



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2010년12월03일  
 (11) 등록번호 10-0997912  
 (24) 등록일자 2010년11월26일

(51) Int. Cl.  
*A61K 36/515* (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2008-0061463  
 (22) 출원일자 2008년06월27일  
 심사청구일자 2008년06월27일  
 (65) 공개번호 10-2010-0001527  
 (43) 공개일자 2010년01월06일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 KR1020100001538 A

(73) 특허권자  
**한국 한의학 연구원**  
 대전 유성구 전민동 461-24  
 (72) 발명자  
**김진숙**  
 서울 관악구 봉천동1615-17호 반석블레스빌 804호  
**장대식**  
 대전 유성구 전민동 세종아파트 107동101호  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**이원희**

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 신창훈

**(54) 당뇨병병증 치료 및 예방용 약학적 조성물과 건강기능식품**

**(57) 요약**

본 발명은 개망초를 알콜 또는 알콜 수용액으로 추출한 개망초 추출물 및 상기 개망초 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 부탄올, 물로 계통분리하여 얻어지는 에칠아세테이트층 및 부탄올층의 분획물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병병증 치료 및 예방용 조성물과 건강기능식품에 관한 것으로 당뇨병병증 유발 원인 중의 하나인 최종당화산물의 생성을 효과적으로 억제하고, 알도즈 리덕테이즈(알도즈 리덕테이즈)의 비정상적인 활성을 억제하는 효과가 있다.

그러므로 본 발명의 개망초 추출물 및 분획물을 유효성분으로 당뇨병병증 치료, 예방 또는 개선효과, 항산화효능, 노화방지 또는 지연용, 항암예방, 치료용 또는 개선용 조성물 및 건강기능식품 등으로 사용될 수 있다.

**대표도 - 도1**



(72) 발명자

**김영숙**

대전 유성구 장대동 479 번지 장대 푸르지오 109동 203호

**이윤미**

대전 유성구 전민동 360-5, 201호

**손은진**

대전 유성구 하기동 송림마을 5단지 510동1205호

**김정현**

서울특별시 영등포구 양평동1가 238-18

**김찬식**

대전 유성구 전민동 461-24, 한국한의학 연구원 기숙사308호

**김은순**

대전 유성구 관평동 922

**정동호**

대전 동구 가양동 569-27

**김난희**

대전광역시 동구 가양동 569-27번지

**유남희**

대전광역시 서구 도마2동 103-30 대운빌라 301호

**유정림**

대전 중구 태평동 푸른피 아파트 101동 603호

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

개망초의 전초, 또는 꽃, 또는 뿌리, 또는 줄기와 잎을 세절하여 알콜 또는 알콜 수용액으로 추출한 후, 추출된 추출액을 여과하고 감압 농축하여 얻어지는 개망초의 전초 또는 꽃 또는 뿌리 또는 줄기와 잎 추출물; 상기 개망초의 꽃 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 노르말 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 노르말 부탄올로 분획되는 개망초의 꽃 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물; 상기 개망초의 뿌리 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 노르말 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 노르말 부탄올로 분획되는 개망초의 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물; 상기 개망초의 줄기와 잎 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 노르말 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 노르말 부탄올로 분획되는 개망초의 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물에 있어서,

상기 개망초의 전초, 또는 꽃, 또는 뿌리, 또는 줄기와 잎의 추출물, 개망초의 꽃 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물, 개망초의 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물, 개망초의 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물 중 어느 하나의 성분을 유효성분으로 함유하는, 최종당화산물 생성에 의해 유발되는 당뇨합병증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

개망초의 전초, 또는 꽃, 또는 뿌리, 또는 줄기와 잎을 세절하여 알콜 또는 알콜 수용액으로 추출한 후, 추출된 추출액을 여과하고 감압 농축하여 얻어지는 개망초의 전초 또는 꽃 또는 뿌리 또는 줄기와 잎 추출물; 상기 개망초의 꽃 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 노르말 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 노르말 부탄올로 분획되는 개망초의 꽃 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물; 상기 개망초의 뿌리 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 노르말 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 노르말 부탄올로 분획되는 개망초의 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물; 상기 개망초의 줄기와 잎 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 노르말 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 노르말 부탄올로 분획되는 개망초의 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물에 있어서,

상기 개망초의 전초, 또는 꽃, 또는 뿌리, 또는 줄기와 잎의 추출물, 개망초의 꽃 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물, 개망초의 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물, 개망초의 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물 중 어느 하나의 성분을 유효성분으로 함유하는, 최종당화산물 생성에 의해 유발되는 당뇨합병증 예방 및 개선용 건강기능식품.

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

제 1항에 있어서, 상기 최종당화산물 생성에 의해 유발되는 당뇨합병증은 당뇨성 망막병증(diabetic retinopathy), 당뇨성 백내장(diabetic cataract), 당뇨성 신증(diabetic nephropathy) 및 당뇨성 신경병증

(diabetic neuropathy)으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**청구항 8**

제 4항에 있어서, 상기 최종당화산물 생성에 의해 유발되는 당뇨합병증은 당뇨성 망막병증(diabetic retinopathy), 당뇨성 백내장(diabetic cataract), 당뇨성 신증(diabetic nephropathy) 및 당뇨성 신경병증(diabetic neuropathy)으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 건강기능식품.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 개망초를 알콜 또는 알콜 수용액으로 추출한 개망초 추출물 및 상기 개망초 추출물을 핵산, 에칠아세테이트, 부탄올, 물로 계통분리하여 얻어지는 에칠아세테이트층 및 부탄올층의 분획물을 유효성분으로 함유하는 당뇨합병증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 노화방지 또는 지연용 약학적 조성물, 항암 예방 또는 치료용 약학적조성물과 상기의 화합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨합병증 예방 및 개선용 건강기능식품, 노화방지 및 개선용 건강기능식품, 암 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 당뇨병은 전 세계적으로 중요한 성인병 중의 하나로서, 최근 우리나라에서도 급속한 경제 성장과 더불어 당뇨병 유병률이 7 ~ 8%에 달하며, 특히 합병증이 유발되기까지 전반적으로 수명이 길어짐에 따라 당뇨병 환자들은 합병증의 고통을 피할 수 없게 되었다. 일반적으로 당뇨병에 걸린 후 10 ~ 20년이 지나면 체내 거의 모든 기관이 손상을 받아 당뇨성 망막병증(diabetic retinopathy), 당뇨성 백내장(diabetic cataract), 당뇨성 신증(diabetic nephropathy), 당뇨성 신경병증(diabetic neuropathy) 등으로 나타난다. 만성 당뇨성 신증은 혈액 투석 치료 및 말기 신부전의 가장 중요한 원인이 되고 있으며, 당뇨성 백내장은 실명을 초래하고 결국엔 죽음에 이른다.

[0003] 이러한 당뇨합병증을 유발하는 기전으로는 크게 단백질의 비효소적 당화반응(nonenzymatic glycation of proein), 폴리올 경로(polyol pathway) 등으로 설명되고 있다.

[0004] 단백질의 비효소적 당화반응(nonenzymatic glycation of protein)이란, 단백질의 리신 잔기 등의 아미노산 그룹과 환원당이 효소 작용 없이 축합반응 즉 밀리아드 반응에 의한 것으로, 이 반응의 결과로 최종당화산물(advanced glycation endproducts, AGEs)이 생성된다. 단백질의 비효소적 당화반응은 (1)단백질의 리신 잔기 등의 아미노산 그룹과 환원당의 알데히드 또는 케톤이 효소 작용 없이 친핵성 첨가 반응을 하여 초기 단계 산물인 슈프염기(schiff base)를 형성하고, 상기 슈프염기와 인접한 케토아민 어닥트(ketoamine adduct)가 서로 축합하여 가역적인 아마도리형의 조기당화산물이 생성되는 단계와 (2)고혈당 상태가 지속되어 가역적인 아마도리(Amadori)형의 조기당화산물이 분해되지 않고 재배열(rearrangement)되어 단백질과 교차결합(cross-linking)하여 비가역적인 최종당화산물이 생성되는 단계로 나눌 수 있다.

[0005] 가역적인 아마도리형의 조기당화산물과 달리 최종당화산물은 비가역적인 반응 산물이므로, 일단 생성되면 혈당이 정상으로 회복되어도 분해되지 않고 단백질 생존기간 동안 조직에 축적되어 조직의 구조와 기능을 비정상적으로 변화시켜 조직 곳곳에서 합병증을 유발시킨다(Vinson, J. A. et al., 1996, *J. Nutritinal Biochemistry* 7: 559-663; Smith, P. R. et al., 1992, *Eur. J. Biochem.*, 210: 729-739).

[0006] 예를 들면, 포도당과 여러 종류의 단백질이 반응하여 생성된 최종당화산물 중 하나인 당화 알부민은 만성 당뇨성 신증을 일으키는 중요한 요인으로 작용한다. 당화 알부민은 당화가 진행되지 않은 정상 알부민에 비해 더 용이하게 신사구체 세포 내로 유입되고, 고농도의 포도당은 메산지움 세포를 자극하여 세포의 기질(extracellular matrix)합성을 증가시킨다. 과도하게 유입된 당화 알부민과 증가된 세포의 기질로 인하여 신사구체의 섬유화가 야기된다. 이와 같은 기전으로 신사구체가 계속 손상 받게 되어 혈액투석 또는 장기이식 등의 극단적인 치료방법을 쓸 수밖에 없는 단계에 이르게 되는 것이다. 또한, 만성 당뇨로 인하여 동맥벽에서는 콜라겐이, 신사구체에서는 기저막성 단백질이 최종당화산물과 결합되어 조직에 축적됨이 보고된바 있다(Brownlee, M., et al.,

1986, *Sciences*, 232, 1629-1632).

- [0007] 이처럼 비효소적 단백질 당화반응에 의하여 기저막, 혈장 알부민, 수정체 단백질, 피브린, 콜라겐 등의 단백질에서 당화가 일어나며, 생성된 최종당화산물이 조직의 구조와 기능을 비정상적으로 변화시켜 당뇨병 망막병증(diabetic retinopathy), 당뇨병 백내장(diabetic cataract), 당뇨병 신증(diabetic nephropathy), 당뇨병 신경병증(diabetic neuropathy) 등의 만성 당뇨합병증을 유발시킨다.
- [0008] 또한, 고혈당 상태에서 최종당화산물이 생성되는 과정에서 지질대사 이상이 일어나고 동시에 생성되는 유해한 산소 자유라디칼에 대한 방어시스템 기능이 저하되어 산화적 스트레스가 유발된다고 보고된바 있다(Yokozawa, T., et al, 2001, *J. of Trad. Med.*, 18: 107-112). 이처럼 비효소적 당화반응과 산화적 스트레스(oxidative stress) 작용 기전이 서로 연관되어 있다.
- [0009] 최종당화산물은 3가지 종류로 분류된다. 즉 형광을 띠며 cross-linking하는 부류와 형광을 띠지 않으면서 cross-linking 하는 부류와 cross-linking하지 않는 부류로 구분된다(Engvall, E., P. Perlmann. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *J immunochem.* 8:871-874, 1971). 이 중에서 CML (Nε-(carboxymethyl)lysine)은 Amadori product가 산화분해되어 생성되는 주된 최종당화산물로 열화학적으로 안정하고 비교적 단순한 구조를 나타낸다. 대부분의 최종당화산물들이 생성경로가 불명확한 것에 비하여 CML은 생성경로가 구체적으로 밝혀져 많은 연구가 진행 되고 있다. 특히 CML은 그 화학구조가 알려져 있어 CML 특이 항체를 이용한 면역학적 정량법이 많이 보고되고 있다.
- [0010] 이에 최종당화산물 생성 억제 효능이 비교적 우수한 약재 및 화합물에 대하여 AGEs와 CML 특이 항체를 이용한 면역학적 정량법인 ELISA법으로 그 효능을 재확인 하였다.
- [0011] 또한 최종당화산물은 TGF-β와 같은 여러종류의 사이토카인을 과발현하여 합병증을 유발하는데(Cooper, M.E. *Diabetologia*. 44: 1957-1972, 2000). STZ 유도 당뇨병 쥐에서 최종당화산물에 의한 TGF-β 과발현에 대한 영향이 보고되었다(Rumble, J.R., et al., *J. Clin. Invest.* 99: 1016-1027, 1997).
- [0012] TGF-β는 prosclerotic cytokine으로 fibronectin, proteoglycan과 같은 collagen matrix component 합성을 촉진한다(Sharma,K. and Ziyadeh, F.N. *Diabetes*. 44: 1139-1146, 1995) 또한 신사구체에서는 최종당화산물이 TGF-β mRNA와 단백질 및 세포외기질 성분을 활성화하여 합병증을 유발한다.
- [0013] 폴리올 경로란 (1)알도스나 케토스로부터 알도스 환원효소(AR)작용에 의해 환원되어 솔비톨을 형성하는 단계 및 (2)솔비톨이 솔비톨 탈수소효소에 의해 산화되어 과당을 생성하는 단계로 이루어지는 과정이다. 고혈당에 의하여 폴리올 경로가 활성화되고, 이로 인해 솔비톨과 과당이 과도하게 생성되고 조직에 축적되어 삼투압이 증가된다. 증가된 삼투압으로 인하여 수분이 인입되어 당뇨병 망막병증(diabetic retinopathy), 당뇨병 백내장(diabetic cataract), 당뇨병 신경병증(diabetic neuropathy) 등으로 진행된다(당뇨병학, 김응진 외, 대한 당뇨병학회, 고려의학, 483쪽; Soulis-Liparota, T., et al., 1995, *Diabetologia*, 38: 357-394).
- [0014] 최종당화산물이 사람의 미세혈관 내피세포에서 폴리올 경로의 주요소인 알도스 환원효소(AR)를 활성화시키는 것이 보고된바 있다(Nakamura, N., et al., 2000, *Free Radic Biol. Med.*, 29: 17-25). 정상상태에서는 알도스 환원효소가 포도당에 대하여 친화력이 매우 낮지만, 고농도의 포도당에서는 알도스 환원효소가 활성화되어 과도하게 포도당을 솔비톨로 환원시키고, 이 솔비톨이 솔비톨 탈수소효소에 의해 과당으로 전환된다. 이 과당은 포도당에 비하여 단백질의 비효소적 당화반응의 속도가 약 10배 정도 빠르다. 따라서 고농도의 과당이 단백질과 결합하여 결국은 최종당화산물의 형성을 가속화시킨다.
- [0015] 이와 같이 비효소적 당화반응, 폴리올 경로 및 산화적 스트레스(oxidative stress) 작용 기전들이 서로 연관되어 당뇨합병증을 유발시킨다. 따라서, 당뇨합병증의 발병을 지연하거나 예방 또는 치료하기 위해서는 최종당화산물의 형성을 억제하는 것이 매우 중요함이 밝혀졌다(Brownlee, M., et al., 1988, *N. Engl. Med.*, 318, 1315-1321).
- [0016] 현재, 단백질 당화 억제제로 합성제제인 아미노구아니딘(Aminoguanidine)은 친핵성 히드라진(hydrazine)으로 아마도리 산물과 결합하여 단백질과의 교차결합을 방지함으로써 최종당화산물의 생성을 억제하여 합병증으로

진전되는 것을 지연 또는 방지한다(Brownlee, M., et al., 1986, *Sciences*, 232, 1629-1632; Edelstein, D. et al., 1992, *Diabetes*, 41, 26-29). 아미노구아니딘은 당뇨병증의 예방 및 치료에 가장 유망한 합성 의약품으로 제 3상 임상실험까지 진행되었으나, 장기간 투여 시 독성이 유발되는 문제점이 나타나고 있다.

**발명의 내용**

**해결 하고자하는 과제**

[0017] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여 안전하고 효능이 우수한 천연약제로 당뇨병증 유발 원인 중의 하나인 최종당화산물의 생성을 억제하고 알도즈 리덕테이즈의 비정상적으로 과도한 작용을 억제효능이 있는 개망초 추출물 및 개통분리된 분획물을 제공하여 당뇨병증의 예방, 개선, 치료용 약학적 조성물을 제공하는데 그 목적이 있다.

**과제 해결수단**

[0018] 개망초의 전초, 또는 꽃, 또는 뿌리, 또는 줄기와 잎을 세절하여 알콜 또는 알콜 수용액으로 추출한 후, 추출된 추출액을 여과하고 감압 농축하여 얻어지는 개망초의 전초 또는 꽃 또는 뿌리 또는 줄기와 잎 추출물; 상기 개망초의 꽃 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 노르말 부탄올로 분획되는 개망초의 꽃 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물; 상기 개망초의 뿌리 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 부탄올로 분획되는 개망초의 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 부탄올층 분획물; 상기 개망초의 줄기와 잎 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 부탄올, 물 순으로 계통분리하여 에칠아세테이트 또는 부탄올로 분획되는 개망초의 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 부탄올층 분획물에 있어서, 상기 개망초의 전초, 또는 꽃, 또는 뿌리, 또는 줄기와 잎의 추출물, 개망초의 꽃 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 부탄올층 분획물, 개망초의 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 부탄올층 분획물, 개망초의 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층 분획물 또는 노르말 부탄올층 분획물 중 어느 한 항의 성분을 유효성분으로 함유하는 당뇨병증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 노화방지 또는 지연용 약학적 조성물, 항암 예방 또는 치료용 약학적 조성물과 상기의 화합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병증 예방 및 개선용 건강기능식품, 노화방지 및 개선용 건강기능식품, 암 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

**효 과**

[0019] 본 발명의 개망초 전초, 꽃, 뿌리, 줄기와 잎 추출물 및 상기 추출물을 개통분리한 에칠아세테이트층 및 부탄올층 분획물은 당뇨병증 유발 원인 중의 하나인 최종당화산물의 생성을 효과적으로 억제하고, 알도즈 리덕테이즈(Aldose Reductase)의 비정상적인 활성을 억제하는 효과가 있다.

[0020] 그러므로 본 발명은 당뇨병증 치료, 예방 또는 개선효과, 항산화 효능, 항암예방, 치료용 또는 개선용 약학 조성물 및 기능성 식품 또는 건강보조식품 등으로 유용하게 사용할 수 있다.

[0021] 또한, 최종당화산물의 생성을 억제하고 알도즈 환원 효소 활성이 억제되는 경우 산화적 스트레스의 유발 비율이 줄어들어, 산화적 스트레스에 의한 노화의 방지 및 지연용 약학적 조성물 및 기능성 식품으로 응용할 수 있다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

[0022] 본 발명은 개망초를 알콜 또는 알콜 수용액으로 추출한 개망초 추출물 및 상기 개망초 추출물을 헥산, 에칠아세테이트, 부탄올, 물로 계통분리하여 얻어지는 각각의 분획층의 분획물에 관한 것이다.

[0023] 개망초[*Erigeron annuus* (L.) Pers.]는 한국과 중국의 농촌이나 도시에서 흔히 발견할 수 있는 기화식물이며, 예로부터 민간에서는 이 식물의 전초나 지상부를 소화불량, 장염, 전염성간염, 혈뇨증 등의 치료를 위해 사용하여 왔다(Jiangsu College of New Medicine, 1977). 개망초의 2차 대사산물에 대한 연구로는  $\gamma$ -pyranone 유도체(Hashidoko, 1995; Oh et al., 2002; Li et al., 2006), cyclopentenone 유도체(Iijima et al., 2003a),

sesquiterpenoid(Li *et al.*, 2005; Iijima *et al.*, 2003b), flavonoids(Li *et al.*, 2006), triterpenoid(Li *et al.*, 2005) 그리고 phenol 화합물들(Oh *et al.*, 2002; Hashidoko, 1995)이 분리·보고되어있다. 그럼에도 불구하고, 아직까지 이 식물에 존재하는 AGEs 생성이나 AR 저해활성을 가지는 활성물질에 대한 어떠한 연구도 이루어진 적이 없다.

[0024] 이에 본 발명자들은 개망초의 전초 또는 꽃 또는 뿌리 또는 줄기와 잎 추출물 및 상기 추출물들의 에칠아세테이트층, 부탄올층 분획물이 우수한 효과를 나타냄을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0025] 이하, 본 발명을 실시 예를 들어 상세히 설명하면 다음과 같다.

## 실시예

### [0026] 1. 개망초 추출물 및 분획층의 제조방법

[0027] 실험에 사용된 개망초(*Erigeron annuus*)의 꽃은 2006년 6월 대전시 유성구 전민동 일대에서 채집하였으며 증거 표본(no. KIOM-ErAn1)은 한국한의학연구원 한약제제연구부의 식물표본실에 보관 중이다.

#### [0028] 1) 추출 및 농축

[0029] 음건·세절한 개망초 전초의 5배 ~ 10배(w/v)량의 메틸알콜, 에틸알콜 또는 그 알콜 수용액 중 어느 하나를 가하여 상온에서 2-5회 연속 추출한다.

[0030] 상기 개망초 추출액을 여과한 후 감압 상태에서 농축한다. 이때, 구성성분의 분해 및 가수분해를 방지할 수 있도록 농축 시 온도를 40~45℃ 이하로 유지한다.

[0031] 개망초 꽃, 뿌리, 가지와 잎 역시 상기와 동일한 방법으로 추출물을 제조한다.

#### [0032] 2) 개망초 추출액 계통분리 단계

[0033] 상기의 제조방법으로 제조된 개망초의 전초 추출물, 개망초의 잎과 줄기 추출물, 개망초의 뿌리 추출물과 개망초의 꽃 추출물을 도 1에 도시된 바와 같이 노르말 헥산 층, 에칠아세테이트 층, 노르말 부탄올 층, 물 층으로 계통분리를 하여 각각의 추출물의 노르말 헥산 층, 에칠아세테이트 층, 노르말 부탄올 층, 물 층의 분획물을 획득하였다.

### [0034] 2. 본 발명의 최종당화산물 생성억제 효능분석 실험

#### [0035] 1) 시험관 내에서 최종당화산물 생성억제 효능분석 실험

[0036] [실험방법]

[0037] 단백질원(原)으로 소혈청알부민(bovine serum albumin, 이하 BSA라고 한다: 미국 시그마 제품)을 택하였다. BSA를 10 mg/ml의 농도가 되도록 50 mM 인산 완충 용액(phosphate buffer; pH 7.4)에 가하여 제조하였다. 당원(原)으로는 0.2 M 과당과 0.2 M 글루코스가 혼합된 액을 사용하였다. 제조된 BSA 용액에 과당과 글루코스 혼합액을 가하였다. 시료들을 다양한 농도로 제조하여 (모든 화합물을 DMSO에 녹인 후 15% tween 80를 가한다. 이때 총 DMSO의 함량은 0.2%), 이를 상기 BSA 와 당의 혼합액에 첨가하고 37℃에서 14일 간 배양하였다.

[0038] 이때 0.02% 소듐아자이드(sodium azide)와 안티마이코틱스(antimycotics)를 항 박테리아제 및 항진균제로서 첨가하였다. 대조군은 BSA와 당 혼합액을 배양한 것이며, 시험군과 대조군의 공시험군(blank)은 각각 조제한 후 배양하지 않은 것이다. 한편 효능의 우수함을 비교할 수 있는 지표인 양성 대조군으로서 아미노구아니딘을 사용하였다. 모든 배양액은 4 개씩 준비하여 최대한 오차를 피하였다. 14일, 28일 후 각각의 배양액에서 생성된 최종당화산물의 함량을 분석하여 그 결과를 나타내었다. 최종당화산물은 형광, 갈색을 띠고 있으며 교차결합을 할 수 있는 물리화학적 특성을 지니고 있을 뿐 아니라 세포막 수용체가 인지할 수 있는 배위자를 지니고 있다.

이러한 특성을 지닌 최종당화산물의 양을 Microplate reader(Excitation: 350nm, Emission: 450nm)로 측정하여 그 생성 억제 정도를 분석하였다 (Vinson, J.A. et al., *J. Nutr. Biochem.*, 7: 659-663, 1996).

- [0039] 생성억제율은 하기의 식으로 계산된다.
- [0040]  $\text{생성억제율(\%)} = 100 - (\text{시료군의 형광강도} - \text{시료 공시험군의 형광강도}) / (\text{대조군의 형광강도} - \text{대조군 공시험군의 형광강도}) \times 100$
- [0041]
- [0042] -. 양성대조군 : 아미노구아니딘의 최종당화산물 생성억제 효능분석 실험
- [0043] 아미노구아니딘을 증류수에 용해하여 상기에 기재한 방법으로 37°C에서 37  $\mu\text{g/ml}$ , 55.5  $\mu\text{g/ml}$ , 74  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 14일 동안 각각 배양하였다. 14일 후 각각 배양액에서 생성된 최종당화산물의 양을 Microplate reader (Excitation: 350nm, Emission: 450nm)로 측정하였다.
- [0044] [실험결과]
- [0045] 본 발명에 따라 개망초 추출물과 이로부터 계통분리하여 얻은 헥산층, 에칠아세테이트층, 부탄올층, 물층의 분획물을 상기 실험 예를 따라 실험하여 시험관 내에서 최종당화산물 생성 억제 효능을 측정하였으며, 그 결과를 표 1에 나타내었다.
- [0046] 표 1과 같이 본 발명에 따라 개망초 전초, 꽃, 줄기와 잎 및 뿌리 추출물의 최종당화산물 생성억제효능은 각각 IC<sub>50</sub>값이 40.95  $\mu\text{g/ml}$ , 59.69 $\mu\text{g/ml}$ , 38.35 $\mu\text{g/ml}$ 와 77.59  $\mu\text{g/ml}$ 이다. 뿌리 추출물만을 제외한 모든 추출물이 양성대조물질인 아미노구아니딘(IC<sub>50</sub> 값: 71.13  $\mu\text{g/ml}$ )보다 우수하다.
- [0047] 또한, 개망초 꽃, 줄기와 잎 및 뿌리 추출물을 계통분리하여 얻은 헥산층, 에칠아세테이트층, 부탄올층, 물층의 분획물의 경우에는 개망초 꽃 추출물의 에칠아세테이트층과 부탄올층의 IC<sub>50</sub>값이 각각 18.58 $\mu\text{g/ml}$ , 36.26 $\mu\text{g/ml}$ 이며 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층과 부탄올층의 IC<sub>50</sub>값이 각각 7.92 $\mu\text{g/ml}$ , 61.13 $\mu\text{g/ml}$ 이고, 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층과 부탄올층의 IC<sub>50</sub>값이 각각 6.78 $\mu\text{g/ml}$ , 41.4 $\mu\text{g/ml}$ 로 에칠아세테이트층과 부탄올층에서 양성대조물질인 아미노구아니딘보다 최종당화산물 생성억제효능이 훨씬 뛰어남을 알 수 있다.

표 1

시 료	농도 ( $\mu\text{g/ml}$ )		억제율(%)		IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	14 days	28 days	14 days	28 days	14 days	28 days
	개망초 전초의 추출물	2.5 5 50	2.5 10 25	11.48±1.28 12.59±1.70 59.26±1.70	0.77±1.49 7.62±1.07 65.52±0.66	40.9 5
개망초 꽃 추출물	25 50 80	100	6.73±1.32 30.54±0.88 80.26±0.83	27.16±0.99	59.6 9	> 100
개망초 꽃 추출물의 에칠아세테이트층	5 10 25	5 10 25	-8.51±0.74 7.47±1.82 79.92±0.37	-2.17±0.32 6.21±0.32 75.37±0.61	18.5 8	19.15
개망초 꽃 추출물의 부탄올층	10 25 50	10 25 50	-7.51±1.01 27.86±0.88 78.65±0.76	2.51±0.62 21.48±0.36 63.34±0.49	36.2 6	41.94
개망초 꽃 추출물의 헥산층	10 25 50	10 25 50	-23.10±1.36 -24.75±0.43 -24.67±0.76	-18.89±0.54 -12.99±0.54 -14.19±0.80	> 50	> 50

개망초 꽃 추출물의 물층	10	10	-12.49±0.91	-8.34±0.55	> 50	> 50
	25	25	-12.93±0.91	-5.70±0.21		
	50	50	-10.97±0.33	-12.77±0.70		
개망초 뿌리 추출물	12.5	10	5.59±0.44	-0.99±0.35	77.5	> 50
	50	25	25.15±0.92	1.02±0.46	9	
	75	50	51.26±0.63	12.92±0.45		
개망초 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층	2.5	5	8.21±1.09	-1.92±0.32	7.92	16.87
	5	10	20.26±0.44	15.83±0.51		
	10	25	69.17±0.11	87.73±0.15		
개망초 뿌리 추출물의 부탄올 층	25	60	30.97±1.26	13.23±1.68	61.1	84.86
	50	80	42.44±1.36	44.63±1.51	3	
	100	100	72.05±1.91	71.10±1.14		
개망초 뿌리 추출물의 헥산층	10	10	-6.31±0.84	-9.71±0.28	> 50	> 50
	25	25	-4.30±1.18	-10.29±0.37		
	50	50	-5.41±0.62	-9.51±0.84		
개망초 뿌리 추출물의 물층	10	10	0.79±0.71	-5.88±0.19	> 50	> 50
	25	25	10.81±0.20	-6.17±0.33		
	50	50	11.98±0.68	0.29±1.31		
개망초 줄기와 잎 추출물	10	60	7.79±0.49	21.59±3.35	38.3	84.92
	25	80	28.07±0.25	45.71±2.15	5	
	50	100	68.36±0.49	66.03±1.12		
개망초 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층	2.5	5	9.60±0.25	2.61±0.54	6.78	15.93
	5	10	31.41±0.76	27.00±0.35		
	10	25	81.59±0.22	87.67±0.17		
개망초 줄기와 잎 추출물의 부탄올층	10	60	-4.72±1.77	21.59±3.35	41.4	84.97
	25	80	15.09±0.64	45.71±2.15	0	
	50	100	67.62±1.16	66.03±1.12		
개망초 줄기와 잎 추출물의 헥산층	10	10	-15.05±0.64	-10.42±0.07	> 50	> 50
	25	25	-19.34±0.51	-13.67±0.35		
	50	50	-25.89±0.78	-13.07±0.41		
개망초 줄기와 잎 추출물의 물층	10	10	-2.17±0.33	-10.45±0.46	> 50	> 50
	25	25	2.43±0.69	-13.10±0.07		
	50	50	1.60±1.28	-10.58±0.38		
Aminoguanidine(AG)	18.5	18.5	12.70±6.12	14.89±4.11	72.1	91.30
	55.5	37	39.46±1.91	24.93±3.46	2	
	74	92.5	50.68±0.51	50.41±0.41		

[0049] 2) ELISA 법을 이용한 AGEs-BSA 함량 분석

[0050] 최종당화산물 생성 억제 효능이 우수한 본 발명의 개망초 추출물 및 분획물들을 AGEs 특이 항체를 이용한 면역학적 정량법인 ELISA법으로 그 효능을 재확인 하였다.

[0051] [실험방법]

[0052] AGEs-ELISA는 Engvall법으로 수행하였다 (Engvall, E., et al., *J immunochem.*, 1971, 8:871-874). 96 well plate에 시료를 코팅완충액 (50 mM carbonate buffer, pH 9.6)과 1:2 비율로 혼합하여 최종용량이 100  $\mu$ l가 되도록 한 후, 37  $^{\circ}$ C에서 2시간 방치한다. 0.05 % PBST로 세 번 세척한 후 1 % BSA/PBS로 blocking한다. 1시간 방치한 후 0.05 % PBST로 세 번 세척한다. AGE antibody (6D12, TransGenic Inc., Kobe, Japan)를 1:1000으로 희석한 후 well 당 100  $\mu$ l 씩 로딩 후 상온에서 1시간 방치한다. 0.05 % PBST로 세 번 세척 후 HRP-conjugate 2nd antibody (Santa Cruz, USA)를 1:1000으로 희석한 후 100  $\mu$ l를 로딩하여 1시간 방치한다. 0.05 % PBST로 세 번 세척 후 100  $\mu$ l의 기질 3,3',5,5' -Tetramethylbenzidine (TMB)을 첨가한다. 5 분 방치 후 반응 정지 용액 (1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)을 100  $\mu$ l 첨가 후 ELISA reader로 흡광도를 측정한다.

- [0053] [실험결과]
- [0054] (1) Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능 분석
- [0055] 도 2는 28일 동안 개망초 꽃 추출물의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이고, 도 3은 28일 동안 개망초 줄기와 잎 추출물의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이며, 도 4는 28일 동안 개망초 뿌리 추출물의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이다.
- [0056] 도 2 내지 도 4에서 알 수 있듯이 각각 25, 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 유의성 있게 AGEs 생성 억제효과를 보였다.(\*\*\*  $p < 0.001$  vs. unincubated sample. #, ##  $p < 0.05$ , 0.01 vs. incubated sample without *Erigeron annuus*).
- [0057] 도 5, 도 6은 양성대조군인 아미노구아니딘의 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프로, 도 5, 14일 동안 아미노구아니딘(Aminoguanidine)의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이고, 도 6은 28일 동안의 아미노구아니딘(Aminoguanidine)의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프로 각각 모든 농도에서 유의성 있게 AGEs 생성 억제효과를 보였다(\*\*\*  $p < 0.001$  vs. unincubated sample. #, ###  $p < 0.05$ , 0.001 vs. incubated sample without aminoguanidine).
- [0058] 상기의 본 발명의 개망초 추출물과 양성대조군의 아미노구아니딘의 결과를 비교하면 아미노구아니딘은 고농도가 되어야 억제효과가 나타나지만, 본 발명의 개망초 추출물은 아미노구아니딘보다 훨씬 저농도에서 억제효능이 나타남을 알 수 있다.
- [0059] **3) 최종당화산물 (Advanced glycation end products: AGEs)의 교차결합(Cross-link) Inhibition 또는 breaking 효능 검증**
- [0060] 본 발명에 따른 개망초 추출물 및 분획층이 최종당화산물 생성 억제 효능이 생성되기 전 억제(inhibition)하는 것인지 또는 이미 생성된 최종당화산물을 break 하는 것인지, 또는 두 가지 효능을 다 보유하고는 있는지 확인하였다.
- [0061] [실험방법]
- [0062] ① AGEs Cross-link의 inhibition 효능평가를 위한 in vitro assay
- [0063] 1.0  $\mu\text{g}$  AGE-BSA (MBL international, Woburn, MA)와 다양한 농도의 샘플 약물 및 AGEs cross-linking inhibitor로 알려진 약물인 aminoguanifine의 mixture를 준비한 후 collagen-coated 96 well microtitre plate에 분주한 후 37  $^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 incubation한다. 0.05 % Tween in PBS에 3번 washing하여 unattached AGE-BSA를 제거하고, rabbit polyclonal anti-AGE-BSA antibody를 1:250으로 희석하여 각 well 분주한 후 37  $^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 배양한다. 1시간 후 0.05 % Tween in PBS로 3번 수세하고, horseradish peroxidase-linked goat anti-rabbit antibody를 적용한 후 TMB를 substrate로 하여 발색한 후 450 nm에서 흡광도를 측정한다. AGE-BSA의 Cross-linking %는 아래의 수식으로 계산한다.
- [0064]  $\text{AGE-BSA (\%)} = (\text{약물을 첨가한 well의 흡광도} / \text{약물을 첨가하지 않은 well의 흡광도}) \times 100$
- [0065] ② AGEs Cross-link의 breaking 효능평가를 위한 in vitro assay
- [0066] 1.0  $\mu\text{g}$  AGE-BSA를 collagen-coated 96 well microtitre plate에 분주한 후 37  $^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 배양한다. 0.05 % Tween in PBS에 3번 수세하여 unattached AGE-BSA를 제거한 후, 샘플 약물 및 AGEs cross-linking breaker로 알려진 약물인 ALT-711 (4,5-dimethyl-3-(2-oxo-2-phenylethyl)-thiazolium chloride; Alteon Inc., Ramsey, NJ) 을 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 2배씩 연속 희석하여 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 준비한 후 각 well에 triplicate하여 분주하고 37  $^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 배양한다. 이후 각 well을 0.05 % Tween in PBS로 3번 washing하고, collagen과 cross-link되어 남아있는 AGE-BSA를 검출하기 위하여 rabbit polyclonal anti-AGE-BSA antibody (MBL international, Woburn, MA)를 1:250으로 희석하여 각 well 분주한 후 37  $^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 배양한다. 1시간 후

0.05 % Tween in PBS로 3번 수세하고, horseradish peroxidase-linked goat anti-rabbit antibody (Sigma, USA)를 적용한 후 TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine)를 substrate로 하여 발색한 후 450 nm에서 흡광도를 측정한다. AGE-BSA의 breaking %는 위와 같이 동일한 방법으로 계산한다.

- [0067] [실험결과]
- [0068] ○ 아미노구아니딘 (Positive control of cross-linking inhibitor)
- [0069] 도 7은 아미노구아니딘의 cross-linking 억제효능을 나타낸 그래프로 AGE-BSA의 cross-linking inhibitor로 알려진 아미노구아니딘의 경우 약 1mM의 농도부터 유의성 있는 cross-linking inhibition 효능이 있었으며, 약 7 mM의 농도에서 40 %의 inhibition 효능을 나타냈다.
- [0070] ○ ALT-711 (Positive control of cross-linking breaker)
- [0071] 도 8은 ALT-711의 cross-linking 소멸효능을 나타낸 그래프로 AGE-BSA의 cross-linking breaker로 알려진 ALT-711의 경우는 약 0.9 mM의 농도부터 유의성 있는 breaker 효능이 있었으며, 18 mM의 농도에서 45 % 정도의 breaker 효능을 나타냈다.
- [0072] ○ 개망초 추출물
- [0073] 도 9은 개망초 추출물의 cross-linking 억제효능을 나타낸 그래프이고, 도 10은 개망초 추출물의 cross-linking 소멸효능을 나타낸 그래프로 개망초 추출물의 경우 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도부터 cross-linking 억제효능이 나타났으며, 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 대략 50 %의 억제효능을 보였다. 반면에 KIOM-85은 0~500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도 구간에서 breaking 효능은 전혀 없는 것으로 나타났다.

[0074] **4) 본 발명의 알도즈 리덕테이즈 활성 억제 효능분석**

[0075] 개망초의 전초, 꽃, 줄기와 잎, 뿌리 추출물들과 그 핵산층, 에칠아세테이트층, 부탄올 층 및 물 층의 각각 분획물을 시험관내에서 최종당화산물 생성 억제 효능분석 하였다.

[0076] [실험방법]

[0077] Dufrane (1984) 방법으로 SD 랫트(Sprague-Dawley rat, 250-280g)의 안구로부터 천연상태의 aldose reductase를 얻기 위하여, 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0)와 10 mM 2-mercaptoethanol을 적출한 렌즈와 함께 균질기(Homogenizer)와 Sonicater를 이용해 분쇄하였다. 14000 rpm에서 30분간 원심 분리한 다음 상층액을 0.2  $\mu\text{m}$ 의 filter에 여과 후 실험에 사용하였다. 위 과정은 모두 4℃에서 수행하였다. 효소(Enzyme)의 단백질원(原)으로 BSA을 이용하여 라우리(lowry) 방법으로 정량하였다. 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0), 100 mM Lithium sulfate, 0.03 mM NADPH, 0.04 mM DL-glycealdehyde 와 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  enzyme의 mixture를 0.1% DMSO에 녹인 후 각 농도로 희석한 sample 50  $\mu\text{l}$ 에 첨가하여 total volume이 1 ml 되도록 한 뒤 37℃에서 10분간 반응시켰다. 이때 BLK는 0.04 mM DL-glycealdehyde를 첨가하지 않은 mixture를, STD는 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0), 100 mM Lithium sulfate에 50  $\mu\text{l}$  NADP (0.2-5  $\mu\text{M}$ )를 첨가한 것을 사용하였다. Sample 0.3 ml의 0.5 N HCl을 첨가하여 반응을 종료시킨 뒤, 10 mM imidazole이 첨가된 6 M NaOH 1 ml을 가하여 60℃에서 10분간 반응시켜 NADP가 fluorescent product로 전환되는 정도를 측정하였다. sample은 triplicate로 수행하였다. 효능 정도는 Spectrofluorophotometric detector (Bio-TEK, Synergy HT, USA)를 이용하여 Ex. 360 nm, Em. 460 nm에서 측정하여,  $\text{IC}_{50}$  로 나타내었다.

[0078] [비교예 2] 3,3-테트라 메틸렌 글루타릭산의 알도즈 리덕테이즈(알도즈 리덕테이즈) 활성 억제효능

[0079] 비교대조군으로 우수한 알도즈 리덕테이즈(알도즈 리덕테이즈) 활성억제제 중의 하나인 3,3-테트라 메틸렌 글루타릭산을 3.72 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 4.66 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 5.59 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 조제한 후 알도즈 리덕테이즈(알도즈 리덕테이즈) 활성 억제효능을 측정하였다.

[0080] [실험결과]

- [0081] 본 발명에 따라 개망초 추출물과 이로부터 계통분리하여 얻은 핵산, 에칠아세테이트, 부탄올과 개망초 추출물에서 분리한 신규화합물인 Erigeroflavanone 을 상기 실험 예를 따라 실험하여 시험관 내에서 알도즈 리덕테이스 억제 효능을 측정하였으며, 그 결과를 표 2에 나타내었다.
- [0082] 표 2와 같이 본 발명에 따라 개망초 전초, 꽃, 줄기와 잎 및 뿌리 추출물의 최종당화산물 생성억제효능은 각각 IC<sub>50</sub>값이 1.37  $\mu\text{g/ml}$ , 1.58 $\mu\text{g/ml}$ , 2.43 $\mu\text{g/ml}$ 와 0.94  $\mu\text{g/ml}$ 이다. 모든 추출물이 양성대조물질인 trimethylglutaric acid(TMG;IC<sub>50</sub> 값: 5.34  $\mu\text{g/ml}$ )보다 우수하다.
- [0083] 특히 분획층 경우는 에칠아세테이트 층과 부탄올 층이 효능이 우수하다.

**표 2**

[0084]

시 료	농도 ( $\mu\text{g/ml}$ )	억제율 (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
개망초 전초 추출물	1.25	48.22±3.81	1.37
	1.5	50.51±6.23	
	1.75	64.21±6.23	
개망초 꽃 추출물	1.25	41.79±3.90	1.58
	1.5	47.76±2.74	
	1.75	54.33±3.10	
개망초 꽃 추출물의 핵산층	5	22.16±6.64	9.85
	7.5	31.35±5.21	
	10	52.97±3.53	
개망초 꽃 추출물의 에칠아세테이트층	1	40.76±11.46	1.31
	2	69.75±7.04	
	3	71.97±8.56	
개망초 꽃 추출물의 부탄올층	0.25	37.95±6.50	0.96
	0.5	42.72±5.01	
	1	50.60±2.58	
개망초 꽃 추출물의 물층	20	39.11±8.23	24.71
	25	54.84±3.70	
	30	57.66±4.84	
개망초 뿌리 추출물	0.5	31.77±4.37	0.94
	0.75	43.48±8.35	
	1	51.84±3.48	
개망초 뿌리 추출물의 핵산층	15	47.51±3.11	15.82
	17.5	55.22±2.99	
	20	77.61±10.26	
개망초 뿌리 추출물의 에칠아세테이트층	0.5	22.76±4.30	0.71
	0.75	60.16±7.76	
	1	79.13±9.42	
개망초 뿌리 추출물의 부탄올층	15	47.99±5.77	16.99
	20	52.90±4.46	
	25	59.38±2.05	
개망초 뿌리 추출물의 물층	40	5.80±10.14	> 40
개망초 줄기와 잎 추출물	1	37.25±9.44	2.43
	2.5	50.2±6.48	
	5	73.73±2.45	
개망초 줄기와 잎 추출물의 핵산층	5	35.51±8.54	8.06
	7.5	42.51±0.42	
	10	62.80±9.06	

개망초 줄기와 잎 추출물의 에칠아세테이트층	0.25	23.74±8.08	0.74
	0.5	29.61±7.99	
	0.75	53.91±5.10	
개망초 줄기와 잎 추출물의 부탄올층	0.75	42.19±3.91	0.84
	1	65.10±5.20	
	1.25	69.01±1.80	
개망초 줄기와 잎 추출물의 물층	15	38.89±8.40	20.44
	20	45.41±5.53	
	25	62.56±4.66	
Trimethylglutaric acid(TMG)	3.72	31.42±5.71	5.34 (28.7 μM)
	5.59	56.42±9.60	
	7.45	69.69±8.15	

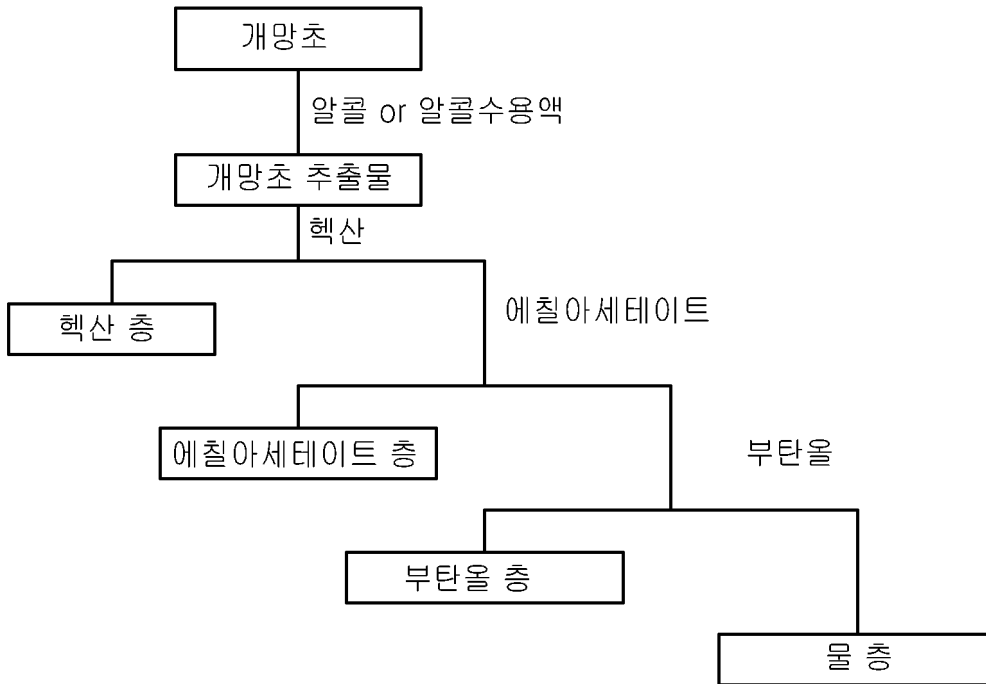
- [0085] 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 개망초 전초, 꽃, 뿌리, 줄기와 잎 추출물 및 각각의 추출물의 핵산, 에칠아세테이트, 부탄올, 물로 계통분리한 분획물중 에칠아세테이트층 과 부탄올 층의 분획물들은 당뇨병 증 유발 원인 중의 하나인 최종당화산물의 생성과 알도즈 리덕테이즈를 효과적으로 억제하는 효과가 있다.
- [0086] 이에 따라, 본 발명에 따른 개망초 추출물 및 분획물이 최종당화산물의 생성과 알도즈 리덕테이즈를 억제하는 효능이 있어 당뇨병증 예방 및 치료를 위한 약학적 조성물 및 건강기능식품으로도 응용될 수 있다.
- [0087] 또한, 최종당화산물의 생성을 억제하는 경우 산화적 스트레스의 유발 비율이 줄어들어, 산화적 스트레스에 의한 노화의 방지 및 지연용 약학적 조성물 및 건강기능식품으로도 응용될 수 있을 것이다.
- [0088] 또한, 최종당화산물이 발암(carcinogenesis)을 유발함이 이미 보고되었는바(Tokuda, H., et al., 2005. Book of Abstract of 53rd GA Congress joint with SIF, P076). 이로써 본 발명에 따른 개망초 추출물 및 분획물이 항암예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품으로도 응용될 수 있을 것이다.

### 도면의 간단한 설명

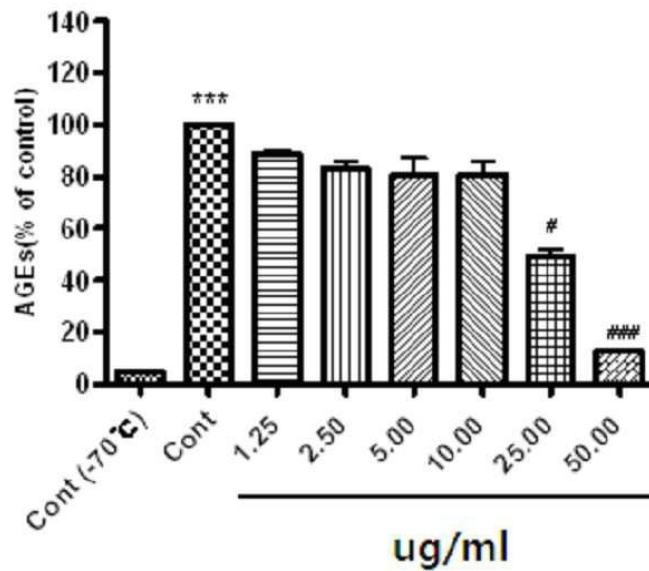
- [0089] 도 1은 개망초의 추출 및 계통분리를 나타낸 도이다.
- [0090] 도 2는 28일 동안 개망초 꽃 추출물의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이다.
- [0091] 도 3은 28일 동안 개망초 줄기와 잎 추출물의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이다.
- [0092] 도 4는 28일 동안 개망초 뿌리 추출물의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이다.
- [0093] 도 5는 14일 동안 아미노구아니딘(Aminoguanidine)의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이다.
- [0094] 도 6은 28일 동안 아미노구아니딘(Aminoguanidine)의 Indirect ELISA법에 의한 AGEs-BSA 생성 억제 효능을 나타낸 그래프이다.
- [0095] 도 7은 아미노구아니딘의 cross-linking 억제효능을 나타낸 그래프이다.
- [0096] 도 8은 ALT-711의 cross-linking 소멸효능을 나타낸 그래프이다.
- [0097] 도 9는 개망초 추출물의 cross-linking 억제효능을 나타낸 그래프이다.
- [0098] 도 10은 개망초 추출물의 cross-linking 소멸효능을 나타낸 그래프이다.

도면

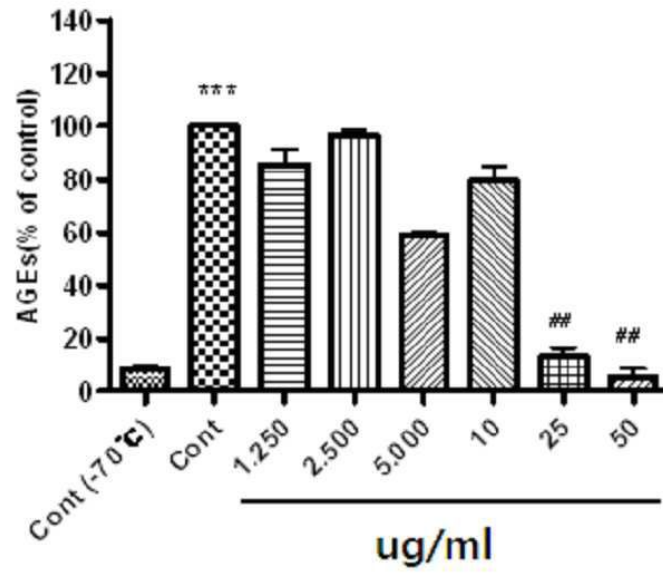
도면1



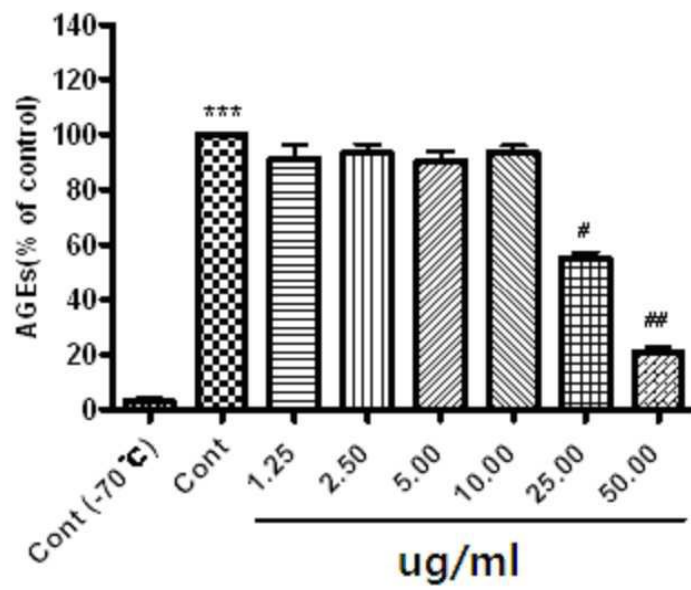
도면2



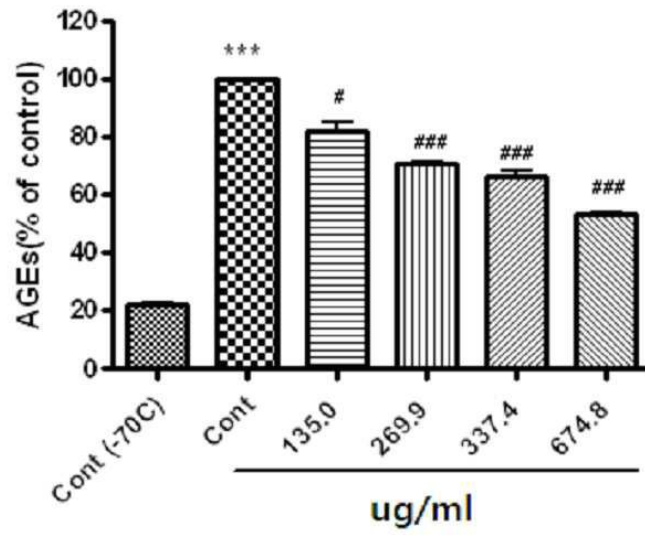
도면3



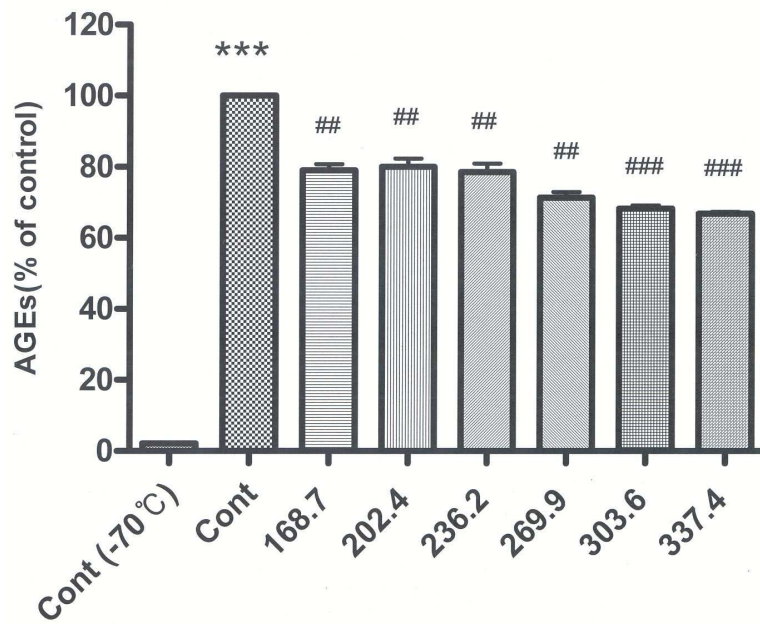
도면4



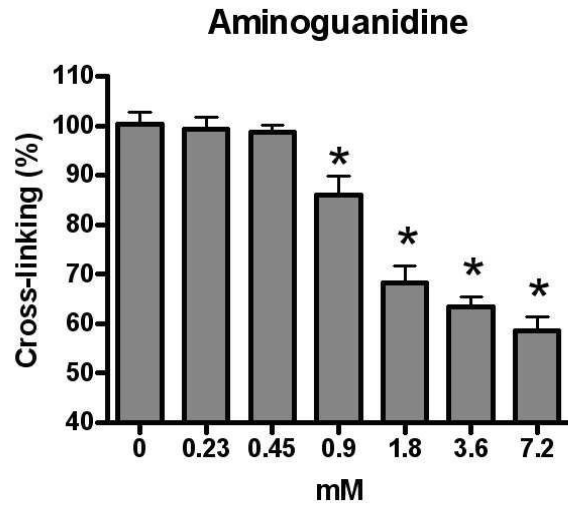
도면5



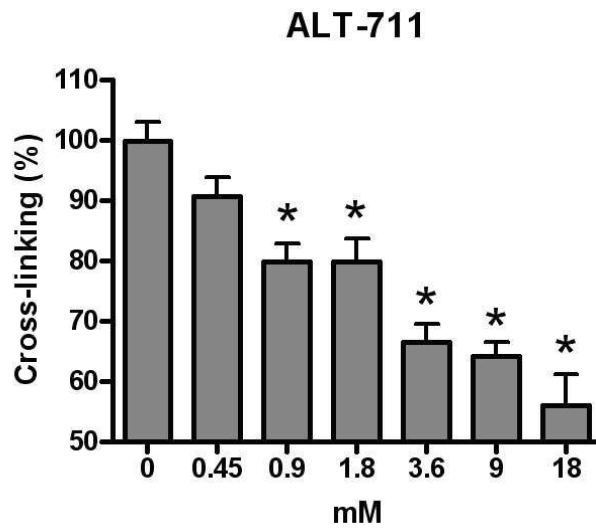
도면6



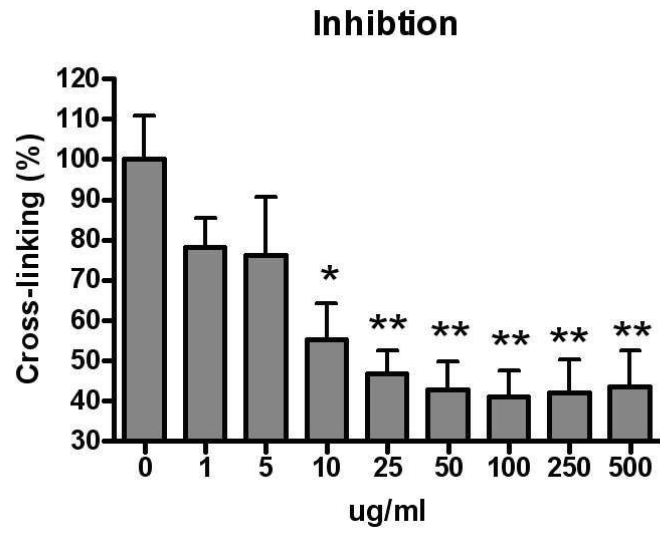
도면7



도면8



도면9



도면10

