

국내 생약자원으로부터의 항종양효과의 검색

최병돈,* 엄 곤
단국대학교 미생물학과

Screening of Antitumor Activity from the Crude Drugs in Korea

Byung-Don Choi* and Kon Ryeom

Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

Abstract – These studies were designed to determine the potential cytotoxic activity of MeOH extracts of 65 crude drugs against leukemia L1210 and P388D₁ cell line *in vitro*, of which 25 samples were selected. The *n*-BuOH extracts of 25 samples were measured using the same method and nine were selected. These samples were measured for the potential antitumor activity against P388D₁ for life span *in vivo*, and against sarcoma 180 for tumor weight. On the basis of results, Notoginseng Radix, Anemarrhenae Rhizoma, Albizziae Cortex, Portulacae Herba, Bupleuri Radix were evaluated the effective plant on the antitumor activity. In addition, the mixture of Notoginseng Radix and Albizziae Cortex was evaluated to enhance the antitumor activity *in vivo*.

Key words – cytotoxicity, antitumor

천연물로부터 생리활성 물질을 찾고자 하는 연구는 선진 각국에서 많은 연구가 이루어져 왔고, 국내 의 약계에서도 각종 생약제들의 약리활성을 과학적 실험으로 규명하려는 연구가 많이 시도되고 있다.¹⁾

특히 NCI에서는 1986년에 인체암의 배양세포에 대한 세포증식억제 효과를 측정하는 disease-oriented screening 방법을 채택하고²⁾, *in vitro*에서 세포증식 저해활성을 비교하여 화합물을 선발하고 선발된 화합물은 감수성 인체 종양세포주에 대한 *in vivo* 검색을 통해 항암제를 탐색하고 있다.

*in vitro*에서 세포증식 저해활성을 측정하는 방법으로는 dye exclusion assay³⁾, colony formation assay⁴⁾, isotope uptake assay⁵⁾, SRB assay⁶⁾, FMCA assay⁷⁾ 그리고 Mosmann⁸⁾이 개발한 대사의 변화를 이용한 방법들이 있으나 그 중 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay⁹⁾이 비교적 정량적 결과를 단시일 내에 얻을 수 있어 *in vitro* screening에 널리 이용되고 있다.¹⁰⁾

천연물로부터의 탐색은 모든 식물들의 약 5%만이 약리작용에 대한 검색이 이루어진 실정으로 보면 앞으로도 무궁한 개발 가능성을 가지고 있다. 그러나 천연물의 약효는 그 중에 함유된 특수한 어느 한가지

성분이나 또는 공통된 몇개의 성분들만이 가지고 있는 약리활성에 의한 것이라기 보다는 그 활성이 각각 다를 수도 있는 전체 활성성분간의相加, 相乘, 相殺作用의總和이므로 현대 약물학적 관점으로는 해석하기 어려운 점이 많고, 또 그 해석이 가능하다 하더라도 약효검정방법과 분리조건에 따라서 전혀 다른 약효성분이 분리되기도 하여 이를 일반화시키기에 상당히 어려운 문제점을 안고 있는 실정이다. 그러나 합성화합물은 일반적으로 부작용이 강하기 때문에 한편으로는 부작용을 감소시키고 효과를 증대하고자 2종 이상의 항암제 및 천연물을 복합 투여하는 실험이 진행되고 있으나 실효를 거두지 못하는 실정이다¹¹⁾. 따라서 이에 관한 연구의 일환으로 본 논문에서는 이러한 천연물로부터의 항종양물질을 개발하고자 가능성이 높은 전통생약을 검색함으로써, 천연물의 생리활성물질에 대한 경험적 연구추적을 목적으로 삼았다.

재료 및 방법

시료의 조제 – 총 65종의 생약을 100 g씩 세절하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 생약은 경동시장 및 시내 한약방에서 구입하였으며 이 생약들을 가지고 *in vitro*에서 세포독성능을 측정하였다. 각 시료는 Meth-

*교신저자 : Fax 0331-281-8397

anol을 사용하여 수욕상에서 4시간씩 2회 추출하고 추출액을 모아 감압농축한 후 생약 엑스를 만들어 실험에 사용하였다. 각 엑스는 50% DMSO용액에 녹여 membrane filter(pore size; 0.22 µm)로 제균한 뒤 실험 직전에 D-PBS로 희석하였고, 측정에 사용된 농도는 m당 1 mg부터 0.01 µg까지 10배씩 희석하였다. 유효성은 세포독성을 나타내는 값의 결과에 따라 IC₅₀이 100 µg/ml이하되는 것만을 선별하였다.

이 선별된 27종 생약의 메탄올엑스를 가지고 재시험을 위한 시료를 조제하였다. 조제방법은 선별된 메탄올엑스를 물에 분산시키고 에칠에틸로 2회 세척한 후 물층을 n-BuOH로 2회 추출하여 부탄올 층을 모으고 감압증발시켜 부탄올엑스를 조제하였다. 이 엑스를 50% DMSO에 용해하고 D-PBS로 100 µg/ml 농도부터 5배씩 0.032 µg/ml까지 희석한 후 세포독성능을 측정하였다. 최종 선별은 IC₅₀이 20 µg/ml이하되는 것만을 선별하였다. 별도로, 혼합투여를 위한 시료의 조제는 각 시료의 부탄올엑스를 동량씩 섞어 측정하였다.

in vitro에서의 세포주의 검정 및 독성 측정 - 세포주의 검정 : 세포주로는 mouse lymphocytic leukemia cell인 L1210과 P388D₁를 사용하였다. 이들은 건국대학교 동물자원 연구소로부터 분양받아 계대배양해 온 것이다. 이 세포주를 well당 5×10³, 1×10⁴, 2.5×10⁴, 5×10⁴, 1×10⁵ 세포수가 되도록 넣어주고 5일간 배양한 후에 MTT (Sigma Co.) assay법¹²⁾으로 실험하여 증식상태를 조사하였다.

세포독성 측정방법 : 세포배양은 3차증류수에 L-glutamine이 포함된 RPMI1640, EMEM 배지를 녹여 사용하였고, 10%우태아 혈청 [Fetal Bovine Serum (FBS), Sigma Co.]과 1%Antibiotic-Antimycotic solution(100×) 혹은 Penicillin G 100 IU/ml, Streptomycin 100 µg/ml을 첨가하였다. 세포배양 배지는 Thio-glycollate broth에 상,하 0.5 ml씩 배지를 접종하여 30°C에서 3일간 배양한 후 오염여부를 판단하였다. 세포주는 37°C, 5%CO₂가 유지되는 항온항습기에서 3-4일 동안 배양한 후 cornical tube를 사용하여 (15 ml, 50 ml) 450×g로 5분동안 원심분리하여 Ca과 Mg이 없는 D-PBS(phosphate buffer saline, pH:7.4)로 한번 세척한 후 새로운 배지에 부유시켜 culture flask (Nune Co.)에 접종한 후 CO₂ incubator(Yamato Co.)에서 배양하고 Fig. 1의 방법에 따라 실험하였다. 대조군은 D-PBS만으로 처리하였다. 모든 실험은 3개의 well을 사용하여 평균치를 구하였고 동시에 동일 실

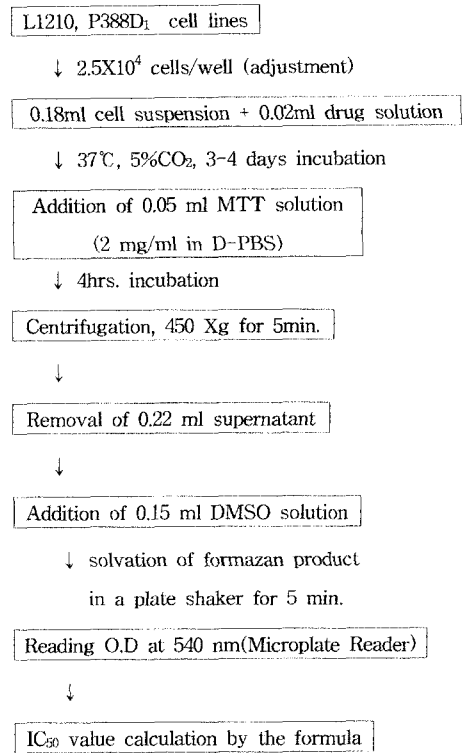


Fig. 1. Experimental procedure of MTT assay

험을 3차례 실시한 후 흡광도를 대조군의 흡광도와 비교하여 다음의 공식에 따라 생존율(%)을 구하였다.

$$\text{생존율} = \frac{\text{실험군의평균흡광도} - \text{기준흡광도}}{\text{대조군의평균흡광도} - \text{기준흡광도}} \times 100$$

생약추출물의 세포 독성능은 세포의 증식을 50% 억제할 수 있는 농도 (50% Inhibitory Concentration; IC₅₀)값으로 나타내었으며 본 실험에서 사용한 MTT 검정법에서는 흡광도가 대조 well에 비해 50% 감소한 값으로 결정하였다.

in vivo에서의 독성 측정 - 세포주의 조제 및 이식 : 최종 검색에서 선별된 9종 생약의 부탄올 엑스를 가지고 in vivo 및 in vitro에서 실험을 실시하였다. in vivo에서는 서울대학교 동물실험실로부터 분양받아 사육한 5~6주령(20 g±2 g)된 Balb/c mice를 사용하였다. 사료는 mouse형 고형사료(삼양사료)를, 물은 상수를 공급하였으며 온도 23±2°C, 상대습도 55±5%에서 안정시키고 사용하였다. 세포주로는 P388D₁과 cancer chemotherapy screening에 사용되는 sarcoma 180을 사용하였고 동물시험은 각 군을

10마리씩으로 하였다. 또한 정상세포주인 Vero E6(kidney, Africa Green Monkey)를 가지고 *in vitro*에서 세포독성을 측정하였다. 세포주는 실험동물의 복강내에서 2회 계대배양한 후 D-PBS로 세척하고 0.4% trypan blue (Gibco Co.)로 염색하여 살아있는 세포를 계수하였다. P388D₁은 1×10⁶ cells/ml의 0.1 ml를 복강내 이식하였고 sarcoma180은 2×10⁶ cells/ml의 0.1 ml를 왼쪽 서혜부 피하에 이식하였다.

시료의 조제 및 투여 : 생약의 부탄을 엑스를 5 mg/ml의 농도로 증류수에 용해하고 용해성이 불량한 것은 Tween 80을 10-20% 첨가하였다. 시료를 완전히 용해한 다음 0.45 μm filter로 여과하고 세포주의 이식 후 24시간이 지나서 시료를 0.2 ml/(50 mg/kg/day)씩 5일간 복강내로 주사하였다. 별도로 대조군에는 증류수 또는 Tween 80이 첨가된 증류수만을 주사하였다.

세포독성 측정 : 생약엑스를 투여한 mice를 계속 관찰하면서 P388D₁을 이식한 mice는 생존일수 (life span)를 측정하였고, sarcoma180을 이식한 것은 4주째 되는 날 경추 탈구시켜 서혜부 종양을 분리하고 그 중량(tumor weight)을 측정하여 다음의 공식에 의해 독성을 측정하였다.

sarcoma180 세포주에 대한 종양억제율(%) =

$$(1 - \frac{\text{투여군의 평균종양중량}}{\text{대조군의 평균종양중량}}) \times 100$$

P388D₁세포주에 대한 생존연장율(%) =

$$(1 - \frac{\text{투여군의 평균생존일수}}{\text{대조군의 평균생존일수}}) \times 100$$

시료의 독성 측정 : *in vivo*에서 시료가 mice에 미치는 독성을 조사하기 위해 약 6주령된 Balb/c mice를 각 군당 5마리씩으로 하여 측정하였다. 시료를 알맞은 농도로 계속 희석해 가면서 0.2 ml를 복강내 1회 주사하고 일주일을 관찰하였다. 독성 판정법으로는 검체를 투여 후 실험동물이 1주일 이내 100% 죽는 투여량을 LD₅₀ (최소치사량, minimum lethal dose)으로 나타내었다. *in vitro*에서는 정상세포주인 Vero E6에 대한 세포독성실험을 병행하였고 별도로, 비교약물로 항암제인 Adriamycin(일동제약)을 사용하였다.

통계학적 분석 : 모든 자료는 mean±standard deviation (S.D.)으로 나타내었으며 유의성 검정은 student's t-test를 행하였다.

결과 및 고찰

세포주의 활성 : 천연물로부터의 활성측정은 많은 종류의 성분이 혼재되어 있음으로서 검색하고자 하는 약작용 또는 독성작용 성분에만 예민하게 반응하는 적절한 실험동물 모델이 혼치 않다는 점이다. 이번 연구에 사용된 P388D₁ 마우스 암세포는 비교적 천연물의 항암작용을 검색하는데 적합하기 때문에 *in vitro*나 *in vivo*에 많이 사용되고 있다. 이 실험에서 사용된 L1210, P388D₁ 세포주에 대한 각각의 well 당 세포수와 이에 따른 MTT assay법에 의한 세포증식과의 관계는 서로 비례적으로 증가하여 세포주의 증식상태는 양호한 것으로 나타났다. 또한, 96 multiwell plates에서 5일간 배양한 결과 각기 2.5×10⁴ cells/well의 수가 가장 증식률이 높아 실험을 하기에 가장 최적의 농도임을 알 수 있었다.

1차 검색(Table I) : 천연물에는 생리활성을 나타내는 여러 성분들이 존재하는데 이러한 성분들은 MeOH에 양호하게 추출된다. 일반적으로 천연물의 추출에는 극성에 따른 계통적 추출법을 많이 이용하고 있는데 비교적 극성이 낮은 CHCl₃으로 추출하고 극성이 높은 BuOH 및 EtOAc로 추출하는 방법을 따른다. 그러나 여기에서는 최초 MeOH ex.를 사용함으로써 극성이 높은 phenol성 화합물을 주대상으로 삼았으며, 이 생약들의 세포독성을 측정한 결과 42%의 선별을 보여 주었는데 강 등¹³⁾은 28%가 효과가 있었다고 보고하였고, 박 등¹⁴⁾은 A549 cell line을 이용하여 측정한 결과 생약 32종 중 20 μg/ml이하에서는 세포독성이 하나도 없었다고 보고하였으며¹⁵⁾, NCI에서의 결과에 의하면 매년 약 2000종이 스크린되는데 이중 약 3%정도가 유효한 것으로 보고되어¹⁶⁾선별에 따른 많은 차이를 보이고 있었다. 본 실험에서는 총 65종 생약 중 IC₅₀이 100 μg/ml 이하인 것이 L1210세포주에서 23종, P388D₁세포주에서는 26종을 보여주었다.

2차 검색(Table I) : 1차 검색으로부터 선별된 검체들을 가지고 다시 n-BuOH로 분배 추출하였다. 이는 액상 분배추출에 있어서 특정성분이 특정용매에 완전히 분배되지 않는 특성을 고려하여 정제과정의 일면으로써 배당체 및 saponin 등의 비교적 분자량이 작은 물질들을 분리하고자 n-BuOH를 사용한 것이다. 예를 들면, steroid계 화합물은 천연에 광범위하게 존재하며 강심, 이노, 항암 등 여러작용이 있으나 이의 배당체인 saponin은 용혈작용¹⁷⁾으로 인하여 적용에 어

Table I. Cytotoxicity[IC₅₀ (μg/ml)] of each extract from crude drugs

Crude drug			MeOH extract		<i>n</i> -BuOH extract	
	L1210	P388D ₁	L1210	P388D ₁	L1210	P388D ₁
<i>Puerariae Radix</i> (葛根)	m	50	b		b	
<i>Glycyrrhizae Radix</i> (甘草)	m	m	.*		-	
<i>Farfarae Flos</i> (款冬花)	m	m	-		-	
<i>Sophora flavescens Radix</i> (苦參)	20	20	8		20	
<i>Meliae azedarachis Cortex</i> (苦連皮)	10	50	b		b	
<i>Trichosanthis Semen</i> (括蕒仁)	50	100	b		b	
<i>Capsici Fructus</i> (苦椒)	m	m	-		-	
<i>Lycii Fructus</i> (枸杞子)	m	m	-		-	
<i>Dianthi Herba</i> (瞿麥)	m	m	-		-	
<i>Rosae Fructus</i> (金櫻子)	m	m	-		-	
<i>Platycodonis Radix</i> (桔梗)	60	100	b		b	
<i>Sophorae Flos</i> (槐花)	m	m	-		-	
<i>Codonopsis Radix</i> (黨參)	m	m	-		-	
<i>Cirsii Herba</i> (大薊)	m	m	-		-	
<i>Zizyphi Fructus</i> (大棗)	m	m	-		-	
<i>Persicae Semen</i> (桃仁)	m	m	-		-	
<i>Portulacae Herba</i> (馬齒莧)	20	70	5		10	
<i>Rhodeae Radix</i> (萬年青)	m	m	-		-	
<i>Liriopsis Tuber</i> (麥門冬)	m	m	-		-	
<i>Momordicae Semen</i> (木鱧子)	m	m	-		-	
<i>Akebiae Lignum</i> (木通)	m	m	-		-	
<i>Chelidonii Herba</i> (白屈菜)	70	50	b		b	
<i>Pulsatillae Radix</i> (白頭翁)	m	m	-		-	
<i>Tribuli Fructus</i> (疾梨子)	m	m	-		-	
<i>Hoelen</i> (茯苓)	m	m	-		-	
<i>Tokoro Rhizoma</i> (卑薺)	m	m	-		-	
<i>Adenophorae Radix</i> (沙參)	90	50	b		b	
<i>Luffae Fructus</i> (絲瓜絡)	m	m	-		-	
<i>Crataegi Fructus</i> (山楂子)	20	10	8		15	
<i>Corni Fructus</i> (山茱萸)	m	m	-		-	
<i>Dioscoreae Radix</i> (山藥)	m	m	-		-	
<i>Zizyphi spinosi Semen</i> (酸棗仁)	m	m	-		-	
<i>Notoginseng Radix</i> (三七根)	70	20	b		10	
<i>Phytolaccae Radix</i> (商陸)	m	m	-		-	
<i>Calystegiae Herba</i> (旋花)	m	m	-		-	
<i>Dipsaci Radix</i> (續斷)	m	m	-		-	
<i>Cimicifugae Rhizoma</i> (升麻)	m	50	b		b	
<i>Bupleuri Radix</i> (柴胡)	100	30	20		2	
<i>Forsythiae Fructus</i> (連翹)	10	60	b		b	
<i>Glechomae Herba</i> (連錢草)	m	m	-		-	
<i>Acanthopanax Cortex</i> (五加皮)	m	m	-		-	
<i>Vaccariae Herba</i> (王不留行)	60	50	20		20	
<i>Achyranthis Radix</i> (牛膝)	m	50	b		b	
<i>Polygalae Radix</i> (遠志)	100	50	b		b	
<i>Clematidis Radix</i> (威靈仙)	m	70	b		b	
<i>Myristicae Semen</i> (肉豆蔻)	m	m	-		-	
<i>Lonicerae Flos</i> (忍冬)	30	20	b		b	
<i>Ginseng Radix</i> (人參)	20	50	b		b	
<i>Asteris Radix</i> (紫苑)	m	m	-		-	
<i>Centellae Herba</i> (積雪草)	m	m	-		-	
<i>Gleditschiae Fructus</i> (皂莢)	10	50	10		10	
<i>Lycii Radicis Cortex</i> (地骨皮)	70	100	b		b	

Table I. Continued

Crude drug			MeOH extract	<i>n</i> -BuOH extract
	L1210	P388D ₁	L1210	P388D ₁
<i>Anemarrhenae Rhizoma</i> (知母)	10	80	5	20
<i>Sanguisorbae Radix</i> (地榆)	m	m	-	-
<i>Arisaematis Rhizoma</i> (天南星)	50	80	b	b
<i>Gastrodiae Tuber</i> (天麻)	m	m	-	-
<i>Asparagi Tuber</i> (天門冬)	50	m	b	b
<i>Trichosanthis Radix</i> (天花粉)	100	70	b	b
<i>Strongylodonis Semen</i> (總木)	m	m	-	-
<i>Lycopi Herba</i> (澤蘭)	m	m	-	-
<i>Alismatis Rhizoma</i> (澤瀉)	m	m	-	-
<i>Smilacis Rhizoma</i> (土茯苓)	m	m	-	-
<i>Prunellae Herba</i> (夏枯草)	m	m	-	-
<i>Albizziae Cortex</i> (合歡皮)	10	40	10	15
<i>Astragali Radix</i> (黃芪)	80	20	b	b

m : Cytotoxicity[IC₅₀ (g/ml)] > 100

b : Cytotoxicity[IC₅₀ (g/ml)] > 20

* : not examined

려움을 준다. 그러나 당의 결합빈도에 따라 용혈작용의 차이가 발생하므로 구조적인 해석과 더불어 개발의 가치를 안고 있다. 여기서는 IC₅₀이 20 µg/ml 이하인 것이 L1210세포주에서 8종, P388D₁세포주에서는 9종을 보여주었다.

선별시료의 측정(Table II) : *In vivo*에서는 항암성분들이 종양세포에 직접 작용하기도 하지만 자기방어 기능을 활성화시킴으로써 항암효과를 나타내는 작용으로 인하여 *in vivo*상의 세포독성 실험이 항암작용의 기전을 밝히는데 매우 중요하며 전임상실험의 예비단계로서 가치가 있다고 여겨진다.¹⁸⁾ 최종 선별된 9종 생약의 항종양효과를 보면, P388D₁세포주에 대한 수

명연장 효과는 *Notoginseng Radix*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Albizziae Cortex*가 p<0.01로 유의성 있는 증가를 보였다. sarcoma180의 종양중량은 *Portulacae Herba*, *Notoginseng Radix*, *Bupleuri Radix*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Albizziae Cortex*에서 유의성 있는 감소를 보였다. 또한 mouse에 대한 독성은 *Notoginseng Radix*가 가장 독성이 적었으며 *Vaccariae Herba*, *Gleditschiae Fructus*는 독성이 너무 커서 항종양효과를 시험하기에 의미가 없는 것으로 판단되었다. 특히, *Albizziae Cortex*는 종양세포 독성에서 강 등¹³⁾이 보고한 20 µg/ml보다 우수한 10 µg/ml을 보여주었고 정상세포 독성에서는 Adriamycin에 비해 독성이

Table II. Toxic effect of *n*-BuOH extract from crude drugs

Cell line Crude drug	P388D ₁		Sarcoma 180		Toxicity	
	Life time (day) ¹⁾	Life span rate(%)	Average tumor weight(g) ¹⁾	Inhibition rate(%)	LD _{min} (mg/kg) ²⁾	Vero E6 (IC ₅₀ ,µg/ml)
Control	14.1±1.1	-	6.26±0.92	-	-	60 ³⁾
<i>Sophorae flavescents Radix</i>	14.6±1.5	104	6.51±1.02	-	500	250
<i>Portulacae Herba</i>	13.5±1.3	96	5.27±0.93*	15.8	300	160
<i>Crataegi Fructus</i>	14.4±1.3	102	6.32±0.76	-	700	380
<i>Notoginseng Radix</i>	18.5±1.6**	131	3.47±0.71**	44.6	1000	420
<i>Bupleuri Radix</i>	16.2±1.9*	115	4.18±0.77**	33.2	800	100
<i>Vaccariae Herba</i>	T	-	T	-	20	40
<i>Gleditschiae Fructus</i>	T	-	T	-	10	50
<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	17.5±1.7**	124	4.851.04*	22.5	350	150
<i>Albizziae Cortex</i>	18.6±1.7**	132	3.810.97**	39.1	100	90
<i>Noto. Ra. + Albi. Co.</i>	25.9	184	3.151.19*	49.7	800	300

T: Toxic, -: Not significant, *: p < 0.05, **: p < 0.01

¹⁾: mean±S.D. ²⁾: minimum lethal dose, ³⁾: against Adriamycin

약한 것으로 측정되어 더 많은 연구가 필요할 것으로 판단되며 *Notoginseng Radix*도 우수한 항종양효과를 보여주었다. 그리고 별도로 이들 두 엑스의 병용효과를 측정하기 위하여 부탄을 엑스의 혼합시료를 만들어 측정하여 본 결과 *in vitro*에서는 20 $\mu\text{g/ml}$ (L1210)과 10 $\mu\text{g/ml}$ (P388D₁)을 나타내 특이한 사항은 발견되지 않았으나, *in vivo*에서는 Table II에 나타낸 바와 같이 비록 편차는 많았으나 수명연장효과가 두드러지게 증가한 것으로 판단되었다. *Notoginseng Radix*는 *Panax ginseng*류와 비슷한 종류로써¹⁹⁾ 실험재료가 *n*-BuOH ex.인 것으로 보아 기타성분이 세포독성을 나타내거나 면역계에 의한 영향일 것으로 추측되고 있어²⁰⁾ 현재 이들의 연구가 진행 중이다. 따라서 이들의 상호조합 또는 기존 항암제와의 병용투여에 관한 효과를 조사하며 또한 더 나아가 이들의 물질이 세포에 미치는 독성의 기작을 연구하고 이를 응용한 유도체의 개발이 앞으로의 연구과제이다. 그러나 아직까지 밝혀진 생약의 활성성분은 극히 일부에 지나지 않는다고 해도 과언이 아니므로 현시점에서 활성성분에 의해 생약의 특성을 총괄하기는 어렵다. 따라서 생약이 가지고 있는 특성과 문제점을 현대적으로 해석해야 하는 것이 급선무이고 이를 통하여 새로운 치료영역의 개발 및 새로운 약리기전을 가지는 신약의 창제를 위한 가능성을 제시하여야 할 것으로 여겨진다.

결 론

국내에 자생하는 식물로부터 생약으로 사용되는 65종을 선정하여 종양세포에 독성을 나타내는 생약들의 세포 독성능을 알아보고자 하였다. 생약 65종의 MeOH 추출물을 *in vitro*에서 L1210과 P388D₁ cell을 대상으로 MTT assay법을 이용하여 세포독성능을 측정하였고 그 결과 IC₅₀이 100 $\mu\text{g/ml}$ 이하인 생약을 27종 선정하였다. 다음 이 시료의 부탄을 추출물을 가지고 2차로 세포독성능을 측정하여 IC₅₀이 20 $\mu\text{g/ml}$ 이하인 생약 9종을 선정하였다. 이 생약엑스를 시료로 하여 각각 *in vivo*에서 P388D₁과 sarcoma180을 대상으로 Balb/c mice를 이용하여 생존연장일수 및 종양퇴행률을 측정하였다. 이 실험의 결과로 *Notoginseng Radix*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Albiziae Cortex*, *Portulacae Herba*, *Bupleuri Radix* 등이 유의성 있는 항종양효과를 나타내었으며, 특히, *in vivo*에서는 *Notoginseng Radix*와 *Albiziae Cortex*의 혼합물이 상

승효과를 나타내는 것으로 보여 앞으로 많은 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

인용문헌

1. Ahn, B. Z., (1989) Antitumor activities of some natural and synthetic flavones against L1210 and S-180 cells. Proc. Int. Sym. on new drug development from natural products, Pub. by The Korean Society of Pharmacognosy, pp. 1-18.
2. Benjamin, D., M. Patchen, L. Y. Yang and B. Barlogie, (1981) Differential killing efficacy of twenty antitumor drugs on proliferating and nonproliferating human tumor cells. *Cancer Research*, 41:2328-2333.
3. Roper, P. R. and B. Drewinko, (1976) Comparison of *in vitro* methods to determine drug-induced cell lethality. *Cancer Res.*, 36:2182-2187.
4. Hamburger, A. W. and S. E. Salmon, (1977) Primary bioassay of human stem cells. *Science*, 29:461-463.
5. Tanigawa, N., D. H. Kern, Y. Hikasa and D. L. Morton, (1982) Rapid assay for evaluation the chemosensitivity of human tumors in soft agar culture. *Cancer Res.*, 42:2159-2165.
6. Skehan, P., R. Storeng, D. A. Scudiero, A. Monks, J. Macmahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney and M. R. Boyd, (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, 82:1107-1112.
7. Larsson, R., J. Kristensen, C. Sandberg and P. Nygren, (1992) Laboratory determination of chemotherapeutic drug resistance using a fluorometric microculture cytotoxicity assay (FMCA). *J. Natl. Cancer Inst.*, 50:177-182.
8. Mosmann, T., (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival; Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65:55-60.
9. Carmichael, J., W. G. Degraff, A. F. Gazdar, J. D. Minna and J. B. Mitchell, (1987) Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay; Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, 47:936-942.
10. Regina, L. R. and R. H. Neubauer, (1987) Semi-automated colorimetric assay for *in vitro* screening of anticancer compounds. *Cancer Treatment Reports*, 71:1141-1149.
11. 김남재, 홍남두, 조종관, (1991) 생약복합제와 항암제의 병용투여에 관한 연구. *Kor. J. Pharmacogn*, 22:

- 197-206.
12. Carmichael, J., J. G. Park, B. S. Cramer, S. M. Steinberg, J. D. Minna and A. F. Gazdar, (1987) Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium based colorimetric assay. *Cancer Res.*, 47:5875-5879.
 13. Lee, J. H., K. S. Kang and B. Z. Ahn, (1986) Antineoplastic natural products and the analogues (XI); Cytotoxic activity against L1210 cell of some raw drugs from the oriental medicine and folklore. *Kor. J. Pharmacogen*, 17:286-290.
 14. Park, S. Y. and J. W. Kim, (1992) Screening and isolation of the antitumor agents from medicinal plants (I). *Kor. J. Pharmacogn*, 3:264-267.
 15. Bae, K. H., B. S. Min, D. S. Do, N. S. Kim, K. J. Yang and B. Z. Ahn, (1992) Screening on cytotoxicity of medicinal plants against L1210 cell. *Yakhak Hoeji*, 36:491-495.
 16. Dewick, P. M. (eds. by G.E. Trease, and W.C. Evans), (1983) Tumor inhibitors from plants. *pharmacognosy*, 12, Bailliere Tindall. pp. 629-641.
 17. Lee, S.W., J.S. Lee, S.K. Lee, C.K. Ok and Y.H. Kim, (1989) Effect of ginseng saponin, gypsophila saponin and detergents on volume changes and fragility of red blood cells. *Yakhak Hoeji*, 33:15-19.
 18. Hah, J. C., E. S. Choe, T. H. Rhew, H. S. Young and K. Y. Park, (1991) Antitumor effect of selected medicinal plant components to implanted sarcoma 180 in the mouse. *J. Kor. Cancer Res.*, pp. 197-205.
 19. Joseph, H. C. L. and E. J. Stara, (1980) The ginsenosides of various ginseng plants and selected products. *J. Nat. Prod.*, 43:340-346.
 20. Hwang, W. I. and M. S. Cha, (1978) A cytotoxic activity of extract of *Panax ginseng* root against some cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Proc. 2nd. Inter. Ginseng Symp., pp. 47-49.

(1999년 11월 29일 접수)