(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0042283
(43) 공개일자 2016년04월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/64 (2015.01)
(21) 출원번호 10-2014-0135592
(22) 출원일자 2014년10월08일
심사청구일자 2014년10월08일

(71) 출원인
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 완산구 농생명로 300 (중동)
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
윤은영
경기 화성시 봉담읍 동화길 122, 608동 1003호 (휴먼시아6단지아파트)
황재삼
경기도 화성시 향남읍 행정리 향남택지지구 향남지웰APT 1205동 1703호(행정중앙1로 61)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인, 나동규

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **흰점박이 꽃무지 유충 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물**

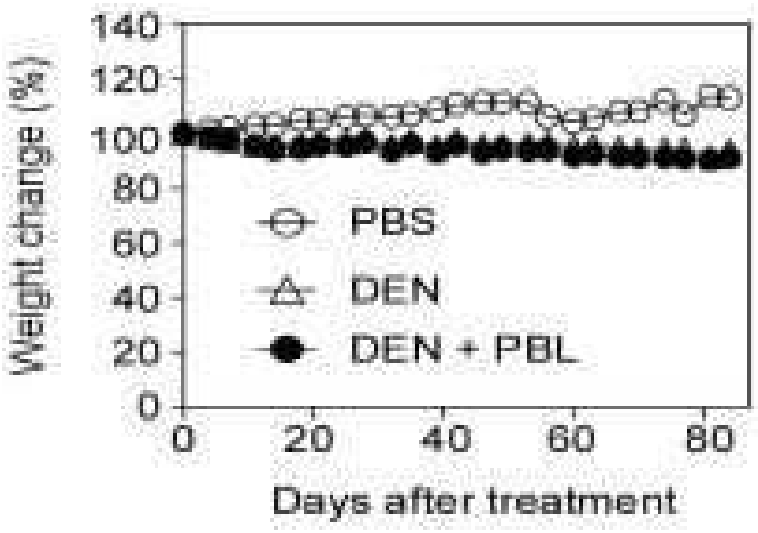
(57) 요 약

본 발명은 흰점박이 꽃무지 유충 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 항암효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물의 제조방법은, 흰점박이 꽃무지 유충을 고압멸균한 한 후 이를 동결건조 한 다음, 이를 분쇄하는 제1단계, 상기 제1단계에서 분쇄된 흰점박이 꽃무지 유충분말과 에탄올을 혼합하여 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 제조하는 제2단계, 상기 제2단계에서 제조된 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물로 순차적으로 분획하여 분획물을 얻는 제3단계를 포함하는 것이 특징이다.

본 발명에 의해, 흰점박이 꽃무지 유충, 또는 이들의 분획물을 유효성분으로 포함하여, 항암용 조성물이 제공된다.

대 표 도 - 도1a



(72) 발명자

구태원

경기 화성시 봉담읍 동화길 122, 608동 1003호 (휴먼시아6단지아파트)

강병헌

울산 울주군 언양읍 유니스트길 50, 공학1관 701-7호

이지은

울산 남구 두왕로174번길 72, 강남그린 1011호 (선암동)

조다은

울산 동구 녹수12길 16, 1동 307호 (전하동, 현대3단지아파트)

이안중

울산 울주군 언양읍 유니스트길 50, 기숙사 309동 1417호 (울산과학기술대학교)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2011년도 생명산업기술개발사업(311006-3)
부처명	농촌진흥청
연구관리전문기관	국립농업과학원
연구사업명	곤충자원의 식약용 소재화를 위한 약리성 검정 및 독성평가
연구과제명	곤충자원의 식약용 소재화를 위한 최적조건 확립 및 기능검정, 곤충추출물의 간암모델에서의 약리활성 검증
기 여 율	1/1
주관기관	국립농업과학원
연구기간	2011.08.19 ~ 2014.08.18

명 세 서

청구범위

청구항 1

암예방 및 치료효과를 나타내는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 유래 분획물을 유효성분으로 함유하는,

항암용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 분획물은 상기 흰점박이 꽃무지 유충을 에탄올로 추출한 후 이를 분획하여 얻은 헥산 분획물 또는 에틸아세테이트 분획물 중 어느 하나 이상으로 이루어진,

항암용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 암은 전립선암, 자궁암, 간암, 직장암, 폐암, 유방암, 및 난소암 중 선택된 1종 이상인 것이 특징인,

항암용 약학 조성물.

청구항 4

암예방 및 개선효과를 나타내는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 유래 분획물을 유효성분으로 함유하는,

식품 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 분획물은 상기 흰점박이 꽃무지를 에탄올로 추출한 후 이를 분획하여 얻은 헥산(hexane)분획물 또는 에틸아세테이트(EtOAc)분획물 중 어느 하나 이상으로 이루어진,

식품 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 암은 전립선암, 자궁암, 간암, 직장암, 폐암, 유방암, 및 난소암 중 선택된 1종 이상인 것이 특징인,

식품 조성물.

청구항 7

흰점박이 꽃무지 유충을 고압멸균한 한 후 이를 동결건조 한 다음, 이를 분쇄하는 제1단계;

상기 제1단계에서 분쇄된 흰점박이 꽃무지 유충분말과 에탄올을 혼합하여 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 제조하는 제2단계 및,

상기 제2단계에서 제조된 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물로 순차적으로 분획하여 분획물을 얻는 제3단계;를 포함하는,

항암효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 제2단계의 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물은 상기 에탄올 12ℓ당 상기 분쇄된 흰점박이 꽃무지 유충분말 10~12kg을 혼합시키는 것을 특징으로 하는,

항암효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물의 제조방법.

청구항 9

제7항 또는 제8항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물을 유효성분으로 포함하는, 항암용 조성물.

청구항 10

제9항의 항암용 조성물은 전립선암, 자궁암, 간암, 직장암, 폐암, 유방암, 및 난소암 중 선택된 1종 이상의 예방 및 개선용 식품 조성물 또는 전립선암, 자궁암, 간암, 직장암, 폐암, 유방암, 및 난소암 중 선택된 1종 이상의 예방 및 치료용 약학 조성물로 사용되는,

항암용 조성물의 사용방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 흰점박이 꽃무지 유충 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 흰점박이 꽃무지 유충을 암을 예방 및 치료를 위한 약학 조성물로 사용할 수 있을 뿐 아니라 식품류 및 차 등의 식품조성물로서도 유용하게 사용가능하도록 한 흰점박이 꽃무지 유충 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 환경의 악화와 노년인구의 증가로 세계 암 발생률이 매년 5%이상 증가하고 있으며, 1997년 암을 원인으로 한 사망자가 600만 명으로 세계 사망률의 12%에 달했다. 국내에서도 매년 10만 명의 암환자가 새롭게 발생하고 5만여 명이 매년 사망하고 있으며, 암환자 증가율도 10%에 이르고 있다. 1999년 국립암센터의 통계에 따르면 환자는 12만 명으로서 남자는 위암(24%), 간암(16%), 폐암(16%), 대장암(10%)의 순서이며, 여자는 위암(16%), 자궁경부암(12%), 유방암(15%), 대장암(10%)의 순서로 암 환자가 발생했다.

[0003] 이 중 간암(Hepatocellular carcinoma, HCC)은 6번째로 흔하게 진단되어지는 악성종양으로, 암으로 인한 사망률

에서는 3번째에 랭크되어 있는 질환이다. 현재, HCC에 대한 주요한 치료기법으로는 외과적인 수술, 간이식, 부분절제 등이 일반적으로 사용되고 있으나, 많은 경우의 진행된 HCC에 대해서는 뚜렷한 치료법이 없는 상황이다. 더욱이, HCC를 치료하기 위해 활용할 수 있는 약효가 좋은 항암치료제가 없는 실정으로, 넥사바(sorafenib)가 HCC치료에 제한적인 약효임에도 불구하고 처방되고 있다.

[0004] 또한, 지금까지 항암제 연구는 암세포처럼 세포분열이 왕성한 조직에 대한 세포독성을 근거로 하여 행하여지기 때문에 세포분열이 빠른 피부, 점막, 골수 같은 정상조직 세포에도 독성을 나타내게 된다. 따라서 효과적인 항암제 개발을 위해서는 암세포에만 특이적으로 작용하고 정상세포에 대해서는 독성이 적은 항암 활성물질의 탐색이 이루어져야 한다. 현재 식물과 미생물 등에서 추출한 항암물질에 대한 연구가 많이 진행되고 있으나, 이들 대부분이 미생물의 2차 대사산물이거나 생약재에서 추출된 물질에 관한 연구가 주를 이루고 있다.

[0005] 관련 선행기술로는 한국공개특허 10-2005-0051180호 "밀리타리스 동충하초 추출물을 함유하는 항암용 조성물"에 관한 것이 공개되어 있다.

[0006] 그러나, 아직까지는 흰점박이 꽃무지 유충을 대상으로 유효성분을 추출해 내어 이를 포함하는 항암용 조성물에 대해서는 알려진 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 여러 곤충들 중 흰점박이 꽃무지를 대상으로 항암효능을 나타내는 성분을 함유하고 있는지를 확인한 후, 이를 통하여 상기 흰점박이 꽃무지의 다양한 유용성을 밝히는데 그 목적이 있다.

[0008] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 항암용 약학적 조성물은 암예방 및 치료효과를 나타내는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 유래 분획물을 유효성분으로 함유하는 것이 특징이다.

[0010] 또한, 본 발명의 식품 조성물은 암예방 및 치료효과를 나타내는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 유래 분획물을 유효성분으로 함유하는 것이 특징이다.

[0011] 상기 분획물은 상기 흰점박이 꽃무지 유충을 에탄올로 추출한 후 이를 분획하여 얻은 헥산 분획물 또는 에틸아세테이트 분획물 중 어느 하나 이상으로 이루어진 것이 특징이다.

[0012] 상기 암은 전립선암, 자궁암, 간암, 직장암, 폐암, 유방암, 및 난소암 중 선택된 1종이상인 것이 특징이다.

[0013] 본 발명의 항암효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물의 제조방법은, 흰점박이 꽃무지 유충을 고압멸균한 한 후 이를 동결건조 한 다음, 이를 분쇄하는 제1단계, 상기 제1단계에서 분쇄된 흰점박이 꽃무지 유충분말과 에탄올을 혼합하여 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 제조하는 제2단계, 상기 제2단계에서 제조된 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물로 순차적으로 분획하여 분획물을 얻는 제3단계를 포함하는 것이 특징이다.

[0014] 상기 제2단계의 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물은 상기 에탄올 12ℓ당 상기 분쇄된 흰점박이 꽃무지 유충분말 10~12kg을 혼합시키는 것이 특징이다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 의해, 흰점박이 꽃무지 유충, 또는 이들의 분획물에서 항암활성이 실제로 존재함을 생화학적, 세포생물학적 분석방법으로 확인함으로써, 향후 항암활성을 가진 물질을 분리할 수 있는 가능성이 있게 된다.

[0016] 또한, 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물의 자가소화작용(autophagy) 유도 활성을 확인함으로써, 세포죽음조절뿐만 아니라 세포보호 효과를 줄 수 있는 활성물질을 분리할 수 있는 가능성을 제시할 수 있게 된다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1A는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 마우스 몸무게 변화를 나타낸 도면이다.

: 50mg/kg DEN 또는 PBS는 복강투여로 일주일에 한번 수행하고 0.5g/kg PBL 분말 또는 saline은 설명한 것처럼 경구를 통한 위관영양법으로 주입하였다. 나타낸 몸무게 변화는 DEN 처리 전 몸무게와 비교하여 나타내었다.

도 1B, 1C, 1D는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 혈액분석결과를 나타낸 도면이다.

: DEN을 처리한 5주 또는 10주 마우스로부터 혈장 샘플을 수집하고 ALP, ALT, AST의 효소 활성을 측정하였다.

도 1E는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 간의 헤마톡실린과 에오신 염색을 통해 나타낸 도면이다.

: PBL분말을 주입하거나 주입하지 않은 DEN을 처리한 지 13주된 마우스를 죽여 간을 분리하였다. 간 조직은 헤마톡실린과 에오신으로 염색하였다.

도 1F는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 간에서 관들의 수와 크기의 정량을 나타낸 도면이다.

: 50㎛보다 크거나 작은 관들의 수는 H&E 염색을 수행한 간 이미지를 현미경 하에 셈을 하였다.

도 2A는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 비대해진 간세포를 나타낸 도면이다.

: DEN과 PBL분말을 처리한 간 조직은 H&E 염색을 통해 나타내었다.

도 2B는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 간에서 지방 축적정도를 나타낸 도면이다.

: 간에서 지방축적은 H&E 염색으로 분석하였으며, 50㎛ 보다 큰 액포는 비정상적인 지방축적으로 간주하고 정량하였다.

도 2C는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 간 조직의 TUNEL 염색하여 나타낸 도면이다.

: 간 조직은 TUNEL 염색에 의해 분석하였으며, 현미경 필드당 TUNEL 양성반응을 나타내는 세포를 평균내었다.

도 2D는 실시예1의 PBL분말의 간보호효과를 확인하고자 Ki-67 염색하여 나타낸 도면이다.

: 간 조직은 Ki-67을 이용한 면역조직화학법에 의해 실험하였으며, 현미경 필드당 Ki-67 양성반응을 나타내는 세포를 평균내었다. 현미경 이미지는 최소한 4개의 다른 필드에서 분석하고 정량하였다.

도 3A는 HepG2에서 실시예2의 PBL분말 유래 분획물들의 세포독성효과를 나타낸 도면이다.

: HepG2 세포는 지시된 농도로 24시간 동안 분획물들을 처리하였으며, 세포생존능은 MTT에 의해 분석하였다.

도 3B는 정상적인 간세포에서의 세포독성을 나타낸 도면이다.

: 마우스 간으로부터 분리된 간세포는 지시된 농도로 24시간 동안 분획물들을 처리하였으며, 세포생존능은 MTT에 의해 분석하였다.

도 3C는 다양한 세포 형태에서의 세포독성을 나타낸 도면이다.

: 인간 전립선(PC3 and 22Rv1), 자궁근종(HeLa), 간(PLC/PRF5, HepG2, and Hep3B), 결장(HCT116), 폐(NCI-H460), 유방(MDA-MB-231), 그리고 난소(SK-OV3)로부터 유래한 암세포는 2mg/ml의 농도에서 24시간 동안 분획물들을 처리하고 MTT로 분석하였다.

도 4A는 SK-HEP-1과 HepG2의 FACS 분석결과를 나타낸 도면이다.

: 실시예 2의 PBL 분말 유래 헥산, 에틸아세테이트 그리고 부탄올 분획물 2mg/ml씩을 24시간 동안 처리하였으며, 세포들은 FLICA-DEVD-fmk와 propidium iodide로 표지하고 FACS로 분석하였다.

도 4B는 미토콘드리아 막 전위를 나타낸 도면이다.

: HepG2 세포는 TMRM으로 표지하고 실시예 2의 PBL 분말 유래 헥산, 에틸아세테이트 그리고 부탄올 분획물 2mg/ml로 처리하였다. 세포는 형광현미경으로 이미지 하였다.

도 4C는 막 전위의 정량을 나타낸 도면이다.

: TMRM으로 표지된 HepG2 세포의 형광이미지는 DMSO를 대조군으로 비교하여 분석하였다.

도 5A 및 도 5B는 자가포식소체(Autophagosome) 유도능을 나타낸 도면이다.

: LC3-GFP가 감염(transfect)된 세포는 실시예 2의 PBL 분말 유래 에틸아세테이트 (6시간), 헥산 (24시간), 부탄올(24시간) 분획물을 1mg/ml로 주어진 시간 동안 처리하고 형광현미경으로 분석하였다.

도 5C는 LC3 접합(conjugation)의 웨스턴 블랏(Western blot) 분석을 나타낸 도면이다.

: 세포는 24시간동안 1mg/ml로 처리하였고 western blotting으로 분석하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명을 상세하게 설명하며, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 상세한 설명은 생략한다.

[0019] 설치류에서 어떤 독성 화학물의 지속적인 투여는 인간의 간암 발달 과정을 모방한 지방간, 간의 염증, 간경변, 최종적으로는 암을 유도할 수 있다. DEN(diethylnitrosamine)은 인간간질환의 조직학적 유전학적 특성과 비슷한 간독성을 유도할 수 있는 유전독성물질이다.

[0020] 주로 간에서 발현되는 시토크롬(cytochrome) P450은 간세포에서 약물을 활성화시키기 위해 DEN을 수산화시켜 활성산소종을 증가시키고 DNA를 손상시킨다. DEN을 처리한 설치류 모델은 생체 내에서 생물활성물질의 간보호와 항종양 활성을 실험하기 위해 널리 이용되고 있다.

[0021] 대부분의 간암 환자들은 B, C 간염바이러스에 의한 바이러스 감염, 알코올성 간질환, 지방간과 같은 만성 간질환을 가지고 있다. 만성 간질환은 간암환자의 80% 이상이 간경변 상태에 있다고 고려되는데 간암의 중요한 위험인자 중 하나로서 간경변으로 진행할 가능성이 크다. 전신화학요법은 수술을통해 제거할 수 없는 진행된 간암세포를 가진 환자들을 치료하는데 효과적이지 않은 반면 간 수술은 간암환자를 치료할 수 있는 가장 효과적인 방법이다. 소분자멀티키나제로 알려진 Sorafenib은 간암환자에 대한 이로운 효과들을 제한하는 것으로 보여진다.

[0022] 이에 본 발명에서는 상기 문제점을 해소하기 위해 여러 연구한 결과, 천연물질 중 특히 통상적으로 간질환에 효과가 있다고 알려진 흰점박이 꽃무지(Protaetia brebitarsis)가 항암활성을 나타내는지를 확인하고자 한다.

[0023] 우선, 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva, 이하 PBL이라 명명함)의 동결건조분말과 이들의 분획물들을 준비하였다. PBL의 경구투여는 생체 내 마우스 모델에서 DEN이 유도하는 간 손상을 줄였다. PBL 분획물은 생체 외 실험에서 간 암세포 주에 대해 세포자살과 자식작용을 통한 세포독성활성을 보여준다.

[0024] 다시 말해 PBL이 만성적인 간 손상에서 간암으로 이어지는 것을 억제시키는 이로운 효과뿐 아니라 항암활성을 가지는 물질을 포함시킴을 알 수 있다.

[0025] 이하, 본 발명인 항암 효과를 갖는 흰점박이 꽃무지의 분획물의 제조방법을 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0026] 1. 제 1단계; 흰점박이 꽃무지 유충 분쇄

[0027] 본 발명은 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)을 준비한다.

[0028] 설명하면, 상기 흰점박이 꽃무지(Protaetia brebitarsis)는 딱정벌레목 꽃무지과에 속하는 곤충으로, 한국, 일본, 러시아 등에 분포하며 성충은 늦봄부터 가을까지 볼 수 있으나 한여름에 많이 활동하며, 참나무의 진뿐만 아니라 자두나무, 살구나무, 포도나무 등에도 모이며 수박과 같은 과일에도 잘 모이는 것으로 알려져 있다.

[0029] 흰점박이꽃무지의 몸 길이는 보통 17~22㎜이며, 몸은 광택이 강한 녹갈색이나 구릿빛 또는 붉은빛을 띠는데 녹색, 남색, 흑남색, 흑자색 등의 변이도 있다.

[0030] 이러한 상기 흰점박이 꽃무지(Protaetia brebitarsis)는 항암효과를 나타내는 유효성분이 최대로 함유되어 있는

흰점박이 꽃무지 유충을 사용하는 것이 좋다.

[0031] 상기 준비된 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)은 고압멸균한 후 이를 동결건조 한 다음, 이를 분쇄하여 분말형태로 제조한다.

[0032] 다시말해, 상기 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)에는 다량의 수분이 함유되어 있기 때문에 수분이 완전히 없는 상태로 만들기 위해서는 건조과정을 거쳐야 한다. 이때, 상기 흰점박이 꽃무지가 함유하고 있는 유효성분들의 변화를 최소화시키기 위해 동결건조를 통해 건조를 하는 것이 좋다.

[0033] 그 다음 하기 추출의 용이성을 위해 상기 건조된 흰점박이 꽃무지는 분쇄기를 이용하여 분말형태로 제조된다.

[0034] 2. 제 2단계; 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물 제조

[0035] 본 단계에서는 상기 제조한 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 분말을 에탄올과 혼합하여 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 제조한다.

[0036] 이때, 상기 에탄올 12ℓ당 상기 분쇄된 흰점박이 꽃무지 유충분말 10~12kg을 혼합하는 것이 좋으며, 사용된 에탄올은 어떠한 것을 사용하여도 무관하나, 흰점박이 꽃무지 내에 함유된 유효성분을 가장 적절히 추출할 수 있도록 90~95%의 에탄올을 사용하는 것이 좋다.

[0037] 상기 흰점박이 꽃무지 유충 분말은 에탄올에 완전히 침지시킨 다음 이를 상온(20~25℃)에서 5~10일 동안 추출한 후 진공증발기를 이용하여 용매를 제거하여 추출물을 제조할 시 단시간에 흰점박이 꽃무지의 유효성분이 다량 함유된 추출물을 제조하게 된다.

[0038] 3. 제 3단계; 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물 제조

[0039] 본 단계에서는 상기 흰점박이 꽃무지 에탄올 추출물을 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물로 순차적으로 분획하여 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물을 획득한다.

[0040] 이렇게 제조된 상기 흰점박이 꽃무지 유충분말 또는 이들의 분획물에는 항암활성을 나타내는 유효성분이 함유되게 되어 보다 경제적으로 항암효과를 나타내는 약학 또는 식품 조성물을 제공할 수 있게 된다.

[0041] 이하, 본 발명인 항암 효과를 나타내는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 및 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물 또는 식품 조성물에 대하여 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0042] 설명하면, 본 발명에는 상기 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva), 또는 이들의 분획물이 항암용 약학조성물의 유효성분으로 포함된다.

[0043] 이때, 상기 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 이의 분획물은 상기 약학조성물 전체 중량을 기준으로 0.01~50중량% 함유되는 것이 좋으며, 더욱 바람직하게는 0.1~20중량%를 함유하는 것이 좋다. 이는 상기 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 이의 분획물이 0.01 중량%미만으로 함유되는 경우 항암효과가 떨어져 본 발명이 목적하는 항암용으로 사용하기 적합하지 않으며, 50 중량%를 초과하여 함유되는 경우 오히려 사용되는 유기용제로 인한 악영향이 발생될 우려가 있다.

[0044] 이러한 상기 본 발명의 약학 조성물은 암 예방 및 치료를 목적으로 항암효과를 갖는 천연물의약품에 함유될 수 있다. 이때 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.

[0045] 이때 제형은 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 중 어느 하나의 형태로 구성되며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수도 있다. 즉, 이는 사용 목적에 따라서 당업자가 어려움 없이 선정하여 이루어질 수 있으며, 그 첨가량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위내에서 선택될 수 있음을 의미한다.

[0046] 상기 약학적으로 허용되는 담체로는 제제 할 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트,

활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하며, 또한, 약학적으로 허용되는 부형제로는 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0047] 또 다른 관점에서의 본 발명에서는 상기 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 이의 분획물을 암 예방 및 개선용을 목적으로 식품 조성물의 유효성분으로 포함한다. 즉, 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 또는 이의 분획물을 식품 조성물의 유효성분으로 사용할 경우, 상기 그대로 사용하거나 다른 통상의 식품 조성물의 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품용 조성물 제조시에는 유효성분의 원료에 대하여 0.01 ~ 10 중량부, 바람직하게는 0.05 ~ 1 중량부의 양으로 첨가된다.

[0048] 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0049] 이러한 상기 식품용 조성물은 암 예방 및 개선을 위한 목적으로 건강식품에 함유될 수 있으며 그 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0050] 상기 외에 본 발명의 상기 식품 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, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육으로 함유할 수도 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0051] 이하에서는 실시예 및 실험예를 들어 본 발명에 관하여 더욱 상세하게 설명할 것이나, 이들 실시예 및 실험예는 단지 설명의 목적을 위한 것으로 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0052] <실시예 1> 본 발명의 항암 효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충분말 제조

[0053] 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)은 한국 남양주에 위치해 있는 스머프곤충나라 농장에서 25℃, 75% 습도에서 키웠다.

[0054] 길이는 28~35 ㎜이고, 직경은 5~7 ㎜인 유충을 모아서 121℃, 1.3kgf/cm^2에서 10분 동안 고온 고압 멸균하였다.

[0055] 멸균된 유충은 -80℃ CLN-70CW 급속냉동 냉장고에서 얼린 다음 FD-1000 냉동건조기로 건조한 후 분쇄하여 본 발명의 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva, 이하, PBL이라고 명명함)의 분말을 제조하였다.

[0056] <실시예 2> 본 발명의 항암 효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물 제조

[0057] 상기 실시예 1에서 제조된 PBL분말 12kg을 상온에서 7일동안 95%의 에탄올(EtOH) 12L로 2회 환류하였다. 추출물이 걸러진 후 진공증발기를 이용하여 용매를 제거하였다.

[0058] 결합된 에탄올 추출물은 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물로 분할하였고 각각 313.90g, 1.20g, 24.90g, 39.03g으로 제공되었다.

[0059] <실시예 3> 본 발명의 항암 효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물을 포함하는 정제 제조

[0060] 실시예 2의 흰점박이 꽃무지 유충 유래 헥산 분획물.....200 ㎎

[0061] 유당.....100 ㎎

[0062] 전분.....100 mg

[0063] 스테아린산 마그네슘 적량

[0064] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다

[0065] <실시예 4> 본 발명의 항암 효과를 갖는 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물을 포함하는 건강식품 제조

[0066] 실시예 2의 흰점박이 꽃무지 유충 유래 에틸아세테이트 분획물...1000 mg

[0067] 비타민 혼합물.....적량

[0068] 비타민 A 아세테이트.....70 ㎍

[0069] 비타민 E.....1.0 mg

[0070] 비타민 B1.....0.13 mg

[0071] 비타민 B2.....0.15 mg

[0072] 비타민 B6.....0.5 mg

[0073] 비타민 B12.....0.2 ㎍

[0074] 비타민 C.....10 mg

[0075] 비오틴.....10 ㎍

[0076] 니코틴산아미드.....1.7 mg

[0077] 엽산.....50 ㎍

[0078] 판토텐산 칼슘.....0.5 mg

[0079] 무기질 혼합물.....적량

[0080] 황산제1철.....1.75 mg

[0081] 산화아연.....0.82 mg

[0082] 탄산마그네슘.....25.3 mg

[0083] 제1인산칼륨.....15 mg

[0084] 제2인산칼슘.....55 mg

[0085] 구연산칼륨.....90 mg

[0086] 탄산칼슘.....100 mg

[0087] 염화마그네슘.....24.8 mg

[0088] 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.

[0089] <실험예 1> 본 발명의 흰점박이 꽃무지 추출물 또는 이의 분획물에서의 항암활성 확인

[0090] 1. 실험방법

[0091] 1) 간 세포 분리

[0092] 간 세포는 BALB/c 8주령에서 분리하였다.

[0093] 설명하면, 마취된 마우스는 콜라겐분해효소용액으로 관류하고, 절개한 다음 100㎛ 여과망을 통해 걸러내었다. 세포는 M199/EBSS 배지로 원심분리와 재현탁 과정을 통해 여러 번 반복하여 씻어주었다. Percoll을 이용한 밀도

구배 원심분리로 세포 찌꺼기와 유세포가 아닌 세포를 간 세포로부터 제거하였다. 몇 차례 씻어준 후 세포를 10% FBS가 포함된 M199/EBSS 배지에 재현탁하여 배양하였다.

[0094] 2) 세포 생존능과 세포자살의 분석

[0095] 세포(5000개)는 96 웰 플레이트(well plate)에서 하룻밤 정도 배양하고 지시된 농도에서 24시간 동안 상기 실시예 2에서 제조된 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물들을 처리하였다.

[0096] 세포생존능을 측정하기 위해 세포는 MTT에 노출하여 형성된 결정화된 포르마잔(formazan)을 마이크로플레이트 리더기(Infinity M200 microplate reader)를 이용하여 595nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하였다.

[0097] 흡광도 데이터은 대조군과 비교하여 세포생존능을 퍼센트로 나타내었다.

[0098] 세포자살분석은 상기 분획물들을 처리한 후에 세포의 DNA양(propidium iodide, 빨간색 형광)과 카스파제(caspase) 활성(DEVDase 활성, 녹색 형광)을 Millipore사의 CaspaTag in situ apoptosis detection kit를 사용하여 분석하였다. 표지된 세포는 FACS CaliburTM system으로 분석하였다. 데이터는 FlowJo software로 처리하였다.

[0099] 3) TUNEL 염색(staining)

[0100] 파라핀이 포매된 조직에서 세포자살의 면역조직화학검출은 형광을 이용한 TUNEL assay를 이용하여 수행하였다. fluorescein-dUTP로 표지된 Terminal deoxynucleotidyltransferase는 제조사의 권고대로 실험하였다.

[0101] 설명하면, 간 조직을 30분 동안 투과시키고 TUNEL 반응 혼합물로 표지한 다음 파라필름으로 덮어 항온항습되는 용기에 넣고 37℃, 1시간 동안 반응시켰다. PBS로 씻어준 다음 슬라이드는 DAPI가 포함된 용액으로 봉입하고 형광으로 확인하였다. 형광신호를 가지고 있는 세포들의 수를 세었고 퍼센트로 계산하였다.

[0102] 4) Ki-67 면역조직화학염색(immunohistochemical staining)

[0103] 4㎛ 파라핀 조직은 자일렌과 단계적인 에탄올 처리로 탈파라핀화 하였고 항원 노출은 sodium citrate buffer(pH 6.0)에서 열을 가하였다. 항원노출 후 조직은 상온에서 20분 동안 blocking 용액을 처리하였다.

[0104] 그 후 Ki67 일차 항체를 처리하여 항온 항습 용기에 넣고 4℃에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 조직을 PBS로 씻어준 후 이차 항체를 처리하고 어둡게 한 다음 상온에서 2시간 동안 반응시켰다.

[0105] 조직을 PBS로 씻어준 다음 슬라이드는 DAPI가 포함된 용액으로 봉입하고 형광으로 확인하였다. 형광신호를 가지고 있는 세포들의 수를 세었고 퍼센트로 계산하였다.

[0106] 2. 실험결과

[0107] 1) 실시예 1에서 제조된 흰점박이 꽃무지 유충분말의 간 보호효과 확인

[0108] 흰점박이 꽃무기 유충 섭취의 간 보호 효과의 주장을 확인하기 위해 마우스에 유전독성 발암물질인 DEN을 복강 투여하여 화학적으로 유도된 만성 간 손상 모델을 이용하였다.

[0109] 그 결과 도 1A에 나타나 있듯이, DEN을 처리한 그룹은 PBS를 처리한 그룹과 비교했을 때 몸무게가 감소하였으며, 본 발명의 실시예1의 PBL분말을 먹였음에도 몸무게가 회복되지 않았다.

[0110] 또한, 도 1B~도 1D에 나타나 있듯이, DEN을 5주 이상 처리하면 혈액순환에서 ALP, AST, ALT의 간 효소 활성이 현저하게 증가하였다. 이것은 DEN 처리가 간 독성을 유도한다는 것을 의미한다.

[0111] 반면, 도 2B내지 도 2D에 나타나 있듯이, 간 보호 활성에서 이전에 보고된 것과 달리 본 발명의 실시예1의 PBL분말의 주입은 DEN을 10주 동안 처리한 후 혈청에서 효소 활성을 확인했을 때 미미한 감소를 나타낸 결과로 보아 간 손상의 감소를 보여주지 않았다.

[0112] 이에, 본 발명의 실시예1의 PBL분말을 13주 동안 경구투여한 후 마우스를 죽여 간을 수집하여 조직학적으로 분

석하였다. 그 결과 도 1E 및 도 1F에 나타나 있듯이, DEN을 처리한 마우스 간은 섬유증과 간암세포로 악화시킬 수 있는 극심하고 만성적인 간질환의 징후인 세관반응을 보여주는 반면에 본 발명의 실시예1의 PBL분말의 주입은 간 손상 반응을 현저하게 감소시켰다.

[0113] 또한, 도 2A에 나타나 있듯이, DEN을 처리한 마우스로부터 분리한 간은 간 세포 손실 후에 간 재생에 의해 유발될 수 있는 확장된 간세포를 보여준다. 이에 반면, 본 발명의 실시예1의 PBL분말은 간세포의 확장을 억제시킨다.

[0114] 게다가 도 2B에 나타나 있듯이, 본 발명의 실시예1의 PBL분말은 또한 DEN을 처리한 마우스의 지방증을 감소시킨다. 초과량의 지방 축적은 종종 염증 반응을 이끌고 간세포에 독성을 나타낸다. 그리고 섬유증과간경변을 유도할 수 있다.

[0115] 이에, 도 2D에 나타나 있듯이, 본 발명의 실시예1의 PBL분말을 주입한 마우스 간은 세포증식을 나타내는 Ki67 양성 세포가 saline을 주입한 마우스와 비교했을 때 비슷하게 나타났다.

[0116] 또한, 도 2C에 나타나 있듯이, TUNEL양성세포는 적은 것으로 보아 세포 죽음을 덜 유도한다는 것을 의미한다. 종합적으로 이 데이터는 본 발명의 실시예1의 PBL분말이 DEN에 의해 유도되는 간 손상을 감소시킨다는 것을 의미한다.

[0117] 2) 실시예 2에서 제조된 흰점박이 꽃무지 유충 유래 분획물의 암세포에 대한 세포독성물질 함유 여부확인

[0118] 간 보호뿐만 아니라 곤충 유충은 전통적으로 암 환자를 돕는 데 이용되어 왔다. 이에, 본 발명의 실시예1의 PBL분말 유래 분획물(실시예 2)들을 간암세포인 HepG2와 마우스 정상 간에서 분리한 간 세포에 처리하였다.

[0119] 그 결과 도 3A에 나타나 있듯이, 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 분획물은 HepG2에 대해 세포독성활성을 보여주지만 물 분획물은 세포독성활성을 보여주지 않았다.

[0120] 도 3B에 나타나 있듯이, 암세포에 세포독성을 보여준 것과 대조적으로 헥산 분획물은 간세포에서 약하게 세포독성을 나타냈고 다른 분획물들은 어떤 독성도 보이지 않았다. 이 데이터는 실시예2의 PBL분말 유래 분획물이 암세포 특이적으로 세포독성활성을 보여준다는 것을 의미한다.

[0121] 헥산, 에틸아세테이트, 그리고 부탄올 분획물은 전립선(PC3 and 22Rv1), 자궁근종(HeLa), 간(PLC/PRF5, HepG2, and Hep3B), 결장(HCT116), 폐(NCI-H460), 유방(MDA-MB-231), 난소(SK-OV3)에서 유래된 몇 가지 인간 암세포에 처리하였다.

[0122] 그 결과, 도 3C에 나타나 있듯이, 암세포 종류에 의존적으로 분획물에 대한 반응이 이질적이지만 대부분의 암세포에서 분획물의 처리에 의해 죽고 그 중 헥산 분획물이 암세포에 가장 강력한 세포독성을 보여주었다.

[0123]

[0124] 3) 실시예 2에서 제조된 헥산 분획물의 다양한 암세포 대한 세포독성 활성확인

[0125] 암세포에 대한 세포독성활성의 메커니즘을 이해하기 위해 간암 세포 주인 SK-HEP-1 과 HepG2 암세포에 추출물을 처리하였고, 카스파제 활성(DEVDase activity)과 PI(propidium iodide)를 염색하여 분석하였다.

[0126] 그 결과 도 4A에 나타나 있듯이, 실시예 2에서 제조된 헥산 분획물은 PI 와 DEVDase양성을 나타내는 세포집단의 증가가 현저하게 나타나는 반면 다른 분획물들은 미미하게 증가하였다. 이 데이터는 도 3에서 헥산 분획물의 강력한 세포독성이 세포자살 유도에 의해 매개되어진다는 것을 의미한다. 일관적으로 이와 비슷한 결과는 Annexing V 염색에 의해 노출되는 포스파티딜세린(phosphatidylserine)의 측정으로부터 얻을 수 있었다.(도시되어 있지 않음).

[0127] 또한, 세포 죽음 메커니즘 분석을 더 하기 위해 미토콘드리아 막 전위를 분석하였다. 그 결과 도 4B 및 도 4C에 나타나 있듯이, 실시예 2에서 제조된 헥산 분획물은 1시간 내로 즉시 미토콘드리아 막 전위의 손실을 유도하였지만 다른 분획물들은 단지 미토콘드리아 막 전위에 약하게 영향을 주었다. 이 결과는 헥산 분획물이 미토콘드리아 막의 투과성에 영향을 줄 수 있고 세포자살로 유도된 세포 죽음에서 결정적인 역할을 한다는 것을 의미한다.

[0128] 4) 세포죽음 유도에서 분획물들의 작용 메커니즘 확인

[0129] 본 실험에서는 대개 일반적인 세포 죽음 메커니즘 중 또 다른 형태인 자가소화작용(autophagy)을 확인하였다.

[0130] 설명하면, 실시예2의 PBL유래 분획물들을 처리한 후에 확인한 결과 도 5A 및 도 5B에 나타나 있듯이, 자가포식소체(autophagosome) 형성이 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 분획물에 의해 현저하게 증가하였다.

[0131] 또한, 미세소관(microtubule)과 관련된 단백질인 LC3발현을 실험한 결과 도 5C에 나타나 있듯이, 에틸아세테이트 분획물이 다른 분획물들과 비교했을 때 세포기질적 형태(cytosolic form)인 LC3-1에서 지질 복합형태(lipid conjugated form)인 LC3-2로 전환된 형태가 더 유도되었다. 이것은 실시예 2의 에틸아세테이트 분획물이 다른 분획물과 비교하여 강력한 자가소화작용(autophagy) 유도자임을 의미한다.

[0132] 이와 같이 본 발명에서는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)이 세관반응, 지방증, 그리고 세포죽음의 감소를 보여주는 것으로 보아 DEN이 유도하는 간 독성에서 간 세포 보호 기능을 가진다는 것을 알 수 있다.

[0133] 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 유래 분획물들은 또한 다양한 암세포에서 세포자살과 자식작용을 유도함으로써 항암활성을 보여준다.

[0134] 따라서, 본 발명의 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 및 이들의 분획물들은 항암치료제를 개발하기 위해 이용할 수 있는 생물활성물질을 포함한다는 것을 알 수 있다.

[0135] DEN은 DNA 손상 유도와 활성산소종의 증가를 통해 간 세포암을 유도하는 대표적인 발암물질이다. 만성적인 DEN의 주입은 간에서 인간의 간 질병 진행을 모방한 지방증, 섬유증, 간 경변 그리고 마지막으로 간암을 계속적으로 유도한다.

[0136] 본 발명에서 13주 동안 DEN을 처리한 마우스는 혈액에서 간 효소의 현저한 증가를 유도한 마우스에 대해 간 독성을 유도하였고 간에서 세관반응, 지방증, 세포 죽음을 증가시켰다.

[0137] 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)은 DEN이 유도하는 세포독성을 완전하게 막지는 못하지만 생체 내 마우스 모델에서 확연하게 간 보호를 보여준다. 곤충은 항산화 효소와 소분자를 가지고 있다고 보고되어 있다. 왜냐하면 DEN은 cytochrome P450에 의존적인 메커니즘을 통해 ROS를 증가시킨다고 보고되어 있기 때문에 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)으로부터 유래된 항산화물질은 지방, 단백질 그리고 핵산을 산화로부터 유지할 수 있는 ROS제거자의 역할을 할지도 모른다. 따라서 간보호에 중요한 역할을 할 것이라 사료된다.

[0138] 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 그리고 물을 이용하여 분리한 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)유래 분회물은 곤충유충을 분리하고 모았을 때 생물활성물질임을 보여주었다. 헥산, 에틸아세테이트 그리고 부탄올 분획물은 암세포에서 선택적으로 세포독성을 가지고 헥산 추출물은 가장 강력한 세포독성과 세포자살을 유도하였다. 항암제에 의해 이용되는 암세포의 자살 프로그램이 세포자살에 의한 세포죽음의 예이다.

[0139] 마우스 간세포에서 약한 독성은 헥산 분획물이 암세포에 특이적일 것이라 생각된다. 이 데이터는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)으로부터 분리한 헥산 분획물이 정상세포가 아닌 암세포에 특이적으로 세포독성을 가지는 생물활성물질을 포함한다는 것을 의미한다.

[0140] 이에 본 발명에서는 분획을 이용한 더 많은 분석이 암치료제를 개발할 수 있는 새로운 물질을 찾는데 필요할 것이라고 추정한다.

[0141] 세포자살과 자식작용 유도는 물을 제외한 모든 분획물에서 나타났고 이것은 활성물질의 분리가 완벽하지 않거나 각 분획에서 여러 다른 분자들이 세포죽음경로에 영향을 줄 수 있음을 의미한다. 그래서 좀 더 분획을 하는 것이 이 문제를 해결하고 새로운 생물활성물질을 동정하는데 필요하다. 흥미롭게도 에틸아세테이트 분획물은 가장 강력한 자식작용 유도활성을 보여준다. 자식작용은 세포생리학에서 광범위하게 기능의 다양성을 보이고 암세포에서 세포보호와 세포독성을 모두 나타낸다. cytochrome P450에 의존적인 방식에서 DEN처리에 의한 ROS유도와 자식작용 유도에 의한 산화적 손상의 감소를 고려하면 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)의 경구투여에 의한 간 보호가 간 조직에서 자식작용 유도에 기여한 것일지도 모른다.

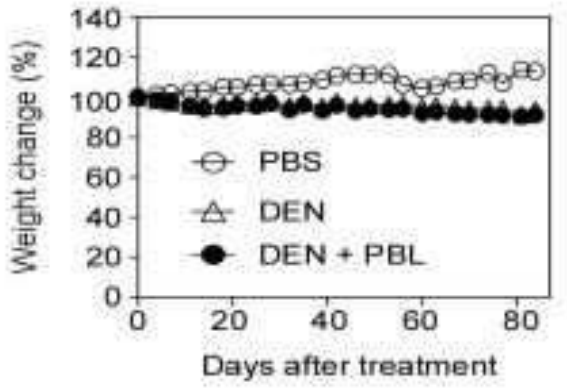
[0142] 결론적으로 본 발명은 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva) 분말과 이들의 분획물로부터 잘 알

려져 있는 간 보호와 항암활성을 확인하였다. 분획물들은 분리해서 세포자살과 자식작용의 활성을 높일 수 있다. 이 데이터는 흰점박이 꽃무지 유충(Protaetia brebitarsis larva)을 이용한 더 많은 분석이 간 질환을 치료하기 위한 새로운 생물활성물질의 동정을 이끌 수 있다는 것을 의미한다.

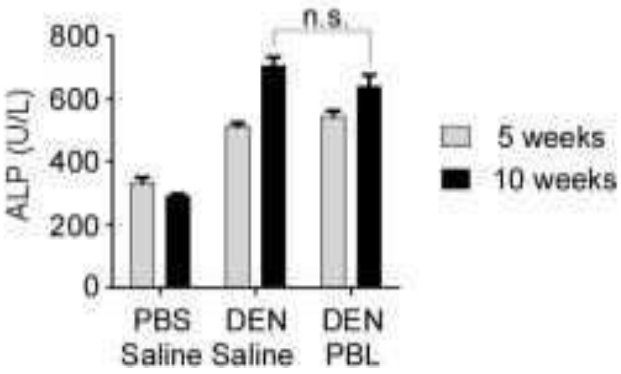
[0143] 상기의 본 발명은 바람직한 실시예 및 실험예를 중심으로 살펴보았으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 본질적 기술 범위 내에서 상기 본 발명의 상세한 설명과 다른 형태의 실시예 및 실험예들을 구현할 수 있을 것이다. 여기서 본 발명의 본질적 기술범위는 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

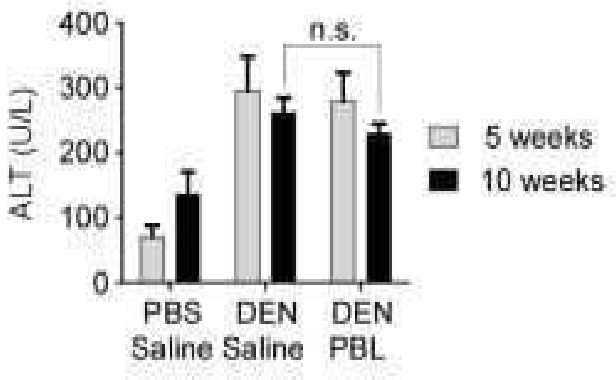
도면1a



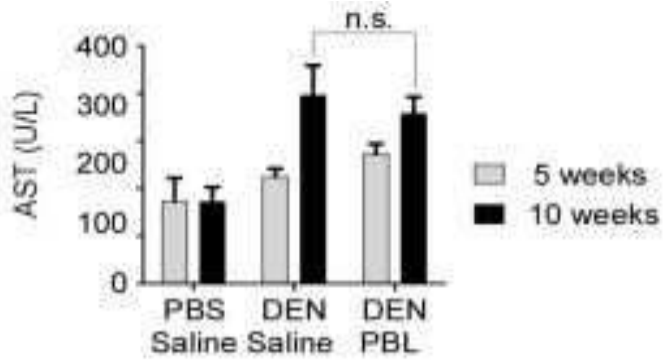
도면1b



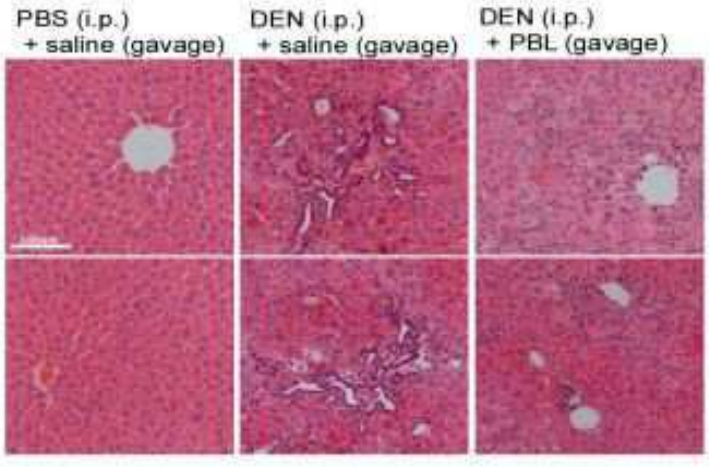
도면1c



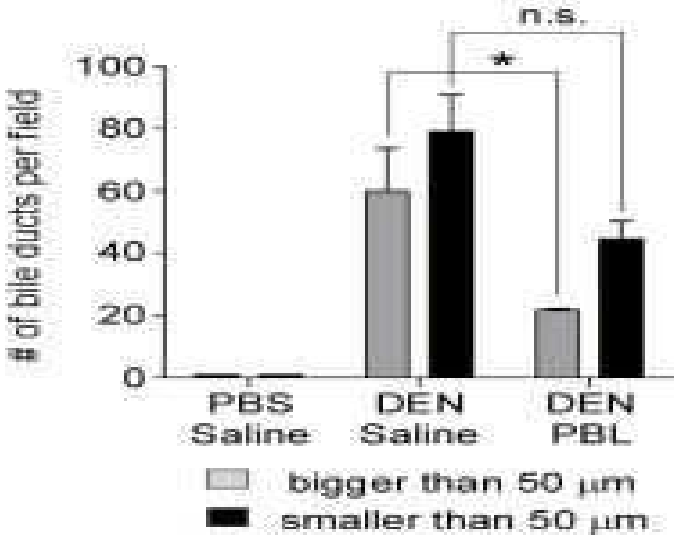
도면1d



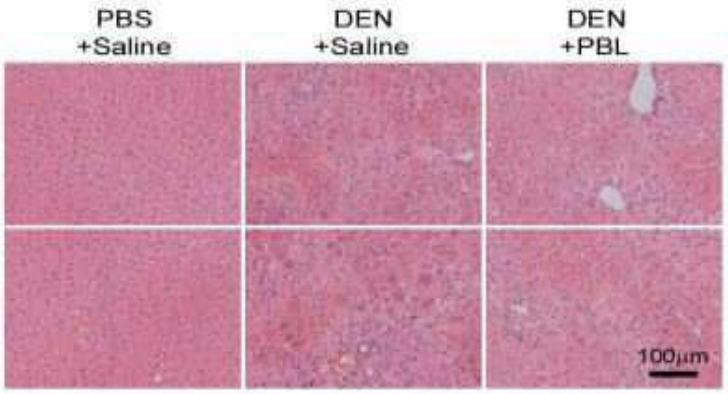
도면1e



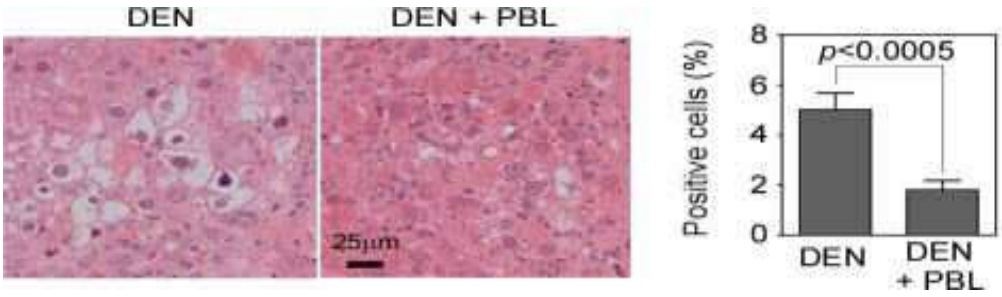
도면1f



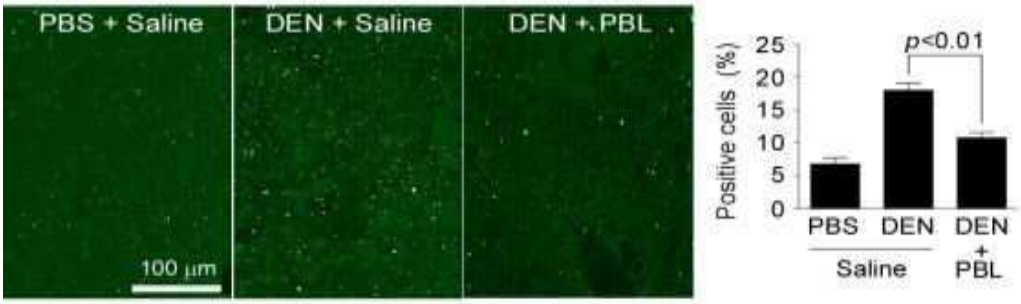
도면2a



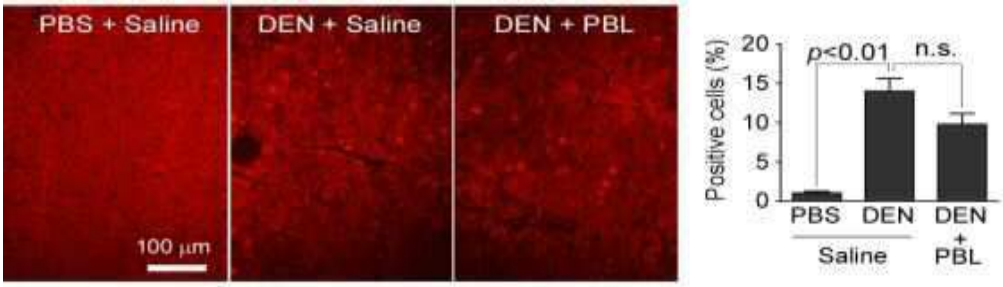
도면2b



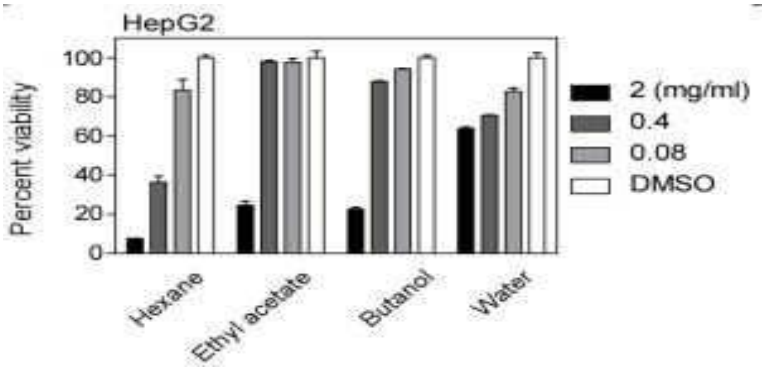
도면2c



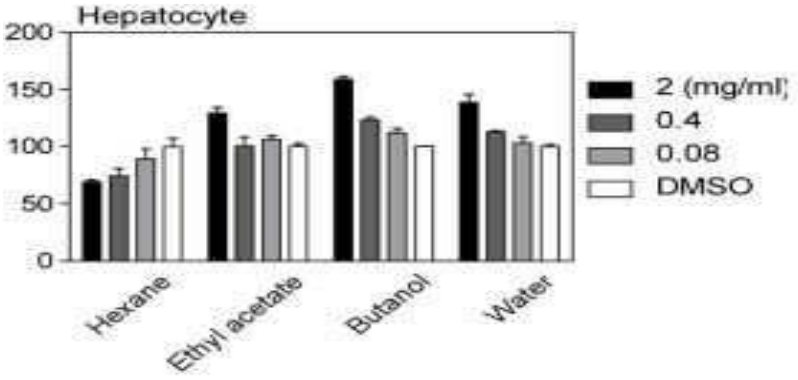
도면2d



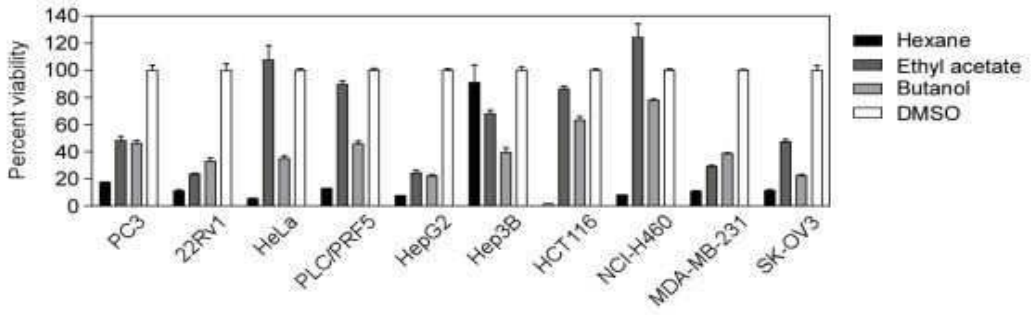
도면3a



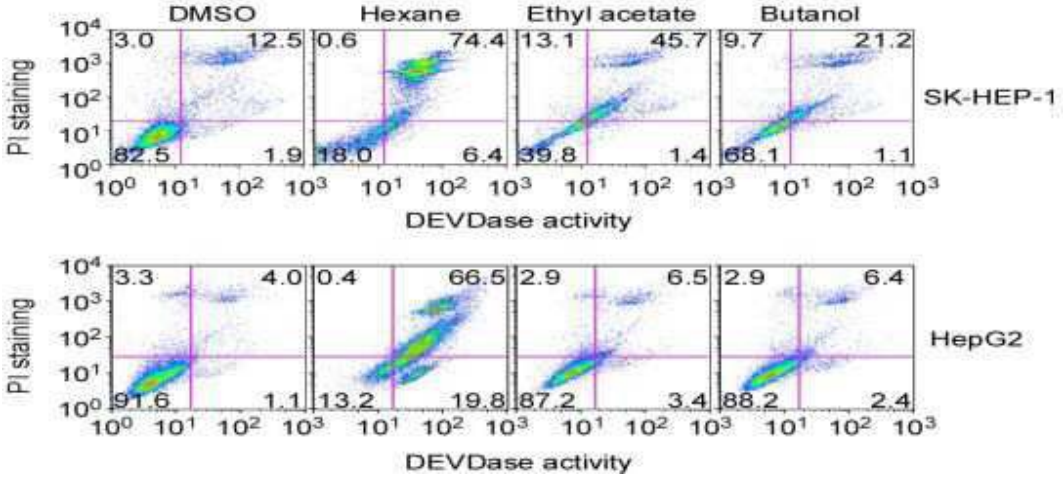
도면3b



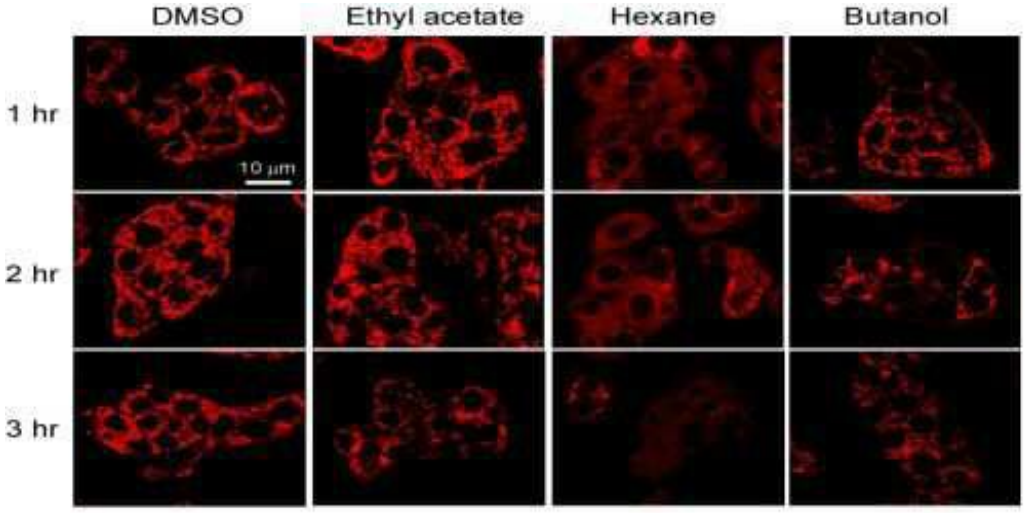
도면3d



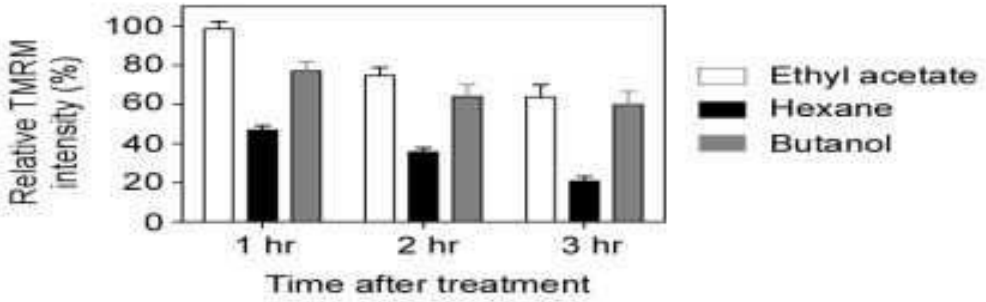
도면4a



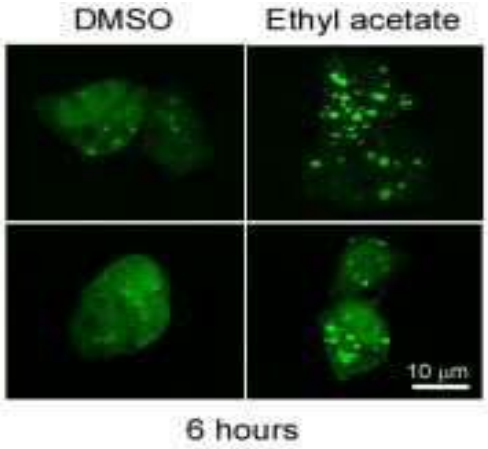
도면4b



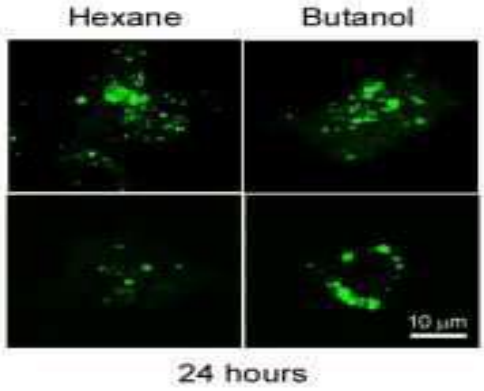
도면4c



도면5a



도면5b



도면5c

