

仙方活命飲 및 구성약물의 세포독성에 관한 실험적 연구

안현주 · 지선영

대구한의대학교 한의과대학 안이비인후과학교실

Experimental Study on Cytotoxicity of Sunbanhwalmyeongum and Its Composition Oriental Medicines

Hyun-jue An · Seon-young Jee

The purpose of this research was to investigate cytotoxicity of Sunbanhwalmyeongum extract. Cytotoxicity was determined by MTT assay method. After tumor cell lines(G361, B16F10, MDA, A549) transplantation, the extracts of SunBangHwalMyungEum and its composition oriental medicines were administered, cytotoxicity was measured by absorbance.

The results were obtained as follows.

1. Sunbanhwalmyeongum extract and its composition oriental medicines extracts showed the concentration was higher, the more cytotoxicity increased.
2. Both water and ethanol extracts of Sunbanhwalmyeongum showed excellent cytotoxicity against G361, B16F10, MDA, A549 and high cytotoxicity over 80% against G361, B16F10, MDA except A549 at the concentration of 1000ppm.
3. In water extract, Rhei Radix et Rhizoma, Gleditsiae Spina, Trichosanthis Radix, Glycyrrhizae Radix, Ledebouriellae Radix showed excellent cytotoxicity. In ethanol extract, Gleditsiae Spina, Citri Pericarpium, Trichosanthis Radix, Paeoniae Radix Rubra, Myrrha showed excellent cytotoxicity.
4. Rhei Radix et Rhizoma, Gleditsiae Spina, Trichosanthis Radix, Paeoniae Radix Rubra showed high cytotoxicity in both water and ethanol extrats.
5. In water extract, Glycyrrhizae Radix, Ledebouriellae Radix, Myrrha showed high cytotoxicity against A361, Lonicerae Flos, Olibanum, Fritillariae cirrhosae Bulbus, Paeoniae Radix Rubra, Manitis Squama against B16F10, Paeoniae Radix Rubra, Manitis Squama against MDA, Rhei Radix et Rhizoma, Angelicae gigantis Radix against A549.
6. In ethanol extract, Lonicerae Flos, Trichosanthis Radix showed high cytotoxicity against G361, Rhei Radix et Rhizoma, Angelicae gigantis Radix, Gleditsiae Spina, Olibanum, Angelicae dahuricae Radix, Fritillariae cirrhosae Bulbus, Paeoniae Radix Rubra, Glycyrrhizae Radix, Ledebouriellae Radix, Myrrha against B16F10, Rhei Radix et Rhizoma, Manitis Squama against MDA, Citri Pericarpium, Manitis Squama against A549.

According to the above results, it was concluded that Sunbanhwalmyeongum and its composition oriental medicines extracts had cytotoxicity, suggesting it can be applied to the treatment of cancer.

Key words : Sunbanhwalmyeongum, cytotoxicity

서론

仙方活命飲은宋代 陳自明의 《婦人良方大全》¹⁾에 기록된 처방으로 여러 역사적 등^{2,4)}에서 약물 구성에 약간의 변형은 있었으나, 消腫, 止痛, 解熱, 散瘀, 排膿, 補血, 活血하는 효능으로 癰疽, 즉 염증성 질환, 농양, 종양 등을 치료하는 秀方이다. 仙方活命飲은 瘡瘍 腫毒 초기에 신체가 實하고 癰疽가 陽症에 속할 때 사용하며, 成腫되지 않은 것은 화농을 방지하고 화농된 것을 破하여 배농하게 한다^{5,6)}.

지금까지 仙方活命飲에 대해서는 蔡⁷⁾의 연구에서 소염, 진통, 하열, 항균 효능에 대한 연구가 있었고, 崔 등⁸⁾의 연구에서 고탄암과 복수암에 대한 세포독성 효과와 면역 증가 효과를, 李⁹⁾, 張 등¹⁰⁾은 항균 효과를, 徐¹¹⁾는 용매에 따른 마우스의 면역반응에 미치는 효과를 보고한 바 있으나 仙方活命飲과 구성약물의 세포독성에 관한 기초 실험을 보고한 바는 없었다.

이에 저자는 癰疽의 치료에 널리 사용되는 仙方活命飲을 선택하여 세포독성과 종양성 질환에 대한 한방치료의 기초자료로 활용하고자 仙方活命飲과 구성약물의 피부암세포, 유선암세포 및 폐암세포에 대한 세포독성을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 재료

(1) 약재

본 실험에서 사용한 仙方活命飲은 《東醫寶鑑》⁴⁾에 기록된 내용에 준하였으며, 시료로 사용된 약재는 대구한의대학교 부속 대구한방병원 약제과에서 구입하여 물로 세척하여 음건후 사용하였다. 시료의 생약명과 학명은 다음과 같다(Table. 1)

Table 1. Composition of Sunbanhwalmyeongum

韓藥名	生藥名	重量(g)
大黃	Rhei Radix et Rhizoma	18.75
金銀花	Lonicerae Flos	11.25
當歸	Angelicae gigantis Radix	5.625
皂角刺	Gleditsiae Spina	5.625
陳皮	Citri Pericarpium	5.625
乳香	Olibanum	3.75
貝母	Fritillariae cirrhosae Bulbus	3.75
天花粉	Trichosanthis Radix	3.75
白芷	Angelicae dahuricae Radix	3.75
赤芍藥	Paeoniae Radix Rubra	3.75
甘草	Glycyrrhizae Radix	3.75
防風	Ledebouriellae Radix	2.625
沒藥	Myrrha	1.875
穿山甲	Manitis Squama	1.125
	總量	75

(2) 시료추출

시료의 추출은 Fig. 1과 같이 측정하였다. 즉, 열수 추출물의 경우, 仙方活命飲 및 구성약물인 大黃, 金銀花, 當歸, 皂角刺, 陳皮, 乳香, 貝母, 天花粉, 白芷, 赤芍藥, 甘草, 防風, 沒藥, 穿山甲 각각에 증류수 10배의 양을 가하여 85℃에서 3시간 환류냉각 추출하여 상층액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였으며, 시료의 에탄올 추출은 70% 에탄올 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상층액과 침전물을 분리하여 위와 같은 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물을 원심분리 및 여과, 농축하여 동결건조 후 냉장실에 보관하며 PBS(phosphate buffer saline)으로 희석하여 최종 농도를 10ppm, 100ppm, 1000ppm으로 하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

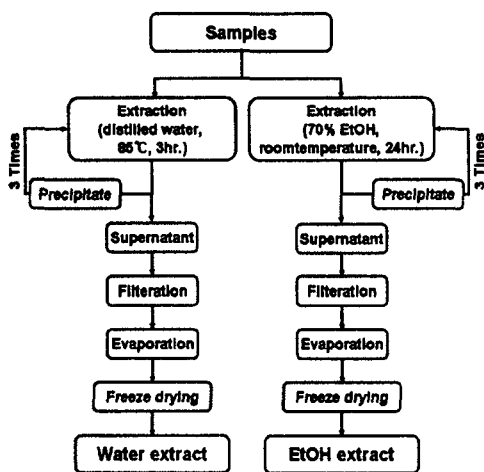


Fig. 1. The procedure for extraction from medicinal plants.

2) 시약 및 기기

세포독성에 대한 실험에서의 세포주는 피부암세포인 G361(human), B16F10(mouse)과 유선암세포인 MDA-MB-231(human) 및 폐암세포인 A549(human)를 사용하였다. 세포배양을 위한 배지는 RPMI 1640

Medium(Gibco BRL Co., U.S.A)에 10% Fetal bovine serum(Gibco BRL Co., U.S.A), 1% Penicillin/streptomycin (Gibco BRL Co., U.S.A)을 첨가한 것으로 사용하였으며, 세포독성 측정을 위한 시약으로서 MTT(Sigma Chemical Co., U.S.A), Trypsin 250(Difco, U.S.A), Trypan blue stain 0.4%(Gibco BRL Co., U.S.A)와 Haemocytometer(Marienfeld, Germany)를 사용하였다.

그 외의 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기는 rotary vacuum evaporator (Tokyo Rikakikai Co., Japan), centrifuge (Hitachi, Japan), freeze dryer(Ilsin, Korea), microscope(Olympus, Japan), CO2 incubator(Hanbaek Scientific Co., Korea), pH meter(Orion Research, Inc. U.S.A), autoclave(Hanbaek Scientific Co., Korea), ELISA reader(Bio Rad, U.S.A) 등을 사용하여 측정하였다.

2. 실험방법

1) 세포독성

(1) 세포배양

본 실험에 이용한 세포 G361(melanoma), B16F10(melanoma), MDA-MB-231 (breast cancer), A549(lung cancer)는 Korean Cell Line Bank(KCLB)로부터 구입하였다. 각 세포의 배양은 10% fetal bovine serum(FBS)과 100 unit/ml의 penicillin/streptomycin을 1%를 첨가한 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 37℃, 5% CO2 incubator에 적응시켜 계대 배양하여 사용하였다.

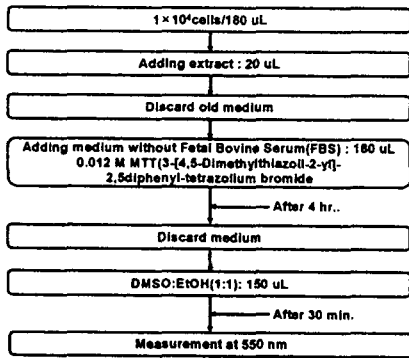
(2) MTT assay에 의한 적정 접종세포수 측정

세포독성 측정을 위한 지수기의 적정 세포수 측정은 96 well plate에 5×10⁴의 세포를 분주한 후 세포밀도를 1/2로 희석하면서 접종한 후 37℃, 5% CO2 하에서 4일간 배양한 후 흡광도를 측정하였다.

(3) MTT assay에 의한 세포독성 측정

추출물의 암세포 주에 대한 세포독성은 Camichael 등의 방법¹²⁾에 따라 MTT assay를 Fig. 2와 같이 실시하였

다. 즉, 암세포 주를 96 well plate에 1×10^4 cells/well이 되게 0.18 ml 분주하고 시료는 PBS를 사용하여 희석하여 농도별로 조제하여 0.02 ml 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였고, 대조군은 시료와 동량의 PBS를 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 여기에 5 mg/ml 농도로 제조한 MIT 용액 20 μl를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO:EtOH(1:1) 150 μl를 가하여 30분간 교반한 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 암세포주의 세포독성을 측정하였다.



$$\text{Cell viability(\%)} = 100 - \left[\left(1 - \frac{B}{A} \right) \times 100 \right]$$

A : Absorbance at 550nm without test sample after incubation.

B : Absorbance at 550nm with test sample after incubation.

Fig. 2. The assay method of cell viability on cancer cell.

2) 통계처리

결과 통계처리는 SPSS 9.0 for windows program을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA : analysis of variance)을 한 후, $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT : Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

실험성적

1. 세포독성 확인

1) 적정 접종세포수 측정

배양 용기내의 세포들을 배양기에 넣어 배양하면, 2~24시간 가량의 세포증식이 이루어지지 않는 lag phase를 거쳐 지수적인 성장을 하는 log phase로 들어가게 되는 phase는 각 세포주마다 특이하여 각 세포주 특유의 lag phase 시간, population doubling time, plateau phase에서의 세포 포화 밀도를 가지게 된다. 지수기는 암이 활발하여 MIT의 환원작용도 활발하여 살아있는 세포의 수가 흡광도에 비례적으로 반영되므로 접종되는 세포의 수는 지수기의 세포농도를 기준으로 선택되어야 한다. 이 지수곡선에서 흡광도가 0.6~0.7인 부분에서의 흡광도는 세포농도가 세포의 농도에 정비례하여 감소 또는 증가함으로 이 지수 성장기의 세포가 적정 세포 밀도가 된다. 따라서, 적정 세포수의 측정결과는 Fig. 3과 같이 나타내었다. 흡광도 0.6~0.7의 부위에서 G361의 경우 3.13×10^3 cells, B16F10의 경우 1.17×10^3 cells, MDA의 경우 9.38×10^3 cells, A549의 경우 4.7×10^3 cells의 농도로 세포독성을 측정하였다.

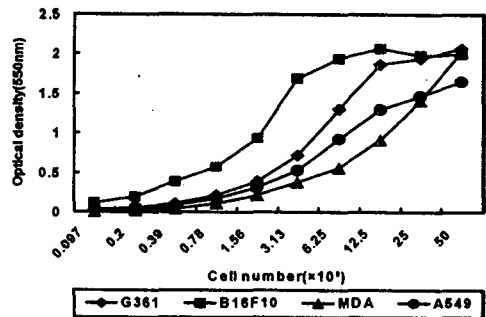


Fig. 3. Optimization of cell concentration on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer.

2) MTT assay에 의한 세포독성 효과 측정

세포독성은 MTT 방법으로 각 well의 흡광도를 ELISA reader로 550nm에서 측정하여 대조군의 흡광도와 비교하여 세포독성을 측정하였다. 仙方活命飲 및 각 약재들의 암세포에 대한 세포독성을 측정할 결과, 모든 약재에 대하여 암세포 모두 시료 농도가 증가함에 따라 유의성있게 높은 세포독성을 나타내었다(Fig. 4~18). 仙方活命飲 복합처방에 있어서 열수 추출물 및 에탄올 추출물 모두 모든 암세포에 대하여 높은 세포독성을 나타내었으며, 시료농도 1000 ppm의 경우, A549를 제외한 모든 세포에 대하여 약 80% 이상의 높은 세포독성을 나타내었다. 또한 仙方活命飲에 들어가는 약재 각각의 세포독성을 관찰한 결과, 열수 추출물의 경우, 大黃, 皂角刺, 天花粉, 甘草, 防風에서 뛰어난 세포독성을 나타내었으며, 에탄올 추출물의 경우, 皂角刺, 陳皮, 天花粉, 赤芍藥, 沒藥 등의 세포독성이 뛰어났다. 특히, 大黃, 皂角刺, 天花粉, 赤芍藥의 경우, 열수 및 에탄올 추출물 모두 세포독성이 높게 나타났다.

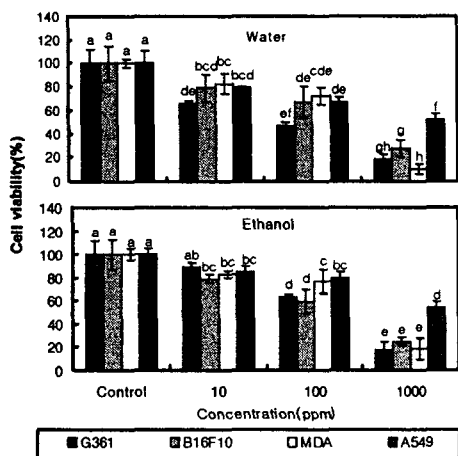


Fig. 4. Cell viability of Sunbangwhalmyeong-um on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

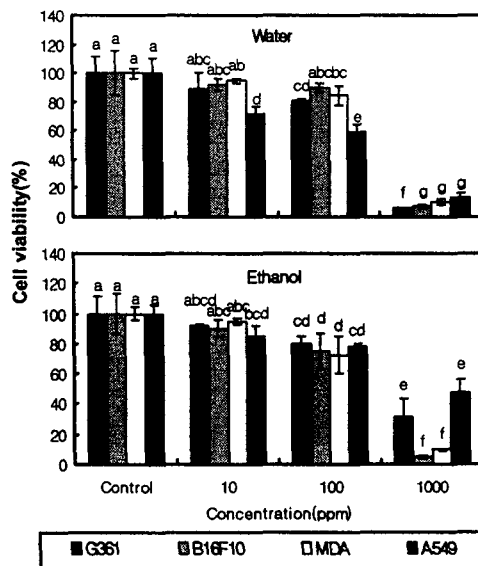


Fig. 5. Cell viability of Rhei Radix on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

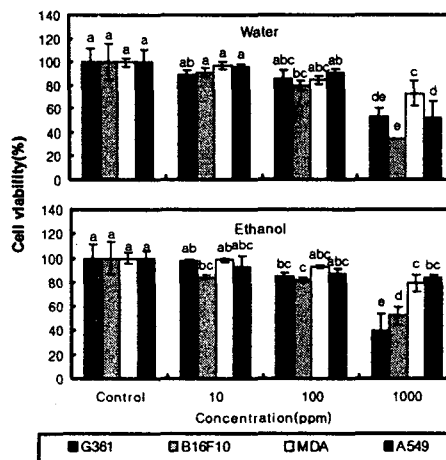


Fig. 6. Cell viability of Lonicerae Flos on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

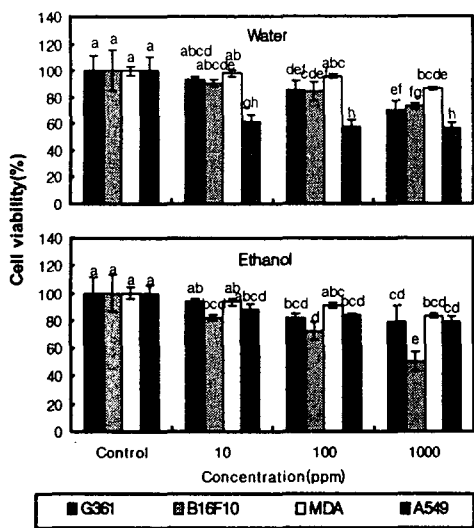


Fig. 7. Cell viability of Angelicae gigantis Radix on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

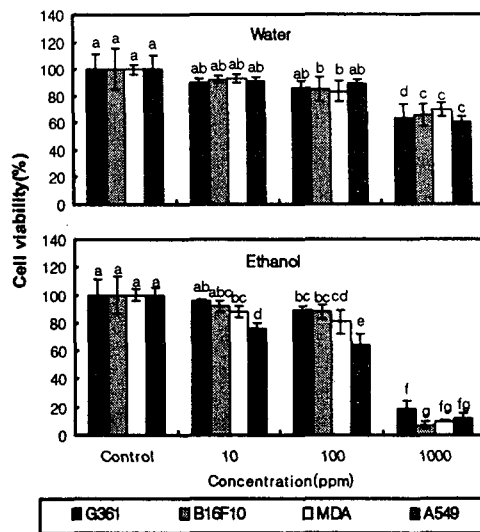


Fig. 9. Cell viability of Citri Pericarpium on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

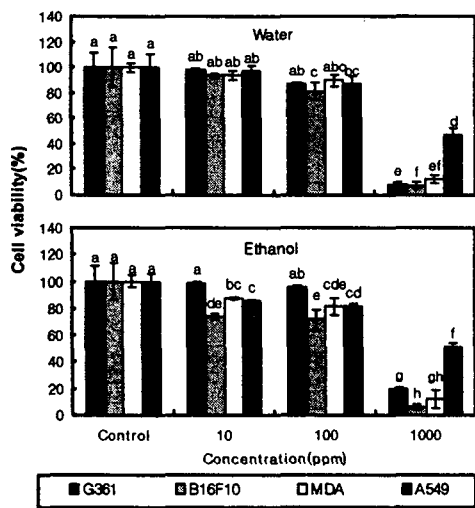


Fig. 8. Cell viability of Gleditsiae Spina on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

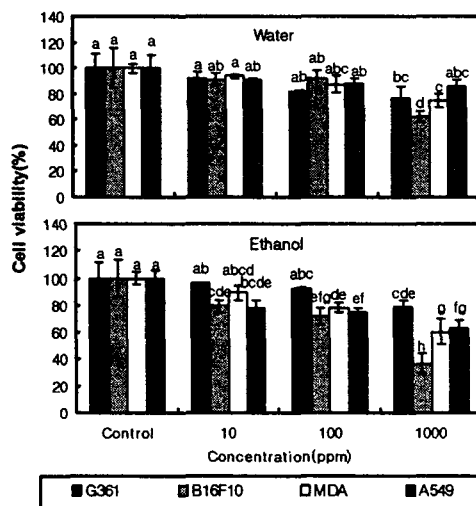


Fig. 10. Cell viability of Olibanum on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

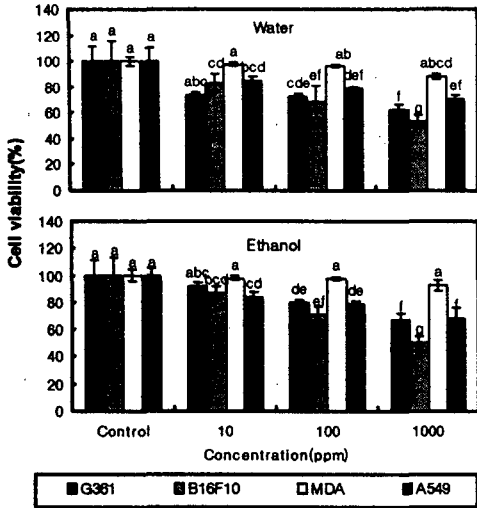


Fig. 11. Cell viability of *Angelicae dahuricae Radix* on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

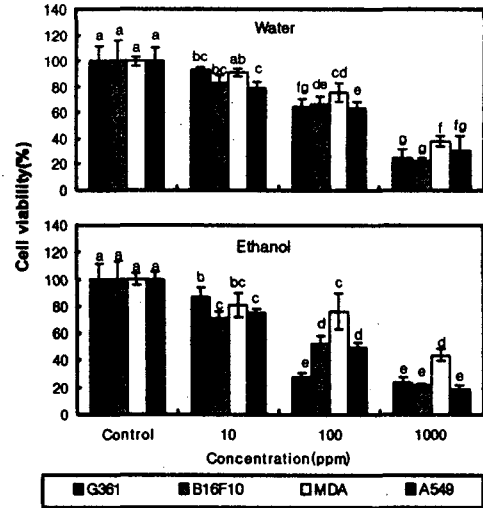


Fig. 13. Cell viability of *Trichosanthis Radix* on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

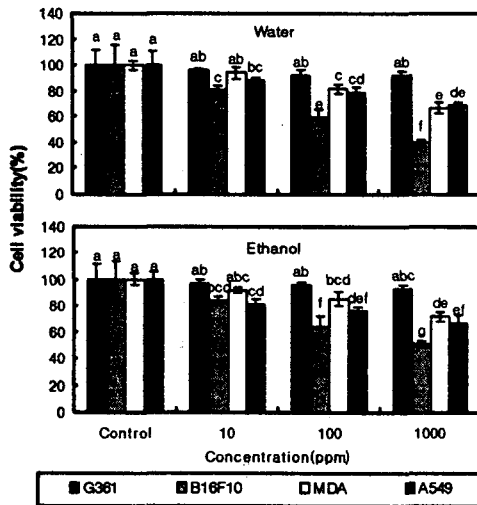


Fig. 12. Cell viability of *Fritillariae cirrhosae Bulbus* on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

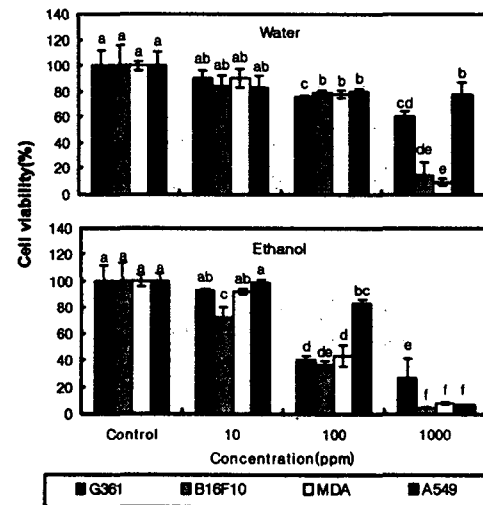


Fig. 14. Cell viability of *Paeoniae Radix Rubra* on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

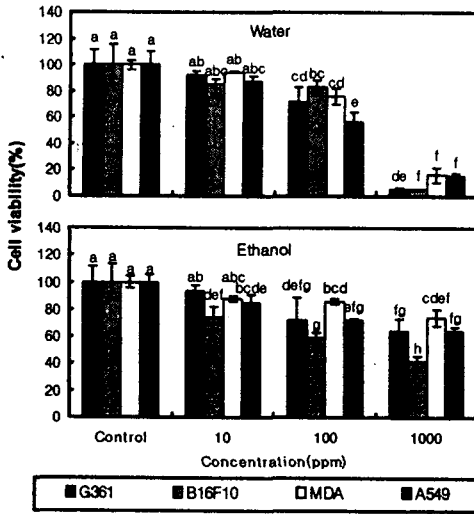


Fig. 15. Cell viability of Glycyrrhizae Radix on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

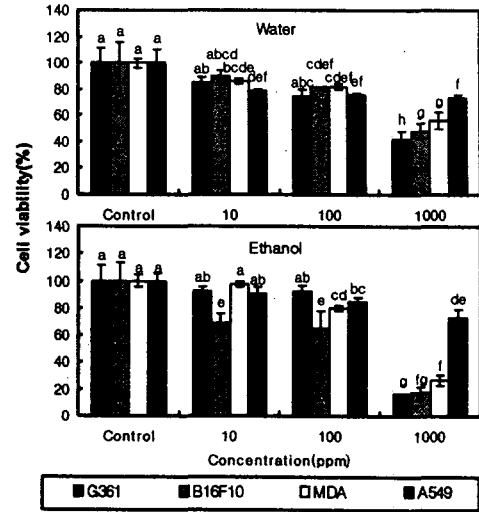


Fig. 17. Cell viability of Myrrha on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

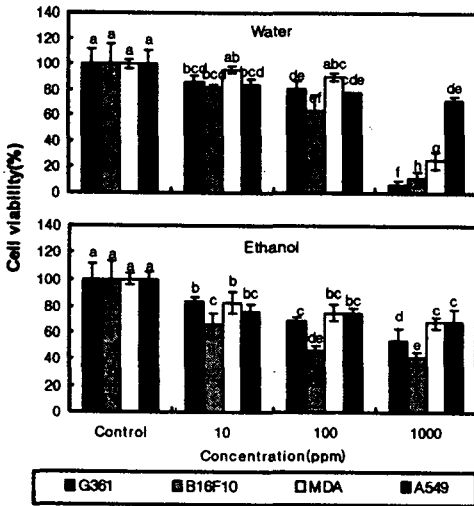


Fig. 16. Cell viability of Ledebouriellae Radix on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

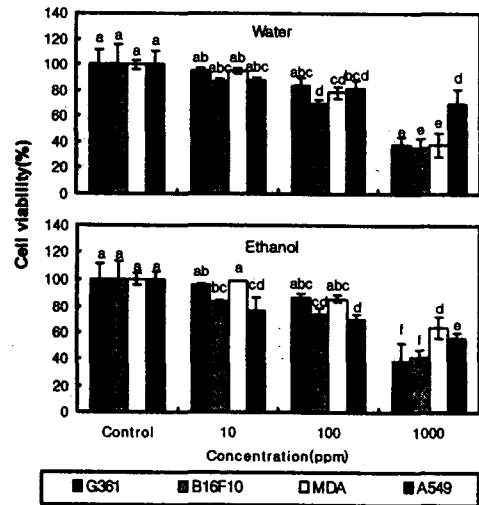


Fig. 18. Cell viability of Manitis Squama on cancer cells. G361: melanoma, B16F10: melanoma, MDA: breast cancer, A549: lung cancer. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

고찰

仙方活命飲은 陳自明의 《婦人良方大全》¹⁾에 기재된 처방으로 大黃, 金銀花, 當歸, 皂角刺, 陳皮, 乳香, 貝母, 天花粉, 白芷, 赤芍藥, 甘草節, 防風, 沒藥, 穿山甲으로 구성되며, 許⁴⁾는 “一切癰疽毒腫 未成者內消 已成者潰 排膿止痛消毒之聖藥也.”라고 하여, 清熱, 散風, 行瘀, 活血의 작용으로 癰疽疾患에 널리 사용되는 방제이다^{7,8, 13)}.

仙方活命飲은 瀉熱通腸, 涼血解毒, 逐瘀通經의 효능을 가진 大黃, 清熱解毒, 涼散風熱의 효능을 가진 金銀花, 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸의 효능을 가진 當歸, 消腫排膿, 祛風殺蟲의 효능을 가진 皂角子, 理氣, 調中, 燥濕, 化痰의 효능을 가진 陳皮, 活血止痛, 消腫生肌의 효능을 가진 乳香, 清熱潤肺, 化痰止咳, 散結祛瘀의 효능을 가진 貝母, 生津止渴, 降火潤燥, 排膿消腫의 효능을 가진 天花粉, 散風除濕, 通竅止痛, 消腫排膿의 효능을 가진 白芷, 清熱涼血, 散瘀止痛의 효능을 가진 赤芍藥, 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥의 효능을 가진 甘草, 解表祛風, 勝濕, 止痛의 효능을 가진 防風, 散血祛瘀, 消腫定痛의 효능을 가진 沒藥, 活血通經, 下乳, 消腫排膿의 효능을 가진 穿山甲으로 구성되어 있다¹⁴⁾.

MIT 검색법은 Mosmann¹⁵⁾이 개발하여 Kotnid 등¹⁶⁾이 변형시킨 것으로, 96-well plate를 사용하며 검사결과를 ELISA reader (multiwell microplate reader)를 이용하여 많은 시료를 간단하게 판독할 수 있어, 세포독성 및 세포증식 검색법으로서 sulforhodamin B(SRB) 검색법과 더불어 널리 사용되고 있는 Assay 중의 한 방법이다. 암세포의 경우 대사과정에서 미토콘드리아의 탈수소 효소 작용에 의해 노란색 수용성 MIT tetrazolium을 자주색을 띠는 비수용성의 MIT formazan으로 환원시킨다. MIT formazan의 흡광도는 540 nm 근처 파장에서 최대가 되며, 이는 대사적으로 왕성한 세포의 농도를 반영하는 것이다.

仙方活命飲은 清熱解毒, 消腫潰堅, 排膿, 活血, 止痛하여 癰疽의 원인 중 熱毒으로 인한 陽症 癰疽에 적합한 처방의 하나로, 消腫이 되지 않은 것은 化膿을 방지할 수 있고, 化膿된 것은 破하여 排膿을 촉진하고 조직의 재생을 돕는다¹⁷⁾. 또한 각종의 염증 및 화농성 질환, 陽症의 중이염, 농양 및 기타 종양 등에 활용되어 암세포에 대해서도 세포독성이 있을 것으로 사료된다.

지금까지 세포독성에 관한 연구로는 金銀花, 白鮮皮, 穿山甲, 山茱萸, 桑白皮 등¹⁸⁻²¹⁾이 세포독성이 있음이 보고되었고, 복합처방으로는 當歸飲子加蟾酥, 葦莖湯 및 加味葦莖湯, 當歸龍薈丸, 人蔘百合湯 등²²⁻⁵⁾이 세포독성이 있음이 보고되었다.

이에 저자는 癰疽의 치료에 널리 사용되는 仙方活命飲과 구성 약물의 세포독성을 실험적으로 측정하고자 《東醫寶鑑》⁴⁾의 仙方活命飲을 시료로 하여 피부암세포인 G361, B16F10과 유선암세포인 MDA 및 폐암세포인 A549에 대한 세포독성을 관찰하였다.

仙方活命飲 복합처방에 있어서 열수 추출물 및 에탄올 추출물 모두 모든 암세포에 대하여 높은 세포독성을 나타내었으며, 시료농도 1000 ppm의 경우, A549를 제외한 모든 세포에 대하여 약 80% 이상의 높은 세포독성을 나타내었다. 열수 추출물의 경우 10ppm 100ppm에서 특히 G361에 대한 세포독성이 가장 뛰어났으며, B16F10, A549 또한 세포독성이 우수하였다. 1000ppm의 경우는 MDA의 세포독성이 가장 뛰어났다. 에탄올 추출물의 경우 10ppm, 100ppm에서는 B16F10의 세포독성이 가장 뛰어났고, 1000ppm에서는 G361, MDA의 세포독성이 가장 우수하였다.

仙方活命飲에 들어가는 약재 각각의 세포독성을 관찰한 결과, 열수 추출물의 경우, 大黃, 皂角刺, 天花粉, 甘草, 防風에서 뛰어난 세포독성을 나타내었으며, 에탄올 추출물의 경우, 皂角刺, 陳皮, 天花粉, 赤芍藥, 沒藥 등의 세포독성이 뛰어났다. 특히, 大黃, 皂角刺, 天花粉, 赤芍藥의 경우, 열수 및 에탄올 추출물 모두 세포독성이 높게 나타났다. 약물별로

살펴보면 大黃의 경우 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두에서 세포독성이 나타났으나 열수 추출물에서 더 높은 세포독성을 나타내었으며 특히 열수 추출물의 10ppm과 100ppm에서 A549의 세포독성이 높았다. 金銀花는 열수 추출물 경우 100ppm, 1000ppm에서 B16F10의 세포독성이 높았으며, 에탄올 추출에서는 G361, B16F10의 세포독성이 높았다. 當歸는 열수 추출물에서는 A549에서 농도와 관계없이 약 40%의 세포독성이 나타났으며, 에탄올 추출에서는 B16F10의 세포독성이 높았다. 皂角刺는 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두 1000ppm에서 G361, B16F10, MDA 모두 높은 세포독성이 나타났으며, 에탄올 추출의 경우 특히 B16F10의 세포독성이 높게 나타났다. 陳皮는 열수 추출에서 G361, B16F10, MDA, A549 모두 비슷한 세포독성을 나타내었고, 에탄올 추출에서는 A549의 세포독성이 높게 나타났다. 乳香은 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두 1000ppm에서 B16F10의 세포독성이 가장 높게 나타났으며, 白芷는 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두 농도와 관계없이 G361, B16F10의 세포독성이 가장 높게 나타났다. 貝母는 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두 농도와 관계없이 B16F10의 세포독성이 높게 나타났다. 天花粉의 경우 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두에서 높은 세포독성이 나타났는데, 그 중 MDA의 세포독성이 조금 떨어졌으며, 에탄올 추출 100ppm에서 G361의 세포독성이 70% 이상으로 크게 높았다. 赤芍藥은 열수 추출물 1000ppm에서 B16F10, MDA의 세포독성이 높게 나타났고, 에탄올 추출의 경우 100ppm에서 50% 이상의 높은 세포독성을 나타내었으며, 1000ppm에서는 G361, B16F10, MDA, A549 모두 높은 세포독성을 나타내어 전반적으로 높은 세포독성을 나타내었다. 甘草의 경우 열수 추출물 1000ppm에서 G361, B16F10, MDA, A549 모두 80% 이상의 높은 세포독성을 나타내었고, 에탄올 추출에서는 모든 농도에서 B16F10의 세포독성이 높았다. 防風의 경우 열수 추출물 1000ppm에서 G361, B16F10, MDA의 세포독성이 높게 나타났으며, 에탄

올 추출에서는 모든 농도에서 B16F10의 세포독성이 높게 나타났다. 沒藥은 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두 1000ppm에서 G361, B16F10, MDA의 세포독성이 높게 나타났으며, 에탄올 추출 10ppm, 100ppm에서는 B16F10의 세포독성이 뛰어났다. 穿山甲은 열수 추출물 1000ppm에서 G361, B16F10, MDA 모두 높은 세포독성을 나타내었고, 에탄올 추출 10ppm, 100ppm에서는 B16F10, A549의 세포독성이 높았고, 1000ppm에서는 G361, B16F10의 세포독성이 높게 나타났다.

癰疽에 사용되는 仙方活命飲과 그 구성약물의 세포독성을 살펴본 결과 仙方活命飲의 복합처방에서 피부암세포인 G361과 B16F10, 유선암세포인 MDA, 폐암세포인 A549에 대한 세포독성을 확인할 수 있었으며, 구성약물 중 大黃, 皂角刺, 天花粉, 甘草, 防風이 뛰어난 세포독성을 가지고 있음을 관찰하였다. 이상의 결과로 볼 때 仙方活命飲은 피부암, 유방암, 폐암 등에 어느 정도 억제 효과가 있을 것으로 사료되나, 저해 효과의 기전과 그 효과가 仙方活命飲 약제의 효능인지 높은 농도에서 나타나는 약독성으로 인한 것인지에 대한 추가적인 실험이 필요할 것으로 보인다. 또한 약물 구성간의 배합으로 인해 나타나는 세포독성 증감과 시료의 종류에 따른 세포독성의 차이에 대한 추가적인 실험이 필요하며, 동물 실험 및 임상적 연구를 통해 안전성의 확보가 필요할 것으로 사료된다.

결론

仙方活命飲의 세포독성을 확인하기 위해서 仙方活命飲과 구성약물 각각을 시료로 하여 G361, B16F10, MDA-MB-231, A549에 미치는 세포독성을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 仙方活命飲과 구성약물 모두에 대하여 G361, B16F10, MDA, A549의 암세포 모두 시료농도가 증가함에 따라 유의하게 높은 세포독성을 나타내었다.

2. 仙方活命飲은 열수 추출물, 에탄올 추출물 모두 G361, B16F10, MDA, A549에 대하여 높은 세포독성을 나타내었으며, 시료농도 1000ppm에서 A549를 제외한 모든 세포에 대하여 80% 이상의 높은 세포독성을 나타내었다.

3. 大黃, 皂角刺, 天花粉, 甘草, 防風은 열수 추출물의 경우 뛰어난 세포독성을 나타내었고 皂角刺, 陳皮, 天花粉, 赤芍藥, 沒藥은 에탄올 추출의 경우 세포독성이 뛰어났다.

4. 大黃, 皂角刺, 天花粉, 赤芍藥의 경우, 열수 추출물 및 에탄올 추출물 모두 세포독성이 높게 나타났다.

5. 열수 추출의 경우 甘草, 防風, 沒藥이 G361에 높은 세포독성을 나타내었고, 金銀花, 乳香, 貝母, 甘草, 防風, 沒藥, 赤芍藥, 穿山甲은 B16F10에 높은 세포독성을 나타내었으며, 赤芍藥, 穿山甲은 MDA에 높은 세포독성을 나타내었고, 大黃, 當歸은 A549에 높은 세포독성을 나타내었다.

6. 에탄올 추출의 경우 金銀花, 天花粉은 G361에 높은 세포독성을 나타내었고, 大黃, 當歸, 皂角刺, 乳香, 白芷, 貝母, 赤芍藥, 甘草, 防風, 沒藥은 B16F10에 높은 세포독성을 나타내었으며, 大黃, 穿山甲은 MDA에 대해 높은 세포독성을 나타내었고, 陳皮, 穿山甲은 A549에 높은 세포독성을 나타내었다.

이상의 결과로 보아 仙方活命飲은 농도가 증가함에 따라 높은 세포독성이 있으며, 그 중 大黃, 皂角刺, 天花粉, 赤芍藥의 세포독성이 가장 높은 것으로 사료된다. 그러나 정확한 효과를 규명하기 위해서는 보다 다양하고 정확한 실험연구와 임상적 연구가 추가되어야 할 것이다.

참고문헌

1. 陳自明 婦人良方校注補遺 上海 上海科學技術出版社 1991;637.

2. 李梴 醫學入門, 서울:翰成社, 1977;457-459, 589-590.
 3. 汪詡庵 醫方集解, 3판 재판, 台北:文光圖書有限公司, 1986;375-6.
 4. 許浚 東醫寶鑑III, 제3판, 서울:대성문화사, 1999; 391, 420.
 5. 한의과대학 방제학교수 공편저. 방제학, 정정4판 개정증보판, 서울:영림사, 1999;587.
 6. 申載鏞. 方藥合編解說, 4판, 서울:傳統醫學研究所, 1993;315.
 7. 蔡炳允 癰疽에 응용되는 仙方活命飲의 消炎 鎮痛 下熱작용에 관한 연구. 경희대논문집, 1980;3: 67-90.
 8. 崔仁和, 蔡炳允. 仙方活命飲의 항암 및 면역반응에 관한 실험적 연구, 경희대논문집, 1992;15: 341-359.
 9. 이범용, 안덕균, 우은란, 박호균. 仙方活命飲의 항균 효능 및 구성성분에 관한 연구. 한의학회지, 1998;19(1):89-99.
 10. 張恩勳, 鄭貴力. 方劑學(中國傳統醫學總書), 北京:科學出版社, 1992;430.
 11. 徐毅錫. 仙方活命飲이 마우스의 로젯형성 및 항체생성에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 석사학위논문, 1984;1-18.
 12. Charmichael, J., Degraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 1987;47(4):936-942.
 13. 池鮮漢. 東醫皮膚科學, 서울 : 일중사, 1996;44.
 14. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학, 제3판, 서울: 영림사, 1995;129, 131, 165, 195, 198, 242, 347, 410, 412, 428, 440, 463, 540, 578.
 15. Mosmann, T.. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. methods, 1983;65:55.
 16. Kotnid, V. and Fleischmann, W. R, Jr.. A simple and rapid method to determine hematopoietrid

- growth factor activity. *J. Immunol. methods.* 1990;129:23.
17. 李載熙. 圖說漢方診療要方. 서울:醫學研究社 1996; 424.
 18. 한종현, 백승화, 김일강, 한두석. 金銀花 추출물의 세포독성에 관한 연구. 원광대논문집. 1993; 3(1):23-32.
 19. 정현우, 전병훈. 白鮮皮와 穿山甲이 인체 암세포 주에 미치는 세포독성의 효과. 병리학회지. 1997; 11(1):58-64.
 20. 천현자, 최원형, 이정호, 양현욱, 백승화. 山茱萸 엑산 추출물의 항균효과 및 세포독성. 동의생리 병리학회지. 2003;17(20):476-490.
 21. 상성용. 桑白皮가 피부암 및 골수암세포의 세포 독성, NO 및 Apoptosis에 미치는 영향. 본초학회지. 1997;12(2):73-89.
 22. 최정화. 當歸飮子加蟾酥가 피부암세포(A549)의 세포독성에 미치는 영향. 외관과학회지. 1996; 9(1):1-15.
 23. 박경식, 박정휘, 김동희, 김성훈. 葦莖湯, 加味葦莖湯의 A549에 대한 세포독성과 S-180에 대한 항암효과. 병리학회지. 1995;9(2):217-245.
 24. 문종진, 선중기. 當歸龍薈丸의 세포독성에 대한 연구. 내과학회지. 1999;19(2):261-277.
 25. 황호준, 하지용. 人蔘百合湯이 B16세포에 대한 세포독성능 및 C57BL/6계의 생쥐의 폐전이암의 억제에 미치는 영향. 중앙학회지. 1997;3(1):85-98.