

동백엽차와 화차의 세포독성 및 다제내성 극복효과

황은주¹ · 차영주² · 박민희² · 이장원² · 이숙영^{2*}

¹동신대학교 생물자원산업화지원센터

²동신대학교 산업용가속기 이용 생물연구센터

Cytotoxicity and Chemosensitizing Effect of Camellia (*Camellia japonica*) Tea Extracts

Eun-Ju Hwang¹, Young-Ju Cha², Min-Hee Park², Jang-Won Lee² and Sook-Young Lee^{2*}

¹Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University, Jeonnam 520-714, Korea

²Biology Research Center for Industrial Accelerators, Dongshin University,
Jeonnam 520-714, Korea

Abstract

This study has been undertaken to increase availability of native camellia in Jeonnam as a medicinal resource and to isolate the effective components from them. Fresh leaf and flower of camellia, single camellia tea and camellia tea mixed with green tea, herbs were screened for cytotoxicity on MCF-7 (human breast adenocarcinoma pleural effusion), Calu-6 (human pulmonary carcinoma), SNU-601 (human gastric carcinoma) cells. Also their multidrug-resistance reversing activity were evaluated using drug sensitive AML-2/WT and multidrug-resistant AML-2/D100 cells. Among the camellia extracts, young leaf and camellia tea mixed with green tea had strong growth inhibitory effects in below 100 µg/mL against human cancer cells. In result, young leaf showed the strongest inhibitory effects on MCF-7 (IC₅₀ = 100 µg/mL ↑), Calu-6 (IC₅₀ = 79 µg/mL), and SNU-601 (IC₅₀ = 39 µg/mL), and AML-2/WT (IC₅₀ = 64 µg/mL). Chemosensitizing effect was the extracts of mature leaf (IC₅₀ = 97 µg/mL, RF=3.0), roasted tea (IC₅₀ = 76 µg/mL, RF = 2.6 ↑) and steam tea (IC₅₀ = 70 µg/mL, RF=2.8 ↑) strongly potentiate vincristine cytotoxicity in AML-2/D100 cells. But their cytotoxicities to both sensitive AML-2/WT and resistant AML-2/D100 cells were in the same order of magnitude. This results indicate that crude extracts of camellia mature leaves would contain some principles which have chemosensitizing activity.

Key words: *Camellia japonica*, cytotoxicity, chemosensitizing effect, multidrug-resistant (MDR)

서 론

현재까지 암치료에 이용되고 있는 기존의 항암제, 면역억제제 등의 화학요법은 시행 초기에는 종양의 크기가 줄어들어 민감한 반응을 나타내나 점차 암세포가 항암제에 대하여 내성을 획득하게 되므로서 결국 항암제를 이용한 화학요법이 큰 실효를 나타내지 못하고 있다. 특히, 암세포의 다제내성(multidrug-resistance, MDR)은 doxorubicin, vinblastine, taxol, camptotecin, daunorubicin 등 구조와 작용기전이 상이한 여러 항암제에 대하여 교차내성을 나타냄으로써 화학요법의 가장 큰 장애가 되고 있다(1). 지금까지 여러 가지 약물들이 다제내성 조절 활성이 있음이 연구되고 있으나 이들 약물은 인체에 대한 부작용과 유해성 때문에 천연물로부터 다제내성 극복 물질을 탐색하려는 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다.

동백나무(*Camellia japonica*)는 동백나무과(Theaceae),

동백속(Camelliae)에 속하는 상록교목으로 우리나라의 온대남부의 해안 도서인 고창, 완도, 강진, 나주, 여수 등의 전남 지역을 중심으로 자생·식재되어 있으며, 특히 전남지역이 전국 식재 면적의 67%를 차지하고 있다. 동일한 동백속에 속하는 차나무(*Camellia sinensis*)와는 달리 동백나무는 주로 관상수와 같은 원예자료로 이용되어 왔고, 부위별로는 고품질 지방이 함유되어 있는 종실은 전통적으로 식용유와 화장유의 자원으로(2-5), 그리고 줄기는 고급 숲의 원료로 활용되어 왔다. 또한 차나무가 없는 지역에서는 예로부터 동백의 어린 잎을 차의 재료로 사용하였으며, 사찰에서는 동백꽃을 이용해 화전을 만들어 먹기도 하였다. 일본의 경우, 건조시킨 동백꽃봉오리(山茶花: 본초명)를 민간에서 토혈증(hematemesis)에 사용하고 있으며(6), 그 밖에도 동백의 부위별 항원충작용 및 진경작용(7), 알콜 흡수 억제(8), HIV 바이러스 억제효과 등 다양한 생리활성이 보고되고 있다. 동백나무의 약효 성분들은 잎, 종자 및 꽃으로부터 triterpene, tannin,

*Corresponding author. E-mail: sylee@mail.dsu.ac.kr
Phone: 82-61-336-1875, Fax: 82-61-336-1879

benzenoid, steroid, flavonoid, phenyl propanoid 등의 많은 화합물이 존재함이 보고되었다(9).

동백나무의 식용화에 관한 연구 현황을 살펴보면 국내에서 최 등(10)이 동백의 종실 및 유박을 이용하여 식품으로서의 이용성에 관하여 검토한 바 있으나, 동백의 잎과 꽃을 재료로 한 식품연구는 아직 보고된 바 없다. 그동안 본 연구진은 전남의 특산식물인 동백의 생엽과 생화를 재료로 한 기능성 차 제다공정을 확립하였으며, 동백엽차와 화차의 주요 성분 및 다양한 생리활성을 분석하여 결과의 일부를 관련 학회에 발표하였다(11-18).

이상의 연구내용과 관련하여 본 연구에서는 동백엽차와 동백화차, 그리고 본초학적으로 보완적인 성미가 있는 수종의 생약과 녹차를 각각 혼합한 생약혼합형 동백차와 녹차혼합형 동백차를 시료로 하여, 인간의 유방암 세포, 폐암세포, 위암세포 그리고 급성 골수성 백혈암세포에 대한 억제효과 및 다제내성 극복효과에 관한 실험을 수행하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 동백나무는 전남 장흥군 천관산의 동백 자생 군락지에서 자생하고 있는 야생동백나무로부터 꽃은 2~3월에, 어린잎은 4~5월에 그리고 성엽은 6~8월에 각각 채취하여 메탄올 추출물을 조제하여 실험에 사용하였다. 또한 전남농업기술원 차 시험장에서 제다한 동백엽차(불발효차; 찐차, 덫음차, 발효차)와 화차의 메탄올 추출물을 시료로 이용하였으며, 동백엽차와 화차에 녹차를 혼합한 녹차혼합형 동백차를 제다하여 시료로 사용하였다.

동백엽차와 화차, 그리고 녹차와 생약(유자피, 감초, 대추, 수삼, 구기자, 오미자)이 각각 혼합된 녹차혼합형 동백차와 생약혼합형 동백차의 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. The compositions of single camellia tea and mixed camellia tea with green tea and herbs

Sample name	Tea composition	Combination ratio (%)
Young leaf tea	Roasted tea	100
	Steam ted	100
Mature leaf tea	Roasted tea	100
	Steam ted	100
Flower tea	Roasted tea	100
Catemix 1 (CT-1)	Fermented leaf tea : Green tea	50 : 50
Catemix 2 (CT-2)	Roasted leaf tea : Green tea	50 : 50
Catemix 3 (CT-3)	Flower tea : Green tea	50 : 50
Cahemix 1 (CH-1)	Fermented leaf tea : Herbs ¹⁾	50 : 50
Cahemix 2 (CH-2)	Roasted leaf tea : Herbs	50 : 50
Cahemix 3 (CH-3)	Roasted flower tea : Herbs	50 : 50

¹⁾Jujubae Fructus/Schizandrae Fructus/Lycii Fructus/Yooza Peel/Zingiberis Rhizoma/Glycyrrhizae Radix/Ginseng Radix: 22/10/10/4/2/1/1.

암세포주는 유방암세포인 MCF-7(human breast adenocarcinoma pleural effusion), 폐암세포인 Calu-6(human pulmonary carcinoma cell) 및 위암세포인 SNU-601(human gastric carcinoma)을 사용하였으며, 내성세포주로는 인체 백혈병세포인 AML-2/WT(human acute myelogenous leukemia wild type), AML-2/D100(human acute myelogenous leukemia Daunorubicin resistant type)로서 2003년 1월 조선대학교 약리학 실험실에서 분양 받아 실험에 사용하였다.

시료의 추출

동백의 생엽, 생화, 동백차 시료를 추출에 적합하도록 분말화하여 시료중량 10배의 메탄올을 첨가하고 40°C에서 5~6 시간씩 추출한 후, 여과하여 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조기를 이용하여 건조시킨 다음 실험에 사용하였다.

세포 배양

세포 독성효과를 분석하기 위한 MCF-7, Calu-6, SNU-601 세포주는 fetal bovine serum(FBS, GibcoBRL) 10%와 항생제(antibiotic-antimycotic, GibcoBRL)를 함유한 RPMI Medium 1640 복합배지(1 L당 RPMI 1 pack, NaHCO₃ 2 g, pH 7.2)를 사용하여 지속적으로 계대배양하였으며, 다제내성억제활성을 분석하기 위한 AML-2/WT와 AML-2/D100 세포주는 fetal bovine serum 10%와 항생제를 함유한 α -MEM 배지를 사용하여 각각 37°C, 5% CO₂와 습윤화된 배양기내에서 부유배양하였다. 또한 daunorubicin IC₅₀농도(세포의 성장을 50%까지 억제할 수 있는 농도)를 함유한 배양액에서 AML 세포주를 배양하여, 한 농도에서 약물을 3일간 투여 후 내성 표현형의 발현을 돕기 위해 약물을 제거하여 며칠 또는 몇 주 배양한 후 confluent해지면 약물의 농도를 50%씩 증가시키는 방법으로 선별하여 100 nM의 daunorubicin이 존재하는 배지에서도 잘 자라는 내성 아세포주를 얻었다.

세포 독성 측정

세포독성은 비특이적 방어기전으로서 암세포에 직접적으로 손상을 줄 뿐만 아니라 동물 생체 내 림프구나 대식세포와 같이 표적세포에 대하여 세포독성효과를 나타내는 작동세포를 자극함으로써 그 세포독성효과를 항진시키는 것으로 보고되어 있다(19).

본 실험에서는 MTT 방법을 약간 변형하여 3반복으로 세포독성도를 측정하였다. 각 세포주는 2×10^4 cell/mL되게 세포수를 조정하여 96 well microplate(Falcon)에 세포부유액 90 μ L씩 분주하고, 24시간 동안 배양한 후 무처리구인 대조군과 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 삼았다. 각각의 시료는 dimethylsulfoxide(DMSO)에 녹여 농도별로 첨가하여 3~4일간 배양 후 모든 well에 MTT 용액(5 mg/mL PBS, Sigma) 10 μ L씩을 가해주고 다시 37°C, 5% CO₂에서 4시간

더 배양하므로서 MTT가 환원되도록 하였다. 각 well에 생성된 formazan 결정을 DMSO 150 µL로 잘 녹여서 microplate reader(Bio-Tek, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도값을 측정하여 재현성 여부를 검토하였다.

다제내성 조절 활성 검색

MTT 방법을 이용하여 3반복으로 내성세포의 생존 정도를 조사하였다. 시료농도에 따른 세포 생존 정도는 대조군의 흡광도와 비교하여 백분율로 나타내었으며 각 세포들의 항암제 내성생성 정도 및 내성극복효과는 vincristine 존재하에서 IC₅₀을 비교하여 교차 내성배수와 내성극복배수를 결정하였다.

결과 및 고찰

전남지역의 특산식물로서 현재까지 식용자원으로 발굴되지 못했던 동백나무의 다양한 생리활성 및 기능성을 부위별로 구명하기 위한 연구는 동백나무의 식용화와 나아가서는 의약자원화를 위한 중요한 과학적 자료로 활용될 수 있다는 측면에서 큰 의미가 있다고 사료되어 동백의 추출물을 이용하여 인간의 암세포주인 유방암세포(MCF-7)와 폐암세포(Calu-6), 위암세포(SNU-601)의 생육억제효과를 테스트하였으며, 인간의 급성골수성 백혈암세포 중 야생형인 AML-2/WT와 다약제내성 암세포인 AML-2/D100를 이용하여 시료의 화학요법감작효과를 살펴보았다.

세포 독성효과

생엽·생화의 경우, Fig. 1과 Table 2에서와 같이 성엽은 위암세포인 SNU-601에 대하여 168 µg/mL의 농도에서 50%의 생육억제효과를 나타냈으며, 유방암세포(MCF-7)와 폐암세포(Calu-6)에 대해서는 각각 221, 216 µg/mL에서 독성효과를 보였다. 이 결과로 볼 때, 성엽은 유방암세포와 폐암세포보다는 위암세포에 대해 더 효과적인 세포독성도를 가지고 있음을 알 수 있었으며, 어린엽에 비해 효과는 떨어지지만 꽃보다는 IC₅₀이 2~3배 정도 높았다. 본 연구의 일부로서 이미 보고한 동백성엽 추출물의 인간혈액 암세포(HL-60) 성장억제효과(11)에서는 250 µg/mL의 농도에서 생엽추출물이

암세포내에서 caspase-3을 활성화시켜 PART cleavage를 유발하고 이 경로를 통해 아포토시스를 유발시킴으로써 혈액암세포의 성장억제 및 사멸을 초래한 것으로 나타났다. 항산화 작용, 종양유전자의 발현 억제, 헬리코박터(*Helicobacter pylori*)에 대한 항균효과 등의 다양한 생리효과가 있어 차로 마시고 있는 감잎의 경우, Kim과 Kim(21)이 보고한 위암세포(SNU-16)에 대한 감잎 추출물의 세포독성도는 75% 에탄올 추출물이 250 mg/mL에서 80%, 기타 다른 추출물은 500 µg/mL 농도에서 70%의 암세포 억제 효과가 있음을 살펴볼 때 동백성엽의 위암세포 억제 효과와 비슷한 양상을 보임을 알 수 있었다.

동백의 어린잎은 폐암세포(IC₅₀ 79 µg/mL)와 위암세포(IC₅₀ 39 µg/mL)에 대해 상당히 강한 독성도를 나타냈는데, 특히 위암세포에 대해서는 IC₅₀ 39 µg/mL에서 높은 치사효과를 보였다. 이 결과를 성엽과 비교해 볼 때, 동일한 암세포주에 대해 어린잎이 성엽보다 훨씬 높은 저해효과를 가지고 있음을 알 수 있으며, 항암효과가 있는 주요성분의 함량이 성

Table 2. Extract concentrations which inhibit 50% growth of cytotoxic effect on human cancer cell lines

Name	IC ₅₀ ¹⁾ (µg/mL)		
	MCF-7 ²⁾	Calu-6 ³⁾	SNU-601 ⁴⁾
Mature leaf	221	216	168
Young leaf	100 ↑	79	39
Flower	400 ↑	302	400 ↑
Roasted leaf tea	200 ↑	200 ↑	- ⁵⁾
Steam leaf tea	200 ↑	173	-
Flower tea	200 ↑	200 ↑	-
Catemix-1 ⁶⁾	96	91	-
Catemix-2	75	74	-
Catemix-3	86	76	-
Cahemix-1	200 ↑	200 ↑	-
Cahemix-2	200 ↑	160	-
Cahemix-3	200 ↑	200 ↑	-

¹⁾ Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells.

²⁾ Human breast adenocarcinoma pleural effusion.

³⁾ Human pulmonary carcinoma.

⁴⁾ Human gastric carcinoma.

⁵⁾ Non tested.

⁶⁾ Detail of combined tea shown in Table 1.

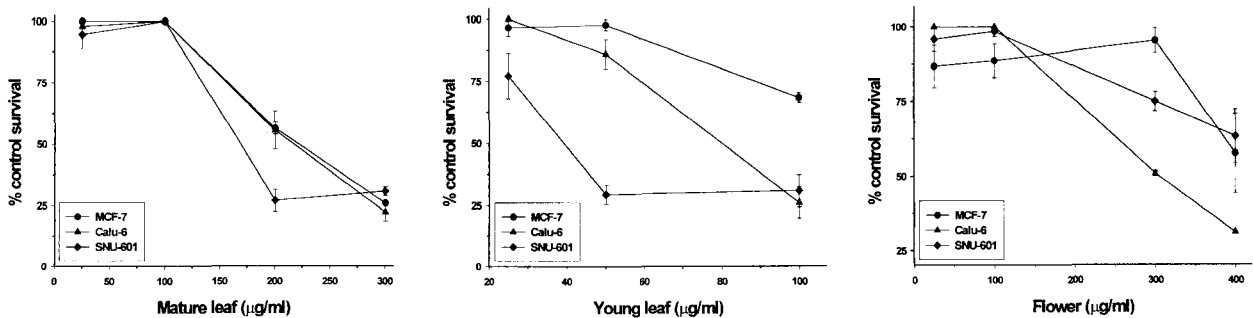


Fig. 1. Cytotoxicity of fresh leaf and flower extract of camellia against MCF-7, Calu-6 and SNU-601. ●-●, human breast adenocarcinoma pleural effusion; ▲-▲, human pulmonary carcinoma; ◆-◆, human gastric carcinoma.

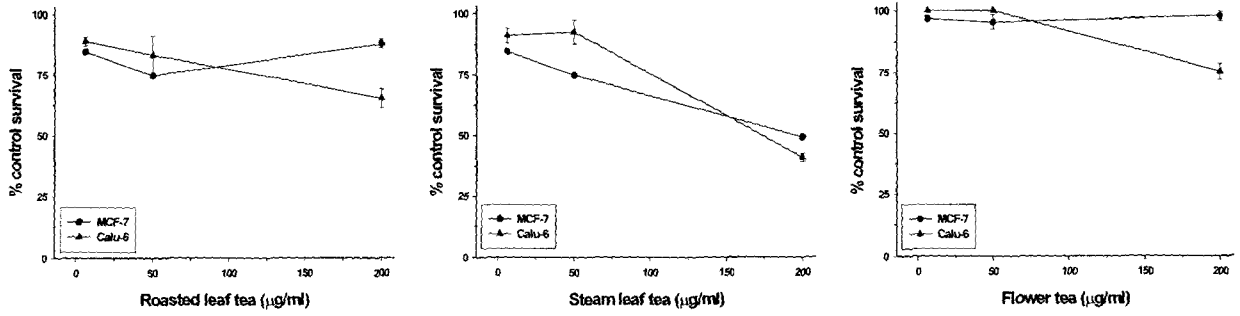


Fig. 2. Growth inhibitory effect on cell survival of single camellia teas on MCF-7 and Calu-6.

●—●, human breast adenocarcinoma pleural effusion; ▲—▲, human pulmonary carcinoma.

엽보다는 어린잎에 더 많을 것으로 사료되며, 기능성 차의 재료로서 성엽보다는 어린잎이 더욱 유용할 것으로 생각된다.

생화 추출물의 세포독성은 세 종류 암세포(MCF-7: IC₅₀ >400 µg/mL, Calu-6: IC₅₀ 302 µg/mL, SNU-601: IC₅₀ >400 µg/mL) 모두에 대해 성엽이나 어린잎보다 전반적으로 미약하게 나타났다.

동백잎을 재료로 한 덩음차는 유방암세포와 폐암세포 모두에서 유의할 만한 세포독성도를 보이지 않았으며, 찐차의 경우, 폐암세포에 대해 상당한 생육억제효과를 나타냈다. 꽃을 재료로 한 화차도 덩음차와 마찬가지로 두 종류의 암세포에 대해 독성효과를 보이지 않았다(Fig. 2). 덩음차와 화차는 최대 200 µg/mL 농도에서 MCF-7, Calu-6에 대한 독성이 없어서 IC₅₀ 값을 측정할 수 없으므로 정확한 독성 여부를 확인하기 위해서는 200 µg/mL 이상의 농도에서 보완실험이 필요하다고 사료된다.

녹차와 7종의 생약을 각각 배합한 녹차혼합형 동백차(catemix 1,2,3)와 생약혼합형 동백차(cahemix 1,2,3)에 대해 암세포 독성테스트를 분석한 결과를 보면(Fig. 3), catemix 1, 2, 3의 IC₅₀값은 74~96 µg/mL의 범위로, 전반적으로 유방암세포와 폐암세포 모두에 대해 유의할 만한 항암효과를 나타냈다. 단일 동백엽차(덩음차)의 IC₅₀값이 200 µg/mL 이상인데 비해 녹차를 혼합한 동백엽차(catemix 2)는 MCF-7 (IC₅₀ 75 µg/mL)과 Calu-6(IC₅₀ 74 µg/mL)에 대해 훨씬 강한 세포독성효과를 나타내므로써 기능성을 강화시켜주는 시너지효과를 보였는데, 이는 Ahmad 등(21)과 Tanaka 등(22)이 밝혔듯이 녹차 자체의 항암효과 때문일 것이다. 이와 마찬가지로 화차의 경우도 단일화차와 녹차혼합형 화차를 비교해 본 결과, 단일화차가 200 µg/mL 이상의 농도에서 IC₅₀값을 나타낸 것과는 달리 녹차를 배합한 화차(catemix 3)의 IC₅₀값(MCF-7: 86 µg/mL, Calu-6: 76 µg/mL)이 훨씬 저하됨을

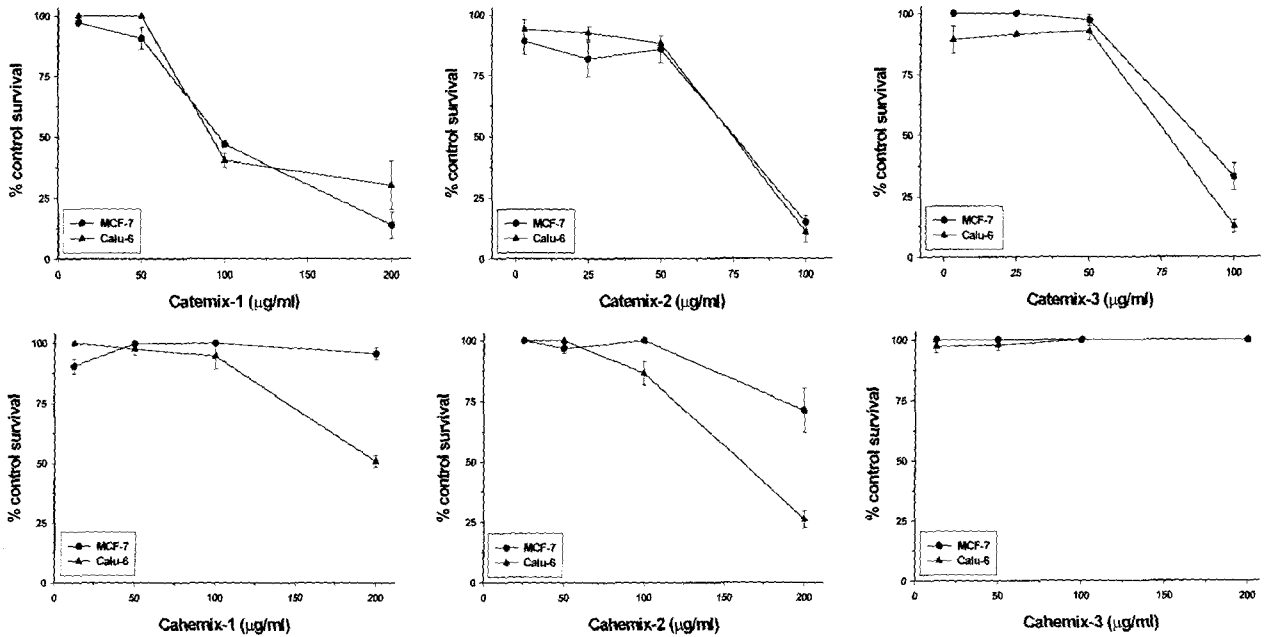


Fig. 3. Cytotoxic effect on cell survival of mixed camellia tea on human cancer cell lines.

Data were presented as means ± SD (n=3).

●—●, human breast adenocarcinoma pleural effusion; ▲—▲, human pulmonary carcinoma.

알 수 있었다. 이상과 같이 동백차는 비혼합형 단일차보다는 녹차를 배합한 혼합형 동백차로 제다하는 것이 기능성면에서 더 큰 의미가 있을 것으로 사료된다.

생약혼합형 동백차(cahemix 1,2,3)는 녹차혼합형과 비교할 때, 암세포 독성효과에 있어서 유의할 만한 시너지효과를 보이지 않았으나 cahemix 2는 cahemix 1,3과는 달리 Calu-6(폐암세포)에 대해 상당한 생육저해효과(IC₅₀ 160 µg/mL)를 나타냈다. Chang과 Chi(23)는 백부자의 34종의 생약이 흰 쥐의 신경교감 세포(AC glioma)에 미치는 영향을 살펴본바 있는데, 저농도(100 µg/mL)에서는 5% 이하의 세포독성도를 나타냈다. 이들 결과로 미루어 볼 때, 동백잎은 식용이 가능한 항암식물로서 이용이 가능할 뿐만 아니라 기능성이 다양한 각종 생약을 혼합하여 제다한 생약 혼합형 동백차도 약식 동원성 식품으로 활용화가 가능할 것으로 사료된다.

다제내성 활성 효과

암세포에 존재하는 다제내성의 기전에 의해 세포내로 들어온 세포독성물질들을 세포밖으로 내보내는 펌프로써 역할을 하는 P-당단백질의 과다발현으로 암세포내에 축적되는 약제량이 감소되는 것이 밝혀지면서 화학요법만으로는 효율적인 암치료가 어려워졌다(1). Daunorubicin 100 nM에 대하여 내성이 있는 내성세포주 AML-2/D100를 표준항암제 vincristine과 함께 각종의 동백시료를 처리하여, 동백 추출물의 다제내성 극복활성효과를 탐색하고 감수성 세포 AML-2/WT에 대하여도 세포독성을 측정하므로써 내성세포에 대한 선택적 세포독성 즉, 교차내성을 살펴보았다.

생엽·생화의 경우, 항암제 즉 vincristine에 대한 IC₅₀값과 성엽, 어린엽, 꽃의 내성극복효과를 나타내었다(Fig. 4, Table 3). 성엽에서는 3, 어린엽은 1, 꽃은 0.9의 내성극복효과가 관찰되었으며, 세포독성을 강하게 보이던 어린엽은 다제내성 활성효과는 미약하였다. 오히려 성엽이 어린엽에 비해 3배 높은 활성효과를 보였으나 감수성 세포와 내성세포 간에 IC₅₀의 큰 차이가 없어 내성 세포에 대하여 선택적 세포독성을 나타내지는 않는 것으로 판단되었다. 생화의 경우엔, 세포독

Table 3. Extract concentrations which inhibit 50% growth of chemosensitizing effect on human cancer cell lines

Name	IC ₅₀ ¹⁾ of AML-2/WT ²⁾	IC ₅₀ of AML-2/D100 ³⁾	
		VCR ⁴⁾ -(CR ⁵⁾	VCR+(RF ⁶⁾)
Mature leaf	273	288 (1.0)	97 (3.0)
Young leaf	65	78 (1.2)	86 (0.9)
Flower	331	336 (1.0)	383 (0.9)
Roasted leaf tea	200 ↑	200 ↑ (-)	76 (2.6 ↑)
Steam leaf tea	196	200 ↑ (1.0 ↓)	70 (2.8 ↑)
Flower tea	200 ↑	200 ↑ (-)	200 ↑ (-)
Catemix-1 ⁷⁾	95	159 (1.7)	147 (1.1)
Cahemix-2	111	99.6 (0.9)	97 (1.0)
Catemix-3	200 ↑	183 (0.9 ↓)	191 (0.9)
Cahemix-1	94	180 (1.9)	105 (1.7)
Cahemix-2	97	160 (1.6)	124 (1.3)
Cahemix-3	200 ↑	200 ↑ (-)	200 ↑ (-)

¹⁾Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells.
²⁾Wild type of human acute myelogenous leukemia.
³⁾Daunorubicin 100 nM.
⁴⁾VCR, vincristine; -/+, absence/presence.
⁵⁾Cross resistance (CR) = IC₅₀ of AML-2/D100/IC₅₀ of AML-2/WT.
⁶⁾Reversal fold (RF) = IC₅₀ of AML-2/D100 without vincristine/IC₅₀ of AML-2/D100 with vincristine.
⁷⁾Detail of combined tea shown in Table 1.

성 테스트에서처럼 유의할 만한 화학요법감작능을 보이지 않았다.

동백엽차(덧음차, 찐차)와 화차의 다제내성 활성도를 살펴보면(Fig. 5), 내성암세포인 AML-2/D100에 vincristine과 함께 동백엽의 덧음차 추출물을 동시에 처리하면 IC₅₀ 76 µg/mL에서 암세포로부터 vincristine이 배출되어지는 것을 억제하므로써 vincristine의 항암활성을 유지시켜 주는 것으로 나타났다. 단, 최종농도 200 µg/mL에서 IC₅₀값을 구할 수 없어 교차내성과 내성극복효과를 정확하게 비교할 수 없었다. 동백엽의 찐차도 IC₅₀ 70 µg/mL에서 다제내성활성을 보였으나 덧음차에 비해 감수성 세포(AML-2/WT)의 독성도가 높아 내성세포에 대한 선택적 세포독성도가 낮을 것으로 사료된다.

혼합 동백차의 경우, Fig. 6에 나타낸 바와 같이 내성세포에

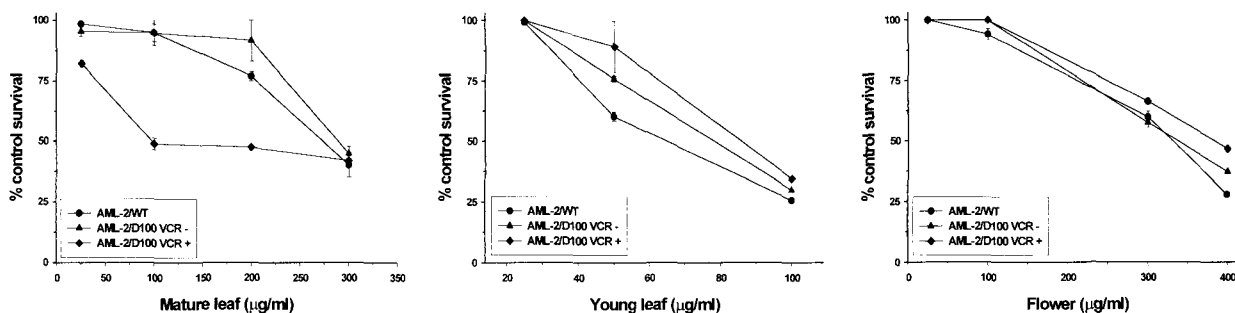


Fig. 4. Survival curve about drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect for fresh camellia leaf and flower on human acute myelogenous leukemia cell.

Date, were presented as means ± SD (n=3).

●—●, Wild type of human acute myelogenous leukemia; ▲—▲, Daunorubicin resistant type in the absence of VCR; ◆—◆, Daunorubicin resistant type in the presence of VCR.

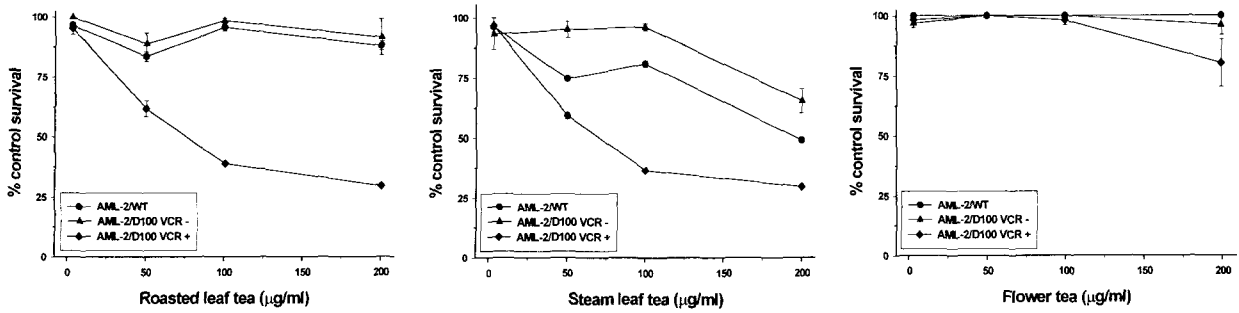


Fig. 5. Drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect for camellia tea extract on AML-2/WT and AML-2/D100. Data were presented as means \pm SD (n=3). ●—●, Wild type of human acute myelogenous leukemia; ▲—▲, Daunorubicin resistant type in the absence of VCR; ◆—◆, Daunorubicin resistant type in the presence of VCR.

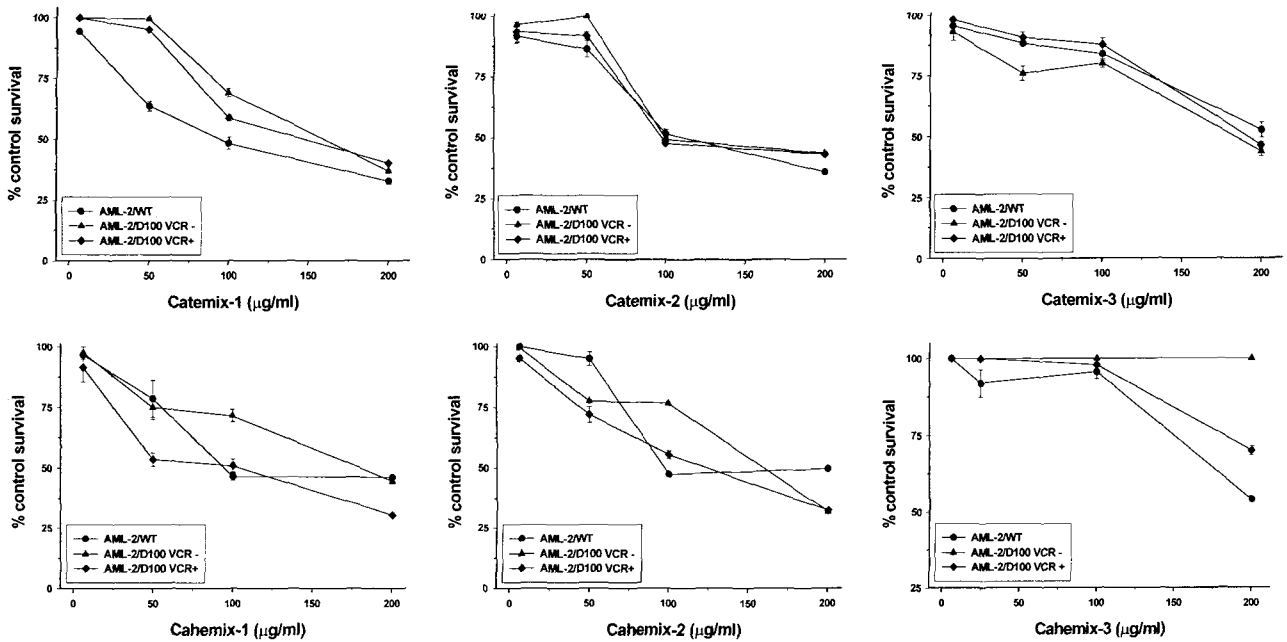


Fig. 6. Survival curve about drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect for mixed camellia teas on AML-2/WT and AML-2/D100. Data were presented as means \pm SD (n=3). ●—●, Wild type of human acute myelogenous leukemia; ▲—▲, Daunorubicin resistant type in the absence of VCR; ◆—◆, Daunorubicin resistant type in the presence of VCR.

대한 선택적 세포독성은 Catemix-2(녹차와 동백엽의 덩이 찻의 혼합)와 Catemix-3(녹차와 동백화차의 혼합)에서 0.9로 다소 효과를 보였지만, 다른 시료들은 내성세포에 대하여 높은 IC₅₀를 나타내므로서 교차내성은 없었다. 세포독성과 교차내성을 보였던 Catemix는 내성 극복 효과에 있어서는 Cahemix-1, 2(생약과 혼합된 동백엽차)보다 그 효과가 낮게 나타났다. 내성 극복 효과는 Cahemix-1(CR: 1.7)에서 높게 관찰되었다. Kim 등(24)은 450종의 약용식물로부터 인체 구강암세포(KB-3-1)에 대해 다제내성 조절활성을 나타내는 14종의 식물을 스크리닝하여 보고하였는데 그 중, 큰조롱, 사상사, 멀구슬나무, 노박덩굴, 가자는 IC₅₀의 비에 대한 활성증강도(E.F.)가 10 이상의 높은 활성을 나타냈다. 이와 같은 결과를 미루어 볼 때, 동백나무를 포함하여 국내에 자생하고

있는 다양한 식물들 중 식용이 가능한 식물들을 대상으로 기존의 항암제에 대한 내성 조절이 가능한 식물들을 신속하게 발굴할 수 있다면 자생식물의 광범위한 의약자원화에 기여하는 바가 클 것으로 기대된다.

요 약

동백나무의 생엽과 생화, 그리고 이를 재료로 제다한 단일 동백엽차·화차 및 혼합 동백차의 세포독성과 다제 내성 극복을 규명하기 위하여, 4종의 인간암세포(MCF-7, Calu-6, SNU-601, AML-2/WT)와 1종의 다제내성세포주(AML-2/D100)를 이용하여 MTT방법으로 분석하였다. 동백의 어린엽 추출물은 Calu-6(IC₅₀: 79.8 µg/mL), SNU-601(IC₅₀: 39.0

µg/mL)에 대해 성엽과 꽃에 비해 세포독성 효과가 높았다. 단일 동백엽차 중, 찐차는 덩음차나 화차에 비해 상당한 생육 억제효과를 보였으며, 혼합 동백차의 경우, Cahemix보다는 Catemix추출물이 MCF-7, Calu-6에 대한 IC₅₀ = 100 µg/mL 이하의 낮은 농도에서 세포 증식억제 및 사멸 효과가 현저히 상승됨을 보여주었다. 특히 Catemix-2를 첨가하였을 때 MCF-7과 Calu-6 암세포에서 IC₅₀값이 각각 75.3과 74.6으로 높은 억제효과를 나타내었다. 시료에 대하여 감수성 세포인 AML-2/WT에 대하여 세포독성을 측정하여 감수성 세포에 비하여 내성세포에 대하여 선택적 세포독성 여부를 관찰한 결과, 대체적으로 IC₅₀의 차이가 없거나 내성세포의 IC₅₀이 높게 나타내어 그다지 선택적 세포독성을 나타내지 않는 것으로 보인다. 혼합 동백차의 경우, 내성세포에 대한 선택적 세포독성은 Catemix-2(녹차와 동백엽의 덩음차의 혼합)와 Catemix-3(녹차와 동백화차의 혼합)에서 0.9로 다소 효과를 보였으며, 내성 극복 효과는 Cahemix-1(CR: 1.7)에서 높게 관찰되었다.

감사의 글

본 논문은 2001년도 농림기술개발사업 연구비 지원에 의하여 수행된 연구의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

1. Kim SE, Hwang BY, Kim YH, Kim YC, Lee KS, Lee JJ. 1997. Multidrug-resistance reversing activity of medicinal plants. *Kor J Pharmacogn* 28: 174-178.
2. 문교부. 1974. 한국동식물도감. 삼화출판사, 서울. 제15권, p 665.
3. 송규택, 정현배, 봉희성. 1984. 한국자원식물, 미도문화사. p 650.
4. 송규택. 1978. 한국자원식물. 한국자원식물연구소. p 650.
5. 이창복. 1982. 대한식물도감. 향문사, 서울. p 543.
6. Itokawa H, Nakajima H, Ikuta A, Iitaka Y. 1981. Two teiterpenes from the flowers of *Camellia japonica*. *Phytochemistry* 20: 2539-2542.
7. Bhakuni DS, Goel AK, Jain S, Mehrotra BN, Patnaik GK, Prakash V. 1988. Screening of Indian plants for biological activity (Part III). *J Exp Biol* 26: 883-886.
8. Yoshikawa M, Harada E, Murakami T, Matsuda H, Yamahara J, Murakami N. 1994. Camelliasaponins B1, B2, C1 and C2, new type inhibitors of ethanol absorption in rats from the seeds of *Camellia japonica* L. *Chem Pharm Bull* 42: 742-746.
9. Fujita Y, Fujita S, Yoshikawa H. 1973. Comparative biochemical and chemotaxonomical studies of the plants of Theaceae (I). Essential oils of *Camellia sasanqua* Thunb., *C. japonica* Linn., and *Thea sinensis* Linn. *Osaka Kogyo Gijutsu Shidensho Kigo* 25: 198-203.
10. 최옥자, 김용두, 강성구. 1996. 동백종실 및 유박의 활용방안, 고유 농수산품목 세계화 대상품목의 연구조사, 동백나무편. 전라남도. p 331-425.

11. Kim JH, Lee SY, Cho SI. 2003. Anti-proliferative effect of *Camellia japonica* leaves on human leukemia cell line. *Kor J Herbology* 18: 93-98.
12. Hwang EJ, Lee SY. 2003. Chemosensitizing activity against human leukemia cell of crude extracts of native camellia (*Camellia japonica*) in Jeonnam. 2003 Annual Meeting of the Korean Society of Applied Pharmacology. PB-11, p 85.
13. Hwang EJ, Lee SY, Jeon WB, Pyo BS, Kim SM. 2003. Inhibitory effect of camellia (*Camellia japonica*) extract on growth of various cancer cells. 2003 Annual Meeting of The Korea Society of Medicinal Crop Science. Vol 11, Supplement No 2, p 220-221.
14. Lee SY, Cha YJ, Lee JW, Hwang EJ, Kwon SJ, Cho SI. 2003. Physiological and pharmacological activities of nutraceutical tea by leaves and flowers of domestic camellia (*Camellia japonica*) The Plant Resources Society of Korea. The 10th International Symposium. No.16, Korean Supplement 2, p 48-49.
15. Kim JH, Im WC, Park MH, Lee JH, Lee SY. 2003. Optimized conditions for making tea from camellia (*Camellia japonica*) leaf and flower and sensory evaluation. The Plant Resources Society of Korea. The 10th International Symposium. No. 16, Korean Supplement 2, p 34-35.
16. Cha YJ, Lee JW, Park MH, Hwang EJ, Lee SY. 2003. Major composition of leaf tea and flower tea using native camellia (*Camellia japonica*) in Korea, The Plant Resources Society of Korea. The 10th International Symposium. No.16, Korean Supplement 2, p 33.
17. Hwang EJ, Park MH, Pyo BS, Cha YJ, Lee SY. 2003. The cytotoxicity and chemosensitizing effects of native camellia (*Camellia japonica*) and nutraceutical camellia teas. 2003 Annual Meeting of The Plant Resources Society of Korea. No. 16, Korean Supplement 1, p 102.
18. Cha YJ, Park MH, Cho SI, Kim JH, Lee SY. 2002. The development of nutraceutical tea by native camellia in Korea. Annual Meeting and Seminar of the Korean Camellia Research Society.
19. Fischer SM, Leyton LJ, Lee ML, Lochniscar M, Belury MA, Maldve RE. 1992. Differential effects of dietary linoleic acid on mouse skin-tumor promotion and mammary carcinogenesis. *Cancer Res (Suppl)* 52: 2049-2056.
20. Kim HJ, Kim MK. 2003. Anticancer effect of persimmon leaf extracts on Korean gastric cancer cell. *J Kor Soc F Nutr* 36: 133-146.
21. Ahmad N, Feyes DK, Nieminen AL, Agarwal R, Mukhtar H. 1997. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 89: 1881-1886.
22. Tanaka H, Hirose M, Kawabe M, Sano M, Takesada Y, Hagsara A, Shirai T. 1997. Post-initiation inhibitory effects of green tea catechins on 7, 10-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary gland carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Lett* 116: 47-52.
23. Chang IL, Chi HJ. 1982. Toxicological evaluation of medicinal plants used for herbal drugs (III). *Kor J Pharmacog* 13: 55-61.
24. Kim JR, Kim SY, Kim JH. 1995. Reversal effect of antihistamines on multidrug resistance in adriamycin- and vincristine-resistant L1210 variants. *J Kor Cancer Assoc* 27: 130-137.

(2003년 12월 3일 접수; 2004년 3월 2일 채택)