

옻나무 漆液成分 중 Urushiol의 癌細胞 增殖抑制 效果¹

- *in vitro* 細胞毒性效果 -

羅千洙² · 鄭南澈² · 吳光仁³

In vitro Cytotoxic Activity of Urushiol in the Sap of *Rhus verniciflua* STOKES¹

Chun-Soo Na², Nam-Chul Jung² and Kwang-In Oh³

요 약

본 연구는 전통적인 민간요법으로 많이 이용되고 있는 옻나무의 옻칠액의 주성분인 urushiol의 암세포증식억제 효과를 검정하기 위하여 L1210(mouse 혈액암세포), PC-9(인체폐암세포), A427(인체폐암세포), KATO III(인체위암세포)에 대한 urushiol의 세포독성을 검정하였다.

Urushiol은 column chromatography에서 hexane과 acetone을 혼합하여 step-wise법으로 용출한 분획을 암세포주 L1210, PC-9, A427, KATO III에 투여했다. 그 결과 암세포 증식억제효과는 hexane : acetone(9 : 1) 분획이 가장 높았고, 그의 50%억제농도(IC₅₀)는 A427에서 0.018 μ g/ml로 가장 우수하였다.

이들 암세포에 대한 urushiol의 hexane : acetone(9 : 1)분획의 50%억제농도(IC₅₀)를 시판용 tetraplatin과 비교한 결과 urushiol이 tetraplatin에 대하여 L1210에서 3.4배, PC-9에서 3.9배, A427에서 105.5배의 낮은 농도에서도 동일한 억제효과를 나타냈고, KATO III에서는 다소 높았다.

ABSTRACTS

This study was conducted to screen the biological activity of urushiol in the sap of lac tree(*Rhus verniciflua* STOKES) which has been used in traditional folk remedies. Cytotoxic activity of urushiol was screened with L1210(mouse leukemia cell), PC-9(human lung adenocarcinoma cell), A427(human lung adenocarcinoma cell) and KATO III(human stomach adenocarcinoma cell)

The step-wise hexane : acetone eluent fractions of the urushiol were obtained by the silica gel adsorption column chromatography and added to the culture media containing L1210, PC-9, A427, and KATO III, respectively. A hexane : acetone(90 : 10, v/v) eluent fraction of them showed the lowest 50% inhibition concentration(IC₅₀) of 0.018 μ g/ml for the cell line of A427.

Much lower level of IC₅₀ of the hexane : acetone(90 : 10, v/v) eluent fraction of the urushiol showed the equal inhibition effect with tetraplatin(i.e., anti-cancer drug of platinum complexes) on the cancer cell lines as follows ; 3.4 times lower for L1210, 3.9 times lower for PC-9, and 105.5 times lower for A427. However, IC₅₀ of the hexane : acetone(90 : 10 v/v) eluent fraction for KATO III was exceptionally 3.9 times higher than that of tetraplatin.

Key words : Urushiol, Tetraplatin, IC₅₀(μ g/ml), Cancer cell lines(L1210, PC-9, A427, KATO III, A427)

¹ 接受 1998年 3月 3日 Received on March 3, 1998.

² 임목육종연구소 Forestry Genetics Research Institute, P.O. Box 24 Suwon, 441-350, Korea.

³ 전남대학교 농과대학 임학과 Dept. of Forestry, Chonnam National University, Yongbongdong 300, Kwangju city, 500-757, Korea.

緒 論

東洋에서는 수천년 전부터 옷나무屬 樹種에서 漆液을 채취하여 왔는데 한국, 일본, 중국은 옷나무(*Rhus verniciflua* Stokes)에서, 베트남과 대만에서는 검양옷나무(*Rhus succedanea*)에서, 미얀마 등지에서는 버마옷나무(*Melanorrhoea usitata*)에서 漆液을 얻어 도료로 사용하여 왔다. 그 중에서 한국, 일본, 중국에서 채배되고 있는 옷나무 漆液의 주성분은 urushiol이다(松井, 1963; 鄭均, 1985).

또한 urushiol은 서양의 poison ivy(*Toxicodendron radicans*)의 주성분으로서 피부가 민감한 서양인들에게는 심한 옷오름(Kalish, 1990) 때문에 옷나무를 도료나 약용자원으로 연구하지 않고 면역학적 연구나 피부염에 대한 연구를 위해 urushiol을 연구하여 왔다(Markiewitz와 Dawson, 1960; Corbert와 Billets, 1975; Epstein, 1989).

Urushiol은 C₁₅-alkyl 또는 alkenyl group을 가지고 있는 3-substituted catechol들의 복합체이며 그 주성분은 이중결합수가 3개인 3-(8'Z, 11'E, 13'Z-pentadecatrienyl)catechol이다. 지금까지 C₁₅ side-chain에 이중결합수가 0, 1, 2, 3를 가지고 있는 3-substituted alkylcatechol 13개 성분이 밝혀졌다.(Du 등, 1980, 1982, 1984a, 1984b; Yamauchi 등, 1981, 1982)

식물체로부터 항암물질을 발견하고자 NCI (National Cancer Institute)에 의해서 수집되어 L1210, P388 cancer cell line을 이용한 세포독성실험이 실시된 식물체는 35,000~114,000종에 이르며 이들 중 약 5,000종만이 세포독성효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다.

이와 같이 방대한 식물체 수집에 의해서 항암제를 찾고자 하였으나 연구를 시작한 1950년대 이래로 암발생율이 낮아지거나 항암치료에 효과를 본 우수한 약물을 개발하지 못하여 암은 아직까지 인간에게 불치의 병으로 알려져 있다. 그러나 동물세포 생리학과 암발생학의 발전으로 암에 대한 새로운 지식들이 밝혀졌고, 이를 바탕으로 새로운 항암검색 방법들이 개발되고 있다. 앞으로 암에 대한 지식이 발전하여 이를 기준으로 새로운 검색방법들이 개발되고 있으므로 이에 대한 적합한 후보물질을 함유하고 있는 생물자원의 수집과 개발이 더욱 필요할 것으로 생각된다.

옷나무는 민간에서 옷순을 식용으로 하고 옷순주를 담아 먹기도 한다. 또한 옷껍질이나 칠액을 위장병에 특효가 있다하여 약용으로 복용하여 왔다. 본 연구는 옷나무의 항암효과를 규명하고자 옷칠액중 urushiol 성분의 암세포 증식억제 효과를 밝히고자 하였다.

材料 및 方法

1. 공시 漆液

강원도 원주시 금대리 일대에서 재배하고 있는 10년생 옷나무로부터 1994년 6월에서 9월까지 채취한 옷漆液(生漆)을 구입하여 시료로 사용하였다.

2. Urushiol의 분리 및 정제

옷나무 漆液성분 중 urushiol을 분리하기 위해서 Fig. 1과 같이 1994년도에 채취된 원주산 漆液에 3배(v/v) 가량의 acetone을 첨가한 후 1시간 정도 방치하면 urushiol 성분과 다른 漆液성분(Gum, Polysaccharide, laccase, Glycoprotein)이 분리가 되며 이를 4,000rpm으로 15분간 원심분리하여 Whatman No. 2 여과지로 여과하였다. 여과된 acetone 抽出물을 감압하의 rotary vacuum evaporator(Laborota 300, Resona Co. Swiss)로 농축하여 acetone extractives를 준비하였다.

Urushiol은 漆液성분 중 laccase라는 산화효소에 의해서 자연상태에서 중합이 이루어지기 때문에 상당량의 urushiol이 고분자성 polymeric urushiol로 변하여 HPLC reversed-phase column의 오손을 가져오므로 monomeric urushiol로 정제하기 위해서 Fig. 1에서와 같이 acetone을 이용하여 분리한 acetone extractives에 hexane을 첨가하면 hexane soluble층과 insoluble층으로 분리되며 상층액을 4,000rpm 15분간 원심분리하여 Whatman No. 2 여과지로 여과한 다음 rotary vacuum evaporator에 의해서 농축시켰다. 이 농축액에 다시 acetonitrile을 첨가하면 acetonitrile soluble층과 insoluble층으로 분리되며 상층액을 4,000rpm 15분간 원심분리하여 Whatman No. 2 여과지로 여과한 후 rotary vacuum evaporator로 농축시켜 crude urushiol을 만든 다음 silica gel adsorption column chromatography에 의한 용출분획 시료로 사용하였다.

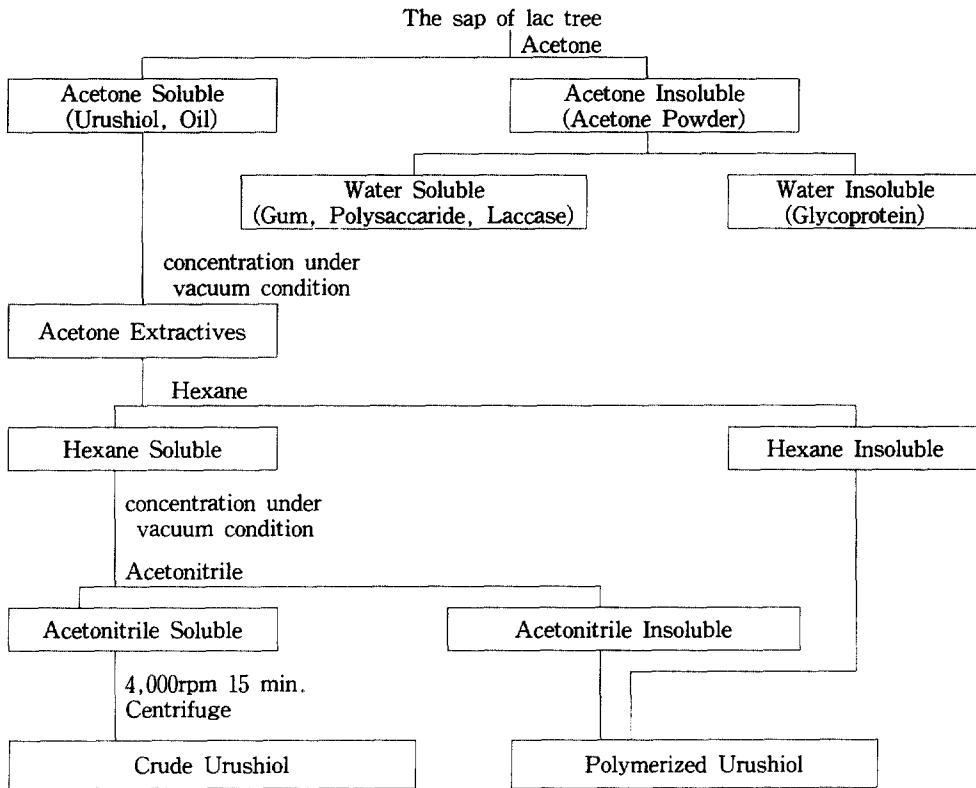


Fig. 1. Schematic diagram of the purification procedure of urushiol from the sap of lac tree.

3. Silica gel adsorption column chromatography

130°C에서 3시간 동안 활성화시킨 silica gel (230-400mesh, chromatography용, Merck Co.) 40g을 n-hexane으로 slurry를 만들어 open column(2.9×45cm)에 충전시킨 후 silica gel의 1/5에 해당하는 urushiol 시료(8g)를 loading하고 Fig. 2와 같이 hexane-acetone 용매계에서 acetone의 농도를 10%, 50%, 100% 단계적으로 증가시킨 step-wise 용출방법으로 분획하여 암세포주별 항암활성 시료로 사용하였다.

4. 분리점제

시료는 Sep-Pak(C₁₈ type)으로 전처리하고 syringe filter(0.2µm, Satorius)로 여과한 후 Table 1과 같은 조건으로 HPLC 분석과 urushiol의 주성분을 분취하였다.

5. Urushiol의 세포독성

Table 2에서 열거한 각 실험대상 세포주를 세

계적으로 사용되고 있는 항암제의 검색방법인 MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 시험법(Carmichael 등, 1987)에 의해 urushiol 세포독성을 조사하였다. 각 세포주를 단세포 현탁액으로 만든 다음 현탁액을 hemacytometer chamber에 넣고 도립 현미경 하에서 생존세포수를 계수한 후 96 well cell culture plate에 RPMI-1640(Gibco)배지 90%와 fetal bovine serum 10% 혼합배지와 적정수의 세포수를 넣은 다음 urushiol 분획을 농도별로 넣고 대조구와 함께 37°C에서 humidified 5% CO₂와 95% air incubator에서 L1210은 3일, PC-9, A427, KATO III은 4일간 배양하였다. 그 후 2mg/ml 농도의 MTT 용액을 50µl씩 각 well에 첨가한 후 4시간 동안 CO₂ incubator에서 배양한 다음 30µl정도의 배양액이 남도록 상층액을 multichannel aspirator를 사용하여 흡입 제거한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO) 150µl를 각각의 well에 첨가한 후 plate shaker로 15분간 진탕시키거나 배양액을 제거하지 않고 acidified isopropanol을

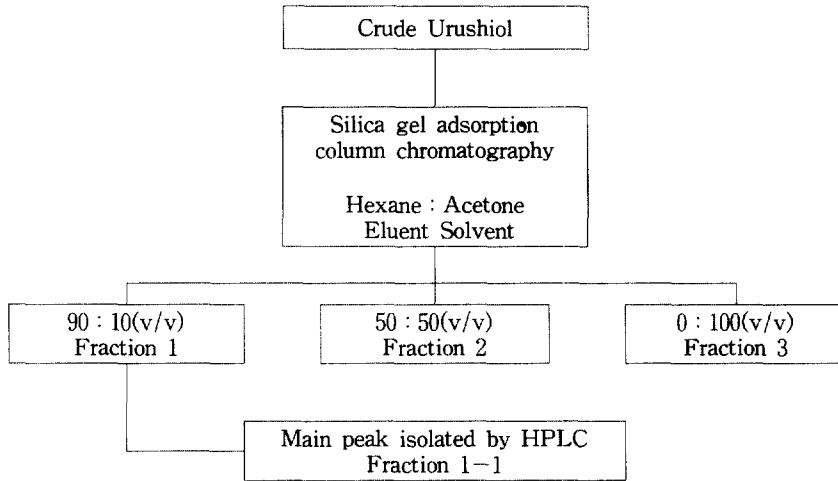


Fig. 2. Schematic diagram of the step-wise eluent fractionation of crude urushiol.

Table 1. Operating conditions of HPLC.

Instrument	Analysis Conditions
Column	Waters' Nova-Pak C ₁₈ 3.9×300mm analytical column Waters' Delta Pak C ₁₈ -300A(7.8×300mm, 15μ, spherical) semi-prep. column
Detector	Waters associates Model 441 HPLC, 441 UV detector
Wave length	254nm
Flow rate	1.0ml/min(analytical) 1.6ml/min(semi-prep.)
Mobile phase	Acetonitrile : 0.002% acetic acid(80 : 20)

Table 2. Cell lines used for this experiment.

Cell line	Origin of the cell	Source
L1210	Mouse leukemia cell	ATCC*
PC-9	Human lung adenocarcinoma cell	日本 國立癌研究所
A427	Human lung adenocarcinoma cell	日本 國立癌研究所
KATO III	Human stomach adenocarcinoma cell	ATCC

* ATCC : American Type Culture Collection

첨가한 후 ELISA reader(Dynatech, MR5000)로 540nm에서 optical density(O.D.)를 측정하였다.

비교물질로 사용된 tetraplatin은 미국 Bristol-Myers squibb사에서 현재 개발중인 제2세대 platinum complex 항암제로서 현재 시판 사용중인 carboplatin이나 cisplatin에 비해 독성은 감소되고 항암효과는 약 10배 가량 높다고 인정되는 것이다(김노경 등, 1992).

well optical density(OD)의 50%가 되는 농도를 의미한다. 반복 실험하여 구하였으며 다음과 같은 공식에 의해서 cytotoxicity(%)를 구하였다. 50% 암세포 증식억제 농도(50% inhibition concentration(IC₅₀), μg/ml)는 해당 농도에 대한 test well의 cytotoxicity(%)식을 구한 다음 직선회귀식에 의해 구하였다.

6. 50% 암세포 증식억제 농도(50% inhibition concentration(IC₅₀))

IC₅₀은 test well optical density(OD)가 control

$$\left(1 - \frac{\text{mean O.D. in test well} - \text{mean O.D. in background well}}{\text{mean O.D. in control well} - \text{mean O.D. in background well}}\right) \times 100$$

結果 및 考察

1. Urushiol의 分離와 精製

원주산 漆液을 C₁₈ Sep-Pak을 통과시킨후 0.2 μm syringe filter로 여과한 다음 HPLC분석용 칼럼으로 분석한 결과 Fig. 3과 같이 50분 후에 용출되어 나오는 성분들(F0)이 많았으나 silica gel adsorption column chromatography에서 hexane : acetone(90 : 10)용매계로 용출시킨 fraction 1(F1)은 50분 이후의 peak들이 사라졌다.

이것은 Du(1984)의 분리정제를 거친 후 HPLC 분석 결과 95% 이상이 monomer라는 결과와 fraction 1의 HPLC chromatogram과 일치하였다. 그러므로 원액 urushiol 중 50분 이후에 용출되어 나오는 성분은 urushiol monomer가 아니라 중합된 dimer나 oligomer 또는 urushiol 이외의 성분일 것으로 사료된다.

Silica gel adsorption column chromatography에서 hexane : acetone용매계로 acetone 10, 50, 100% step-wise법으로 용출한 fraction 1(F1), 2(F2), 3(F3)의 chromatogram은 Fig. 3과 같이 fraction 1은 urushiol monomer들만의 조합이었고, fraction 2는 urushiol 주성분인 3-(8'Z, 11'E, 13'Z-pentadecatrienyl) catechol의 앞시간대에 용출되어 나오는 성분들로 검양옻나무 漆液에서 발견되었고 옻나무 漆液에서는 Du(1984)에 의해서 발견된 thitsiol성분들일 것으로 추정할 수 있었다. 그러나 fraction 3은 urushiol 주성분인 3-(8'Z, 11'E, 13'Z-pentadecatrienyl)catechol과 같은 retention time에서 용출되어 나오나 세포독성효과는 없었으며 정확한 성분은 알 수 없었다. Urushiol 주성분인 3-(8'Z, 11'E, 13'Z-pentadecatrienyl) catechol은 urushiol 유사체 중 약 60%를 차지하기 때문에 단일물질만의 세포독성효과와 Du(1984)의 결과의 성분들과 비교 확인을 위

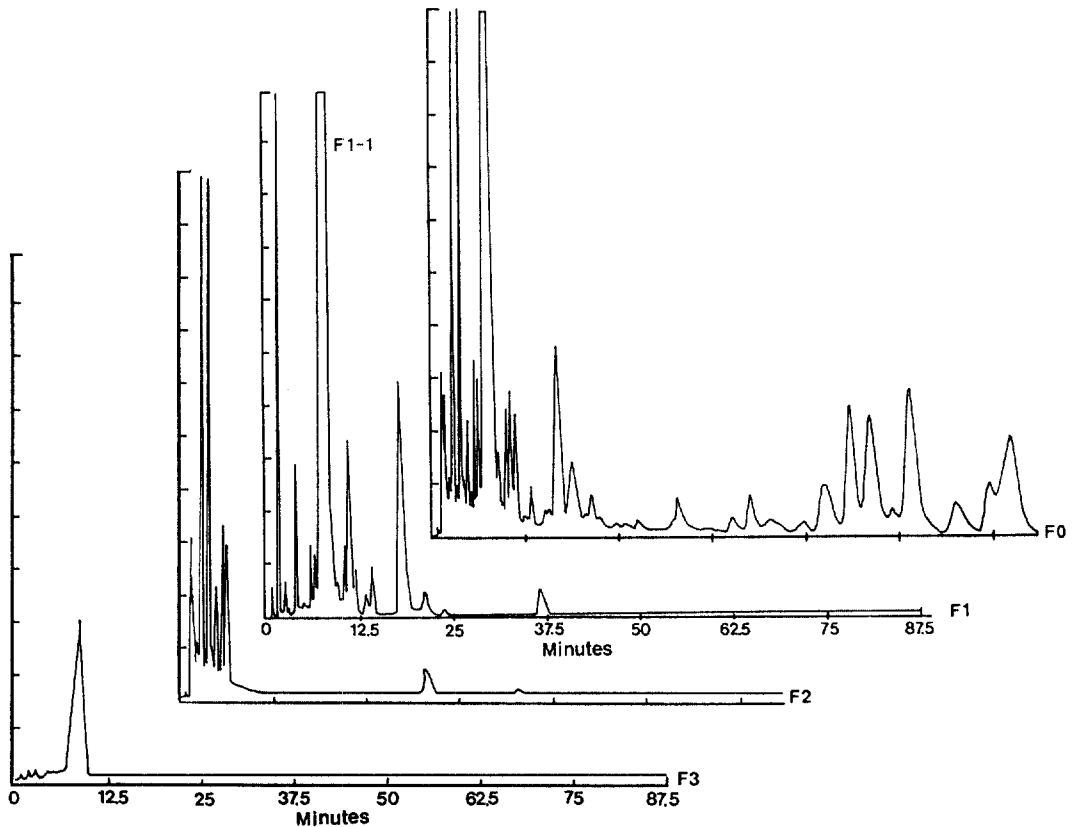


Fig. 3. HPLC chromatogram of the 4 eluent fractions(1, 2, 3, 1-1) of urushiol in lac tree sap fractionated by silica gel adsorption column chromatography.

해 fraction 1을 HPLC에 의해 semi-prep.용 칼럼으로 fraction 1-1(F1-1)만을 분취하여 항암효과 구명용으로 사용하였다.

2. Urushiol의 세포독성

(1) L1210세포주(mouse 백혈병)에 대한 cytotoxicity

동물백혈병세포인 L1210에 대한 Fraction 1, 2, 3, 1-1의 cytotoxicity(%)는 Fig. 4와 같은 경향을 나타냈고, Table 3에서와 같이 암세포 50%억제농도(IC₅₀)는 fraction 1-1에서 1.82μg, fraction 1에서 0.11μg, fraction 2에서 30μg이상,

fraction 3에서 20.56μg, tetraplatin에서 0.34μg이었으며, Table 4에서와 같이 fraction 1이 백금착제항암제인 tetraplatin에 비하여 3.1배 효과가 좋은 것으로 나타났다. Fig. 5는 L1210세포주에 대한 MTT assay 결과로서 암세포가 왕성하게 자란 well일수록 짙게 나타나고 암세포증식이 억제될수록 색깔이 옅게 나타난다. 또한 urushiol의 주성분인 fraction 1-1의 단일성분보다 monomer 들만의 조합인 fraction 1이 세포독성효과가 17.1 배 높은 것으로 나타났다. 이는 천연물에서 자주

Table 4. Relative cytotoxicity of tetraplatin to the hexane : acetone(90 : 10, v/v) eluent fraction of urushiol on the tested cell lines.

Compounds	Relative cytotoxicity index ^a			
	L1210	PC-9	A427	Kato III
Fraction 1 ^b	1	1	1	1
Tetraplatin	3.1	3.92	105.5	0.16

a : IC₅₀ of Tetraplatin / IC₅₀ of H : A(90 : 10)

b : Hexane : Acetone(90 : 10(v/v)) eluent fraction

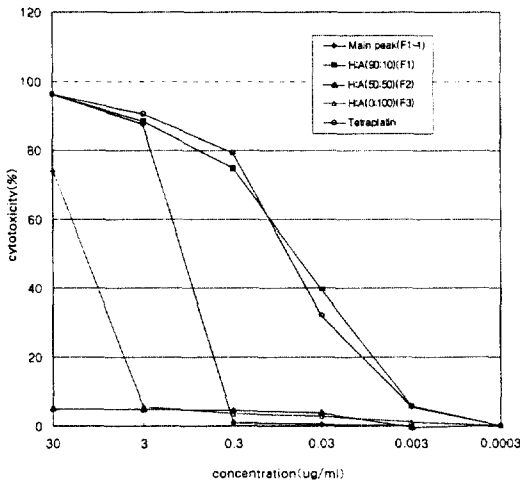


Fig. 4. Cytotoxicity of the eluent fractions of silica gel adsorption column chromatography on L1210.

Table 3. Cytotoxicity of urushiol fractions in mouse leukemia(L1210), human lung adenocarcinoma(PC-9, A427), human stomach adenocarcinoma cell lines(KATO III).

Compounds	IC ₅₀ (μg/mL)			
	L1210	PC-9	A427	Kato III
Fraction 1-1*	1.82	12.12	-	11.47
Fraction 1	0.11	1.01	0.018	1.85
Fraction 2	>30	>30	-	>30
Fraction 3	20.56	>30	-	>30
Tetraplatin	0.34	3.96	1.900	0.47

* Fraction 1-1 : monomer only, Fraction 1 : hexane : acetone(90 : 10(v/v)), Fraction 2 : hexane : acetone(50 : 50(v/v)), Fraction 3 : hexane : acetone(0 : 100(v/v)) eluent fraction. Tetraplatin : platinum complex anticancer drug.

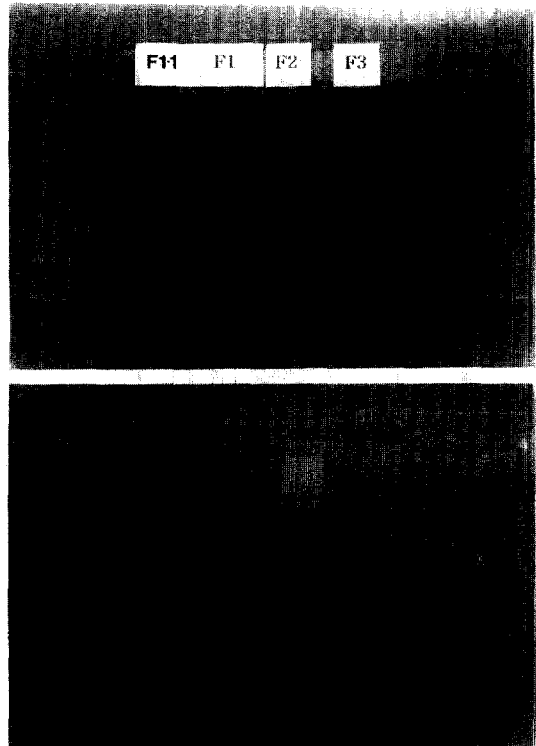


Fig. 5. MTT dye assay of the eluent fractions (F1, F2, F3, F1-1) and tetraplatin on L1210(mouse leukemia cell).

볼 수 있는 성분들간의 약효상승효과인 것으로 사료되었다.

박재갑 등(1993)은 동물백혈병세포에 의한 세포 독성검색법을 이용한 연구결과 전통 동의약 식물 96종의 효능을 검색한 결과 IC_{50} 값이 $100\mu\text{g}/\text{ml} < IC_{50} < 230\mu\text{g}/\text{ml}$ 인 엑스들은 14종의 식물로부터 추출한 14종류의 엑스이였으며, $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하인 엑스는 16종의 식물로부터 추출한 19종류의 엑스로 나타났다. IC_{50} 값이 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하인 식물로는 전호, 우방자, 백굴채, 현호색, 연교, 오배자, 황금, 권백, 천화분, NPK-PH-1, NPK-PH-2, NPK-PH-3, NPK-PH-4, NPK-PH-5, NPK-PH-6, NPK-PH-7 이였으며 특히 NPK-PH-4의 IC_{50} 값은 SNU-1세포주에서 0.607, SNU-C4 세포주에서 0.794, 그리고 SNU-354세포주는 15.9로 나타났다. Urushiol의 fraction 1 IC_{50} 값 보다는 우수하지 않았으며 urushiol이 다른 천연물에 비해 세포독성이 매우 우수한 것으로 입증되었다.

Byung과 Jeong(1989)은 현재 한방에서 암치료의 보조제로 쓰이는 울금에서 L1210세포독성효과를 나타내는 물질인 β -sesquiphenlandrene과 그의 작용을 증가시키는 arturmeroned을 분리했고, 주목에서는 최근 암치료제로 밝혀진 taxol이 극미량 함유되어 있고 난소암에 탁월한 치료효과가 입증되어 1993년 FDA로부터 신약 승인을 받았다. 세포독성효과가 우수한 urushiol도 암치료보조제나 치료제로서의 가능성을 보여 주었다.

이인경 등(1994)은 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)에서 분리한 화합물 2, 3, 4, 5의 P388 tumor cell에 대한 IC_{50} 는 화합물 2, 3, 4, 5 각각 0.18, 3.3, 15, $6.2\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로, 특히 화합물 2인 orobol의 경우 매우 높은 활성을 나타내었다. 현재 항암제로 널리 사용되고 있는 adrimycin의 P388암세포주에 대한 IC_{50} 는 $0.113\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 orobol은 adrimycin과 비슷한 정도의 세포성장 억제효과를 나타내는 물질이라 보고하였다.

반경녀 등(1995)은 모란의 뿌리抽出物 EtOAc 분획의 L1210 암세포주에 대한 $ED_{50}(\mu\text{g}/\text{ml})$ 은 2.16으로 나타났으며, Lee 등(1996)은 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)의 수피로부터 6,8-di-*p*-hydroxybenzyltaxifolin, 8-*p*-hydroxybenzyltaxifolin과 6-*p*-hydroxybenzyltaxifolin의 인체암세포주에 대한 ED_{50} 는 $2.7 \sim 31.3\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 나타났다고 하였다. 이들의 결과에 비해 urushiol의 IC_{50}

은 보다 낮은 농도에서 활성을 나타내 urushiol의 세포독성효과의 우수성을 보여주었다.

(2) PC-9세포주(인체폐암)에 대한 cytotoxicity

인체폐암세포인 PC-9에 대한 fraction 1, 2, 3, 1-1의 cytotoxicity(%)는 Fig. 6과 같은 경향을 나타냈고 Table 3에서와 같이 IC_{50} 는 fraction 1-1에서 $12.12\mu\text{g}$, fraction 1에서 $1.01\mu\text{g}$, fraction 2에서 $30\mu\text{g}$ 이상, fraction 3에서 $30\mu\text{g}$ 이상, tetraplatin에서 $3.96\mu\text{g}$ 이였으며, Table 4에서와 같이 fraction 1이 tetraplatin에 비하여 3.9배 효과가 좋은 것으로 나타났다. 또한 urushiol의 주성분인 fraction 1-1의 단일성분보다 monomer들만의 조합인 fraction 1이 세포독성효과가 12배 높았다. L1210에 대한 세포독성결과에 비해 모든 성분들에서 약 10배가량 효과가 떨어지는 경향을 나타냈고 비교물질인 tetraplatin에 대한 상대세포독성지수는 L1210와 비슷한 수치를 나타냈다.

Fig. 7은 fraction 1을 각각 $30\mu\text{g}/\text{ml}$, $3\mu\text{g}/\text{ml}$, $0.3\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 가하고 4일간 5% CO_2 95% air, 37°C 에 배양 후 세포증식 억제효과를 나타낸 것으로 $30\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리시 암세포증식이 90%이상 억제되었으며, $3\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리에서는 32% 억제되었고, $0.3\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리시에는 암세포가 왕성하게 증식되었다.

(3) KATO III(인체위암)세포주에 대한 cytotoxicity

인체위암세포인 KATO III에 대한 fraction 1,

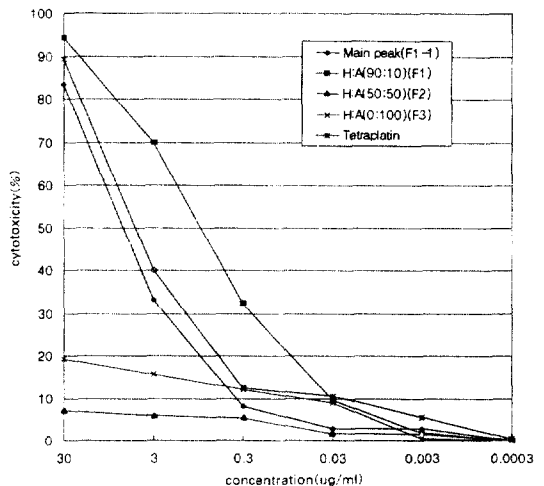


Fig. 6. Cytotoxicity of the eluent fractions of silica gel adsorption chromatography on PC-9.

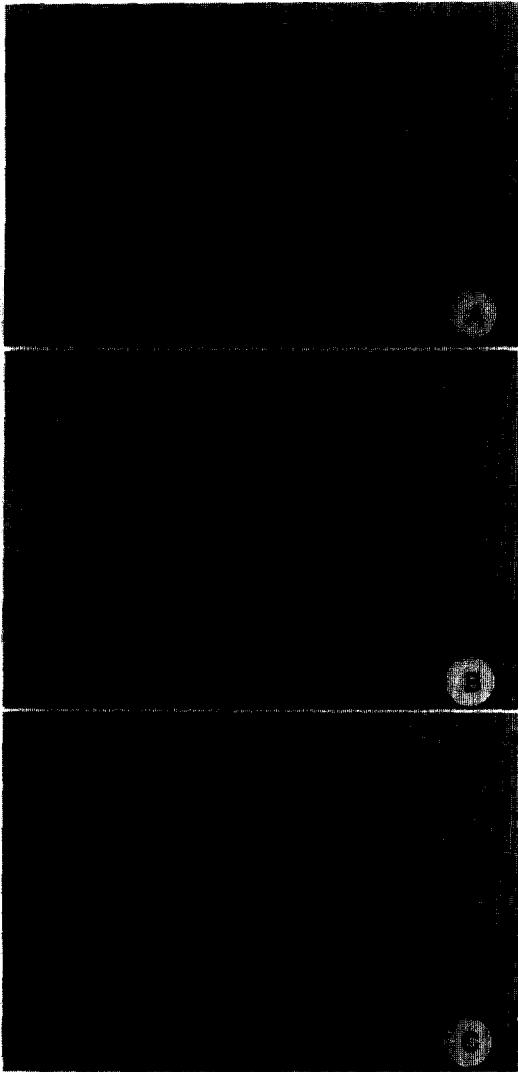


Fig. 7. Inhibition effect of the eluent fraction 1 on the growth of cell line PC-9. PC-9 was treated by the eluent fraction 1 as follows ; (A) : 30µg/ml, (B) : 3µg/ml, (C) : 0.3µg/ml.

2, 3, 1-1의 cytotoxicity(%)는 Fig. 8와 같은 경향을 나타냈고 Table 3에서와 같이 IC₅₀는 fraction 1-1에서 11.47µg, fraction 1에서 1.85µg, fraction 2에서 30µg이상, fraction 3에서 30µg이상, tetraplatin에서 0.47µg이었으며 Table 4에서와 같이 fraction 1이 tetraplatin에 비하여 3.9배 효과가 떨어지는 것으로 나타났다. 또한 urushiol의 주성분인 fraction 1-1의 단일성분보다 monomer들만의 조합인 fraction 1이 세포독성효과가

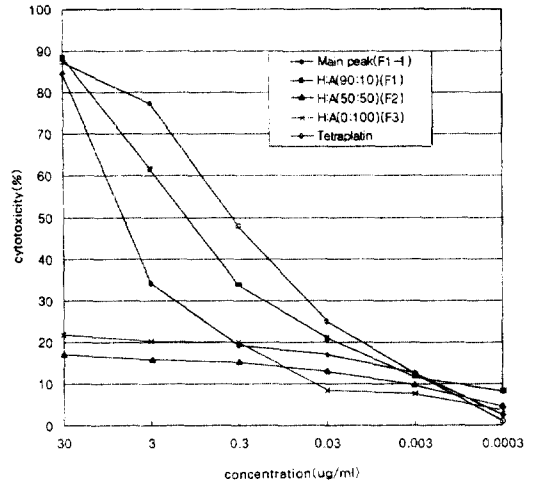


Fig. 8. Cytotoxicity of the eluent fractions of silica gel adsorption chromatography on KATO III.

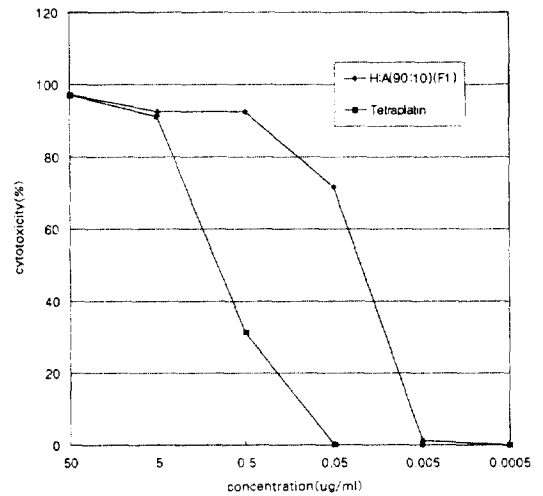


Fig. 9. Cytotoxicity of the eluent fractions of silica gel adsorption chromatography on A427.

9.6배 높은 것으로 나타나 성분들간의 약효상승 효과가 있는 것을 뒷받침해 주었다.

(4) A427(인체폐암)세포주에 대한 cytotoxicity

인체폐암세포인 KATO III에 대해서 항암효과가 가장 우수한 fraction 1만 screening을 실시하였던 바 cytotoxicity(%)는 Fig. 9와 같은 경향을 나타냈고 Table 3와 같이 암세포 50%억제농도(IC₅₀)는 fraction 1에서 0.018µg, tetraplatin에

서 1.9 μ g이었으며 Table 4에서와 같이 fraction 1이 tetraplatin에 비하여 105.5배 효과가 높은 것으로 나타나 배양기력에 붙어서 자라는 특징이 있는 A427세포주에 대하여 대단히 우수한 암세포증식 억제효과를 보여줘 암세포 증식억제 기작을 밝히는 데 중요한 결과라고 생각되었다.

이 등(1992)의 연구에 의하면 45종의 식물을 V-79배양세포를 이용한 세포독성 실험결과 *Patrinia hispida* Bunge, 나팔꽃, 사상자, 미선나무, 그령의 抽出物이 세포독성이 있는 것으로 나타났으나 세포독성결과에 대한 IC₅₀값을 구하지 않아 urushiol의 효과와 비교할 수가 없었다.

引用 文 獻

1. 김보경·김대기·박재갑·신상구·정명희·하광원. 1992. 제3세대 백금착제 항암제 신약개발. 제3세대 백금착제 항암제 신약개발 보고서(서울대의대, 선경인더스트리 연구소): 229pp.
2. 김정숙·이기동·권중호·윤형식. 1993. 산사 및 가자에테르 추출물의 항산화 효과. 한국농화학회지 36(3): 203-207.
3. 나천수·김영중·김세현·송원섭·박홍락. 1993. 特用樹育成試驗(솔나무育成試驗). 林木育種研究報告書. 140-162.
4. 나천수·김세현·류장발·송원섭·박홍락. 1994. 特用樹育成試驗(솔나무育成試驗). 林木育種研究報告書. 104-130.
5. 반경녀·이은주·양민석·김정옥·하영래. 1995. Moutan radix의 mouse sarcoma 180 cell로 유발한 mouse ascites cancer에 대한 항암효과. 한국농화학회지 38(4): 364-369.
6. 이인경·송경식·김창진·김환목·오구택·유익동. 1994. 꾸지뽕나무로부터 분리한 flavonoid계 화합물의 암세포성장 저해 및 항산화 활성. 한국농화학회지 37(2): 105-109.
7. 이인선·박성희·이인자. 1996. 전통약용식물 권백(*Selaginella tamariscina*)의 항암효과에 대한 혈액암세포주 U937의 감수성 및 그 작용기구에 대한 분자생물학적 연구. J. of Food Hygiene and Safety 11(1): 71-75.
8. 이필우·정연집. 1993. 솔나무(*Rhus verniciflua* Stokes)漆液溝의 해부학적 특성. 서울대학교 農學研究誌 17(2): 93-96.
9. 鄭均. 1985. 漆. 48pp.
10. 현정오·김만조·이세표. 1993. 產漆量이 많은 솔나무 個體의 選拔에 關한 研究. 한국임학회지 82(2): 128-138.
11. 松井悅造. 1963. 漆化學. 日刊工藝新聞社. 178pp.
12. Buckingham, J. 1994. Dictionary of Natural Products, Chapman & Hall, vol 7, 761p
13. Carmicheal, J., W.G. Degraff, A.F. Gazdar, J.D. Mina, and J. B. Mitchell. 1987. Evaluation of tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 47: 936
14. Corbertt, M.D. and S. Billets. 1975. Characterization of poison oak urushiol. J. of Pharmaceutical Science 64(10): 1715-1718.
15. Du, Y. and R. Oshima. 1984. Reversed-phase liquid chromatographic separation and identification of constituents of urushiol in the sap of the lac tree, *Rhus vernicifera*. J. of chromatography 284: 463-473.
16. Du, Y., R. Oshima and H. Iwatsuki. (1984). High-resolution gas-liquid chromatographic analysis of urushiol of the lac tree, *Rhus vernicifera*, without derivatization. J. of chromatography 295: 179-186.
17. Du, Y., R. Oshima and J. Kumanotani. 1980. Separation of japanese lac urushiol diacetate on silver nitrate-coated silica gel column by high-performance liquid chromatography. J. of chromatography 198: 49-56.
18. Du, Y., R. Oshima and J. Kumanotani. 1982. Configuration of the olefinic bonds in the heteroolefinic side-chains of japanese lacquer urushiol-separation and identification of components dimethylurushiol by means of reductive ozonolysis and high-performance liquid chromatography. Journal of chromatography. 243: 71-84.
19. Epstein, W.L. 1989. Topical prevention of poison ivy/oak dermatitis. Arch Dermatol. 125: 499-501.
20. Huang, M.T., C.T. Ho, Z.Y. Wang, T. Ferraro, Y.R. Lou, M.W. Stauber, C. Georgiadis, J.D. Laskin and A.H. Conney.

1994. Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Res.* 54 : 701-708.
21. Ishii, M., M. Takimoto, T. Miyakoshi and T. Nakamura. 1995. A continuous flow system for sensitive urushiol detection using a new chemiluminescent reaction. *Analytical Science* 11 : 79-83.
22. Kalish, R.S. 1990. The use of human T-lymphocyte clones to study T-cell function in allergic contact dermatitis to urushiol. *J. Invest. Dermatol.* 90 : 108-111.
23. Kalish, R.S. and K.L. Johnson. 1990. Enrichment and function of urushiol(poison ivy)-specific T lymphocytes in lesions of allergic contact dermatitis to urushiol. *J. Immunol.* 145 : 3706-3713.
24. Lee, I.K., C.J. Kim, K.S. Song, H.M. Kim, H. Koshino, M. Uramoto and I.D. You. 1996. Cytotoxic benzyl dihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. *Phytochemistry* 41(1) : 213-216.
25. Li, M.R. 1989. A new method for the histochemical localization of laccase in *Rhus verniciflua* STOCKES. *Forest Tree Physiology* 46 : 856-859.
26. Ma, C.Y. and M.A. Elsohly. 1980. High performance liquid chromatographic separation of urushiol congeners in poison ivy and poison oak. *J. of chromatography* 200 : 163-169.
27. Ma, C.Y., M.A. Elsohly and J.K. Baker. 1980. High-performance liquid chromatographic separation of urushiol congeners in poison ivy and poison oak. *J. of chromatography* 200 : 163-169.
28. Markiewity K.H. and C.R. Dawson. 1965. On the isolation of the allergenically active components of the toxic principle of poison ivy. *J. Org. Chem.* 30 : 1610-1613.
29. Tyman, J.H.P. and A.J. Matthews. 1982. Long-chain phenols X X II. Compositional studies on Japanese Lac(*Rhus vernicifera*) by chromatography and mass spectrometry. *J. of chromatography.* 235 : 149-164.
30. Yamauchi, Y, T. Murakami and J. Kumano-tani. 1981. Separation of urushiol by high-performance liquid chromatography on an 8% octadecylsilane chemically bonded silica gel column with electrochemical detection. *J. of chromatography* 214 : 343-348.
31. Yamauchi, Y., R. Oshima and J. Kumano-tani. 1982. Configuration of the olefinic bonds in the heteroolefinic side chains of japanese lacquer urushiol. *J. of chromatography* 243 : 71-84.