

한약처방제의 인체 위암 세포주에 대한 세포독성 효과에 관한 연구

박갑주,* 김은해, 은영아, 강봉주, 성현제¹

한국한의학연구소 기초연구부, ¹한국한의학연구소 연구기획실

Cytotoxic Effect of Korean Traditional Prescriptions on the Human Gastric Cancer Cell Lines

Kap Joo Park,* Eun Hae Kim, Young Ah Eun, Bong Joo Kang and Hyun Jae Sung¹

*Department of Basic Research and ¹Research Planning Office,
Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea*

Abstract – In order to search for antigastric cancer agents from Korean traditional prescriptions, we selected 41 traditional prescriptions, based on a review of the Korean traditional medicine books. Both boiling water and methanol extracts were tested, by means of the Sulforhodamine B (SRB) protein assay. Six of the 41 water extracts: #3, #34, #35, #38, #40, #41 showed efficacy against gastric cancer cell (AGS: Human gastric carcinoma, ATCC HTB 103). #3 inhibited 50% cancer cell growth at the concentration of 152 µg/ml, #34, #35, #38, #40 and #41 inhibited 50% cancer cell growth at the concentration of 145 µg/ml, 129 µg/ml, 173 µg/ml, 10 µg/ml and 19 µg/ml respectively. Ten of the 41 methanol extracts: #1, #3, #32, #33, #35, #36, #37, #38, #41 were active. #1 inhibited 50% cancer cell growth at the concentration of 206 µg/ml, #3, #32, #33, #35, #36, #37, #38, #40, #41 inhibited 50% cancer cell growth at the concentration of 133 µg/ml, 159 µg/ml, 199 µg/ml, 147 µg/ml, 113 µg/ml, 187 µg/ml, 130 µg/ml, 9 µg/ml, 15 µg/ml respectively. Prescription #3, #35, #38, #40, #41 were also interesting because both methanol and water extracts were active.

Key words – Gastric cancer cell (AGS); Sulforhodamine B (SRB) protein assay; Korean traditional prescriptions.

암의 발생인자는 내적인자로서 유전적 요인, 인종과 지리학적 요인, 연령, 면역학적 인자 등이 있고, 외적인자로서 화학적 발암인자, 물리적 발암인자, 바이러스성 발암인자 등이 밝혀졌다.¹⁾ 또한 인류 질병사망의 원인 중 1위를 차지하는 암은 최선의 치료를 하더라도 50% 이상의 환자는 결국 사망하기 때문에 세계적으로 암의 생물학적인 이해 및 그 치료 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

국내에서는 소화기계암의 발병률이 높는데, 특히 위암은 전체 암 중에서 남자의 경우 약 30%로 1위를 차지하고, 여자의 경우 자궁경부암에 이어 17.5%로 2위를 기록하고 있다. 위암의 발생 빈도는 위암종(gastric carcinoma)이 약 95%를 차지하고, 위 임파종(gastric lymphoma)이 약 4%를 차지하고, 위 육종(gastric sarcoma)이 약 1%를 차지하며, 위 유암종(gastric carcinoid)이 극 소수를 차지한다.²⁾ 위암이 악성으로 진행 되었거나, 다른 장기로 전이 되었을 때는 외과적 절제술이나 방사선

*교신저자 : Fax 02-3445-4773

치료를 통하여 치료하기란 매우 어려운 일이며 암 환자의 생존기간 또한 아주 짧은 것으로 알려져 있다.³⁾ 이때 암 세포 증식을 억제하기 위해 대두되고 있는 방법이 항암 화학요법인데, 진행성 위암에 효과적으로 사용 되어지고 있는 것으로 5-fluorouracil, mitomycin, BCNU, CCNU, doxorubicine 등과 같은 약물들이 있다.⁴⁾

현재 흔히 사용 되고있는 항암화학요법 처방의 대부분은 여러개의 항암제를 동시에 또는 정해진 시간 간격을 두고 같이 투여하는 병용요법(combination chemotherapy)이다.⁵⁾ 이러한 병용요법은 그 독성과 약제 내성은 물론 작용기전도 서로 다른 다양한 항암제를 필요에 따라 적절히 사용 가능해야만 하는 어려움이 있다. 이러한 측면에서 볼 때 현재 사용되고 있는 항암제들의 작용기전 면에서의 다양성은 만족스럽지 못한 상태이다. 또한 현재 사용되고 있는 60여종의 항암제는 증식속도가 빠른 혈액암 세포의 경우 상당한 치료 효과를 보이는 반면 증식속도가 느린 고형암세포에 대해서는 확실한 효과를 보이지 못하는 한계를 가지며, 암세포 외에 분열이 빠른 골수세포등도 파괴 시키는 등의 부작용을 수반한다.⁶⁾ 따라서 기존에 사용되고 있는 항암요법제들은 그 선택독성(selective toxicity)이나 조직특이성(tissue specificity) 등의 측면에서 아직 만족스럽지 못하여 이들보다 독성이 적고 선택성, 조직특이성 등이 우수하며 작용기전 면에서 획기적인 새로운 개념의 신약 개발이 요구되고 있다.

일반적인 신약개발의 방법으로는 화학적 합성이나 천연물 추출물의 검색에 의해 생물활성 선도물질(lead compound)을 발견하고 이에 대한 다양한 유도체의 개발로 가장 우수한 성분을 임상 실험을 거쳐 상품화 하는 방법이 채택 되는데 특히 천연물의 경우 기존 의약제들과는 전혀 다른 새롭고 우수한 물질을 찾아낼 가능성이 많아 이러한 개발연구에 가장 적합한 대상이다.⁷⁾ 전통동양의학 정보를 바탕으로 천연물로부터 개발 되어 현재 임상에서 사용되고 있는 항암제로는 Catharanthus alkaloid 및 유도체인 vinblastine, vincristine, vindesine 등과 podophyllotoxine 유도체인 etoposide, teniposide가 있으며 임상시험중인 것으로는 ellipticine, homoharringtonine, taxol 등을 들수 있다.⁸⁾

분자 생물학, 면역학 및 생화학 기술의 향상으로

암세포에만 특이하게 존재하는 질병유발 물질을 선택적으로 파괴하는 세포에 관한 연구들도 많이 진행되었고,⁹⁻¹⁰⁾ 최첨단의 분석기기 및 자동화 기술의 개발로 다양한 종류의 후보물질을 동시에 처리할 수 있는 대량검색 능력을 갖추게 됨에 따라 천연물질로부터 항암제의 분리, 추출 및 분석이 용이하다. 따라서 화학 합성제나 양약에 비해 상대적으로 부작용이 적고 약리작용에 있어서 안정성이 보장되며 인체의 면역증강과 보신효과를 동시에 지닌 새로운 항암제의 개발문제가 제기되어 세계적으로 활발히 연구가 진행중에 있다. 특히 국내의 한의학계에서는 일찌기 고려때부터 국산약초에 대한 연구 학문인 본초학이 발달하였고 조선시대에는 의방유취, 동의보감 같은 체계적인 저술서가 편찬되어 이를 기초로 한 전래 처방 및 한의사 각자가 가지고 있는 특수처방에 의해 많은 난치성 질병들을 치료하고 있다. 따라서 본 연구에서는 한방방제론에 입각한 복합처방을 이용하여, *in vitro* 실험 조건하에서 위암세포 독성 시험 방법을 통한 항위암제 개발 연구를 진행하게 되었다.

재료 및 방법

재료 - 한약처방은 동의처방대전, 동의보감, 동의 처방학, 방약합편, 방제학, 동의수세보원¹¹⁻¹⁶⁾ 등을 기초로 하였고, 처방을 구성하는 한약재는 1997년 3월 경동시장에서 구입하여 사용하였으며 실험재료로 사용된 검색 처방의 목록은 Table I과 같다.

한약처방 시료의 조제 - 각각의 처방은 methanol과 열수를 이용하여 추출하였는데 methanol로 추출한 경우에는 한약처방시료 80g에 각각 500 ml의 100% methanol을 넣은 후 60℃ 수조에서 18시간 침적하여 추출하였고, 각 시료에서 추출된 methanol 용액은 8,000g에서 15분간 원심분리한 후 여과하여 evaporator로 농축하고 동결건조하였다. 이것을 0.5% DMSO에 녹이고 filter(0.45 μm)로 여과하여 검액으로 사용하였다. 열수추출한 경우에는 시료 80g에 증류수 1,200 ml을 넣어 2시간 30분 동안 끓인 후, 가제를 이용하여 1차 여과하고 8,000g에서 15분간 원심분리한 후 2차 여과하여 evaporator로 농축시킨후 freezing dryer를 사용하여 동결건조시켰다. 동결 건조 시킨 한약탕제를 powder 상태로 만들어 0.5% DMSO에 ml당 50 mg농도로 녹인 후,

Table I. The list of Korean traditional prescriptions for boiling water and methanol extracts

Prescription	Reference	Prescription	Reference
1. Kuseontalmyoungdan (九仙奪命丹)	11	22. Jibaektang (地白湯)	12
2. Kyoulpi (橘皮)	12	23. Bangpungdongseongsan (防風通聖散)	15
3. Daewhangtang (大黃湯)	13	24. Sojeoktang (消積湯)	15
4. Panha (半夏)	12	25. Sipjeondaebotang I (十全大補湯 I)	12
5. Pujasan (附子散)	12	26. Sipjeondaebotang II (十全大補湯 II)	12
6. Sajajojungtang (四子調中湯)	11	27. Pojungik-kitang I (補中益氣湯 I)	16
7. Samilseungkitang (三一承氣湯)	12	28. Pojungik-kitang II (補中益氣湯 II)	16
8. Saengkang (生薑)	12	29. Taklisodokeum I (托裡消毒飲 I)	11
9. Sunkiwhajungtang (順氣和中湯)	14	30. Taklisodokeum II (托裡消毒飲 II)	11
10. Sinkisan (神奇散)	14	31. Yuk-kunjabatang (六君子湯)	11
11. Anwitang (安胃湯)	11	32. Hyeochundan (回春丹)	13
12. Anjungjokiwhan (安中調氣丸)	13	33. Youkeunpi, Youbaekpi (榆根皮, 榆白皮)	12
13. Podo (葡萄)	12	34. Youkeunpi, Youbaekpi, Injin (榆根皮, 榆白皮, 茵陳)	12
14. Insam (人蔘)	12	35. Injin (茵陳)	12
15. Jeongsaengdan (定生丹)	12	36. Youbaekpi, Injin (榆白皮, 茵陳)	12
16. Kyulpijukyeutang (橘皮竹如湯)	14	37. Youbaekpi (榆白皮)	12
17. Manbyoungwon (萬病元)	14	38. Youkeunpi (榆根皮)	12
18. Cheonkeumsobyekwhan (千金消癰丸)	11	39. Youkeunpi, Injin (榆根皮, 茵陳)	12
19. Naeso-okseoltang (內消沃雪湯)	12	40. Somok (蘇木)	12
20. Tongwontaklisan (東垣托裏散)	12	41. Samsuem (麥蘇飲)	11
21. Sakantang (射干湯)	11		

filter(0.45 μm)로 여과하여 검액으로 사용하였다.

세포주 및 세포 배양 - 본 실험에서 사용한 위암 세포주인 AGS(Human gastric carcinoma, ATCC HTB 103)는 한국 세포주 은행(KCLB) 으로부터 분양받아 사용하였다.

세포의 증식을 위해서는 조직배양용 플라스크에 0.2% sodium bicarbonate, 5% fetal bovine serum과 gentamicin(50 mg/ml)을 첨가한 RPMI medium 1640을 넣어 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 세포단층(monolayer)이 될 때까지 배양하였다. 세포를 계대배양하기 위해서는 조직배양용 플라스크(75 cm²)에 배양한 세포를 phosphate-buffered saline(PBS, PH 7.4)으로 세척한 다음 최종 농도가 0.05% 되게 트립신을 넣어 세포를 플라스크 바닥으로부터 분리시켜 조직배양용 플라스크(75 cm²)에 1:4로 분주하여 5% RPMI 1640을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에 배양하였다.

SRB 검색법(Sulforhodamine B Protein Assay) - SRB검색법은 생존 세포의 단백질을 sulforhodamine B dye로 염색하여 흡광도를 측정함으로써 생존세포수를 추산하는 방법이다.¹⁷⁻²⁰⁾ 대량 검색에 유리하며 실험조작은 Alley 등¹⁷⁾과 Ske-

han¹⁸⁾ 등의 방법을 약간 변형하여 사용하였다.

(1) 단일 세포 부유액(single cell suspension)의 준비 - 사람의 위암 세포(AGS)를 3분간 trypsin 처리하여 세포를 플라스크 바닥으로부터 떼어낸 후 배양용 배지용액(culture media, RPMI 1640에 5% FBS첨가)으로 중화시켜 멸균 피펫을 통한 반복흡입으로 단일세포 부유액을 얻었다. 이 부유액을 100 g, 5 min 정도로 원심하여 세포를 침전시킨 후 적당한 양의 배지용액에 다시 부유시켰다. 이 부유액을 PBS(phosphate buffered saline)로 10배 희석하여 혈구계산판으로 세포밀도(number of cells/ml)를 측정하였다.

(2) 예비실험 (적정 접종세포수의 결정) - 본 실험에 앞서 각 well에 첨가할 위암 세포(AGS)의 적정 접종 세포수(optimal seeding density)를 결정하였다. 이 세포수는 약물처리하지 않은 대조군에서 세포접종 당시와 4일 후 실험 종료시에도 세포가 활발히 증식하면서 OD가 충분히 높은 값을 나타낼수 있는 최적의 접종(seeding) 세포수로 대개 number of cells/well로 나타낸다. 이 세포수를 결정하기 위해 한 well당 1~100×10³개의 범위에서 몇가지 세포밀도로 96-well plate에 접종하고 항암제나

검체대신 PBS만을 가해주어 4일간 배양한 후 아래에 SRB 검색법의 과정을 시행하였다. 실험종료시 흡광도(OD)를 측정하여 가장 적당한 세포밀도를 결정한 후 이후의 실험에 이용하였다.

(3) 세포 접종, 검체투여 및 배양-예비실험에서 결정된 적정수의 세포가 포함된 100 μ l의 배지를 96-well plate의 각 well에 첨가하며 한 칼럼에는 세포 부유액 대신 배지만을 가해 흡광도 측정시 blank로 사용하였다. Plate를 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 다음 항암검색의 대상이 되는 한약탕제 용액을 PBS로 계단 희석하여 원하는 농도의 5배 용액(5 concentrate)으로 만들어 8가지 dose 농도로서 각 well에 첨가하였다. 8개의 dose로 각 well에 첨가되었던 약물의 최종농도는 2,000, 1,000, 500, 250, 125, 63, 32, 13 μ g/ml 이었다. 그리고 Plate의 마지막 칼럼에는 검체대신 PBS만을 25 μ l 첨가하여 100% 생존군으로 삼았다. 검체 투여가 끝난 plate를 37°C, 5% CO₂ 존재하에서 48시간 더 배양하였다.

(4) 생존 세포의 고정(Fixation of viable cells) - 배양이 종료된 후 위암세포(AGS)에 50 μ l의 차가운 50% TCA(trichloroacetic acid) 용액을 천천히 가해주었다. TCA가 바닥에 가라앉도록 잠시 기다린 후 조심스럽게 냉장고로 옮겨 1시간 동안 충분히 고정시켰다. 고정이 끝난 후에는 증류수로 5회 이상 세척하여 잘 건조시켰다.

(5) SRB 염색 및 흡광도 측정 - 잘 건조된 plate에 1% acetic acid에 녹인 0.1% SRB (Sulforhodamine B, Sigma S-9012) 용액 100 μ l를 가한 후 상온에서 30분 이상 두어 충분히 염색시킨 다음 1% acetic acid로 5회 세척하여 공기중에서 건조시켰다. 완전히 건조된 후 100 μ l의 10 mM unbuffered Tris(pH 10.5) 용액을 각 well에 가해 세포 단백질에 부착된 SRB dye를 잘 녹여내어 균일하게 만든 다음 96-well plate용 광도계(ELISA reader)로 564 nm 파장에서 OD를 측정한다.

(6) 결과 분석 - 이 실험에서 최종적으로 얻어지는 OD₅₆₄ 값은 TCA 고정 후 각 well에 남아 있는 총 단백질의 양을 나타낸다. 따라서 이는 그 well에 남아 있는 생존 세포들의 수와 비례한다. 그러므로 시험군에서의 평균 OD₅₆₄ 값을 구해 대조군(약물 비처리, 100% 생존군)의 평균 OD₅₆₄ 값에 대한 백분율 값을 산출한다. 이 백분율은 대조군과 비교한 시험군의 세

포 생존율에 해당하는 값이다. 50% 억제농도(IC₅₀)는 이 생존율이 50%가 되도록 하는 약물의 농도로 정의된다. 이 IC₅₀ 값을 항암효과의 지표로 삼았다.

결과 및 고찰

위암세포(AGS)의 SRB 검사법을 위한 적정 접종 세포수의 결정 - 단일 세포 부유액을 배지로 2배씩 희석하여 접종 세포수가 10개의 칼럼에 걸쳐 1~100×10³/well이 되도록 96-well plate에 접종하고 항암제나 검체대신 PBS만을 가해주어 4일간 배양하였다. 4일 후 실험 종료시 OD₅₆₄ 값이 0.8~1.8이 되면서 활발히 증식하는 각 세포주의 적정 세포수는 well 당 5×10³개였다.

한약처방의 위암세포에 대한 50% 성장 억제 농도의 산출과 측정 - 암세포에 대한 한약처방 추출물 각각의 IC₅₀ 값은 Table II와 같았고, 각 한약처방을 통하여 위암세포의 IC₅₀ 값을 비교했을 때 IC₅₀값이 230 μ g/ml 이상으로 나타난 추출물에 대해서는 세포독성이 없거나 미약한 것으로 간주하였다.²¹⁾ 검색 결과 IC₅₀ 값이 230 μ g/ml 이하로 위암세포에 대하여 비교적 강한 세포독성 효과를 나타낸 한약 처방 추출물은 열수추출물의 경우 3번, 34번, 35번, 38번, 40번, 41번 등 6종, methanol 추출물의 경우 1번, 3번, 23번, 33번, 35번, 36번, 37번, 38번, 40번, 41번 등 10종으로 총 16종에서 위암세포에 독성을 나타내었다(Table II).

강기화위(降氣和胃) 효능이 있는 것으로 알려진 구선탈명단(처방1)은 methanol 추출물의 경우 IC₅₀ 값은 206 μ g/ml이었고 열수 추출물의 경우는 위암세포에서 세포독성효과가 희박하였다. 화위강역(和胃降逆) 효능이 있는 것으로 알려진 대황탕(처방3)의 열수와 methanol 추출물의 IC₅₀ 값은 각각 152 μ g/ml, 133 μ g/ml였다. 또한 만성위염(慢性胃炎) 증세에 효능이 있는 것으로 알려진 단미제들(유백피, 유근피, 인진)을 복합으로 처방하여 위암세포 독성효과를 측정하였는데, 그 결과 처방32, 처방33의 methanol 추출물의 IC₅₀ 값이 각각 159 μ g/ml, 199 μ g/ml로서 각각 비슷한 정도로 위암세포 독성효과를 보였으나, 열수 추출물의 경우는 세포독성 효과를 나타내지 않았다. 그리고 처방 34의 열수 추출물의 IC₅₀ 값은 145 μ g/ml였고 methanol 추

Table II. IC₅₀ values of Korean traditional prescriptions and control drugs for human gastric cancer cell determined by SRB assay

Number of Prescription	IC ₅₀ (μg/ml)	
	Water extract	Methanol extract
1	230 ↑	206±8
2	230 ↑	230 ↑
3	152±6	133±3
4	230 ↑	230 ↑
5	230 ↑	230 ↑
6	230 ↑	230 ↑
7	230 ↑	230 ↑
8	230 ↑	230 ↑
9	230 ↑	230 ↑
10	230 ↑	230 ↑
11	230 ↑	230 ↑
12	230 ↑	230 ↑
13	230 ↑	230 ↑
14	230 ↑	230 ↑
15	230 ↑	230 ↑
16	230 ↑	230 ↑
17	230 ↑	230 ↑
18	230 ↑	230 ↑
19	230 ↑	230 ↑
20	230 ↑	230 ↑
21	230 ↑	230 ↑
22	230 ↑	230 ↑
23	230 ↑	230 ↑
24	230 ↑	230 ↑
25	230 ↑	230 ↑
26	230 ↑	230 ↑
27	230 ↑	230 ↑
28	230 ↑	230 ↑
29	230 ↑	230 ↑
30	230 ↑	230 ↑
31	230 ↑	230 ↑
32	230 ↑	159±5
33	230 ↑	199±7
34	145±9	230 ↑
35	129±5	147±4.2
36	230 ↑	113±2
37	230 ↑	187±4
38	173±7.4	130±5
39	230 ↑	230 ↑
40	10±1	9±0.3
41	19±1.5	15±0.2
Taxol		1.4±0.05
Cisplatin		2.8±0.1

Note. IC₅₀: 50% inhibition of cell growth. IC₅₀ values were calculated from PCS program. 230 ↑: IC₅₀>230 μg/ml. Means±standard deviation of triplicate experiments.

출물의 경우는 위암세포독성이 거의 없었다. 또한 처방35의 열수추출물과 methanol 추출물의 IC₅₀

값은 각각 129 μg/ml, 147 μg/ml로 서로 유사한 위암세포 독성효과를 보였다(Table II). 단미제 처방인 36와 37의 methanol 추출물은 IC₅₀ 값이 각각 113 μg/ml, 187 μg/ml였고 열수추출물의 경우는 위암세포에서 독성을 나타내지 않았다. 또한 처방38의 methanol 추출물은 열수추출물보다 세포독성이 약간 강하였다. 강한 염증완화 효과를 보이는 것으로 알려진 처방40(소독)와 처방41(삼소음)을 시험한 결과, 현재 임상에서 사용되고 있고 본 실험에서 대조군으로 쓰인 항암 화학요법제인 Taxol (IC₅₀:1.4 μg/ml) 및 Cisplatin(IC₅₀:2.8 μg/ml)의 세포독성에 거의 근접하는 위암세포 독성효과를 나타내었다. 열수추출물인 처방40, 41의 IC₅₀ 값은 각각 10 μg/ml, 19 μg/ml였고, methanol 추출물의 경우는 9 μg/ml, 15 μg/ml이었다.

본 연구에서 위암처방으로 사용했던 41가지 처방 중 열수추출물, methanol 추출물을 막론하고 세포독성 효과를 나타낸 것은 16종으로 상당히 많은 시료에서 암세포 억제효과를 볼 수 있었다. 이는 한의 학문헌의 치료처방이 상당히 과학성을 가지고 있고 현대의학의 생약제를 이용한 예방 및 치료제 개발과도 포커스가 맞는다는 것을 입증하는 것이다. 또한 현재 위암 치료에서 항암 화학요법제로 주로 사용하고 있는 Taxol과 Cisplatin을 양성대조군으로 시험해본 결과 IC₅₀값은 각각 1.4 μg/ml, 2.8 μg/ml로서 본 연구에서 실험한 한약처방들중 40와 41이 양성대조군의 IC₅₀값과 근접하는 위암세포독성 효과를 보임을 알 수 있었다.

위의 결과, 위암세포에 비교적 강한 독성을 보였던 처방추출물들을 군신좌사(君臣佐使)¹³⁾실험을 통하여 서로 길항, 항진작용을 하는 단미제들의 세포독성을 비교 분석중이며, 각각의 단미제들을 *in vitro* 세포독성 검색법을 통하여 위암세포 독성을 평가 중이다. 또한 *in vitro*에서 강한 세포독성을 나타낸 약재들이 생체내에서 얼마만큼의 위암세포 억제능력을 갖는지를 측정하기 위한 *in vivo* 실험모델을 수립중이다.

결 론

한국 전통의학 전문서적을¹¹⁻¹⁶⁾ 참고로하여 41가지 위암처방을 선택한 후 이들을 열수와 methanol을 사용하여 각각 추출한 다음, SRB 법을 이용

하여 이 추출물들의 위암세포주(AGS)에 있어서 세포독성효과를 검색하였다. 그 결과 16가지 추출물에서 비교적 강한 세포독성효과가 나타났는데 열수추출물의 경우 3번, 34번, 35번, 38번, 40번, 41번 추출물의 IC₅₀값은 각각 152, 145, 129, 173, 10, 19 µg/ml이었고, Methanol 추출물의 경우 1번, 3번, 32번, 33번, 35번, 36번, 37번, 38번, 40번, 41번 추출물의 IC₅₀값은 각각 206, 133, 159, 199, 147, 113, 187, 130, 9, 15 µg/ml이었다. 이들의 위암세포 독성 효과를 비교해 볼때 그 효과 정도는 다음과 같은 순이었다.

1. 열수 추출물: 40>41>35>34>3>38
2. Methanol 추출물: 40>41>36>38>3>35>32>37>33>1

인용문헌

1. 김 성, 김선희, 김진복 (1988) 위암 환자중 수술 후 장기 생존자의 자연살해 세포 능력에 관한 연구. 대한 암학회지 20: 35-42.
2. 한치화 (1983) 암 환자 혈청내 sialic acid 농도. 카톨릭대학 의학부 논문집 36: 653-660.
3. Judith, R. O., Phillip, T. L., Michael, J. O., Charles, G. M., Edward, T. C., Stephen, F., Richard, G. H. and Richard, J. R. (1982) A comparative clinical assessment of combination chemotherapy in the management of advanced gastric carcinoma. *Cancer* 49: 1362-1366.
4. Levi, J. A., Dalley, R. S. and Arony, R. S. (1979) Improved combination chemotherapy in advanced gastric cancer. *British Med. J.* 2: 1471-1473.
5. Thierry L. C., Frederick P. S., William K. H. and Phillip S. S. (1985) Chemotherapy and combined modality therapy for locally advanced and metastatic gastric carcinoma. *Seminars in Oncology* 12: 46-53.
6. Suffness, M. and Pezzuto, Z. M. (1991) Methods in Plant Biochemistry 6: 71-133. Academic Press, London.
7. 박재갑 (1993) 항암제의 검색방법, 전통약물로부터 신약개발연구법, 174-181. 서울대학교 천연물과학연구소.
8. Suh, N., Luyengi, L., Fong, H. H., Kinghorn, A. D. and Pezzuto, J. M. (1995) Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. *Anticancer Research* 15: 233-239.
9. Hanna, N. (1980) Expression of metastatic potential of tumor cells in young nude mice is correlated with low levels of natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Int. J. Cancer* 26: 675-680.
10. Karre, K., Klein, G. O., Kiessling, R., Klein, G. and Roder, J. C. (1980) Low natural in vivo resistance to synergic leukaemias in natural killer deficient mice. *Nature* 284: 624-626.
11. 동의과학원 (1993) 동의처방대전, 371. 여강출판사, 서울.
12. 허 준 (1981) 동의보감, 210. 남산당, 서울.
13. 조선의학과학원 동의학연구소 고전연구실 (1992) 동의처방학. 여강출판사, 서울.
14. 황도연 (1993) 방약합편, 231. 여강출판사, 서울.
15. 동의학연구소 (1993) 방제학, 228. 여강출판사, 서울.
16. 이제마 (1992) 동의수세보원, 74. 여강출판사, 서울.
17. Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M.J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mayo, J. G., Shoemaker, R. H. and Boyd, M. R. (1988) Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.* 48: 589.
18. Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D. A., Monks, A., McMahon, J., Vistica, A. D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenny, S. and Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for Anticancer-Drug Screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82: 1107.
19. Rubinstein, L. V., Shemaker, R. H., Paull, K. D., Simon, R. M., Tosini, S., Skehan, P., Scudiero, D. A., Monks, A. and Boyd, M. R. (1990) Comparison of *in vitro* anticancer-drug-screening data general with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 82: 1113.
20. Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolf, A., Gray-Goodrich, M., Cambell, H., Mayo, J. and Boyd, M. R. (1991) Feasibility of a high-flux anticancer drug screening using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 83: 757.
21. Park, J. G., Yang, H. K., Hay, R. J. and Gazdar, A. (1994) Colorectal cancer cell lines. In Hay, R. J., Park, J. G. and Gazdar, A. (eds.) Atlas of human tumor cell lines, 113. Academic Press, San Diego.

(1997년 9월 30일 접수)