



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년03월06일
(11) 등록번호 10-1239320
(24) 등록일자 2013년02월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/42 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0104085
(22) 출원일자 2010년10월25일
심사청구일자 2010년10월25일
(65) 공개번호 10-2012-0042398
(43) 공개일자 2012년05월03일
(56) 선행기술조사문헌
JP2002205953 A*
JP2007190004 A
KR1020090027241 A
KR1020080031049 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
(주)파이토엠엔에프
광주 동구 서석동 375 조선대학교 창업보육센터 401호
(72) 발명자
부희옥
서울특별시 노원구 중계동 515-2 건영아파트 106동 906호
이장원
전라북도 전주시 완산구 강변로 242, 남양 i좋은 집아파트 101동 202호 (효자동1가)
(74) 대리인
황주명, 성정현

전체 청구항 수 : 총 3 항

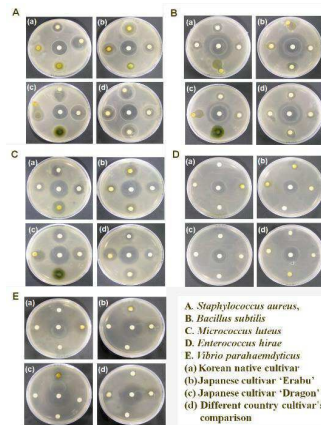
심사관 : 정세준

(54) 발명의 명칭 **여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물**

(57) 요약

본 발명은 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물 및 암 질환 예방 또는 개선용 기능성 건강식품에 관한 것이다. 본 발명에 따른 여주 추출물은 다양한 암세포의 증식을 억제하는 활성이 우수할 뿐만 아니라 인체 유해균에 대한 항균 활성도 우수한 특징이 있으므로 암 질환의 예방 및 치료를 위한 치료제와 더불어 건강기능식품으로 유용하게 사용할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

여주(*Momordica charantia* L.) 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물로서, 간암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 직장암 및 췌장암으로 이루어진 군 중에서 선택되는 암 질환을 예방 또는 치료할 수 있는 항암 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 추출물은 한국 재래종 또는 Peacock, Nikko, Dragon 및 Erabu로 이루어진 군 중에서 선택되는 일본 품종의 여주를 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 아세톤, 에테르, 벤젠, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 메틸렌클로라이드로 이루어진 군 중에서 선택되는 용매로 추출한 것을 특징으로 하는 항암 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

여주 추출물을 유효성분으로 함유하는 건강기능식품으로서, 간암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 직장암 및 췌장암으로 이루어진 군 중에서 선택되는 암 질환의 예방 또는 개선을 위한 건강기능식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 암세포에 대해 증식억제 효과를 가지는 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 암은 전 세계적으로 현대인의 사망원인 1위 질병으로서, 한국인 암 사망률은 세계 상위 수준인 것으로 알려져 있다. OECD가 2년에 한번씩 30개 회원국의 보건으로 상황을 조사해 발표한 내용을 따르면 한국인의 전체 암에 의한 사망률은 인구 10만명당 242명으로 OECD 회원국 중 4위로 높았다. 이는 인구의 평균수명은 늘어난 것에 비해 건강한 삶을 보장하기에는 아직 턱없이 미흡하다는 결과를 반영한다. 암은 증식과 억제 조절되지 않는 비정상적인 세포들이 통제되지 못하고 과다하게 증식할 뿐만 아니라 주위 조직 및 장기에 침입하여 종괴 형성 및 정상 조직의 파괴를 초래되는 질병으로, 억제가 안되는 세포의 증식으로 정상적인 세포와 장기의 구조와 기능을 파괴하기 때문에 그 진단과 치료의 중요성이 더 강조되고 있다. 암은 어느 조직에서나 발생할 수 있지만, 가능성은 제한되어 있다. 예를 들어 유방암의 경우에는 좌측 상단에는 40%의 발병률이 있으나 우측 하단에는 20% 정도에 지나다.

[0003] 암이 발생하는 원인은 아직도 정확히 밝혀진 바가 없지만, 지금까지 알려진 바에 따르면 정상적인 세포의 유전자나 암 억제 유전자에 돌연변이가 생겨서 나타난다고 한다. 대표적인 암 억제 유전자인 p53 유전자의 경우는 자연발생적인 원발성 종양의 약 50%에서 이 유전자의 돌연변이가 관찰되었지만 특정 유전자 몇 개의 변이로만 암이 일어나는 것이 아닌 것은 확실해 보인다. 유전자 치료를 통해 정상 p53유전자를 암세포에 주입했을 경우 환자의 상태가 호전되지 않는다는 연구가 발표되어 있는 것을 봐도 복잡한 원인에 의해서 발생하는 것으로 추정된다. 다만 몇 가지 발암원을 연구함으로써 그것들의 사용을 금지하고 있다. 폐암은 지속적인 흡연(간접 흡연 포함), 도시 공해 등이 발암원이라고 추정되며 간암은 지나친 음주 등이 원인으로 추정된다. 또한 벤젠과 같은 일부 방향족 탄화수소가 강력한 발암원임이 밝혀졌으며 폴리염화비닐을 태울 때 나오는 다이옥신 또한 발암원으로 밝혀져 있다.

- [0004] 암으로 인해 나타나는 징후와 증상은 암의 종류, 크기와 위치에 따라 다양하다. 암으로 인한 증상과 징후는 암 조직 자체의 영향, 주위의 장기와 구조물에 영향을 줄 때 생기며, 암이 몸의 다른 부위로 전이가 된다면 징후와 증상은 매우 다양하게 나타날 수 있다. 암의 초기 단계에는 특별한 증상이 없는 경우가 많고 증상이 비 특이적이기 때문에 다른 질환과의 구분이 어렵다. 그러나 암이 자라면서 주위의 기관, 구조물, 혈관, 신경을 압박하게 되며 여러 징후와 증상이 나타나게 되는데, 예를 들면 좁은 공간에 있으며 주위에 복잡한 기관이 많은 뇌하수체에 생긴 암 같은 경우는 작은 경우라도 그 증세와 징후가 빨리 나타나지만, 췌장처럼 넓은 복강에 있으며 주위에 복잡한 장기나 기관이 없는 곳에서 생긴 암은 상당히 큰 크기로 자랄 때까지 특별한 증세와 징후가 나타나지 않는 경우도 있다. 또한 암이 피부 가까이에서 커진다면 덩어리로 만져질 수도 있다. 암이 커지면서 나타나는 증상으로는 변비처럼 장기 내장을 막아서 생기는 증세가 있고, 췌장암과 담도암처럼 담관을 막아 황달 등의 징후를 보이기도 한다. 폐암 등은 기관지를 자극하여 기침을 유발하게 된다. 암이 신경이나 혈관을 누르거나, 뼈 등으로 전이가 생긴 경우는 통증을 일으킬 수도 있다. 위암과 대장암처럼 암의 성장으로 조직에서 출혈을 하는 경우 혈변과 빈혈, 폐암은 객혈, 방광암에서는 혈뇨 등이 생기게 된다. 암은 여러 면역기능에도 영향을 줄 뿐 아니라 체중감소, 발열, 피로, 전신쇠약, 식욕저하 등의 전신적인 증세를 만드는데, 이는 암세포에서 만들어진 물질들이 혈관을 통해 전신으로 퍼지며 신체대사에 영향을 주기 때문에 생기는 것이다.
- [0005] 암의 치료는 진단된 암의 종류, 진행상태(병기), 환자의 전신상태 등에 따라 결정되며 다른 질환의 치료에 비해 치료방법이 다양하고 복잡하며 부작용이 생길 가능성이 높다. 따라서 치료법의 특징과 장단점을 충분히 이해하는 것이 중요하며, 암의 치료 후 예후를 예측할 수 있는 예후인자는 여러 가지가 있으나 그 중에서도 종양의 크기(T), 주위 림프절로의 전이여부(N), 원격장기로의 전이여부(M)로 결정되는 종양의 진행상태가 가장 중요하며, 암이 많이 진행되었거나 체중감소 등 치료 전 전신상태가 좋지 않은 경우는 예후가 불량한 것으로 알려져 있다. 전이 또는 재발한 암환자에서는 환자의 활동성, 치료 후 무병기간, 수술여부, 암의 특성에 의한 항암제와 방사선 치료의 반응성, 타 장기로의 전이 정도와 전이 부위 등이 예후와 관계가 있으며 이와 같은 임상적 소견 이외에도 환자의 예후와 관계가 있는 병리학적 소견으로는 암세포의 종류, 종양의 크기, 종양의 세포분화도, 유전자 발현 정도 등이 있다. 암환자 치료 후 생존율은 대체로 '5년 생존율'을 말하는데, '5년 생존율'이란 암으로 치료를 받은 환자 중 치료를 시작한 날 부터 5년 이내에 해당 암으로 사망한 환자를 제외한 환자의 비율을 말한다. 이때 '재발하거나 진행하고 있더라도' 생존해 있는 한 생존률에 포함되며, 생존율을 설명할 때 세부적인 구분으로서 '암의 징후가 없는 생존율', '암의 진행이 없는 생존율'로 나눠서 설명하기도 한다.
- [0006] 한편, 암 치료와 예방을 놓고 수십 년간 계속되어온 논쟁이 최근 예방에 무게를 실어주는 쪽으로 결론이 나 눈길을 끌고 있다. 스위스 제네바에 있는 국제항암연합(International Union Against Cancer, or IUAC)이 2010년 2월 2일 발표한 보고서에 따르면, 완전한 예방 백신 접종, 금연, 건강한 식사, 과도한 음주를 피하고, 적정 체중, 운동습관, 자외선 대책 등, 라이프스타일의 개선으로 암의 발병 리스크는 최대 40%나 감소할 수 있다고 한다. 따라서 최근에는 암을 치료하는 측면뿐 아니라 예방하는 면에 더욱 중요성이 증가되고 있다.
- [0007] 또한, 현재 사용되고 있는 암 치료제의 경우, 치료 효과가 우수한 치료제는 암 세포 뿐만 아니라 정상 세포도 공격하는 문제점이 있고 환자에게 각종 부작용을 유발시키는 문제점이 발생하고 있다.
- [0008] 따라서 이러한 부작용을 줄이기 위한 노력으로 항암 활성이 우수한 약리 성분을 천연물로부터 획득하려는 연구가 진행되고 있는데, 이러한 연구 결과, 대한민국공개특허 제2010-0066433호에는 해양미생물 추출물을 포함하는 항암 조성물에 대한 내용이 개시되어 있고, 대한민국공개특허 제2010-0062168호에는 느티나무 메탄올 추출물을 포함하는 항암 조성물이 개시되어 있으며, 대한민국공개특허 제2010-0055653호에는 솔이끼 추출물을 유효성분으로 함유하는 항암용 조성물이 개시되어 있는 등 각종 천연물을 이용하여 암을 치료하고자 하는 연구들이 지금도 활발히 진행되고 있다.
- [0009] 한편 여주(*Momordica charantia* L.)는 박과(Cucurbitaceae)에 속하는 채소 또는 약용식물로 주로 열대나 아열대 지역에서 자라며, 주로 열매를 식용으로 이용하는데, 쓴 맛이 강하여 일반적으로 영문으로는 bitter gourd 또는 bitter melon이라고 불린다. 어린 열매는 녹색을 나타내고, 더 성숙되면 오렌지색으로 변하며, 시간이 더 지나면 과육이 터져 빨간색 가중피가 노출되고, 종자는 일반적으로 브라운색을 나타낸다. 일본, 중국, 동남아시아 지역에서는 주로 미숙과를 식용으로 재배하고 있으나 어린잎을 식용으로 이용하기도 한다.
- [0010] 여주는 예로부터 우리나라에서는 집 울타리에 관상용으로 많이 심었는데, 최근에는 미국이나 유럽 등 일부 선진국에서 다양한 건강식품으로 활용되고 있다. 여주의 쓴맛이 위를 자극하여 소화액 분비를 촉진하고 식욕이 생길도록 하고, 건위, 정장 작용도 있다. 또한 동남아시아의 전통 의학에선 피부병, 야맹증, 기생충, 류머티스, 통풍, 신체 허약 등에 효과가 있는 식품으로 여겨 이용해 왔다.

- [0011] 또한, 여주의 성분 연구는 1960대 이후로 이루어져 왔으며 여러 종류의 일차대사산물과 이차대사산물이 과실, 잎, 줄기, 뿌리, 종자 등에서 분리되어졌다. 여주에는 지방, 조단백질, 수용성 식이섬유, 미네랄, 에센셜 오일, 후라보노이드, 페놀산, 글리코시드, 크리테르펜 등 다양한 일차, 이차대사산물과 특히 미숙과에는 비타민 C와 비타민 A가 풍부한 것으로 나타났다.
- [0012] 여주가 함유하고 있는 이차대사산물(secondary metabolites) 중 cucurbitane-type triterpenoids가 주요 기능성 물질로 알려져 왔으며 그 물질들이 특히 항비만 효과가 있는 것으로 연구되어 왔다. 카란틴(Charantin)은 여주에서 분리된 cucurbitane-type triterpenoid의 일종으로 가장 연구가 많이 이루어진 물질 중에 하나이다. 이 물질은 sitosteryl glucoside와 stigmasteryl glucoside 두 물질이 혼합된 상태로 존재한다고 보고되고 있다.
- [0013] 또한 여주의 주요 기능성 성분인 카란틴은 인슐린 내성관련 혈당을 낮추는 효과가 높은 것으로 여러 실험을 통해 입증되고 있으며, 또한 여주의 쓴맛에는 식물스테롤 배당체들과 많은 종류의 아미노산, 갈락톤산, 시트룰린, 펙틴 등의 성분이 들어 있어 이 성분들은 혈당강하 기능이 탁월한 것으로 알려져 있고, 특히 식물인슐린이라고도 불리는 펩타이드성 물질인 카란틴(charantin)은 인슐린 분비에 결정적 역할을 하는 베타세포를 활성화시켜 인슐린의 분비를 촉진함으로써 혈당을 낮춰주는 역할을 하는 것으로 보고되고 있다.
- [0014] 이와 같이 여주의 생리활성에는 혈압을 낮추는 효과 외에 피를 맑게 해주는 정혈작용(淨血作用), 비타민 C가 많이 함유되어 있어 피부미용 및 변비 해결에도 좋은 효능이 있는 것으로 알려져 있다.
- [0015] 그러나 아직까지 여주가 암을 예방 또는 개선할 수 있다는 작용에 대해서는 구체적으로 알려진 바 없다. 암은 다양하고 복잡한 기전을 가졌기 때문에 현대의학의 발달에도 불구하고 암은 여전히 치료가 어려운 질병의 하나로 여겨지고 있으며, 암 종류에 따라서는 식생활 패턴이 중요한 요소로 작용하기도 한다. 최근 식품이나 천연물 자원으로부터 암을 예방 또는 치료할 수 있는 식품화학물질(phytochemicals)을 찾으려는 연구들이 다양한 분야에서 활발히 진행되고 있다.
- [0016] 이에 본 발명자들은 여주가 암을 예방 또는 치료할 수 있는 가능성을 일련의 실험을 통해 일부 확인하였으며, 나아가 안전하고 부작용을 최소화한 여주추출물을 주성분으로 한 항암 조성물을 제조하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0017] 이에 본 발명자들은 세계 각 품종별 여주로부터 생리활성 성분이 함유된 추출물을 수득하여 각 품종별 항균활성 및 항암활성을 확인하고 여주 추출물이 우수한 항균활성 및 항암활성을 갖는다는 사실을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0018] 따라서 본 발명의 목적은 암을 효과적으로 예방 또는 개선할 수 있는 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물을 제공하는 것이다.
- [0019] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 본 발명에 따른 여주 추출물을 유효성분으로 함유하는 암질환의 예방 또는 개선을 위한 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0020] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 추출물은 물 또는 유기용매를 이용하여 수득한 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 유기용매는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 아세톤, 에테르, 벤젠, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 메틸렌클로라이드로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0023] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 항암은 간암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 직장암 및 췌장암으로 이루어진 군 중에서 선택되는 암 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 여주 추출물은 암세포의 증식을 억제함을 통해 항암활성을 갖는 것일 수 있

다.

- [0025] 본 발명의 일실시예에 있어서, 조성물 총 중량에 대하여 상기 여주 추출물을 0.1 내지 50 % 중량으로 포함할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 여주는 한국 재래종 또는 Peacock, Nikko, Dragon 및 Erabu등으로 이루어진 군 중에서 선택되는 일본 품종의 여주일 수 있다.
- [0027] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 여주 추출물을 유효성분으로 함유하는 암질환의 예방 또는 개선을 위한 건강기능식품을 제공한다.
- [0028] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 식품은 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료 형태일 수 있다.

발명의 효과

- [0029] 본 발명에 따른 여주 추출물은 다양한 암세포의 증식을 억제하는 활성이 우수할 뿐만 아니라 인체 유해균에 대한 항균 활성도 우수한 특징이 있으므로 암 질환의 예방 및 치료를 위한 치료제와 더불어 건강기능식품으로 유용하게 사용할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0030] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 여주 추출물의 인간 암세포에 대한 세포독성도를 MTT방법으로 측정하여 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0031] 본 발명은 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물을 제공함에 그 특징이 있다.
- [0032] 여주(*Momordica charantia* L.)는 박에 속하는 일년생 덩굴성 초본식물로 미국에서는 bitter melon(bitter gourd), 아프리카에서는 wild cucumber, 인도에서는 karela, 동남아시아에서는 ampalaya 등 다양한 이름으로 불리고 있다. 중국과 일본에서는 약용 식물로서 외상 치료 및 궤양의 치료에 사용되고 있으나(Gurbuz et al.,2000), 우리나라에서는 관상용으로만 재배되어 왔다. 또한, 동남아시아에서는 피부병, 약맹증, 기생충, 류머티스, 통풍, 신체 허약 등에 효과가 있는 식품으로 여겨 이용해 왔고, 중국 명나라 때에는 피로 회복, 정신 안정에 효과가 있어 이러한 용도로 사용되어 왔다.
- [0033] 또한, 여주에는 다양한 생리활성 성분이 들어 있는데 글루코시야드, 사포닌, 알카로이드, 오일, 트리페르펜, 단백질, 스테로이드계, 비타민 C, 베타-카로틴, Fe, K 등을 함유하고 있는 것으로 알려져 있고(Oyedapo & Araba, 2001), 특히 비타민C는 100g 중 120mg이나 들어 있어 딸기의 1.5배, 양배추의 3배, 레몬의 약 1.3배에 해당하는 양이 함유되어 있을 뿐 아니라 수분이 많은 과육에 들어 있기 때문에 가열해도 거의 파괴되지 않는 것으로 알려져 있다.
- [0034] 한편, 본 발명에서는 여주로부터 수득한 추출물이 암을 예방 및 치료할 수 있다는 사실을 최초로 규명하였다.
- [0035] 따라서 본 발명은 여주 추출물을 유효성분으로 함유하는 항암 조성물을 제공할 수 있다.
- [0036] 본 발명에서 상기 여주는 시중에서 판매되고 있는 여주라면 모두 사용가능하며, 바람직하게는 한국 재래종, 중국 재래종, 일본 품종(예컨대, Peacock, Nikko, Dragon 및 Erabu), 필리핀 품종(예컨대, Verde Buenas, Trident 357, Sta Monica, Galaxy, Sta. Rita Strain. L)을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 한국 재래종 또는 일본 품종을 사용할 수 있다.
- [0037] 본 발명에 따른 상기 여주 추출물은 당업계에서 공지된 천연으로부터 추출물을 수득하는 방법이라면 모두 사용할 수 있으며, 바람직하게는 유기용매를 이용한 추출방법을 통해 수득할 수 있다.
- [0038] 본 발명에 따른 여주로부터 항암억제 활성을 갖는 추출물을 얻는 과정을 보다 상세히 살펴보면 다음과 같다.
- [0039] 먼저, 여주를 얇은 형태로 자른 후, 자른 여주를 여주 과실의 성분이 파괴되지 않도록 저온건조 또는 동결건조하여 건조 중량에 대해 약 1배 내지 10배, 바람직하게는 약 1배 내지 3배의 물 또는 유기용매를 이용하여 당업

계에 공지된 용매 추출 방법을 통해 여주의 추출물을 수득할 수 있다.

- [0040] 또한, 바람직하게 상기 동결건조된 여주는 유기용매를 이용하여 추출하기 이전에 분쇄할 수 있으며, 상기 분쇄는 수작업 또는 기계적 장치를 이용하여 수행할 수 있다.
- [0041] 상기 동결건조 단계에서 “동결건조”란 수용액이나 다량의 수분을 함유한 재료를 동결시키고 감압함으로써 얼음을 승화시켜 수분을 제거하여 건조물을 얻는 방법을 말한다. 즉 식품을 동결시키고 온도와 압력이 낮은 3중점(三重點, 0.01℃, 0.6113kPa) 이하에서 동결상태의 얼음을 승화시켜 건조제품을 얻는 방법이다. 본 발명에서 채용하는 동결건조단계를 위하여 사용할 수 있는 동결건조기는 동결건조를 위해 승화열을 공급하는 가열판, 건조 중에 생성된 수증기를 얼음으로 응축시키는 응축기, 진공실 및 진공펌프로 구성되어 있는 건조기라면 특별히 제한되지 않는다.
- [0042] 이후 분쇄된 여주는 상기 여주에 유기용매를 첨가하여 교반함으로써 추출물을 수득할 수 있는데, 이때 첨가할 수 있는 상기 유기용매로는 이에 제한되지는 않으나, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올 및 n-부탄올 등을 사용할 수 있으며, 상기 용매 추출 방법으로는 이에 제한되지는 않으나, 열수 추출법, 냉침 추출법, 환류 냉각 추출법 또는 초음파 추출법 등을 1회 또는 수회 반복하여 추출할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 일실시예에서는 여주를 동결건조한 후 분쇄한 다음, 99.8% 메탄올을 첨가하여 상온에서 24시간 3회 추출하였다.
- [0044] 이후 추출된 여주 추출물은 감압, 여과 및 농축 과정을 거쳐 각종 유기용매에 용해되어 농축된 여주 추출물의 형태로 제조할 수 있다.
- [0045] 한편, 일반적으로 암은 발암물질에 의해 DNA에 돌연변이가 유도되는 단계, 양성 종양(benign tumor)이 나타나는 단계, 양성종양이 악성종양(malignant tumor)으로 변환되는 단계 및 악성 정도의 증가와 전이로의 단계와 같이 다단계에 의해 진행되는 것으로 알려져 있으며, 이러한 암의 치료는 암세포의 세포증식을 억제하거나 또는 암세포의 세포사멸을 유도하는 방법들이 사용되고 있다.
- [0046] 이에 본 발명자들은 상기 본 발명의 여주 추출물이 항암 활성이 있는지를 조사하였는데, 즉, 본 발명의 일실시예에 따르면, 본 발명에서 수득한 각 품종별 여주 추출물을 인간유래 암세포주인 위암 세포 SNU-601, 직장암 세포 HCT 116, 대장암 세포 Caco-2, 유방암 세포 MCF-75에 처리한 다음, MTT 분석을 통해 세포의 생존율을 측정하였다.
- [0047] 그 결과, 각 여주 품종들 모두 인체 암세포에 대한 세포 독성도를 보였고, 이러한 세포 독성을 통해 암 세포의 증식을 억제하는 활성이 있는 것으로 나타났으며, 특히, 한국 재래종이 전반적으로 암세포에 대해 높은 독성을 보여 가장 좋은 항암활성을 갖는다는 것을 알 수 있었다(표 2 참조).
- [0048] 따라서 상기 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명에 따른 각 품종별 여주 추출물이 암 세포의 세포증식을 억제함으로써 항암 활성을 갖는 사실을 확인하였다.
- [0049] 나아가, 본 발명에 따른 여주 분말의 추출물은 항균 활성이 우수한 특징이 있다.
- [0050] 최근 건강과 장수에 대한 관심이 증대됨에 따라 안전한 먹거리 확보에 대한 관심이 고조되고 있기 때문에, 유용 생리 활성을 가지면서 부작용이 없는 천연물의 활성물질 탐색에 연구가 집중되고 있으며, 특히 인체에 유해한 세균들에 대한 항균활성을 가진 천연물의 경우 보다 안전하게 사용할 수 있다.
- [0051] 이에 본 발명자들은 본 발명에서 제조한 여주 추출물이 항균 활성이 있는지를 조사하기 위해, 품종별 여주 추출물 처리에 따른 항균력을 한국미생물은행으로부터 식품유해균을 분양받아 agar diffusion test를 통해 저해환의 생성을 확인하였다.
- [0052] 그 결과, 그람 양성균 및 그람 음성균 10종의 식품유해균 중에서 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus hirae*, *Vibrio parahaemolyticus*에 대하여 저해환을 형성하여 우수한 항균활성을 갖는 것으로 나타났고, 특히, 그람 음성균인 *S. typhimurium*에 대해서는 가장 높은 항균활성을 보였다.
- [0053] 따라서 본 발명에 따른 여주 추출물은 인체 유해균에 대해 우수한 항균 활성을 가지고 있으므로 보다 안전하게 약학적 용도 및 식품학적 용도로 사용할 수 있다.
- [0054] 그러므로 본 발명은 여주 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암 조성물을 제공할 수 있으며, 상기 본 발명의 조성물은 암의 예방 및 치료를 위한 약학적 조성물로 사용될 수 있고, 여주 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성

물을 포함하는 압 증상의 예방 또는 치료를 위한 약제를 제공할 수 있다.

- [0055] 본 발명에 따른 상기 조성물에 있어서, 여주 추출물은 조성물 총 중량에 대해 0.1 내지 50 중량%로 포함할 수 있다.
- [0056] 또한, 본 발명의 조성물이 예방 또는 치료할 수 있는 상기 압의 종류로는 이에 제한되지는 않으나, 간압, 위압, 대장압, 폐압, 유방압, 직장압 및 췌장압일 수 있으며, 바람직하게는 대장압 및 유방압일 수 있다.
- [0057] 본 발명에 따른 상기 항암 조성물은 약학적으로 유효한 양의 여주 추출물을 단독으로 포함하거나 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기에서 "약학적으로 유효한 양"이란 암 증상을 예방 및 치료하기에 충분한 양을 말한다.
- [0058] 본 발명에 따른 여주 추출물의 약학적으로 유효한 양은 0.5 ~ 100 mg/day/체중kg, 바람직하게는 0.5 ~ 5 mg/day/체중kg이다. 그러나 상기 약학적으로 유효한 양은 암 증상의 정도, 환자의 연령, 체중, 건강상태, 성별, 투여 경로 및 치료기간 등에 따라 적절히 변화될 수 있다.
- [0059] 또한, 상기에서 "약학적으로 허용되는"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 상기 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 또한, 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0060] 또한, 본 발명의 조성물은 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제형화될 수 있다. 제형은 분말, 과립, 정제, 에멀전, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡슐, 멸균 주사용액, 멸균 분말의 형태일 수 있다.
- [0061] 본 발명에 따른 항암 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있으며, 활성 성분의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 중증도 등의 여러 인자에 따라 적절히 선택될 수 있다. 또한, 본 발명의 항암 조성물은 암 증상을 예방 또는 개선하는 효과를 가지는 공지의 화합물과 병행하여 투여할 수 있다.
- [0062] 나아가 본 발명에 따른 여주 추출물은 우수한 항암 효과를 통해 암 증상을 완화시키는 효과를 제공할 뿐만 아니라, 독성 및 부작용도 없어 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있으며, 본 발명에서 사용한 추출물의 원료가 되는 여주는 식품 등급으로 사용할 수 있는 천연식물이므로, 상기 본 발명의 조성물은 체내에 대해 매우 안정한 특징이 있다.
- [0063] 또한, 본 발명의 여주 추출물은 인체 유해균을 저해하는 활성 및 항암 활성이 우수하므로 암 증상의 예방 및 개선을 목적으로 하는 식품에 첨가할 수 있으므로, 상기 본 발명의 여주 추출물을 포함하는 조성물은 암 증상의 예방 및 개선을 위한 식품용 조성물로도 사용할 수 있다.
- [0064] 그러므로 본 발명에 따른 여주 추출물은 암 증상의 예방 및 개선에 효과가 있는 식품, 예컨대, 식품의 주원료, 부원료, 식품 첨가제, 기능성 식품 또는 음료의 제조에 용이하게 활용할 수 있다.
- [0065] 본원에서 상기 "식품"이란, 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, 식품, 식품 첨가제, 기능성 식품 및 음료를 모두 포함하는 것을 말한다.
- [0066] 본원발명에 따른 여주 추출물을 포함하는 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본원발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 목류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 빵류, 건강보조식품, 조미 식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 캔디류, 초코렛류, 껌류, 아이스크림류, 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일 음료, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0067] 또한, 상기 "기능성 식품"이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와

회복 등에 관한 체내조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 구체적으로는 건강 기능성 식품일 수 있다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0068] 또한, 본원발명에서 상기 “음료”란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며 기능성 음료를 포함한다. 상기 음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 식품유해균의 저해 또는 암 증상의 예방 및 개선용 조성물을 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0069] 나아가 상기 기술한 것 이외에 본원발명의 조성물을 함유하는 식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충전제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있으며, 상기 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

[0070] 또한, 본 발명에 따른 식품용 조성물을 함유하는 식품에 있어서, 상기 본 발명에 따른 조성물의 양은 전체 식품 중량의 0.001중량% 내지 90중량%로 포함할 수 있으며, 바람직하게는 0.1 중량% 내지 40 중량%로 포함할 수 있고, 음료의 경우, 100ml를 기준으로 0.001g 내지 2g, 바람직하게는 0.01g 내지 0.1g의 비율로 포함할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 건강 조절을 목적으로 하는 장기간 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로 사용될 수 있으므로 상기 범위에 한정되는 것은 아니다.

[0071] 그러므로 본 발명은 여주 추출물을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 개선을 위한 건강기능식품을 제공할 수 있으며, 상기 식품의 형태는 이에 제한되지 않으나, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료 형태일 수 있다.

[0072] 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0073] <실시예 1>

[0074] 여주 추출물의 제조

[0075] 여주는 국가별, 품종별 여주를 사용하였다. 사용한 품종별 여주의 종류로는 한국품종은 재래종을 사용하였고, 일본품종은 재래종인 Peacock, Nikko, Dragon 및 Erabu 를 사용하였으며, 필리핀품종은 Verde Buenas, Trident357, Sta Monica, Galaxy, Sta. Rita Strain. L을 사용하였다. 이와 같은 여주를 이용하여 여주 추출물을 수득하는 방법은 먼저 친환경 유기적 방법으로 재배된 여주를 수확한 후, 상기 여주 중 적당한 과실을 선별하고, 선별해 낸 여주 과실을 세척하였다. 세척된 여주를 종자를 함유한 상태로 얇은 조각으로 잘게 슬라이스 형태로 절단한 후, 동결건조 하였다. 건조된 시료를 곱게 마쇄하여 분말화한 후, 분말시료와 유기용매(99.8% methanol)를 1:5 비율로 첨가하여 상온에서 24시간 3회 반복 추출한다. 추출액은 감압증발 농축기를 사용하여 1/10로 농축한 후 동결건조하여 시료로 사용한다.

[0076] <실험예 1>

[0077] 여주 품종별 추출물의 식품유해균에 대한 항균활성 검색

[0078] 여주 품종별 추출물의 식품유해균에 대한 항균활성을 측정하기 위해 균주는 한국미생물은행에서 분양받은 식품유해균 11종을 사용하고, Bactotrypton (10g/L), Yeast Extract (5g/L), NaCl (10g/L)이 함유된 배지 (pH.7.0)에서 배양하였으며 각 품종별로 채취한 여주 추출물의 항균력은 agar diffusion test를 사용하여 측정하였다. 즉, 각 시험미생물에 적합한 배지에 10⁷ CFU/ml 농도로 시험미생물을 배양한 soft agar를 petri dish에 분주한 후, 여주 추출물 40μl를 분주한 paper disc를 올려놓고 배양하여 저해환의 생성을 관찰하였다. 24시간 이내에 저해환이 생성된 경우 항균활성이 양성인 것으로 판정하였으며, 저해환의 직경을 측정, 비교하였다. 항균활성

측정을 위한 균주의 배양조건을 하기 표 1에 기재하였다.

표 1

	conditions
Gram positive bacteria	
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCCM 11764)	37 °C, NUTRIENT AGAR
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	30 °C, TRYPTICASE SOY AGAR(BBL)
<i>Micrococcus luteus</i> (KCCM 11326)	30 °C, NUTRIENT AGAR
<i>Enterococcus hirae</i> (ATCC 10541)	37 °C, HEART INFUSION AGAR
Gram negative bacteria	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (ATCC 17802)	37 °C, NUTRIENT AGAR with 3% NaCl

[0080] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 그람양성균 및 그람음성균 10종의 식품유해균 중에서 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus hirae*, *Vibrio parahaemolyticus* 등에 대하여 13-17mm의 저해환을 형성하여 항균활성이 높은 것으로 나타났다. 특히, 그람 음성균인 *S. typhimurium*에 대해서 가장 높은 항균활성을 보였다.

[0081] <실험예 2>

[0082] 여주 추출물의 각종 인체 암세포에 대한 증식억제 효과 분석

[0083] 각종 인체 암세포에 대한 증식억제 효과 측정을 위한 여주 추출물을 조제하기 위해 각 처리별로 제조한 시료를 동결건조(Freeze dryer, samwon Co.)하여 마쇄한 후, 99.8% 메탄올을 건물량의 5배 정도 첨가하여 상온에서 24시간 3회 추출하였다. 추출액은 감압증발 농축기를 사용하여 1/10로 농축한 후 동결건조하여 분말화하여 시료로 사용하였다. 또한 분획물 제조를 위해 상기 와 동일한 방법으로 동결건조한 시료로 메탄올 추출물을 조제한 후, 이 추출물을 각 용매별로 분획하여 hexane층, ethylacetate층, butanol층 및 물 층으로 분획하고 각 분획층을 감압농축한 다음 동결건조한 시료를 분석에 사용하였다. 사용한 세포는 인간유래 암세포주로서 위암 세포인 SNU-601, 직장암 세포인 HCT 116, 대장암 세포인 Caco-2, 유방암 세포인 MCF-75등을 사용하였다. SNU-601은 RPMI 1640 복합배지를, HCT 116은 DMEM(Delbecco's Modified Eagle Medium)을 이용하였고 10% Fetal Bovine Serum과 항생제(Antibiotic antimycotic)를 첨가하여 37°C, 5% CO₂의 습윤화된 인큐베이터에서 적응시켜 배양하였다. 세포는 dish의 80% 정도 자랐을 때 PBS로 세척하여 Trypsin-EDTA (GibCo/BRL)을 처리하여 2-3일마다 계대 배양하였다. 그리고 그 효과를 분석하기 위한 방법으로, MTT 방법을 약간 변형하여 3번 반복하여 세포 독성도를 측정하였다. 96-웰 마이크로플레이트(Falcon, USA)의 각 웰에 대수기에 도달한 인체 암세포주를 3 X 10⁴ cells/ml의 농도가 되도록 조절하여 세포 부유액을 웰 당 90μl씩 분주하여 24시간동안 배양하였다. 각각의 시료는 농도별로 10ml씩 첨가하고, 이 때 약물대신 phosphate buffered saline(PBS)을 첨가한 것을 세포의 대조군으로 하였으며, 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 삼았다. CO₂ 배양기 내에서 3일간 배양 후 모든 웰에 MTT용액(5mg/ml PBS, Sigma, USA) 10μl씩 가해주고 다시 37°C, 5% CO₂의 습윤 배양기에서 4시간 동안 반응하여 MTT가 환원되도록 하였다. 각 웰에 생성된 formazan 결정을 DMSO 150μl로 잘 녹여서 microplate reader(Bio-Rad, USA)를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하여 측정된 흡광도로부터 하기의 계산식으로 생존한 세포의 비율을 구하였다.

[0084] <계산식>

[0085] Percent of viable cells(%) = {(optical density with cytotoxic drug)/(optical density without cytotoxic drug)} X 100

표 2

Cultivar	IC ₅₀ (μ g/ml)			
	Caco-2 ²⁾	HCT-116 ³⁾	SNU-601 ⁴⁾	MCF-75 ⁵⁾
Native (Kor)	563.6	687.2	724.6	548.1
Native (Chi)	559.7	701.6	758.2	573.2
Peacock (Jap)	526.7	800 \uparrow	783.2	619.4
Nikko (Jap)	539.4	693.5	713.9	579.1
Dragon (Jap)	581.6	771.6	786.8	623.8
Erabu (Jap)	544.2	763.4	762.7	581.7
Verde Buenas (Phi)	613.5	800 \uparrow	771.9	739.2
Trident 357 (Phi)	667.9	800 \uparrow	800 \uparrow	757.3
Sta Monica (Phi)	701.3	751.3	800 \uparrow	800 \uparrow
Galaxy (Phi)	598.2	772.8	782.7	794.5
Sta. Rita Strain. L (Phi)	592.8	800 \uparrow	775.6	800 \uparrow

*Data were presented as means \pm SD (n=3), 1)Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells, 2)human colon adenocarcinoma, 3)human colon carcinoma, 4)human gastric carcinoma, 5)human breast cancer

[0086]

표 3

Cultivar	IC ₅₀ (μ g/ml)			
	Caco-2 ²⁾	HCT-116 ³⁾	SNU-601 ⁴⁾	MCF-75 ⁵⁾
Native (Kor)				
BuOH	252.8	301.2	295.3	271.3
EtOAc	168.6	185.7	160.5	189.5
Hexane	492.6	537.3	575.2	552.6
Water	800 \uparrow	800 \uparrow	800 \uparrow	800 \uparrow
Nikko (Jap)				
BuOH	285.1	273.6	289.1	257.2
EtOAc	162.8	203.5	176.9	195.7
Hexane	468.2	591.7	615.5	532.1
Water	800 \uparrow	800 \uparrow	800 \uparrow	800 \uparrow

*Data were presented as means \pm SD (n=3), 1)Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells, 2)human colon adenocarcinoma, 3)human colon carcinoma, 4)human gastric carcinoma, 5)human breast cancer

[0087]

[0088]

그 결과, 상기 표 2에 나타낸 바와 같이, MTT방법에 의한 여주 추출물의 인체 암세포에 대한 세포독성도는 대장 암세포에서는 일본 품종 'Peacock' 과 'Nikko' 에서 가장 좋은 효과가 있는 것으로 나타났으며, 직장암세포에 대해서는 한국 재래종이 가장 좋은 결과를 보였고, 위암세포 및 유방암세포에 대해서도 한국 재래종과 일본 품종 'Nikko' 가 상대적으로 높은 효과를 나타냈다.

[0089]

또한 상기 표 3에 나타낸 바와 같이, 한국 재래종과 일본품종 'Nikko' 를 시료로 각 용매분획별 추출물의 인체 암세포에 대한 세포독성도를 분석한 결과, ethylacetate(EtOAc) 분획층에서 상대적으로 가장 효과가 높았으며, 다음으로 butanol(BuOH)분획층, hexane분획층 순으로 높게 나타났다. 또한 물 분획층도 본 실험에서 처리한 농도에서는 거의 효과가 나타나지 않았으나 더 높은 농도로 처리했을 때는 일부 효과가 있을 것으로 추측 가능 하였다.

[0090]

이와 같이 분획별 추출물에 따른 항암활성은 본 실험에 공시한 모든 암세포주에서 유사한 경향을 보였다.

[0091]

따라서 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 여주 추출물은 직장암, 위암, 대장암, 유방암 세포의 세포증식을 억제 함을 통해 항암활성을 갖는다는 사실을 알 수 있었으며, 특히 대장암 및 유방암에 그 효과가 탁월하다는 사실을 알 수 있었다.

[0092]

이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1

