



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.

A61K 36/481 (2006.01)

A61K 36/258 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(45) 공고일자

2007년01월19일

(11) 등록번호

10-0671762

(24) 등록일자

2007년01월15일

(21) 출원번호

10-2005-0077155

(65) 공개번호

(22) 출원일자

2005년08월23일

(43) 공개일자

심사청구일자

2005년08월23일

(73) 특허권자

경희대학교 산학협력단
경기 용인시 기흥읍 서천리 1

(72) 발명자

김성훈
서울특별시 강남구 도곡동 타워팰리스 E동 2405호

이효정
대구광역시 수성구 상동 87-3

루 주산
미네소타 55912 오스틴 놀스이스트 16번가 801

잔 첵
미네소타 55912 오스틴 놀스이스트 16번가 801

이은옥
서울 중랑구 상봉2동 106-3호

(74) 대리인

하상구
하영욱

(56) 선행기술조사문헌

KR1019940013527 A

KR1019990085642 A

KR1020030082099 A

KR1020030091665 A

KR1020040039940 A

* 심사관에 의하여 인용된 문헌

심사관 : 여호섭

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 암치료와 암예방을 위한 한약조성물

(57) 요약

본 발명은 한의학에서 약제학적으로 허용되는 약제들을 조합하여 만든 암치료와 암예방을 위한 한약조성물에 관한 것으로서, 구체적으로는 황기, 인삼, 패장초, 당귀, 천초, 동과인, 적소두, 백급, 산자고, 아교로 구성된 한약조성물과 이들의 주정 추출물에 관한 것이다.

본 발명의 한약조성물은 종양이 증식함에 따라 종양 중심부위의 저산소증에 의해 신생혈관 생성을 유도시 발현되는 혈관 생성인자들인 VEGF, bFGF와 저산소상태에서 발현되는 HIF-1 α 유전자 단백질의 활성을 저하시키고 그 발현양을 감소시킴으로써 항암효과를 나타낸다.

대표도

도 4a

특허청구의 범위

청구항 1.

황기 10-15g, 인삼 10-15g, 패장근 15-20g, 당귀 10-14g, 천초10-14g, 동과인 25-30g, 적소두 25-30g, 백급 10-15g, 산자고 10-15g, 아교10-15g 으로 구성된 암치료와 암예방을 위한 한약조성물.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 한약조성물의 투여량은 10 mg/kg 내지 100 mg/kg 범위인 것을 특징으로 하는 암치료와 암예방을 위한 한약조성물.

청구항 3.

제 1항에 있어서, 상기 암이 폐암, 뇌암, 간암, 유방암, 난소암 및 대장암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나인 것을 특징으로 하는 암치료와 암예방을 위한 한약조성물.

청구항 4.

제 1항에 있어서, 상기 암이 폐암인 것을 특징으로 하는 암치료와 암예방을 위한 한약조성물.

청구항 5.

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 한약조성물은 주사제형, 액제 제제화된 것을 특징으로 하는 암치료와 암예방을 위한 한약조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 한의학에서 약제학적으로 허용되는 약제들을 조합하여 만든 암치료와 예방을 위한 한약조성물에 관한 것으로서, 구체적으로는 황기, 인삼, 패장초, 당귀, 천초, 동과인, 적소두, 백급, 산자고, 아교의 한약제로 구성된 한약조성물과 이들의 주정추출물에 관한 것이다.

종양이 증식함에 따라 새로운 혈관이 생성되지 못하면 암세포의 증식과 사멸이 균형을 이루게 되어 종양의 크기가 수 mm에 불과한 상태(pre-vascular phase)가 유지된다. 대부분의 종양은 어느 증식 시점에서 일부 암 세포가 신생혈관을 형성할 수 있는 능력을 획득하게 되며, 이 시기부터 종양은 급속도로 성장하게 되는데 이 변환 시점을 angiogenic switch라 한다. 암세포에서 생산되는 혈관생성인자에 의해 막투과성을 강력하게 증가시키며 주위 정상내피세포 증식을 유도한다.

뿐만 아니라 암세포는 저산소증과 관련된 낮은 pH, latic acid의 증가에 의해서도 신생혈관 생성을 유도하며, 암세포의 저산소증시 발현되는 HIF-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , 저산소 유도인자-1 α)라는 유전자에 의해 혈관생성인자인 VEGF(vascular endothelial growth factor)와 bFGF(basic fibroblast growth factor)의 전사를 조절하여 특이적으로 발현량이 증가되어 신생 혈관 생성을 유도하기도 한다.

저산소 상태의 종양에 있어서, 적어도 일부분의 유전자가 저산소 상태로 인하여 발현이 조절되고, 이것이 종양을 악성으로 진행되게 영향을 준다. 이와 관련하여, 저산소증에 의한 신호가 HIF-1 α 에 전달되어 여러 종류의 Hsp, 조혈인자(hematopoietic factor) 및 혈관형성인자(angiogenic factor)들이 유의성있게 축적된다는 것을 증명하였다(Back et al., J. Cell Physiol., 32, 112~118, 1999; Back et al., J. Cell Physiol., 188, 223~235, 1999).

이는 저산소 상태의 종양세포에서 Hsp 유전자 일부의 발현 및 혈관형성에 관여하는 성장인자들의 유도는 방사선이나 화학요법에 대한 저항성을 향상시켜 종양세포가 살아남을 수 있도록 해준다는 것을 의미한다(Willson et al., Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 16, 957~961, 1989; Murphy et al., Br. J. Cancer, 64, 69~73, 1991; Koong et al., Radiat. Res., 138, S60~S63, 1994a; Koong et al., Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 28, 661~666, 1994b; Wang et al., Blood, 82, 3610~3615, 1995; Forsythe et al., Mol. Cell Biol., 16, 4604~4613, 1996).

현재까지 암을 대상으로 연구한 결과에 의하면 암조직 내부에 발생하는 저산소증(hypoxia)은 전사인자인 저산소 유도인자 HIF-1 α 의 안정성을 증가시키고, 또한 AP-1의 발현을 증가시켜, 이것이 혈관신생인자인 VEGF, bFGF, IGF-II(insulin-like growth factor-II)와 그 수용체들의 발현을 일으키는 주요 유발요소임이 이미 밝혀졌다. 이와 같은 저산소증(hypoxia)에 의한 혈관신생 유발현상은 종양 진행(tumor progression) 뿐만 아니라, 심근허혈(myocardial ischemia)에 의해서도 일어나는 것으로 알려져 있다. 이 HIF-1 α 는 산소 전달의 증가 및 산소 소비의 감소에 관여하는 여러 유전자 발현을 증가시킨다. 따라서 저산소증(hypoxia)에 의한 유전자 발현의 조절에는 HIF-1 α 가 핵심역할을 담당하고 있음을 알 수 있다. 그러므로 HIF-1 α 의 억제제가 새로운 항암 치료제 개발의 한 방법으로 대두되고 있다(Gregg L.Semenza., Nature reviews., 3, 721~732, 2003). 상기 연구결과 및 문헌에서 밝혀진 바와 같이, 고형암이 악성으로 진행될 수 있는 요소들을 억제하기 위하여 많은 방법들이 개발되고 있다(Brown et al., Int. J. Radiat. Biol., 65, 95~102, 1994; Giaccia, Seminars in Radiat. Oncol., 6, 46~58, 1996; Brown et al., Cancer Res., 60, 883~887, 1998; Koong et al., Cancer Res., 58, 1408~1416, 2000).

이와 관련하여, 본 발명자들은 저산소 상태의 종양세포에서 발생하는 신생혈관인자에 대한 효과적인 억제를 통해 신생혈관생성 억제작용과 항암작용을 밝혀냄으로써 본 발명에 이르게 되었다. 즉, 본 발명자들은 저산소 상태의 폐암 세포에 본 발명의 한약조성물 에탄올 추출물을 처리하여 HIF-1 α 유전자의 발현 및 VEGF 발현이 억제됨을 증명하였고, 또한 신생혈관인자인 VEGF 및 bFGF로 유도된 혈관내피세포(HUVEC)에서의 생식증식 억제 및 tube형성을 저해함을 발견하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명의 목적은 상기와 같은 과제를 해결하기 위하여 한의학에서 약제학적으로 허용되는 약제들을 조합하여 만든 암치료와 예방을 위한 한약조성물에 관한 것으로서, 구체적으로는 황기, 인삼, 패장초, 당귀, 천초, 동과인, 적소두, 백급, 산자고, 아교의 한약제로 구성된 한약조성물과 이들의 주정추출물을 제공하고자 하는 것이다.

발명의 구성

본 발명은 한의학에서 약제학적으로 허용되는 약제들을 조합하여 만든 암치료와 예방을 위한 한약조성물에 관한 것으로서, 구체적으로는 본 발명은 황기, 인삼, 패장초, 당귀, 천초, 동과인, 적소두, 백급, 산자고, 아교로 된 한약조성물과 이들의 주정추출물로 구성된다.

본 발명의 한약조성물의 조성물은 다음과 같다.

<표 1>

처방명	처방구성내용 (1첩당)	주정추출명 (수득량→수득률)
한약조성물	황기(10-15g), 인삼(10-15g), 패장근(15-20g), 당귀(10-14g), 천초(10-14g), 동과인(25-30g), 적소두(25-30g), 백급(10-15g), 산자고(10-15g), 아교(10-15g)	(12.91 g→3.7%)

이하 본 발명을 상세히 설명한다. 이하의 본 발명의 실시예는 본 발명의 기술적 사상을 한정하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 보호범위는 청구범위에 기재된 사항에 의하여만 제한되고, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상을 다양한 형태로 개량 변경하는 것이 가능하다. 이러한 개량 및 변경이 통상의 지식을 가진 자에게 자명한 것인 한 본 발명의 보호범위에 속하게 될 것이다.

실시예1) 본 발명의 한약조성물의 추출

황기, 인삼, 패장초, 천초, 동과인, 적소두, 백급, 산자고, 아교 및 한국산 당귀의 한약재들을 대효제약에서 구입하여 황기 30g, 인삼 30g, 패장근 30g, 당귀 24g, 천초 24g, 동과인 60g, 적소두 60g, 백급 30g, 산자고 30g, 아교 30g을 (2첩분량, 전체 348g) 추출용기에 넣고 에탄올 2,000ml로 3회 환류 추출하여 조추출물을 수득한 다음, 이를 음압 농축하여 에탄올 엑기스를 동결건조하여 분말형태로 본 발명의 한약조성물을 12.91g ($12.91/348 = 3.7\%$) 수득하였다.

(제조예 1) 액제의 제조

in vitro 실험을 위해 세포에 처리하는 본 발명의 한약조성물은 상기 실시예 1에서 제조한 분말 형태를 유화제(DMSO)에 각각 100 mg/ml 농도, 10mg/ml, 10mM 농도로 녹인 후, 이후 필요한 경우 M199 나 RPMI 1640 배지로 원하는 농도가 되도록 희석하여 제조하였다.

(제조예 2) 주사제의 제조

시험동물에 주사하는 본 발명의 한약조성물은 상기 실시예 1에서 제조한 한약조성물에 50 ml의 증류수와 트윈 80.이 500 ul 들어간 용매를 원하는 농도가 되도록 첨가하여 주사제로 제조하였다.

실시예 2) 암세포 증식억제효과 실험

본 발명의 한약조성물의 암치료 효과를 측정하기 위하여 마우스 폐암세포주로서 LLC (Lewis Lung Carcinoma - ATCC # CRL-1642, 이하 “LLC 세포”라고 함) 세포를 사용하여 in vitro에서 암세포 증식억제효과에 대한 실험을 실시하였다. 상기 세포주는 배양액상으로 (태아 보바인 혈청이 10% 함유된 RPMI 1640배지를 사용) 37 °C, 5% CO₂상태에서 배양하였다.

본 발명의 한약조성물의 암세포 증식억제를 위한 세포 독성 정도를 알아보기 위하여 MTT 분석(assay)을 실시하였다. 상기 배양된 각 암세포를 96 well plate에 각 웰당 10,000 여개씩 분주하고 24시간 경과 후 상기 제조예 1에서 제조한 본 발명의 한약조성물 액제를 농도별로 계대 희석하여 100 μ l씩 첨가하였다. 24 시간이 경과하였을 때, MTT 용액을 넣고 반응시켰다. 그 다음 2시간 동안 배양을 한 후, MTT용액을 제거하고 형성된 포마잔을 DMSO로 녹여 마이크로플레이트 리더 (파장:540nm)로 흡광도를 측정하여 생존율을 측정하였다. 도 1a는 본 발명의 한약조성물의 각각의 농도에 따른 생쥐 폐암 세포주의 생존율 측정결과를 나타낸 것이다. 도 1a에서 보는 바와 같이 본 발명의 한약조성물은 농도 의존적으로 세포독성이 증가하는 것을 알 수 있다. 즉 본 발명의 한약조성물의 농도가 높을수록 암세포의 생존율이 낮아짐을 알 수 있다.

실시예 3) 본 발명의 한약조성물에 의한 저산소 유도인자 -1 α (HIF-1 α)의 발현 억제 및 VEGF 유전자 발현의 감소여부 확인

(1) 세포의 저산소 상태의 처리 및 본 발명의 한약조성물로의 처리

본 발명자들은 폐암 세포주인 LLC 세포에 저산소 상태를 유발시켜 HIF-1 α 유전자 발현과 신생 혈관 인자인 VEGF 유전자 발현을 유도하였다.

폐암세포주 LLC 세포를 배양할 배양액은 글루코스가 함유되지 않은 RPMI 1640 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂, 85% N₂ 및 10% H₂를 포함하는 저산소성 혼합기체를 공급하여 평형상태(혐기성 상태)로 만들어 준 후 사용하였다. 즉, 배지도 저산소 상태로 만들어 사용하였다. 저산소실 및 배지 안의 산소 농도는 산소표시기(Forma Scientific, Marietta, U.S.A.)로 측정하였고, 산소 농도는 0.05% 이하로 유지시켰다. 상기와 같은 처리를 한 세포를 16시간 배양 후 수거하여 저산소 상태 세포로 실험을 하였으며, 대조군으로서 정상산소 상태의 세포는 5% CO₂, 95% 공기(air) 상태로 37°C의 배양기에서 배양시켰다.

본 발명의 한약조성물의 처리는 상기 제조에 1에서와 같이 액제를 처리농도에 맞게 RPMI 1640 배지로 계대 희석하여 처리하는 방법으로 하였다.

저산소상태로 배양한 후 16시간 경과 후 정상산소 상태의 세포와 저산소 상태의 세포를 수거하여, 트리졸 (TRIzol, GIBCO-BRL Grand Island, NY, USA) 방법을 사용하여 총 RNA를 분리하였다. 이때 사용한 모든 용액은 0.1% 디에틸피로카보네이트-처리수(diethyl pyrocarbonate-treated water, DEPC-dH₂O)로 RNA분해효소 활성(RNase activity)을 저해하기 위해 처리하였다.

(2) 역전사연쇄중합반응(RT-PCR) 분석

상기에서 추출한 RNA를 역전사 연쇄 중합 반응시켜 HIF-1 α 와 VEGF 유전자를 동정하였다. <표 2>의 프라이머 염기쌍을 이용하여 PerkinElmer thermal cycler로 유전자 증폭을 수행하였다(PerkinElmer, Norwalk, U.S.A). 증폭된 생성물은 1.5% 아가로스 겔에서 전기영동하여 분리하고, 에티디움 브로마이드(Ethidium bromide)로 염색하여 자외선(UV) 조명하에 촬영하고 이를 도 2에 나타내었다. 도 2에서 K1 은 비교 한약조성물 I, K2 는 비교 한약조성물 II, K3는 본 발명의 한약조성물, N 은 정상배양조건의 상태로 약물을 처리하지 않은 것, H 는 저산소상태로 약물을 처리하지 않은 것을 각각 나타낸다.

<표 2>HIF-1 α 와 VEGF 및 β -actin 유전자를 증폭하기 위한 프라이머 쌍

HIF-1 α	sense	5'-CTCAAAGTCGGACAGCCTCA-3'
	antisense	5'-CCCTGCAGTAGGTTTCTGCT-3'
VEGF	sense	5'-CCTCCGAAACCATGAACCTT-3'
	antisense	5'-AGAGATCTGGTCCCGAAAC-3'
β -actin	sense	5'-AAGAGAGGCATCCTCACCCT
	antisense	5'-ATCTCTTGCTCTGAAGTCCA

도 2의 본 발명의 한약조성물을 처리한 경우(K3)에서 보는 바와 같이 VEGF 유전자 및 단백질의 축적이 감소함을 알 수 있으며, 이로써 본 발명의 한약조성물이 HIF-1 α 유전자의 발현을 억제시켜 폐암에 항암효과가 있음을 확인하였다.

실시예 4) 혈관신생인자를 유도한 혈관내피세포(HUVEC)에서의 세포증식억제효과

도 3은 혈관내피세포에 세포의 증식을 유도하는 bFGF 또는 VEGF를 처리하지 않은 군과 처리한 군, 처리한 군 중에서 본 발명의 한약조성물을 같이 처리한 군에서 세포의 증식능을 살펴본 것이다. 도 3a와 도 3b에서 보듯이 bFGF 또는 VEGF를 처리하지 않은 군보다 처리한 군에서 살아있는 세포가 많은 것 즉, 세포가 많이 증식된 것을 볼 수 있다. 하지만 본 발명의 한약조성물을 같이 처리한 군에서는 농도에 의존적으로 세포의 증식이 저해되는 것을 확인하였다

실시예 5) 혈관신생인자를 유도한 혈관내피세포(HUVEC)에서의 세포분화억제 효과

고형암이 악성으로 진행되는 과정에서 고형암 자체에서의 혈관신생인자들을 발현함으로써 주위의 정상혈관에서의 신생혈관생성을 유도하게 되는데, 이 과정에서 본 발명의 한약조성물을 처리함으로써 신생혈관생성이 억제되는지 여부를 혈관신생인자로 유도한 혈관내피세포(HUVEC)에서 혈관형성 억제 효과를 확인하여 보았다.

혈관내피세포는 산부인과에서 탯줄을 받아 멸균상태에서 콜라겐을 처리하여 세포를 분리하였다. 분리된 혈관내피세포는 태아 보마인 혈청 20%, bFGF 3 ng/ml, 헤파린 5 units/ml이 첨가된 M199배지에서 0.1% 젤라틴이 코팅된 플라스크에서 배양하였다.

상기와 같이 배양된 혈관내피세포에 성장인자로서 VEGF와 bFGF를 각각 처리하여 혈관(튜브)형성을 유도하였으며, 그 중 일부에 대해 농도를 달리한 본 발명의 한약조성물로 처리한 후 7시간동안 배양하여 한약조성물이 성장인자에 의해 유도된 혈관세포의 분화에 미치는 영향을 관찰하였다.

도 4a, 도 4b 에서 알 수 있는 바와 같이, 성장인자만으로 처리한 양성대조군에는 튜브형성이 증가하였지만, 본 발명의 한약조성물을 처리한 혈관내피세포(HUVEC)에서는 혈관형성 저해효과가 있음을 확인하였다.

실시에 6) 생체내에서의 종양성장 억제효과

생체내에서의 종양성장 억제 효과를 알아보기 위하여 본 발명의 한약조성물을 주사제로 만들어 복강으로 투여하여 종양성장 억제 효과를 실험하였다.

폐암세포주 LLC 세포를 쥐의 피하에 이식한 후 3일째부터 매일 1회씩 7일 동안 제조에 2에서 제조한 본 발명의 한약조성물을 포함한 주사제를 복강내로 투여하였다. 쥐에 대해 독성이 없는 최고 농도로 100 mg/kg을 사용하였으며, 이를 10배 희석하여 10 mg/kg의 농도도 함께 처리하였다.

암세포 이식 후 4일 이후부터 암종의 부피를 측정하였고, 11일째 종양을 제거하여 그 크기 및 무게를 측정하여 도 5에 나타내었다. 도 5b는 본 발명의 한약조성물을 투여하지 않은 대조군과 각각 10mg/kg 및 100mg/kg 함량으로 본 발명의 한약조성물을 투여한 개체간의 암종 크기를 11일간 관찰한 결과를 나타낸 도표이고, 도 5c는 종양을 제거한 후 측정한 암종의 무게를 측정한 결과이다. 도 5a, 도 5b 및 도 5c에서 알 수 있는 것과 같이, 본 발명의 한약조성물을 투여한 개체의 경우 암종 억제 효과가 발현되는 것을 확인할 수 있었으며, 투여량에 비례하여 암종 억제 효과가 커지는 것을 확인하였다.

비교예 1) 비교 한약조성물 I, II의 혈관내피세포(HUVEC)에서의 세포증식 억제효과 비교

본 발명자들은 비교 한약조성물 I(위경 30 g, 의이인 30 g, 동과인 30 g, 폐모 15 g, 사삼 15 g, 행인 15 g, 산자고 15 g, 남성 15 g, 반하 15 g, 지네 5마리, 삼칠근 3 g, 감초 6 g)과 비교 한약 조성물 II(포공영 30 g, 사삼 30 g, 반지련 30 g, 의이인 30 g, 백화사설초 30 g, 황기 3 g, 어성초 30 g, 구절 30 g, 백합 30 g, 과루인 20 g, 하고초 20 g, 인삼 20 g)에 대해 실시예 1의 본원 발명의 한약 조성물과 동일한 방법으로 에탄올로 추출하였다.

이 비교 조성물 I, II에 대해 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 저산소 유도인자 HIF-1 α 의 발현억제 및 VEGF 유전자 발현의 감소여부를 역전사연쇄증합반응으로 실험하고 이를 각각 도 2의 K1, K2로 나타내었으며, 실시예 4와 동일한 방법으로 혈관내피세포에서의 세포증식 억제효과를 실험하여 이를 도 3C에 나타내었다.

상기 도면에서 비교 한약조성물 I, II는 본원 발명의 한약 조성물보다 저산소 유도인자 HIF-1 α 의 발현 및 VEGF 유전자의 발현을 감소시키지 못하며, 신생혈관 형성 저해능이 약한 것을 볼 수 있으며 이로써 본 발명의 한약조성물이 탁월한 항암 효과를 나타냄을 확인하였다.

상기 결과에서 알 수 있는 바와 같이 본 발명의 한약조성물은 고형암 세포에서 저산소증에 의해 유도된 혈관신생과 혈관신생인자를 억제하는 효과를 나타내었다. 본 발명의 한약조성물은 고형암이 악성으로 진행될 수 있는 환경인 저산소증(hypoxia)이 유도되는 HIF-1 α 에 의해 신생혈관인자들이 촉진되며 신생혈관형성을 유도하는 것을 차단하는 효과를 나타낸다.

발명의 효과

이상에서 살펴본 바와 같이, 한약조성물이 세포독성, 고형암에서의 저산소상태에서 유도되는 신생혈관형성 그 외 혈관신생인자 유도에 의한 신생혈관형성 억제효과 및 종양성장억제효과 등이 있어 암치료 및 예방 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1a는 폐암 세포를 본 발명의 한약조성물로 처리한 후의 독성 검정을 나타낸 것이고, 도 1b는 혈관내피세포(HUVEC)를 본 발명의 한약조성물로 처리한 후의 독성검정을 나타낸 것이다.

도 2는 저산소 상태의 폐암 세포를 본 발명의 한약조성물로 처리한 후 HIF-1 α 과 VEGF 발현정도를 RT-PCR 분석으로 나타낸 것이다. 도 2에서 K1 은 비교 한약조성물 I, K2 는 비교 한약조성물 II, K3는 본원 발명의 한약조성물, N 은 정상배양 조건의 상태로 약물을 처리하지 않은 것, H 는 저산소상태로 약물을 처리하지 않은 것을 나타낸다.

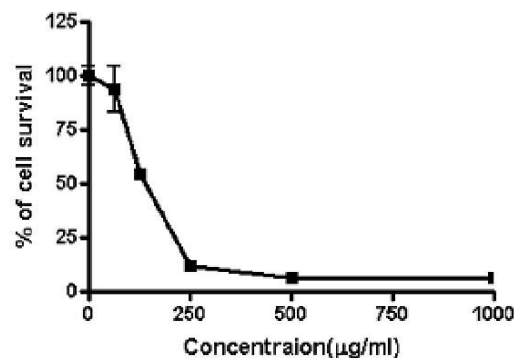
도 3a와 도 3b는 혈관내피세포(HUVEC)를 혈관생성인자인 bFGF와 VEGF를 처리하여 세포의 증식을 유도시킨 후, 본 발명의 한약조성물로 처리했을 때의 세포증식억제능력을 농도별로 나타낸 것이고, 도 3c는 다른 한약조성물 I과 II의 혈관내피세포에서 세포증식억제능을 나타낸 것이다.

도 4a와 도 4b는 매트릭셀이 코팅된 24 well에 혈관내피세포(HUVEC)를 깔고 혈관생성인자인 bFGF와 VEGF를 각각 처리하여 세포의 증식과 혈관생성을 유도시킨 후 본 발명의 한약조성물로 농도별로 처리했을 때의 형성된 혈관 Tube모양을 현미경으로 촬영한 것을 나타낸 것이다.

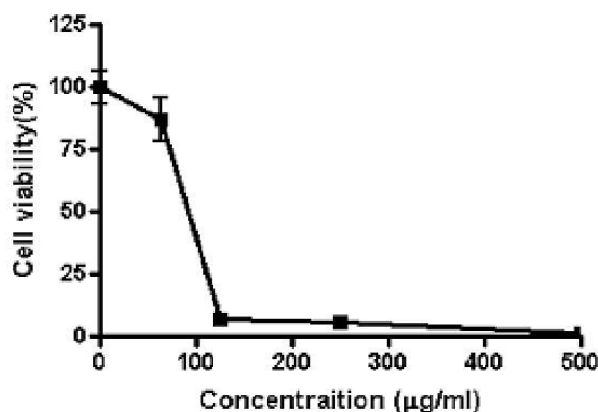
도 5a는 폐암주를 이식시킨 C57 생쥐들의 체중변화이며, 도 5b는 C57생쥐에 폐암주를 이식하여 형성시킨 암종에 대해 본 발명의 한약조성물로 처리하여 암종성장 억제능력을 암종의 크기의 변화를 통해 나타낸 것이며, 도 5c는 폐암주를 이식한 생쥐의 암종의 무게를 나타낸 것이다.

도면

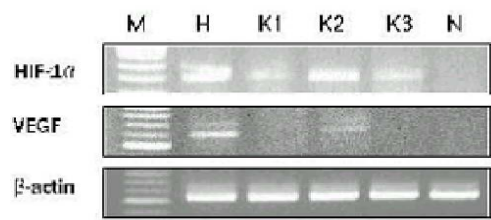
도면1a



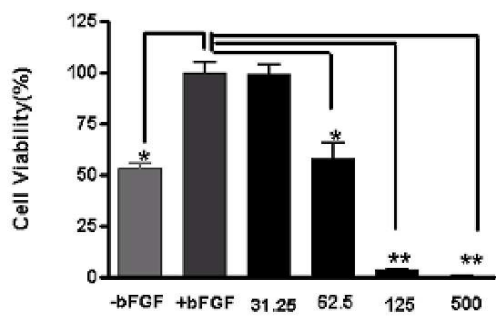
도면1b



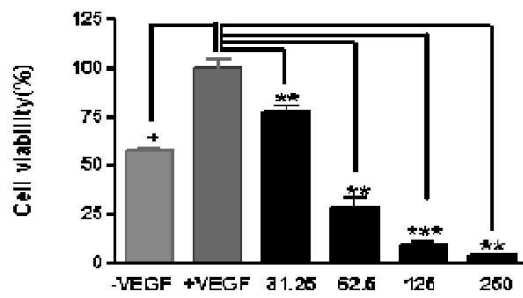
도면2



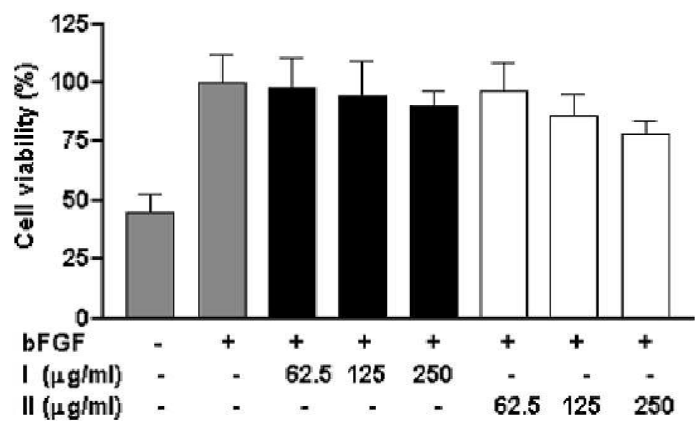
도면3a



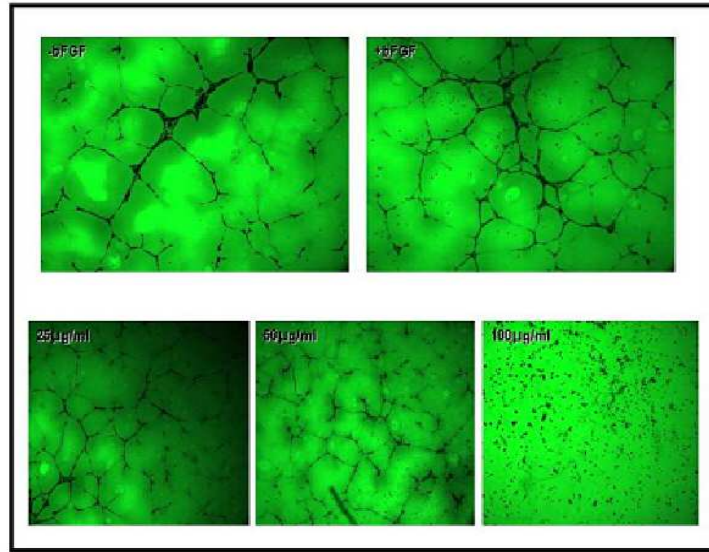
도면3b



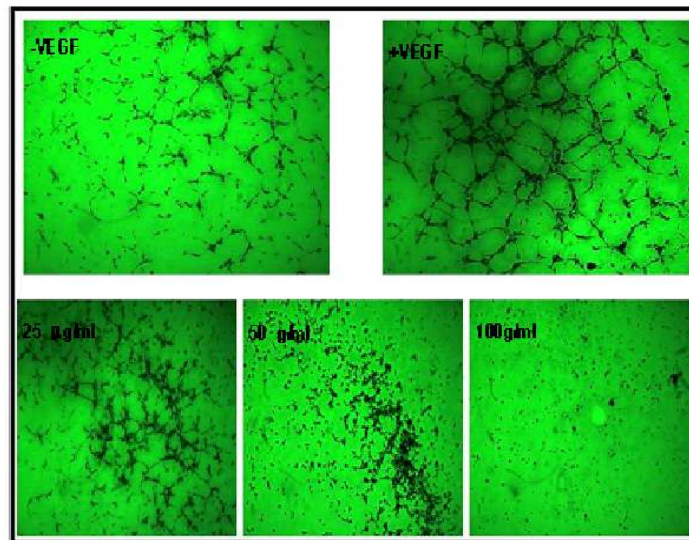
도면3c



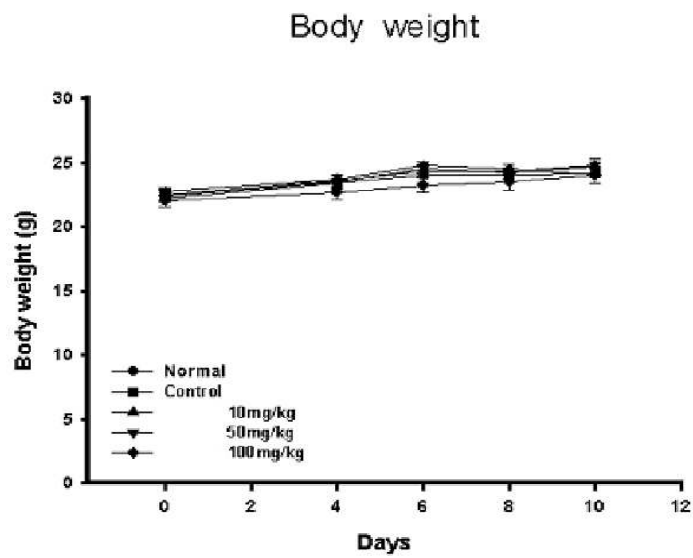
도면4a



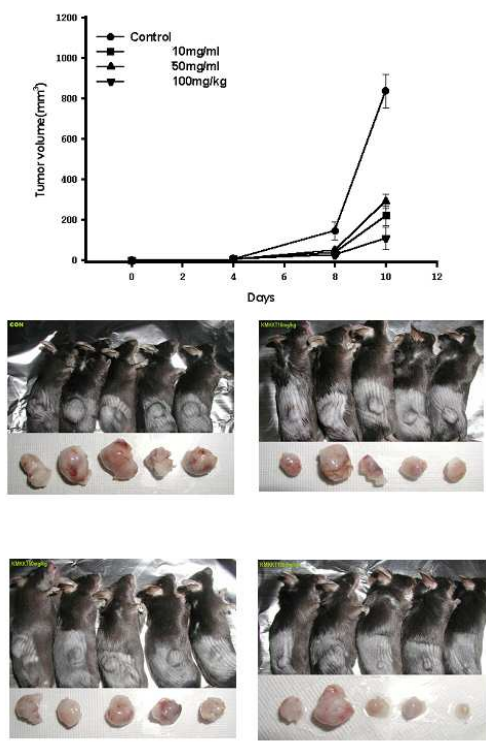
도면4b



도면5a



도면5b



도면5c

