(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0009438
(43) 공개일자 2017년01월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/19 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/19 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0101491
(22) 출원일자 2015년07월17일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
김성훈
서울특별시 강남구 언주로30길 57, E동 2405호 (도곡동, 타워팰리스)
손은정
서울특별시 동대문구 회기로 194-14, 715호 (휘경동)
원건호
서울특별시 강남구 테헤란로4길 34, 203호 (역삼동)
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 6 항

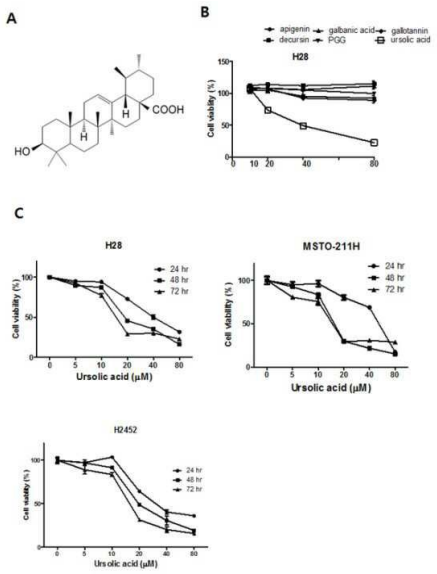
(54) 발명의 명칭 **악성 중피종 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 우르솔릭 산을 유효성분으로 함유하는 악성 중피종 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 우르솔릭 산을 유효성분으로 포함하는 조성물은 악성 중피종 세포 사멸 및 전이 억제에 현저한 효과를 가져 악성 중피종의 예방 또는 치료에 효과적이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/192 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2014R1A2A1A10052872
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 경희대학교 산학협력단
연구사업명 한국연구재단 도약과제
연구과제명 간섬유화 및 암화 유발 유전자를 표적하는 한약 소재의 분자 작용 기전
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2014.11.01 ~ 2015.10.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

우르솔릭 산을 유효성분으로 포함하는 악성 중피종 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 악성 중피종은 흉막 악성 중피종, 복막 악성 중피종 또는 심막 악성 중피종으로부터 선택되는 어느 하나인 악성 중피종 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 악성 중피종 예방 또는 치료는 악성 중피종세포 사멸 촉진에 의한 것인 악성 중피종 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 악성 중피종 예방 또는 치료는 악성 종피종 전이 억제에 의한 것인 악성 중피종 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 5

우르솔릭 산을 유효성분으로 포함하는 악성 중피종 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 악성 중피종은 흉막 악성 중피종, 복막 악성 중피종 또는 심막 악성 중피종으로부터 선택되는 어느 하나인 악성 중피종 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 악성 중피종의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 악성 중피종은 폐, 심막, 늑막, 복막 등의 표피 장막세포(serosal cell) 등에서 일반적으로 발생하는 통상의 암치료법에 저항성을 보이는 대표적인 악성 종양이다. 악성 중피종의 발생은 약 80%이상 석면에 대한 노출과 밀접한 관련성을 가지고 있으며, 이외에도 방사선 조사, 만성 염증 및 유전적인 소인 등이 영향을 주고 있다. 석면 노출 후 악성 중피종이 발생하기까지는 약 10년에서 30년의 긴 시간이 소요되며, 이 과정 중에서 활성산소종의 지속적인 형성과 염증세포에서 분비되는 사이토카인(cytokine)의 자극 등이 세포의 성장 및 증식과 악성화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 악성 중피종은 항암제 및 방사선조사 등의 전통적 암치료법에 큰 저항을 보이는 매우 치명적인 암종이며 극히 일부 환자에서만 외과적인 절제술이 가능하기 때문에, 평균생존율이 9-12개월에 불과하다. 악성 중피종 치료에서 외과적 절제나 방사선요법은 주로 국소적으로 존재하는 암종에 부분적으로 효과적이나, 치료에 대한 저항성의 유발과 정상세포에 주는 독성으로 인해 그 효과는 미미한 수준이며, 따라서 악성 중피종의 치료는 항암치료요법이 주로 이용되고 있으며, 독소루비신(doxorubicin), 사이크로포스파마이드(cyclophosphamide), 시스플라틴(cisplatin), 카포플라틴(carboplatin), 젬사이타빈(gemcitabine), 퍼메트렉스트(pemetrexed) 등을 단독 혹은 혼합하여 사용되고 있으나, 초기치료에는 부분적으로 반응하지만 결국 약물저항성이 발생되어 치료의 효율이 급격히 감소하는 것으로 알려져 있다.

[0004] 이러한 배경 하에, 일반적인 항암 치료에 높은 저항성을 보이는 악성 종피종의 치료를 위한 새로운 치료 방법

및 새로운 치료 물질들에 대한 연구개발이 진행될 필요성이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) KR10-2009-0069296, 2009.06.30

(특허문헌 0002) KR10-2014-0051555, 2014.05.02

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 우르솔릭 산을 유효성분으로 포함하는 악성 중피종 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공하고자 한다.

[0007] 또한, 본 발명은 우르솔릭 산을 유효성분으로 포함하는 악성 중피종 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

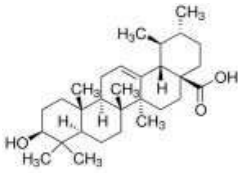
[0008] 본 발명자들은 악성 중피종 치료에 적합한 치료제를 개발하기 위하여 연구를 진행하던 중 우르솔릭 산(Ursolic acid)이 악성 중피종의 예방 및 치료에 현저한 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본원 발명은 우르솔릭 산(Ursolic acid)을 유효성분으로 포함하는 악성 중피종 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0010] 본원 발명의 약제학적 조성물은 악성 중피종의 세포 사멸 및 세포 전이 억제를 통해 질환의 예방 또는 치료에 현저한 효과를 보이며, 특히 EMT (epithelial-to-mesenchymal transition) 관련 유전자, Twist, Vimentin 및 N-cadherin를 억제하고, E-cadherin을 증가시키며, 세포 사멸 관련 단백질을 활성화시킴으로써 악성 중피종의 예방 및 치료에 현저한 효과를 보인다.

[0011] 본원 발명에 있어서, 우르솔릭 산이란 하기 화학식 1의 구조를 가지는 화합물이다.

[0012] [화학식 1]

[0013] 

[0014] 우르솔릭 산은 사과, 배, 자두 등의 과일에서 분리 가능하며, 당업계에 알려진 방법에 따라 상기 과일 등에서 분리 및 추출하여 사용하거나, 신규로 합성하여 사용하거나 상용 제품을 구매하여 사용할 수 있다.

[0015] 본 발명에 있어서, 악성 중피종이란 폐, 늑막, 흉막, 위, 간 및 복막 등의 표면을 덮고 있는 중피에서 발생하는 암으로, 일반적인 암 치료법에 저항성을 보이는 악성 종양을 의미한다. 특히, 악성 중피종은 석면 노출과 관련하여 생기는 대표적인 질환으로도 볼 수 있으며, 몸 속에 석면먼지가 들어오면 10~30년의 잠복기를 거쳐 대부분 악성 중피종의 암으로 이어질 가능성이 높다. 예를 들어, 석면을 20년 이상 취급한 사람의 폐암 발생률은 취급하지 않은 사람보다 10배나 높다는 보고가 있다.

[0016] 본 발명에 따른 악성 종피종은 예컨대 흉막 악성 중피종, 복막 악성 중피종, 심막 악성 중피종 등을 들 수 있다.

[0017] 본 발명의 약제학적 조성물은 EMT (epithelial-to-mesenchymal transition)에 관련된 유전자, Twist, Vimentin, N-cadherin 등을 억제한다. 또한, E-cadherin을 증가시키며, 신호 전달 유전자와 관련하여 예컨대 cyclin D1, NFKB, GSK3a/b, b-catenin, pAKT 등을 억제한다. 또한, 세포 사멸과 관련된 단백질들로, 예컨대 caspase 3, 9 및 PARP 등을 억제한다. 이에 따라, 본 발명의 약제학적 조성물은 악성 중피종 세포 사멸에 직접

적으로 작용효과를 보일 뿐만 아니라, 이의 전이 등을 억제함으로써 항암제 또는 항암 보조제로써의 현저한 효과를 가진다.

[0018] 본 발명의 조성물은 상기 유효성분을 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 ~ 90 중량 % 함유할 수 있다.

[0019] 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 추가적으로 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 덱스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다.

[0020] 본 발명에 따른 약제학적으로 허용 가능한 첨가제는 약제학적 조성물 100중량부에 대해 0.1 ~ 90중량부 포함되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 즉, 본 발명의 약제학적 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calciumcarbonate), 수크로스(Sucrose), 락토오스(Lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0022] 본 발명의 약제학적 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. 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다.

[0023] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 0.001 내지 100mg/kg이고, 바람직하게는 0.01 내지 30mg/체중kg이다. 투여의 경우 하루 1 내지 6 회 투여될 수 있다.

[0024] 아울러, 본 발명은 우르솔릭 산을 유효성분으로 포함하는 악성 중피종 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0025] 본 발명의 우르솔릭 산을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0026] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 우르솔릭 산을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0027] 상기 외에 본 발명의 우르솔릭 산은 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

[0028] 본 발명에 따른 우르솔릭 산을 유효성분으로 포함하는 조성물은 악성 중피종 세포 사멸 및 전이 억제에 현저한 시너지 효과를 가져 악성 중피종의 예방 또는 치료에 효과적이다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 악성 중피종 세포인 H28, H2452 및 MSTO-211H에서 우르솔릭 산 처리에 따른 세포 생존율 감소를 확인한 결과를 나타낸다.

도 2는 악성 중피종 세포인 H28, H2452 및 MSTO-211H에서 우르솔릭 산 처리에 따른 sub-G1기 세포 증가 및 세포 사멸 관련 단백질 감소를 확인한 결과를 나타낸다.

도 3은 악성 중피종 세포인 H28 및 H2452에 우르솔릭 산 처리에 따른 세포 군집 형성 억제 효과를 확인한 결과를 나타낸다.

도 4는 악성 중피종 세포주 H2452, H28 및 MSTO-211H에 우르솔릭 산 처리에 따른 EMT 관련 단백질의 발현 변화 및 cyclin D1 및 Twist mRNA 발현 변화를 확인한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0031] **<실시예 1> 우르솔릭 산 처리에 따른 악성 중피종 세포에서 세포 생존율 확인**

[0032] 인간 악성 중피종의 일종인 H28, H2452, MSTO-211H세포는 ATCC (America Tissue Culture Collection, Manassas, Virginia)로부터 구입하였다. 각 세포는 5% 열-비활성화 FBS, 2mM 글루타민, 100U/mL 페니실린 및 100㎍/mL 스트렙토마이신이 첨가된 RPMI 1640배지에서 5% CO_2에서 배양하였다.

[0033] 상기 H28세포에 아피제닌(apigenin), 갈바닉 산(galbanic acid), 갈로타닌(gallotannin), 데커신(decursin), PGG, 우르솔릭 산(ursolic acid)을 농도별로 처리하고, 이와 별도로 H28, H2452, MSTO-211H세포에 우르솔릭 산(sigma-aldrich (st, Louis Missouri))을 농도별 또는 시간대 별로 처리하고 배양하였다.

[0034] H28, H2452, MSTO-211H의 생존 능력을 분석하기 위해 MTT assay kit (Sigma, St. Louis)를 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 분석하였다. 배양된 세포에 MTT solution을 넣고 용해시킨 후, OD는 microplate reader (TECAN)에 이용하여 450nm에서 측정하였다.

[0035] 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1의 (A)는 우르솔릭 산의 화학식 구조식을 나타낸다. 도 1의 (B)는 알려진 생리 활성 물질들로, 아피제닌(apigenin), 갈바닉 산(galbanic acid), 갈로타닌(gallotannin), 데커신(decursin), PGG, 및 우르솔릭 산(ursolic acid)을 농도별(10, 20, 40, 80 uM)로 처리하였을 때, 세포 독성을 확인한 결과로, 우르솔릭 산만이 세포 사멸 효과를 보이는 것을 확인하였다. 즉, 다른 알려진 화합물과 대비하여 악성 중피종에 특이적으로 높은 세포 사멸 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[0036] 또한, 도 1의 (C) 내지 (E)는 악성 중피종 세포주들인 H28, H2452, MSTO-211H세포에 농도별(0, 5, 10, 20, 40, 80 uM), 시간 별(24, 48, 72 시간)로 우르솔릭 산을 처리한 결과를 나타낸다. 도면에서 확인되는 바와 같이, 악성 중피종 세포주 모두에서 시간 및 농도 의존적으로 세포 사멸 효과가 나타나는 것이 확인되었다.

[0037] **<실시예 2> sub-G1상 및 세포 사멸 관련 유전자 발현 변화 확인**

[0038] sub-G1상 세포를 FACS를 통해 분석하였으며, 세포 사멸 관련 유전자 발현 변화를 웨스턴 블랏을 통해 확인하였다.

[0039] FACS 분석을 위하여, 우르솔릭 산이 농도별(0, 20, 40 uM)로 처리된 악성 중피종 세포주들인 H28, H2452, MSTO-211H를 배양 후, PBS로 한 번 세척한 다음 빙냉 70% 에탄올로 고정하고, 4℃로 보관하였다. 100 ㎍/mL RNase A, 50 ㎍/mL PI, 0.1% (w/v) 시트르산 소듐 및 0.1% (v/v) NP-40를 함유한 냉 PI 용액에 현탁시킨 후 30분 동안 추가로 배양하였다. FACS를 이용하여 세포의 sub-G1를 분석하였고, 셀퀘스트 프로그램 (CellQuest software)를 이용하여 상대 DNA 함량을 확인하였다.

[0040] 그 결과를 도 2의 (A)에 나타내었다. 도 2의 (A)에서 확인되는 바와 같이, 우르솔릭 산 처리에 따라 subG1기에 해당하는 세포수가 상당히 증가되는 것이 확인되었다.

[0041] 웨스턴 블랏 분석을 위하여, 우르솔릭 산 (ursolic acid)을 처리한 세포는 24시간 배양 후 세포를 PBS로 세척한

후 lysis 용액 (20mM 자당, 1mM EDTA, 20 μM Tris-CL, pH7.2, 1mM DTT, 10mM KCL, 1.5mM MgCL2, 5μg/mL 펩스타틴 A, 10 μg/ml 류펩틴 및 2 μg/mL 아프로티닌)에 첨가 후 용리시켰다. 원심 분리 후 상등액을 수집하여 단백질 농도를 측정한 후 30 μg을 함유한 분취액을 bio-rad 단백질 분석 키트을 이용하여 SDS-폴리아크릴아마이드 겔 상에서 분리하고 지시된 1차 항체(actin, PARP, procaspase 3, 및 procaspase 9에 대한 1차 항체, *Cell signaling*)를 이용하여 포옥시다아제로 접합된 IgG에 대한 2차 항체를 이용하여 Pierce ECL Western blotting Substrate (Thermo scientific, rockford, Illinois)를 통하여 분석하였다.

[0042] 그 결과를 도 2의 (B)에 나타내었다. 도 2의 (B)에서 확인되는 바와 같이, 우르솔릭 산의 농도 증가에 따라 세포 사멸과 관련된 단백질인 PARP, procaspase 3, 및 procaspase 9의 농도가 감소되는 것이 확인되었다.

[0043] **<실시예 3> 세포 군집 형성능 확인**

[0044] 악성 중피종 세포인 H2452 및 H28 세포주에 우르솔릭 산을 0, 10, 20, 40 uM을 첨가하고, 세포를 agarose에서 14일 동안 키운 후 세포의 군집 형성을 확인하여 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0045] 도 3은 아가로즈 배지에서의 세포 군집 형성과 세포 군집을 dH_2O에 녹여서 OD 값을 측정한 결과를 보여준다. 도 3에서 확인되는 바와 같이, 우르솔릭 산을 첨가하지 않은 군 (0)에 비해서 20 과 40 uM를 처리한 군에서 세포의 군집 형성율이 크게 떨어지는 것이 확인되었다.

[0046] **<실시예 4> 전이에 관련되는 EMT (epithelial-to-mesenchymal transition) 연관 단백질의 발현 변화 확인**

[0047] 세포 전이와 관련성이 높은 EMT (epithelial-to-mesenchymal transition) 연관 단백질의 발현 변화를 웨스턴 블랏 및 qRT-PCT을 통해 확인하였다.

[0048] 웨스턴 블랏은 상기 실시예 2와 같이 수행하였으며, 그 결과를 도 4의 (A)에 나타내었다. 상피에서 간엽 세포로의 전이 (epithelial to mesenchymal transition/EMT) 과정에서 침투가 일어나는바, twsit 및 vimentin의 증가, e-cadherin의 손실 등으로 침투성에 대해 확인이 가능하다. 도 4에 나타낸 바와 같이, 우르솔릭 산의 처리는 Vimenin, N-cadherin, Twist, b-catenin, GSK3a/b 등의 발현을 감소시키는 반면 e-cadherin을 증가시켜, 침투성을 약화시키는 효과를 보였다.

[0049] 또한, qRT-PCR을 통해서 cyclin D1 및 Twist의 발현 변화를 확인하였다.

[0050] 우르솔릭 산을 24시간 처리한 악성 중피종 세포인 H2452의 RNA를 TRIzol reagent (Life Technologies)를 이용하여 추출한 후, cDNA합성을 위해 2ug의 RNA를 사용하였다. qRT-PCR를 수행하기 위해서 Lightcycler SYBR Green PCR mater mixture (Roche Applied Sciences)를 이용하여 Lightcycler TM instrument를 기계를 통해 분석하였다. qRT-PCR에 사용된 cyclin D1, Twist 및 GAPDH 유전자의 프라이머 (primer)의 서열은 하기 표 1에 나타내었다.

[0051]

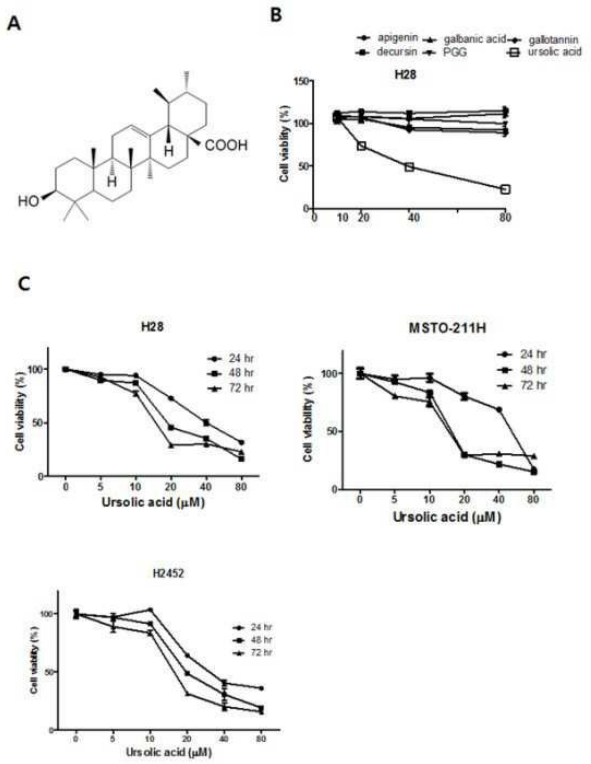
서열정보	서열
Cyclin D1 forward	5'-TCCTCTCCAAAATGCCAGAG-3' (서열번호 1)
Cyclin D1 reverse	5'-GGCGGATTGGAAATGAACTT-3' (서열번호 2)
TWIST forward	5'-GGCTCAGCTACGCCTTCTC-3' (서열번호 3)
TWIST reverse	5'-CCTTCTCTGGAAACAATGACATCT-3' (서열번호 4)
GAPDH forward	5'-CCACTCCTCCACCTTTGAC-3' (서열번호 5)
GAPDH reverse	5'-ACCCTGTTGCTGTAGCCA-3' (서열번호 6)

[0052] 상기 실험결과를 도 4의 (B)에 나타내었다. 도 4의 (B)에서 확인되는 바와 같이, 우르솔산 처리에 따라 H2452 세포주에서 Cyclin D1 및 Twist 의 발현이 현저히 감소하는 것이 확인되었다.

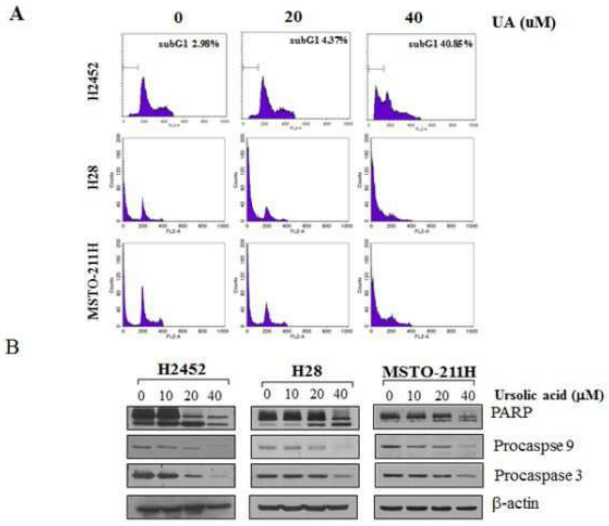
[0053] 상기 결과로부터, 우르솔릭 산이 악성 중피종의 세포 사멸에 현저한 효과가 있으며, 종양 전이를 억제할 수 있음을 확인하였다.

도면

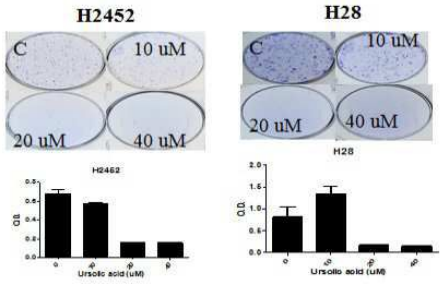
도면1


A
B
apigenin
galbanic acid
gallotannin
decursin
PGG
ursolic acid
H28
Cell viability (%)
COOH
HO
C
H28
MSTO-211H
H2452
24 hr
48 hr
72 hr
Ursolic acid (μM)

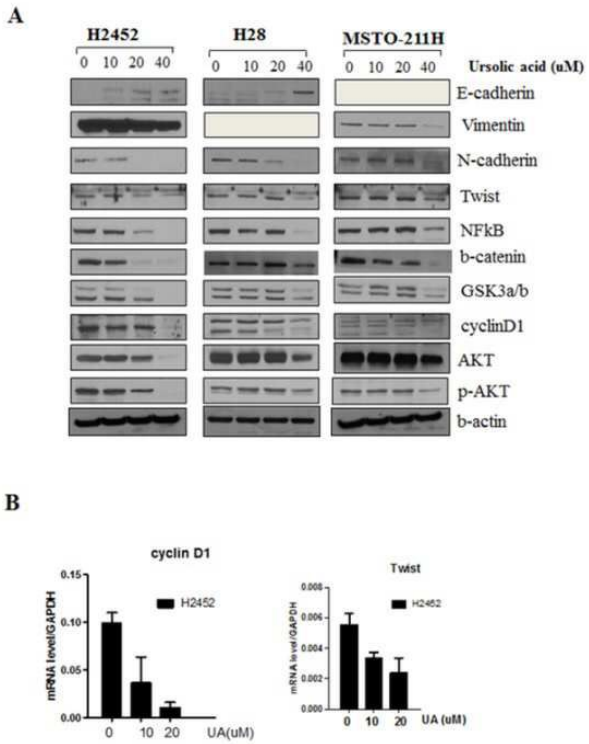
도면2


A
0
20
40
UA (uM)
subG1 2.98%
subG1 4.37%
subG1 40.85%
H2452
H28
MSTO-211H
B
H2452
H28
MSTO-211H
0 10 20 40
Ursolic acid (μM)
PARP
Procaspse 9
Procaspase 3
β-actin

도면3



도면4



서 열 목 록

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

<120> Composition for the prevention or treatment of malignant mesothelioma

<130> P15-016-KHU

<160> 6

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cyclin D1 Forward Primer

<400> 1

tcctctccaa aatgccagag 20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Cyclin D1 Reverse Primer

<400> 2

ggcggattgg aaatgaactt 20

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TWIST Forward Primer

<400> 3

ggctcagcta cgccttctc 19

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TWIST Reverse Primer

<400> 4

ccttctctgg aaacaatgac atct 24

<210> 5

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GAPDH Forward Primer

<400> 5

ccactcctcc acctttgac 19

<210> 6

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GAPDH Reverse Primer

<400> 6

accctgttgc tgtagcca 18