



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0096276

(43) 공개일자 2015년08월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/704 (2006.01) A61K 31/70 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0017526

(22) 출원일자 2014년02월14일

심사청구일자 2014년03월07일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

장형진

서울특별시 동대문구 왕산로23길 89, 101동 104호 (제기동, 이수브라운스톤)

(74) 대리인

리앤목특허법인

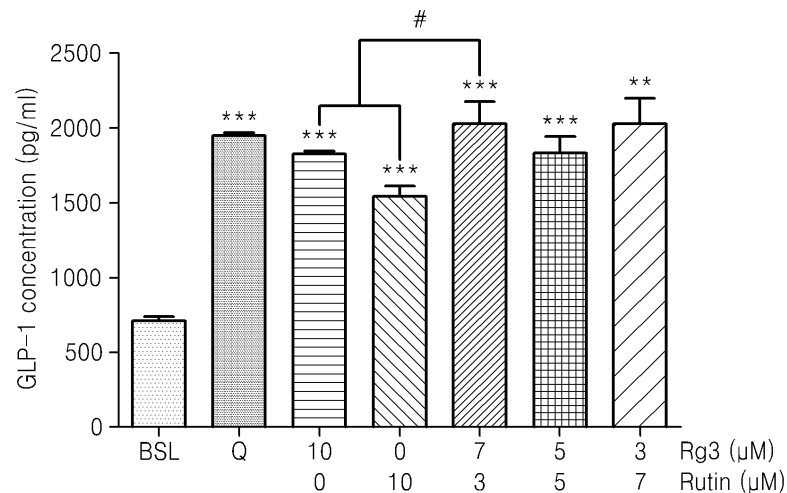
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 Rg3, 루틴 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물은 인간 장내분비세포 내에서 인크레틴 호르몬 분비를 촉진하며, 그 결과 인슐린 분비 유도에 의한 혈당강하 효과가 있어, 우수한 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 치료 또는 예방용 약학적 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합은 인크레틴 호르몬 분비를 촉진하는 것인 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 당뇨병은 제2형 당뇨병인 것인 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 당뇨병으로 인한 합병증은 심혈관질환, 신경병증, 피부감염, 세소혈관증 또는 치료약제에 의한 과민 반응에 의한 피부 증상, 수정체의 혼탁과 백내장, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신증 및 당뇨병성 신경병증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, Rg3 : 루틴의 몰비는 6.5 내지 7.5 : 3인 것인 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 경구 투여용 제형, 흡입 투여용 제형, 또는 주사용 제형인 것인 약학적 조성물.

청구항 7

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

청구항 8

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

청구항 9

Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 식품 조성물.

명 세 서

기술 분야

[0001]

본 발명은 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 약학적 또는 식품 조성물에 관한 것이다. 구체적으로, Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 조성물 및 그를 이용한 당뇨병전증, 당뇨병 및 당뇨병으로 인한 합병증의 예방, 개선 및 치료와 관련된 것이다.

배경 기술

[0002]

생활 수준의 향상으로 인하여 평균 수명이 증가함으로써 각종 퇴행성 질환에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 이 중 당뇨병은 최근 급증하는 추세이며, 전세계적으로 3번째로 심각한 질병으로, 현재 세계 인구 중 약 2억 5천만 명이 당뇨병 환자로 추정되고 있다. 국내에서도 산업발달, 경제성장으로 인한 식습관, 생활습관의 변화 및 고령화 현상으로 인해 당뇨병의 유병률 및 발생률이 점차적으로 증가하고 있으며, 현재 약 300만 내지 500만 명 정도가 당뇨병 환자로 추정되고 있다.

[0003]

당뇨병(diabetes mellitus)은 혈액 내에 존재하는 포도당이 소변을 통해 배출되는 질환으로서, 근본적인 치유가 되지 않는 만성 퇴행성 질환 중의 하나이다. 현대에 들어서서 생활습관의 변화와 운동 부족 등으로 인하여, 인체

고유의 에너지 대사과정에 커다란 변화가 발생하였으며, 이에 따라 당뇨병 등의 만성 퇴행성 질환은 증가하는 현상을 보이고 있다. 국내에서는 당뇨 유병율이 5-10%에 달하는 것으로 알려져 있으며 지속적인 증가를 보이고 있다. 미국의 경우, 지난 40년간, 당뇨병은 6배가 증가하였으며 이와 같은 수준의 증가에 의하여 2050년에 이르러서는 환자 수가 2,600만 명에 이르게 될 것으로 전망되고 있다.

[0004] 당뇨병의 95% 이상을 차지하는 제 2형 (인슐린 비의존형) 당뇨병의 병인은 두 가지 원인, 즉 인슐린 분비장애 및 인슐린 저항성의 복합 장애로 알려져 있다. 즉 당뇨병은 이러한 복합적인 장애로 인해 만성 고혈당 증상을 보이는 질환이다. 특히 40대 이후에 주로 발병하는 제2형 인슐린 비의존형 당뇨병(non-insulin dependent diabetes mellitus)은 3대 성인병의 하나로 손꼽히고 있다.

[0005] 인슐린 분비장애란 혈당 농도에 따라 췌장의 베타세포에서 적절한 양의 인슐린이 분비되지 않는 상황을 말하며, 이는 인슐린을 분비하는 베타세포의 양적인 감소나 기능적인 분배장애를 모두 포함한다. 인슐린 저항성이란 분비된 인슐린이 혈류를 타고 표적 장기에 도달했으나 그 표적세포에서 인슐린 작용 및 민감성이 저하된 상황을 의미하는데, 일반적으로 세포막 수용체 결합 후의 신호전달장애로 생각되며, 그 원인으로 유전적인 소인, 비만, 육체적 활동저하 및 고혈당 또는 이상지질혈증 등이 있다. 인슐린 저항성이 있으면 저항성을 극복하기 위해 더 많은 양의 인슐린이 분비되어야 하고, 반대로 인슐린 분비가 충분하지 않아 생긴 고혈당 자체가 다시 인슐린 저항성을 악화시킬 수 있다.

[0006] 당뇨병전증 (Prediabetes)이란 당뇨병의 전단계에 해당하는 혈당 조절 이상으로 당뇨병으로 갈 수 있는 고위험군을 의미한다. 전당뇨병은 향후 당뇨병으로 갈 위험성이 정상인에 비해 3~5배 높다. 또한, 혈당이 당뇨병 정도까지 높지는 않지만, 정상인보다는 높기 때문에 혈관에 대한 스트레스가 증가하여 뇌졸중, 심근경색등의 심혈관 질환의 위험성이 정상인에 비해 3~5배 높다. 전당뇨병의 종류로는 공복고혈당 (impaired fasting glycemia, IFG), 내당능장애 (Impaired glucose tolerance, IGT), 대사증후군 (metabolic syndrome) 등이 있다.

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

[0008] 따라서, 기존 당뇨병 치료제의 부작용을 줄이고 대사이상 증세 등을 개선시켜 주며 장기복용 시에도 안전성이 우수한 당뇨병 치료제에 대한 요구가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 이에 본 발명자들은, 부작용을 최소화하면서도 당뇨병전증, 당뇨병, 및 당뇨병으로 인한 합병증의 예방, 개선 또는 치료에 효과가 있는 조성물을 개발하는 것의 필요성을 인식하고 연구한 결과, Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물이 인간 장내분비세포 내에서 인크레틴 호르몬 분비를 촉진하며, 그 결과 인슐린 분비 유도에 의한 혈당강하효과가 있다는 사실을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 효과적인 당뇨병 전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 Rg3과 루틴의 조합을 유효성분으로 포함하는 효과적인 당뇨병 전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 개선을 위한 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0014] 상기 조성물은 약학적 조성물 또는 식품 조성물을 포함한다.

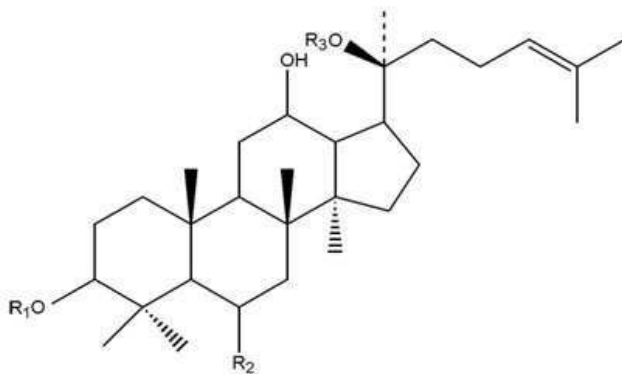
[0015] 본 발명에 있어서, 상기 당뇨병은 제2형 당뇨병일 수 있다. 또한, 상기 당뇨병으로 인한 합병증은 심혈관질환,

신경병증, 피부감염, 세소혈관증 또는 치료약제에 의한 과민 반응에 의한 피부 증상, 수정체의 혼탁과 백내장, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신증 및 당뇨병성 신경병증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0016] 이하, 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명한다.

[0017] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한, 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 전체가 본 명세서에 참고로 통합된다.

[0018] 본 발명의 유효성분으로 이용되는 진세노사이드 Rg3은 담마란(dammarane) 골격에 1-4개의 당이 결합되어 있는 담마란계 사포닌이다. 상기 담마란계 사포닌은 프로토파낙사디올 (protopanaxadiol: PPD)을 모핵으로 가지며, 식 1과 같이 표시될 수 있다.



(식1)

[0020] 식 1 중 R₁, R₂, 및 R₃에 따라 담마란계 사포닌은 다음과 같이 분류될 수 있다.

표 1

그룹	진세노사이드	R ₁	R ₂	R ₃
프로토파낙사디올	Rb1	-Glc-Glc	-H	-Glc-Glc
	Rb2	-Glc-Glc	-H	-Glc-Ara(pyr)

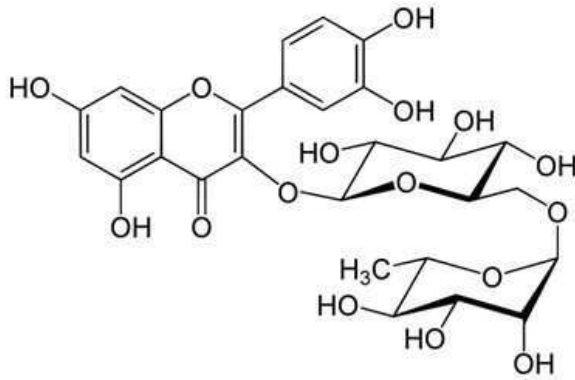
[0022] 20(S)-Rg3 또는 20(R)-Rg3은 프로토파낙사디올계 진세노사이드인 Rb1과 Rb2의 20번 위치에서 -Glc-Glc 또는 -Glc-Ara(pyr)의 이탈에 의하여 생성될 수 있다.

[0023] 상기 진세노사이드 Rg3는 파낙스(*Panax*) 속 식물의 추출물에 포함될 수 있다. 상기 파낙스 속 식물은 인삼(*Panax ginseng*), 화기삼(*Panax quinquefolia*), 전칠삼(삼칠, *Panax notoginseng*), 죽절삼(*Panax japonica*), 삼엽삼(*Panax trifolia*), 히말라야삼(*Panax pseudoginseng*), 또는 베트남삼(*Panax vietnamensis*)을 포함한다. 파낙스 속 식물은 담마란(dammarane) 골격에 1-4개의 당이 결합되어 있는 담마란계 사포닌을 공통으로 함유하고 있다. 상기 사포닌은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rg3, Rc, Rd, Rg1, 또는 Re이다.

[0024] 본 명세서에서, 용어 "파낙스 속 추출물"은 파낙스 속의 뿌리로부터 추출하여 얻은 물질을 의미한다. 추출물은 당업계에 공지된 통상적인 추출용매, 예를 들면 물, 친수성 유기 용매 또는 이들의 혼합용매에 의해 추출된 것일 수 있다. 상기 친수성 유기 용매는 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수 저급 알코올(예를 들면, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, n-프로판올, 이소프로판올 및 n-부탄올 등), 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 1,3-부틸렌글리콜, 헥산, 디에틸에테르 또는 부틸 아세테이트를 포함할 수 있다. 상기 추출물은 추출에 의해 수득되는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 수득되는 건조물 또는 추출액의 조정제물 또는 정제물일 수 있다.

[0025] 루틴(Rutin)은 3번위치에 -O-당을 포함하는 루테올린 글리코사이드(luteolin glycoside)이다. 루틴은 유칼립투스

(eucalyptus) 잎 또는 다수의 꽃에서 발견된다. 루틴은 식 2와 같이 표시될 수 있다.



(식 2)

또한, 루틴은 루틴 합성효소 활성(rutin synthase activity)에 의해 합성될 수 있다 (Lucci et al., Canadian journal of plant science, 89 (5): 895-902, 2009).

상기 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합은 인크레틴 호르몬 분비를 촉진하는 것일 수 있다. 인크레틴이란 음식을 먹으면 소장에서 분비되는 호르몬으로, 췌장에서 인슐린이 분비되는 것을 도우며 최근 들어 당뇨병 치료의 새로운 대안으로서 각광받고 있다. 인크레틴 호르몬을 이용한 당뇨병 치료의 가장 큰 장점은 인슐린 호르몬 치료의 맹점인 저혈당, 체중증가 등의 부작용이 적고, 당뇨병으로 손상된 췌장의 베타세포도 재생되며, 특히 고령인 환자에도 비교적 안전하게 사용될 수 있다는 점이다. 인크레틴이 치료약제로 개발되기 전에는 당뇨병의 중요한 두 가지 병태생리가 상대적 인슐린 분비부족과 인슐린 저항성이었으나, 최근에는 인크레틴 기능장애를 합쳐 세 가지를 제2형 당뇨병의 병태생리로 생각하고 있다. 인크레틴을 경구섭취시 포도당을 정맥으로 주사했을 때보다 더욱 강력한 인슐린 분비 촉진 작용을 보이는데 이를 인크레틴 효과라고 하며 대표적인 인크레틴으로 GLP-1과 GIP가 있다.

위와 근위소장에는 가스트린(Gastrin), 그렐린(ghrelin), 글루코스 의존적 인슐린 분비 펩티드(glucose-dependent insulintropic peptide, GIP), 세크레틴(secretin), 콜레시스토키닌(cholecystokinin, CCK)을 분비하는 세포가 존재할 수 있다. 회장과 대장에서는 글루카곤 유사 펩티드-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1), 글루카곤 유사 펩티드-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2), 펩티드 YY(peptide YY), 뉴로텐신(neurotensin)을 분비하는 세포가 존재할 수 있다. GLP-1은 소장, 회장 및 대장의 세포에서 주로 만들어질 수 있다. GLP-1은 생리학적으로 지방과 탄수화물 등의 음식물과 연관되어 분비가 자극될 수 있다. 또한, GLP-1은 췌장의 베타 세포에 직접 작용하여 세포의 분화와 증식을 자극하고, 인슐린의 분비 및 합성을 증가시킬 수 있다. 또한, 장운동을 억제하며, 위액과 췌장액의 분비를 억제할 수 있다.

본 발명의 조성물은 Rg3과 루틴의 조합을 포함하는 조성물일 수 있다. 상기 조성물은 Rg : 루틴의 몰비는 6.5 내지 7.5: 3, 6.6 내지 7.4: 3, 6.7 내지 7.3: 3, 6.8 내지 7.2: 3, 6.9 내지 7.1: 3, 또는 약 7 대 3일 수 있다. 상기 몰비는 몰농도비일 수 있다. 상기 몰비는 Rg3과 루틴의 상승적 효과를 가져오는 몰비일 수 있다.

본 발명의 조성물은 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물과 함께 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 치료 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 더 함유할 수 있다. 본 발명의 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적으로 허용가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 다른 약학적 활성 화합물과의 결합체나 집합체의 형태로도 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및/또는 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여용 제형일 수 있다. 경구 투여용 제형은 정제, 과립, 캡슐, 분말 또는 분말 제형일 수 있다. 경구 투여용으로 제제화할 경우에는 일반적으로 사용되는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현

탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등을 포함하고, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 경구 투여용 제형은 복용 단위당 약 0.1 ~ 1000 mg/체중kg, 0.1 ~ 800 mg/체중kg, 1 ~ 500 mg/체중kg 또는 100 ~ 300 mg/체중kg의 유효 성분을 포함할 수 있다. 이는 하루 1 내지 6회, 2 내지 5회, 또는 3 내지 4회 투여될 수 있다.

[0034] 비경구 투여를 위한 제제는 흡입 투여용 제형일 수 있다. 흡입 투여용 제형은 분사제를 함유하거나 함유하지 않는 에어로졸 제형일 수 있다.

[0035] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0036] 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물은 1일 0.0001 mg/kg 내지 10000 mg/kg의 양으로 투여할 수 있다. 상기 조성물의 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 또한 수 회 나누어 투여할 수도 있다.

[0037] 본 발명에서, '건강기능식품'이란 질병의 예방 및 개선, 생체방어, 면역, 병후의 회복, 노화 억제 등 생체조절 기능을 가지는 식품을 말하는 것으로, 장기적으로 복용하였을 때 인체에 무해하여야 한다.

[0038] 본 발명의 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물은 당뇨병전증, 당뇨병 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 개선을 목적으로 건강기능식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물은 원료에 대하여 15중량 % 이하, 바람직하게는 10 중량 % 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0039] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0040] 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 0.01 내지 10 g, 바람직하게는 약 0.01 내지 0.1 g 이다.

[0041] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0042] 다른 일 양상은 본 개시에 따른 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 이용하여 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 치료방법은 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다. 상기 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합에 대해

여 상술한 바와 같다. 또한, 상기 당뇨병, 당뇨병으로 인한 합병증에 대하여 상술한 바와 같다.

발명의 효과

[0043] 본 발명에 따른 Rg3, 루틴, 또는 그의 조합을 포함하는 조성물은 인간 장내분비세포 내에서 인크레틴 호르몬 분비를 촉진하며, 그 결과 인슐린 분비 유도에 의한 혈당강하 효과가 있어, 우수한 당뇨병전증, 당뇨병, 또는 당뇨병으로 인한 합병증의 예방 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0044] 도 1은 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 인간 장 내분비세포인 NCI-H716 세포에서의 GLP-1의 분비 촉진 효과를 확인한 결과이다. 통계적 분석을 Student's t-test로 수행하였다. 도 1에서, BSL은 basal로 음성대조군, Q는 2mM 퀴닌(quinine)으로 양성대조군을 나타내며, **는 $P < 0.01$, ***는 BSL 대비 $P < 0.001$, #은 Rg3 단독 또는 루틴 단독 처리군 대비 $P < 0.05$ 임을 나타낸다.

도 2는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 혈당 강하 효과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 GLP-1 분비 촉진 효과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 인슐린 분비 촉진 효과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] 이하 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0046] 실시예 1. 장내분비세포에서 Rg3과 루틴의 GLP-1 분비 촉진 확인

[0047] 1-1. 세포 배양 및 내분비 분화 (endocrine differentiation)

[0048] 인간 장 내분비 세포인 NCI-H716은 한국 세포주 은행 (Korean Cell Line Bank, KCLB® Seoul, South Korea)을 통하여 입수하였다. 입수한 세포를 10% 우태아혈청 (foetal bovine serum; FBS; Lonza, Walkersville, MD, USA) 및 antibiotic-antimycotic solution (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)이 보충된 RPMI 1640 (Lonza, Walkersville, MD, USA) 배지에서 적절한 숫자로 증가할 때까지 배양하였다.

[0049] 그 후 상기 NCI-H716 세포를 내분비 분화시키기 위해, 상기 세포를 매트릭셀 (BD Bioscience, Bedford, MA, USA)이 프리코팅된 플레이트 (Matrigel-precoated plate)에 플레이트팅하고, 10% FBS와 antibiotic-antimycotic solution이 보충된 DMEM 배지 (Dulbecco's modified Eagle's medium; Lonza, Walkersville, MD, USA)에서 48 시간 동안 CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 그 후 상기 배지를 serum-free DMEM 배지로 교체한 후, 추가적으로 12시간 동안 인큐베이션하였다.

[0050] 1-2. 시험 물질의 준비

[0051] Rg3는 Sigma社 (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA), 루틴은 santacruz社 (santacruz biotechnology, Dallas, TX, USA)로부터 각각 구입하였다.

[0052] 1-3. 세포에 시험 물질 처리

[0053] 인간 장내분비세포 (Humon enteroendocrine cell)에 10 μ M의 Rg3, 10 μ M의 루틴, 7 μ M의 Rg3 + 3 μ M의 루틴, 5 μ M의 Rg3 + 5 μ M의 루틴, 3 μ M의 Rg3 + 7 μ M의 루틴을 각각 처리하고 1 시간 동안 세포를 배양하였다. BSL은 1% DMSO를 처리한 경우이고, Q는 2 mM의 퀴닌 (quinine)을 처리한 경우이다.

[0054] **1-4. GLP-1의 분비량 분석**

[0055] GLP-1의 분비량 분석을 GLP-1 ELISA를 통해 수행하였다. 구체적으로, 내분비 분화 세포 배지를 1 mM CaCl_2 와 상이한 약물 구성을 함유한 PBS로 교체하였다. CO_2 인큐베이터에서 1시간동안 인큐베이션 후, 상층액을 수집하여 4℃에서 10분 동안 $1,000 \times g$ 로 원심분리하였다. Human GLP-1 multiplex assay (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용자 매뉴얼에 따라 수행하였다. 각 시료 중 GLP-1 농도를 Bio-Plex® MAGPIX™ Multiplex reader (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 측정하였다. 그 결과를 Bio-Plex Manager software (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 분석하였다.

[0056] 도 1은 각각 Rg3 단독, 루틴 단독, 및 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 인간 장 내분비세포인 NCI-H716 세포에 대한 GLP-1의 분비 촉진 효과를 확인한 결과이다. Q는 2 mM 퀴닌을 처리한 경우를 나타낸다. 도 1에 나타낸 바와 같이 각각 Rg3 단독, 루틴 단독, 및 Rg3과 루틴의 조성물은 대조군에 비하여 인간 장 내분비 세포에서 GLP-1의 분비가 유의적으로 증가하였음을 확인할 수 있고, 또한 양성 대조군과 유사한 GLP-1 분비 촉진 효과가 있음을 확인하였다.

[0057] 또한, 7 : 3의 몰농도로 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 경우, 각각 Rg3 단독, 루틴 단독, 5:5 비율의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물, 및 3 : 7 비율의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물을 처리한 경우에 비하여, 인간 장 내분비 세포에서 GLP-1의 분비가 유의적으로 증가하였음을 확인할 수 있다. 구체적으로 Rg3과 루틴의 비율이 7 : 3인 조성물을 처리한 경우는 Rg3을 단독으로 처리한 경우보다 GLP-1의 분비가 약 10% 이상 증가하였고, 루틴을 단독으로 처리한 경우보다 GLP-1의 분비가 약 24% 이상 증가하였다. 따라서, 7 : 3의 몰농도 비율로 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물은 Rg3 및 루틴 단독을 처리한 경우보다 인간 장 내분비세포 중 GLP-1 분비 촉진에 대하여 상승적인 효과(synergic effect)를 갖는다는 것을 확인하였다.

[0058] **실시예 2. 마우스 모델에서의 혈당강화효과 확인**

[0059] 마우스 모델에서의 혈당강화효과를 확인하기 위하여, 경구 당부하 검사(oral glucose tolerance test; OGTT)를 실시하였다. 경구 당부하 검사는 공복 상태에서 당을 섭취한 후 정맥혈청 혈당의 증가 추이를 측정하며, 당뇨, 내당능장애 또는 인슐린 분비 장애 등의 진단에 이용된다.

[0060] 제 2형 당뇨병모델인 db/db 마우스(Leptin receptor knock-out mice)(35g-39g)를 사용하여 경구 당부하 검사를 실시하였다. 수컷 6주령 db/db 마우스를 대한바이오팅크 (DBL, South Korea)에서 구매하였다.

[0061] 18시간 동안 절식시킨 공복상태의 db/db 마우스의 공복혈당을 측정하였다. 이어서, 각각의 실험군, 대조군, 및 양성대조군에 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물, 메트포르민(Metformin), 및 생리식염수(saline)를 각각 투여하였다. Rg3과 루틴을 포함하는 조성물(30 mg의 Rg3 + 90 mg의 루틴)/kg으로 투여하였으며 양성 대조군으로 메트포르민을 300 mg/kg으로 투여하였다. 그 다음, 각 그룹에 5g/체중kg의 글루코스를 경구 투여하였다. 글루코스 투여 후 10분, 20분, 40분, 90분 및 120분 경과 후 채혈하여 혈당측정기로 혈당 수준을 측정하였다.

[0062] 도 2는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 혈당 강화 효과를 나타낸 그래프이다. 도 2에 나타낸 바와 같이, Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 경구 투여는 생리식염수 투여군과 비교하여 제2형 당뇨병 마우스 모델에서 혈당 강화 효과가 있으며, 현재 당뇨병 치료제로 사용되는 메트포르민과 유사한 혈당 강화 효과를 보인다는 것을 확인하였다.

[0063] **실시예 3. 마우스 모델에서의 GLP-1 분비 촉진 확인**

[0064] 마우스 모델에서의 인슐린 분비 촉진효과를 확인하기 위하여, 실시예 2에서와 같이 경구 당부하 검사를 실시하였다. 구체적으로, db/db 마우스 모델에 30 mg/kg의 Rg3과 90 mg/kg 루틴을 포함하는 조성물, 및 2 g/Kg의 글루코스를 경구 투여후 시간당 혈장 내 GLP-1 농도를 확인하였다. 또한, 생리식염수를 투여한 군을 대조군으로 하고 300 mg/Kg의 메트포르민을 투여한 군을 양성대조군으로 하였다.

[0065] 도 3은 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 GLP-1 분비 촉진 효과를 나타낸 그래프이다. 도 3에 나타낸 바와 같이, Rg3과 루틴을 포함하는 조성물에 의해 당 부하 10분 후 높은 수치의 GLP-1이 마우스 혈장 내로 분비되었다. 따라서, 상기 조성물은 대조군뿐만 아니라 양성대조군에 비하여 우수한 GLP-1 분

비 촉진 효과가 있다는 것을 보인다.

실시예 4. 마우스 모델에서의 인슐린 분비 촉진 확인

마우스 모델에서의 인슐린 분비 촉진효과를 확인하기 위하여, 실시예 2에서와 같이 경구 당부하 검사를 실시하였다. 구체적으로, db/db 마우스 모델에 30 mg/kg의 Rg3과 90 mg/kg 루틴을 포함하는 조성물, 및 2 g/Kg의 글루코스를 경구 투여후 시간당 혈장 내 인슐린 농도를 확인하였다. 또한, 생리식염수를 투여한 군을 대조군으로 하고 300 mg/Kg의 메트포르민을 투여한 군을 양성대조군으로 하였다.

도 4는 제2형 당뇨병 마우스 모델에서의 Rg3과 루틴을 포함하는 조성물의 인슐린 분비 촉진 효과를 나타낸 그래프이다. 도 4에 나타난 바와 같이, Rg3과 루틴을 포함하는 조성물에 의해 당 부하 20분 후 높은 수치의 인슐린이 마우스 혈장 내로 분비되었다. 따라서, Rg3과 루틴을 포함하는 조성물은 상기 마우스 모델에서 GLP-1 분비 촉진 효과를 가지며, 그 결과 인슐린 분비 유도에 의한 혈당 강하 효과를 나타낸다. 따라서, 상기 조성물은 대조군 및 양성대조군에 비하여 우수한 인슐린 분비 촉진 효과가 있다는 것을 보인다.

이하 본 발명의 상기 조성물을 포함하는 약학적 조성물 및 건강기능식품의 제제예를 설명하나, 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

제제예 1. 약학적 조성물의 제제

1-1. 산제의 제조

Rg3과 루틴의 조성물 20 mg

유당 100 mg

탈크 10 mg

상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

1-2. 정제의 제조

Rg3과 루틴의 조성물 10 mg

옥수수전분 100 mg

유당 100 mg

스테아린산 마그네슘 2 mg

상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

1-3. 캡슐제의 제조

Rg3과 루틴의 조성물 10 mg

결정성 셀룰로오스 3 mg

락토오스 14.8 mg

마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

1-4. 주사제의 제조

[0089]	Rg3과 루틴의 조성물 10 mg
[0090]	만니톨 180 mg
[0091]	주사용 멸균 증류수 2974 mg
[0092]	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 26 mg
[0093]	통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
[0094]	<u>1-5. 액제의 제조</u>
[0095]	Rg3과 루틴의 조성물 10 mg
[0096]	이성화당 10 g
[0097]	만니톨 5 g
[0098]	정제수 적량
[0099]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
[0100]	제제예 2. 식품 조성물의 제제
[0101]	<u>2-1. 건강식품의 제조</u>
[0102]	Rg3과 루틴의 조성물 100 mg
[0103]	비타민 혼합물 적량
[0104]	비타민 A 아세테이트 70 μg
[0105]	비타민 E 1.0 mg
[0106]	비타민 B1 0.13 mg
[0107]	비타민 B2 0.15 mg
[0108]	비타민 B6 0.5 mg
[0109]	비타민 B12 0.2 μg
[0110]	비타민 C 10 mg
[0111]	비오틴 10 μg
[0112]	니코틴산아미드 1.7 mg
[0113]	엽산 50 μg
[0114]	판토텐산 칼슘 0.5 mg
[0115]	무기질 혼합물 적량
[0116]	황산제1철 1.75 mg
[0117]	산화아연 0.82 mg
[0118]	탄산마그네슘 25.3 mg
[0119]	제1인산칼륨 15 mg
[0120]	제2인산칼슘 55 mg

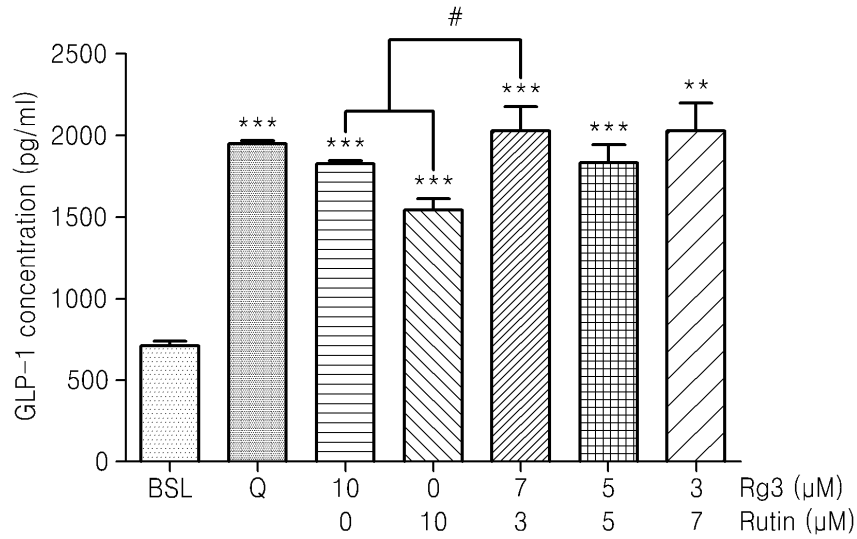
- [0121] 구연산칼륨 90 mg
- [0122] 탄산칼슘 100 mg
- [0123] 염화마그네슘 24.8 mg
- [0124] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0125] **2-2. 건강음료의 제조**

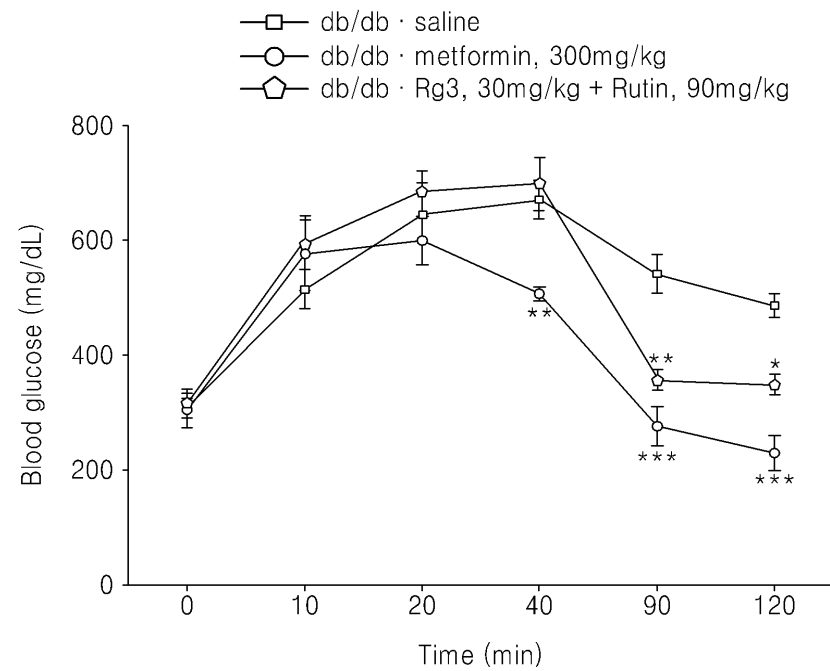
- [0126] Rg3과 루틴의 조성물 100 mg
- [0127] 비타민 C 15 g
- [0128] 비타민 E(분말) 100 g
- [0129] 젖산철 19.75 g
- [0130] 산화아연 3.5 g
- [0131] 니코틴산아미드 3.5 g
- [0132] 비타민 A 0.2 g
- [0133] 비타민 B1 0.25 g
- [0134] 비타민 B2 0.3 g
- [0135] 물 정량
- [0136] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
- [0137] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합조성하였지만 수요계층이나 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.
- [0138] 본 발명은 한국과학창의재단의 연구사업 하에 수행되었다.

도면

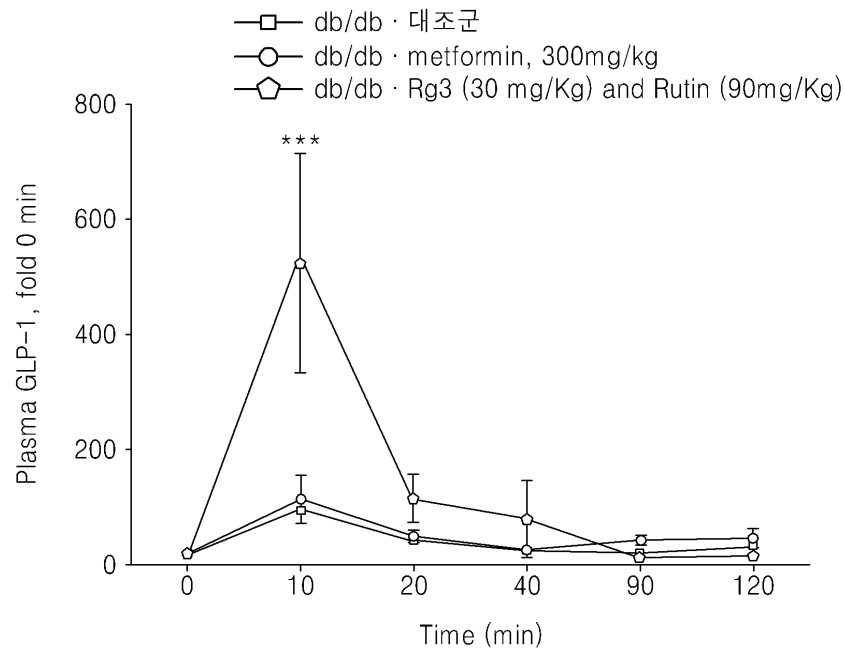
도면1



도면2



도면3



도면4

