



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년02월22일
(11) 등록번호 10-1706552
(24) 등록일자 2017년02월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/8994 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 36/8994 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2016-0119470
- (22) 출원일자 2016년09월19일
심사청구일자 2016년09월19일
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020160036824 A
US20130136812 A1
KR1020110049129 A
울무 추출물이 인체 위암 세포주에 미치는 영향,
조선대학교 학위논문(2012.02.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
김태근
전라남도 나주시 왕곡면 행장길 52-4
- (72) 발명자
김태근
전라남도 나주시 왕곡면 행장길 52-4
- (74) 대리인
황영익

전체 청구항 수 : 총 6 항

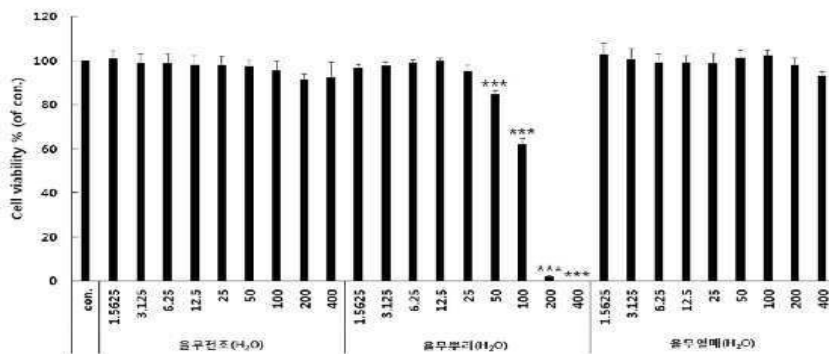
심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 **울무 추출물을 포함하는 위암 치료용 조성물과 그 추출방법**

(57) 요약

본 발명은 울무의 뿌리와 울무 열매로부터 위암의 예방 및 치료용 조성물과 그 제조방법에 대한 것으로, 울무의 뿌리와 울무 열매로부터 물 또는 알코올을 용매로 사용하여 위암의 예방 및 치료용 조성물을 추출하고, 더 나아가 건조된 울무의 열매 분쇄물 46~66중량%를 주성분으로 하고, 건조된 느릅나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 분쇄물 14~24중량%, 건조된 예덕나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 분쇄물 14~24중량% 및 건조된 창출뿌리 분쇄물 2.5~7중량% 구성된 배합물을 알코올로 추출한 것과 상기 배합물을 주성분으로 발효시킨 후 알코올을 이용해 발효시켜 추출한 위암의 예방 및 치료용 조성물의 제공과 그 제조방법에 대한 것이다.

대표도 - 도1



울무 전초, 열매, 뿌리 물 추출물의 위암 세포주에 대한 독성 평가

배지만을 처리한 샘플을 기준으로 신뢰도 *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

울무의 뿌리 추출물을 유효성분으로 하고, 물을 용매로 추출한 것을 특징으로 하는 위암의 예방 및 치료용 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

건조된 울무의 열매, 건조된 느릅나무의 껍질과 뿌리, 건조된 예덕나무의 껍질과 뿌리 및 창출을 분쇄한 혼합물을 알코올을 용매로 추출한 추출물을 유효성분으로 포함하는 위암의 예방 및 치료용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 분쇄한 혼합물을 누룩으로 발효시킨 후, 에탄올을 용매로 추출한 추출물을 유효성분으로 포함하는 위암의 예방 및 치료용 조성물.

청구항 6

제4항 또는 제5항중 어느 한항에 있어서,

상기 혼합물은 건조중량으로 울무의 열매 46~66중량%, 느릅나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 14~24중량%, 예덕나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 14~24중량% 및 창출뿌리 2.5~7중량%로 구성된 것을 특징으로 하는 위암의 예방 및 치료용 조성물.

청구항 7

(1) 건조된 울무의 열매, 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 느릅나무 건조물, 껍질과 뿌리 1:1 중량비로 혼합된 예덕나무 건조물 및 창출을 분쇄하여 배합물을 준비하는 배합물 준비단계;

(2) 상기 배합물 준비단계에서 분쇄한 울무의 열매, 느릅나무의 껍질과 뿌리, 예덕나무의 껍질과 뿌리, 창출뿌리 분말을 12:4:4:1의 중량비로 혼합하는 배합물 혼합단계;

(3) 상기 배합물 혼합단계에서 혼합된 배합물을 알코올을 이용해 추출하는 추출단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 울무를 주성분으로 하는 위암 예방 및 치료용 조성물의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 배합물 혼합단계에서 혼합된 배합물에 누룩을 3:1~7:1의 중량비로 혼합하고, 누룩을 포함한 혼합물의 70~90% 중량의 물을 혼합하고 33℃~38℃의 온도로 3일~15일간 발효하는 배합물 발효단계;와,

상기 배합물 발효단계에서 발효시킨 혼합물을 음지에서 건조하는 건조단계;를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 울무를 주성분으로 하는 위암 예방 및 치료용 조성물의 제조방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 울무 추출물을 포함하는 위암 치료용 조성물과 그 추출방법에 대한 것으로 더 구체적으로는 암세포사멸과 항암에 효과가 있는 울무 씨앗의 물 또는 알코올 추출물을 포함하는 위암 치료용 조성물과 그 추출방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 산소는 우리가 생명을 유지하는데 없어서는 안 되는 중요한 역할을 하는데, 한편으로는 호흡으로 몸 안에 들어온 산소 중 일부가 우리 신체의 대사과정 중에 불가피하게 변형되어 활성산소가 되어 우리 몸의 세포를 손상시키는 독작용을 하게 된다. 이러한 독작용은 대사 중에 생성된 유리(활성)산소기(프리래디컬, free radical) 때문에 생기는 것으로 알려지고 있다. 프리래디컬이란 정상적인 원자 또는 분자가 전자를 하나 이상 잃어 짝이 없어 불안정한 상태로 존재하는 것을 말한다. 이 프리래디컬화된 원자 또는 분자는 스스로 안정화되기 위해 주변의 원자나 분자로부터 전자를 하나 빼앗아 안정된 상태가 되려고 하는데 이러한 전자 빼앗기과정은 연쇄적으로 일어나 마지막 원자나 분자가 안정화될 때까지 진행된다. 미국의 존스 홉킨스 대학 의학부는 1991년 현대인이 앓고 있는 질병의 95% 이상이 이 프리래디컬에 의한 것이라고 발표한바 있다.

[0003] 프리래디컬 현상은 신체 내에 자연스럽게 존재하는 것으로, 프리래디컬이 과도하게 진행되면 이를 줄여주는 항산화효소도 체내에 이미 존재하고 있는데 그 대표적인 것이 SOD(Superoxide Dismutase)나 Catalase, Peroxidase, Glutathione Peroxidase 같은 효소들이다. 하지만 여러가지 이유로 활성산소가 체내에 허용량 이상으로 많이 발생하게 되면, 활성산소의 반응속도가 세포 재생 속도를 앞지르게 되며, 활성산소가 제대로 제거되지 않으면 정상 세포에 대단히 큰 영향을 주게 된다. 활성산소는 세포의 지질막을 변성시켜 세포 내의 RNA, DNA 등의 핵산을 공격하여 산화를 촉진시키며, 단백질의 과산화반응을 유도하여 체내 효소 및 호르몬의 기능을 저하시키고, 유전자의 변형을 유발하게 된다.

[0004] 항산화제는 이런 프리래디컬에게 전자를 내어주어 연쇄적인 전자 빼앗기과정을 중단시키는 작용을 하는 것으로, 체내에 항산화효소가 열세이거나 프리래디컬이 과도하게 생성될 때 항산화제가 많이 포함된 음식을 먹으면 세포의 산화와 악성세포로의 진행을 막을 수 있다고 하며, 이러한 이유로 항산화제가 많이 함유된 과일이나 채소의 섭취가 널리 권장되고 있다.

[0005] 한편, 노화된 세포는 특정 상황에서 스스로를 신속하고 깨끗하게 죽여 없애는 자기사멸(apoptosis 또는 programmed cell death)을 한다. 자기사멸 과정은 정상세포가 비정상적으로 변하는 것을 막고, 세포의 수를 일정하게 유지하기 위한 필수적인 과정이다. 다양한 암의 발생은 세포사멸이 제대로 일어나지 않는 경우로 유전자 변형에 따른 세포사멸 기전의 파괴는 정상세포가 암세포로 변화되는 주요한 원인이라 할 수 있다(Hu 및 Kavanagh, 2003).

[0006] 유전자 변이로 생긴 암세포는 자기사멸에 저항하며 끊임없이 성장한다. 암의 치료는 수술요법, 화학요법 및 방사선 요법이 시행되고 있는데, 현재까지는 수술요법이 가장 좋은 완치법이라고 할 수 있으나, 암의 시기와 종류 및 발생위치에 따라서 치료법의 적용에 한계가 있기 때문에 항암제를 이용한 화학요법이나 방사선 요법과 같은 보조요법이 동원되고 있다.

[0007] 최근 세계 각국에서 항암제를 만들기 위해 자생 자원 식물들에 대한 관심이 높아져 인간에게 유용한 식물에 대한 기본 연구가 활발히 진행되고 있으며, 항암제를 개발하기 위한 물질을 스크리닝할 때 강한 독성으로 세포의 파괴(necrosis)를 유도하는 것보다는 암세포 특이적인 세포사멸을 유도하는 기전을 이용하고 있다(Hu 및 Kavanagh, 2003; Kaufmann 및 Vaux, 2003; Fulda 및 Debatin, 2004; Pisano 등, 2007). 따라서 위와 같이 세포사멸 현상은 암세포를 죽이기 위한 화학 항암치료법의 주요한 원리가 될 수도 있다.

[0008] 암세포에 세포사멸을 유도하기 위해서는 사멸 과정의 주요 단백질인 Bcl2 계열의 단백질, 카스파아제(Caspase), Tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) 단백질들의 활성을 직접 또는 간접으로 증가시키면 된다고 한다(LeBlanc 및 Ashkenazi, 2003; Baetu 및 Hiscott, 2002; Trauzold 등, 2001). 이와 더불어 사멸 기전 관련 단백질 인산화 효소, 탈인산화 효소, 전사인자 및 세포 표면의 수용체, 프로테오솜(proteasome) 등을 표적으로 하여 세포사멸을 유도할 수도 있다고 한다(Jaattela, 2002; Reed, 2002).

[0009] 항암성분을 함유한 자생 자원 식물들을 찾기 위한 연구의 결과로, 대한민국 등록특허 제10-1047898호에서는 느티나무 추출물을 유효성분으로 암세포사멸을 유도하는 느티나무 메탄올 추출물을 포함하는 항암 조성물이 제시되었고, 대한민국 등록특허 제10-1082599호에서는 맛버섯 자실체의 유효성분인 구성당, 구성아미노산, 비타민,

무기질 등을 추출하여 전자공여능(항산화성), SOD 유사활성, AGS 인체 위암세포 증식 억제효과가 있다는 맛버섯을 이용한 항산화 및 항위암 조성물을 제시하고 있다.

- [0010] 최근 세포사멸 유도를 위한 다양한 약물의 스크리닝 실험들이 진행되고 있고, 일부의 후보 약물들이 낮은 항암 효율과 약물에 대한 저항성 유발 때문에 전 임상 단계에서 개발이 제한되고 있는 경우도 있다. 따라서 암세포 특이적인 세포사멸을 유도하여 항암효과를 가지는 약물을 개발하기 위해서는 자생식물과 같은 다양한 천연물로부터 다량의 후보물질을 확보와 항암 저항성이 낮은 물질의 탐구가 요구되고 있다.
- [0011] 본 발명에 주성분으로 사용되는 울무(*Coix lachrymajobi* var. *mayuen*)는 벼과의 한해살이풀로 원산지는 동남아시아 또는 중국으로 알려져 있으며, 우리나라에는 1078년에 송나라에서 들어왔다는 기록이 있다. 울무의 키는 1~1.5m정도이고, 꽃은 7월에 피며 열매는 가을에 수확한다. 울무는 우리 몸의 수분 대사를 원활하게 해주어 부기를 가라앉게 해주는 효과가 있어 관절염증의 치료에 효과가 있다고 알려져 있으며, 신진대사를 원활하게 해주기 때문에 노폐물 배출에도 도움이 되고 소염, 진통 작용이 있어 여타 염증치료에도 효과가 있다고 한다.
- [0012] 울무의 구성성분은 칼륨함량이 높고 무기질이 풍부한데, 이로 인해 울무를 섭취하면 부종을 유발하는 나트륨을 배출하고, 독소제거에 효과적이며 혈압을 낮추는 효과가 있다고 한다. 울무에는 100g당 단백질이 15g 정도로 현미보다 약 2배 정도 더 많이 함유되어있고, 라이신이나 트립토판과 같은 필수 아미노산의 함량이 높아 질 좋은 단백질을 공급원이 될 수 있고, 대표적인 항산화 영양소인 비타민E도 현미보다 2배 이상 함유되어있어 백내장이나 시력감퇴를 완화하는데 도움이 되는 등 다양한 효능을 보이고 있다.
- [0013] 본 발명에 사용되는 느릅나무(*Ulmus davidiana* Planch. var. *japonica* (Rehd.) Nakai)는 전국의 계곡 부근에 자라는 낙엽 큰키나무로, 높이 15-25m이며, 줄기껍질은 어두운 회색이다. 어린 가지에 코르크질이 발달하는 경우가 많으며, 잎은 타원형 또는 도란형으로 길이 3-10cm, 폭 2-6cm이며, 가장자리에 겹톱니가 있고, 잎 앞면은 녹색이고, 뒷면은 연한 녹색이다. 꽃은 4-5월에 잎이 나기 전에 피고, 열매는 5-6월에 익으며, 길이 1.0-1.5cm고, 날개가 있다.
- [0014] 한방에서는 느릅나무의 줄기와 수피를 항염증, 항암 치료제로 널리 사용한다. 이 이외에도 항바이러스, 항세균 효과도 있음이 입증되었고, 부작용이 적은 천식의 치료제로 개발될 가능성에 대한 기초 연구도 활발히 진행되고 있다(Lee and Lim 2007; Jung et al. 2008; Guo et al. 2009).
- [0015] 본 발명의 예덕나무(*Mallotus japonicus*)는 주로 바닷가에서 자란다. 높이 10m에 이른다. 어릴 때는 비늘털로 덮여서 붉은빛이 돌다가 회백색으로 변하고 가지가 굵다. 잎은 어긋나고 달걀 모양의 원형이며 표면에는 대개 붉은빛 선모가 있고 뒷면은 황갈색으로 선점이 있으며, 잎 가장자리는 밋밋하거나 3개로 약간 갈라지고 잎자루가 길다. 예덕나무의 껍질에는 베르게닌(bergenin), 타닌, 루틴 등 폴리페놀 성분과 플라보노이드 성분이 포함되어 있어 항산화, 항암, 항염, 위액 분비 억제, 위궤양 개선, 항바이러스 작용, 면역력 강화, 간 보호 작용이 뛰어나고, 특히, 예덕나무에 포함되어 있는 베르게닌 성분은 장 근육에 직접 작용하여 대장의 연동운동을 촉진해 주므로 복통, 복부 팽만감, 변비, 설사 등의 과민성 대장 증후군 증상에 좋은 효과가 있다고 한다.
- [0016] 본 발명에 사용되는 창출은 국화과에 속하는 여러해살이 초본식물인 삼주(*Atractylodes japonica* KOIDZ. et. KITAGAWA)와 남창출(*A. lancea* DC.), 북창출(*A. chinensis* KOIDZ.)의 뿌리줄기로 만든 약재로, 약효성분은 정유가 5~9% 들어 있는데, 맛은 쓰고 약간 매우며 약성은 따뜻하다. 우리 몸의 위장은 원래 습기를 꺼리는데 위장 안에 습기가 과다하게 쌓여서 일어나는 소화장애와 위장기능 허약증상을 치료하는 데 탁월한 반응을 나타내고, 위장장애로 인한 식욕 감소증상, 배가 갑갑하고 헛배가 부르면서 통증을 호소하는 증상에 현저한 효과가 있다. 특히 위장기능 허약으로 사지가 나른하고 무거우면서 구토나 설사, 이질 등의 증상을 보일 때에 좋은 치료제가 된다고 한다.
- [0017] 창출은 음식 맛이 없으면서 복부에 통증이 있고 입 안이 쓰며 메스꺼운 증상이나 급만성 위장염에 신통력을 보이고, 여름에 갑작스럽게 음식물 장애로 인한 복통과 설사를 심하게 하는 증상에도 치료율이 높으며, 비타민A 물질이 다량 함유되어 있어서 밤눈이 어두운 증상에도 도움이 된다고 한다.
- [0018] 본 발명자는 인체 독성이 없거나 미약한 화학적 암 예방 물질을 개발하기 위하여 식용 가능한 천연물에서 해독 효소 활성을 검색하던 중, 울무의 잎과 줄기, 울무의 뿌리 및 열매, 느릅나무의 껍질 및 뿌리, 예덕나무의 껍질 및 뿌리, 창출의 뿌리를 건조하여 혼합한 배합물로부터 추출한 조성물이 위암세포에 대한 특이하고 높은 세포사멸 활성을 나타냄을 확인하여 위암에 대한 항암제로서의 가능성을 확인하였다. 또한, 이를 유효성분으로 함유하는 조성물은 위암 예방 또는 개선을 위한 의약품 및 건강기능식품으로 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0019] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1047898호
(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-1082599호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0020] 본 발명은 울무의 추출물을 이용하여 위암세포의 사멸을 유도하는 위암 항암효과가 우수하고 부작용이 거의 없는 위암 항암조성물과 그 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0021] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명은 울무의 물 또는 알코올을 용매로 사용하여 위암의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공하고, 더 나아가 건조된 울무의 열매 분쇄물 46~66중량%를 주성분으로 하고, 건조된 느릅나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 분쇄물 14~24중량%, 건조된 예덕나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 분쇄물 14~24중량% 및 건조된 창출뿌리 분쇄물 2.5~7중량% 구성된 배합물을 알코올로 추출한 것과 상기 배합물을 주성분으로 발효시킨 후 알코올을 이용해 발효시켜 추출한 위암의 예방 및 치료용 약학 조성물의 제공과 그 제조방법에 대한 것이다.

발명의 효과

- [0022] 상기와 같이 제조된 본 발명에 따른 울무 추출물을 포함하는 위암 치료용 조성물은 부작용이 거의 없는 위암의 치료와 위암치료를 위한 건강보조식품의 목적으로 사용가능하다.

[0023]

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 울무 전초, 열매, 뿌리 물 추출물의 위암 세포주에 대한 독성 평가
도 2는 울무 전초, 열매, 뿌리 에탄올 추출물의 위암 세포주에 대한 독성 평가
도 3은 울무배합물 물 추출물의 세포주에 대한 독성 평가
도 4는 울무배합물 95% 에탄올 추출물의 세포주에 대한 독성 평가

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 이하, 본 발명의 울무 추출물을 포함하는 위암 치료용 조성물과 그 추출방법에 대해 구체적으로 설명한다.
- [0026] 본 발명의 발명자는 자신이 위암에 걸렸다가 수술없이 극복한 경험을 바탕으로 위암 극복을 위해 인체에 안전한 위암의 항암제를 탐색하던 중 울무를 복용한 후 병세가 호전되는 것을 직접 확인하였으며, 울무의 열매뿐만 아니라 울무의 줄기와 뿌리에 대한 항암 실험을 하였고, 더 나아가 울무 열매를 주성분으로 하고, 위장병에 도움이 된다는 느릅나무의 껍질과 뿌리, 예덕나무의 껍질과 뿌리 및 창출을 포함한 배합물을 만들어 위암에 대한 효과분석을 하였다.
- [0027] 울무를 주성분으로 하는 배합물을 만들기 위해 울무 열매는 일반적으로 가을에 수확하여 햇볕에 건조한 것을 사용하였고, 느릅나무와 예덕나무의 껍질과 뿌리는 건조과정에서 자외선의 영향으로 성분이 변하는 것을 차단하기 위해 음지에서 말린 후 껍질과 뿌리의 중량비가 1:1이 되도록 혼합하였고, 창출은 시중에서 판매되는 건조된 창출을 구입해 사용하였다.
- [0028] 재료들을 각각 분쇄한 후, 울무의 열매 분쇄물 46~66중량%, 느릅나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 분쇄물 14~24중량%, 건조된 예덕나무의 껍질과 뿌리가 1:1 중량비로 혼합된 분쇄물 14~24중량% 및 건조된 창출뿌

리 분쇄물 2.5~7중량%로 혼합하여 배합물을 만들었으며, 바람직한 각 재료의 성분비는 울무 분쇄물 55중량%, 느릅나무와 예덕나무 분쇄물 각각 20중량%, 창출 분쇄물 5중량%이다. 각 성분들의 혼합량을 최소치 이하로 혼합하면 투입 효과가 거의 없어지며, 최대치 이상을 투입하면 추가로 투입한 한계효과가 거의 없는 것으로 보인다.

- [0029] 이상과 같이 제조한 배합물에 누룩을 3:1~7:1, 바람직하게는 5:1의 중량비로 혼합하고, 누룩을 포함한 혼합물의 70~90% 중량의 물을 혼합하여 독에 넣고 33℃~38℃의 온도로 3일~15일간 발효시켰다. 발효 온도가 낮으면 장시간의 발효기간이 필요하고 온도가 높을 수록 발효기간이 짧아지며, 바람직하게는 35℃~36℃의 온도로 5일~7일 정도 발효시키는 것이 바람직하다. 발효시킨 배합물을 음지에서 건조시켜 발효된 배합물을 만들었다.
- [0030] 이상과 같이 준비된, 울무의 열매, 전초(줄기와 잎), 뿌리, 배합물과 발효된 배합물을 한국과학기술연구원(KIST) 천연물연구소 천연물융합연구센터에 분석을 의뢰하여 동 연구센터에서 각 시료를 만들어 물과 95% 에탄올을 이용해 환류냉각 추출법을 이용하여 추출물을 제조하였다.
- [0031] 울무와 울무 배합물의 추출은 바람직하게는 각 식물의 건조물을 물, C₁~C₄의알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물일 수 있고, 가장 바람직하게는 산화과정에서 인체에 독성이 적은 에탄올로 추출한 추출물일 수 있다. 울무의 각 시료와 배합물, 발효된 배합물을 적당한 크기로 분쇄하여 추출용기에 넣고 C₁~C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 에탄올을 넣고 용액을 끓이며 환류 추출한 후, 일정시간 방치한 다음 거름종이 등으로 여과하여 알코올 추출물을 얻었다.
- [0032] 추출 시간은 2 내지 12시간인 것이 바람직하며, 3~5시간인 것이 가장 바람직하다. 이후에 농축 또는 동결건조 등의 방법을 추가로 거칠 수 있다.
- [0033] 한국과학기술연구원(KIST) 천연물연구소 천연물융합연구센터에 실험분석결과 울무를 수확한 후에 버려지는 울무 뿌리의 물 추출물에서 예상밖의 강한 위암세포 사멸 효과가 있다는 것을 확인하였고, 이는 울무 열매 알코올 추출물의 위암세포 사멸효과의 거의 2배에 이른 것을 확인하였다.
- [0034] 울무 배합물의 발효전, 발효후의 물을 이용한 추출물에서는 위암세포에 대한 독성이 거의 없는 것으로 판단되었고, 알코올 추출물에서는 발효전 배합물의 알코올 추출은 시료의 투입 농도가 높아질수록 생존율이 낮아져 200 μg/ml 농도에서는 위암세포가 전멸에 근접하는 효과가 있었으며, 발효후 울무배합물의 경우 50 μg/ml 농도에서부터 위암세포가 전멸에 근접하여 발효된 배합물의 추출물이 발효되지 않은 배합물에 비해 4배 정도의 탁월한 효과가 있다는 것이 확인되었다.
- [0035] 본 발명의 위암 치료용 조성물은, 상기 유효성분을 각각 단독으로 포함할 수 있으며, 이외 제형, 사용방법 및 사용목적에 따라 약리학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 더 포함할 수 있다.
- [0036] 상기 담체 또는 부형제로는 물, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 락토스, 프로필렌 글리콜, 리퀴드 파라핀, 생리식염수, 텍스트로스, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유가 있으며, 이들은 1종 이상 사용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체 및 부형제는 모두 사용가능하다.
- [0037] 또한, 위암 치료용 약학 조성물을 약제화하는 경우, 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 붕해제, 계면활성제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유향제 또는 방부제 등을 더욱 포함할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 일실시예에 의한 위암 치료용 조성물을 정제, 캡슐, 츄잉정, 과립, 분말, 액체 용액, 현탁액, 분산액, 예멀전, 시럽 등의 제제로 제형화하는 경우에는, 아라비아 고무, 옥수수 전분, 미세 결정질 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제, 인산 이칼슘 또는 락토오스와 같은 부형제, 알긴산, 옥수수 전분 또는 감자 전분과 같은 붕해제, 스테아르산 마그네슘과 같은 윤활제, 슈크로오스 또는 사카린과 같은 감미제 및 페퍼민트, 메틸 살리실산염 또는 과일향과 같은 향미제가 포함될 수 있으며, 투여 단위 형이 캡슐제인 경우에는 상기 성분 외에도 폴리에틸렌 글리콜 또는 지방유와 같은 액상 담체가 포함될 수 있다.
- [0039] 또한, 본 발명의 일실시예에 의한 울무 열매를 주성분으로 하는 배합물의 추출물을 유효성분으로 함유하는 위암의 예방 및 치료용 약학 조성물은 위를 보호하는 건강기능식품으로 사용될 수 있다. 상기 위를 보호하는 건강기능식품은, 예를 들어, 과립, 시럽, 캐러멜 제품, 캔디류, 과자류, 츄잉껌 등의 각종 식품류, 청량 음료, 미네랄 워터, 알코올 음료 등의 음료 제품, 비타민이나 미네랄 등을 포함한 건강기능성 식품류일 수 있다.

[0040] 본 발명에 따른 위암 치료용 조성물의 투여량은, 투여방법, 복용자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등을 고려하여 결정하는 것이 좋다.

[0041] 이하, 본 발명을 하기의 실시예 및 실험예에 의한 평가 결과에 대해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0042]

[0043] 실시예

[0044] 본 발명의 울무 추출물과 울무 배합물의 AGS 위암 세포주를 이용한 위암 세포에 대한 독성 평가의 실시예를 기재한다. 실험은 먼저 울무의 전초, 뿌리, 열매의 추출물에 대해 물과 에탄올을 용매로 추출한 조성물을 만들어 위암 세포에 대한 분석을 실시하였고, 이후 건조된 울무 열매를 주성분으로 하고, 건조된 느릅나무 껍질과 뿌리, 건조된 예덕나무 껍질과 뿌리 및 창출을 분쇄하여 만든 배합물과 상기 배합물을 누룩을 이용해 발효시켜 만든 발효된 배합물을 에탄올과 물을 용매로 추출한 조성물을 이용해 위암 세포에 대한 독성 실험을 실시하였다.

[0045] 1. 울무의 전초, 뿌리, 열매 시료의 추출물 제조

[0046] 가. 울무의 줄기와 잎을 포함한 전초, 뿌리, 및 열매를 음지에서 건조하여 분쇄한 시료를 제조하였다.

[0047] 나. 건조된 울무 시료를 사용하여 물과 95% 에탄올 추출물을 환류냉각법을 사용하여 3번 반복하여 추출물을 제조하였다. 추출에 사용된 용매량과 추출물 중량은 (표 1)과 같다.

표 1

시료명	건조중량(g)	추출용매	용매량(L)	추출물 중량(g)
울무전초	1500	95% 에탄올	15.0	75.73
울무뿌리	700	95% 에탄올	6.0	25.38
울무열매	400	95% 에탄올	9.9	34.64
울무전초	240	증류수	9.0	36.44
울무뿌리	50	증류수	1.5	19.5
울무열매	50	증류수	3.0	11.66

[0049] 울무 시료별 추출물 중량

[0050] 2. 울무의 전초, 뿌리, 열매 추출물의 AGS 위암 세포주를 이용한 위암 세포에 대한 독성 실험

[0051] 가. 샘플 준비 : 물로 추출한 울무 전초, 열매, 뿌리 추출물 각각 50 mg을 용해보조제인 DMSO 1 ml에 녹여 (1분), -20℃에 보관하고, 95% 에탄올로 추출한 울무 전초, 열매, 뿌리 추출물 각각 50 mg을 DMSO 1 ml에 녹여 (1분), -20℃에 보관하였다.

[0052] 나. 위암세포(AGS) 배양 조건

[0053] 배양배지 : RPMI-1640 medium 500 ml, 10% Fetal Bovine Serum(소의 태반혈청), 1% P/S(세균제거항생제)

[0054] 온도 37℃에서 5% CO₂가 포함된 공기 중에서 배양

[0055] 다. 세포특성평가 시약인 MTT시약을 이용한 독성 실험 분석

[0056] 울무 전초, 열매, 뿌리의 물 및 에탄올 추출물의 위암 세포에 대한 독성 평가를 위해 위암세포인 AGS 세포를 96웰 플레이트에 각 웰당 50,000 cells/웰이 되도록 접종하여 24시간 배양하였다.

[0057] 배양 후 울무 각 시료를 농도별로 각 웰에 처리한 후 24시간 배양하였으며, 이때 배지는 Fetal Bovine Serum을 제외한 배지를 사용하였다.

[0058] 시료 처리 후 다파장 형광측정기를 사용하여 실온에서 450 nm 파장으로 분석하고 이를 바탕으로 독성 여부를 판단하였다.

[0059] 3. 울무 전초, 뿌리, 열매 추출물의 AGS 위암 세포주를 이용한 위암세포 사멸 효능(독성 평가)

[0060]

가. 물 추출물의 위암세포에 대한 독성 평가

[0061]

도 1에 도시된 바와 같이, 울무 물 추출물의 경우, 전초와 열매에서는 400 µg/ml 까지 독성을 보이지 않았으나, 울무 뿌리 추출물의 경우에는 50 µg/ml 처리하였을 때 독성을 나타내기 시작하여 100 µg/ml 일 때 70% 이하의 생존율을 보였고, 200 µg/ml 이상의 경우 10% 이하의 생존율을 보였고, 400 µg/ml에서는 전멸하여 위암세포에 대해 강한 독성이 있음을 확인하였다. 이로서, 울무를 수확하고 난 후 버려지는 울무의 뿌리 추출물에서 의외의 강한 위암세포 사멸효능을 발견하여 앞으로 버려지는 자원의 재활용으로 울무 재배 농가의 소득증대에 기여할 수 있다고 판단되었다.

[0062]

나. 에탄올 추출물의 위암세포에 대한 독성 평가

[0063]

도 2에 도시된 바와 같이, 울무 에탄올 추출물의 경우, 전초, 뿌리, 열매 모두에서 400 µg/ml를 사용하였을 때 40-55%의 생존율을 보여 독성이 있음을 알 수 있었으며, 열매의 경우에는 200 µg/ml부터 독성을 나타내기 시작하여 다소 많은 양인 400 µg/ml를 사용하였을 때에는 위암세포가 전멸하여 강한 독성이 있음을 확인하였다.

[0064]

4. 울무 배합물 2종(발효전, 발효후) 시료의 추출물 제조

[0065]

가. 발효전 배합물

[0066]

건조된 울무 열매 600g을 주성분으로 하고, 느릅나무 껍질과 뿌리를 1:1 중량비로 합하여 음지에서 건조한 200g, 예덕나무 껍질과 뿌리를 1:1 중량비로 합하여 음지에서 건조한 200g과 건조된 창출 50g을, 분쇄기를 이용해 각각 분쇄한 후 혼합하여 발효전 배합물 1050g을 제조하였다.

[0067]

나. 발효후 배합물

[0068]

발효전 배합물에서 500g을 떼어 내어 그릇에 넣고, 누룩 100g을 혼합한 다음, 480g의 물을 혼합하고 35℃의 온도로 7일간 발효시킨 다음 발효된 혼합물을 음지에서 건조하여 발효후 배합물을 제조하였다.

[0069]

다. 발효전 배합물과 발효후 배합물을 사용하여 물과 95% 에탄올을 용매로 환류냉각법을 사용하여 3번 반복하여 추출물을 제조하였다.

[0070]

5. 울무 배합물 2종(발효전, 발효후) 추출물의 AGS 위암 세포주를 이용한 위암 세포에 대한 독성 실험

[0071]

가. 샘플 준비 : 물로 추출한 발효전 배합물의 추출물과 발효후 배합물의 추출물 각각 50 mg을 DMSO 1 ml에 녹여 (1분), -20℃에 보관하고, 95%에탄올로 추출한 발효전 배합물의 추출물과 발효후 배합물의 추출물 각각 50 mg을 DMSO 1 ml에 녹여 (1분), -20℃에 보관하였다.

[0072]

나. 위암세포(AGS) 배양 조건

[0073]

배양배지 : RPMI-1640 medium 500 ml, 10% Fetal Bovine Serum(소의 태반혈청), 1% P/S(세균제거항생제)

[0074]

온도 37℃에서 5% CO₂가 포함된 공기 중에서 배양

[0075]

다. MTT시약을 이용한 독성 실험 분석

[0076]

울무 배합물 2종(발효전, 발효후) 추출물의 위암 세포에 대한 독성 평가를 위해 위암세포인 AGS 세포를 96웰 플레이트에 각 웰당 50,000 cells/웰이 되도록 접종하여 24시간 배양하였다.

[0077]

배양 후 울무 각 시료를 농도별로 각 웰에 처리한 후 24시간 배양하였으며, 이때 배지는 Fetal Bovine Serum을 제외한 배지를 사용하였다.

[0078]

시료 처리 후 다파장 형광측정기를 사용하여 실온에서 450 nm 파장으로 분석하고 이를 바탕으로 독성 여부를 판단하였다.

[0079]

6. 울무 배합물 발효전, 발효후 추출물의 AGS 위암 세포주를 이용한 위암세포 사멸 효능(독성 평가)

[0080]

가. 물 추출물의 위암세포에 대한 독성 평가

[0081]

도 3에 도시된 바와 같이, 울무 배합물 발효전, 발효후의 물추출물의 위암 세포 생존율을 측정하니 50 µg/ml 농도까지 대조군과 비슷한 세포 생존율을 보이는 것으로 보아 독성이 없는 것으로 판단되었으며, 100

μg/ml 농도의 경우는 대조군과 비교하여 50% 생존율을 보였다.

[0082] 나. 에탄올 추출물의 위암세포에 대한 독성 평가

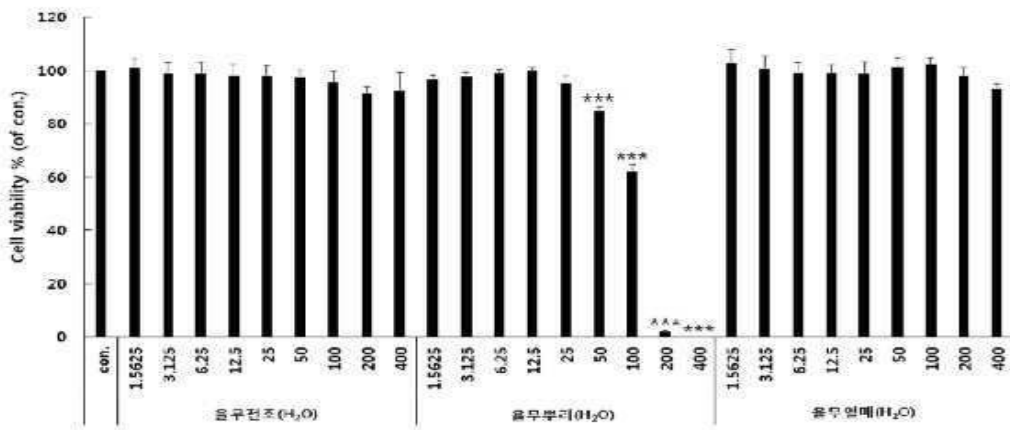
[0083] 도 4에 도시된 바와 같이, 발효전 울무 배합물, 발효후 배합물의 에탄올을 이용한 추출물의 위암 세포 생존율을 측정했더니 발효전 울무배합물 추출물은 50 μg/ml 농도까지 80% 이상의 생존율을 보이지만, 농도가 높아질수록 생존율이 낮아져 200 μg/ml 농도에서는 위암세포가 전멸에 근접하였으며, 발효후 울무배합물의 경우 12.5 μg/ml 농도 이하에서는 80% 이상의 생존율을 보이지만, 50 μg/ml 농도에서부터 위암세포가 전멸에 근접하였다.

[0084] 에탄올로 추출한 발효후 배합물이 발효전 배합물에 비해 4배 정도의 위암세포 사멸효과가 있다는 것을 확인하였다.

[0085]

도면

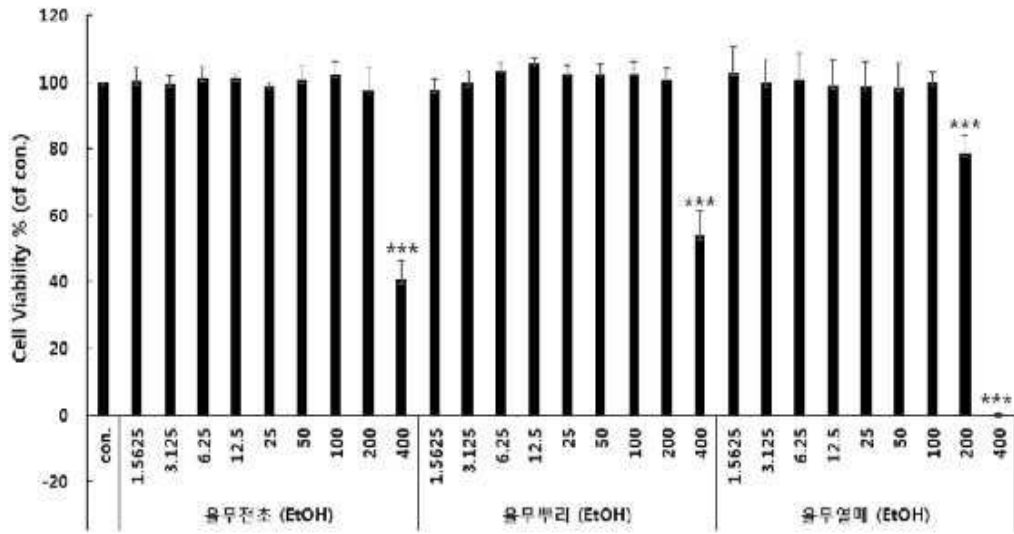
도면1



울무 전조, 열매, 뿌리 물 추출물의 위암 세포주에 대한 독성 평가

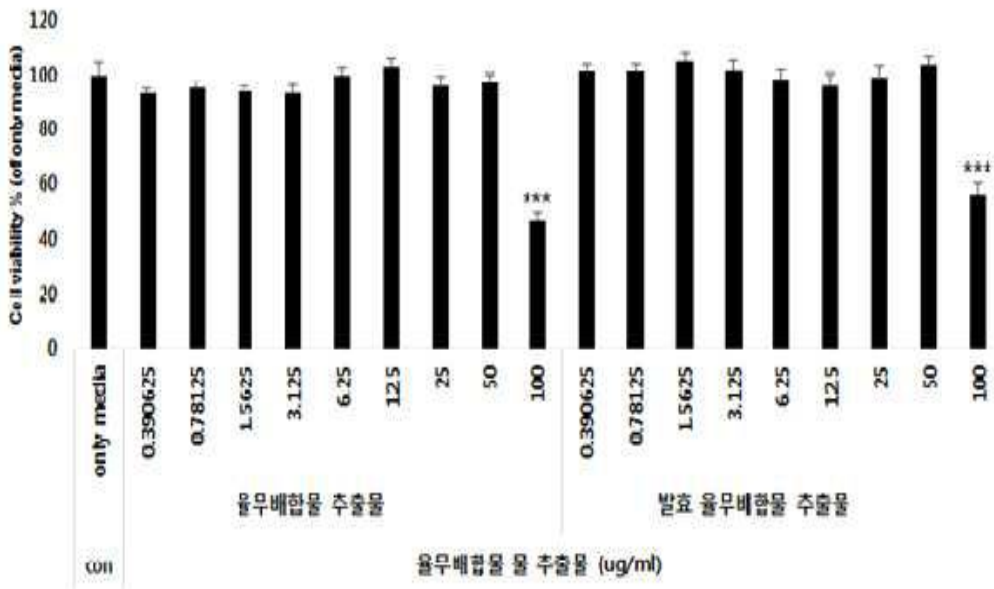
배지만을 처리한 샘플을 기준으로 신뢰도 *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

도면2



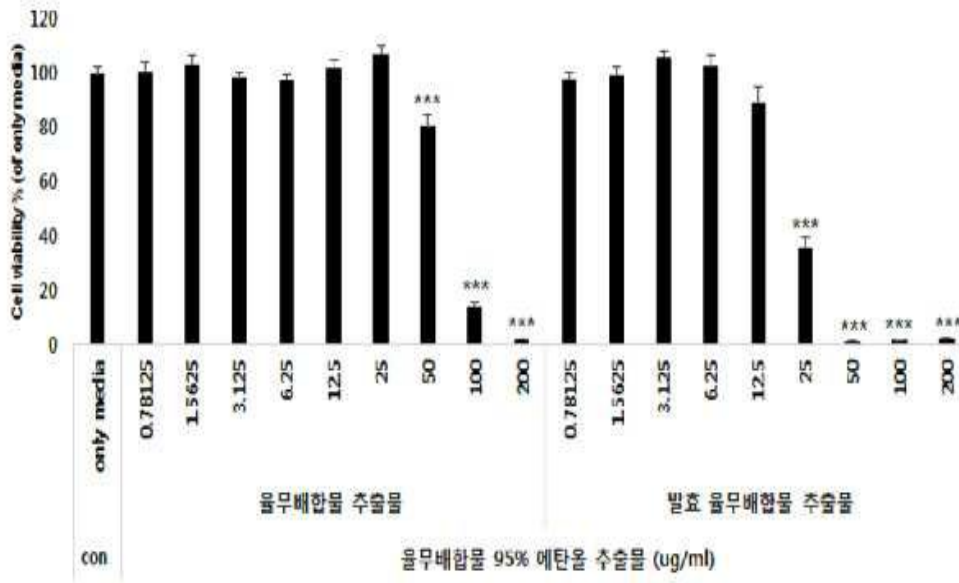
유무 전초, 잎매, 뿌리 에탄올 추출물의 위암 세포주에 대한 독성 평가

도면3



유무배합물 및 추출물의 세포주에 대한 독성 평가

도면4



인삼추출물 95% 에탄올 추출물의 세포주에 대한 독성 평가