

Moutan radix의 mouse sarcoma 180 cell로 유발한 mouse ascites cancer에 대한 항암효과

반경녀¹ · 이은주¹ · 양민석¹ · 김정옥² · 하영래^{1*}

¹경상대학교 농화학과, 암연구소, 식물분자생물 우수연구소, ²부산여자대학교 화학과

초록 : 목단피의 mouse 복수암에 대한 항암성을 다른 생약제의 항암성과 비교하여 연구하였다. 천연생약제(목단피, 주목, 울금, 인경쑥, 여정실, 맥문동) methanol 추출물을 hexane, chloroform (CHCl_3), ethylacetate (EtOAc), butanol (BuOH)로 fractionation하여 mouse leukemia L1210 cell과 Sarcoma 180 (S-180) cell에 강한 독성을 나타낸 fraction에 대해 mouse 복수암 억제실험을 실시하였다. 복수형 종양세포 S-180을 ICR mouse (male, 6~7주령, 23 g ± 3 g, 처리당 7마리)의 복부에 주사 (1×10^6 cells/ 0.1 ml PBS)한 1일 후부터 10% DMSO에 용해한 시료 (30 µg/g body weight)를 매일 0.1 ml씩 10일간 주사하고 수명연장 효과와 몸무게의 변화를 조사하였다. 처리 fraction 중에서 목단피의 EtOAc fraction이 가장 강한 항암성을 보였는데, 수명연장에서는 대조구의 17.2일 (100%)에 비하여 28.7일로서 167%로 연장되었으며, 체중 증가율도 대조구보다 낮았다 ($p < 0.05$). 목단피의 농도별 (5, 10, 30, 60 µg/g body weight) 항암효과는 30 µg에서 가장 높았고, 60 µg 처리구에서는 독성이 나타났다. 목단피의 EtOAc fraction으로부터 GC-MS에 의해 잠정적으로 동정된 2-methoxyphenol, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-ethanone, 8-methyl-2,4(1H,3H)-pteridinedione, 2,5-furandicarboxylic dimethyl ester 가 mouse 복수암 억제에 관련이 있는 주요 화합물로 추정된다(1995년 7월 25일 접수, 1995년 9월 13일 수리).

서 론

현대의 다양한 생활환경 및 식생활의 변화로 암의 발생률이 해마다 증가하고 있으나 아직까지도 정확한 치료법이 알려져 있지 않다.^{1,2)} 암환자 치료에 사용되는 항암제는 alkyl화제, 대사길항물질, 항생물질 등이 이용되고 있는데, 이들은 생체내의 암세포 뿐만 아니라 정상세포 및 다른 감염증에 대한 면역을 약하게 하는 부작용을 일으킨다.^{3,4)} 따라서 최근 면역기능을 높여 주고 암세포에만 선택적으로 작용하는 천연항암제를 생약제로부터 개발하려는 많은 연구가 수행되고 있다.^{5~7)}

미국의 암연구소 (NCI)에서는 전세계적으로 식물자원을 수집하여 항암성 물질에 대한 방대한 screening을 실시하고 있으며,⁸⁾ 국내에서도 수많은 식물생약제를 검색하고 항암성분의 분리 및 동정에 관한 연구가 진행되고 있다.^{9~12)} 생약제 중에서 목단피는 항균작용, 항산화성, 중추신경 조절작용 등의 효과가 있다고 보고되었으나 항암성에 관한 보고는 거의 없다.^{13~18)}

최근 본 연구실에서는 목단피가 mouse의 복수암 억제효과가 있음을 밝혔기에 이 결과를 보고하고자 한다. Mouse Sarcoma 180 (S-180) 복수암세포로 유발한 mouse의 복수암에 대한 목단피의 항암성을 주목, 울금, 인경쑥, 여정실, 맥문동의 항암성과 비교하였다. 또한 목단피로부터 mouse 복수암 억제에 관련이 있을 것으로 추정되는 화합물을 동정하였다.

재료 및 방법

재료 및 추출

서부 경남 일대에서 자생하는 목단피 (*Moutan radix*), 주목 (*Taxus cuspidata*), 울금 (*Curcuma longa*), 인경쑥 (*Artemisia capillaris*), 여정실 (*Ligustrum fructus*), 맥문동 (*Liriope platyphylla*)을 채취하여 통풍이 잘되는 그늘에서 말린 후 분쇄하고 시료 중량 20배의 MeOH로 두번 환류추출 (12 hours × 2)한 후 여과하여 얻은 MeOH 추출물을 감압농축 하였다. 이 농축액 10 g에 증류수 50 ml를 가해 혼탁시키고 Fig. 1에서와 같이 hexane, CHCl_3 , EtOAc, BuOH 순으로 용매분획하였다.

세포독성 실험

(1) 암세포

한국세포주 은행으로부터 mouse leukemia L1210 세포 (KTCC: ATCC No. CCL 219)와 S-180 세포 (KTCC: ATCC No. TIB 64)를 분양 받았다. L1210세포는 10% horse serum (Gibco BRL)이 함유된 Fisher's medium (Gibco, BRL) 배지에 배양 하였고, male ICR mouse (8~12 주령)의 복강에서 7일마다 계대배양한 S-180 세포는 10% horse serum (Gibco BRL)이 함유된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium; pH 7.4) 배지에서 배양하였다.

(2) 암세포 독성실험

찾는말 : Leukemia L1210, Sarcoma 180, 복수암, 목단피

*연락처자

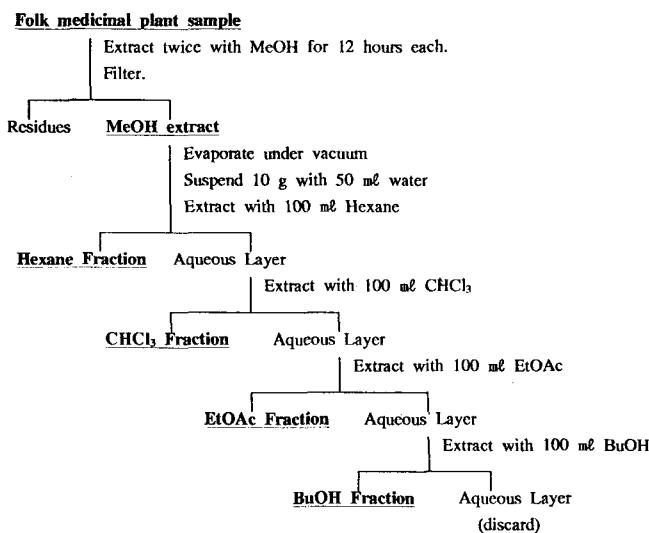


Fig. 1. Fractionation of the MeOH extract from folk medicinal plants by using solvents different in polarity.

암세포 ($2\sim 3 \times 10^5$ cell/mL)를 48시간 배양 (logarithmic phase: $0.8\sim 1.0 \times 10^6$ cell/mL)하여 37°C 로 가온한 배지로 희석 (3×10^5 cells/mL)하였다. Cell culture plate (24-well plate: Nunc, Denmark)의 각 well에 희석된 세포액 0.5 mL와 시료 (10 mg/mL DMSO)를 배지로 10배 희석한 일정량 (15, 30 또는 60 μl)을 가하고 전체용량이 3 mL가 되게 배지를 가하였다. Control은 희석된 세포현탁액 (0.5 mL)과 DMSO 일정량에 배지를 첨가하여 3 mL로 조절하였다. 세포의 배양은 CO_2 incubator (5% CO_2 , 37°C)에서 48시간 행하였다. 시료의 세포독성은 처리된 세포액 50 μl 에 0.2% trypan blue 용액 (50 μl)을 가하여 염색하고 hemocytometer로 생존한 세포수를 측정하여 ED_{50} (median effective dose, $\mu\text{g}/\text{mL}$) 값으로 표시하였다. ED_{50} 은 처리군의 각 농도에 대한 성장을 $Y(\%) = (T-\text{Co}) / (\text{C}-\text{Co}) \times 100$ [Co 는 배양초기 mL당 평균세포수, T와 C는 각각 처리와 대조군의 48시간 배양후 mL당 평균세포수]로 나타내었다.¹⁹⁾

Sarcoma 180 복수암 실험

(1) 실험 동물

ICR mouse (male, 6주령; Daejong Co., LTD, Seoul)는 β -chip이 깔린 polycarbonate cage (42.5 cm \times 27.5 cm \times 18 cm; 7 마리)에서 mouse용 pellet 사료 (Daejong Co., LTD, Seoul)로 1주일 동안 예비사육하여 체중이 25 ± 1 g인 것을 실험에 사용하였다. 물과 사료는 자유로이 제공하였고, 조명은 12시간 간격의 light-and-dark cycle을 유지하여 자연조명에 가깝게 하였으며, 사육실의 온도는 $23\pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 50%로 조절하였다.

(2) S-180 mouse 복수암 실험

Mouse의 복강 내에 배양된 S-180 세포는 복강액을 0.85% ammonium chloride 용액에 혼합한 다음 원심분리

(1,500 rpm, 5 min)하여 분리하였다. 분리된 S-180 세포에 PBS (Phosphate Buffered Solution) 용액을 가하여 조제한 세포부유액 (1×10^7 cells/mL) 0.1 mL (1×10^6 cell)을 mouse의 복강에 주사하여 복수암을 유발 시켰다. Dimethylsulfoxide (DMSO) 용액에 용해된 생약제 시료액 0.1 mL를 S-180 암세포 접종 1일 후부터 매일 1회씩 10일간 복강에 주사하였다. Control은 세포와 시료에 사용된 용매만으로 처리하였다. S-180 암세포를 접종한 후 체중증가와 생존일을 관찰하였다.

활성물질의 분리 및 동정

(1) Column chromatography에 의한 분리

Glass column (1 m \times 5 cm i.d.)에 silica gel (Merck 77690, Germany)을 70 cm의 높이로 채우고 CHCl_3 : MeOH (10 : 1, v/v)로 충분히 equilibrium 시킨다. 여기에 시료 5 g과 silica gel 10 g을 잘 혼합하여 column의 상부에 넣었다. Mobile phase로서 각각 500 mL의 CHCl_3 : MeOH (10 : 1, v/v), CHCl_3 : MeOH (5 : 1, v/v), CHCl_3 : MeOH (1 : 1, v/v), MeOH (100%)을 순서대로 분당 5 mL의 속도로 elution하여 색깔에 따라 fractionation하였다.

(2) GC-MS에 의한 물질 동정

활성성분을 동정하기 위해 사용된 GC-MS system은 Finnigan 4510 GC-EI automated mass spectrophotometer (Sunvalle, CA, USA)를 사용하였다. Column은 Ultra-2 capillary column (25 m \times 0.2 mm, 0.11 μm)으로 temperature program ($50\sim 250^\circ\text{C}$, $4^\circ\text{C}/\text{min}$)을 하였으며 detector는 FID였다. Compound는 Willeybns Library의 data base와 비교하여 잠정적으로 동정하였다.

결 과

암세포에 대한 독성효과

Table 1은 생약제 (목단피, 주목, 울금, 인경쑥, 여정실, 맥문동)로부터 분획된 fraction의 L1210 세포에 대한 독성실험 결과를 나타내었다. ED_{50} 값 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)은 목단피의 EtOAc층에서 2.16, 주목, 인경쑥의 CHCl_3 층에서 각각 1.02, 2.12로 나타났으며, 울금의 hexane층은 1.07로서 강한 세포 독성을 보였지만 여정실과 맥문동의 전 fraction에서는 ED_{50} 값이 20.00 이상으로 세포독성을 보이지 않았다.

L1210 세포에 강한 독성을 보인 fraction의 S-180 암세포에 대한 독성을 조사 하였다 (Table 2). L1210에 세포독성을 보인 fraction 중에서 상대적으로 약한 세포독성을 보인 목단피의 EtOAc fraction이 S-180에 대해서는 가장 강한 세포 독성 (ED_{50} : 0.12)을 보였다. 다른 fraction의 S-180에 대한 세포독성은 인경쑥 (CHCl_3), 주목 (CHCl_3), 울금 (hexane)의 순이었다. L1210 세포에 대해 세포독성이 나타나지 않았던 여정실의 CHCl_3 층은 S-180 세포에 대해서도 세포독성이 없었다.

Table 1. Cytotoxicity of the fractions from folk medicinal plants for mouseleukemia L1210 cancer cells

Folk medicinal plant	ED ₅₀ value (μg/ml) ¹⁾			
	Hexane ²⁾	CHCl ₃	EtOAc	BuOH
<i>Moutan radix</i> ³⁾	>20.00 ⁴⁾	>20.00	2.16	13.36
<i>Taxus cuspidata</i>	5.23	1.02	>20.00	>20.00
<i>Curcuma longa</i>	1.07	>20.00	13.55	>20.00
<i>Artemisia capillaris</i>	12.31	2.12	>20.00	15.20
<i>Ligustrum fructus</i>	>20.00	>20.00	>20.00	>20.00
<i>Liriope platyphylla</i>	>20.00	>20.00	>20.00	>20.00

¹⁾ Values were the average of three experimental data and standard deviation (SD) was less than 10% of the average value. ²⁾ Solvent fraction was obtained from Fig 1. ³⁾ Trivial name of *Moutan radix*, *Taxus cuspidata*, *Curcuma longa*, *Artemisia capillaris*, *Ligustrum fructus*, and *Liriope platyphylla* is Mokdanpi, Joomog, Yoolgeum, Inkyeongssuk, Yeojungsil and Macmoondong, respectively. ⁴⁾ ED₅₀ value is greater than 20 μg/ml.

Table 2. Cytotoxicity of fractions from folk medicinal plants for mouse ascites S-180 cancer cells

Folk medicinal plant	Fraction ¹⁾	ED ₅₀ Value ²⁾
<i>Moutan radix</i> ³⁾	EtOAc	0.12
<i>Taxus cuspidata</i>	CHCl ₃	5.65
<i>Curcuma longa</i>	Hexane	6.60
<i>Artemisia capillaris</i>	CHCl ₃	1.35
<i>Ligustrum fructus</i>	CHCl ₃	>20.00 ⁴⁾

¹⁾ Solvent fraction was obtained from Fig 1 and exhibited a strong cytotoxicity for L1210 cells, except *Ligustrum fructus*, as shown at Table 1. ²⁾ Values were the average of three experimental data and standard deviation (SD) is less than 10% of the average value. ³⁾ Trivial name of *Moutan radix*, *Taxus cuspidata*, *Curcuma longa*, *Artemisia capillaris*, and *Ligustrum fructus* is Mokdanpi, Joomog, Yoolgeum, Inkyeongssuk, and Yeojungsil, respectively. ⁴⁾ ED₅₀ value is greater than 20 μg/ml.

복수암 억제효과

L1210 세포와 S-180 암세포에 대해 강한 독성을 보인 목단피의 EtOAc층, 인경쑥, 주목의 CHCl₃층, 울금의 hexane층과 독성을 보이지 않았던 여정실의 CHCl₃층에 대해 S-180 세포로 유발한 mouse 복수암 억제효과를 조사하였다. S-180 세포 (1×10^6 cells)를 male ICR mouse 복부에 주사하여 복수암을 유발시킨 후, 생약제의 각 fraction (30 μg/0.1 ml 10% DMSO)을 매일 1회씩 10일간 투여하고 세포 접종일로부터 34일 동안 수명연장 효과 (Table 3, Fig. 2)와 18일 동안 복수암 성장에 따른 체중증증가 (Fig. 3)를 조사하였다.

생존율은 목단피 (CHCl₃층) 처리구가 control 처리구 (17.2일)에 비해 167%로 처리 생약제 fraction 중에서 가장 높게 나타났으며 울금 (hexane층), 인경쑥 (CHCl₃ 층), 주목 (CHCl₃층)은 각각 143%, 134%, 130%로 나타났다. 그러나 세포독성이 없었던 여정실 (CHCl₃층)은 복수암 억제효과도 없었다 (Table 3, Fig. 2). 목단피

Table 3. Effect of fractions from folk medicinal plants on the life span of mouse bearing ascites induced by mouse leukemia S-180 caner cells

Sample ¹⁾	Mean survival day ²⁾	Survival rate (%) ³⁾
control	17.2 ± 4.6	100
<i>Moutan radix</i> ³⁾ (EtOAc fraction)	28.7 ± 3.5	167
<i>Curcuma longa</i> (hexane fraction)	24.1 ± 2.9	143
<i>Artemisia capillaris</i> (CHCl ₃ fraction)	22.7 ± 2.5	134
<i>Taxus cuspidata</i> (CHCl ₃ fraction)	22.1 ± 5.0	130
<i>Ligustrum fructus</i> (CHCl ₃ fraction)	18.7 ± 2.2	109

¹⁾ Solvent fraction was obtained from Fig 1 and exhibited a strong cytotoxicity for S-180, except *Ligustrum fructus*, as shown at Table 2. ²⁾ Average survival days of 7 mice counted by 34 days after the initiation of tumor. Two mice of *Moutan radix* treatment group survived for 50 days. ³⁾ Survival rate was represented as the percent ratio of mean survival days of treatment group to mean survival days of control group. ⁴⁾ Trivial name of *Moutan radix*, *Curcuma longa*, *Artemisia capillaris*, *Taxus cuspidata*, and *Ligustrum fructus* is Mokdanpi, Yoolgeum, Joomog, Inkyeongssuk, and Yeojungsil, respectively.

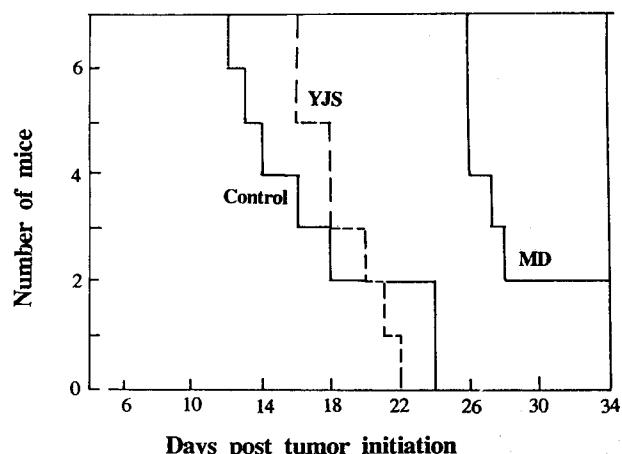


Fig. 2. Survival days of tumor-bearing mice induced by S-180 cancer cells and one day later, given, i.p., the fraction (30 μg/g body weight) from *Moutan radix* (MD; EtOAc fraction) and *Ligustrum fructus* (YJS; CHCl₃ fraction). Each treatment group consisted of 7 mice. Survival day was counted for 34 days after initiation of tumor.

(EtOAc층) 처리구에서는 처리 후 50일 까지 2마리가 살아 남아, 실제의 평균수명은 28.7일보다 훨씬 길었다.

Fig. 3에서는 처리 후 18일째 mouse의 평균 체중을 나타내고 있다. 평균체중은 control구에서 18g이 증가한 반면에, 처리를 하지 않았는 정상적인 mouse는 약 3g 정도의 몸무게가 증가 하였다. 목단피 (EtOAc층) 처리구에서는 10g이 증가되었고, 울금 (hexane층), 인경쑥 (CHCl₃층) 및 주목 (CHCl₃층) 처리구에서도 각각 10, 10.5, 12g으로 증가되어 control구에 의해 증가된 체중에 비해 유의성이 있는 감소를 보였다 ($p < 0.05$). 그러나 체중감소에 대한 여정실처리 효과는 볼 수 없었다. Table

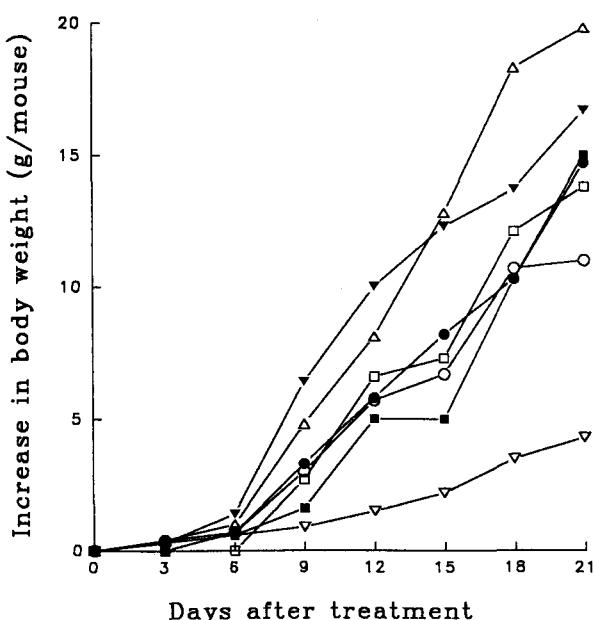


Fig. 3. Body weight of tumor-bearing mice induced by S-180 and one day later, given i.p. with fractions (30 µg/g body weight), exhibited cytotoxicity against L1210 and S-180 cancer cells, from 7 folk-medicinal plants: control (open triangles); *Ligustrum fructus* (closed reverse triangles, CHCl₃ fraction); *Taxus cuspidata* (open squares, CHCl₃ fraction); *Curcuma longa* (closed circles, hexane fraction); *Artemisia capillaris* (open circles, CHCl₃ fraction); *Moutan radix* (closed squares: EtOAc fraction); and untreated (open reverse triangles). Each treatment group consisted of 7 mice. Each point represents the average body weight of survived. Body weight from treatment groups, except for *Ligustrum fructus*, significantly different ($p < 0.05$, LSD test) as compared to that of control group.

4에서는 목단피 (EtOAc총)의 dose에 따른 복수암 억제 효과를 나타내고 있다. Mouse g당 시료를 5 µg, 15 µg, 30 µg, 50 µg을 처리하고 30일 동안 생존율을 조사하였다. 평균수명은 control 처리구에서는 19.4일 (100%) 인데 비해 30 µg 처리구에서는 31.1일로 control 처리구에 비해 160%의 생존율을 나타냈지만 5 µg과 50 µg 처리구에서는 105%와 90%의 생존율을 보였다. 60 µg 처리구에서는 18일 이내에 모두 죽어 시료에 의한 독성이 나타났고 30 µg과 15 µg을 투여한 mouse들은 30일 동안 각각 2마리와 1마리가 살아남았으나 control 처리구에서는 20일 이내에 모두 죽었다.

항암물질의 분리

목단피의 EtOAc총을 CHCl₃ : MeOH mixture를 mobile phase로 하여 silica-gel column chromatography로 17개의 fraction (F1-F17)을 분취하였다. 이를 각 fraction 20 µg의 S-180 세포 생장억제율은 F4, F5, F11, F12, F13, F14, F15, F16, F17에서 각각 67%, 57%, 65%, 89%, 60%, 57%, 64%, 62%, 57%였고, 다른 fraction에서는 50% 이하의 억제율이 나타났다. 50% 이상의 암세포 생장억제효과를 나타낸 상기 9개 분획의 ED₅₀은 Table 5에서와 같이 F11,

Table 4. Effect of the EtOAc fraction of *Moutan radix* on the life span of mouse bearing ascites cancer induced by mouse leukemia S-180 cancer cells

Treatment ¹⁾	Mean survival days ²⁾	Survival rate (%) ³⁾
control	19.4 ± 3.2	100
5 µg	20.4 ± 4.8	105
15 µg	25.3 ± 3.5	130
30 µg	31.1 ± 3.9	160
50 µg	17.5 ± 4.1	90

¹⁾ Sample (per g mouse body weight) dissolved in 0.1 ml of 20% DMSO was administered, i.p. male ICR mice (6 week, 23 ± 1 g) treated with S-180 (1.3×10^6 cell/mouse). Each treatment group consisted of 10 mice. ²⁾ Average survival days of 10 mice counted by 30 days after initiation of tumor. ³⁾ Survival rate was the percent ratio of mean survival days of treatment group to mean survival days of control group.

Table 5. Cytotoxicity of the subfractions from the EtOAc fraction of *Moutan radix* by column chromatography for mouse ascites S-180 cancer cells

Subfraction ¹⁾	Mobile phase (CHCl ₃ : MeOH)	ED ₅₀ (µg/ml) ²⁾
F4	5 : 1	4.48
F5	5 : 1	2.54
F11	1 : 1	0.97
F12	1 : 1	0.09
F13	1 : 1	3.91
F14	0 : 1 ³⁾	5.37
F15	0 : 1	3.98
F16	0 : 1	4.45
F17	0 : 1	2.51

¹⁾ The subfraction exhibited more than 50% inhibition of S-180 cells with 20 µg/ml sample was examined ED₅₀ value. Volume of each subfraction was dependent upon the color eluted. ²⁾ Value was the average of three experimental data and standard deviation (SD) is less than 10% of the average value. ³⁾ 0 : 1 means 100% methanol.

F12에서 각각 0.97 µg/ml, 0.09 µg/ml로 높은 독성이 나타났고, F4, F5, F13-17의 분획에서는 ED₅₀이 2.51~5.37 µg/ml으로 나타났다.

GC-MS에 의해 목단피의 EtOAc총에서 14개, F11에서 3개, F12에서 5개의 화합물을 잠정적으로 동정하였다 (Table 6). 목단피의 EtOAc총에 존재하는 14개의 화합물 중 F11과 F12에 공동으로 존재하는 화합물은 2-methoxyphenol 였다. S-180 세포에 대해 강한 독성을 보인 F12에서는 2-methoxyphenol외에 benzoic acid, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone, 8-methyl-2,4(1H, 3H)pteridinedione, 2,5-furan-dicarboxylic dimethyl ester가 잠정적으로 동정되었다.

고 칠

목단피는 작약과에 속하는 모란의 뿌리껍질 (*Moutan radix*)로 약용으로 사용되는 생약제이다. 목단피에는

Table 6. Tentatively identified compounds from EtOAc fraction and subfractions (F11 and F12) of *Moutan radix* by GC-MS

Compound from EtOAc fraction	Compound from F11 ¹⁾	Compound from F12 ²⁾	(M%) ³⁾
2-Methyl pyridine	+ ⁴⁾		152
1-Methyl-3-(1-methylethyl)-benzene			154
3-Methoxy pyridine	+		150
2-Methoxy phenol	+	+	150
1,2-Diazabicyclo-2,2,2-octan-3-one			126
Benzoic acid		+	198
1-Phenyl ethanone			146
1,2,3-Benzentriol-5-(1,3,5)-pentatriene			128
1,2,3-Benzentriol			150
1-(2,4-dihydroxyphenyl)ethanone			220
1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone		+	204
4-Hydroxy benzoic acid			204
8-Methyl-2,4(1H, 3H)-pteridinedione		+	278
2,5-Furan-dicarboxylic dimethyl ester		+	246

¹⁾F11 and ²⁾F12 were fractionated from the EtOAc fraction of *Moutan radix* by silica-gel column chromatography and their cytotoxicity data for S-180 cells were shown at Table 5. ³⁾M⁺ means molecular weight. ⁴⁾ + indicated the presence of the compound located at left side of the symbol in F11 or F12.

paeonol, paeonoside, paeonolide, oxypaeoniflorine, albiflorine, benzoylpaeoniflorine, benzyloxyppaeoniflorine, paeoniflorigenone, tannin, catechin, procyanidin B₁가 존재함이 이미 밝혀졌다.¹³⁻¹⁵⁾ Paeonol에는 충수돌기염에 대한 항균작용, 중추 억제, 항염증, 위액 분비 억제 작용이 있고¹⁵⁾ benzoylpaeoniflorine, benzyloxyppaeoniflorine은 비만세포에서의 histamine 유리억제 작용이 있다.¹⁶⁾ 또한 목단피는 항균력¹⁷⁾과 항산화력¹⁸⁾이 보고되어 있으나 아직까지 항암성에 관한 연구결과는 보고되지 않았다.

울금 및 주목도 약간의 복수암 억제효과는 있었다 (Table 3, Fig. 3). 현재 한방에서 울금은 암치료의 보조제로 쓰이며, L1210 세포독성 효과를 나타내는 물질인 β-sespuphenlandrene과 그의 작용을 증가시키는 arturmerone을 분리한 바 있다.²⁰⁻²¹⁾ 주목에서는 최근 암치료제로 밝혀진 taxol이 극미량 함유되어 있고 난소암에 탁월한 치료효과가 입증되어 93년 FDA로부터 신약승인을 받았으며, 수용성 유사체도 발견되어 이용도가 크지만²²⁻²³⁾ 복수암에 대한 항암성은 목단피보다 떨어졌다 (Table 3).

목단피의 EtOAc 층에서 14개, F11에서 3개, F12에서 5개의 화합물이 GC-MS에 의해 잠정적으로 동정되었다. EtOAc 층에서 분리된 14개 화합물 중 2-methoxyphenol이 F11과 F12에 공동으로 존재하였다. 또한 S-180 암세포에 아주 강한 독성을 보인 F12에서 2-methoxyphenol, benzoic acid, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone, 8-methyl-2,4(1H,3H)-pteridinedione과 2,5-furan-dicarboxylic dimethyl ester가 동정되었다. 따라서 목단피의 mouse 복수암에 대한 항암성은 주로 F12에서 동정된 5개의 화합물과 F11에서 동정된 2개의 화합물이 복합적으로 작용하기 때문인 것으로 생각된다. 그러나, 이들 각각의 화합물에 대한 정확한 항암효과에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않고 있어 이들의 항암효과에 대한 더 많은

연구가 진행되어야 할 것이다.

결론적으로 목단피의 mouse 복수암에 대한 항암성은 주목, 울금의 항암성보다 강하였다. 가장 우수한 항암성을 보인 목단피의 EtOAc fraction 처리양은 mouse body weight 당 30 μg으로 대조구보다 167%의 수명을 연장할 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 경상대학교 식물분자생물 우수연구소의 연구지원비에 의해 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Doll, R. and R. Peto (1981) The causes of cancer quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.* **66**, 1192-1305.
- Ryu, B. H (1991) Eating Habits Preventing against cancer. *Kor. J. Food Nutri.* **4**, 213-228.
- Calabresi, P. and B. A. Chabner (1990) Chemotherapy of neoplastic diseases. In *The pharmacological basis of therapeutics*, A. G. Gilman, T. W. Rall, A. S. Nies and P. Taylor, eds. Pergamon press, Inc., New York. p1202-1264.
- Jin, P. K (1986) Immunology and immunotherapy of cancer. *Kor. J. Immunol.* **8**, 73-83.
- Chi, H. J. and S. Y. Lee (1981) Phytochemical screening of korean medicinal plants (III). *Kor. J. Pharmacogn.* **12**, 15-18.
- Park, Y. S. and J. W. Kim (1992) Screening and isolation of the antitumor agents from medicinal plants (I). *Kor. J. Pharmacogn.* **23**, 264-267.
- Jurry, M. C (1990) Natural products as a source of potential

- cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *J. Nat. Prod.* **53**, 23-41.
8. Alley, M. C. and D. A. Scudiero (1988) Screening for natural plants. *Cancer Res.* **48**, 5891-5897.
 9. Lee, J. H., K. S. Kang and B. Z. Ahn (1989) Antineoplastic natural products and the analogues (XI), cytotoxic activity against L1210 cell of some raw drugs from the oriental medicine and folklore. *Kor. J. Pharmacogn.* **17**, 286-291.
 10. Lee, I. R. J. Y. Song and Y. S. Lee (1992) Cytotoxicity of folklore medicine in murine and human cells. *Kor. J. Pharmacogn.* **23**, 132-136.
 11. Nam, S. H. (1995) Antitumor and antibacterial activities of extracts from Chrysanthemum boreale M. and Chrysanthemum indicum L. and structural clarification of the effective substances. *Ph. D. dissertation*, Gyeongsang National University, p1-116.
 12. Hyun, J. W., K. H. Lim et al. (1994) Antineoplastic effect of extracts from traditional medicinal plants and varoious plants (II). *Kor. J. Pharmacogn.* **25**, 382-387.
 13. Nakanishi, K. (1956) Ingredients of Moutan radix. *Yakugaku Zasshi*. **76**, 917-920.
 14. Shibata, S. (1963) Isolation of substances from Moutan radix. *Chem. Pharm. Bull.* **11**, 379-375.
 15. Harada, M. (1950) Antimicrobial and antiinflammatory effects of paeonol. *Yakugaku Zasshi*. **92**, 750-755.
 16. Kubo, M. (1984) Reduction of histamine release by Benzoyloxy-paeoniflorine, paeoniflorigenone. *Shoyakugaku Zasshi* **38**, 276-285.
 17. Park, U. Y., D. S. Chang and H. R. Cho (1992) Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**, 91-96.
 18. Boo, Y. C. and C. O. Jeon (1993) Antioxidant of Theae folium and Moutan cortex. *J. Korean Agri. Chem. Soc.* **36**, 326-331.
 19. National Cancer Institute (USA) (1972) Cell culture screening protocol 1600. *Cancer Chemother. Rep. (part 3)* p3-17.
 20. Byung, Z. A. and H. L. Jeong (1989) Cytotoxic and cytotoxicity-potentiating effects of the curcuma root on L1210 cell. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**, 223-226.
 21. Ryoko, G., T. Kenji, S. Noriko and T. Masashi (1992) Characterization of a neutral polysaccharide having activity on the reticuloen dotelial system from the rhizome of curcuma longa. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 185-188.
 22. Vidensek, N., P. Lim, A. Campbell and C. Carlson (1990). Taxol content in bark, wood, rool, leaf, twig, and seeding from several *Taxus* species. *J. Nat. Prod.* **53**, 1609-1610.
 23. Nicolaou, K. C., C. Riemer, M. A. Kerr, D. Rideout and W. Wrasidio (1993) Design, shnthesis, and biological activity of protaxols. *Nature* **364**, 464-466

Potent Anticarcinogenic Action of *Moutan radix* for Mouse Ascites Cancer Induced by Mouse Sarcoma 180 Cells

Kyeong N. Bahn¹, Eun J. Lee¹, Min S. Yang¹, Jeong O. Kim² and Yeong L. Ha^{1*} (*Department of Agricultural Chemistry, Gyeongsang Institute of Cancer Research, and Plant Molecular Biology and Biotechnology Research Center, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea; ²Department of Chemistry, Pusan Women's University, Pusan 606-731, Korea*)

Abstract : Anticarcinogenic activity of *Moutan radix* for mouse ascites cancer induced by mouse Sarcoma 180 (S-180) cells was investigated. Methanol extract of *Moutan radix* including other folk medicinal plants (*Taxus cuspidata*, *Curcuma longa*, *Artemisia capillaris*, *Ligrstri fructus*, and *Liriope platyphylla*) used to remedy or cure many chronic human diseases like cancer was fractionated into hexane, chloroform (CHCl₃), ethylacetate (EtOAc), and butanol (BuOH) fractions. Anticarcinogenic activity of the fractions, exhibited a strong cytotoxicity for L1210 and S-180 cells, was examined for mouse ascites cancer induced by S-180 cells. Male ICR mice (7 mice/treatment, 5~6 weeks of age, 23± 1 g) were injected i.p. with S-180 cells (1×10⁷ cell/1 ml PBS). One day later, each mouse was given 0.1 ml of 10% DMSO containing sample (30 µg/g body weight) every day for 10 consecutive days. Control mice were only given 0.1 ml S-180 cells and 0.1 ml 10% DMSO. Mice treated with EtOAc fraction of *Moutan radix* showed 28.7 days of life, which is 167% of control mice's life. Based on the dose-dependant experiment, mice treated with 30 µg showed longer life relative to mice treated with other doses (5, 15, 60 µg), and mice treated with 60 µg exhibited toxic symptoms. Body weight of mice treated with *Moutan radix* was significantly reduced relative to that of control mice (p<0.05). GC-MS analysis in conjunction with silica-gel column chromatography revealed that the EtOAc fraction contained 2-methoxyphenol, benzoic acid, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone, 8-methyl-2,4(1H,3H)pteridinedione and 2,5-furan-dicarboxylic dimethyl ester as regards to the anticarcinogenic property of the EtOAc fraction. These results suggest that *Moutan radix* might be included as an anticarcinogenic medicinal plant for treatment of ascites cancer.

*Corresponding author