

항 종양성 생약의 Cytotoxicity 에 관한 연구 (I)

金 申 圭

경희대학교 약학대학

A Study on the Cytotoxicities of Domestic Antitumour Crude Drugs

Sin Kyu K_{IM}

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul, Korea

The study on cytotoxicities of domestic antitumour crude drugs were carried out in order to evaluate the antitumour activity. The eleven crude drugs were studied in this paper. No cytotoxicities were observed both at 0.1ml of water extracts and alcohol extracts deuted against monkey kidney cell and HeLa-cell after 3 days cultivation at 37°C. The sample shown the heavy cytotoxicities against monkey kidney cell at 0.3ml alcohol extracts diluted sample solution are *Lonicerae Flos* and *Puchrestae Radix*.

서 론

抗腫瘍劑의 개발을 목적으로 한 각종 합성화합물과 천연물에 대한 연구는 현재 성행되고 있으며 가장 중요한 과제의 하나로 되어 있음은 주지의 사실이다.

특히 우리나라에서도 人蔘의 알칼로이드 성분의 抗腫瘍作用에 대한 연구보고가 있으며²⁾ 각국마다 약용식물에서 본 계열의 물질을 분리하고자 하는 연구가 진행되어 있고 최근 이에 대한 종합보고등이 이루어지고 있다.³⁾

저자는 금반 M_{UNI}⁴⁾ 등에 의한 미국 Dakota 주산의 식물에 대한 cytotoxicity 에 관한 보고에 준하여 우리나라에서 抗腫瘍 목적으로 고래로부터 사용되고 있는 한약에 대하여 그 抗腫瘍作用을 연구하고자 우선 細胞變性에 대한 조사를 猿腎細胞(stable monkey kidney cell)와 HeLa-cell 을 사용하여 검토하고 그 성적을 보고하는 바이다.

본 연구에 사용한 재료는 한방문헌⁵⁾에서 일반적으로 腫瘍系列의 질환에 흔히 응용되고 있는 것으로 알려진 한약중에서 草烏 金銀花 玄蔘 蓮子肉 破古紙 黃芪 薏苡仁 蒼耳子 蒲公英 山慈根 貝母 등의 수침

액과 알코올 추출액을 시액으로 하여 위의 猿腎細胞와 HeLa-cell을 YLE 배지에 의하여 그 세포 번성을 실험 관찰하였다.

실 험

실험재료: 본 실험에 사용한 재료는 TABLE I 과 같이 草烏등 11종으로 경희의료원 부속 한의원에서 분양 받아 사용하였다.

시액의 조제: 시액의 조제는 다음에 의하였으며 조제한 각 시액은 실험에 사용하기까지는 냉동하여 보관하였다.

위의 재료를 각각 세절하여 그 4g을 증류수 40ml를 가하여 수욕상에서 pyrex flask를 사용하여 30분간 추출하고 그 추출액을 여과하여 농축한다음 0.1N NaOH로 pH를 6~7로 조절하고 15ml로 하여 수침시액으로 하였다.

알코올 추출시액: 위의 재료 4g에 알코올 40ml를 가하여 환류냉각 하여 30분간 은침하고 그 침출액을 여과하여 농축 한다음 pH를 위와 같이 6~7로 조절하고 그 양을 15ml로 하여 알코올 추출시액으로 하였다.

알코올 추출희석시액: 위에서 제조한 알코올 추출시

액 중의 알코올이 세포변성에 영향을 줄 우려가 있어 알코올 추출시액을 수욕상에서 반량으로 증발농축 한 다음 다시 여기에 증류수를 가하여 원량으로 한것을 알코올 추출회석시액으로 하였다.

시험방법 : 본시험에 사용한 猴腎세포와 HeLa-cell 세포배양액은 각각 YONG 및 PAUL^{6,7)}의 방법에 의하여 얻은 세포배양액으로서 매 ml당 20 만 세포가 함유하도록 조절하였다. 배지로서 5% calf serum 을 함유한 YLE 배지^{8,9)} 5배 회석액을 pyrex tube에 1ml씩 분주한 후 시액을 0.1ml씩 가한다음 15 파운드 10 분간 멸균하고 위와 같이 조작한 세포배양액 0.1ml을 접종하여 37°C에서 3일간 배양하고 시액에 의한 세포의 변성을 시험하였다.

본 연구에 사용한 YLE 배지의 조성은 다음과 같다.

NaCl	3.95,	KCl	0.20,
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.10,	NaH ₂ PO ₄	0.060,
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	0.069,	dextrose	0.250,
CaCl ₂	0.100,	phenol red(1%)	0.750,
yeast ext.	0.500,	lacto albumin	2,500g

이상 증류수에 용해하여 100ml로 한다.

실험 성적

수침시액 : 각각의 수침시액을 0.1ml를 취하여 3일간 37°C에서 배양한다음 조사한 결과 세포성장에 별로 이상을 인정할 수가 없었으며 다시 수침시액을 0.3ml를 가하여 위와 동일한 조작을 하였으나 역시 세포변성

에 아무런 지장을 주지 않았다.

알코올추출시액 : 각 알코올 추출시액 0.1ml에 대하여 3일간 37°C에서 배양한후 조사한 바 전부 세포의 변성을 인정할 수 있었다.

이것은 추출에 사용한 알코올의 영향이 아닌가 하여 대조로 알코올을 그대로 상기한 방법과 동일하게 시험한바 역시 3일간 37°C 배양에서 세포가 변성됨을 인정하였다.

알코올추출회석시액 : 본 회석시액 0.1ml에 대하여 3일간 37°C에서 배양한 다음 시험한바 각 알코올추출회석 시액에서는 세포의 변성을 인정할 수 없었다.

그러나 본 회석시액을 0.3ml 취하여 37°C에서 猴腎細胞에 3일간 배양하고 세포변성을 관찰하였다. 이때 본 회석시액 0.3ml에 대한 세포변성은 TABLE I과 같으며 본 시험에서 세포의 변성은 鏡檢(100×)하에서 세포막의 변성을 검출함으로써 인정하였다.

고찰 및 결론

한방에서 고래로부터 항 종양성약제로 사용되고 있는 생약중 草烏 金銀花 山薢根 蒼耳子 貝母 薏苡仁 蓮子肉 蒲公英 玄蔘 破古紙 黃芪 등 11종을 재료로 하여 시액을 조제하고 猴腎細胞와 HeLa-cell에 대한 cytotoxicity로서 세포 변성을 조사 관찰하였다. 각 수침시액 및 알콜추출회석시액 0.1ml에 있어서는 猴腎細胞와 HeLa-cell에 대하여 YLE 배지에서 37°C로 3일간 배양하여도 *in vitro*에서 하등의 세포변성을 인정할 수가 없었다.

TABLE I. Cytotoxicities against monkey kidney cell at 0.3ml of alcohol extracts diluted sample solution.

—: no cytotoxicities, ±: slight cytotoxicities, +: heavy cytotoxicities

sample No.	drug name	plant origin	cultivation days		
			1	2	3
1.	<i>Aconiti Tuber</i> (草烏)	<i>Aconitum cliare</i>	±	±	±
2.	<i>LoniceraeFlos</i> (金銀花)	<i>Lonicera japonica</i>	+	+	+
3.	<i>Puchrestae Radix</i> (山薢根)	<i>Puchresta japonica</i>	+	+	+
4.	<i>Xanthii Fructus</i> (蒼耳子)	<i>Xanthium strumarium</i>	—	—	—
5.	<i>Fritillariae Rhizoma</i> (貝母)	<i>Fritillaria veticillata</i>	+	+	+
6.	<i>Coisis Semen</i> (薏苡仁)	<i>Coix lachryma-jobi var. frumentacea</i>	—	—	—
7.	<i>Taraxaci Herbacum Radix</i> (蒲公英)	<i>Traxacum platycarpum</i>	+	+	+
8.	<i>Scrophulariae Radix</i> (玄蔘)	<i>Scrophularia oldhami</i>	±	±	±
9.	<i>Nelumbinis Fructus</i> (蓮子肉)	<i>Nelumbo nucifera</i>	+	+	+
10.	<i>Pasoraliae Semen</i> (破古紙)	<i>Pusoralia corylifolia</i>	+	+	+
11.	<i>Astragali Radix</i> (黃芪)	<i>Astragalus membranacenus</i>	±	±	±

위의 생약 시액중 수침 및 알코올추출 회석시액은 각 시액을 0.3ml로 증량하여 시험하였든바 이중 알코올추출회석시액에 있어서는 세포별성이 없는 것으로蒼耳子 薏苡仁 2종이고, 약간 세포변성을 인정할 수 있는 것은 草烏 玄蔘 黃芪 3종이며 세포변성을 강하게 일으킨 것은 金銀花 蒲公英 蓮子肉 破古紙 4종이었고. 山藎根과 貝母는 前記한 4종보다 약간 약한 것으로 인정되었다.

저자는 본 재료에 대하여 *Salcoma* 180을 감염시킨 mouse를 써서 *in vivo* 작용에 대한 연구를 계속할 예정이며 또한 각 재료의 수침시액과 알코올 수침시액이 상기 세포의 발육에 미치는 영향을 아울러 조사 검토하고자 한다.

끝으로 본 실험을 지도하여 주신 許鈞학장과 실험에 대하여 많은 도움을 주신 국립보건연구원 金慶浩 박사께 심심한 사의를 표하는 바이다.

<1971. 11. 15 접수>

- 1) PHILLIPPOS, E, G. HAVEN; *J. Pharm. Sci.* 55, 1016 (1966)
- 2) 禹 등 : 第14回 大韓藥學會學術大會抄錄(1967. 10)
- 3) M: TIN-WA *et al.*: *Lloydia* 34, 79 (1971)
- 4) MUNI *et al.*: *J. Pharm. Sci.* 50, 50(1967)
- 5) 許浚 : 東醫寶鑑 p.137~736
- 6) YOUNGER: *Virology*, 2, 575 (1954)
- 7) POUL: *Cell and Tissue Culture 2nd. Ed.* (1960)
- 8) FOGH and LUND: *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 94, 532 (1957)
- 9) MORGAN *et al.*: *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. Soc.* 73, 257 (1950)

慶 發 展 祝

保寧製藥株式會社

代表理事 金昇浩

서울特別市鍾路區 4街 1-1

75-6461~5

54-2311

同和藥品工業株式會社

代表理事 尹和烈

서울特別市西大門區巡和洞 5

22-2227~8, 3305

28-8189