

단삼(*Salvia miltiorrhiza*) 추출물의 암세포 증식 억제 효과에 관한 연구

정국찬 · 이지영 · 김동침* · 서성옥** · 황우익†

고려대학교 의과대학 생화학교실

*순천제일대학 식생활과

**고려대학교 안암병원 일반외과

Inhibitory Effect of *Salvia miltiorrhiza* Extract on Growth of Some Cancer Cells

Guo Can Cheng, Ji-Young Lee, Dong Chung Kim*, Sung-Ock Suh** and Woo-Ik Hwang†

Dept. of Biochemistry, Medical College, Korea University, Seoul 136-701, Korea

*Dept. of Food Science, Suncheon First College, Suncheon 540-744, Korea

**Major in General Surgery, Dept. of Medical Science, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Abstract

This study was performed to evaluate the antitumor activities of water and ethanol (EtOH) extract of *Salvia miltiorrhiza* *in vitro* and *in vivo*. The proliferation of the human hepatoma (HepG2), rectum cancer (HRT-18) and colon cancer (HT-29) cells was inhibited by administration of extracts in a dose-dependent manner. Particularly, EtOH extract inhibited proliferation of the cells more effectively than water extract did. The morphology of cells induced by EtOH extract was characterized by reduction of cell size and deformation. Oral administration of the EtOH extract (3 mg/head) to tumor-bearing mice inhibited the tumor (sarcoma-180) growth by 35% and prolonged their survival rate by 61%. The EtOH extract was shown to be nontoxic at 37.5 mg/head/day on the acute toxicity test. These studies suggest that the EtOH extract of *Salvia miltiorrhiza* may have antitumor activity *in vitro* and *in vivo*.

Key words: antitumor activity, *Salvia miltiorrhiza*, EtOH extract

서 론

항암제 개발전략의 최근 동향은 화학적 합성물질 또는 천연물로부터 유래하는 많은 후보물질의 약효여부를 조직적으로 검색하는 것이다(1,2).

기존의 항암치료제로 사용되는 합성항암제는 부작용이 심하므로 천연물질을 대상으로 항암성에 관한 검색이 많이 시도되고 있다(3,4). 식품이나 천연생약제 등에서 활발히 연구되고 있는 요즘, 특히 녹색채소와 황색채소 등에서 얻은 carotenoid류도 항암활성을 가지고 있다는 것이 알려졌으며(5) 이외에도 쑥의 석유에텔 추출물에서도 항암효과를 나타낸다는 보고가 있었다(6).

이와 같이 천연항암제에 대한 연구는 식품에서 뿐만 아니라 한국산 생약제(7), 인삼과 계피(8) 및 과루인과 백계자(9) 등 생약제를 대상으로 항암성을 선별 실험하여 보고한 바 있으며 솔잎(10)에 대한 연구에서도 각종 용매

추출 분획물이 항돌연변이성과 강한 암세포 성장억제효과를 나타낸다고 보고되었다. 영지버섯 다당체연구(11)에서도 이들이 NK 세포의 면역기능을 증가시켜 암세포에 대한 세포독성작용이 활성화되었다고 보고된 바 있으며, 인삼 중 지용성 성분(12)이 암세포 증식을 현저히 억제하거나 사멸시키는 작용이 있음을 확인하여 보고한 바 있다.

생약제 중 항암 약초로 알려진 것들 가운데 의약서적 및 현대 생약학 등의 문헌정보를 근거로 하여 선정된 약용식물을 여러 종류의 추출물로 제조하여 그 효능을 검색하여 보고한 바 있으며(13,14), 이런 천연물에 대한 부작용이 적인 항암제의 개발 가능성을 제시하고자 인체 조직 배양을 사용한 생약제의 항암성을 검색한 바 있다(15).

한방에서 자주 이용되고 있는 생약제 중에서 단삼은 중국 및 동남아 지역에서도 항암치료를 위한 생약처방에 널리 사용하고 있으며(16) 최근에는 중국, 일본, 미국 등

† To whom all correspondence should be addressed

에서 단삼의 성분과 약리적 효능이 광범위하게 연구되어지고 있다.

단삼의 주요성분으로 scatellacin, tanshinone, cyptotanshinone, hydroxytanshinone, methyltanshinonate, salviot, vitamin A, vitamin E 등(17,18)이고 단삼의 약리성 연구에 의하면 단삼은 혈관 확장, 진통, 진정, 혈소판 응집억제 등의 효능을 가지고 있다고 보고한 바 있다(19-21). 또한 단삼의 항균력에 대한 연구도 보고된 바 있다(22).

이와 같이 단삼의 다양한 약리작용 중에서 아직 연구되지 않은 단삼의 항암 효능에 관한 연구를 통해 단삼이 천연항암제로서 유효성이 있는지를 살펴보고자 활성성분을 추출하여 인체 결장암세포(HT-29), 직장암세포(HRT-18) 및 간암세포(HepG2)를 대상으로 항암 활성을 규명하였다. 또한 동물실험을 통해 독성의 유무와 수명연장 및 고형암 저지 실험을 통한 항암 효과를 연구하여 새로운 물질의 개발 및 임상에 응용하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

단삼은 중국산을 경동시장에서 구입하여 말린 것을 사용하였고 세포배양에 필요한 Dulbeco's modified eagle medium(DMEM), 소 태아 혈청(fetal bovine serum, FBS), 항생제, trypsin-EDTA 등은 모두 GIBCO(Grand Island Biological Co., NY, USA) 제품을 사용하였다. 추출용매인 ethanol(EtOH)은 Merck(Darmstadt, Germany) 제품을, 기타 시약은 Sigma-Aldrich Co. Ltd(Irvine, UK) 시약을 사용하였다. 세포수 측정기는 Coulter counter(ZBI, coulter electronics Ltd, UK)를, 암세포 배양을 위해 배양용 항온기는 CO₂ incubator(2720-04, Quene Co., USA)를 사용하였고, 세포 모양 관찰은 inverted microscope(BH2-RFL-T3, Olympus optical Co. Ltd., Japan)를 이용하였다. 실험에 사용한 인체 결장암 세포인 HT-29, 직장암세포인 HRT-18, 간암세포인 HepG2 및 흰 생쥐의 육종암 세포의 일종인 Sarcoma-180 암세포는 America Type Culture Collection(ATCC)에서 분양 받아 고려대학교 의과대학 생화학교실에서 배양해 오던 것을 사용하였다. 실험 동물은 고대 의대 동물 사육실에서 25 g 내외의 ICR mice를 공급받아 사용하였다.

단삼의 농도별 시료조제

수용성 성분은 시료 200 g에 증류수 1000 mL를 넣고 90~100°C로 끓인 뒤 열수 추출하여 100 mL의 양이 되도록 농축해 0.2 µm milipore filter로 여과한 후 freeze dryer에 의해 동결건조 후 냉동 보관하여 사용하였다. 지용성 성분의 경우 삼각플라스크에 500 g의 단삼과 98% 에탄올

(1500 mL×3회)을 넣고 3일간 shaking incubator에서 실온으로 추출하여 0.2 µm milipore filter로 여과 후 회전진공농축기로 농축시키고 질소가스로 용매를 완전히 날린 뒤 건조 중량을 측정하고 실험시에는 소량의 무수에탄올에 녹여 필요한 농도로 배지에 희석하여 사용하였다.

암세포의 배양 및 배가시간(doubling time) 측정

각 암세포의 배가시간 측정은 소 태아 혈청이 5% 함유된 DMEM으로 T-75 flask에 이식한 후 5% CO₂가 유지되는 37°C incubator에서 monolayer로 배양중인 암세포에 trypsin을 처리하여 바닥에서 분리한 후 배양액으로 희석하여 35 mm dish에 각 암세포수가 3×10⁴ cells/dish 되도록 이식하였다. 그리고 다시 배양하면서 24시간 간격으로 trypsin을 처리하여 세포를 dish에서 분리하고 일정한 0.9% NaCl에 희석하여 Coulter Counter에서 세포수를 측정하였다(23).

단삼의 추출물이 암세포 증식에 미치는 효과 측정

T-75 flask에서 배양한 HRT-18, HT-29 및 HepG2 등 인체 암세포는 trypsin을 처리하여 분리한 후 DMEM (5% FBS 함유) 배양액으로 희석하고, 지름 35 mm petri dish에 각 3×10⁴ cells/3 mL씩 분배 이식한 뒤 24시간 배양하였다. 각 암세포가 각 dish에 부착, 증식되었을 때 dish 내의 배양액을 제거하고, 각 추출 성분이 농도별로 함유된 배양액으로 교체시킨 후 관찰한 것을 대조군의 세포수를 기준으로 다음식에 의하여 단삼추출물 첨가군들의 증식 억제 효과를 세포증식율로 산출하였다. 증식율(%)은 (실험군의 배양시간별세포수 - 초기세포수 / 실험군의 배양시간별세포수 - 초기세포수) × 100로 사멸율은 (실험군의 배양시간별세포수 - 초기세포수 / 초기세포수) × 100으로 계산하였다. 즉, 초기 세포수보다 증식된 경우는 대조군 세포수를 100%로 정하고 상대적인 증감율을 구하여 효과를 판정하였다. 또한 각 세포의 추출물 처리군과 대조군의 세포 모양 변화를 24시간마다 inverted microscope로 관찰하고, 암세포의 사멸 형태를 측정하였다.

단삼의 독성실험 및 수명연장실험

실험동물은 체중 25 g 내외의 암컷 ICR mouse를 대상으로 8마리씩 대조군 및 에탄올 추출물군으로 나누어 실험군에 에탄올추출물을 37.5 mg/head의 농도로 1회 투여 후 15일간 체중 및 상태를 관찰하여 급성 독성시험을 시행하였다. 이 농도는 kg당 투여할 수 있는 최대의 양을 mouse의 체중 25 g에 비례하여 산출한 농도이다. 수명연장 실험을 위해 ICR mice를 각 군당 8마리씩 대조군과 실험군(에탄올추출물투여군)으로 나누어 sarcoma-180 cells을 0.1 mL(1.0×10⁶ cells/head)씩 복강내에 투여하고 단삼의 에탄올추출물(3 mg/0.1 mL/head)을 10일간

경구내에 투여하면서 암세포 증식에 의한 체중 증가율을 산출하고 대조군과 실험군 동물의 기간별 생존수를 확인하여 대조군에 비해 실험군의 단삼 에탄올 추출물에 의한 수명 연장효과를 수명 연장 백분율(prolongation ratio, %)로 구하였다. 수명연장백분율(%)은 처리군의 평균수명에서 대조군의 평균수명을 뺀 값에 대조군의 평균수명을 나눈 값에 100을 곱하여 산출하였다(24).

단삼유효성분에 의한 고형암 성장 저지 실험

약 25 g 정도의 암컷 ICR mice를 7마리씩 대조군과 실험군(에탄올추출물투여군)으로 나누어 sarcoma-180 cells을 0.1 mL(1.0×10^6 cells/head)씩 왼쪽 서혜부(left groin) 피하에 이식한 후 단삼의 에탄올 추출물을 투여하였다. 각각의 mouse당 3 mg/0.1 mL가 되도록 경구내로 투여하였고, 대조군은 15일간 실험군과 동량의 무수알콜을 포함한 0.9% NaCl 0.1 mL/head를 투여하였다. 종양세포 이식 후 22일째 되는 날 희생시켜 생성된 고형암을 적출하여 그 무게를 측정하였다. 종양성장억제율(%)은 대조군의 평균종양무게에서 처리군의 평균종양무게를 뺀 뒤 대조군의 평균종양무게로 나눈 후 100을 곱하여 산출하였다.

결과 및 고찰

단삼추출물의 *in vitro*에서 암세포 증식 억제 효과

인체 장암 세포인 HRT-18, HT-29 및 인체 간암 세포인 HepG2의 배가시간 측정결과 HT-29의 배가시간은 24시간이었고, HRT-18도 22시간, HepG2는 28~30시간이었다. 일반적으로 암세포의 종류에 따라 배가시간이 다를 뿐 아니라 같은 암세포라 할 지라도 배양하는 동안 오염 또는 이상이 생기면 배가시간이 연장 또는 단축된다고 알려져 있다(24). 그런데 본 실험에 사용한 암세포들의 배가시간이 기존의 보고(23)와 일치되는 것으로 보아 정상적으로 증식되었음을 알 수 있었다. 따라서 이들 HT-29, HRT-18 및 HepG2 암세포를 대상으로 단삼의 에탄올과 열수 추출물의 항암효과를 측정하였다.

인체 직장암세포인 HRT-18 세포에 단삼의 수용성 추출물과 에탄올 추출물을 각각 첨가한 배양액에서 24, 48 및 72시간 배양한 증식 곡선은 Fig. 1과 같다. 즉, 대조군의 초기 세포수 5×10^4 cells/mL에서 24, 48 및 72시간 배양 후 1.6×10^5 , 2.6×10^5 및 4.1×10^5 cells/mL로 배양시간이 경과함에 따라 점차 증식되었다. 각각의 시간당 대조군의 증식율을 100%로 보았을 때 수용성 추출물을 600, 1200 μ g/mL 첨가 배양시 증식율은 24시간 후에 91%, 63%, 48시간 후에 71%, 28%, 72시간 후에 27%, 5.6%이었고, 1800 μ g/mL 첨가시에는 24시간에는 45%, 48, 72시간 배양후에는 각각 28%와 2.7%이었다. 그러나 에탄올 추출

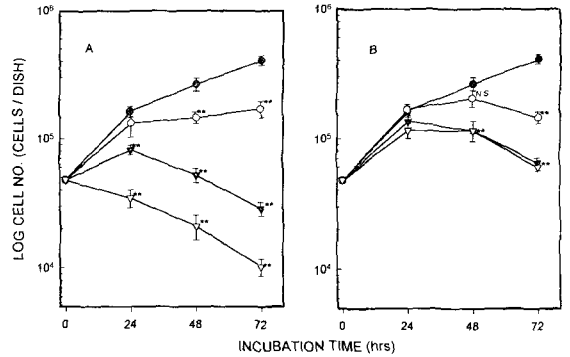


Fig. 1. Growth curves of HRT-18 cells in the culture medium containing the ethanol extracts (A) and water extract (B) of *Salvia miltiorrhiza*, respectively. Data were presented mean \pm SD (n=3). (A) Closed circle, control group; Open circle, treated group with 10 μ g/mL; Closed triangle, treated with 20 μ g/mL; Open triangle, treated with 30 μ g/mL (B) Closed circle, control group; Open circle, treated with 600 μ g/mL; Closed triangle, treated with 1200 μ g/mL; Open triangle, treated with 1800 μ g/mL. **Significantly different between control and treated groups by t-test, p<0.01. NS, Not significant.

물에서는 10 μ g/mL 첨가 배양에서 24, 48 및 72시간 후에 45%, 38% 및 27.8% 증식되었고, 20 및 30 μ g/mL 첨가 배양시에는 24시간 후 23%, -30%, 48시간 후 2.4%, -60%, 72시간 후 -40%, -76%로 증식이 억제되어 열수추출물보다 에탄올 추출물에서 높은 증식억제 효과를 보였다.

Fig. 2는 인체 결장암세포인 HT-29를 위의 방법과 동일하게 처리한 후 배양한 결과를 나타낸 것이다. 즉, 대조군 초기 세포수 2×10^4 cells/dish는 24, 48 및 72시간 배양에 따라 각각 8×10^4 , 1.7×10^5 및 4.6×10^5 cells/dish로

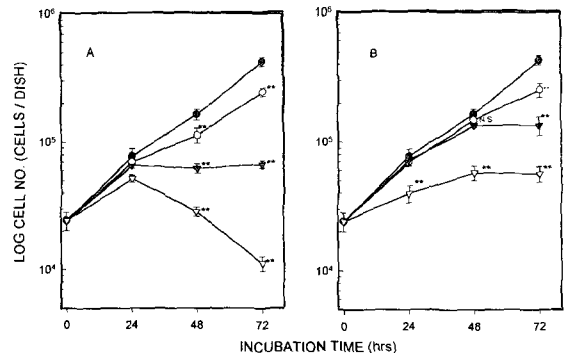


Fig. 2. Growth curves of HT-29 cells in the culture medium containing the ethanol extracts (A) and water extract (B) of *Salvia miltiorrhiza*, respectively. Data were presented mean \pm SD (n=3). (A) Closed circle, control group; Open circle, treated group with 10 μ g/mL; Closed triangle, treated with 20 μ g/mL; Open triangle, treated with 30 μ g/mL (B) Closed circle, control group; Open circle, treated with 600 μ g/mL; Closed triangle, treated with 1200 μ g/mL; Open triangle, treated with 1800 μ g/mL. **Significantly different between control and treated groups by t-test, p<0.01. NS, Not significant.

점차 증식되었다(각 시간당 대조군 증식율을 100%로 볼 때). 수용성 추출물을 600 및 1200 µg/mL 첨가한 뒤 48시간 배양 후에는 대조군과 큰 차이 없이 증식하였으나 72시간후의 증식율은 50%, 27%였으며 1800 µg/mL 첨가 후 24, 48 및 72시간 배양한 결과 31%, 24% 및 8.8%로 증식되었다. 또한 에탄올 추출물을 첨가 배양할 때는 10 µg/mL에서는 큰 차이가 없었으나 20 µg/mL에서는 24, 48 및 72시간 후에 75%, 29% 및 10.5%로 증식이 억제되었으며 30 µg/mL 첨가 배양 후에는 55%에서 -1.5%까지 암세포가 증식 억제되는 현상을 나타내었다.

인체 간암세포인 HepG2를 대상으로 대조군의 초기 세포수 2.5×10^4 cells/dish는 24, 48 및 72시간 배양 후 5×10^4 , 9×10^4 및 1.7×10^5 cells/dish로 증식되었고 이것을 각각 100%의 증식율로 보았을 때 수용성 추출물을 400, 800 µg 첨가하여 72시간 배양 후 대조군과 비교한 결과 증식율이 변화가 없었으며 1200 µg/mL 첨가 배양시 58.6%, 30% 및 10%의 증식율을 보였다. 그러나 에탄올 추출물의 경우는 배양액 mL당 2 µg, 4 µg 및 8 µg 첨가 후 72시간 배양시 -48%, -86% 및 -95%의 증식이 억제됨을 보여 현저한 수치를 나타내었다(Fig. 3). 따라서 HepG2의 경우에서 수용성 추출물보다는 에탄올 추출물에서의 세포 증식 억제 효과가 현저히 높았다. 다른 세포에서도 세포관찰 시 현미경상에서 사멸한 세포는 배양용기에서 떨어져 배지에 부유하는 것을 관찰할 수 있었으며 이는 암세포 사멸시 나타나는 일반적인 경향임을 알 수 있었고(6-8) 특히 HepG2 세포는 다른 세포에 비해 우수하게 암세포의 손상을 유도하여 암세포 증식이 억제됨을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 보아 *in vitro*에서 단삼 추출물에는 암세포를 억제시키는 작용을 하는 물질이 있음을 확인하였고 특히 수용성 추출물보다 에탄올 추출물에서 HT-29, HepG2 및 HRT-18 암세포의 증식을 효과적으로 억제하는 작용이 있음을 평가하였다. 암세포의 사멸 유형은 첫째로 약제의 농도에 의존하는 경우로 사멸된 세포는 시간이 지나도 더 이상 일정치 이하로 감소하지 않는 경우이고 둘째는 작용시간에 의존하는 경우로 농도 보다는 시간에 의해 사멸작용이 커지는 것이며 셋째는 농도와 시간에 의존하는 것으로 고농도에서 단시간 저농도에서는 시간에 따라 사멸작용이 비례되는 것으로 나눌 수 있다(25). 본 실험은 셋째 경우에 해당되며 항암활성이 있다고 알려진 인삼(8), 쑥(6)과 단삼의 에탄올 추출물을 비교하여 보면 HepG2에 처리한 후 72시간 배양한 결과, 인삼 100 µg/mL 처리한 경우 증식율이 13%(87% 억제)로 나타났고 쑥의 경우는 300 µg/mL 처리한 경우 -65%의 억제효과를 나타낸 반면 단삼 에탄올 추출물을 8 µg/mL 처리한 경우 -95%의 증식이 억제됨을 알 수 있었다. 인삼이나 쑥에 비해 단삼 에탄올 추출물은 소량으로도 높은 암세포억제작용을 나타냈다. 이는 단삼 에탄올 추출물은 보고된 다른 천연 추출물과 비교해 우수한 암세포증식억제 효과를 가짐을 알 수 있었다.

단삼 에탄올 추출물의 급성 독성 실험 및 수명 연장 효과 측정

In vitro 실험을 통해 에탄올 추출물의 효과가 열수 추출물보다 효과가 높은 것을 확인하였고 이를 바탕으로 ICR mice를 대상으로 단삼 에탄올 추출물의 급성 독성 실험은 Table 1에서 보는 바와 같이 대조군과 실험군으로 나누어 실험군에는 단삼의 에탄올 추출물 37.5 mg을 경구로 투여한 후 15일간 체중의 변화를 살펴보았다. 초기 대조군의 평균 체중은 25.4 g이었고 실험군은 25.1 g이었고 15일째의 평균체중은 대조군이 32.3 g이었고 실험군은 31.6 g이었다. 실험결과 체중은 계속하여 일정하게 증가하는 것을 나타내었으며 활동성, 기타 겉모양 등을 관찰한 바 아무 이상없이 외견상 건강하였다. 투여량 범위는 1500 mg/kg으로 과량을 투여하였는데도 독성이 나타나지 않았음을 알 수 있었다. 또한 sarcoma-180 암세포를 접종한 mouse의 수명 연장에 미치는 효과를 관찰한 결과, 대조군의 평균 수명 일수는 14.6일이었고, 단삼의 에탄올 추출물에서는 23.8일이었다. 따라서 수명 연장 효과는 약 61%로 유의성 있는 차이를 나타냈고 대조군에 비해 복수형성이 억제되고 있음을 나타내었다(Table 2, Fig. 4). Sarcoma-180 투여 7일과 14일째의 증체량을 비교하면 대조군과 단삼의 에탄올 추출물 투여군이 서로 현저한 차이를 보이는데 이는 투여한 암세포의 증식으로 인한 복수액 증가에 의한 것으로 추정된다. 따라서 에탄올 추출물이 초기부터 현저한 sarcoma-180 cell의 복강내

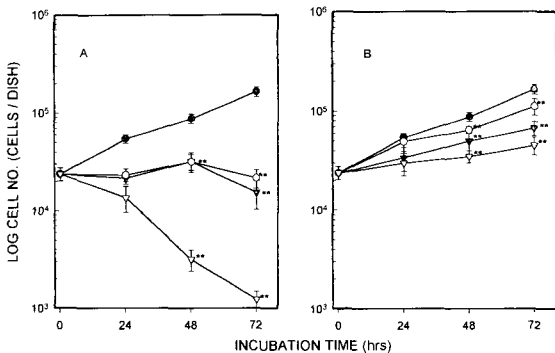


Fig. 3. Growth curves of HepG2 cells in the culture medium containing the ethanolic extracts (A) and water extract (B) of *Salvia miltiorrhiza*, respectively. Data were presented mean \pm SD (n=3). (A) Closed circle, control group; Open circle, treated group with 2 µg/mL; Closed triangle, treated with 4 µg/mL; Open triangle, treated with 8 µg/mL (B) Closed circle, control group; Open circle, treated with 400 µg/mL; Closed triangle, treated with 800 µg/mL; Open triangle, treated with 1200 µg/mL **Significantly different between control and treated groups by t-test, p<0.01. ^{NS}Not significant.

Table 1. Acute toxic effects of oral injection of ethanol extract of *Salvia miltiorrhiza* in ICR mice¹⁾

Mean	Weight (g) ²⁾				
	Start	3th	6th	9th	15th
Control	25.4±0.26 ²⁾	26.3±0.21	27.9±0.17	30.2±0.28	32.3±0.16
EtOH treatment	25.1±0.23	25.8±0.12	27.5±0.24	29.0±0.22	31.6±0.17

¹⁾Treated with 37.5 mg/head of ethanol extract.

²⁾All values are expressed as mean±S.D. (n=3). No significant difference between control and treatment groups was found.

Table 2. Effects of oral injection of ethanol extract of *Salvia miltiorrhiza* on life span of sarcoma-180 cells bearing ICR mice¹⁾

Group	Weight gain, days after injection			Life span (day)	Prolongation ratio (%) ³⁾
	0	7th	14th		
Control	25.46±0.88 ²⁾	35.64±1.04	49.16±2.87	14.6	0
EtOH treatment	25.56±0.93	31.41±1.6	40.24±1.33	23.8	61

¹⁾Treated with 3 mg/head of ethanol extract for a 10 day.

²⁾Values are means±S.D. (n=3).

³⁾Prolongation ratio = survival time of control group - survival time of treatment group / survival time of treatment group × 100

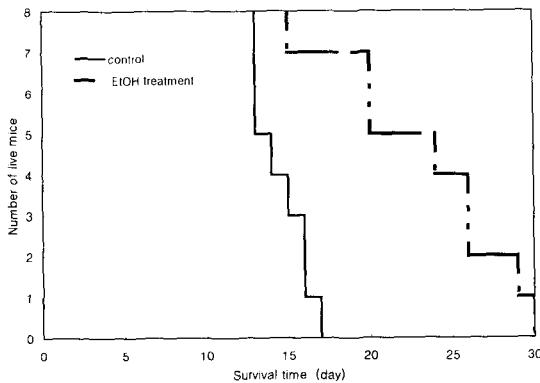


Fig. 4. Effects of EtOH extract of *Salvia miltiorrhiza* on the life span of ICR mice inoculated with sarcoma-180.

The 3 mg EtOH extract per mouse was orally given.

성장을 억제한 것을 알 수 있었다. 천연물인 쑥을 가지고 동일한 실험을 한 보고(6)에 의하면 쑥을 2 mg/head/day로 투여한 결과 20%의 수명연장효과가 나타난 반면 단삼 에탄올 추출물은 3 mg/head/day로 투여 후 60%의 수명 연장효과가 있었다. 따라서 단삼의 에탄올 추출물이 sarcoma-180 암세포의 증식을 억제함으로써 수명 연장에 더 효과가 우수함을 알 수 있었다.

단삼 에탄올 추출물에 의한 고형암 성장 억제 실험

Mice의 왼쪽 서혜부에 피하로 sarcoma-180을 투여하면 증식되어 mass를 이루게 되면, 형성된 mass를 피부나 타 조직과 구별하여 적출하고 mass의 무게와 크기를 측정할 수 있다. 단삼의 에탄올 추출물을 투여한 군이 대조군에 비해 mass 크기가 육안으로도 확실한 차이가 관찰되었고 종양 무게도 약 35% 감소하였다(Table 3).

Table 3. Antitumor effects of oral injection of ethanol extract of *Salvia miltiorrhiza* in ICR mice¹⁾ which were subcutaneously injected with sarcoma-180 cells

Group	Tumor weight ²⁾ (g)	Inhibition ratio ³⁾ (%)
Control	1.08±0.25	0
EtOH treatment	0.70±0.24	35

¹⁾Treated with 3 mg/head of ethanol extract for 15 days.

²⁾Values are means±S.D. (n=3).

³⁾Inhibition ratio was obtained by calculating (tumor weight of control group - tumor weight of treatment group) / tumor weight of control group × 100.

이러한 결과는 단삼 추출물의 투여가 고형암의 무게와 크기를 감소시킴으로써 항암효과를 나타냄을 보여 준다.

이상의 결과를 종합하여 보면 단삼의 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 *in vitro*에서 HRT-18, HT-29 및 HepG2의 증식을 효과적으로 억제함을 알 수 있었고, *in vivo* 실험에서도 단삼의 에탄올 추출물의 투여가 sarcoma-180 암세포를 지닌 쥐의 수명을 현저히 연장시켜 주었으며, 고형암의 크기와 무게를 감소시키는 고형암 형성 억제능을 나타내었다. 앞으로 단삼의 에탄올 추출물의 항암활성을 나타내는 성분규명 및 항암 작용의 기전에 대한 생화학적 연구가 더 이루어져야 하겠다.

요 약

본 연구에서는 단삼(*Salvia miltiorrhiza*)의 추출물이 인체 결장암세포인 HT-29, 간암세포인 HepG2 및 직장암세포인 HRT-18의 증식에 미치는 영향을 *in vitro*에서 확인하였다. 암세포의 배양액에서 단삼의 수용성 추출물과 에탄올 추출물의 암세포 증식억제효과는 농도에 비해

하며 에탄올 추출물에서 더 효과적이었다. 이를 토대로 단삼의 에탄올 추출물의 급성독성, 수명연장 및 고형암형성억제를 살펴보기 위해 *in vivo* 실험을 하였다. 급성독성실험결과 대조군의 15일째의 평균체중은 32.3 g이었고 실험군은 31.6 g으로 정상적인 상태를 유지하였으며, 흰쥐의 육종암세포인 sarcoma-180를 접종한 mouse의 수명연장실험결과 대조군에 비해 61%의 수명연장 효과가 있음을 관찰하였다. 고형암억제 실험 결과에서도 대조군에 비해 에탄올 추출물 처리군이 35%의 고형암 형성 억제능을 나타내었다.

따라서 단삼의 에탄올 추출물 중에는 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 통해 항암활성을 갖는 성분이 존재하며, 이 성분은 유효한 항암제로 개발될 수 있으리라 사료된다.

문 헌

- Yeong, L. Ha. and Michael, W.P. : Naturally-occurring novel anticarcinogens : Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid (CLA). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **20**, 401-407 (1991)
- Miyazaki, T. and Nishijima, M. : Structural examination of a water soluble antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3611-3615 (1981)
- Boyd, M.R. : *Principles and practice of oncology*. Lippincott, p.1-31 (1989)
- Cha, S. : Potential anticancer medicinal plants. *Kor. J. Pharmacog.*, **8**, 1-15 (1977)
- Potter, J.D. : β -Carotene and the role of intervention studies. *Cancer Lett.*, **114**, 329-331 (1997)
- Hwang, Y.K., Kim, D.C., Hwang, W.I. and Han, Y.B. : Inhibitory effect of *Artemisia princeps Pampan.* extract on growth of cancer cell lines. *Kor. J. Nutr.*, **31**, 799-808 (1998)
- Hwang, W.I., Cha, S. and Lee, S. : Determination of anti-tumor effects of extracts from Korean medicinal plants on cancer cells (L5178Y). *Korean Biochem. J.*, **13**, 25-29 (1980)
- Chung, H.R., Lee, J.Y., Kim, D.C. and Hwang, W.I. : Synergistic effect of *Panax ginseng* and *Cinnamomum blume* mixture on the inhibition of cancer cell growth *in vitro*. *J. Ginseng Res.*, **23**, 99-104 (1999)
- Lee, C.S., Ju, J.S. and Hwang, W.I. : The Inhibitory effect of water extracts of the *Trichosanthes semen* and *Sinapsis semen* against some cancer cells growing. *Korea University Medical J.*, **20**, 39-43 (1983)
- Kim, E.J., Jung, S.W., Choi, K.P., Ham, S.S. and Kang, H.Y. : Cytotoxic effect of the pine needle extract. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 213-217 (1998)
- Kim, S.W. : Studies on anti-microbial and anti-cancer functions of polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1183-1188 (1998)
- Lee, S.H. and Hwang, W.I. : Inhibitory effect of petroleum ether extract of *Panax ginseng* root against growth human cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.*, **10**, 345-350 (1986)
- Pepljnjak, S. : Flavonoid content in propolis extracts and growth inhibition of *Bacillus subtilis* identification of pinocebrine and galangin as antiseptic compounds. *Pharmazie*, **40**, 122-123 (1985)
- Hyun, J.W., Lim, K.H., Shin, J.E., Sung, M.S., Won, Y.J., Kim, Y.S., Kang, S.S., Chang, I.M., Woo, W.S. and Paik, W.H. : Antineoplastic effect of extracts from traditional medicinal plants and various plants. *Kor. J. Pharmacogn.*, **25**, 171-177 (1994)
- Sato, A., Nakano, Y. and Taguchi, T. : Antitumor activity of crude drugs with human tissue culture screening. *Proc. Symp. Wakan-Yaku*, **12**, 56 (1979)
- 北京中醫學院 : 實用中醫學. p.344 (1986)
- Chen, M.K., Yung, P.T., Ku, W.H., Chen, Z.X., Chen, H.T. and Yeh, H.C. : Studies on the active principles of Dan-Sen. I. The structure of sodiure sodium tanshinone A sulfonate and methylene tanshinquinone. *Acta Chim. Sin.*, **36**, 199-201 (1985)
- Luo, H.W., Wu, B.J., Wu, M.Y., Yong, Z.G., Masatake, N. and Yoshimasa, H. : Pigments from *Salvia miltiorrhiza*. *Phytochem.*, **24**, 815-819 (1985)
- Chang, H.M., Chen, K.P. and Choang, T.F. : Structure elucidation and total synthesis of new transhinones isolated from *Salvia miltiorrhiza* bunge (danshen). *J. Org. Chem.*, **55**, 3537-3541 (1990)
- Takeo, S., Tanonaka, K. and Hirai, K. : Beneficial effect of tan-shen, an extract from the root of salvia, on posthypoxic recovery of cardiac contractile force. *Biochem. Pharmacol.*, **40**, 1137-1143 (1990)
- Yang, D. and Morris, S.F. : Effect of the extract from *salvia miltiorrhiza* radix (SMR) on skeletal muscle ischemia and reperfusion injury in rabbits. *Can. J. Plast. Surg.*, **5**, 3123-3127 (1997)
- Mok, J.S., Park, U.Y., Kim, Y.M. and Chang, D.S. : Effects of solvents and extracting condition on the antimicrobial activity of *salvia miltiorrhizae* radix (*Salvia miltiorrhiza*) extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **23**, 1001-1007 (1994)
- Morita, A., Jsao, D. and Kim, Y.S. : Effect of sodium butyrate on alkaline phosphatase in HRT-18 a human rectal cancer cell line. *Cancer Res.*, **42**, 4540-4545 (1982)
- Lee, Y.S., Kim, D.S., Ryu, B.H. and Lee, S.H. : Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward sarcoma-180 cell. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **21**, 544-550 (1992)
- Ohoshi, A., Sugeno, H.G. : *Culture of human cancer cells*. 1st ed., Asagurashoten, Tokyo, Japan, p.37 (1975)