



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0032367
(43) 공개일자 2018년03월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 33/36 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)

A61K 36/537 (2006.01) A61K 36/74 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 33/36 (2013.01)

A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2016-0121482

(22) 출원일자 2016년09월22일

심사청구일자 2016년09월22일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

김성훈

서울특별시 강남구 언주로30길 57, E동 2405호 (도곡동, 타워팰리스)

(74) 대리인

안소영

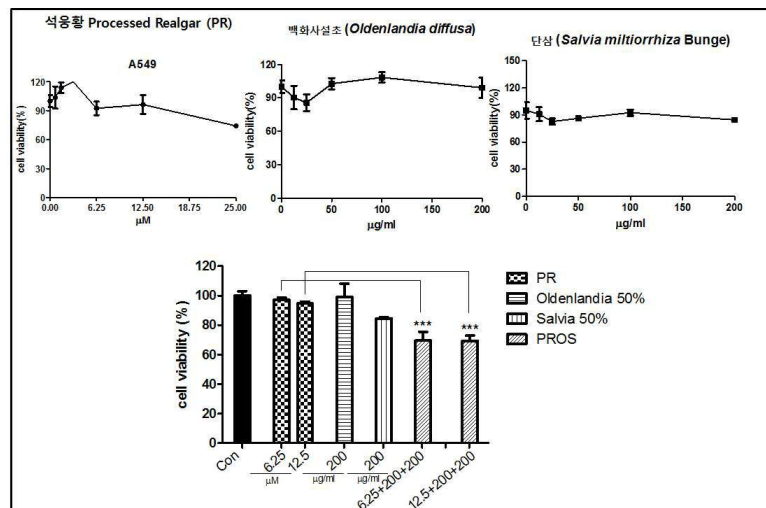
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 수치석응황, 백화사설초 및 단삼을 포함하는 폐암 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 수치석응황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(*Oldenlandia diffusa*)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 또는 폐암 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물 또는 건강기능식품은 폐암 세포 사멸에 현저한 효과를 가져 폐암의 예방 또는 치료에 효과적이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A61K 36/537 (2013.01)

A61K 36/74 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015R1C1A1A02036842

부처명 한국연구재단

연구관리전문기관 경희대학교 산학협력단

연구사업명 신진

연구과제명 폐암에서 autophagy를 매개하는 microRNA의 조절을 통한 한약의 항암성 규명

기 여 율 50/100

주관기관 경희대학교

연구기간 2015.07.01 ~ 2016.06.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014R1A2A1A10052872

부처명 한국연구재단

연구관리전문기관 경희대학교 산학협력단

연구사업명 중견

연구과제명 간 섬유화 및 암화 유발 유전자를 표적하는 한약소재의 분자작용기전 연구

기 여 율 50/100

주관기관 경희대학교

연구기간 2015.11.01 ~ 2016.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

수치석응황(Processed Realgar)의 추출물;

백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및

단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 알코올 수용액은 탄소수 1 내지 4의 알코올 수용액인 것인 폐암 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 알코올 수용액은 에탄올 수용액인 것인 폐암 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 알코올 수용액은 30% 내지 70%의 알코올 수용액인 것인 폐암 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 수치석응황의 추출물은 As_4O_6 를 유효성분으로 하는 것인 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 조성물은 수치석응황의 추출물 0.5 ~ 1 중량부, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 40 ~ 80 중량부 및 단삼의 알코올 수용액 추출물 40 ~ 80 중량부를 포함하는 것인 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 폐암 예방 또는 치료는 폐암 세포 사멸 촉진에 의한 것인 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 폐암은 소세포 폐암(SCLC) 또는 비소세포 폐암(NSCLC)인 것인 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

수치석응황(Processed Realgar)의 추출물;

백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및

단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 수치석용황의 추출물은 As_4O_6 를 유효성분으로 하는 것인 폐암 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 조성물은 수치석용황의 추출물 0.5 ~ 1 중량부, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 40 ~ 80 중량부 및 단삼의 알코올 수용액 추출물 40 ~ 80 중량부를 포함하는 것인 폐암 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 폐암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 우리나라 사람들에게 가장 많이 발생하는 암은 위암, 대장암, 폐암, 갑상선암, 간암이다. 국가 암 발생 통계를 기초로 살펴보면 평생 암에 걸릴 확률이 남성은 3명 중 1명, 여성은 4명 중 1명으로 분석되는 등 암 발생에 대한 위험이 높아지고 있다. 특히 폐암의 경우, 산업화에 따른 대기오염의 악화와 함께 흡연자의 증가, 특히 청소년과 여성들의 흡연 증가 추세로 볼 때 폐암 환자는 더욱 많아질 것으로 예상된다. 미국의 경우도 암 관련 사망 가운데 남녀 모두에게 폐암은 가장 흔한 원인이다.

[0003] 주요 형태의 폐암은 소세포 폐암(SCLC) 및 비소세포 폐암(NSCLC)이다. 소세포 폐암(SCLC)은 신속히 성장하는 유형의 폐암이다. 이는 비소세포 폐암보다 훨씬 더 빨리 퍼진다. 소세포 암종(연맥 세포 암), 혼합 소세포/대세포 암종 및 복합 소세포 암종의 3가지 상이한 유형의 소세포 폐암이 존재한다. 대부분의 소세포 폐암은 연맥 세포 유형이다. 비소세포 폐암(NSCLC)은 가장 흔한 유형의 폐암이다. 선암, 편평상피세포암(squamous cell carcinoma) 및 대세포암(large-cell carcinoma)의 3가지 형태의 NSCLC가 존재한다. 선암은 폐 말초 부위에서 주로 발생하고, 여성 또는 비흡연자에게서도 잘 발생하며, 크기가 작아도 전이가 되어 있는 경우가 많고, 최근 그의 발생 빈도가 증가하는 추세에 있다. 다음으로, 편평상피세포암은 주로 폐 중심부에서 발견되고, 주로 기관지 내강으로 자라 기관지를 막는 증상을 나타내며, 남성에게 흔하고, 흡연과 밀접하게 관련된 것으로 알려져 있다. 대세포암은 폐표면 근처(폐 말초)에서 주로 발생하고, 절반 가량은 큰 기관지에서 발생하며, 전체 폐암의 4 내지 10% 정도를 차지하고, 세포 크기가 대체적으로 크며, 그 중 일부는 빠르게 증식 및 전이되는 경향이 있어 다른 비소세포폐암에 비해 예후가 나쁜 것으로 알려져 있다. 폐암에 대한 통상의 치료는 완화 처치, 수술, 화학요법 및 방사선요법을 포함한다.

[0004] 상기와 같은 폐암이 조기에 진단될 경우에는, 약물치료 및 방사선 치료 등을 통해 회복될 수 있으나, 일정 수준으로 병증이 악화된 경우에는 수술을 통해 병변을 제거하고, 약물치료 및 방사선 치료 등을 통한 치료를 수행하게 된다. 그런데, 아직까지는 폐암의 치료에 사용될 수 있도록 공인된 약물은 이레사 등을 비롯한 몇 가지로 제한되어 있어 환자에게 적합한 치료를 수행하기 어렵고, 이들 치료제는 무시할 수 없는 수준의 부작용을 나타낸다는 단점이 있어, 수술 이후의 치료 성공률이 저조한 실정이다. 이러한 단점을 극복하기 위하여, 부작용을 줄일 수 있는 복합 천연물로부터 유래된 치료제를 개발하려는 노력이 계속되고 있으나, 이들 천연물 유래 치료제는 치료효과가 우수하지 못하다는 근본적인 단점이 해소되지 않고 있다.

[0005] 이에 따라 보다 안전하면서 효과적으로 폐암을 치료할 수 있는 제제의 개발이 필요한 실정이다.

[0006] 본 발명자들은 안전하면서 효과적으로 폐암을 치료할 수 있는 치료제를 개발하기 위하여, 연구를 진행하던 중 수치석용황, 백화사설초 및 단삼을 포함하는 조성물이 폐암의 예방 및 치료에 현저한 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 수치석웅황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 약학적 조성물을 제공하고자 한다.

[0008] 또한, 본 발명은 수치석웅황 (Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 수치석웅황 (Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 약학적 조성물을 제공하고자 한다.

[0010] 이하, 본 명세서에 대하여 더욱 상세하게 설명한다.

[0011] 본 명세서에서 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0012] 본 명세서에서 상기 "예방"이란 상기 약학적 조성물의 투여로 폐암을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 또한, 상기 "치료"란 상기 약학적 조성물의 투여로 폐암의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0013] 본 명세서에서 석웅황(Realgar, 石雄黃)이란 웅황이라고도 하며, 육산화아비소 (Tetraarsenic oxide, As_4O_6), 이 황화비소(As_2S_2)또는 삼황화비소(As_2S_3)를 주성분으로 하는 광물성 한약제이다. 붉은색을 가지는 광물로 쪼개져 갈라진 면은 진주 광택이 나며, 계관석과 더불어 산출된다. 비소 및 비소 유도 화합물은 오래 전부터 동양에서 암이나 건선, 류마티스 관절염 등과 같은 여러 질환에 약물로 사용되었다. 해독 작용과 살균 작용이 강해 악창, 종독, 습진, 욕, 파상독, 부스럼, 독사 물린 데, 독충 물린 데, 연주창, 치질 등 외과 질환 치료에 주로 사용될 수 있다고 알려져 있다.

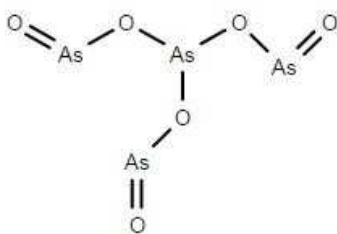
[0014] 본 발명에서는 석웅황을 수치법제 처리한 수치석웅황(Processed Realgar)을 사용하는 것이 바람직하다.

[0015] 본 발명의 상기 수치석웅황의 추출물은 As_4O_6 를 유효 성분으로 한다. 상기 추출 방법은 당업계에서 사용하는 공지된 방법을 사용할 수 있으며 이를 한정하지 않는다.

[0016] 본 발명의 하나의 실시상태에 있어서, As_4O_6 ; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

[0017] 상기 수치석웅황의 유효성분인 As_4O_6 는 하기와 같은 화학식 I의 구조를 가진다.

[0018] [화학식 I]



[0019]

[0020] 본 명세서에서 백화사설초(Oldenlandia diffusa)란 꼭두서니과(Rubiaceae)에 속하는 1년생 초본인 백운풀 (Hedyotis lindleyana var. hirsute HARA or Oldenlandia diffusa L. ROXB.)의 일년생 전초로서 높이 20~40 cm이고, 밑부분이 옆으로 자라면서 가지가 갈라져서 비스듬히 서며 다세포로 된 백색털이 다소 있다(Yoshida, Y. et al., Int. J. Immunopharmacol., 19:359, 1997). 백화사설초의 기미는 차가우나 독이 없고 맛은 달고 쓰며, 작용하는 경락은 위경, 대장경 및 소 장경 등이고, 본초학적으로 청열해독(淸熱解毒), 이수통림(利水通淋), 활혈화어(活血化瘀) 및 소옹(消癰)의 효능이 있어 폐열기침, 편도선염, 인후염, 충수염, 이질, 황달, 자궁부속

기염 및 관절염 등의 각종 염증과 소화기 암, 간암, 폐암, 임파암 및 인후암 등의 각종 암에 활용되고 있다 (Tong, I.H. et al., Phytochemistry., 25:1988, 1986).

- [0021] 본 명세서에서 단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge, 丹蔘)이란 꿀풀과의 다년생 초본으로서 뿌리를 약용으로 사용하며 활혈(活血), 거어(祛瘀)시켜서 여성의 생리통, 산후의 구토와 복통, 심흉부의 동통을 제거하며, 관절염, 심장질환, 동맥경화 등의 질환 및 중국 및 동남아 지역에서 항암치료를 위한 생약 처방에 널리 사용되고 있으며 (북경중의학원: 실용중의학. P.344, 1986), 최근에는 중국, 일본, 미국에서 단삼의 성분 및 약리적 효능이 광범위하게 연구되고 있다. 단삼의 주요 성분으로는 탄시논 (Tanshinone), 크립토탄시논 (Cryptotanshinone), 다이하이드로 탄시논 (Dihydrotanshinone), 페루기놀 (Ferruginol), 비타민 A와 E (Vitamin A & E) 등이 있다.
- [0022] 본 명세서에서 폐암이란 폐에 발생한 암을 의미하며, 소세포 폐암(SCLC) 및 비소세포 폐암(NSCLC)일 수 있으며, 상기 소세포 폐암 및 비소세포 폐암은 진술한 바와 같다.
- [0023] 명세서에서 상기 추출은 천연물로부터 활성성분을 분리하는 것을 의미하며, 물, 유기 용매 또는 이의 혼합용매를 이용하는 추출 과정으로 추출물을 획득할 수 있으며, 상기 추출물은 추출액, 이의 건조 분말 또는 이를 이용하여 제형화된 모든 형태를 포함할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 알코올 수용액은 탄소수 1 내지 4의 알코올 수용액이다. 본 발명의 상기 알코올 수용액은 에탄올 수용액인 것이 더욱 바람직하다.
- [0025] 본 발명의 상기 알코올 수용액은 30% 내지 70%의 알코올 수용액이다. 본 발명의 상기 알코올 수용액은 50% 알코올 수용액인 것이 더욱 바람직하다.
- [0026] 본 발명의 수치식응황의 추출물, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 및 단삼의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 조성물은 수치식응황, 백화사설초의 물 추출물 및 단삼의 물 추출물을 사용하는 경우에 비하여 암세포 사멸 효과가 우수한 효과가 있다.
- [0027] 본 발명에 따른 수치식응황의 추출물, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 및 단삼의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 조성물은 수치식응황의 추출물 0.5 ~ 1 중량부, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 40 ~ 80 중량부 및 단삼의 알코올 수용액 추출물 40 ~ 80 중량부를 포함하는 조성물인 것이 바람직하다.
- [0028] 본 발명의 수치식응황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(*Oldenlandia diffusa*)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물에서 상기 폐암 예방 또는 치료는 폐암 세포 사멸 촉진에 의한 것이다.
- [0029] 구체적으로, 본 발명의 수치식응황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(*Oldenlandia diffusa*)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 전세포사멸 단백질(pro-apoptotic protein)을 활성화한다. 예컨대, 카스파제 3 및 카스파제 9의 단백질들의 발현은 증가되는 반면, p-AKT, bcl-2, bcl-xL 및 p-ERK의 발현의 저해를 통하여 암세포의 세포 사멸을 유도하고, 암 세포 증식을 억제하여 암의 전이를 방지할 수 있다.
- [0030] 따라서, 본 발명의 수치식응황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(*Oldenlandia diffusa*)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 폐암의 세포 사멸 촉진을 이용하여 폐암의 예방 및/또는 치료에 우수한 효과를 나타낼 수 있다.
- [0031] 본 발명의 약학적 조성물은 약효를 증가시키지는 않으나 약학적 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 성분을 추가로 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 추가적으로 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 첨가제는 예컨대, 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이드실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 텍스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 있으나, 이를 한정하지 않는다. 추가로, 상기 약학적 조성물은 단독 사용하거나 기존에 사용된 폐암에 대한 예방 또는 치료 활성을 가지는 물질을 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하고 경구 또는 비경구용의 인체 또는 수의용으로 제형화될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물을 제제화하는 경우 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용할 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 화합물을 포함하는 약학적 조성물에 적어도

하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose) 및 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘, 스티레이트, 탈크 같은 윤활제를 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순회석제인 물 및 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제 및 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜 및 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0033] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하다.

[0034] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 개체에 투여하여 폐암을 예방 또는 치료할 수 있다. 본 발명에서 사용된 용어, "개체"는 폐암 또는 이의 직, 간접적 원인에 의해 유발된 질환을 가지고 있으며, 본 발명의 상기 약학적 조성물을 투여하여 증상이 호전될 수 있는 질환을 가진 인간을 포함한 말, 양, 돼지, 염소, 개 등의 포유동물을 의미하나, 바람직하게는 인간을 의미한다.

[0035] 본 발명에서 사용된 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 개체에 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미한다. 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 경구 또는 비경구 투여될 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물이 표적 세포로 이동할 수 있도록 하는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[0036] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 사용된 용어, 약학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 체중, 성별, 연령, 건강상태, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있으며, 일반적으로 환자의 체중에 따른 투여량은 1일 0.001 mg/kg 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 0.01 mg/kg 내지 30mg/kg 투여할 수 있으며, 1일 1회 내지 6회 투여하는 것이 바람직하다.

[0037] 본 발명의 약학적 조성물은 폐암 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0038] 또한, 본 발명은 수치석용황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0039] 상기 폐암 예방 또는 개선용 건강기능식품은 본 발명의 수치석용황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0040] 본 명세서에서 상기 "기능 식품"이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 본 명세서의 상기 "기능"이란 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용으로 보건 용도에 유용한 효과를 의미할 수 있다.

[0041] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 수치석용황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 조성물에 첨가할 수 있는 식품의 예로는 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 수치석용황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0042] 본 발명에 따른 수치석용황(Processed Realgar)의 추출물; 백화사설초(Oldenlandia diffusa)의 알코올 수용액 추출물; 및 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge)의 알코올 수용액 추출물을 포함하는 폐암 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 폐암 세포에서 카스파제 3 및 카스파제 9를 활성화시켜, 세포 사멸을 유발할 수 있으며, p-AKT, bcl-2, bcl-xL 및 p-ERK의 발현의 저해를 통하여 암세포의 증식을 억제하여, 우수한 폐암 치료 및 예방 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0043] 도 1은 수치석용황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물을 폐암 세포주 A549에서의 세포독성을 나타낸 도이다.

도 2는 수치석용황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물을 폐암 세포의 유세포 분석기를 이용하여 측정된 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 수치석용황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물 처리에 의한 단백질 발현 변화를 웨스턴 블롯으로 나타낸 도이다.

도 4는 수치석용황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물 처리에 의한 세포 사멸 억제 인자의 발현을 웨스턴 블롯으로 나타낸 도이다.

도 5는 수치석용황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물을 A549 세포에 처리하여 S기 억제를 통한 증식억제가 세포사멸 유발과 연관성이 있는지의 단백질 발현 변화를 웨스턴 블롯으로 나타낸 도이다.

도 6은 수치석용황 및 본원 발명의 PROS 조성물을 각 암세포에 처리한 세포 생존율을 나타낸 도이다.

도 7은 PROS 조성물과 수치석용황, 백화사설초의 물추출물 및 단삼의 물추출물을 혼합한 조성물을 폐암 세포주 A549에서의 세포독성을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 이하, 본 명세서를 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나, 본 명세서에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 명세서의 범위가 아래에서 기술하는 실시예들에 한정되는 것으로 해석되지 않는다. 본 명세서의 실시예들은 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 명세서를 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0046] PROS 조성물의 제조

[0047] - 수치석용황(Processed Realgar(PR))의 추출물: 제법수치 처리된 석용황을 추출하여 As_4O_6 를 수득

[0048] - 백화사설초(Oldenlandia diffusa) 중국산: 50% EtOH층 (yield=7.5%)

[0049] - 단삼(Salvia miltiorrhiza Bunge) 중국산: 50% EtOH층 (yield=18.9%)

[0051] 한방복합방의 에탄올층을 만들어 As_4O_6 2.5-5.0 μg , 백화사설초 50% 에탄올 수용액 추출물 200-400 μg , 단삼 50% 에탄올 수용액 추출물 200-400 μg 을 일정비율로 배합하여 본원 발명의 조성물을 제조하였다(이하 "PROS"로 칭함).

[0053] 세포 배양

[0054] 인간의 폐암 (A549) 세포대장암주 (HCT116), 전립선암(PC3), 신장암주(786-0), 구강암주(YD-10B)를 ATCC (American type culture collection:rockville, MD)에서 구입하여 열-비활성화론, 2 mM 글루타민, 100 U/mL 페니실린 및 100 μ g/mL 스트렙토마이신이 첨가된 RPMI 1640 배지에서 5% CO₂ 하에서 배양하였다.

[0056] 세포의 독성 분석

[0057] 암세포의 세포독성을 평가하기 위해 세포들을 1×10^5 cells/ml만큼 96well plate에 24 시간 배양 후, 배양액을 모두 버리고 50 μ l의 MTT 용액 (1 mg/ml in PBS)를 첨가하고 2시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 plate를 PBS로 세척한 후, 100 μ l의 DMSO를 첨가하고 상온에서 20분 방치하였다. Microplate reader를 사용하여, 570 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

[0058] 도 1은 수치식용량, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물의 폐암 세포주 A549에서의 세포독성을 나타낸 도이다.

[0059] 도 1의 결과를 보면, 수치식용량을 단독으로 농도별 (0, 6.25, 12.5 μ M)로 24시간 처리한 경우, 백화사설초의 50% 에탄올 수용액 추출물, 단삼의 50% 에탄올 수용액 추출물 각각을 단독으로 처리한 것에 비하여 본원 발명의 PROS 조성물의 경우는 세포 생존율이 감소하는 것을 확인할 수 있다.

[0060] 도 6은 수치식용량 및 본원 발명의 PROS 조성물을 각 암세포에 처리한 세포 생존율을 나타낸 도이다.

[0061] 도 6의 결과를 보면, 대장암주 (HCT116 등), 전립선암(PC3), 신장암주(786-0), 구강암주(YD-10B) 등에서 세포 생존율을 평가한 결과 수치식용량 단독으로 처리한 경우에 비하여, 본원 발명의 PROS 조성물을 처리한 경우가 세포 생존율이 감소하는 것을 확인할 수 있다.

[0062] 상기의 결과를 보면 본원 발명의 수치식용량의 추출물, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 및 단삼의 알코올 수용액 추출물을 동시에 포함하는 조성물의 경우, 조성물의 구성 성분을 단독으로 처리하는 경우에 비하여, 암세포 사멸 유도 효과가 더 우수한 것을 확인할 수 있다.

[0063] 도 7은 PROS 조성물과 수치식용량, 백화사설초의 물추출물 및 단삼의 물추출물을 혼합한 조성물을 폐암 세포주 A549에서의 세포독성을 나타낸 도이다.

[0064] 도 7의 결과를 보면, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 및 단삼의 알코올 수용액 추출물을 사용한 경우가 물추출물을 사용한 경우에 비하여 암세포의 사멸 유도 효과가 더 우수한 것을 확인할 수 있다.

[0066] 세포주기 분석

[0067] 세포 배양 후 트립신-EDTA를 이용하여 떼어낸 후 75% 에탄올을 이용해 고정시켜준 다음 에탄올을 제거하고 RNase를 1시간 처리하였다. 반응시킨 후 RNase를 제거하고 프로피디움 요오드화물(Propidium Iodide, PI)를 첨가하여 유세포 분석기를 이용하여 세포 주기를 분석하였다.

[0068] 도 2는 수치식용량, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물을 폐암 세포의 유세포 분석기를 이용하여 측정된 결과를 나타낸 도이다.

[0069] 도 2의 결과를 보면, 수치식용량, 백화사설초, 단삼 각각 단독으로 처리하는 경우에는 변화가 없으나, 본원 발명의 PROS 조성물로 처리하는 경우에는 폐암 세포의 증식 억제가 S기 세포주기 억제를 통하여 이루어지는 것을 확인할 수 있다.

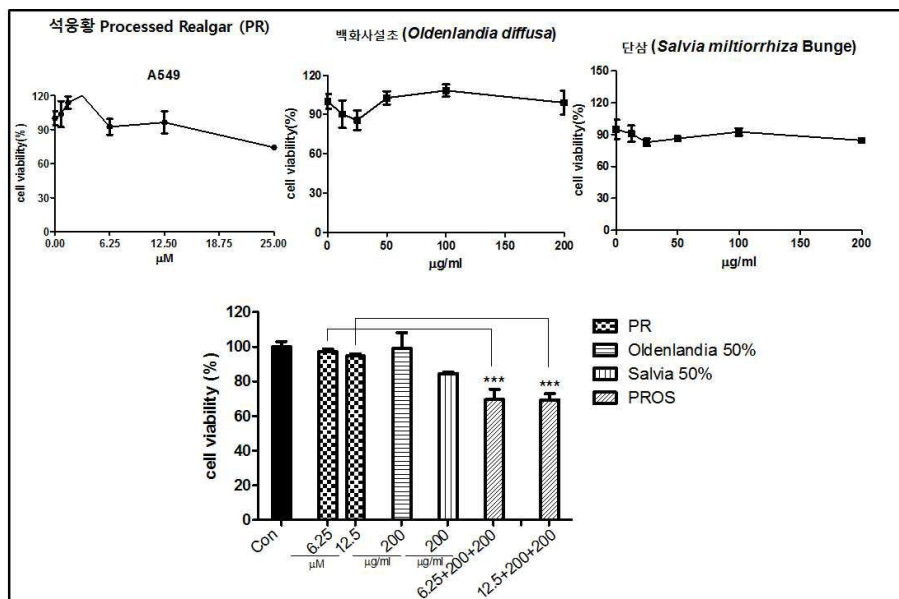
[0071] 단백질 측정을 위한 웨스턴 블롯(Western blot) 분석

[0072] 세포 배양 후 PROS 를 첨가 한 후 24 시간 후 세포를 PBS로 세척 한 다음 lysis 용액 (20mM 자당, 1mM EDTA, 20 μ M Tris-CL, pH7.2, 1mM DTT, 10mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 5 μ g/mL 랩스타틴 A, 10 μ g/ml 류펩틴 및 2 μ g/mL 아프로티닌)를 첨가 하여 용리 시켰다. 원심 분리 후 상등액을 수집하여 단백질 농도를 측정한 후 30 μ g을 함유한 분취액을 bio-rad 단백질 분석 키트를 이용하여 SDS-폴리아크릴아마이드 겔 상에서 분리하고 지시된 1차 항체를 이용하여 포옥시다아제 공액화 2차 각항체를 이용하였으며, ECL검출 시스템으로 분석하였다.

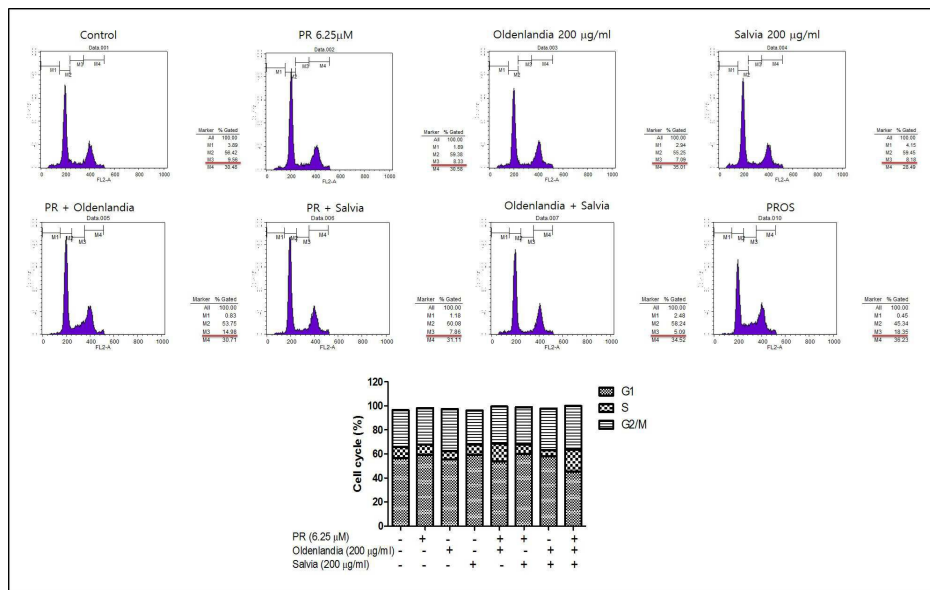
- [0073] 도 3은 수치석응황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물 처리에 의한 단백질 발현 변화를 웨스턴 블롯으로 나타낸 도이다.
- [0074] 도 3의 결과를 보면, 본 발명의 수치석응황의 추출물, 백화사설초의 알코올 수용액 추출물 및 단삼의 알코올 수용액 추출물을 동시에 포함하는 조성물의 경우, 조성물의 구성 성분을 단독으로 처리하는 경우에 비하여, CDK의 저해제인 p21의 발현이 증가하고, p21의 발현이 증가함에 따라 CDK2가 저해되는 것을 확인할 수 있으며, p27의 단백질의 발현 양상에는 변화가 없는 것을 확인할 수 있다.
- [0075] 도 4는 수치석응황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물 처리에 의한 세포 사멸 억제 인자의 발현을 웨스턴 블롯으로 나타낸 도이다.
- [0076] 도 4의 결과를 보면, 수치석응황, 백화사설초, 단삼을 각각 처리한 것에 비하여 PROS 조성물로 처리한 경우가 p-AKT의 발현 억제를 통하여, bcl-2와 bcl-xL의 발현을 저해하고, p-ERK의 발현의 저해를 통하여 암세포의 증식 억제 면에서 우수한 것을 확인할 수 있다.
- [0077] 도 5는 수치석응황, 백화사설초, 단삼 및 본원 발명의 PROS 조성물을 A549 세포에 처리하여 S기 억제를 통한 증식억제가 세포사멸 유발과 연관성이 있는지의 단백질 발현 변화를 웨스턴 블롯으로 나타낸 도이다.
- [0078] 도 5의 결과를 보면, PROS 조성물로 처리한 경우, 프로-카스파제(Pro-Caspase) 3와 Pro-PARP가 감소함으로써 세포 사멸을 유발하는 것을 확인할 수 있다. 또한, 본원 발명의 PROS 조성물은 카스파제-8을 활성화 시키지 않는 반면, 미토콘드리아 경로인인 카스파제-9는 활성화 시켜, 활성화된 카스파제-9는 카스파제-3에 영향을 주는 것을 확인할 수 있다. 결과적으로, 본원 발명의 PROS의 조성물 처리에 의한 S기 억제를 동반한 증식억제가 세포 세포 사멸을 유발하는 것과 연관되어 있는 것을 확인할 수 있다.

도면

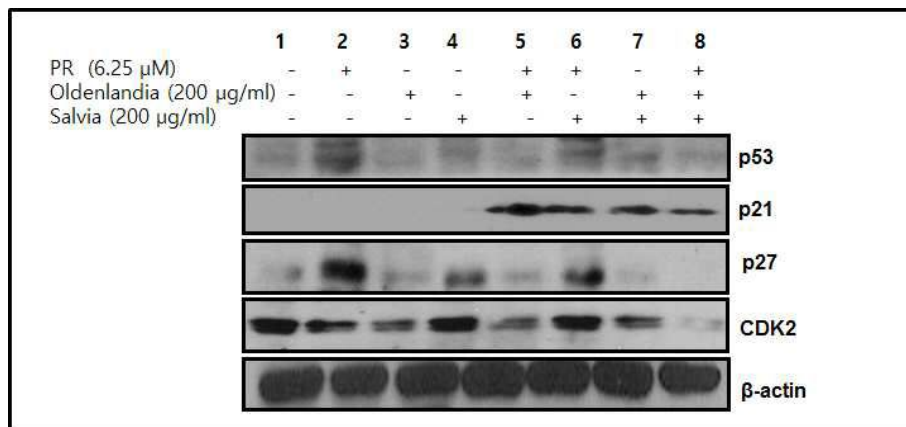
도면1



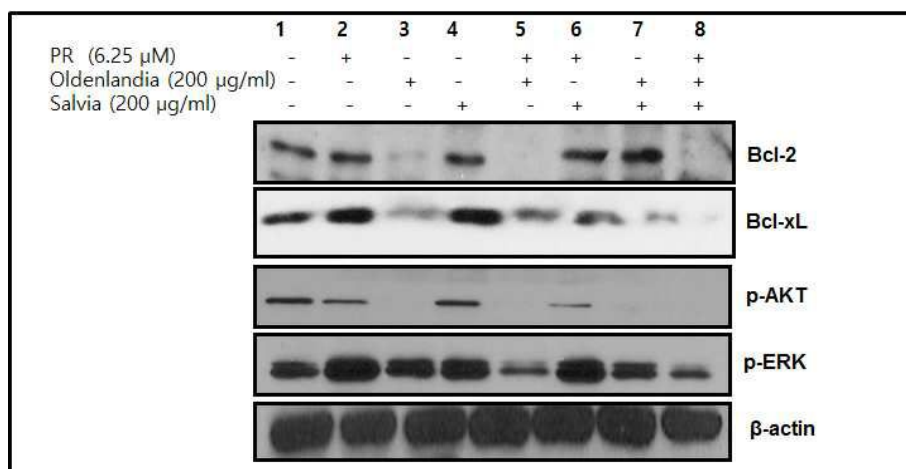
도면2



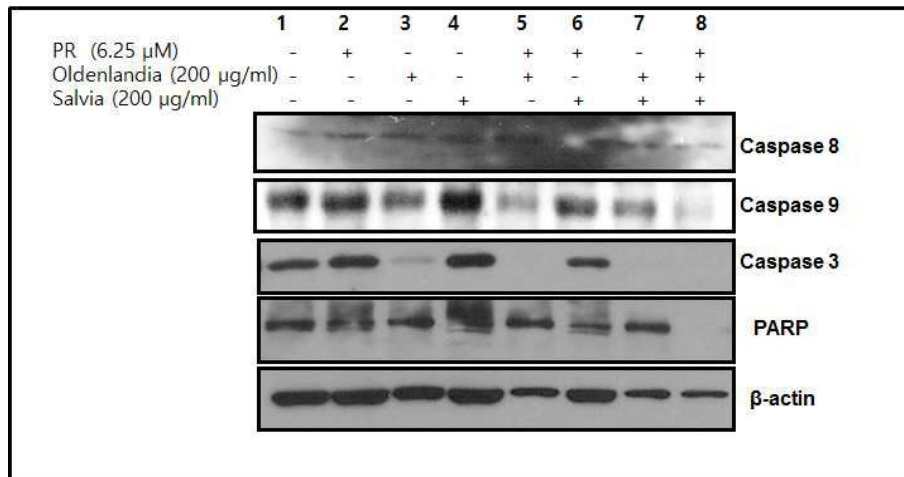
도면3



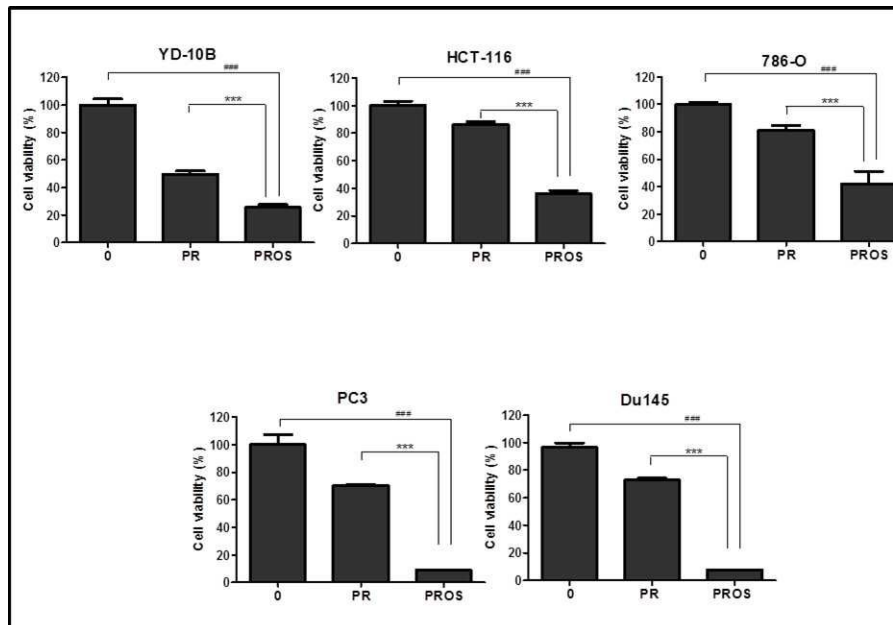
도면4



도면5



도면6



도면7

