

오미자 추출물의 간암세포 (SNU-398) 증식 억제 효과*

노 숙 령 · 오 현 석[§]

중앙대학교 식품영양학과

Effect of Omija (*Schizandra Chinensis Baillon*) Extracts on the Growth of Liver Cancer Cell Line SNU-398*

Rho, Sook Nyung · Oh, Hyun Suk[§]

Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea

ABSTRACT

This study was designed to research the anti-tumor effect of omija (methanol extract (I), malic acid & ethanol extract (II), and water extract (III)) on human liver cancer cell line SNU-398. MTT assay was used in vitro. The longer the exposure time and the higher the concentration of Omija extract, the stronger the anti-tumor effect. When the concentration of (II) was 1,600 µg/ml and the exposure time reached 96 hours, the strongest propagation inhibition effect occurred with the viability rate as low as 5.06%. IC₅₀ value was 363 µg/ml. Under the condition of 1,600 µg/ml and 96 hours, (I) lowered the rate to 7.55%. IC₅₀ value was 489 µg/ml. When it was 1,600 µg/ml and 72 hours, (III) the rate decreased to 15.97%. IC₅₀ value was 703 µg/ml. In all three cases, the viability of the cancer cell decreased significantly when the exposure time ranged between 24 and 48 hours. (*Korean J Nutrition* 35(2) : 201~206, 2002)

KEY WORDS: omija, liver cancer, anti-tumor effect, MTT assay.

서 론

우리 나라에서 간암은, 남성의 경우 16.8%에서 발생되며 10만명당 32.6명이 사망하는 것으로 암으로 인한 사망자 중 사망률 1위를 차지하고 있다.¹⁾ 현재 임상에서 사용되고 있는 항암제의 대부분은 합성물질로써 부작용이 심하여 문제가 되고 있다. 이로 인해 최근 부작용이 적으면서 유효한 항암제를 개발하기 위해 천연물에 존재하는 생리활성 물질의 검색에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.^{2,3)}

오미자 (*Schizandra chinensis Baillon*, Omija)는 목련과 (木蓮科)에 속하는 낙엽목질등본 (藤本)식물의 성숙한 과실로,⁴⁾ 다섯가지의 맛을 가지고 있다. 전세계에 약 10종이 있으며, 우리 나라에는 중북부 지방에 분포하고 있다. 예로

부터 오미자는 식품과 기호음료로 이용되어 왔으며, 한방과 민간에서는 거담, 자양, 강장제 등으로 널리 통용되어 왔다. 지금까지 오미자에 관한 연구는 성분에 관한 연구⁵⁻¹²⁾가 대부분이었으며, 기능에 관한 연구로는, 고지혈증을 낮춘다는 보고,¹³⁾ 알코올 투여 쥐와 당뇨 유발 쥐의 간장 기능 개선 효과,¹⁴⁻¹⁶⁾ 간세포 보호 효과,¹⁷⁻¹⁹⁾ 항산화 효과,^{20,21)} 항균 효과²²⁻²⁵⁾ 등이 보고되었다. 이와 같은 오미자의 다양한 생리 활성을 나타내는 주성분은 lignan 화합물인 것으로 알려지고 있으며, lignan 성분들 중 schzandrin은 간 보호 효과를 나타내는 대표적인 것으로, 특히 오미자 중에는 schizandrin의 함량이 높아서 오미자의 간 보호 효과에 가장 크게 기여하는 것으로 여겨지고 있다.^{26,27)}

현재까지 오미자의 항암 효과 연구는, 위암 세포주 (SNU-1)와 난소암 세포주 (SK-OV-3)에 대하여 탐색한 바 있으나,^{28,29)} 간암에 대한 보고는 찾을 수 없었다.

따라서 본 연구에서는 오미자의 간암 세포주 SNU-398에 대한 증식 억제 효과를 관찰하고, 효과적인 추출방법과 노출시간을 찾아, 항암 효과가 있는 물질 및 기능성 식품으로의 개발 가능성을 밝히고자 시도하였다.

접수일 : 2001년 9월 29일

채택일 : 2002년 1월 23일

*This research was supported by grants from The Research Support Institution of Chung-Ang University.

[§]To whom correspondence should be addressed.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 오미자

본 연구에 사용된 오미자는 2000년 5월에 농협에서 구입한 전북 무주산을 실험용 재료로 사용하였다.

2) 암세포

인체 간암 세포인 SNU-398을 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 실험실에서 배양하여 사용하였다.

3) 재료 및 시약

암세포 배양액은 RPMI 1640 (Gibco) 조적 배지에, FBS (fetal bovine serum, Gibco), phenicillin, streptomycin 등을 사용하였다. 세포를 계대배양시킬 때는 trypsin-EDTA (Gibco)를 사용하였다. 오미자의 항암 효과를 알아보기 위한 MTT Assay에는 MTT kit (Boehringer Mannheim GmbH)를 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 시료의 조제

(1) 메탄올 추출물

오미자의 동결 건조 분말을 methanol (99%)과 1 : 10 (W/v)이 되게 하여 12시간 동안 상온에서 교반한 후 10℃에서 9000 rpm (8960 × g)으로 30분간 원심분리하였다. 상등액을 50℃에서 감압 농축, 동결 건조하여, 냉동고에 보관하며 시료로 하였다.

(2) 능금산과 에탄올 추출물

Oh 등³⁰⁾의 실험 방법에 따라 0.5% malic acid를 80%의 ethanol에 희석한 유기용매로 사용하였다. 오미자 동결 건조 분말을 0.5% malic acid를 함유한 80% ethanol과 1 : 10 (W/v)이 되게 하여 약 10분간 광선을 차단한 밀폐된 용기에 담아 70℃에서 교반시킨 후, 10℃에서 9000 rpm (8960 × g)으로 30분간 원심분리하였다. 상등액을 50℃에서 감압 농축, 동결 건조하여, 냉동고에 보관하며 시료로 하였다.

(3) 물 추출물

Kim 등³¹⁾의 실험에서 오미자의 성분이 가장 잘 용출되는 조건으로, 오미자의 동결건조 분말을 끓여서 식힌 증류수와 1 : 10 (W/v)이 되게 하여 상온에서 12시간 동안 담가 우려내었다. 우려낸 물을 10℃에서 9000 rpm (8960 × g)으로

30분간 원심분리하고, 상등액을 취하여 50℃에서 감압 농축, 동결 건조하여, 냉동고에 보관하며 시료로 하였다.

2) 암세포 배양

RPMI 1640 조적 배지에 FBS 10%를 첨가하고 phenicillin과 streptomycin이 각각 10,000 u/ml와 10 mg/ml 섞인 배양액으로 사용하여 37℃, 5% CO₂ 세포 배양기에서 배양하였다. 일주일에 3번 새로운 배지로 교환하고 7~8일 만에 PBS (Phosphate buffered saline)로 세척한 후 0.25% trypsin-0.02% EDTA (Gibco BRL)를 사용하여 부착된 세포를 원심분리하였다. 집적된 암세포에 배지를 넣고 암세포가 골고루 분산되도록 피펫으로 잘 혼합하여 75 ml cell culture flask에 10 ml씩 일정량 분할하여 주입하고, 6~7일 마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

3) 암세포 증식 억제 효과 측정

SNU-398 간암세포를 PBS로 세척하고 trypsin-0.02% EDTA 2 ml를 넣어 세포를 분리시킨 후 동량의 media를 첨가하여 중화시켰다. 1800 rpm (350 × g)에서 10분간 원심분리시켜 상층액을 제거하여 96 well plate에 2 × 10⁴ cells/ml이 되도록 심었다. 24시간 배양한 후, 세포가 plate에 부착되었을 때 배양액을 버리고 오미자 추출물이 농도별로 함유된 새로운 배지로 처리하였다. 100% 생존군 (대조군)으로 삼은 well에는 오미자 추출물이 함유되지 않은 배지로 처리하였다. 37℃에서 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 동안 배양한 후 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay로 측정하였다.^{32,33)}

이 분석은 MTT kit를 사용하여, MTT 용액을 세포가 있는 모든 well당 10 µl씩 가하고 4시간 동안 37℃ 세포 배양기에서 배양시킨 후 solubilization solution (10% SDS in 0.01 M HCL)을 100 µl씩 첨가하여 세포 배양기에서 24시간 배양했다. 그런 후 microplate 판독기로 590 nm에서 흡광도를 측정하고 측정된 흡광도로부터 아래의 방법으로 생존한 세포의 비율을 구하였다.

Percent of viable cells (%)

$$= \frac{\text{optical density with cytotoxic drug}}{\text{optical density without cytotoxic drug}} \times 100$$

4) IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50) 값의 산출

간암 세포주에 대한 IC₅₀값은 pharmacological calculation program의 quantal prohibit analysis를 이용하여 산출하였다.³⁴⁾

5) 자료의 처리

각 측정치는 3번 이상 측정된 암세포 생존율의 평균값과 표준오차로 표시하였다. 시료의 양과 노출시간에 따른 암세포 생존율은 SAS (Statistical Analysis System)를 이용하여 통계 처리하였으며, 분산분석 (ANOVA)으로 유의차를 검증하고, 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan의 다중범위 시험법 (Duncan's multiple range test)으로 각 군간의 유의차를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 간암 세포주에 대한 오미자의 메탄올 추출물의 항암 효과

간암 세포주 SNU-398을 대상으로 오미자의 메탄올 추출물을 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/ml의 농도로 처리하면서 24, 48, 72, 96시간 동안 배양후 세포 생존율을 비교한 결과는 Table 1과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 SNU-398 세포주에서 오미자 메탄올 추출물의 항암 효과는 노출 시간과 농도에 의존함을 관찰할 수 있었다. 24시간 노출시켰을 때 오미자의 메탄올 추출물의 농도가 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/ml에서 115, 103, 84.8, 77.7, 40.4%의 생존율을 보여 100, 200 µg/ml의 낮은 농도에서 24시간 노출시켰을 때는 암세포 생존율이 증가하였다. 48시간 노출시켰을 때 오미자 메탄올 추출물 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/ml의 농도에서 암세포

포 생존율은 91.7, 72.6, 52.0, 36.7, 16.4%로 800, 1,600 µg/ml의 농도에서 50%이하의 암세포 생존율을 보여 항암 효과가 높게 나타났다. 72시간 노출시켰을 때는 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/ml의 오미자 메탄올 추출물 농도에서 암세포 생존율은 85.2, 69.1, 42.2, 20.7, 10.9%로 더 낮아졌으며, 96시간 노출시켰을 때 오미자 메탄올 추출물의 농도 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/ml에서 83.6, 68.0, 36.9, 11.8, 7.55%의 암세포 생존율을 보여 가장 낮은 세포 생존율을 보였다. 역시 400, 800, 1,600 µg/ml의 농도에서 암세포 억제율이 높게 나타났다.

2. 간암 세포주에 대한 오미자의 능금산과 에탄올 추출물의 항암 효과

간암 세포주 SNU-398을 대상으로 오미자의 능금산과 에탄올 추출물을 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/ml의 농도로 처리하면서 24, 48, 72, 96시간 동안 배양후 세포 생존율을 비교한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와 같이 SNU-398 세포주에서 오미자 능금산과 에탄올 추출물의 항암 효과는 노출 시간과 농도에 의존함을 관찰할 수 있었다. 24시간 노출시켰을 때 100, 200 µg/ml의 낮은 농도에서는 암세포 생존율이 증가하였고, 48시간 노출시 오미자 능금산과 에탄올 추출물 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/ml의 농도에서 암세포 생존율은 83.5, 73.3, 58.2, 38.1, 11.9%로, 800, 1,600 µg/ml의 농

Table 1. Viability of the liver cancer cell line, SNU-398 treated with omija methanol extract (%)

Hr	Concentration of the methanol extract (µg/ml)					F-value
	100	200	400	800	1600	
24	^A 115 ^d ± 4.73	^A 103 ^c ± 2.52	^A 84.8 ^b ± 4.84	^A 77.7 ^b ± 3.45	^A 40.4 ^a ± 3.28	55.0***
48	^B 91.7 ^c ± 4.55	^B 72.6 ^d ± 5.39	^B 52.0 ^c ± 5.04	^B 36.7 ^b ± 3.50	^B 16.4 ^a ± 1.11	48.5***
72	^B 85.2 ^e ± 3.53	^C 69.1 ^d ± 0.79	^B 42.2 ^c ± 3.90	^C 20.7 ^b ± 2.33	^{BC} 10.9 ^a ± 0.60	56.2***
96	^B 83.6 ^d ± 5.31	^D 68.0 ^c ± 2.81	^B 36.9 ^b ± 6.05	^D 11.8 ^a ± 1.25	^C 7.55 ^a ± 0.76	75.6***
F-value	10.4**	25.3***	18.3***	109***	68.1***	

** : p < 0.01, *** : p < 0.001

1) a, b, c, d, e: Mean with not sharing common superscripts are significantly different (row)

2) A, B, C, D: Mean with not sharing common superscripts are significantly different (column)

Table 2. Viability of the liver cancer cell line, SNU-398 treated with omija malic acid & ethanol extract (%)

Hr	Concentration of the malic acid & ethanol extract (µg/ml)					F-value
	100	200	400	800	1600	
24	^A 105 ^c ± 4.82	^A 104 ^c ± 1.55	^A 84.6 ^{ab} ± 7.09	^A 67.2 ^b ± 10.1	^A 34.8 ^a ± 8.50	17.0***
48	^B 83.5 ^d ± 3.67	^B 73.3 ^d ± 3.48	^B 58.2 ^c ± 3.20	^B 38.1 ^b ± 4.88	^B 11.9 ^a ± 2.68	61.2***
72	^B 76.7 ^d ± 3.95	^B 65.7 ^d ± 5.17	^{BC} 48.1 ^c ± 6.12	^B 29.4 ^b ± 6.30	^B 8.78 ^a ± 2.79	29.4***
96	^B 70.3 ^c ± 5.10	^B 58.7 ^c ± 7.86	^C 34.1 ^b ± 4.83	^B 20.1 ^{ab} ± 5.59	^B 5.06 ^a ± 0.74	25.2***
F-value	11.8***	15.4***	14.9***	8.38**	8.18**	

** : p < 0.01, *** : p < 0.001

1) a, b, c, d: Mean with not sharing common superscripts are significantly different (row)

2) A, B, C: Mean with not sharing common superscripts are significantly different (column)

도에서 항암 효과가 컸다. 72시간 노출시켰을 때는 100, 200, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 오미자 능금산과 에탄올 추출물 농도에서 암세포 생존율은 76.7, 65.7, 48.1, 29.4, 8.78%로 더 감소하였으며, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 에서 50%이하의 암세포 성장률을 보였다. 96시간 노출시켰을 때 오미자 능금산과 에탄올 추출물의 농도 100, 200, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 에서 70.3, 58.7, 34.1, 20.1, 5.06%의 암세포 생존율을 보여 가장 낮은 세포 생존율을 보였으며, 역시 400 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서 암세포 억제율이 높게 나타났다.

오미자의 능금산과 에탄올 추출물은, 항암 효과가 있다고 보고³⁵⁾된 anthocyanin을 추출하기 위하여 오 등³⁶⁾의 실험 방법으로 추출하였다. 능금산과 에탄올 추출물은 간암 세포에 대하여 항암 효과가 있었으며, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 메탄올 추출물보다 암세포 억제율이 더 크게 나타났다.

3. 간암 세포주에 대한 오미자 물 추출물의 항암 효과

오미자 물 추출물을 100, 200, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 간암 세포주인 SNU-398에 처리하여 24, 48, 72, 96시간 동안 배양한 후 세포 생존율을 비교한 결과는 Table 3과 같다.

Table 3에서 보는 바와 같이, 오미자의 물 추출물에 대한 암세포의 생존율도 노출시간과 추출물의 농도에 영향을 받았다. 그러나 오미자의 물 추출물은 메탄올, 능금산과 에탄올 추출물과는 다른 양상을 보였다. 100, 200, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 오미자 물 추출물 농도에서 24시간 노출시켰을 때, 암세포 생존율은 각각 95.3, 99.0, 92.0, 75.4, 55.9%였다. 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도의 경우, 오미자의 메탄올, 능금산과 에탄올 추출물은 암세포 생존율이 증가한 반면, 물 추출물은 암세포 생존율이 감소함을 볼 수 있었다. 100, 200, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 오미자 물 추출물 농도에서 48시간 동안 노출시켰을 때, 84.0, 75.8, 58.3, 43.6, 19.4%로 암세포 생존율이 감소하였다. 72시간 노출시켰을 때 오미자의 물 추출물 농도 100, 200, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 에서 82.9, 70.3, 62.8, 36.9, 15.9%의 암세포 생존율을 나타내, 더욱 감소하였으며, 800,

1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항암 효과가 있었다. 96시간 노출 시, 오미자의 물 추출물의 농도 100, 200, 400, 800, 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 에서 79.3, 72.1, 60.8, 45.2, 22.0%로 암세포 생존율이 증가하는 경향을 보여서 항암 효과가 지속되지 않았으며, 메탄올, 능금산과 에탄올 추출물과 다른 결과를 보여 주었다.

4. 간암 세포주에 대한 추출물들 간의 항암효과 비교

오미자의 메탄올, 능금산과 에탄올, 물 추출물들 간의 간암 세포주 SNU-398에 대한 항암 효과 비교는 Fig. 1에 제시된 바와 같다. 간암 세포주인 SNU-398에서 유의적으로 낮은 세포 생존율을 보인 농도인 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 만을 제시하였다. 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 24시간 노출시켰을 때, 메탄올, 능금산과 에탄올, 물 추출물은 각각 40.4, 34.8, 55.9%, 48시간 노출시켰을 때, 16.4, 11.9, 19.4%, 72시간 노출시켰을 때, 10.9, 8.78, 15.9%로 추출물들간의 유의차는 나타나지 않았다. 그러나 96시간 노출시켰을 때 7.55, 5.06, 22.0%로 유의차를 나타냈다 ($p < 0.001$). 즉, 72시간까지는 각 추출물들 간의 항암 효과가 비슷한 양상을 보이다가 72시간이 지나면서 물 추출물은 오히려 암세포 생존율이 증가하고, 능금산과 에탄올 추출물, 메탄올 추출물은 암세포 생존율이 감소하여 유의적인 차이를 나타냈다.

Donald와 Neil³⁶⁾은 오미자에 함유된 lignan이 항암작용, 혈압강화작용, 간보호 작용, 항산화작용 등의 다양한 생리 활성 기능을 가지고 있다고 하였으며, Hwang³⁷⁾은 오미자 각 추출물별로 lignan 함량을 보고하였는데, 오미자 분말 시료 1 g에 대해 메탄올 추출물은 13.19 mg, 에탄올 추출물은 11.94 mg, 물 추출물은 2.93 mg의 lignan을 함유하고 있다고 하였다. 따라서 메탄올, 능금산과 에탄올 추출물은 물 추출물보다 lignan을 더 많이 함유하여 높은 항암효과를 나타낸 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 오미자 추출물의 농도 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 에서 간암세포 SNU-398에 대한 항암효과는 오미자 능금산과 에탄올 추출물, 메탄올 추출물, 물 추출물 순이었으며, 800

Table 3. Viability of the liver cancer cell line, SNU-398 treated with omija water extract (%)

Hr	Concentration of the water extract ($\mu\text{g/ml}$)					F-value
	100	200	400	800	1600	
24	^a 95.3 ^c \pm 4.76	^a 99.0 ^c \pm 4.97	^a 92.0 ^c \pm 4.41	^a 75.4 ^b \pm 3.17	^a 55.9 ^a \pm 8.24	10.9***
48	^a 84.0 ^d \pm 4.68	^b 75.8 ^d \pm 3.33	^b 58.3 ^c \pm 2.28	^b 43.6 ^b \pm 3.53	^b 19.4 ^a \pm 3.76	51.5***
72	^a 82.9 ^d \pm 2.66	^b 70.3 ^c \pm 2.45	^b 62.8 ^c \pm 2.55	^b 36.9 ^b \pm 1.55	^b 15.9 ^a \pm 3.36	115**
96	^a 79.3 ^c \pm 8.09	^b 72.1 ^c \pm 8.98	^b 60.8 ^{bc} \pm 7.25	^b 45.2 ^b \pm 2.18	^b 22.0 ^a \pm 2.73	12.4***
F-value	1.64 ^{Ns}	5.80*	11.8***	39.7***	13.6***	

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

1) a, b, c, d: Mean with not sharing common superscripts are significantly different (row)

2) A, B: Mean with not sharing common superscripts are significantly different (column)

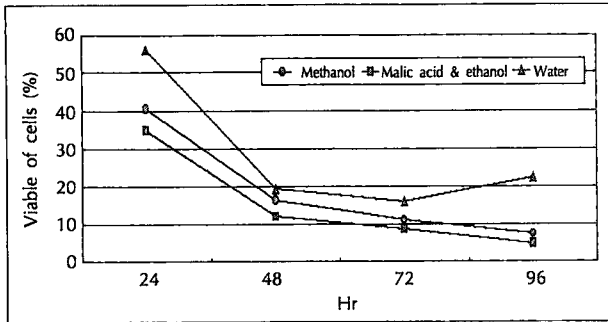


Fig. 1. Survival curves of SNU-398 cell according to the elapsed time after exposure at the omija extracts (1600 µg/ml).

µg/ml의 농도에서는 메탄올 추출물, 능금산과 에탄올 추출물, 물 추출물 순이었다.

5. IC₅₀값의 산출

IC₅₀값은 암세포에 오미자 추출물을 처리하여 각 노출시간 동안 배양 후 살아 있는 암세포의 농도를 오미자 추출물을 처리하지 않은 대조세포에 비해 50%로 줄일 수 있는 오미자 추출물의 농도를 알아보기 위해 산출하였다. IC₅₀값은 Table 4에 제시하였다.

오미자 메탄올 추출물의 IC₅₀값은 24, 48, 72, 96시간에서 각각 1,332, 696, 545, 489 µg/ml을 나타냈으며, 능금산과 에탄올 추출물은 24, 48, 72, 96시간에서 1,222, 683, 530, 363 µg/ml의 IC₅₀값을 나타냈다. 오미자의 물 추출물은 24시간일 때 1,751 µg/ml, 48시간일 때 764 µg/ml, 72시간일 때 703 µg/ml, 96시간일 때 776 µg/ml의 IC₅₀값을 나타냈다. 오미자의 능금산과 에탄올 추출물이 매시간 가장 낮은 IC₅₀값을 나타내, 오미자를 추출할 때는 능금산과 같은 유기산을 첨가하는 것이 더 효과적이며, 이는 앞으로의 오미자 음료 개발에도 참고할 만한 결과일 것으로 사료된다.

오미자 메탄올, 능금산과 에탄올, 물 추출물들 모두 24배양시 IC₅₀값이 1,332, 1,222, 1,751 µg/ml이었으며, 48시간 배양했을 때는 696, 683, 764 µg/ml로 1/2로 감소하여, 48시간 이후에 항암 효과가 높게 나타났다.

이상의 결과에서 오미자의 능금산과 에탄올 추출물이 간암 세포 SNU-398에 대하여 매시간 가장 낮은 IC₅₀값을 나타냈으며, 세 추출물 모두 48시간 경과했을 때 항암 효과가 컸다.

오미자는 다른 세포주에서도 항암 효과가 있는 것으로 보고되었는데, 양 등²⁰⁾은 오미자 잎의 메탄올 추출물이 SNU-1 (위암세포주)에 대하여 96시간 노출시켰을 때 71.2 µg/ml의 IC₅₀값을 나타냈다고 하였다. 이 등²⁰⁾은 난소암 세포주 (SK-OV-3)에 대하여 오미자의 petroleum/ethyl ether (1:1)추출물에 48시간 노출시킨 결과 30~60%의 암세포 생존율을 보였으며, ethyl acetate 추출물에 노출시켰을

Table 4. IC₅₀ values of SNU-398 cell according to the omija extracts exposure time (µg/ml)

Hr	Extract		
	Methanol extract	Malic acid & ethanol extract	Water extract
24	1,332	1,222	1,751
48	696	683	764
72	545	530	703
96	489	363	776

때는 60~90%의 생존율을 나타낸다고 하였다. 폐암세포주 (A549)를 petroleum/ethyl ether (1:1)과 ethyl acetate추출물에 48시간 노출시켰을 때도 각각 60~90%의 세포 생존율을 보였다고 한다.

본 실험은 예로부터 여러 가지 질병 치료를 위하여 한방에서 많이 쓰이며, 전국에서 생산되는 오미자의 여러 가지 생리 활성 기능 중의 하나인 항암성 기능을 in vitro상에서 나타내었으므로 생체 내 실험을 통하여 더욱 그 효과를 증명하여야 할 것이다. 또한, 세포 생존율이 가장 낮았던 96시간 이후의 항암성의 지속여부, 항암 성분 규명, 오미자의 항암 작용 기전, 다른 세포주에 대한 검색 등에 대해서 후속 연구가 필요하다고 사료된다.

요약 및 결론

본 연구는 인체 간암세포주인 SNU-398에 대한 오미자의 메탄올 추출물, 능금산과 에탄올 추출물, 물 추출물의 증식 억제 효과를 보기 위해, in vitro 상에서 MTT assay 방법을 썼으며, 그 실험 결과는 다음과 같다.

간암 세포 SNU-398에 대한 오미자 메탄올, 능금산과 에탄올, 물 추출물의 항암 효과는 각 추출물의 농도와 노출시간에 영향을 받았다. 노출시간이 길어질수록, 농도가 높을수록 항암 효과가 크게 나타났다.

오미자의 능금산과 에탄올 추출물은 1,600 µg/ml에서 96시간 노출시켰을 때 5.06%의 세포 생존율을 나타내 암세포 억제 효과가 가장 컸으며, IC₅₀값은 363 µg/ml였다.

오미자의 메탄올 추출물은 1,600 µg/ml의 농도에서 96시간 배양시켰을 때 7.55%의 암세포 생존율을 나타냈으며, IC₅₀값은 489 µg/ml였다.

오미자의 물 추출물은 1,600 µg/ml에서 72시간 배양시 15.97%의 암세포 생존율을 나타냈으며, IC₅₀값은 703 µg/ml였다.

특징적으로, 세 추출물 모두 암세포를 추출물에 24시간에서 48시간 노출시켰을 때, 암세포 생존율이 현저하게 감소했음을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면 간암 세포주 SNU-398에 대

한 오미자 추출물의 항암 효과는 능금산과 에탄올, 메탄올, 물 추출물 순으로 나타났다. 메탄올, 능금산과 에탄올 추출물은 노출 시간이 길수록 농도가 높을수록 항암 효과가 컸으나, 물 추출물은 예외였다.

Literature cited

- 1) Bokuen yearbook, pp.474-503, Bokuen newspaper Co., Seoul, 1999
- 2) Ong TM, Whong WZ, Stewart S, Brockman HE. Chlorophyllin: a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. *Mutat Res* 173(2): 111-115, 1986
- 3) Wattenberg LW. Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Res* 43(5): 2448-2453, 1983
- 4) Kim JS. New Chinese medicine, pp.265-266, You Sung publishing Co., Seoul, 1995
- 5) Kim KI, Nam JH, Kwon TW. On the proximate composition, organic acids and anthocyanins of omija, schizandra chinensis baillon. *Korean J Food Sci Technol* 5(3): 178, 1973
- 6) Yang HC, Lee JM, Song KB. Anthocyanins in cultured omija (schizandrae chinensis baillon) and its stability. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* 25(1): 35-43, 1982
- 7) Lee JS, Lee MK, Lee SW. A study on the general components and minerals in parts of omija (schizandra chinensis baillon). *Korean J Dietary Culture* 4(2): 173-176, 1989
- 8) Lee JS, Lee SW. A study on the compositions of free sugars, lipids, and nonvolatile organic acids in parts of omija (schizandra chinensis baillon). *Korean J Dietary Culture* 4(2): 177-179, 1989
- 9) Lee JS, Lee SW. A study on the compositions of the total amino acids and free amino acids in parts of omija (schizandra chinensis baillon). *Korean J Dietary Culture* 4(2): 181-184, 1989
- 10) Oh SL, Kim SS, Min BY, Chung DH. Composition of free sugars, free amino acids, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of L Chinensis M, A Acutiloba K, Chinensis B and A Sessiliflorum S. *Korean J Food Sci Technol* 22(1): 76-81, 1990
- 11) Lee JS, Lee SW. The studies of composition of fatty acids and antioxidant activities in parts of omija (schizandra chinensis baillon). *Korean J Dietary Culture* 6(2): 147-153, 1991
- 12) Kim OC, Jang HJ. Volatile components of schizandra chinensis baillon. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* 37(1): 30-36, 1994
- 13) Ock ES. Effect of schizandra chinensis extract in hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 24(5): 658-662, 1995
- 14) Lee JS, Lee SW. Effects of water extract of the parts of omija (schizandra chinensis baillon) on metabolism in normal rats. *Korean J Dietary Culture* 4(3): 253-256, 1989
- 15) Lee JS, Lee SW. Effects of water extracts in fruits of omija (schizandra chinensis baillon) on alcohol metabolism. *Korean J Dietary Culture* 5(2): 259-263, 1990
- 16) Lee JS, Lee SW. Effects of water extract in fruits of omija (schizandra chinensis baillon) alloxan-induced diabetic rats. *Korean J Dietary Culture* 5(2): 265-268, 1990
- 17) Lee JS, Lee SW. Effects of water extract in fruits of omija (schizandra chinensis baillon) on CCl₄ toxicity. *Korean J Dietary Culture* 5(2): 253-257, 1990
- 18) Lee JW, Choi JH, Kang SM. Screening of medicinal plants having hepatoprotective activity effect with primary cultured hepatocytes intoxicated using carbon tetrachloride cytotoxicity. *Kor J Pharmacogn* 23(4): 268-275, 1992
- 19) Matsuzaki Y, Matsuzaki T, Ono H, Koguchi S, Takeda S, Funo S, Aburada M, Hosoya E, Oyama T. Study on the metabolic fate of gomisin A (TJN-101). II. Absorption and excretion in CCl₄ treated rats. *Yakugaku Zasshi* 111(9): 531-537, 1991
- 20) Jang EH, Pyo YH, Ahn MS. Antioxidant effect of Omija (schizandra chinensis baillon) extracts. *Korean J Soc Food Sci* 12(3): 372-376, 1996
- 21) Kim HG, Kim YU, Do JR, Lee YC, Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27(1): 80-85, 1995
- 22) Park UY, Chang DS, Cho HR. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 21(1): 91-96, 1992
- 23) Lee SH, Lim YS. Antimicrobial effects of schizandra chinensis extract against *Listeria monocytogenes*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25(5): 442-447, 1997
- 24) Lee SH, Lim YS. Effect of omija (schizandra chinensis) extract on the growth of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25(2): 224-228, 1997
- 25) Lee SH. The antimicrobial activity and mechanism of the omija (schizandra chinensis baillon) extracts. Ph.D. Thesis, Chung Ang university, Korea, 1997
- 26) Pao TT, Hsu KF, Liu KT, Chang LG, Chuang CH, Sung CY. Protective action of schizandrin B on hepatic injury in mice. *Chin Med J* 3(3): 173-179, 1977
- 27) Bao TT, Liu GT, Song ZY, Xu GF, Sun RH. A comparison of the pharmacologic actions of 7 constituents isolated from Fructus schizandrae. *Chin Med J* 93(1): 41-47, 1980
- 28) Yang YM, Hyun JW, Lim KH, Sung MS, Kang SS, Paik WH, Bae KW, Cho H, Kim HJ, Woo ER, Park HK, Park JG. Antineoplastic effect of extracts from traditional medicinal plants and various plants (III). *Kor J Pharmacogn* 27(2): 105-110, 1996
- 29) Lee YH, Park JD, Kim SI. Cytotoxic activities of herbal drugs against human cancer cell lines (I). *Kor J Pharmacogn* 29(4): 323-330, 1998
- 30) Oh SK, Choi HC, Cho MY, Kim SU. Extraction method of anthocyanin and tannin pigments in colored rice. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* 39(4): 327-331, 1991
- 31) Kim YM, Kim DH, YUM CA. Changes in flavor component of omija (schizandra chinensis baillon) with various extraction times. *Korean J Soc Food Sci* 7(1): 27-34, 1991
- 32) Campling BG, Pym J, Baker HM, Cole SP, Lam YM. Chemosen-sitivity testing of small cell lung cancer using the MTT assay. *Br J Cancer* 63(1): 75-83, 1991
- 33) Paik YH. Anti-tumor Effects of Extracts of Pulsatilla Koreana (SB-31[®]) in vitro. Ph.D. Thesis, Chung Nam University, Korea, 1995
- 34) Yang YM. MTT Assay, The 1st Korean cell line research workshop, pp.34-46, 1998
- 35) Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol* 32: 1141-1145, 1983
- 36) Donald MW, Neil GH. Biological activities of lignans. *Phytochemistry* 23(6): 1207-1220, 1984
- 37) Hwang JY. Changes in lignan contents of schizandra chinensis baillon by cooking conditions and extraction solvents. Ms. Thesis, Seoul university, 1998