(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0045880
(43) 공개일자 2021년04월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 36/41* (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
*A61K 41/00* (2020.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 36/41* (2013.01)
*A23L 33/105* (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0129455
(22) 출원일자 2019년10월17일
심사청구일자 2019년10월17일

(71) 출원인
**경희대학교 산학협력단**
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
**최정혜**
서울특별시 성동구 독서당로 175 104동 1902호 (옥수동, 극동그린아파트)
**최주연**
경상남도 진주시 순환로 425-61, 105동 901호(내동면, 남강휴먼빌아파트)
(74) 대리인
**특허법인(유한)아이시스**

전체 청구항 수 : 총 12 항

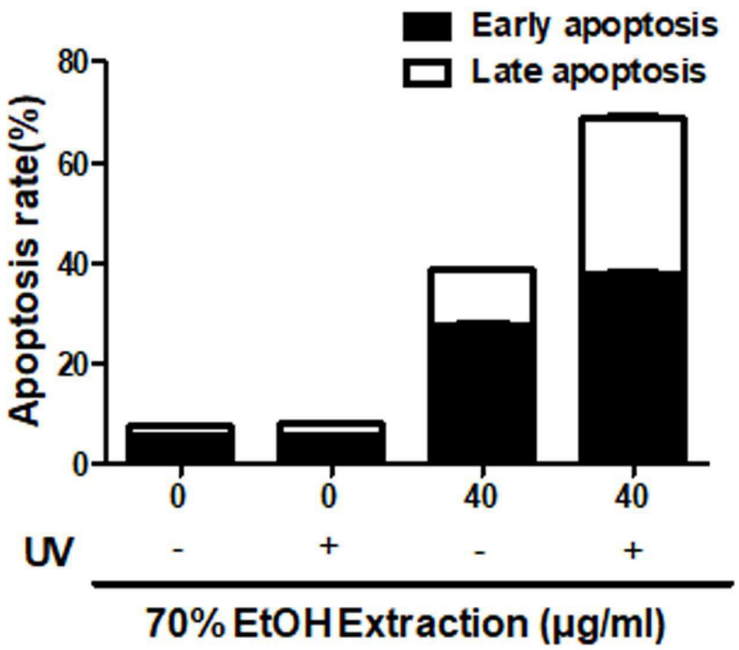
(54) 발명의 명칭 **애기기린초 추출물의 신규용도**

## (57) 요 약

본 발명은 애기기린초 추출물을 포함하는 조성물의 신규용도에 관한 것으로서, 구체적으로, 애기기린초 에탄올 추출물을 포함하는 암 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물과 건강기능식품 조성물 및 광역동 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물은 암세포의 생존 능력을 억제하는

(뒷면에 계속)

*대 표 도* - 도4



효능이 탁월하여, 이를 이용한 약학적 조성물 및 식품 조성물로서 암을 효과적으로 예방, 개선 및 치료할 수 있으며, 구체적으로 본 발명의 애기기린초 추출물은 암세포에 아폽토시스(apoptosis)를 유도하여 암세포에 강력한 세포 독성을 나타내 종양을 억제하는 효과가 우수하다. 또한, 애기기린초 추출물 단독으로는 세포 생존에 영향이 없는 약한강도의 UVA를 조사하였을 때 IC50값이 3배 이상 낮아진 것을 확인함으로써 광역동요법을 사용하여 암의 예방, 개선 및 치료효과에 활용될 수 있다. 또한, 본 발명의 애기기린초 추출물은 천연 유래의 화합물로서 부작용이 없어 약학적 조성물, 건강기능식품 등으로 다양하게 활용될 수 있다.

(52) CPC특허분류
***A61K 41/0057*** (2013.01)
***A61P 35/00*** (2018.01)
*A23V 2002/00* (2013.01)
*A23V 2200/308* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

| | |
|---|---|
| 과제고유번호 | 1711097857 |
| 과제번호 | 2E29561 |
| 부처명 | 과학기술정보통신부 |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국과학기술연구원 |
| 연구사업명 | 융복합개방형연구사업 |
| 연구과제명 | 신규 천연물 광자극 대사산물 개발 |
| 기 여 율 | 1/1 |
| 과제수행기관명 | 한국과학기술연구원 |
| 연구기간 | 2017.01.01 ~ 2021.12.31 |

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 난소암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 애기기린초를 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출한 것을 특징으로 하는, 난소암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물은 암세포에 대하여 세포 독성을 갖는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 조성물은 암세포에 대하여 아폽토시스를 유도하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

### 청구항 5

애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 난소암 개선 또는 예방용 건강기능식품 조성물.

### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 추출물은 애기기린초를 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출한 것을 특징으로 하는, 건강기능식품 조성물.

### 청구항 7

제5항에 있어서, 상기 조성물은 암세포에 대하여 세포 독성을 갖는 것을 특징으로 하는, 건강기능식품 조성물.

### 청구항 8

제7항에 있어서, 상기 조성물은 암세포에 대하여 아폽토시스를 유도하는 것을 특징으로 하는, 건강기능식품 조성물.

### 청구항 9

애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 광역동 치료용 조성물.

### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 추출물은 애기기린초를 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출한 것을 특징으로 하는, 광역동 치료용 조성물.

### 청구항 11

제9항에 있어서, 상기 조성물은 암세포에 대하여 세포 독성을 갖는 것을 특징으로 하는, 광역동 치료용 조성물.

### 청구항 12

제10항에 있어서, 상기 조성물은 암세포에 대하여 아폽토시스를 유도하는 것을 특징으로 하는, 광역동 치료용 조성물.

## 발명의 설명

## 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 애기기린초 추출물을 포함하는 조성물의 신규용도에 관한 것으로서, 구체적으로, 애기기린초 추출물을 포함하는 암 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물과 건강기능식품 조성물 및 광역동 치료용 조성물에 관한 것이다.

## 배 경 기 술

[0002] 일반적으로 암은 주로 세포 성장과 아폽토시스(apoptosis) 사이의 불균형으로 인해 악성 세포의 통제되지 않는 성장으로 발생하는 것으로 알려져 있다. 아폽토시스는 프로그램된 세포 사멸 중 가장 잘 알려진 방식의 하나로, 암세포에서 아폽토시스를 유도하는 것은 암세포의 성장을 제어하는 치료 전략으로 널리 사용되고 있다. 실제로, 다수의 종래 항암제가 아폽토시스 경로를 통해 종양 세포의 사멸을 유도하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 부인과(gynecology) 암 질환에서의 주요 사망 원인은 난소암인 것으로 알려져 있으며, 대부분의 난소암 환자들은 진행성 질환(Ⅲ기 또는 Ⅳ기)으로 진단되며 생존율은 10-30%에 불과한 것으로 알려져 있다. 종래 난소암 치료에는 일반적으로 시스플라틴(cisplatin), 플라티늄, 탁산(taxane) 등과 같은 화학 치료제가 사용되어 왔으나, 이들은 메스꺼움, 구토등과 같은 광범위한 부작용을 나타내었으며(Ferrandina G, et al. Increased cyclooxygenase-2 (COX-2) expression is associated with chemotherapy resistance and outcome in ovarian cancer patients. Ann Oncol. 2002;13:1205-1211), 또한 대부분의 환자에서 화학 요법에 대한 저항성이 반복적으로 나타나는 것으로 보고된바 있다(Kigawa J. New strategy for overcoming resistance to chemotherapy of ovarian cancer. Yonago Acta Med. 2013;56:43-50). 따라서, 난소암의 예방 및 치료를 위해 새로운 천연물 유래 치료제의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

[0004] 한편, 애기기린초는 다년초로 줄기는 더부룩하게 무더기로 뻗고 키는 약 20cm 정도인 식물로 강장, 선혈 등의 용도가 알려져 있다. 그러나, 애기기린초 추출물의 암세포에 대한 선택적 아폽토시스 활성에 관하여는 보고된 바가 없으며, 특히 애기기린초 추출물의 광 역동 치료 효능에 관하여는 전혀 알려진 바가 없는 실정이다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 본 발명자들은 난소암의 예방, 개선 및 치료를 위한 연구를 진행한 결과, 애기기린초 추출물이 암세포 선택적으로 아폽토시스를 유도해 독성을 나타낼 뿐만 아니라 UVA와 함께 처리하였을 때 광감각제로의 기능을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[0006] 이에, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim)추출물을 포함하는, 난소암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0007] 또한, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim)추출물을 포함하는, 난소암 개선 또는 예방용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.

[0008] 또한, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim)추출물을 포함하는, 광역동 치료용 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 난소암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0010] 본 발명의 일 구체예로서, 상기 추출물은 애기기린초를 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출할 수 있다.

[0011] 본 발명의 다른 구체예로서, 상기 약학적 조성물은 암세포에 대하여 세포 독성을 가질 수 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 구체예로서 상기 약학적 조성물은 암세포에 대하여 아폽토시스를 유도할 수 있다.

[0013] 또한, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 난소암 개선 또는 예방용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 광역동 치료용 조성물을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 난소암의 예방, 개선 또는 치료방법을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 상기 조성물의 난소암의 예방, 개선 및 치료 용도를 제공한다.

## *발명의 효과*

[0017] 본 발명의 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물은 암세포의 생존 능력을 억제하는 효능이 탁월하여, 이를 이용한 약학적 조성물 및 식품 조성물로서 암을 효과적으로 예방, 개선 및 치료할 수 있다.

[0018] 구체적으로 본 발명의 애기기린초 추출물은 암세포에 아폽토시스(apoptosis)를 유도하여 암세포에 강력한 세포독성을 나타내 종양을 억제하는 효과가 우수하다. 또한, 애기기린초 추출물 단독으로는 세포 생존에 영향이 없는 약한 강도의 UVA를 조사하였을 때 IC50 값이 3배 이상 낮아진 것을 확인함으로써 광역동요법을 사용하여 암의 예방, 개선 및 치료효과에 활용될 수 있다. 또한, 본 발명의 애기기린초 추출물은 천연 유래의 화합물로서 부작용이 없어 약학적 조성물, 건강기능식품 등으로 다양하게 활용될 수 있다.

## *도면의 간단한 설명*

[0019] 도 1은 MTT assay를 통해 인간 정상 난소세포(IOSE)와 인간 난소암 세포(A2780)의 세포 생존 능력에 대한 애기기린초 추출물의 효과를 나타낸 것이다.

도 2는 Annexin V-FITC assay를 통해 애기기린초 추출물의 아폽토시스를 분석한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 MTT assay를 통해 애기기린초에 UVA를 처리하였을 때 인간 난소암 세포(A2780)의 세포생존 능력에 대한 효과를 나타낸 것이다.

도 4는 Annexin V-FITC assay를 통해 애기기린초 추출물 및 UVA 조사에 의해 유도되는 아폽토시스를 분석한 결과를 나타낸 것이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0020] 본 발명자들은 난소암의 예방, 개선 및 치료를 위한 연구를 진행한 결과, 애기기린초 추출물이 암세포 선택적으로 아폽토시스를 유도해 독성을 나타내는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[0021] 이에, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 난소암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0022] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 난소암을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0023] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 난소암에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0024] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물"은 물질의 추출 처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 희석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.

[0025] 본 발명의 추출물을 제조하는 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는, 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법, 침지 추출법, 고온 및 고압 증기 추출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2 종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있고, 물과 메탄올, 에탄올, 부탄올 등과 같은 C1 내지 C4의 저급 알코올과 이들의 혼합용매 등을 포함한 다양한 유기용매일 수 있으며, 바람직하게는 에탄올을 용매로 사용할 수 있고, 더욱 바람직하게는 70% 에탄올을 사용할 수 있다.

[0026] 본 발명에서는, 애기기린초 추출물의 난소암 예방 또는 치료 효능을 다양한 실험으로 직접적으로 규명하였다.

[0027] 보다 구체적으로, 본 발명의 일 실시예에서는 MTT assay를 통해 인간 정상 난소세포(IOSE) 및 인간 난소암 세포

(A2780)의 세포 생존 능력에 대한 애기기린초 추출물의 효과를 확인하였고(실시예 2 참조), Annexin V-FITC assay를 통해 애기기린초 추출물 및 난소암 치료제 Cisplatin에 대한 아폽토시스 유도 활성을 확인하였다(실시예 3 참조).

[0028] 상기 실시예로부터 본 발명의 약학적 조성물이 암세포에 대하여 선택적으로 세포 독성을 갖는 것일 수 있음을 확인하였고, 상기 암세포에 대하여 세포독성을 나타내는 것은 아폽토시스(apoptosis)를 유도하는 효능임을 확인하였으나, 상기 약학적 조성물의 효능이 이에 제한 되는 것은 아니다.

[0029] 본 발명에서 사용되는 용어 "아폽토시스(apoptosis)"는 유전적 성질에 의한 암세포의 사멸을 의미하며, 본 발명의 목적상 아폽토시스는 난소암 세포의 사멸을 의미하는 것이다.

[0030] 본 발명의 다른 실시예에서는, MTT assay를 통해 애기기린초 추출물에 UVA를 처리하였을 때 인간 난소암 세포(A2780)의 세포 생존 능력에 대한 효과를 확인하고(실시예 4 참조), Annexin V-FITC assay를 통해 애기기린초 추출물에 UVA를 처리하였을 때 암세포에 대한 아폽토시스 유도 활성을 확인하였다(실시예 5 참조).

[0031] 상기 실시예로부터 본 발명의 애기기린초 추출물의 광감각제로서의 기능을 확인하고, 상기 추출물이 광역동 치료용 조성물로서 암세포에 대하여 선택적으로 세포 독성을 갖는 것일 수 있으며, 상기 암세포에 대하여 세포독성을 나타내는 것은 아폽토시스(apoptosis)를 유도하는 효능임을 확인하였으나, 상기 광역동 조성물의 효능이 이에 제한 되는 것은 아니다.

[0032] 이에, 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 광역동 치료용 조성물을 제공한다.

[0033] 본 발명에서 사용되는 용어 "광역동 치료(photodynamic therapy"란 피부에 빛에 반응하는 광감각제를 바른 뒤 특정 파장의 빛을 조사하면 질병세포 선택적으로 빛을 축적시켜 치료적 효과를 갖는 치료방법에 관한 것으로, 구체적으로는 광감각제로서 애기기린초 추출물을 이용하여 난소 암을 치료하는 방법에 관한 것을 의미하며, 상기 광감각제는 특정 파장의 빛에 조사되었을 때 여기(excitation)된 후 형광신호를 생성하거나, 주변의 기질 또는 산소와 반응하여 반응성 산소종(reactive oxygen species)을 생성하는 물질로 상기 반응성 산소종은 주변 종양 세포를 자멸 또는 괴사시키는 효과를 가지며 본 발명의 목적상 광역동 치료는 광감각제로서 애기기린초 추출물을 이용하여 난소암을 사멸시키는 것을 의미한다.

[0034] 본 발명에 따른 상기 예방 또는 치료용 조성물은 애기기린초 추출물을 유효성분으로 포함하며, 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 사이클로덱스트린, 덱스트로즈 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올, 리포좀 등을 포함하지만 이에 한정되지 않으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제, 윤활제 등을 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제화에 관해서는 레밍턴의 문헌에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 제형에 특별한 제한은 없으나 주사제, 흡입제, 피부 외용제 등으로 제제화할 수 있다.

[0035] 본 발명의 예방 또는 치료용 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여 (예를 들어, 정맥내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으나, 바람직하게는 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0036] 본 발명의 예방 또는 치료용 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료 또는 진단에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 진단하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명에 다른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0037] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 애기기린초(Sedum middendorttianum Maxim) 추출물을 포함하는, 난소암

개선 또는 예방용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0038] 본 발명에서 사용되는 용어, "건강기능식품(health functional food)"은 특정보건용 식품과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 경우에 따라, 기능성식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어로 혼용될 수 있으며, 상기 식품은 유용한 효과를 얻기 위하여 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다.

[0039] 본 발명의 건강기능식품은 식품 조성물에 통상적으로 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예들 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 디히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시 톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0040] 본 발명의 건강기능식품을 식품 첨가물로 사용할 경우, 이를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0041] 본 발명의 건강기능식품에 있어서, 애기기린초 추출물의 함량은 특별히 제한되지 않으며, 투여 대상의 상태, 구체적인 병증의 종류, 진행 정도 등에 따라 다양하게 변경될 수 있다. 필요한 경우, 식품의 전체 함량으로도 포함될 수 있다.

[0042] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 애기기린초 추출물을 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 난소암의 예방, 개선 또는 치료방법을 제공한다.

[0043] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 조성물의 난소암 예방, 개선 및 치료 용도를 제공한다.

[0044] 본 발명에서 "개체"란 질병의 예방, 조절 또는 치료방법을 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는, 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐(mouse), 쥐(rat), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0045]

[0046] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0048] **[실시예]**

[0049] **실시예 1. 애기기린초 추출물의 제조**

[0050] 음건한 애기기린초 (Sedum middendorffianum Maxim., 대한민국 경기도 한택식물원 제공)에 건조중량 대비 10배(g/L)의 70%(v/v) 에탄올 수용액을 가하고 실온에서 7일간 침지하여 여액을 취하였고, 동일한 방법으로 1회 반복 추출하였다. 추출한 여액을 35℃ 온도에서 감압농축 후 동결 건조하여 애기기린초 70% 에탄올 추출물을 수득하였다.

[0051] **실시예 2. 애기기린초 추출물의 암세포에 대한 세포 독성 확인**

[0052] MTT assay를 통해 인간 정상 난소세포 (IOSE)와 인간 난소암 세포(A2780)의 세포 생존 능력에 대한 애기기린초 추출물의 효과를 조사하였다. 간략하게, 각 웰 당 50㎕의 RPMI 배지를 함유하는 96-웰 플레이트의 각 웰에 세포($5\times10^4$)를 분주하였다. 24시간 후, 다양한 농도의 추출물을 첨가하였다. 48시간 후, 25㎕의 MTT (5 mg/mL 저장용액)를 첨가한 다음, 상기 플레이트를 추가로 4시간 동안 배양하였다. 그 다음, 상기 배지를 제거한 후, 세포에서 형성된 포마잔 블루(formazan blue)를 50㎕ DMSO에 녹였다. 광학 밀도는 마이크로플레이트 분광 광도계(Spectra Max; Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 540 nm에서 측정하였다.

[0053] 그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 애기기린초의 에탄올추출물은 난소정상세포 (IOSE)의 세포성장에는 영향이

없었으나 (IC50>200ug/ml), 난소암세포 (A2780)의 viability를 유의성 있게 억제하여 (IC50 = 50.25ug/ml), 암세포선택적 세포독성을 보이는 것을 확인하였다.

[0055] **실시예 3. 애기기린초 추출물의 암세포에 대한 아폽토시스(apoptosis) 유도 효능 확인**

[0056] 애기기린초 추출물의 암세포에 대한 아폽토시스 유도 효능을 확인하기 위해 다음과 같은 방법으로 Annexin V-FITC assay (아넥신 V 및 PI 이중 염색)를 수행하였다. 세포를 60mm dish에 $1x10^5$cells/dish로 분주하고 24시간 동안 안정화시켰다. 애기기린초 추출물과 cisplatin을 첨가하고 48시간 배양한 후, 세포를 모집하였다. 아넥신 V 및 PI 이중 염색을 위해, 세포를 100㎕의 바인딩 버퍼(10mM HEPES/NaOH, 140 mM NaCl, 2.5 mM CaCl2, pH 7.4)로 현탁시키고, 1.25㎕의 FITC-결합된 아넥신 V 및 PI (50㎎/㎖)로 염색하였다. 상기 혼합물을 암실에서 실온에서 15분 동안 배양하고 FACS 카터-플러스 유동 세포 계측기로 분석하였다.

[0057] 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 애기기린초 에탄올 추출물의 농도에 따라 아폽토시스가 유도되는 것이 확인되었고, 상기 결과로부터 애기기린초가 나타내는 암세포의 독성은 apoptotic cell death를 통한 것임을 확인하였다.

[0059] **실시예 4. 애기기린초 추출물의 암세포에 대한 광역동 치료 효능 확인**

[0060] 애기기린초 추출물의 암세포에 대한 광역동 치료 효능을 확인하기 위해, 인간 난소암 세포(A2780)의 세포 생존 능력에 대한 UVA처리 효과를 MTT assay를 이용해 조사하였다. 96-웰 플레이트의 각 웰에 세포를 분주한 후 24시간 동안 안정화시켰다. 이후 애기기린초 추출물과 cisplatin을 첨가하고 750mJ/$cm^2$ UVA를 조사하였다. 48시간 후 MTT assay를 수행하여 IC50 값을 확인하였다.

[0061] 그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, 애기기린초의 에탄올추출물에 단독으로는 cell viability에 영향이 없는 약한 강도(750mJ/$cm^2$)의 UVA를 조사하면 IC50 값이 43.37ug/ml에서 12.7ug/ml로 3배 이상 낮아지는 것을 확인하였다. 즉, 상기 결과로부터 애기기린초 추출물이 암치료에 photodynamic therapy (PDT, 광역동요법)적으로 사용이 가능함을 확인 할 수 있었으며, 난소암 치료에 사용되는 cisplatin의 경우, 상기와 동일한 방식으로 UVA를 조사하였을 때 세포독성변화가 없는 것을 확인하였다.

[0062]

[0063] **실시예 5. 애기기린초 추출물을 UVA 조사하였을 때 암세포에 대한 아폽토시스(apoptosis) 유도 효능 확인**

[0064] 애기기린초 추출물에 UVA를 처리하였을 때 암세포에 대한 아폽토시스 유도 효능을 확인하기 위해, 인간 난소암 세포(A2780)를 60mm dish에 $1x10^5$ cells/dish로 분주하고 24시간 안정화시켰다. 애기기린초 추출물을 첨가하고 750mJ/$cm^2$ UVA을 조사하여 48시간 배양한 후 세포를 모집하였다. 아넥신 V 및 PI 이중 염색을 수행하여 apoptosis 여부를 확인하였다.

[0065] 그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, UVA 처리에 의해 아폽토시스 유도 효능이 약 2배 정도 상승하였고, 상기 결과로부터 애기기린초 에탄올추출물을 UVA 처리하였을 때 유도되는 암세포 독성은 apoptotic cell death를 통한 것임을 확인 하였다.

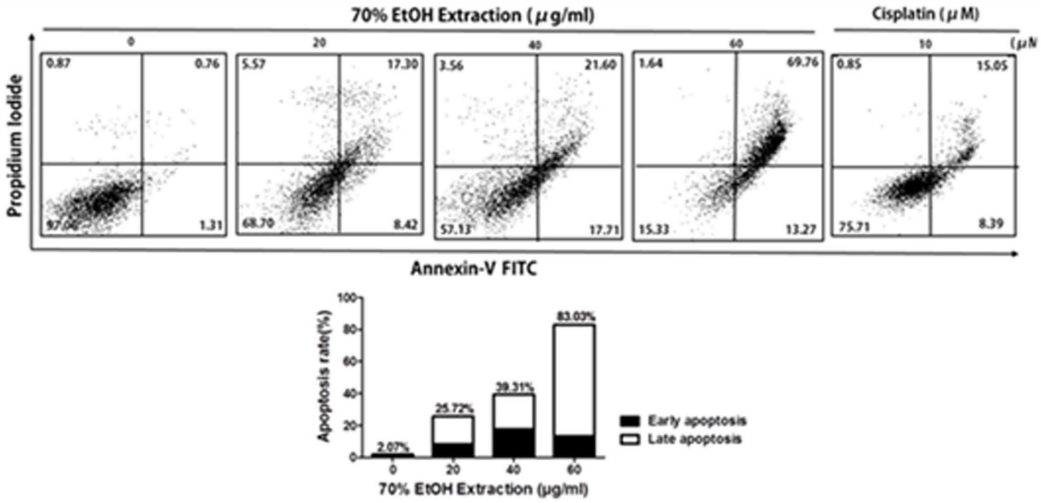
[0067] 상기 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

도면1

| 시료 | IC50 (μg/ml) | |
|---|---|---|
| | Immortalized ovarian surface epithelial cells (IOSE) | Ovarian cancer cells (A2780) |
| *Sedum middendorffianum* Maxim. 애기기린초 | >200 | 50.25 ± 4.35 |

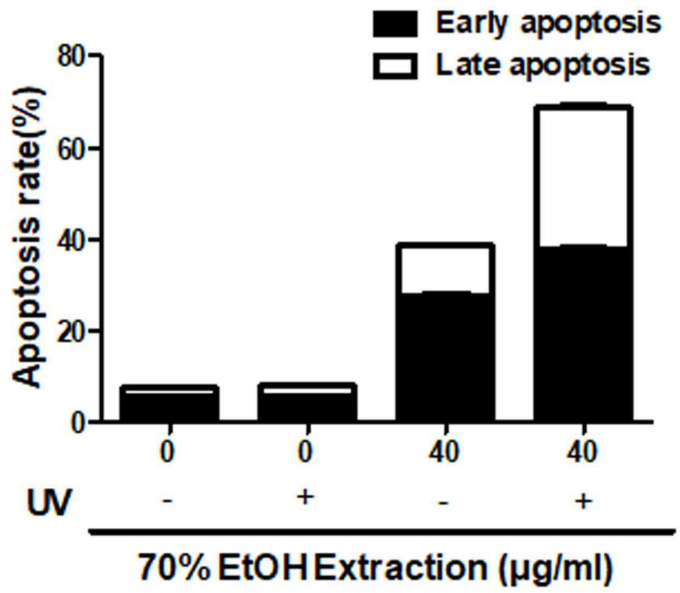
도면2




도면3

| 시료 | IC50 | |
|---|---|---|
| | Ovarian cancer cells (A2780) | Ovarian cancer cells (A2780) +UVA (750mJ/cm2) |
| *Sedum middendorffianum* Maxim. 애기기린초 (ug/ml) | 43.37 | 12.7 |
| Cisplatin (uM) | 11.14 | 11.13 |

도면4


Early apoptosis
Late apoptosis
Apoptosis rate(%)
80
60
40
20
0
0
0
40
40
UV
-
+
-
+
70% EtOH Extraction (μg/ml)