



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0025602
(43) 공개일자 2013년03월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/605 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0089007

(22) 출원일자 2011년09월02일

심사청구일자 2011년09월02일

기술이전 희망 : , 실시권하여, 기술지도

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

허성오

강원도 춘천시 삭주로 89-7, 106동 107호 (후평동, 에리트아파트)

아타우르라만

강원도 춘천시 한림대학길 1, 의과대학 약리학교실 (옥천동, 한림대학교)

(뒷면에 계속)

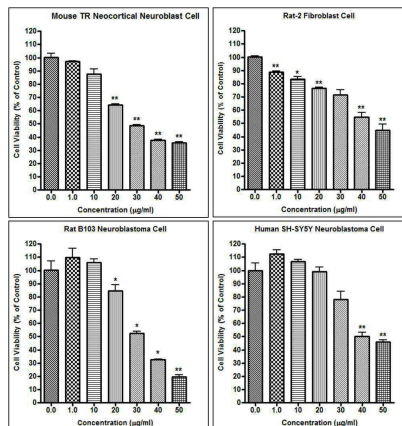
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 산뽕나무 줄기 추출물 oxyresveratrol을 포함하는 항암제 조성물

(57) 요약

본 발명은 산뽕나무(*Morus bombycis koidz*) 뽕나무과 식물 추출물의 유효성분인 oxyresveratrol이 세포증식억제의 약리작용을 갖는 성분으로서 항암제 및 이를 포함하는 건강기능성 식품 조성물의 개발을 포함하는 것을 특징으로 한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

양해걸

강원도 춘천시 한림대학길 1, 의과대학 약리학교실
(옥천동, 한림대학교)

임순성

강원도 춘천시 춘주로 174, 102동 401호 (퇴계동,
그린타운아파트)

김진규

강원도 춘천시 승지골길16번길 47, 퇴계 1005-1103
(퇴계동, 뜨란채아파트)

김남호

강원도 춘천시 후평1동 봉의아파트 6-204

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 B0008864

부처명 지식경제부

연구사업명 지역혁신센터사업(RIC)

연구과제명 뇌신경종양세포 증식 억제 효능이 있는 라이소지질에 의한 신호전달 물질 및 천연물유래
물질 스크리닝을 통한 새로운 항암기능성 식품 소재 개발

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2011.03.01 ~ 2012.02.29

특허청구의 범위

청구항 1

산뽕나무(*Morus bombycis koidz*) 식물을 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 산뽕나무 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 함유하는 항암제 조성물

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 산뽕나무 추출물의 유효성분 oxyresveratrol은 산뽕나무를 60 내지 95 %(v/v) 에탄올로 추출하여 얻어진 것인, 항암제 조성물

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 뽕나무과 식물 중량의 5 내지 20배에 해당하는 에탄올을 가하고, 50 내지 100℃의 온도범위에서 1 내지 10 시간 동안 추출한 후 수득한 추출물을 여과하고, 여과된 액으로부터 에탄올을 증발시킴으로써 수득하는 것을 특징으로 하는 항암제 조성물

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 항암제 조성물을 포함하는 건강기능성 식품 조성물

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 항암 기작은 암세포의 아포토시스 또는 괴사를 통하여 진행되는 것을 특징으로 하는 항암 조성물

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 산뽕나무(*Morus bombycis koidz*) 뽕나무과 식물 추출물 oxyresveratrol의 유효성분을 함유한 항암제 조성물 및 이를 포함하는 건강기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 인류가 극복하지 못한 많은 질환 중에서도 특히 암은 우리에게 가장 위협적인 질환으로 알려져 있다. 이는 한국 뿐만 아니라, 미국, 일본 등 거의 대부분의 나라에서 공통적인 연구과제로 되어 있다. 이렇게 암에 대한 심도 깊은 연구가 30년 이상 이루어진 현재에도 환경오염, 잘못된 식생활습관 등으로 인하여 암 발생률은 계속 증가하여 2020년에는 전 세계적으로 매년 1500만명정도 발생하며 세계보건기구(WHO)는 사망의 주요원인 중 하나로 암을 꼽고 있다.

[0003] 또한 중년층의 질환으로서 60%이상이 60세 이상에서 진단되어 세계인구가 고령화됨에 따라 암 발생률이 증가하게 되는 것이 불가피한 현상으로 되고 있다. 미국질병통제예방센터는 미국 암환자 수가 최근 급속히 증가해 미국인 20명당 1명의 암환자가 발생한다고 보고되었고, 국내에서도 보건복지부의 통계에 따르면 매년 13만 이상 암환자들이 늘어나는 추세가_보인다고 보고하였다. 한국인이 평균수명 80세까지 생존할 경우, 암에 걸린 확률은 34%로 3명중 1명이 암에 걸리는 것으로 나타내고, 미국은 남자 2명중 1명, 여자 3명중 1명이 암에 걸리는 것으로 보고되었다[Cancer statistics, 2010, CA Cancer J Clin 2010].

[0004] 인체는 약 60조개의 세포로 구성되었고 인체에서 발생하는 암의 종류는 100여종 이상이며, 기원에 따라 암은 상피성종양, 육종 및 백혈병 또는 임파종과 같이 3집단으로 분류되어 있다. 인체 암의 약 90%는 상피성종양이며 외배엽이나 내배엽의 상피세포에서 유래한다. 암은 이와 같이 발생기원은 알려져 있어 분류는 가능하지만 발생기전은 아직도 명확하지 않아 난치성 질병의 하나로 알려져 있다.

[0005] 암은 개시 단계(initiation), 촉진단계(promotion), 진행단계(progression), 전이단계(metastasis)와 같은 다단계로 되어있는데 화학적 암 예방은 주로 개시단계와 촉진단계에서 암 발생을 억제하는 것을 목표로 하며 그 기전에 따라 크게 두가지로 구분되었다. 즉, 발암물질이 세포내 표적물과 반응하거나 목적물체의 도달을 억제하

는 기전을 가진 블록킹 에이전트(blocking agent)와 발암물질에 노출된 세포가 신생물(neoplasia)로 나타나는 과정을 억제하는 서프레싱 에이전트(suppressing agent)로 나눌 수 있다. 블록킹 에이전트로는 사이토크롬 P-450 (cytochrome P-450) 효소의 억제물질인 디알릴 설파이드 (diallyl sulfide), 이소티오시아네이트 (isothiocyanate), 엘라직엑시드 (ellagic acid)등이 알려져 있으며, 2상 해독효소계의 유도제인 페닐에틸이소티오시아네이트 (phenylethyl isothiocyanate), 설포라판 (sulforaphane), 올티프라즈 (oltipraz)등이 알려져 있다. 서프레싱 에이전트로는 폴리아민 (polyamine) 대사 억제물질로 DFMO, 세포분화촉진제로 레티노이드 (retinoid)계열, 프로틴 키나제 C (protein kinase C) 억제물질로 제니스테인 (genistein), 산화성 DNA 손상억제물질로 EGCG 등이 있다.

[0006] 일반적인 암의 치료법은 크게 외과적 수술, 방사선 치료, 약물치료 등 세가지가 있다. 외과적 수술은 다양한 암의 단계에서 적용될 수 있다. 초기단계의 암들은 외과적 수술로 치료가 가능하지만, 암이 많이 진전되거나, 전이가 일어난 경우 외과적 수술만으로는 치료가 어렵게 된다. 방사선 치료는 외부에서 방사선을 조사하거나, 체내로 투여한 방사성 물질에서부터 나온 X-ray나 γ -ray를 암세포에 조사하여 암을 치료한다. 방사선요법은 외과적 수술이 곤란한 부위나 방사선에 민감한 암의 치료에 사용된다. 약물치료는 항암제를 경구나 주사로 투여하여, 암세포의 증식에 필요한 DNA나 관련 enzyme을 파괴하거나 억제하는 방법이다. 이러한 치료는 DNA손상, 세포의 스트레스, DNA복제 억제, 세포 분열에 의해 암세포의 죽음을 유도하지만, 이러한 치료법은 반복 치료 후에 부작용이 따르고 또한 암에 대한 저항성이 생기며, 완치가 어려워 근본적인 치료법은 되지 못하고 있는 현실로서 암의 진단이 늦어지거나 암이 전이된 경우에는 치료 방법이 복잡해지며 치료에 소요되는 정신적, 경제적 부담이 훨씬 커지게 될 수 있다.

[0007] 현재 암 치료에 사용되고 있는 항암제는 분열과 증식속도가 빠른 암세포에 작용하게 되므로 정상세포 가운데 성장속도가 빠른 골수세포, 위장관 점막, 모발세포에도 쉽게 독성을 나타낸다. 특히 골수세포는 각종 혈구를 생산하는 중요한 기능을 담당하므로 골수기능 억제는 세포독성 항암제의 용량을 제한하는 주요한 부작용이 나타나므로 최근에는 인체에 독성을 나타내지 않은 안전성이 높은 새로운 항암 치료제에 대한 연구개발이 시급한 실정으로 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol에 대하여, 다양한 항암효과의 여러 가지 지표에 대한 테스트를 실시해봄으로써, 항암효과가 드러남을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서, 본 발명의 일례는 산뽕나무(*Morus bombycis koidz*) 식물 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 함유하는 항암제 조성물을 제공한다.

[0010] 또 다른 예는 상기 산뽕나무 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 포함하는 건강기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

[0011] 또 다른 예는 상기 산뽕나무 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 포함하는 항암제 조성물의 제조 방법에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명자들은 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분인 oxyresveratrol을 이용하여 각각의 세포주: SH-SY5Y (Human neuroblastoma cell), B103 (Rat neuroblastoma cell), Rat-2 (Rat embryo fibroblast cell), TR (Mouse neocortical neuroblast cell) 에서 본 추출물의 유효성분 oxyresveratrol 처리 24시간 후 광학현미경하에서의 형태학적 변화를 관찰하였으며, 세포성장억제 및 독성을 관찰하기 위하여 CCK-8 assay을 실시하여 항암효과를 측정 규명하여 본 발명을 완성하였다.

[0013] 이에, 산뽕나무(*Morus bombycis koidz*) 줄기 뽕나무과 식물 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 함유하는 항암제 조성물이 제공된다.

[0014] 또 다른 예에서,

[0015] 건조된 산뽕나무 식물을 준비하는 단계; 및

[0016] 상기 준비된 건조시킨 뽕나무과 식물에 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용

매를 가하여, 수용액상에서 추출하는 단계를 포함하는 상기 항암제 조성물의 제조 방법이 제공된다.

- [0017] 이하, 이를 보다 상세히 설명한다.
- [0018] 산뽕나무(*Morus bombycis koidz*)는 뽕나무과 낙엽 교목이나 관목상으로 자라기도 한다. 잎은 호생하고 난형 또는 광난형으로 다소 두껍고 광택이 있으며, 잎 아래쪽은 3~5갈래로 나누어지고 길이가 6~14cm, 폭은 3~9cm이다. 잎 가장자리에는 톱니가 있고 표면은 녹색이며 털이 없고, 뒷면은 담녹색이고 주맥상에 털이 있다. 꽃은 4~6월에 피고 2가화 또는 잡성화이며, 수꽃은 긴 수상꽃차례로 모여 피고 4개의 수술과 4장의 꽃덮이조각으로 되어 있으며, 암꽃은 암술머리가 2개로 나누어진 암술로 되어 있으나 암술대는 거의 없다. 열매는 6월에 타원형 또는 장타원형으로 길이가 5~14mm로 적색 또는 흑자색으로 익는다. 나무 높이는 12m에 달하며 보통 해발 1000m이하의 숲 속에서 자란다. 원산지는 중국이며, 한국에서 자생하거나 재배한다. 뽕나무과에 속하는 식물로는 섬뽕(*Var. maritima koidz*), 꼬리뽕(*Var. caudatifolia koidz*), 산뽕(*Morus bombycis koidz*) 등이 있으며, 본 발명의 구체예에서는 산뽕(*Morus bombycis koidz*)을 사용하였다.
- [0019] 본 발명의 뽕나무과 식물 추출물은 식물 전체를 추출하여 얻어진 것이거나, 식물 일부(뿌리, 잎, 꽃, 줄기, 열매 등), 예컨대 식물의 지상부(잎, 꽃 줄기, 열매), 바람직하게는 줄기를 추출하여 얻어진 것일 수 있다. 지금까지 산뽕나무 줄기 추출물에 대한 항암 효과에 대해서는 알려진 바가 없다. 특히, 본 발명에 따른 산뽕나무 식물 추출물은 다른 유효성분과 병용되지 않고 단독으로 사용되는 경우에도 충분한 항암 효과를 얻을 수 있다는 장점이 있다.
- [0020] 본 발명에서 사용 가능한 뽕나무과 식물은 섬뽕(*Var. maritima koidz*), 꼬리뽕(*Var. caudatifolia koidz*) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것일 수 있다.
- [0021] 상기 뽕나무과 식물 추출물은 식물의 줄기를 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 것일 수 있다.
- [0022] 구체예에 있어서, 상기 산뽕나무 줄기 추출물은 산뽕나무 줄기를 50 내지 99.9%(v/v)의 탄소수 1 내지 4의 알코올, 바람직하게는 60 내지 95%(v/v)의 에탄올로 추출하여 얻어진 것일 수 있다.
- [0023] 본 발명의 구체예에서는 산뽕나무의 줄기를 70 내지 90%의 에탄올로 추출하여 얻어진 추출물을 사용하였으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 산뽕나무 줄기 내의 유효성분이 충분히 추출될 수 있도록, 상기 추출용매의 사용량은 산뽕나무 줄기를 중량 기준으로 약 5 내지 20배, 바람직하게는 약 7 내지 15배일 수 있으며, 추출 온도는 50 내지 100℃, 바람직하게는 60 내지 80℃ 범위로 하고, 추출 시간은 1 내지 10 시간, 바람직하게는 1 내지 5시간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명의 조성물은 유효성분인 산뽕나무 줄기 추출물 외에, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다. 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다. 상기 추가성분의 함량은 바람직하게는 상기 산뽕나무 추출물 100 중량부 당 0.01 내지 100 중량부 범위에서 추가할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0026] 상기 조성물 내의 산뽕나무 추출물의 함량은 질환의 증상, 증상의 정도, 환자의 상태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.0001 내지 99.9중량%, 바람직하게는 0.001 내지 50중량%인 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.
- [0027] 상기 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있으며, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형, 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0028] 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 증진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 적어도 한 가지 이상의 부형제 및/또는 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다.

[0029] 상기 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 보다 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물의 투여량은 유효성분을 기준으로 1일 1 mg/kg 내지 100 mg/kg으로 하는 것이 좋으나 이에 제한되는 것은 아니다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 조성물은 동물, 바람직하게는 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육, 피하주사 등에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물의 약학적 투여 형태는 유효성분의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

[0030] 또 다른 예에서, 상기 산뽕나무 식물 추출물을 포함하는 건강기능성 식품 조성물이 제공된다.

[0031] 본 발명에서 식품은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 각종 식품, 건강기능 식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의미로 사용된다. 상기 식품의 예로서 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 목류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일, 채소류, 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 건강기능식품, 음료, 식품첨가제 또는 음료첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0032] 상기 식품 조성물은 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0033] 또한, 상기 식품에 있어서, 상기 산뽕나무 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 상기 식품이 음료인 경우에는 식품 전체의 부피 100 ml 를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0034] 본 발명은 항암제 조성물에 관한 것으로 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 이용한 항암효과를 얻는 것을 그 특징으로 하며 이는 천연물에서 유래한 항암제 조성물이라는 측면에서 그 의의가 있으며 이를 적극적으로 활용할 경우 다양한 질병에 대한 항암제 조성물로서 널리 활용될 수 있으며 나아가 국민 건강에 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol이 각각의 세포주 (Mouse TR neocortical neuroblast cell, Rat embryo Rat-2 fibroblast cell, Rat B103 neuroblastoma cell, Human SH-SY5Y neuroblastoma cell)에 대한 세포성장억제 및 독성을 조사하기 위하여 CCK-8 assay를 실시하였다. 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 1.0, 10, 20, 30, 40, 50 ug/ml의 농도로 서로 다른 세포주에 처리하고 37℃ 24시간 배양한 후 산뽕나무 줄기 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 활성을 확인한 결과 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol의 농도 의존적으로 강력한 세포독성을 확인할 수 있는 그래프이다. 이는 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol이 높은 항암활성을 띠고 있는 것을 보여준다.

도 2는 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol이 Rat 신경아세포종 세포주 (Rat B103 Neuroblastoma cell)에 미치는 영향을 분석하기 위하여 농도 별로 처리하여 37℃ 24시간 배양한 후 암세포의 형태변화를 광학 현미경으로 조사하였다. 사진에서 나타난 바와 같이 산뽕나무 줄기 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교할 때 농도 의존적으로 형태학적 변화가 나타난 현상을 관찰할 수 있다. 즉, 전체적인 세포의 수가 적을 뿐만 아니라 그 형태가 응축되어 있고, 불규칙적인 형태를 가지면서 세포사멸이 나타난 것을 관찰할 수 있다.

도 3은 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 사람 신경아세포종 세포주 (SH-SY5Y Neuroblastoma cell)에 미치는 영향을 분석하기 위하여 농도 별로 처리하여 37℃ 24시간 배양한 후 암세포의 형태변화를 광학 현미경으로 조사하였다. 사진에서 나타난 바와 같이 산뽕나무 줄기 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교할 때

농도 의존적으로 세포사멸 현상이 나타난 것을 관찰할 수 있다.

도 4는 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 사람 신경아세포종 세포주 (SH-SY5Y Neuroblastoma cell)의 S phase 분율의 변화를 측정하기 위하여 BrdU assay를 진행하였다. 각각 1, 30, 40 ug/ml의 농도로 처리 24시간 후 대조군에 비하여 암세포의 S phase 분율의 변화가 통계적으로 유의성 있게 나타났으며, 추출물의 농도 증가에 따라 유의한 감소를 보였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하도록 한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 대표적으로 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.

실시예 1

[0037] 산뽕나무 줄기 추출물의 제조

[0038] 산뽕나무 줄기 부분을 건조시킨 후, 건조된 산뽕나무 줄기 100g에 상기 중량 기준으로 10배(v/v)의 70%(v/v) 에탄올을 가하고, 70℃에서 3시간 동안 추출한 다음, 이를 여과하여 산뽕나무 줄기 추출액을 얻었다. 상기 추출 과정을 2회 반복하여 얻어진 추출액을 40℃ 이하에서 감압 농축한 후 이를 동결 건조하여 분말상의 추출물을 얻었다.

실시예 2

[0039] 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol이 각각의 세포주에서의 세포독성 실험

[0040] 상기 실시예 1에서 제조된 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 각각 Mouse TR neocortical neuroblast cell, Rat embryo Rat-2 fibroblast cell, Rat B103 neuroblastoma cell, Human SH-SY5Y neuroblastoma cell 등의 암세포에 대한 세포성장억제 및 독성을 조사하기 위하여 CCK-8 assay를 실시하였다. 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 1.0, 10, 20, 30, 40, 50 ug/ml의 농도로 24시간 처리한 후 세포독성을 측정하였다. 대조군은 산뽕나무 줄기 추출물 대신에 DMSO가 동량 처리된 암세포를 사용하여 동일한 조건에서 실험을 진행하였다.

[0041] 상기 얻어진 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1은 1.0, 10, 20, 30, 40, 50 ug/ml 의 농도로 처리된 부동한 암세포그룹을 대조군과 비교하여 나타낸 것이다. 도 1에서 보듯이, 산뽕나무 줄기 추출물은 대조군과 비교하여 세포성장억제 및 독성이 농도 의존적으로 감소되어 세포 생존력이 현저하게 감소된 결과로 나타났다.

실시예 3

[0042] 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol이 Rat신경아세포종 세포주(Rat B103 Neuroblastoma cell)에서의 세포독성 실험

[0043] 상기 실시예 1에서 제조된 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 Rat 신경아세포종 세포주(Rat B103 Neuroblastoma cell)에 각각 1, 20, 30 ug/ml의 농도로 처리 24시간 후 암세포의 형태학적변화를 광학현미경으로 조사하였다. 대조군은 산뽕나무 줄기 추출물 대신에 DMSO가 동량 처리된 Rat B103 Neuroblastoma cell을 사용하여 동일한 조건에서 실험을 진행하였다.

[0044] 상기 얻어진 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2는 산뽕나무 줄기 추출물 의 유효성분 oxyresveratrol의 처리농도에 따른 형태학적변화를 대조군과 비교하여 보여주는 사진이다. 도 2에서 보듯이, 산뽕나무 줄기 추출물은 대조군과 비교하여 형태학적으로 현저하게 세포사멸 현상이 나타난 것을 알 수 있다.

실시예 4

[0045] 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol이 사람 신경아세포종 세포주(Human SH-SY5Y Neuroblastoma cell)에서의 세포독성 실험

[0046] 상기 실시예 1에서 제조된 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 사람 신경아세포종 세포주(SH-SY5Y Neuroblastoma cell)에 각각 1, 30, 40 ug/ml의 농도로 처리 24시간 후 암세포의 형태학적변화를 광학현미경으로 조사하였다. 대조군은 산뽕나무 줄기 추출물 대신에 DMSO가 동량 처리된 Human SH-SY5Y Neuroblastoma cell을 사용하여 동일한 조건에서 실험을 진행하였다.

[0047] 상기 얻어진 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3은 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol의 처리농도에 따른 형태학적변화를 대조군과 비교하여 보여주는 사진이다. 도3에서 보듯이, 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol은 대조군과 비교하여 강력한 세포독성을 확인할 수 있다.

실시예 5

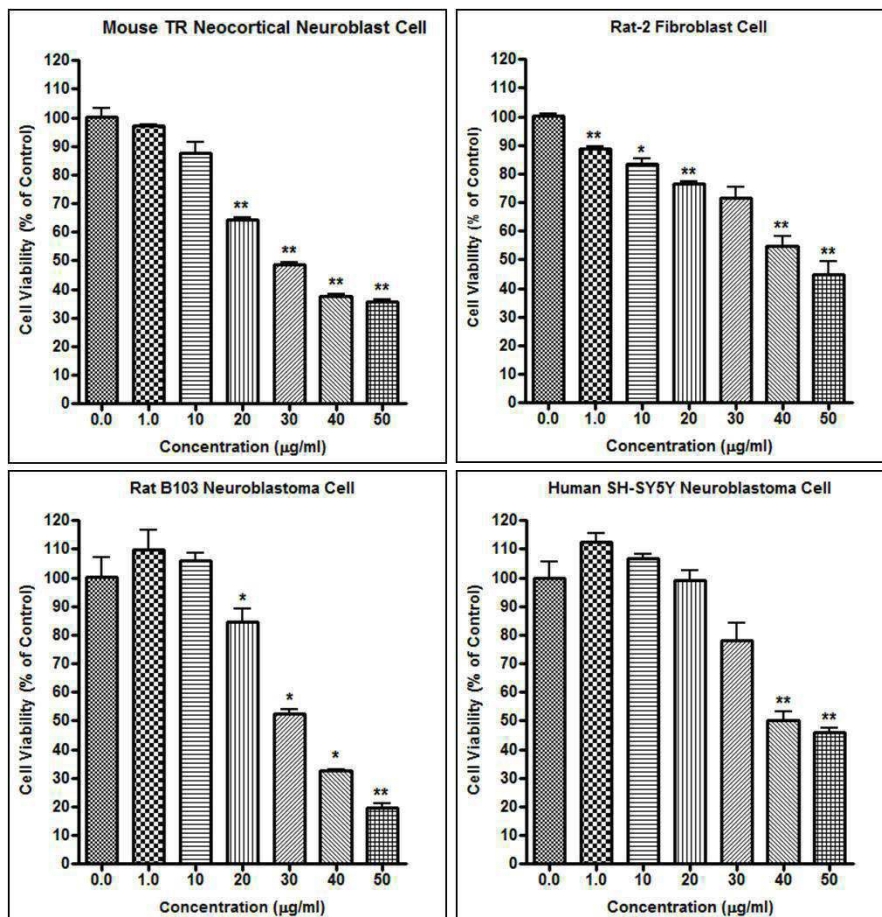
[0048] 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol이 사람 신경아세포종 세포주 (Human SH-SY5Y Neuroblastoma cell)에서의 BrdU 분석

[0049] 상기 실시예 1에서 제조된 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol을 사람 신경아세포종 세포주(SH-SY5Y Neuroblastoma cell)에 각각 1, 30, 40 ug/ml의 농도로 처리 24시간 후 암세포의 S phase 분율의 변화를 측정하기 위하여 BrdU염색을 진행하여 암세포의 증식억제 효과를 분석하였다. 대조군은 산뽕나무 줄기 추출물 대신에 DMSO가 동량 처리된 Human SH-SY5Y Neuroblastoma cell을 사용하여 동일한 조건에서 실험을 진행하였다.

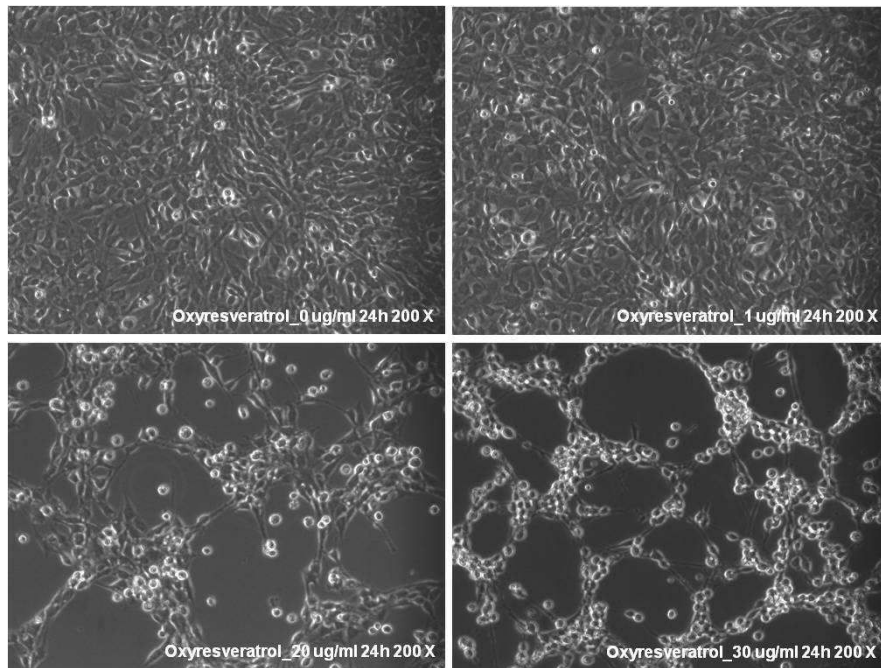
[0050] 상기 얻어진 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4는 산뽕나무 줄기 추출물의 유효성분 oxyresveratrol의 처리농도에 따른 암세포 증식억제 효과를 대조군과 비교하여 보여주는 사진이다. 도 4에서 보듯이, 산뽕나무 줄기 추출물은 대조군과 비교하여 강한 암세포 증식 억제효과를 확인할 수 있다.

도면

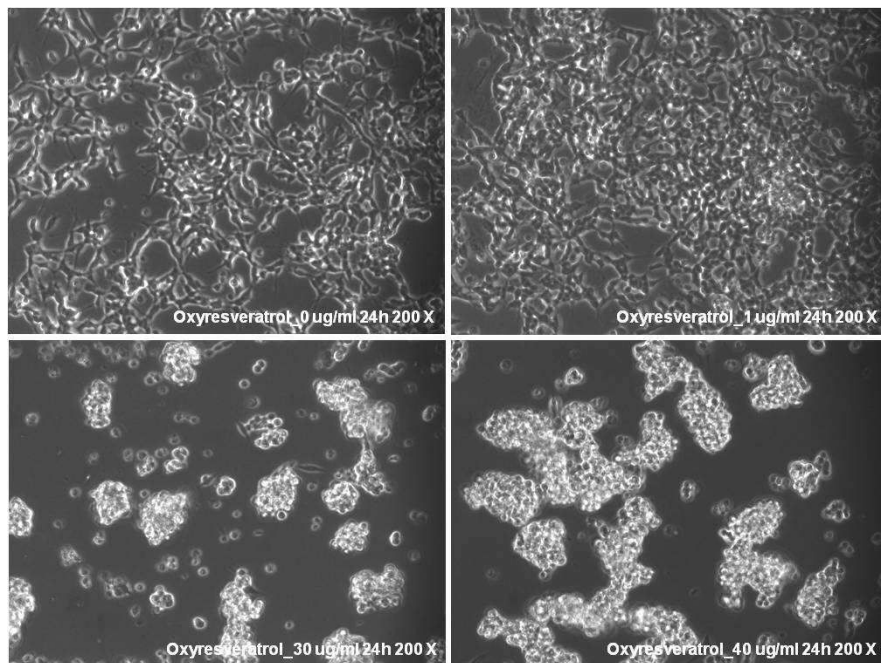
도면1



도면2



도면3



도면4

