

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2017년 12월 28일 (28.12.2017) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호

WO 2017/222252 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 36/24 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2017/006376

(22) 국제출원일:

2017년 6월 19일 (19.06.2017)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2016-0077277 2016년 6월 21일 (21.06.2016) KR

10-2017-0076747 2017년 6월 16일 (16.06.2017) KR

(71) 출원인: 서울대학교산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 08826 서울시 관악구 관악로 1, Seoul (KR). 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR).

(72) 발명자: 이상국 (LEE, Sang Kook); 06288 서울시 강남구 삼성로 150, 206-1402, Seoul (KR). 박현주 (PARK, Hyen Joo); 06000 서울시 강남구 압구정로 113, 24-707, Seoul (KR). 김원경 (KIM, Won Kyung); 06544 서울시

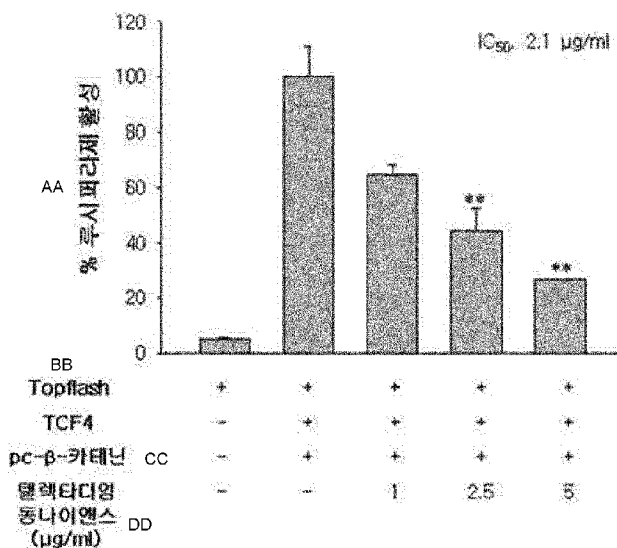
서초구 신반포로 270, 101-703, Seoul (KR). 트란더 바이트 (TRAN, The Bach); 하노이 황퓌벳 로드 18 베트남 아카데미 오브 사이언스 앤드 테크놀로지(VAST), Hanoi (VN). 도반 하이 (DO, Van Hai); 하노이 황퓌벳 로드 18 베트남 아카데미 오브 사이언스 앤드 테크놀로지(VAST), Hanoi (VN). 부이홍 광 (BUI, Hong Quang); 하노이 끼우저이 황퓌벳 18, Hanoi (VN). 엄상미 (EUM, Sang Mi); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 최상호 (CHOI, Sangho); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 이상우 (LEE, Sang Woo); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 이창영 (LEE, Changyoung); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 이종구 (LEE, Joongku); 34134 대전시 유성구 대학로 99, Daejeon (KR). 박상홍 (PARK, Sang-Hong); 33657 충청남도 서천군 마서면 금강로 1210, Chungcheongnam-do (KR).

(74) 대리인: 박원미 (PARK, Weonmee); 06224 서울시 강남구 논현로 412, 603호, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING COLON CANCER, CONTAINING EXTRACT OF *TELECTADIUMDONGNAIENSE* AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 유효성분으로 하는 대장암 예방 또는 치료용 약학 조성물



AA ... % luciferase activity
BB ... Topflash
CC ... pc-β-catenin
DD ... *Telectadium dongnaiense* (μg/ml)

(57) Abstract: The present application relates to a pharmaceutical composition and a health functional food for preventing and treating colon cancer, containing an extract of *Telectadium dongnaiense* as an active ingredient. The extract targets the Wnt/β-catenin signaling pathway, thereby being usable as a treatment for cancer caused by an abnormality of the Wnt signaling pathway or as an anti-cancer adjuvant.

(57) 요약서: 본원은 텔렉타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 대장암 예방 및 치료용 약학조성물, 및 건강기능식품에 관한 것으로, 상기 추출물은 Wnt/β-카테닌 신호전달계를 표적으로 하여 Wnt 신호전달계의 이상으로 인한 암의 치료 또는 항암 보조제로 유용하게 사용될 수 있다.

EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 유효성분으로 하는 대장암 예방 또는 치료용 약학 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 유효성분으로 하는 대장암 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 전 세계적으로 암 발생률 및 사망률은 꾸준히 증가하는 추세에 있어 효과적인 항암제 개발의 중요성 또한 증가하고 있다. 세계적으로 2000년도에 약 1천만 명이 암 환자로 판명되었으며, 2020년에는 약 1천5백만 명에 이를 것으로 추정되고 있다. 우리나라 통계청 "2013년 사망원인 통계조사"에 따르면, 총 사망자수는 26만6천257명, 전년대비 964명(-0.4%)이 감소하였고 인구 10만명당 사망자수를 의미하는 조사망률은 526.6명으로 전년대비 0.8% 감소하였으나 암으로 인한 사망률은 전년대비 인구 10만명당 6.2명 증가한 149.0명으로 나타났다. 또한 한국인의 3대 사망원인을 보면 암으로 인한 사망률(인구 10만명당)이 142.8명으로 가장 높았고, 다음이 뇌혈관질환, 심장질환 순으로 나타났으며 암발생률 및 사망률 계속 증가 추세에 있고 암환자의 의료비와 사회적인 비용이 연간 2조 이상에 이른다는 분석 보고되고 있으며 5년 생존율도 매우 낮은 수치를 보이고 있다.
- [3] 특히 대장암의 발병율이 증가추세에 있으며 특히 서구화된 식이의 영향으로 동물성 지방, 당분, 알콜 소비가 증가되고 셀레니움, 칼슘, 야채, 섬유소 섭취 감소로 대장암이 급격한 증가추세에 있으며 이러한 환경적 인자 이외에도 전체 대장암의 5~15% 정도는 유전적 인자에 의한 것으로 예측되어진다.
- [4] 통계청 자료에 의하면 특히, 대장암은 최근 10년 동안 다른 암에 비하여 증가속도가 가장 빠르며 앞으로도 대장암 발생 및 사망률은 지속적으로 증가하여 20~30년 후에는 현재의 두 배 이상까지 증가될 것이라 추정된다. 대장암에 대한 치료는 크게 수술법, 방사선 치료법, 항암화학 치료법 등으로 구분할 수 있으나 대부분의 경우 항암화학 약물을 추가로 투여함으로서 더 높은 치료 효과를 얻고 있고 진행성 대장암에서는 항암화학요법 또는 방사선치료가 주된 치료이다.
- [5] 최근 특정한 생물학적 기전을 억제하여 치료효과의 상승 및 부작용을 감소시키고자 하는 새로운 개념의 치료법인 분자표적치료(Molecular targeted therapy)가 개발되고 있는 추세이다. 대장암 치료와 관련된 표적인자로 EGFR 및 VEGFR을 들 수 있으며 각각 이렛사(Iressa)와 아바스틴(Avastin)이 임상에 적용되고 있다.
- [6] 또한 다른 표적인자로 Wnt/ β -카테닌 신호전달경로가 있는데, 상기 경로에

관여하는 유전자들의 돌연변이에 의해 Wnt/ β -카테닌 신호전달경로가 비정상적으로 활성화된 것이 종종 암의 원인이 되기 때문에 이 신호전달계에 대한 저해제를 대장암에 대한 항암제로 발굴하는 것이 관건이 되고 있다. Wnt 신호 전달경로에는 Dishevelled, GSK3 β 와 β -카테닌이 관여하고 Wnt는 GSK3의 활성을 감소시키며 GSK3는 Wnt 신호 전달을 하향 조절하게 되는데 현재 GSK3 β 의 기질로는 APC와 β -카테닌이 잘 알려져 있다 (Liu C et al (2002) Cell 108:837-847; Amit S et al (2002) Genes Dev 16:1066-1076; Hart MJ et al (1998) Curr Biol 8:573-581; Behrens J et al (1998) Science 280:596-599). Wnt/ β -카테닌 신호전달경로의 조절이상은 초기단계의 대장암화에 있어 매우 중요한 역할을 담당하며 APC가 β -카테닌과 결합하면 β -카테닌의 분해를 촉진하며 이것이 β -카테닌의 농도를 낮게 유지하는 기전으로 작용하며 GSK3 β 는 APC를 인산화하여 β -카테닌과의 결합을 증가시키며 결과적으로 β -카테닌의 분해를 촉진하게 된다 (Latres E et al (1999) Oncogene 18:849-854; Kitagawa M et al (1999) EMBO J 18:2401-2410). 따라서 Wnt는 GSK3 β 의 활성을 억제하여 APC의 인산화를 감소시킴으로 결과적으로 β -카테닌의 세포내 양을 증가시키리라 생각하고 있으며 β -카테닌은 APC 외에도 여러 단백질과 결합하게 되고 이 중에는 전사인자인 TCF/LEF이 있는데 Wnt에 의해 β -카테닌이 증가하면 β -카테닌-TCF/LEF 복합체가 핵으로 가서 발암유전자의 전사를 촉진하리라 추정되어진다.

- [7] 즉 Wnt는 암 줄기세포와 단백질이 결합하게 되는 경로로 이 경로가 차단되어야만 암 줄기세포에 단백질이 공급되지 못하게 되고 결과적으로 암 줄기세포가 사멸되는데, 80% 이상의 대장암 환자가 Wnt 신호전달의 돌연변이로 인해 발병된다는 사실이 밝혀져, Wnt가 대장암 치료와 관련된 표적인자로 주목받고 있다. 따라서 Wnt 신호전달경로를 차단하는 약물이 개발된다면 암 치료가 획기적으로 진전을 볼 수 있을 것으로 여겨진다 (Clevers H et al (2006) Cell 127:469-480; Mlodzik M (2002) Trends Genet 18:564-571; Huelsken J et al (2001) 11:547-553; MacDonald BT et al (2009) Dev Cell 17:9-26; Fearnhead NS (2001) Mol Genet 10:721-733; Klaus A et al (2008) Nat Rev Cancer 8:387-398; Barker N et al (2006) Nat Rev Drug Discov 5:997-1014).
- [8] 대한민국 공개특허공보 제2015-0037024호는 가중나무 추출물을 유효성분으로 하는 암질환의 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것으로 가중나무 추출물을 포함하는 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제하는 대장암 치료 또는 예방용 조성물을 개시한다.
- [9] 대한민국 공개특허공보 제2015-0037024호 (2015년 4월 8일 공개)는 가중나무 추출물을 유효성분으로 하는 Wnt 신호전달 경로를 억제하는 암질환 치료 또는 예방용 조성물을 개시한다.
- [10] 대장암 예방 또는 치료에 사용하기 위하여서는 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제하여야 하므로 상기 가중나무 추출물 이외의 Wnt/ β -카테닌 경로를 표적으로

하는 다양한 천연유래 물질 기반의 치료제의 개발이 필요하다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [11] 본원은 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 유효성분으로 하는 대장암 예방 및 치료용 조성물을 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

- [12] 한 양태에서 본원은 텔렉타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*)의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대장암 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공한다.
- [13] 다른 양태에서 본원은 타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*)의 추출물의 대장암 예방 또는 치료 용도를 제공한다.
- [14] 본원에 따른 추출물은 특히 유기용매에서 효과적으로 추출된다. 이러한 유기용매는 예를 들면 메는 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜, 클로로포름, 아세톤, 프로필렌글리콜, 초산에틸, 부틸렌글리콜, 및 에테르로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 혼합 용매이나, 이로 제한하는 것은 아니다.
- [15] 일 구현예에서는 특히 유기용매로서 클로로포름, 아세톤, 및 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜, 특히 메탄올이 10~1 : 1~10 : 1~10(v/v)의 비로 혼합된 혼합용매가 사용된다.
- [16] 본원에 따른 추출물은 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계 또는 경로를 억제하여 대장암 세포의 증식을 효과적으로 억제할 수 있으며, Wnt/ β -카테닌 신호전달체계에 관여하는 다양한 전사인자에 미치는 효과를 검증하였다. 본원에 따른 대장암은 특히 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계가 과활성화 된 대장암이다. Wnt/ β -카테닌 신호전달체계가 과활성화 여부는 본원 실시예를 포함하는 본원 명세서에 기재된 사항 및 본원 명세서에 기재된 문헌을 참조하여, 예를 들면 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 구성하는 구성인자의 유전자 및 단백질 발현을 측정, 또는 유전자 및 단백질의 변이를 측정하고, 이 것을 적절한 대조군 예를 들면 정상 대장 세포에서의 대응하는 측정값과 비교하여 판단할 수 있을 것이다.
- [17] 이에 다른 양태에서 본원은 또한 상술한 바와 같은 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 유효성분으로 포함하는 세포의 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제하는 Wnt 표적 항암제 또는 항암보조제를 제공한다. 이로 제한하는 것은 아니나 Wnt 표적 항암제는 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계에 관여하는 하나 이상의 분자의 활성 등을 조절하여 궁극적으로 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계에 의해 영향을 받는, 암세포의 증식과 같은 생물학적 효과를 조절하는 것이다.
- [18] 본원에 따른 Wnt 표적 항암제 또는 항암보조제는 특히 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계의 이상과 높은 관련성이 있는 대장암 세포의 증식 억제에 유용하게 사용될 수 있다.

[19] 다른 양태에서 본원은 또한 상술한 바와 같은 본원에 따른 텔레타디움 동나이엔스 추출물을 포함하는, 대장암 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[20] 또 다른 양태에서 본원은 본원에 따른 추출물을 대장암의 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대장암 치료 방법을 제공한다.

발명의 효과

[21] 본 발명의 텔레타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*)의 추출물을 포함하는 대장암 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강기능식품은 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로를 억제하는 작용기전을 가지며, 암 특히 대장암에 대한 항암효능을 지니므로, 대장암 예방 및 치료, 또는 기존항암제에 보조제로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[22] 도 1은 본 발명의 텔레타디움 동나이엔스 추출물의 사람 신장세포주에서의 TCF/LEF 전사저해 활성에 대한 분석을 나타낸 것이다. 이러한 결과는 Wnt 신호가 과발현 되어 β -카테닌이 증가하면 핵 내에서 β -카테닌-TCF/LEF 복합체 형성 후 발암유전자의 전사를 촉진하기 때문에 본원에 따른 추출물은 TCF/LEF의 전사활성을 저해하여 Wnt 신호가 과발현 되어 있는 암의 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 나타내는 것이다.

[23] 도 2는 본 발명의 텔레타디움 동나이엔스 추출물의 24시간 처리시의 대장암세포에 대한 세포독성을 나타낸 것이다. 이러한 결과는 본원에 따른 텔레타디움 동나이엔스 추출물의 대장암 세포주에 대한 50% 생존율에 대하여 IC₅₀ 값이 1.5 μ g/ml로, 대장암 세포의 사멸에 효과적임을 나타내는 것이다.

[24] 도 3은 본 발명의 텔레타디움 동나이엔스 추출물의 24시간 처리시의 대장암세포에 대한 TCF/LEF 전사분석에서 저해활성을 나타낸 것이다. 이는 본원에 따른 추출물이 Wnt 신호가 과발현 되어 있는 대장암 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 나타내는 것이다.

[25] 도 4는 대장암 세포주에서 텔레타디움 동나이엔스 추출물에 의한 Wnt/ β -카테닌 신호전달의 하위조절자인 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 유전자발현에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 이는 본원에 따른 텔레타디움 동나이엔스 추출물은 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제를 통해 대장암의 증식을 억제하는 것을 나타낸다.

[26] 도 5는 대장암 세포주(HCT116)에서 텔레타디움 동나이엔스 추출물에 의한 Wnt/ β -카테닌 신호전달의 하위조절자인 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 단백질발현에 미치는 농도 의존적 영향을 나타낸 것이다. 이는 본원에 따른 텔레타디움 동나이엔스 추출물은 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제를 통해 대장암의 증식을 억제하는 것을 나타낸다.

발명의 실시를 위한 형태

- [27] 본 발명은 텔렉타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*)의 추출물이 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로를 억제하는 작용기전을 가지며, 암 특히 대장암에 대한 항암효능을 가진다는 발견에 근거한 것이다.
- [28] Wnt/ β -카테닌 신호전달경로의 조절이상은 초기단계의 대장암화에 있어 매우 중요한 역할을 담당하는데, Wnt는 GSK3 β 의 활성을 억제하여 APC의 인산화를 감소시킴으로 결과적으로 β -카테닌의 세포내 양을 증가시키고 Wnt에 의해 β -카테닌이 증가하면 β -카테닌은 전사인자인 TCF/LEF의 복합체 즉 β -카테닌-TCF/LEF 복합체가 핵으로 가서 발암유전자의 전사를 촉진하는 것으로 추정된다. 본 발명자는 11,000 여종의 전 세계 4대 권역으로부터 입수한 해외식물을 스크리닝하였으며, 그 결과 상기 텔렉타디움 동나이엔스 추출물이 Wnt/ β -카테닌 신호전달계의 활성화를 저해하며, 특히 TCF/LEF 전사저해활성, 및 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 유전자발현 억제활성을 가지며, 상기 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계 억제를 통한 대장암의 증식 억제활성을 가진다는 사실을 밝혔다.
- [29] 따라서 한 양태에서 본원은 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 유효성분으로 함유하는 대장암 예방 및 치료용 약학조성물에 관한 것이다.
- [30] 본원에 따른 추출물의 제조에 사용되는 식물 텔렉타디움 동나이엔스는 박주과리과에 속하는 베트남의 동나이(Dongnai) 지방이 원산지인 식물이다. 상기 텔렉타디움 동나이엔스는 텔렉타디움 동나이엔스의 꽃, 가지, 줄기, 잎, 미성숙열매, 또는 열매를 포함한 지상부, 뿌리줄기, 또는 뿌리, 보다 바람직하게는, 지상부, 뿌리줄기, 또는 뿌리, 보다 더 바람직하게는 지상부를 사용할 수 있다. 본원의 일 구현예에서 텔렉타디움 동나이엔스의 지상부를 사용하나, 이에 제한되지 않는다.
- [31] 텔렉타디움 동나이엔스의 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로를 타겟으로 하는 암질환 연구는 어떠한 보고도 된 바 없는 것으로 본 발명에서 개시된다.
- [32] 본원의 추출물은 통상의 식물 추출물의 공지된 일반적 제조방법을 사용하여 제조될 수 있으며, 특별히 제한되지 않는다. 예를 들면, 초음파 추출법, 환류 냉각 추출법, 열수 추출법 또는 후술하는 추출용매로 하여 공지의 방법에 의해 제조하는 방법일 수 있다(예를 들어 Nomura T. Phenolic compounds of the mulberry tree and related plants. In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (Herz W, Grisebach H, Kirby GW, Tamm Ch, eds.), vol. 53. Springer:Vienna, 1988;87-201).
- [33] 예를 들면 본 발명의 텔렉타디움 동나이엔스 추출물은 하기와 같이 제조될 수 있다. 건조된 텔렉타디움 동나이엔스를 세척 및 세절 후 정제수를 포함한 메탄올, 에탄올, 부탄올, 프로판올 및 이소프로판올 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜, 클로로포름, 아세톤, 프로필렌글리콜, 초산에틸, 부틸렌글리콜, 및 에테르로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 혼합 용매, 바람직하게는, 클로로포름, 아세톤, 메탄올 또는 이의 혼합용매, 보다

바람직하게는, 클로로포름, 아세톤, 및 메탄올의 10-1:1-10:1-10(v/v) 혼합비, 보다 더 바람직하게는, 클로로포름, 아세톤, 및 메탄올의 5-1:1-5:1-5(v/v) 혼합비의 혼합용매를 수회 섞을 수 있다.

- [34] 추출물 제조온도는 4 내지 150°C일 수 있으나, 이에 한정되지는 않으며 30°C 내지 150°C, 바람직하게는 50°C 내지 100°C의 온도에서 추출할 수 있다.
- [35] 추출시간은 특별히 한정되지는 않으나 10분 내지 30일 일 수 있으며, 바람직하게는 30분 내지 48시간, 더욱 바람직하게는 1시간 내지 12시간일 수 있으며, 통상의 초음파 추출법, 열수 추출법, 상온 추출법 또는 환류추출법, 바람직하게는 초음파 추출법을 약 1 내지 20회, 바람직하게는 2 내지 10회 반복 수행할 수 있다. 상기 방법으로 제조된 본 발명의 텔렉타디움 동나이엔스 추출물은 이후 감압 여과 또는/및 동결건조하여 용매를 제거할 수 있다.
- [36] 일 구현예에서 본원에 따른 텔렉타디움 동나이엔스 추출물은 유기용매 추출물이다. 상기 유기용매는 메탄올, 에탄올, 부탄올, 프로판올 및 이소프로판올 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜, 클로로포름, 아세톤, 프로필렌글리콜, 초산에틸, 부틸렌글리콜, 및 에테르로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 혼합 용매, 바람직하게는, 클로로포름, 아세톤, 메탄올 또는 이의 혼합용매, 보다 바람직하게는, 클로로포름, 아세톤, 및 메탄올의 10-1:1-10:1-10(v/v) 혼합비, 보다 더 바람직하게는, 클로로포름, 아세톤, 및 메탄올의 5-1:1-5:1-5(v/v) 혼합비의 혼합용매이다. 본원의 일 구현예에서 상기 혼합용매는 클로로포름, 아세톤 및 메탄이 1:1:1(v/v)의 혼합비로 사용된다.
- [37] 본원에 따른 텔렉타디움 동나이엔스 추출물은 Wnt/ β -카테닌 신호전달 체계를 억제함으로써 대장암 증식을 억제할 수 있다.
- [38] 본원에서 사용된 용어 "치료"란 질환, 또는 질환으로 인한 증상 또는 상태의 억제, 제거, 경감, 완화, 개선, 및/또는 예방을 포함하는 개념이다.
- [39] 본원의 조성물은 대장암의 치료 또는 예방을 위하여 단독으로, 또는 다른 통상적인 화학 요법 또는 방사 요법과 함께 이용될 수도 있다. 통상적인 화학요법에 사용되는 항암제로는 엽산유도체(methotrexate), 퓨린유도체(6-mercaptopurine, 6-thioguanine), 피리미딘유도체(5-fluorouracil, cytarabine) 등의 대사길항제(antimetabolites); 니트로젠 머스타드계 화합물(chlorambucil, cyclophosphamide), 에틸렌이민계 화합물(thiotepa), 알킬설포네이트계 화합물(busulfin), 니트로소우레아계화합물(carmustine), 트리아젠계 화합물(dacarbazine) 등의 알킬화제(alkylating agent); 악티노마이신 D(actinomycin D), 독소루비신, 블레오마이신, 미토마이신과 같은 항암성항암제, 빈크리스틴, 빈블라스틴과 같은 식물알칼로이드, 탁산환을 포함하는 유사분열 저해제인 탁소이드 등의 유사분열억제제(antimitotic drugs); 또는 부신피질호르몬이나 프로게스테론과 같은 호르몬제; 시스플라틴 같은 백금함유 화합물 등이 포함될 수 있다.
- [40] 본원의 조성물은 상기 언급한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용

가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로스 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올, 리포솜 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있으며, 표적 기관에 특이적으로 작용할 수 있도록 표적 기관 특이적 항체 또는 기타 리간드를 상기 담체와 결합시켜 사용할 수 있다. 더 나아가 당해 기술분야의 적정한 방법으로 또는 레밍턴의 문헌(Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제형화할 수 있다.

- [41] 본원의 조성물의 투여방법은 특별히 이에 제한되는 것은 아니며, 공지된 투여방법을 적용할 수 있으며, 목적하는 방법에 따라 비경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 신속한 치료효과를 얻기 위해서는 정맥내 주사에 의한 투여가 바람직하다. 투여량은 투여대상체의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 70kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.01 ~ 1,000mg/일이며, 바람직하게는 0.01 ~ 500mg/일이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 일 구현예에서 단위 제형당 상기 추출물 또는 항암보조제 및 항암제의 1일 용량 또는 이의 1/2, 1/3 또는 1/4의 용량이 함유되도록 하며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 하루 1 내지 6회 분할 투여할 수도 있다.
- [42] 본원의 텔렉타디움 동나이엔스 유기용매 추출물은 Wnt 신호전달체계를 억제하는 효능을 가진다. 구체적으로는 β -카테닌이 도입된 HEK293 세포주 및 사람 대장암 세포주에서 TCF/LEF 루시퍼라아제 활성을 저해하고, β -카테닌 표적 유전자인 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 유전자 발현의 감소시킴으로써 Wnt 신호전달체계를 억제한다.
- [43] 이에 다른 양태에서 본원은 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물이 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제하는 것인, 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물을 함유하는 Wnt 표적 항암제, 특히 Wnt 표적 대장암 항암제에 관한 것이다.
- [44] 본 발명의 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물은 상기한 바와 같다.
- [45] 상기 표적항암제는 발암 과정의 특정 표적인자만 선택적으로 공격하는 치료제를 말하며, 본원의 표적항암제는 대장암 발암 과정에 관여하는 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 표적으로 하는 Wnt 표적 항암제이다.
- [46] 본 발명의 상기 추출물은 Wnt 신호전달 저해효능을 가지므로 암세포에 대한 항암보조제로 사용될 수 있다.

- [47] 이에 또다른 양태에서 본원은 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물이 Wnt/ β -카데닌 신호전달체계를 억제하는 것인, 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물을 함유하는 Wnt 표적 항암보조제에 관한 것이다.
- [48] 본 발명의 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물은 상기한 바와 같다.
- [49] 본 발명의 항암보조제는 Wnt/ β -카데닌 신호전달체계를 표적으로 하는 것으로, 항암제의 항암효과는 증대시키고, 항암제의 부작용을 억제하거나 개선시키기 위하여 사용할 수 있다.
- [50] 본 발명에서 상기 "억제"는 항암보조제의 투여에 의해 항암제의 부작용을 감소시키는 모든 행위를 의미하며, 본 발명에서 용어, "개선"이란 항암보조제의 투여에 의한 항암제 부작용의 감소 또는 항암제 부작용의 감소로 인한 암에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [51] 또한, 본 발명에서 상기 "개체"란 암이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미하고, 본 발명의 항암보조제를 개체에게 투여함으로써, 항암제 부작용을 최소화하면서 효과적으로 암을 치료할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항암보조제를 항암제를 투여받고 있는 대장암을 앓고 있는 인간에게 투여하여 항암 부작용을 감소시키면서 효율적으로 암을 치료할 수 있다.
- [52] 본 발명의 상기 표적항암제 또는 항암보조제의 허용가능한 담체, 제형, 투여방법 및 투여량은 상기 약학조성물에 기재된 바와 같다.
- [53] 또한 본 발명의 조성물은 식품, 특히 기능성 식품 조성물로 제조될 수 있다. 이에 본 발명은 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물을 함유하는, 대장암 예방 및 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.
- [54] 본 발명의 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물은 상기한 바와 같다.
- [55] 본 발명의 추출물을 포함하는 건강기능식품은 대장암의 예방 및 개선을 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 발명의 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.
- [56] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 식품제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분으로서의 상기 추출물 이외에 향미제 또는 천연 탄수화물을 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 예를 들어, 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등); 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등); 올리고당; 폴리사카라이드(예컨대, 덱스트린, 시클로덱스트린 등); 및 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리쓰리톨 등)을 포함한다. 향미제로서 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 등) 및 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다. 식품에 대한 용이한 접근성을 고려한다면, 본 발명의 건강기능식품은 암의 치료 또는 예방에 매우 유용하다.

- [57] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [58] 본 발명의 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.01 내지 99% 중량으로 포함한다. 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.
- [59] 또 다른 양태에서 본원은 본원에 따른 추출물을 대장암의 치료가 필요한 대상체에게 치료적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함하는 대장암의 치료 방법에 관한 것이다.
- [60] 본원에 따른 방법에 사용되는 추출물, 대장암의 특징 및 투여량은 앞서 언급한 바를 참조할 수 있다.
- [61]
- [62] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위해서 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐 본 발명이 하기의 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [63] 실시예
- [64] 실시예 1. 텔렉타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense* Pierre ex Costantin) 추출물의 제조
- [65] 텔렉타디움 동나이엔스(베트남 원산지)는 꽃, 가지, 줄기, 잎, 미성숙열매, 열매를 포함하는 지상부; 뿌리줄기; 및 뿌리를 채취하고 선택된 하나 이상의 검정된 공시재료를 세척한 후 절단하여 사용하였다.
- [66] 시료인 건조된 텔렉타디움 동나이엔스의 지상부; 뿌리줄기; 및 뿌리 각 1kg에 10L의 클로로포름 : 아세톤 : 메탄올 (1:1:1, v/v)로 초음파 추출기 장치(SDN-900H, SD-ULTRASONIC CO. LTD)를 이용, 수욕상에서 3시간씩 3회 추출하였다. 추출물을 여과한 다음 감압 농축한 후에 동결 건조하여 갈색의 텔렉타디움 동나이엔스 (*Telectadium dongnaiense* Pierre ex Costantin) 지상부 추출물; 뿌리줄기 추출물; 및 뿌리 추출물을 각각 수득하였으며, -20°C에 보관하며 이하 실험에 분석을 위하여 지상부 추출물을 시료로 사용하였다.
- [67] 실시예 2. 텔렉타디움 동나이엔스 지상부 추출물의 β -카테닌이 도입된 HEK293 세포주에서의 TCF/LEF 루시퍼라아제 활성 저해 효과 확인
- [68] 몇몇의 암 세포주, 특히 대장암에서 Wnt 신호전달 관련 단백질들의 변이에 의해 β -카테닌의 발현이 과활성화 되어있음이 알려져 있기 때문에 β -카테닌의

작용을 저해할 수 있는 물질을 발견하는 것은 의미 있는 일이라 여겨지며, 텔렉타디움 동나이엔스 추출물이 이러한 효과를 나타내는지 확인하기 위해 HEK293 세포에 β -카테닌을 도입하여 이를 과활성화 시킨 후 텔렉타디움 동나이엔스 추출물에 의해 억제되는지를 평가하였다. 종래 문헌(Kang YJ et al (2012) Mol Pharm 82:168-177)의 방법을 일부 변형하여 실험하였다.

[69] 상기 실시예 1의 텔렉타디움 동나이엔스 추출물이 β -카테닌이 결합하는 전사인자인 TCF/LEF (T-cell factor/lymphoid enhancer factor)의 전사활성 조절과 관련이 있는지를 확인하기 위하여, HEK293 세포 (Human Embryonic Kidney cell; ATCC, USA)에 TCF4 및 pcDNA β -카테닌 그리고 TCF 결합 부위를 포함하는 plasmid (TOPFlash)를 일시적으로 트랜스펙션(transfection) 시킨 후 텔렉타디움 동나이엔스 추출물이 TCF의 전사활성증가에 따른 루시퍼라아제 활성화에 어떠한 영향을 미치는지를 다음과 같이 시험하였다.

[70] HEK293 세포를 10% FBS가 포함된 DMEM 배지 (#12800-017, Gibco)로 48 웰 플레이트에 웰 당 1.5×10^4 가 되도록 조절하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간을 배양하고 루시퍼라아제가 붙어 있는 TRE 결합부위를 가지고 있는 플라스미드 100ng, TCF4 플라스미드 8ng, β -카테닌 20ng과 각 DNA 총 합의 1/20 량의 pRL-SV40 벡터 (E2231, Promega)와 리포펙타민 2000 (#11668-019, Invitrogen)을 Opti-MEM (31985-070, Gibco)에서 혼합하여 24시간 동안 트랜스펙션 시킨 후, 10% FBS가 포함된 DMEM 배지에 미리 희석해 둔 텔렉타디움 동나이엔스 추출물 (5, 10, 20 μ g/ml)을 처리하고 24시간 배양한 후 상등액을 모두 제거하고 1X Passive Lysis Buffer (E194A, Promega)에 현탁하여 15분간 섞어준 후 Dual Luciferase Kit (E1910, Promega)을 이용하여 Luminometer (Cetro LB 960, Berthold사, Germany)로 luciferase activity를 측정하고, 트랜스펙션 효율은 pRL-SV40 루시퍼라제 활성으로 보정하였다.

[71] 실험결과는 표 1 및 도 1에 제시된 바와 같이, HEK293 세포에 TCF4, pcDNA β -카테닌, TOPFlash를 함께 도입하면, TOPFlash 단독 혹은 TOPFlash와 TCF4 plasmid를 함께 도입한 대조군에 비하여 luciferase activity가 증가하게 된다. HEK293세포에 TCF4, pcDNA β -카테닌을 함께 도입한 상태에서 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 처리하면 증가되었던 TCF/LEF luciferase activity가 도 1에 제시된 바와 같이, 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1, 2.5, 5 μ g/ml 첨가하고 TCF/LEF 전사활성을 분석한 결과, 통계적으로 유의성을 가지며 (**P<0.01) 농도의존적으로 전사 저해활성을 나타냈으며, 자세하게는 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1 μ g/ml 첨가시 35.2%, 2.5 μ g/ml 첨가시 55.6%, 5 μ g/ml 첨가시 73.4%, TCF/LEF 전사저해활성을 나타냈다. 상기 결과로부터 텔렉타디움 동나이엔스 추출물의 전사저해활성 IC₅₀는 2.1 μ g/ml로 탁월한 저해활성을 나타냈다. 또한 텔렉타디움 동나이엔스 추출물 이용하여 TCF 결합 부위가 변이(mutation)된 plasmid (FOPFlash)를 트랜스펙션 시킨 경우에는 TCF4, pcDNA β -카테닌을 함께 도입하여도 루시퍼라제 활성화에 영향이 없는 것으로 나타났다.

이러한 결과는 Wnt 신호가 과발현 되어 β -카테닌이 증가하면 핵 내에서 β -카테닌-TCF/LEF 복합체 형성 후 발암유전자의 전사를 촉진하기 때문에 본원에 따른 추출물은 TCF/LEF의 전사활성을 저해하여 Wnt 신호가 과발현 되어 있는 암의 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 나타내는 것이다.

[72] [표 1]

[73]

텔렉타디움 동나이엔스 추출물 처리 농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	TCF/LEF 전사 저해활성 (%)
1	35.2
2.5	55.6
5	73.4

[74] 실시예 3. 시험관 내에서 텔렉타디움 동나이엔스 지상부 추출물의 사람 대장암세포에 대한 성장 억제 효능 확인

[75] 상기 실시예 1에서 얻은 시료의 시험관내에서의 사람 대장암세포 등에 대한 성장 억제 효능을 확인하기 위하여 문헌에 기재된 방법을 응용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다 (Lee SK et al (2008) Chem Biol Interact 115:215-28).

[76] 사람 대장암 세포주 HCT116은 한국 세포주 은행 (CCL-247, ATCC, USA)에서 분양 받았다.

[77] 본 발명에 이용된 사람의 대장암세포주를 10% FBS, 1% PSF 등을 함유한 RPMI배지에서 계대 배양하였다. 96-웰 플레이트의 각 웰에 10% DMSO에 녹아있는 시료 $10\mu\text{l}$ 와 상기 세포현탁액 $190\mu\text{l}$ (5×10^4 cells/ml) 넣고 3일간 배양하였다. 적어도 16웰에 상기 세포현탁액 $190\mu\text{l}$ 를 넣고 30분간 배양하여 실험 전의 음성대조(zero-day control)로 사용하였다. 배양한 세포를 10% TCA (trichloroacetic acid)로 고정시킨 후 SRB 용액 (S9012, Sigma)으로 염색하고, 10 mM 트리스 베이스(Tris-base)로 염색액을 용해시킨 다음 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 10% DMSO에서 배양한 경우를 대조군으로 하여 각 시험 물질처리에 따른 세포 생존율을 하기 수학적 식 1을 이용하여 측정하였다.

[78] [수학적 식 1]

[79] $\% \text{ 생존율} = \{ \text{OD}(\text{sample}) - \text{OD}(0\text{-day}) \} / \{ \text{OD}(10\% \text{ DMSO}) - \text{OD}(0\text{-day}) \} \times 100$

[80] 시료를 처리하지 않은 대조군을 100%로 하였을 때 시료 처리군의 값을 대조군에 대한 백분율로 나타내었으며, 각 시험물질 처리는 이중 혹은 삼중 시험의 평균값 $\pm$ SEM으로 구하여 그 결과를 하기 표 2 및 도 2에 나타내었다.

[81] 자세하게는 도 2에 나타난 바와 같이, 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1, 2, 4, 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 첨가하고 사람 대장암 세포주에 대한 세포독성을 평가한 결과, 통계적으로 유의성을 가지며 (**P<0.01) 농도 의존적으로 세포독성을 나타냈으며, 자세하게는 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 첨가시 12.4%,

2 μ g/ml 첨가시 83.5%, 4 μ g/ml 첨가시 92.4%, 8 μ g/ml 첨가시 97.2%, 세포독성을 각각 나타냈다. 상기 결과로부터 텔렉타디움 동나이엔스 추출물의 HCT116 세포주에 대한 50% 생존율에 대한 시험 물질의 농도인 IC50는 1.5 μ g/ml로 탁월한 세포독성을 나타냈다.

[82] [표 2]

[83]

텔렉타디움 동나이엔스 추출물 처리 농도 (μ g/ml)	암세포성장억제 (%)
1	12.4
2	83.5
4	92.4
8	97.2

[84] 실시예 4. 사람 대장암 세포주에서 텔렉타디움 동나이엔스 지상부 추출물의 TCF/LEF luciferase 활성 저해효능 확인

[85] 과활성화된 β -카데닌의 작용을 저해한다는 실시예 2의 결과를 바탕으로, Wnt 신호전달 관련 단백질인 GSK3 β 및 β -카데닌 자체에 유전자 변이가 있어 β -카데닌이 과발현 되어있는 것으로 알려진 HCT116 대장암 세포주에서 TCF/LEF luciferase 활성도를 평가하였다.

[86] 사람 대장암 세포주 HCT 116 (5×10^3 cells/mL) 세포를 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 배지 (#31800-022, Gibco)로 48-well plate 각 well에 300 μ L씩 넣고 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 24시간 후 TOPflash (β -카테닌/TCF reporter plasmids) (#21-170, upstate biotechnology) 100ng, pRL-SV40 reporter plasmids (E2231, Promega) 5ng을 Opti-MEM (#31985-070, Gibco)에 희석한 뒤 lipofectamine 2000 (#11668-019, invitrogen)을 이용하여 트랜스팩션 시켰다. 24시간 후 배지에 미리 희석한 텔렉타디움 동나이엔스 추출물 시료를 처리한 다음 배양기에서 다시 24시간 동안 배양하였다. Well 내의 배지를 모두 제거하고, 1X passive lysis buffer (E194A, Promega)를 이용하여 세포를 lysis 시켰다. 10 μ L의 세포 lysate를 흰색의 96 well plate로 옮긴 후 dual luciferase reporter assay system (E1910, Promega)을 이용하여 luciferase activity를 확인하였고, Renilla luciferase activity로 보정하여, 그 결과를 하기 표 3 및 도 3에 나타내었다.

[87] 도 3에 나타난 바와 같이, 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1, 2.5, 5 μ g/ml 첨가하고 사람 대장암 세포주에서 TCF/LEF luciferase 활성도 저해효능 평가한 결과, 통계적으로 유의성을 가지며 (*P<0.05) 농도의존적으로 TCF/LEF 전사저해활성을 나타냈으며 자세하게는 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1.0 μ g/ml 첨가시 27.5%, 2.5 μ g/ml 첨가시 37.7%, 5 μ g/ml 첨가시 49.7%, 전사 활성을

저해하였다. 상기 결과로부터 텔렉타디움 동나이엔스 추출물은 대장암 세포주에서 탁월한 TCF/LEF 전사 저해활성을 가짐을 확인할 수 있다. 이는 본원에 따른 추출물이 Wnt 신호가 과발현 되어 있는 대장암 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 나타내는 것이다.

[88] [표 3]

[89]

텔렉타디움 동나이엔스 추출물 처리 농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	TCF/LEF 전사 저해활성 (%)
1.0	27.5
2.5	37.7
5.0	49.7

[90] 실시예 5. 텔렉타디움 동나이엔스 지상부 추출물에 의한 사람 대장암 세포주에서의 β -카테닌 표적 유전자인 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 유전자 발현의 감소 확인

[91] c-Myc, Cyclin D1, Survivin 유전자는 β -카테닌의 하위 표적유전자로 알려져 있으며, 세포증식과 연관되어 있다 (Shih YL et al (2007) Inter J Cancer 121:1028-1035; Miller JR et al (1999) Oncogene 18:7860-7872; Staal FJ et al (2000) Hematol J 1:3-6; Logan CY et al (2004) Cell Dev Biol 20:781-810). 상기 실시예에서 얻은 시료의 대장암 세포주에서 β -카테닌 표적 유전자발현에 미치는 영향을 확인하기 위하여 문헌에 기재된 방법을 응용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다 (Kang YJ et al (2012) Mol Pharm 82:168-177).

[92] HCT 116 (1×10^5 cells/ml)세포를 10% FBS가 포함된 RPMI 배지로 100mm dish 에서 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간을 배양 후 배지에 희석된 시료를 넣고 다시 24시간 배양하였다. 부착된 세포를 PBS로 2회 세척한 후 TRI reagent (TRIZol (#15596-026, Invitrogen))를 이용하여 세포를 깨서 모은 후 CHCl₃를 첨가하여 RNA를 추출하여 isopropyl alcohol을 이용하여 침전시켰다. RNA 침전물을 70% 에탄올로 세척한 후 공기 중에서 건조시킨 후 nuclease-free water (AM9937, Ambion)를 이용하여 녹였다. 55°C에서 10분간 가열하고, 70°C에서 5분간 가열하여 RNA가 single strand 상태로 존재하도록 하였다. Total RNA를 NanoDrop (ND-1000, Dae Myung Sceince Co., Ltd)을 이용하여 정량하여 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 으로 희석한 후 avian myeloblastosis virus (AMV) reverse transcriptase (M5108, Promega)과 oligo(dT)₁₅ primer (C110B, Promega)를 이용하여 cDNA를 만들었다. iQ™ SYBR Green Supermix (#170-8880, Bio-Rad), target gene-specific primers [표 4]를 이용하여 target gene을 MiniOpticon™ Real-time PCR Detection system (CFB-3120, Bio-Rad)에서 증폭시켰다. Real-time PCR 조건은 95°C에서 20초간 변성(denaturation)시킨 뒤 95°C에서 20초 (denaturation), 56°C에서 20초

(annealing), 72°C에서 30초 (elongation)의 PCR cycle을 40회 반복하였고 이후 95°C에서 1분간 그리고 55°C에서 1분간 최종 단계를 거쳤다. MJ Opticon Monitor software (Opticon Monitor 3.1.32, Bio-rad)를 이용하여 리박 등 (Livak KJ et al (1996) Method 25:402-408)의 방법에 의하여 Ct 값을 결정하였고, 시료의 β -액틴의 Ct 값으로 보정하여 텔렉타디움 동나이엔스 추출물에 의해 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 유전자발현이 감소되는 것을 도 4에 나타냈다.

[93] [표 4] Real-time PCR primer

[94]

Genes	Sequences	
c-Myc	Sense	5'-CACCAGCAGCGACTCTGA-3'
	Antisense	5'-GATCCAGACTCTGACCTTTTG-3'
Cyclin D1	Sense	5'-CAGGTTGGACAGTTCACAGG-3'
	Antisense	5'-ACAGCTGGAGTTGGATGGAC-3'
Survivin	Sense	5'-CCGACGTTGCCCCCTGC-3'
	Antisense	5'-TCGATGGCACGGCGCAC-3'
β -액틴	Sense	5'-AGCACAATGAAGATCAAGAT-3'
	Antisense	5'-TGTAACGCAACTAAGTCATA-3'

[95] 도 4에 나타난 바와 같이, 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1, 2.5, 5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가하고 사람 대장암 세포주에서 β -카테닌 타겟 유전자인 C-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 유전자발현을 평가한 결과, 농도의존적으로 발현 저해 활성을 나타냈으며, 자세하게는 c-Myc의 경우 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 39.8%, 5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 80.2%, 유전자 발현을 저해하였고; Cyclin D1의 경우 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 22.4%, 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 40.2%, 5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 54.0%, 유전자 발현을 저해하였으며; Survivin의 유전자 발현은 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 1 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 26.3%, 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 49.7%, 5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 88.7%, 저해하는 것으로 나타났다. 특히 c-Myc 및 survivin의 경우 2.5, 5 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 모두 99% 신뢰구간에서 통계적으로 유의성을 나타냈다. 따라서 본 발명의 텔렉타디움 동나이엔스 추출물의 대장암 세포주에 대한 세포독성은 암세포 증식과 관련된 Wnt/ β -카테닌 신호전달경로의 하위조절인자인 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 등과 관련이 있음을 확인할 수 있었다.

[96] 실시예 6. 텔렉타디움 동나이엔스 지상부 추출물에 의한 사람 대장암 세포주에서의 β -카테닌 표적 단백질인 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 단백질 발현의 농도의존적 억제 확인

[97] Wnt/ β -카테닌 신호전달경로에서 세포증식과 관련되는 하위조절인자의 단백질인자에 미치는 영향을 검토하기 위하여 기재된 방법을 응용하여 하기와

같이 실험을 수행하였다 (Hong JY et al (2011) J Nat Prod 74:2102-8).

- [98] 대장암세포주 (HCT116)를 10% FBS가 포함된 DMEM 배지로 100mm 배양접시에 1×10^5 개의 농도로 깔고, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간을 배양한 후 인산 완충 생리식염수(PBS)로 2회 세척하였다. 미리 시료를 농도별로 희석해 둔 10% FBS가 포함된 DMEM 배지를 10ml 첨가한 후 일정 시간 배양하였다. 세포 배지 내에 부착되지 않은 세포와 부착된 세포를 모아 PBS로 2회 세척한 후 끓고 있는 2 × 시료 loading buffer (250 mM Tris-HCl (pH 6.8), 4% SDS, 10% glycerol, 0.006% bromophenol blue, 2% β-mercaptoethanol, 50 mM sodium fluoride와 5 mM sodium orthovanadate)를 넣어 세포를 파쇄시키고 이를 100°C 중에 5분간 두었다. 식힌 후 -20°C에서 보관하였고 사용 직전에 37°C에서 녹여 단백질 정량 및 전기영동에 이용하였다. 80μg의 단백질을 5 ~ 12% SDS-polyacrylamide gel (#456-1036, Bio-rad, Hercules, CA)을 이용하여 138 V에서 2시간 동안 전기영동하였다. 분리된 단백질을 PVDF 멤브레인(membrane, ISEQ15150, Millipore, Bedford, MA)으로 100 V에서 1시간 동안 옮긴 후 TBST로 2회 세척하고 blocking buffer(5% Albumin from Bovine Serum in PBS containing 0.1% Tween-20 (TBST))에 넣어 상온에서 1시간 동안 진탕기에서 배양하였다. 그 다음 TBST로 5분간 3회씩 세척한 후 해당 단일항체를 TBST로 3% Albumin from Bovine Serum (BSA (A9647, Sigma))로 희석하여 멤브레인(membrane)과 함께 4°C에서 18시간 반응시켰다. 멤브레인(Membrane, ISEQ 1S150, Millipore, Bedford, MA)을 TBST로 5분간 3회 세척한 후 HRP(horseradish peroxidase)-결합 이차항체를 TBST로 3% BSA로 1:1,000 ~ 1:2,000의 비율로 희석하여 멤브레인(membrane)과 함께 상온에서 3 ~ 4시간 반응시켰다. 이후 TBST로 5분간 3회 세척한 후 웨스턴 블랏팅 기질 (WEST-ZOL PLUS(16021, Intron))을 처리하여 LAS-3000 (Fuji Film Corp., Japan)에서 단백질 발현 정도를 확인하였다.
- [99] 자세하게는 대장암 세포주 (HCT116)에 텔렉타디움 동나이엔스 추출물 1, 2.5, 5 μg/ml을 처리하고 24시간 배양 후 단백질 발현 분석을 통해 텔렉타디움 동나이엔스 추출물의 대장암세포주 (HCT116)에서의 신호전달체계 억제를 확인한 결과, 도 5에 나타난 바와 같이 c-Myc, Cyclin D1 및 Survivin 단백질 발현이 농도의존적으로 억제되었으며 특히 Survivin 유전자의 발현억제가 두드러짐을 확인하였다. 결과를 종합해 보면, 본원에 따른 텔렉타디움 동나이엔스 추출물은 Wnt/β-카데닌 신호전달체계를 억제함으로써 대장암의 증식을 억제하는 것으로 판단된다.
- [100] 하기에 본 발명의 화합물을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.
- [101] 제제예 1. 산제의 제조
- [102] 텔렉타디움 동나이엔스 추출물 200 mg
- [103] 유당 100 mg
- [104] 탈크 10 mg

- [105] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.
- [106] **제제예 2. 정제의 제조**
- [107] 텔렉타디엄 동나이엔스 추출물 200 mg
- [108] 옥수수전분 100 mg
- [109] 유당 100 mg
- [110] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [111] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
- [112] **제제예 3. 캡셀제의 제조**
- [113] 텔렉타디엄 동나이엔스 추출물 200 mg
- [114] 결정성 셀룰로오스 3 mg
- [115] 락토오스 14.8 mg
- [116] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg
- [117] 통상의 캡셀제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡셀제를 제조한다.
- [118] **제제예 4. 주사제의 제조**
- [119] 텔렉타디엄 동나이엔스 추출물 200 mg
- [120] 만니톨 180 mg
- [121] 주사용 멸균 증류수 2974 mg
- [122] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg
- [123] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
- [124] **제제예 5. 액제의 제조**
- [125] 텔렉타디엄 동나이엔스 추출물 200 mg
- [126] 이성화당 10 g
- [127] 만니톨 5 g
- [128] 정제수 적량
- [129] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
- [130] **제제예 6. 건강 식품의 제조**
- [131] 텔렉타디엄 동나이엔스 추출물 1000 mg
- [132] 비타민 혼합물 적량
- [133] 비타민 A 아세테이트 70 μg
- [134] 비타민 E 1.0 mg
- [135] 비타민 B1 0.13 mg
- [136] 비타민 B2 0.15 mg

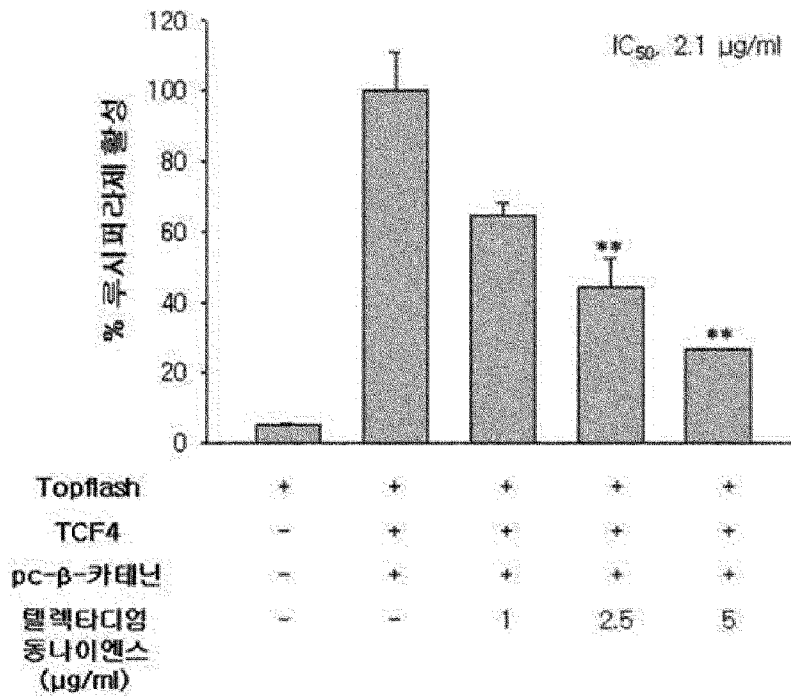
- [137] 비타민 B6 0.5 mg
- [138] 비타민 B12 0.2 μ g
- [139] 비타민 C 10 mg
- [140] 비오틴 10 μ g
- [141] 니코틴산아미드 1.7 mg
- [142] 엽산 50 μ g
- [143] 판토텐산 칼슘 0.5 mg
- [144] 무기질 혼합물 적량
- [145] 황산제1철 1.75 mg
- [146] 산화아연 0.82 mg
- [147] 탄산마그네슘 25.3 mg
- [148] 제1인산칼륨 15 mg
- [149] 제2인산칼슘 55 mg
- [150] 구연산칼륨 90 mg
- [151] 탄산칼슘 100 mg
- [152] 염화마그네슘 24.8 mg
- [153] 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.
- [154] **제제예 7. 건강 음료의 제조**
- [155] 텔렉타디움 동나이엔스 추출물 1000 mg
- [156] 구연산 1000 mg
- [157] 올리고당 100 g
- [158] 매실농축액 2 g
- [159] 타우린 1 g
- [160] 정제수를 가하여 전체 900 ml
- [161] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85°C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
- [162] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.
- [163] 이상에서 본원의 예시적인 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본원의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본원의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본원의 권리범위에 속하는 것이다.
- [164] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의

관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 도입된다.

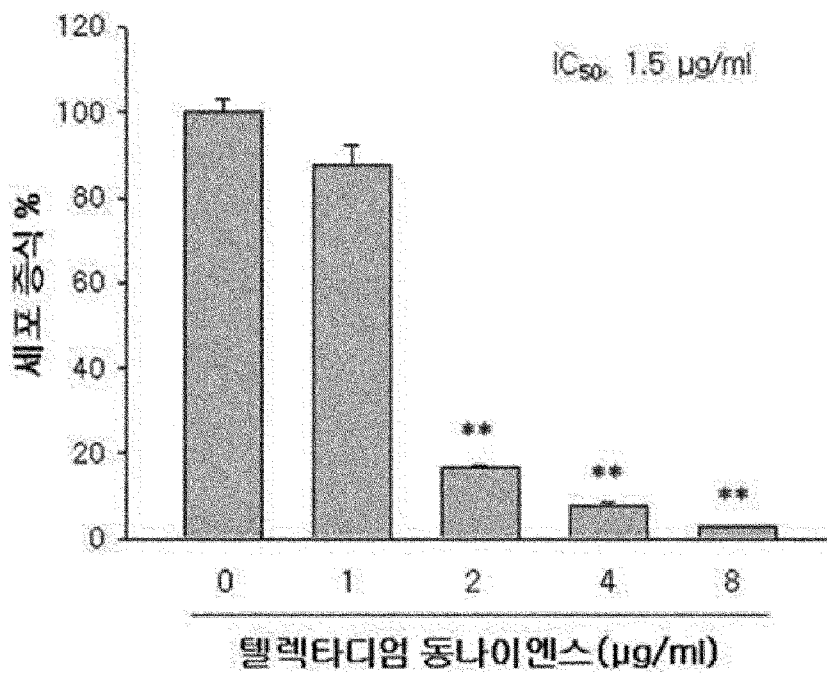
청구범위

- [청구항 1] 텔렉타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*)의 추출물을 유효성분으로 포함하는 대장암 예방 또는 치료용 약학조성물.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서, 상기 추출물은 유기용매 추출물인, 대장암 예방 또는 치료용 약학조성물.
- [청구항 3] 제 1 항에 있어서, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜, 클로로포름, 아세톤, 프로필렌글리콜, 초산에틸, 부틸렌글리콜, 및 에테르로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 혼합 용매인, 대장암 예방 또는 치료용 약학조성물.
- [청구항 4] 제 3 항에 있어서, 상기 유기용매는 클로로포름, 아세톤, 및 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜이 10~1 : 1~10 : 1~10(v/v)의 비로 혼합된 혼합용매인, 대장암 예방 또는 치료용 약학조성물.
- [청구항 5] 제 1 항에 있어서, 상기 대장암은 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계가 과활성화된 대장암인, 대장암 예방 또는 치료용 약학조성물.
- [청구항 6] 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 유효성분으로 포함하는 세포의 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제하는 Wnt 표적 항암제.
- [청구항 7] 제 6 항에 있어서, 상기 세포는 대장암 세포인, Wnt 표적 항암제.
- [청구항 8] 텔렉타디움 동나이엔스의 유기용매 추출물을 유효성분으로 포함하는 세포의 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계를 억제하는 Wnt 표적 항암보조제.
- [청구항 9] 제 8 항에 있어서, 상기 세포는 대장암 세포인, Wnt 표적 항암보조제.
- [청구항 10] 텔렉타디움 동나이엔스 추출물을 포함하는, 대장암 예방 또는 개선용 건강기능식품.
- [청구항 11] 제 10 항에 있어서, 상기 추출물은 유기용매 추출인, 대장암 예방 또는 개선용 건강기능식품.
- [청구항 12] 텔렉타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*)의 추출물의 대장암 예방 또는 치료용 용도.
- [청구항 13] 제 12 항에 있어서, 상기 대장암은 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계가 과활성화된 대장암인, 용도.
- [청구항 14] 텔렉타디움 동나이엔스(*Telectadium dongnaiense*)의 추출물을 대장암의 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 대장암 치료 방법.
- [청구항 15] 제 14 항에 있어서, 상기 대장암은 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계가 과활성화된 대장암인, 방법.

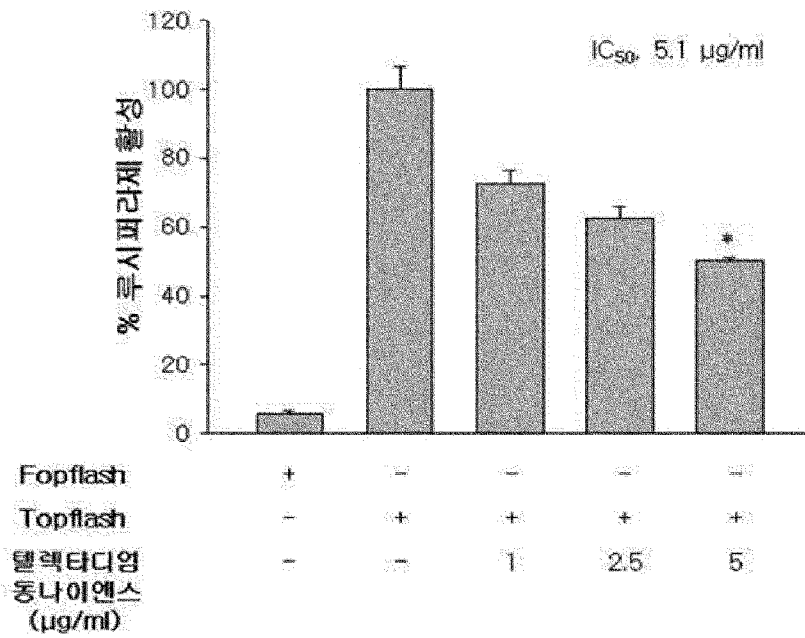
[도1]



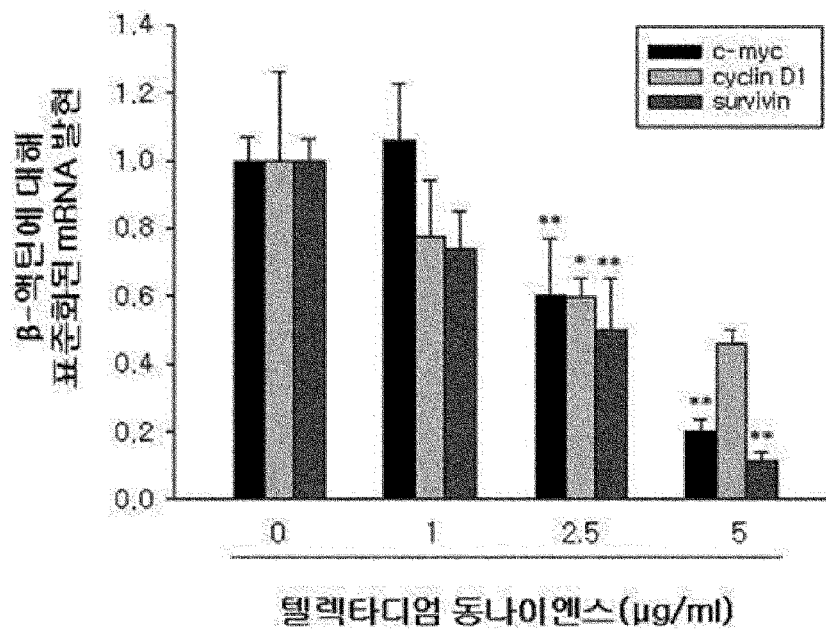
[도2]



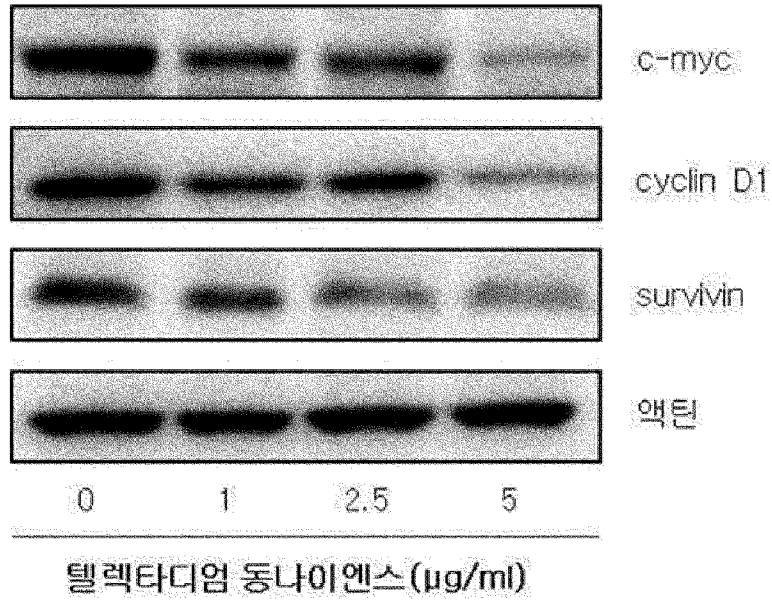
[도3]



[도4]



[도5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/006376

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/24(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 36/24; A61P 35/00; A61K 31/47; A61K 36/55; A61K 36/02; C12Q 1/68; A23L 33/105

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: Telectadium dongnaiense extract, colorectal cancer, Wnt/ β -catenin

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2015-0037024 A (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION et al.) 08 April 2015 See abstract; and claims 1-13.	1-13
A	KR 10-2003-0016774 A (HERBENTECH INC. et al.) 03 March 2003 See abstract; and claims 1-6.	1-13
A	KR 10-2008-0014326 A (INJE UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 14 February 2008 See the entire document.	1-13
A	WO 2014-128142 A1 (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.) 28 August 2014 See the entire document.	1-13
A	CHOI, So Jin et al., "Screening of Herbal Medicines from Vietnam with Inhibitory Activity on Advanced Glycation End Products Formation (XIV)", Korean Journal of Pharmacognosy, 2015, vol. 46, no. 3, pages 268-278 See the entire document.	1-13
PX	KIM, Won Kyung et al., "(P7-26) Antiproliferative Activity of Telectadium Dongnaiense and Its Constituents via Inhibition of the Wnt/ β -catenin Signaling in Human Colon Cancer Cells", International Conference on 70th Anniversary of The Pharmaceutical Society of Korea, Seoul, 18-20 October 2016 See the entire document.	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 OCTOBER 2017 (18.10.2017)

Date of mailing of the international search report

18 OCTOBER 2017 (18.10.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/006376

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	KIM, WK et al., "Antitumor Activity of Periplocin, Isolated from Telectadium Dongnaiense, in Colorectal Cancer Cells via Suppression of Wnt/ β -catenin Signaling", Planta Medica, 14 December 2016, DOI: 10.1055/s-0036-1596587 See abstract.	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/006376

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **14-15**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 14-15 pertain to a method for treatment of the human body by therapy, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/006376

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2015-0037024 A	08/04/2015	KR 10-1545507 B1	19/08/2015
KR 10-2003-0016774 A	03/03/2003	NONE	
KR 10-2008-0014326 A	14/02/2008	KR 10-0844366 B1	07/07/2008
WO 2014-128142 A1	28/08/2014	EP 2767594 A1	20/08/2014

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 36/24(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 36/24; A61P 35/00; A61K 31/47; A61K 36/55; A61K 36/02; C12Q 1/68; A23L 33/105

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 텔레타디움 동나이엔스 추출물, 대장암, Wnt/ β -카테닌**C. 관련 문헌**

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2015-0037024 A (서울대학교산학협력단 등) 2015.04.08 요약; 및 청구항 1-13 참조.	1-13
A	KR 10-2003-0016774 A ((주)허벤텍 등) 2003.03.03 요약; 및 청구항 1-6 참조.	1-13
A	KR 10-2008-0014326 A (인제대학교 산학협력단) 2008.02.14 전체 문헌 참조.	1-13
A	WO 2014-128142 A1 (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM 등) 2014.08.28 전체 문헌 참조.	1-13
A	최소진 등, '베트남 약용식물의 최종당화산물 생성저해활성 검색(XIV)', 생약학회지, 2015, 46권, 3호, 페이지 268-278 전체 문헌 참조.	1-13
PX	KIM, WON KYUNG 등, '(P7-26) Antiproliferative activity of Telectadium dongnaiense and its constituents via inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling in human colon cancer cells', 대한약학회 창립70주년 국제학술대회, 서울, 2016.10.18-20 전체 문헌 참조.	1-13

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 10월 18일 (18.10.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 10월 18일 (18.10.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

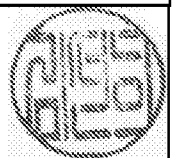
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김선희

전화번호 +82-42-481-5405



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
PX	KIM, WK 등, 'Antitumor activity of periplocin, isolated from Telectadium dongnaiense, in colorectal cancer cells via suppression of Wnt/ β -catenin signaling', Planta Medica, 2016.12.14, DOI: 10.1055/s-0036-1596587 요약 참조.	1-13

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 14-15
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 14-15는 치료에 의한 인체의 처치방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의
규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니
다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합
니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를
요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상
으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발
명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된
기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2015-0037024 A	2015/04/08	KR 10-1545507 B1	2015/08/19
KR 10-2003-0016774 A	2003/03/03	없음	
KR 10-2008-0014326 A	2008/02/14	KR 10-0844366 B1	2008/07/07
WO 2014-128142 A1	2014/08/28	EP 2767594 A1	2014/08/20