

항암활성 수종생약의 B16-Fo와 A549 암세포에 대한 항전이 효과(I)

김 성 훈*, 유 시 용**

ABSTRACT

Antimetastatic effect of several crude drugs with antitumor activity
on B16-Fo and A549 cells (I)

Sung Hoon Kim, Shi Yong Ryu*

Oriental Medical College, Taejon University, Taejon 300-716, Korea

* Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-606, Korea

For the development of antimetastatic agent 41 kinds of crude drugs were used for the evaluation of inhibitory effect of several crude drugs on cell adhesion of pulmonary cancer cells and platelet aggregation. Results were obtained as follows:

1. Water extracts of crude drugs inhibited cell adhesion of A549 to complex extracellular

* 대전대학교 한의과대학

** 한국화학연구소

이 논문은 1993년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

* 본 논문은 1996년 3월 10일 대한한의학회에 제출된 논문임.

matrix over 40 % of control were Houttuyniae Herba, Mylabris, Rhei Radix et Rhizoma, Meliae Cortex, Ferula Resina, Oldenlandiae diffusae Herba at the higher concentration of 10^{-3} g/ml while those inhibiting cell adhesion of B16-Fo over 40 % of control were 10^{-5} g/ml of Houttuyniae Herba, Aurantii Fructus, Lithospermi Radix, Zedoariae Rhizoma, Prunellae Spica, Foeniculi Fructus, Rhei Radix, Scutellariae Radix, Meliae Cortex, Ferula Resina and Oldenlandiae diffusae Herba.

2. MeOH extracts of crude drugs at the concentration of 4×10^{-4} g/ml inhibiting cell adhesion of A549 specifically to single extracellular matrix over 40 % of control were Lithospermi Radix, Agrimoniae Herba, Rhei Radix and Ferula Resina to collagen I, Houttuyniae Herba, Lithospermi Radix, Bupleuri Radix, Salviae miltiorrhizae Radix, Orostachys Herba, Sappan Lignum, Meliae Cortex, Ferula Resina and Coicis Semen to collagen IV, Mylabris, Agrimoniae Herba to laminin, Houttuyniae Herba and Meliae Cortex to fibronectin.
3. MeOH extracts of crude drugs at the concentration of 4×10^{-4} g/ml inhibiting cell adhesion of B16-Fo specifically to single extracellular matrix over 60 % of control were Lithospermi Radix, Salviae miltiorrhizae Radix, Meliae Cortex and Ferula Resina to collagen I, Lithospermi Radix, Bupleuri Radix, Salviae miltiorrhizae Radix, Ferula Resina and Acanthopanax Cortex to collagen IV, Bupleuri Radix, Orostachys Herba to laminin, Houttuyniae Herba to fibronectin.
4. MeOH extracts of crude drugs inhibiting platelet aggregation over 40% of ADP control were at the concentration of $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ of Houttuyniae Herba, Angilicae gigantis Radix, Zedoariae Rhizoma, Coicis Semen and $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ of Ferula Resina, Orostachys Herba, Salviae miltiorrhizae Radix, Curcumae Radix, Carthami Flos, Lithospermi Radix, Gleditsiae Spina, Sappan Lignum, Acanthopanax Cortex.

These results suggest that several crude drugs including Ferula Resina, Houttuyniae Herba, Lithospermi Radix and Salviae miltiorrhizae Radix chiefly have more possibility to exert antimetastatic activity and require in vivo antimetastatic study.

I. 緒 論

암이 현대 사회의 불치병으로 대두된 이래 동서 의학에서 이의 퇴치를 위해 끊임없는 노력을 하여 항암제의 개발에 있어 상당한 진전이 있었다. 항암제의 개발의 방법은 세포분화/증식억제 작용, 세포살해기전연구(apoptosis), 암세포의 신호전달연구, 분자생물학적연구 및 종양면역연구 등을 통한 스크리닝이 위주였다. 우리나라에서도 주로 S-180, P-388 및 L1210 등의 암세포에 대한 세포 독성 실험이 진행되었지만 새로운 항암제의 개발에는 어려움이 적지 않다.¹⁻⁷⁾ 이에 최근에는 암세포를 직접 살해하는 방법외에도 이 암세포의 전이를 예방함으로써 결국 암을 예방 또는 치료하려는 연구가 진행되고 있다.

전이는 암세포가 이차적으로 다른 부위에 전변되어 암의 증상을 악화시킴으로써 결국 사망에 이르게 하였다라는 점에서 암의 병리 기전상 중요하게 인식되고 있다. 전이의 병리 기전은 다음의 세단계로 설명되고 있다. 첫째, 암세포가 세포외 기질에 부착하였다. 이때에는 laminin이나 fibronectin 등의 특이 glyco-protein과 암세포 plasma membrane 부착 인자가 작용하였다. 둘째, 암세포와 관련된 단백질효소에 의해 기질의 국소적인 퇴화가 일어난다. 이 효소는 기질의 부착단백과 구조적 교원질성 단백을 퇴화시키고 단백질 분해가 암세포 표면에서 일어나는데 이곳에서는 다량의 활동성 효소가 기질내에 있는 자연적 단백질 효소저해제를 능가하게

된다. 셋째, 단백질용해에 의해 변형된 기질내로 암세포가 이주하는데 이때에는 화학주성인자에 의하여 이루어진다.⁸⁻⁹⁾ 이에 전이 과정을 첫번째 단계에서 차단함으로써 전이를 막으려는 연구로 Vollmers 등¹⁰⁾은 7종의 항체가 in vitro에서 B16 melanoma cell의 부착저지효과가 있고 in vivo에서도 흑색종의 폐암전이를 막는다고 보고하였으며, Ikuo Saiki 등¹¹⁾도 악성흑색종의 전이는 Arg-Gly-Asp의 순서로 된 polymeric peptides의 항전이 및 항부착저지효과가 같은 배열의 단백질에 의해 증대됨을 보고하였으며, Lin Yan 등¹²⁾은 selenite가 Hela cell의 부착을 농도에 따라 저해하는 것으로 보고한 바가 있다.

최근들어 platelet과 metastasis와는 밀접한 상관성이 있는 것으로 알려졌는데 Yong 등¹³⁾은 암세포가 혈소판의 응집을 촉진하는 반응(Tumor Cell Induced Platelet Aggregation; TCIPA)의 기전에 대해 혈소판이 맥관계의 암세포의 안정화를 돕고, 암세포의 증식을 촉진하며, 세포외기질과의 상호 작용을 통해 암세포의 전이를 촉진하였다고 보고하였다. Tanaka 등¹⁴⁾은 혈소판응고저해제인 Ticlopidine {5-(2-chlorobenzyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno(3,2-c) pyridine hydrochloride}이 AH130암세포(1×10^7 in 0.2 ml HBSS)가 미정맥 주사된 Donryu rats과 Lewis lung carcinoma와 B16 melanoma 등의 암세포(1×10^7 in 0.1 ml HBSS)가 미정맥 주사된 C57BL/6 mice에 대해 폐암세포 전이수와 혈소판 응집반응을 억제함으로써 전이를 예방하였다고 주장하

였고, George등¹⁵⁾도 항응고제와 섬유소용해인자가 전이를 억제할 수 있다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 항전이 약물을 개발하기 위한 일환으로 한의학에서 암치료에 자주 이용되고 있는 41종의 생약의 물추출액과 MeOH 추출액을 이용하여 *in vitro*에서 B16-Fo와 A549 암세포 등의 폐암주에 대한 세포부착 저지효과를 복합세포외기질과 단미세포외기질(collagen I, collagen IV, laminin, fibronectin)에 대한 부착억제작용으로 평가하고, 혈소판응집 촉진제중의 하나인 ADP(Adenosine diphosphate)에 대한 혈소판응집 억제작용을 억제 저지율로 환산하여 검토하였던 바 유의한 결과가 있어 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 시약 및 약물

실험에 사용된 시약은 RPMI1640(sigma), fetal bovine serum(FBS, sigma), dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A, sigma), trypsin-EDTA(sigma), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide(MTT, sigma) ethanol(Merck, Germany), penicillin-streptomycin(sigma) sodium bicarbonate(GIBCO), trypan blue(sigma), phenol red(sigma), sodium azide (sigma),

isopropanol(sigma), HCl(Merck,germany), acetic acid(Glicial), sodium hydroxide(sigma), collagen I(sigma), collagen IV(sigma), laminin(sigma), fibronectin(sigma), ADP(sigma)등을 구입하였고 기타 일반 시약은 모두 특급 및 일급 시약을 사용하였다. 본 연구에 사용된 41종 생약은 백출(Atractylodis macrocephalae Rhizoma), 어성초(Houttuyniae Herba), 지각(Aurantii Fructus), 감초(Glycyrrhizae Radix), 권백(Selaginelliae Folium), 인삼(Ginseng Radix), 자초(Lithospermi Radix), 반묘(Mylibris), 시호(Bupleuri Radix), 아출(Zedoariae Rhizoma), 하고초(Prunellae Spica), 선학초(Agrimoniae Herba), 우방자(Arctii Fructus, 소회향(Foeniculi Fructus), 창이자(Xanthii Fructus), 단삼(Salviae miltiorrhizae Radix), 와송(Orostachys Herba), 포공영(Taraxaci Herba), 운지(Ganoderma), 대게(Cirsii japonici Herba), 소목(Sappan Lignum), 삼칠근(Notoginseng Radix), 당귀(Angilicae gigantis Radix), 진피(Citri Pericarpium), 대황(Rhei Radix et Rhizoma), 홍화(Carthami Flos), 황금(Scutellariae Radix), 황련(Coptidis Rhizoma), 보골지(Psoraleae Fructus), 고련피(Meliae Cortex), 고삼(Sophorae Radix), 조각자(Glrditsiae Spina), 아위(Ferula Resina), 저령(Polyporus), 울금(Curcumae Radix), 의이인(Coicis Semen), 피화(Sophorae Flos), 오가피(Acanthopanax Cortex), 수질(Hirudo), 오공(Scolopendra), 백화사설초(Oldenlandiae diffusae Herba) 등으로 한의원에 구

입하여 정선 한 후 실험에 사용하였다.

2) 사용기기

본 연구에 사용한 기기는 CO₂ incubator (Vision); clean bench(Vision), centrifuge (Beckman), inverted microscope(Nikon), bright microscope(Nikon), ELISA-reader(Emax), rotary vacuum evaporator(Büchi461), autoclave (Hirayama), micropipet(Gilson), vortex mixer(thermolyne) 및 aggregometer (Chrono-Log), freeze dryer(Eyela), culture flask (falcon3024), multi-well plate(96-well, falcon), conical tube, disposable pipet(5ml, 10ml, 25ml, falcon) 및 syringe filter(0.25um, falcon)등을 사용하였다.

2. 方法

1) 검액의 조제

상기의 생약 41종의 물추출액을 얻기 위해 전탕기로 3시간 정도 가열한 다음 여과한 후, 모액을 rotary vacuum evaporator로 농축한 후 freeze dryer로 동결 건조하였고 메탄올 추출액을 얻기 위하여 생약을 분말로 하여 99.5% MeOH 용액에 상온에서 3시간 담그고 여과하는 과정을 3회 반복하고 모액을 rotary vacuum evaporator로 농축한 후 freeze dryer로 동결 건조하여 실험시에는 RPMI1640 free medium에 용해시켜 syringe filter (0.25um, falcon)를 사용

여과(filtrate)하여 사용하였다.

2) 폐암주의 세포배양 조건

폐암주는 mouse melanoma인 B16-F₀(ATCC No.CRL 6322)과 사람의 폐암주인 A549(human Lung Canaer, ATCC CRA7909)를 실험에 사용하였다. 배양액은 RPMI1640-HEPES medium (sigma), 10% fetal bovine serum (GIBCO), penicillin streptomycin(100units/ml, 100µg/ml) 및 L-glutamine(sigma)에서 계대 배양하였다. 암주가 75cm² culture flask에 monolayer상태로 70-80%를 차지하고 있을때 실험을 실시하였다. 준비된 flask는 배양세포 표면을 dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A, sigma)용액으로 씻어준 후 trypsin-EDTA용액으로 single cell이 되도록 떼어내고 실험에 사용하였다.

3) 세포부착 저지작용 측정

(1) 수중생약 물추출액의 복합 세포외기질 (Extracellular matrix)에 대한 세포부착 저지작용 측정

A549, B16-F₀ 세포는 cell culture flask에 monolayer로 자라도록 세포 농도를 조절하면서 키운다. 동결 건조된 물추출물을 DMSO에 녹이고 배지로 10배 희석한 후 최종농도가 10⁻³ g/ml, 10⁻⁴ g/ml, 10⁻⁵ g/ml 및 10⁻⁶ g/ml 등이 되게 조정한 후 실험에 사용하였다. 암세포 현탁액은 1 × 10⁵ cells/ml가 되게 조제하여 24 well plate 의 각 well에 1 ml씩 가하였다. 다양한 농도의 생약 추출물을 가하고 5% CO₂, 37℃

에서 배양하였다. 약 20시간이 경과된 후 well plate를 흔들어준 다음 현탁액은 자동 피펫으로 분리하여 다른 시험관에 넣고 여기에 0.25% trypan blue 용액을 가하여 세포를 염색한 후 세포수를 계산하였다. 한편 상층액을 제거한 각 well 에는 0.5% trypsin 용액 300 μ l 씩을 가하고 약 1시간 incubation 시켜 기질에 부착된 세포를 현탁시킨 후 0.25% trypan blue 용액으로 염색하여 세포수를 계산하였다. 시료 첨가시의 부착 세포/비부착세포의 비율의 변화를 계산하여 부착 저지 비율을 산출하였다.

24 well plate

- cell suspension 1ml(10^5 cells/ml)
- samples 20ul(in 10%EtOH soln)
- incubation for 20 hrs
- 상층액 --- trypan blue로 염색
- cell count
- trypsin 300ul
- incubation for 10 min
- trypan blue로 염색
- cell count

EDTA용액을 적당량을 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 1-2분 정도 방치 한후 세포가 떨어지기 시작하면 용액을 가만히 버리고 RPMI-1640배지를 넣고 1×10^5 cells /ml가 되도록 조정하였다. 세포부착 단백질의 coating은 Lin 등의 방법을 변형하여 fibronectin과 laminin은 0.25-0.75 μ g protein/ cm^2 의 농도로 PBS에 bacteriological petri dish (Falcon, U.S.A)에 용해하고 실온에서 1시간 배양하고, collagen I과 collagen IV(Sigma Chem., U.S.A)는 0.25-0.75 μ g protein/ cm^2 를 0.25 % acetic acid에 녹여 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 배양하고 coating시키고 세포부착 저지실험에 사용하였다.

A549, B16-Fo 암주를 coated dish에 1ml 씩 넣고, 2×10^4 g/ml, 4×10^4 g/ml의 농도로 조정된 메탄올 추출액을 첨가 한 후 2시간 동안 incubation 시키고 다시 상층액을 제거한 후 PBS로 2회 세척하여 부착되지 않는 cell을 제거하였다. 이후 trypsin을 처리 10분간 incubation 시킨 후 falcon tube에 scrape한 후 RPMI 1640 배지를 2ml를 가하여 1800 r.p.m으로 5분 동안 원심 분리하여 hemocytometer를 사용하여 cell 수를 계산하였다.

(2) 수종 생약 메탄올 추출액의 단미 세포외기질 (Extracellular matrix ; laminin, fibronetin, collagen I, collagen IV)에 대한 세포부착 저지작용 측정

A549와 B16-Fo 세포는 cell culture flask에 monolayer로 자라도록 세포 농도를 조절하면서 키운다. 실험 바로 전에 세포에 37 $^{\circ}$ C의 trypsin-

4) 수종 생약 물추출액의 ADP에 대한 혈소판 응집 저지작용 측정

흰쥐의 혈액을 심장에서 채취하여 3.8% Na-citrate가 들어 있는 test에 혈액을 1:9의 비율로 넣고 약하게 아래 위로 흔들어 혈액 응고를 방지하였다. 이 혈액을 약 100g에서 15분간 원심 분리하여 상등액으로부터 PRP를 얻은 후 잔액

을 다시 약 1800g에서 10분간 원심 분리하여 상등액으로부터 PPP를 얻었다. PRP의 optical density는 일정하게 약 0.5가 되도록 PPP로 희석하였다. PRP를 담기 위한 test tube와 pipette은 plastic재질을 사용하였으며 PRP는 실험기간 동안 마개를하여 공기노출에 의한 pH변화를 막고자 하였다.

항혈소판 응집 효과는 aggregometer를 사용하여 Born에 의한 turbidimetric method로 측정하였다. PRP 200 μ l를 7.25 \times 50mm silicon-treated glass tube에 취하고 micro-magnetic bar를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C에서 1-2분간 방치하였다. 대조군으로 saline을 이용하였으며 처치군은 5 μ M ADP 25 μ l를 넣어 혈소판응집을 유발시키고 50 μ g/ml과 100 μ g/ml 농도의 물추출액을 가한 후 혈소판 응집을 측정후 억제 효과를 계산하였다.

$$\text{Inhibitory rate of cell adhesion} = \frac{A - B}{A} \times 100(\%)$$

A : Attached cell number

B : Detached cell number

III. 實 驗 成 績

1. 수중 생약 물추출액이 A549, B16 -Fo의 복합세포외기질에 대한 세포부착저지 효과

A549에 대하여 어성초, 반묘, 대황, 고련피, 아위등이 10⁻³g/ml 이상의 농도에서 부착세포수/비부착세포수가 각각 54.4/45.6, 56.9/43.1, 59.5/40.5, 58.4/41.6로, B16-Fo에 대해서는 어성초, 지각, 자초, 아출, 하고초, 소회향, 대황, 황금, 고련피, 아위, 백화사설초등이 10⁻³g/ml 이상의 농도에서 51.5/48.51, 54.4/45.6, 55.5 /44.5, 50.7/49.3, 54.1/45.9, 59.1/40.9, 52.7/47.8, 54.7/45.3, 55.4/44.6 53.5/46.5, 59.1/40.9로 대조군의 비해 40%이상 억제 효과를 나타냈다(Table 1,2).

2. 수중 생약 메탄을 추출액이 A549의 단미세포외 기질인 Collagen I에 대한 세포부착저지 효과

자초, 선학초, 대황, 아위등이 4 \times 10⁻⁴g/ml 농도에서 각각 67.5%, 61.2%, 72.8%, 74.8%로 나타나 대조군에 비하여 60%이상의 억제율을 나타냈으며, 자초 선학초 단삼 아위의 2 \times 10⁻⁴g/ml 농도에서, 어성초 지각 반묘 시호 하고초 단삼 와송 포공영 소목 황금 고련피의 4 \times 10⁻⁴g/ml 농도에서 대조군에 비해 40-60%의 억제율을 나타냈다(Table 3).

3. 수중 생약 메탄을 추출액이 A549의 단미세포외 기질인 Collagen IV에 대한 세포부착저지 효과

어성초, 자초, 시호, 단삼, 와송, 소목, 고련피,

아귀, 의이인등이 4×10^{-4} g/ml 농도에서 각각 69.5%, 63.8%, 62.8%, 67.8%, 60.9%, 61.8%, 67.9%, 80.9%, 71%로 대조군에 비하여 60%이상의 억제율을 나타냈으며 자초 시호 단삼 고련피 아귀의 2×10^{-4} g/ml 농도에서, 포공영, 홍화, 황련, 조각자의 4×10^{-4} g/ml 농도에서 대조군에 비하여 40-60%의 억제율을 나타냈다(Table 3).

4. 수증 생약 메탄올 추출액이 A549의 단미 세포외 기질인 laminin, fibronectin에 대한 세포부착 저지효과

반묘 선학초가 4×10^{-4} g/ml 농도에서 단미 세포외 기질인 laminin에 대하여 각각 67.4%, 60.8%로, 단미 세포외 기질인 fibronectin에서는 어성초 고련피등이 4×10^{-4} g/ml 농도에서 73.1%, 68.4%로 대조군에 비해 60% 이상의 억제율을 나타냈다(Table 4).

5. 수증 생약 메탄올 추출액이 B16- Fo의 단미 세포외 기질인 Collagen I에 대한 세포부착 저지효과

자초, 단삼, 고련피, 아귀, 백화사설초등이 4×10^{-4} g/ml 농도에서 각각 70.8%, 63.9%, 70.3%, 60.4%로 나타나 대조군에 비하여 60% 이상의 억제율을 나타냈으며, 단삼, 오가피의 2×10^{-4} g/ml 농도에서 대조군에 비해 41-60%의 억제율을 나타냈다(Table 5).

6. 수증 생약 메탄올 추출액이 B16- Fo의

단미 세포외 기질인 Collagen IV에 대한 세포부착 저지효과

자초, 시호, 단삼, 아귀, 오가피등이 4×10^{-4} g/ml 농도에서 각각 67.5, 69.7, 67.6, 62.5, 61.1%로 대조군에 비하여 60% 이상의 억제율을 나타냈으며 소목이 2×10^{-4} g/ml 농도에서 41-60%에서 대조군에 비하여 40-60%의 억제율을 나타냈다(Table 5).

7. 수증 생약 메탄올 추출액이 B16- Fo의 단미 세포외 기질인 laminin, fibronectin에 대한 세포부착 저지효과

시호, 와송이 4×10^{-4} g/ml 농도에서 단미 세포외 기질인 단미 세포외 기질인 laminin에 대하여 각각 60.7%, 68.9%로, 단미 세포외 기질인 fibronectin에서는 어성초만이 4×10^{-4} g/ml 농도에서 74.4%로 대조군에 비하여 60% 이상의 억제율을 나타내었다(Table 6).

8. ADP를 이용한 수증 생약의 메탄올 추출액의 혈소판 응집 억제 효과

$50 \mu\text{l/ml}$ 농도에서 어성초, 당귀, 아출, 의이인이 각각 43.7%, 41.5%, 40.5%, 42.3%로, $100 \mu\text{l/ml}$ 농도에서는 아귀, 와송, 단삼, 울금, 홍화, 자초, 조각자, 소목, 오가피가 각각 54.9%, 48.9%, 46.1%, 41.2%, 43.3%, 40.6%, 41.2%, 53.2% 45.1%로 나타나 대조군에 비하여 40%이상 혈소판 응집 작용을 억제하였다(Table 7).

Table 1. Inhibitory Effect of Water Extract of Several Crude Drugs on Cell Adhesion of A549 to Complex Extracellular Matrix.

한약명	10 ⁻³ g/ml	10 ⁻⁴ g/ml	10 ⁻⁵ g/ml	10 ⁻⁶ g/ml
	(attached cells/detached cells)			
백출	82.8/17.2	91.7/08.3	90.2/09.8	94.6/05.4
어성초	54.4/45.6	72.2/27.8	89.2/10.8	95.3/04.7
지각	73.5/26.5	79.4/20.6	91.2/08.8	102.4/
감초	80.5/19.5	89.2/10.8	93.1/06.9	96.3/03.7
권백	79.3/20.7	87.2/12.8	90.4/09.6	96.1/03.9
인삼	83.4/16.6	85.7/14.3	86.1/13.9	89.6/10.4
자초	60.5/39.5	69.9/30.1	79.5/20.5	88.8/11.2
반묘	56.9/43.1	89.2/10.8	90.6/09.4	98.9/01.1
시호	71.3/28.7	73.8/26.2	81.2/18.8	89.7/10.3
아출	60.1/39.9	78.7/21.3	71.9/28.1	77.4/22.6
하고초	69.0/31.0	73.5/26.5	84.8/15.2	85.8/14.2
선학초	70.8/29.2	79.7/20.3	84.3/15.7	89.7/10.3
우방자	78.4/21.6	86.6/13.4	89.8/10.2	90.8/09.2
소회향	80.9/19.1	81.7/18.3	83.7/16.3	101.3/
창이자	76.8/23.2	79.2/20.8	89.4/10.6	90.8/09.2
단삼	67.2/32.8	69.6/30.4	80.7/19.3	89.1/10.9
와송	70.8/29.2	75.3/24.7	80.8/19.2	87.6/12.4
포공영	70.7/29.3	76.6/23.4	90.7/09.3	109.7/
운지	80.6/19.4	87.7/12.3	90.1/09.9	92.5/07.5
대계	75.1/24.9	81.2/18.2	85.3/14.7	90.5/09.5
소목	76.5/23.5	85.5/14.5	80.8/19.2	88.5/11.5
삼칠근	79.1/20.9	83.3/16.9	90.9/09.1	95.4/04.6
당귀	86.5/13.5	88.5/11.5	95.7/04.3	99.1/00.9
진피	84.2/15.8	88.3/11.7	90.8/09.2	97.5/02.5
대황	50.9/49.1	78.1/21.9	87.2/12.8	98.8/01.2
홍화	76.4/23.6	80.6/19.4	89.6/10.4	95.3/04.7

황금	75.4/24.6	79.5/20.5	85.0/15.0	85.5/14.5
황련	80.5/19.5	87.6/12.4	90.4/09.6	96.6/03.4
보골지	69.4/30.6	76.4/25.6	87.6/12.4	103.1/
고련피	59.5/40.5	64.6/35.4	67.3/32.7	76.3/23.7
고삼	80.5/19.5	86.4/13.6	88.9/11.1	97.2/02.8
조각자	76.5/23.5	80.7/19.3	85.2/14.8	90.5/09.5
아위	58.4/41.6	69.1/30.9	80.6/19.4	87.3/12.7
저령	82.4/17.6	88.7/11.3	90.8/09.2	102.1/
울금	70.4/29.6	75.9/24.1	82.8/17.2	100.3/
의이인	61.3/38.7	70.2/29.8	76.7/23.3	86.8/13.2
괴화	78.2/21.8	80.4/29.6	91.2/08.8	95.4/04.6
오가피	79.3/20.7	85.5/14.5	88.6/11.4	93.4/06.6
수질	83.1/16.9	87.5/12.5	97.4/02.6	100.8/
오공	80.7/19.3	86.7/13.3	90.8/09.2	98.1/01.9
백화사설초	58.9/41.1	67.2/32.8	70.8/29.2	89.9/10.1

Table 2. Inhibitory Effect of Water Extract of Several Crude Drugs on Cell Adhesion of B16-Fo to Complex Extracellular Matrix.

한약명	10 ⁻³ g/ml	10 ⁻⁴ g/ml	10 ⁻⁵ g/ml	10 ⁻⁶ g/ml
	(attached cells/detached cells)			
백출	77.7/22.3	92.0/08.0	100.4/	99.9/00.1
어성초	51.5/48.5	51.7/48.3	58.8/41.2	71.1/28.9
지각	54.4/45.6	68.5/31.5	74.4/25.6	88.0/12.0
감초	84.2/15.8	89.5/10.5	94.3/05.7	97.9/02.1
권백	79.5/20.5	89.6/10.4	90.5/09.5	96.7/03.3
인삼	85.9/14.1	91.5/08.5	87.0/13.0	95.3/04.7
자초	55.5/44.5	68.1/31.9	75.8/24.2	75.5/24.5
반묘	61.1/38.9	70.9/29.1	83.4/16.6	96.3/3.7
시호	78.1/21.9	86.7/13.3	90.1/09.9	93.1/06.9

한약명	10 ⁻³ g/ml	10 ⁻⁴ g/ml	10 ⁻⁵ g/ml	10 ⁻⁶ g/ml
	(attached cells/detached cells)			
아 출	50.7/49.3	71.2/28.8	69.6/30.4	75.1/24.9
하고초	54.1/45.9	714./28.6	70.8/29.2	85.2/14.8
선학초	60.9/39.1	719./28.1	66.0/34.0	74.3/25.7
우방자	76.3/23.7	78.1/21.9	98.9/01.1	104/
소회향	59.1/40.9	84.1/15.9	82.4/17.6	89.8/10.2
창이자	87.0/13.0	86.1/13.9	94.8/05.2	97.8/02.2
단 삼	67.5/32.5	72.8/27.2	85.1/14.9	90.5/0.95
와 송	62.5/37.5	70.8/29.2	81.5/18.5	89.4/10.6
포공영	77.1/22.9	76.9/23.1	78.6/21.4	79.9/20.1
운 지	76.7/23.3	80.6/19.4	89.5/10.5	95.4/04.6
대 계	78.8/21.2	87.9/22.1	91.5/08.5	98.0/02.0
소 목	67.7/32.3	76.3/23.7	81.7/18.3	92.1/07.9
삼칠근	70.9/29.1	78.3/21.7	80.8/19.2	89.5/10.5
당 귀	82.5/17.5	84.5/15.5	85.9/14.1	85.2/14.8
진 피	70.2/29.8	69.3/30.7	79.8/20.2	85.4/14.6
대 황	52.2/47.8	71.2/28.8	95.0/05.0	102.7
홍 화	70.9/29.1	79.1/20.9	83.5/26.5	91.3/8.7
황 금	54.7/45.3	86.7/13.3	86.0/14.0	86.7/13.3
황 련	74.5/25.5	80.4/29.6	89.4/10.6	91.8/8.2
보골지	80.5/19.5	85.7/14.3	90.4/09.6	99.1/0.09
고련피	55.4/44.6	68.7/31.3	85.6/14.4	80.6/19.4
고 삼	72.9/27.1	83.9/16.1	93.0/07.0	89.0/11.0
조각자	69.8/30.2	78.3/21.7	87.7/12.3	96.5/3.5
아 위	53.5/46.5	65.4/34.6	70.6/29.4	89.3/10.7
저 령	76.8/23.2	89.2/10.8	91.7/8.3	101.5
울 금	68.3/31.7	82.7/17.3	80.4/19.6	83.9/16.1
의이인	70.7/29.3	78.9/21.1	85.6/14.4	95.5/0.45
피 화	78.3/21.7	89.4/10.6	96.5/03.5	97.7/2.3
오가피	72.4/27.4	81.5/18.5	89.7/10.3	93.2/6.8
수 질	78.5/21.5	86.8/13.2	93.5/6.5	95.4/4.6
오 공	77.3/22.7	81.6/18.4	89.7/10.3/	96.8/3.2
백화사 설초	59.1/40.9	71.5/28.5	85.1/14.9	90.1/9.9

Table 3. Inhibitory Effect of Methanol Extract on A549 Cells Adhesion to Single Extracellular matrix as Collagen I, Collagen IV.

한약명	농 도	Collagen I	Collagen IV
백 출 Atractylodis macrocephalae Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
어성초 Houttuyniae Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (69.5)
지 각 Aurantii Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
감 초 Glycyrrhizae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
권 백 Selaginelliae Folium	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
인 삼 Ginseng Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
자 초 Lithospermi Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (67.5)	+++ (63.8)
반 묘 Mylabris	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
시 호 Bupleuri Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+++ (62.8)
아 출 Zedoariae Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
하고초 Prunellae Spica	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
선학초 Agrimoniae Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (61.2)	+
우방자 Arctii Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
소회향 Foeniculi Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
창이자 Xanthii Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	++
단 삼 Salviae miltiorrhizae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (67.8)

한약명	농도	Collagen I	Collagen IV
와 송 Orostachys Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (60.9)
Taraxaci Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
운 지 Ganoderma	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
대 계 Cirsii japonici Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
소 목 Sappan Lignum	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (61.8)
삼칠근 Notoginseng Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
당 귀 Angilicae gigantis Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
진 피 Citri Pericarpium	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
대 황 Rhei Radix et Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (72.8)	+
홍 화 Carthami Flos	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
황 금 Scutellariae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
황련 Coptidis Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
보골지 Psoraleae Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
고련피 Meliae Cortex	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (67.9)
고삼 Sophorae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
조각자 Girdtsiaae Spina	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
아위 Ferula Resina	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (74.8)	+++ (80.9)

한약명	농도	Collagen I	Collagen IV
저령 Polyporus	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
울금 Curcumae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
의이인 Coicis Semen	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+++ (71)
피화 Sophorae Flos	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
오가피 Acanthopanax Cortex	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
수질 Hirudo	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
오공 Scolopendra	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
백화사설초 Oldenlandiae Diffusae	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++

Inhibition Rate(%) : + : 0-19%
 ++ : 20-59%
 +++ : 60-100%

Table 4. Inhibitory Effect of Methanol Extract on A549 Cells Adhesion to Single Extracellular Matrix as Laminin, Fibronectin.

한약명	농도	Laminin	Fibronectin
백출 Atractylodis macrocephalae Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
어성초 Houttuyniae Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (73.1)
지각 Aurantii Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
감초 Glycyrrhizae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+

-Sung Hoon Kim et al : Antimetastatic effect of several crude drugs with antitumor activity on B16-Fo and A549 cells (I)

한약명	농도	Laminin	Fibronectin
권 백 Selaginelliae Folium	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
인삼 Ginseng Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
자초 Lithospermi Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
반묘 Mylabris	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (67.4)	++
시호 Bupleuri Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
아출 Zedoariae Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
하고초 Prunellae Spica	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
선학초 Agrimoniae Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (60.8)	+
우방자 Arctii Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
소회향 Foeniculi Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
창이자 Xanthii Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
단삼 Salviae miltiorrhizae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
와송 Orostachys Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
포공영 Taraxaci Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
운지 Ganoderma	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
대계 Cirsii japonici Herba	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
소목 Sappan Lignum	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+

한약명	농도	Laminin	Fibronectin
삼칠근 Notoginseng Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
당귀 Anglicae gigantis Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
진피 Citri Pericarpium	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
대황 Rhei Radix et Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
홍화 Carthami Flos	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
황금 Scutellariae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
황련 Coptidis Rhizoma	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
보골지 Psoraleae Fructus	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
고련피 Meliae Cortex	2×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (68.4)
고삼 Sophorae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
조각자 Girdisiae Spina	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
아위 Ferula Resina	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
저령 Polyporus	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
울금 Curcumae Radix	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
위이인 Coicis Semen	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
과화 Sophorae Flos	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
오가피 Acanthopanax Cortex	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+

수 질 Hirudo	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
오 공 Scolopendra	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
백화사설초 Oldenlandiae Diffusae	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (60.4)	+

Inhibition Rate(%) +:0-19% ++:20-59% +++:60-100%

Table 5. Inhibitory Effect of Methanol Extract of B16-F0 Cells on Cell Adhesion to Single Extracellular Matrix as Collagen I, Collagen IV.

한약명	농 도	Collagen I	Collagen IV
백 출	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
어성초	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
지 각	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
감 초	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
권 백	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
인 삼	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
자 초	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (70.8)	+++ (67.5)
반 묘	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
시 호	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+++ (69.7)
아 출	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-

한약명	농 도	Collagen I	Collagen IV
하 고 초	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
선 학 초	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
우 방 자	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
소 회 향	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
창 이 자	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
단 삼	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (67.6)
와 송	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
포 공 영	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
운 지	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
대 계	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
소 목	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++
삼 칠 근	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
당 귀	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
진 피	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
대 황	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
홍 착	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+

한약명	농도	Collagen I	Collagen IV
황금	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
황련	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
보골지	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
고련피	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (63.9)	+
고삼	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
조각자	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
아위	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (70.3)	+++ (62.5)
저령	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
울금	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
의이인	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
피화	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
오가피	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+++ (61.1)
수질	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
오공	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
백화사설초	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++ (60.4)	+

Table 6. Inhibitory Effect of Methanol Extract of B16-Fo Cells on cell adhesion to Single Extracellular Matrix as Laminin, Fibronectin.

한약명	농도	Laminin	Fibronectin
백출	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
어성초	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+++ (74.5)
시각	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
감초	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
권백	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
인삼	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
자초	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
반묘	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
시호	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (60.7)	+
아출	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
하교초	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
선학초	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
우방자	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
소회향	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	+
창이자	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
단삼	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
와송	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+++ (68.9)	+
포공영	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
운지	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
대계	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+

소 목	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
삼칠근	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
당 귀	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
진 피	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
대 황	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
홍 화	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
황 금	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
황 련	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
보골지	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
고련피	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
고 삼	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
조각자	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
아 위	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
저 령	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
울 금	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
의이인	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
피 화	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
오가피	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	++	++
수 질	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	-
오 공	2×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
	4×10 ⁻⁴ g/ml	-	-
백화사 설초	2×10 ⁻⁴ g/ml	+	+
	4×10 ⁻⁴ g/ml	+	++

Inhibition Rate(%) + : 0-19% ++ : 20-59%
+++ : 60-100%

Table 7. Inhibitory Effect of Several Crude Drugs on Platelet Aggregation by ADP

한약명	농 도	Ohms/Inhibition %
백 출	50μg/ml	23.9 (33.5)
	100μg/ml	17.5 (38.4)
어성초	50μg/ml	16.1 (43.3)
	100μg/ml	16.0 (43.7)
지 각	50μg/ml	18.3 (35.6)
	100μg/ml	17.7 (37.7)
감 초	50μg/ml	28.3 (0.4)
	100μg/ml	23.8 (16.2)
권 백	50μg/ml	21.9 (22.9)
	100μg/ml	18.9 (33.5)
인 삼	50μg/ml	22.8 (23.1)
	100μg/ml	19.4 (31.4)
자 초	50μg/ml	18.9 (33.5)
	100μg/ml	16.8 (40.6)
반 묘	50μg/ml	19.2 (32.3)
	100μg/ml	16.9 (40.5)
시 호	50μg/ml	19.3 (32.0)
	100μg/ml	16.7 (41.2)
아 출	50μg/ml	16.9 (40.5)
	100μg/ml	15.5 (45.4)
하고초	50μg/ml	23.5 (17.1)
	100μg/ml	23.1 (18.7)
선학초	50μg/ml	17.5 (38.4)
	100μg/ml	16.4 (42.3)
우방자	50μg/ml	19.4 (31.7)
	100μg/ml	18.5 (34.2)
소회향	50μg/ml	19.4 (31.7)
	100μg/ml	15.5 (45.4)
창이자	50μg/ml	19.2 (32.3)
	100μg/ml	19.0 (33.1)
단 삼	50μg/ml	18.3 (35.6)
	100μg/ml	15.3 (46.1)
와 송	50μg/ml	18.9 (33.5)
	100μg/ml	13.9 (48.9)
포공영	50μg/ml	23.1 (18.7)
	100μg/ml	21.4 (24.6)

한약명	농도	Ohms/Inhibition %
소 목	50 μ g/ml	21.7 (23.6)
	100 μ g/ml	13.3 (53.2)
삼칠근	50 μ g/ml	23.1 (18.7)
	100 μ g/ml	20.1 (29.2)
당 귀	50 μ g/ml	16.6 (41.5)
	100 μ g/ml	13.9 (51.1)
진 피	50 μ g/ml	25.3 (10.9)
	100 μ g/ml	22.8 (19.7)
대 황	50 μ g/ml	17.8 (37.3)
	100 μ g/ml	13.9 (51.1)
홍 화	50 μ g/ml	21.7 (23.6)
	100 μ g/ml	16.1 (43.3)
황 금	50 μ g/ml	20.9 (29.7)
	100 μ g/ml	19.4 (31.4)
황 련	50 μ g/ml	23.1 (18.7)
	100 μ g/ml	20.1 (29.2)
보골지	50 μ g/ml	19.4 (31.7)
	100 μ g/ml	18.6 (34.5)
고련피	50 μ g/ml	20.0 (29.6)
	100 μ g/ml	19.4 (31.7)
고삼	50 μ g/ml	22.2 (21.8)
	100 μ g/ml	20.3 (28.5)
조각자	50 μ g/ml	18.9 (33.5)
	100 μ g/ml	16.7 (41.2)
아위	50 μ g/ml	20.0 (29.6)
	100 μ g/ml	12.8 (54.9)
저령	50 μ g/ml	23.8 (16.2)
	100 μ g/ml	17.5 (38.4)
울금	50 μ g/ml	17.7 (37.7)
	100 μ g/ml	16.7 (41.2)
의이인	50 μ g/ml	16.4 (42.3)
	100 μ g/ml	15.5 (45.4)
피화	50 μ g/ml	19.7 (30.6)
	100 μ g/ml	18.3 (35.6)
오가피	50 μ g/ml	17.8 (37.3)
	100 μ g/ml	15.6 (45.1)

Ⅲ. 考 察

전이는 암세포가 다른 부위로 이주하여 증식하는 과정으로 암의 치료뿐 아니라 악화를 예방하는 차원에서 지나칠 수 없는 중요한 부분이다. 전이의 발생 기전에 대해 Liotta 등¹⁶⁾은 암세포가 세포외기질을 침투하는 과정에서 일차적으로는 laminin과 fibronectin 등 세포부착에 관여하는 단백질이 증가하고 이어서 암세포와 관련된 protease에 의해 부착단백질과 collagen 단백질 변성시키고 단백질 용해가 발생하여 암세포가 침투하는 것으로 보고하고 있는데 암세포의 전이에는 암세포가 조직기저내피에 부착하게 관여하는 세포외기질 단백질의 역할이 매우 중요하다. 세포외기질 단백질은 일반적으로 collagen, noncollagenous glycoproteins와 proteoglycan 등으로 분류하는데, fibronectin은 약 235~270 kDa의 크기를 가진 단백질로 다양한 integrin receptors에 결합함으로써 여러 세포의 부착과 확산을 조장하며, laminin은 기저막단백질로서 merosin과 S-laminin등이 속하며 세포의 부착, 이주, 성장 및 분화에 관여하고, collagen은 14종 이상이 알려져 있는데 fibrillar collagen은 I, II, III, IV, XI collagen으로 밴드 모양의 fibrils을 형성하고, facit collagen은 IX, XII, XV collagen 등으로 fibril 형성에 관여하며, short chain collagen은 VIII, X collagen등으로 작은 체인을 가지고 있으며 basement membrane collagen은 IV collagen이 주로 기저세포막을 형성하고 있다.

이중에서도 collagen I 은 인대, 피부 및 뼈에 주로 존재하고, collagen II는 hyalin 연골에 있으며, collagen IV는 기저막세포막에 주로 존재하여 암세포 전이에 collagen IV가 중요한 역할을 한다¹⁷⁻¹⁹⁾. 최근들어 전이 예방 효과를 in vitro에서 측정하는 지표로 세포 부착 저지작용을 살펴본 연구가 다수 있다^{12,16,20)}.

수종 생약 물추출액이 사람의 폐암주인 A549의 복합 세포외기질에 대한 세포부착저지효과에서 대조군의 60% 이하까지, 세포부착 저지작용을 나타낸 약물은 어성초, 반묘, 대황, 고련피, 아귀 및 백화사설초 등의 10^{-3} g/ml의 고농도에서만 세포부착저지 효과를 나타냈다(Table 1)

수종 생약 물추출액이 생쥐의 흑색암주인 B16-Fo 암세포의 복합 세포외기질에 대한 세포부착저지효과에서 대조군의 60% 이하까지 세포부착 저지작용을 나타낸 약물은 10^{-5} g/ml이상 농도의 어성초에서 나타났고, 지각, 자초, 아출, 하고초, 소회향, 대황, 황금, 고련피, 아귀 및 백화사설초 등에서도 10^{-3} g/ml의 고농도에서 세포부착저지 효과를 발현하였다(Table 2)

수종 생약 메탄올 추출액의 A549 암세포의 단미세포외기질에 대한 세포부착 저지효과중 laminin에 대해 대조군의 40%이하까지 세포부착을 억제한 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 반묘와 선학초이었고, fibronetin에 대해 대조군의 40% 이하까지 세포부착저지 효과를 나타낸 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 어성초와 고련피이었으며, collagen I에 대해 대조군의 40%이하까지 세포

부착저지 효과를 나타낸 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 자초, 선학초, 대황 및 아귀로 나타났고, collagen IV에 대해 대조군의 40% 이하까지 세포부착 저지효과를 나타낸 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 어성초, 자초, 시호, 단삼, 와송, 소목, 고련피, 아귀 및 의이인 등이었다(Table 3,4).

수종 생약 메탄올 추출액의 B16-Fo 암세포의 단미세포외기질에 대한 세포부착저지효과중 laminin에 대해 대조군의 40%이하까지 세포부착을 억제한 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 시호와 와송이었고, fibronetin에 대해 대조군의 40%이하까지 세포부착저지 효과를 나타낸 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 어성초뿐이었으며, collagen I에 대해 대조군의 40%이하까지 세포부착저지 효과를 나타낸 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 자초, 단삼, 고련피 및 아귀로 나타났고, collagen IV에 대해 대조군의 40%이하까지 세포부착 저지효과를 나타낸 약물은 4×10^{-4} g/ml 농도의 자초, 시호, 단삼, 아귀 및 오가피 등이었다(Table 5,6).

전이의 발생기전에 관하여 Weiss²¹⁾는 fibrin이 암세포를 둘러싸서 암세포가 내피세포에 부착이 용이하게 한다고 하였고, Gastpar²²⁾는 혈소판이 암세포 색전물이 세포내피에 부착하는 것을 증대한다고 보고하였으며, Gasic 등²³⁾은 혈소판이 혈관투과성을 증가시키는 histamine과 serotonin 등을 분비한다고 하였고, Tanaka 등¹⁴⁾은 혈소판 응집저해제인 ticlopidine을 투여하면 B16-Fo 암주의 폐장전이를 대조군의 50%정도로 억제하였

으며, Gasic 등²⁴⁾은 혈관내의 혈소판수를 감소시키면 암세포의 전이능력이 감소된다고 주장하여 혈소판과 혈액응고가 암세포 전이에 중요한 역할을 한다고 주장하였다.

일반적으로 혈소판 응고촉진제는 collagen, thrombin 및 ADP등이 주로 사용되는데 본 연구에서는 수종 생약의 메탄을 추출액을 이용하여 ADP의 혈소판 응집력을 저해하는 비율을 산정하였다. ADP의 혈소판 응집력을 수종 생약 물추출액의 ADP에 대한 혈소판응집 저지율이 40%이상을 나타낸 약물은 50 μ g/ml 농도의 어성초, 아출, 당귀 및 의이인 등이었고, 100 μ g/ml 농도의 반묘, 시호, 선학초, 자초, 소회향, 단삼, 와송, 소목, 대황, 홍화, 조각자, 아위, 울금, 오가피 및 백화사설초 등으로 나타났으며 50%이상의 저지율을 나타낸 약물은 당귀, 대황, 아위, 소목 등으로 나타나 대체로 세포부착저지작용을 나타낸 다수의 약물이 역시 혈소판 응집저해작용을 나타냈다(Table 7).

이상의 결과를 종합하면 수종 생약의 물추출액보다는 메탄추출액이 상대적으로 세포부착 저지작용에서 유효한 효과를 보였으며, 암주중에서는 대체로 A549 암주가 B16-Fo암주보다 특이한 항전이 반응을 보였고, 대조군의 40% 이하까지 4종의 세포외기질에 대해 세포부착 저지 효과를 나타내면서 혈소판응집 저해작용을 동시에 나타내는 약물은 어성초, 자초, 단삼, 아위 등으로 앞으로 유효 물질을 이용한 in vivo 연구가 기대된다.

IV. 結 論

항전이제 개발을 위한 일환으로 41종의 생약을 이용 A549와 B16-Fo 폐암 세포주에 대한 부착 저지 효과와 혈소판 응집 반응을 살펴 보았던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 수종 생약 물추출액이 A549의 복합세포의 기질에 대한 세포부착 저지 효과에서는 어성초, 반묘, 대황, 고련피, 아위등이 10⁻³ g/ml 이상의 농도에서, B16-Fo에 대해서는 어성초, 지각, 백화사설초, 자초, 아출, 하고초, 소회향, 대황, 황금, 고련피, 아위 등이 10⁻³g/ml 이상의 농도에서 대조군에 비해 40%이상의 세포부착억제율을 나타냈다.
2. 수종 생약 메탄을 추출액이 A549의 단미 세포의 기질인 collagen I 에 대한 세포 부착 저지작용에서는 자초, 선학초, 대황, 아위등이 4 \times 10⁻⁴g/ml 이상 농도에서 대조군에 비해 60% 이상의 억제율을 나타냈다.
3. 수종 생약 메탄을 추출액이 A549의 단미 세포의 기질인 collagen IV에 대한 세포 부착 저지작용에서는 어성초, 자초, 시호, 단삼, 와송, 소목, 고련피, 아위, 의이인등이 4 \times 10⁻⁴g/ml 이상 농도에서 60% 이상의 억제율을 나타냈다.

4. 수중 생약 메탄올 추출액이 A549의 단미 세포의 기질인 laminin에 대한 세포 부착저지 작용에서는 반묘 선학초가, 단미 세포의 기질인 fibronectin에서는 어성초 고련피등이 4×10^{-4} g/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 60% 이상의 억제률을 나타냈다.
5. 수중 생약 메탄올 추출액이 B16-Fo의 단미 세포의 기질인 collagen I에 대한 세포 부착저지 작용에서는 자초, 단삼, 고련피 아위등이 4×10^{-4} g/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 60% 이상의 억제률을 나타냈다.
6. 수중 생약 메탄올 추출액이 B16-Fo의 단미 세포의 기질인 collagen IV에 대한 세포 부착저지 작용에서는 자초, 시호, 단삼, 아위등이 4×10^{-4} g/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 60% 이상의 억제률을 나타냈다.
7. 수중 생약 메탄올 추출액이 B16-Fo의 단미 세포의 기질인 laminin에 대한 B16-Fo에 대한 세포 부착저지작용에서는 시호, 와송이, 단미 세포의 기질인 fibronectin에서는 어성초가 4×10^{-4} g/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 60% 이상의 억제률을 나타내었다.
8. 수중 생약의 메탄올 추출액을 이용한 ADP의 실험에서 어성초, 당귀, 아출, 의이인의 $50 \mu\text{l/ml}$ 농도, 아위, 와송, 단삼, 울금, 홍화, 자초, 조각자, 소목, 오가피의 $100 \mu\text{l/ml}$ 농도

에서 40%이상 혈소판 응집 작용을 억제하였다.

이상의 결과로 보아 아위, 어성초, 자초, 단삼 등의 생약이 더욱 유효한 항전이 작용을 나타낸바, 향후 항전이 동물 실험과 유효 물질 분리가 필요하다고 사료된다.

参 考 文 献

1. L. David Tomei : Apoptosis, cold spring harbor press, 1991.
2. 이유희 등 : L1210 및 S180에 대한 하늘타리의 항암성, 약학논문집, 69-74, 1986.
3. Tang Defang, Hao Yohung, Lia Zuoya, Miss Shulin, Wei Hua, Wu Jian : Constituents of the essential oil from rhizome of atractylides macrocephala produced inpingjiang(Chiva) and their antitumor effects. Yao xue Tongbao., 19(9) : 555-558, 1984.
4. Sasaki S. : Antitumor agents from medical plants. Jpn. Kokai Tokyo Koho J. P., 58, 119, 820, 1983
5. Ahn, B.Z. and Kim, S. I. : Antineoplastic natural products and the analogues VI : Panaxydol, the cytotoxic principle of the Panax ginseng root against L1210 cells.

- Arch. Pharm. Res. 8, 283, 1985.
6. Ahn, B. Z. and Lee, J. H. : Cytotoxic and cytotoxicity-potentiating effects of the Curcuma Root k1 jon L1210 cell. Kor. J. Pharmacogn, 20, 223, 1989.
 7. Sato, A.: Studies on antitumor activity of crude drugs I : The effects of aqueous extracts of some crude drugs in short term screening test. (1). Yakugaku Zasshi pp.109, 409, 1988.
 8. Hellmann et al. : Metastasis, MATINUS PUBLISHERS, PP.147-152, 1980.
 9. J. Wiley et al. : Metastasis, CIBA FOUNDATION, PP.42-48, 1988.
 10. H. Peter Vollmers et al. : Monoclonal antibodies inhibit the adhesion of mouse B16 melanoma cells in vitro and block lung metastasis in vivo, Proc. Natl. Acad. Vo 180, 3729-3733, 1983.
 12. Lin Yan et al : Inhibition of cell attachment by selite, Cancer Research 52, 803-807, 1992.
 13. Yong Q. Chen et al: Fatty acid modulation of tumor cell-platelet vessel wall interaction, Cancer and Metastasis Review 11, 389-410, 1992.
 14. Tanaka, K., Kohga, S. : Ogawa, M, Ishihara, Tanaka, N, Effect of ticlopidine on blood borne metastasis, Mode of action of ticlopidine in inhibition of platelet aggregation in the rat, Thrombos. Haemostas., 41, 436-449, 1979.
 15. George P. : The pathogenesis of cancer metastasis, Nature, Vol. 283, 139, 1980.
 16. Liotta L. A.: Tumor invasion and metastasis-role of the extracellular matrix, Rhoads Memorial Awards Lecture, Cancer Res. 46, 1, 1986.
 17. Thomas Kreis, Ronald Vale : Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins, 3, 1993.
 18. Murray, J. C., Garbisa, S., Liotta, L.: The role of tumor cell-basement membrane interactions in the metastatic process, Hellman, K., Metastasis, 169, 1980.
 19. Liotta, L.A., Tryggvason, K., Garbisa, S.: Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen, Nature 284, 67-68, 1980.
 20. P. Gresele, C. Zoja, H. Deckmyn, J. Arnout, J. Vermeylen and M. Verstraete : Dipyridamole inhibits platelet aggregation in whole blood, Thromb Haemostas (Stuttgart) 50(4), 852-856, 1983.
 21. Weiss, L.A.: Pathologic overview of metastasis, Semin. Oncol. 4, 5-17, 1977.
 22. Gaspar, H.: Stickness of platelet and tumor

- cells influenced by drugs, *Thrombus, Diathes. Haemorrh., Suppl.* 42, 291-303, 1970.
23. Gasic G. J., Koch, P. A. G., Hsu, B., Gasic, T. B., Niewiarowski, S.: Thrombogenic activity of mouse and human tumors, Effects of platelets, coagulation, and fibrinolysis on possible significance for metastasis, *Z. Krebsforsch.* 86, 263-277, 1976.
24. Gasic, G. J., Gasic, T. B., Galanti, N. et al.: Platelet-tumor cell interactions in mice, The role of platelets in the spread of malignant disease, *Int., J. Cancer* 11, 704-718, 1973