(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0094937
(43) 공개일자 2015년08월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/704 (2006.01) *A61K 36/70* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0015862
(22) 출원일자 2014년02월12일
심사청구일자 2014년02월12일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
허성오
강원도 춘천시 삭주로 89-7, 106동 107호 (후평동, 엘리트아파트)
양해걸
강원도 춘천시 한림대학길 1 (옥천동) 한림대학교 의과대학 약리학교실
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
강성혜

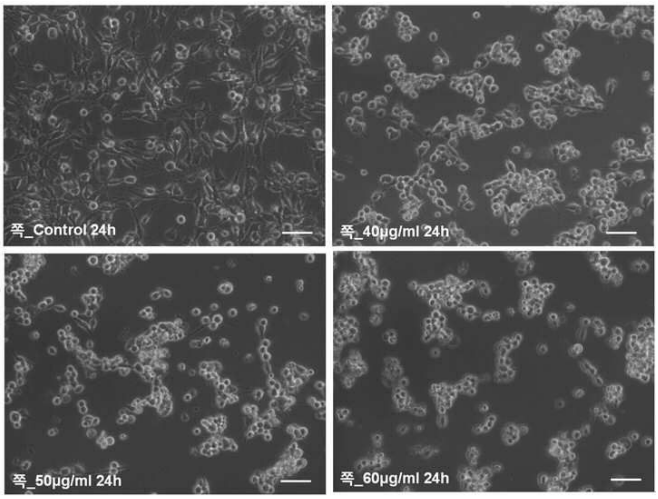
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **여뀌속 식물 추출물을 포함하는 뇌종양 예방용 약학 조성물 및 건강 기능성 식품 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 쪽(*Persicaria tinctorium*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 뇌종양 예방용 약학 조성물 및 이를 포함하는 건강 기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

권영휘

강원도 춘천시 한림대학길 1 (옥천동) 한림대학교 의과대학 약리학교실

아타우르라만

강원도 춘천시 한림대학길 1 (옥천동) 한림대학교 의과대학 약리학교실

임순성

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

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 B0008864

부처명 산업통상자원부

연구관리전문기관 한국산업기술진흥원

연구사업명 지역혁신센터사업(RIC)

연구과제명 천연추출물을 이용한 신경종양세포의 증식 억제효능에 대한 분자생물학적 기전 연구 및 새로운 항암기능성 식품 소재의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2013.03.01 ~ 2014.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

여뀌속 식물 (*Persicaria sp.*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 뇌종양 예방용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 여뀌속 식물은 산여뀌 (*Persicaria nepalensis*), 세뿔여뀌 (*Persicaria debilis*) 및 쪽 (*Persicaria tinctoria*)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상임을 특징으로 하는 뇌종양 예방용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 쪽은 쪽의 꽃임을 특징으로 하는 뇌종양 예방용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 여뀌속 식물 추출물은 물 또는 탄소수 1 내지 5의 알코올로 추출하여 얻어진 것임을 특징으로 하는 뇌종양 예방용 약학 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 조성물은 뇌신경 종양세포의 세포사멸 유도제임을 특징으로 하는 뇌종양 예방용 약학 조성물.

청구항 6

여뀌속 식물 (*Persicaria sp.*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 뇌종양 예방용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 쪽(*Persicaria tinctorium*) 마디풀과 여뀌속 식물의 추출물을 유효성분으로 함유하는 뇌종양세포의 세포사멸 유도제 또는 뇌종양 예방 및 이를 포함하는 건강 기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 생명체의 기본특징은 생명체의 구성원인 세포들이 유한한 생명을 갖고 태어나 성장 및 분화를 거쳐 사멸을 하는데 이때, 성장과 분화 및 사멸과정이 정확하게 조절됨으로써 정상적인 생명을 유지한다.

[0003] 아폽토시스(apoptosis)는 개체의 생명의 질을 향상시키려는 능동적이고 계획된 지속적인 사멸과정으로서 1형 프로그램된 세포사멸 (type I programmed cell death; PCD)로 분류되며, 세포막의 물집형성(blebbing) 현상, 세포질의 응축(chromatin condensation), DNA의 절편화(fragmentation) 등을 특징으로 한다. 예기치 않은 외부의 자극으로 인해 세포가 급팽창해 파괴되면서 주변 조직에 염증을 일으키는 괴사(necrosis)와 달리 아폽토시스는 정해진 프로그램을 따라 질서정연하게 세포질 및 염색질이 수축하여 식세포의 식작용에 의해 제거되므로 주위에 염증 반응을 일으키지 않는다. 이 과정을 통하여 각 기관의 기능적 성숙, 재생, 발달적 선택 및 항상성 유지뿐만 아니라 암, 감염성 질환, 중추신경계통의 퇴행성 질환 등 여러 질환의 병인을 조절한다.

[0004] 아폽토시스는 미토콘드리아 막의 투과성 증대로부터 시작되어 캐스페이즈-9(caspase-9)을 통해 유도되는 내인성

경로(intrinsic pathway)와 세포 외부의 자극으로부터 사멸 수용체(death receptor; DR)가 활성화됨으로써 캐스페이즈-8(caspase-8)을 통해 유도되는 외인성 경로(extrinsic pathway)로 크게 구분된다. 사멸 수용체에 의한 아폽토시스는 사멸도메인과 캐스페이즈-8과 캐스페이즈-3 등을 연속적으로 모집하여 유발된다. 이와 대조적으로, 화학적으로 유도된 아폽토시스는 캐스페이즈-8에 의한 Bid 절단을 수반한다. 그것에 의하여 미토콘드리아로부터 사이토크롬 C를 방출시키게 되며, 방출된 사이토크롬 C는 Apaf-1과 결합하여 dATP 존재 하에서 캐스페이즈-9를 활성화시킨다. 활성화된 캐스페이즈-9는 다수의 단백질을 절단시키는 캐스페이즈-3과 같은 하류 효과기 캐스페이즈(downstream effector caspase)를 활성화시켜 아폽토시스를 유발하게 한다. 사이토크롬 C의 방출은 또한 캐스페이즈-8 의존적으로 나타나는 과정이 없이, Bax 단백질에 의해 미토콘드리아를 직접적으로 자극하여 아폽토시스가 이루어지기도 한다.

[0005] 종양의 발생과 진행에서 아폽토시스와의 관계에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는 현재, 이미 밝혀진 설포라판(sulforaphane), 파클리탁셀(paclitaxel), 캠토데신(camptothecin), 7-하이드록시스타우로스포린(7-hydroxystaurosporine; UCN-01)과 같은 대부분의 항암제는 아폽토시스에 의한 세포사멸을 유도한다. 이에 따라서 암세포에 효율적으로 아폽토시스를 일으키는 물질을 탐색하고 그 기전을 밝히는 것이 새로운 암 치료제를 개발하는데 기본적인 과정이 되어 왔다. 하지만 현재 사용되고 있는 항암제들은 인체에 대한 독성과 다양한 부작용들을 내포하고 있어 사용하는데 한계가 있으므로 새로운 항암제를 찾으려는 노력이 계속되고 있으며, 그 대안으로서 식용 식물이나 한약재에서 추출한 물질들이 새로이 각광받고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 부작용이 적은 천연물을 이용한 뇌종양 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공하려는 것이다.

[0007] 또한, 본 발명의 목적은 부작용이 적은 천연물을 이용한 뇌종양 예방에 유용한 건강 기능성 식품을 제공하려는 것이다.

[0008] 본 발명자들은 쪽(*Persicaria tinctorium*) 추출물의 유효성분이 뇌종양세포에 대한 여러 가지 지표에 미치는 영향을 분석하여 뇌종양의 예방효과를 나타냄을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명자들은 쪽(*Persicaria tinctorium*) 추출물을 뇌종양 세포주(B103 neuroblastoma cell)에 처리한 다음 24시간 후 광학현미경 하에서의 세포주 형태 변화와 뇌종양 세포주의 성장억제 및 세포독성을 관찰하기 위하여 CCK-8 분석을 수행하여 뇌종양세포의 성장억제효과를 측정 규명함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0010] 본 발명은 여뀌속 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 뇌종양 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기 여뀌속 식물이 쪽(*Persicaria tinctorium*)임을 특징으로 하는 뇌종양 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 쪽이 쪽의 꽃임을 특징으로 하는 뇌종양 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 여뀌속 식물 추출물이 물 및 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매를 가하여 수용액 상에서 추출된 것임을 특징으로 하는 뇌종양 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0014] 이하, 본 발명의 구성을 좀 더 상세히 설명한다.

[0015] 쪽(*Persicaria tinctorium*)은 쌍떡잎식물 마디풀과 여뀌속의 일년생 풀이다. 줄기 높이는 50~60㎝이며 붉은빛이 강한 자주색을 띤다. 잎은 호생이고 긴 타원 모양이며 양끝이 좁고 가장자리가 밋밋하다. 잎자루는 짧고, 턱잎은 잎집 모양이며 막질(얇은 종이처럼 반투명한 것)이고 가장자리에 털이 있다. 꽃은 8~9월에 붉은 색으로 피고 줄기 윗부분 잎겨드랑이와 줄기 끝에 수상꽃차례를 이루며 빽빽이 달린다. 꽃잎은 없고, 꽃받침은 길이가 5개로 깊게 갈라지고 갈라진 조각은 계란을 거꾸로 세운 모양이다. 수술은 6~8개이고 꽃받침보다 짧으며 꽃밥은 연한 붉은 색이다. 씨방은 계란모양의 타원형이고 끝에 3개의 암술대가 있다. 열매는 수과이고 꽃받침에 싸여 있으며

세모난 계란 모양이고 길이가 2㎜ 정도이며 검은빛이 도는 갈색이다. 잎은 인디고를 지니고 있어 남색의 염료로 사용한다. 원산지는 중국으로, 과거에는 염료 자원으로 재배하였다. 여뀌속에 속하는 식물로는 산여뀌(*Persicaria nepalensis*), 세뿔여뀌(*Persicaria debilis*), 쪽(*Persicaria tinctoria*) 등이 있으며, 본 발명의 구체예에서는 쪽(*Persicaria tinctoria*)을 사용하였다.

[0016] 본 발명의 마디풀과 여뀌속 식물 추출물은 식물 전체를 추출하여 얻어진 것이거나, 식물 일부(뿌리, 잎, 꽃, 줄기, 열매 등), 예컨대 식물의 지상부(잎, 꽃 줄기, 열매), 바람직하게는 꽃을 추출하여 얻어진 것일 수 있다. 지금까지 쪽 꽃 추출물에 대한 뇌종양 예방효과에 대해서는 알려진 바가 없다. 특히, 본 발명에 따른 쪽 식물 추출물은 다른 유효성분과 병용되지 않고 단독으로 사용되는 경우에도 충분한 뇌종양 예방효과를 얻을 수 있다.

[0017] 본 발명에서 사용 가능한 여뀌속 식물은 산여뀌(*Persicaria nepalensis*), 세뿔여뀌(*Persicaria debilis*), 쪽(*Persicaria tinctoria*)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것일 수 있다.

[0018] 상기 여뀌속 식물 추출물은 식물의 꽃을 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 것일 수 있다.

[0019] 구체예에 있어서, 상기 쪽 꽃 추출물은 쪽 꽃을 50 내지 99.9%(v/v)의 탄소수 1 내지 5의 알코올, 바람직하게는 70 내지 99%의 메탄올로 추출하여 얻어진 것일 수 있다.

[0020] 본 발명의 구체예에서는 쪽(*Persicaria tinctorium*)의 꽃을 70 내지 90%의 메탄올로 추출하여 얻어진 추출물을 사용하였으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0021] 여뀌속 식물 내의 유효성분이 충분히 추출될 수 있도록, 상기 추출용매의 사용량은 여뀌속 식물 중량 기준으로 약 5 내지 20배, 바람직하게는 약 7 내지 15배일 수 있으며, 추출 온도는 50 내지 100℃, 바람직하게는 60 내지 80℃ 범위로 하고, 추출 시간은 1 내지 10 시간, 바람직하게는 1 내지 5시간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 본 발명의 조성물은 유효성분인 여뀌속 식물의 추출물 외에, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 중진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다. 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다. 상기 추가성분의 함량은 바람직하게는 상기 쪽의 추출물 100 중량부 당 0.01 내지 100 중량부 범위에서 추가할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 상기 조성물 내의 상기 쪽의 추출물의 함량은 질환의 증상, 증상의 정도, 환자의 상태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.0001 내지 99.9중량%, 바람직하게는 0.001 내지 50중량%인 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.

[0024] 상기 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있으며, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0025] 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 적어도 한 가지 이상의 부형제 및/또는 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다.

[0026] 상기 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 보다 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물의 투여량은 유효성분을 기준으로 1일 1 mg/kg 내지 100 mg/kg으로 하는 것이 좋으나 이에 제한되는 것은 아니다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 조성물은 동물, 바람직하게는 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육, 피하주사 등에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물의 약학적 투여 형태는 유효성분의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명의 또 다른 예에서, 상기 여뀌속 식물 추출물을 포함하는 뇌종양 예방 및 개선용 건강기능성 식품 조성

물이 제공된다.

[0028] 본 발명에서 식품은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 각종 식품, 건강기능 식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의미로 사용된다. 상기 식품의 예로서 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스넥류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과실,채소류 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 건강기능식품, 음료, 식품첨가제 또는 음료첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0029] 상기 식품 조성물은 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0030] 또한, 상기 식품에 있어서, 상기 쪽 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 상기 식품이 음료인 경우에는 식품 전체의 부피 100 ㎖를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0031] 본 발명은 뇌종양 예방용 조성물에 관한 것으로 쪽 꽃 추출물을 이용한 뇌종양 예방효과를 얻는 것을 그 특징으로 하며 이는 천연물에서 유래한 뇌종양 예방제 조성물이라는 측면에서 그 의의가 있으며 이를 적극적으로 활용할 경우 다양한 질병에 대한 항암제 조성물로서 널리 활용될 수 있으며 나아가 국민 건강에 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 다양한 농도의 쪽 꽃 추출물이 뇌종양 세포주 B103에 미치는 영향을 나타내는 도면이다.

도 2는 뇌종양 세포주에서 농도-의존적으로 처리한 쪽 꽃 추출물의 세포 독성 효과를 나타내는 그래프이다.

도 3은 쪽 꽃 추출물을 뇌종양 세포주에 처리한 후, 세포 내에서 세포질 내로의 미토콘드리아 사이토크롬 c방출과 캐스페이즈-3 및 β-액틴의 발현 양상을 웨스턴 블랏 분석결과로 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 이하, 구체적인 실시예를 통하여 본 발명의 구성을 좀 더 자세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 대표적으로 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[0034] **실시예 1: 실험재료의 준비**

[0035] 1-1. 실험재료

[0036] ECL 웨스턴 킷트는 Amersham (Arlington Height, IL, USA)에서 구입하였다. Immobilon-P 멤브레인은 Millipore Corporation (Bedford, MA, USA)에서 구입하였다. 항-사이토크롬 c, 항-캐스페이즈-3와 항-β-액틴 항체는 Cell Signaling (Beverly, MA, USA)에서 구입하였다. CCK-8 킷트는 Dojindo Molecular Technologies (Maryland, USA)에서 구입하였다.

[0037] 1-2. 쪽 꽃 추출물의 제조

[0038] 쪽 (*Persicaria tinctorium*)의 꽃 부분을 건조시킨 후, 건조된 쪽 꽃 100g에 상기 중량 기준으로 10배 (v/v)의 70% (v/v) 메탄올을 가하고, 70 ℃에서 세 시간 동안 추출한 다음, 이를 여과하여 쪽 꽃 추출액을 얻었다. 상기 추출 과정을 2회 반복하여 얻어진 추출액을 40 ℃ 이하에서 감압 농축한 후 이를 동결건조하여 분말상의 추출물

을 얻었다.

[0039] 1-3. 세포배양

[0040] 뇌종양 세포주인 B103 신경아세포종 세포는 ATCC로부터 구입하였으며 세포는 10% FBS, 50 U/㎖ 페니실린, 50 ㎎/ℓ 스트렙토마이신을 첨가한 DMEM 배지 (Gibco Life Technology, USA)에서 5% CO_2를 포함하는 37 ℃ 조건에서 배양하였다.

[0041] 1-4. 세포독성 측정

[0042] 뇌종양 세포주인 B103 신경아세포종 세포에 대한 쪽 꽃 추출물의 세포독성을 조사하기 위해 세포 생존율을 CCK-8 측정법으로 측정하였다. 먼저 B103 세포를 96-웰 플레이트에 웰당 5×10^4 농도로 분주한 후 쪽 꽃 추출물을 다양한 농도로 24시간 동안 처리하였다. 그 후 각 웰에 10 ㎕의 CCK-8 용액을 첨가하고 세 시간 동안 배양한 후 450 ㎚의 흡광도 값을 측정하였다.

[0043] **실시예 2: 쪽 꽃 추출물에 의한 뇌종양 세포의 형태 변화**

[0044] 상기 실시예 1에서 제조된 쪽 꽃 추출물을 뇌종양 세포주 B103에 40, 50, 60 ㎍/㎖ 의 농도로 24시간 처리한 후 세포의 형태 변화를 광학현미경으로 관찰하였다. 대조군은 쪽 꽃 추출물 대신에 DMSO를 동량 처리하여 실험하였다.

[0045] 상기 실험 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1은 농도-의존적으로 쪽 꽃 추출물 처리에 따른 형태 변화를 대조군과 비교하여 보여주는 사진이다. 도 1과 같이, 쪽 꽃 추출물 처리군은 대조군과 비교하였을 때 농도 의존적으로 확연한 형태 변화가 일어났다. 즉, 쪽 꽃 추출물 처리군에서는 전체적인 세포 수가 감소하였을 뿐만 아니라 그 형태가 응축되어 있고, 불규칙적인 형태를 가지면서 세포사멸이 나타난 것을 관찰할 수 있다.

[0046] **실시예 3: 쪽 꽃 추출물 처리에 의한 세포 생존율 변화**

[0047] 상기 실시예 1에서 제조된 쪽 꽃 추출물의 뇌종양 세포주 B103에 대한 세포독성을 조사하기 위하여 CCK-8 분석 방법을 이용하였다. 쪽 꽃 추출물을 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70㎍/㎖ 의 농도로 각각 B103 세포주에 24시간 처리한 후 세포독성을 측정하였다. 대조군은 쪽 꽃 추출물 대신에 DMSO를 동량 처리하여 실험하였다.

[0048] 상기 실험 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2는 쪽 꽃 추출물을 각각 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70㎍/㎖으로 처리하였을 때의 세포생존율을 나타낸 것이다. 도 2와 같이, 쪽 꽃 추출물은 강력한 세포독성을 나타냄을 확인하였다.

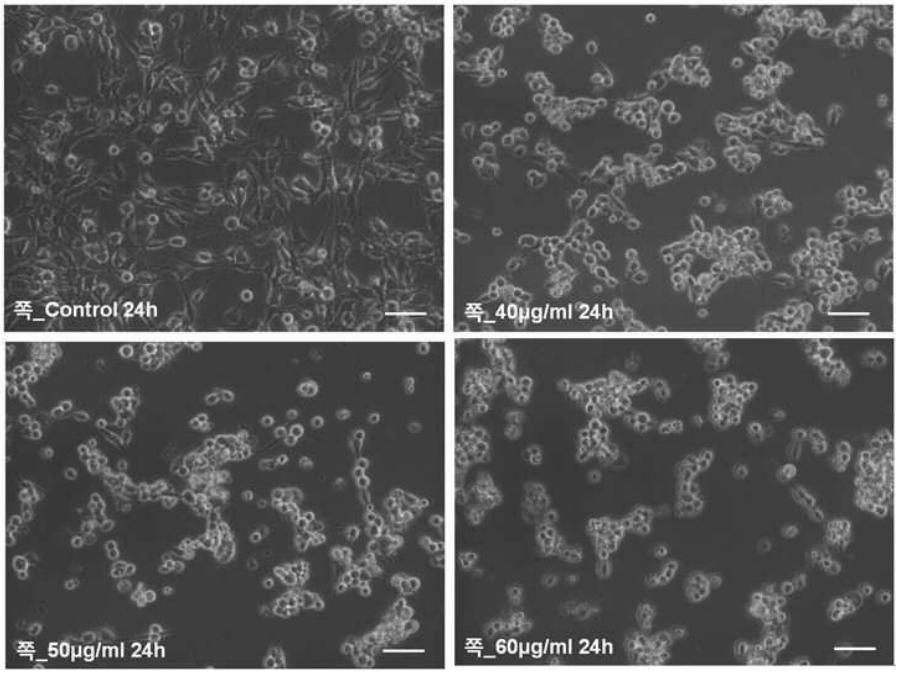
[0049] **실시예 4: 쪽 꽃 추출물에 의해 유도되는 세포사멸에 관여하는 미토콘드리아 사이토크롬 C 방출 및 캐스페이즈의 활성화**

[0050] 쪽 꽃 추출물에 의해 유도되는 아폽토시스 기전을 이해하기 위해, 쪽 꽃 추출물에 의해 유도되는 아폽토시스에 미토콘드리아 사이토크롬 c 방출과 캐스페이즈 활성화가 수반되는지를 웨스턴 블랏으로 분석하였다.

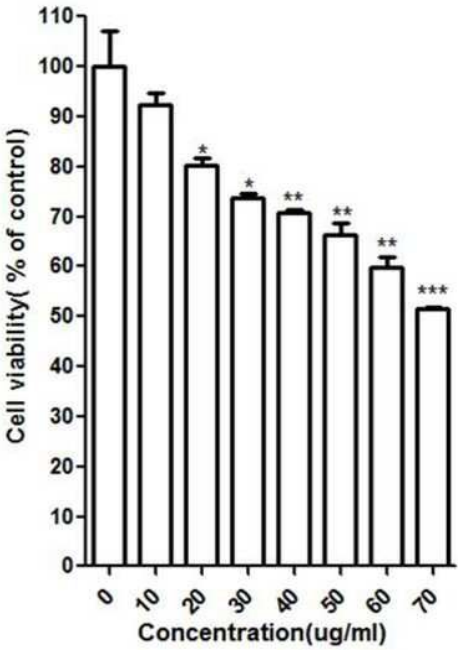
[0051] 상기 실험 결과를 도 3에 나타내었다. 쪽 꽃 추출물을 농도 의존적으로 처리한 결과 미토콘드리아 사이토크롬 c 방출이 증가하였으며, 캐스페이즈-3의 활성화가 농도-의존적으로 증가하는 것으로 확인되었다.

도면

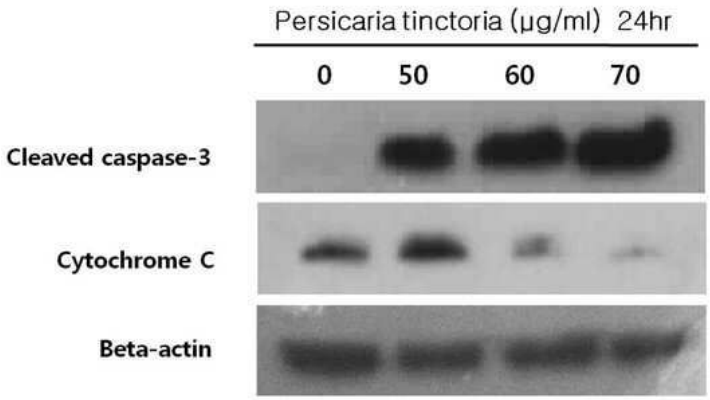
도면1


쪽_Control 24h
쪽_40μg/ml 24h
쪽_50μg/ml 24h
쪽_60μg/ml 24h

도면2


Cell viability(% of control)
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
*
*
**
**
**
***
0
10
20
30
40
50
60
70
Concentration(ug/ml)

도면3


Persicaria tinctoria (μg/ml) 24hr
0
50
60
70
Cleaved caspase-3
Cytochrome C
Beta-actin