

## 중국산 천연자원의 세포독성 검색

유영진, 이유희,<sup>1</sup> 김영숙,<sup>1</sup> 박종대,<sup>1</sup> 김신일<sup>1\*</sup>

중국 연변의학원 약학계, 한국인삼연초연구원<sup>1</sup>

## Cytotoxic Activity of Several Extracts from Chinese Medicinal Plants

Young Jin Yoo, You Hui Lee,<sup>1</sup> Young Sook Kim,<sup>1</sup>  
Jong Dae Park<sup>1</sup> and Shin Il Kim<sup>1\*</sup>

*Department of Chinese Traditional and Herbal Drugs, Yanbin Medical College, 133000, China; and <sup>1</sup>Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea*

**Abstract** - As a part of searching for new antitumor agents from natural products, 94 kinds of Chinese plants were extracted with petroleum ether/ether (1:1), ethyl acetate and methanol, successively and their cytotoxicities were evaluated against A549 (human lung carcinoma) cell line. Among them, six kinds of ether extracts, seven kinds of ethyl acetate extracts and one kind of methanol extracts showed significant cytotoxic activities (above 70 % inhibition) at a concentration of 50 µg/ml. These results suggest that they may be involved in natural sources with possible anticancer activities.

**Key words** - Chinese plants; cytotoxicity; sulforhodamine B method; A549.

항암제의 개발에 관한 연구는 세계적으로 광범위하게 수행되고 있지만 아직까지 이상적인 의약품이 개발되지 않아 암의 발생기전 연구 및 그 치료제를 개발하는 것은 매우 중요한 연구 과제가 아닐 수 없다.

초기 항암제 개발의 방향은 기존 항암제의 유도체 합성과 이들의 효과 검색이었으나 기존에 사용되는 항암제의 수가 한정되어 있고 암자체에 대해 모르는 부분이 많아 drug design에 의한 새로운 의약품 개발에는 한계가 있어, 다양한 화합물들에 대한 무작위 검색과 천연자원에서 항암물질의 탐색이 새로운 항암제 개발에서 매우 중요한 부분을 차지하고 있다.<sup>1-3)</sup> 이러한 사실은 미국 국립 암연구소의 항암제 개발연구가 대표적인 예로서 1980년도까지 114,045종의 식물자원 추출물 및 16,196종 동물자원 추출물과 미생물 배양에서 얻어진 많은 추출물이 검색되어

졌다.<sup>1)</sup> 이와 같이 천연자원으로 부터 새로운 항암제를 얻고자하는 노력의 결과로 얻어진 대표적인 것은 mitomycin C,<sup>4)</sup> anthracyclines,<sup>5)</sup> vinca 알칼로이드류,<sup>6)</sup> podophyllotoxin 유도체,<sup>7)</sup> taxol<sup>8)</sup> 등이 있다.

본 저자들은 천연자원으로 부터 새로운 계열의 항암물질을 탐색하는 연구의 일환으로서 400여 종의 국내 식물자원을 수집하여 그 용매 분획을 만들어 인체암세포주에 대해 항암성을 검정하였다. 이 검색 결과로 부터 선발된 다수의 천연자원에서 유효성분을 분리하여 그 화학구조를 규명하여 보고한 바 있고,<sup>9-12)</sup> 계속적으로 활성성분을 분리, 동정하고 있다.

이런 일련의 연구에서 가장 기본이 되면서도 매우 중요하게 여겨지는 것은 과연 어떻게 아직 연구가 되지 않은 새로운 천연자원을 확보하는가 하는 문제이다. 국내에서 지금까지의 약용식물로 부터 항암제의 개발 연구는 주로 시중에서 쉽게 구할 수 있는 자

\*교신저자 : Fax 042-861-1949

원인 한약재와 기 보고된 천연자원을 대상으로 연구 되어 왔으며, 이와 같은 연구자원의 한정으로 인해 많은 어려움이 있다는 것은 주지의 사실이다. 본 저자들은 천연자원으로부터 항암제를 탐색함에 있어서 다양한 천연자원을 수집하여 유효성분을 분리, 구조동정을 수행할 연구 대상자원을 선별하고자 일차적으로 지리적으로 가까우면서도 다양하고 풍부한 약용 천연자원을 보유하고 있는 것으로 알려진 중국에서 새로운 천연자원을 수집하여 연구하고자 하였다. 이에 저자 등은 중국산 천연자원을 수집하여 일차적으로 인체 암세포주에 대한 세포독성 효과를 검색하였기에 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**식물재료** - 1996년 8월 중국의 연길, 장백산 부근에서 88종의 자원을 채집하였고, 중국 남부 광서지방의 한약시장에서 6종을 구입하였다. 실험에 사용된 재료의 증거표본은 한국인삼연초연구원에 보관되어 있다.

**시료의 조제** - 건조한 후 세말로 한 시료 20 g을 petroleum ether/ethyl ether(1:1), ethyl acetate 및 methanol의 순서로 각각 300 ml로 2회씩 실온에서 진탕하여 추출한 후 감압농축하여 각각의 용매추출물을 얻었다(Fig. 1). 이를 DMSO/EtOH(1:1)을 사용하여 25 mg/ml 농도로 만든 검체용액을 제조하여 세포독성검정에 사용하였다.

**세포독성 검색** - 인체 폐암세포주인 A549는 5% fetal bovine serum을 첨가한 RPMI1640 배지를 사용하여 배양하였다. Monolayer로 자란 A549 세

포주를 상법에 따라 0.25% Trypsin-EDTA용액으로 처리하여 single cell로 만든 후 최종 세포농도가  $1 \times 10^5$  cells/ml가 되도록 배지로 희석하였다. 이 세포현탁액을 24 well culture plate 각 well에 1 ml씩 넣은 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 preincubation하였다. DMSO/EtOH(1:1)을 사용하여 25 mg/ml 농도로 만든 검체용액을 배지로 10배 희석한 후 희석액을 각 well에 40 µl씩 가하고 각 well 당 최종 2 ml가 되도록 배지를 넣은 후 48시간 배양하였다. 한 검체당 2 well씩 사용하였으며, 대조군은 용매만을 넣어 배양하였다. 세포의 성장정도는 단백질량을 측정하는 sulforhodamine B(SRB)방법으로 관찰하였다.<sup>13)</sup>

즉, 배양이 종료되면 배지를 제거 후 15% cold TCA를 1 ml 가하여 4°C에서 1시간 방치 후 상수로 5회 세척 건조한 후 1% 초산용액에 녹인 0.4% SRB 0.25 ml를 가하여 1시간 방치하였다. 과량의 색소를 1% 초산으로 5회 세척, 건조한 후 10 mM Tris를 적당량 가하여 색소를 용해시켜 96 well plate를 사용하여 microplate reader로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포성장율(Y%)은 대조군에 대한 처치군의 성장 백분율로서 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$Y(\%) = \frac{T - C_0}{C - C_0} \times 100$$

이때, T는 배양종료시의 처치군의 흡광도, C는 배양종료시의 대조군의 흡광도이며 C<sub>0</sub>는 검체 처리시의 대조군의 흡광도이다.

### 결과 및 고찰

천연자원으로부터 항암활성을 갖는 새로운 물질을 탐색하고자 우선 유용한 천연자원을 선별하기 위하여 중국에서 수집한 94종의 천연자원을 petroleum ether/ethyl ether(1:1), ethyl acetate 및 methanol 순서로 추출하여 각각의 용매추출물을 최종농도가 50 µg/ml로 되도록 하여 일차적으로 인체 폐암 세포주인 A549에 대해 암세포 독성을 검색하였다. 검체의 활성은 암세포성장율로 효과를 표시하였다. 즉, 대조군의 암세포성장율에 비해 검체처리군의 암세포성장율(Y)이 30% 보다 작으면 +++

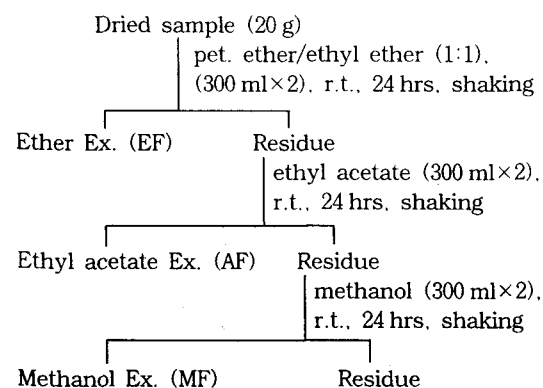


Fig. 1. Solvent extraction procedure of crude drug.

으로,  $30\% \leq Y < 60\%$ 이면 ++로,  $60\% \leq Y < 90\%$ 이면 +로 판정하였고,  $Y \geq 90\%$ 이면 -로 판정하였다. Table I에서 나타난 바와 같이 대부분 약용식물의 ether, ethyl acetate분획이 methanol분획보다 비교적 강한 암세포성장 억제활성을 보여주는 경향이 있었다.

특히, *Alteranthera philoxeroides*(Amaranthaceae), *Ardisia crenata*(Myrsinaceae), *Jas-*

*minum nudiflorum*(Oleaceae), *Lantana camara*(Verbenaceae), *Lysimachia davurica*(Primulaceae), *Rabdosia japonica*(Labiatae) 등 6종이 ether 추출물에서 70% 이상의 강한 억제 활성을 보여주었고, *Ardisia crenata*, *Davallia mariesii*(Davalliaceae), *Elephantopus scaber*(Compositae), *Filifolium sibiricum*(Compositae), *Lantana camara*, *Picris hieracioides*(Com-

**Table I.** Cytotoxic activities of ether, ethyl acetate and methanol extracts of Chinese plants against A549 human cancer cell line. Voucher specimens are kept in Korea Ginseng Tobacco Research Institute

Species	Family	Part <sup>a</sup>	Inhibition Activity			Voucher specimen
			EF <sup>b</sup>	AF <sup>c</sup>	MF <sup>d</sup>	
<i>Acalypha australis</i>	Euphorbiaceae	H	-	-	+	KGC044
<i>Achillea alpina</i>	Compositae	H	+	++	-	KGC084
<i>Adiantum capillus-veneris</i>	Adiantaceae	AP	+	-	++	KGC027
<i>Ageratum conyzoides</i>	Compositae	H	+	+	-	KGC019
<i>Allium nerinifolium</i>	Liliaceae	H	+	-	-	KGC055
<i>Alocasia cucullata</i>	Araceae	H	+	++	+	KGC141
<i>Alternanthera sessilis</i>	Amaranthaceae	H	+	+	-	KGC007
<i>Anthriscus aemula</i>	Umbelliferae	AP	+	++	-	KGC113
<i>Aquilegia oxysepala</i>	Ranunculaceae	AP	+	++	-	KGC106
<i>Aralia elata</i>	Araliaceae	RA	+	-	-	KGC103
<i>Ardisia crenata</i>	Ardiciaceae	RA,F	+++	++	+++	KGC138
<i>Arenaria juncea</i>	Caryophyllaceae	H	+	+	-	KGC060
<i>Aruncus sylvestris</i>	Rosaceae	H	+	++	+	KGC116
<i>Asparagus schoderioides</i>	Liliaceae	H	-	-	-	KGC067
<i>Astromaca indica</i>	Compositae	AP	+	+	+	KGC053
<i>Berberis amurensis</i>	Berberidaceae	RA,F	+	-	-	KGC117
<i>Catharanthus roseus</i>	Apocynaceae	AP	-	-	+	KGC031
<i>Clematis mandshurica</i>	Ranunculaceae	RA	-	-	-	KGC056
<i>Crataegus pinnatifida</i>	Rosaceae	RA	++	++	+	KGC099
<i>Davallia mariesii</i>	Davalliaceae	H	-	+++	-	KGC034
<i>Desmodium pulchellium</i>	Leguminosae	H	+	+	+	KGC020
<i>Dictamnus albus</i>	Rutaceae	AP	++	++	+	KGC071
<i>Dracocephalum rupestre</i>	Umbelliferae	H	++	++	-	KGC072
<i>Elephantopus scaber</i>	Compositae	H	++	+++	-	KGC008
<i>Elsholtzia ciliata</i>	Labiatae	AP	++	+	-	KGC075
<i>Emilia sonchifolia</i>	Compositae	H	+	+	+	KGC037
<i>Epilobium angulatum</i>	Epilobiaceae	H	+	+	+	KGC095
<i>Euphorbia hirta</i>	Euphorbiaceae	AP	-	-	-	KGC028
<i>E. thymifolia</i>	Euphorbiaceae	AP	++	+++	+	KGC011
<i>Evodia lepta</i>	Rutaceae	RA,F	+	+	-	KGC035
<i>Ficus microcarpa</i>	Moraceae	RA,F	+	+	+	KGC001
<i>F. simplicissima</i>	Moraceae	RA,F	+	+	+	KGC005
<i>Filifolium sibiricum</i>	Compositae	H	++	+++	+	KGC057
<i>Filipendula palmata</i>	Rosaceae	H	+	+	+	KGC085
<i>Galium aparine</i>	Rubiaceae	AP	+	-	-	KGC054
<i>Galium verum</i>	Rubiaceae	AP	+	-	-	KGC070
<i>Geranium maximowiczii</i>	Geraniaceae	AP	-	+	+	KGC107

Table 1. continued

Species	Family	Part <sup>a</sup>	Inhibition Activity			Voucher specimen
			EF <sup>b</sup>	AF <sup>c</sup>	MF <sup>d</sup>	
<i>Geum aleppicum</i>	Rosaceae	AP	++	+	++	KGC069
<i>Gnaphalium leontodioides</i>	Compositae	AP	+	-	-	KGC059
<i>Helianthus tuberosus</i>	Compositae	AP	++	++	-	KGC110
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	Malvaceae	RA,F	-	+	+	KGC010
<i>Hygrophila salicifolia</i>	Hygrophoraceae	AP	+	+	-	KGC043
<i>Hypochaeris grandiflora</i>	Compositae	AP	+	-	-	KGC085
<i>Ilex asprella</i>	Aquifoliaceae	F	+	++	-	KGC004
<i>Jasminum nudiflorum</i>	Oleaceae	AP	+++	-	-	KGC022
<i>Kalopanax septemlobus</i>	Araliaceae	RA,F	-	+	+	KGC036
<i>Kummerowia striata</i>	Leguminosae	AP	+	++	-	KGC096
<i>Lactuca indica</i>	Compositae	H	+	-	-	KGC064
<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	AP	+++	+++	+	KGC139
<i>Lonicera caerulea</i>	Caprifoliaceae	RA,F	++	+	-	KGC092
<i>L. chrysantha</i>	Caprifoliaceae	RA,F	+	-	-	KGC100
<i>L. maackii</i>	Caprifoliaceae	RA,F	+	-	-	KGC105
<i>Lychnis fulgens</i>	Caryophyllaceae	AP	+	-	-	KGC115
<i>Lygodium japonicum</i>	Schizaeaceae	AP	+	+	-	KGC083
<i>Lysimachia davurica</i>	Primulaceae	AP	+++	++	-	KGC083
<i>Lythrum salicaria</i>	Lythraceae	AP	++	+	+	KGC077
<i>Maackia amurensis</i>	Leguminosae	RA,F	+	-	-	KGC039
<i>Mallotus barbatus</i>	Euphorbiaceae	RA,F	+	+	+	KGC039
<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae	F	+	+	-	KGC002
<i>Melampyrum roseum</i>	Scrophulariaceae	AP	-	+	-	KGC062
<i>Metaplexis japonica</i>	Asclepiadaceae	AP	++	+	-	KGC068
<i>Murraya paniculata</i>	Rutaceae	RA,F	+	-	+	KGC041
<i>Mussaenda pubescens</i>	Rubiaceae	H	-	+	+	KGC040
<i>Oenanthe javanica</i>	Umbelliferae	H	++	++	-	KGC109
<i>Onoclea sensibilis</i>	Onocleaceae	AP	+	-	+	KGC087
<i>Phyllanthus urinaria</i>	Euphorbiaceae	H	+	+	+	KGC140
<i>Picris hieracioides</i>	Compositae	H	+	+++	-	KGC051
<i>Pilea cavaleriei</i>	Urticaceae	H	+	++	+	KGC042
<i>Polygonum bistorta</i>	Polygonaceae	AP	+	+	+	KGC080
<i>P. amphibium</i>	Polygonaceae	H	-	+	-	KGC081
<i>Potentilla chinensis</i>	Rosaceae	H	+	+	+	KGC045
<i>P. paradoxa</i>	Rosaceae	H	+	+	+	KGC112
<i>Pteris semipinnata</i>	Pteridaceae	AP	+	+	-	KGC017
<i>Rabdosia japonica</i>	Labiatae	H	+++	+++	+	KGC048
<i>Sambucus williamsii</i>	Caprifoliaceae	RA,F	++	++	-	KGC097
<i>Saussurea japonica</i>	Compositae	AP	+	-	-	KGC073
<i>Silene koreana</i>	Caryophyllaceae	H	+	+	-	KGC076
<i>Smilacina davurica</i>	Liliaceae	H	+	++	-	KGC098
<i>Spiraea salicifolia</i>	Rosaceae	RA,F	+	-	-	KGC089
<i>Streptocaulon griffithii</i>	Asclepiadaceae	H	++	++	++	KGC018
<i>Synedrella nodiflora</i>	Compositae	H	-	+	+	KGC014
<i>Synurus deltoides</i>	Compositae	H	+	-	-	KGC094
<i>Syzygium jambos</i>	Myrtaceae	RA,F	++	++	++	KGC026
<i>Thalictrum simplex</i>	Ranunculaceae	H	+	+	-	KGC093
<i>Tilia tuan</i>	Tiliaceae	RA,F	++	++	-	KGC101
<i>Trifolium lupinaster</i>	Leguminosae	H	+	+	-	KGC050
<i>Trollius macropetalus</i>	Ranunculaceae	AP	++	++	-	KGC114

Table 1. continued

Species	Family	Part <sup>a</sup>	Inhibition Activity			Voucher specimen
			EF <sup>b</sup>	AF <sup>c</sup>	MF <sup>d</sup>	
<i>Verbena officinalis</i>	Verbenaceae	AP	++	+	+	KGC023
<i>Veronica komarovii</i>	Scrophulariaceae	AP	+	-	+	KGC079
<i>Viburnum sargentii</i>	Caprifoliaceae	RA.F	++	-	-	KGC091
<i>Vicia amoena</i>	Leguminosae	H	++	+	-	KGC049
<i>V. unijuga</i>	Leguminosae	H	-	+	-	KGC066
<i>Vitex negundo</i>	Verbenaceae	RA.F	-	+	-	KGC038
<i>Wikstroemia indica</i>	Thymelaeaceae	RA.F	+	++	-	KGC032

Growth ratio (Y) at a concentration of 50 µg/ml, +++: Y<30%, ++: 30%≤Y<60%, +: 60%≤Y<90%, -: Y≥90%. <sup>a</sup>Ap: aerial part, F: Folium, H: Herba, RA: Ramulus. <sup>b</sup>Petroleum ether/ethyl ether (1:1) extract, <sup>c</sup>Ethyl acetate extract, <sup>d</sup>Methanol extract.

positae), *Rabdosia japonica* 등 7종은 ethyl acetate 추출분획물에서 70%이상의 강한 억제활성을 보여주었다. 또한, methanol 추출물의 경우는 *Ardisia crenata*이 강한 암세포증식 억제작용을 보여 주었다. 이들중 *Ardisia crenata*,<sup>14)</sup> *Davallia* 속,<sup>15)</sup> *Elephantopus* 속,<sup>16)</sup> *Euphorbia* 속,<sup>17)</sup> *Rabdosia* 속<sup>18)</sup> 등에 대해서는 이미 항암 작용에 대한 보고가 있다.

본 실험실에서는 유효한 항암효과를 보이는 자원 식물을 중심으로 항암활성 성분의 순수분리 및 그 화학적 구조를 규명하는 연구가 진행중에 있다. 또한 항암활성 효과를 가지는 새로운 계열의 항암물질을 개발하기 위한 기초 자료를 확보하기 위해 본 실험에서 사용한 중국산 식물들의 결과를 참고하여 보다 다양한 자원들을 수집하여 향후 지속적인 항암검색을 수행하여야 할 것으로 생각된다.

## 결 론

중국산 천연자원으로부터 새로운 항암활성 물질을 탐색하고자 수집한 94종의 식물 추출물을 인체 폐암세포주(A549)에 대해 항암검정을 수행한 결과 50 µg/ml에서 ether 추출물의 경우 *Alterantera philoxeroides* 외 6종이, ethyl acetate 추출물의 경우 *Ardisia crenata* 외 9종이 70% 이상의 강한 암세포 성장억제를 보여주었다. 또한, methanol 추출물의 경우 *Ardisia crenata*에서 강한 억제활성을 보여 주어 추후 새로운 항암제 개발의 가능성을 보여주었다.

## 사 사

이 연구는 과학기술정책관리연구소의 한중인력교류사업으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Suffness, M. and Douros, J. (1982) Current status of the NCI plant and animal product program. *J. Nat. Prod.* 45: 1-14.
- Robert, K.-Y., Cheng, Z. and Cheng, C. C. (1988) Screening and evaluation of anticancer agents. *Meth. Find. Exptl. Clin. Pharmacol.* 10: 67-101.
- Hartell, J. L. (1976) Types of anticancer agents isolated from plants. *Cancer Treat. Rep.* 60: 1031-1067.
- Hodges, J. C., Remers, W. A. and Brodner, W. T. (1981) Synthesis and antineoplastic activity of mitosene analogues of the mitomycins. *J. Med. Chem.* 24: 1184-1191.
- Duvernay, V. H. and Crookest, J. (1980) Effect of several anthracycline antitumor antibiotics on the transcriptional activity of isolated nucleoli. *J. Antibiot. (Tokyo)* 33: 1048-1053.
- Delfel, N. E. and Rothfus, J. A. (1977) Antitumor alkaloids in callus cultures of *Cephalotaxus harringtonia*. *Phytochemistry* 16: 1595-1598.
- Van Maanen, J. M. S., Retel, J., Vries, J. and Pinedo, H. M. (1988) Mechanism of action of antitumor drug etoposide. *J. Natl. Cancer Inst.* 80: 1526-1533.
- Kingston, D. G. I., Samaranayake, G. and Ivey,

- C. Y. (1990) The chemistry of taxol, a clinically useful anticancer agent. *J. Nat. Prod.* 53: 1-12.
9. Baek, N. I., Lee, Y. H., Park, J. D., Kim, S. I. and Ahn, B. Z. (1994) Euonymoside A, a new cytotoxic cardenolide glycoside from the bark of *Euonymos siboldianus*. *Planta Med.* 60: 26-29.
10. Lee, Y. H., Park, J. D., Baek, N. I., Kim, S. I. and Ahn, B. Z. (1995) *In vitro* and *in vivo* antitumoral phenanthrenes from the aerial parts of *Dendrobium nobile*. *Planta Med.* 61: 178-180.
11. Park, J. D., Lee, Y. H., Baek, N. I., Kim, S. I. and Ahn, B. Z. (1995) Isolation of antitumor agent from the heartwood of *Dalbergia odorifera*. *Kor. J. Pharmacogn.* 26: 323-326.
12. Park, J. D., Baek, N. I., Lee, Y. H. and Kim, S. I. (1996) Isolation of a cytotoxic agent from *Asiasari Radix*. *Arch. Pharm. Res.* 19: 559-561.
13. Skehan, P., Storeng, R., Schudiero, D. A., Monks, A., McMahon, J., Vistica, 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: 1107-1112.
14. Zhung, Q. H., Huang, S. L. and Wang, X. J. (1993) Studies on the sapogenins and prosapogenines in *Ardisia pusilla* A. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* 18: 545-547.
15. Cui, C. B., Tezuka, Y., Kikuchi, T., Nakano, H., Tamaoki, T. and Park, J. H. (1990) Constituents of a fern, *Davallia mariesii* Moore. I. Isolation and structures of davallialactone and a new flavanone glucuronide. *Chem. Pharm. Bull.* 38: 3218-3225.
16. Lee, K. H., Cowherd, C. M. and Wolo, M. T. (1975) Antitumor agents. XV: Deoxyelephantopin, an antitumor principle from *Elephantopus carolinianus*. *J. Pharm. Sci.* 64: 1572-1573.
17. Ferrigni, N. R., McLaughlin, J. L., Powell, R. G. and Smith, C. R. (1984) Use of potato disc and brine shrimp bioassays to detect activity and isolate piceatannol as the antileukemic principle from the seeds of *Euphorbia lagascae*. *J. Nat. Prot.* 47: 347-352.
18. Fujita, T., Takeda, Y., Sun, H. D., Minami, Y., Marunaka, T., Takeda, S., Yamada, Y. and Togo, T. (1988) Cytotoxic and antitumor activities of *Rabdosia* diterpenoids. *Planta Med.* 46: 4141-4177.

(1997년 9월 2일 접수)