

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0086240 (43) 공개일자 2014년07월08일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 36/36 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)	(71) 출원인 한림대학교 산학협력단	
(21) 출원번호 10-2012-0156483	강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)	
(22) 출원일자 2012년12월28일	(72) 발명자	
심사청구일자 2012년12월28일	허성오	
기술이전 희망 : , 실시권하여, 기술지도	강원도 춘천시 후석로 에리트아파트 106-107	
	양해결	
	강원 춘천시 한림대학길 1, 의과대학 약리학교 실 (옥천동, 한림대학교)	
	아타우르라만	
	강원 춘천시 한림대학길 1, 의과대학 약리학교 실 (옥천동, 한림대학교)	

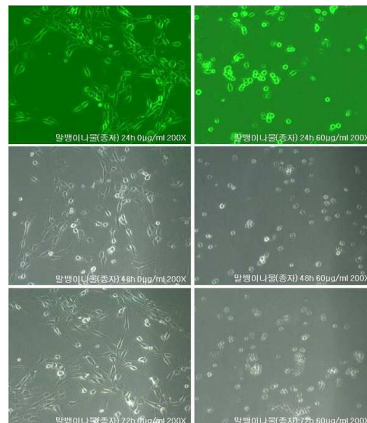
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 포함하는 항암제 조성물

(57) 요약

본 발명은 식육과식물 말뱅이나물(*Saponaria vaccaria*)종자 추출물의 유효성분이 뇌종양세포의 증식을 억제하는 약리작용을 갖는 성분으로서 항암제 및 이를 포함하는 건강기능성 식품 조성물의 개발을 포함하는 것을 특징으로 한다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 B0008864

부처명 지식경제부

연구사업명 지역혁신센터조성사업(RIC)

연구과제명 치마버섯 유래 베타글루칸의 양모 및 탈모 방지 효능 연구

기 여 율 1/1

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2012.03.01 ~ 2013.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

말뱅이나물 식물을 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 함유하는 항암제 조성물

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 말뱅이나물 추출물의 유효성분은 말뱅이나물 종자를 50 내지 95 %(v/v) 에탄올로 추출하여 얻어진 것인, 항암제 조성물

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 석죽과 말뱅이나물속 식물 중량의 5 내지 20배에 해당하는 에탄올을 가하고, 50 내지 100 ℃의 온도범위에서 1 내지 10 시간 동안 추출한 후 수득한 추출물을 여과하고, 여과된 액으로부터 에탄올을 증발시킴으로써 수득하는 것을 특징으로 하는 항암제 조성물

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 항암제 조성물을 포함하는 건강기능성 식품 조성물

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 항암 기작은 뇌종양세포에서의 아포토시스 또는 괴사를 통하여 진행되는 것을 특징으로 하는 항암 조성물

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 말뱅이나물(*Saponaria vaccaria*) 석죽과식물 추출물의 유효성분을 함유한 항암제 조성물 및 이를 포함하는 건강기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 암은 정상세포의 활동을 지배하는 조절기전이 파괴되어 세포의 증식, 분화 및 생존의 조절능력이 상실된 상태로 성장과 분화가 억제되지 못하고 세포가 계속 증식하는 것이다. 다양한 요인들에 의해 세포 내에서는 암을 일으키는 데 관여하는 유전자와 암의 발생을 억제할 수 있는 유전자간의 발현균형 이상으로 세포성장의 억제작용이 깨어지면 복잡한 여러 단계의 과정을 거쳐 수년 혹은 수십년 후에 한 세포 혹은 여러 세포에서 다발성으로 암이 발생할 수 있다.

[0003] 또한 인체에서 발생하는 암의 종류는 100여종 이상이며, 기원에 따라 암은 상피성종양, 결체조직성종양 및 백혈병 또는 임파종과 같이 3집단으로 분류되어 있다. 이 중에서 약 90%는 상피성종양이며 외배엽이나 내배엽의 상피세포에서 유래한다. 이런 암세포는 인간의 신체 중에 부위 구분 없이 발생하며, 주변조직 및 장기에 침범하여 장기의 구조와 기능을 파괴할 뿐만 아니라 다른 장기로 전이를 하는 특징을 갖고 있다.

[0004] 최근 암 발생률은 산업의 급격한 발달, 지구 생태계 및 식생활의 변화, 인간의 수명연장으로 인하여 과거에 비해 급격히 증가하고 있으나, 아직도 암에 대한 발생기전이 불명확하여 난치성 질병으로 알려져 있다. 세계보건기구(WHO)의 연구분석에 따르면 2020년에는 전 세계 암발생 인구가 매년 3천만명으로 늘어나고, 이중 2천만명의 인구가 사망할 것이라고 예상하고 있다. 이렇게 사회적 피해가 큰 암을 치료하는 것은 21세기 인간의 수명연장과 아울러 인적, 물적 피해를 줄이기 위해 의미를 크게 가지고 있으며, 이를 해결하기 위해 한국에서뿐만 아니라 세계각국 수많은 연구자들이 공통적인 연구과제로 삼고 있다.

[0005] 암의 발생기전은 단순히 한 단계의 과정을 거치는 것이 아니라 여러 단계를 거쳐 발생한다. 즉, 제1단계(암유발 개시단계 - initiation): 발암원이 DNA를 공격하여 돌연변이를 유발하는 비가역 반응단계, 제2단계(암유발 촉진단계 - progression): 발암원의 작용을 촉진하는 엑시플로평평의 작용으로 양성 종양을 유발하게 하는

단계, 제3단계 (암진행단계 - metastasis): 양성 종양에서 악성 종양으로 전환하여 악성 종양의 특성이 증대되는 과정인데 이 단계에서는 암 촉진유전자와 암 억제유전자의 돌연변이가 점차 증가하며, 염색체의 이상이 분명하게 나타나게 되는 단계로 구분된다.

[0006] 암의 치료에 사용되는 방법은 크게 외과적 수술, 방사선 치료 및 약물치료 등 세가지가 있다. 외과적 수술은 다양한 암의 단계에서 적용될 수 있다. 초기단계의 암들은 외과적 수술로 치료가 가능하지만, 암이 많이 진전되거나, 전이가 일어난 경우 외과적 수술만으로는 치료가 어렵게 된다. 방사선 치료는 외부에서 방사선을 조사하거나, 체내로 투여한 방사성 물질에서부터 나온 X-ray나 γ -ray를 암세포에 조사하여 암을 치료한다. 방사선요법은 외과적 수술이 곤란한 부위나 방사선에 민감한 암의 치료에 사용되는데, 약물치료와 병행하거나, 외과적 수술 전후에 사용된다. 약물치료는 항암제를 경구나 주사로 투여하여, 암세포의 증식에 필요한 DNA나 관련 enzyme을 파괴하거나 억제하는 방법이다. 이러한 치료는 DNA손상, 세포의 스트레스, DNA복제 억제, 세포 분열에 의해 암세포의 죽음을 유도하지만, 이러한 치료법으로 반복 치료 후에 부작용이 따르고 또한 암에 대한 저항성이 생기며, 완치가 어려워 근본적인 치료법은 되지 못하고 있는 현실이며 암의 진단이 늦어지거나 암이 전이된 경우에는 치료 방법이 복잡해지고 치료에 소요되는 정신적, 경제적 부담이 훨씬 커지게 될 수 있다. 임상적인 약물치료로 사용되고 있는 항암제는 크게 화학적요법제와 생물요법제로 분류할 수 있다. 화학적요법제는 암세포의 각종 대사경로에 개입하여 주로 DNA와 직접 작용하여 DNA의 복제, 전사, 번역과정을 차단하거나, 핵산 전구체의 합성을 방해하고 세포분열을 제거함으로써 항암활성, 즉 암세포에 대한 세포독성을 나타내는 약제들이다. 화학적요법제는 핵산알킬화제, 대사길항제, 항생제 등이 있다. 생물요법제는 인체의 면역기능을 회복시키거나 증가시켜 암세포의 활동력을 약화시켜 암의 진행을 막는 것을 치료적 근거로 하고 있다. 현재, 사용되거나 개발되고 있는 생물요법제로는 인터루킨, 인터페론 같은 사이토카인, 단일항체 등 제조합 항체, 유전자치료제, 신생혈관 형성 억제제 등이 있다.

[0007] 현재 암 치료에 사용되고 있는 대부분은 화학적요법제로, 이들은 암의 완치보다는 증상완화의 방법으로 사용되고 있어서, 암의 증상과 증후를 일시적으로 제거해주고 수명을 연장시켜 주는 수준에 불과하다. 또한 이는 세포독성 약물로서, 암세포뿐만 아니라, 정상세포에도 독성을 가지고 있다. 따라서, 정상세포 같은 원하지 않은 부분에 악영향을 끼치는 부작용을 나타낸다. 정상세포보다, 왕성하게 증식하는 암세포에 보다 많은 독성을 보이는 것이 사실이지만, 인체 내에는 새로운 세포의 증식이 왕성하게 일어나는 부분이 있어서, 이들에 미치는 부작용이 심각하다. 세포의 증식이 활발히 일어나는 골수, 모낭, 위장관 내피세포 등은 화학요법제의 영향을 많이 받기 때문에, 약물치료를 받는 환자들은 골수에서 만들어지는 면역에 관계되는 세포들에 대한 부작용이 크므로 면역에 관계된 백혈구의 감소, 혈액응고에 관련한 적혈구, 백혈구 및 혈소판의 감소 등으로, 세균감염, 자연출혈, 탈모, 메스꺼움 및 구토 등의 부작용을 겪게 된다. 따라서 이러한 항암제의 부작용을 최소한으로 줄이기 위하여 여러 가지 천연자원으로부터 정상세포에는 독성이 적으며 암세포에 있어서는 선택적인 항암활성을 가지고 있는 안정성이 높은 새로운 효과적인 항암 치료제에 대한 연구개발이 계속해서 이루어지고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 말뱅이나물 종자의 추출물에 대하여 다양한 항암효과에 대한 여러 가지 지표의 테스트를 실시해 봄으로써, 뇌종양세포의 증식을 억제하는 효과를 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서, 본 발명의 일례는 말뱅이나물(*Saponaria vaccaria*) 종자의 추출물을 유효성분으로 함유하는 항암제 조성물을 제공한다.

[0010] 또 다른 예는 상기 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 포함하는 건강기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

[0011] 또 다른 예는 상기 말뱅이나물 종자 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암제 조성물의 제조 방법에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명자들은 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 B103 (Rat neuroblastoma cell)과 Rat-2 (Rat embryo fibroblast cell)에 24, 48, 72시간 처리한 후 시간의존적으로 광학현미경하에서의 형태학적 변화를 관찰하였으며, 세포성장억제 및 독성을 관찰하기 위하여 CCK-8 assay를 실시한 후 항암효과를 측정 규명하여 본 발명을 완성하였다.

- [0013] 이에, 말뱅이나물(*Saponaria vaccaria*) 식육과 식물 추출물의 유효성분을 함유하는 항암제 조성물이 제공된다.
- [0014] 또 다른 예에서,
- [0015] 건조된 말뱅이나물 종자 식물을 준비하는 단계; 및
- [0016] 상기 준비된 건조시킨 말뱅이나물 식물에 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매를 가하여, 수용액상에서 추출하는 단계를 포함하는 상기 항암제 조성물의 제조 방법이 제공된다.
- [0017] 이하, 이를 보다 상세히 설명한다.
- [0018] 말뱅이나물(*Saponaria vaccaria*)는 쌍떡잎식물 중심자목 석죽과에 속하는 한해살이풀 또는 두해살이풀이다. 높이는 50~60cm정도로 자라고, 줄기는 위쪽에서 가지가 갈라지고 털이 없다. 잎은 마주나고 계란모양 바소꼴이거나 바소꼴이며 잎자루가 없다. 끝은 뾰족하고 가장자리가 밋밋하며 전체가 흰빛을 띤 녹색이다. 꽃은 분홍색으로서 6~7개월에 원줄기 끝에서 자란 취산꽃차례에 드문드문 달린다. 작은 꽃자루 가운데에 작은 포가 있다. 꽃받침은 계란모양 원통형이고 길이 약 15mm이다. 날개처럼 생긴 5개의 능선이 있고 끝이 5갈래로 갈라진다. 꽃잎은 계란을 거꾸로 세워놓은 모양이며 끝에 얇고 불규칙한 톱니가 있다. 수술은 10개, 암술대는 2개이다. 열매는 삭과로서 계란모양이며 꽃받침에 쌓여 있다. 종자가 여러 개 들어 있는데, 종자는 갈색을 띠며, 둥글고 끝에 작은 돌기가 있다. 유럽 원산의 귀화식물이다. 한국, 북아메리카 등지에 널리 분포되어 있다. 본 발명의 구체예에서는 말뱅이나물(*Saponaria vaccaria*)을 사용하였다.
- [0019] 본 발명의 말뱅이나물속 식물 추출물은 식물 전체를 추출하여 얻어진 것이거나, 식물 일부(뿌리, 잎, 꽃, 줄기, 열매 등), 예컨대 식물의 지상부(잎, 꽃 줄기, 열매), 바람직하게는 종자를 추출하여 얻어진 것일 수 있다. 지금까지 말뱅이나물 종자 추출물에 대한 항뇌종양 효과에 대해서는 알려진 바가 없다. 특히, 본 발명에 따른 말뱅이나물 식물 추출물은 다른 유효성분과 병용되지 않고 단독으로 사용되는 경우에도 충분한 항뇌종양 효과를 얻을 수 있다는 장점이 있다.
- [0020] 상기 말뱅이나물속 식물 추출물은 식물의 종자를 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 것일 수 있다.
- [0021] 구체예에 있어서, 상기 말뱅이나물 종자 추출물은 말뱅이나물 종자를 10 내지 99.9%(v/v)의 탄소수 1 내지 5의 알코올, 바람직하게는 50 내지 95%(v/v)의 에탄올로 추출하여 얻어진 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 구체예에서는 말뱅이나물 종자를 60 내지 90%의 에탄올로 추출하여 얻어진 추출물을 사용하였으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 말뱅이나물의 유효성분이 충분히 추출될 수 있도록, 상기 추출용매의 사용량은 말뱅이나물을 원료 중량의 5 내지 20배, 바람직하게는 약 7 내지 15배일 수 있으며, 추출 온도는 50 내지 100℃, 바람직하게는 60 내지 80℃ 범위로 하고, 추출 시간은 1 내지 10 시간, 바람직하게는 1 내지 5시간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명의 조성물은 유효성분인 말뱅이나물 종자 추출물 외에, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다. 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다. 상기 추가성분의 함량은 바람직하게는 상기 말뱅이나물 종자 추출물 100 중량부당 0.01 내지 100 중량부 범위에서 추가할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0025] 상기 조성물 내의 말뱅이나물 추출물의 함량은 질환의 증상, 증상의 정도, 환자의 상태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.0001 내지 99.9중량%, 바람직하게는 0.001 내지 50중량%인 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.
- [0026] 상기 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있으며, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형, 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0027] 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 증진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 적어도 한 가지 이상의 부형제 및/또는 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드

파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다.

[0028] 상기 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 보다 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물의 투여량은 유효성분을 기준으로 1일 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg으로 하는 것이 좋으나 이에 제한되는 것은 아니다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 조성물을 동물, 바람직하게는 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육, 피하주사 등에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물의 약학적 투여 형태는 유효성분의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

[0029] 또 다른 예에서, 상기 말뱅이나물 식물 추출물을 포함하는 건강기능성 식품 조성물이 제공된다.

[0030] 본 발명에서 식품은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 각종 식품, 건강기능 식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의미로 사용된다. 상기 식품의 예로서 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일, 채소류, 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 건강기능식품, 음료, 식품첨가제 또는 음료첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0031] 상기 식품 조성물은 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0032] 또한, 상기 식품에 있어서, 상기 말뱅이나물 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 상기 식품이 음료인 경우에는 식품 전체의 부피 100 ml 를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0033] 본 발명은 항암제 조성물에 관한 것으로 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 이용한 항암효과를 얻는 것을 그 특징으로 하며 이는 천연물에서 유래한 항암제 조성물이라는 측면에서 그 의의가 있으며 이를 적극적으로 활용할 경우 다양한 질병에 대한 항암제 조성물로서 널리 활용될 수 있으며 나아가 국민 건강에 기여 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분이 Rat 신경아세포종 세포주 (Rat B103 Neuroblastoma cell)에 미치는 영향을 광학현미경에서 관찰한 사진이다.

도 2는 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분이 Rat 신경아세포종 세포주 (Rat B103 Neuroblastoma cell)에 대한 세포성장억제 및 독성을 조사하기 위하여 CCK-8 assay를 실시한 결과이다.

도 3은 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분이 Rat embryo Rat-2 fibroblast cell에 대한 세포성장억제 및 독성을 조사하기 위하여 CCK-8 assay를 실시한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하도록 한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 대표적으로 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[0036] 실시예 1: 말뱅이나물 종자 추출물의 제조

[0037] 말뱅이나물 종자 부분을 건조시킨 후, 건조된 말뱅이나물 종자 100g에 상기 중량 기준으로 10배(v/v)의

70%(v/v) 에탄올을 가하고, 70℃에서 3시간 동안 추출한 다음, 이를 여과하여 말뱅이나물 종자 추출액을 얻었다. 상기 추출 과정을 2회 반복하여 얻어진 추출액을 40℃ 이하에서 감압 농축한 후 이를 동결 건조하여 분말상의 추출물을 얻었다.

[0038] **실시예 2: 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분이 Rat-2 fibroblast cell에서의 세포독성 실험.**

[0039] 상기 실시예 1에서 제조된 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 Rat embryo Rat-2 fibroblast cell에 대한 세포독성을 조사하기 위하여 CCK-8 assay를 실시하였다. 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 각각 1.0, 5.0, 10, 20, 30, 60, 100 ug/ml의 농도로 처리하고, 37℃ 24시간 배양한 후 세포독성을 측정하였다. 대조군은 말뱅이나물 종자 추출물 대신에 DMSO가 동량 처리된 Rat-2 fibroblast cell을 사용하여 동일한 조건에서 실험을 진행하였다.

[0040] 상기 얻어진 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1은 1.0, 5.0, 10, 20, 30, 60, 100 ug/ml 의 농도로 처리된 Rat-2 fibroblast cell그룹을 대조군과 비교하여 나타낸 것이다. 도 1에서 보듯이, 말뱅이나물 종자 추출물은 대조군과 비교하여 세포증식억제 및 독성이 농도 의존적으로 감소되어 세포 생존력이 현저하게 감소된 결과를 보여준다.

[0041] **실시예 3: 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분이 Rat신경아세포종 세포주 (Rat B103 Neuroblastoma cell)에서의 세포독성 실험**

[0042] 상기 실시예 1에서 제조된 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 Rat 신경아세포종 세포주 (Rat B103 Neuroblastoma cell)에 대한 세포독성을 조사하기 위하여 CCK-8 assay를 실시하였다. 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분을 각각 1.0, 10, 30, 50, 70, 90, 100 ug/ml의 농도로 처리 24시간 후 세포독성을 측정하였다. 대조군은 말뱅이나물 종자 추출물 대신에 DMSO가 동량 처리된 Rat B103 Neuroblastoma cell을 사용하여 동일한 조건에서 실험을 진행하였다.

[0043] 상기 얻어진 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2는 1.0, 10, 30, 50, 70, 90, 100 ug/ml 의 농도로 처리된 Rat B103 Neuroblastoma cell 그룹을 대조군과 비교하여 나타낸 것이다. 도2에서 보시다시피, 말뱅이나물 종자 추출물은 대조군과 비교하였을 때 농도 의존적으로 강력한 세포독성을 나타내는 것을 확인할 수 있다. 이는 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분이 높은 항암활성을 띠고 있다는 것을 암시한다.

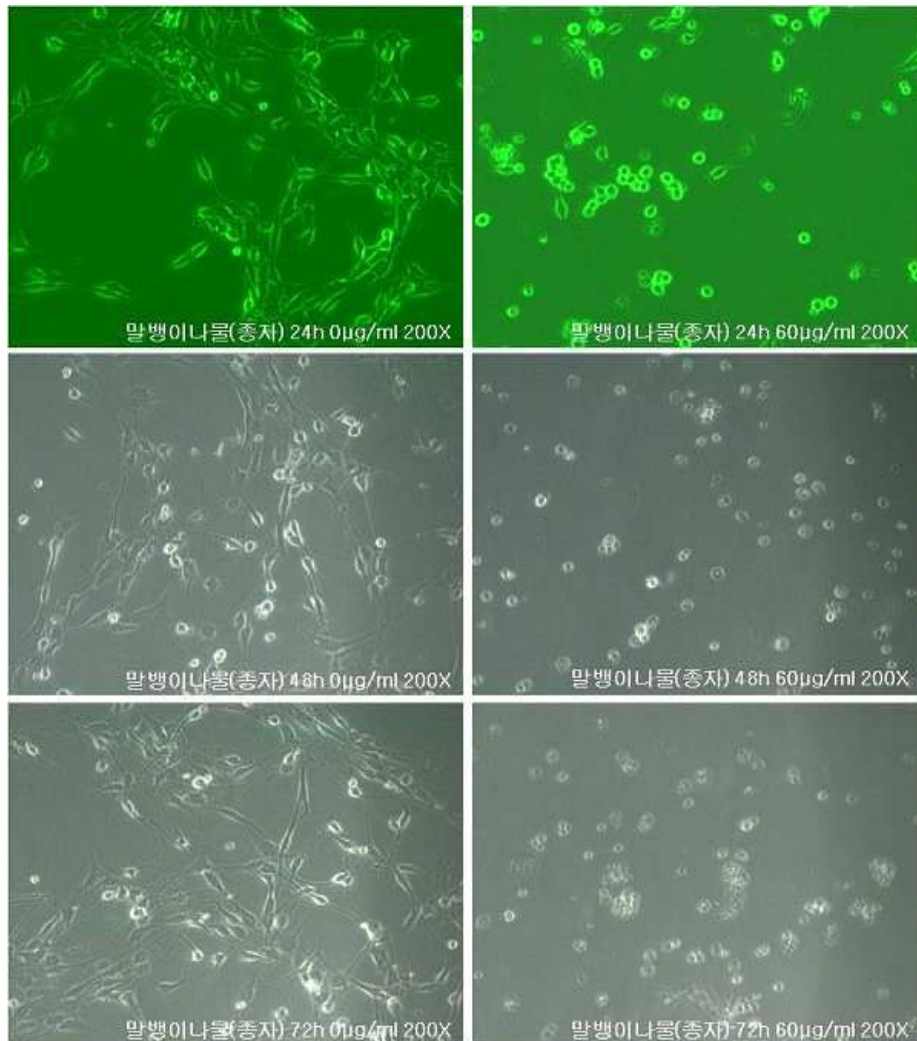
[0044] **실시예 4: 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분이 암세포에 대한 증식 억제 실험**

[0045] 상기 실시예 1에서 제조된 말뱅이나물 종자 추출물을 Rat 신경아세포종 세포주 (Rat B103 Neuroblastoma cell)에 60ug/ml의 농도로 처리 24, 48, 72 시간 후 암세포의 형태적 변화를 광학현미경으로 조사하였다. 대조군은 말뱅이나물 종자 추출물 대신에 DMSO가 동량 처리된 신경아세포종(Rat B103 Neuroblastoma cell)을 사용하여 동일한 조건에서 실험을 실시하였다.

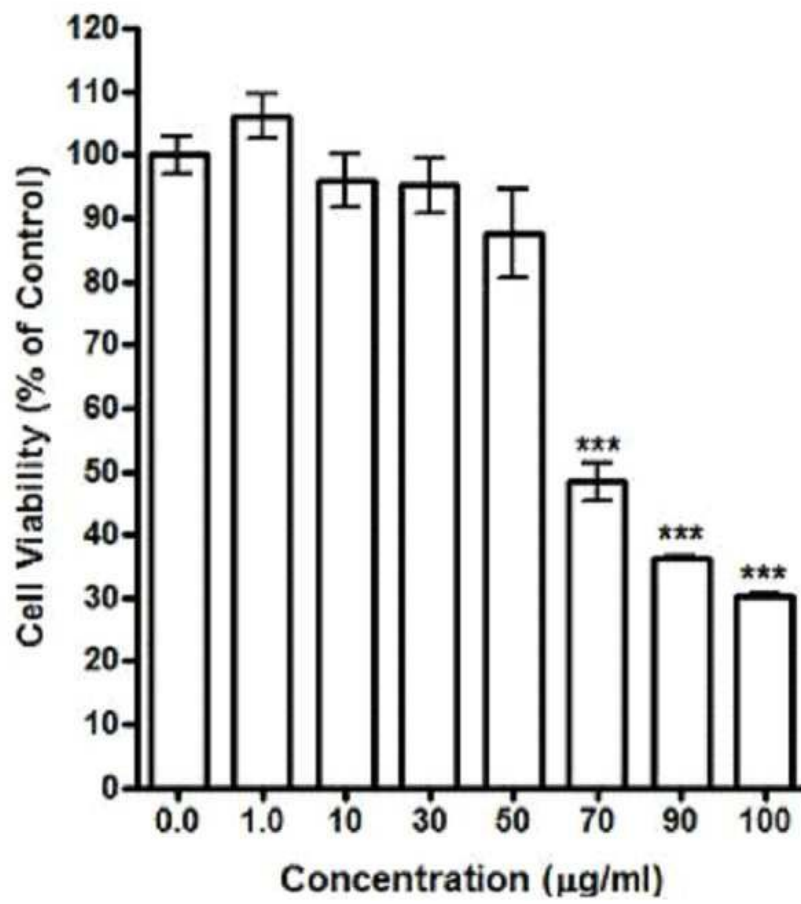
[0046] 상기 얻어진 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3은 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분의 처리 시간에 따른 형태학적변화를 대조군과 비교하여 보여주는 사진이다. 도 3에서 보시다시피, 말뱅이나물 종자 추출물의 유효성분은 대조군과 비교할 때 시간의존적으로 형태학적 변화가 일어난 양상을 관찰할 수 있다. 즉 세포가 응축되고, 불규칙적인 형태를 가지면서 전반적인 세포의 수량이 줄어들면서 세포사멸이 나타난 것을 관찰 할 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

