

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2013-0010100 (43) 공개일자 2013년01월25일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 36/20 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) (21) 출원번호 10-2011-0070610 (22) 출원일자 2011년07월15일 심사청구일자 2011년07월15일	(71) 출원인 한림대학교 산학협력단 강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동) (72) 발명자 박정환윤 강원도 춘천시 후평1동 846-1 현대맨션 101동 101호 권규택 강원도 춘천시 봉의산길22번길 10, 305호 (봉의동) (뒷면에 계속) (74) 대리인 특허법인태동	

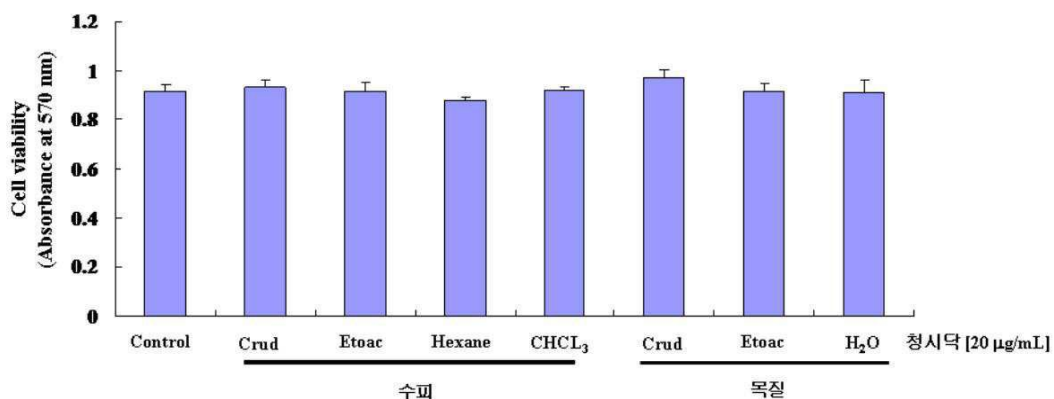
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 **암전이 억제 활성을 나타내는 청시닥 나무 수피 추출물 및 이를 함유하는 조성물**

(57) 요약

본 발명은 암전이 억제 활성을 나타내는 청시닥 나무 수피 추출물 및 이를 함유하는 조성물에 관한 것으로, 청시닥 나무(*Acer barbinerve* Max) 목질부의 추출물에서는 암전이 억제 활성이 미미함에 반해, 본 발명의 청시닥 나무(*Acer barbinerve* Max) 수피(樹皮)의 추출물은 세포 사멸 농도 이하에서 현저한 암전이 억제 활성을 나타냈다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김진규

강원도 춘천시 승지골길16번길 47, 1005동 1103호
(퇴계동, 프란체아파트)

권동주

강원도 춘천시 후석로 325, 포스코더샵아파트 104
동 1006호 (후평동)

김중대

강원도 춘천시 동산면 종자리로 379-55

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345-110371

부처명 교육과학기술부

연구사업명 지역거점연구단육성사업 / 의료바이오신소재융복합연구사업단

연구과제명 천연물유래 항산화 신소재 발굴 및 응용

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2009.04.01 ~ 2019.03.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 B0008864

부처명 지식경제부

연구사업명 지역혁신센터사업

연구과제명 식의약품의 효능평가 및 기능성 소재개발센터

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2001.03.01 ~ 2014.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 추출물을 분리함으로써 수득되는 암전이 억제 활성을 가지는 추출물.

청구항 2

청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출하여 추출물은 분리한 후, 에틸아세테이트로 분획하고, 분획물을 분리함으로써 수득되는 암전이 억제 활성을 가지는 추출물.

청구항 3

제1항 또는 제2항의 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 항암제.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 암전이 억제 활성을 나타내는 청시닥 나무 수피 추출물 및 이를 함유하는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 우리나라의 경제 수준이 높아짐에 따라 생활환경이 개선되고 식생활이 풍요로워짐에 따라 서구적인 식생활이 많이 보급되고 있다. 이러한 결과로 과다한 영양의 섭취나 불균형적인 식생활 등이 원인인 것으로 추정되는 암, 동맥경화, 뇌졸중, 당뇨병, 고혈압 등의 만성적인 성인병 질환이 크게 늘고 있다.

[0003] 지금까지 암을 치료하기 위해 다양한 방법들이 시도되고 있으며, 암 치료법은 약물 요법, 수술 요법, 방사선 요법 등으로 대별할 수 있다. 그 중 약물 요법은 약물 치료시 항암제를 경구 또는 정맥 투여할 경우 약물이 일단 혈류 통해 전신에 퍼졌다가 병소에 도달하게 되므로 병소에는 미량만이 집적되는 문제가 있다. 따라서, 병소에 적정량을 집적시키기 위해서는 다량의 약물을 투여해야 하는데, 이는 심각한 부작용을 유발할 수도 있다.

[0004] 한편, 방사선 요법의 경우, 안전성이 담보되지 않은 문제가 있다. 예를 들어, 간암에 효과적이라는 홀뮴(Holmium)과 같은 물질은 키토산 복합체(Milican, 동화약품주식회사)로 제조되어 그 효과가 입증된 바 있으나, 그 부작용 또한 심각하여 여전히 문제가 제기되고 있다. (Watterson. J. D. et al., J. Urol. 168:442-445, 2002; Peh, O. H. et al., Ann. Acad. Med. Singapore 30:563-567, 2001).

[0005] 이에 최근에는 이미 발생한 암을 직접적으로 컨트롤 및 제거하는 전략보다는 암 예방제로서 장기간에 걸쳐 일어나는 암의 진행단계에 효과적으로 저해 활성을 나타내는 물질이나 식품들을 찾는 연구가 집중되고 있다. (강진석 외, 화학적 암예방 고려의학, 2000; Surh, Y. J., Mutat. Res. 428:305-327, 1999; Sporn, M. B., Lancet. 347:1377-1381, 1996).

[0006] 한편, 암전이(metastasis)는 암이 최초 발생한 장기 내지 조직을 떠나 다른 장기 또는 조직에 붙어 증식하는 상태를 의미하는데, 전이 방식에는 접촉전이, 혈관을 경유하는 혈행성 전이와 림프관을 경유하는 림프행성 전이가 있다. 암이 원 발생 부위를 떠나 전이까지 진행된다면, 대개 심각한 단계에 이른 것으로 간주되기 때문에 암의 치료에 있어 전이를 막는 것은 대단히 중요하다.

[0007] 한편, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)는 단풍나뭇과의 낙엽 활엽 소교목으로 높이는 10 m 정도이다. 잎은 마주나고, 넓은 달걀 모양 또는 원형인데, 3-5 갈래로 갈라지고, 뒷면에 잔털이 많다. 줄기와 가지는 약용하고 깊은 산에서 자라는데 한국, 일본, 만주 등지에 분포한다. 수피는 녹색 또는 회갈색으로 어린 가지는 노란

색이지만, 가끔 붉은색인 것도 있으며, 털이 있다.

- [0008] 항암 활성이 있는 천연물 또는 그 추출물에 대해 많은 연구가 이루어지고 있는데, 청시닥 나무 추출물의 암전이 억제 기능을 탐색한 연구는 현재 미미한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 이에 본 발명은 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)로부터 암전이 억제 기능이 있는 추출물을 분리하여 항암제 조성물로 개발하여 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 제1형태로 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 추출물을 분리함으로써 수득되는 암전이 억제 활성을 가지는 추출물을 제공한다. 하기 본 발명의 실험에 의하면 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 수피부(樹皮部)의 열수 추출물에 암전이 억제 효능이 현저히 있는 것으로 확인되었다. 수피부가 암전이 억제 효능이 현저히 있음에 반해, 목질부는 암전이 억제 효능이 현저히 나타나지 않았다.
- [0011] 한편, 본 발명은 제2형태로 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출하여 추출물은 분리한 후, 에틸아세테이트로 분획하고, 분획물을 분리함으로써 수득되는 암전이 억제 활성을 가지는 추출물을 제공한다. 하기 본 발명의 실험에 의하면, 여러 분획물 중 에틸아세테이트 분획물에서 암전이 억제 활성이 가장 우수하게 나타났다.
- [0012] 한편, 본 발명은 제3형태로 상기 본 발명의 제1형태 또는 제2형태의 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 항암제 조성물을 제공한다. 본 발명에서 "유효성분으로 포함된다"는 의미는 항암 효과를 나타낼 수 있는 정도로 본 발명 제1형태의 추출물 또는 제2형태의 추출물이 조성물에 첨가되는 것을 의미한다. 즉, 조성물의 형태가 약학 조성물인 경우, 약물전달 및 안정화 등을 위하여 다양한 성분을 부성분으로 첨가하여 다양한 형태로 포물레이션(formulation)할 수 있고, 조성물의 형태가 식품 또는 화장품 조성물인 경우, 다양한 제형을 제조하기 위해 제형 베이스 및 부형제를 첨가할 수 있음을 의미하는 것이다.
- [0013] 본 발명에서의 '추출물'이라는 용어는 추출 용매를 포함하는 액상 형태와 추출 용매를 휘발시키고 잔존하는 고형분 분말 형태 모두를 포함하는 의미로 사용한다.
- [0014] 한편, 본 발명은 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물 또는 그 건조 분말을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 암 또는 암전이 예방용 식품 조성물을 제공하는데, 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물은 바람직하게 건조중량 대비 1~20 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 조성물 중에 첨가되는 것이 좋다.
- [0015] 본 발명의 암 또는 암전이 예방용 식품 조성물은 바람직하게 육류, 곡류, 카페인 음료, 일반 음료, 초콜렛, 빵류, 스낵류, 과자류, 피자, 젤리, 면류, 껌류, 아이스크림류, 알코올성 음료, 술, 비타민 복합제 및 그 밖의 건강보조식품류 중 선택되는 어느 하나인 것일 수 있는데, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0016] 한편, 본 발명은 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물 또는 그 건조 분말을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 암 예방 또는 치료용 약학 조성물에 포함되는 본 발명의 제1형태 또는 제2형태 추출물 또는 그 건조 분말의 함량은 예방 및 치료제의 사용방법, 복용자의 상태, 질환의 종류 및 질환의 중증 정도에 따라 바람직하게 조절하는 것이 좋는데, 바람직하게 건조중량 대비 1~20 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 조성물 중 첨가되는 것이 좋다.
- [0017] 한편, 본 발명의 암 예방 또는 치료용 약학 조성물은 유효성분 이외에 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 더욱 포함할 수 있다. 사용가능한 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유가 있으며, 이들은 1종 이상 사용될 수 있다. 또한, 예방 및 치료제가 약제인 경우 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 또

는 방부제 등이 추가적으로 포함될 수 있다.

[0018] 한편, 본 발명의 암 예방 또는 치료용 약학 조성물의 제형은 사용방법에 따라 바람직한 형태로 제형화될 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화하는 것이 좋다. 구체적인 제형의 예로는 경고제(PLASTERS), 과립제(GRANULES), 로션제(LPTIONS), 리니먼트제(LINIMENTS), 리모나데제(LEMONADES), 방향수제(AROMATIC WATERS), 산제(POWDERS), 시럽제(SYRUPS), 안연고제(OPHTALMIC OINTMENTS), 액제(LIQUIDS AND SOLUTIONS), 에어로솔제(AEROSOLS), 엑스제(EXTRACTS), 엘릭실제(ELIXIRS), 연고제(OINTMENTS), 유동엑스제(FLUIDEXTRACTS), 유제(EMULSIONS), 현탁제(SUSPESIONS), 전제(DECOCTIONS), 침제-INFUSIONS), 점안제(OPHTHALMIC SOLUTIONS), 정제(TABLETS), 좌제(SUPPOSITORIES), 주사제(INJECTIONS), 주정제(SPIRITS), 카타플라스마제(CATAPLSMA), 캡슐제(CAPSULES), 크림제(CREAMS), 트로키제(TROCHES), 토크제(TINCTURES), 파스타제(PASTES), 환제(PILLS), 연질 또는 경질 젤라틴 캡슐 중 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0019] 한편, 본 발명의 암 예방 또는 치료용 약학 조성물의 투여량은 투여방법, 복용자의 연령, 성별 및 체중 및 질환의 중증도 등을 고려하여 결정하는 것이 좋다. 일 예로, 본 발명의 암 예방 또는 치료제는 유효성분을 기준으로 하였을 때 1일 0.1 내지 100 mg/kg(체중)으로 1회 이상 투여가능하다. 하지만, 상기의 투여량은 예시하기 위한 일 예에 불과하며, 복용자의 상태에 따라 의사의 처방에 의해 변화될 수 있다.

발명의 효과

[0020] 본 발명에서 확인한 바에 의하면, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 목질부의 추출물에서는 암전이 억제 활성이 미미함에 반해, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 수피(樹皮)의 추출물은 세포 사멸 농도 이하에서 현저한 암전이 억제 활성을 나타냈다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 세포 증식능(사멸능) 조사를 위한 MTT 어세이 결과이다.
 도 2는 청시닥 나무 수피 추출물이 전립선암 세포인 DU145 세포의 이동성에 미치는 영향을 보여주는 결과이다.
 도 3은 청시닥 나무 수피의 에틸아세테이트(Etoac) 분획물이 전립선암 세포인 DU145 세포의 이동성에 미치는 영향을 보여주는 결과이다.
 도 4는 청시닥 나무 수피의 에틸아세테이트 분획물이 MMP-9과 MMP-2의 활성에 미치는 영향을 보여주는 결과이다.
 도 5는 청시닥 나무 수피의 에틸아세테이트 분획물이 uPA의 활성에 미치는 영향을 보여주는 결과이다.
 도 6은 청시닥 나무 수피의 에틸아세테이트 분획물이 MMP-9과 uPA의 활성에 미치는 영향을 보여주는 웨스턴 블랏 결과이다 .

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 이하, 본 발명의 내용을 하기 실시예 및 실험예에서 상세히 설명하고자 한다. 다만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니고, 그와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[0023] 실험예 1: MTT 어세이를 통한 세포 증식능(사멸능) 조사

[0024] 본 실험예에서는 인간의 전립선암 세포인 DU145 세포에 청시닥 나무 수피의 분획물을 20 μ g/mL의 농도로 처리하여 MTT 어세이로 세포 사멸능(증식능)을 조사하고자 하였다.

[0025] DU145 세포는 DMEM/F12 배지에 10% FBS, 1% 페니실린 스트렙토마이신을 첨가한 배양액을 사용하여 37℃ 습윤한 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 세포가 배양 접시의 70~80% 정도 차면 PBS(phosphate-buffered saline, pH 7.4)로 세포의 단층을 씻어낸 후, 0.25% 트립신 2.56 mmol/L EDTA를 처리하여 세포를 계대 배양하였고, 배지는

2일마다 교환하였다.

[0026] 상기와 같이 배양한 DU145 세포는 10% FBS가 포함된 DMEM/F12 배지에 희석하여, 50,000 cells/well의 밀도로 24 웰-플레이트에 분주하였다. 24시간 배양한 후, 1% FBS가 포함된 SDM(serum-deprivation medium)으로 24시간 동안 추가 배양하였다. 이 후, 20 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 청시닥 나무 수피 분획물이 포함된 SDM으로 교환하고, 4시간 경과 후, MTT 어세이 방법으로 살아있는 세포의 수를 측정하였다.

[0027] 세포의 증식능을 확인한 결과, 세포의 증식에 영향을 미치지 않음이 확인되었다. (도 1).

[0028] 실험예 2: 세포 이동성 여부 조사

[0029] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*) 수피 추출물이 20 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 세포에 증식에 아무런 영향을 주지 않았으므로, 본 실험예에서는 이 범위 내에서 DU145 세포의 이동성을 조사하고자 하였다.

[0030] 트랜스웰 세포 배양 챔버(Transwell cell culture chamber)에서 암세포주의 이동을 조사하였다. 먼저 트랜스웰 멤브레인(transwell membrane)의 아래쪽을 0.1%타입 A 젤라틴(type A gelatin) 15 μL 로 코팅하였다. 트랜스웰 세포 배양 챔버의 아랫 부분에 0.1% BSA를 첨가하고, 트랜스웰의 윗부분에는 세포와 청시닥 나무 수피 분획물을 첨가한 후, 37°C에서 4시간 동안 배양하였다. 이동하지 않은 필터 윗부분의 세포를 면봉으로 제거하고, 폴리카르보네이트 필터(polycarbonate filter)를 통해 이동한 세포를 헤마톡실린-에오신 염색(hematoxylin-eosin staining) 방법으로 염색하였다. 이동된 세포의 수는 현미경 ($\times 100$)을 이용하여 정량하였다.

[0031] 실험 결과, 세포의 이동이 청시닥 나무 수피 추출물에 의해 감소함이 확인되었다.

[0032] 다만, 에틸아세테이트(Etoac) 분획물에서 효과가 가장 좋았으므로 (도 2), 에틸아세테이트 분획물을 0~20 $\mu\text{g/mL}$ 로 처리하여 세포의 이동성 여부를 추가적으로 관찰하였다. 추가 실험 결과, 농도 의존적으로 세포의 이동이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. (도 3).

[0033] 실험예 3: MMP-9, 2 활성 조사

[0034] 상기 실험예 2로부터 청시닥 나무 수피 추출물에 의해 인간의 전립선 암세포인 DU145 세포의 이동이 감소함을 확인하였으므로, 본 실험예에서는 전이와 관련된 단백질인 매트릭스 메탈로프로테이나제(matrix metalloproteinase, MMP)-9의 활성에 미치는 영향을 젤라틴 자이모그래피(gelatin zymography)를 이용하여 측정하고자 하였다. 샘플로는 청시닥 수피 추출물 중 세포 이동 효과가 가장 우수한 에틸아세테이트 분획물을 사용하였다.

[0035] 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물을 0, 5, 10, 20 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 첨가하여 세포를 배양하였다. 24시간 후에 배지를 모아서 'Amicon Ultra-15'를 이용하여 원심 한외 여과(centrifugal ultrafiltration) 방법으로 100배 농축시켰다.

[0036] 농축된 배지를 0.2% 젤라틴이 포함된 SDS-PAGE에서 전기영동한 후 리내처링 버퍼(renaturing buffer, 2.5% Triton X-100)로 30분씩 2번 씻은 뒤, 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 0.15 mmol/L NaCl, 10 mmol/L CaCl_2 , 0.02% Brij 35를 포함하는 디벨러핑 버퍼(developing buffer)로 37°C에서 48시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 젤은 0.25% 쿠마시 브릴란트 블루 용액(Coomassie Brilliant Blue solution)으로 2시간 동안 염색을 한 후, 탈색하여 젤라틴의 분해 정도를 관찰하였다.

[0037] 실험 결과, 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물을 처리하였을 때, MMP-9과 MMP-2의 활성이 감소하는 것을 관찰할 수 있었고, MMP-2 활성 부산물 역시 감소함을 확인할 수 있었다. (도 4).

[0038] 실험예 4: uPA 활성 조사

[0039] 본 실험예에서는 세포의 이동에 중요한 역할을 한다고 알려진 우로-키나아제 타입 플라스미노겐 액티베이터(uro-kinase type plasminogen activator, uPA)의 활성이 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물 처리에 의해 감소하는지 여부를 확인하고자 하였다.

[0040] uPA 활성을 조사하기 위하여 상기 실험예 3에서 제조한 농축 배지를 0.2% 피브리노겐과 10 NIH units 트롬빈이 포함된 SDS-PAGE에서 전기영동한 후 리네처링 버퍼(renaturing buffer, 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4), 2.5% Triton X-100)로 30분씩 2번 씻은 뒤, 3차 증류수로 10분씩 3번 씻은 후, 30 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.02% Na₃S을 포함하는 디벨러핑 버퍼(developing buffer)로 37℃에서 48시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 젤은 0.25% 쿠마시 브릴란트 블루 용액(Coomassie Brilliant Blue solution)으로 30분 동안 염색을 한 후, 탈색하여 피브린의 분해 정도를 관찰하였다.

[0041] 실험 결과, 고 분자량(high molecular weight) uPA와 저 분자량(low molecular weight) uPA 모두 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물 처리에 의해 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. (도 5)

[0042] 실험예 5: MMP-9과 uPA의 웨스턴 블랏

[0043] 본 실험예에서는 웨스턴 블랏(Western blot)을 이용하여 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물 처리에 의해 MMP-9과 uPA의 분비 감소를 확인하고자 하였다.

[0044] 상기 실험예 3에서 제조한 농축 배지(100배 농축, 50 µg 단백질을 4~20% 농도 구배 SDS-PAGE로 분리하여 PVDF(polyvinylidene fluoride) 멤브레인로 옮겼다. 얻어진 멤브레인은 5% non-fat milk-TBST (20 mmol/L Tris · HCl, pH 7.6, 150 mmol/L NaCl, 0.1% Tween 20)에서 1시간 동안 블로킹(blocking)한 다음 TBST로 10분간 3회 행구었다. 멤브레인에 MMP-9, uPA 항체를 첨가하여 4℃에서 24시간 배양시킨 후, TBST로 10분간 3회 행구었다. 그 후 멤브레인을 HRP-결합 항-래빗이나 마우스 혹은 고트 IgG를 첨가하여 1시간 배양한 후, TBST로 10분간 3회 행구었다. 항체에 결합한 단백질들의 시그날은 이모빌론 웨스턴 케미루니네스cent(Immobilon Western Chemiluminescent) HRP 기질을 이용하여 밴드(band)를 가시화하였다.

[0045] 실험 결과, 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물 처리에 의해 MMP-9과 uPA 모두 단백질 분비가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. (도 6)

[0046]

[0047] 이상의 실험들로부터 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물의 처리는 인간의 전립선암세포인 DU145 세포에서 세포의 이동을 감소시켰고, 세포의 이동에 중요한 역할을 하는 MMP-9과 uPA의 활성 및 분비를 감소시키는 것으로 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 청시닥 나무 수피 에틸아세테이트 분획물이 암(전립선 암) 전이 억제에 효과적인 물질이라는 것을 의미한다.

[0048] 실시예 1: 암 예방 또는 치료용 약제 조성물 제조

[0049] 실시예 1에서는 하기와 같이 암 예방 또는 치료용 약제 조성물을 제조하였다.

[0050] (1) 산제 제조

[0051] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 2g에 유당 1g을 혼합하고, 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0052] (2) 정제 제조

[0053] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 100mg, 옥수수전분 100mg, 유당 100mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조하였다.

[0054] (3) 캡슐제 제조

[0055] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 100mg, 옥수수전분 100mg, 유당 100mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0056] (4) 주사제 제조

[0057] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 100mg에 주사용 증류수 적량을 가하여 용해시키고, pH를 약 7.5로 조절한 다음 2mℓ 용

량의 애플에 충전 및 멸균시하여 주사제를 제조하였다.

[0058] **실시예 2: 암 예방용 식품 조성물 제조**

[0059] 실시예 2에서는 하기와 같이 암 예방용 식품 조성물을 제조하였다.

[0060] (1) 선식 제조

[0061] 현미, 보리, 찹쌀, 울무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 준비하였다. 검정콩, 검정깨 및 들깨 각각을 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 후 배전 및 분쇄하여 입도 60메쉬의 분말로 준비하였다. 이후, 현미 30 중량%, 울무 15 중량%, 보리 20 중량%, 찹쌀 9 중량%, 들깨 7 중량%, 검정콩 8 중량%, 검정깨 7 중량%, 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 3 중량%, 영지 0.5 중량% 및 지황 0.5 중량%을 혼합하여 선식을 제조하였다.

[0062] (2) 츄잉껌 제조

[0063] 껌 베이스 20 중량%, 설탕 76.9 중량%, 향료 1 중량%, 물 2 중량% 및 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 츄잉껌을 제조하였다.

[0064] (3) 캔디 제조

[0065] 설탕 60 중량%, 물엿 39.8 중량%, 향료 0.1 중량% 및 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 캔디를 제조하였다.

[0066] (4) 비스킷 제조

[0067] 박력 1급 25.59 중량%, 중력 1급 22.22 중량%, 정백당 4.80 중량%, 식염 0.73 중량%, 포도당 0.78 중량%, 팜쇼트닝 11.78 중량%, 암모니움 1.54 중량%, 중조 0.17 중량%, 중아황산나트륨 0.16 중량%, 쌀가루 1.45 중량%, 비타민 B₁ 0.0001 중량%, 비타민 B₂ 0.0001 중량%, 밀크향 0.04 중량%, 물 20.6998 중량%, 전지분유 1.16 중량%, 대용분유 0.29 중량%, 제일인산칼슘 0.03 중량%, 살포염 0.29 중량% 및 분무유 7.27 중량%와 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 비스킷을 제조하였다.

[0068] (5) 건강음료 제조

[0069] 꿀 0.26 중량%, 치옥토산아미드 0.0002 중량%, 니코틴산아미드 0.0004 중량%, 염산리보플라빈나트륨 0.0001 중량%, 염산피리독신 0.0001 중량%, 이노시톨 0.001 중량%, 오르트산 0.002 중량%, 물 98.7362 중량% 및 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 건강 음료를 제조하였다.

[0070] (6) 소시지 제조

[0071] 돈육 65.18 중량%, 계육 25 중량%, 전분 3.5 중량%, 대두단백 1.7 중량%, 식염 1.62 중량%, 포도당 0.5 중량% 및 글리세린 1.5 중량%와 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 소시지를 제조하였다.

[0072] (7) 건강보조식품 제조

[0073] 스피루리나 55 중량%, 구아검효소 분해물 10 중량%, 비타민 B₁ 염산염 0.01중량%, 비타민 B₆ 염산염 0.01 중량%, DL-메티오닌 0.23 중량%, 스테아린산 마그네슘 0.7 중량%, 유당 22.2 중량% 및 옥수수전분 1.85 중량%와 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 10 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 정제형 건강보조식품을 제조하였다.

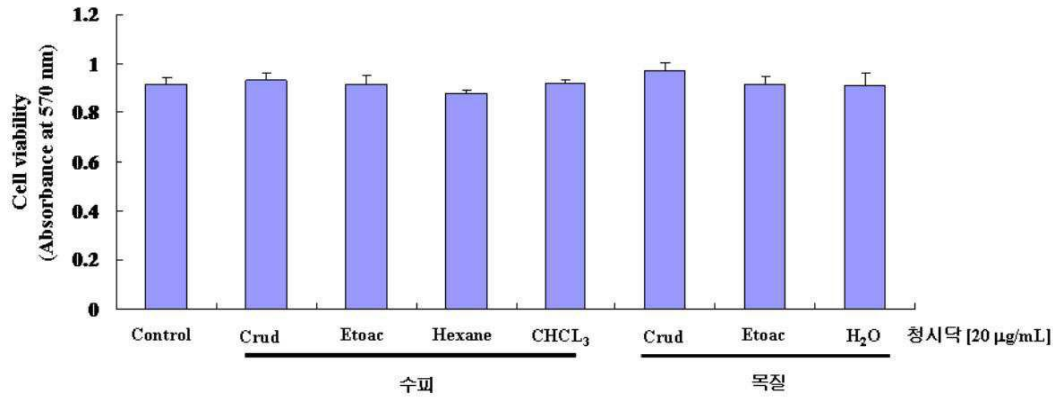
[0074] (8) 주류 제조

[0075] 청시닥 나무(*Acer barbinerve Max*)의 수피부(樹皮部)를 열수 추출한 후, 에틸아세테이트로 분획하여 수득한 분획물의 건조분말 0.5 중량%를 소주, 맥주, 양주 또는 과일주와 혼합하여 에멀전 상태로 만든 후, 진공상

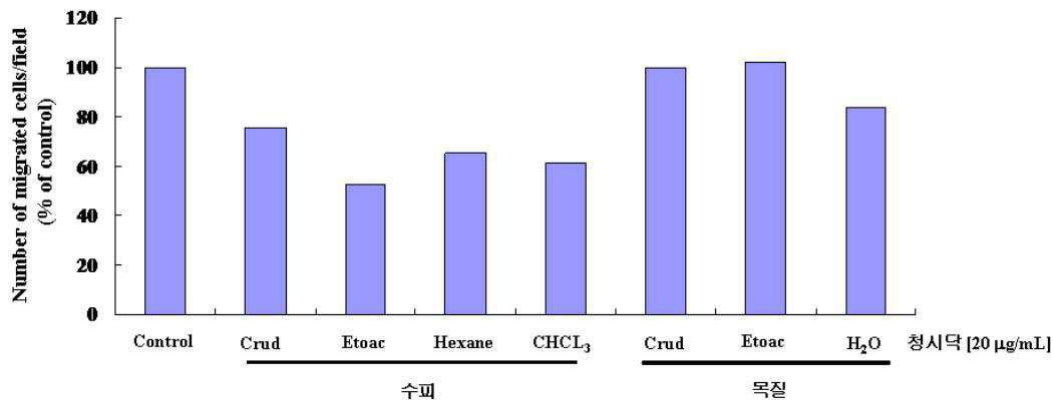
테에서 7,000rpm으로 15분간 원심분리하거나 고속믹서기로 9,000rpm에서 혼합하여 주류를 제조하였다.

도면

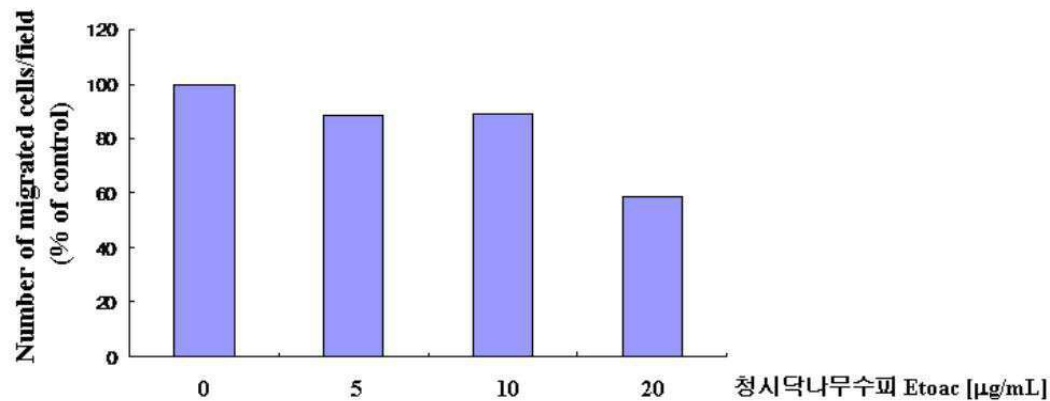
도면1



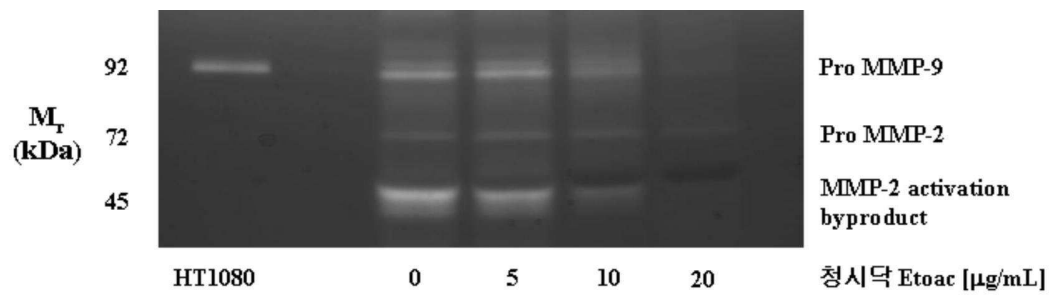
도면2



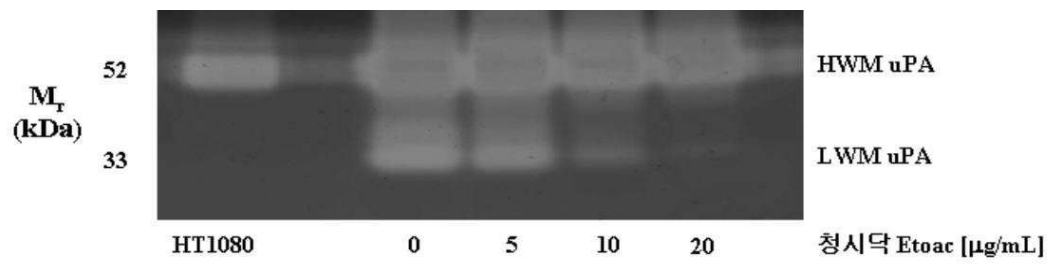
도면3



도면4



도면5



도면6

