



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0099576
(43) 공개일자 2011년09월08일

(51) Int. Cl.

A61K 36/736 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0018679

(22) 출원일자 2010년03월02일

심사청구일자 2010년03월02일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교

대한민국(농촌진흥청장)

경기 수원시 권선구 서둔동 250번지

(72) 발명자

황재관

경기도 고양시 덕양구 화정동 870번지 은빛마을
553-1104

조근애

서울특별시 관악구 삼성동 동마아파트 606호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인세하

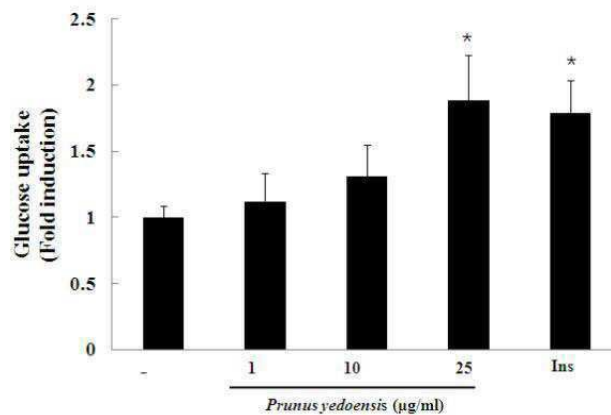
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 왕벚나무 잎 추출물을 포함하는 항당뇨 조성물

(57) 요약

본 발명은 왕벚나무 잎부 추출물 및 이를 함유하는 당뇨 예방, 치료용 조성물에 관한 것으로 상기 추출물은 AMPK 효소를 활성화시킴으로서 글루코스의 세포 내 흡수를 유도하여 혈당강하 효능이 우수하며 당뇨병의 예방, 억제 및 치료에 우수한 효능을 갖는 식품, 의약품 및 사료첨가제로서 유용하다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김대영

경기도 안양시 동안구 부흥동 은하수 청구아파트
105동 105호

박광균

서울특별시 동대문구 이문동 426 삼성래미안아파트
203-1003

이상국

경기도 안양시 동안구 관양1동 현대아파트 10동
1402호

정원윤

서울특별시 마포구 신수동 성원아파트 101동 1501
호

이승은

충청북도 음성군 음성읍 한성진주아파트 105-408

이상원

대전광역시 유성구 지족동 열매마을4단지 계룡아파
트 408동 902호

이은숙

충청북도 청주시 상당구 금천동 110-16

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ007083

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관

연구사업명 바이오그린21

연구과제명 식물자원의 기능성정보 및 추출물 Library 구축 활용

기여율

주관기관 국립원예특작과학원

연구기간 2009년 01월 01일 ~ 2009년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

왕벚나무 잎부 추출물이 함유된 것을 특징으로 하는 당뇨 질환의 예방, 치료용 조성물.

청구항 2

왕벚나무 잎부 추출물을 주성분으로 AMPK 효소를 활성화시키는 것을 특징으로 하는 당뇨 질환의 예방, 치료용 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

왕벚나무 잎부 추출물을 주성분으로 하여 글루코스의 세포 내 흡수를 증가시키는 것을 특징으로 하는 당뇨 질환의 예방, 치료용 조성물.

청구항 4

제3항의 왕벚나무 잎부 추출물을 포함하는 특징으로 하는 당뇨 질환의 예방 치료용 조성물

명세서

기술분야

[0001]

본 발명은 제 2형 당뇨병의 치료 및 예방제에 관한 것으로 왕벚나무 (*Prunus yedoensis* Matsum.) 잎부 추출물을 함유하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 AMP-activated protein kinase 단백질을 활성화시킴으로써 세포 내 포도당 흡수를 증진시켜 당뇨병의 예방 또는 치료에 효과가 있는 왕벚나무 잎부 추출물에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

당뇨병은 인슐린 작용부족으로 고혈당을 비롯한 대사이상인 지속되며, 장래 혈관합병증 발생 가능성이 높은 질환이다. 당뇨병은 크게 1형 당뇨병과 2형 당뇨병으로 나뉘어 질 수 있으며, 1형 당뇨병은 인슐린의존형으로서 면역학적 기전에 의해 췌장 베타세포가 파괴되어 인슐린 생성장애가 오는 면역매개성 1형 당뇨병, 그리고 아직 그 원인이 밝혀지지 않은 특발성 1형 당뇨병으로 구분된다. 2형 당뇨병은 인슐린 저항성과 인슐린 분비장애가 모두 관련되는 질환으로서, 인슐린 저항성이 주된 역할을 하는 형태를 인슐린 저항성 2형 당뇨병, 인슐린 분비장애가 주된 역할을 하는 인슐린 결핍성 2형 당뇨병으로 구분된다. 현재 당뇨병의 90%가 제 2형 당뇨병이며 고혈당 자체도 문제이지만 만성화될 때 동반되는 합병증이 보다 심각하다. 고혈당이 지속됨에 따라 특징적인 혈관장애가 발생하는데, 보통 망막증, 신증, 신경장애의 3대 합병증이 나타나며, 그 외에 동맥경화에 의한 뇌경색, 심근경색, 폐쇄성동맥경화증의 위험율도 높고 기타 감염증에 걸리기도 쉬우므로 당뇨병은 사회경제적으로나 의학적으로 해결해야할 시급한 과제로 대두되고 있다. 현재 제 2형 당뇨병의 치료를 위해 metformin과 thiazolidinedione(TZDs) 계열의 약물이 상당한 유용성을 보이며 사용되고 있으나, 이러한 합성 당뇨병 치료제는 인슐린 저항성 발생 등 당뇨병의 근본적 원인 치료에는 이르지 못하고 있으며, 여러 부작용 또한 보고되어 있어 인슐린 저항성을 근본적으로 해결할 수 있는 보다 효능이 우수하고 안전한 약물의 개발이 절실하게 필요하다.

[0003] AMP-activated kinase protein은 세포의 영양상태나 운동, 스트레스 등에 의해 변화하는 세포의 에너지 상태(ATP/AMP비율)에 반응하여 그 활성이 조절되는 인산화 효소다. AMPK는 세포의 에너지 대사에 관여하는 여러가지 효소들의 인산화를 조절함으로써, 포도당 수송, 지방산 및 콜레스테롤 합성 등의 여러가지 생리활성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 특히 최근 연구에 따르면 운동에 의하여 촉진되는 근육세포에서의 포도당 흡수 촉진에 AMPK는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져있다. 이로부터 AMPK를 활성화시키는 물질은 운동을 하지 않고도 운동을 한 것과 같이 근육세포에서 포도당의 흡수와 소비를 촉진하는 효과를 거둘 수 있음을 시사하고 있다. 당뇨병 치료제로 많이 사용되고 있는 Metformin의 경우, AMPK의 신호전달체계에 영향을 줌으로써, AMPK의 활성화와 이에 따른 ACC2의 인산화/활성저해 및 fatty acid oxidation의 활성증가를 유발하는 것이 밝혀졌다.

[0004] 왕벚나무 (*Prunus yedoensis* Matsum.)는 아시아 지역에서 주로 재배되는 다년생 식물로서 신경성 소화불량, 해독작용 등에 전통적 민간요법으로서 사용되어 왔다. 특히 최근에 껍질의 항염증효과와 멜라닌 합성 억제 효과가 확인되었다. 그러나 아직까지 왕벚나무의 항당뇨 용도에 대해서는 연구 보고된 바가 없다.

[0005]

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에 본 발명자들은 이러한 문제점을 해결할 수 있는 천연 당뇨병 예방 및 치료제를 개발하기 위하여, 민간에서 전통요법으로 사용되어오던 생약제재들을 대상으로 AMPK에 의한 포도당 흡수 촉진 효과에 대해서 조사하였다. 그 결과, 당뇨 질환의 예방, 치료용 배조향 추출물 및 이를 함유하는 치료용 조성물에 대한 본 발명을 완성하게 되었다.

[0007] 또한, 본 발명은 오랫동안 민간에서 안전하게 사용되어 온 식물의 추출물인 안전하고 효과적인 왕벚나무 잎부 추출물의 AMPK 활성화와 그것을 매개로 하는 대사성 질환에 효과가 있는 당뇨 질환의 예방, 치료용 왕벚나무 추출물 및 이를 포함하는 치료용 제제를 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기의 목적을 달성하기 위한 본 발명에 따른 당뇨 질환의 예방, 치료용 왕벚나무 잎부 추출물은, 왕벚나무 잎부 추출물이 포함된 것을 특징으로 한다.

[0009] 그리고, 왕벚나무 잎부 추출물을 주성분으로 하여 AMPK를 활성화시키는 것을 특징으로 한다.

[0010] 또한, 왕벚나무 잎부 추출물을 주성분으로 하여 AMPK에 의한 지방산 산화 촉진을 통한 인슐린 민감성을 증진시키는 것을 특징으로 한다.

[0011] 또한, 상기의 추출물을 주성분으로 하여 AMPK에 의한 세포 내 포도당 수송을 증가시키는 것을 특징으로 한다.

[0012] 또한, 상기의 추출물을 주성분으로 하는 당뇨 질환의 예방 및 치료용 제제를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0013] 또한, 당뇨 개선의 유효성분으로서 상기의 추출물을 포함하는 조성물을 포함하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 왕벚나무 잎부 추출물 및 이를 함유하는 당뇨병 예방 및 치료용 조성물은 AMPK 효소를 활성화함으로써 지방산의 산화를 증가시켜 혈중 지질 및 체지방 감소를 유도, 인슐린 감수성을 증진시키는 기능과 함께 AMPK 효소의 활성화에 의한 세포 내 포도당 흡수를 인슐린 비의존적 방법으로 증가시켜 혈당강하 효능이 우수하여 당뇨병의 예방, 억제, 및 치료에 우수한 효능을 갖는 식품, 의약품 및 사료첨가제로서 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 왕벚나무 (*Prunus yedoensis*) 잎부 추출물을 생쥐 유래 근육세포인 L6 myotube 세포주에 30분간 처리하였을 때, 글루코스의 흡수치를 측정한 결과이다.

도 2는 왕벚나무 (*Prunus yedoensis*) 잎부 추출물을 생쥐 유래 근육세포인 L6 myotube 세포주에 30분간 처리하

였을 때, AMPK 효소와 p38 및 ACC의 인산화 증가양상을 웨스턴 블랏 어세이를 이용하여 확인한 그림이다.

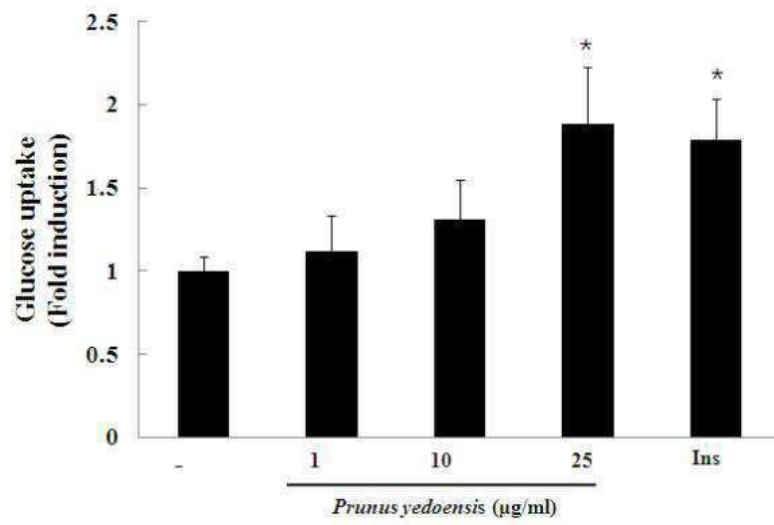
도 3은 생쥐 유래 근육세포인 L6 myotube 세포주에 AMPK 억제제인 Compound C를 30분간 처리한 후 왕벚나무 (Prunus yedoensis) 잎부 추출물을 처리한 후 글루코스 흡수치를 측정하여 왕벚나무 잎부 추출물에 의한 글루코스 흡수촉진이 AMPK에 의한 작용인지를 확인한 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

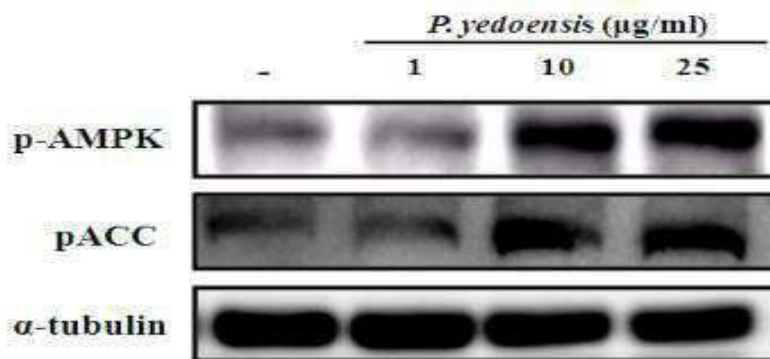
- [0016] 이하 본 발명을 실시예와 시험예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예 및 시험예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 예에 한정되는 것은 아니다.
- [0017] **실시예 1: 왕벚나무 (Prunus yedoensis) 잎부로부터 활성 추출물의 제조**
- [0018] 왕벚나무 잎부를 100% 에탄올을 이용하여 추출하였다. 채취하여 건조시킨 왕벚나무 잎부 30g을 분쇄한 후 추출 용매로 300 ml의 에탄올을 넣은 뒤 상온에서 3 동안 추출하였다. 이 후, 추출 용액을 가속용매 추출장치 등을 이용하여 감압 농축하였다. 농축액을 적당량 취하여 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 희석하여 스탁을 만들어 보관하고 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에 1:1000으로 희석하여 세포주에 처리한다.
- [0019] **시험예 1: L6 myotube 세포의 포도당 흡수치(uptake) 측정**
- [0020] 상기 실시예에서 얻은 왕벚나무 잎부 추출물을 처리한 L6 myotube 세포에서의 글루코스 흡수치(uptake)를 측정하였다. Horse serum을 함유한 배지를 이용하여 L6 myocyte 세포를 myotube로 완전히 분화시킨 후 이를 이용하여 실험을 진행하였다. 완전히 분화된 L6 myotube 세포에 무혈청 배지(GIBCO, Auckland, NZ)로 3시간 동안 배양시킨 후 각각 1, 10, 25 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 왕벚나무 잎부 추출물과 Insulin 100nM을 처리하고 30분간 배양시켰다. 이 후 글루코스의 유사체인 2-NBDG를 40 μM 의 농도로 처리한 후 다시 30분 배양시키고, 형광분광기계를 이용하여 540nm의 파장에서 형광도를 측정하였다. 실험결과, 도 1에 나타난 것과 같이, 왕벚나무 잎부 추출물에 의해 글루코스 흡수치가 증가하는 것을 확인할 수 있었다.
- [0021] **시험예 2: 왕벚나무 잎부 추출물의 AMPK 활성화 효능**
- [0022] 각각 1, 10, 25 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 왕벚나무 잎부 추출물을 분화된 L6 myotube 세포에 30분 처리하였고, 활성화된 형태의 AMPK 항체c, AMPK의 downstream인 p38 항체의 인산화된 p38 (이하 "pp38"이라 칭함) (Cell signaling Technology, Beverly, MA) 및 AMPK의 downstream이자 지방산 합성에 관여하는 중요효소인 ACC의 불활성화된 형태인 인산화된 ACC(이하 "pACC"라 칭함)의 항체(Cell signaling Technology, Beverly, MA)를 준비하였다. 처리 농도에 따른 AMPK 효소 및 pp38과 pACC의 활성화 증가를 확인하기 위하여 웨스턴 블랏 어세이(western blot assay)를 통해 나타내었다. 실험결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 상기의 추출물을 처리한 농도별로 AMPK, p38, ACC 모두 인산화가 증가되는 양상을 보였다.
- [0023] **시험예 3: 왕벚나무 잎부 추출물의 AMPK 활성화를 통한 글루코스 흡수 촉진 효과 검증**
- [0024] 왕벚나무 잎부 추출물의 글루코스 흡수 촉진 효과가 AMPK의 활성화를 통해 이루어지는 지를 확인하기 위하여 AMPK의 억제제로 잘 알려진 Compound C (Cell signaling Technology, Beverly, MA)를 이용하여 확인하였다. 분화된 L6 myotube 세포에 왕벚나무 잎부 추출물 25 $\mu\text{g/ml}$ 와 Compound C 10 μM 을 함께 처리한 후 2-NBDG 40 μM 을 처리하여 글루코스 흡수치를 측정하였다. 도 3에 나타난 것과 같이, 왕벚나무 잎부 추출물로 인해 유도되었던 글루코스 흡수가 Compound C에 의해 억제되었다. 결론적으로, 왕벚나무 잎부 추출물을 AMPK를 활성화시켜 글루코스 흡수를 증가시킨다는 사실을 확인하였다.

도면

도면1



도면2



도면3

