

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0127046

(43) 공개일자 2023년08월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/7048 (2006.01) *A23K 20/163* (2016.01)*A23L 33/125* (2016.01) *A61K 31/513* (2006.01)*A61K 31/704* (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/7048 (2013.01)*A23K 20/163* (2016.05)

(21) 출원번호 10-2022-0024638

(22) 출원일자 2022년02월24일

심사청구일자 2022년02월24일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

정지훈

서울특별시 강남구 언주로30길 57, E-814 (타워팰리스)

장형진

서울특별시 강남구 도곡로 306, 105동 1502호 (래미안그레이트)

고현민

경기도 의정부시 시민로 253, 201동 401호 (신곡신일2차아파트)

(74) 대리인

김순웅

전체 청구항 수 : 총 10 항

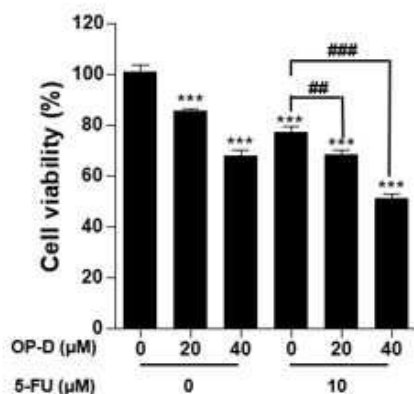
(54) 발명의 명칭 오피오포고닌 D를 포함하는 항암용 조성물

(57) 요약

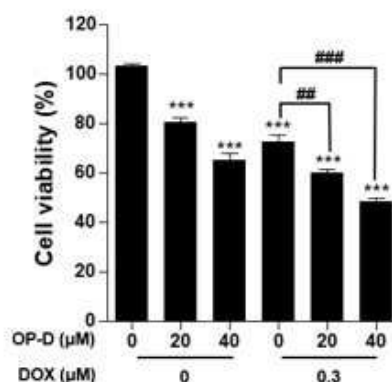
본 발명은 오피오포고닌 D를 포함하는 항암용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 조성물은 대장암 세포의 생존을 억제하고 세포자멸을 유도하며, 기존 항암제와 병용 투여하는 경우 시너지 효과로 항암 활성이 증진되어 대장암의 예방 또는 치료제 개발에 유용하게 활용할 수 있다.

대표도 - 도6

A



B



(52) CPC특허분류

A23L 33/125 (2020.05)
A61K 31/513 (2013.01)
A61K 31/704 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/308 (2013.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711115415
과제번호	2020R1C1C1009348
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	대장암세포에서 CNOT2를 매개하는 항암성 한약재의 작용 기전 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2020.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 및 항암제를 포함하는 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 항암제는 이리노테칸 (Irinotecan), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin), 독소루비신 (Doxorubicin), 5-플루오로우라실 (Fluorouracil) 및 카페시타빈 (Capecitabine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 오피오포고닌 D는 상기 항암제와 동시에(simultaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여되는 것을 특징으로 하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 약학 조성물은 암세포의 PARP 절단(cleavage) 또는 종양억제유전자 p53의 발현을 증가시키고 종양유전자 c-Myc의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암제 보조제 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 조성물은 대장암 치료 효과 증진용인, 항암제 보조제 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 항암제는 이리노테칸 (Irinotecan), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin), 독소루비신 (Doxorubicin), 5-플루오로우라실 (Fluorouracil) 및 카페시타빈 (Capecitabine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 항암제 보조제 조성물.

청구항 9

오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암용 건강기능성 식품조성물.

청구항 10

오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암용 사료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 오피오포고닌 D 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 항암용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포의 조절 기능은 다양한 원인에 의해 문제가 생길 수 있다. 세포의 조절 기능 문제는 정상적으로 사멸해야 할 비정상 세포들이 과다 증식을 일으키며 경우에 따라 이들이 주변 조직 및 장기에 침입하게 되어 종괴를 형성하고 기존의 정상적인 구조를 파괴하거나 변형시킨다. 현대의학에서는 이러한 상태를 암 또는 악성종양이라고 정의한다. 암은 대표적인 현대의 난치병으로서 환경오염이나 과도한 스트레스, 서구적 식생활 등 다양한 원인으로 인하여 그 발생빈도가 점점 더 증가하고 있는 추세에 있다. 암은 2016년 기준으로 한국인 사망원인 1위이며 21세기 말에는 전세계 사망원인 중 1위가 될 것으로 예측되고 있다.

[0003] 암을 치료하는 방법으로는 현재 외과적 수술, 방사선 치료 및 화학적 치료가 사용되고 있는데, 외과적 수술은 초기상태 암의 제거에는 효과적이거나, 경우에 따라서는 장기를 제거해야 하는 등의 부작용과 전이를 방지할 수 없다는 문제가 있으며, 방사선 치료의 경우도 특정부위의 암 치료에는 치료효과가 높은 장점이 있는 반면 방사선 조사로 인한 새로운 발암 위험성과 전이를 방지할 수 없다는 점과 함께 치료시 환자의 고통을 수반한다는 문제가 있다.

[0004] 또한, 화학적 치료는 악성종양의 치료를 위해 화학요법제인 항암제를 사용하는 방법으로서, 항암제는 암세포의 대사경로에 개입하여 DNA의 복제, 전사, 번역과정을 차단하거나, 핵산 전구체의 합성을 방해하고, 세포의 분열을 저해함으로써, 정상세포보다 세포분열이 빠른 암세포에 독성을 유발하는 것이다.

[0005] 현재 암 치료에 사용되고 있는 항암제는 생화학적인 작용 기전에 따라 크게 알킬화제, 대사길항제, 항생물질, 유사분열억제제, 호르몬제 및 기타 제제의 6개의 범주로 분류되며, 대표적인 항암제로는 1970년대에 개발되어 사용된 독소루비신(Doxorubicin)과 시스플라틴(cisplatin)을 비롯하여, 5-FU(Fluorouracil), 닥티노마이신(Dactinomycin), 빈크리스틴(Vincristine), 메클로에타민(Mechloethamine) 및 최근에 개발된 도세탁셀(docetaxel), 플루다라빈(fludarabine), 클라드리빈(cladribine), 비노렐빈(vinorelbine) 등 현재 약 60여종의 다양한 항암제가 사용되고 있다.

[0006] 그러나 상기 항암제들은 반복적으로 장기간 투여되거나 암이 재발된 경우에는 암세포가 항암제에 대한 내성을 획득함으로써 치료 효과를 상실하는 단점이 있다. 또한, 대부분의 항암제는 세포 내 핵산의 합성을 억제하거나 핵산에 직접 결합하여 그 기능을 손상시킴으로 효과를 나타내는데, 이들 항암제는 암세포에만 선택적으로 작용하는 것이 아니라 정상세포, 특히 세포분열이 활발한 조직 세포에도 손상을 입히기 때문에 골수 기능 저하, 위장관 점막 손상, 탈모 등 여러 부작용이 나타나는 단점이 있다.

[0007] 그리하여 상기와 같은 암세포의 항암제에 대한 내성을 억제하고자, 단일 제제의 항암제를 사용하기보다는 교차내성(cross-resistance)이 없고, 작용 기전이 서로 다른 약제를 사용하는 병용 요법(combined chemotherapy) 또는 부작용이 없는 새로운 항암제를 개발하거나 종래의 항암제를 최소 유효 농도로 사용하는 방법 등이 제시되고 있다.

[0008] 따라서 최근 암 질환을 정복을 위하여 무엇보다 기존의 항암제의 문제점으로 지적되어 온 항암제 내성을 극복하면서도, 효과적인 항암 활성을 갖는 새로운 항암 치료 방법의 개발이 시급한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 과제는 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물 또는 항암제 보조제 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 과제는 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 및 항암제를 포함하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 과제는 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암용 건강기능성 식품조성물 또는 사료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염

을 포함하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

- [0013] 또한, 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 및 항암제를 포함하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0014] 상기 항암제는 이리노테칸 (Irinotecan), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin), 독소루비신 (Doxorubicin), 5-플루오로우라실 (Fluorouracil) 및 카페시타빈 (Capecitabine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0015] 상기 오피오포고닌 D는 상기 항암제와 동시에(simultaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여될 수 있다.
- [0016] 상기 약학 조성물은 암세포의 PARP 절단(cleavage) 또는 종양억제유전자 p53의 발현을 증가시키고 종양유전자 c-Myc의 발현을 감소시키는 것일 수 있다.
- [0017] 또한 본 발명은 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암제 보조제 조성물을 제공한다.
- [0018] 상기 조성물은 대장암 치료 효과 증진용일 수 있다.
- [0019] 상기 항암제는 이리노테칸 (Irinotecan), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin), 독소루비신 (Doxorubicin), 5-플루오로우라실 (Fluorouracil) 및 카페시타빈 (Capecitabine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 항암제 보조제 조성물.
- [0020] 또한 본 발명은 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암용 건강기능성 식품조성물을 제공한다.
- [0021] 또한 본 발명은 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암용 사료 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명에 따른 조성물은 대장암 세포의 생존을 억제하고 세포자멸을 유도하며, 기존 항암제와 병용 투여하는 경우 시너지 효과로 항암 활성이 증진되어 대장암의 예방 또는 치료제 개발에 유용하게 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 오피오포고닌 D를 농도별로 처리한 HCT116^{p53+/+} 세포 및 HCT116^{p53-/-} 세포의 생존율을 나타낸 도이다.
- 도 2는 p53 siRNA를 도입한 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}에서 OP-D 처리에 따른 PARP 절단 변화를 나타낸 도이다.
- 도 3은 RPL5 siRNA (A) 또는 RPL11 siRNA(B)을 도입한 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}에서 OP-D 처리에 따른 p53 및 p21의 발현 변화를 나타낸 도이다.
- 도 4는 CNOT2 siRNA를 도입한 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}에서 OP-D 처리에 따른 c-Myc 및 pro-PARP 변화를 확인한 결과 및 이를 정량화한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 5는 OP-D 처리 또는 OP-D 미처리 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}에서 시클로헥시미드를 처리한 후의 CNOT2, c-Myc 발현 변화를 나타낸 도이다.
- 도 6은 OP-D단독 또는 항암제 5-FU(도 6A)또는 DOX(도 6B)와 병용 처리한 HCT116 세포의 세포 생존율을 나타낸 도이다.
- 도 7은 대장암 세포주 HCT116에서 OP-D 및 5-FU 병용 처리에 따른 p53, p21, c-Myc 및 Pro-PARP 발현 변화를 나타낸 도이다. a: 웨스턴 블롯팅 결과, b: 웨스턴 블롯 농도계 정량.
- 도 8은 대장암 세포주 HCT116에서 OP-D 및 DOX 병용 처리에 따른 p53, p21, c-Myc, Cleaved PARP 및 Pro-PARP 발현 변화를 나타낸 도이다. a: 웨스턴 블롯팅 결과, b: 웨스턴 블롯 농도계 정량.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 달리 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖고 있다.

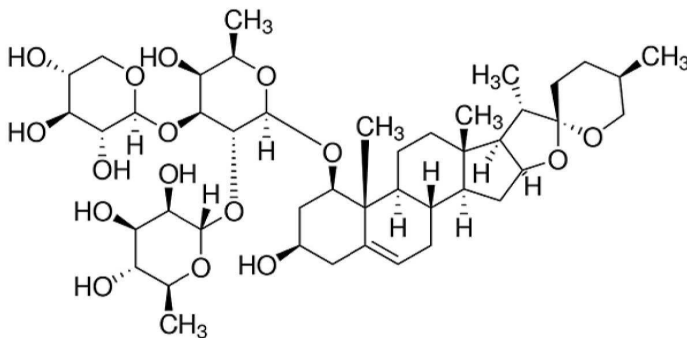
[0025] 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 갖는 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0027] 본 발명자들은 맥문동으로부터 유래한 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D)가 리보솜 단백질 L5, L11을 통해 종양억제유전자인 p53을 활성화하고, CNOT2를 통해 종양유전자 c-Myc의 발현을 조절하면서 p53 의존적으로 대장암 세포의 생존을 억제하고 세포자멸사(Apoptosis)를 유발함을 밝혀냈다. 또한, 오피오포고닌 D를 대장암의 치료제로 사용되는 항암제와 병용 처리할 경우 항암 활성을 더욱 증진시킬 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0029] 본 발명은 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0030] 상기 "오피오포고닌 D"는 화학식 C₄₄H₇₀O₁₆으로 구성되고, (1 β ,3 β ,25R)-3-Hydroxyspirost-5-en-1-yl 0-6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]-0-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]-6-deoxy- β -D-galactopyranoside 또는 25(R)-Ruscogenin 1-0-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-fucopyranoside, Deacetylophiopogonin C으로 통칭되며 하기 [화학식 1]의 구조를 갖는 화합물을 의미한다.

[0031] [화학식 1]



[0032]

[0033] 본 발명에 따른 [화학식 1]로 표시되는 오피오포고닌 D는 염의 형태로 사용될 수 있다. 상기 염으로는 약학적, 화장품학적 또는 식품학적으로 허용되는 다양한 유기산 또는 무기산에 의해 형성된 산부가염을 사용할 수 있다.

[0034] 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 다이카복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻을 수 있다. 이러한 무독성 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피온산, 옥살산, 말론산, 숙신산, 수베레이트, 세바케이트, 푸마렐트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디온산, 벤조산, 클로로벤조산, 메틸벤조산, 디니트로 벤조산, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조산, 프달산, 테레프탈레이트, 벤젠설폰산, 톨루엔설폰산, 클로로벤젠설폰산, 크실렌설폰산, 페닐아세트산, 페닐프로피온산, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설폰네이트, 프로판설폰네이트, 나프탈렌-1-설폰네이트, 나프탈렌-2-설폰네이트, 만델레이트, 트라이플루오로아세트산 등을 사용하여 제조할 수 있다.

[0035] 이때, 본 발명에 따른 상기 산 부가염은 통상의 방법, 예를들면 [화학식 1]의 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기용매, 예를들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡

입 여과시켜 제조할 수도 있다.

- [0036] 또한, 본 발명에 따른 [화학식 1]로 표시되는 오피오포고닌-D는 염기를 사용하여 약학적, 화장품학적 또는 식품학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면, 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 리튬, 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 적합하다.
- [0037] 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염 (예를 들면, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.
- [0038] 본 발명에서 상기 대장암은 직장암 및 결장암을 모두 포함하는 것으로, 직결장암과 상호 교환적으로 사용될 수 있다.
- [0039] 본 발명에 따른 조성물이 약학적 조성물의 형태인 경우, 약학적으로 유효한 양의 오피오포고닌 D를 단독으로 포함하거나 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 이때, 약학적으로 허용되는 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아고무, 인산칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성 셀룰로스, 폴리비닐 피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여 (예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환축의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환축 질환의 종류, 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.
- [0042] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 구체적으로 본 발명의 약학적 조성물의 유효량은 환축의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에 활성 성분의 흡수도, 불활성율 및 배설속도, 질병종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 1 kg 당 1 내지 500 mg을 매일 또는 격일 투여하거나, 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 투여 경로, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감 될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명에 따른 조성물은 항암제를 더 포함할 수 있다.
- [0044] 따라서 본 발명은 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 및 항암제를 포함하는, 대장암의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0045] 상기 항암제(Anticancer agents)는 암세포의 대사경로에 개입하여 DNA 또는 RNA의 합성과 분열을 억제하거나, 또는 DNA 자체에 손상을 주어 세포의 사멸을 유도하는 항암제를 의미하며, 항암 화학요법제(chemotherapeutic agents)로 불리기도 한다.
- [0046] 본 발명에서 항암제는 이리노테칸 (Irinotecan), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin), 독소루비신 (Doxorubicin), 5-플루오로우라실 (Fluorouracil) 및 카페시타빈 (Capecitabine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 독소루비신 (Doxorubicin) 또는 5-플루오로우라실 (Fluorouracil)일 수 있으나 이에 한정하지 않고 대장암의 치료 용도로 사용되는 항암제를 포함할 수 있다.
- [0047] 상기 항암제는 공지된 화학합성법, 추출법 및 해당 항암제 생산 세포주를 배양하여 수득하는 배양법 등에 의해 제조할 수 있다. 또한, 시판되고 있는 약제를 구입하여 사용할 수 있다.
- [0048] 본 발명은 따른 조성물은 오피오포고닌 D와 상기 항암제를 병용 투여함으로써 암 치료 효과를 상승시키는 작용을 한다.

- [0049] 상기 '상승작용(synergy)'이란 각 성분이 병용 투여될 때 발생하는 효과가, 단일 성분으로서 단독으로 투여될 때 발생하는 효과의 합보다 더 큰 것을 말한다.
- [0050] 또한, '병용(혼합) 투여(administered in combination)'란 화합물 또는 성분이 대상 개체에 함께 투여되는 것을 의미한다. 각 화합물 또는 성분이 함께 투여된다는 것은 원하는 치료 효과를 얻기 위해서, 각 성분을 동일한 시간에 또는 임의의 순서로 또는 상이한 시간에 순차적으로 투여될 수 있음을 의미한다.
- [0051] 본 발명에 따른 약학 조성물은 오피오포고닌 D와 상기 항암제를 동시에(simultaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 약학적 조성물에 포함된 각 성분이 단일 조성물(single composition)로 되어 있는 경우에는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 조성물로 되어 있지 않을 경우에는 한 성분을, 다른 성분이 투여되기 전, 후 및/또는 다른 성분과 함께 동시에 투여될 수 있다. 상기 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여 순서 즉, 어떤 것을 어느 시점에서, 동시에, 개별적 또는 순차적으로 투여할 것 인지의 여부는 의사나 전문가에 의해 결정될 수 있다. 이러한 투여 순서는 많은 인자에 따라 달라질 수 있다.
- [0052] 본 발명에 따른 약학 조성물은 암세포의 PARP 절단(cleavage) 또는 종양억제유전자 p53의 발현을 증가시키고 종양유전자 c-Myc의 발현을 감소시키는 것일 수 있다.
- [0053] 본 발명의 일 실시예에 따르면, CNOT2를 통해 종양유전자 c-Myc의 발현을 조절하면서 p53 의존적으로 대장암 세포의 생존을 억제하고 세포자멸사(Apoptosis)를 유발하는 오피오포고닌 D를 기존 대장암 치료제인 항암제와 병용 처리하였을 때 대장암 세포의 생존을 현저히 억제할 뿐 아니라, 종양억제유전자 p53의 발현 및 PARP의 절단(Cleaved)을 증가시키고 종양유전자 c-Myc 발현을 현저히 억제하는 시너지 효과를 부여하여 암세포의 생존 억제 및 자멸을 효과적으로 유도함을 확인하였다.
- [0054] 이러한 결과로 본 발명에 따른 오피오포고닌 D는 단일 제제의 항암제를 사용시 발생하는 교차내성(cross-resistance)이 없고, 작용 기전이 서로 다른 약제를 사용하는 병용 요법(combined chemotherapy) 또는 부작용이 없는 새로운 항암제를 개발하거나 종래의 항암제를 최소 유효 농도로 사용하는 방법에 유용하게 활용할 수 있다.
- [0055] 본 발명은 또 다른 양태로 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 항암제 보조제 조성물에 관한 것이다.
- [0056] 본 발명은 오피오포고닌 D를 포함하는 항암용 조성물 뿐만 아니라 항암제의 항암 활성 능력을 향상시키는 오피오포고닌 D 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 항암 보조제를 제공할 수 있다.
- [0057] 본 발명에 따른 상기 항암 보조제는 대장암 치료 효과 증진용일 수 있다. 상기 항암제는 이리노테칸(Irinotecan), 옥살리플라틴(Oxaliplatin), 독소루비신(Doxorubicin), 5-플루오로우라실(Fluorouracil) 및 카페시타빈(Capecitabine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 독소루비신(Doxorubicin) 또는 5-플루오로우라실(Fluorouracil)일 수 있으나 이에 한정하지 않고 대장암의 치료 용도로 사용되는 항암제를 포함할 수 있다.
- [0058] 본 발명에 따른 항암제 보조제는 상기 항암제와 병용 투여될 수 있으며, 상기 병용 투여는 항암제를 먼저 투여하고 이후 항암 보조제를 순차적으로 투여하는 것이 바람직하며, 이러한 순차적 투여는 항암제에 의한 항암 내성을 감소시키거나 항암 효과를 증진시킬 수 있는 효과가 있다.
- [0059] 본 발명은 또 다른 양태로 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D)를 포함하는, 항암용 건강기능성 식품조성물에 관한 것이다.
- [0060] 본 발명에 따른 오피오포고닌 D의 항암 활성은 전술한 바와 같다.
- [0061] 본 발명에 있어서 "식품조성물"은 기능성 식품(functional food), 영양보조제(nutritional supplement), 건강기능(성)식품(health functional food) 및 식품 첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형의 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.
- [0062] 상기 기능성 식품으로는 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마멀레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게티, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용 식물유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 오피오포고닌 D를 첨가하여 제조할 수 있다.

- [0063] 상기 건강기능(성)식품(health functional food)은 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 '기능(성)'은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 건강식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강 유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강기능식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용될 수 있다.
- [0064] 구체적으로, 상기 건강기능(성)식품은 본 발명의 오피오포고닌 D를 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.
- [0065] 본 발명의 식품조성물 중 상기 오피오포고닌 D의 바람직한 함유량으로는 이에 한정되지 않지만 예를 들어 최종적으로 제조된 식품 중 0.01 내지 80 중량%일 수 있으며, 바람직하게는 최종적으로 제조된 식품 중 0.01 내지 50 중량%일 수 있다.
- [0066] 본 발명의 식품 조성물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하며, 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 식품 조성물은 식품으로 인정되는 제형이든 다양한 형태의 제형으로 제한 없이 제조될 수 있다. 또한, 상기 식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 또한, 상기 식품 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크롬(Cr) 등의 미네랄; 및 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 상기 식품 조성물은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(돌신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별하고 적절한 양으로 사용할 수 있다.
- [0067] 본 발명은 또 다른 양태로 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D)를 포함하는, 항암용 사료 조성물에 관한 것이다.
- [0068] 상기 오피오포고닌 D를 포함하는 사료 조성물은 암세포의 생존을 억제하고 세포자멸 유도 효과로 항암 활성을 나타내는 조성물일 수 있다.
- [0069] 본 발명에 있어서 "사료 조성물"의 원료인 오피오포고닌 D를 단독으로 사용할 수도 있으며, 종래 공지된 사료 첨가제 또는 사료와 병용하여 사용할 수도 있다. 또한 공지된 사료 첨가제 또는 사료에 첨가되는 각종 부형제들도 역시 포함될 수 있다.
- [0070] 본 발명의 사료 조성물에는 동물사료에 통상적으로 사용되는 영양제, 방부제, 보존제, 향생제, 비타민 등의 미량 영양성분 등이 더 포함될 수 있다. 상기 영양제, 방부제, 보존제, 향생제, 미량 영양 성분 등은 해당 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 당업자가 통상적으로 사료에 첨가하는 함량으로 임의 선택하여 사용할 수 있다.
- [0072] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.
- [0074] **재료준비 및 통계**
- [0075] 1. 재료구입
- [0076] 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D; 이하 OP-D)는 ChemFaces (Wuhan ChemFaces Biochemical Co., Ltd., China)에서 구입하였다. 독소루비신(Doxorubicin; 이하 DOX)은 Selleckchem (Houston, TX, USA)에서 구입하였다. 5-플

루오로우라실(Fluorouracil; 이하 5-FU)와 시클로헥시미드는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. PARP와 p21 항체는 Cell signaling Tech (CST, Beverly, MA, USA), c-Myc은 Abcam(Cambridge, MA, USA), p53, β -actin, anti-rabbit IgG-HRP 및 anti-mouse IgG-HRP는 Santa Cruz Biotechnology(Dallas, TX, USA)에서 구입하였다. p53 siRNA(아이디번호: 7157-1), RPL5 siRNA(아이디번호: 6125-1), RPL11 siRNA(아이디번호: 6135-1), CNOT2 siRNA (아이디번호: 4848-1), 대조군으로 사용하는 control siRNA(아이디번호: SN-1002)는 바이오니아(대전, 한국)에서 구입해서 사용하였다.

2. 세포배양

인간 대장암 HCT 116 세포는 ATCC (American Type Culture Collection, VA, USA)에서 입수하였다. HCT 116 세포는 10 % 소 태아 혈청 (FBS; Gibco, Grand Island, NY, USA) 및 항생제 항진균제 용액 (ABAM; Corning Inc.)이 보충된 RPMI 1640 (Corning Inc., NY, USA)배지를 이용하여 37°C, 5 % CO₂가 유지되는 인큐베이터에서 배양되었다.

3. 통계 분석

GraphPad Prism 5 소프트웨어(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 결과의 통계적 분석을 수행하였다. 모든 데이터는 평균 $\pm$ S.E.M.으로 표 시하였다. 모든 데이터의 통계적 분석은 ANOVA-Tukey's multiple comparison test를 수행하였으며, 그룹과의 1:1 비교는 짝을 이루지 않은 t-검정(one-tailed)을 수행하였다. 0.05 미만의 p값은 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다.

실시예 1. OP-D의 대장암 세포 성장 억제 및 세포자멸사 유도

1-1. OP-D에 의한 대장암 세포 성장 억제

대장암 세포주 HCT116^{p53+/+} 세포와 HCT116^{p53-/-} 세포를 사용하여 각 세포주를 96 well plate에 1X10⁴/ml 세포로 배양 후, OP-D를 각각 5 내지 40 μ M 농도별로 처리하였다. 24시간 후에 MTT assay를 사용하여 570 nm 흡광도를 측정하여 대장암 세포주의 생존율을 확인하고, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

도 1에 따르면, HCT116^{p53+/+} 세포에서는 OP-D 처리 농도의존적으로 세포 생존율이 감소한 반면, HCT116^{p53-/-} 세포에서는 세포 생존율의 변화가 나타나지 않아 OP-D에 의해 p53 의존적인 세포사멸이 일어남을 확인하였다.

1-2. OP-D에 의한 p53 활성 변화 확인

상기 실시예 1-1을 통해 OP-D가 p53 의존적인 세포 사멸을 유도할 수 있음을 확인하였으므로, 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+} 에 p53 siRNA를 도입하고, p53 siRNA가 도입된 대장암 세포주에서 OP-D를 처리 후 세포 사멸 관련 단백질인 PARP 단백질의 발현 변화를 확인하였다. p53 siRNA가 도입된 대장암 세포주에 OP-D를 처리한 후 세포를 수거하고 단백질을 추출하였다.

실험에 사용된 p53 siRNA의 서열은 하기와 같다.

p53 siRNA 올리고뉴클레오타이드

(sense: 5'-CACUACAACUACAUGUGUA-3'; 서열번호1)

(antisense: 5'-UACACAUGUAGUUGUAGUG-3'; 서열번호2)

Control siRNA는 AccuTargetTM Negative Control siRNA (SN-1003)/(바이오니아)를 사용하였다.

웨스턴 블롯팅을 통해 세포자멸사(Apoptosis)와 관련이 있는 PARP 절단 변화를 관찰한 결과를 도 2에 나타내었다.

- [0098] 도 2에 나타낸 바와 같이, control siRNA을 처리한 대장암 세포에서 OP-D를 처리한 경우 절단된 PARP의 발현양이 증가하였으나, siRNA p53에 의해 p53 유전자의 발현이 저해된 대장암 세포에서는 PARP 절단 발현양에 뚜렷한 변화가 일어나지 않아, OP-D는 p53 의존적으로 세포자멸사(Apoptosis)를 유발시키는 것을 다시 한번 확인하였다.
- [0100] 추가적으로, 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}를 6 well plate에 7X10⁴/ml 세포로 배양 후, RPL5(Ribosomal protein L5) siRNA 또는 RPL11(Ribosomal protein L11) siRNA을 80 nM 농도로 TurboFect trasfection reagent (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 도입하였다. 도입 후 48시간이 지난 다음에 OP-D를 24시간 처리 후 세포를 수거하고 단백질을 추출하여 웨스턴 블롯팅을 통해 종양억제유전자인 p53과 그 타겟 유전자인 p21의 발현 변화를 관찰하였다.
- [0101] 실험에 사용된 RPL5 siRNA 및 RPL11 siRNA 서열은 하기와 같다.
- [0102] RPL5 siRNA 올리고뉴클레오타이드
- [0103] (sense: 5'-GUGGAUGGAGGCUUGUCUA-3'; 서열번호 3)
- [0104] (antisense: 5'-UAGACAAGCCUCCAUCAC-3'; 서열번호 4)
- [0106] RPL11 siRNA 올리고뉴클레오타이드
- [0107] (sense: 5'-CUACGGCCUGGACUUCUAU-3'; 서열번호 5)
- [0108] (antisense: 5'-AUAGAAGUCCAGGCCGUAG-3'; 서열번호 6)
- [0110] 도 3은 RPL5 siRNA 또는 RPL11 siRNA을 도입한 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}에서 OP-D 처리에 따른 p53 및 p21의 발현 변화를 나타낸 도이다.
- [0111] 도 3을 참고하면, RPL5 siRNA 또는 RPL11 siRNA 미처리 대장암 세포에서는 OP-D 처리에 의해 p53 및 p21의 발현이 증가한 반면 RPL5 siRNA 또는 RPL11 siRNA에 의해 RPL5(도 3A) 또는 RPL11(도 3B)의 발현이 저해된 대장암 세포에서는 p53 및 p21의 발현의 증가가 나타나지 않아, OP-D는 리보솜 단백질(Ribosomal protein) L5 또는 L11을 통해 종양억제유전자 p53을 활성화하는 것을 확인하였다.
- [0113] 1-3. OP-D에 의한 c-Myc의 활성 변화 확인
- [0114] 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}를 6 well plate에 7X10⁴/ml 세포로 배양 후, CNOT2 siRNA을 80 nM 농도로 TurboFect trasfection reagent (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 도입하였다. 도입 후 48시간이 지난 다음에 OP-D 40 μM를 24시간 처리 후 세포를 수거하고 단백질을 추출하여 웨스턴 블롯팅을 통해 종양유전자 c-Myc의 단백질 발현 및 PARP 절단 변화를 관찰하였다.
- [0115] 실험에 사용된 CNOT2 siRNA 서열은 하기와 같다.
- [0116] CNOT2 siRNA 올리고뉴클레오타이드
- [0117] (sense: 5'-CAGCUAUAAGAUCACACA-3'; 서열번호 7)
- [0118] (antisense: 5'-UGUUGGAUCUUUAUAGCUG-3'; 서열번호 8)
- [0119] Control siRNA는 AccuTargetTM Negative Control siRNA (SN-1003)/바이오니아)를 사용하였다.
- [0121] 도 4는 CNOT2 siRNA을 도입한 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}에서 OP-D 처리에 따른 c-Myc 및 pro-PARP 변화를 나타낸 도이다.

[0122] 도 4a 및 도 4b를 참고하면, control siRNA를 처리한 대장암 세포에서 OP-D를 처리한 경우 c-Myc 단백질 발현이 감소하여 OP-D는 c-Myc 발현 조절을 통해 암세포의 성장을 조절할 수 있음을 확인하였다. 또한, CNOT2 siRNA에 의해 CNOT2의 발현이 저해된 대장암 세포에서 OP-D를 처리하면 c-Myc의 단백질 발현 및 pro-PARP 이 현저하게 더 감소하여 세포자멸사(Apoptosis)를 효과적으로 유발함을 확인하였다.

[0124] 추가적으로, 대장암세포주 HCT116^{p53+/+}에 OP-D를 처리하고, 시클로헥시미드를 50 µg/ml 처리하여 OP-D가 종양유전자 c-Myc의 단백질 안정성에 미치는 영향을 관찰하였다.

[0125] 도 5는 OP-D 처리 또는 OP-D 미처리 대장암 세포주 HCT116^{p53+/+}에서 시클로헥시미드를 처리한 후의 CNOT2, c-Myc 발현 변화를 나타낸 도이다.

[0126] 도 5를 참고하면, OP-D를 처리한 군에서 그렇지 않은 대조군(Con)과 비교했을 때, 종양유전자 c-Myc의 단백질 안정성이 더 많이 저해된 것으로 나타났다.

[0128] 실시예 2. 항암제 병용투여에 의한 항암 활성 증진

[0129] 2-1. 대장암 세포 성장 억제능 증진

[0130] HCT116 세포 (1×10^4 cell/well)를 96 well plate에 시드하고 배양하였다. OP-D와 대장암 치료제로 사용되는 독소루비신(DOX) 또는 5-플루오로우라실(5-FU)와의 병용 처리 시 나타나는 각각의 세포사멸 효과를 확인하였다.

[0131] 세포에 OP-D (0, 20, 40 µM)를 DOX (0.3 µM) 또는 5-FU (10 µM)와 함께 처리하거나 처리하지 않은 조건하에 24시간 동안 반응시켰다. 이후에, MTT를 0.5 mg/mL의 최종 농도로 웰에 첨가하고 2시간 동안 배양하였다. 배지를 제거한 후, 포르마잔 결정을 DMSO에 용해시키고 흡광도를 마이크로 플레이트 리더 (Bio-Rad Hercules, CA, USA)를 사용하여 540nm에서 기록하였다.

[0132] 도 6은 OP-D 단독 처리 또는 항암제 5-FU 또는 DOX 와 병용 처리한 HCT116 세포의 생존율을 나타낸 도이다.

[0133] 도 6A를 참고하면, OP-D만 처리한 군과 비교하여 5-FU를 10 µM 농도로 함께 처리한 경우 세포사멸이 더욱 증가하여 OP-D와 5-FU의 병용처리가 대장암 세포의 생존을 현저히 억제함을 확인하였다. 또한 도 6B를 참고하면, OP-D만 처리한 군과 비교하여 DOX를 0.3 µM 농도로 함께 처리한 경우 세포사멸이 더욱 증가하여 OP-D와 DOX의 병용처리가 대장암 세포의 생존을 현저히 억제함을 확인하였다.

[0135] 2-2. 세포자멸사 효능 증진

[0136] HCT116 세포(2×10^5 cell/well)를 96 well plate에 접종하고 37℃에서 5 % CO₂ 하에서 24시간 동안 배양하였다. 이후, 세포에 OP-D (0, 20, 40 µM)를 DOX (0.3 µM) 또는 5-FU (10 µM)와 함께 처리하거나 처리하지 않는 조건하에 24시간 동안 반응시켰다. 이후에, HCT116 세포를 세포 용해 완충액 (Cell Signaling, Danvers, MA, USA)으로 용해시켰다. 단백질을 SDS-PAGE (12 %)로 분리하고 nitrocellulose membrane으로 이동시켰다. 3 %의 소 혈청 알부민은 PARP (1:1,000), c-Myc (1:1,000), p53 (1:1,000), p21 (1:1,000), β-actin(1:10,000)에 대한 항체를 차단하고 배양하는데 사용되었다. 단백질 발현 수준은 향상된 화학 발광 (ECL) 검출 시스템을 사용하여 개발되었고 ImageQuant LAS 500 이미징 시스템 (GE Healthcare Life Sciences, NSW, 호주)을 사용하여 검출하였다. 개별 밴드의 강도는 ImageJ 소프트웨어 (NIH, NY, USA)를 사용하여 계산하였다. 대장암 세포주 HCT116에서 Op-D 와 5-FU 또는 DOX 병용 처리에 따른 p53, p21, c-Myc, Pro-PARP 및 cleaved PARP 발현 변화를 도 7 및 도 8에 나타내었다.

[0138] 도 7a 및 도 7b를 참고하면, Op-D를 5-FU와 병용 처리하였을 때, p53 및 p21발현이 더욱 증가하고 c-Myc의 단백질 발현 및 pro-PARP 이 현저하게 더 감소함을 확인하였다.

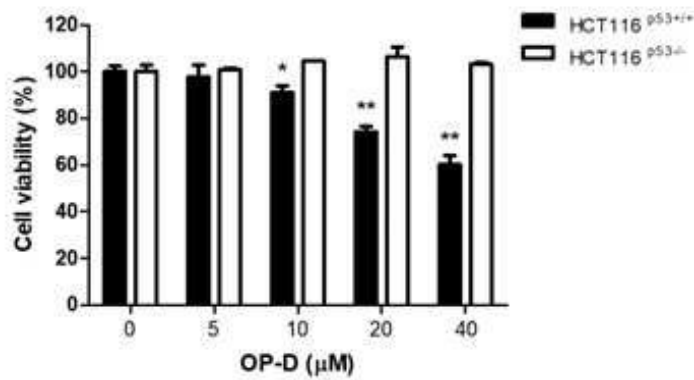
[0139] 도 8a 및 도 8b를 참고하면, Op-D를 DOX와 병용 처리하였을 때, p53 및 p21이 더욱 활성화되고 c-Myc의 단백질

발현 및 pro-PARP 이 현저하게 더 감소함을 확인하였다.

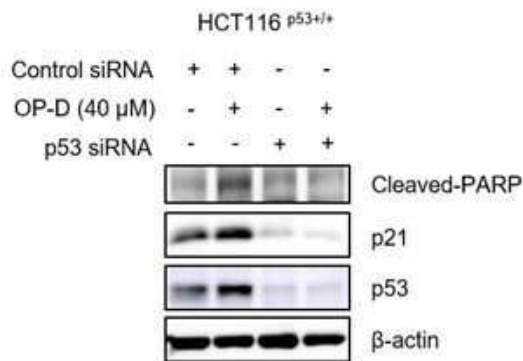
[0141] 상기 실시예를 통해 살펴본 결과로, 오피오포고닌 D는 종양억제유전자 및 종양유전자의 발현 조절에 효능을 나타내 대장암 치료제로서의 효능을 검증하고, 기존 항암제 5-FU 또는 DOX를 오피오포고닌 D와 병용 투여할 경우 항암 활성이 더욱 증진되어 효과적인 대장암 치료제의 개발 또는 표적 유전자 치료에 활용할 수 있다.

도면

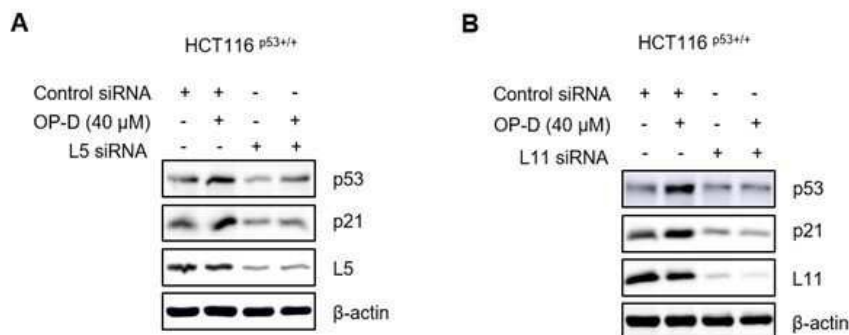
도면1



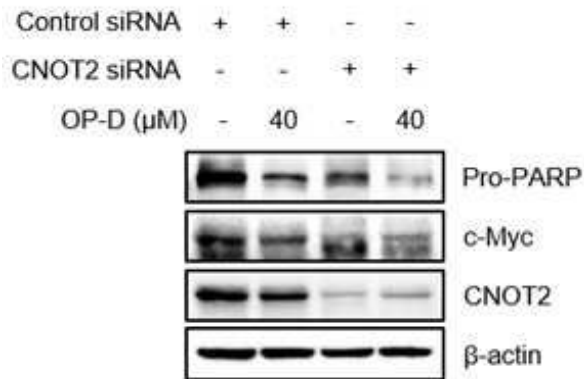
도면2



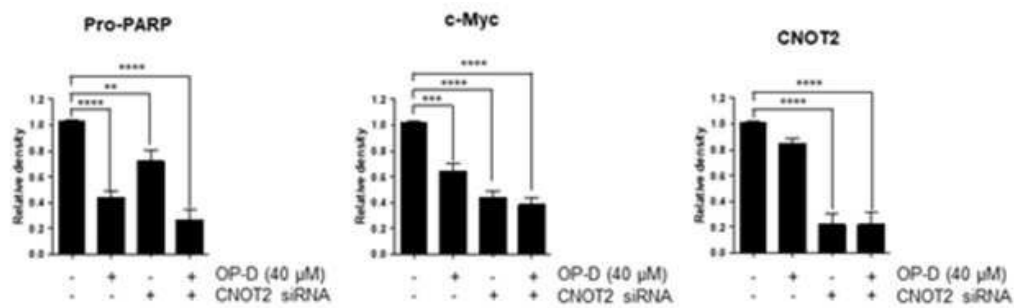
도면3



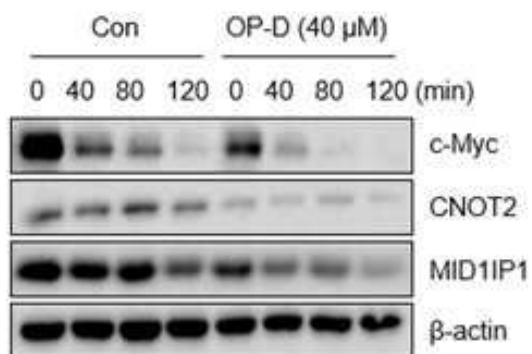
도면4a



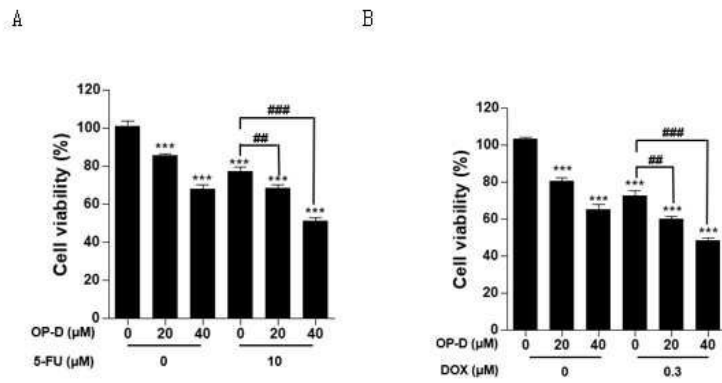
도면4b



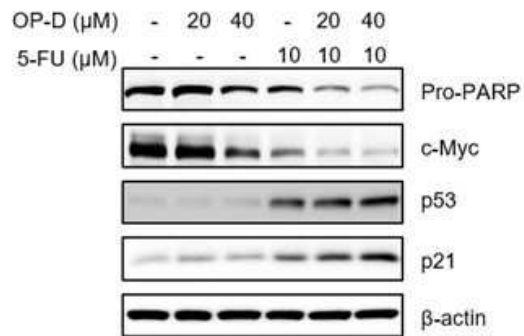
도면5



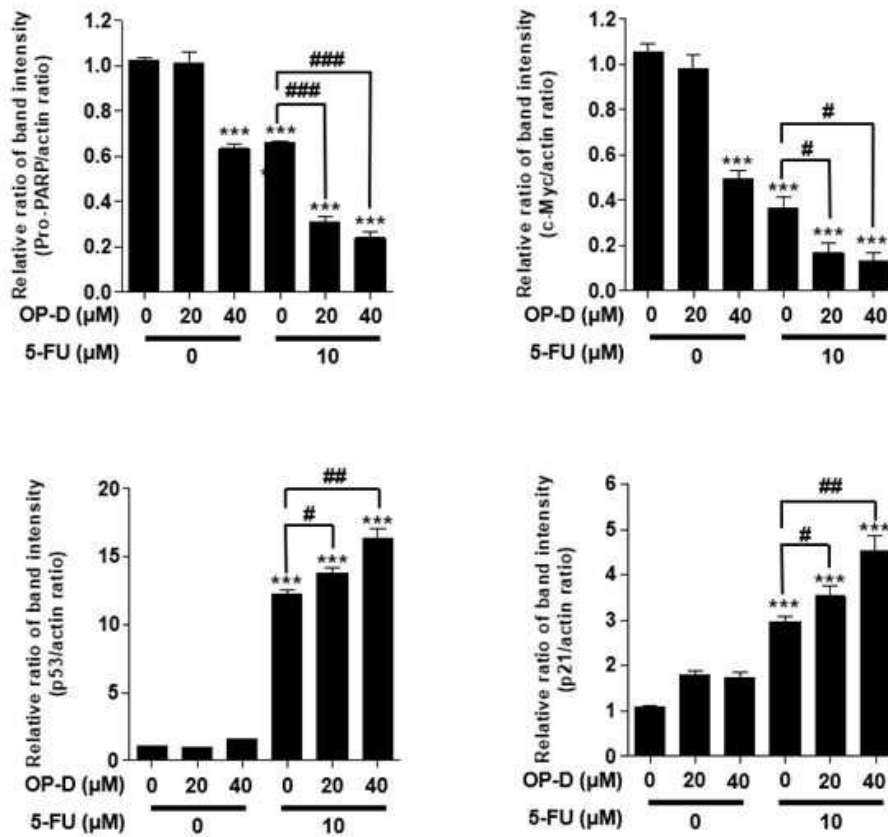
도면6



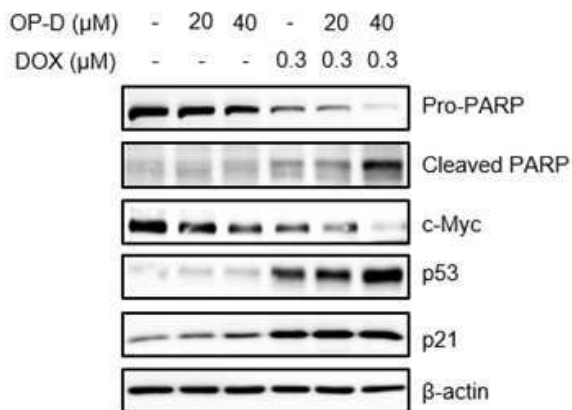
도면7a



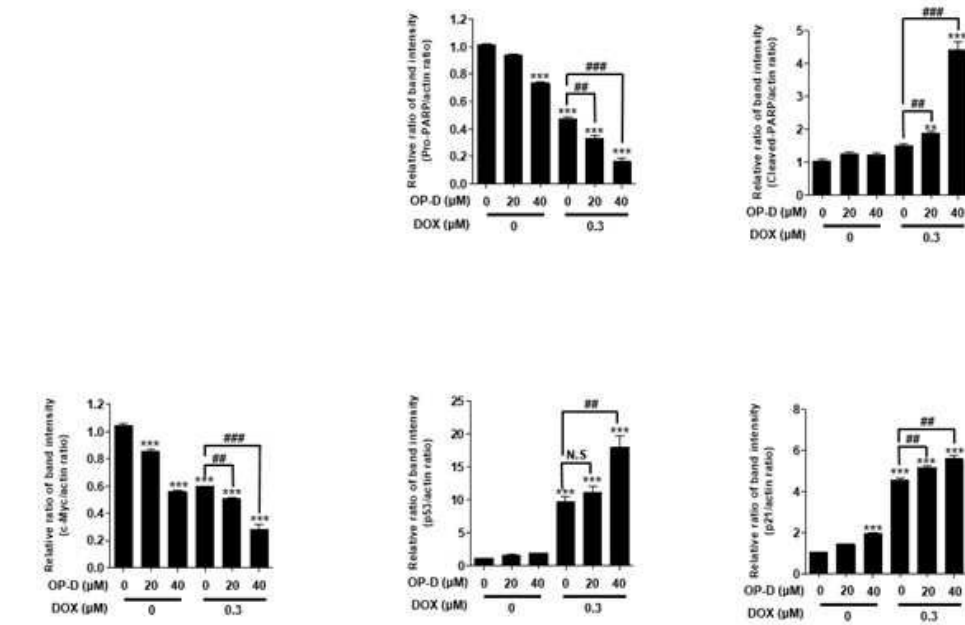
도면7b



도면8a



도면8b



서열 목록

<110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University

<120> Anticancer composition comprising opiopogonin D

<130> SKH21P-0101-KR_1-85P

<160> 8

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> p53 siRNA-sense

<400> 1

cacuacaacu acaugugua

19

<210> 2

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> p53 siRNA-antisense

<400>

> 2

uacacaugua guuguagug

19

<210>	3	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	RPL5 siRNA-sense	
<400>	3	
	guggauggag gcuugucua	19
<210>	4	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	RPL5 siRNA-antisense	
<400>	4	
	uagacaagcc uccauccac	19
<210>	5	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	RPL11 siRNA-sense	
<400>	5	
	cuacggccug gacuucuau	19
<210>	6	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	RPL11 siRNA-antisense	
<400>	6	
	auagaagucc aggccguag	19
<210>	7	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	CNOT2 siRNA-sense	
<400>	7	

cagcuauaaa gaucaca

19

<210> 8

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CNOT2 siRNA-antisense

<400> 8

uguuggaucu uuauagcug

19