

소엽의 세포독성 및 항암작용에 관한 연구

한두석 · 정병호 · 유현경 · 김영옥* · 백승화*
원광대학교 치과대학 구강해부학교실 · *자연과학대학 화학과

Studies on the Cytotoxicity and Antitumor Activity of *Perilla frutescens*

Du Seok Han, Boung Ho Chung, Hyeon Gyeong Yoo, Young Ok Kim* and Seung Hwa Baek*

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry and

*Department of Chemistry, College of Natural Science, Wonkwang University, Iri 570-749, Korea.

Abstract—The cytotoxic and antitumor activity of *Perilla frutescens* extract on cultured 3T3 fibroblast and skin melanoma cells were evaluated by tetrazolium MTT (MTT) and neutral red (NR) colorimetric assay methods. Lactate dehydrogenase activity was also measured. The light microscopic study was carried out to observe morphological changes of cultured mouse fibroblast and skin melanoma cells.

The results were as follows:

1. Water and ether extracts showed a significant cytotoxicity in 3T3 fibroblast and all extracts exhibited a significant anti-tumor activity in skin melanoma cells. Methanol, ethyl acetate and ethanol extracts showed low cytotoxic effects, but exhibited a high anti-tumor activity.
2. The MTT absorbance in 3T3 fibroblast was significantly decreased by treatment with ether, water, chloroform and ethanol extracts and skin melanoma cells was significantly decreased by treatment with all extracts. The difference in MTT absorbance in two cell types was most remarkable when treated with methanol and ethanol extracts.
3. Methanol and ethyl acetate extracts showed the strongest effect in growth inhibition of melanoma cells.

These results indicated that methanol extract possessed a low cytotoxicity and a strong anti-tumor activity.

Keywords—*Perilla frutescens* · cytotoxicity · anti-tumor effect · 3T3 fibroblast · melanoma cells · MTT quantity

암은 아직도 그 발생기전이 불명확하여 난치성 질병의 하나로 알려져 있다. 이에 많은 항암제들이 개발되고 있지만 암의 종류에 따라 다양한 약리작용을 나타내고^{1,2)}, 또한 항암제의 독성에 의한 부작용도 다양하게 나타나기 때문에 암치료시 문제점으로 지적되고 있어^{3,4)}, 항암제

의 부작용을 최소화 하기 위하여 생약을 이용한 항암제 개발이 시도되고 있다⁵⁻⁷⁾.

차조기(紫蘇)는 꿀풀과에 속하는 일년생 풀로 중국이 원산지이며, 봄철에 씨를 뿌려 재배하는 약초이나 식용으로 먹기도 한다. 줄기는 네모이며 성긴 털이 나 있고 잎은 꼭지가 길며 가장자

리는 성긴 톱니모양으로 여름철에는 줄기끝 엽액(葉液)에서 줄기가 나와 담자색의 작은 꽃이 핀다^{8,9)}. 잎은 소엽(蘇葉), 씨는 소자(蘇子)라 하여 약재로 쓰인다. 한방약명은 자소(紫蘇), 이명(異名)은 계임(桂荏), 수소(水蘇), 적소(赤蘇), 향소(香蘇) 등으로 쓰인다. 차조기는 흥분, 발한, 지해(止咳), 진정, 진통, 이뇨, 건위(健胃)의 약리작용이 있으며, 건뇌(健腦), 출혈방지 등에 좋고, 담(痰)을 없애며, 개의 증독, 치질, 뇌의 질환, 혈액순환 촉진 및 천식 등의 치료에 응용된다^{10,11)}. 이와 같이 다양한 약리작용과 치료효과에도 불구하고 차조기에 관한 과학적 실험결과는 아직까지 우리나라에서는 발표되지 않고 있으나, 같은 종류의 차조기가 자생하고 있는 이웃 일본에서는 Yamazaki 등¹²⁻¹⁴⁾이 차조기의 일인 소엽(*Perilla frutescens*)을 갈아서 만든 소엽즙(Perilla juice)을 이용하여 다양한 실험을 수행하고 있다. 소엽즙은 염증부위의 호중성 백혈구 및 대식세포의 수와 질에 절대적으로 영향을 미쳐 탐식능을 증대시키고, 혈관내피세포의 부착능, 활성산소의 산생능 등을 활성화하는 것으로 알려진 보고와¹⁵⁾ TNF(tumor necrosis factor)의 분비량을 소엽즙(Perilla juice) 0.4 ml/mouse를 단 1회 경구투여 하므로써 50%까지 감소시킨다고 보고 한 바 있으며, 소엽즙(Perilla juice)은 염증성 피부질환의 치료에 유용하다고 보고하였다¹⁶⁾.

항암제는 암세포의 성장을 효과적으로 억제하기도 하지만 때로는 정상세포에 대해서는 독성을 나타내기도 한다. 따라서 국내의 많은 학자들은 이같은 독성의 작용기전을 밝히기 위하여 많은 연구를 하였다¹⁷⁻²¹⁾. 근래에는 세포배양기술이 급속히 발달함에 따라 각종 세포를 배양한 후 여러 독성물질을 투여함으로써 이들의 세포독성에 대한 기전을 세포수준에서 규명하려는 연구도 활발히 진행되고 있다²²⁻²⁶⁾.

이에 저자들은 오존층의 파괴로 인하여 피부암에 관한 관심이 집중되고 있는 시기에 독성이 적고 항암작용이 강한 피부암에 대한 항암제를 개발하고자 물과 몇가지 유기용매제를 사용하여^{27,28)} 소엽으로부터 조제한 추출액을 3T3 섬유모세포에 적용하여 세포독성을 관찰하고,

melanoma 세포에 적용하여 항암작용을 관찰하여 비교하였던바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

검액조제—소엽을 정선한 후에 조말하여 100 g 씩 평량하고 물과 유기용매(메타놀, Hexan, 80% 아세톤, 클로르포름, 에테르, 물, 에칠아세테이트, 에타놀) 300 ml를 각각 가하여 3시간씩 환류 냉각하면서 반복 추출하였다. 이 추출액을 여지로 여과하여 일정량으로 한 후에 그 증일부를 취하여 각각 처리 시료별로 진공 농축하여 조제하여 사용하였다.

시료의 처리—조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가 사용 직전에 에칠알콜로 등량 희석하였다. 각각 1:1(ml:g)로 희석한 시료는 실험한 농도에 적합하도록 10배 serial dilution을 하여 10⁻¹에서 10⁻⁸ 농도를 결정하였다.

세포배양—소엽의 세포독성 실험을 위하여 원광대학교 의과대학 해부학교실에서 분양받은 3T3세포(mouse skin fibroblast)는 세포독성을, 병리학교실에서 분양받은 mouse skin melanoma 세포는 소엽의 항암작용을 측정하기 위하여 사용하였다.

배양액으로는 3T3세포는 MEM(Gibco, USA)에 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco, USA)과 penicillin G (25 unit/ml), streptomycin (25 µg/ml) 및 fungizone(0.25 µg/ml)을 넣어 사용하였고, melanoma 세포는 RPMI1640 (Gibco, USA)에 10% fetal bovine serum(Gibco, USA)과 항생물질을 첨가하여 사용하였다.

각 세포의 배양은 온도 37°C, 습도 95%, 탄산가스 농도 5%의 배양기(CO₂ incubator, Shellab, USA)를 사용하였다. 실험을 위하여 일차 배양한 flask의 세포를 0.25% trypsin으로 처리하여 Turk형 혈구계산기를 이용하여 세포수가 2×10⁴ cell/ml가 되도록 세포부유액을 만들었다. 세포배양용 well multidish(Nuncion, USA)에 상기 세포부유액을 well당 2 ml씩 분주하고 각 약제의 serial 농도를 1 ml씩 첨가하여 배양하였다.

세포독성 판정—대조군과 실험군 모두에서 실험

험을 시작한 후 2일째에 세포수를 산정하기 위하여 각 well의 배양액을 버리고 전술한 방법으로 세포를 부유시키고 0.2% trypan blue로 염색한 후 혈구계산기를 이용하여 살아있는 세포수와 죽어있는 세포수를 100배의 도립현미경 (inverted microscope)하에서 산정하였다. 자료는 전산처리하여 평균치와 표준편차를 구하여 대조군과 비교하였다.

MTT 정량—Mosmann²⁹⁾의 방법에 의하여, 세포를 추출액이 첨가된 배양액에서 72시간 배양한 후, 분석 당일 조제한 MTT(Sigma) 50 µg/ml가 포함된 배양액을 well당 1 ml씩 넣어 3시간 배양하였다. 배양후 배양액을 버리고 dimethylsulfoxide(DMSO)를 2 ml/well씩 넣어 5분간 실온방치하여 MTT formazan을 용해한 후, 분광광도계 (550 nm)로 MTT의 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다^{30,31)}.

NR (Neutral red) 정량—Borenfreund와 Puerner³¹⁾ 방법에 의하여 세포를 배양용기당 10⁴ cell/ml이 되도록 well plate에 분주하여 24시간 배양 후, 여러 종류의 추출액이 포함된 배양액으로 교환하고 다시 72시간 동안 배양하고, 50 µg/ml의 neutral red(Sigma)가 포함된 배양액을 37°C 어두운 곳에서 overnight시킨 후 well 당 1 ml씩 넣어 3시간 동안 배양하였다. 배양 완료후 배양액을 버리고 phosphate buffered saline(PBS)으로 2~3회 세척하여 1% formal-

dehyde—1% CaCl₂를 넣어 15분간 실온에 방치하여 3시간동안 용해소체내에 축적된 NR을 용출하였다. 용출된 NR의 흡광도를 분광광도계 (550 nm)로 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

LDH(Lactate dehydrogenase) 정량—세포를 각 추출액이 첨가된 배양액에서 72시간 배양한 후, 배양액으로 유출된 LDH의 활성측정은 변형된 Takahashi 등³³⁾의 방법에 따랐다. 즉 LDH측정 kit(Atron lab., Japan)의 효소기질액 1.0 ml를 직경 10 mm인 tube(Palcon)에 넣은 후 여기에 검체인 배양액을 넣어 잘 혼합하여 37°C에서 10분 동안 반응시켰다. 10분 후에 희석반응 정지액을 3.0 ml 넣어 잘 혼합한 후, 570 nm에서 대조군과 비교 조사하였다. 이때 효소활성은 reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)의 산화량으로 표시하였다.

통계처리—실험결과와 통계처리는 T-test에 준하였고, p-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

물과 7종의 유기용매를 사용하여 소엽에서 추출한 각 시료가 3T3 섬유모세포에 미치는 세포독성과 melanoma 세포에 미치는 항암효과를 알아보기 위하여 각 시료를 10배 serial dilution하여 실험한 결과는 표 I~VI과 사진 1~4와 같

Table I. Effects of extracts from *Perilla frutescens* on the number of 3T3 fibroblast and skin melanoma cells

Cell Extract	3T3 fibroblast		Skin melanoma	
	No. × 10 ⁴ (Mean ± S.D.)	% of Control	No. × 10 ⁴ (Mean ± S.D.)	% of Control
Control	380.5 ± 58.82	(100)	182.1 ± 12.81	(100)
Methanol	433.2 ± 23.69	(113.8)	142.0 ± 12.35**	(77.96)
Hexane	396.1 ± 41.84	(103.8)	158.9 ± 9.79*	(86.75)
80% Acetone	386.4 ± 36.07	(100.4)	157.8 ± 12.09**	(86.64)
Chloroform	335.4 ± 41.37	(86.9)	113.0 ± 12.05**	(62.04)
Ether	242.6 ± 27.29**	(63.7)	97.0 ± 12.19**	(53.26)
H ₂ O	306.1 ± 25.69**	(63.9)	117.0 ± 10.77**	(64.24)
Ethyl acetate	357.0 ± 67.93	(97.5)	125.0 ± 16.16**	(68.63)
Ethanol	349.1 ± 46.24	(91.7)	118.5 ± 9.46**	(65.06)

Significantly different from the control: *p<0.05, **p<0.01.

Table II. The MTT absorbance of fibroblast and skin melanoma cells in each extract

Cell Extract	3T3 fibroblast		Skin melanoma	
	Mean \pm S.D.	% of Control	Mean \pm S.D.	% of Control
Control	1.958 \pm 0.019	(100)	0.687 \pm 0.05	(100)
Methanol	2.262 \pm 0.048	(115.2)	0.261 \pm 0.02**	(37.9)
Hexane	2.204 \pm 0.024	(103.3)	0.398 \pm 0.03**	(57.9)
80% Acetone	2.150 \pm 0.079	(109.8)	0.524 \pm 0.01**	(76.3)
Chloroform	1.672 \pm 0.115**	(85.3)	0.366 \pm 0.07**	(56)
Ether	1.408 \pm 0.05**	(71.9)	0.385 \pm 0.04**	(56)
H ₂ O	1.736 \pm 0.012**	(88.6)	0.589 \pm 0.02*	(85.7)
Ethyl acetate	1.921 \pm 0.042	(98.1)	0.371 \pm 0.11**	(54.0)
Ethanol	1.752 \pm 0.064**	(89.4)	0.299 \pm 0.06**	(43.2)

Significantly different from the control: *p<0.05, **p<0.01.

다.

대조군에 비하여 각 시료가 3T3 섬유모세포에 미치는 세포독성은 물과 에테르추출액 10⁻⁴ 농도에서 각각 63.9%, 63.7%로 가장 강하게 나타났으며, 클로로포름과 에타놀 추출액 10⁻⁴ 농도에서 각각 86.9%, 91.7%로 나타났다. 다른 4종의 시료는 독성이 없는 것으로 나타났다. 또한, melanoma 세포에 미치는 항암작용에 있어서는 모든 약제의 10⁻⁴ 농도에서 유의성 있는 항암효과를 나타냈다(표 I).

각 시료의 3T3 섬유모세포에 미치는 세포독성과 melanoma 세포에 미치는 항암효과를 비교하면 메타놀, 에칠아세테이트 및 에타놀추출액에서 가장 뚜렷한 차이를 보였다. 즉, 이들 추출액은 세포독성은 약하고 항암효과는 크다는 의미로 해석할 수 있다. 에테르, 물 및 클로로포름 추출액은 항암효과가 강한 반면 세포독성

도 강하였다(표 I).

3T3 섬유모세포와 melanoma 세포에 대한 MTT 정량에 있어서도 메타놀 추출액에서 세포독성(표 II, 사진 3)과 항암효과(표 II, 사진 4)의 차이가 가장 심하여 제일 좋은 시료로 평가할 수 있었고 다음은 에타놀 추출액(표 II)이었으며, 물과 에테르 추출액은 차이가 가장 적었다.

NR정량에서 3T3 섬유모세포는 각 시료에 따라 양적분화를 보였으나 melanoma 세포에서는 거의 양적차이를 보이지 않았으며(표 III), LDH 정량분석에서는 3T3 섬유모세포와 melanoma 세포 모두에서 대조군과의 차이가 적게 나타났다(표 IV). 3T3 섬유모세포를 사용하여 카드름 독성실험을 한 보고^{34,35}에 의하면 카드름 농도에 따라 NR 정량은 감소하는 것으로 보고되어 있으나 melanoma에 대한 NR정량에 관한 보고는 없어 본실험에서의 melanoma 세포의 NR정량이

Fig. 1. An inverted photograph of 3T3 fibroblast cells treated with the tetrazolium MTT for an additional 3 hr after incubation in unmodified medium (control) for 3d. Mag. \times 100.

A remarkable formation of formazan crystal and normal cell were shown.

Fig. 2. An inverted photograph of skin melanoma cells treated with the tetrazolium MTT for an additional 3 hr after incubation in unmodified medium (control) for 3d. Mag. \times 100.

Critically normal-form cells and a formation of formazan crystal were shown.

Fig. 3. An inverted photograph of 3T3 fibroblast cells treated with the tetrazolium MTT for an additional 3 hr after incubation in 10⁻⁴ medium containing methanol extract of *Perilla frutescens* for 3d. Mag. \times 100.

A pattern similar to control as in Fig. 1 was shown.

Fig. 4. An inverted photograph of skin melanoma cells treated with the tetrazolium MTT for an additional 3 hr after incubation in 10⁻⁴ medium containing methanol extract of *Perilla frutescens* for 3d. Mag. \times 100.

A drastical decrease of formazan crystal and degenerative process of the cells were shown.

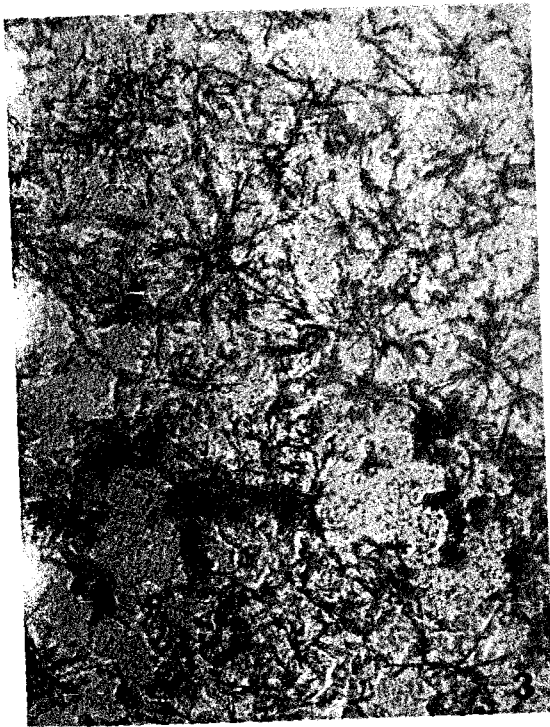
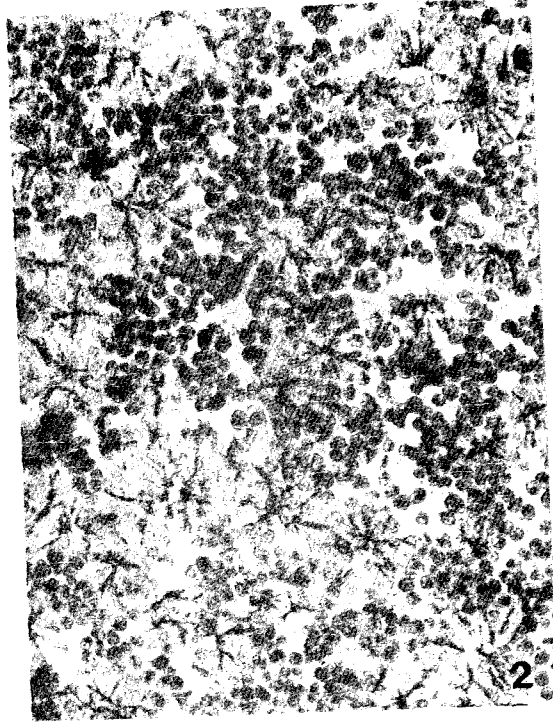


Table III. Effects of the NR uptake ability of 3T3 fibroblast and skin melanoma cells

Cell Extract	3T3 fibroblast		Skin melanoma	
	Mean \pm S.D.	% of Control	Mean \pm S.D.	% of Control
Control	0.97 \pm 0.00	(100)	3.27 \pm 0.02	(100)
Methanol	0.88 \pm 0.03	(91)	3.28 \pm 0.00	(100.1)
Hexane	0.86 \pm 0.04	(89.3)	3.26 \pm 0.01	(99.6)
80% Acetone	0.89 \pm 0.04	(92.2)	3.25 \pm 0.01	(99.4)
Chloroform	0.86 \pm 0.03	(89.6)	3.25 \pm 0.03	(99.3)
Ether	0.77 \pm 0.02	(79.3)	3.25 \pm 0.02	(99.3)
H ₂ O	0.79 \pm 0.01	(81.4)	3.27 \pm 0.02	(99.8)
Ethyl acetate	0.96 \pm 0.02	(99)	3.27 \pm 0.01	(99.8)
Ethanol	0.74 \pm 0.05	(76.9)	3.25 \pm 0.01	(99.4)

Table IV. Effects of the LDH uptake ability of 3T3 fibroblast and skin melanoma cells

Cell Extract	3T3 fibroblast		Skin melanoma	
	Mean \pm S.D.	% of Control	Mean \pm S.D.	% of Control
Control	19.10 \pm 2.36	(100)	42.13 \pm 4.14	(100)
Methanol	15.85 \pm 1.67	(83.0)	40.95 \pm 2.90	(97.1)
Hexane	20.42 \pm 4.40	(106.9)	37.20 \pm 9.76	(88.2)
80% Acetone	15.88 \pm 1.54	(83.1)	38.30 \pm 2.26	(90.9)
Chloroform	17.60 \pm 3.20	(92.1)	37.60 \pm 4.38	(89.2)
Ether	17.47 \pm 0.85	(91.5)	37.10 \pm 4.53	(88.0)
H ₂ O	17.40 \pm 6.08	(91.1)	38.95 \pm 2.19	(92.4)
Ethyl acetate	16.6 \pm 1.20	(86.9)	37.85 \pm 0.07	(89.9)
Ethanol	18.5 \pm 1.91	(96.9)	39.15 \pm 2.33	(92.9)

Table V. Dose response effects of various extracts on skin melanoma cells No. $\times 10^4$ (% of control)

Extract	Concentration				
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Methanol	10.5 \pm 1.23** (6.7) ^{a)}	91.25 \pm 9.71** (58.3)	134.75 \pm 40.49 (86)	158.75 \pm 17.21 (101.4)	159 \pm 25.16 (101.5)
Hexane	86.5 \pm 2.52** (55.3)	104.5 \pm 12.61** (66.7)	145.75 \pm 34.94 (93.0)	153.25 \pm 36.47 (97.8)	140.5 \pm 31.38 (89.7)
Ether	90.5 \pm 0.58** (57.5)	109.75 \pm 7.76** (69.6)	123.5 \pm 7.37* (78.8)	146.5 \pm 16.54 (93.5)	146.25 \pm 26.39 (93.3)
Ethyl acetate	0** (0)	78.25 \pm 22.32** (49.9)	112.0 \pm 33.4* (71.5)	118.5 \pm 22.25* (75.6)	133.0 \pm 47.34 (84.9)

Data were expressed as mean number of cells. The concentration of the control was 156.63 \pm 3.20.

^{a)} Figures in parentheses indicate percent of control.

Significantly different from the control: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table VI. Dose response effects of various extracts on MTT absorbance of skin melanoma cells

Extract	Concentration				
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Methanol	0.114±0.01** (16.59) ^{a)}	0.261±0.02** (37.9)	0.392±0.06** (57.1)	0.485±0.01** (70.5)	0.416±0.01** (60.5)
Hexane	0.098±0.01** (14.1)	0.398±0.03** (57.9)	0.503±0.01** (73.2)	0.519±0.03** (75.5)	0.477±0.06** (69.4)
Ether	0.132±0.01** (19.2)	0.385±0.04** (56)	0.543±0.02** (79)	0.564±0.04* (82)	0.563±0.01* (81.9)
Ethyl acetate	0.130±0.03** (20.2)	0.371±0.11** (54.3)	0.525±0.05** (76.4)	0.518±0.04** (75.4)	0.554±0.03* (80.6)

Data were expressed as mean absorbance. The concentration of the control was 0.687±0.05.

^{a)} Figures in parentheses indicate percent of control.

Significantly different from the control: *p<0.05, **p<0.01.

변화하지 않은 결과는 그 이유를 확실히 알 수 없으나 melanoma 세포는 세포내에 lysosome수가 감소한 세포로 추측된다. 세포막이 손상되면 세포내 LDH가 막을 통하여 세포밖으로 유출된다는 보고³⁶⁾와 3T3 섬유모세포에 카드뎀을 처리한 후 분석한 LDH량과는 일치하지 않았다.

위의 실험결과를 근거로 하여 항암효과가 높게 나타난 4종의 추출액(메타놀, 헥산, 에테르, 에칠아세테이트)을 선정하여 약제의 농도에 따른 melanoma 세포수의 변화와 MTT량의 변화를 관찰한 결과 표 V와 표 VI에 나타난 바와 같이 세포수와 MTT량에서 모두 희석농도의 증가에 따라 세포수와 MTT량은 증가하였으며, 특히 메타놀 추출액은 희석농도 모두에서 가장 강한 억제효과를 나타냈다.

소엽에 관한 실험보고가 거의 없는 실정이어서 다른 실험결과와 비교할 수는 없으나, Yamazaki의 보고에서 소엽즙(Perilla juice)이 TNF(tumor necrosis factor)의 분비량에 영향을 미친다는 보고 및 피부질환의 치료에 유용하다는 보고를 고려할 때, 본 실험의 결과에서 두 세포군의 세포수, 형태적 차이 그리고 MTT정량의 차이는 소엽 추출액이 melanoma 세포의 성장에 강한 억제작용을 나타내는 것으로 평가할 수 있으며, 특히 메타놀 추출액에서 세포독성은 낮은 반면 항암효과가 높게 나타나서 향후 메타놀 추출액으로 부터 분획을 제조하여 실험을 계속할 생각이다. 본 실험에서 기대했던 결과를 유도해내지

못한 NR정량 분석과 LDH정량 분석은 앞으로 실험을 계속하면서 농도에 따라, 시간경과에 따라 그리고 세포종류에 따라 어떠한 정량적변화가 나타나는지를 규명하고자 한다.

결 론

물과 7종의 유기용매를 사용하여 소엽으로부터 조제한 추출액이 3T3 섬유모세포에 나타내는 세포독성과 melanoma 세포에 나타내는 항암효과를 조사하기 위하여 혈구계산기에 의한 세포수 산정과 세포독성 판정, colorimetric assay인 tetrazolium MTT분석과 neutral red(NR) 분석, lactate dehydrogenase(LDH) 활성 및 도립현미경에 의한 세포와 formazan crystal 형태를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 세포독성은 물과 에테르 추출액에서 강하게 나타나 유의성이 있었고, 항암효과는 모든 추출액에서 유의성이 있었으며, 메타놀, 에칠아세테이트, 에타놀추출액의 경우 세포독성이 약하고 항암효과는 강하게 나타났다.

2. 3T3 섬유모세포에 대한 MTT정량은 에테르, 물, 클로로포름, 에타놀 추출액에서 유의성 있게 감소하였고, melanoma 세포에 대한 MTT정량은 모든 추출액에서 유의성 있게 감소하였으며, 두 세포사이의 MTT정량의 차이는 메타놀과 에타놀 추출액에서 가장 컸다.

3. 세포와 formazan crystal 형태에 있어서도

메타놀과 에타놀 추출액에서 두 세포 사이에 가장 현저한 형태학적 차이를 나타냈다.

4. 추출액의 농도에 따른 세포수의 변화와 MTT정량의 변화를 종합하면 메타놀과 에칠아세테이트 추출액에서 melanoma 세포의 성장억제효과가 가장 강하게 나타났다.

이상의 결과에서 메타놀 추출액은 세포독성이 가장 낮고 항암효과가 가장 큰 약제로 판정할 수 있었다.

감사의 말씀—이 논문은 1993학년도 원광대학교 학술연구조성비(교비) 지원에 의하여 연구되었음.

〈1993년 12월 15일 접수 :

1994년 5월 12일 수리〉

참 고 문 헌

- Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A. and Taylor, P.: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Maxwell Macmillan, 18th, p.1202 (1991).
- Hersh, E.M. and Ereish, E.J.: In *Methods in Cancer Research*, New York, Academic Press, p.335 (1986).
- Chung, Y.T., Park, S.T., Mun, Y.J., Kim, J.M., Kim, J.J., Choi, M.K., Han, D.S. and Kim, J.B.: *J. Wonkwang Med. Sci.* 3, 13 (1987).
- Seo, J.D., Lee, D.K. and Um, I.W.: *J. Wonkwang Dental Research Institute* 2, 55 (1992).
- Aburada, M.: *Recent Advances in the Pharmacology of Kampo Medicine*, p.275 (1988).
- Kawamura, H., Takemoto, N., Maruyama, H., Komatsu, Y., Aburada, M. and Hosoya, E.: *Recent Advances in the Pharmacology of Kampo Medicine*, p.291 (1988).
- Takemoto, N., Maruyama, H., Kawamura, H., Komatsu, Y., Aburada, M., Hosoya, E., Yamada, H., Kiyohara, H. and Cyong, J.C.: *Recent Advances in the Pharmacology of Kampo Medicine*, p.345 (1988).
- 이창복 : 대한식물도감, 향문사, p.659 (1982).
- 육창수 : 원색 한국약용식물도감, 아카데미서적, p.474 (1989).
- 문관섭 : 약초의 성분과 이용, 일원서각, p.517 (1991).
- 심민교 : 원색 임상본초학, 남산당, p.519 (1986).
- Yamazaki, M.: *Jpn. J. Inflammation* 10, 163 (1990).
- Satoh, M., Inagawa, H., Minagawa, H., Kajikawa, T., Cshima, H., Abe, S., Yamazaki, M. and Mizuno, D.: *J. Biol. Res. Modif.* 5, 117 (1986).
- Yamazaki, M., Ueda, H., Fukuda, K., Okamoto, M. and Yui, S.: *Biosci. Biotech. Biochem.* 56, 149 (1992).
- Yamazaki, M., Ueda, H. and Du, D.: *Biosci. Biotech. Biochem.* 56, 152 (1992).
- Yamazaki, M.: *Jpn. J. Inflammation*. 10, 163 (1990).
- Yamazaki, M., Ueda, H. and Du, D.: *Biosci. Biotech. Biochem.* 56, 151 (1992).
- Tompson, J. and Biggers, J.D.: *Exp. Cell Res.* 41, 411 (1966).
- Molinaro, M., Siracusa, G. and Monesi, V.: *Exp. Cell Res.* 71, 261 (1972).
- Ellem, K.A.O. and Gwatkin, R.B.L.: *Devel. Biol.* 18, 311 (1968).
- Cho, W.K. and Kwon, H.B.: *Proc. Cell Natur. Sci., SNU* 1, 107 (1976).
- Chung, Y.T., Park, S.T., Choi, M.K. and Kim, J.J.: *J. Wonkwang Basic Natl. Sci.* 3, 81 (1984).
- Chung, Y.T. and Park, S.T.: *J. Wonkwang Med. Sci.* 2, 25 (1986).
- Eun, J.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 23, 248 (1992).
- Iijima, S., Spindle, A. and Pederson, R.A.: *Teratology* 27, 109 (1983).
- Giavini, E., Prati, M. and Vismara, C.: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 25, 702 (1980).
- Andersson, L., Lidgren, G., Bohlin, L., Magni, L., Cgren, S. and Afzelius, L.: *Acta Pharm. Sue.* 20, 401 (1983).
- Lidgren, G., Andersson, L. and Bohlin, L.: *ibid.* 22, 351 (1985).
- Mosmann, T.: *J. Immunol. Methods* 65, 55 (1983).
- Carmichael, J., Degraff, W.G., Gazdar, A.F., Minna, J.M. and Michell, J.B.: *Cancer Res.* 47, 936 (1987).
- Borenfreund, E., Babichi, H. and Martin-

- Alguacil, N.M.: *Toxicol. In Vitro* 2, 1 (1988).
32. Borenfreund, E. and Puerner, J.A.: *J. Tiss. Cult. Meth.* 9, 7 (1984).
33. Takahashi, K., Fujita, Y., Mayumi, T., Hama, T. and Kishi, T.: *Chem. Pharm. Bull.* 35, 326 (1987).
34. Chung, Y.T., Park, S.T., Choi, M.K., Kim, J.J., Kim, J.M., Choi, B.K., Han, D.S., Woo, W.H. and Wui, I.S.: *Kor. J. Toxicol.* 8, 119 (1992).
35. Chung, Y.T., Park, S.T., Choi, M.K., Kim, J.J., Mun, Y.J., Woo, W.H., Han, D.S., Choi, B.K. and Soh, J.T.: *Kor. J. Toxicol.* 9, 45 (1993).
36. Shell, W.E.: *Clin. Invest.* 52, 2579 (1973).