

마늘중 지용성 성분의 암세포증식 억제효과 연구

손 흥 수 · 황 우 익

고려대학교 의과대학 생화학교실

A Study on the Cytotoxic Activity of Garlic(*Allium Sativum*) Extract Against Cancer Cells

Son, Heung-Soo · Hwang, Woo-Ik

Department of Biochemistry, College of Medicine, Korea University

ABSTRACT

This study was devised to observe the cytotoxic activities of garlic extracts against various cancer cells, that is, murine leukemic lymphocyte(L₁₂₁₀ and P₃₈₈) and human rectal (HRT-18) and colon cancer cells(HCT-48 and HT-29) in vitro, and murine ascitic tumor cell(S-180) in vivo. Each cell-line except S-180 was cultured in medium containing serial concentrations of the garlic extract in vitro.

Inhibitory effect on the growth rate of the cancer cells was stronger in extracts of petroleum ether than that of ethanol. A lipid soluble compound in the extracts of garlic was cytotoxic to murine leukemic cells, human rectal and colon cancer cells in vitro. The growth rates of the cancer cells in medium containing garlic extracts were inhibited gradually to a significant degree in proportion to the increase of the extract concentration.

The cytotoxic activity of garlic active fraction from TLC was about 2.3 times more potent than that of crude garlic extract, one unit of cytotoxic activity against L₁₂₁₀ cells being equivalent to 4.2 μ g and 1.8 μ g from the crude garlic and active fraction, respectively. The R_f value of the active fraction on silica-gel TLC was 0.18 in condition that petroleum ether/ethyl ether/acetic acid mixture(90 : 10 : 1, v/v/v) was used as a developing solvent.

The survival times of mice inoculated with S-180 cells were extended about 1.5 to 2 times in the groups treated with garlic extract(through i.p. and oral administration) compared with their control group(no garlic extract treatment).

Observations were carried out on S-180 cells at intervals of three hours following a single i.p. injection of ethanol extracts of garlic at doses of 3mg/head, starting on the 4th day after inoculation of S-180. Ethanol extracts of garlic injured markedly tumor cells within 3 hours after injection.

KEY WORDS : cytotoxic activity · garlic extract.

서 론

마늘(*allium sativum*)은 백합과에 속하는 식물로서 한국인이 향신료로 상식하고 있다. 현재 여러 연구자들에 의해서 마늘에 대한 연구가 계속되어지고 있으며, 지금까지의 연구보고에 의하면 마늘 중에는 allicin성분이 들어 있어 이 성분에 의해서 포도상구균, 콜레라균의 증식이 억제되고 gram 음성균의 살균작용이 있다고 한다^{1~3)}. 또한 혈당치 감소작용, 고지혈증, 동맥경화증, 고노산혈증 개선 및 혈액응고 억제효과등 여러가지 생화학적 대사질환을 개선하는 작용^{4~7)}을 나타내고 있음이 밝혀지고 있다. 한편, 더욱 주목되는 점은 마늘중의 지용성 성분이 종양세포의 발육을 억제한다는 사실이다^{8~10)}.

그러나, 마늘에 항암효과가 있다는 것은 현대과학적인 연구결과에 근거한 것이 아니므로 이를 확인하기 위하여 본 연구에서는 미국국립보건원(N.I.H.)에서 실시하고 있는 항암제 선별 시험법에 준하여 직접 암세포를 배양하면서 마늘성분을 첨가 배양시 암세포 증식에 미치는 영향을 실험하였다. Mouse leukemic cell인 L₁₂₁₀과 P₃₈₈ 암세포와 인체장암세포인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29에 대해서 in vitro에서 암세포 증식 억제효과를 측정하였다. 또한, in vivo에서도 항암효과가 있는지를 검증하고자 흰쥐 복수 육종암 세포(Sarcoma-180, S-180)를 대상으로 실험하였다. 그리고, 마늘 성분중 유효한 분획을 TLC system을 이용하여 분리, 정제하였다.

실험재료 및 방법

가. 실험재료

1) 암세포 및 실험동물

암세포는 mouse leukemic cell인 L₁₂₁₀과 P₃₈₈. 그리고 직장암 세포인 HRT-18과 결장암 세포인 HCT-48 및 HT-29로서 이들은 미국 California대학 의대 Kim YS교수로부터 분양받아 고대 의대 생화학교실에서 배양한 것이다.

흰 생쥐의 복수 육종암 세포의 일종인 S-180은 동물실험을 위하여 swiss mice의 복강에서 계대배양해 왔던 것을 사용하였다. 또한 동물실험에 사용한 동물은 swiss mice(Balb/c)로서 본 실험실에서 번식사용해 온 것들이었다.

2) 재료 및 시약

실험에 사용한 마늘은 청량리 경동시장에서 구입한 후, 냉동건조 분말화하였다.

L₁₂₁₀과 P₃₈₈ 암세포의 배양액은 GIBCO제품인 분말의 Fischer's medium을, HRT-18, HCT-48 및 HT-29 암세포의 배양액은 GIBCO제품인 분말의 DMEM을 각각 구입하여 3차 증류수에 녹인 다음 pH를 약 7.0으로 맞추고 멸균된 millipore filter disc를 통과시켜 제균시킨 후 냉장보관 하면서 사용하였고, horse serum과 fetal bovine serum은 멸균된 액체 상태의 GIBCO제품을 구입하여 냉동보관 하면서 사용하였다. 그외 사용된 각종 시약은 국산 또는 일제 특급품을 구입 사용하였다.

나. 실험방법

1) 마늘성분의 추출

마늘의 껍질을 벗기고 잘게 썰은 후, 동결 건조시켜 마쇄한 후, 체를 통과시켰다.

이와 같은 마늘분말을 ethanol 및 석유에틸로 각각 추출하였다. 추출시에는 삼각 플라스크에 시료와 해당용매를 넣고 실온하에서 shaker(1분당 60 strokes)에서 하루동안 흔들면서 추출하였다. 추출액중 용매는 감압증류시켜 제거하고 남은 마늘추출물은 건조중량을 측정된 뒤 소량의 무수에 탄올에 녹여 millipore filter disc(Millipore corp. GS 0.22um)로 제균하고 실험시에는 필요한 농도로 배양액에 희석하여 사용하였다.

2) 암세포의 배양

Mouse leukemic cell인 L₁₂₁₀과 P₃₈₈은 Fischer와 Sartorelli법¹¹⁾에 의하여 배양하였다. 즉 L₁₂₁₀과 P₃₈₈암세포는 10% horse serum을 함유하는 Fischer's medium에 각각 일정수씩 첨가하여 16×25 mm pyrex 시험관에 5ml씩 분배한 후 37°C 항온기 내에서 수평 유지시켜 배양하면서 배양시간별로

암세포수를 coulter counter(Coulter counter Model ZBI, Coulter electronic Co.)로 측정하였다. 인체 장암세포는 5% fetal bovine serum, penicillin (100 units/ml) 및 streptomycin(100ug/ml)이 들어 있는 DMEM으로 T-75 flask 또는 35mm petri dish에 이식시킨 후 CO₂ incubator(37°C)에서 monolayer로 배양하였다. 그리고 이들 암세포는 일주일 간격으로 PBS(phosphate buffered saline)에 녹인 0.05% trypsin-0.02% EDTA(Ca++과 μg++이 없는)용액으로 분리시켜 계대배양하였다. 동물실험에 사용하기 위한 S-180은 swiss mice의 복강에 주사하여 10~15일 배양후 복강내에서 S-180이 들어있는 복수를 주사기로 뽑아내어 다시 새로운 swiss mice에 소량(0.1~0.2ml) 접종하는 방법을 반복하여 계대배양하였다.

3) 마늘추출물의 암세포 증식 억제효과 측정

Mouse leukemic cells의 경우에는 각 마늘추출물이 농도별로 함유된 Fischer's medium에 세포를 2×10⁴ cells/ml이 되도록 첨가한 후, 여러군의 pyrex tube 에 배분하여 37°C 항온기에서 배양하면서 배양시간별, 추출물 농도별 등 각 군의 세포수를 coulter counter로 측정하여 대조군(추출물을 넣지 않은 군)과 비교하였다.

인체 장암세포의 경우는 암세포를 35mm petri dish에 이식하고 24내지 48시간 배양하여 세포수가 3~4×10⁴ cells/dish에 부착되었을 때 본래의 배양액을 버리고, 마늘추출물이 농도별로 함유된 새 DMEM 배양액으로 교체한 후, 다시 CO₂ incubator에서 배양하면서 trypsin-EDTA처리하여 배양시간별, 추출물 농도별 등 각 군의 세포수를 Coulter counter로 측정하여 대조군과 비교하였다.

4) 마늘추출물의 활성단위 측정

마늘추출물의 암세포 증식 억제효과를 같은 수준에서 비교하기 위하여 활성의 단위를 정하여 사용하였다. 활성은 암세포의 doubling time을 2배로 증가시키는데 소요되는 배양액 ml중 함유된 마늘추출물의 양을 1 unit로 정하였다. 즉 L₁₂₁₀ 암세포를 배양액 ml당 0μg(대조군), 2μg, 4μg, 6μg 및 10 μg 함유된 배양액에서 36시간 배양한 후 각 암세

포수를 coulter counter로 측정하여 semilogarithmic paper에 도시한 후(Fig. 3 참조) 대조군의 N₀와 N_t사이의 중간값에 해당되는 세포수를 유지시키는 마늘추출물의 농도를 찾아내어 1 unit로 정한 것이다.

한편 실험에 사용한 다른 암세포에 대한 마늘추출물의 활성단위도 L암세포의 경우와 같은 방법으로 시행하였고, 다만 배양시간(mouse leukemic cell은 36시간, 인체 장암세포는 48시간)과 마늘추출물의 양을 달리하였다.

5) 동물실험

① 마늘추출물의 복강내 주사실험

체중 20~25g 범위의 swiss mice를 20마리 선정하여 10마리씩 2개군으로 나누어 제 1군은 대조군으로서 S-180 세포액 0.2ml(1.0×10⁶ cells)씩을 접종시킨 다음날부터 매일 0.3ml의 생리식염수만을 복강내로 주사하였고, 제 2군은 실험군으로서 S-180 암세포를 동량 접종시킨 다음날부터 7일동안 매일 0.3ml의 생리식염수에 마늘추출물 3mg씩을 녹인 것을 mouse의 복강에 주사하였다. 그리고 각 군의 동물의 체중변화와 생존기간을 비교하였다.

② 마늘추출물의 경구투여 실험

상기와 같은 방법으로 2개군으로 나누어 제 1군은 대조군으로서 S-180 암세포를 접종시킨 다음날부터 매일 0.5ml의 생리식염수만을 경구 투여하였고, 제 2군은 실험군으로서 S-180 암세포를 동량 접종시킨 다음날부터 7일동안 매일 마늘 추출물 5 mg/head를 경구 투여하였다. 그리고 각 군의 동물의 체중변화와 생존기간을 비교하였다.

6) 활성성분의 정제

마늘의 alcohol추출물이 포함하고 있는 활성성분을 더욱 정제 분리하기 위하여 마늘의 alcohol추출물을 silica-gel TLC plate에서 다음과 같은 조건으로 전개시켰다. 즉 마늘추출물 일정량을 spotting 한 뒤, petroleum ether-ethyl ether-acetic acid(90 : 10 : 1, v/v/v)혼합용액을 전개용매로 하여 60분간 전개시켰다. 전개상태를 관찰하기 위하여 말린 후, rhodamine 6G 0.01%용액을 뿌고 375nm의 자외선으로 각 성분의 위치를 확인시켰다.

마늘 성분과 암세포증식 억제효과

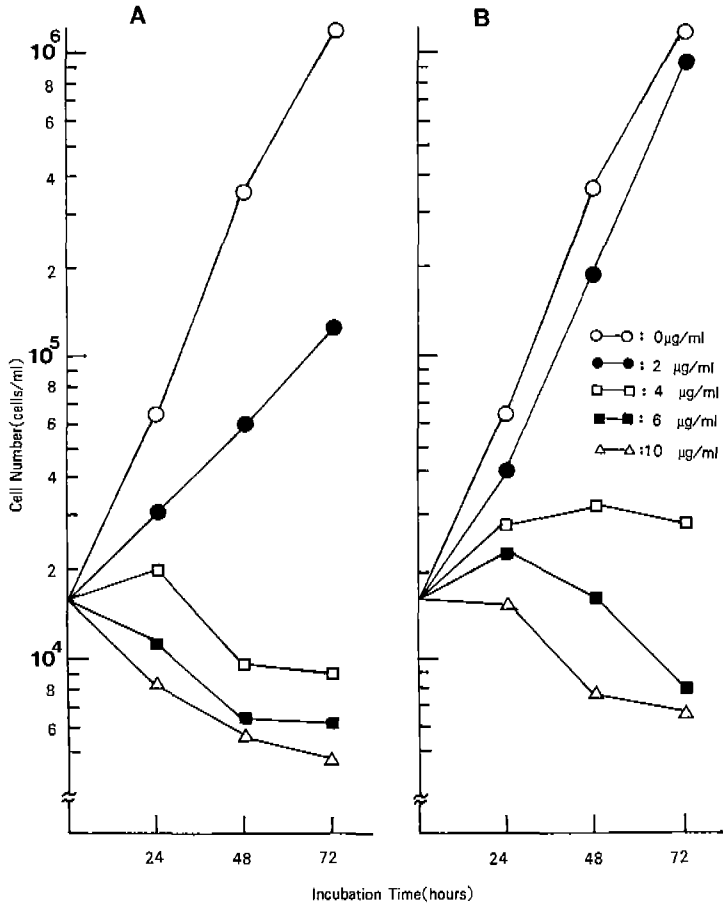


Fig. 1. Growth curve of L₁₂₁₀ cells in the culture medium containing various amount of the garlic petroleum ether extract(A) and ethanol extract(B).

활성성분이 포함되어 있는지 알기 위하여 전개, 분리된 분획을 굵어 모르고 각 분획중의 성분을 무수 alcohol로 추출, 수집하였다. 이들 성분은 건조중량을 확인후 다시 소량의 무수 alcohol에 녹여 millipore filter disc로 제균하여 실험에 사용하였다.

7) Sarcoma-180 암세포의 형태변화

체중 약 25g의 swiss mice 에 S-180 암세포를 주입하여 암을 유발시킨 후, 약 1주일 후 마리당 마늘추출물 3mg을 복강에 주입한 후 0, 1, 3, 6,

12시간마다 복수를 빼내어 Papanicolaou염색법¹³⁾을 이용하여 염색한 후 현미경으로 관찰하였다.

실험 결과

1. L₁₂₁₀세포에 대한 마늘추출물의 증식 억제 효과

Fig. 1에서 나타난 바와 같이 출발시 세포수 1.6×10^4 cells/ml에서 24, 48 및 72시간 배양시 대조군은 6.3×10^4 , 3.4×10^5 및 1.2×10^6 cell/ml로 증식되었고, 마늘 alcohol추출물을 농도별로 첨가한 배

양액에서 배양한 L₁₂₁₀세포의 증식 억제효과는 농도가 증가할수록 증식률은 감소하였고, 특히 6 μ g/ml과 10 μ g/ml첨가군은 48시간 배양후에는 해당시간의 대조군보다 96%이상의 증식 억제효과를 보였다.

또한 마늘석유에텔 추출물을 농도별로 첨가한 군

도 농도가 증가할수록 L₁₂₁₀세포의 증식률은 현저히 감소하였으며, L₁₂₁₀세포의 사멸효과도 나타내었다.

2. P₃₈₈세포에 대한 마늘추출물의 증식 억제효과
마늘추출물을 농도별로 첨가한 배양액에서 배양한

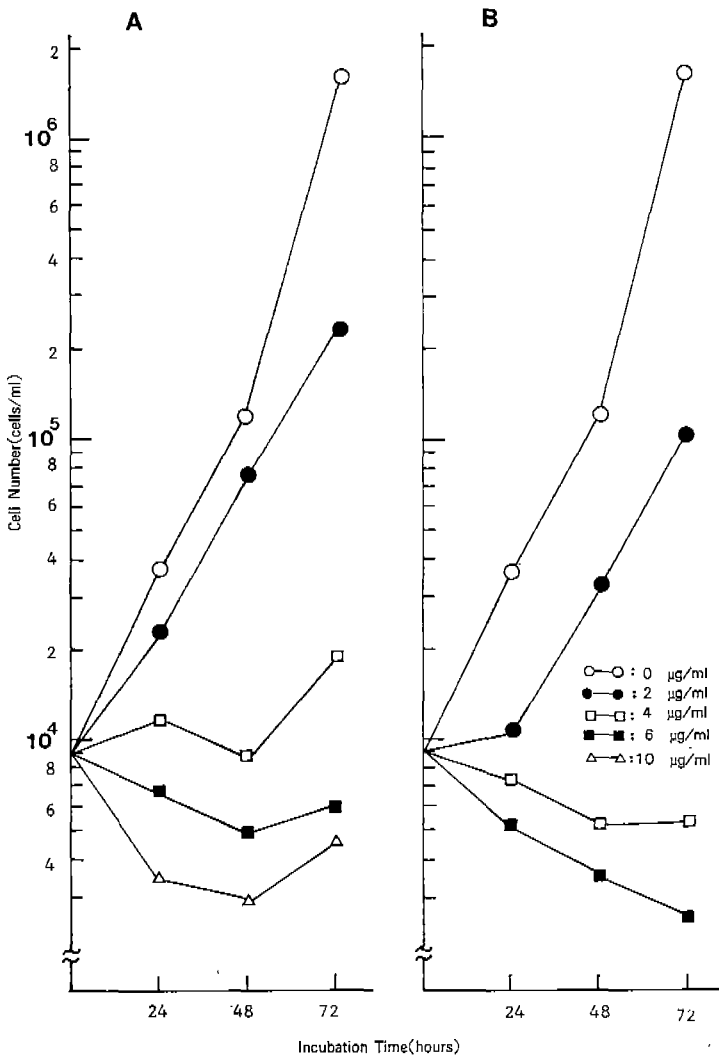


Fig. 2. Growth curve of P₃₈₈ cells in the culture medium containing various amount of the garlic petroleum ether extract(A) and ethanol extract(B).

P₃₈₈세포의 증식 억제효과는 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다. 즉 최초 세포수 9.0×10^3 cells/ml에서 24, 48 및 72시간 배양시 대조군은 3.7×10^4 , 1.2×10^5 , 1.6×10^6 cells/ml로 증식되었고, 마늘 alcohol추출물을 농도별로 첨가한 배양액에서 배양한 P₃₈₈세포의 증식 억제효과는 2 μ g/ml첨가군은 증식률이 해당시간에 따라 71%, 82%, 85%씩 감소되었고, 4 μ g/ml과 6 μ g/ml첨가군은 증식 억제효과 뿐만 아니라, P₃₈₈세포의 사멸효과를 보여 주었다.

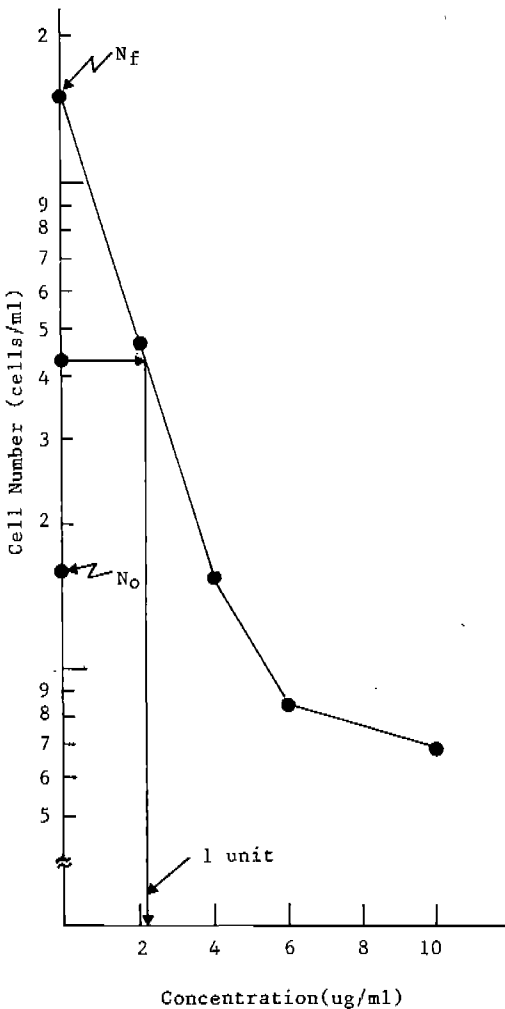


Fig. 3. Dose response curve of garlic extract on the growth of L₁₂₁₀ cells after 36 hours of incubation.

No : Initial cell number of control group
 N_f : Final cell number of control group.

또한 마늘석유에텔 추출물도 농도가 증가할수록 P₃₈₈세포의 증식률은 현저히 감소하였으며 P₃₈₈세포의 사멸효과도 나타내었다.

3. L₁₂₁₀ 및 P₃₈₈암세포에 대한 마늘성분의 활성 단위 측정

실험방법 4항에 근거하여 L₁₂₁₀ 및 P₃₈₈암세포에 대한 마늘추출물의 활성단위를 산출해 본 결과 L₁₂₁₀암세포의 경우에는 alcohol추출물의 1 unit는 배양액 ml당 3 μ g, 석유에텔 추출물은 2.2 μ g이었고, P₃₈₈암세포의 경우는 alcohol추출물은 2.5~3 μ g, 석유에텔 추출물은 1.5~2.5 μ g이었다.

4. HRT-18암세포에 대한 마늘추출물의 증식 억제효과

Fig. 4에서 나타난 바와 같이 출발시 세포수 1.3×10^4 cell/ml에서 24, 48 및 72시간 배양시 대조군은 2.4×10^4 및 1.3×10^5 cells/ml로 증식하였다. 그러나 배양액에 첨가한 마늘 alcohol추출액의 농도가 증가할수록 대조군에 비하여 해당시간에 따라 증식률이 감소하였고, 배양액 ml당 35 μ g첨가군에서는 85%이상의 증식 억제효과를 나타내었다.

한편, 마늘석유에텔추출물을 농도별로 첨가한 배양액에서 배양한 HRT-18암세포의 증식 억제효과는 배양액 ml당 10 μ g첨가군은 대조군보다 증식률이 해당시간에 따라 81%, 77%, 80%의 증식률 감소를 보였고, 20 μ g첨가군과 35 μ g첨가군은 90%이상의 증식률 감소뿐만 아니라 HRT-18 암세포의 사멸효과도 보여 주었다.

5. HCT-48 암세포에 대한 마늘추출물의 증식 억제효과

마늘추출물의 HCT-48 암세포에 대한 증식 억제효과를 Fig. 5에 나타내었다. 최초 세포수 3.5×10^4 cells/ml에서 24, 48 및 72시간 배양시 대조군은 9.6×10^4 , 2.1×10^5 및 3.7×10^5 cells/ml로 증식하였다. 그러나 배양액에 첨가한 마늘 alcohol 추출물의 농도가 증가할수록 대조군에 비하여 해당시간에 따라 증식률이 감소하는 경향을 나타내었고, 35 μ g첨가군에서는 90%이상의 증식률 감소와 함께 HCT-48 암세포가 소멸해가고 있음을 관찰하였다.

한편, 마늘석유에틸추출물을 농도별로 첨가한 배양액에서 배양한 HCT-48 암세포의 증식 억제효과는 alcohol 추출물의 증식 억제효과와 비슷한 경향을 나타내었다. 즉 석유에틸추출물의 농도가 증가할수록 또 배양시간이 경과할수록 HCT-48 암세포의 증식이 억제되는 효과를 나타내었다.

6. HT-29 암세포에 대한 마늘추출물의 증식 억제효과

마늘추출물의 HT-29 암세포에 대한 증식 억제효과는 Fig. 6에서 나타난 바와 같이 최초 세포수 3.2×10^4 cells/ml에서 24, 48 및 72시간 배양시 대조군은 5.6×10^4 , 8.2×10^5 및 1.3×10^5 cells/ml로 증식하였다. 마늘 alcohol추출물의 농도증가에 따라 대조군에 비하여 HT-29 암세포의 증식을 감소를 보여주었고, 마늘석유에틸추출물도 alcohol추출물과 마찬가지로 HT-29암세포에 대하여 비슷한

경향의 증식 억제효과를 나타내었다.

7. HRT-18, HCT-48 및 HT-29 암세포에 대한 마늘추출물의 활성단위 측정결과

실험방법 4항에 근거하여 HRT-18, HCT-48, HT-29 암세포에 대한 마늘추출물의 활성단위를 산출해 본 결과 1 unit는 배양액 ml당 HRT-18인 경우는 alcohol추출물이 20내지 25 μ g, 석유에틸추출물은 7.5내지 15 μ g이고, HCT-48경우는 alcohol추출물이 17내지 20 μ g, 석유에틸추출물은 25내지 35 μ g이고, HT-29 경우는 alcohol추출물이 30내지 35 μ g, 석유에틸추출물은 25내지 45 μ g이었다. 세가지 암세포 중 마늘추출물의 영향을 받는 정도가 큰 순서는 HRT-18, HCT-48, HT-29의 경향이였다.

8. 동물실험 결과

(1) 마늘추출물의 복강내 주사실험

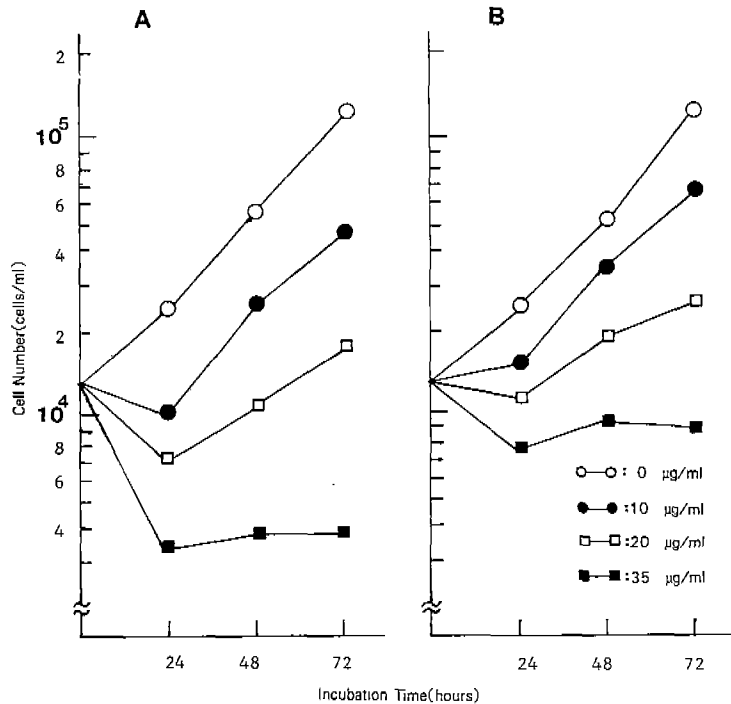


Fig. 4. Growth curve of HRT-18 cells in the culture medium containing various amount of the garlic petroleum ether extract(A) and ethanol extract(B).

마늘성분과 암세포증식 억제효과

먼저 체중변화를 살펴보면 처음 이틀간까지는 대조군과 실험군이 별다른 차이없이 비슷하게 증가하였으나, 4내지 5일째부터 대조군의 지속적인 체중증가에 비하여 실험군의 체중은 심한 증가를 나타내지 않았다. 생존기간을 측정해 본 결과, Fig. 7에서 보는 바와 같이 대조군은 15일만에 모두 사망하였지만 실험군은 23일만에 100%가 사망하였다.

(2) 마늘추출물의 경구투여실험

이 실험에 있어 체중측정의 결과는 복강내 S-180 암세포의 증가에 따른 체중증가가 대조군과 거의 비슷한 정도로 실험군에서도 나타났으나, S-180 암세포가 증식, 전이됨으로 인해 생체가 사망에 이르기까지 기간인 생존기간을 측정해 본 결

과, Fig. 7과 같이 대조군에 비해 실험군에서는 생존기간이 훨씬 연장되는 결과는 보여주었다. 대조군은 15일만에 100%가 사망하였지만 실험군은 15일까지는 모두 살아 있었고 18일만에 50%, 20일에 80% 그리고 30일 후에 100%가 사망함으로써 생존기간이 연장되는 효과를 나타내었다.

9. 마늘 alcohol추출물의 활성성분의 정제

마늘 alcohol추출물에 대한 실험방법 6항에 의거 활성성분(증식억제성분)을 분리 정제한 결과, 5개의 분획을 나타내었고, 그중 Rf치가 0.18되는 위치에 있는 분획이 가장 강한 활성을 보였고, 0.44되는 분획도 높은 활성을 나타내었다. Rf치가 0.18되는 분획은 약 31.9%의 수율(건조중량)을 나타내었다.

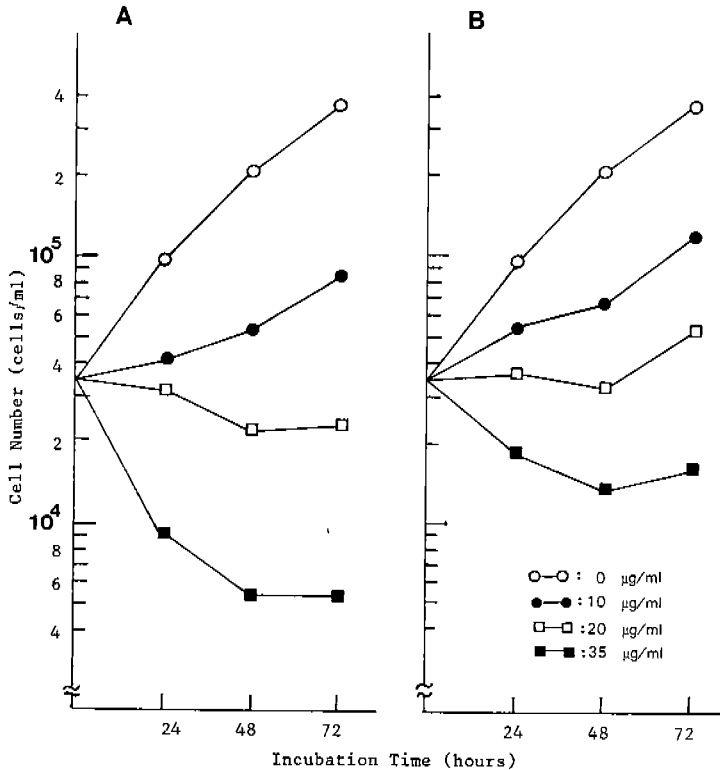


Fig. 5. Growth curve of HCT-48 cells in the culture medium containing various amount of the garlic petroleum ether extract(A) and ethanol extract(B).

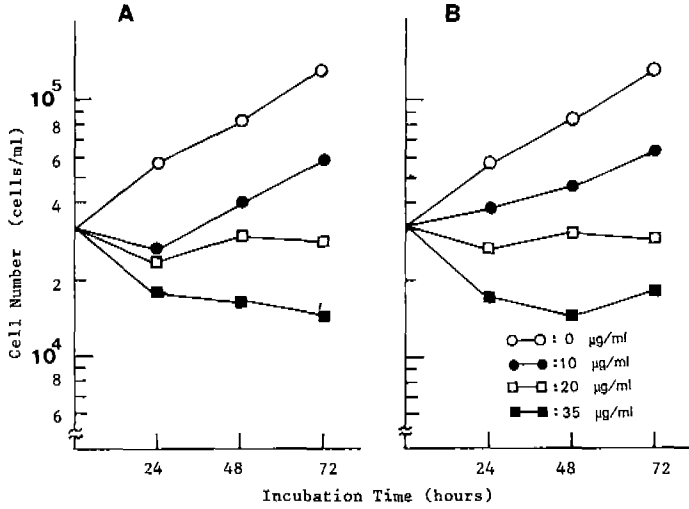


Fig. 6. Growth curve of HT-29 cells in the culture medium containing various amount of the garlic petroleum ether extract(A) and ethanol extract(B).

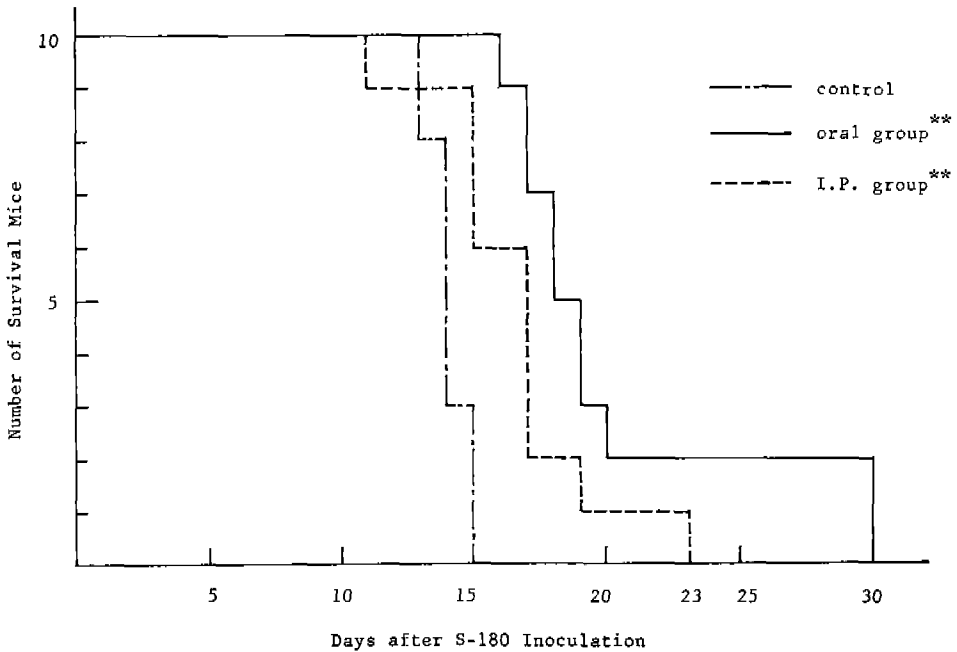
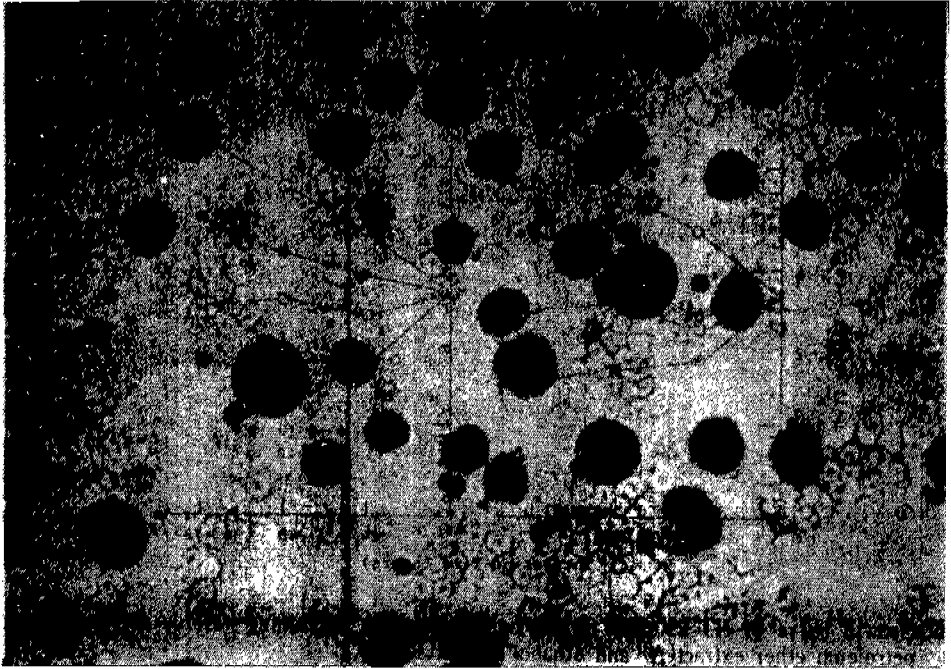


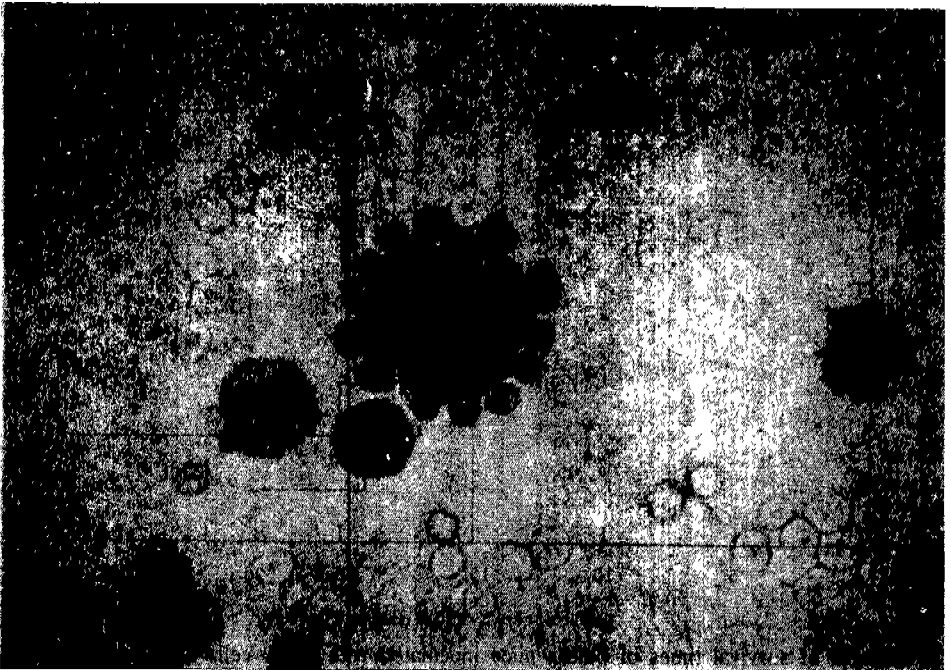
Fig. 7. Changes of survival times of Balb/c mice inoculated with S-180 cells by treatment with ethanol extract of garlic.

** : Treated group with garlic extract(oral gp : 5.0mg/day/head ; I.P. gp : 3.0mg/day/head) for 7 days after inoculated with S-180 cells.

마늘 성분과 암세포증식 억제효과



Control Sarcoma-180 cells, just before the treatment.



Typical cytoplasmic villi, 3 hours after the treatment.

10. Sarcoma-180 암세포의 형태변화

마늘 alcohol추출물을 주입후, 시간별로 복수를 채취하여 papanicolaou염색법으로 S-180암세포의 형태를 관찰한 결과, 처리하기 전의 대조군의 비교하여 1시간, 3시간이 경과한 후에 S-180 암세포 주위에 cytoplasmic villi가 형성되는 것을 관찰하였다. 또한 세포내에 vacuole도 많이 생성되었다. 시간이 경과함에 따라 S-180 암세포의 막이 lysis가 일어나며 사멸되는 세포가 증가됨을 관찰하였다.

고 찰

최근 면역증강제나 면역활성제로서 식물 유래 식품이나 약제로부터 항암효과나 그 이외의 약리 작용이 있는 물질을 찾고자 하는 노력이 다양하게 시도되고 있다.

우리나라에서도 홍¹⁴⁾¹⁵⁾, 차¹⁶⁾의 통계학적 연구에 의해 200여종의 생약제가 한방에서 암환자에게 처방되고 있음이 밝혀졌고, 또한 황¹⁷⁻¹⁹⁾에 의해 이들 생약제중 일부가 암세포의 증식을 억제한다는 실험적 근거가 제시된 바 있다.

이와 같은 연구와 관련하여 본 실험에서는 마늘 성분을 대상으로 mouse leukemic cell의 일종인 L₁₂₁₀과 P₃₈₈ 및 사람의 장암세포인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29의 증식에 미치는 영향과 in vivo에서 항암효과 내지는 암에 대한 저항이 있을 수 있는지를 검증하고자 흰쥐 복수 육종암 세포(Sarcoma-180)를 대상으로 실험하였다. 또한 TLC system을 이용하여 마늘성분 중 유효한 분획을 분리, 정제하였다.

본 실험 결과중 마늘의 각 용매추출물에 대한 L₁₂₁₀과 P₃₈₈ 두 세포사이에는 유사한 증식억제효과를 나타내었으며 마늘의 석유에틸추출물이 alcohol추출물보다 높은 암세포 증식억제효과를 보여주었다. 또한 마늘추출물의 농도가 높을수록 증식억제효과도 높은 것으로 나타났다. 한편, 인체 장암세포의 증식억제효과 실험은 실험결과에 나타난 바와 같이 HRT-18, HCT-48 및 HT-29 암세포 모두

마늘추출물에 의해 증식률이 감소하였다. 즉 각 암세포가 모두 배양액중 마늘추출물의 농도가 증가됨에 따라 암세포의 증식률은 감소하였고, 암세포의 종류에 따라 증식률의 감소가 차이가 나며 또한 배양액중 마늘추출물의 농도가 높으면(20~35µg/ml) 배양초기에 세포수보다도 배양시간이 지남에 따라 더 적어져 세포의 증식이 억제될 뿐만 아니라 암세포가 사멸되는 현상도 나타내었다. 세가지 암세포중 마늘추출물의 영향을 받는 정도가 큰 순서는 HRT-18, HCT-48, HT-29의 경향이었다. 한편, 마늘추출물에 의한 암세포의 증식억제효율이 암세포 종류에 따라 차이가 생겼음은 각 암세포의 특성에 기인될 것으로 사료된다. 따라서 마늘추출물의 암세포 증식억제효과에 대하여는 보다 더 광범위하게 여러 종류의 암세포 및 정상세포를 대상으로 추구하면 마늘추출물이 특이적으로 작용하는 암세포를 밝혀 낼 가능성도 있으리라 여겨진다.

마늘 alcohol추출물의 암세포 증식억제효과 실험에서 마늘추출물의 복강내 주사시 실험군의 계속적인 체중증가에 비하여 실험군의 체중은 심한 증가를 나타내지 않았다. 그리고 복강내 주사 실험군의 생존기간은 대조군보다 약간 연장됨을 보여 주었다. 한편, 마늘추출물의 경구투여 실험군은 복강내 S-180 암세포의 증가에 따른 체중증가가 대조군과 거의 비슷한 정도로 나타났으나 생존기간을 측정된 결과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 실험군에서는 생존기간이 훨씬 연장되는 효과를 나타내었다.

여기서 동물의 체중증가 원인은 첫째로, 투여한 암세포(S-180)가 증가함에 따라 복수가 생기는데 기인될 수 있고 둘째로는 동물의 성장에 기인될 수 있다고 본다. 그런데 본 실험에서 사용한 동물이 체중이 25g내외의 성숙한 흰쥐이기 때문에 둘째로 지적한 성장에 의한 원인은 무시해도 좋으리라 생각되고 주원인은 첫째로 지적한 복수의 증가에 있을 것으로 예측된다. 이러한 관점에서 본 실험결과를 고찰하면 대조군에 비하여 마늘추출물 투여군들의 체중증가가 적은 그만큼 복수가 적게 생긴 결과때문이라 하겠다. 또한 마늘추출물을 주

입함으로써 암세포(S-180)를 접종시킨 동물의 수명연장 효과가 있었고 그 효과는 투여방법에 따라 다름을 알 수 있었다.

한편, 마늘 alcohol추출물을 TLC system을 이용하여 분리 정제한 결과, 5개의 분획을 나타내었고, 그중 Rf치가 0.18되는 분획이 가장 강한 활성을 보였고, 0.44되는 분획도 높은 활성을 나타내었다. Rf치가 0.18되는 분획은 약 31.9%의 수율(건조중량)을 나타냈으며, L₁₂₁₀ 암세포의 활성단위로는 정제하지 않은 alcohol추출물보다 약 두배 이상의 활성을 나타내었다. 황¹⁹⁾등은 삼능봉출, 대황, 감수, 대극등의 추출물에서도 거의 같은 Rf치의 분획에서 암세포 증식 활성물질이 있다고 보고하였다.

Swiss mice에 S-180 암세포를 주입하여 암을 유발시킨 후, 마늘 alcohol추출물을 주입후 S-180 암세포의 도말 표본 형태를 관찰한 결과, 확실한 작용기전은 모르지만 처리하기 전의 대조군과 비교하여 1시간, 3시간이 경과한 후에 S-180 암세포 주위에 cytoplasmic villi가 형성되는 것을 관찰하였고, 세포내에 vacuole도 많이 생성되었다. 또한 시간이 경과함에 따라 S-180 암세포의 막이 lysis가 일어나며 사멸되는 세포가 증가됨을 관찰하였다. 이와 같은 세포조직학적 변형에 관하여는 앞으로 더 추구할 과제라 하겠다.

요 약

본 연구는 유기용매로 추출한 마늘의 항암성 성분을 in vitro에서 흰생쥐의 백혈병성 임파모 세포인 L₁₂₁₀과 P₃₈₈ 및 인체 직장암 세포인 HRT-18과 인체 결장암 세포인 HCT-48과 HT-29 또한 in vivo에서 흰쥐 복수 육종암세포인 sarcoma-180세포를 대상으로 선별 시험한 것이다. S-180을 제외한 각 암세포는 in vitro에서 마늘추출물을 농도별로 첨가한 배양액에서 배양시험하였다. 암세포의 증식억제효과는 마늘의 석유에틸추출물이 알코올추출물보다 높았다. 마늘의 지용성 성분은 in vitro에서 흰생쥐의 백혈병성 임파모 세포, 인체 직장암 및 결장암 세포에 대해 항암효과를 나타내었

다. 각 암세포의 증식률은 첨가한 마늘추출물의 농도가 증가할수록 감소한 경향을 보였다. Petroleum ether/ethyl ether/acetic acid(90 : 10 : 1, v/v)의 전개용매로 사용한 TLC에서 분리한 유효한 활성성분의 Rf치는 0.18이었고, 정제하지 않은 마늘추출물보다 L₁₂₁₀세포에 대해 2.3배 높은 활성을 나타냈다. S-180 암세포로 유발한 흰생쥐에 마늘추출물을 투여한 군이 투여하지 않은 군보다 생존기간이 1.5내지 2배 가량 연장효과를 보였다. S-180 암세포를 함유하고 있는 흰 생쥐에 마늘추출물(3 μ g/head)을 복강내 주사하고 3시간 후에 관찰한 결과 S-180 암세포의 뚜렷한 형태변화를 관찰하였다.

Literature cited

- 1) Cavallito CJ, Bailey JH, Buck JS. Antibacterial principle of allium sativum. III. Its precursor and essential oil of garlic. *J Am Chem Soc* 67 : 1032-1035, 1976
- 2) Yamata Y, Azuma K. Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicin. *Antimicrob Agents Chemother* 11 : 743-749, 1977
- 3) Cavallito CJ, Bailey JH. Allicin, the antibacterial principle of allium sativum, isolation, physical properties and antibacterial action. *J Am Chem Soc* 66 : 1950-1951, 1944
- 4) Jain RC, Vyas CR. Garlic in alloxan-induced diabetic rabbits. *Am J Clin Nutri* 28 : 684-687, 1975
- 5) Sharma KK, Sharma AL, Dwivedi KK, Sharma, PK. Effect of raw and boiled garlic on blood cholesterol in butter lipaema. *Indian J NUtri Diet* 13 : 7-9, 1976
- 6) Bordia A, Joshi HK, Sanadhya, Bhu N. Effect of essential oil of garlic on serum fibronolytic activity in patients with colenary artery disease. *Atherosclerosis* 28 : 155-157, 1977
- 7) Kritchevsky D. Effect of garlic oil on experimental atherosclerosis in rabbits. *Artery* 1 : 319-

- 322, 1975
- 8) Dipaolo JA, Carruthers C. Effect of allicin from garlic on tumor growth. *Cancer Research* 20 : 431-434, 1960
 - 9) 中田利一, 腫瘍發育に及ぼす生ニンニワ抽出液の影響. *日本衛生學雜誌* 27 : 538-543, 1973
 - 10) Weisberger AS, Pensky J. Tumor inhibition by a sulfhydryl-blocking agent related to an active principle of garlic(*allium sativum*). *Cancer Research* 18 : 1301-1308, 1958
 - 11) Fischer GA, Sartorelli AG. Development maintenance and assay of drug resistance. *Meth in Med Res* 10 : 247-254, 1964
 - 12) Hwang WI, Son HS. A study on the growth inhibition of human colon cancer cells by eucommial leaf extract. *Korean J Biochem* 20 : 49-55, 1988
 - 13) Clerk G. *Staining procedures 4th ed.* Williams & Wilkins 46-54, 1981
 - 14) 홍문화. 한방처분의 통계학적 연구(1), 생약의 처방출현빈도 및 기원분포. *생약학회지* 3 : 57-64, 1972
 - 15) 홍문화. 한방처분의 통계학적 연구(2), 인삼배합 한방처방의 통계학적 연구. *생약학회지* 3 : 187-197, 1972
 - 16) 차승만. 향암 및 항세균 생약의 통계학적 연구. *생약학회지* 8 : 1-15, 1977
 - 17) Hwang WI. A study on the cytotoxic activity of extract of panax ginseng root against some cancer cells. *Korean J Biochem* 8 : 1-6, 1976
 - 18) Hwang WI, Cha SM. A study on the cytotoxic activity of extract panax ginseng root against some cancer cells in vitro and in vivo. Proceeding of the 2nd Interantional Ginseng Symposium, *Korean Ginseng Research Institute Seoul Korea*, 1978
 - 19) 김교식, 백정미, 황우익. 국산향암성생약제로부터 향암성분의 추출 및 그의 항암활성 측정. *고의대논문집* 25 : 759-769, 1988