(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0039318
(43) 공개일자 2018년04월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/48 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/48 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0130468
(22) 출원일자 2016년10월10일
심사청구일자 2016년10월10일

(71) 출원인
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)
(72) 발명자
조성일
광주광역시 서구 풍암2로 66, 202동 1204호 (풍암동,금호타운)
(74) 대리인
특허법인아이엠

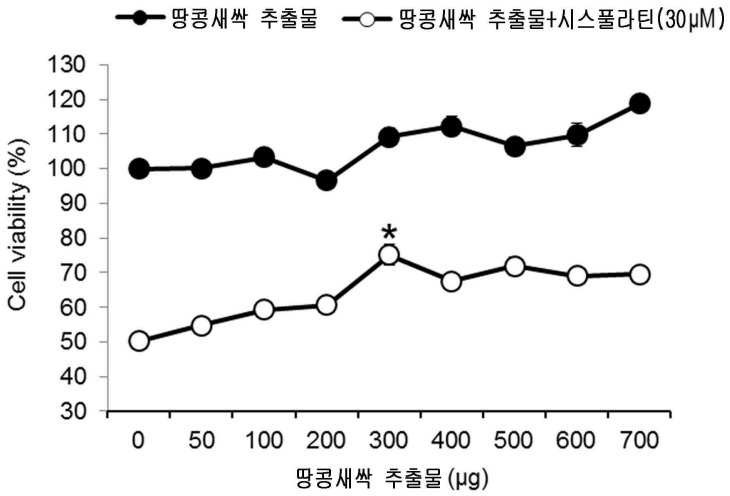
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 함유하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 포함하여 함암제 유발성 난청을 예방 또는 치료할 수 있는 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/30 (2013.01)
A23V 2250/21 (2013.01)
Y10S 514/956 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345241806
부처명 교육부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 이공학개인기초연구지원
연구과제명 Cisplatin 항암제 유발성 난청에 대한 자식작용 억제제의 보호 효과 규명
기 여 율 1/1
주관기관 조선대학교 산학협력단
연구기간 2015.11.01 ~ 2016.10.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 함유하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 함암제는

시스플라틴(Cisplatin)인 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 땅콩 새싹 추출물은

상기 시스플라틴 30μM을 기준으로 50μg 내지 600μg을 함유하는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 땅콩 새싹 추출물은

항산화 효소의 발현량을 증대시키는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 항산화 효소는

NQO1, HO1, GPx2, Gclc 또는 Catalase인 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 땅콩 새싹 추출물은

유기용매로 추출되는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 땅콩 새삭 추출물은 청신경 세포인 HEI-OC1 세포의 AKt/Nrf-2 패스웨이를 통해 항산화활성을 지니는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 함유하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 함암제는

시스플라틴(Cisplatin)인 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 땅콩 새싹 추출물은

상기 시스플라틴 30μM을 기준으로 50μg 내지 600μg을 함유하는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 11

제 10항에 있어서,

상기 땅콩 새싹 추출물은

항산화 효소의 발현량을 증대시키는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 항산화 효소는

NQO1, HO1, GPx2, Gclc 또는 Catalase인 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 땅콩 새싹 추출물은

유기용매로 추출되는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 땅콩 새싹 추출물은 청신경 세포인 HEI-OC1 세포의 AKt/Nrf-2 패스웨이를 통해 항산화활성을 지니는 것을 특징으로 하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 포함하여 함암제 유발성 난청을 예방 또는 치료할 수 있는 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 일반적으로, 시스플라틴(Cisplatin)은 고형 종양 치료를 위해 사용되고 있다.

[0004] 하지만, 이러한 시스플라틴은 난청이 발생되는 부작용을 지니고 있으며, 이로 인해 치료시 시스플라틴의 사용량이 제한되게 된다.

[0005] 한편, 난청의 예방 및 치료에 효과적인 물질을 찾기 위한 연구로서, 항산화제, N-메틸-D-아스파테이트 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 길항제, 세포사멸 억제제, 성장인자 등에 대한 연구가 보고되고 있으나, 한계가 있는 것으로 나타났다(Prasher D., Lancet, 352, pp1240-1242, 1998).

[0006] 또한, 최근까지 시스플라틴의 사용으로 인해 부작용으로 발생되는 난청의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물 및 식품 조성물은 보고된 바 없다.

[0007] 이러한 배경 하, 본 발명자들은 안전성이 우수한 천연물을 대상으로 시스플라틴 사용으로 인한 난청을 예방하거나 치료할 수 있는 다양한 활성물질들을 검색한 결과, 땅콩 새싹 추출물이 함암제 유발성 난청을 예방 또는 치료할 수 있는 효과를 나타내는 것을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 포함하여 함암제 유발성 난청을 예방 또는 치료할 수 있는 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 포함하여 함암제 유발성 난청을 예방 또는 개선시킬 수 있는 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 목적들은 이상에서 언급한 목적들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 목적들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기의 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 함유하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0015] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 함암제는 시스플라틴(Cisplatin)이다.

[0016] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새싹 추출물은 상기 시스플라틴 30㎛M을 기준으로 50㎍ 내지 600㎍을 함유한다.

[0017] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새싹 추출물은 항산화 효소의 발현량을 증대시킨다.

[0018] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 항산화 효소는 NQO1, HO1, GPx2, Gclc 또는 Catalase이다.

[0019] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새싹 추출물은 유기용매로 추출된다.

[0020] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새삭 추출물은 청신경 세포인 HEI-OC1 세포의 AKt/Nrf-2 패스웨이를 통해 항산화활성을 지닌다.

[0021] 또한, 본 발명은 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 함유하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 더 제공한다.

[0022] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 함암제는 시스플라틴(Cisplatin)이다.

[0023] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새싹 추출물은 상기 시스플라틴 30μM을 기준으로 50μg 내지 600μg을 함유한다.

[0024] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새싹 추출물은 항산화 효소의 발현량을 증대시킨다.

[0025] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 항산화 효소는 NQO1, HO1, GPx2, Gclc 또는 Catalase이다.

[0026] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새싹 추출물은 유기용매로 추출된다.

[0027] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 땅콩 새삭 추출물은 청신경 세포인 HEI-OC1 세포의 AKt/Nrf-2 패스웨이를 통해 항산화활성을 지닌다.

발명의 효과

[0029] 본 발명은 다음과 같은 우수한 효과를 가진다.

[0030] 본 발명의 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 의하면, 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 포함하여, 함암치료를 위한 시스플라틴 이용시에 시스플라틴에 의한 세포 독성으로부터 보호함으로써, 난청 부작용을 예방 또는 치료할 수 있는 장점을 지닌다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포와 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포생사판별시험(cell viability) 결과를 보여주는 그래프이다.

도 2는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포생사판별시험 결과를 보여주는 그래프이다.

도 3은 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포사멸 변화(Apoptotic exchange)를 관찰한 사진이다.

도 4는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포사멸율(Apoptosis rate)을 보여주는 그래프이다.

도 5는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 자멸사, 항자멸사 관련 마커의 발현량을 보여주는 결과이다.

도 6은 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 반응 산소 종(ROS) 분석결과이다.

도 7 내지 도 11은 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 항산화 효소 발현량을 비교한 결과로서, 도 7은 NQO1, 도 8은 HO1, 도 9는 GPx2, 도 10은 Gclc, 도 11은 Catalase의 mRNA level을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 본 발명에서 사용되는 용어는 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어를 선택하였으나, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있는데 이 경우에는 단순한 용어의 명칭이 아닌 발명의 상세한 설명 부분에 기재되거나 사용된 의미를 고려하여 그 의미가 파악되어야 할 것이다.

[0034] 이하, 첨부한 도면에 도시된 바람직한 실시예들을 참조하여 본 발명의 기술적 구성을 상세하게 설명한다.

[0035] 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화 될 수도 있다. 명세서 전체에 걸쳐 동일한 참조번호는 동일한 구성요소를 나타낸다.

[0037] 본 발명의 일 실시예에 따른 함암제에 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 함암제의 사용에 의해 발생되는 부작용인 난청을 예방 또는 치료를 위한 조성물로서, 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 함유한다.

[0038] 여기서, 상기 함암제는 시스플라틴(Cisplatin)일 수 있다.

[0039] 상기 땅콩 새싹 추출물은 땅콩 새싹의 건조 분말을 이용하여 유기 용매로 추출되어 제조되며, 상기 땅콩 새싹 추출물에 존재하는 유기 용매는 회전진공 농축기로 제거된다. 또한, 상기 유기 용매는 에탄올이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 바는 아니다.

[0040] 상기 땅콩 새싹 추출물은 청신경 세포의 항산화 효소 발현량을 증대시키며, 상기 항산화효소는 NQO1, HO1, GPx2, Gclc 또는 Catalase이다.

[0041] 또한, 상기 땅콩 새싹 추물물은 상기 시스플라틴 30μM을 기준으로 50μg 내지 600μg을 함유하는 것이 바람직하다.

[0042] 그 이유는 상기 시스플라틴 30μM을 기준으로, 상기 땅콩 새싹 추출물이 50μg 미만일 경우에는 청신경 세포의 보호 효과가 미미하고, 상기 땅콩 새싹 추출물이 600μg을 초과할 경우에는 일정 수준 이상 청신경 세포의 보호 효과가 증진되지 않기 때문이다.

[0043] 즉, 본 발명에 따른 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 항암 치료를 위해 시스플라틴 이용시에, 청신경 세포인 HEI-OC1 세포의 AKt/Nrf-2 패스웨이를 통해 항산화 효소의 발현량을 극대화 시킴으로써, 시스프라틴에 의한 세포독성으로부터 청신경 세포를 보호하는 효능을 지닌다.

[0044] 이러한 효능에 의해, 시스플라틴 이용으로 인한 난청 부작용을 예방 또는 치료할 수 있는 장점을 지닌다.

[0045] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며, 통상의 방법에 따라 액제, 현탁액, 등의 제형으로 제제화될 수 있다. 상기 약학적으로 허용가능한 담체는 인산 완충 식염수(phosphate buffered saline), 정제수, 멸균수 등의 수성 희석제 혹은 용제를 포함하며, 프로필렌글리콜(propylene glycol), 올리브 오일 등의 비수성 희석제 혹은 용제를 포함한다. 또한, 필요에 따라 습윤제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다. 상기 약학 조성물에 함유되는 땅콩 새싹 추출물은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0046] 또한, 본 발명은 땅콩 새싹 추출물을 유효성분으로 함유하는 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0047] 한편, 상기 함암제 및 상기 땅콩 새싹 추출물은 전술한 바와 동일하므로 중복되는 설명은 생략한다.

[0048] 또한, 본 발명의 식품 조성물에 포함되는 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸컬릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함하는 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0050] [제조 예] 본 발명의 땅콩새싹 추출물 제조

[0051] 땅콩 새싹을 물로 깨끗이 세척하여 이물질을 제거한 후, 스팀을 가하여 냉각시켰다.

[0052] 이후, 땅콩 새싹을 동결건조하였으며, 동결 건조된 땅콩 새싹을 에탄올을 유기용매로 이용하여 60℃의 온도에서 90분 동안 추출한 후, 에탄올을 회전진공 농축기로 제거하여, 땅콩 새싹추출물을 수득하였다.

[0054] [실험예 1]

[0055] 본 실험에서는 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포와 땅콩새싹 추출물로 전처리 된 후, 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포생사판별시험을 수행하였다.

[0056] 이를 위해, 본 실험에서는 청신경 세포로 The House Ear Institute-Organ of Corti 1 (HEI-OC1)를 이용하였으며, 통상의 방법으로 배양하였다.

[0057] 다음, 청신경 세포를 땅콩새싹 추출물에 24시간 노출되게 하였다.

[0058] 또한, 준비된 청신경 세포를 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700㎍의 땅콩새싹 추출물로 2시간동안 전처리하였으며, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 청신경 세포를 시스플라틴에 24시간 노출되게 하였다.

[0059] 이때, 시스플라틴은 30㎛M로 사용되었다.

[0060] 이후, 통상의 MTT Assay를 수행하였으며, 그 결과를 도 1에 도시하였다.

[0061] 도 1을 참조하면, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포의 경우, 땅콩새싹 추출물이 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700㎍일 때, 각각 100.0 ± 1.2%, 103.3 ± 0.9%, 96.5 ± 0.2%, 109.2 ± 2.5%, 112.2 ± 2.9%, 106.5 ± 0.4%, 109.7 ± 3.4%, 118.8 ± 1.5%의 생존률을 보였다.

[0062] 또한, 땅콩새싹 추출물로 전처리 된 후, 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 경우, 땅콩새싹 추출물이 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700㎍일 때, 각각 54.7 ± 1.0%, 59.2 ± 1.2%, 60.6 ± 1.1%, 75.1 ± 3.0%, 67.6 ± 0.7%, 71.8 ± 2.6%, 69.1 ± 2.4%, and 69.6 ± 1.4%의 생존률을 보였다.

[0063] 이는 본 발명에 따른 땅콩새싹 추출물이 세포 세포독성에 영향을 미치지 않는 것을 의미한다.

[0064] 또한, 땅콩 새싹 추물물은 시스플라틴 30㎛M을 기준으로 50㎍ 내지 600㎍을 함유하는 것이 유효한 범위임을 보여준다.

[0065] 그 이유는 시스플라틴 30㎛M을 기준으로, 상기 땅콩 새싹 추출물이 50㎍ 미만일 경우에는 청신경 세포의 보호 효과가 미미하고, 상기 땅콩 새싹 추출물이 600㎍을 초과할 경우에는 일정 수준 이상 청신경 세포의 보호 효과가 증진되지 않기 때문이다.

[0067] [실험예 2]

[0068] 본 실험에서는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포생사판별시험을 수행하였다.

[0069] 이를 위해, 본 실험에서는 청신경 세포로 The House Ear Institute-Organ of Corti 1 (HEI-OC1)를 이용하였으며, 통상의 방법으로 배양하였다.

[0070] 이후, 준비된 청신경 세포를 30㎛M의 시스플라틴으로 처리한 시스플라틴 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300㎍의 땅콩새싹 추출물로 처리한 땅콩새싹 추출물 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300㎍의 땅콩새싹 추출물로 전 처리한 후, 30㎛M의 시스플라틴으로 처리한 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포를 각각 수득하였다.

[0071] 이후, 통상의 MTT Assay를 수행하였으며, 그 결과를 도 2에 도시하였다.

[0072] 도 2를 참조하면, 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포는 시스플라틴 처리 청신경 세포에 비해, 세포 생존률이 월등히 증진한 것을 확인할 수 있었다.

[0074] [실험예 3]

[0075] 본 실험에서는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포생사판별시험을 수행하였다.

[0076] 이를 위해, 본 실험에서는 실험예 2와 동일한 조건으로 청신경 세포를 준비하였으며, 준비된 청신경 세포를 30

μM의 시스플라틴으로 처리한 시스플라틴 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 처리한 땅콩새싹 추출물 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 전 처리한 후, 30μM의 시스플라틴으로 처리한 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포를 각각 수득하였다.

[0077] 이후, 통상의 방법으로 Hoechst 33258 및 propidium iodide(PI)의 더블 염색을 수행하였으며, 그 결과를 도 3에 도시하였다.

[0078] 도 3을 참조하면, 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포는 시스플라틴 처리 청신경 세포에 비해, 사멸된 세포의 양이 월등히 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0080] [실험예 4]

[0081] 본 실험에서는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 세포사멸율(Apoptosis rate)을 분석하였다.

[0082] 이를 위해, 본 실험에서는 실험예 2와 동일한 조건으로 청신경 세포를 준비하였으며, 준비된 청신경 세포를 30μM의 시스플라틴으로 처리한 시스플라틴 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 처리한 땅콩새싹 추출물 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 전 처리한 후, 30μM의 시스플라틴으로 처리한 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포를 각각 수득하였다.

[0083] 이후, 통상의 방법으로 세포사멸율 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 4에 도시하였다.

[0084] 도 4를 참조하면, 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포는 시스플라틴 처리 청신경 세포에 비해, 세포 사멸율이 월등히 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0086] [실험예 5]

[0087] 본 실험에서는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 자멸사, 항자멸사 관련 마커의 발현량을 분석하였다.

[0088] 이를 위해, 본 실험에서는 실험예 2와 동일한 조건으로 청신경 세포를 준비하였으며, 준비된 청신경 세포를 30μM의 시스플라틴으로 처리한 시스플라틴 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 처리한 땅콩새싹 추출물 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 전 처리한 후, 30μM의 시스플라틴으로 처리한 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포를 각각 수득하였다.

[0089] 이후, 통상의 방법으로 웨스턴 블랏(western blot) 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 5에 도시하였다.

[0090] 도 5를 참조하면, 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포는 시스플라틴 처리 청신경 세포에 비해, 자멸사 관련 마커(Cleaved caspase-3, cleaved PARP)의 발현량을 감소되고, 항자멸사 관련 마커(Bcl-2)의 발현량은 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[0092] [실험예 6]

[0093] 본 실험에서는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 반응 산소 종(ROS) 분석을 수행하였다.

[0094] 이를 위해, 본 실험에서는 실험예 2와 동일한 조건으로 청신경 세포를 준비하였으며, 준비된 청신경 세포를 30μM의 시스플라틴으로 처리한 시스플라틴 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 처리한 땅콩새싹 추출물 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300μg의 땅콩새싹 추출물로 전 처리한 후, 30μM의 시스플라틴으로 처리한 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포를 각각 수득하였다.

[0095] 이후, 통상의 방법으로 반응 산소 종(ROS) 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 6에 도시하였다.

[0096] 도 6를 참조하면, 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포는 시스플라틴 처리 청신경 세포에 비해, 활성산소가 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0098] [실험예 7]

[0099] 본 실험에서는 시스플라틴이 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 처리된 청신경 세포, 땅콩새싹 추출물로 전처리된 후 시스플라틴이 처리된 청신경 세포의 항산화 효소 발현량 분석을 수행하였다.

[0100] 이를 위해, 본 실험에서는 실험예 2와 동일한 조건으로 청신경 세포를 준비하였으며, 준비된 청신경 세포를 30 μM의 시스플라틴으로 처리한 시스플라틴 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300 μg의 땅콩새싹 추출물로 처리한 땅콩새싹 추출물 처리 청신경 세포, 청신경 세포를 300 μg의 땅콩새싹 추출물로 전 처리한 후, 30 μM의 시스플라틴으로 처리한 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포를 각각 수득하였다.

[0101] 이후, 통상의 방법으로 mRNA 레벨에서의 RT-PCR 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 7 내지 도 11에 도시하였다.

[0102] 도 7의 경우 대상 항산화 효소가 NQO1, 도 8은 HO1, 도 9는 GPx2, 도 10은 Gclc, 도 11은 Catalase이다.

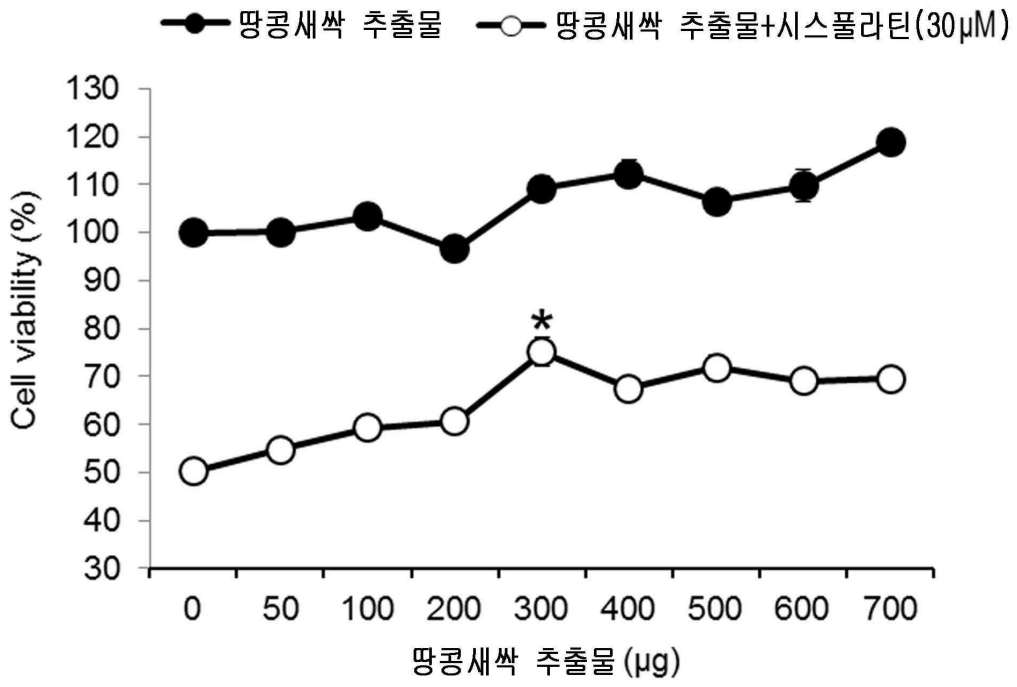
[0103] 도 7 내지 도 11을 참조하면, 땅콩새싹추출물 및 시스플라틴 처리 청신경 세포는 시스플라틴 처리 청신경 세포에 비해, 모든 항산화 효소의 발현량이 획기적으로 증대되는 것을 확인할 수 있었다.

[0104] 상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 함암제 유발성 난청의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 함암제 유발성 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물은, 함암치료를 위한 시스프라틴 이용시, 청신경 세포인 HEI-OC1 세포의 AKt/Nrf-2 패스웨이를 통해 항산화 효소의 활성을 극대화화 시킴으로써, 시스프라틴에 의한 세포독성으로부터 청신경 세포를 보호하여, 난청을 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 장점을 지닌다.

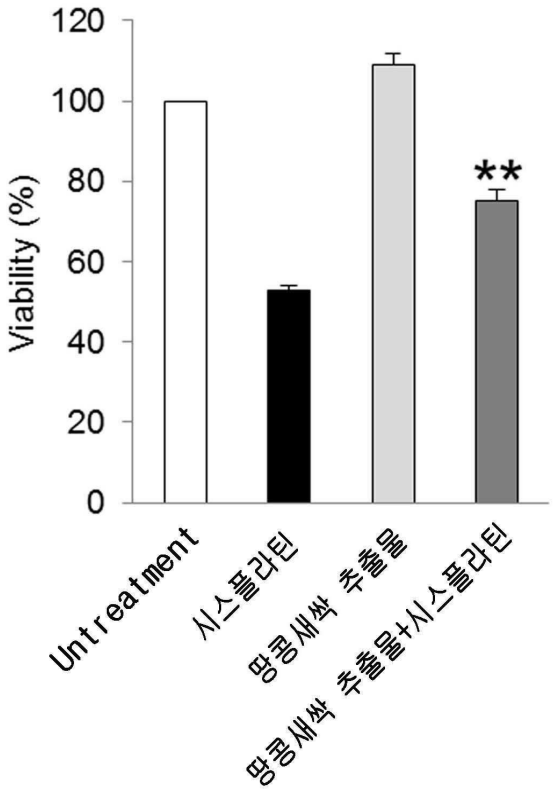
[0105] 이상에서 살펴본 바와 같이 본 발명은 바람직한 실시예를 들어 도시하고 설명하였으나, 상기한 실시예에 한정되지 아니하며 본 발명의 정신을 벗어나지 않는 범위 내에서 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 다양한 변경과 수정이 가능할 것이다.

도면

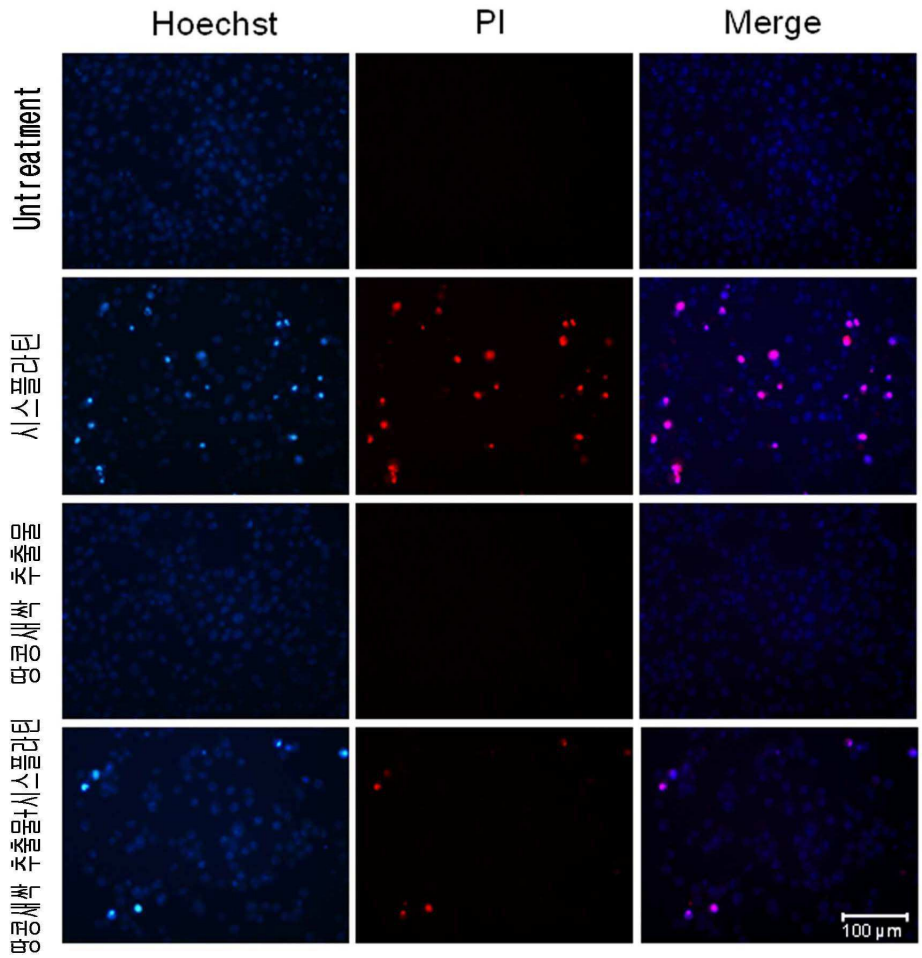
도면1



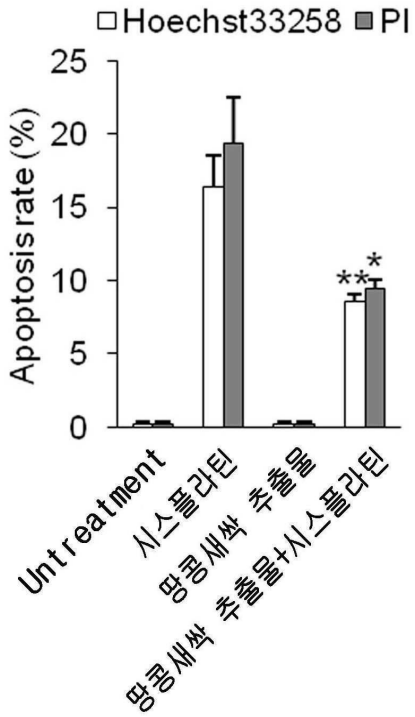
도면2


120
100
80
60
40
20
0
Viability (%)
**
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

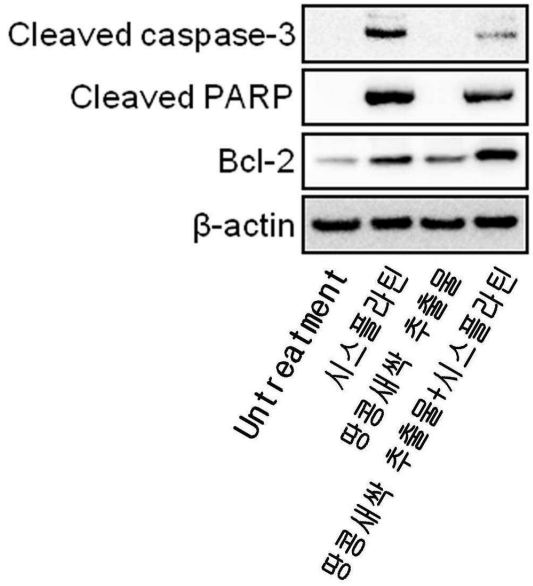
도면3


Hoechst
PI
Merge
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴
100 μm

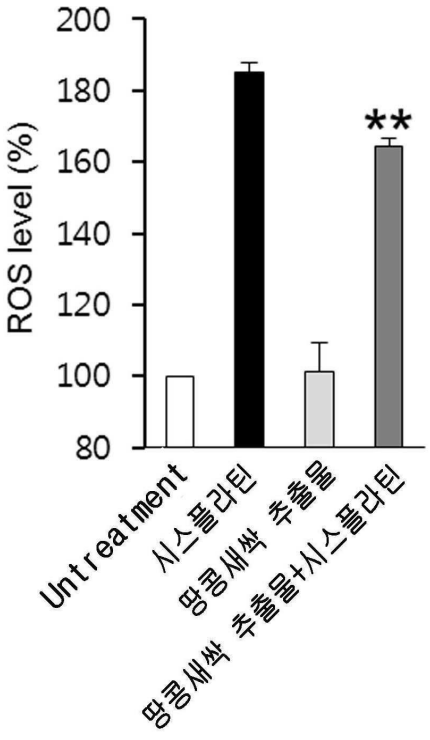
도면4


Hoechst33258
PI
Apoptosis rate (%)
25
20
15
10
5
0
**
*
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

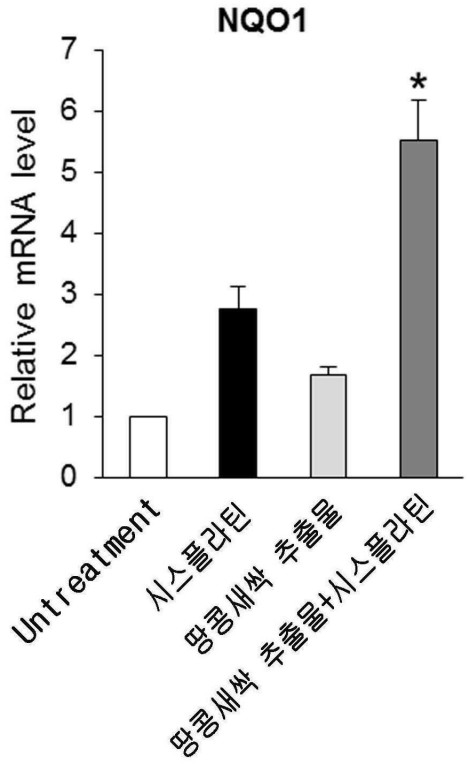
도면5


Cleaved caspase-3
Cleaved PARP
Bcl-2
β-actin
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

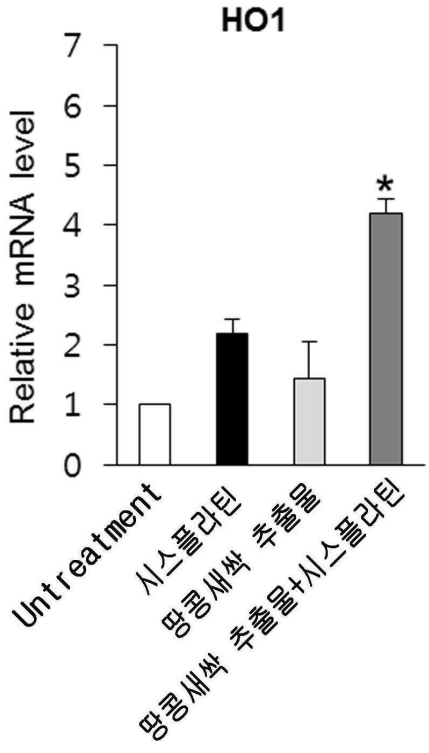
도면6


ROS level (%)
200
180
160
140
120
100
80
**
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

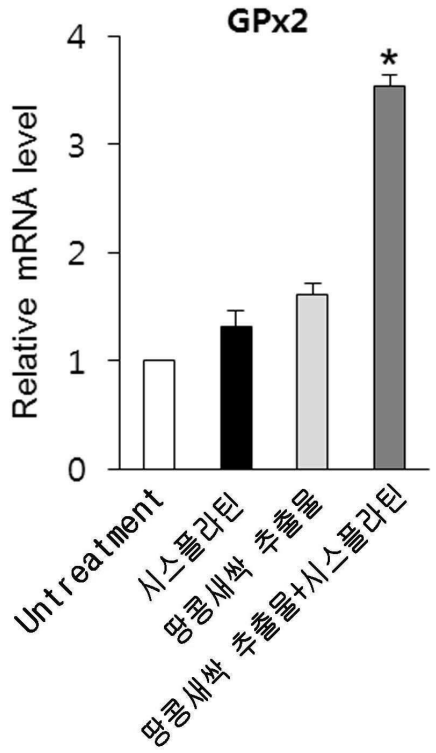
도면7


NQO1
Relative mRNA level
0
1
2
3
4
5
6
7
*
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

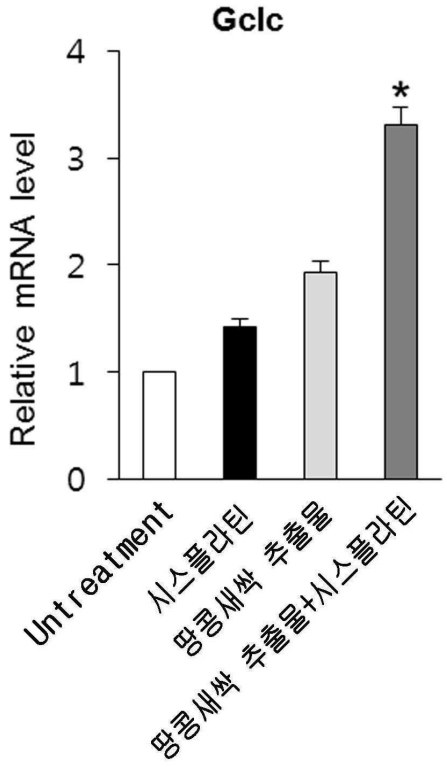
도면8


HO1
Relative mRNA level
0
1
2
3
4
5
6
7
*
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

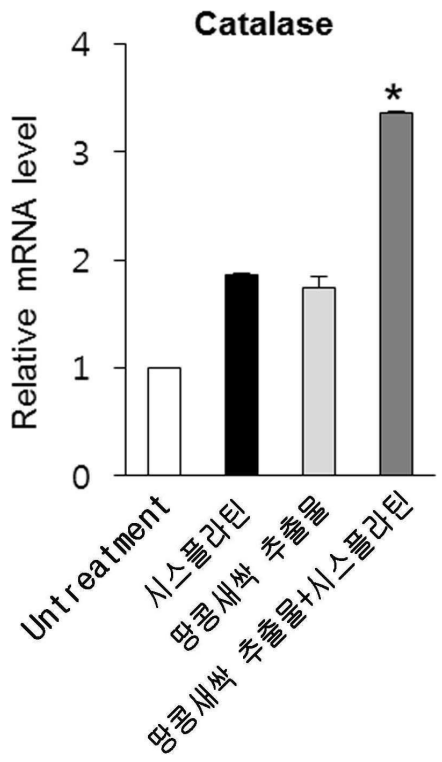
도면9


GPx2
Relative mRNA level
0
1
2
3
4
*
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

도면10


Gclc
Relative mRNA level
0
1
2
3
4
*
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴

도면11


Catalase
Relative mRNA level
0
1
2
3
4
*
Untreatment
시스플라틴
땅콩새싹 추출물
땅콩새싹 추출물+시스플라틴