

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0084973
(43) 공개일자 2023년06월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/22 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/232 (2006.01) A61K 36/60 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/22 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2021-0173191

(22) 출원일자 2021년12월06일

심사청구일자 2021년12월06일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

고성규

서울특별시 강남구 압구정로 401, 51동 606호(압구정동, 한양아파트)

김지혜

서울특별시 동대문구 경희대로 26 스페이스21, 한의과대학 #861

강수연

서울특별시 동대문구 경희대로 26 스페이스21, 한의과대학 #861

(74) 대리인

김순용

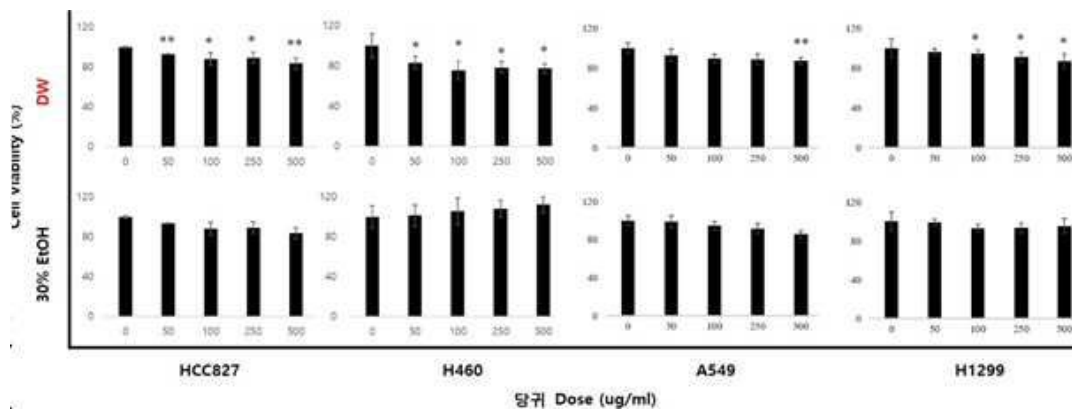
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 혼합 생약 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 조성물, 및 면역 증진용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 정상 세포의 성장에는 영향을 미치지 않으면서도, 암 세포에만 특이적으로 증식을 억제하고, 암 세포 전이를 억제하는 우수한 항암 효과를 가지고 있다. 또한, 면역 증진 효과가 우수하여 일반적인 항암제의 면역 기능 저하와 같은 부작용을 보완할 수 있는바, 암의 예방, 개선 및 치료를 위한 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 36/232 (2013.01)

A61K 36/60 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711135284
과제번호	2020R1A5A2019413
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원(R&D)
연구과제명	한약물 재해석 암 연구 센터
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2020.07.01 ~ 2027.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1내지 4의 알코올 및 이들의 혼합 용매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출한 것을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 탄소수 1 내지 4의 알코올은 20 내지 40% (v/v)의 에탄올인 것을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 건칠, 당귀 및 상백피를 1~10:1~10:1의 중량비로 혼합한 것을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 암은 위암, 간암, 결장암, 유방암, 폐암, 비소세포성폐암, 골암, 췌장암, 피부암, 두부암, 두경부암, 흑색종, 자궁암, 난소암, 대장암, 소장암, 직장암, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암, 자궁경부암, 질암, 음문암, 호지킨병(Hodgkin's disease), 식도암, 임파선암, 방광암, 담낭암, 내분비선암, 전립선암, 갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 신장암, 수뇨관암, 신장골반암, 혈액암, 뇌암, 중추신경계(CNS; central nervous system) 종양, 척수 종양, 교모세포종, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체 선종으로 이루어진 군에서 선택된 것임을 특징으로 하는, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 치료 보조용 조성물.

청구항 8

건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 조성물, 및 면역 증진용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 암은 인류가 해결해야 할 난치병 중의 하나로, 전 세계적으로 이를 치유하기 위한 개발에 막대한 자본이 투자되고 있는 실정이며, 우리나라의 경우, 질병 사망원인 중 제 1위의 질병으로서 연간 약 10 만 명 이상이 진단되고, 약 6 만 명 이상이 사망하고 있다. 이러한 암의 유발 인자인 발암물질로는 흡연, 자외선, 화학물질, 음식물, 기타 환경인자들이 있으나, 그 유발 원인이 다양하여 치료제의 개발이 어려울 뿐만 아니라 발생하는 부위에 따라 치료제의 효과 또한 각기 다르다. 현재 치료제로 사용되는 물질들은 상당한 독성을 지니고 있으며, 암 세포만을 선택적으로 제거하지 못하므로, 암의 발생 후 이의 치료뿐 아니라, 암의 발생을 예방하기 위한 독성이 적고 효과적인 항암제의 개발이 절실히 필요하다.

[0003] 한편, 건칠은 옻나무 *Rhus verniciflua* Stokes(옻나무과 *Anacardiaceae*)과에 속하며, 동의보감에 따르면 어혈을 없애어 부인의 월경을 순조롭게 하게 하고 기생충을 없애는 살충의 효능을 지닌다.

[0004] 또한, 당귀는 산형과 참당귀 (*Angelica gigas* Nakai)의 건조시킨 뿌리를 말한다. 동의보감에 따르면 혈을 보하여 피가 부족하거나 몰린 것을 치료하고 월경을 조화롭게 하며 통증을 그치게 하는 효능을 지닌다. 또한 항균 활성, 갱년기 장애 완화, 심부정맥혈전증, 항산화 활성에 대한 연구 보고가 존재한다.

[0005] 또한, 상백피는 뽕나무과의 뽕나무 (*Morus alba* L.) 또는 동속 식물의 뿌리껍질로 만든 약제이다. 동의보감에 따르면 거담 작용, 기침을 멈추는 효능, 어혈을 제거하는 효능, 해갈 작용 등을 지닌다. 또한 항염 작용, 항산화 효과, 혈당 및 혈압 강하 작용에 대한 연구 보고가 존재한다.

[0006] 상기한 바와 같이 건칠, 당귀 및 상백피의 다양한 약리 효과가 알려져 있지만 이들의 혼합 추출물의 항암 효과에 대해서는 전혀 밝혀진 바가 없으며 이에 대한 연구도 전무한 상태이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이에 본 발명자들은 부작용이 적은 신규 항암제를 개발하기 위해 연구를 수행하였으며, 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 우수한 항암 효과 및 면역 증진 효과가 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0008] 본 발명의 목적은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 치료 보조용 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0012] 또한 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 식품 조성물을 제공한다.

[0013] 또한 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 치료 보조용 조성물을 제공한다.

[0014] 또한 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 정상 세포의 성장에는 영향을 미치지 않으면서도, 암 세포에만 특이적으로 증식을 억제하고, 암 세포 전이를 억제하는 우수한 항암 효과를 가지고 있다. 또한, 면역 증진 효과가 우수하여 일반적인 항암제의 면역 기능 저하와 같은 부작용을 보완할 수 있는바, 암의 예방, 개선 및 치료를 위한 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1 은 당귀의 추출 용매에 따른 항암 효과를 비교한 결과를 나타낸 도이다.
 도 2는 상백피의 추출 용매에 따른 항암 효과를 비교한 결과를 나타낸 도이다.
 도 3은 혼합 비율에 따른 항암 효과를 비교한 결과를 나타낸 도이다.
 도 4는 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 암세포 성장에 미치는 영향을 확인한 결과를 나타낸 도이다.
 도 5는 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 콜로니 형성, 침윤 및 전이 억제에 미치는 영향을 확인한 결과를 나타낸 도이다.
 도 6은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 비장 세포의 증식에 미치는 영향을 확인한 결과를 나타낸 도이다.
 도 7은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 BMDM의 활성화 및 BMDC의 분화에 미치는 영향을 확인한 결과를 나타낸 도이다.
 도 8및 도 9는 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 다양한 암세포 성장에 미치는 영향을 확인한 결과를 나타낸 도이다.
 도 10은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 다양한 암세포의 콜로니 형성에 미치는 영향을 확인한 결과를 나타낸 도이다.
 도 11은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 다양한 암세포의 침윤 및 전이에 미치는 영향을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명의 조성물에서 유효성분인 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 하기와 같은 방법으로 수득될 수 있다.

[0020] 먼저, 건칠, 당귀 및 상백피를 물로 세척하여 이물질을 제거한다. 건칠, 당귀 및 상백피는 재배한 것 또는 시판되는 것 등을 제한없이 사용할 수 있다. 상기 건칠, 당귀 및 상백피 각각에 10~30배 부피의 용매를 가하여 완전히 침지되도록 한다. 추출 방법은 실온에서 함침하거나 가온할 수 있다. 상기 추출 용매는 이에 제한되지 않으나, 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 이들의 혼합용매로부터 선택된 1종 이상의 용매를 이용할 수 있으며, 바람직하게는 물 또는 에탄올이다. 더욱 바람직하게는 항암 효과를 극대화하기 위하여 건칠 또는 당귀는 물을, 상백피는 30% 에탄올을 추출 용매로 사용할 수 있다. 상기 추출물을 여과 및 감압 농축하여 건칠, 당귀 및 상백피 각각의 추출물을 수득한다. 이 후, 건칠, 당귀 및 상백피를 혼합하여 혼합 추출물을 수득한다.

[0021] 상기 생약제의 혼합 비율은 바람직하게는 건칠:당귀:상백피=1~10:1~10:1의 중량비이며, 더욱 바람직하게는 1~5:1~5:1이고, 더 더욱 바람직하게는 5:1~3:1, 가장 바람직하게는 5:3:1이다. 상기 함량은 본 발명에서 제시한 효과를 가지는 범위로서, 상기 함량 범위를 벗어날 경우 단독 추출물과의 효과 차이가 크지 않다.

[0022] 본 발명에서 상기 추출물은 추출 처리에 의해 얻어지는 추출액, 이의 회석액, 농축액, 추출물의 건조물, 이들의 정제물을 모두 포함한다. 추출 방법은 특별히 제한되지 않으며, 가열 추출, 가압 추출, 초음파 추출, 환류 순환 추출, 초음파 추출, 초임계 추출 방법 등 당업계에 공지된 다양한 추출 방법을 통해 추출할 수 있다. 상기 추출은 상기 용매를 사용하여 냉침, 온침, 가열 등 당해 기술 분야의 통상적인 방법이 사용될 수 있다.

[0023] 본 발명에 있어서, 암은 일반적인 암 질환을 모두 포함하며, 예를 들어 위암, 간암, 결장암, 유방암, 폐암, 비

소세포성폐암, 골암, 췌장암, 피부암, 두부암, 두경부암, 흑색종, 자궁암, 난소암, 대장암, 소장암, 직장암, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암, 자궁경부암, 질암, 음문암, 호지킨병(Hodgkin's disease), 식도암, 임파선암, 방광암, 담낭암, 내분비선암, 전립선암, 갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 신장암, 수뇨관암, 신장골반암, 혈액암, 뇌암, 중추신경계(CNS; central nervous system) 종양, 척수 종양, 교모세포종, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체 선종일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0024] 본 발명에 따른 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 정상 세포의 성장에는 영향을 미치지 않으면서도, 암 세포에만 특이적으로 증식을 억제하고, 암 세포 전이를 억제하는 우수한 항암 효과를 가지고 있다.

[0025] 본 발명의 조성물은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물과 함께 항암 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 더 함유할 수 있다.

[0026] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science, 최근, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 것을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등이 있다. 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 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 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, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 또한, 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로스테라틴 등이 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명에서 사용되는 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0028] 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 혼합 추출물은 1일 1 mg/kg 내지 10000 mg/kg의 양으로 투여할 수 있으며, 하루에 한번 또는 수 회 나누어 투여할 수도 있다.

[0029] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0030] 본 발명의 조성물은 암의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0032] 또한 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0033] 상기 식품 조성물은 바람직하게는 건강기능식품의 형태일 수 있다.

[0034] 본 발명에서, '건강기능식품'이란 질병의 예방 또는 개선, 생체방어, 면역, 병후의 회복, 노화 억제 등 생체조절기능을 가지는 식품을 말하는 것으로, 장기적으로 복용하였을 때 인체에 무해하여야 한다. 본 발명의 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 암의 예방 또는 개선을 목적으로 건강기능식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용

될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 원료에 대하여 15중량 % 이하, 바람직하게는 10 중량 % 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0035] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0036] 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 0.01 내지 10 g, 바람직하게는 약 0.01 내지 0.1 g 이다.

[0037] 상기 외에 본 발명의 조성물은 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, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0039] 또한, 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 치료 보조용 조성물을 제공한다.

[0040] 또한, 본 발명은 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물을 제공한다.

[0041] 상기 조성물은 약학적 조성물 또는 식품 조성물을 모두 포함한다.

[0042] 본 발명에 따른 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물은 면역 증진 효과가 우수하여 일반적인 항암제의 면역 기능 저하와 같은 부작용을 보완할 수 있어, 항암 치료 보조용 및 면역 증진용으로 활용될 수 있다.

[0044] 이하 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예, 실험예 및 제조예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예, 실험예 및 제조예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0046] 실시예 1. 최적 추출 용매의 선정

[0047] 우수한 항암 효과를 나타내는 용매를 선정하기 위하여, 물 및 30% 에탄올을 사용하여 종래 공지된 방법에 따라 MTT 어세이를 수행하였다. 암 세포주는 폐암 세포주(HCC827, H460, A549 또는 H1299)를 이용하였다.

[0048] 보다 구체적으로, 96 웰 플레이트에서 배양한 각 암 세포주에 제조한 물 추출물 또는 30% 에탄올 추출물을 다양한 농도 (50~500 $\mu\text{g/ml}$)로 처리한 후 72 시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 그 후 MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 시약을 각각의 웰에 처리하고 4시간 동안 더 배양한 후, 상층액을 제거하고 100 μl 의 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 첨가하였다. 최종적으로 590 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 흡광도 값을 아무것도 처리하지 않은 대조군과 비교하였다. 그 결과를 도 1 내지 도 2에 나타내었다.

[0049] 도 1에 나타난 바와 같이, 당귀의 경우 30% 에탄올 추출물이 유의한 항암 효과를 나타내지 않는 것에 비해, 물 추출물은 농도에 따라 폐암 세포주의 성장을 억제하는 우수한 항암 효과를 보임을 확인하였다.

- [0050] 또한, 도 2에 나타난 바와 같이, 상백피의 경우 물 추출물이 유의한 항암 효과를 나타내지 않는 것에 비해, 30% 에탄올 추출물은 농도에 따라 폐암 세포주의 성장을 억제하는 우수한 항암 효과를 보임을 확인하였다.
- [0051] 유사한 방법으로 건칠 추출물의 경우, 물이 최적 용매임을 확인하였다.
- [0053] **실시예 2. 최적 혼합 비율의 선정**
- [0054] 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 비율에 따른 항암 효과의 차이를 확인하고, 최적 혼합 비율을 선정하기 위하여 다양한 농도로 혼합 추출물을 제조하였다. 각 군의 정보는 다음과 같다 : 건칠:당귀:상백피(w/w), S6 (5:3:1), S7 (2:1:1), S8 (5:1:1), S9 (1:5:1), S10 (1:1:5)
- [0055] 폐암 세포주는 HCC827을 사용하였고 실험은 종래 공지된 방법에 따라 MTT 어세이를 수행하였다. 그 결과는 도 3에 나타내었다.
- [0056] 도 3에 나타난 바와 같이, 상대적으로 건칠 추출물의 비율이 높은 군에서 항암 효과가 우수한 것으로 확인하였으며, 건칠 추출물과 상백피 추출물이 동일하게 5:1일때는 상대적으로 당귀 추출물의 함량이 높은 군에서 항암 효과가 우수한 것을 확인하였다. 종합적으로는 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 비율이 5:3:1인 군(S6)이 가장 우수한 항암 효과를 나타냄을 확인하였으며, 이후 실험에서는 해당 혼합 비율을 이용하였다.
- [0058] **실시예 3. 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물의 제조**
- [0059] 실시예 2에서의 실험 결과를 토대로, 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 제조하였다. 건칠, 당귀 및 상백피를 각각 세척 후, 건칠 및 당귀는 물에, 상백피는 30% 에탄올에 침지 시킨 후, 물추출은 가열기 (105° C 로 설정)를 켜고 물이 끓어오르는 시점으로, 유기용매추출은 가열기 (80° C 로 설정)에서 3 시간 동안 추출하였다. 상기 추출액을 여과하고 여액을 감압 농축한 후, 건조하여 각각의 추출물을 수득하였다. 상기 과정을 통해 수득된 건칠, 당귀 및 상백피의 추출물을 건조 중량을 기준으로 5:3:1의 중량비로 혼합하여, 혼합 추출물을 수득하였다.
- [0061] **실험예 1. 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물의 암세포에 대한 성장 억제 효과 확인**
- [0062] 상기 실시예 3에서 제조한 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물의 항암 효과를 단독 추출물과 비교하기 위하여, 폐암 세포주 HCC827를 이용하여 종래 공지된 방법에 따라 MTT 어세이를 수행하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.
- [0063] 도 4에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 혼합 추출물의 경우 저농도인 100 $\mu\text{g/ml}$ 부터 유의하게 세포 생존율을 억제하며, 특히 고농도인 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 약 90%에 가까운 매우 현저한 항암 효과를 나타내는 반면, 건칠 당귀 및 상백피 단독 추출물은 고농도인 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 약간의 항암 효과를 나타내는데 그치는 것을 확인하였다.
- [0065] **실험예 2. 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물의 콜로니 형성, 침윤 및 전이 억제 효과 확인**
- [0066] 상기 실시예 3에서 제조한 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 콜로니 형성에 미치는 영향을 확인하기 위해 동일한 세포주에서 clonogenic assay를 수행하였다. 보다 구체적으로, 6 웰 플레이트에서 배양한 폐암 세포주 HCC827에 제조한 혼합 추출물을 대조군을 포함해 농도 (0, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$)로 처리한 후 일주일 동안 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 그 후 크리스탈 바이올렛으로 콜로니를 염색하고 그 수를 측정하였다.
- [0067] 또한, 암세포의 침윤과 전이에 미치는 영향을 확인하기 위해 transwell assay를 통해 수행하였다. 보다 구체적으로, invasion assay의 경우, 매트릭셀 (matrigel)로 코팅된 위쪽 챔버에서 HCC827 폐암 세포주를 배양한 후, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물을 처리하고 48시간 동안 배양하였다. Metastasis assay의 경우, invasion assay와 거의 방법이 동일하나 챔버에 매트릭셀을 코팅하지 않는 차이점이 있다. 이상의 실험 결과를 도 5에 나타내었다.
- [0068] 도 5에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 혼합 추출물은 암 세포의 콜로니 형성, 세포 침윤 및 전이를 현저하

게 억제하는 항암 활성을 가지고 있음을 확인하였다.

[0070] 실험예 3. 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물의 면역 증진 효과 확인

[0071] 상기 실시예 3에서 제조한 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 면역력의 증진에 영향을 주는지 확인하기 위해 쥐 비장 세포를 이용하여 실험을 수행하였다.

[0072] 실험 동물로 7 주령의 마우스 (Nara Biotech)를 이용하였으며 비장을 분리하고 cell strainer에 갈아서 나온 세포를 이용하였다. 또한, 허벅지와 다리뼈를 분리해 식염수로 골수 세포를 분리한 후 시토카인 GM-CSF (PeproTech)를 처리하여 배양하였다. 바닥에 부착한 세포들은 대식세포 (BMDM, bone marrow derived macrophage)로 사용하였고 부착하지 않은 세포들은 수지상세포 (BMDC, bone marrow derived dendritic cell)로 사용하였다. 각각의 면역세포를 96 웰 플레이트에 깔아 MTT 어세이를 수행하였다. 또한 6 웰 플레이트에 배양해 S6 혼합 추출물을 처리하였을 때 BMDM의 활성화 여부와 BMDC의 분화 여부를 현미경으로 관찰하였다. 그 결과를 도 6와 도 7에 나타내었다.

[0073] 도 6 및 도 7에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 혼합 추출물은 암세포가 아닌 정상세포, 즉, BMDM과 BMDC에 대해서는 독성을 나타내지 않으며, 이를 성숙한 형태로 분화시키고, 성장을 증진시키는 효능이 있음을 확인하였다. 따라서 이를 통해, 본 발명에 따른 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 면역능을 증진시키는 효과가 우수함을 확인하였다.

[0075] 실험예 4. 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물의 다양한 암종에서의 항암 효과 확인

[0076] 상기 실시예 3에서 제조한 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 폐암 세포 외에 다른 암종에서도 항암 활성을 가지는지 확인하기 위하여 전립선암 세포주인 DU145, 유방암 세포주인 HCC1419, 대장암 세포주인 HCT116, 췌장암 세포주인 HPAC, 간암 세포주인 SNU387, 위암 세포주인 AGS, 교모세포종 세포주인 U87, 역형성갑상선암 세포주 SNU-80, 폐암 세포주인 H1299를 이용하여 MTT 어세이를 수행하였다. 또한, 콜로니 형성, 침윤 및 전이 억제 효과를 확인하기 위한 실험을 수행하였다. 이상의 실험 결과를 도 8 내지 11에 나타내었다.

[0077] 도 8 및 도 9에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 혼합 추출물은 전립선암, 유방암, 대장암, 췌장암, 간암, 위암, 교모세포종, 역형성갑상선암 및 폐암 세포에 대해 모두 우수한 항암 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0078] 또한, 도 10 및 도 11에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 혼합 추출물은 전립선암, 유방암, 대장암, 췌장암, 간암, 위암, 교모세포종, 역형성갑상선암 및 폐암 세포에서 모두 콜로니 형성, 세포 침윤 및 전이를 현저하게 억제하는 항암 활성을 가지고 있음을 확인하였다.

[0080] 이상의 실험 결과를 통하여, 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물이 정상 세포의 성장에는 영향을 미치지 않으면서도, 암 세포에만 특이적으로 증식을 억제하고, 암 세포 전이를 억제하는 우수한 항암 효과를 가지고 있음을 확인하였다. 또한, 면역 증진 효과가 우수하여 일반적인 항암제의 면역 기능 저하와 같은 부작용을 보완할 수 있는바, 암의 예방, 개선 및 치료를 위한 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0082] 이하 본 발명의 약학적 조성물 및 식품 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0084] 제제예 1. 약학적 조성물의 제조

[0085] 1-1. 산제의 제조

[0086]	건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물	20 mg
[0087]	유당	100 mg
[0088]	탈크	10 mg

[0089] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0091] **1-2. 정제의 제조**

[0092] 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물 10 mg

[0093] 옥수수전분 100 mg

[0094] 유당 100 mg

[0095] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0096] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0098] **1-3. 캡슐제의 제조**

[0099] 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물 10 mg

[0100] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0101] 락토오스 14.8 mg

[0102] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0103] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0105] **1-4. 주사제의 제조**

[0106] 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물 10 mg

[0107] 만니톨 180 mg

[0108] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0109] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 26 mg

[0110] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0112] **1-5. 액제의 제조**

[0113] 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물 20 mg

[0114] 이성화당 10 g

[0115] 만니톨 5 g

[0116] 정제수 . 적량

[0117] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0119] **제제예 2. 식품 조성물의 제조**

[0120] **2-1. 건강식품의 제조**

[0121] 건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물 100 mg

[0122] 비타민 혼합물 적량

[0123]	비타민 A 아세테이트	70 μg
[0124]	비타민 E	1.0 mg
[0125]	비타민 B1	0.13 mg
[0126]	비타민 B2	0.15 mg
[0127]	비타민 B6	0.5 mg
[0128]	비타민 B12	0.2 μg
[0129]	비타민 C	10 mg
[0130]	비오틴	10 μg
[0131]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0132]	엽산	50 μg
[0133]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0134]	무기질 혼합물	적량
[0135]	황산제1철	1.75 mg
[0136]	산화아연	0.82 mg
[0137]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0138]	제1인산칼륨	15 mg
[0139]	제2인산칼슘	55 mg
[0140]	구연산칼륨	90 mg
[0141]	탄산칼슘	100 mg
[0142]	염화마그네슘	24.8 mg
[0143]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.	
[0145]	<u>2-2. 건강음료의 제조</u>	
[0146]	건칠, 당귀 및 상백피의 혼합 추출물	100 mg
[0147]	비타민 C	15 g
[0148]	비타민 E(분말)	100 g
[0149]	젖산철	19.75 g
[0150]	산화아연	3.5 g
[0151]	니코틴산아미드	3.5 g
[0152]	비타민 A	0.2 g
[0153]	비타민 B1	0.25 g
[0154]	비타민 B2	0.3 g
[0155]	물	정량
[0156]	통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 l 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성	

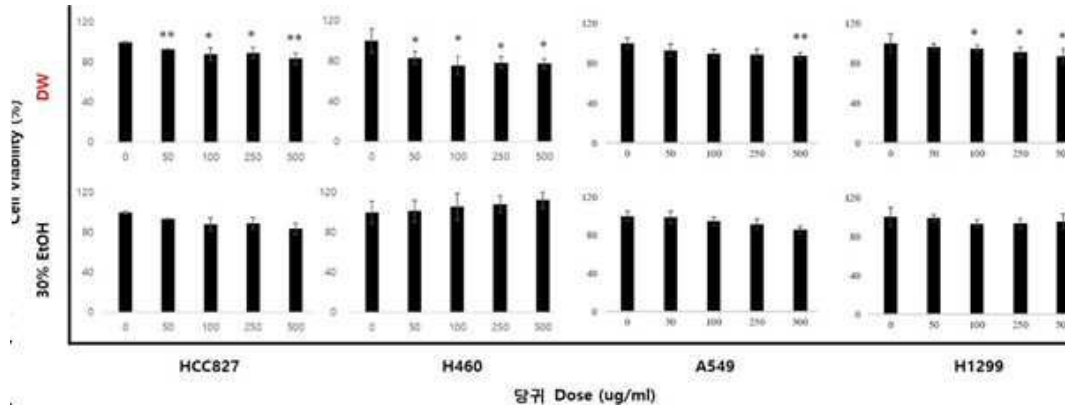
물 제조에 사용한다.

[0157]

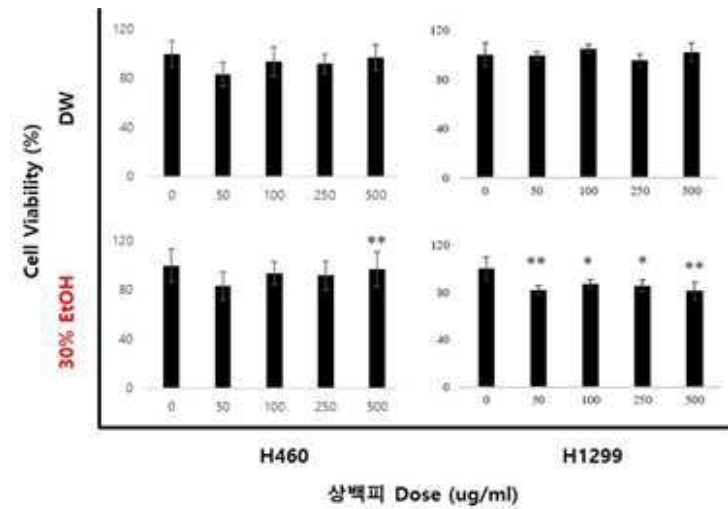
상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조정하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

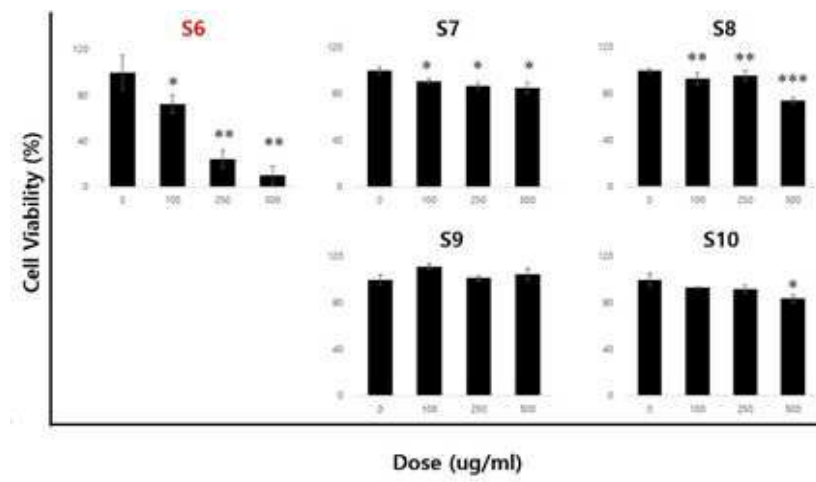
도면1



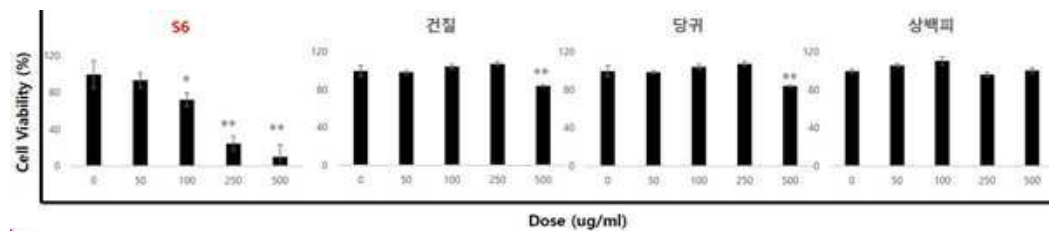
도면2



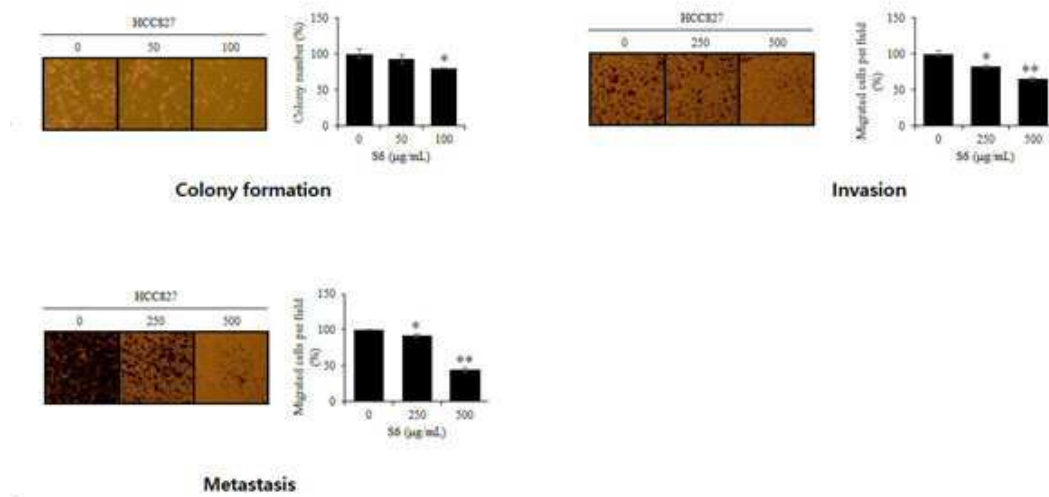
도면3



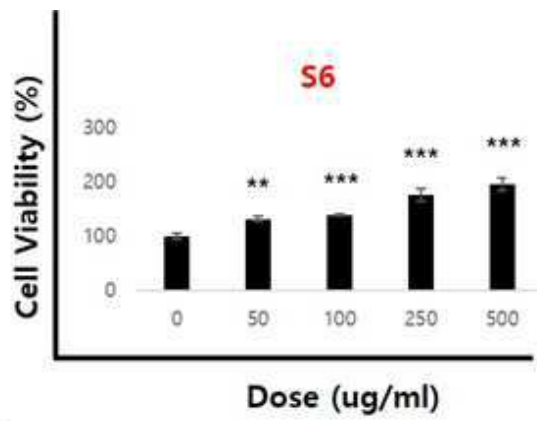
도면4



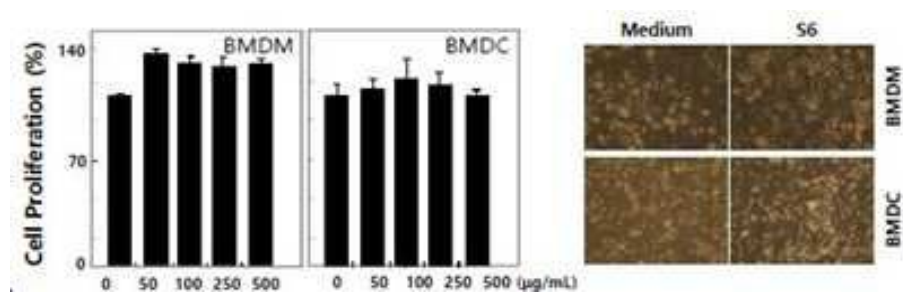
도면5



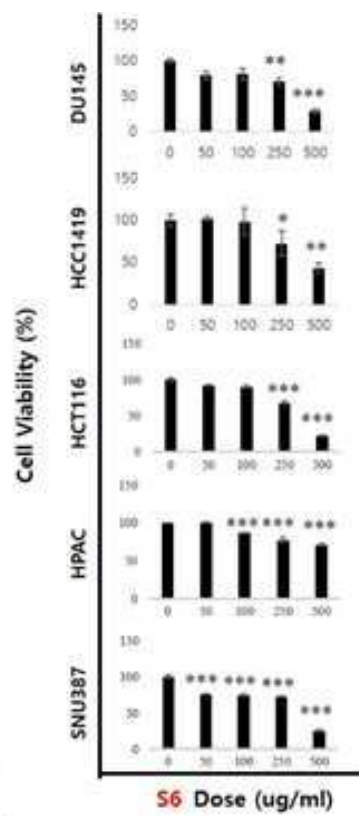
도면6



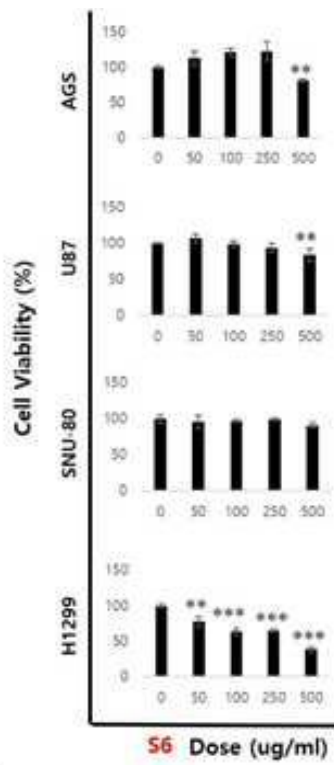
도면7



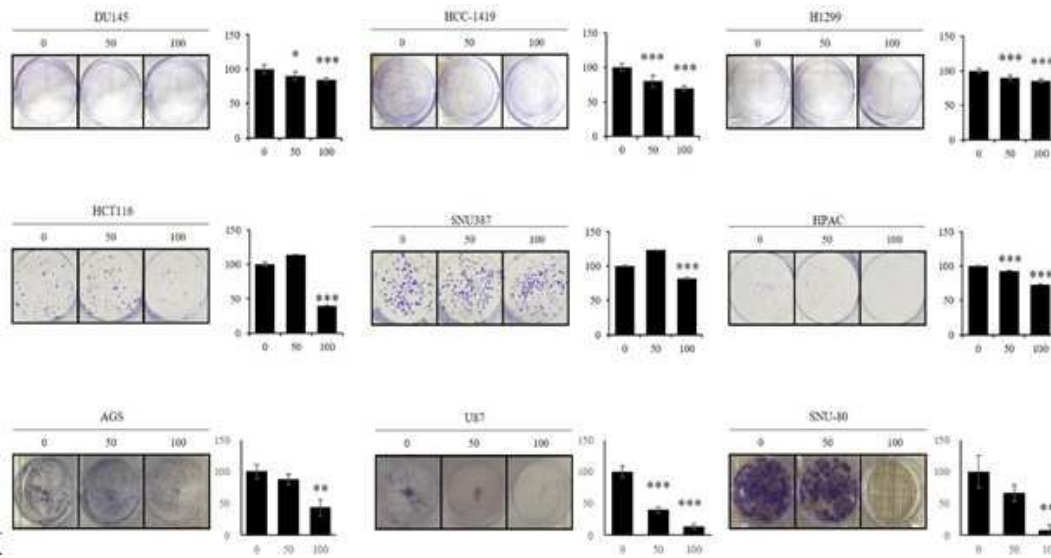
도면8



도면9



도면10



도면11

