능성 당류인 아세설팜을 사용하여 단 맛을 조절하였다.
- [0033] 본 발명은 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료용 의약 또는 식품의 제조를 위한 상기 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 유효 성분으로 함유하는 조성물의 용도를 제공한다. 상기한 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 유효 성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 당뇨병 또는 비만의 예방 또는 치료용 의약 또는 식품의 제조를 위한 용도로 이용될 수 있다.
- [0034] 또한 본 발명은 포유동물에게 치료상 유효량의 조성물을 투여하는 것을 포함하는 비만의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0035] 여기에서 사용된 용어 "포유동물"은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.
- [0036] 여기에서 사용된 용어 "치료상 유효량"은 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상의로 인해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 치료방법에 있어서, 성인의 경우, 본 발명의 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 1mg/kg~200mg/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.
- [0037] 본 발명의 치료방법에서 본 발명의 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [0039] **[실시예]**
- [0040] **제조예 1. 석류 추출물의 제조**
- [0041] 석류는 물로 깨끗이 세척 후 3% 아세트산에 10분 정도 방치하여 미생물 및 기타 이물질을 제거하였다. 석류는 꽃부위(PF), 내피(PI), 외피(PO), 과육(PG), 씨(PS), 전체 과실(PP)로 각각 분리하였으며, 분리된 석류는 가정용 믹서기로 분쇄한 후 각각 10배의 물(1), 50% 알코올(2), 70% 알코올(3), 90% 알코올(4)을 사용하여 80℃에서 4시간 1회 추출하였다. 추출된 시료는 5000rpm으로 20분간 원심분리한 후 상등액을 여과지(Advantec filter paper No. 2)로 여과하였다. 이렇게 얻어진 각각의 추출물은 65brix이상으로 감압 농축하였다.
- [0042] **제조예 2. 홍삼 추출물의 제조**
- [0043] 수삼은 물로 깨끗이 세척 후 사관에 적재하여 80℃에서 3시간, 94℃에서 4시간 동안 증삼기로 증삼한 후 열풍순환건조(65℃)로 36시간 건조하여 홍삼을 제조 하였다.
- [0044] 홍삼은 본삼 : 미삼 (7 : 3)의 비율로 섞어서 추출하였다. 1차 추출은 10배의 물(1), 50% 알코올(2), 70% 알코올(3), 90% 알코올(4)을 사용하여 80℃에서 12시간 추출 하였고 2차 추출은 추출용매를 7배로, 3차 추출도 추출용매를 7배로 하여 3회 추출하였다. 추출된 시료는 5000rpm으로 20분간 원심분리 한 후 상등액을 여과지로 여과하였다. 이렇게 얻은 추출물은 감압농축기로 반 농축한 후 동량의 끓는 물을 넣고 4℃ 냉장고에서 12시간 침

지하고 5000rpm으로 20분간 원심분리 후 상등액을 여과지(Advantec filter paper No. 2)로 여과하여 65brix 이상으로 감압농축 하였다.

[0045] 실시예 1. 석류 추출물, 홍삼 추출물 및 이들 혼합물의 글루코스 흡수 저해활성 측정

[0046] 글루코스 흡수 저해 활성은 Caco-2 세포와 2-NBDG를 이용하여 다음과 같이 측정하였다.

[0047] 각 분획물에 대한 포도당 흡수 저해 실험을 위해 Caco-2 (human colonic cancer cell)을 6×10^4 세포/웰 농도로 24 웰-플레이트, 37℃, CO₂ 인큐베이터에서 13~14일 동안 배양한 후 PBS로 2회 세척한 다음 PBS 400μl, 100 μM 2-NBDG 500μl, 샘플(1 mg/ml) 100μl를 첨가하고 37℃에서 2시간 반응시켰다. 이 반응액을 제거하고 세포를 빙냉 (ice-cold) PBS로 3회 세척한 후 2-NBDG의 형광세기를 spectrophotofluorometer(여기 : 485nm, 발광 : 535nm)로 측정하였다. 글루코스 흡수 양 측정에 미치는 세포농도의 영향을 보정해 주기 위해 MTT 분석을 다음과 같이 실시하였다. 형광세기 측정이 끝난 웰 플레이트에 MTT 용액 (5 mg/ml) 50μl를 가하여 37℃에서 3시간 반응시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료에 의한 포도당 흡수 저해활성은 아래 식에 따라 환산하였다.

[0048] **저해율 (%) = [(Fc - Fs) / Fc] × 100**

[0049] Fs : 시료를 처리한 실험구의 형광 세기

[0050] Fc : 시료를 처리하지 않은 실험구의 형광 세기

[0051] 제조예 1을 통해 얻은 석류 추출물을 1mg/ml의 농도로 이용하여 글루코스 흡수 활성을 측정하였다. 실험결과, 도 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 전체과실(PP)과 외피(PO)에서 글루코스 흡수활성이 다른 부위에 비하여 낮게 나타났다. 그 중에서도 전체과실(PP)은 그의 물 추출물(PP1)이 알코올 추출물 보다 글루코스 흡수 활성이 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 없었고, 외피(PO)는 물 추출물(PO1)이 알코올 추출물보다 글루코스 흡수 활성이 유의적으로 낮게 나타났다. 다른 부위는 대부분 대조군보다 활성이 높게 나타났으며 그 중 씨(PS)의 경우 약 80% 정도의 글루코스 흡수 활성이 나타났으며 물 추출물이 알코올 추출물 보다 글루코스 흡수 활성이 낮은 것으로 나타났다. 실험결과를 미루어 짐작해보면, 글루코스 흡수 저해 활성 물질은 물에 녹는 수용성 물질로 판단되며 석류외피(PO)에 많이 분포하고 있는 것으로 보여진다.

[0052] 제조예 2를 통해 얻은 홍삼 추출물을 1mg/ml의 농도로 이용하여 글루코스 흡수 활성을 측정하였다. 실험 결과, 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 홍삼은 물 추출물(RG1)에서 가장 글루코스 흡수 활성이 약 72%정도로 다른 추출물에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다.

[0053] 위 실험 결과, 석류 전체 과실의 물 추출물(PP1), 석류 외피의 물 추출물(PO1)과 홍삼 물추출물(RG1)을 처리할 때 글루코스 흡수 활성이 특히 낮아지는 것을 확인하였다.

[0054] 석류 추출물과 홍삼 추출물을 함께 사용할 때 글루코스 흡수 활성을 저해하는 상승 효과가 나타나는지, 글루코스 흡수 활성을 저해하는 효과가 좋은 배합 비율을 무엇인지 알아보고자 하였다.

[0055] 먼저, 석류 전체 과실의 물 추출물(PP1)과 석류 외피의 물 추출물(PO1)을 홍삼 물추출물(RG1)과 각각 (7 : 3), (5 : 5), (3 : 7)의 비율로 혼합하여 실험을 진행하였다. 1mg/ml의 농도의 시료를 이용하여 글루코스 흡수 활성을 측정하였다. 실험결과, 도 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 석류 전체 과실의 물 추출물(PP1)과 홍삼 물추출물(RG1)의 혼합물의 글루코스 흡수 활성은 PP1 : RG1 (3 : 7)에서는 $51 \pm 7.64\%$, PP1 : PG1 (5 : 5)는 $63 \pm 6.48\%$, PP1 : RG1 (7 : 3)은 $83 \pm 5.46\%$ 정도의 활성을 보여준다. 한편, 석류 외피의 물 추출물(PO1)과 홍삼 물추출물(RG1)의 혼합물의 글루코스 흡수 활성은 PO1 : RG1 (3 : 7)은 72 ± 4.64 , PO1 : RG1 (5 : 5)는 73 ± 9.69 , PO1 : RG1 (7 : 3)은 60 ± 10.12 으로 나타났다.

[0056] 실험 결과, 석류 전체 과실의 물 추출물(PP1)과 홍삼 물 추출물(RG1)을 3:7의 비율로 혼합했을 때 글루코스 흡수 활성이 가장 낮아짐을 확인할 수 있었다. 그러나 PP1 : RG1 (5:5)와 PO1 : RG1 (7:3)의 비율로 혼합하였을 때와 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 글루코스 흡수활성만을 가지고 석류와 홍삼의 혼합 비율을 정한다면 PP1 : RG1 (3:7), PP1 : RG1 (5:5), PO1 : RG1 (7:3)의 비율로 하였을 때 가장 적합할 것으로 판단된다.

[0057] 실시예 2. 석류 추출물, 홍삼 추출물 및 이들 혼합물의 α-글루코시다제 저해활성 측정

[0058] α-글루코시다제 저해 활성은 기질인 PNP-글리코사이드와 α-글루코시다제를 이용하여 측정하였다. 각 분획물에 대한 실험을 위해 증류수 750 ul, KPB 50 ul, α-글루코시다제 50 ul, 샘플 (1 mg/ml) 100 ul로 구성된 반응액을 실온에서 1분간 반응시켰다. 이 반응액에 다시 PNP-글리코사이드 50 ul 첨가하여 4분 후의 흡광도를

spectrophotometer(405nm)로 측정하였다

[0059] **저해 효과 (%) = [(Cc - Cs) / Cc] × 100**

[0060] Cs : 시료를 처리한 실험구의 흡광도

[0061] Cc : 시료를 처리하지 않은 실험구의 흡광도

[0062] 제조예 1을 통해 얻은 석류 추출물을 이용하여 α-글루코시다제 활성을 측정하였다. 전체 과실(PP), 외피(PO), 과육(PG)은 1mg/ml의 농도를 실험에 사용하였고, 내피(PI), 씨(PS), 꽃 부위(PF)는 0.1mg/ml로 10배 희석하여 실험을 진행하였다. 농도를 달리한 이유는 내피(PI), 씨(PS), 꽃 부위(PF)의 경우는 α-글루코시다제 활성이 너무 낮아 측정 기준치 이하로 떨어지는 관계로 농도를 조절하였다. 실험결과, 도 4에서 볼 수 있는 바와 같이, 샘플 1mg/ml 농도로 실험하였을 때 외피 50% 알코올추출물(PO-2)에서 α-글루코시다제 활성이 약 8.43%정도의 활성으로 전체 과실(PP), 외피(PO), 과육(PG) 부위 중에서 가장 낮은 활성을 보였고 다음으로 외피 물 추출물(PO-1) 10.83%, 전체 과실 70% 알코올 추출물(PP-3) 13.60%, 전체 과실 50% 알코올 추출물(PP-2) 13.96%, 전체 과실 물 추출물(PP-1) 14.80%, 외피 90% 알코올 추출물(PO-4) 14.55%, 외피 70% 알코올 추출물(PO-3) 15.43% 순으로 α-글루코시다제 활성이 높아지는 것을 볼 수 있었다. 그러나 유의적인 차이는 없었다. 과육(PG)의 경우 70% 알코올 추출물(PG-3)을 처리하였을 때의 α-글루코시다제 활성이 약 60.69%로 과육(PG) 추출물 중에 가장 낮았다. 도 5에서 볼 수 있는 바와 같이, 샘플 0.1mg/ml 농도로 실험하였을 때, 꽃 부위 50% 알코올 추출물(PF-2)에서 약 7%의 α-글루코시다제 활성으로 가장 낮게 나왔고, 다음으로 70% 알코올 추출물(PF-3), 물 추출물(PF-1), 90% 알코올 추출물(PF-4) 순서로 α-글루코시다제 활성이 높아지는 것을 확인하였다. 그리고 내피(PI)에서도 꽃 부위(PF)와 비슷한 경향으로, α-글루코시다제 활성을 보여 줬지만 꽃 부위(PF) 보다는 높았다.

[0063] 제조예 2에서 제조한 홍삼 추출물을 이용하여 1mg/ml의 농도로 α-글루코시다제 활성을 측정하였다. 도 6에서 볼 수 있는 바와 같이, α-글루코시다제 활성은 홍삼 추출물에서 대조군에 비해서 높게 나타났다.

[0064] 석류 추출물과 홍삼 추출물을 함께 사용할 때 α-글루코시다제 활성을 저해하는 상승 효과가 나타나는지, α-글루코시다제 활성을 저해하는 효과가 좋은 배합 비율을 무엇인지 알아보려고 하였다.

[0065] 석류 추출물 및 홍삼 추출물의 혼합물을 0.1mg/ml의 농도로 처리시 α-글루코시다제 활성을 측정해 본 결과, 도 7에서 볼 수 있는 바와 같이, 석류 외피 물 추출물(PO1) : 홍삼 물 추출물(RG1)이 7:3일 때 28.30%의 가장 낮은 활성을 보였으며, 석류 외피 물 추출물(PO1) : 홍삼 물 추출물(RG1)이 5:5 일때 35.73%, 3:7일 때 44.51%로 홍삼(RG1)의 농도가 적어질수록 α-글루코시다제 저해 활성이 높아지는 경향을 볼 수 있었다. 석류 전체 과실 물 추출물(PP1) : 홍삼 물 추출물(RG1)이 7:3일 때는 약 68.67%의 활성을, 5:5 일때는 74.52%를, 3:7일 때는 71.91%의 활성이 있는 것으로 확인되었다.

[0066] **제조예 3. 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 복합 드링크 제품의 제조**

[0067] 실시예 1 및 2의 실험을 통해, 석류 전체 과실의 물 추출물(PP1) : 홍삼 물(RG1) 추출물을 1:1의 비율로 혼합하는 것이 글루코스 흡수 저해 활성 및 α-글루코시다제 저해 활성이 최적인 것으로 판단되어 농축액 혼합비율로 선정하였다. 먼저 석류·홍삼 농축액을 음료 50ml 기준으로 첨가하였을 때 농축액의 농도가 어떠한 때 가장 관능적으로 적당한지 알아보기 위해, 연령별전문 패널원 5명에게 농축액의 농도를 (0.5%, 1%, 1.5%, 2%) 달리하여 실험한 결과(표 1) 색깔과 향 맛에서 유의적인 차이를 알 수 있었다. 색깔과 맛, 향에 있어서 전체적으로 검토하였을 때 농축액 농도 1.5% (Brix 2.0%)에서 기호도가 좋은 것을 알 수 있었다. 농축액 농도 2.0 이상과 1.0 이하에서는 관능적인 평가가 다소 떨어지는 것을 볼 수 있었다. 농축액 농도 1.0이하의 농도에서는 석류·홍삼 농축액의 특유의 향과 맛이 너무 약한 것으로 판단이 되었으며, 2.0 이상의 농도에서는 석류의 떼은맛과 신맛 그리고 홍삼의 쓴 맛이 강해져서 음료로 만들기에는 어렵다고 판단이 되었다.

[0068] [표 1]

Red Ginseng & Punica Granatium Extract(%) Brix(%)		Color	Flavor	Taste	Overall acceptance
0.5	0.8	2.8±0.83	1.8±.83	5.0±1.00	3.20
1.0	1.2	6.6±0.89	4.2±0.83	7.2±0.83	6.00
1.5	2.0	7.0±0.70	7.4±1.14	8.4±0.89	7.60
2.0	2.6	5.8±0.83	5.2±0.83	2.6±1.14	4.53

Composition of drink ; Red ginseng extract 50%, *punica Granatium* 50%

* Mean ± S.D.(n=5)

[0069]

[0070]

고형분 함량으로는 음료 중의 당질 성분이 가장 많은 양을 차지하고 있고 그중에서도 액상과당이 음료의 감미를 좌우하는 성분이다. 그러나 과당은 혈당을 높이기 때문에 본 연구의 감미제로는 적합하지 않는 것으로 판단이 되었다. 따라서 혈당에 큰 영향을 주지 않는 감미료인 말티톨(Maltitol)과 열량을 내지 않으며 설탕보다 단맛이 200배 정도 강한 아세설팜-K(acesulfame-K)을 사용하여 감미를 조절하였다. 아세설팜-K는 가열 시에도 사용이 가능하며 몸에서 대사되지 않고 배설이 되므로 인체에 안전한 감미료이다(박경수, 2004). 기타 미네랄과 비타민, 아미노산, 식이섬유는 하루 기준치에 준하여 각 실험에 동량을 사용하였고, 아세설팜-K는 음료 100ml를 기준으로 10mg을 넣어 기본 감미제로 사용하였다. 아세설팜-K를 10mg 이상 넣었을 경우 쓴맛이 강해지는 것을 느낄 수가 있어서 미묘한 감미효과는 말티톨을 사용하여 조절 하였다. 추가적으로 기존에 알려진 당뇨에 좋은 상업 추출물과 산죽 추출물을 각각 0.6%, 0.4% 첨가하여 보다 당뇨 효과에 좋은 음료를 제작하고자 하였다. 음료의 감미를 좌우하는 검사를 행한 결과(표 2), 음료 100ml 기준으로 만들었을 때 색상과 향미는 말티톨 농도에 있어서 유의적인 차이 없이 기호에 좋게 나타났으나 감미 면에서는 말티톨 농도 20%에서 8.20±0.84로 가장 높은 점수를 받았다. 색, 향기, 감미를 종합하였을 때 또한 말티톨 농도 20%에서 가장 기호도가 높음을 알 수 있었다. 최종적으로 음료의 배합 비율은 음료 100ml를 기준으로 하였을 때 표 3과 같다.

[0071]

[표 2]

Maltitol Conc.(%)	Color	Flavor	Taste	Overall acceptance
10	6.40±0.55	7.20±0.84	3.80±0.84	5.80±1.78
15	7.00±1.22	7.40±1.14	5.80±0.84	6.73±0.83
20	7.40±1.14	7.20±0.84	8.20±0.84	7.60±0.53
25	6.80±1.30	7.40±0.89	6.80±0.84	7.00±0.35
30	7.20±0.84	6.40±1.14	5.60±1.14	6.40±0.80

Composition of drink ; Red ginseng extract 1.5%, *punica Granatium* 1.5%, *Morus alba* L. leaf extract 0.6%, *Sasa borealis* extract 0.4%, vitamin B₁ 0.0009%, vitamin B₂ 0.001%, vitamin B₆ 0.001%, citric acid 0.05%, taurine 1%, manganese Sulfate 0.003%, potassium chloride 0.6%, acesulfame-K 0.01%, sodium alginate 0.05%

* Mean ± S.D.(n=5)

[0072]

[0073] [표 3]

(100ml/1 bottle)	
Contents	Conc. (%)
Extract	
Red ginseng	1.500
<i>Punica Granatium</i>	1.500
<i>Morus alba</i> L. leaf	0.600
<i>Sasa borealis</i>	0.400
Vitamin	
Vitamin B1	0.001
Vitamin B2	0.001
Vitamin B6	0.001
Amino acid	
Citric acid	0.050
Taurine	1.000
Mineral	
Manganese Sulfate	0.003
Potassium chloride	0.600
Sweet	
Maltitol	20.000
Acesul farme- K	0.010
Diet fiber	
Sodium alginate	0.050

[0074]

[0075] 제조예 4. 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 복합 차 제품 개발

[0076]

과립제품을 만들기 위해 석류, 홍삼, 상엽, 산죽 추출물을 (1:1:1:0.3)비율로 혼합하여 기타 미네랄과 비타민, 아미노산, 식이섬유는 하루 기준치에 준하여 각 실험에 동량을 사용하였고, 감미 조절은 설탕보다 단맛이 200배 정도 강한 아세설팜-K을 사용하여 감미를 조절하였다. 파넬원 5명에게 아세설팜-K 농도별로 만든 샘플을 실험해 본 결과 샘플 A는 석류의 떼은맛과 신맛 그리고 인삼의 쓴맛이 그대로 나타났으며 불쾌한 맛이 나는 것을 알 수 있었고 샘플 B는 떼은맛과 신맛은 어느 정도 사라졌지만 쓴맛이 강하였다. 샘플 C는 떼은맛 신맛 쓴맛이 거의 사라지고 먹기에 거부감이 없었다. 샘플 D는 떼은맛 신맛 쓴맛이 사라졌지만 단맛이 좀 강해서 먹기에 거부감이 느껴졌다. 따라서 부형제를 제외한 아세설팜-K의 농도는 0.82%가 가장 적합한 것으로 판단된다(표 4).

[0077] [표 4]

Sample	Acesulfarme-K Conc. (%)	Taste
A	0.27	2.00±0.71 [*]
B	0.55	5.00±0.71
C	0.82	8.20±0.84
D	1.10	6.60±1.14

Composition of drink ; Red ginseng extract 27.5%, *punica Granatum* 27.5%, *Morus alba* L. leaf extract 27.5%, *Sasa borealis* extract 8.3%, vitamin B₁ 0.022%, vitamin B₂ 0.028%, vitamin B₆ 0.028%, vitamin B₉ 0.011% manganese Sulfate 0.044%, potassium chloride 8.254%

^{*} Mean ± S.D.(n=5)

[0078]

[0079]

앞선 실험에서 감미료의 농도가 결정되었기 때문에 과립 제조를 수행하였다. 과립제조용 부형제로는 포도당 함량이 20% 미만인 말토덱스트린 ((주)삼양제네텍스)를 이용하였고 과립을 제조하였다. 과립제제의 최종 배합은 식품공전을 참고하여 홍삼근에서 추출한 가용성 성분(사포닌 80/g을 기준으로 할 때) 10% 이상이므로 본 제품에서는 홍삼 성분을 12%이상 되도록 배합 비율을 정하였다(표 5).

[0080] [표 5]

Contents	Conc. (%)
Extract	
Red ginseng	12.621
Punica Granatium	12.621
Morus alba L. leaf	12.621
Sasa borealis	3.786
Vitamin	
Vitamin B1	0.010
Vitamin B2	0.013
Vitamin B6	0.013
Vitamin B9	0.005
Mineral	
Manganese Sulfate	0.020
Potassium chloride	3.786
Sweet	
Acesul farme- K	0.379
Dextrin	54.126
Total	100

[0081]

[0082] 제조예 5. 석류 추출물 및 홍삼 추출물의 혼합물을 포함하는 복합 스틱 제품 개발

[0083]

스틱 제품은 티 제품 배합에서 비타민 C를 첨가하여 먹기 편하고 상큼한 맛이 나도록 조절하였다. 스틱 제품을 만들기 위해 홍삼, 석류, 상엽, 산죽 추출물을 (1:1:1:0.3) 비율로 혼합하여 기타 미네랄과 비타민, 아미노산, 식이섬유는 하루 기준치에 준하여 각 실험에 동량을 사용하였고 감미 조절은 아세설팜-K을 사용하여 감미를 조절하였다. 파넬원 5명에게 비타민 C 농도별로 만든 샘플을 시험 해 본 결과 샘플 I에서는 신맛이 조금 느껴질뿐 상큼한 맛을 느낄 수가 없었고, 샘플 III에서는 시큼한 맛이 조금 강하게 느껴지는 것으로 나타났고 샘플 IV에서는 신맛이 강해서 제품으로써 부적합한 것으로 나타났다. 비타민 C를 조절한 결과 샘플 II에서 소비자에게 거부감 없는 상큼한 타입의 스틱 제품이 될 것으로 생각된다(표 6).

[표 6]

Sample	Vitamin C Conc. (%)	Taste
I	2.61	4.60±0.55
II	5.22	8.20±0.84
III	7.82	5.80±0.84
IV	10.43	3.00±0.71

Composition of drink ; Red ginseng extract 26.07%, *punica Granatium* 26.07%, *Morus alba* L. leaf extract 26.07%, *Sasa borealis* extract 7.82%, vitamin B₁ 0.021%, vitamin B₂ 0.026%, vitamin B₆ 0.026%, vitamin B₉ 0.010%, vitamin C 5.21%, manganese Sulfate 0.041%, potassium chloride 7.82%, acesulfarme-K 0.78%.

* Mean ± S.D.(n=5)

본 스틱 제품은 항비만 활성을 컨셉으로 한 제품이므로 홍삼 및 석류 엑기스 함유량을 15% 이상으로 조제하였으며 배합 비율은 표 7과 같다.

[표 7]

Contents	Conc. (%)
Extract	
Red ginseng	25.241
<i>Punica Granatium</i>	25.241
<i>Morus alba</i> L. leaf	25.241
<i>Sasa borealis</i>	7.572
Vitamin	
Vitamin B ₁	0.020
Vitamin B ₂	0.025
Vitamin B ₆	0.025
Vitamin B ₉	0.010
Vitamin C	5.048
Mineral	
Manganese Sulfate	0.040
Potassium chloride	7.572
Sweet	
Acesulfarme- K	0.757
Dextrin	62.924

제조예 6. 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 포함하는 츄어블 타입의 정제

츄어블 타입의 정제 제형으로 제품을 제조하였다. 배합비율은 석류 추출물 및 홍삼 추출물을 가장 많이 함유하는 스틱 제품 배합비율로 과립을 제조한 후에 타정기(KORSH®, Germany)를 이용하여 제품을 제조하였다. 내용물은 고유의 색택과 향미를 가지고 이미미취가 없으며, 수분(%)은 5.0 이하이다. 봉해 시험은 1N HCl로 pH 2.0으

로 50ml를 제조 후에 온도를 37℃로 조절하여 좌우로 웨이킹한다. 본 제품 2~3알을 넣고 봉해 정도를 파악한 결과 25분 정도에 완전히 봉해되어 식품공전의 품질규격 이내의 결과였다.

실험예 1. 석류·홍삼 추출물 복합 드링크 제품의 제 1형 항 당뇨 효능평가

본 연구를 통하여 개발된 드링크 제품의 글루코스 흡수의 저해 활성 및 α-글루코시다제 저해 활성을 알아보기 위해 실험을 진행하였다. 실험은 홍삼 추출물을 기본 베이스로 하고 부수적으로 석류(*Punica Granatium*)와 상엽(*Morus alba L. leaf*)과 산죽(*Sasa borealis*)의 영향과 첨가물로 사용한 비타민과 미네랄의 첨가 효과도 확인하였다. 각각의 실험용 샘플 조성은 표 8과 같다.

[표 8]

Contents	Concentration (%)						
	A	B	C	D	E	F	G
Extract							
Red ginseng	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500
<i>Punica Granatium</i>		1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500
<i>Morus alba L. leaf</i>			1.500	1.500	1.500	1.500	1.500
<i>Sasa borealis</i>				1.500	1.500	1.500	1.500
Vitamin							
Vitamin B1					0.001		0.001
Vitamin B2					0.001		0.001
Vitamin B6					0.001		0.001
Amino acid							
Citric acid							
Taurine	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Mineral							
M a n g a n e s e						0.003	0.003
Sulfate							
P o t a s s i u m						0.600	0.600
chloride							
Sweet							
Maltitol	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000
Acesul farne- K	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Diet fiber							
Sodium alginate	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050

(1) 복합 드링크 제품의 글루코스 흡수 저해 효과 확인

실시에 1에서와 같은 방법으로 복합 드링크 제품의 글루코스 흡수 저해 활성을 측정한 결과, 도 8에서 볼 수 있는 바와 같이, 글루코스 흡수 활성은 홍삼만 처리한 실험구 (A)에서 가장 활성이 낮았으며, 그 다음으로는 홍삼, 석류, 상엽, 산죽을 첨가한 실험구(D), 홍삼, 석류, 상엽, 산죽에 미네랄을 첨가한 실험구(F), 홍삼, 석류, 상엽, 산죽에 비타민을 첨가한 실험구(E), 홍삼 및 석류를 첨가한 실험구(B)의 순으로 글루코스 흡수 활성이 낮았다. 모든 구성성분을 첨가하였을 때(G)는 약 79.5%의 글루코스 흡수 활성을 나타냈고 글루코스 흡수 저해효과는 20.5%로 확인 되었다.

(2) 복합 드링크 제품의 α-글루코시다제 활성 저해 효과 확인

실시에 2에서와 같은 방법으로 복합 드링크 제품의 α-글루코시다제 활성 저해 효과를 측정한 결과, 도 9에서 볼 수 있는 바와 같이, 글루코스 흡수 활성 실험과는 반대의 경향이 나오는 것을 알 수 있었다. 먼저 홍삼만 첨가한 군(A)에서 α-글루코시다제 활성이 가장 높았으며, 홍삼, 석류를 첨가한 실험구(B)는 활성이 감소하고 홍삼, 석류, 상엽을 첨가한 실험구(C) 또한 활성이 감소했다. 또한 홍삼, 석류, 상엽, 산죽을 첨가한 실험구(D)에서는 α-글루코시다제 활성이 낮아지는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 홍삼, 석류, 상엽, 산죽에 비타민을 첨가하였더니 소량 감소하였고 홍삼, 석류, 상엽, 산죽에 미네랄을 첨가하였더니 비타민을 첨가하였을 때 보다 증

가하였다. 모든 구성성분을 첨가하였을 때는 약 68.67%의 α -글루코시다제 활성을 나타냈고 α -글루코시다제 저해효과는 48.17%로 확인 되었다.

(2) 복합 드링크 제품의 in vivo 급성 독성 실험

조제된 복합 드링크 제품의 급성독성 여부를 알아보기 위해 추출물을 0, 40, 80 mg/kg의 농도로 조제한 후 각 군당 8마리의 ICR 마우스에 사료의 형태로 6주 동안 공급해 주면서 검토한 급성독성실험 결과, 모든 군에서 100%의 생존율을 보임으로써 독성은 나타나지 않는 것으로 확인되었다(표 9).

[표 9]

	Dose (mg/kg)	No. of mice	No. of survival	Survival rate(%)
Mice 0 ^{a)}	0	8	8	100
Mice 1 ^{b)}	0	8	8	100
Mice 2 ^{c)}	40	8	8	100
Mice 3 ^{d)}	80	8	8	100

^{a)} 비발현 mice 0 : STZ 미처리 ; ^{b)} 발현 mice 1 : STZ 처리, 0 mg/kg ; ^{c)} 발현 mice 2 : STZ 처리, 40 mg/kg ;

^{d)} 발현 mice 3 : STZ 처리, 80 mg/kg

(2) 복합 드링크 제품의 in vivo 항당뇨 효능 실험

실험동물은 체중 30g 내외의 ICR 마우스를 구입하여 일주일간 적응시킨 후 난피법에 의해 정상군과 당뇨 실험군으로 각 군당 8마리씩 나누었다. 당뇨 유발을 하지않은 정상 쥐를 대조군(Mice 0)으로 하고, 당뇨 실험군은 각각 복합 드링크 제품을 공급하지 않은 군(Mice 1), 복합 드링크 제품 40 mg/kg를 공급한 군(Mice 2)과 복합 드링크 제품 80 mg/kg를 공급한 군(Mice 3)으로 구분하였다. 실험 1주째와 6주째에 동물을 12시간 절식시킨 후 꼬리 정맥에서 혈액을 채혈하여 공복시 혈당 수준을 측정, 이를 최초 데이터로 하고, 2 g/kg의 글루코스를 경구투여한 후 30분, 60분, 90분 및 120분에 꼬리정맥으로부터 채혈하여 정맥혈의 혈당 농도 변화를 혈당계로 측정하였다. 측정 결과, 표 10에서 볼 수 있는 바와 같이, 정상 쥐의 경우 혈당 수치가 초기 $91 \pm 23 \text{mg/dL}$ 에서 30분 후 $211 \pm 28 \text{mg/dL}$, 60 분 후 $167 \pm 30 \text{mg/dL}$, 90 분 후 $141 \pm 21 \text{mg/dL}$, 120 분 후 $110 \pm 13 \text{mg/dL}$ 로 혈당이 정상 범위 내에서 올라갔다가 떨어지는 것을 볼 수 있었고, 복합 드링크 제품을 공급하지 않은 당뇨 유발 군(Mice 1)은 혈당이 최고치 $382 \pm 28 \text{mg/dL}$ 까지 상승하여 120 분 후에도 줄어들지 않는 것을 볼 수 있었다. 반면 복합 드링크 제품 40 mg/kg를 공급한 당뇨 유발 군(Mice 2)은 혈당이 최고 $447 \pm 31 \text{mg/dL}$ 까지 올라가서 120분 후에 $240 \pm 28 \text{mg/dL}$ 까지 떨어지는 것을 볼 수 있었으며, 복합 드링크 제품 80 mg/kg를 공급한 당뇨 유발 군(Mice 3)은 혈당이 최고 30분 후에 $356 \pm 31 \text{mg/dL}$ 까지 상승하였으나 120분 후에는 대조군과 비슷한 수치인 $120 \pm 29 \text{mg/dL}$ 까지 떨어지는 것을 볼 수 있었다.

[표 10]

	Blood glucose level (mg/dL)				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Mice 0 ^{a)}	91±23	211±28	167±30	141±21	110±13
Mice 1 ^{b)}	161±21	377±25	382±28	362±26	360±29
Mice 2 ^{c)}	200±25	447±30	447±31	376±29	240±28
Mice 3 ^{d)}	114±23	356±31	321±29	299±26	120±29

^{a)} 비발현 mice 0 : STZ 미처리 ; ^{b)} 발현 mice 1 : STZ 처리, 0 mg/kg ; ^{c)} 발현 mice 2 : STZ 처리, 40 mg/kg ;

^{d)} 발현 mice 3 : STZ 처리 80 mg/kg

도 10는 표 10의 각 실험구 간의 최초 혈당을 100으로 보정하여 시간별로 혈당이 증가되는 %를 나타낸 것이다. 그리고 표 11은 6주간 실험한 마우스의 체중 변화와 생존율을 본 것이다. 마우스 체중은 4~7g 정도 높아지는 것을 볼 수 있었고 모두 100% 생존하였다. 본 실험을 통하여 인슐린 분비가 억제된 마우스에서 복합 드링크 제품을 공급 하였을 때 혈관 내 혈당이 떨어지는 것을 확인할 수 있었으므로 본 연구를 통한 시제품은 1형 당뇨병에 식후 혈당을 떨어뜨리는 효과가 있는 것으로 판단된다.

[표 11]

Group	No. of mice	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	No. of mice survived	Survival rate (%)
Mice 0 ^{a)}	8	32.12 ± 2.35	36.98 ± 2.16	8	100
Mice 1 ^{b)}	8	31.43 ± 2.61	35.51 ± 3.24	8	100
Mice 2 ^{c)}	8	29.78 ± 3.55	38.97 ± 4.45	8	100
Mice 3 ^{d)}	8	30.17 ± 3.23	37.25 ± 1.23	8	100

^{a)} 비발현 mice 0 : STZ 미처리 ; ^{b)} 발현 mice 1 : STZ 처리, 0 mg/kg ; ^{c)} 발현 mice 2 : STZ 처리, 40 mg/kg ;

^{d)} 발현 mice 3 : STZ 처리 80 mg/kg

실험예 2. 복합 드링크 시제품의 제2형 항 당뇨 효능평가

(1) 복합 드링크 시제품의 in vivo 급성 독성 실험

조제된 시제품의 급성독성 여부를 알아보기 위해 추출물을 0, 40, 80 mg/kg의 농도로 조제한 후 각 군당 8마리의 db/db 마우스에 사료의 형태로 6주 동안 공급해 주면서 검토한 급성독성실험 결과, 모든 군에서 100%의 생존율을 보임으로써 조제된 시제품에 의한 독성은 나타나지 않았다(표 12).

[0114] [표 12]

	Dose (mg/kg)	No. of mice	No. of survival	Survival rate(%)
Mice A ¹⁾	0	8	8	100
Mice B ²⁾	40	8	8	100
Mice C ³⁾	80	8	8	100

[0115] ¹⁾ db/db mice 1 : 0 mg/kg, ²⁾ db/db mice 2 : 40 mg/kg, ³⁾ db/db mice 3 : 80 mg/kg

[0116] (2) 제 2 형 항 당뇨 효능 실험

[0117] 실험동물은 체중 30g 내외의 db/db 마우스를 구입하여 일주일간 적응시킨 후 난괴법에 의해 복합 드링크 시제품 미 처리군(Mice A)과 복합 드링크 시제품 40 mg/kg 투여군(Mice B), 복합 드링크 시제품 80 mg/kg 투여군(Mice C)으로 각 군당 8마리씩 나누어 실험을 진행하였다. 실험 1주째와 6주째에 동물을 12시간 절식시킨 후 꼬리 정맥에서 혈액을 채혈하여 공복시 혈당 수준을 측정, 초기 데이터로 하고, 2 g/kg의 글루코스를 경구투여한 후 30분, 60분, 90분 및 120분에 꼬리정맥으로부터 채혈하여 정맥혈의 혈당 농도 변화를 혈당계로 측정하였다. 표 13에서 볼 수 있는 바와 같이, Mice A는 초기혈당 165±22mg/dL에서 30분 후 326±23mg/dL으로 최고치에 도달했다가 120분 후에는 288±29mg/dL로 혈당이 거의 감소하지 않은 반면, Mice B에서는 초기 혈당 221±25mg/dL에서 30분 후 최고치 355±30mg/dL 올라갔다가 120분 후에는 260±28mg/dL로 Mice A 보다 떨어진 것을 볼 수 있으며, Mice C에서는 초기 혈당치 200±23mg/dL에서 30분 후 최고 혈당 388±31mg/dL 상승 하였다가 120분 후에는 220±29mg/dL로 Mice A, B, C 중에서 정상 수치는 아니지만 혈당이 복합 드링크 시제품을 처리하지 않은 군(Mice A)에 대해서 복합 드링크 시제품을 처리한 군(Mice B, C)이 식후 120분 후 혈당을 감소시켜주는 효과가 있는 것을 확인하였다.

[0118] [표 13]

	Blood glucose level (mg/dL)				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Mice A ¹⁾	165±22	326±23	310±27	299±26	288±29
Mice B ²⁾	221±25	355±30	335±31	331±29	260±28
Mice C ³⁾	200±23	388±31	367±29	351±26	220±29

[0119] ¹⁾ db/db mice 1 : 0 mg/kg, ²⁾ db/db mice 2 : 40 mg/kg, ³⁾ db/db mice 3 : 80 mg/kg

[0120] 도 11은 표 13의 데이터에서 초기 혈당을 100으로 보정 하였을 때 식후 혈당이 올라가는 비율을 %로 환산한 값을 표현한 것이다. 표 14는 6주간 실험한 마우스의 체중 변화와 생존율을 본 것이다. 마우스 체중은 4~7g 정도 높아지는 것을 볼 수 있었고 모두 100% 생존 하였다.

[0121] [표 14]

Group	No. of mice	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	No. of mice survived	Survival rate (%)
Mouse A ¹⁾	8	40.43 ± 2.61	45.51 ± 3.24	8	100
Mouse B ²⁾	8	39.78 ± 3.55	48.97 ± 4.45	8	100
Mouse C ³⁾	8	40.17 ± 3.23	47.25 ± 1.23	8	100

¹⁾ db/db mice 1 : 0 mg/kg, ²⁾ db/db mice 2 : 40 mg/kg, ³⁾ db/db mice 3 : 80 mg/kg

[0122]

도면의 간단한 설명

[0123]

도 1은 물(1), 50% 알코올(2), 70% 알코올(3) 및 90% 알코올(4)로 추출한 석류의 꽃 부위(PF), 내피(PI), 외피(PO), 과육(PG), 씨(PS) 및 전체 과실(PP)의 추출물을 처리한 Caco-2 세포의 글루코스 흡수 활성을 나타낸 그래프이다.

[0124]

도 2는 물(1), 50% 알코올(2), 70% 알코올(3) 및 90% 알코올(4)로 추출한 홍삼의 추출물을 처리한 Caco-2 세포의 글루코스 흡수 활성을 나타낸 그래프이다.

[0125]

도 3은 석류 전체 과실의 물 추출물(PP1)과 홍삼 물추출물(RG1)의 혼합물의 배합 비율에 따른 Caco-2 세포의 글루코스 흡수 활성을 나타낸 그래프이다.

[0126]

도 4는 물(1), 50% 알코올(2), 70% 알코올(3) 및 90% 알코올(4)로 추출한 석류의 전체 과실(PP), 외피(PO), 과육(PG)의 추출물을 이용하여 α-글루코시다제 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[0127]

도 5는 물(1), 50% 알코올(2), 70% 알코올(3) 및 90% 알코올(4)로 추출한 석류의 내피(PI), 씨(PS), 꽃 부위(PF)의 추출물을 이용하여 α-글루코시다제 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[0128]

도 6은 물(1), 50% 알코올(2), 70% 알코올(3) 및 90% 알코올(4)로 추출한 홍삼 추출물을 이용하여 α-글루코시다제 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

[0129]

도 7은 석류 전체 과실의 물 추출물(PP1)과 홍삼 물추출물(RG1)의 혼합물의 배합 비율에 따른 α-글루코시다제 활성을 나타낸 그래프이다.

[0130]

도 8은 표 8의 복합 드링크 구성에 따라 제조된 샘플을 이용하여 측정한 글루코스 흡수 활성을 나타낸 그래프이다.

[0131]

도 9는 표 8의 복합 드링크 구성에 따라 제조된 샘플을 이용하여 측정한 α-글루코시다제 활성을 나타낸 그래프이다.

[0132]

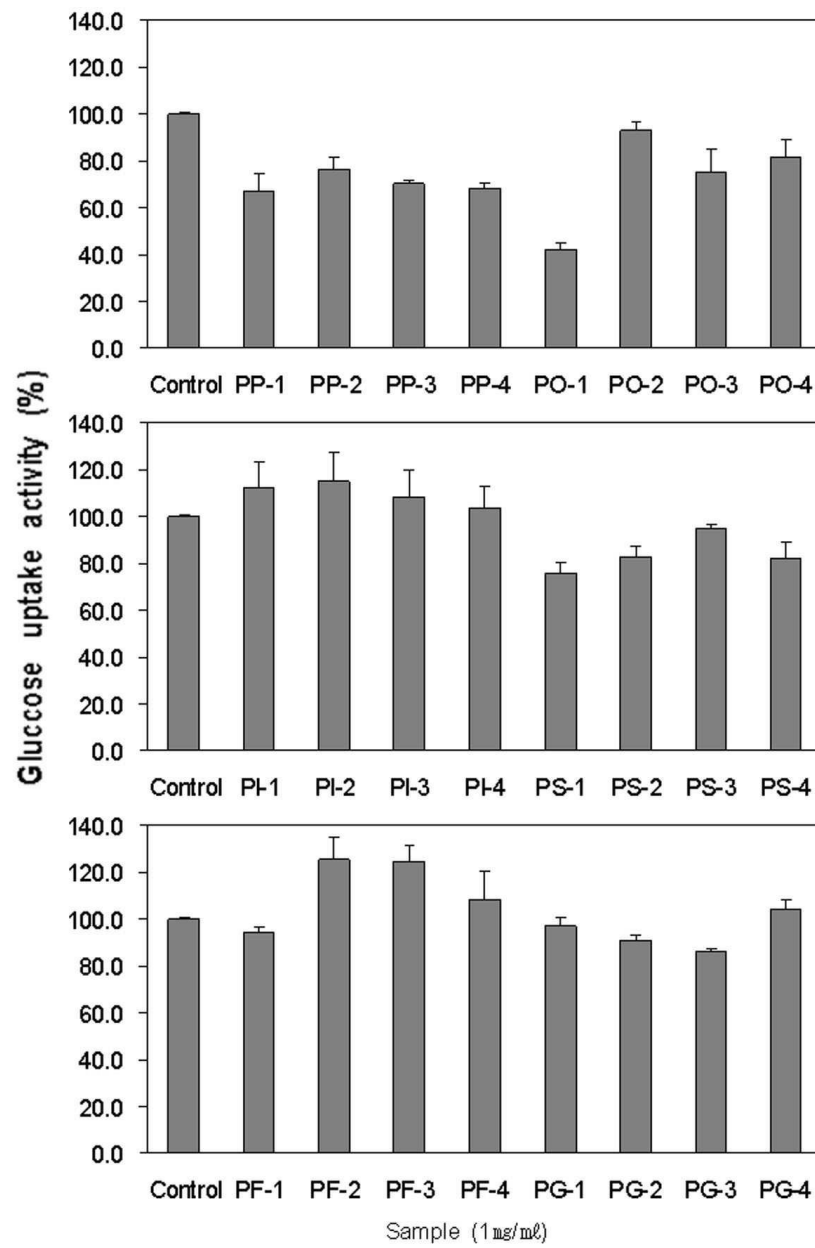
도 10는 표 10의 각 실험구 간의 최초 혈당을 100으로 보정하여 시간별로 혈당이 증가되는 %를 나타낸 것이다.

[0133]

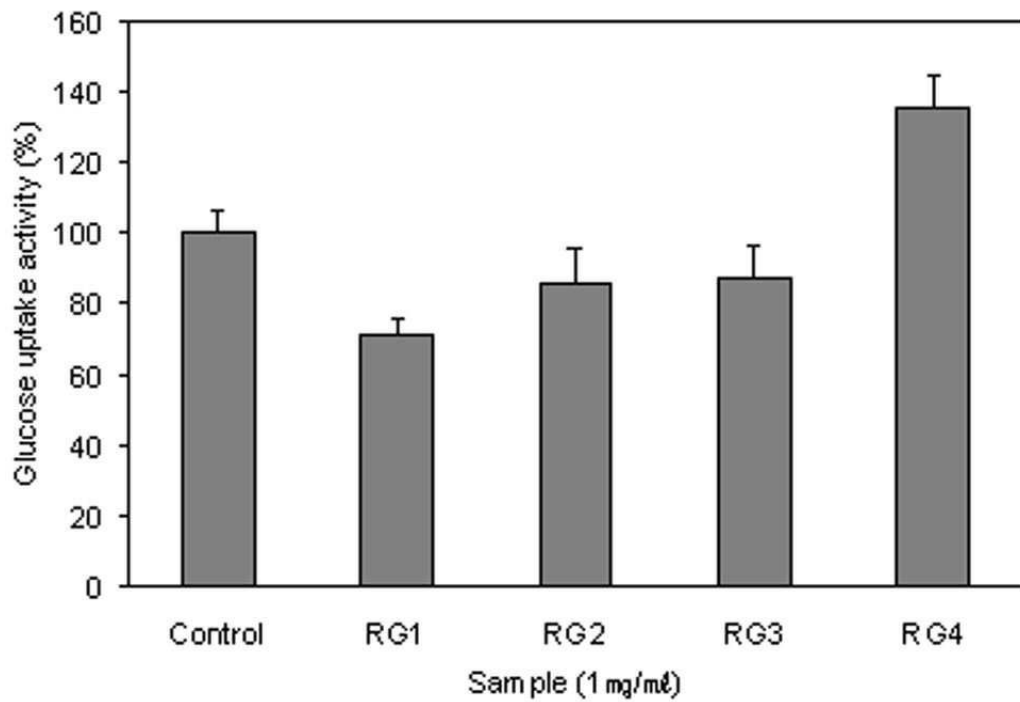
도 11은 표 13의 데이터에서 초기 혈당을 100으로 보정 하였을 때 식후 혈당이 올라가는 비율을 %로 환산한 값을 표현한 것이다.

도면

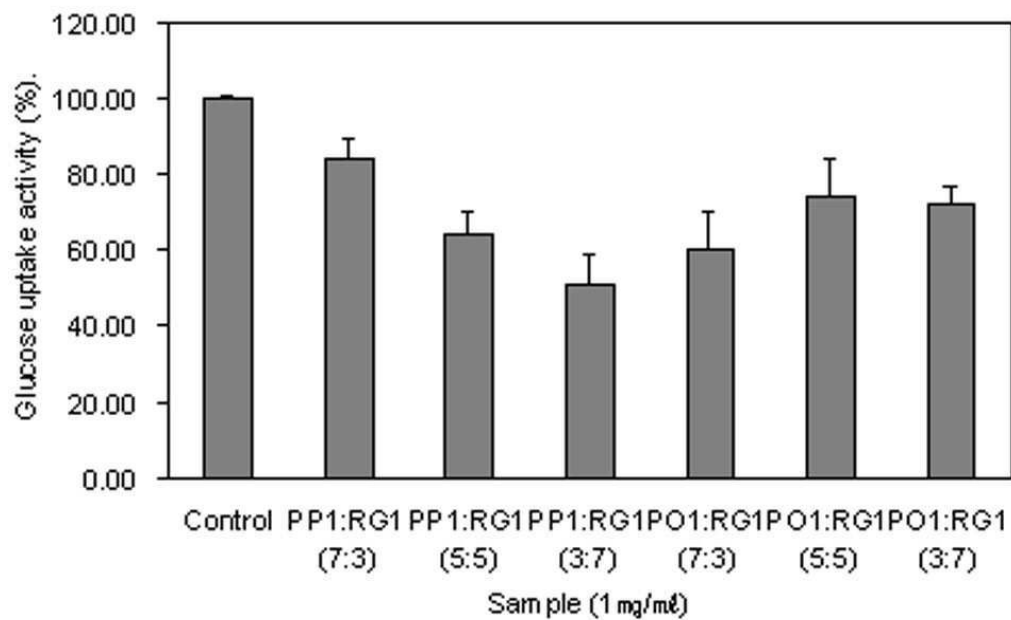
도면1



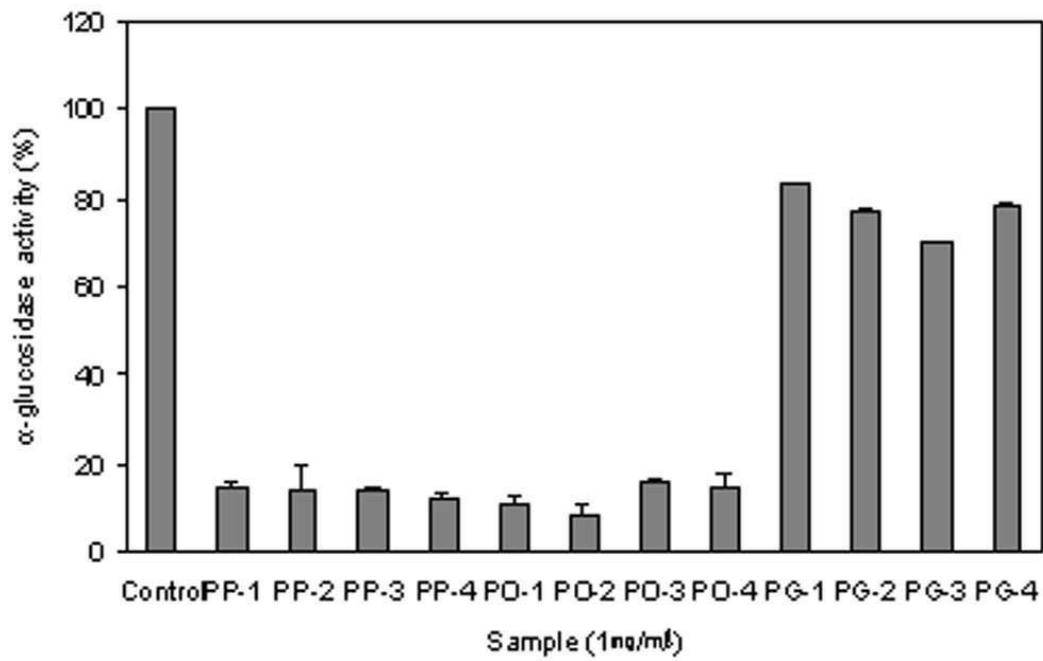
도면2



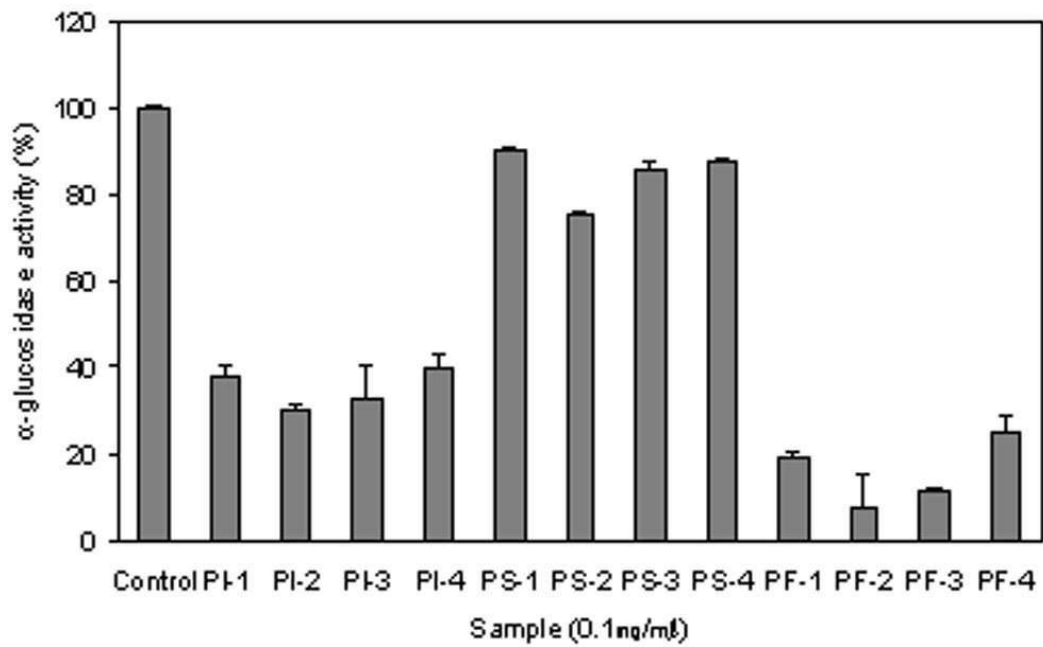
도면3



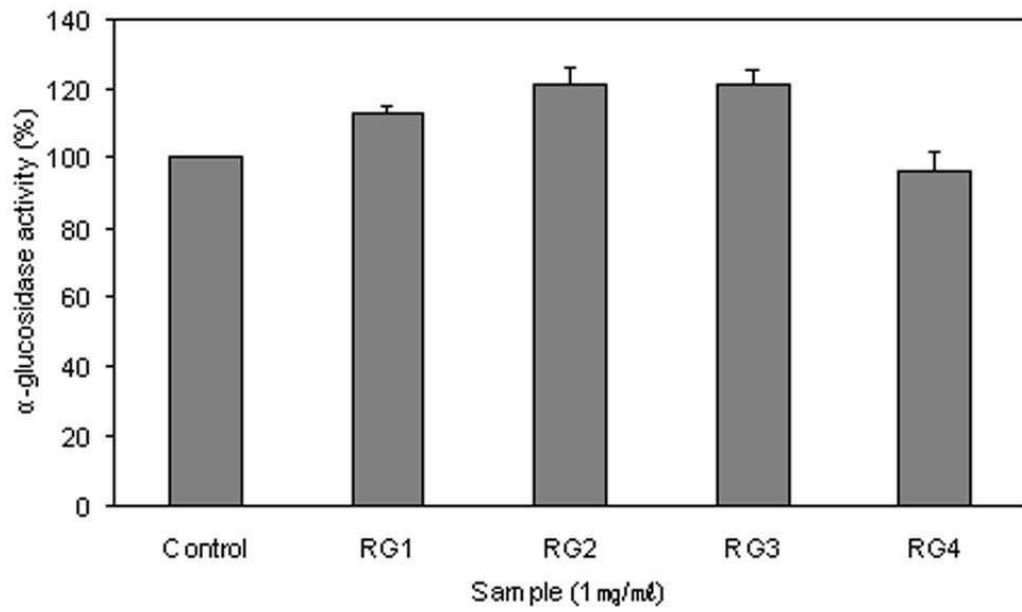
도면4



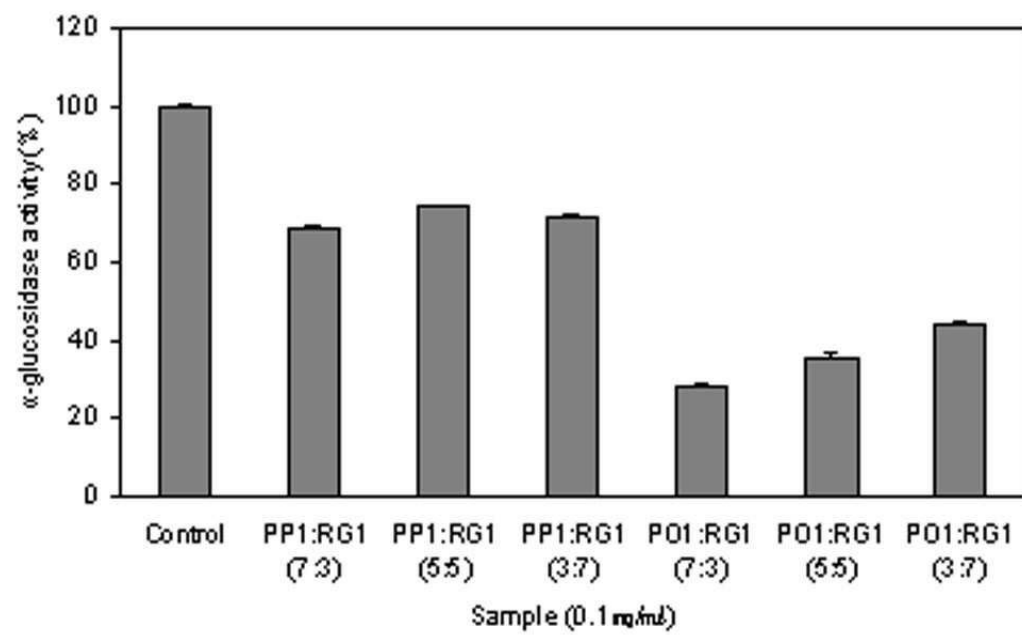
도면5



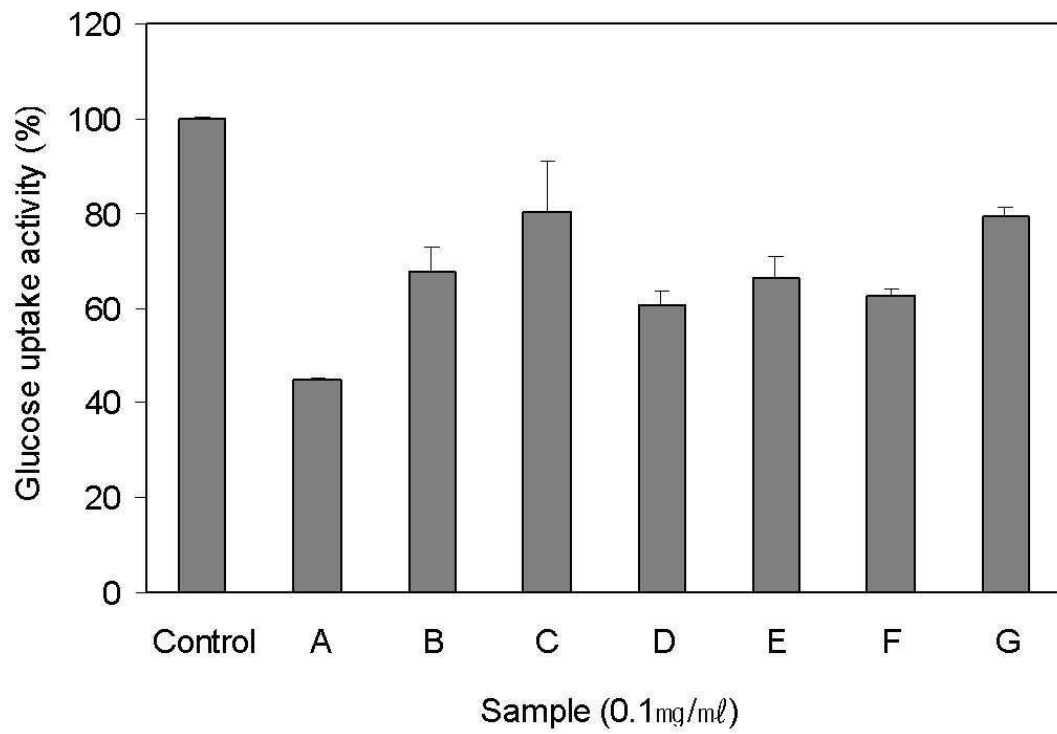
도면6



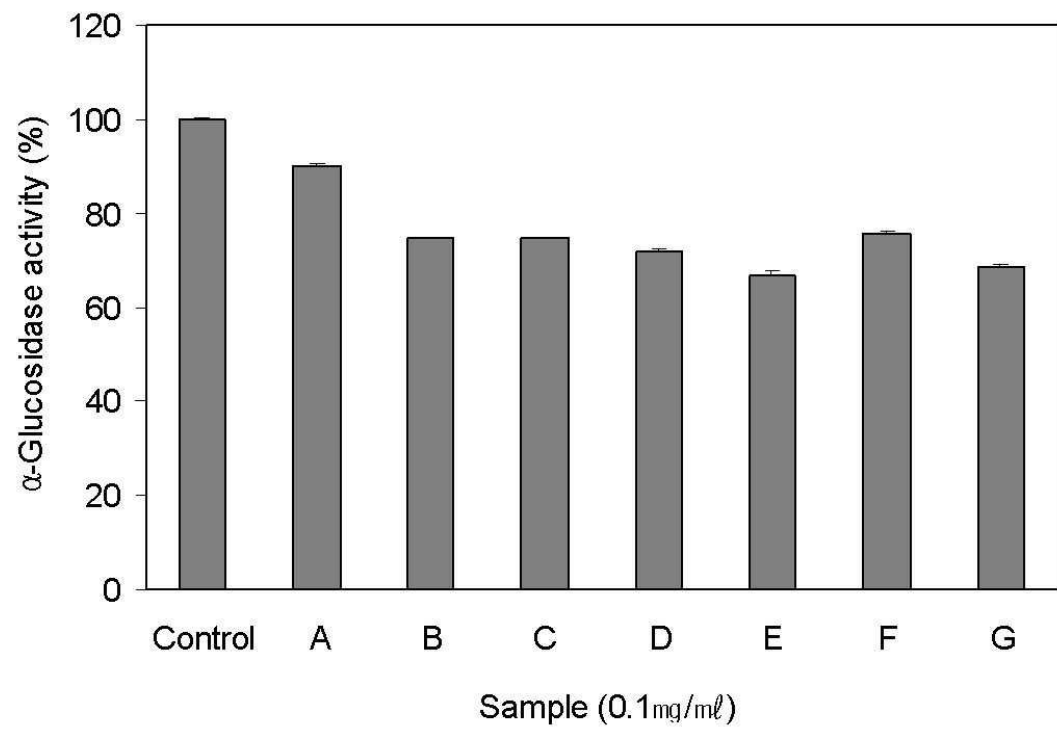
도면7



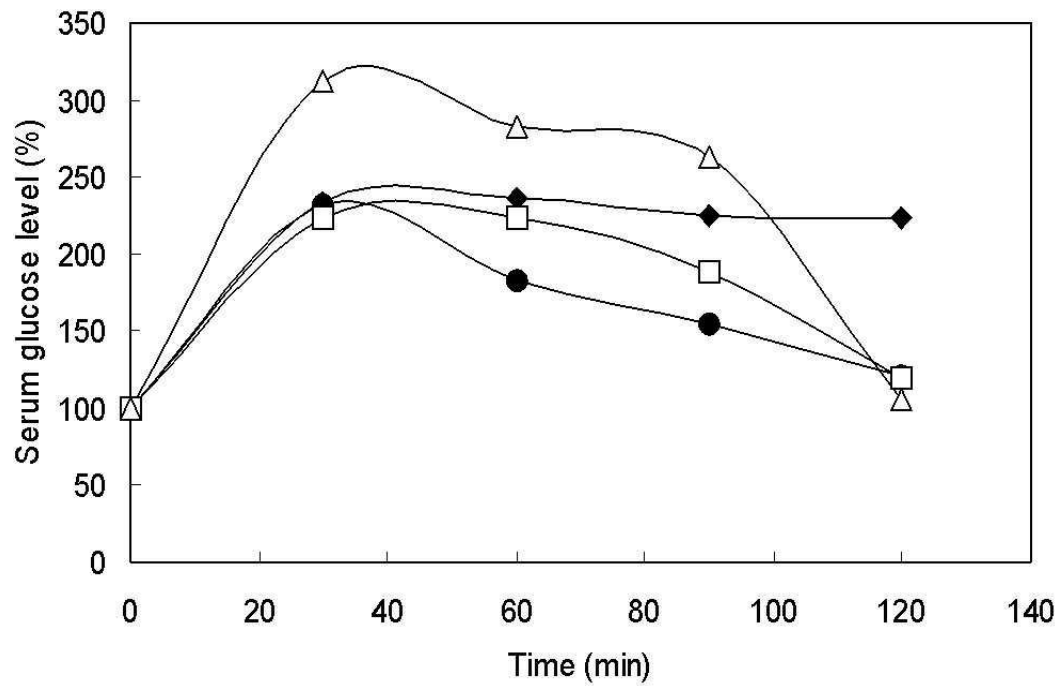
도면8



도면9



도면10



Effect of prototype on serum glucose in blood

- 비 발 현 mice 0 : STZ 미처리
- ◆ 발 현 mice 1 : STZ 처리 0 mg/kg
- 발 현 mice 2 : STZ 처리 40 mg/kg
- △ 발 현 mice 3 : STZ 처리 80 mg/kg

도면11

